

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭62-187426

⑬ Int.Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和62年(1987)8月15日

C 07 C 59/215
C 07 D 307/60
C 12 P 7/50
17/04

7252-4C

7236-4B

2104-4B ※審査請求 未請求 発明の数 1 (全6頁)

⑮ 発明の名称 ケトパント酸塩または／およびケトパントラクトンの製造方法

⑯ 特 願 昭60-225350

⑰ 出 願 昭60(1985)10月8日

⑱ 発 明 者 山 田 秀 明 京都市左京区松ヶ崎木ノ本町19-1

⑲ 発 明 者 清 水 昌 京都市中京区西ノ京伯楽町14

⑳ 発 明 者 畑 啓 之 加古川市上荘町国包189-1

㉑ 出 願 人 製鉄化学工業株式会社 兵庫県加古郡播磨町宮西346番地の1

最終頁に続く

明 細 書

1. 発明の名称

ケトパント酸塩または／およびケトパントラク
トンを製造する方法。

2. 特許請求の範囲

(1) L-パント酸塩または／およびL-パント
ラクトンをノカルディア(Nocardia)属、ロドコ
ッカス(Rhodococcus)属、ノカードイオアイデス
(Nocardioidea)属、マイコバクテリウム(Mycobacterium)属、ストレプトスランギウム
(Streptosprangium)属、ストレプトマイセス
(Streptomyces)属、コリネバクテリウム(Corynebacterium)属に属する微生物よりなる群より選
ばれた少なくとも1種の微生物で酸化することを
特徴とするケトパント酸塩または／およびケトパ
ントラクトンを製造する方法。

(2) 微生物を用いて酸化する際に、培養液を用
いる特許請求の範囲(1)記載の方法。(培養法)

(3) 微生物を用いて酸化する際に、培養液より
分離した菌体を、新たに調製した基質溶液に添加

する特許請求の範囲(1)記載の方法。(菌体法)

(4) 培地に果糖、ソルビット、サッカロース、
グルコース、D-パントラクトン、L-パントラ
クトン、1,8-プロパンジオール、グリセリン、
ポリビニルアルコール、乳酸、1,3-ブタンジ
オール、2,8-ブタンジオール、1,4-ブタンジ
オール、エタノールよりなる群より選ばれた少
なくとも1種の化合物を加えて培養する特許請
求の範囲(2)記載の方法。

(5) 基質溶液にソルビット、1,8-プロパンジ
オール、グリセリン、ポリビニルアルコール、
乳酸、1,3-ブタンジオール、2,8-ブタンジ
オール、1,4-ブタンジオール、エタノールより
なる群より選ばれた少なくとも1種の化合物を
加える特許請求の範囲(3)記載の方法。

3. 発明の詳細な説明

(発明の目的)

本発明は、L-パントラクトンよりケトパント
ラクトンを製造する方法に関する。

(産業上の利用分野)

ケトパントラクトンは、パントテン酸、C₆O₄A

等の重要な合成中間体であるD-パントラク톤の前駆体である。

(従来の技術)

(発明が解決しようとする問題点)

ケトパントラク톤は不斉還元によりパントテン酸、C。A等の重要な合成中間体であるD-パントラク톤へと導かれる。従来、ケトパントラク톤は化学的に合成されたDL-パントラク톤を臭素あるいは、次亜塩素酸カルシウム等の酸化剤を用いて化学的に合成される。しかしながらこの方法では、酸化剤が高価であったり、パントテン酸、C。A等の出発原料であるD-パントラク톤も同時に酸化されたりするために良い方法とはいえない。

そこで本発明者等は微生物の有する立体選択性に着目し、L-パントラク톤のみを酸化してケト体を与える菌株を探索し、スクリーニングの結果、特定の菌株がL-パントラク톤のみをケトパントラク톤へ導くことを見出した。(特願昭59-55897、特願昭60-84778)

この発明の菌株を用いてDL-パントラク톤

またはL-パントラク톤を酸化すれば、D-パントラク톤は何ら変化することなく、L-パントラク톤だけがケトパントラク톤に変化する。得られたケトパントラク톤を用いて微生物学的な還元をほどこせば容易にD-パントラク톤となり、(特願昭59-25890参照)結果的にDL-パントラク톤からD-パントラク톤が得られることになる。

即ち、本発明は次式で表わすことができる。



本発明の方法に用いる微生物は、ノカルディア(Nocardia)属、ロドコッカス(Rhodococcus)属、ノカードィオアイデス(Nocardioides)属、マイコバクテリウム(Mycobacterium)属、ストレプトスプランギウム(Streptosprangium)属、ストレプトマイセス(Streptomyces)属、コリネバクテリウム(Corynebacterium)属、に属する微生物よりなる群より選ばれた少なくとも1種の微生物である。

菌の培養条件は使用する菌株により多少異なるが、一般的にいえば炭素源としてグルコース、フ

またはL-パントラク톤を酸化すれば、D-パントラク톤は何ら変化することなく、L-パントラク톤だけがケトパントラク톤に変化する。この方法において1,2-プロパンジオールを用いると菌体の酸化能力が向上し、本酸化反応が促進される(特願昭60-186885)。しかしながら、1,2-プロパンジオールは工業的に使用するには決して安価な化合物とは言えない。そこで本発明者らは多数の化合物中より、本酸化反応を促進する化合物をスクリーニングし、本酸化反応の経済性を高めようとした。

(発明の構成)

本発明の要旨は、L-パント酸塩または/およびL-パントラク톤を、微生物を用いて酸化するに際し、本酸化能力を向上させ得る化合物の添加により効果的に酸化反応を進め、ケトパント酸塩または/およびケトパントラク톤を製造することにある。

(問題点を解決するための手段)

(作用)

本発明の菌株を用いてDL-パントラク톤ま

ラクトース、シュークロース、マルトース等の糖質、窒素源として、硫酸アンモニウム、塩化アンモニウム、硝酸カリウム、尿素、アミノ酸、ペプトン、カザミノ酸、コーンステープリッカー、よすま、米ぬか、酵母エキス等、無機塩類として硫酸マグネシウム、塩化ナトリウム、炭酸カルシウム、リン酸一水素カリウム、リン酸二水素カリウム等他の栄養源として麦芽エキス、肉エキス、フェーマメディア等を含む培地が用いられるが、これらに限定されるものではない。

本発明者らはL-パント酸塩または/およびL-パントラク톤を微生物を用いて酸化する方法を改良すべく鋭意検討の結果、果糖、ソルビット、サッカロース、グルコース、D-パントラク톤、L-パントラク톤、1,2-プロパンジオール、1,8-プロパンジオール、グリセリン、水溶性ポリビニルアルコール、乳酸、1,8-ブタンジオール、2,8-ブタンジオール、1,2-ブタンジオール、1,4-ブタンジオール、エタノール等を培地や反応系に添加すると菌体の酸化活性が向上することを見出した。ここに添加する化合物は菌体の

活性を高めさえすれば、前記化合物に限定されるものではない。

この培地に菌株を接種し、好氣的または嫌氣的に培養する。培養に適した温度は15～60℃、さらに好ましくは、20～40℃である。通常2～6日の培養で菌を生育させるが、基質のパントラクトンは培養初期から加えても良いし、数回に分けて添加する方が良い結果を与える場合もある。さらに培養液から取り出した菌体とパントラクトンの混合により反応を行なわせたり、acetone powderやdry cellに処理した菌体を用いたり、界面活性剤を添加する方法が良い結果を与える場合もある。破砕菌体や固定化菌体を用いてもよく、また変異処理により高い活性が得られる場合もある。

基質のパントラクトンは、菌体または水溶液あるいは、そのナトリウム塩、カリウム塩、アンモニウム塩等の形で添加する。

前記、培養法または菌体法を用いて、基質を交換する時のpHは6～10の範囲が良く、さらに好ましくは7～8の範囲に維持すると良い結果が

得られる。この際、必要に応じて塩酸、硫酸等の酸や、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、アンモニア等の塩基でpH調整をすると好結果が得られる。

例えば、本発明の実施態様の一例を説明するとL-パントラクトン0.5%を含むペプトン1.5%、酵母エキス0.3%、肉エキス1%、K₂HPO₄0.3%、NaCl0.2%およびエタノール1.5%からなる液体培地5mlに斜面培地からノカルディア アステロイデス(IFO 3384)の種菌を1白金耳量接種し、28℃で2日間、回転振盪機上で好氣的に培養した。このようにして得られた培養液は、遠心分離により菌体を取り除いたのち塩酸処理をほどこしてパント酸あるいはケトパント酸をパントラクトンあるいはケトパントラクトンへと環化し、ケトパントラクトンの生成量をガスクロマトグラフィーで分析した。

本発明の方法において添加できるL-パントラクトンまたはD-L-パントラクトンの濃度は通常0.1～10%の範囲が適当である。

次に、本発明の製造方法の具体例を実施例によ

り説明する。

実施例 1.

エタノール1%、ペプトン1.5%、酵母エキス0.3%、K₂HPO₄0.3%、およびNaCl0.2%よりなる液体培地をpH 7.0とし、内径1.4cm、長さ16cmの試験管に分注し、オートクレーブ中で121℃で15分間、加熱滅菌した。ここに斜面培地からノカルディア アステロイデス IFO 3384の種菌を1白金耳量接種し、28℃で4日間、回転振盪機上で好氣的に培養した。この培養液に濃度が0.5%となるようにL-パントラクトンを添加し、さらに28℃で2日間、好氣的に振盪した。このようにして得られた培養液を所定の方法で分析したところ、ケトパントラクトンが88.4%の収率で生じていた。

この培地よりエタノールを取り去り同様に培養法による反応を行ったがケトパントラクトンは生じなかった。

実施例 2.

第1表に示した菌体を用いた以外は、実施例1と同様に行ない、第1表の結果を得た。

第 1 表

菌 名	ケトパントラクトン 収率 (%)
ロドコッカス エリスロポリス IFO 12820	70.9
ノカルディオアイデス アレクス IFO 18917	71.1
マイコバクテリウム アピウム IFO 3082	78.4
ストレプトスプランギウム ロゼウム IFO 3776	68.0
ストレプトマイセス フラディアエ IFO 3860	63.8
コリネバクテリウム イクイ IAM 1088	76.7

実施例 3.

エタノールに変えて、第2表に示した化合物を加えた以外は、実施例1と同様に行ない、第2表の結果を得た。

第 2 表

化 合 物	ケトペンタクトン収率(%)
なし	0
果糖	82.1
ソルビット	79.4
サッカロース	42.7
グルコース	53.0
D-ペンタクトン	21.3
L-ペンタクトン	81.8
1,2-プロパンジオール	88.8
1,3-プロパンジオール	52.1
乳酸	31.5
1,3-ブタンジオール	22.2
2,3-ブタンジオール	18.5
1,4-ブタンジオール	13.8
グリセリン	72.4
ポリビニルアルコール	21.5

実施例 4.

エタノールを含まない実施例 1 の培地を用いて得られた培養液より遠心分離で取り出した菌体を用いて反応を行なった。試験管 2 本分 (5 ml × 2) の菌体に L-ペンタクトン 0.1 g (2%)、炭酸カルシウム 0.1 g (2%) および 0.2 M のリン

酸を用いた。この培養液より遠心分離により菌体を得た。この湿菌体 2 g、L-ペンタクトン 1.0 g および炭酸カルシウム 0.1 g よりなる pH 7 に調整した溶液 10 ml を 28 °C で 2 日間、回転振盪することにより反応を行なった。反応が進むと反応系の pH が低下するので、6 時間毎に NaOH 溶液で pH 7 に調整した。得られた反応液を分析すると、ケトペンタクトンが 91.3% 収率で生じていた。

〔効 果〕

ノカルディア アステロイデス等の微生物を用いて L-ペンタクトンを酸化してケトペンタクトンにするに際し、その酸化能力を向上させるために従来用いていた 1,2-プロパンジオールよりもさらに安価なエタノール等の化合物が有効であることを見出し、工業的に有利にケトペンタクトンを製造することが出来るようになった。

—主—

出願人 製鉄化学工業株式会社
代表者 増田 裕治

酸カリ緩衝液 (pH 7.0) 5 ml と、第 3 表に示した化合物を加え、28 °C で 8 日間振盪した。この反応液を分析し、第 3 表の結果を得た。

第 3 表

化 合 物	ケトペンタクトン収率(%)
なし	0
ソルビット	52.1
グリセリン	63.8
1,3-プロパンジオール	56.5
乳酸	29.4
1,3-ブタンジオール	19.3
2,3-ブタンジオール	19.1
1,4-ブタンジオール	23.3
エタノール	75.6
ポリビニルアルコール	20.0

実施例 5.

ペプトン 1.5%、酵母エキス 0.3%、肉エキス 1%、K₂HPO₄ 0.8%、NaCl 0.2%、ソルビット 1.5% よりなる pH 7.0 の液体培地にノカルディア アステロイデス IFO 3384 の種菌を接種し、28 °C で 2 日間、回転振盪機上で好氣的に培

第1頁の続き

⑤Int. Cl. ⁴	識別記号	庁内整理番号
//(C 12 P	7/50	
C 12 R	1:365)	
(C 12 P	7/50	
C 12 R	1:01)	
(C 12 P	7/50	
C 12 R	1:34)	
(C 12 P	7/50	
C 12 R	1:62)	
(C 12 P	7/50	
C 12 R	1:15)	
(C 12 P	17/04	
C 12 R	1:365)	
(C 12 P	17/04	
C 12 R	1:01)	
(C 12 P	17/04	
C 12 R	1:34)	
(C 12 P	17/04	
C 12 R	1:62)	
(C 12 P	17/04	
C 12 R	1:15)	

手続補正書(自発)

昭和60年12月26日

特許庁長官 宇賀 道郎殿

1 事件の表示

昭和60年特許願第225350号

2. 発明の名称 ケトパント^{キトパン}酸^{キサン}または/および
ケトパントラク톤^{キトパンラク}の製造方法^ト

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

〒675-01

住所 兵庫県加古郡播磨町西346番地の1

名称 製鉄化学工業株式会社

(☎0794-37-2151)

代表者 増田 裕治



4. 補正の対象 明細書

5. 補正の内容

明細書の発明の詳細な説明の欄

(1) 明細書第9頁第3~7行を以下のとおり補正する。

「ペプトン 1.5%、酵母エキスの 0.3%、
K₂HPO₄ 0.3%とおよびNaCl 0.2%よりなる液体培地をpH 7.0とし、内径 1.4cm長さ16cmの試験管に分注し、オートクレーブ中で15分間加熱滅菌した。ここにエタノールが 1.0%となるように加えた後、斜面」

以上

手続補正書(方式)

昭和62年3月10日

特許庁長官 黒田 明雄 殿

1. 事件の表示

昭和60年特許願第225350号

2 発明の名称 ケトパント酸塩または/およびケトパントラクトンの製造方法

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人
(☎ 0794-37-2151)

〒675-01

住所 兵庫県加古郡播磨町宮西346番地の1

名称 製鉄化学工業株式会社

代表者 増田 裕治



4. 補正の対象

昭和60年10月8日提出の特許願に添付の
明細書

5. 補正の内容

(1) 明細書第1頁第3~4行の発明の名称
「ケトパント酸塩または/およびケトパントラ
クトンを製造する方法」を「ケトパント酸塩また
は/およびケトパントラクトンの製造方法」と補
正する。

以上