

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3696629号  
(P3696629)

(45) 発行日 平成17年9月21日(2005.9.21)

(24) 登録日 平成17年7月8日(2005.7.8)

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>

F I

C 1 2 P 41/00

C 1 2 P 41/00

E

/(C 1 2 P 41/00

C 1 2 P 41/00

F

C 1 2 R 1:72 )

C 1 2 P 41/00

(C 1 2 P 41/00

C 1 2 R 1:72

C 1 2 R 1:01 )

C 1 2 P 41/00

請求項の数 12 (全 21 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平6-37726  
 (22) 出願日 平成6年2月10日(1994.2.10)  
 (65) 公開番号 特開平6-319590  
 (43) 公開日 平成6年11月22日(1994.11.22)  
 審査請求日 平成12年7月3日(2000.7.3)  
 (31) 優先権主張番号 特願平5-25315  
 (32) 優先日 平成5年2月15日(1993.2.15)  
 (33) 優先権主張国 日本国(JP)  
 (31) 優先権主張番号 特願平5-55735  
 (32) 優先日 平成5年3月16日(1993.3.16)  
 (33) 優先権主張国 日本国(JP)

(73) 特許権者 000002901  
 ダイセル化学工業株式会社  
 大阪府堺市鉄砲町1番地  
 (74) 代理人 100090686  
 弁理士 鎌田 充生  
 (72) 発明者 松山 彰収  
 新潟県新井市中川125  
 (72) 発明者 小林 良則  
 新潟県上越市国府3-13-11

審査官 田中 晴絵

(56) 参考文献 特開平04-228094(JP, A)  
 欧州特許出願公開第00464905(E P, A1)

最終頁に続く

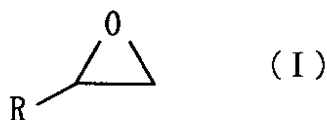
(54) 【発明の名称】 光学活性エポキシドの製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

一般式(I)

【化1】



(式中、Rは、アルケニルオキシ基で置換されていてもよいアルキル基、アルケニル基、ハロゲン原子で置換されていてもよいアリール基、またはアラルキル基を示す)

で表されるエポキシドのエナンチオマー混合物から(S)体または(R)体の光学活性エポキシドを生成する能力を有する微生物またはその処理物を、前記エポキシドのエナンチオマー混合物に作用させ、生成する(S)体または(R)体の光学活性エポキシドを採取する光学活性エポキシドの製造方法であって、

エポキシドのエナンチオマー混合物から(S)体の光学活性エポキシドを生成する能力を有する微生物が、カンディダ(Candida)属、ロドスポリデウム(Rhodospiridium)属、ロドコッカス(Rhodococcus)属、ノサルデオイデス(Nosardioides)属、サッカロポリスポラ(Saccharopolyspora)属、アセトバクター(Acetobacter)属、シトロバクター(Citrobacter)属、エンテロバクター(Enterobacter)属、エシエリヒア(Escherichia)属、グ

ルコノバクター(Gluconobacter )属、ストレプトアラテイカス(Streptoallateichus ) 属、アニキシエラ(Anixiella )属、コルチシウム(Corticium )属、コリエスポラ(Coryespora ) 属、ドラトマイセス(Doratomyces )属、ドレッチスレラ(Drechslera ) 属、ヘルミンソスポリウム(Helminthosporium ) 属、マクロホミナ(Macrophomina ) 属、ミクロアスカス(Microascus ) 属、ペリコニア(Periconia )属、スコブラリオプシス(Scopulariopsis ) 属、スタックニボトリス(Stacnybotrys ) 属、ウエステルディケラ(Westerdykella ) 属、フィアロフォラ(Phialophora )属、ポドスポラ(Podospora )属、チレチオブシス (Tilletiopsis )属およびグロエオフィラム (Gloeophyllum )属に属する微生物群から選ばれた微生物であり、

エポキシドのエナンチオマー混合物から ( R ) 体の光学活性エポキシドを生成する能力を有する微生物が、トリコスポロン ( Trichosporon) 属、ゲオトリカム(Geotrichum)属、コリネバクテリウム(Corynebacterium) 属、ブレビバクテリウム(Brevibacterium)属、グリソマイセス(Glyosomyces ) 属、サッカロスリックス(Saccharothrix )属、ストレプトマイセス(Streptomyces ) 属およびペリキュラリア(Pellicularia ) 属に属する微生物群から選ばれた微生物である光学活性エポキシドの製造方法。

【請求項 2】

エポキシドのエナンチオマー混合物から ( S ) 体の光学活性エポキシドを生成する能力を有する微生物が、キャンディダ・パラプシロシス ( Candida parapsilosis)、キャンディダ・ファマタ ( Candida famata)、ロドスポリデウム・トルロイデス(Rhodosporidium toruloides)、ロドコッカス・ルプロペルチンクタス(Rhodococcus rubropertinctus)、  
ロドコッカス・コプロフィラス(Rhodococcus coprophilus)、ロドコッカス・エリスロポリス(Rhodococcus erythropolis)、ノサルデオイデス・フラバス(Nosardioides flavus)  
、サッカロポリスポラ・ヒラスト(Saccharopolyspora hirasta)、アセトバクター・パステウリアナス(Acetobacter pasteurianus)、アセトバクター・アセチ・サブスピーシーズ・キシリナム(Acetobacter acetii subsp xylinum)、シトロバクター・フレウンディ(Citrobacter freundii)、エンテロバクター・エアロゲネス(Enterobacter aerogenes)、エンテロバクター・クロアセー(Enterobacter cloacae)、エシェリヒア・コリ(Escherichia coli)、  
グルコノバクター・セリナス(Gluconobacter cerinus)、ストレプトアラテイカス・ヒンダスタナス(Streptoallateichus hindustanus)、アニキシエラ・レチキュラタ(Anixiella reticulata)、  
コルチシウム・ロルフシー(Corticium rolfsii)、コリエスポラ・カシジコラ(Coryespora cassjicola)、ドラトマイセス・ステモニチス(Doratomyces stemonitis)、  
ドレッチスレラ・アベナエ(Drechslera avenae)、ヘルミンソスポリウム・シグモイデウム・パライティ・イレグル(Helminthosporium sigmoideum var irregul)、マクロホミナ・ファセオリ(Macrophomina phaseoli)、  
ミクロアスカス・デスモスポラス(Microascus desmosporus)、ペリコニア・ピソイデス(Periconia byssoides)、スコブラリオプシス・ブレビカウリス(Scopulariopsis brevicaulis)、  
スタックニボトリス・チャルタルム(Stacnybotrys chartarum)、ウエステルディケラ・ムルチスポラ(Westerdykella multispora)、  
フィアロフォラ・ペドロソイ(Phialophora pedrosoi)、ポドスポラ・カルドナリア(Podospora cardonaria)、チレチオブシス・クレメア(Tilletiopsis cremea) および  
グロエオフィラム・ストリアタム(Gloeophyllum striatum) に属する微生物群から選ばれた微生物である請求項 1 記載の光学活性エポキシドの製造方法。

【請求項 3】

エポキシドのエナンチオマー混合物から ( R ) 体の光学活性エポキシドを生成する能力を有する微生物が、トリコスポロン・クタネウム ( Trichosporon cutaneum)、ゲオトリカム・カンディダム(Geotrichum candidum)、  
ゲオトリカム・フラグランズ(Geotrichum fragrans)、  
コリネバクテリウム・グルタミカム(Corynebacterium glutamicum)、  
ブレビバクテリウム・リネンス(Brevibacterium linens)、  
グリソマイセス・ルツゲルセンシス(Glyosomyces rutgersensis)、  
サッカロスリックス・アウストラリエンシス(Saccharothrix australiensis)、  
ストレプトマイセス・アルボスポレウス(Streptomyces albosporeus) および  
ペリキュラリア・フィラメントサ(Pellicularia filamentosa)に属する微生物群が

10

20

30

40

50

ら選ばれた微生物である請求項 1 記載の光学活性エポキシドの製造方法。

【請求項 4】

請求項 1 記載の一般式 (I) で表されるエポキシドのエナンチオマー混合物から (S) 体の光学活性エポキシドを生成する能力を有する微生物またはその処理物を、前記エポキシドのエナンチオマー混合物に作用させ、生成する (S) 体の光学活性エポキシドを採取する光学活性エポキシドの製造方法であって、エポキシドのエナンチオマー混合物から (S) 体の光学活性エポキシドを生成する能力を有する微生物が、セラチア・プリムシカム (*Serratia plymuthicum*)、セラチア・マルセッセンス (*Serratia marcescens*)、アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*)、パチラス・ズブチリス (*Bacillus subtilis*)、パチラス・セレウス (*Bacillus cereus*)、マイクロコッカス・ルテウス (*Micrococcus luteus*)、およびシュードモナス・プチダ (*Pseudomonas putida*) に属する微生物群から選ばれた微生物であり、前記セラチア・マルセッセンス (*Serratia marcescens*) がセラチア・マルセッセンス (*Serratia marcescens*) A H U 1 7 2 0 であり、前記マイクロコッカス・ルテウス (*Micrococcus luteus*) がマイクロコッカス・ルテウス (*Micrococcus luteus*) A H U 1 4 2 7 である光学活性エポキシドの製造方法。

10

【請求項 5】

請求項 1 記載の一般式 (I) で表されるエポキシドのエナンチオマー混合物から (R) 体の光学活性エポキシドを生成する能力を有する微生物またはその処理物を、前記エポキシドのエナンチオマー混合物に作用させ、生成する (R) 体の光学活性エポキシドを採取する光学活性エポキシドの製造方法であって、エポキシドのエナンチオマー混合物から (R) 体の光学活性エポキシドを生成する能力を有する微生物が、パチラス・スファエリカス (*Bacillus sphaericus*)、マイクロコッカス・ルーテウス (*Micrococcus luteus*)、シュードモナス・アエルギノサ (*Pseudomonas aeruginosa*)、セラチア・マルセッセンス (*Serratia marcescens*)、アスペルギルス・オリゼー・パライティ・マグナスポラス (*Aspergillus oryzae* var *magnasporus*)、およびアスペルギルス・ソジャー (*Aspergillus sojae*) に属する微生物群から選ばれた微生物であり、前記マイクロコッカス・ルーテウス (*Micrococcus luteus*) が、マイクロコッカス・ルーテウス (*Micrococcus luteus*) I F O 1 2 9 9 2 であり、前記セラチア・マルセッセンス (*Serratia marcescens*) が、セラチア・マルセッセンス (*Serratia marcescens*) I A M 1 1 0 5 である光学活性エポキシドの製造方法。

20

【請求項 6】

エポキシドのエナンチオマー混合物として、前記エポキシドのラセミ体を用いる請求項 1 ~ 5 のいずれかの項に記載の光学活性エポキシドの製造方法。

30

【請求項 7】

微生物を液体培地で培養し、培地から分離した菌体を含む分散液を調製し、分散した菌体をエポキシドのエナンチオマー混合物に作用させる請求項 1 ~ 5 のいずれかの項に記載の光学活性エポキシドの製造方法。

【請求項 8】

微生物またはその処理物を、pH 3 ~ 9、温度 10 ~ 60 の条件下、エポキシドのエナンチオマー混合物に作用させる請求項 1 ~ 5 のいずれかの項に記載の光学活性エポキシドの製造方法。

40

【請求項 9】

微生物またはその処理物を、濃度 0.1 ~ 20 重量%のエポキシドのエナンチオマー混合物に作用させる請求項 1 ~ 5 のいずれかの項に記載の光学活性エポキシドの製造方法。

【請求項 10】

R が、アルケニルオキシ基で置換されていてもよい炭素数 1 ~ 12 のアルキル基、炭素数 2 ~ 12 のアルケニル基、ハロゲン原子で置換されていてもよいフェニル基、または炭素数 7 ~ 18 のアラルキル基である請求項 1 ~ 5 のいずれかの項に記載の光学活性エポキシドの製造方法。

【請求項 11】

R がハロゲン原子で置換されていてもよいフェニル基である請求項 1 ~ 5 のいずれかの

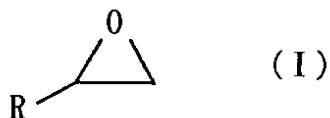
50

項に記載の光学活性エポキシドの製造方法。

【請求項 1 2】

一般式 (I)

【化 2】



(式中、Rは、アルケニルオキシ基で置換されていてもよいアルキル基、アルケニル基、ハロゲン原子で置換されていてもよいアリール基、またはアラルキル基を示す)

で表されるエポキシドのエナンチオマー混合物に、(1)前記エナンチオマーのうち(R)体を選択的に低減するかまたは(R)体を(S)体に転化する能力を有する微生物またはその処理物、または(2)前記エナンチオマーのうち(S)体を選択的に低減するかまたは(S)体を(R)体に転化する能力を有する微生物またはその処理物を作用させて、(S)体または(R)体の光学純度を増大させる光学活性エポキシドの光学純度の増大方法であって、

(1)前記エナンチオマーのうち(R)体を選択的に低減するかまたは(R)体を(S)体に転化する能力を有する微生物が、キャンディダ(Candida)属、ロドスポリデウム(Rhodospiridium)属、ロドコッカス(Rhodococcus)属、ノサルデオイデス(Nosardioides)属、サッカロポリスポラ(Saccharopolyspora)属、アセトバクター(Acetobacter)属、シトロバクター(Citrobacter)属、エンテロバクター(Enterobacter)属、エシェリヒア(Escherichia)属、グルコノバクター(Gluconobacter)属、ストレプトアラテイカス(Streptoallotrichus)属、アニキシエラ(Anixiella)属、コルチシウム(Corticium)属、コリエスポラ(Corynespora)属、ドラトマイセス(Doratomyces)属、ドレッチスレラ(Drechslera)属、ヘルミンソスポリウム(Helminthosporium)属、マクロホミナ(Macrospora)属、ミクロアスカス(Microascus)属、ペリコニア(Periconia)属、スコブラリオプシス(Scopulariopsis)属、スタックニボトリス(Stachybotrys)属、ウエステルディケラ(Westerdykella)属、フィアロフォラ(Phialophora)属、ポドスポラ(Podospora)属、チレチオプシス(Tilletiopsis)属およびグロエオフィラム(Gloeophyllum)属に属する微生物群から選ばれた微生物であり、

(2)前記エナンチオマーのうち(S)体を選択的に低減するかまたは(S)体を(R)体に転化する能力を有する微生物が、トリコスポロン(Trichosporon)属、ゲオトリカム(Geotrichum)属、コリネバクテリウム(Corynebacterium)属、プレビバクテリウム(Brevibacterium)属、グリソマイセス(Glyosomyces)属、サッカロスリックス(Saccharothrix)属、ストレプトマイセス(Streptomyces)属およびペリキュラリア(Pellicularia)属に属する微生物群から選ばれた微生物である光学活性エポキシドの光学純度の増大方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】

本発明は微生物を利用した光学活性エポキシドの製造方法に関する。光学活性エポキシドは、種々の医薬品や光学活性な生理活性物質、およびそれらの誘導体の中間体として重要である。

【0002】

【従来の技術と発明が解決しようとする課題】

従来、光学活性エポキシドの製造方法として、対応するオレフィンから、化学的な不斉エポキシ化により得る方法(J. Chem. Soc., Perkin Trans., 2, 353(1990)等)、および微生物により得る方法(有機合成化学協会誌、第45巻、第2号、第162頁、1987年、等)が知られている。しかし、これらの方法は、経済性、操作性、収率などの点で十分満足できる方法とは言えない。そこで、経済的に優れ、かつ簡便な手段により光学活性エポキシドを製造する方法の確立が望まれている。

【0003】

10

20

30

40

50

したがって、本発明の目的は、簡便且つ効率的に光学活性エポキシドを製造する方法を提供することにある。

【0004】

本発明の他の目的は、光学純度の高い光学活性エポキシドを、工業的に有利に製造できる方法を提供することにある。

【0005】

本発明のさらに他の目的は、簡易な手段により、(S)体または(R)体のエポキシドの光学純度を増大させる方法を提供することにある。

【0006】

【課題を解決するための手段】

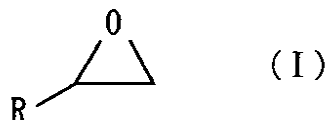
本発明者らは経済的に優れ、且つ簡便な手段で、光学純度の高い光学活性エポキシドを得る方法について鋭意検討した結果、微生物およびその処理物を、エポキシドのエナンチオマー混合物に作用させると、光学純度の高い(S)体または(R)体の光学活性エポキシドが効率的に得られることを見出だし、本発明を完成した。

【0007】

すなわち、本発明は、一般式(I)

【0008】

【化3】



(式中、Rは、アルケニルオキシ基で置換されていてもよいアルキル基、アルケニル基、ハロゲン原子で置換されていてもよいアリール基、またはアラルキル基を示す)

で表されるエポキシドのエナンチオマー混合物から光学活性エポキシドを生成する能力を有する微生物またはその処理物を、前記エポキシドのエナンチオマー混合物に作用させ、生成する光学活性エポキシドを採取する光学活性エポキシドの製造方法を提供する。

【0009】

本発明は、また、前記一般式(I)で表されるエポキシドのエナンチオマー混合物に、(1)前記エナンチオマーのうち(R)体を選択的に低減するかまたは(R)体を(S)体に転化する能力を有する微生物またはその処理物、または(2)前記エナンチオマーのうち(S)体を選択的に低減するかまたは(S)体を(R)体に転化する能力を有する微生物またはその処理物を作用させて、(S)体または(R)体の光学純度を増大させる光学活性エポキシドの光学純度の増大方法であって、

(1)前記エナンチオマーのうち(R)体を選択的に低減するかまたは(R)体を(S)体に転化する能力を有する微生物が、キャンディダ(Candida)属、ロドスポリデウム(Rhodospiridium)属、ロドコッカス(Rhodococcus)属、ノサルデオイデス(Nosardioides)属、サッカロポリスポラ(Saccharopolyspora)属、アセトバクター(Acetobacter)属、シトロバクター(Citrobacter)属、エンテロバクター(Enterobacter)属、エシェリヒア(Escherichia)属、グルコノバクター(Gluconobacter)属、ストレプトアラテイカス(Streptoallateichus)属、アニキシエラ(Anixiella)属、コルチシウム(Corticium)属、コリエスポラ(Coryespora)属、ドラトマイセス(Doratomyces)属、ドレツチスレラ(Drechslera)属、ヘルミンソスポリウム(Helminthosporium)属、マクロホミナ(Macrospora)属、マイクロアスカス(Microascus)属、ペリコニア(Periconia)属、スコブラリオブシス(Scopulariopsis)属、スタクニボトリス(Stacynbotrys)属、ウエステルディケラ(Westerdykella)属、フィアロフォラ(Phialophora)属、ポドスポラ(Podospora)属、チレチオブシス(Tilletiopsis)属およびグロエオフィラム(Gloeophyllum)属に属する微生物群から選ばれた微生物であり、

(2)前記エナンチオマーのうち(S)体を選択的に低減するかまたは(S)体を(R)体に転化する能力を有する微生物が、トリコスポロン(Trichosporon)属、ゲオトリカ

10

20

30

40

50

ム(Geotrichum)属、コリネバクテリウム(Corynebacterium)属、ブレバクテリウム(Brevibacterium)属、グリソマイセス(Glyosomyces)属、サッカロスリックス(Saccharothrix)属、ストレプトマイセス(Streptomyces)属およびペリキュラリア(Pellicularia)属に属する微生物群から選ばれた微生物である光学活性エポキシドの光学純度の増大方法を提供する。

【0010】

前記Rにおけるアルキル基には、例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、s-ブチル、t-ブチル、ペンチル、イソペンチル、ヘキシル、イソヘキシル、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシル、ドデシル基などの炭素数1~12の直鎖状または分岐鎖状のアルキル基等が含まれる。これらのなかでも、好ましいアルキル基には、炭素数1~10の直鎖状または分岐鎖状のアルキル基、特に、炭素数1~6の直鎖状または分岐鎖状のアルキル基などが含まれる。

10

【0011】

Rにおけるアルケニル基には、ビニル、アリル、1-プロペニル、イソプロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル、3-ブテニル、2-メチル-1-プロペニル、4-ペンテニル、5-ヘキセニル、7-オクテニル、9-デセニル基などの炭素数2~12の直鎖状または分岐鎖状のアルケニル基等が含まれる。これらのなかでも、炭素数2~6の直鎖状または分岐鎖状のアルケニル基、とりわけ、炭素数2~4の直鎖状または分岐鎖状のアルケニル基等が好ましい。

Rにおけるシクロアルキル基には、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル基などの炭素数3~10のシクロアルキル基等が含まれる。これらのなかでも、炭素数3~8のシクロアルキル基、特に炭素数5~7のシクロアルキル基などが好ましい。

20

【0012】

Rにおけるアリアル基には、フェニル基、ナフチル基などが含まれる。好ましいアリアル基にはフェニル基が含まれる。

【0013】

Rにおけるアラルキル基には、ベンジル、1-メチルベンジル、2-フェニルエチル、3-フェニルプロピル、4-フェニルブチル、5-フェニルペンチル、6-フェニルヘキシル、1-ナフチルメチル、2-ナフチルメチル、2-(1-ナフチル)エチル基などの炭素数7~18のアラルキル基等が含まれる。好ましいアラルキル基には、ベンジル、1-メチルベンジル、2-フェニルエチル、3-フェニルプロピル、4-フェニルブチル、1-ナフチルメチル、2-ナフチルメチル基などの炭素数7~12のアラルキル基が含まれる。

30

【0014】

Rにおける複素環基には、窒素原子、酸素原子または硫黄原子を含有する5~7員の複素環基などが含まれる。前記複素環には、ベンゼン環、シクロペンタン環、シクロヘキサン環などの炭素数3~7の炭素環等が縮合していてもよい。前記複素環基として、例えば、3-フリル、フルフリル、3-チエニル、3-ピロリル、3-ピロリジニル、2-ピリジル、3-ピリジル、4-ピリジル、3-ピペリジニル、4-ピペリジニル、2-モルホリニル、2-キノリル、3-キノリル、6-キノリル、4-イソキノリル、4-オキサゾリル、4-イソオキサゾリル、4-チアゾリル、1-イミダゾリル、4-イミダゾリル、4-ピラゾリル、2-ピラジニル、5-ピリミジニル、4-ピリダジニル、5-キナゾリニル、3-ベンゾフラニル、1-(2-ピロリドニル)、9-カルバゾリル基などが挙げられる。

40

【0015】

前記アルキル基、アルケニル基、シクロアルキル基、アリアル基、アラルキル基、複素環基は、置換基を有していてもよい。このような置換基としては、ハロゲン原子(フッ素、塩素、臭素、ヨウ素原子)、ヒドロキシル基、メルカプト基、置換または無置換アミノ基(例えば、アミノ、メチルアミノ、ジメチルアミノ、エチルアミノ、ジエチルアミノ基な

50

ど)、ニトロ基、アルコキシ基(例えば、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシ、イソブトキシ、*t*-ブトキシ、ペンチルオキシ、ヘキシルオキシ、オクチルオキシ基等の炭素数1~8のアルコキシ基など)、アルケニルオキシ基(例えば、ビニルオキシ、アリルオキシ、3-ブテニルオキシ、5-ヘキセニルオキシ基等の炭素数2~8のアルケニルオキシ基など)、アリールオキシ基(例えば、フェノキシ、2-メチルフェノキシ、3-メチルフェノキシ、4-メチルフェノキシ、2-アリルフェノキシ、2-クロロフェノキシ、3-クロロフェノキシ、4-クロロフェノキシ、4-メトキシフェノキシ、2-アリルオキシフェノキシ、*n*-ナフチルオキシなどの、炭素数1~4のアルキル基、炭素数1~4のアルコキシ基、ハロゲン原子などの置換基を有していてもよいフェノキシ基、ナフチルオキシ基など)、アラルキルオキシ基(例えば、ベンジルオキシ、2-フェニルエチルオキシ基などの炭素数7~18のアラルキルオキシ基など)、アルキルチオ基(例えば、メチルチオ、エチルチオ、プロピルチオ、イソブチルチオなどの炭素数1~8のアルキルチオ基など)、カルボキシル基、アルコキシカルボニル基(メトキシカルボニル、エトキシカルボニル基等の炭素数2~6のアルコキシカルボニル基など)、置換または無置換のカルバモイル基(例えば、カルバモイル、メチルカルバモイル、ジメチルカルバモイル、ジエチルカルバモイル基など)、シアノ基、アシル基(例えば、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ベンゾイル等の炭素数1~10のアシル基など)などが例示できる。

【0016】

また、前記シクロアルキル基、アリール基、アラルキル基、複素環基は、上記置換基のほか、アルキル基(例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル基等の炭素数1~5のアルキル基など)、アルケニル基(ビニル、アリル基等の炭素数2~5のアルケニル基など)、ハロアルキル基(クロロメチル、2-クロロエチル、トリフルオロメチル、1,1,2,2,2-ペンタフルオロエチル基等の炭素数1~5のハロアルキル基など)などを有していてもよい。

【0017】

これらの置換基のなかでも、前記アルキル基、アルケニル基が有していてもよい置換基として、ヒドロキシル基；炭素数1~8のアルコキシ基；炭素数2~8のアルケニルオキシ基；炭素数1~4のアルキル基、炭素数1~4のアルコキシ基、ハロゲン原子などの置換基を有していてもよいアリールオキシ基；炭素数7~18のアラルキルオキシ基などが好ましい。また、前記シクロアルキル基、アリール基、アラルキル基、複素環基が有していてもよい置換基として、ハロゲン原子、炭素数1~5のアルコキシ基、炭素数1~5のアルキル基、炭素数1~5のハロアルキル基、ニトロ基などが好ましく、特に塩素原子などのハロゲン原子などが好ましい。

【0018】

前記アルキル基等が置換基を有している場合、置換基の数は1または2以上の何れであってもよく、置換基が複数の場合には、その置換基は同一または異なってもよい。

【0019】

前記Rのなかでも、特に、ハロゲン原子、炭素数1~5のアルコキシ基、炭素数1~5のアルキル基、炭素数1~5のハロアルキル基、ニトロ基などの置換基で置換されていてもよいフェニル基などのアリール基、とりわけ、ハロゲン原子などで置換されていてもよいフェニル基などが好ましい。このようなRを有するエポキシドは、抗肥満薬、糖尿病治療薬を得るための合成中間体として極めて有用である[ジャーナル オブ メディシナル ケミストリー(J. Med. Chem)、第35巻、第3081頁(1992年)、および米国特許第5061727号明細書等参照]。

【0020】

前記式(I)で表されるエポキシドには、(1) Rが置換基を有していてもよいアルキル基である化合物、(2) Rが置換基を有していてもよいアルケニル基である化合物、(3) Rが置換基を有していてもよいシクロアルキル基である化合物、(4) Rが置換基を有していてもよいアリール基である化合物、および(5) Rが置換基を有していてもよいアラルキル基

10

20

30

40

50

である化合物、(6) R が置換基を有していてもよい複素環基である化合物が含まれる。

【0021】

前記(1)に含まれる化合物としては、例えば、1,2-エポキシプロパン、1,2-エポキシブタン、1,2-エポキシ-3-メチルブタン、1,2-エポキシペンタン、1,2-エポキシヘキサン、1,2-エポキシヘプタン、1,2-エポキシデカンなどの1,2-エポキシアルカン類；グリシドール、1,2-エポキシ-4-ヒドロキシブタン、1,2-エポキシ-5-ヒドロキシペンタンなどの1,2-エポキシアルカノール類；メチルグリシジルエーテル、エチルグリシジルエーテル、プロピルグリシジルエーテル、ブチルグリシジルエーテル、ピニルグリシジルエーテル、アリルグリシジルエーテル、フェニルグリシジルエーテル、o-メチルフェニルグリシジルエーテル、m-メチルフェニルグリシジルエーテル、p-メチルフェニルグリシジルエーテル、o-アリロキシフェニルグリシジルエーテル、ベンジルグリシジルエーテル、n-ナフチルグリシジルエーテルなどのグリシジルエーテル類などが挙げられる。

10

【0022】

前記(2)に含まれる化合物としては、例えば、3,4-エポキシ-1-ブテン、4,5-エポキシ-1-ペンテン、4,5-エポキシ-2-ペンテン、5,6-エポキシ-1-ヘキセン、7,8-エポキシ-1-オクテンなどのエポキシアルケン類が例示できる。

【0023】

前記(3)に含まれる化合物としては、例えば、2-シクロプロピルオキシラン、2-シクロペンチルオキシラン、2-シクロヘキシルオキシラン、2-シクロヘプチルオキシランなどの2-シクロアルキルオキシラン類等が挙げられる。

20

【0024】

前記(4)に含まれる化合物としては、例えば、スチレンオキシド；2-クロロスチレンオキシド、3-フルオロスチレンオキシド、3-クロロスチレンオキシド、3-ブモスチレンオキシド、4-クロロスチレンオキシド、2,3-ジフルオロスチレンオキシド、2,3-ジクロロスチレンオキシド、3-クロロ-2-メチルスチレンオキシド、2,4-ジクロロスチレンオキシド、2,5-ジクロロスチレンオキシド、2,6-ジクロロスチレンオキシド、3,4-ジフルオロスチレンオキシド、3,4-ジクロロスチレンオキシド、3,5-ジクロロスチレンオキシド、2,3,4-トリフルオロスチレンオキシド、2,3,4-トリクロロスチレンオキシド、2,3,5-トリクロロスチレンオキシド、2,3,6-トリクロロスチレンオキシド、2,4,5-トリクロロスチレンオキシド、2,4,6-トリクロロスチレンオキシド、3,4,5-トリクロロスチレンオキシド、2,3,4,5-テトラクロロスチレンオキシド、2,3,4,6-テトラクロロスチレンオキシド、2,3,5,6-テトラクロロスチレンオキシド、2,3,4,5,6-ペンタクロロスチレンオキシドなどのベンゼン環にハロゲン原子を有するスチレンオキシド類；2-メチルスチレンオキシド、3-メチルスチレンオキシド、4-メチルスチレンオキシド、4-t-ブチルスチレンオキシドなどのベンゼン環に炭素数1~5のアルキル基を有するスチレンオキシド類；2-クロロメチルスチレンオキシド、3-トリフルオロメチルスチレンオキシドなどのベンゼン環に炭素数1~5のハロアルキル基を有するスチレンオキシド類；2-メトキシスチレンオキシド、3-メトキシスチレンオキシド、4-エトキシスチレンオキシドなどのベンゼン環に炭素数1~5のアルコキシ基を有するスチレンオキシド類；3-ニトロスチレンオキシド等のスチレンオキシド類、および1,2-エポキシ-2-(1-ナフチル)エタン、1,2-エポキシ-2-(2-ナフチル)エタンなどの1,2-エポキシ-2-ナフチルエタン類等が例示できる。前記(4)に含まれる化合物のなかでも、前記スチレンオキシド、およびハロゲン原子を1~5個有するスチレンオキシド類などを用いる場合が多い。

30

40

【0025】

前記(5)に含まれる化合物としては、例えば、2,3-エポキシプロピルベンゼン、1-(2,3-エポキシプロピル)-2-メチルベンゼン、1-クロロ-3-(2,3-エポキシプロピル)ベンゼン、3,4-エポキシブチルベンゼン、1-クロロ-3-(3,4

50



- エポキシブチル)ベンゼン、4, 5 - エポキシペンチルベンゼン、5, 6 - エポキシヘキシルベンゼン、1 - (2, 3 - エポキシプロピル)ナフタレン、2 - (2, 3 - エポキシプロピル)ナフタレン、1 - (3, 4 - エポキシブチル)ナフタレンなどのエポキシアルキルアレーン類が例示できる。

【0026】

前記(6)に含まれる化合物としては、例えば、3 - (2 - オキシラニル)フラン、3 - (2 - オキシラニル)ピロール、2 - (2 - オキシラニル)ピリジン、3 - (2 - オキシラニル)ピリジン、4 - (2 - オキシラニル)ピリジン、2 - (2 - オキシラニル)キノリン、6 - (2 - オキシラニル)キノリン、1 - (2 - オキシラニル)イミダゾール、1 - (2 - オキシラニル) - 2 - ピロリドン、3 - (2 - オキシラニル)ピペリジン、2 - (2 - オキシラニル)ピラジン、9 - (2 - オキシラニル)カルバゾールなどが例示できる。

10

【0027】

前記微生物は、前記一般式(I)で表されるエポキシドのエナンチオマー混合物から光学活性エポキシドを生成する能力を有する微生物であればよい。このような微生物には、前記エポキシドの両エナンチオマーのうち、一方のエナンチオマーを、資化またはエポキシ環の開環などにより選択的に低減する微生物、および一方のエナンチオマーを選択的に他の化合物(他方のエナンチオマーを含む)に転化する微生物が含まれる。

【0028】

前記能力を有する微生物としては、前記一般式(I)で表されるエポキシドのエナンチオマー混合物から(S)体の光学活性エポキシドを生成する能力を有する微生物、例えば、キャンディダ(Candida)属、ロドスポリデウム(Rhodosporidium)属、ロドコッカス(Rhodococcus)属、セラチア(Serratia)属、アスペルギルス(Aspergillus)属、ノサルデオイデス(Nosardioides)属、サッカロポリスポラ(Saccharopolyspora)属、バチラス(Bacillus)属、アセトバクター(Acetobacter)属、シトロバクター(Citrobacter)属、エンテロバクター(Enterobacter)属、エシェリヒア(Escherichia)属、マイクロコッカス(Micrococcus)属、シュードモナス(Pseudomonas)属、グルコノバクター(Gluconobacter)属、ストレプトアラテイカス(Streptoallateichus)属、アニキシエラ(Anixiella)属、コルチシウム(Corticium)属、コリエスポラ(Corynespora)属、ドラトマイセス(Doratomyces)属、ドレツクスレラ(Drechslera)属、ヘルミンソスポリウム(Helminthosporium)属、マクロホミナ(Macrospora)属、マイクロアスカス(Microascus)属、ペリコニア(Periconia)属、スコプラリオプシス(Scopulariopsis)属、スタックニョボトリス(Stachybotrys)属、ウエステルディケラ(Westerdykella)属、フィアロフォラ(Phialophora)属、ポドスポラ(Podospora)属、チレチオプシス(Tilletiopsis)属およびグロエオフィリウム(Gloeophyllum)属に属する微生物群から選ばれた微生物等であって、一般式(I)で表されるエポキシドのエナンチオマー混合物から(S)体の光学活性エポキシドを生成する能力を有する微生物；および、一般式(I)で表されるエポキシドのエナンチオマー混合物から(R)体の光学活性エポキシドを生成する能力を有する微生物、例えば、トリコスポロン(Trichosporon)属、ゲオトリカム(Geotrichum)属、バチラス(Bacillus)属、コリネバクテリウム(Corynebacterium)属、マイクロコッカス(Micrococcus)属、ブレヴィバクテリウム(Brevibacterium)属、シュードモナス(Pseudomonas)属、セラチア(Serratia)属、アスペルギルス(Aspergillus)属、グリソマイセス(Glycosomyces)属、サッカロスリックス(Saccharothrix)属、ストレプトマイセス(Streptomyces)属およびペリキュラリア(Pellicularia)属に属する微生物群から選ばれた微生物等であって、一般式(I)で表されるエポキシドのエナンチオマー混合物から(R)体の光学活性エポキシドを生成する能力を有する微生物が挙げられる。

20

30

40

【0029】

具体的には、一般式(I)で表されるエポキシドのエナンチオマー混合物から(S)体の光学活性エポキシドを生成する能力を有する微生物として、例えば、次のような微生物が挙げられる。

50

## 【 0 0 3 0 】

( 1 ) キャンディダ (Candida) 属 : キャンディダ・パラブシロシス (Candida parapsilosis) I F O 1 0 6 8、キャンディダ・ファマタ (Candida famata) I F O 0 8 5 6 など、

( 2 ) ロドスポリデウム (Rhodosporidium) 属 : ロドスポリデウム・トルロイデス (Rhodosporidium toruloides) I F O 1 5 3 5 など、

( 3 ) ロドコッカス (Rhodococcus) 属 : ロドコッカス・ルブロペルチンクタス (Rhodococcus rubropertinctus) I F M 0 0 3 3、ロドコッカス・コプロフィラス (Rhodococcus coprophilus) I F M 0 1 4 3、ロドコッカス・エリスロポリス (Rhodococcus erythropolis) J C M 6 8 2 3 など、

( 4 ) セラチア (Serratia) 属 : セラチア・プリムシカム (Serratia plymuthicum) I F O 3 0 5 5、セラチア・マルセッセンス (Serratia marcescens) A H U 1 7 2 0 など、

( 5 ) アスペルギルス (Aspergillus) 属 : アスペルギルス・ニガー (Aspergillus niger) A T C C 6 2 7 5 など、

( 6 ) ノサルデオイデス (Nosardioides) 属 : ノサルデオイデス・フラバス (Nosardioides flavus) I F O 1 4 3 9 6 など、

( 7 ) サッカロポリスポラ (Saccharopolyspora) 属 : サッカロポリスポラ・ヒラスト (Saccharopolyspora hirasta) I F O 1 3 9 1 9 など、

( 8 ) バチラス (Bacillus) 属 : バチラス・ズブチリス (Bacillus subtilis) I F O 3 1 0 8、バチラス・セレウス (Bacillus cereus) A H U 1 3 5 5 など、

( 9 ) アセトバクター (Acetobacter) 属 : アセトバクター・パステウリアナス (Acetobacter pasteurianus) A T C C 1 0 2 4 5、アセトバクター・アセチ・サブスピーシーズ・キシリナム (Acetobacter aceti subsp xylinum) I F O 3 2 8 8 など、

( 1 0 ) シトロバクター (Citrobacter) 属 : シトロバクター・フレウンディ (Citrobacter freundii) A H U 1 5 3 4 など、

( 1 1 ) エンテロバクター (Enterobacter) 属 : エンテロバクター・エアロゲネス (Enterobacter aerogenes) A H U 1 3 4 0、エンテロバクター・クロアセー (Enterobacter cloacae) I A M 1 6 1 5 など、

( 1 2 ) エシェリヒア (Escherichia) 属 : エシェリヒア・コリ (Escherichia coli) A H U 1 5 2 0 など、

( 1 3 ) ミクロコッカス (Micrococcus) 属 : ミクロコッカス・ルテウス (Micrococcus luteus) A H U 1 4 2 7 など、

( 1 4 ) シュードモナス (Pseudomonas) 属 : シュードモナス・プチダ (Pseudomonas putida) I F O 3 7 3 8 など、

( 1 5 ) グルコノバクター (Gluconobacter) 属 : グルコノバクター・セリナス (Gluconobacter cerinus) I F O 3 2 6 4 など、

( 1 6 ) ストレプトアラテイカス (Streptoallateichus) 属 : ストレプトアラテイカス・ヒンダスタナス (Streptoallateichus hindustanus) I F O 1 4 0 5 6 など、

( 1 7 ) アニキシエラ (Anixiella) 属 : アニキシエラ・レチキュラタ (Anixiella reticulata) I F O 5 8 1 4 など、

( 1 8 ) コルチシウム (Corticium) 属 : コルチシウム・ロルフシー (Corticium rolfsii) I F O 4 4 7 6 など、

( 1 9 ) コリエスポラ (Coryespora) 属 : コリエスポラ・カシジコラ (Coryespora cassijicola) I F O 6 7 2 4 など、

( 2 0 ) ドラトマイセス (Doratomyces) 属 : ドラトマイセス・ステモニチス (Doratomyces stemonitis) I F O 5 8 7 8 など、

( 2 1 ) ドレッチスレラ (Drechslera) 属 : ドレッチスレラ・アベナエ (Drechslera avenae) I F O 6 6 3 6 など、

( 2 2 ) ヘルミンソスポリウム (Helminthosporium) 属 : ヘルミンソスポリウム・シグモ 50

イデウム・バライティ・イレグル (*Helminthosporium sigmoideum* var *irregul*) I F O 5 2 7 3 など、

( 2 3 ) マクロホミナ (*Macrophomina*) 属: マクロホミナ・ファセオリ (*Macrophomina phaseoli*) I F O 6 6 9 6 など、

( 2 4 ) ミクロアスカス (*Microascus*) 属: ミクロアスカス・デスモスポラス (*Microascus desmosporus*) I F O 6 7 6 1 など、

( 2 5 ) ペリコニア (*Periconia*) 属: ペリコニア・ビソイデス (*Periconia byssoides*) I F O 9 4 4 4 など、

( 2 6 ) スコブラリオプシス (*Scopulariopsis*) 属: スコブラリオプシス・ブレピカウリス (*Scopulariopsis brevicaulis*) I F O 4 8 4 3 など、

( 2 7 ) スタックニボトリス (*Stacynobotrys*) 属: スタックニボトリス・チャルタルム (*Stacynobotrys chartarum*) I F O 5 3 6 9 など、

( 2 8 ) ウエステルディケラ (*Westerdykella*) 属: ウエステルディケラ・ムルチスポラ (*Westerdykella multispora*) I F O 5 8 1 3 など、

( 2 9 ) フィアロフォラ (*Phialophora*) 属: フィアロフォラ・ペドロソイ (*Phialophora pedrosoi*) I F O 6 0 7 1 など、

( 3 0 ) ポドスポラ (*Podospora*) 属: ポドスポラ・カルドナリア (*Podospora cardonaria*) I F O 3 0 2 9 4 など、

( 3 1 ) チレチオプシス (*Tilletiopsis*) 属: チレチオプシス・クレメア (*Tilletiopsis cremea*) I F O 6 8 3 1 など、

( 3 2 ) グロエオフィラム (*Gloeophyllum*) 属: グロエオフィラム・ストリアタム (*Gloeophyllum striatum*) I F O 6 5 0 6 など

これらの微生物は少なくとも一種使用される。これらの微生物またはその処理物を、前記一般式 ( I ) で表されるエポキシドのエナンチオマー混合物に作用させると、両エナンチオマーのうち ( R ) 体が選択的に低減されるかまたは他の化合物 ( ( S ) 体を含む ) に変換されるため、( S ) 体の光学純度が増大する。そのため、前記微生物により、( S ) 体の光学活性エポキシドを収率よく得ることができる。

#### 【 0 0 3 1 】

一方、一般式 ( I ) で表されるエポキシドのエナンチオマー混合物から ( R ) 体の光学活性エポキシドを生成する能力を有する微生物として、例えば、次のような微生物が挙げられる。

#### 【 0 0 3 2 】

( 3 3 ) トリコスポロン (*Trichosporon*) 属: トリコスポロン・クタネウム (*Trichosporon cutaneum*) I F O 1 1 9 8 など、

( 3 4 ) ゲオトリカム (*Geotrichum*) 属: ゲオトリカム・カンディダム (*Geotrichum candidum*) J C M 7 3 8 9、ゲオトリカム・フラグランシ (*Geotrichum fragrans*) J C M 2 4 5 0 など、

( 3 5 ) バチラス (*Bacillus*) 属: バチラス・スファエリカス (*Bacillus sphaericus*) I F O 3 3 4 1 など、

( 3 6 ) コリネバクテリウム (*Corynebacterium*) 属: コリネバクテリウム・グルタミカム (*Corynebacterium glutamicum*) A T C C 1 3 0 3 2 など、

( 3 7 ) ミクロコッカス (*Micrococcus*) 属: ミクロコッカス・ルーテウス (*Micrococcus luteus*) I F O 1 2 9 9 2 など、

( 3 8 ) ブレピバクテリウム (*Brevibacterium*) 属: ブレピバクテリウム・リネンス (*Brevibacterium linens*) I F O 1 2 1 4 1 など、

( 3 9 ) シュードモナス (*Pseudomonas*) 属: シュードモナス・アエルギノサ (*Pseudomonas aeruginosa*) I F O 3 4 5 2 など、

( 4 0 ) セラチア (*Serratia*) 属: セラチア・マルセッセンス (*Serratia marcescens*) I A M 1 1 0 5 など、

( 4 1 ) アスペルギルス (*Aspergillus*) 属: アスペルギルス・オリゼー・バライティ・マ

10

20

30

40

50

グナスポラス (*Aspergillus oryzae* var *magnasporus*) I A M 2750、アスペルギルス・ソジャー (*Aspergillus sojae*) I A M 2631 など、  
 (42) グリソマイセス (*Glyosomyces*) 属: グリソマイセス・ルツゲルセンシス (*Glyosomyces rutgersensis*) I F O 14488 など、  
 (43) サッカロスリックス (*Saccharothrix*) 属: サッカロスリックス・アウストラリエンシス (*Saccharothrix australiensis*) I F O 14444 など、  
 (44) ストレプトマイセス (*Streptomyces*) 属: ストレプトマイセス・アルボスポレウス (*Streptomyces albosporeus*) H U T 6130 など、  
 (45) ペリキュラリア (*Pellicularia*) 属: ペリキュラリア・フィラメントサ (*Pellicularia filamentosa*) I F O 6254 など

10

これらの微生物は少なくとも一種使用される。これらの微生物またはその処理物を、前記一般式 (I) で表されるエポキシドのエナンチオマー混合物に作用させると、両エナンチオマーのうち (S) 体が選択的に低減されるかまたは他の化合物 ((R) 体を含む) に変換されるため、(R) 体の光学純度が増大する。そのため、前記微生物により、(R) 体の光学活性エポキシドを収率よく得ることができる。

## 【0033】

なお、I F O 番号の付された微生物は、(財)発酵研究所 (I F O) が発行した「List of cultures、第8版 (1988)」に記載されており、該 I F O から入手することができる。J C M 番号の付された微生物は、理化学研究所微生物系保存施設が発行した「微生物株カタログ第4版 (1989年)」に記載されており、該保存施設から入手することができる。A T C C 番号の付された微生物は、American Type Culture Collection (A T C C) が発行した「Catalogue of Bacteria Phages rDNA Vectors、第16版 (1985)」および「Catalogue of Fungi/Yeast、第17版 (1987)」に記載されており、該 A T C C から入手することができる。A H U 番号の付された微生物は、日本微生物株保存連盟 (J F C C) が発行した「Catalogue of cultures、第5版 (1992)」に記載されており、北海道大学農学部から入手することができる。また、I A M 番号の付された微生物は東京大学応用微生物研究所、I F M 番号の付された微生物は千葉大学、H U T 番号の付された微生物は広島大学からそれぞれ入手することができる。

20

## 【0034】

本発明で使用する微生物は、前記一般式 (I) で表されるエポキシドのエナンチオマー混合物から、光学活性エポキシドを生成する能力を有する限り、野生株、変異株、または細胞融合もしくは遺伝子操作法等の遺伝子的手法により誘導される組換え株など、何れの株でも用いることができる。

30

## 【0035】

微生物は、通常、培地で培養して前記一般式 (I) で表されるエポキシドのエナンチオマー混合物との反応に供される。

## 【0036】

本発明に用いる微生物を培養するための培地は、微生物が増殖し得る培地であれば特に制限はない。培地は、通常、炭素源、窒素源その他の栄養源を含む液体培地であることが多い。培地の炭素源としては、上記微生物が利用可能であればいずれも使用でき、具体的には、例えば、グルコース、フルクトース、シュクロース、デキストリン、デンプンなどの糖類；ソルビトール、メタノール、エタノール、グリセロールなどのアルコール類；フマル酸、クエン酸、酢酸、プロピオン酸などの有機酸類及びその塩類；パラフィンなどの炭化水素類；これらの混合物などが使用できる。窒素源としては、例えば、塩化アンモニウム、硫酸アンモニウム、リン酸アンモニウムなどの無機酸のアンモニウム塩；フマル酸アンモニウム、クエン酸アンモニウムなどの有機酸のアンモニウム塩；肉エキス、酵母エキス、麦芽エキス、ペプトン、コーンステープリカー、カゼイン加水分解物、尿素などの無機又は有機含窒素化合物；これらの混合物が使用できる。培地には、無機塩、微量金属塩、ビタミン類などの通常の培養に用いられる栄養源を適宜添加してもよい。また、必要に応じて、培地には、微生物の増殖を促進する因子、培地の pH 保持に有効な緩衝物質、

40

50

本発明の目的化合物の生成能力を高める因子、例えば前記一般式 ( I ) で表されるエポキシドなどを添加してもよい。

【 0 0 3 7 】

微生物の培養は、生育に適した条件下、例えば、培地の pH 3 . 0 ~ 9 . 5、好ましくは 4 ~ 8、温度 2 0 ~ 4 5、好ましくは 2 5 ~ 3 7 で行うことができる。微生物の培養は、嫌氣的又は好氣的条件下で行うことができる。培養時間は、例えば、5 ~ 1 2 0 時間、好ましくは 1 2 ~ 7 2 時間程度である。

【 0 0 3 8 】

前記一般式 ( I ) で表されるエポキシドのエナンチオマー混合物における ( R ) 体と ( S ) 体との割合は特に制限されないが、一般式 ( I ) で表されるエポキシドのラセミ体を用いるのが工業的に有利である。

10

【 0 0 3 9 】

前記一般式 ( I ) で表されるエポキシドのエナンチオマー混合物から対応する光学活性なエポキシドを生成させる方法としては、例えば、(1) 培養液に前記エポキシドのエナンチオマー混合物を添加して反応させる方法、(2) 培養液から遠心分離などにより分離した菌体を、そのまま又は洗浄した後、緩衝液、水などに再懸濁し、得られた菌体を含む懸濁液に、前記エポキシドのエナンチオマー混合物を添加し反応させる方法、(3) 生菌体ではなく、菌体処理物、例えば、菌体破砕物、アセトン処理、凍結乾燥などの処理を施した処理物と前記エポキシドのエナンチオマー混合物とを反応させる方法、(4) 前記菌体または菌体処理物を、例えば、ポリアクリルアミドゲル法、含硫多糖ゲル法 (カラギーナンゲル法など)、アルギン酸ゲル法、寒天ゲル法などの慣用の方法で固定化し、前記エポキシドのエナンチオマー混合物と反応させる方法などが挙げられる。さらに、菌体処理物から取得した酵素も使用できる。前記酵素は、慣用の方法を適宜組み合わせることで精製することにより得ることができる。

20

【 0 0 4 0 】

反応の際、エネルギー源として、グルコース、シュクロース、エタノール、メタノール、パラフィンなどの炭素源を添加すると、目的の光学活性エポキシドの収率が向上する場合がある。

【 0 0 4 1 】

前記エポキシドのエナンチオマー混合物は、そのまま使用してもよく、溶媒を含む溶液、懸濁又は分散液として使用してもよい。前記溶媒としては、水、反応に悪影響を及ぼさない有機溶媒が使用できる。懸濁又は分散液では、界面活性剤などを必要に応じて使用できる。エポキシドのエナンチオマー混合物は、反応当初から反応系に一括して存在させてもよく、反応系に分割して添加してもよい。

30

【 0 0 4 2 】

菌体量は、目的化合物の光学純度、生成速度が低下しない範囲で適宜選択できる。1つの例において、菌体濃度は、乾燥菌体として、例えば 0 . 1 ~ 1 0 0 g / L、好ましくは 1 ~ 5 0 g / L 程度である。基質である前記エポキシドのエナンチオマー混合物の使用濃度は、特に制限されないが、例えば 0 . 1 ~ 2 0 重量%、好ましくは 0 . 2 ~ 1 0 重量%程度である。

40

【 0 0 4 3 】

反応条件は、目的化合物の生成を損なわない範囲で選択できる。反応系の pH は、例えば、pH 3 ~ 9、好ましくは pH 4 ~ 8 程度、反応温度は、例えば、1 0 ~ 6 0、好ましくは 2 0 ~ 4 0 程度である。前記反応は、攪拌下または静置下、1 ~ 1 2 0 時間程度行うことができる。反応時間が長いと、目的化合物の光学純度が高くなる場合が多い。

【 0 0 4 4 】

反応によって生成した光学活性エポキシドは、慣用の分離精製手段により採取できる。例えば、反応液から直接又は菌体を分離した後、膜分離、有機溶媒 (例えば、ヘキサン、クロロホルム、酢酸エチルなど) による抽出、カラムクロマトグラフィー、減圧濃縮、蒸溜などの通常の精製方法に供することにより、光学活性エポキシドを容易に得ることができ

50

る。なお、光学活性エポキシドの光学純度は、例えば、光学異性体分離カラムを用いた高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により測定できる。

【0045】

【発明の効果】

本発明の製造方法によれば、微生物又はその処理物の作用により、光学活性エポキシドを簡便かつ効率よく製造することができる。また、光学純度の高い光学活性エポキシドを工業的に有利に製造することができる。

【0046】

【実施例】

以下に、実施例に基いて本発明をより詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例のみに限定されるものではない。 10

【0047】

なお、実施例において、各エポキシドの定量は、ガスクロマトグラフィー（カラム：サーモン3000、クロモゾルブ W、2 m、カラム温度140）により行った。また、光学純度の測定は、反応液をn-ヘキサンで抽出し、得られた抽液（n-ヘキサン層）を、光学分割カラムを用いた高速液体クロマトグラフィー〔カラム：ダイセル化学工業（株）製、商品名：キラルセルOB、移動相：n-ヘキサン/イソプロパノール=99.9/0.1、波長254 nm、流速1 ml/分〕に付すことにより行った。

【0048】

実施例1～5 4

下記組成の菌体調製用培地(1)および(2)を調製した。 20

【0049】

〔菌体調製用培地(1)：酵母用〕

グルコース	2.0 重量%
酵母エキス	0.3 重量%
麦芽エキス	0.3 重量%
ポリペプトン	0.5 重量%
脱イオン水	96.9 重量%

(pH 6.0)

〔菌体調製用培地(2)：細菌用〕 30

グルコース	2.0 重量%
酵母エキス	0.5 重量%
肉エキス	0.3 重量%
ポリペプトン	0.3 重量%
硫酸アンモニウム	0.2 重量%
リン酸二水素一カリウム	0.1 重量%
脱イオン水	96.6 重量%

(pH 7.0)

上記の菌体調製用培地5 mlを内径21 mmの試験管に入れ、滅菌後、下記の微生物を、酵母については前記培地(1)、細菌については前記培地(2)にそれぞれ植菌し、30 40  
で48時間振盪培養を行った。続いて遠心分離により菌体を分離し、生菌体を得た。

【0050】

実施例1：キャンディダ・パラブシロス(Candida parapsilosis) IFO 1068

実施例2：キャンディダ・ファマタ(Candida famata) IFO 0856

実施例3：ロドスポリデウム・トルロイデス(Rhodospiridium toruloides) IFO 1535

実施例4：ロドコッカス・ルプロペルチンクタス(Rhodococcus rubropertinctus) IFM 0033

実施例5：ロドコッカス・コプロフィラス(Rhodococcus coprophilus) IFM 0143

実施例6：ロドコッカス・エリスロポリス(Rhodococcus erythropolis) JCM 6823 50

- 実施例 7 : セラチア・フィリムシカム (*Serratia plymuthicum*) I F O 3 0 5 5  
 実施例 8 : セラチア・マルセッセンス (*Serratia marcescens*) A H U 1 7 2 0  
 実施例 9 : アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*) A T C C 6 2 7 5  
 実施例 10 : ノサルデオイデス・フラバス (*Nosardioides flavus*) I F O 1 4 3 9 6  
 実施例 11 : サッカロポリスボラ・ヒラスト (*Saccharopolyspora hirasta*) I F O 1 3 9 1 9  
 実施例 12 : バチラス・ズブチリス (*Bacillus subtilis*) I F O 3 1 0 8  
 実施例 13 : バチラス・セレウス (*Bacillus cereus*) A H U 1 3 5 5  
 実施例 14 : アセトバクター・パステウリアナス (*Acetobacter pasteurianus*) A T C C 1 0 2 4 5 10  
 実施例 15 : アセトバクター・アセチ・サブスピーシーズ・キシリナム (*Acetobacter acetii subsp xylinum*) I F O 3 2 8 8  
 実施例 16 : シトロバクター・フレウンディ (*Citrobacter freundii*) A H U 1 5 3 4  
 実施例 17 : エンテロバクター・エアロゲネス (*Enterobacter aerogenes*) A H U 1 3 4 0  
 実施例 18 : エンテロバクター・クロアセー (*Enterobacter cloacae*) I A M 1 6 1 5  
 実施例 19 : エシェリヒア・コリ (*Escherichia coli*) A H U 1 5 2 0  
 実施例 20 : ミクロコッカス・ルテウス (*Micrococcus luteus*) A H U 1 4 2 7  
 実施例 21 : シュードモナス・プチダ (*Pseudomonas putida*) I F O 3 7 3 8  
 実施例 22 : グルコノバクター・セリナス (*Gluconobacter cerinus*) I F O 3 2 6 4 20  
 実施例 23 : ストレプトアラテイカス・ヒンダスタナス (*Streptoallateichus hindustanus*) I F O 1 4 0 5 6  
 実施例 24 : アニキシエラ・レチキュラタ (*Anixiella reticulata*) I F O 5 8 1 4  
 実施例 25 : コルチシウム・ロルフシー (*Corticium rolfsii*) I F O 4 4 7 6  
 実施例 26 : コリエスポラ・カシジコラ (*Corynespora cassijicola*) I F O 6 7 2 4  
 実施例 27 : ドラトマイセス・ステモニチス (*Doratomyces stemonitis*) I F O 5 8 7 8  
 実施例 28 : ドレッチスレラ・アベナエ (*Drechslera avenae*) I F O 6 6 3 6  
 実施例 29 : ヘルミンソスポリウム・シグモイデウム・バライティ・イレグル (*Helminthosporium sigmoideum var irregul*) I F O 5 2 7 3 30  
 実施例 30 : マクロホミナ・ファセオリ (*Macrophomina phaseoli*) I F O 6 6 9 6  
 実施例 31 : ミクロアスカス・デスモスポラス (*Microascus desmosporus*) I F O 6 7 6 1  
 実施例 32 : ペリコニア・ビソイデス (*Periconia byssoides*) I F O 9 4 4 4  
 実施例 33 : スコプラリオプシス・ブレピカウリス (*Scopulariopsis brevicaulis*) I F O 4 8 4 3  
 実施例 34 : スタックニイボトリス・チャルタルム (*Stacnybotrys chartarum*) I F O 5 3 6 9  
 実施例 35 : ウエステルディケラ・ムルチスポラ (*Westerdykella multispora*) I F O 5 8 1 3 40  
 実施例 36 : フィアロフォラ・ペドロソイ (*Phialophora pedrosoi*) I F O 6 0 7 1  
 実施例 37 : ポドスポラ・カルドナリア (*Podospora cardonaria*) I F O 3 0 2 9 4  
 実施例 38 : チレチオプシス・クレメア (*Tilletiopsis cremea*) I F O 6 8 3 1  
 実施例 39 : グロエオフィラム・ストリアタム (*Gloeophyllum striatum*) I F O 6 5 0 6  
 実施例 40 : トリコスポロン・クタネウム (*Trichosporon cutaneum*) I F O 1 1 9 8  
 実施例 41 : ゲオトリカム・カンディダム (*Geotrichum candidum*) J C M 7 3 8 9  
 実施例 42 : ゲオトリカム・フラグラン (*Geotrichum fragrans*) J C M 2 4 5 0  
 実施例 43 : バチラス・スファエリカス (*Bacillus sphaericus*) I F O 3 3 4 1  
 実施例 44 : コリネバクテリウム・グルタミカム (*Corynebacterium glutamicum*) A T C C 50

1 3 0 3 2

実施例 4 5 : ミクロコッカス・ルーテウス (*Micrococcus luteus*) I F O 1 2 9 9 2実施例 4 6 : プレビバクテリウム・リネンス (*Brevibacterium linens*) I F O 1 2 1 4  
1実施例 4 7 : シュードモナス・アエルギノサ (*Pseudomonas aeruginosa*) I F O 3 4 5 2実施例 4 8 : セラチア・マルセッセンス (*Serratia marcescens*) I A M 1 1 0 5実施例 4 9 : アスペルギルス・オリゼー・バライティ・マグナスポラス (*Aspergillus oryzae* var *magnasporus*) I A M 2 7 5 0実施例 5 0 : アスペルギルス・ソジャー (*Aspergillus sojae*) I A M 2 6 3 1実施例 5 1 : グリソマイセス・ルツゲルセンシス (*Glyosomyces rutgersensis*) I F O 10  
1 4 4 8 8実施例 5 2 : サッカロスリックス・アウストラリエンシス (*Saccharothrix australiensis*) I F O 1 4 4 4 4実施例 5 3 : ストレプトマイセス・アルボスポレウス (*Streptomyces albosporus*) H U  
T 6 1 3 0実施例 5 4 : ペリキュラリア・フィラメントサ (*Pellicularia filamentosa*) I F O 6  
2 5 4次に、内径 2 1 m m の試験管に、0 . 1 M リン酸カリウム緩衝液 ( p H 7 . 0 ) 2 . 5  
m l を入れ、これに上記で得られた生菌体 ( 乾燥菌体換算で約 1 0 ~ 3 0 m g / m l ) を  
懸濁した後、3 - クロロスチレンオキシドのラセミ体 1 2 . 5  $\mu$  l を添加し、3 0 で 4 20  
8 時間往復振盪して反応させた。

## 【 0 0 5 1 】

反応終了後、反応液 1 m l に n - ヘキサン 2 m l を添加して抽出を行い、n - ヘキサン層  
をガスクロマトグラフィーに付し、残存する 3 - クロロスチレンオキシドを定量した。ま  
た、前記 n - ヘキサン層を高速液体クロマトグラフィーに付して、得られた光学活性 3 -  
クロロスチレンオキシドの絶対配置及び光学純度を測定した。結果を表 1 ~ 3 に示す。な  
お、表中、「量」は、反応液中に含まれる光学活性 3 - クロロスチレンオキシドの量 ( m  
g / m l ) を示す。

## 【 0 0 5 2 】

## 【 表 1 】



表 1

実施例	絶対配置	光学純度 (% ee)	量 (mg/ml)
1	S	18	1.2
2	S	24	0.8
3	S	28	2.0
4	S	77	0.3
5	S	64	1.5
6	S	12	2.4
7	S	18	0.3
8	S	14.6	2.50
9	S	98	0.5
10	S	10.1	0.23
11	S	34.6	0.50
12	S	16.1	2.47
13	S	25.5	4.92
14	S	15.5	2.52
15	S	31.4	0.01
16	S	20.5	3.43
17	S	19.7	3.39
18	S	18.5	1.75
19	S	27.9	1.84
20	S	10.1	1.62

10

20

30

40

【0053】

【表2】

表 2

実施例	絶対配置	光学純度 (% ee)	量 (mg/ml)
21	S	18.3	1.66
22	S	10.0	0.84
23	S	12.4	1.31
24	S	10.4	0.49
25	S	11.9	1.15
26	S	11.4	0.47
27	S	12.1	0.94
28	S	12.1	0.99
29	S	11.5	1.11
30	S	100.0	0.05
31	S	12.8	0.29
32	S	11.4	0.93
33	S	12.2	0.32
34	S	12.4	0.75
35	S	11.9	0.82
36	S	19.3	0.37
37	S	22.8	1.65
38	S	14.2	3.86
39	S	10.3	4.39

10

20

30

【0054】

【表3】

40

表3

実施例	絶対配置	光学純度 (% e e)	量 (mg/ml)
40	R	24	0.9
41	R	28	0.3
42	R	15	0.2
43	R	18	0.7
44	R	16	0.5
45	R	13	0.6
46	R	14	0.6
47	R	41	0.4
48	R	14	0.4
49	R	100	0.1
50	R	100	0.1
51	R	15.3	0.09
52	R	10.6	0.72
53	R	29.7	0.15
54	R	43.7	1.20

10

20

30

## 実施例55~72

3-クロロステレンオキシドに代えて、以下の反応基質（何れもラセミ体）を用いると共に、下記の微生物A、BまたはCを用いる以外は、実施例1~54と同様の操作で反応を行った。

## 【0055】

## [反応基質]

実施例55~57：グリシドール

実施例58~60：アリルグリシジルエーテル

実施例61~63：3,4-エポキシ-1-ブテン

実施例64~66：1,2-エポキシヘキサン

実施例67~69：2,3-エポキシプロピルベンゼン

実施例70~72：ステレンオキシド

## [微生物]

A：アスペルギルス・オリゼー・バライティ・マグナスポラス (Aspergillus oryzae var magnasporus) IAM 2750

B：アスペルギルス・ニガー (Aspergillus niger) ATCC 6275

C：ロドコッカス・ルプロペルチンクタス (Rhodococcus rubropertinctus) IFM 0033

40

50

反応終了後、実施例 1 ~ 54 と同様にして、各エポキシドの定量および光学活性エポキシドの絶対配置及び光学純度の測定を行った。結果を表 4 に示す。なお、表中、「量」は、反応液中に含まれる各光学活性エポキシドの量 (mg/ml) を示す。

【 0 0 5 6 】

【表 4】

表 4

実施例	微生物	絶対配置	光学純度 (% ee)	量 (mg/ml)
55	A	R	80	0.5
56	B	S	85	0.2
57	C	S	40	0.8
58	A	R	85	0.4
59	B	S	50	0.8
60	C	S	33	1.0
61	A	R	77	0.5
62	B	S	65	0.4
63	C	S	52	0.9
64	A	R	72	0.3
65	B	S	80	0.2
66	C	S	45	1.2
67	A	R	76	0.3
68	B	S	85	0.2
69	C	S	28	1.0
70	A	R	98	0.3
71	B	S	98	0.2
72	C	S	46	1.0

10

20

30

40

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

(C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:425 )  
 (C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:645 )  
 (C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:07 )  
 (C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:265 )  
 (C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:13 )  
 (C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:385 )  
 (C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:43 )  
 (C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:685 )  
 (C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:125 )  
 (C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:085 )  
 (C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:40 )  
 (C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:15 )  
 (C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:66 )  
 (C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:465 )

F I

C 1 2 R 1:01  
 C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:425  
 C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:645  
 C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:07  
 C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:265  
 C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:13  
 C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:385  
 C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:43  
 C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:685  
 C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:125  
 C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:085  
 C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:40  
 C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:15  
 C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:66  
 C 1 2 P 41/00  
 C 1 2 R 1:465

(58)調査した分野(Int.Cl.<sup>7</sup>, D B名)

C12P 41/00  
 CA(STN)  
 REGISTRY(STN)