



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 697 20 381 T2** 2004.02.12

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 848 065 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **697 20 381.6**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **97 121 974.6**

(96) Europäischer Anmeldetag: **12.12.1997**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **17.06.1998**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **02.04.2003**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **12.02.2004**

(51) Int Cl.⁷: **C12P 41/00**
C12P 13/00

(30) Unionspriorität:

33240696 12.12.1996 JP

(73) Patentinhaber:

Sumitomo Chemical Co., Ltd., Osaka, JP

(74) Vertreter:

**WINTER, BRANDL, FÜRNISS, HÜBNER, RÖSS,
KAISER, POLTE, Partnerschaft, 85354 Freising**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, DE, DK, FR, GB, IT, LI, NL, SE

(72) Erfinder:

**Kobayashi, Yuko, Toyonaka-shi, Osaka, JP;
Mitsuda, Satoshi, Takarazuka-shi, Hyogo, JP;
Komaki, Ryohei, Sanda-shi, Hyogo, JP**

(54) Bezeichnung: **Verfahren zur Verbesserung der optischen Reinheit einer Amin-Verbindung**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

[0001] Gebiet der Erfindung Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Verbesserung der optischen Reinheit einer Aminverbindung.

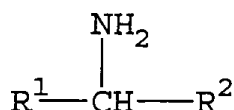
Beschreibung des verwandten Fachgebiets

[0002] Eine optisch aktive Aminverbindung wie optisch aktives α -Methylbenzylamin ist als ein brauchbares Reagens zur optischen Trennung bekannt und wird hergestellt aus der entsprechenden racemischen Aminverbindung durch eine enantioselektive Umwandlung mit bestimmten Mikroorganismen (JP63-237796A (Offengelegt), JP1-174398A (Offengelegt), JP6-253891A (Offengelegt)).

[0003] Die Mikroorganismen waren jedoch lediglich für limitierte spezifische Verbindungen mit einer spezifischen Struktur geeignet, und sie waren geeignet für eine Umwandlung der verdünnten Aminverbindungen. Daher war ein weiterer Mikroorganismus gewünscht, der nicht nur für die Umwandlung einer anderen Aminverbindung verwendet werden kann, sondern auch für die Umwandlung der Aminverbindung mit einer höheren Konzentration.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0004] Es ist eine Aufgabe der Erfindung, ein Verfahren zur Verwendung einer Kultur eines Mikroorganismus zur Verfügung zu stellen, welches geeignet ist zur Verbesserung der optischen Reinheit einer Aminverbindung der Formel I:

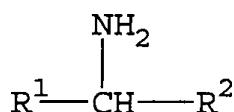


wobei R^1 eine Phenylgruppe, die substituiert sein kann, oder eine Aralkylgruppe mit 7 bis 10 Kohlenstoffatomen, die substituiert sein kann, anzeigt und R^2 eine Alkylgruppe mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen anzeigt, oder eines behandelten Produkts davon.

[0005] Gemäß der vorliegenden Erfindung ist es möglich, die optische Reinheit einer Aminverbindung der wie oben definierten Formel I, welche als ein basisches Reagens zur optischen Trennung oder als ein synthetisches Zwischenprodukt von Pharmazeutika und landwirtschaftlichen Chemikalien brauchbar ist, wirksam zu verbessern.

[0006] Die vorliegende Erfindung stellt nämlich folgendes zur Verfügung:

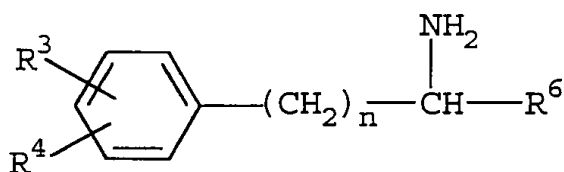
[0007] 1. Ein Verfahren zur Verbesserung der optischen Reinheit einer Aminverbindung der Formel I:



wobei R^1 eine Phenylgruppe, die substituiert sein kann, oder eine Aralkylgruppe mit 7 bis 10 Kohlenstoffatomen, die substituiert sein kann, anzeigt und R^2 eine Alkylgruppe mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen anzeigt, das folgendes umfaßt:

[0008] In Kontakt-Bringen einer Kultur eines zu Arthrobacter gehörigen Mikroorganismus mit einer Fähigkeit zur bevorzugten Metabolisierung eines optischen Isomers basierend auf dem asymmetrischen Kohlenstoffatom an das die Aminogruppe gebunden ist in der Aminverbindung der Formel I oder eines behandelten Produkts davon mit der Aminverbindung der Formel I;

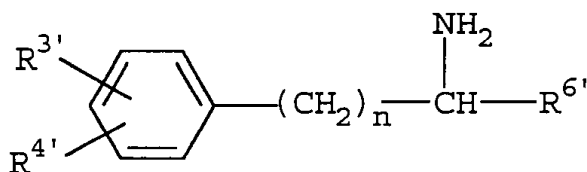
[0009] 2. Ein Verfahren zur Verbesserung der optischen Reinheit einer Aminverbindung der Formel II:



wobei R^3 und R^4 gleich oder verschieden sind und ein Wasserstoffatom, eine Alkylgruppe mit 1 bis 2 Kohlenstoffatomen, eine Alkoxygruppe mit 1 bis 2 Kohlenstoffatomen oder ein Halogenatom anzeigen, R^6 eine Alkylgruppe mit 1 bis 2 Kohlenstoffatomen anzeigt und n für eine ganze Zahl von 0 oder 1 steht, das folgendes umfaßt:

[0010] In-Kontakt-Bringen einer Kultur eines zu *Arthrobacter* gehörigen Mikroorganismus mit einer Fähigkeit zur bevorzugten Metabolisierung eines optischen Isomers basierend auf dem asymmetrischen Kohlenstoffatom an das die Aminogruppe gebunden ist in der Aminverbindung der Formel II oder eines behandelten Produktes davon mit der Aminverbindung der Formel II;

[0011] 3. Ein Verfahren zur Verbesserung der optischen Reinheit einer Aminverbindung der Formel II':



wobei $R^{3'}$ und $R^{4'}$ gleich oder verschieden sind und ein Wasserstoffatom, eine Methylgruppe, eine Methoxygruppe oder ein Chloratom anzeigen, $R^{6'}$ eine Methylgruppe oder Ethylgruppe anzeigt und n für eine ganze Zahl von 0 oder 1 steht, das folgendes umfaßt: In-Kontakt-Bringen einer Kultur eines zu *Arthrobacter* gehörigen Mikroorganismus mit einer Fähigkeit zur bevorzugten Metabolisierung eines optischen Isomers basierend auf dem asymmetrischen Kohlenstoffatom an das die Aminogruppe gebunden ist in der Aminverbindung der Formel II' oder eines behandelten Produktes davon mit der Aminverbindung der Formel II'; und

[0012] 4. Das Verfahren nach obigem Punkt 3, wobei die Aminverbindung der Formel II' eine aus 1-Phenylethylamin, 1-(3-Methoxyphenyl)ethylamin, 1-(3,4-Dichlorphenyl)ethylamin, 1-(4-Methylphenyl)ethylamin, 1-(3,4-Dimethoxyphenyl)-2-aminopropan, 1-(4-Methoxyphenyl)-2-aminopropan und 1-Phenyl-1-aminopropan ist.

BESCHREIBUNG DER BEVORZUGTEN AUSFÜHRUNGSFORMEN

[0013] Der in der vorliegenden Erfindung verwendete Mikroorganismus ist ein zu *Arthrobacter* gehörender Mikroorganismus mit einer Fähigkeit, bevorzugt ein optisches Isomer zu metabolisieren, das auf dem asymmetrischen Kohlenstoffatom basiert, an welchem die Aminogruppe in der Aminverbindung der Formel I gebunden ist. Mit anderen Worten, eine Metabolisierungsrate von einem des (S)-Isomers oder (R)-Isomers ist höher als beim anderen Isomer.

[0014] Beispiele des Mikroorganismus mit einer solchen Fähigkeit umfassen zum Beispiel den SC-K99-Stamm, welcher ein zu *Arthrobacter* gehörender Mikroorganismus ist, der durch die Erfinder der vorliegenden Erfindung aus der Natur isoliert wurde. Der SC-K99-Stamm ist nach dem Budapester Vertrag hinterlegt in dem National Institute of Bioscience and Human Technology, Agency of Industrial Science and Technology als "FERM-BP-5744" (Zugangsdatum: 14. November 1996).

[0015] Die bakteriologischen Eigenschaften des SC-K99-Stamms sind nachfolgend aufgezeigt.

Bakteriologische Eigenschaften des SC-K99-Stamms

(a) Konfiguration:

1. Gestalt und Abmessung der Zelle

(1) Gestalt: Stäbchenpilz

(2) Abmessung: $0,5 \times 1 \sim 3 \mu\text{m}$

2. Polymorphismus der Zelle: positiv (Stäbchen-Kokken-Zyklus)

3. Matilität: keine

4. Spore: keine

(b) Inkubationseigenschaften:

1. Bouillon-Agarplatten-Inkubation: kreisförmig, konvex, kein Glanz, hellgelb

2. Inkubation in Bouillonflüssigkeit: Wachstum in gleichförmiger Suspension, kein Glanz, hellgelb

(c) Physiologische Eigenschaften

1. Gram-Stamm: positiv

2. Hydrolyse von Stärke: negativ

3. Fähigkeit zur Verwendung von Nikotin: keine

4. Bildung von Pigment: Es wird keine spezifische Pigmentkolonie gebildet

5. Oxidase: keine

6. Katalase: existiert
7. Reaktion gegenüber Sauerstoff: aerob
- (d) Andere Eigenschaften:
 1. Säurebeständigkeit: keine
- (e) Eigenschaften der chemischen Klassifizierung:
 1. GC-Gehalt (Mol-%) an intrazellulärer DNA: 68%
 2. Aminosäurezusammensetzung der Zellwand: Lysin : Alanin : Glutaminsäure : Glycin : Asparaginsäure : Serin : Threonin = 1 : 9 : 3 : 4 : 1 : 0 : 0
 3. Glycolyltest: nein (Acetyl-Typ)
 4. Arabinogalactanpolymer: keines
 5. Chinontyp: MK-9 (H2)

[0016] Anhand der beschriebenen bakteriologischen Eigenschaften wurde der vorliegende Stamm als ein zu *Arthrobacter* gehörender Mikroorganismus identifiziert, der in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Bd. 2, 1986, oder *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9. Auflage, 1994, aufgeführt ist.

[0017] Da jedoch die Aminosäurezusammensetzung der Zellwand und dergleichen nicht mit denen einer beliebigen Spezies übereinstimmt und die Spezies des Stamms der vorliegenden Erfindung nicht bestätigt wurde, wurde der Stamm daher lediglich als *Arthrobacter* sp. identifiziert und hinterlegt.

[0018] In der vorliegenden Erfindung kann ein jeder Stamm wie ein Wildstamm, ein Mutantenstamm oder ein rekombinanter Stamm, der durch ein molekulargenetisches Verfahren gewonnen wird, wie ein Genmanipulationsverfahren, geeignet verwendet werden, vorausgesetzt, daß er die oben beschriebenen Fähigkeiten besitzt.

[0019] Die Zusammensetzungen der Kulturmedien zur Kultivierung des oben beschriebenen Mikroorganismus sind nicht besonders eingeschränkt, und es können dabei verschiedene Kulturmedien verwendet werden, die eine geeignete Menge an Kohlenstoffquellen, Stickstoffquellen und organische oder anorganische Salze enthalten, die für eine übliche Kultivierung eines Mikroorganismus verwendet werden.

[0020] Beispiele der Kohlenstoffquelle umfassen Saccharide wie Glucose, Fructose, Sucrose oder Dextrin, Zuckeralkohol wie Glycerol oder Sorbitol, organische Säuren wie Fumarsäure oder Zitronensäure. Die Menge der Kohlenstoffquelle beträgt für gewöhnlich von ungefähr 0,1 bis 10%.

[0021] Beispiele der Stickstoffquelle umfassen Ammoniumsalze von anorganischen Säuren wie Ammoniumchlorid, Ammoniumsulfat oder Ammoniumphosphat, Ammoniumsalze von organischen Säuren wie Ammoniumfumarat oder Ammoniumcitrat, natürliche organische Stickstoffquellen oder Aminosäuren wie einen Fleischextrakt, einen Hefeextrakt, einen Malzextrakt, Sojabohnenmehl, Solubles einer Maisfermentation (Corn Steep Liquor), Baumwollsaamenmehl, getrocknete Hefe oder Caseinhydrolysat. Darunter kann in vielen Fällen die organische Stickstoffquelle mit einer Kohlenstoffquelle verwendet werden. Die Menge der Stickstoffquelle beträgt für gewöhnlich von 0,1 bis 10%.

[0022] Beispiele der anorganischen Salze umfassen Alkalimetallphosphate wie Kaliumphosphat, Natriumphosphat und dergleichen, Alkalimetallchloride wie Kaliumchlorid oder Natriumchlorid, Metallsulfate wie Magnesiumsulfat oder Eisen(II)sulfat. Die Menge des anorganischen Salzes beträgt für gewöhnlich von 0,001 bis 1%.

[0023] Der Mikroorganismus wird mittels eines herkömmlichen Verfahrens kultiviert, und es können jegliche Mittel verwendet werden wie Festkultur, Flüssigkultur, Teströhrchen-Schüttelkultur, Schüttelkultur, Standgefäßfermenterkultur, eine Tankkultur. Insbesondere wenn ein Standgefäßfermenter verwendet wird, wird für gewöhnlich sterilisierte Luft in einem Belüftungszustand von ungefähr 0,1- bis ungefähr 2mal pro Minute basierend auf der Menge der Kulturmediumlösung eingeleitet.

[0024] Die Kulturtemperatur kann in dem Bereich, in dem ein Mikroorganismus wachsen kann, geeignet verändert werden und liegt zum Beispiel bei einer Kulturtemperatur von ungefähr 15°C bis ungefähr 40°C und einem Kultur-pH von ungefähr 6,0 bis ungefähr 8,0. Die Kulturzeit variiert in Abhängigkeit von verschiedenen Kulturbedingungen und beträgt für gewöhnlich ungefähr 1 bis ungefähr 5 Tage.

[0025] Wenn eine Aminverbindung, vorzugsweise eine Aminverbindung der Formel I, zuvor in einer kleinen Menge zugegeben wird, können die Fähigkeiten des Mikroorganismus gemäß der vorliegenden Erfindung verstärkt werden. Die Menge der Aminverbindung beträgt für gewöhnlich nicht weniger als 0,001, vorzugsweise von ungefähr 0,1 bis 1%. Diese zuzugebende Aminverbindung kann als eine Stickstoffquelle in der oben beschriebenen Kultur des Mikroorganismus verwendet werden.

[0026] Die Aminverbindung der wie oben definierten Formel I besitzt zwei optische Isomere auf Basis des asymmetrischen Kohlenstoffatoms, an welches die Aminogruppe bindet, welches das (R)-Isomer und (S)-Isomer sind.

[0027] Die Phenylgruppe, die substituiert sein kann für R¹, umfaßt eine Phenylgruppe, die substituiert sein kann mit mindestens einer Gruppe, ausgewählt aus einer Gruppe von einer Hydroxylgruppe, einem Halogenatom (z. B. Chlor, Brom, Fluor und Iod), einer (C₁-C₃)-Alkylgruppe (Methyl, Ethyl, n-Propyl oder i-Propyl) und einer (C₁-C₃)-Alkoxygruppe (Methoxy, Ethoxy, n-Propoxy oder i-Propoxy).

[0028] Die Aralkylgruppe mit 7 bis 10 Kohlenstoffatomen, welche substituiert sein kann für R¹, umfaßt eine Benzylgruppe, eine Phenethylgruppe, eine Phenylpropylgruppe, von denen alle substituiert sein können mit mindestens einer Gruppe, ausgewählt aus einer Gruppe von einer Hydroxylgruppe, einem Halogenatom (z. B. Chlor, Brom, Fluor und Iod), einer (C₁-C₃)-Alkylgruppe (Methyl, Ethyl, n-Propyl oder i-Propyl und einer (C₁-C₃)-Alkoxygruppe (Methoxy, Ethoxy, n-Propoxy oder i-Propoxy), vorausgesetzt, daß R¹ 7 bis 10 Kohlenstoffatome umfaßt.

[0029] Die Alkylgruppe mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen für R² umfaßt eine Methyl-, Ethyl-, n-Propyl-, i-Propyl-, n-Butyl-, i-Butyl-, s-Butyl-, t-Butyl-, n-Pentyl-, i-Pentyl-, s-Pentyl-, neo-Pentyl-, t-Pentyl-, n-Hexyl-, i-Hexyl-, s-Hexyl-, t-Hexyl- und neo-Hexyl-Gruppe.

[0030] Vorzugsweise ist die Aminverbindung der Formel I die Aminverbindung der wie oben definierten Formel II und weiter bevorzugt die Aminverbindung der wie oben definierten Formel II'.

[0031] Spezifische Beispiele davon umfassen 1-Phenylethylamin, 1-(3-Methoxyphenyl)ethylamin, 1-(3,4-Dichlorphenyl)ethylamin, 1-(3,4-Dimethoxyphenyl)-2-aminopropan, 1-(4-Methoxyphenyl)-2-aminopropan, 1-Phenyl-1-aminopropan, 1-(4-Chlorphenyl)ethylamin, 1-(4-Hydroxyphenyl)ethylamin, 1-(4-Methylphenyl)ethylamin, 1-(4-Chlorphenyl)-2-aminopropan, 1-(4-Hydroxyphenyl)-2-aminopropan und 1-(4-Methylphenyl)-2-aminopropan.

[0032] Das Verhältnis von (R)-Isomer/(S)-Isomer in der Aminverbindung, die in dem vorliegenden Verfahren verwendet wird, ist nicht besonders eingeschränkt, jedoch ist es aus industrieller Sicht vorteilhaft, eine einfach verfügbare racemische Aminverbindung zu verwenden.

[0033] Die Kultur des Mikroorganismus oder des behandelten Produkts davon zu dessen In-Kontakt-Bringen mit der Aminverbindung umfaßt ferner zum Beispiel einen Mikroorganismus selbst oder eine Kulturlauge, welche den Mikroorganismus enthält, oder behandelte Produkte des Mikroorganismus wie unlösliche Substanzen, die durch bekannte Verfahren wie ein Polyacrylamid-Verfahren, ein Verfahren mit schwefelhaltigem Polysaccharidgel (zum Beispiel Carageenangel-Verfahren), ein Alginsäuregel-Verfahren oder ein Agargel-Verfahren immobilisiert wurden, gefriergetrocknete Zellen, Aceton-getrocknete Zellen, Grundzellen, selbstverdaute Zellen, Ultraschall-behandelte Zellen, Zellextrakte, rohgereinigte Enzyme, gereinigte Enzyme oder behandelte Produkte davon, von denen alle ebenfalls in der vorliegenden Erfindung geeignet verwendet werden.

[0034] Natürlich kann das vorliegende Verfahren durchgeführt werden durch In-Kontakt-Bringen einer Kultur, welche die geimpften Zellen des Kulturmediums enthält, zu dem die oben beschriebene Aminverbindung vorher gegeben wurde.

[0035] Das Verfahren des In-Kontakt-Bringens der Kultur oder eines behandelten Produkts davon mit der Aminverbindung wird in einem flüssigen Zustand durchgeführt. Die Anfangskonzentration der Aminverbindung, die in dem Verfahren zugegeben wird, beträgt für gewöhnlich nicht mehr als ungefähr 30 Gew.-%, vorzugsweise von 2 bis 20 Gew.-%, weiter bevorzugt 5 bis 20 Gew.-%.

[0036] Die Temperatur beträgt für gewöhnlich von ungefähr 10 bis 70°C und vorzugsweise von 25 bis 60°C. Der pH-Wert des Verfahrens des In-Kontakt-Bringens der Kultur mit der Aminverbindung reicht geeignetermaßen im allgemeinen von 4 bis 12, vorzugsweise von 7 bis 11. Gegebenenfalls kann die Zeit bestimmt werden. Allgemein gilt, je länger die Zeit, desto höher ist die optische Reinheit der resultierenden Aminverbindung, da das Umwandlungsverhältnis höher wird.

[0037] Darüber hinaus ist die Zugabe einer Substanz wie eines Tensids, eines Coenzym und einer organischen Verbindung als eine Hilfssubstanz zu der Prozeßlösung manchmal wirksam, um die Prozeßzeit zu verkürzen und das Umwandlungsverhältnis zu verbessern, wobei daher diese Hilfssubstanzen gegebenenfalls allein oder in einer beliebigen Kombination davon zu der Prozeßlösung gegeben werden können.

[0038] Spezifische Beispiele des verwendeten Tensids umfassen zum Beispiel Triton-X100 und Cetylpyridiumbromid.

[0039] Spezifische Beispiele des Coenzym umfassen zum Beispiel Nikotinamidadeninnukleotid, Pyridoxalphosphorsäure und dergleichen.

[0040] Beispiele der organischen Verbindung umfassen hydrophobe organische Lösungsmittel wie n-Heptan oder Cyclohexan, hydrophile organische Lösungsmittel wie DMSO oder Alkohole, Ketone wie Aceton, Aldehyde wie Propionaldehyd, Ketsäuren wie Oxalessigsäure oder Pyruvinsäure.

[0041] Die optische Reinheit der Aminverbindung der Formel I kann auf diese Weise verbessert werden und durch eine Rückgewinnung der Aminverbindung, die in der Lösung nach einer Vollendung des Prozesses verbleibt, wobei geeignete kombinierte herkömmliche Behandlungsverfahren verwendet werden. Somit kann die Aminverbindung mit einer verbesserten optischen Reinheit leicht erhalten werden.

[0042] Zum Beispiel ist es möglich, daß die Kultur des Mikroorganismus oder des behandelten Produkts davon durch eine Zentrifugalabtrennung von der Prozeßlösung entfernt wird, dann ein Überstand davon in eine alkalische Lösung umgewandelt wird und eine Extraktion mit einem organischen Lösungsmittel wie Diethylether oder Toluol durchgeführt wird, bevor das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt wird, um die Aminverbindung mit verbesserter optischer Reinheit zu erhalten.

[0043] Die folgenden Beispiele veranschaulichen die vorliegende Erfindung weiter im Detail, sie sind jedoch

nicht dazu gedacht, deren Umfang einzuschränken.

[0044] In diesen Beispielen wurden eine quantitative Bestimmung und Analyse der optischen Reinheit der Aminverbindung durch Gaschromatographie bzw. Hochleistungsflüssigkeitschromatographie durchgeführt. Die Bedingungen davon sind wie folgt:

1) Quantitative Analyse der Aminverbindung (Gaschromatographie)

Säule: DB-17 (Innendurchmesser 0,25 mm, Filmdicke 0,25 µm, Länge 30 m, J & W corp.)

Säulentemperaturbedingung: erhöht von 80°C auf 250°C mit 5°C/Minute

Detektor: FID (Detektortemperatur 250°C)

2) Analyse der optischen Reinheit der Aminverbindung (Hochleistungschromatographie)

Säule: OA-4100 oder OA-4800 (hergestellt vom Sumika Analysis Center K.K.)

Mobile Phase: n-Hexan : Ethanol : Trifluoressigsäure = 240 : 10 : 1

Detektionswellenlänge: 254 nm

[0045] Die Konzentration (%) einer nachfolgend beschriebenen Substanz wird mittels der folgenden Gleichung berechnet:

$$\text{Konzentration (\%)} = (\text{Gewicht/Volumen}) \times 100$$

Beispiel 1

[0046] Es wurde ein sterilisiertes Kulturmedium (100 ml, pH 7,0) mit einer Zusammensetzung, die 0,2% an Glycerol, 0,5% an (RS)-1-Phenylethylamin, 0,05 an Dikaliumphosphat, 0,1% an Monokaliumphosphat, 0,01% an Magnesiumsulfat und 1 mg/l an Eisen(I)sulfatheptahydrat enthielt, in einen Sakaguchi-Kolben gefüllt, dazu wurde ein SC-K99-Stamm geimpft, und das Resultierende wurde während 1 Woche unter Schütteln bei 30°C kultiviert. Die resultierende Kulturlösung wurde einer Zentrifugaltrennung (10 000 g, 10 Minuten) unterzogen, um Zellen zu entfernen, und der pH des Überstands wurde unter Verwendung einer wäßrigen NaOH-Lösung auf 12 eingestellt, dann wurde eine Extraktion mit Diethylether durchgeführt. Die optische Reinheit des 1-Phenylethylamins in der extrahierten Lösung wurde mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie gemessen, wobei lediglich der Peak des (R)-1-Phenylethylamins und kein Peak des (S)-1-Phenylethylamins gefunden wurde (optische Reinheit 1000).

Beispiel 2

[0047] Es wurde eine sterilisierte Kultur mit einer Zusammensetzung, die 1,0% an Glycerol, 0,3% an Hefeextrakt, 0,5% an (RS)-1-Phenylethylamin, 0,75% an Dikaliumphosphat, 0,25% an Monokaliumphosphat, 0,01 an Magnesiumsulfat, 0,1 ml/l einer wäßrigen Spurenelementlösung und 1,8% an 2 N-Schwefelsäure enthielt, in einen Sakaguchi-Kolben gefüllt, dazu wurde ein SC-K99-Stamm geimpft, und das Resultierende wurde 24 Stunden unter Schütteln bei 30°C kultiviert. (Der begriff "wäßrige Spurenelementlösung" bezeichnet eine Lösung, die erhalten wird durch Auflösen von Eisen(I)sulfatheptahydrat, Cobaltchloridhexahydrat, Zinksulfatheptahydrat und Mangansulfattrihydrat in destilliertem Wasser mit einer Konzentration von jeweils 1%.

[0048] Die resultierende Kulturlösung wurde einer Zentrifugaltrennung (10 000 g, 10 Minuten) unterzogen, um Zellen zu sammeln, und die resultierenden Zellen wurden zweimal mit Wasser gewaschen, wurden dann in einer Phosphatpufferlösung (pH 7,5), welche 2,2% an Natriumpyruvat und eine racemische Mischung der in Tabelle 1 beschriebenen Aminverbindung enthält, suspendiert, und die Suspension wurde während 72 Stunden bei 30°C gerührt. Nach einer Vollendung des Prozesses wurde zu der erhaltenen Lösung die zweifache Menge an Methanol gegeben, und die resultierende Mischung wurde einer Zentrifugaltrennung (10 000 g, 5 Minuten) unterzogen, um durch Entfernung der Zellen einen Überstand zu erhalten. Die Konzentration und optische Reinheit der verbleibenden Aminverbindung in dem Überstand wurde mittels Gaschromatographie bzw. Hochleistungsflüssigkeitschromatographie gemessen, und es wurde die Endkonzentration der Aminverbindung berechnet. Die Ergebnisse sind unten in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1

Aminverbindung (racemische Mischung)	Anfangskonzentration der in das Kulturme- dium gegebenen Aminverbindung (%)	Endkonzentra- tion der Amin- verbindung nach Vollen- dung des Pro- zesses (%)	Optische Reinheit der verbleiben- den Aminver- bindung (R/S)
1-Phenylethyl- amin	2,4	1,2	100/0
1-(3-Methoxy- phenyl)ethyl- amin	3,0	1,5	100/0
1-(3,4-Dichlor- phenyl)ethyl- amin	3,8	1,9	100/0
1-(4-Methyl- phenyl)ethyl- amin	2,7	1,35	100/0

Beispiel 3

[0049] Es wurde dasselbe Verfahren wie in Beispiel 2 durchgeführt, mit der Ausnahme, daß bei der Durchführung der Reaktion eine Natriumhydrogencarbonatpufferlösung (pH 10,0) anstelle der Phosphatpufferlösung (pH 7,5) verwendet wurde und 3,9% an (RS)-1-(3,4-Dimethoxyphenyl)-2-aminopropan anstelle von (RS)-1-Phenylethylamin verwendet wurde. Als ein Ergebnis wurde nach 24 Stunden (R)-1-(3,4-Dimethoxyphenyl)-2-aminopropan in einer Konzentration von 1,95 gefunden, und die optische Reinheit davon betrug 100%.

Beispiel 4

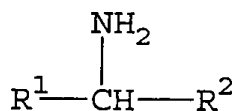
[0050] Es wurde dasselbe Verfahren wie in Beispiel 3 durchgeführt, mit der Ausnahme, daß die Konzentration der razemischen Mischung von (RS)-1-(3,4-Dimethoxyphenyl)-2-aminopropan auf 20% geändert wurde und die Konzentration an Natriumpyruvat auf 11% geändert wurde. Als ein Ergebnis wurde nach 24 Stunden (R)-1-(4-Methoxyphenyl)-2-aminopropan in einer Konzentration von 10% gefunden, und die optische Reinheit davon betrug 100%.

Beispiel 5

[0051] Es wurde dasselbe Verfahren wie in Beispiel 3 durchgeführt, mit der Ausnahme, daß bei der Durchführung der Reaktion 3,3% einer razemischen Mischung von 1-(4-Methoxyphenyl)-2-aminopropan anstelle von (RS)-1-(3,4-Dimethoxyphenyl)-2-aminopropan verwendet wurde. Als ein Ergebnis wurde nach 24 Stunden (R)-1-(4-Methoxyphenyl)-2-aminopropan in einer Konzentration von 1,65% gefunden, und die optische Reinheit davon betrug 100%.

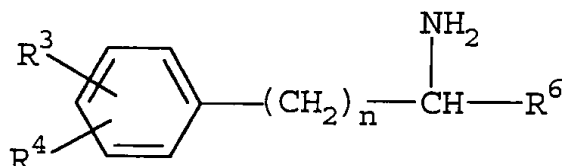
Patentansprüche

1. Verfahren zur Verbesserung der optischen Reinheit einer Aminverbindung der Formel I:



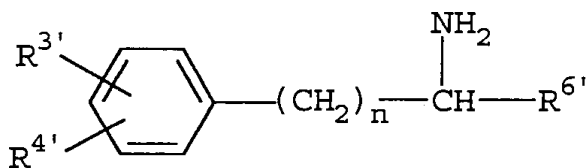
wobei R^1 eine Phenylgruppe, die substituiert sein kann, oder eine Aralkylgruppe mit 7 bis 10 Kohlenstoffatomen, die substituiert sein kann, anzeigt und R^2 eine Alkylgruppe mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen anzeigt, das folgendes umfaßt: In-Kontakt-Bringen einer Kultur eines zu *Arthrobacter* gehörigen Mikroorganismus mit einer Fähigkeit zur bevorzugten Metabolisierung eines optischen Isomers basierend auf dem asymmetrischen Kohlenstoffatom an das die Aminogruppe gebunden ist in der Aminverbindung der Formel I oder eines behandelten Produktes der Kultur mit der Aminverbindung der Formel I.

2. Verfahren zur Verbesserung der optischen Reinheit einer Aminverbindung der Formel II:



wobei R^3 und R^4 gleich oder verschieden sind und ein Wasserstoffatom, eine Alkylgruppe mit 1 bis 2 Kohlenstoffatomen, eine Alkoxygruppe mit 1 bis 2 Kohlenstoffatomen oder ein Halogenatom anzeigen, R^6 eine Alkylgruppe mit 1 bis 2 Kohlenstoffatomen anzeigt und n für 0 oder 1 steht, das folgendes umfaßt: In-Kontakt-Bringen einer Kultur eines zu *Arthrobacter* gehörigen Mikroorganismus mit einer Fähigkeit zur bevorzugten Metabolisierung eines optischen Isomers basierend auf dem asymmetrischen Kohlenstoffatom an das die Aminogruppe gebunden ist in der Aminverbindung der Formel II oder eines behandelten Produktes der Kultur mit der Aminverbindung der Formel II.

3. Verfahren zur Verbesserung der optischen Reinheit einer Aminverbindung der Formel II':



wobei $R^{3'}$ und $R^{4'}$ gleich oder verschieden sind und ein Wasserstoffatom, eine Methylgruppe, eine Methoxygruppe oder ein Chloratom anzeigen, $R^{6'}$ eine Methylgruppe oder Ethylgruppe anzeigt und n für 0 oder 1 steht, das folgendes umfaßt:

4. In-Kontakt-Bringen einer Kultur eines zu *Arthrobacter* gehörigen Mikroorganismus mit einer Fähigkeit zur bevorzugten Metabolisierung eines optischen Isomers basierend auf dem asymmetrischen Kohlenstoffatom an das die Aminogruppe gebunden ist in der Aminverbindung der Formel II' oder eines behandelten Produktes der Kultur mit der Aminverbindung der Formel II'.

5. Verfahren nach Anspruch 3, wobei die Aminverbindung der Formel II' eine aus 1-Phenylethylamin, 1-(3-Methoxyphenyl)ethylamin, 1-(3,4-Dichlorphenyl)ethylamin, 1-(4-Methylphenyl)ethylamin, 1-(3,4-Dimethoxyphenyl)-2-aminopropan, 1-(4-Methoxyphenyl)-2-aminopropan und 1-Phenyl-1-aminopropan ist.

6. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der zu *Arthrobacter* gehörige Mikroorganismus FERM-BP-5744 ist.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen