



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102686562 A

(43) 申请公布日 2012. 09. 19

(21) 申请号 201080059413. 7

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2010. 12. 22

C07D 201/08 (2006. 01)

(30) 优先权数据

C07D 223/10 (2006. 01)

09180383. 3 2009. 12. 22 EP

(85) PCT申请进入国家阶段日

2012. 06. 25

(86) PCT申请的申请数据

PCT/NL2010/050878 2010. 12. 22

(87) PCT申请的公布数据

W02011/078668 EN 2011. 06. 30

(71) 申请人 帝斯曼知识产权资产管理有限公司

地址 荷兰海尔伦

(72) 发明人 鲁道夫·菲利普斯·玛丽亚·古伊特

托马斯·万德杜斯

罗拉纳·麦德勒尼·拉姆斯多克

(74) 专利代理机构 北京东方亿思知识产权代理

有限责任公司 11258

代理人 李剑

权利要求书 1 页 说明书 5 页

(54) 发明名称

用发酵过程得到的 6- 氨基己酸来制备己内酰胺

(57) 摘要

本发明涉及一种用于制备己内酰胺的方法，其包括：从包含生物质的培养基中回收含有 6- 氨基己酸的混合物，随后在过热蒸汽的存在下使 6- 氨基己酸环化，从而形成己内酰胺，其中所述混合物中碳水化合物与 6- 氨基己酸的重量比为 0. 03 或更小。

1. 一种用于制备己内酰胺的方法,其包括:从包含生物质的培养基中回收含有 6-氨基己酸的混合物,所述培养基可包含一种或更多种碳水化合物;以及随后,在过热蒸汽的存在下使所述 6-氨基己酸环化,从而形成己内酰胺,其中所述混合物中所有的碳水化合物与 6-氨基己酸的重量比为 0.03 或更小。

2. 如权利要求 1 所述的方法,其中,所述混合物包含小于 5g/l、优选小于 2g/l、更优选小于 0.5g/l 的碳水化合物。

3. 如权利要求 2 所述的方法,其中,所述混合物包含小于 2g/l 的碳水化合物。

4. 如权利要求 3 所述的方法,其中,所述混合物包含小于 0.5g/l 的碳水化合物。

5. 如前面的权利要求中任意一项所述的方法,其中,所述 6-氨基己酸是微生物法制备的,其中微生物法制备至少在碳受限条件下终止。

6. 如前面的权利要求中任意一项所述的方法,其中,所述 6-氨基己酸是微生物法制备的,其中微生物法制备至少在所述培养基中总的碳水化合物浓度小于 5g/l、优选小于 2g/l、更优选小于 0.5g/l 时终止。

7. 如前面的权利要求中任意一项所述的方法,其中,所述 6-氨基己酸通过至少一种选自下列组中的技术从生物质中分离:切向流过滤、微滤、其他形式的过滤、和离心。

8. 如前面的权利要求中任意一项所述的方法,其中,所述混合物的回收包括分离 6-氨基己酸和一种或更多种聚合物,例如一种或更多种选自多糖、多肽和蛋白质的组中的聚合物。

9. 如前面的权利要求中任意一项所述的方法,其中,通过超滤使所述 6-氨基己酸与一种或更多种聚合物分离。

10. 如前面的权利要求中任意一项所述的方法,其中,在使 6-氨基己酸环化之前,使所述混合物经历除水步骤。

11. 如前面的权利要求中任意一项所述的方法,其中,所述环化在 250-400℃ 范围内的温度下进行。

12. 如前面的权利要求中任意一项所述的方法,其中,所述环化在 0.3-2MPa 范围内的压力下进行。

13. 一种用于纯化己内酰胺的方法,其包括,使通过前面权利要求中任意一项所述的方法得到的包含己内酰胺的产物经历至少一个蒸馏步骤,从而得到富含己内酰胺的馏分。

14. 如权利要求 12 所述的方法,其中,一种或更多种沸点低于己内酰胺的化合物和一种或更多种沸点高于己内酰胺的化合物通过蒸馏与己内酰胺分离,从而得到富含己内酰胺的馏分,并且使所述馏分经历结晶步骤,从而得到己内酰胺晶体。

15. 一种用于制备聚合物的方法,其包括,使通过前面权利要求中任意一项所述的方法得到的己内酰胺聚合,可选存在一种或更多种其他可聚合的化合物。

用发酵过程得到的 6-氨基己酸来制备己内酰胺

[0001] 本发明涉及一种用生物化学制备的 6-氨基己酸（下文称作 6-ACA）来制备 ϵ -己内酰胺（下文称作“己内酰胺”或 CAP）的方法。

[0002] 己内酰胺是一种可以被用于生产聚酰胺（例如尼龙-6）的内酰胺。由各种大宗化学品制备己内酰胺的多种方式是本领域已知的，它们包括由甲苯或苯制备己内酰胺。这些化合物通常得自矿物油。考虑到使用更加可持续的技术来制备材料的日益增长的需要，人们期望提供一种方法，其中由能够从生物可再生源获得的中间产物化合物或至少由使用生物化学方法被转化成己内酰胺的中间化合物来制备己内酰胺。另外，期望提供一种方法，所述方法较之利用来自石油化学来源的大宗化学品的传统化学工艺具有更小的生态足迹，特别是与所述传统转化方法相比需要较少的能量和 / 或具有较低的二氧化碳排放量的方法。

[0003] 在 WO 2005/068643 中公开了可以用在具有 α , β -烯酸酯还原酶活性的酶存在下通过转化 6-氨基己-2-烯酸 (6-AHEA) 以生物化学方式所制备的 6-ACA 来制备己内酰胺。由 6-ACA 制备己内酰胺引用了 US-A 6,194,572。

[0004] US-A 6,194,572 公开了通过在过热蒸汽的存在下处理 6-氨基己酸、6-氨基己酸酯或 6-氨基己酰胺或包含这些化合物中的至少两种的混合物来制备己内酰胺，在所述过热蒸汽中得到含有己内酰胺和蒸汽的气体混合物，其中该过程在不存在催化剂的条件下、在 250-400℃ 的温度和 0.5-2MPa 的压力下在环化反应器中进行。在一个优选的实施方式中，己内酰胺用由 6-氨基己酸、6-氨基己酸酯、6-氨基己酰胺、可选的己内酰胺和所述化合物可选的低聚物组成的反应混合物制成。

[0005] WO 2005/068643 中没有详细描述具体针对通过使发酵过程得到的 6-ACA 环化来制备己内酰胺的方法，也没有描述所得己内酰胺的提纯。

[0006] 本发明人得出的结论是，尽管可以将生物化学法的产物直接引入环化反应器，但是如果使用典型的环境化条件使发酵过程的直接产物（发酵液中的 6-ACA）在环化反应器中进行环化，那么己内酰胺的产率相对较低。此外，本发明人得出的结论是，纯化由此所得到的粗制己内酰胺很有挑战性。

[0007] 本发明的一个目标是提供一种由生物化学法得到的 6-ACA 制备己内酰胺的新方法，特别地，所述方法具有令人满意的己内酰胺产率。

[0008] 因此，本发明涉及一种用于制备己内酰胺的方法，该方法包括：从包含生物质的培养基中回收含有 6-氨基己酸的混合物，随后在过热蒸汽的存在下使 6-氨基己酸环化，从而形成己内酰胺，其中所述混合物中碳水化合物与 6-氨基己酸的重量比为 0.03 或更小。特别地，所述重量比可以为 0.025 或更小，或 0.02 或更小，或 0.01 或更小，或甚至小于 0.005。所述重量比可以为 0 或更大，特别地为 0.001 或更大。因而该重量比在 0-0.03 的范围内。

[0009] 具体地，培养基可以是在发酵过程中制备 6-ACA 所用的培养基。在本文中使用时，术语“发酵”在本文中以工业过程中的含义使用，其中使用有机体将至少一种（有机）物质转化成至少一种其他（有机）物质。发酵过程可以在有氧条件、限氧条件和厌氧条件下进行。

[0010] 在发酵过程中得到发酵产物。该产物包含 6-ACA、生物质和发酵液中通常存在的几

种其他组分（营养物、缓冲盐等以及（副）产物，例如乙醇、甘油、乙酸酯等）。本发明人想到了，在环化之前从 6-ACA 中分离出一种或更多种特定组分或者在产生低丰度的所述组分的条件下进行发酵，可能就足够了。不想束缚于任何理论，被认为可能影响己内酰胺产率的组分包括：碳水化合物，具体是来自己糖和戊糖组中的单糖，其低聚物及其聚合物，更具体是葡萄糖、果糖、甘露糖、蔗糖、乳糖、异麦芽糖、麦芽糖、核糖、阿拉伯糖、木糖、淀粉、寡糖和多糖（例如淀粉、糖原、纤维素、甲壳质）；除 6-ACA 之外的含有胺的化合物（特别是不同于 6-ACA 的氨基酸），蛋白质和其他肽；有机酸；无机酸；无机盐，特别是磷酸盐、硫酸盐；以及生物质（细胞）。

[0011] 通常，使 6-ACA 环化之前，含有 6-ACA 的混合物要经历一个或更多个预处理步骤。通常，从 6-ACA 中分离生物质。此外，水和 / 或来自发酵培养基的其他组分可以从 6-ACA 中分离。6-ACA 进行环化时的浓度（环化浓度）或至少被引入环化反应器的含有 6-ACA 的进料的浓度（进料浓度）可以在较宽的范围内选择。

[0012] 通常，6-ACA 环化浓度或进料浓度为至少 50g/l 6-ACA，具体地至少 100g/l，更具体地至少 150g/l 或者至少 250g/l。甚至更优选地，6-ACA 环化浓度或进料浓度为至少 250g/l，最优选至少 400g/l。该上限并不重要。原则上，进料可以包含固体 6-ACA，只要进料保持可处理便可以。通常，6-ACA 环化浓度或进料浓度为 950g/l 或更小，具体地为 750g/l 或更小，更具体地为 500g/l 或更小。

[0013] 当在本文中提出“6-ACA 环化浓度或进料浓度”时，其包括 6-ACA 单体和 6-ACA 低聚物，在环化之前如果加热进料，可能已形成该低聚物。

[0014] 尽管原则上在使 6-ACA 环化之前，培养基中基本上所有残留组分（营养物、未反应的原料以及除了水和 6-ACA 之外的其他组分）都可以被除去，但是实际上 6-ACA 的环化通常在一种或多种除水之外的其他残余组分的存在下进行。通常，作为 6-ACA 环化浓度或进料浓度的百分比，残留组分（除了水之外）的总浓度小于 40wt. %，具体地小于 30wt. %，更具体地小于 20wt. % 或小于 10wt. %。作为 6-ACA 环化浓度或进料浓度的百分比，残留组分（除了水之外）的总浓度具体地可以为至少 2wt. %，至少 5wt. % 或至少 8wt. %。余量（如果有的话）通过水形成。

[0015] 特别地，基于其中 6-ACA 在发酵培养基中环化的实验，本发明人预期，在不存在碳水化合物或碳水化合物的浓度较低时进行环化很有利。因此，在一个优选的实施方式中，混合物包含小于 5g/l 的碳水化合物。在一个特别优选的实施方式中，含有 6-ACA 的混合物包含小于 2g/l、具体小于 1g/l、更具体小于 0.5g/l 的碳水化合物。

[0016] 在一个实施方式中，不同于碳水化合物的碳源被用作 6-ACA 在发酵过程的碳源，例如脂肪酸、氨基酸、甘油、乙酸、乙醇。在这些碳源中，预计它们不易于与 6-ACA 或己内酰胺反应形成可能难以除去的副产物。

[0017] 在另一个实施方式中，使用分批补料式发酵过程。其中，碳源（例如碳水化合物或另一种碳源）在 6-ACA 的制备过程中逐步添加到发酵培养基中。

[0018] 为了得到通过使碳水化合物发酵而制备的含有 6-ACA 的混合物（碳水化合物含量相对较低的产物），可以进行分离步骤，从而将 6-ACA 从碳水化合物中分离。

[0019] 根据本发明，不需要在 0.03 或更小的总碳水化合物与 6-氨基己酸的比例下进行发酵过程，也不需要低碳水化合物浓度下进行整个发酵过程。在含有环化的 6-ACA 的回

收混合物中所述比例为 0.03 或更小便足以。但是,有利的是在 0.03 或更小的比例下至少终止发酵过程和 / 或在低碳水化合物浓度 (具体地浓度小于 5g/l) 下终止发酵。通过限制碳水化合物的进料 (或者不加料任何碳水化合物),在发酵过程的某一时刻,微生物将导致碳水化合物的浓度降低,因为它们将碳水化合物作为碳源进行代谢 (例如以产生 6-ACA)。因而,可能达到所述比例和 / 或低碳水化合物浓度,而且当在所述比例和 / 或碳水化合物浓度较高的条件下开始时也能达到。

[0020] 在一个实施方式中,在整个发酵过程中或者至少在发酵过程的末期,在碳受限条件 (即,在其中微生物的生长受到限制碳营养物质供应的限制) 下进行发酵过程。这种方法被认为特别有利,因为如果需要,可省略从过量营养物质中分离 6-ACA 的具体分离步骤。据设想,碳受限条件在碳水化合物被用作碳源的情况下特别有利。碳受限条件 (其中尤其是碳水化合物的浓度很低) 可以直接导致含有 6-ACA 的混合物中碳水化合物浓度低。在一个具体的实施方式中,在碳受限条件下进行发酵过程之前,不在非碳受限条件下进行所述发酵过程。因而,可以利用最初的生长条件 (其中碳源可能开始被加料到体系中),这可能对 6-ACA 的生产速率有利。当微生物已转化大量碳源使其浓度变成碳受限浓度时 (通常在停止任何碳源进料之后),条件变成碳受限的。

[0021] 在一个实施方式中,含有 6-ACA 的混合物的回收包括在预处理步骤中从细胞群分离 6-ACA,特别是通过选自下列组中的技术:切向流过滤、微滤、其他形式的过滤、和离心。

[0022] 在一个实施方式中,含有 6-ACA 的混合物的回收包括在预处理步骤中从一种或更多种含有胺的化合物中分离 6-ACA,特别是从一种或更多种选自其他氨基酸、肽和蛋白质的组的化合物中。

[0023] 预期特别是在其中含有 6-ACA 的混合物具有低碳水化合物含量的方法中,分离一种或更多种含有胺的化合物和 6-ACA 的分离步骤可被省略,同时保持相对较高的产率和 / 或使通过环化得到的己内酰胺产物的提纯相对简单。

[0024] 在一个实施方式中,含有 6-ACA 的混合物的回收包括分离 6-ACA 和一种或更多种聚合物,例如一种或更多种选自多糖、多肽和蛋白质的组中的聚合物。超滤特别适用于该目的,其中在滤出液中回收 6-ACA。对于超滤来说,通常选择具有高于 6-ACA 的分子量和低于要从 6-ACA 中分离的聚合物的分子量的截止值的过滤器。

[0025] 在一个实施方式中,含有 6-ACA 的混合物的回收包括在使 6-ACA 环化之前的除水步骤。通常,仅部分水被除去,含有 6-ACA 的混合物中剩余的水可能产生蒸汽,在该蒸汽的存在下进行 6-ACA 的环化。特别地,水的除去可以通过水的蒸发来实现。

[0026] 在一个实施方式中,回收包括分离 6-ACA 和一种或更多种盐。然而,可以进行根据本发明的方法,而没有其中将 6-ACA 与一种或更多种盐分离的步骤。预期环化可能适合在盐的存在下进行,例如磷酸盐或硫酸盐,并且至少在一些实施方式中,盐的存在可能很有利,因为盐充当环化催化剂。

[0027] 原则上,环化工艺可能基于已知的环化工艺,例如如 US 6,194,572 或 US 3,658,810 中所述的。

[0028] 通常,环化在 250-400℃ 的温度范围内进行。具体地,温度可以为 275℃ 或更高,280℃ 或更高,290℃ 或更高,或 300℃ 或更高。具体地,温度可以为 375℃ 或更低,360℃ 或更低,340℃ 或更低,或 330℃ 或更低。为了使副反应的发生率低,相对低的温度是优选的;特

别地高于 330–340℃时, (例如) 6-ACA 的脱羧基化和 / 或脱氨基化可能成为一个问题。为了使反应速度快, 相对高的温度是优选的。考虑到这些因素, 温度被具体地选择在 290–330℃ 的范围内。

[0029] 通常, 环化在 0.3–2MPa 的压力范围内进行。具体地, 压力可以为 0.5MPa 或更高, 0.8MPa 或更高, 或 1.0MPa 或更高。具体地, 压力可以为 1.5MPa 或更低, 1.4MPa 或更低, 或 1.2MPa 或更低。为了使反应速度快, 相对高的压力是有利的。压力可以通过在其中 6-ACA 被环化的环化反应器中进料加压的蒸汽而增大。其结果是, 压力越大, 通常形成更多的冷凝水来稀释产物。考虑到这些因素, 压力被具体地选择在 0.8–1.5MPa 的范围内。

[0030] 本发明进一步涉及一种用于纯化己内酰胺的方法, 其包括使本发明方法中得到的包含己内酰胺的产物经历至少一个蒸馏步骤, 从而得到富含己内酰胺的馏分。优选地, 该方法包括至少一个从己内酰胺中除去轻馏分 (即, 沸点比己内酰胺低的化合物) 的蒸馏步骤和至少一个从己内酰胺中除去重馏分 (即, 沸点比己内酰胺高的化合物) 的蒸馏步骤。合适的工艺条件可以基于现有技术中已知的方法学, 例如 EP-A 1 062 203。

[0031] 优选地, 通过蒸馏得到的富含己内酰胺的馏分经历结晶步骤, 从而得到己内酰胺晶体。己内酰胺晶体可以通过本身已知的方法 (例如过滤或离心) 从剩余的液相中分离。

[0032] 分离出的晶体可以进一步纯化, 例如以本身已知方式进行熔融和闪蒸。

[0033] 之后, 己内酰胺可用于制备聚合物, 特别是聚酰胺, 所述制备包括使通过本发明方法得到的己内酰胺聚合, 可选存在一种或更多种其他可聚合化合物。

[0034] 有关 6-ACA 的发酵生产, 观察到, 可通过本身已知的方式进行。

[0035] 在一个具体的实施方式中, 6-ACA 由 6-氨基己-2-酸或 6-氨基-2-羟基-己酸发酵生产, 例如如 WO 2005/068643 所述在发酵条件下使用宿主细胞。

[0036] 在进一步具体的实施方式中, 6-ACA 由 α -酮庚二酸生产, 例如以 WO 2009/113855 中所公开的方式, 使用具有脱羧活性和 / 或转氨酶活性的生物催化剂。

[0037] 现在通过对比例和一些实施例说明本发明, 但本发明本身不限于实施例的范围。

[0038] 对比例 A

[0039] 由用于商业酶生产的使用 E. Coli 的发酵过程得到发酵液。通过微滤从发酵液中除去生物质。随后通过超滤除去生物聚合物 (包含目标产物)。向剩余的发酵液中添加 6-ACA, 制备用于 6-ACA 发酵过程的发酵液模型, 其中在 150g/l 的滴定浓度下得到 6-ACA。该混合物中碳水化合物的总含量为 6.3g/l (即, 碳水化合物与 6-ACA 的重量比为 0.042)。使所得到的产物混合物在强制循环蒸发器中在真空和 40℃ 下浓缩。浓缩的混合物包含 48.3wt. % 的水、42.1wt. % 的 6-ACA、1.8wt. % 的碳水化合物和 7.8wt. % 的其他发酵液组分 (有机酸、无机酸等)。

[0040] 将 1 千克所得到的浓缩产物混合物加料到 2 升搅拌釜反应器中。合上反应器, 通过氮气吹扫使反应器内的物质惰性化。在整个实验中, 反应器顶部的蒸汽出口管线内的反应器压力控制器保持为 1.2MPa。以 1000r. p. m 的速度开动搅拌器之后, 在约 25 分钟内用壁电加热使反应器内容物逐步加热到 315℃。在该时间段内, 存在于产物混合物中的水逐渐蒸发, 并在位于蒸汽出口管线内的蒸汽冷却器中冷凝。将回收的冷凝馏分称重并使用 HPLC 分析其中的 6-ACA、CAP 以及线性和环状低聚物。当反应器内容物达到约 315℃ 的目标温度时, 开始加入水并控制速度为 400–800g/hr。水通过搅拌器下的进料管进料, 其中当水与热

的反应器内容物接触时原位产生蒸汽。蒸汽和蒸汽汽提的产物通过反应器顶部的蒸汽出口管线离开反应器中。将冷凝的馏分称重并通过 HPLC 分析其中的 6-ACA、CAP 以及线性和环状低聚物含量。以这种方式完成反应花费约 5 小时。在该实验中得到的己内酰胺产率为 67 摩尔%（用回收的产物冷凝物中分析得到的己内酰胺的总量相对于初始加料到反应器内的 6-ACA 的总量来计算）。

[0041] 实施例 1

[0042] 用与对比例 A 所述的相似方式制备发酵液，不同之处在于，初始的发酵被延长至足够的时间以获得在发酵液中较低的残留碳水化合物含量。以这种方法制备与实施例 A 类似的发酵混合物模型，但是现在该发酵液模型的碳水化合物浓度为 1.3g/l，并且碳水化合物与 6-ACA 的重量比为 0.0087。使用与对比例 A 所述的将 6-ACA 转化为己内酰胺用的相同过程，最终得到的己内酰胺产率为 85 摩尔%。

[0043] 实施例 2

[0044] 重复实施例 1，不同之处在于最终所得发酵液模型中的残留碳水化合物浓度进一步降至 0.3g/l（通过延长发酵时间）；因此碳水化合物与 6-ACA 的重量比降至 0.0020。使用与对比例 A 所述的将 6-ACA 转化为己内酰胺用的相同过程，最终得到的己内酰胺产率为 94 摩尔%。

[0045] 上面的实施例表明如果发酵液中碳水化合物与 6-ACA 的重量比降至较低值，可实现高的己内酰胺产率。