

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-520621

(P2017-520621A)

(43) 公表日 平成29年7月27日(2017.7.27)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07C 51/09 (2006.01)	C07C 51/09	4B064
C07C 55/02 (2006.01)	C07C 55/02	4G169
C07C 55/22 (2006.01)	C07C 55/22	4H006
C07C 55/14 (2006.01)	C07C 55/14	4H039
B01J 23/44 (2006.01)	B01J 23/44 Z	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求		(全 53 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-517207 (P2017-517207)
 (86) (22) 出願日 平成27年6月10日 (2015.6.10)
 (85) 翻訳文提出日 平成29年2月7日 (2017.2.7)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2015/035178
 (87) 国際公開番号 W02015/191763
 (87) 国際公開日 平成27年12月17日 (2015.12.17)
 (31) 優先権主張番号 62/010, 371
 (32) 優先日 平成26年6月10日 (2014.6.10)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 516372158
 バイオアンバー インコーポレイテッド
 BIOAMBER INC.
 アメリカ合衆国 ミネソタ州 55114
 セント ポール ウェストゲート ドラ
 イブ 1000 スイート 117
 (74) 代理人 100147485
 弁理士 杉村 憲司
 (74) 代理人 100174001
 弁理士 結城 仁美
 (74) 代理人 100179866
 弁理士 加藤 正樹

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ホモクエン酸およびホモクエン酸誘導体からの有機酸

(57) 【要約】

本開示は、ホモクエン酸をアジピン酸に変換する方法に関し、より具体的には、金属触媒を使用して、ホモクエン酸のアジピン酸への変換を触媒する方法に関する。

【特許請求の範囲】

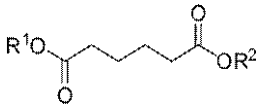
【請求項 1】

アジピン酸、またはその塩もしくはエステルを製造する方法であって、ホモクエン酸、またはその塩、エステル、もしくはラク톤を金属触媒と接触させることを含む、方法。

【請求項 2】

式 I の化合物：

【化 1】



10

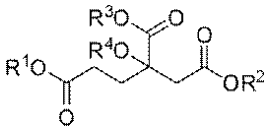
またはその塩を製造する方法であって、

式 I 中：

各 R¹ および R² が、個々に H および保護基から選択され；

金属触媒を、式 I I の化合物：

【化 2】



20

またはその塩を含む組成物と接触させることを含み、

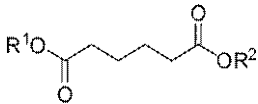
式 I I 中：

各 R¹、R²、R³、および R⁴ が、個々に H および保護基から選択される、方法。

【請求項 3】

式 I の化合物：

【化 3】



30

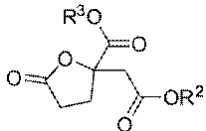
またはその塩を製造する方法であって、

式 I 中：

各 R¹ および R² が、個々に H および保護基から選択され；

金属触媒を、式 I I I の化合物：

【化 4】



40

またはその塩を含む組成物と接触させることを含み、

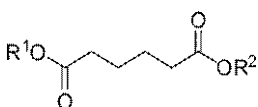
式 I I I 中：

各 R² および R³ が、個々に H および保護基から選択される、方法。

【請求項 4】

式 I の化合物：

【化 5】



またはその塩を製造する方法であって、

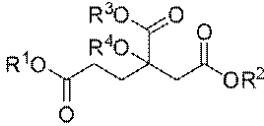
式 I 中：

各 R¹ および R² が、個々に H および保護基から選択され；

a) 式 I I の化合物：

50

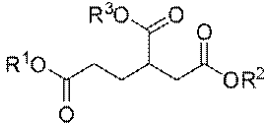
【化 6】



またはその塩を水素化分解して、式 I V の化合物またはその塩を調製することと、
式 I I 中：

各 R¹、R²、R³、および R⁴ が、個々に H および保護基から選択され；

【化 7】



式 I V 中：

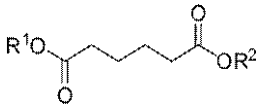
各 R¹、R²、R³、および R⁴ が、個々に H および保護基から選択され；

b) 式 I V の化合物を選択的脱炭酸して、式 I の化合物またはその塩を製造することを含む、方法。

【請求項 5】

式 I の化合物：

【化 8】



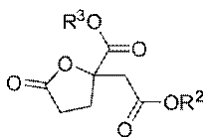
またはその塩を製造する方法であって、

式 I 中：

各 R¹ および R² が、個々に H および保護基から選択され；

a) 式 I I I の化合物：

【化 9】

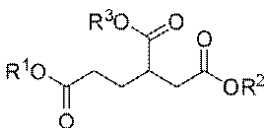


またはその塩を水素化分解して、式 I V の化合物またはその塩を調製することと、

式 I I I 中：

各 R² および R³ が、個々に H および保護基から選択され；

【化 10】



式 I V 中：

各 R¹、R²、R³、および R⁴ が、個々に H および保護基から選択され；

b) 式 I V の化合物を選択的脱炭酸して、式 I の化合物またはその塩を製造することを含む、方法。

【請求項 6】

2 - エチルコハク酸、またはその塩もしくはエステルを製造する方法であって、ホモクエン酸、またはその塩、エステル、もしくはラク톤を金属触媒と接触させることを含む、方法。

【請求項 7】

式 V の化合物：

10

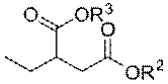
20

30

40

50

【化 1 1】



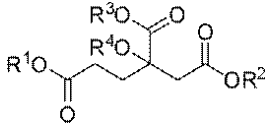
またはその塩を製造する方法であって、

式 V 中：

各 R² および R³ が、個々に H および保護基から選択され；

金属触媒を、式 I I の化合物：

【化 1 2】



10

またはその塩を含む組成物と接触させることを含み、

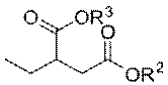
式 I I 中：

各 R¹、R²、R³、および R⁴ が、個々に H および保護基から選択される、方法。

【請求項 8】

式 V の化合物：

【化 1 3】



20

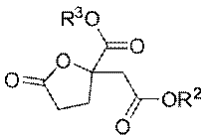
またはその塩を製造する方法であって、

式 V 中：

各 R² および R³ が、個々に H および保護基から選択され；

金属触媒を、式 I I I の化合物：

【化 1 4】



30

またはその塩を含む組成物と接触させることを含み、

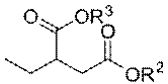
式 I I I 中：

各 R² および R³ が、個々に H および保護基から選択される、方法。

【請求項 9】

式 V の化合物：

【化 1 5】



またはその塩を製造する方法であって、

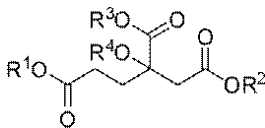
式 V 中：

各 R² および R³ が、個々に H および保護基から選択され；

40

a) 式 I I の化合物：

【化 1 6】

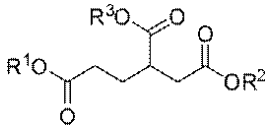


またはその塩を水素化分解して、式 I V の化合物またはその塩を調製することと、

式 I I 中：

各 R¹、R²、R³、および R⁴ が、個々に H および保護基から選択され；

【化 17】



式 I V 中：

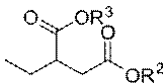
各 R¹、R²、R³、および R⁴ が、個々に H および保護基から選択され；

b) 式 I V の化合物を選択的脱炭酸して、式 V の化合物またはその塩を製造することを含む、方法。

【請求項 10】

式 V の化合物：

【化 18】



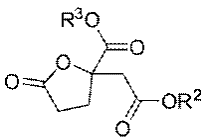
またはその塩を製造する方法であって、

式 V 中：

各 R² および R³ が、個々に H および保護基から選択され；

a) 式 I I I の化合物：

【化 19】

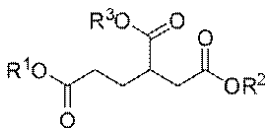


またはその塩を水素化分解して、式 I V の化合物またはその塩を調製することと、

式 I I I 中：

各 R² および R³ が、個々に H および保護基から選択され；

【化 20】



式 I V 中：

各 R¹、R²、R³、および R⁴ が、個々に H および保護基から選択され；

b) 式 I V の化合物を選択的脱炭酸して、式 V の化合物またはその塩を製造することを含む、方法。

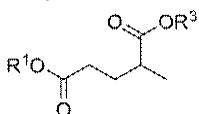
【請求項 11】

2 - メチルペンタン二酸、またはその塩もしくはエステルを製造する方法であって、ホモクエン酸、またはその塩、エステル、もしくはラク톤を金属触媒と接触させることを含む、方法。

【請求項 12】

式 V I の化合物：

【化 21】



またはその塩を製造する方法であって、

式 V I 中：

各 R¹ および R³ が、個々に H および保護基から選択され；

金属触媒を、式 I I の化合物：

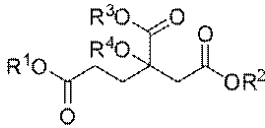
10

20

30

40

【化 2 2】



またはその塩を含む組成物と接触させることを含み、

式 I I 中：

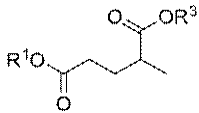
各 R¹、R²、R³、および R⁴ が、個々に H および保護基から選択される、方法。

【請求項 1 3】

式 V I の化合物：

10

【化 2 3】



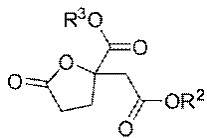
またはその塩を製造する方法であって、

式 V I 中：

各 R¹ および R³ が、個々に H および保護基から選択され；

金属触媒を、式 I I I の化合物：

【化 2 4】



20

またはその塩を含む組成物と接触させることを含み、

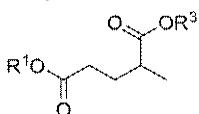
式 I I I 中：

各 R² および R³ が、個々に H および保護基から選択される、方法。

【請求項 1 4】

式 V I の化合物：

【化 2 5】



30

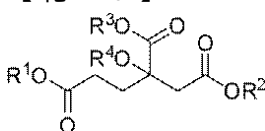
またはその塩を製造する方法であって、

式 V I 中：

各 R¹ および R³ が、個々に H および保護基から選択され；

a) 式 I I の化合物：

【化 2 6】



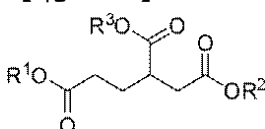
40

またはその塩を水素化分解して、式 I V の化合物またはその塩を調製することと、

式 I I 中：

各 R¹、R²、R³、および R⁴ が、個々に H および保護基から選択され；

【化 2 7】



式 I V 中：

50

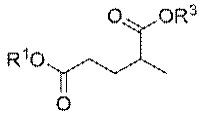
各 R^1 、 R^2 、 R^3 、および R^4 が、個々に H および保護基から選択され；

b) 式 I V の化合物を選択的脱炭酸して、式 V I の化合物またはその塩を製造することとを含む、方法。

【請求項 15】

式 V I の化合物：

【化 28】



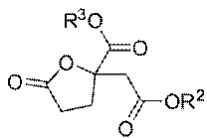
またはその塩を製造する方法であって、

式 V I 中：

各 R^1 および R^3 が、個々に H および保護基から選択され；

a) 式 I I I の化合物：

【化 29】

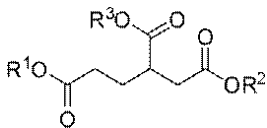


またはその塩を水素化分解して、式 I V の化合物またはその塩を調製することと、

式 I I I 中：

各 R^2 および R^3 が、個々に H および保護基から選択され；

【化 30】



式 I V 中：

各 R^1 、 R^2 、 R^3 、および R^4 が、個々に H および保護基から選択され；

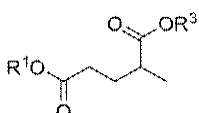
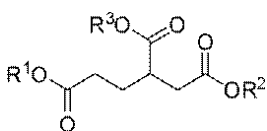
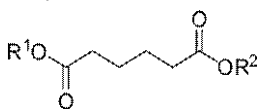
b) 式 I V の化合物を選択的脱炭酸して、式 V I の化合物またはその塩を製造することとを含む、方法。

【請求項 16】

アジピン酸、1,2,4-ブタントリカルボン酸、2-エチルコハク酸、および2-メチルペンタン二酸、またはそれらの塩もしくはエステルからなる群より選択される2つ以上の化合物を含む組成物を製造する方法であって、ホモクエン酸、またはその塩、エステル、もしくはラク톤を金属触媒と接触させることを含む、方法。

【請求項 17】

【化 31】



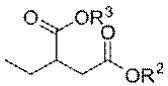
10

20

30

40

50



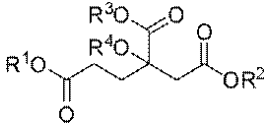
またはそれらの塩からなる群より選択される2つ以上の化合物を含む組成物を製造する方法であって、

式中：

各 R^1 、 R^2 、および R^3 が、個々にHおよび保護基から選択され；

金属触媒を、式 I I の化合物

【化 3 2】



10

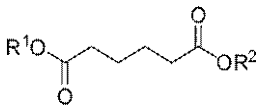
またはその塩を含む組成物と接触させることを含み、

式 I I 中：

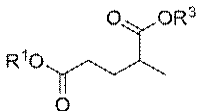
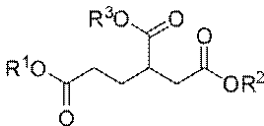
各 R^1 、 R^2 、 R^3 、および R^4 が、個々にHおよび保護基から選択される、方法。

【請求項 1 8】

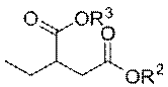
【化 3 3】



20



30



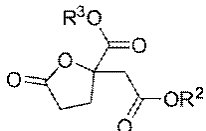
またはそれらの塩からなる群より選択される2つ以上の化合物を含む組成物を製造する方法であって、

式中：

各 R^1 、 R^2 、および R^3 が、個々にHおよび保護基から選択され；

金属触媒を、式 I I I の化合物

【化 3 4】



40

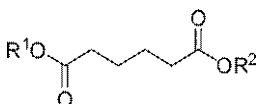
またはその塩を含む組成物と接触させることを含み、

式 I I I 中：

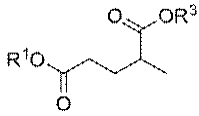
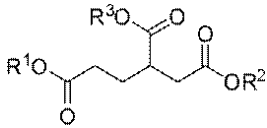
各 R^2 および R^3 が、個々にHおよび保護基から選択される、方法。

【請求項 1 9】

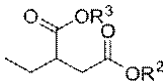
【化 3 5】



50



10



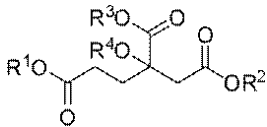
またはそれらの塩からなる群より選択される2つ以上の化合物を含む組成物を製造する方法であって、

式中：

各 R^1 、 R^2 、および R^3 が、個々にHおよび保護基から選択され；

a) 式 I I の化合物：

【化 3 6】

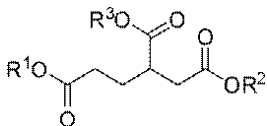


20

またはその塩を水素化分解して、式 I V の化合物またはその塩を調製することと、式 I I 中：

各 R^1 、 R^2 、 R^3 、および R^4 が、個々にHおよび保護基から選択され；

【化 3 7】



30

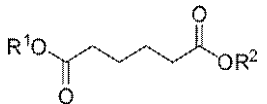
式 I V 中：

各 R^1 、 R^2 、 R^3 、および R^4 が、個々にHおよび保護基から選択され；

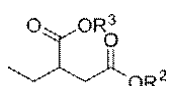
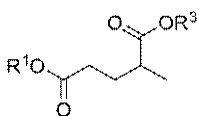
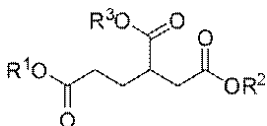
b) 式 I V の化合物を選択的脱炭酸して、該組成物を調製することを含む、方法。

【請求項 20】

【化 3 8】



40



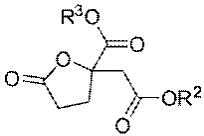
50

またはそれらの塩からなる群より選択される2つ以上の化合物を製造する方法であって、
式中：

各 R^1 、 R^2 、および R^3 が、個々にHおよび保護基から選択され；

a) 式 I I I の化合物：

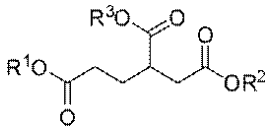
【化 3 9】



またはその塩を水素化分解して、式 I V の化合物またはその塩を調製することと、
式 I I I 中：

各 R^2 および R^3 が、個々にHおよび保護基から選択され；

【化 4 0】



式 I V 中：

各 R^1 、 R^2 、 R^3 、および R^4 が、個々にHおよび保護基から選択され；

b) 式 I V の化合物を選択的脱炭酸して、該組成物を調製することを含む、方法。

【請求項 2 1】

該金属触媒が不均一系触媒である、請求項 1 ~ 2 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 2】

該金属触媒が、Ni、Pd、Pt、Re、Ag、Au、Cu、Zn、Rh、Ru、Bi、Fe、Co、Os、Ir、V、および2つ以上のそれらの混合物からなる群より選択される金属を含む、請求項 1 ~ 2 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 3】

該金属触媒が、PdおよびPtからなる群より選択される金属を含む、請求項 1 ~ 2 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 4】

該金属触媒がPdを含む、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

該金属触媒が二元金属触媒である、請求項 1 ~ 2 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 6】

該金属触媒が、PdおよびCuを含む、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 7】

該金属触媒がナノ触媒である、請求項 1 ~ 2 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 8】

該金属触媒が担持触媒である、請求項 1 ~ 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 9】

該金属触媒が促進剤を含む、請求項 1 ~ 2 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 0】

該促進剤が硫黄を含む、方法 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 1】

該方法が、少なくとも約 1 0 0 の温度で行われる、請求項 1 ~ 3 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 2】

該方法が、約 1 0 0 ~ 約 2 0 0 の温度で行われる、請求項 1 ~ 3 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 3】

10

20

30

40

50

該方法が、約 150 ~ 約 180 の温度で行われる、請求項 1 ~ 32 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 34】

該金属触媒が、接触の前に活性化される、請求項 1 ~ 33 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 35】

該金属触媒が、水素ガス下で活性化される、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 36】

該金属触媒が、約 100 ~ 約 200 の温度で活性化される、請求項 34 または 35 のいずれか一項に記載の方法。

10

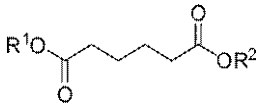
【請求項 37】

アジピン酸、またはその塩もしくはエステルを製造する方法であって、ホモクエン酸ラク톤を Pd(S)/C 触媒と接触させることを含む、方法。

【請求項 38】

式 I の化合物：

【化 41】



またはその塩を製造する方法であって、

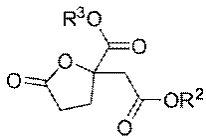
20

式 I 中：

各 R¹ および R² が、個々に H および保護基から選択され；

Pd(S)/C 触媒を、式 III の化合物：

【化 42】



またはその塩を含む組成物と接触させることを含み、

30

式 III 中：

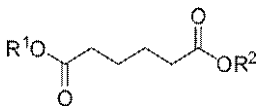
各 R² および R³ が、個々に H および保護基から選択される、方法。

【請求項 39】

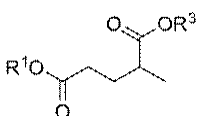
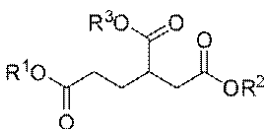
アジピン酸、1,2,4-ブタントリカルボン酸、2-エチルコハク酸、および 2-メチルペンタン二酸、またはそれらの塩もしくはエステルからなる群より選択される 2 つ以上の化合物を含む組成物。

【請求項 40】

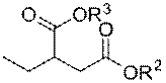
【化 43】



40



50



またはそれらの塩からなる群より選択される2つ以上の化合物を含む組成物であって、式中：

各 R^1 、 R^2 、および R^3 が、個々にHおよび保護基から選択される、組成物。

【請求項41】

請求項40に記載の組成物を製造する方法であって、
組換え好酸性酵母を、ホモクエン酸ラク톤を含む発酵培養液で培養すること；
該ホモクエン酸ラク톤を金属触媒と接触させること；および
請求項40に記載の組成物を製造すること
を含む、方法。

10

【請求項42】

アジピン酸またはその塩を製造する方法であって、
ホモクエン酸、ホモアコニット酸またはそれらの組み合わせから選択される産物を過剰生産する遺伝子組み換え微生物を、炭水化物源と接触させること；
該ホモクエン酸、ホモアコニット酸またはそれらの組み合わせを分離すること；および
該ホモクエン酸、ホモアコニット酸またはそれらの組み合わせを、アジピン酸に触媒的に変換すること
を含む、方法。

20

【発明の詳細な説明】

【関連出願の相互参照】

【0001】

本出願は、2014年6月10に出願された米国仮出願第62/010371号の優先権を主張し、その内容全体は参照により本明細書に組み込まれる。

【技術分野】

【0002】

本開示は、ホモクエン酸またはホモクエン酸の誘導体を、アジピン酸を含む、有機酸に変換する方法に関する。

【背景技術】

【0003】

現在、多くの炭素含有化学物質が、石油系資源に由来する。石油由来の原料への依存は、石油埋蔵量の枯渇または石油掘削に関連した有害な環境影響の一因となる。

30

【0004】

糖発酵の特定の炭素質産物は、ポリマーなどの炭素含有化学物質の製造に使用される石油由来材料の代替として見なされている。そのような産物としては、例えば、ポリマーを製造するために使用される二価酸および三価酸が挙げられる。有用な二価酸の具体例は、アジピン酸である。アジピン酸は、全ての商業生産が今日でも石油由来である市場を、大きな市場とする。

【発明の概要】

【0005】

本明細書で提供されるのは、本開示の方法を用いて製造することができる二価酸および三価酸を含む組成物である。記載される方法は、とりわけ、以下の式I、IV、VおよびVIに示される化合物を含有する組成物の作製を可能にする。いくつかの例では、式I、IV、VおよびVIに示される化合物の1つ以上を含有する組成物を分離工程にかけ、該組成物が、式I、IV、VおよびVIの化合物の1つを80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または99.5%より多く含有するようにすることができる。当業者は、そのような分離を、抽出、蒸留および/または結晶化を用いて達成することができることを理解するであろう。

40

【0006】

本明細書で提供されるのは、アジピン酸、またはその塩もしくはエステルを製造する方

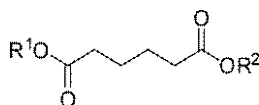
50

法であり、その方法は、ホモクエン酸、もしくはその塩、エステル、もしくはラクトン、またはホモアコニット酸、もしくはその塩もしくはエステルを、金属触媒と接触させることを含む。

【0007】

式 I の化合物：

【化 1】

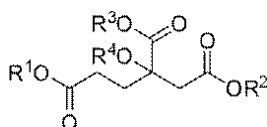


またはその塩を製造する方法であって、

式 I 中：

各 R¹ および R² が、個々に H および保護基から選択される方法も提供される。該方法は、金属触媒を、式 I I の化合物：

【化 2】

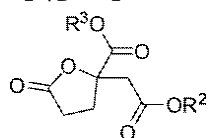


またはその塩を含む組成物と接触させることを含み、

式 I I 中：

各 R¹、R²、R³、および R⁴ が、個々に H および保護基から選択される。また、本明細書で提供されるのは、式 I の化合物またはその塩を製造する方法であって、該方法は、金属触媒を、式 I I I の化合物：

【化 3】



またはその塩を含む組成物と接触させることを含み、

式 I I I 中：

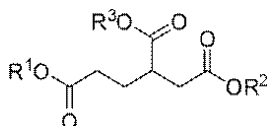
各 R² および R³ が、個々に H および保護基から選択される、方法である。

【0008】

いくつかの実施形態では、式 I の化合物またはその塩を、

a) 式 I I の化合物またはその塩を水素化分解して、式 I V の化合物またはその塩を調製することと、

【化 4】



式 I V 中：

各 R¹、R²、R³、および R⁴ が、個々に H および保護基から選択され；

b) 式 I V の化合物を選択的脱炭酸して、式 I の化合物またはその塩を製造することにより、調製することができる。

【0009】

いくつかの実施形態では、式 I の化合物またはその塩を、a) 式 I I I の化合物またはその塩を水素化分解して、式 I V の化合物またはその塩を調製することと；b) 式 I V の化合物を選択的脱炭酸して、式 I の化合物またはその塩を製造することにより、調製することができる。

【0010】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、アジピン酸、またはその塩もしくはエステルを製造する方法は、ホムクエン酸ラク톤を Pd (S) / C 触媒と接触させることを含む得る。例えば、式 I の化合物またはその塩は、Pd (S) / C 触媒を、式 I I I の化合物またはその塩を含む組成物と接触させることを含む方法を用いて調製することができる。

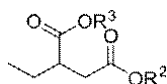
【 0 0 1 1 】

また、本明細書で提供されるのは、2 - エチルコハク酸、またはその塩もしくはエステルを製造する方法であって、ホムクエン酸、またはその塩、エステル、もしくはラク톤を金属触媒と接触させることを含む方法である。

【 0 0 1 2 】

式 V の化合物：

【 化 5 】



またはその塩を製造する方法であって、

式 V 中：

各 R² および R³ が、個々に H および保護基から選択される方法も提供される。該方法は、金属触媒を、式 I I の化合物もしくはその塩および / または式 I I I の化合物もしくはその塩を含む組成物と接触させることを含む得る。

【 0 0 1 3 】

いくつかの実施形態では、式 V の化合物またはその塩は、a) 式 I I の化合物もしくはその塩および / または式 I I I の化合物もしくはその塩を水素化分解して、式 I V の化合物またはその塩を調製することと ; b) 式 I V の化合物を選択的脱炭酸して、式 V の化合物またはその塩を製造することとを含む方法により、調製することができる。

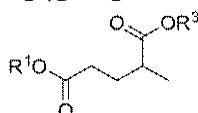
【 0 0 1 4 】

さらに本明細書で提供されるのは、2 - メチルペンタン二酸、またはその塩もしくはエステルを製造する方法であって、ホムクエン酸、またはその塩、エステル、もしくはラク톤を金属触媒と接触させることを含む方法である。

【 0 0 1 5 】

式 V I の化合物：

【 化 6 】



またはその塩を製造する方法であって、

式 V I 中：

各 R¹ および R³ が、個々に H および保護基から選択される方法も提供される。該方法は、金属触媒を、式 I I の化合物もしくはその塩および / または式 I I I の化合物もしくはその塩を含む組成物と接触させることを含む得る。

【 0 0 1 6 】

いくつかの実施形態では、式 V の化合物またはその塩は、a) 式 I I の化合物もしくはその塩および / または式 I I I の化合物もしくはその塩を水素化分解して、式 I V の化合物またはその塩を調製することと ; b) 式 I V の化合物を選択的脱炭酸して、式 V の化合物またはその塩を製造することとを含む方法により、調製することができる。

【 0 0 1 7 】

本開示は、アジピン酸、1, 2, 4 - ブタントリカルボン酸、2 - エチルコハク酸、および 2 - メチルペンタン二酸、またはそれらの塩もしくはエステルからなる群より選択される 2 つ以上の化合物を含む組成物を製造する方法であって、ホムクエン酸、またはその塩、エステル、もしくはラク톤を金属触媒と接触させることを含む方法を提供する。

【 0 0 1 8 】

10

20

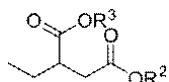
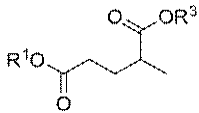
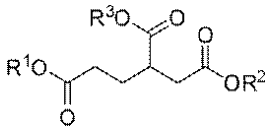
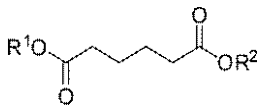
30

40

50

いくつかの実施形態では、

【化 7】



またはそれらの塩からなる群より選択される 2 つ以上の化合物を含む組成物を製造する方法は、

式中：

各 R^1 、 R^2 、および R^3 が、個々に H および保護基から選択され；

金属触媒を、式 I I の化合物もしくはその塩および / または式 I I I の化合物もしくはその塩を含む組成物と接触させることを含む。

【 0 0 1 9】

いくつかの実施形態では、式 I、I V、V、および V I、またはそれらの塩から選択される 2 つ以上の化合物を含む組成物は、a) 式 I I の化合物もしくはその塩、および / または式 I I I の化合物もしくはその塩を水素化分解して、式 I V の化合物またはその塩を調製することと；b) 式 I V の化合物を、組成物へ選択的脱炭酸することを含む方法により、調製することができる。

【 0 0 2 0】

本明細書に記載されるいくつかの方法では、金属触媒は不均一系触媒である。いくつかの実施形態では、金属触媒は、Ni、Pd、Pt、Re、Au、Ag、Cu、Zn、Rh、Ru、Bi、Fe、Co、Os、Ir、V、および 2 つ以上のそれらの混合物からなる群より選択される金属を含む。例えば、金属触媒は、Pd および Pt からなる群より選択される金属を含む。いくつかの実施形態では、金属触媒は Pd を含む。いくつかの実施形態では、金属触媒は担持触媒である。いくつかの実施形態では、金属触媒は促進剤を含む。例えば、促進剤は硫黄を含む。

【 0 0 2 1】

いくつかの実施形態では、本方法は、少なくとも約 100 の温度で行われる。例えば、本方法は、約 100 ~ 約 200 の温度で行われる。例えば、本方法は、約 150 ~ 約 300 の温度で行われる。いくつかの実施形態では、本方法は、約 150 ~ 約 180 の温度で行われる。

【 0 0 2 2】

いくつかの実施形態では、金属触媒は、接触の前に活性化される。例えば、金属触媒は、水素ガス、不活性ガス、または不活性ガスと水素との組み合わせの下で活性化される。いくつかの実施形態では、金属触媒は、約 100 ~ 約 200、200 ~ 約 300、または 300 ~ 約 400 の温度で活性化される。

【 0 0 2 3】

また、本明細書で提供されるのは、アジピン酸、1, 2, 4 - ブタントリカルボン酸、2 - エチルコハク酸、および 2 - メチルペンタン二酸、またはそれらの塩もしくはエステ

10

20

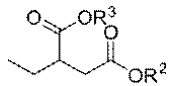
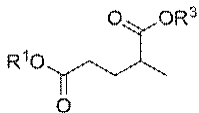
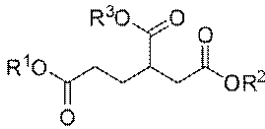
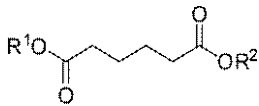
30

40

50

ルからなる群より選択される2つ以上の化合物を含む組成物である。いくつかの実施形態では、組成物は、

【化8】



またはそれらの塩からなる群より選択される2つ以上の化合物を含むことができ、
式中：

各 R¹、R²、および R³ が、個々に H および保護基から選択される。

【0024】

別段の定めがない限り、本明細書中で使用される全ての技術的および科学的用語は、本発明が属する技術分野の当業者により通常理解されるのと同じ意味を有する。方法および材料は、本発明における使用のために本明細書に記載されており；当該技術分野で知られている他の適切な方法および材料を使用することもできる。材料、方法、および実施例は例示にすぎず、限定することを意図するものではない。本明細書で言及される全ての刊行物、特許出願、特許、配列、データベースエントリー、およびその他の参考文献は、その全体が参照により組み込まれる。矛盾する場合、本明細書が、定義を含めて、優位する。

【0025】

本発明の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明および図面から、ならびに特許請求の範囲から明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図1】図1は、純粋なラクトン（無触媒）の、水素化分解反応の前（黒線）と後（青線）とのGC/MSクロマトグラムである。

【図2】図2は、ブランク試料（無触媒での水素化分解後のラクトン）と、触媒番号7、9、13、51、53、54を用いた試料とのGC/MSクロマトグラムを示す。

【図3】図3は、対照試料（無触媒での水素化分解後のラクトン）と、触媒番号6および59を用いたホモクエン酸ラクトン試料とのGC/MSクロマトグラムを示す。

【図4】図4は、3つ全ての方法により活性化された触媒番号51を使用したホモクエン酸ラクトン試料のGC/MSクロマトグラムを示す。

【図5】図5は、対照試料（無触媒）と、触媒番号6を、1、2および3当量のNaOHと共にまたはそれらなしで用いた試料とのGC/MSクロマトグラムを示す。

【図6】図6は、対照試料（無触媒ラクトン）と、触媒番号59を、1、2および3当量のNaOHと共にまたはそれらなしで用いた試料とのGC/MSクロマトグラムを示す。

【図7】図7は、ブランク試料（無触媒での水素化分解後のラクトン）と、触媒番号7、9、13、51、53、54を用いた試料とのGC/MSクロマトグラムを示す。

【図8】図8は、無触媒での水素化分解後のラクトンと、触媒番号7および51（方法C）ならびに市販の乾燥/還元された触媒番号59を用いた試料とのGC/MSクロマトグ

10

20

30

40

50

ラムを示す。

【図 9】図 9 は、ホモクエン酸ラクTONの触媒番号 1 3 での定量的変換を示す。

【図 10】図 10 は、脱炭酸化生成物を含む例示的なクロマトグラムを示す。

【図 11】図 11 は、1, 2, 4 - ブタントリカルボン酸のアジピン酸への変換を示す。

【図 12】図 12 は、Pt / C および Pt (S) / C 触媒での反応生成物を示す。

【図 13】図 13 は、ホモクエン酸ラクTONのアジピン酸への変換についての G C F I D クロマトグラム (メチルエステル誘導体化後) である。

【図 14】図 14 は、ホモクエン酸ラクTONのアジピン酸への変換についての G C F I D クロマトグラム (メチルエステル誘導体化後) である。

【図 15】図 15 は、N₂ 下でのホモクエン酸ラクTONのアジピン酸への変換を示す。ここで、2 E S = 2 - エチルスクシネート (青色の棒、左から 1 番目)、2 M G = 2 - メチルグルタラート (赤色の棒、左から 2 番目)、A A = アジペート (緑色の棒、左から 3 番目)、T A = 1, 2, 4 - ブタントリカルボキシラート (紫色の棒、左から 4 番目) である。

10

【図 16】図 16 は、混合 N₂ / H₂、H₂ および N₂ 圧力下でのホモクエン酸ラクTONのアジピン酸への変換を示す。ここで、2 E S = 2 - エチルスクシネート (青色の棒、下)、2 M G = 2 - メチルグルタラート (赤色の棒、下から 2 番目)、A A = アジペート (緑色の棒、下から 3 番目)、T A = 1, 2, 4 - ブタントリカルボキシラート (紫の棒、下から 4 番目) である。

【図 17】図 17 は、水 / D M S O (5 0 : 5 0) 溶媒中でのホモクエン酸ラクTONのアジピン酸への変換を示す。ここで、2 E S = 2 - エチルスクシネート (青色の棒、左から 1 番目)、A A = アジペート (赤色の棒、左から 2 番目)、T A = 1, 2, 4 - ブタントリカルボキシラート (緑色の棒、左から 3 番目) である。

20

【図 18】図 18 は、オートクレーブ条件におけるホモクエン酸ラクTONのアジピン酸への変換についての G C F I D クロマトグラムである。

【図 19】図 19 は、4 つの主要生成物：2 E S = 2 - エチルスクシネート (青色の棒、下)、2 M G = 2 - メチルグルタラート (赤色の棒、下から 2 番目)、A A = アジペート (緑色の棒、下から 3 番目)、T A = 1, 2, 4 - ブタントリカルボキシラート (紫色の棒、下から 4 番目) の m o l % 濃度を示す。

【図 20】図 20 は、N₂ 下でのホモクエン酸ラクTON、ホモクエン酸、およびホモアコニット酸のアジピン酸への変換を示す。ここで、2 E S = 2 - エチルスクシネート (青色の棒、下)、2 M G = 2 - メチルグルタラート (赤色の棒、下から 2 番目)、A A = アジペート (緑色の棒、下から 3 番目)、T A = 1, 2, 4 - ブタントリカルボキシラート (紫色の棒、下から 4 番目)。

30

【発明を実施するための形態】

【0027】

本明細書で提供されるのは、アジピン酸 (C H₂)₄ (C O O H)₂ を製造する方法である。約 2 5 億キログラムのこの白色結晶性粉末が、毎年生産されている。アジピン酸は、主にナイロンの製造のためのモノマーとして使用されるが、ポリウレタンの製造にも関与し、そのエステル (アジペート) は、P V C の製造に使用される可塑剤である。したがって、工業的観点からは、最も重要なジカルボン酸の 1 つであると考えられている。

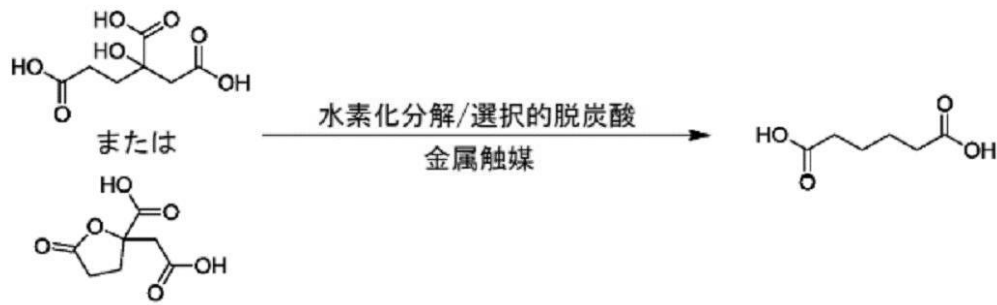
40

【0028】

本明細書で提供される方法は、ホモクエン酸のアジピン酸への変換と、関連化合物 2 - エチルコハク酸および 2 - メチルペンタン二酸とに関連している。例えば、アジピン酸の調製は、スキーム 1 で示すことができる。

【化 9】

スキーム1.



10

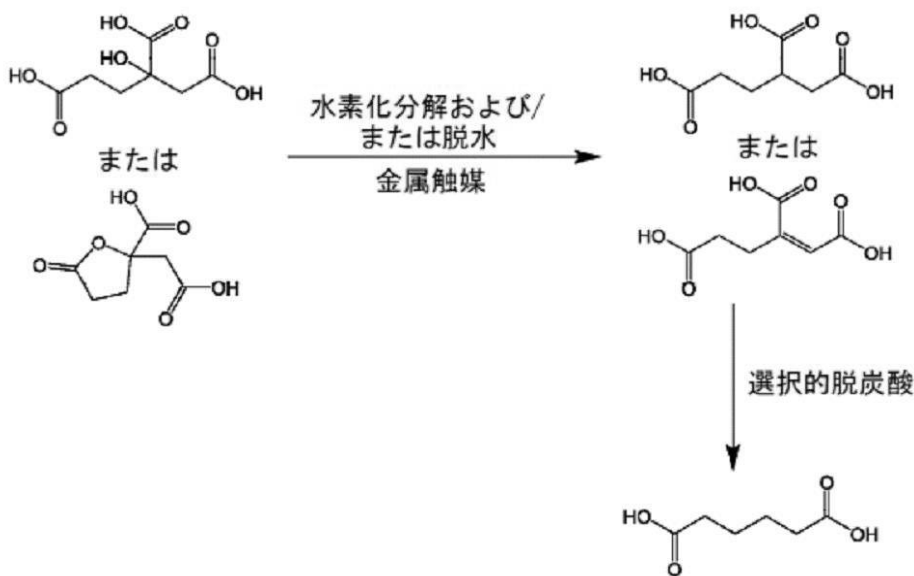
ここで、化合物のそれぞれは、その塩またはエステルとして存在してもよい。

【0029】

理論により拘束されるものではないが、反応は、スキーム2に示されるように進行すると考えられる。

【化10】

スキーム2.



20

30

ここで、化合物のそれぞれは、その塩またはエステルとして存在してもよい。

【0030】

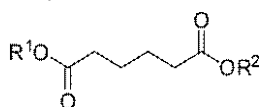
したがって、本明細書で提供されるのは、アジピン酸、またはその塩もしくはエステルを製造する方法であり、その方法は、ホモクエン酸、またはその塩、エステル、もしくはラク톤を、金属触媒と接触させることを含む。

40

【0031】

いくつかの実施形態では、式Iの化合物：

【化11】



またはその塩を製造する方法であって、

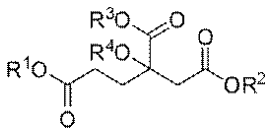
式I中：

各 R^1 および R^2 が、個々に H および保護基から選択される、方法が提供される。該方法

50

は、金属触媒を、式 I I の化合物：

【化 1 2】



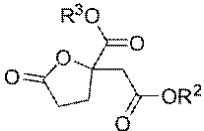
またはその塩を含む組成物と接触させることを含み、

式 I I 中：

各 R¹、R²、R³、および R⁴ が、個々に H および保護基から選択される。いくつかの実施形態では、式 I の化合物またはその塩は、金属触媒を、式 I I I の化合物：

10

【化 1 3】



またはその塩を含む組成物と接触させることにより調製することができ、

式 I I I 中：

各 R² および R³ は、個々に H および保護基から選択される。

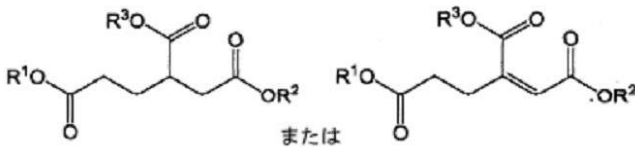
【0032】

スキーム 2 に示すように、式 I の化合物またはその塩を、いくつかの実施形態では、

20

a) 式 I I の化合物またはその塩を水素化分解して、式 I V の化合物またはその塩を調製することと、

【化 1 4】



式 I V 中：

各 R¹、R²、R³、および R⁴ が、個々に H および保護基から選択され；

30

b) 式 I V の化合物を選択的脱炭酸して、式 I の化合物またはその塩を製造することを含む方法により調製することができると考えられる。いくつかの実施形態では、式 I の化合物またはその塩は、式 I I I の化合物またはその塩を脱水および/または水素化分解して、式 I V の化合物またはその塩を調製することと、その後、式 I V の化合物を選択的脱炭酸して、式 I の化合物またはその塩を調製することを含む方法により、調製することができる。

【0033】

本開示はさらに、アジピン酸、またはその塩もしくはエステルを製造する方法であって、ホムクエン酸ラク톤を Pd(S)/C 触媒と接触させることを含む方法を提供する。いくつかの実施形態では、式 I の化合物またはその塩を製造する方法は、Pd(S)/C 触媒を、式 I I I の化合物またはその塩を含む組成物と接触させることを含む。例えば、式 I の化合物またはその塩を製造する方法は、式 I I I の化合物またはその塩を水素化分解して、式 I V の化合物を調製することと、その後、式 I V の化合物を選択的脱炭酸して、式 I の化合物またはその塩を製造することを含むことができる。いくつかの実施形態では、そのような方法は、単一の反応ポット中で、Pd(S)/C 触媒の存在下で行われる。

40

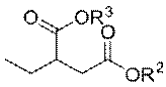
【0034】

また、本明細書で提供されるのは、2-エチルコハク酸、またはその塩もしくはエステルを製造する方法である。該方法は、ホムクエン酸、またはその塩、エステル、もしくはラク톤を金属触媒と接触させることを含むことができる。いくつかの実施形態では、式

50

Vの化合物：

【化15】



またはその塩を製造する方法であって、

式V中：

各R²およびR³が、個々にHおよび保護基から選択される、方法が提供される。該方法は、金属触媒を、式I Iの化合物もしくはその塩および/または式I I Iの化合物もしくはその塩を含む組成物と接触させることを含む。

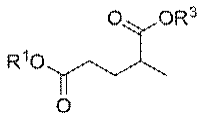
【0035】

いくつかの実施形態では、式Vの化合物またはその塩を製造する方法は、式I Iの化合物もしくはその塩および/または式I I Iの化合物もしくはその塩を水素化分解して、式I Vの化合物またはその塩を調製することと、その後、式I Vの化合物を選択的脱炭酸して、式Vの化合物またはその塩を製造することとを含むことができる。

【0036】

さらに、本明細書で提供されるのは、2-メチルペンタン二酸、またはその塩もしくはエステルを製造する方法であって、ホムクエン酸、またはその塩、エステル、もしくはラク톤を金属触媒と接触させることを含む、方法である。いくつかの実施形態では、式V Iの化合物：

【化16】



またはその塩を製造する方法であって、

式V I中：

各R¹およびR³が、個々にHおよび保護基から選択される、方法も提供される。該方法は、金属触媒を、式I Iの化合物もしくはその塩および/または式I I Iの化合物もしくはその塩を含む組成物と接触させることを含む。

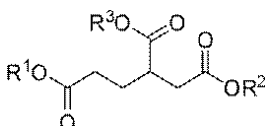
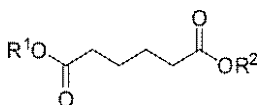
【0037】

いくつかの実施形態では、式V Iの化合物またはその塩を製造する方法は、式I Iの化合物もしくはその塩および/または式I I Iの化合物もしくはその塩を水素化分解して、式I Vの化合物またはその塩を調製することと、その後、式I Vの化合物を選択的脱炭酸して、式V Iの化合物またはその塩を製造することとを含むことができる。

【0038】

本明細書で提供される方法を用いて、本明細書に記載の1つ以上の化合物を調製することができる。例えば、本明細書に記載の方法を用いて、アジピン酸、1,2,4-ブタントリカルボン酸、2-エチルコハク酸、および2-メチルペンタン二酸、またはそれらの塩もしくはエステルからなる群より選択される2つ以上の化合物を含む組成物を調製することができる。いくつかの実施形態では、該方法は、ホムクエン酸、またはその塩、エステル、もしくはラク톤を金属触媒と接触させることを含む。いくつかの実施形態では、

【化17】



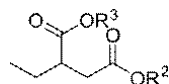
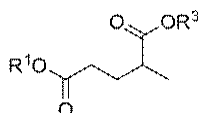
10

20

30

40

50



またはそれらの塩からなる群より選択される2つ以上の化合物を含む組成物を製造する方法であって、

式中：

各 R^1 、 R^2 、および R^3 が、個々にHおよび保護基から選択され；

金属触媒を、式 I I の化合物もしくはその塩および / または式 I I I の化合物もしくはその塩を含む組成物と接触させることを含む、方法が提供される。

【0039】

いくつかの実施形態では、2つ以上の、式 I、I V、V、および V I の化合物、またはそれらの塩を含む組成物を製造する方法は、式 I I の化合物もしくはその塩および / または式 I I I の化合物もしくはその塩を水素化分解して、式 I V の化合物またはその塩を調製することと、その後、式 I V の化合物を該組成物へ選択的脱炭酸することとを含むことができる。

【0040】

上述の化合物（すなわち、式 I、I I、I I I、I V、V、および / または I V）において、保護基について言及する。いくつかの実施形態では、カルボキシル基は保護されていてもよい（例えば、 R^1 、 R^2 、および R^3 の場合）。この目的のために、 R^1 、 R^2 、および R^3 としては、これらに限定されないが、エステル、アミド、またはヒドラジン保護基を含む、任意の適切なカルボキシル保護基が挙げられる。保護基の各発現は、同一でも異なってもよい。

【0041】

具体的には、エステル保護基としては、メチル、エチル、メトキシメチル（MOM）、ベンジルオキシメチル（BOM）、メトキシエトキシメチル（MEM）、2-（トリメチルシリル）エトキシメチル（SEM）、メチルチオメチル（MTM）、フェニルチオメチル（PTM）、アジドメチル、シアノメチル、2,2-ジクロロ-1,1-ジフルオロエチル、2-クロロエチル、2-ブロモエチル、テトラヒドロピラニル（THP）、1-エトキシエチル（EE）、フェナシル、4-プロモフェナシル、シクロプロピルメチル、アリル、プロパルギル、イソプロピル、シクロヘキシル、*t*-ブチル、ベンジル、2,6-ジメチルベンジル、4-メトキシベンジル（MPM-OAr）、*o*-ニトロベンジル、2,6-ジクロロベンジル、3,4-ジクロロベンジル、4-（ジメチルアミノ）カルボニルベンジル、4-メチルスルフィニルベンジル（Msib）、9-アントリルメチル、4-ピコリル、ヘプタフルオロ-*p*-トリル、テトラフルオロ-4-ピリジル、トリメチルシリル（TMS）、*t*-ブチルジメチルシリル（TBDMs）、*t*-ブチルジフェニルシリル（TBDPS）、およびトリイソプロピルシリル（TIPS）保護基が挙げられる。

【0042】

アミドおよびヒドラジン保護基としては、*N,N*-ジメチルアミド、*N*-7-ニトロインドイルアミド、ヒドラジド、*N*-フェニルヒドラジド、および *N,N'*-ジイソプロピルヒドラジドが挙げられる。

【0043】

いくつかの実施形態では、ヒドロキシル基は保護されていてもよい（例えば、 R^4 の場合）。この目的のために、 R^4 としては、これらに限定されないが、エーテル、エステル、カーボネート、またはスルホネート保護基を含む、任意の適切なヒドロキシル保護基が挙げられる。保護基の各発現は、同一でも異なってもよい。

【0044】

10

20

30

40

50

具体的には、エーテル保護基としては、メチル、メトキシメチル (MOM)、ベンジロキシメチル (BOM)、メトキシエトキシメチル (MEM)、2-(トリメチルシリル)エトキシメチル (SEM)、メチルチオメチル (MTM)、フェニルチオメチル (PTM)、アジドメチル、シアノメチル、2,2-ジクロロ-1,1-ジフルオロエチル、2-クロロエチル、2-ブロモエチル、テトラヒドロピラニル (THP)、1-エトキシエチル (EE)、フェナシル、4-ブロモフェナシル、シクロプロピルメチル、アリル、プロパルギル、イソプロピル、シクロヘキシル、t-ブチル、ベンジル、2,6-ジメチルベンジル、4-メトキシベンジル (MPM-OAr)、o-ニトロベンジル、2,6-ジクロロベンジル、3,4-ジクロロベンジル、4-(ジメチルアミノ)カルボニルベンジル、4-メチルスルフィニルベンジル (Msib)、9-アントリルメチル、4-ピコリル、ヘプタフルオロ-p-トリル、テトラフルオロ-4-ピリジル、トリメチルシリル (TMS)、t-ブチルジメチルシリル (TBDMs)、t-ブチルジフェニルシリル (TBDPS)、およびトリイソプロピルシリル (TIPS) 保護基が挙げられる。

10

【0045】

エステル保護基としては、アセトキシ (OAc)、蟻酸アリール、酢酸アリール、レブリン酸アリール、ピバロ酸アリール、安息香酸アリール、および9-フルオロエンカルボン酸アリールが挙げられる。一実施形態では、エステル保護基はアセトキシ基である。

【0046】

カーボネート保護基としては、アリールメチルカーボネート、1-アダマンチルカーボネート (Adoc-OAr)、t-ブチルカーボネート (BOC-OAr)、4-メチルスルフィニルベンジルカーボネート (MsZ-OAr)、2,4-ジメチルペンタ-3-イルカーボネート (Doc-OAr)、アリール2,2,2-トリクロロエチルカーボネート、アリールビニルカーボネート、アリールベンジルカーボネート、およびアリールカルバメートが挙げられる。

20

【0047】

スルホン酸保護基としては、メタンスルホン酸アリール、トルエンスルホン酸アリール、および2-ホルミルベンゼンスルホン酸アリールが挙げられる。

【0048】

本明細書に記載の化合物の調製は、様々な化学基の保護および脱保護を含むことができる。保護および脱保護の必要性と、適切な保護基の選択とは、当業者により容易に決定されることができる。保護基の化学は、例えば、Protecting Group Chemistry, 1st Ed., Oxford University Press, 2000; March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 5th Ed., Wiley-Interscience Publication, 2001; および Petursson, S. et al., "Protecting Groups in Carbohydrate Chemistry," J. Chem. Educ., 74(11), 1297 (1997) において見出すことができる (それら各々の全体は、参照により本明細書に組み込まれる)。

30

【0049】

上記の方法において、ホモクエン酸、またはその塩、エステル、もしくはラクトンは、当業者に知られている方法により得ることができる。例えば、ホモクエン酸、またはその塩、エステル、もしくはラクトンは、商業的に入手されてもよく、または合成的に生産されてもよい。いくつかの実施形態では、ホモクエン酸、またはその塩、エステル、もしくはラクトンは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる国際公開第2014/043182号に記載されているような発酵方法を用いて調製されてもよい。

40

【0050】

本明細書中で使用される金属触媒としては、任意の適切な金属触媒を挙げることができる。例えば、適切な金属触媒としては、ホモクエン酸、またはその塩、エステル、もしくはラクトンの、1つ以上のアジピン酸、1,2,4-ブタントリカルボン酸、2-エチル

50

コハク酸、および 2 - メチルペンタン二酸、またはそれらの塩もしくはエステルへの変換を容易にし得るものが挙げられるであろう。

【 0 0 5 1 】

いくつかの実施形態では、本方法に適した金属触媒は、不均一系（または固体）触媒である。金属触媒（例えば、不均一系触媒）は、少なくとも 1 つの触媒担体に担持されてもよい（本明細において、担持金属触媒と称する）。使用される場合、少なくとも 1 つの金属触媒用担体は、反応条件下で不活性である任意の固体物質であることができ、これらに限定されないが、シリカ、アルミナ、チタニアなどの酸化物、それらの複合物またはそれらの組み合わせ；硫酸バリウム；ジルコニア；炭素（例えば、酸洗浄した炭素）；およびそれらの組み合わせが挙げられる。酸洗浄した炭素とは、硝酸、硫酸または酢酸などの酸で洗浄し、不純物を除去した炭素である。担体は、粉末、顆粒、ペレットなどの形態とすることができる。噴霧、浸漬または物理的混合などの当業者によく知られている多くの方法により金属触媒を担体上に堆積させ、その後、乾燥、か焼、必要に応じて、加熱、還元、および/または酸化などの方法による活性化により、担持金属触媒を調製することができる。いくつかの実施形態では、触媒の活性化は、水素ガスの存在下で行うことができる。例えば、活性化は、水素流または水素圧力（例えば、約 2 0 0 p s i の水素圧力）下で行うことができる。いくつかの実施形態では、金属触媒は、約 1 0 0 ~ 約 5 0 0 の温度（例えば、約 1 0 0 ~ 約 5 0 0 ）で活性化される。

10

【 0 0 5 2 】

いくつかの実施形態では、少なくとも 1 つの担体上への少なくとも 1 つの金属触媒の積載量は、少なくとも 1 つの酸触媒と少なくとも 1 つの担体の合計重量に基づいて、約 0 . 1 重量% ~ 約 2 0 重量% である。例えば、少なくとも 1 つの担体上への少なくとも 1 つの金属触媒の積載量は、約 5 重量% でもよい。いくつかの実施形態では、少なくとも 1 つの担体上への少なくとも 1 つの金属触媒の積載量は、約 1 % ~ 約 1 0 重量% でもよい（例えば、約 1 %、約 3 %、約 5 %、または約 1 0 % ）。

20

【 0 0 5 3 】

金属触媒は、ニッケル、パラジウム、白金、銅、亜鉛、ロジウム、ルテニウム、ビスマス、鉄、コバルト、オスミウム、イリジウム、バナジウム、および 2 つ以上のそれらの組み合わせから選択される金属を含むことができる。いくつかの実施形態では、金属触媒は、パラジウムまたは白金を含む。例えば、金属触媒は、パラジウムを含むことができる。いくつかの実施形態では、金属触媒は二元金属触媒である。例えば、金属触媒は、パラジウムおよび銅を含むことができる。2 つの金属の原子比は、約 9 9 : 1 ~ 約 8 0 : 2 0 （例えば、9 5 : 5、9 0 : 1 0、8 5 : 1 5 ）でもよい。

30

【 0 0 5 4 】

いくつかの実施形態では、金属触媒はナノ触媒でもよい。例えば、金属触媒を、ナノ粒子の形態で調製することができる（例えば、実施例 7 を参照）。いくつかの実施形態では、ナノ触媒は、パラジウムまたは白金を含む。例えば、ナノ触媒は、パラジウムを含むことができる。いくつかの実施形態では、ナノ触媒は二元金属触媒である。例えば、ナノ触媒は、パラジウムおよび銅を含むことができる。2 つの金属の原子比は、約 9 9 : 1 ~ 約 8 0 : 2 0 （例えば、9 5 : 5、9 0 : 1 0、8 5 : 1 5 ）でもよい。ナノ触媒は、単独で（非担持）、または担持ナノ触媒として使用してもよい。例えば、ナノ粒子を、炭素担持ナノ触媒として調製することができる。

40

【 0 0 5 5 】

非担持触媒を使用することもできる。触媒担体物質上に担持されていない触媒は、非担持触媒である。非担持触媒は、例えば、白金黒または R A N E Y（登録商標）（W . R . G r a c e 社、コロンビア、メリーランド州）触媒であってもよい（B e r .（1 9 2 0）V 5 3 p p 2 3 0 6、J A C S（1 9 2 3）V 4 5, 3 0 2 9 および米国特許第 2, 9 5 5, 1 3 3 号明細書）。R A N E Y（登録商標）触媒は、活性金属（単数または複数）および浸出性金属（通常アルミニウム）を含有する合金を選択的に浸出するために、高い表面積を有する。R A N E Y（登録商標）触媒は、より高い比表面積のた

50

めに高い活性を有し、水素化反応でのより低い温度の使用を可能にする。R A N E Y (登録商標) 触媒の活性金属には、ニッケル、銅、コバルト、鉄、ロジウム、ルテニウム、レニウム、オスミウム、イリジウム、白金、パラジウム、それらの複合物およびそれらの組み合わせが挙げられる。

【 0 0 5 6 】

促進剤金属を、R A N E Y (登録商標) 触媒の選択性および/または活性に影響を与えるために、ベースのR A N E Y (登録商標) 金属に添加してもよい。R A N E Y (登録商標) 触媒のための促進剤金属は、元素周期表のI I I A からV I I I A、I B およびI I B 族の遷移金属から選択され得る。促進剤金属の例としては、クロム、コバルト、モリブデン、白金、ロジウム、ルテニウム、オスミウム、およびパラジウムが挙げられ、典型的には、全R A N E Y 金属の約2重量%である。原材料を水素化する触媒を使用する方法は、当該技術分野において一般に知られている種々の作動形態で行うことができる。したがって、全体的な水素化プロセスは、固定床反応器、ガスまたは機械的攪拌のいずれかでの様々なタイプの攪拌スラリー反応器などで行うことができる。水素化プロセスは、バッチまたは連続形態のいずれかで作動することができ、水素化するための前駆体を含有する水性液相は、高圧で水素を含有する気相と、粒状固体触媒と接触している。

10

【 0 0 5 7 】

化学的促進剤を使用して、触媒の活性を増大することができる。促進剤を、触媒成分の化学処理における任意の段階で触媒に組み込むことができる。化学的促進剤は、一般に触媒剤の物理的または化学的機能を向上させるだけでなく、望ましくない副反応を遅延させるために添加することもできる。適切な促進剤としては、例えば、硫黄(例えば、硫化物)およびリン(例えば、リン酸塩)が挙げられる。いくつかの実施形態では、促進剤は硫黄を含む。

20

【 0 0 5 8 】

本明細書に記載されるような適切な金属触媒の非限定的な例を、表1に示す。

【表 1 - 1】

表1

A/a	製品	説明	会社	バッチ番号
1	RANEY Ni 4.2	Ni触媒	W.R. Grace	NA
2	Cu-0860 E 1/16'' 3F	Cu触媒 (酸化物として非還元)	BASF	NA-
3	Cu-0865 T 3/16''	Cu触媒 (酸化物として非還元)	BASF	NA-
4	F51-8PPT	Cu/Zn/Al MeOH (酸化物として非還元)	Synetics Johnson Matthey Catalysts	NA
5	10% Pd/C	炭素上の10% Pd	Johnson	
	A402028-10	(51.47% H ₂ O)	Matthey Catalysts	
6	5% Pd/C A401102-5	炭素上の5% Pd (56.34% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
7	5% Pd/C A405028-5	炭素上の5% Pd (47.22% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
8	5% Pd/C A405032-5	炭素上の5% Pd (67.86% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
9	5% Pd/C A405038-5	炭素上の5% Pd (64.81% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
10	5% Pd/C A503023-5	炭素上の5% Pd (54.36% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
11	5% Pd/C A503032-5	炭素上の5% Pd (65.72% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
12	5% Pd/C A503038-5	炭素上の5% Pd (63.41% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
13	5% Pd/C A102023-5	炭素上の5% Pd (55.98% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
14	5% Pd/C A102038-5	炭素上の5% Pd (64.57% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
15	5% Pd (S)/C A103038-5	炭素上の5% Pd、硫化 (59.74% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
16	5% Pd/Al ₂ O ₃ A302011-5	アルミナ上の5% Pd (0.46% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	

10

20

30

40

【表 1 - 2】

17	5% Pd/Al ₂ O ₃ A302099-5	アルミナ上の5% Pd (0.52% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
18	5% Pd/CaCO ₃ A302060-5	炭酸カルシウム上の5% Pd (0.73% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	10
19	5% Pd(Pb)/CaCO ₃ A305060-5	炭酸カルシウム上の5% Pd+鉛 (0.69% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
20	5% Pd(Pb)/CaCO ₃	炭酸カルシウム上の5% Pd+鉛	Johnson Matthey	
	A306060-5	(0.72% H ₂ O)	Catalysts	
21	5% Pd/BaSO ₄ A308053-5	硫酸バリウム上の5% Pd (0.75% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	20
22	4% Pd-1% Pt/C E101049-4/1	炭素上の4% Pdおよび1% Pt (54.30% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
23	4% Pd-1% Pt/C E101023-4/1	炭素上の4% Pdおよび1% Pt (55.88% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
24	4.5% Pd-0.5% Rh/C F101032-4.5/0.5	炭素上の4.5% Pdおよび0.5% Rh (61.48% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
25	4.5%Pd- 0.5%Rh/C F101038-4.5/0.5	炭素上の4.5% Pdおよび0.5% Rh (52.51% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	30
26	3% Pt/C B103032-3	炭素上の3%白金 (67.93% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
27	5% Pt/C B103032-5	炭素上の5%白金 (59.45% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
28	5% Pt/C B103018-5	炭素上の5%白金 (55.90% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
29	5% Pt/C B102022-5	炭素上の5%白金 (46.67% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	40
30	5% Pt/C B104032-5	炭素上の5%白金 (62.06% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	

【表 1 - 3】

31	5% Pt/C B501032-5	炭素上の5%白金 (67.49% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
32	5% Pt/C B501018-5	炭素上の5%白金 (54.01% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	10
33	5% Pt(Bi)/C B503032-5	炭素上の5%白金およびビスマス5% (59.40% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
34	5% Pt(S)/C B109032-5	炭素上の5%白金、硫化 湿潤 (60.68% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
35	5% Pt(S)/C B106032-5	炭素上の5%白金、硫化 湿潤 (62.09% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
36	5% Pt/Al ₂ O ₃ B301013-5	アルミナ上の5%白金 (2.84% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	20
37	5% Pt/Al ₂ O ₃ B301099-5	アルミナ上の5%白金 (3.28% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
38	5% Rh/C C101023-5	炭素上の5%ロジウム (47.61% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
39	5% Rh/C C101038-5	炭素上の5%ロジウム (64.21% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
40	5% Rh/Al ₂ O ₃ C301011-5	アルミナ上の5%ロジウム (4.74% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	30
41	5% Ru/C D101023-5	炭素上の5%ルテニウム (62.59% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
42	5% Ru/C C101002-5	炭素上の5%ルテニウム (58.46% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
43	5% Ru/Al ₂ O ₃ D302011-5	アルミナ上の5%ルテニウム (0.99% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	40
44	5% Ru- 0.25%Pd/C C101038-5	炭素上の5%ルテニウムおよび 0.25%パラジウム (53.15% H ₂ O)	Johnson Matthey Catalysts	
45	F105N/W 5%	活性炭素上の5% Pt (55% H ₂ O)	Evonik	
46	F1082 QHA/W 3%	活性炭素上の3% Pt (63.5% H ₂ O)	Evonik	

【表 1 - 4】

47	F1015 RE/W 5%	活性炭素上の5% Pt (62.3% H ₂ O)	Evonik	
48	CF 1082 BV/W 1%Pt+2%V	活性炭素上の1% Pt+2%バナジウム (61.5% H ₂ O)	Evonik	
49	G106 N/W 5%	活性炭素上の5% Rh (65.4% H ₂ O)	Evonik	
50	H198 P/W 5%Ru%	活性炭素上の5% Ru (58.7% H ₂ O)	Evonik	10
51	Noblyst P1093 5%	活性炭素上の5%パラジウム (55.5% H ₂ O)	Evonik	
52	Noblyst P1070 5%	活性炭素上の10%パラジウム (53.5% H ₂ O)	Evonik	
53	Noblyst P1092 5%	活性炭素上の5%パラジウム (55.5% H ₂ O)	Evonik	
54	Noblyst P1109	活性炭素上の5%パラジウム	Evonik	
	5%	(56.6% H ₂ O)		
55	Noblyst P1090 5%	活性炭素上の5%パラジウム (53.5% H ₂ O)	Evonik	
56	Noblyst P1086 5%	活性炭素上の5%パラジウム (55% H ₂ O)	Evonik	20
57	46-1710 CAS# 7440-05-3	活性炭素上の0.6%パラジウム、 非還元 (50% H ₂ O湿潤ペースト)		
58	46-1901 CAS# 7440-05-3	活性炭泥炭素上の5%パラジウム、 非還元 (50% H ₂ O湿潤ペースト)		
59	46-1902 CAS# 7440-05-3	活性化木材炭素上の5%パラジウム、 還元、乾燥		
60	46-1903 CAS# 7440-05-3	活性化木材炭素上の5%パラジウム、 還元、50%水湿潤ペースト		
61	46-1904 CAS# 7440-05-3	活性化木材炭素上の5%パラジウム、 非還元 (50% H ₂ O湿潤ペースト)		30
62	46-1905 CAS# 7440-05-3	活性化木材炭素上の10%パラジウム、 還元 (50% H ₂ O湿潤ペースト)		
63	46-1951 CAS# 7440-05-3	アルミナAl ₂ O ₃ 上の5%パラジウム、 還元		
64	46-1707 CAS# 7440-05-3	活性炭素上の 20%パラジウムパールマン触媒、 非還元、50%水湿潤ペースト		
65	78-1611 CAS# 7440-06-4	活性化木材炭素上の5%白金、 還元、乾燥		
66	78-1612 CAS# 7440-06-4	活性化木材炭素上の5%白金、 還元、50%H ₂ O湿潤ペースト		40
67	78-1613 CAS# 7440-06-4	活性炭素上の5%白金、 非還元、50%H ₂ O湿潤ペースト		
67	44-4065 CAS# 7440-18-8	活性炭素上の5%ルテニウム、 還元、50% H ₂ O湿潤ペースト		
68	45-1875 CAS# 7440-16-6	活性化木材炭素上の5%ロジウム、 還元、50% H ₂ O湿潤ペースト		

温度、溶媒、触媒、反応器の構成、圧力、添加水素ガス量、触媒濃度、金属積載量、触媒担体、開始原材料、添加物および混合率は全て、本明細書に記載の変換に影響を与え得るパラメーターである。これらのパラメーター間の関係は、プロセスの反応における所望の変換率、反応速度および選択性に影響させるために調整されてもよい。

【0060】

いくつかの実施形態では、本明細書において提供される方法は、約25 ~ 約350の温度で行われる。例えば、本方法は、少なくとも約100の温度で行うことができる。いくつかの実施形態では、本明細書で提供される方法は、約100 ~ 約200の温度で行われる。例えば、本方法は、約150 ~ 約180の温度で行うことができる。

【0061】

本明細書に記載の方法は、無溶媒、水中または有機溶媒の存在下で行われてもよい。

【0062】

いくつかの実施形態では、反応溶媒は水を含む。例示的な有機溶媒としては、炭化水素、エーテル、およびアルコールが挙げられる。いくつかの実施形態では、アルコールは、例えば、メタノールおよびエタノールなどの低級アルカノールを使用することができる。反応溶媒は、2つ以上の溶媒の混合物でもよい。例えば、溶媒は、水とアルコールとの混合物でもよい。

【0063】

本明細書で提供される方法は、不活性雰囲気（例えば、 N_2 および Ar ）下で行うことができる。いくつかの実施形態では、本明細書で提供される方法は、水素もしくは窒素、または窒素と水素との混合物の下で行われる。例えば、本方法は、約20 psi ~ 約1000 psiの水素圧力下で行うことができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法は、約200 psi ~ 450 psiの水素圧力下で行われる。

【0064】

いくつかの実施形態では、追加反応物を、本明細書に記載の方法に加えることができる。例えば、 $NaOH$ などの塩基を反応に加えることができる。

【0065】

反応は、当該技術分野で知られている任意の適切な方法に従って観測することができる。例えば、生成物形成は、核磁気共鳴分光法（例えば、 1H もしくは ^{13}C ）、赤外分光法、分光光度法（例えば、UV-可視）、質量分析などの分光手段により、または高速液体クロマトグラフィー（HPLC）、液体クロマトグラフィー-質量分析（LCMS）、ガスクロマトグラフィー（GCMS、GC-FID）もしくは薄層クロマトグラフィー（TLC）などのクロマトグラフィー法により、観測することができる。化合物は、当業者により、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）（“Preparative LC-MS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization” K. F. Blom, et al., J. Comb. Chem. 6(6) (2004)、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる）および順相シリカクロマトグラフィーを含む種々の方法で、精製することができる。

【0066】

（定義）

本開示の特定の特徴は、明確にするために、個々の実施形態の文脈で説明されているが、単一の実施形態に組み合わせ提供することもできることが理解される。逆に、本開示の様々な特徴は、簡潔にするために、単一の実施形態の文脈で説明されているが、別個にまたは任意の適切なサブコンビネーションで提供することもできる。

【0067】

用語「例えば」および「など」、ならびにそれらの文法的等価物については、語句「これらに限定されない」が、特に明記しない限り、追従すると理解される。本明細書で使用される用語「約」は、実験誤差による変動を考慮することを意味する。本明細書で報告される全ての測定は、特に明記しない限り、用語が明示的に使用されているか否かに関わら

10

20

30

40

50

ず、用語「約」により修飾されると理解される。本明細書で使用される単数形（「a」、
「an」、および「the」）は、文脈が明確に指示しない限り、複数の対象を含む。

【0068】

用語「塩」には、化合物の任意のイオン形態および1つ以上の対イオン種（陽イオンお
よび/または陰イオン）が含まれる。塩には、双性イオン化合物（すなわち、1つ以上の
陽イオンおよび陰イオン種を含む分子、例えば、双性イオン性アミノ酸）も含まれる。塩
に存在する対イオンには、任意の陽イオン、陰イオン、または双性イオン種を含めること
ができる。例示的な陰イオンとしては、これらに限定されないが、塩化物、臭化物、ヨウ
化物、硝酸塩、硫酸塩、重硫酸塩、亜硫酸塩、亜硫酸水素塩、リン酸塩、酸リン酸塩、過
塩素酸塩、塩素酸塩、亜塩素酸塩、次亜塩素酸塩、過ヨウ素酸、ヨウ素酸塩、亜ヨウ素酸
塩、次亜ヨウ素酸塩、炭酸塩、重炭酸塩、イソニコチン酸塩、酢酸塩、トリクロロ酢酸塩
、トリフルオロ酢酸塩、乳酸塩、サリチル酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、パントテン酸塩
、酒石酸水素塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、ゲンチシン酸塩（*g e
n t i s i n a t e*）、フマル酸塩、グルコン酸塩、グルカロン酸塩（*g l u c a r o n
a t e*）、糖酸塩、蟻酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、メタンスルホン酸塩、トリフ
ルオルメタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、*p*-トルエン
スルホン酸塩、*p*-トリフルオロメチルベンゼンスルホン酸、水酸化物、アルミン酸塩、
およびホウ酸塩が挙げられる。例示的な陽イオンとしては、これらに限定されないが、リ
チウム、ナトリウム、カリウム、およびセシウムなどの一価アルカリ金属陽イオン、なら
びにベリリウム、マグネシウム、カルシウム、ストロンチウム、およびバリウムなどの二
価アルカリ土類金属が挙げられる。また、金、銀、銅および亜鉛などの遷移金属陽イオン
、ならびにアンモニウム塩などの非金属陽イオンも挙げられる。

10

20

【0069】

本明細書で使用される「エステル」としては、非限定的な例として、メチルエステル、
エチルエステル、およびイソプロピルエステル、ならびに対応するカルボキシル部分への
保護基の付加から生じるエステルが挙げられる。

【0070】


本明細書で使用される「ラクトン」は、本明細書に提供される化合物上のアルコール基
とカルボン酸基との縮合から生じる環状エステル化合物を意味する。非限定的な例は、ホ
モクエン酸またはその塩の縮合から生じるラクトン（すなわち、ホモクエン酸ラクトン）
である。

30

【0071】

本明細書で使用される、太線および破線の結合

【化18】

(すなわち )

で示されている1つ以上の立体中心を含む化学構造は、その化学構造中に存在する立体中
心（単数または複数）の絶対立体化学を示すことを意味する。本明細書で使用される、単
純な線に象徴される結合は、立体の優先を示すものではない。特に反対の記載のない限り
、1つ以上の立体中心を含み、絶対または相対立体化学を示すことなく本明細書に記載さ
れる化学構造は、化合物の全ての可能な立体異性体（例えば、ジアステレオマー、鏡像異
性体）およびそれらの混合物を包含する。単一太字または破線、および少なくとも1つの
追加の単純な線を有する構造は、全ての可能なジアステレオマーの単一鏡像異性体の組を
包含する。

40

【0072】

化合物は、本明細書に記載のように、また、中間体または最終化合物に生じる原子の全
ての同位体を含むこともできる。同位体は、同じ原子番号を有するが、異なる質量数を有
する原子を含む。例えば、水素の同位体には、三重水素および重水素が含まれる。

【0073】

50

本明細書で使用される用語「化合物」は、示される構造の全ての立体異性体、幾何異性体、互変異性体、および同位体を含むことを意味する。本明細書で、名称または構造により1つの特定の互変異性体として同定される化合物は、特に断りのない限り、他の互変異性体を含むことを意図している。

【0074】

全ての化合物、それらの塩、エステル、およびラク톤は、水および溶媒などの他の物質と一緒に見られることがある（例えば、水和物および溶媒和物）。

【0075】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の化合物またはそれらの塩、エステル、もしくはラク톤は、実質的に単離されている。「実質的に単離されている」とは、化合物が、それが形成もしくは検出された環境から少なくとも部分的にまたは実質的に分離されていることを意味する。部分的な分離は、例えば、本発明の化合物に富む組成物を含むことができる。実質的な分離は、本発明の化合物もしくはその塩を少なくとも約50重量%、少なくとも約60重量%、少なくとも約70重量%、少なくとも約80重量%、少なくとも約90重量%、少なくとも約95重量%、少なくとも約97重量%、または少なくとも約99重量%を含有する組成物を含むことができる。化合物およびそれらの塩を単離する方法は、当該技術分野において常套的である。

10

【実施例】

【0076】

(実施例1)

20

パラジウム触媒の試験

多くのパラジウム触媒を試験し、ホモクエン酸ラク톤を1, 2, 4-ブタントリカルボン酸に変換するための反応条件を最適化した。触媒を、表1に示した数値インデックスを使用して参照する。例えば、触媒番号6は、Johnson Mattheyの5% Pd/Cであり、56%の水を含有する。実験を、炭素に担持されたPd系触媒を用い、異なる水量で行った。最初に、乾燥メタノール中の0.25 Mホモクエン酸ラク톤溶液1 mlを使用し、触媒充填量を0.5 mol%とした（乾燥粉末ベースで計算）。反応時間は16時間であり、全ての例で200 psiのH₂下であった。反応生成物を、GC/MS (Agilent 5975B Inert XL EI/CI)を用いて分析した。触媒の評価は、GC/MSデータの定性的結果に基づいている。

30

【0077】

(材料および方法)

活性化温度/方法

3つの異なる種類の活性化過程/方法を用いた。方法AおよびBは、H₂圧力下(200 psi)で行い、一方で方法Cは、H₂流を使用して行った。比較する目的で、受け取ったときには既に乾燥および還元されていた触媒番号59を試験した。

【0078】

方法A: 100、H₂圧力下での活性化

所望の量の担持触媒を、HP反応器(Symyx Discovery Tools)に移し、次の手順を、その活性化のために行った。

40

a. 100、N₂ 400 psi下での1時間のアニーリング

b. 100、H₂ 200 psi下での2時間のアニーリング

BAFおよびJMによると、Pd系触媒に推奨される最低活性化温度であるため、この温度(100)を選択した。

【0079】

方法B: 180、H₂圧力下での活性化

所望の量の担持触媒を、HP反応器(Symyx Discovery Tools)に移し、次の手順を、その活性化のために行った:

a. 140、N₂ 400 psi下での1時間のアニーリング

b. 180、H₂ 200 psi下での2時間のアニーリング

50

180 の温度は、ハイスループット機能においてHPRで達成することができる最高温度である。

【0080】

方法C：180、H₂流下での活性化

2つのPd/C担持触媒、すなわち番号7と51とを石英反応器に移し、次の手順を、その活性化のために行った：

- a. 最高400、Ar流下での段階的アニーリング
- b. 最高400、H₂流下での段階的アニーリング

【0081】

担持触媒の活性化は、通常、高温で、例えばT > 200 で、最初に不活性ガス流下で、その後、H₂流下で行われる。本明細書で説明するように、活性化は、発熱を避けるために、最初に低含有量のH₂を使用して行い、Pdの還元を達成するよう徐々に増加させた。

10

【0082】

反応温度

ラクトン水素化分解反応を、200 psiのH₂下で、2つの異なる温度：100および180 で16時間行った。活性化温度/方法と反応温度との最適な組み合わせを見つけるために、異なる条件下で活性化した触媒を試験した。

【0083】

pHの影響

反応混合物への、塩基、NaOHの影響も評価した。これらの実験のために、2つの異なる触媒（番号6および番号59）を選択し、反応混合物に1、2および3当量のNaOHを添加した。反応を、100、200 psiのH₂下で行った。

20

【0084】

（結果および考察）

表2は、試験した触媒を要約する。

【表2】

表2. 表1の数値インデックスを用いた、触媒の要約

活性化/反応温度	100 °C	180 °C
方法 A	7, 9, 13, 51, 53, 54	7, 51
方法 B	51	7, 9, 13, 51, 53, 54
方法 C	7, 51	7, 51
乾燥および還元された市販品	59	59

30

40

【0085】

ホモクエン酸ラクトンの対照試料を、試験試料と同様にではあるが、触媒を添加せずに調製した。図1は、対照のGC/MSクロマトグラムを提供する。高強度の2つのピークが、10.05および9.82分付近に検出された。これらのピークは、出発材料に特有である。

【0086】

100 で活性化した（方法A）Pd/C触媒を用い、比較的低い反応温度（100）で予備研究を行った。これらの実験について、6つの異なる触媒を試験し、反応後の最

50

終生成物のクロマトグラムを図2に示す。

【0087】

図2は、試験した全ての触媒が、ホモクエン酸ラク톤の水素化分解に活性を有したことを示している。しかしながら、生成物分布の点では、触媒間に有意差はなかった。GC-質量分析およびNISTライブラリーに基づいて、生成物1, 2, 4-ブタントリカルボン酸に帰属する新しいピークが、9.6分で検出された。対照ラク톤の試料中で検出されたように、これら全ての様々な触媒でも同様に、9.82および10.05分の2つのピークの存在は、かなりの量の出発材料が、特定の反応条件下で反応しなかったことを明らかにする。これらの変換では、炭素担体に応じた触媒活性の違いは認められなかった。

10

【0088】

触媒をまた、より高い温度で、より具体的には、180 で活性化した。したがって、触媒番号6を方法B(180)によって活性化し、反応を100で行った。また、比較のために、乾燥および還元されたPd/C触媒も試験した。得られたクロマトグラムを図3に示す。

【0089】

図3に示すように、出発材料の大部分は、触媒59(商業的に還元および乾燥された触媒)であっても反応しなかった。これは、3つ全ての異なる活性化方法(図4)で活性化した触媒番号51を用いた100での反応後の最終生成物のクロマトグラムにより、さらに裏付けられる。これは、水素化分解反応を、より高い温度で行われなければならないことを示している。

20

【0090】

反応へのNaOHの影響を調査するために、さらなる実験を行った。実験を、方法B(180)に従って活性化した触媒番号6と、既に乾燥および還元されている市販の触媒番号59とを使用して行った。反応を、100で16時間行った。1, 2および3当量のNaOHの添加前および後に得られたGC/MSクロマトグラムを、図5および6に示す。

【0091】

1当量のNaOHの添加は、両方の場合で、9.60分付近でのピーク強度の増加を引き起こし、一方で、対照ラク톤と比較したピーク強度の減少が、9.82および10.05分で観察された。NaOHの添加なしでこれらの2つのピーク(9.82および10.05分)がいまだ検出されて、比較的高い強度(青線)であり、9.6分で低い強度のピークがあるという事実は、比較的少量(1当量)のNaOHの添加が、出発材料の変換の増大を特定の反応条件下で促進するようであることを意味する。2または3当量のNaOHの添加は、一方で、反応中/後に反応アリコート著しく乾燥させた。総反応物体積がわずか1mlであるため、乾燥作用が、3当量のNaOHを使用して観察された少量の生成物形成の原因である可能性がある。

30

【0092】

反応温度の上昇が、ホモクエン酸ラク톤のより高い変換を引き起こすことができるかどうかを調べるために、以下のステップを、より高い反応温度で行った。前に試験した同一の触媒(100、図1)を、180で方法Bを用いて活性化し、ホモクエン酸/メタノール反応溶液に添加した。反応を、180、200psiのH₂下で16時間行った。得られたクロマトグラムを、ブランク試料(無触媒ラク톤)と比較して、図7に示す。全ての場合において、得られたクロマトグラムは、所望の生成物への変換が定量的であることを示した。加えて、400でH₂流下で還元した触媒番号7および51の性能と、比較のために、還元および乾燥した触媒番号59も、180(反応温度)で試験した。最終生成物のクロマトグラムを、図8に示す;ホモクエン酸ラク톤の完全な変換が、全ての場合において達成された。

40

【0093】

(実施例2)

50

反応最適化

ホモクエン酸ラクトン (0.25 mmol) の 1, 2, 4 - ブタントリカルボン酸への変換を、150 のより低い温度で4時間、水中の触媒番号13 (0.5 mol% Pd (5% Pd/C)) を使用して試験した。図9に示すように、生成物への変換は定量的であった。

【0094】

(実施例3)

ホモクエン酸ラクトンのアジピン酸への変換

触媒濃度を最適化し、実施例2においてもたらされた普遍的な反応条件を用いることにより、ホモクエン酸ラクトンのアジピン酸、2 - エチルコハク酸、および2 - メチルペンタン二酸への変換が、単一ポット反応で生じたことが観察された。特に、触媒番号6、12、および54での反応は、ラクトンのトリカルボン酸への定量的変換を示し、さらに選択的脱炭酸を行い、3つの生成物のピークを生じた。図10は、例示的なクロマトグラムを提供する。反応温度を180 に上げて、観察された脱炭酸化生成物に大きな影響を与えるようには見えなかった。

【0095】

(実施例4)

Pd(S)/C触媒

図11に示すように、ホモクエン酸ラクトンを上述のように触媒番号15 (Pd(S)/C触媒) および水と、180 で16時間200 psiのH₂下で混合すると、脱炭酸化生成物の大きな産生をもたらした。滞留時間を22時間に増加しても、アジピン酸の収率に有意な影響を及ぼさなかった(データは示さず)。0.5当量の塩基の添加も、ラクトンのアジピン酸への変換を改善しなかったが、2 - エチルコハク酸の産生を増大させた。

【0096】

(実施例5)

Pt(S)/C触媒のPt/C担持触媒との比較

図12に示すように、ホモクエン酸ラクトンの、150、水中、200 psiのH₂下、42時間、1 mol% Pt (触媒番号65および34) の存在下での反応は、より低い温度におけるラクトンの一部の脱炭酸を示しているが、その反応は、Pd(S)/C触媒反応よりも選択的ではないようだった。

【0097】

(実施例6)

Pd/CaCO₃触媒

図13に示すように、ホモクエン酸ラクトン(0.12 M)を上述のように触媒番号18 (Pd/CaCO₃触媒、1 mol% Pd) および水と、180 で16時間450 psiのH₂下で混合すると、脱炭酸化生成物の大きな産生をもたらした。

【0098】

(実施例7)

Pd/BaSO₄触媒

図14に示すように、ホモクエン酸ラクトン(0.12 M)を上述のように触媒番号21 (Pd/BaSO₄触媒、1 mol% Pd) および水と、180 で16時間450 psiのH₂下で混合すると、脱炭酸化生成物の大きな産生をもたらした。

【0099】

(実施例8)

ラクトンの水素無添加での触媒熱分解

図15に示すように、ホモクエン酸ラクトン(0.12 M)を上述のように担持金属触媒(1 mol%金属) および水と、180 で16時間450 psiのN₂下で混合すると、脱炭酸化生成物の大きな産生をもたらした。図15は、試験したいくつかの担持触媒のそれぞれの代表例である。5% Pt/Cは、他のPt/C(炭素上の1% Ptおよ

10

20

30

40

50

び3% Pt)およびPt/Al₂O₃と比較して、H₂添加なしで、および450 psiのN₂圧力の存在下で、アジピン酸に顕著な選択性を示した。Ni系触媒は、アジピン酸よりもエチルコハク酸に有利に働く。

【0100】

(実施例9)

混合ガスN₂/H₂(95:5)下でのホモクエン酸ラク톤のアジピン酸への触媒変換

図16に示すように、ホモクエン酸ラク톤(0.12M)を上述のように担持金属触媒(1mol%金属)および水と、180で16時間450 psiのN₂/H₂(95:5)混合ガス圧力下で混合すると、脱炭酸化生成物の大きな産生をもたらした。代表例を、図16に提示した。アジピン酸形成の有意な改善が、H₂/N₂ガス(5:95)%のCaCO₃およびBaSO₄担持Pd触媒との組み合わせで観察された。Pt/Cは、特定の反応条件下で、より少ない添加H₂で二酸への脱炭酸化に有利に働く。比較例を、図16に示す。

10

【0101】

(実施例10)

ホモクエン酸ラク톤のアジピン酸への変換に対する硫黄含有溶媒(DMSO)の影響

図17に示すように、ホモクエン酸ラク톤(0.12M)を上述のように担持金属触媒(1mol%金属)および水と、180で16時間450 psiのH₂下で混合すると、脱炭酸化生成物の大きな産生をもたらした。図17は、試験したいくつかの担持触媒のそれぞれの代表例である。加えて、Pd/CaCO₃、Pd/BaSO₄、Pt/Al₂O₃、Rh、Ruなどの異なる担体を有する金属を、同じ条件下で、DMSOおよび水の50%混合で試験した。炭素以外の担体を有する触媒は、DMSOの存在下で、ごく微量の二酸の形成を示し、十分な未変換の出発材料と、中間体(エチリデン)とを示した。GC-MS分析からの定性的結果は、以下の図(図17)に示されている。水中の低いDMSO濃度(10~50%)は、特定の反応条件下で、ホモクエン酸ラク톤のアジピン酸への変換の改善を示した。図17に示すように、炭素触媒に担持されたPdおよびPtは、DMSO(水中50%)で、アジピン酸への活性の改善を示した。例えば、触媒番号7Pd/Cは、DMSOの存在下で、炭素上の硫化Pd触媒と同程度の選択性を示した。

20

【0102】

(実施例11)

ホモクエン酸ラク톤のアジピン酸への変換のスケールアップ反応

スケールアップ反応を、300mLのオートクレーブ(Parker Autoclave Bolted Closure)で行った。図18に示すように、ホモクエン酸ラク톤(0.12M)を、内部標準の存在下で上述のようにPd/CaCO₃担持触媒(1mol% Pd)および水(50mL)と、200で16時間、500 psiのH₂下で混合すると、脱炭酸化生成物の大きな産生をもたらした。さらなる反応最適化を、大規模に、種々の反応パラメーター(温度、圧力、時間、反応原料、触媒濃度および担体)の下でオートクレーブ内で行い、アジピン酸の活性および選択性を改善することができる。

40

【0103】

(実施例12)

好酸性酵母からのホモクエン酸ラク톤の生産

この実施例12から得られる以下の好酸性酵母を使用して、40g/Lより多くのホモクエン酸エステルを生産することができる。発酵培養液は、3以下のpHを有するはずである。したがって、ホモクエン酸エステルの大部分は、ラク톤形態となるはずである。これにより、発酵培養液から容易に分離され、すぐに触媒で反応させることができ、本明細書に記載の有機酸を生産するだろう。

【0104】

いくつかの実施形態では、URA3、PDC、ALD9091、およびGPD1遺伝子

50

を、個別にまたは組み合わせでノックアウトする必要があるかもしれない。URA3ノックアウトは、以下に説明するように遺伝子操作と組み合わせで使用される場合、URA3遺伝子産物の有無を介したポジティブおよびネガティブセレクションを容易にするために必要である。PCD、ALD9091、およびGPD1は、潜在的な副産物、すなわちエタノールおよびグリセロールを減少させ、潜在的な産物収率を増加させると考えられる変異である。加えて、下流遺伝子、および天然酵母経路の酵素をコードする調節遺伝子は、以下に記載の遺伝子組み換え法と同様のプロセスを使用するアップレギュレーション、ダウンレギュレーション、突然変異または欠失により、改変され得る。これらの遺伝子には、S・セレピシエに相同であるI・オリエンタリス遺伝子、ACO1（ホモクエン酸脱水酵素）、ACO2（ホモクエン酸脱水酵素）、LYS4（ホモアコニターゼ）、LYS12（ホモイソクエン酸脱水素酵素）、LYS2（アルファアミノアジピン酸還元酵素）、LYS9（サッカロピン脱水素酵素）、LYS1（サッカロピン脱水素酵素、L-リジン形成）が挙げられる。これらの遺伝子の発現またはそれらの産物を変更すると、天然経路を介したリジン生産を制限することにより、ホモクエン酸生産を増加するのに役立つ可能性がある。別の実施形態では、天然または外因性のホモクエン酸脱水酵素の発現の増加を利用し、無傷の経路の一部として細胞内で、または酵素的に細胞外でのいずれかで、ホモクエン酸を、触媒反応の代替出発原料として使用されるホモアコニット酸に変換することができる。加えて、酵母リジン経路を制御することが知られているLYS14およびLYS80などのS・セレピシエ遺伝子に相同であるI・オリエンタリス遺伝子を含む既知の転写調節遺伝子も、以下に記載の遺伝子組み換え法と同様のプロセスを使用するアップレギュレーション、ダウンレギュレーション、突然変異または欠失により、改変され得る。これらの変化は、ホモクエン酸産生を増加させ、この経路における副産物形成、すなわちリジンまたは他の中間体を減少させる可能性がある。いくつかの状況では、これらの突然変異は、完全なまたは部分的なリジン要求性をもたらし得る。したがって、このような状況の中での発酵増殖と生産条件は、そのような制限を克服し、経済的に有利な発酵系を提供するリジン補充を使用して開発され得る。あるいは、完全に限定的なリジンへの流れは、窒素制限条件により達成され得る。例えば、条件を、十分なリジンを生産するために十分な窒素が供給される増殖期のために開発することができるが、生産の間、窒素制限は、ホモクエン酸を生産するような初期の経路工程が機能することのみを可能にするであろう。

【0105】

酸耐性株（ホモクエン酸またはホモクエン酸ラクトンに対する）の進化を実施することができる。I・オリエンタリス株の宿主株は、I・オリエンタリス菌株ATCCPTA-6658を、グルコース制限ケモスタットで91日間進化させることにより生成される。系に、15g/Lのグルコースを既知組成培地中で供給し、0.06h⁻¹の希釈率、pH=3で、添加されたホモクエン酸と流加培地中で操作した。条件は、約2mmolL⁻¹h⁻¹の酸素移動速度で維持され、溶存酸素濃度は0%の空気飽和で一定のままである。最終時点からの単一コロニー分離株を、2回の振とうフラスコアッセイで特性評価する。最初のアッセイでは、分離株を、グルコースをエタノールに発酵する能力について、総ホモクエン酸25g/Lの存在下で、pH調整なしで、既知組成培地中で特性評価する。第二のアッセイでは、分離株の増殖率を、総ホモクエン酸45g/Lの存在下で、pH調整なしで、既知組成培地中で測定する。得られた株は、P-1と呼ぶことができ、これは、最初のアッセイで最も高いグルコース消費率を示し、第二のアッセイで最も高い増殖率を示す単一分離株である。

【0106】

クローニング用酵母ベース株

P-2（株P-1に基づく株）。株P-1は、URA3遺伝子を破壊するように設計された線状化挿入断片P2（ヌクレオチド配列SEQ ID NO:1を有する）で、Gietz et al., in *Met. Enzymol.* 350:87 (2002)に記載のようなLiOAc形質転換法を用いて、形質転換される。挿入断片P2は、

M E L 5 選択マーカー遺伝子を含む。形質転換株を、酵母窒素ベース (Y N B) - メリビオースプレート上で選択し、P C R によりスクリーニングし、挿入片の挿入と U R A 3 遺伝子のコピーの削除とを確認する。M E L 5 選択マーカー遺伝子がループアウトした分離株を、P C R スクリーニングが同定するまで、U R A 3 - 欠失株を数回増殖させる。P C R スクリーニングを行い、ヌクレオチド配列 S E Q I D N O : 2 および 3 を有するプライマーを用いて 5 ´ - 交叉を確認し、ヌクレオチド配列 S E Q I D N O : 4 および 5 を有するプライマーを用いて 3 ´ 交叉を確認する。その分離株を、5 - フルオロオロチン酸 (F O A) プレート上で再び数回増殖させ、U R A 3 マーカーがループアウトした株を同定する。P C R スクリーニングを、ヌクレオチド配列 S E Q I D N O : 2 および 5 を有するプライマーを使用してこの株に実施し、両方の U R A 3 対立遺伝子が消失した分離株を同定する。好ましい態様では、株を、5 - フルオロオロチン酸 (F O A) プレート上で、前文に記載の P C R スクリーニングの前に選択する。この分離株を、株 P - 2 と命名する。

10

【 0 1 0 7 】

P - 3 (株 P - 2 に基づく株)。株 P - 2 は、P D C 遺伝子を破壊するように設計された挿入断片 P 3 (ヌクレオチド配列 S E Q I D N O : 6 を有する) で形質転換される。挿入断片 P 3 は、以下のエレメントを含む、5 ´ - 3 ´ : I . オリエンタリス P D C オープンリーディングフレームの直接上流領域に対応する挿入に対する同一性を有する D N A 断片、P D C 転写ターミネーター、U R A 3 プロモーター、I . オリエンタリス U R A 3 遺伝子、マーカーリサイクリング用追加 U R A 3 プロモーター直接反復、および I . オリエンタリス P D C オープンリーディングフレームの直接下流領域に対応する挿入に対する同一性を有する D N A 断片。成功した組み込み株 (および単一コピー P D C 欠失株) を、ウラシルを欠く選択プレート上で同定し、P C R により、ヌクレオチド配列 S E Q I D N O : 7 および 8 を有するプライマーを用いて 5 ´ - 交叉を確認し、ヌクレオチド配列 S E Q I D N O : 9 および 1 0 を有するプライマーを用いて 3 ´ - 交叉を確認する。その組み込み株を数回増殖させ、5 - フルオロオロチン酸 (F O A) プレート上にプレートのプレイングし、U R A 3 マーカーがループアウトした株を同定する。U R A 3 マーカーのループアウトは、P C R により確認する。その株を、再び挿入断片 P 3 で形質転換し、野生型 P D C 遺伝子の第 2 コピーを消失させる。成功した形質転換株を、再度、ウラシルを欠く選択プレート上での選択により同定し、さらに 2 日間株を培養し、エタノール生産を測定することにより確認する。エタノール生産の不足は、形質転換株における P D C 遺伝子の両方のコピーの消失に成功したことをさらに示す。その形質転換株を、U R A 3 マーカーがループアウトした株を P C R が同定するまで、数回増殖させて F O A プレート上にプレートのプレイングする。P C R を行い、ヌクレオチド配列 S E Q I D N O : 7 および 8 を有するプライマーを用いて 5 ´ - 交叉を確認し、S E Q I D N O : 9 および 1 0 で 3 ´ - 交叉を確認する。その株を、ウラシルを欠く選択プレート上にプレートのプレイングして U R A 3 マーカーの消失を確認し、株 P - 3 と命名する。

20

30

【 0 1 0 8 】

P - 4。挿入断片 P 4 - 1 は、ヌクレオチド配列 S E Q I D N O : 1 1 を有し、以下のエレメントを含む、5 ´ - 3 ´ : I . オリエンタリス A D H 9 0 9 1 オープンリーディングフレームの直接上流領域に対応する挿入に対する同一性を有する D N A 断片、I . オリエンタリス P D C 1 プロモーター、S . ポンベル Y S 4 _ _ D 1 2 3 N 遺伝子 (ヌクレオチド配列 S E Q I D N O : 1 2 を有する)、I . オリエンタリス T A L ターミネーター、I . オリエンタリス U R A 3 プロモーター、および I . オリエンタリス U R A 3 オープンリーディングフレームの最初の 5 3 0 塩基対。

40

【 0 1 0 9 】

挿入断片 P 4 - 2 は、ヌクレオチド配列 S E Q I D N O : 1 3 を有し、以下のエレメントを含む、5 ´ - 3 ´ : I . オリエンタリス U R A 3 オープンリーディングフレームの最後の 5 6 8 塩基対に対応する D N A 断片、I . オリエンタリス U R A 3 ターミネーター、I . オリエンタリス U R A 3 プロモーター、I . オリエンタリス T K L ターミネーター

50

、および I . オリエンタリス A D H 9 0 9 1 オープンリーディングフレームの直接下流領域に対応する挿入に対する相同性を有する D N A 断片。

【 0 1 1 0 】

株 P - 3 を、挿入断片 P 4 - 1 および P 4 - 2 で同時に、酢酸リチウム法を用いて形質転換し、 S . ポンベ L Y S 4 _ _ D 1 2 3 N 遺伝子を A D H 9 0 9 1 遺伝子座に挿入する。挿入は、3 の交叉事象を介して起こる： A D H 9 0 9 1 上流相同領域、 A D H 9 0 9 1 下流相同領域、および S E Q I D N O : 1 1 と S E Q I D N O : 1 3 との間の U R A 3 相同領域。形質転換株を分離株に画線し、 A H D 9 0 9 1 遺伝子座のカセットの正しい挿入を、株において P C R により確認する。 P C R を行い、ヌクレオチド配列 S E Q I D N O : 1 4 および 1 5 を有するプライマーを用いて 5 ´ - 交叉を確認し、 S E Q I D N O : 1 6 および 1 7 で 3 ´ - 交叉を確認する。分離株からの U R A 3 マーカーのループアウトが P C R により確認されるまで、その株を前回のように増殖させて F O A 上にプレATINGする。

10

【 0 1 1 1 】

その分離株をその後、挿入断片 P 4 - 3 および P 4 - 4 で同時に、 L i O A c 形質転換法を用いて形質転換し、 S . ポンベ L Y S 4 _ _ D 1 2 3 N 遺伝子の第 2 コピーを A D H 9 0 9 1 座に挿入する。

【 0 1 1 2 】

挿入断片 P 4 - 3 は、ヌクレオチド配列 S E Q I D N O : 1 8 を有し、以下のエレメントを含む、 5 ´ - 3 ´ : I . オリエンタリス A D H 9 0 9 1 オープンリーディングフレームの直接下流領域に対応する挿入に対する相同性を有する D N A 断片、 I . オリエンタリス P D C 1 プロモーター、 S E Q I D N O : 1 2 で見られる S . ポンベ L Y S 4 _ _ D 1 2 3 N 遺伝子、 I . オリエンタリス T A L ターミネーター、 I . オリエンタリス U R A 3 プロモーター、および I . オリエンタリス U R A 3 オープンリーディングフレームの最初の 5 3 0 塩基対。

20

【 0 1 1 3 】

挿入断片 P 4 - 4 は、ヌクレオチド配列 S E Q I D N O : 1 9 を有し、以下のエレメントを含む、 5 ´ - 3 ´ : I . オリエンタリス U R A 3 オープンリーディングフレームの最後の 5 6 8 塩基対に対応する D N A 断片、 I . オリエンタリス U R A 3 ターミネーター、 I . オリエンタリス U R A 3 プロモーター、 I . オリエンタリス T K L ターミネーター、および I . オリエンタリス A D H 9 0 9 1 オープンリーディングフレームの直接上流領域に対応する挿入に対する相同性を有する D N A 断片。

30

【 0 1 1 4 】

再度挿入は、3 の交叉事象を介して起こる。形質転換株を分離株に画線し、 P C R によりスクリーニングし、 S . ポンベ L Y S 4 _ _ D 1 2 3 N 遺伝子の 2 つのコピーを A H D 9 0 9 1 遺伝子座に含む菌株を同定する。第 1 のコピーを確認するための P C R スクリーニングを行い、ヌクレオチド配列 S E Q I D N O : 1 4 および 1 5 を有するプライマーを用いて 5 ´ - 交叉を確認し、 S E Q I D N O : 1 6 および 1 7 で 3 ´ - 交叉を確認する。第 2 のコピーを確認するための P C R スクリーニングを行い、ヌクレオチド配列 S E Q I D N O : 1 4 および 1 6 を有するプライマーを用いて 5 ´ - 交叉を確認し、 S E Q I D N O : 1 5 および 1 7 で 3 ´ - 交叉を確認する。 U R A 3 マーカーがループアウトした株が同定されるまで、その株を増殖させて F O A 上に再プレATINGする。この分離株を、株 P - 4 と命名する。

40

【 0 1 1 5 】

内因性 G P D I を、挿入断片 5 (ヌクレオチド配列 S E Q I D N O : 2 0 を有する) で、前述したように酢酸リチウム法を使用して減衰する。この挿入断片は、以下のエレメントを含む、 5 ´ - 3 ´ : I . オリエンタリス G P D 1 オープンリーディングフレームの直接上流領域に対応する挿入に対する相同性を有する D N A 断片、 P D C 転写ターミネーター、 U R A 3 プロモーター、 I . オリエンタリス U R A 3 遺伝子、マーカーリサイクリング用追加 U R A 3 プロモーター直接反復、および I . オリエンタリス G P D 1 オープ

50

ンリーディングフレームの直接下流領域に対応する挿入に対する相同性を有するDNA断片。成功した形質転換株を、ウラシルを欠く選択プレート上で選択し、PCRにより、ヌクレオチド配列SEQ ID NO: 21および22を有するプライマーを用いて5'-交叉を確認し、SEQ ID NO: 23および24で3'-交叉を確認し、URA3マーカーがループアウトした株が同定されるまで、前回のように増殖させてFOA上にプレATINGする。この株をその後、ヌクレオチド配列SEQ ID NO: 25を有する挿入断片で形質転換する。この挿入断片は、以下のエレメントを含む、5'-3': I . オリエンタリスGPD1オープンリーディングフレームの直接上流領域に対応する挿入に対する相同性を有するDNA断片、URA3プロモーター、I . オリエンタリスURA3遺伝子、マーカーリサイクリング用追加URA3プロモーター直接反復、PDC転写ターミネーター、およびI . オリエンタリスGPD1オープンリーディングフレームの直接下流領域に対応する挿入に対する相同性を有するDNA断片。成功した形質転換株を、再度、ウラシルを欠く選択プレート上で選択し、第2のGPD1欠失構築物の組み込みをPCRにより確認し、ヌクレオチド配列SEQ ID NO: 22および24を有するプライマーを用いて5'-交叉を確認し、SEQ ID NO: 21および23で3'-交叉を確認する。第1のGPD1欠失構築物の保持はまた、上記挿入断片5の適切な組み込みを確認するために使用されるPCR反応を繰り返すことにより再確認される。前回のように、URA3マーカーがループアウトした株が同定されるまで、確認された分離株を増殖させてプレATINGする。両方の野生型GPD遺伝子の欠失を有するような形質転換株の1つを、実施例5-1に指定する。

10

20

【0116】

本明細書で説明する遺伝子組み換え法と同様の方法で、他のI . オリエンタリス遺伝子を、様々な組み合わせで組み換え、消失、またはゲノムに挿入することができる。これらの遺伝子には、S . セレピシエに相同であるI . オリエンタリス遺伝子、ACO1 (ホモクエン酸脱水酵素)、ACO2 (ホモクエン酸脱水酵素)、LYS4 (ホモアコニターゼ)、LYS12 (ホモイソクエン酸脱水酵素)、LYS2 (アルファアミノアジピン酸還元酵素)、LYS9 (サッカロピン脱水酵素)、LYS1 (サッカロピン脱水酵素、L-リジン形成)、またはLYS14およびLYS80などの転写調節遺伝子が挙げられ得る。

【0117】

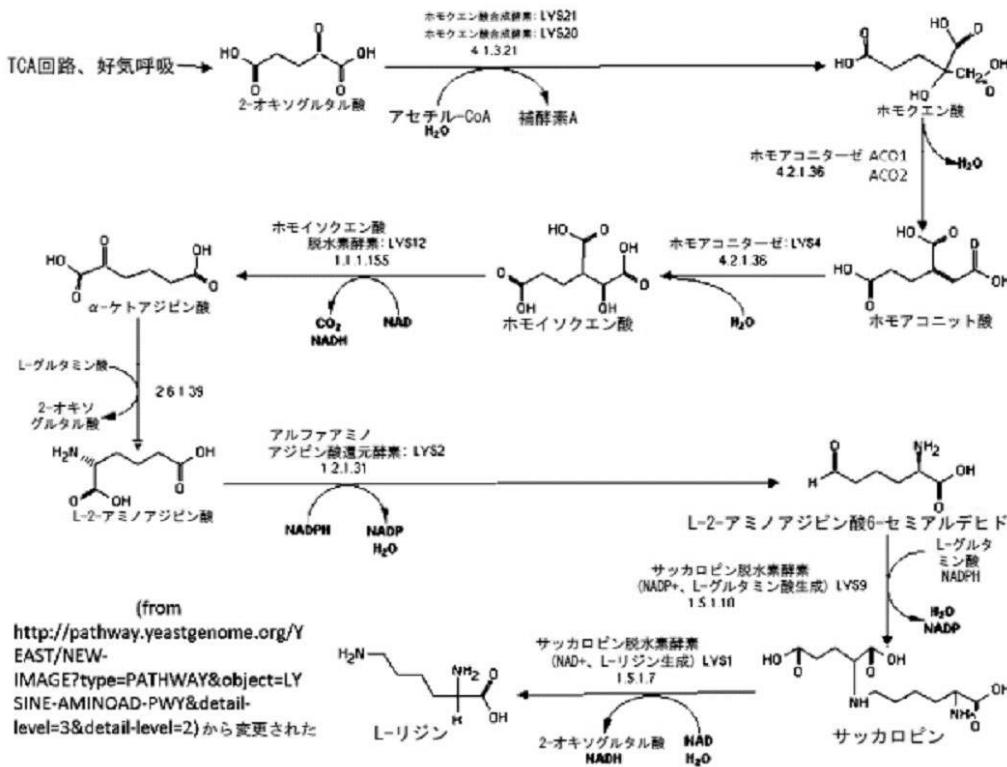
酵母AAAリジン生合成経路を、以下に示す (<http://pathway.yeastgenome.org/YEAST/NEW-IMAGE?type=PATHWAY&object=LYSINE-AMINOAD-PWY&detail-level=3&detail-level=2>より)。示した遺伝子は、サッカロマイセス・セレピシエ遺伝子である(注:ホモアコニターゼ脱水工程は、Fazius F, Shellest E, Gebhardt P, Brock M. The fungal - amino adipate pathway for lysine biosynthesis requires two enzymes of the aconitase family for the isomerization of homocitrate to homoisocitrate. Mol Microbiol . 2012 Dec; 86(6): 1508-30. doi: 10.1111/mmi.12076. Epub 2012 Nov 6. PubMed PMID: 23106124; PubMed Central PMCID: PMC3556520)からの新たな知見を組み込むように修正されている)。報告書は、ホモアコニット酸脱水酵素工程がACO1またはACO2 (好ましい)により行われることを示した。

30

40

【化19】

サッカロマイセス・セレビシエ: AAAリジン合成経路



10

20

30

40

50

再度、注：LYS20およびLYS21は、これらの酵素が多くの場合リジンによるフィードバック阻害を示すため、この経路の調節にとって重要であることが示されている。いくつかの実施形態では、これらの遺伝子のリジン非感受性変異体を使用される。例えば、Fellerら (Feller A, Ramos F, Pierard A, Dubois E. In *Saccharomyces cerevisiae*, feedback inhibition of homocitrate synthase isoenzymes by lysine modulates the activation of LYS gene expression by Lys14p. Eur J Biochem. 1999 Apr; 261(1): 163-70. PubMed PMID: 10103047.) は、アミノエチルシステイン、毒性リジン類似体に耐性のあるものとして単離された株からのLYS20およびLYS21の変異を説明する。さらに、この報告書は、LYS14Pなどの遺伝子を介したリジン経路の転写調節と、サッカロマイセス・セレビシエにおいて α-ケトグルタル酸をLYS80遺伝子の変異を介して増加させる方法とについても説明する。加えて、他の酵母からのホモクエン酸合成酵素遺伝子が用いられる可能性もある (Gasent-Ramirez JM, Benitez T. Lysine-overproducing mutants of *Saccharomyces cerevisiae baker's yeast* isolated in continuous culture. Appl Environ Microbiol. 1997 Dec; 63(12): 4800-6. PubMed PMID: 9406398; PubMed Central PMCID: PMC168803.)。例えば、Bulferら (Bulfer SL, Scott EM, Pillus L, Trievel RC. Structural basis for L-lysine feedback inhibition of homocitrate synthase. J Biol Chem. 2010 Apr 2; 285(14): 10446-53. doi: 10.1074/jbc.M109.094383. Epub 2010 Jan 19.

PubMed PMID: 20089861; PubMed Central PMCID: PMC2856251)は、リジンによるより少ない阻害につながるシゾサッカロミセス・ポンベLYS4(ホモクエン酸合成酵素)のいくつかの個々の点突然変異(D123N、E22Q、R288K、およびQ364R)について説明する。

【0118】

(実施例13)

合成手順ならびにPtおよびCu-Pdナノ触媒の触媒性能

1. Ptナノ粒子

白金(Pt)ナノ粒子を、ポリオール法を用いて合成した。具体的には、0.1227gの塩化白金($PtCl_4$ 、Sigma Aldrich、99.9%)を、無水エチレングリコール(EG)(Sigma Aldrich、99.8%)中に希釈した。その後、水酸化ナトリウム(NaOH、Sigma Aldrich、97%)のエチレングリコール溶液を添加して溶液のpHを11に調整し、同時に最終体積を50mlとした。反応混合液を激しく攪拌し、160℃で3時間加熱還流した。得られたPtナノ粒子の暗褐色コロイド溶液を、室温まで冷却した。

10

【0119】

2. Cu-Pd二元金属ナノ粒子

名目原子比がCu:Pd=95:5($Cu_{95}Pd_5$)および90:10($Cu_{90}Pd_{10}$)であるCu-Pd二元金属ナノ粒子を、ポリオール法に基づく工程の合成手順を用いて調製した。簡単に説明すると、最初に、銅ナノ粒子のコロイド溶液を調製した。第二に、適切な量の調製Cuコロイド溶液を、パラジウム前駆体塩のエチレングリコール溶液と混合した。第三に、CuコロイドおよびPd塩のエチレングリコール混合液を還流し、二元金属CuPdナノ粒子を形成した。

20

【0120】

詳細な手順は、以下のとおりである：

1) 硝酸銅0.0984グラム(の $Cu(NO_3)_2$ 、Alfa Aesar社、99%)を、30mlのEG中に希釈し、この溶液のpHを、30mlの水酸化ナトリウム溶液(EG)(0.2M)を用いて11.1に調整した。得られた溶液を激しく攪拌しながら3時間190℃で還流し、次いで室温まで冷却した。調製した銅ナノ粒子のコロイド溶液を、二元金属Cu-Pdナノ粒子の合成用の銅供給源として使用した。

30

2) 適切な量の酢酸パラジウム($Pd(CH_3COO)_2$ 、Sigma Aldrich、99.98%)を、エチレングリコール中に希釈し、Cuコロイド溶液8mlを加えた。混合液のpHを、NaOH/EG溶液(0.2M)を用いて11.2に調整した。

3) 混合物を室温で1時間攪拌し、次いで196℃で2時間還流した。得られたCu-Pdの暗褐色コロイド溶液を、室温まで冷却した。

【0121】

3. 炭素担持ナノ触媒の調製

炭素担持ナノ触媒の調製を、コロイド溶液の適当なアリコートカーボンプラック(Vulcan-XC-72、CABOT社)と混合することにより行い、炭素に担持されたPt(Pt/C)触媒の場合に1および3重量(質量)%の金属積載の、そして $Cu_{95}Pd_5/C$ および $Cu_{90}Pd_{10}/C$ では10重量%の金属積載の担持触媒を得た。ナノ粒子溶液と炭素粉末との混合液を3日間激しく攪拌したままにし、次いで遠心分離(10,000rpm)により分離し、脱イオン水で洗浄した。遠心分離/洗浄サイクルを10回繰り返し、微量のエチレングリコールおよびNaOHを除去した。最後に、得られた触媒粉末を、凍結乾燥機で一晩乾燥させた。

40

【0122】

4. ナノ触媒の活性化

触媒試験の前に、ナノ触媒を活性化工程にかけた：所望の量の触媒を、高圧(HP)反応器(Symyx Discovery Tools)に移し、次の手順を行った：

a. 180、400psiの N_2 下での3時間のアニーリング。

50

b. 180、200 psi の H_2 下での 3 時間のアニーリング。

【0123】

5. 触媒テスト

活性化されたナノ触媒を、ラクトンのアジピン酸およびその他の有用な化学物質への触媒変換について試験した。試験した触媒には、以下が挙げられる：

- 1) 1 重量%の Pt / C
- 2) 3 重量%の Pt / C
- 3) 10 重量%の $Pd_{95}Cu_5 / C$
- 4) 10 重量%の $Pd_{90}Cu_{10} / C$

反応は、180、1 mol % の金属濃度で、16 時間、450 psi の H_2 下で行った。

10

【0124】

(実施例 14)

水素無添加での種々の出発原料の触媒熱分解

図 20 に示すように、ホモアコニット酸を、担持金属触媒 (1 mol % 金属) および水と、180 で 16 時間 450 psi の N_2 下で混合すると、脱炭酸化生成物の大きな産生をもたらした。図 20 は、ホモクエン酸、ホモクエン酸ラクトン、またはホモアコニット酸を出発原料として使用した場合の代表例である。Pt / C は、アジピン酸への顕著な選択性を、添加 H_2 なしで、および 450 psi の N_2 圧力下で示した。ホモクエン酸ナトリウムとホモアコニット酸ナトリウムは、Pt / C 触媒と、同じ条件下で同様の挙動を示した。ホモアコニット酸ナトリウムでの活性の増大は、予め形成された中間体の安定性を示唆している。

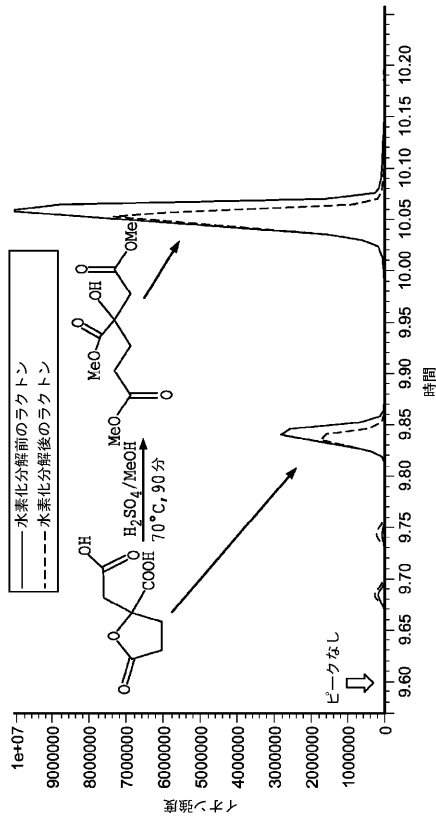
20

【0125】

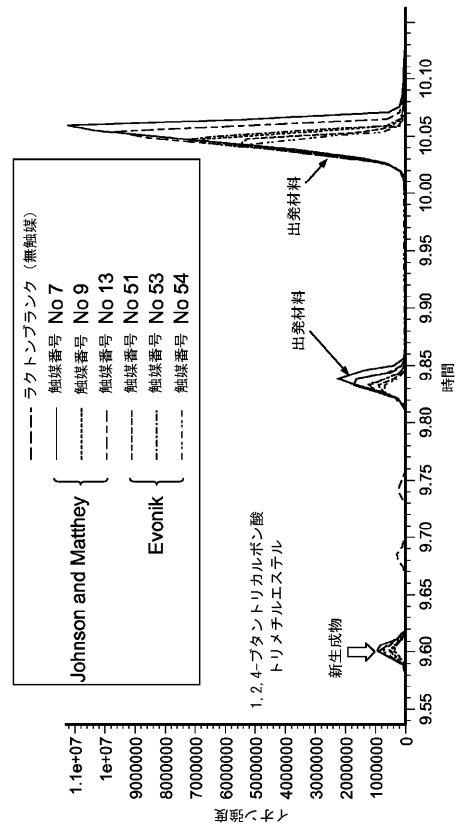
(その他の実施形態)

本発明を、その発明を実施するための形態と併せて説明してきたが、前述の説明は、例示することを意図しており、添付の特許請求の範囲により定義される本発明の範囲を限定することを意図しないと理解されるべきである。その他の態様、利点、および改変は、添付の特許請求の範囲内である。

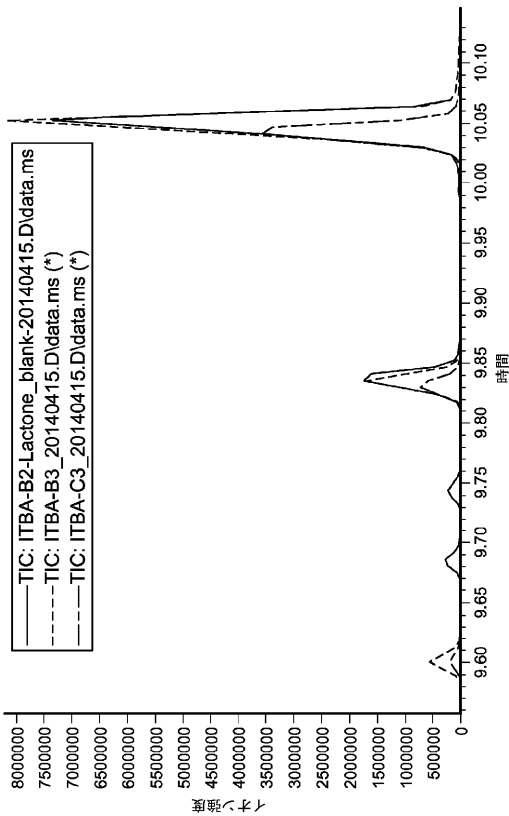
【 図 1 】



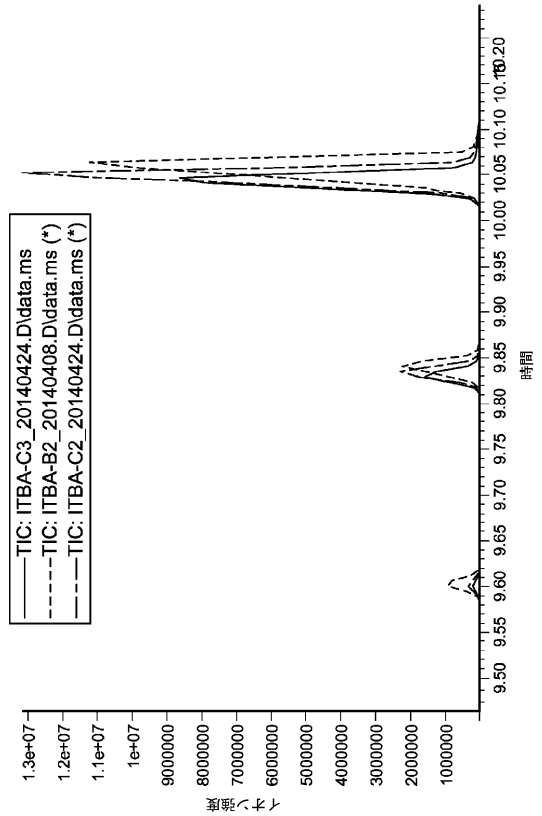
【 図 2 】



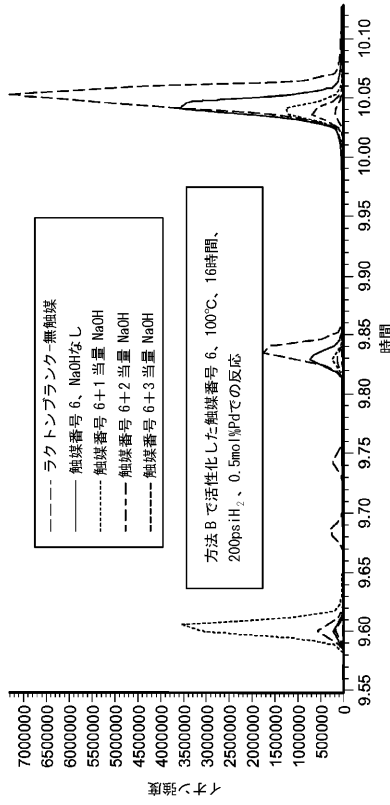
【 図 3 】



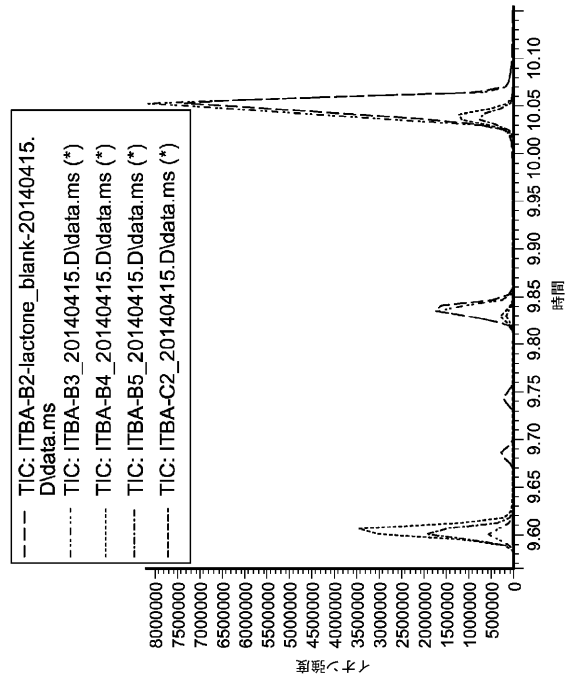
【 図 4 】



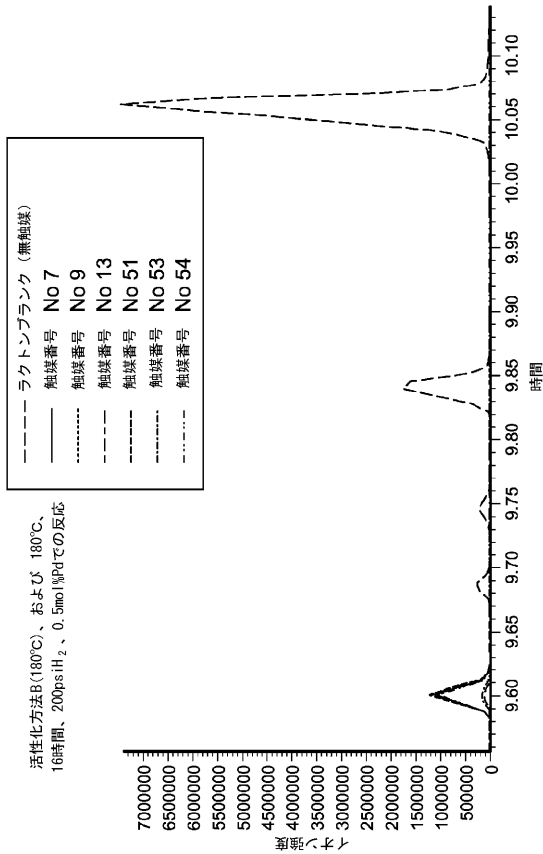
【 図 5 】



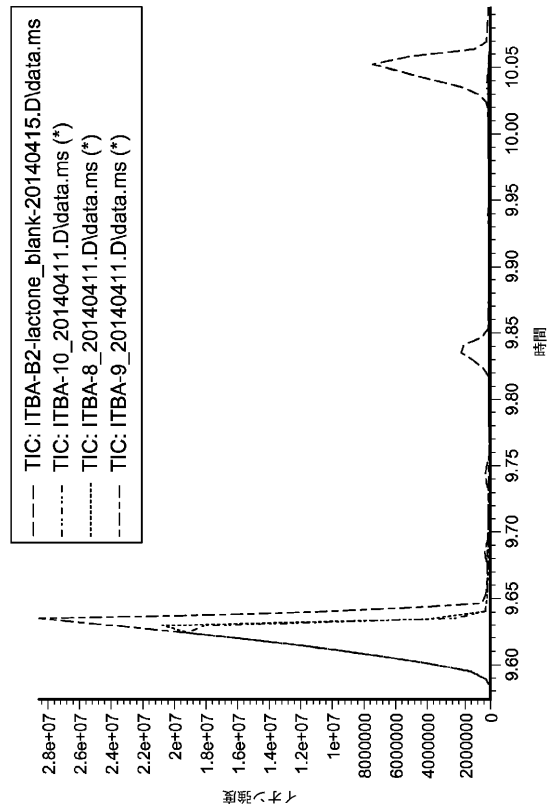
【 図 6 】



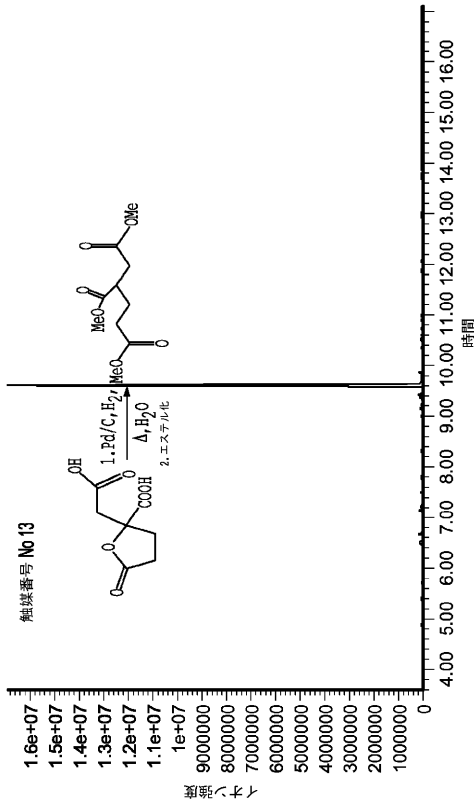
【 図 7 】



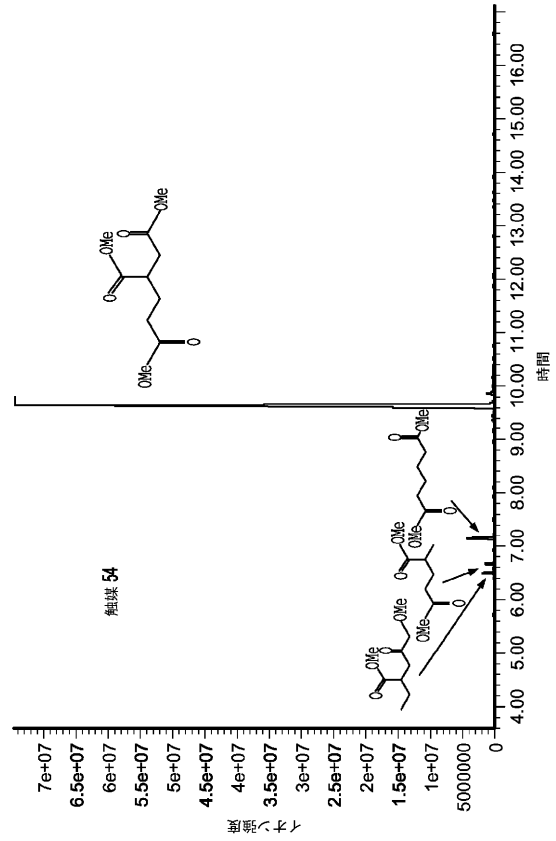
【 図 8 】



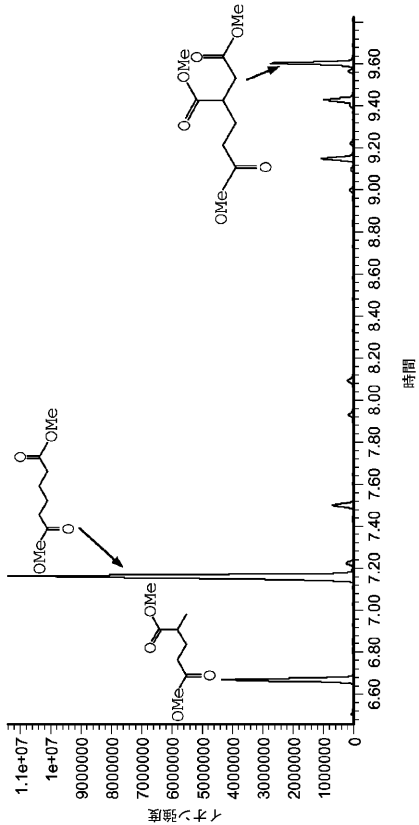
【 図 9 】



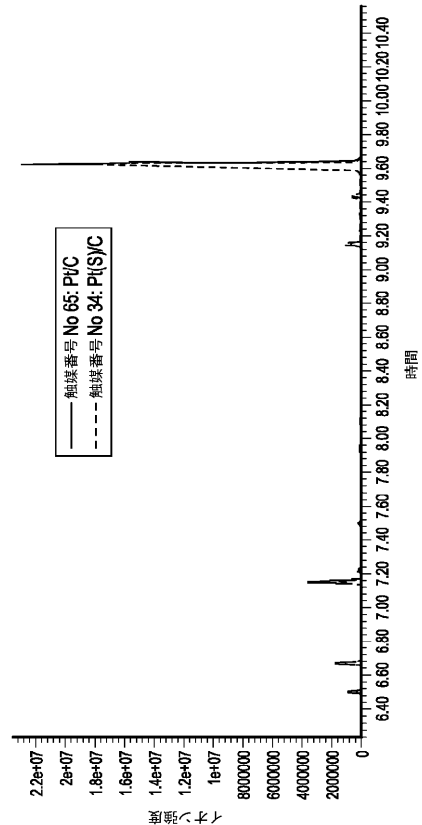
【 図 10 】



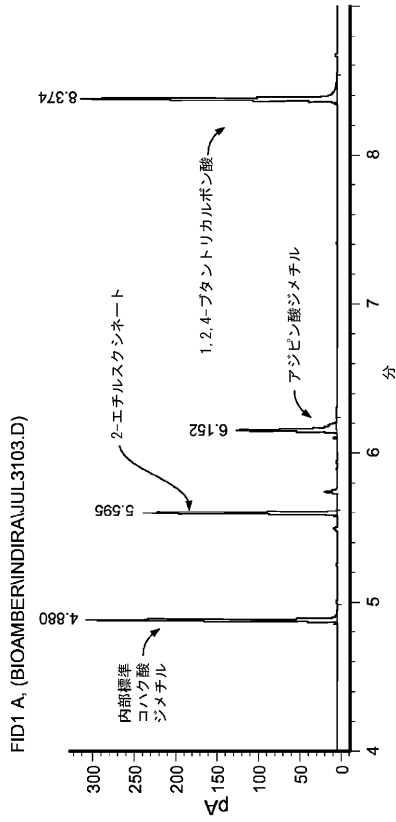
【 図 11 】



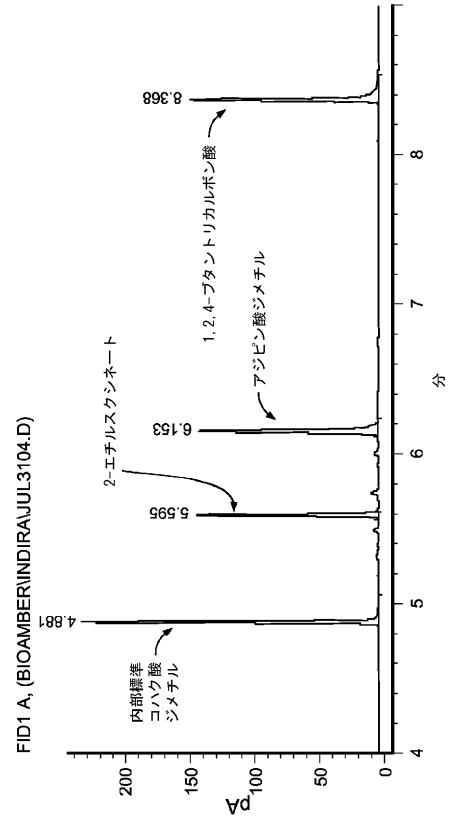
【 図 12 】



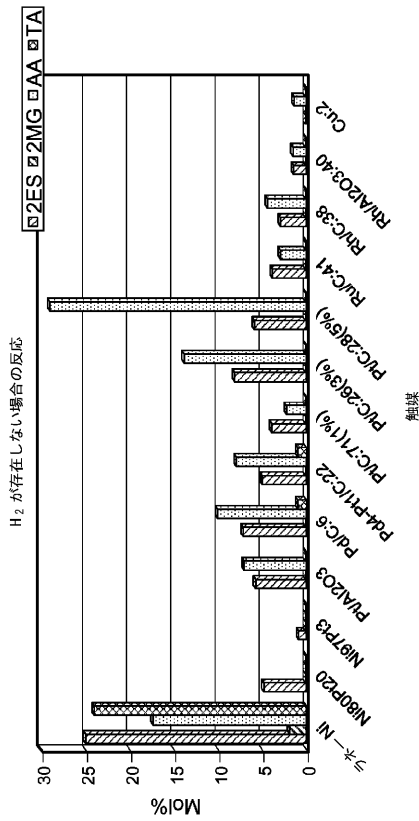
【 図 1 3 】



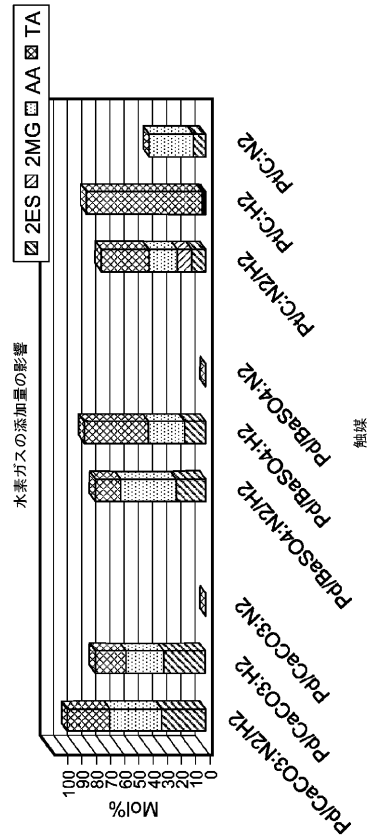
【 図 1 4 】



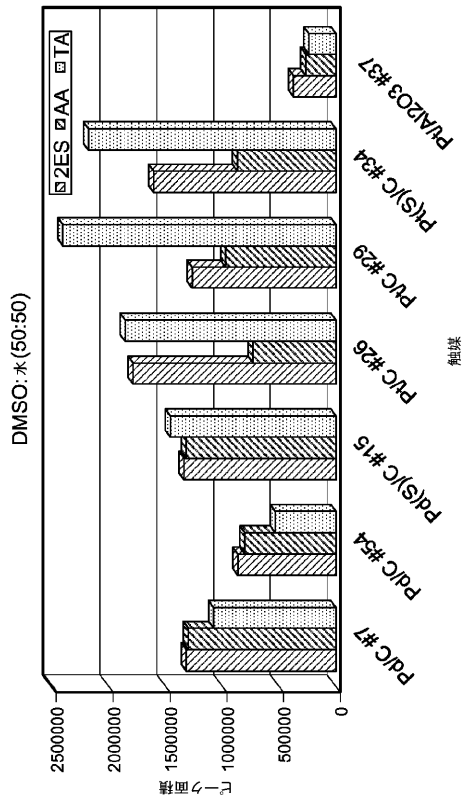
【 図 1 5 】



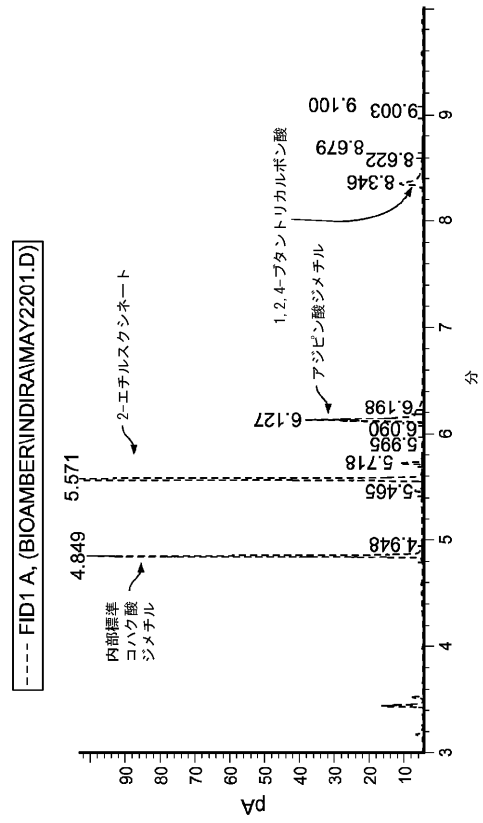
【 図 1 6 】



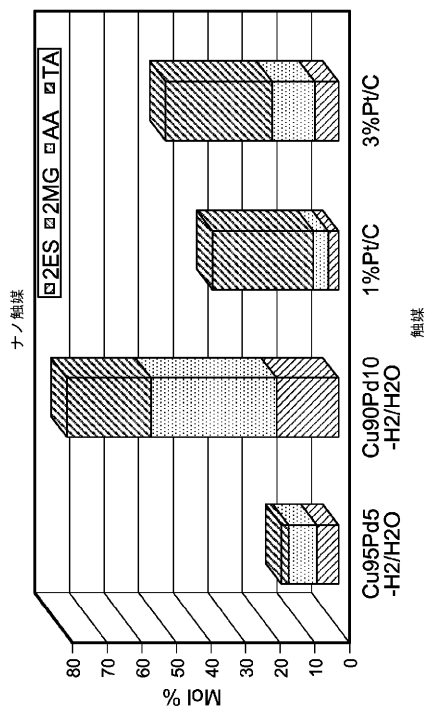
【 図 1 7 】



【 図 1 8 】

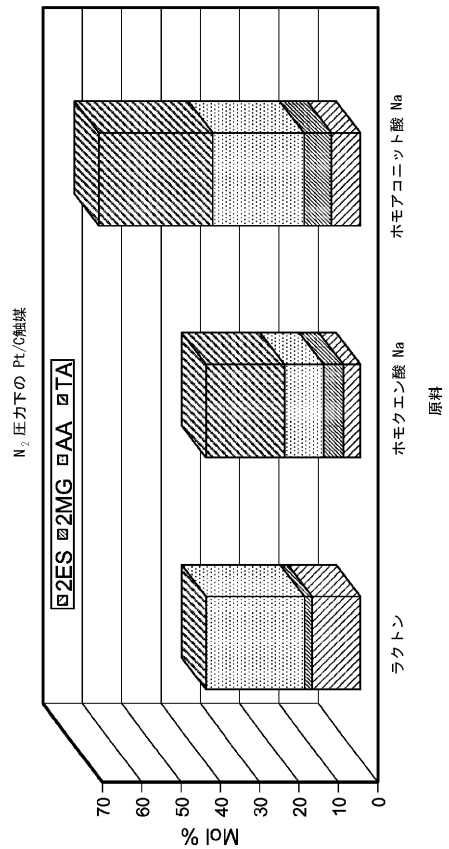


【 図 1 9 】



反応条件: 180°C, 1 mol% 金属, 16時間.
450 psf H₂, ラクトン (0.12 mmol), H₂O.

【 図 2 0 】



【配列表】

2017520621000001.xml

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US15/35178
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - C12P 7/44 (2015.01) CPC - C12P 7/48, 7/44 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8): A61K 48/00; C12P 19/34, 7/44 (2015.01) CPC: A61K 48/00, 38/00; C12Q 1/686, 1/6869; C12P 7/48, 7/44; USPC: 435/91.51, 91.1, 91.5, 514/44R, 43, 42, 23, 1 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PatSeer (US, EP, WO, JP, DE, GB, CN, FR, KR, ES, AU, IN, CA, INPADOC Data); Google; Google Scholar; PubMed; Dialog ProQuest; 'adipic acid,' 'homocitric acid,' 'homocitrate,' 'metal catalyst,' 'homocitrate lactone'		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	WO 2014/043182 A2 (BIOAMBER INC.) March 20, 2014; abstract; abstract; page 9, lines 13-15; page 10, lines 10-28; page 12, lines 5-8; page 25, lines 3-4; page 35, lines 15-24; figures 1, 2	1-3, 21/1, 21/2, 21/3 — 37, 38, 41
X — Y	US 5292944 A (ATADAN, EM et al.) March 8, 1994; column 2, line 50 to column 3, line 5	39, 40 — 41
Y	✓ Adipic acid [online]. Rhodia: Member of the Solvay Group. November 2012 [retrieved on 2015-10-28]. Retrieved from the Internet: <URL: http://www.solvay.com/en/binaries/Adipic_acid_GPS_rav0_Nov12_RHD-138953.pdf >; pages 1-7; page 2.	2, 3, 21/2, 21/3, 40, 41
Y	✓ 2-Ethylsuccinic Acid: 636-48-6. [online]. Chemical Book, 2010 [retrieved on 10-28-2015]. Retrieved from the Internet: <URL: http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB5746800.htm >; page 1.	40, 41
Y	✓ 2-Methylglutaric Acid: 18069-17-5. [online]. Chemical Book, 2010 [retrieved on 10-28-2015]. Retrieved from the Internet: <URL: http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB6739027.htm >; pages 1-2; page 1.	40, 41
Y	✓ XU, W et al. Tailoring Supported Palladium Sulfide Catalysts Through H ₂ -Assisted Sulfidation With H ₂ S. Journal of Materials Chemistry A. 20 August 2013, Vol. 1, pages 12811-12817; abstract. DOI: 10.1039/C3TA12277H.	37, 38
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 29 October 2015 (29.10.2015)		Date of mailing of the international search report <div style="font-size: 24pt; font-weight: bold; text-align: center;">07 DEC 2015</div>
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Shane Thomas PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US15/35178

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.: 22-36
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

-***Please See Supplemental Page-***

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Group I: Claims 1-3, 21 (in-part), 37-40

- Remark on Protest**
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US15/35178

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2011/0269993 A1 (FRUCHEY, OS et al.) November 3, 2011; abstract; paragraphs [0014], [0030]	41

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US15/35178

***-Continuation of Box No. III: Observations Where Unity Of Invention Is Lacking:

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I: Claims 1-3, 21 (in-part) and 37-40 are directed toward a method for making adipic acid of Formula I, comprising contacting a Pd (S)/C catalyst with composition comprising a compound of Formula II or Formula III; or a salt thereof, wherein: each R2 and R3 is individually selected from H and a protecting group; and a composition comprising adipic acid of Formula I.

Group II: Claims 4-20 and 21 (in-part) are directed toward methods of making compounds of Formula I, Formula IV, Formula V and Formula VI, and mixtures thereof, comprising: a) hydrogenolysis of compound of Formula II or III; or a salt thereof, to prepare a compound of Formula IV; and b) selective decarboxylation of the compound of Formula IV to make a compound of Formula I, V or VI, or a salt thereof.

Group III: Claim 42 is directed toward a method of making adipic acid or a salt thereof, comprising: contacting a genetically engineered microorganism that overproduces a product selected from homocitrate, homoaconitate or combinations thereof with a carbohydrate source; separating the homocitrate, homoaconitate or combinations thereof; and catalytically converting the homocitrate, homoaconitate or combinations thereof to adipic acid.

The inventions listed as Groups I-III do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: the special technical features of Group I include Pd(S)/C catalyst, which is not present in either of Groups II or III, the special technical features of Group II including hydrogenolysis, which is not present in either of Groups I or III, the special technical features of Group III including a genetically engineered microorganism.

Groups I-III share the technical features including adipic acid, homocitrate and catalytically converting homocitrate (a compound of Formula II) to adipic acid. Groups I and II share the technical features including a metal catalyst; a compound of Formula III, and a composition comprising two or more compounds selected from the group consisting of: adipic acid, 1,2,4-butanetricarboxylic acid, 2-ethylsuccinic acid, and 2-methylpentanedioic acid (two or more compounds of Formula I, Formula IV, Formula VI and Formula V).

However, these shared technical features are previously disclosed by WO 2014/043182 A2 (BIOAMBER, INC.) (hereinafter 'Bioamber') in view of US 5,292,944 A to Atadan, et al. (hereinafter 'Atadan').

Bioamber discloses adipic acid (abstract), homocitrate (homocitric acid (homocitrate); abstract) and catalytically (page 8, lines 22-30; page 10, lines 10-26) converting homocitrate (a compound of Formula II) (decarboxylating (converting) homocitrate (a compound of Formula II) to 3-keto adipate, converting 3-keto adipate to 3-hydroxy adipate, and converting 3-hydroxy adipate to adipic acid; page 10, lines 10-26, page 11, lines 19-31; page 19, lines 20-28) to adipic acid (page 10, lines 10-26; page 11, lines 19-31; page 19, lines 20-28); a metal catalyst (a platinum (metal) catalyst; page 10, lines 10-26); and a compound of Formula III (homocitric acid lactone (a compound of Formula III); page 25, lines 3-4). Bioamber does not disclose a composition comprising two or more compounds selected from the group consisting of: adipic acid, 1,2,4-butanetricarboxylic acid, 2-ethylsuccinic acid, and 2-methylpentanedioic acid (two or more compounds of Formula I, Formula IV, Formula VI and Formula V). DuPont discloses a composition (a reaction mixture (a composition); column 2, lines 50-57) comprising two or more compounds selected from the group consisting of: adipic acid, 2-ethylsuccinic acid, and 2-methylpentanedioic acid (two or more compounds of Formula I, Formula VI and Formula V) (for the preparation of adipic acid from 2-ethylsuccinic acid and 2-methylglutaric acid (comprising two or more compounds selected from the group consisting of: adipic acid, 2-ethylsuccinic acid, and 2-methylpentanedioic acid (two or more compounds of Formula I, Formula VI and Formula V)); column 2, line 50 to column 3, line 5). It would have been obvious to a person of ordinary skill in the art, at the time of the invention, to have modified the previous disclosure of Bioamber, for including the use of a reaction mixture comprising at least two of adipic acid, 2-ethylsuccinic acid, and 2-methylpentanedioic acid (two or more compounds of Formula I, Formula VI and Formula V), as previously disclosed by Du Pont, for implementing method for making adipic acid, as previously disclosed by Bioamber, for enabling the production of adipic acid from a wider range of substrate molecules.

Since none of the special technical features of the Groups I-III inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by a combination of the Bioamber and DuPont references, unity of invention is lacking.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
B 0 1 J 23/42 (2006.01)	B 0 1 J 23/42	Z
B 0 1 J 27/232 (2006.01)	B 0 1 J 27/232	Z
B 0 1 J 27/053 (2006.01)	B 0 1 J 27/053	Z
B 0 1 J 23/89 (2006.01)	B 0 1 J 23/89	Z
C 1 2 P 7/62 (2006.01)	C 1 2 P 7/62	Z N A
C 1 2 P 7/44 (2006.01)	C 1 2 P 7/44	
C 0 7 B 61/00 (2006.01)	C 0 7 B 61/00	3 0 0
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00	A

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

- (72) 発明者 ラルフ トマス ベーカ
カナダ国 オンタリオ ケイ2ピー 1ケイ4 オタワ カルティエ ストリート 119
- (72) 発明者 ジェイムズ エフ ホワイト
アメリカ合衆国 ワシントン州 99352 リッチランド アデア ドライブ 409
- (72) 発明者 レオ イー マンザー
アメリカ合衆国 デラウェア州 19803 ウィルミントン キャセル コート 328
- (72) 発明者 スピリドン ニタイス
カナダ国 オンタリオ ケイ1エヌ 7エックス5 オタワ ラッセル アベニュー 222 アパートメント 305
- (72) 発明者 オレーナ バラノヴァ
カナダ国 オンタリオ ケイ1エヌ 7エックス5 オタワ ラッセル アベニュー 305-222
- (72) 発明者 インディラ タバ
アメリカ合衆国 ミネソタ州 55426 セント ルイス パーク パーカー ロード 1820
- (72) 発明者 マン キット ラウ
アメリカ合衆国 ミネソタ州 55417 ミネアポリス オークランド アベニュー サウス 6037
- (72) 発明者 キャシー スタロツホ ハス
アメリカ合衆国 ミネソタ州 55426 セント ルイス パーク パーカー ロード 1820

Fターム(参考) 4B064 AD09 AD61 CA06 CA19 CB01 CB02 CB03 CC24 DA16
4G169 AA03 BA08A BA08B BB02A BB10B BB16B BC09B BC13B BC25A BC31A
BC31B BC32A BC33A BC35A BC54A BC64A BC66A BC67A BC68A BC70A
BC71A BC72A BC72B BC73A BC74A BC75A BC75B BD08A CB02 DA06
EB19 FA08 FB44 FC04 FC07
4H006 AA02 AC46 BA25 BA55 BB31 BC10 BE20 BS10
4H039 CA65