

(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2005-506091

(P2005-506091A)

(43) 公表日 平成17年3月3日(2005.3.3)

(51) Int.Cl.⁷

C 1 2 P 7/62

C 1 2 P 17/00

// C 0 7 D 339/04

(C 1 2 P 7/62

C 1 2 R 1:01)

F I

C 1 2 P 7/62

C 1 2 P 17/00

C 0 7 D 339/04

C 1 2 P 7/62

C 1 2 R 1:01

テーマコード (参考)

4 B O 6 4

4 C O 2 3

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 23 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-538385 (P2003-538385)
 (86) (22) 出願日 平成14年10月14日 (2002.10.14)
 (85) 翻訳文提出日 平成16年4月23日 (2004.4.23)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2002/011470
 (87) 国際公開番号 W02003/035885
 (87) 国際公開日 平成15年5月1日 (2003.5.1)
 (31) 優先権主張番号 101 52 113.8
 (32) 優先日 平成13年10月23日 (2001.10.23)
 (33) 優先権主張国 ドイツ (DE)

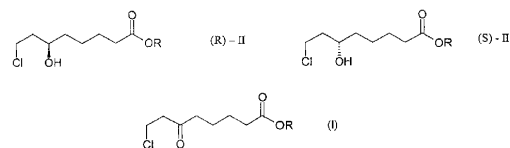
(71) 出願人 302028960
 ヴィアトリス ゲゼルシャフト ミット
 ベシュレンクテル ハフツング ウント
 コンパニー コマンディートゲゼルシャフ
 ト
 V I A T R I S G m b H & C o . K
 G
 ドイツ連邦共和国 フランクフルト アム
 マイン ヴァイスミューラーシュトラ
 セ 4 5
 (74) 代理人 100061815
 弁理士 矢野 敏雄
 (74) 代理人 100094798
 弁理士 山崎 利臣

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 酵素的還元による (R) - および (S) - 8 - クロロ - 6 - ヒドロキシ - オクタン酸アルキルエ
 ステルの製造方法

(57) 【要約】

本発明は、一般式 (R) - I I または (S) - I I の (R) - または (S) - 8 - クロロ - 6 - ヒドロキシ - オクタン酸アルキルエステル [式中、R は C₁ ~ C₄ - アルキルを表す] を、補因子再生系の存在下にアルコールデヒドロゲナーゼ、たとえばラクトバチラス - プレビスまたはテルモアナエロビウム - プロキイによる酵素的還元によって、一般式 (I) の 8 - クロロ - 6 - オキソ - オクタン酸アルキルエステル [式中、R は上記のものを表す] から製造する方法に関する。得られる (R) - または (S) - 8 - クロロ - 6 - ヒドロキシ - オクタン酸エステルは公知の方法で (R) - - リポ酸または (S) - - リポ酸へと反応させることができる。

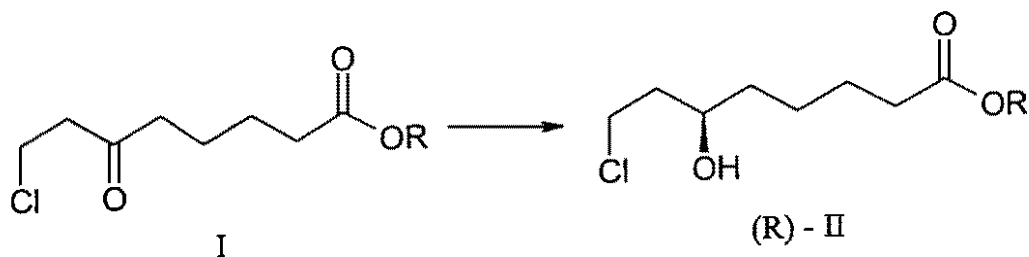


【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (R) - I I

【化 1】



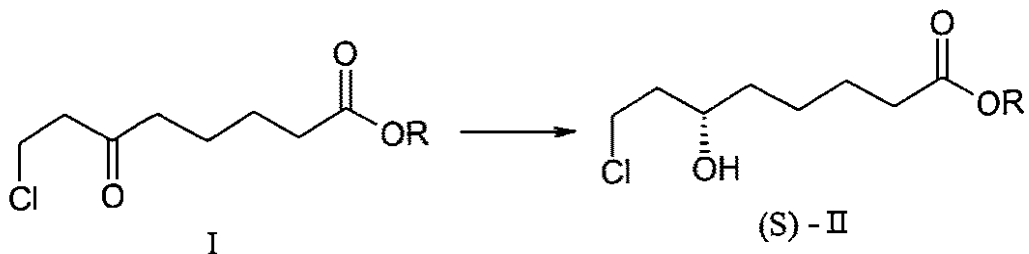
10

[式中、R はそれぞれ $C_1 \sim C_4$ - アルキルを表す] の (R) - 8 - クロロ - 6 - ヒドロキシ - オクタン酸アルキルエステルの製造方法において、式 I の 8 - クロロ - 6 - オキソ - オクタン酸アルキルエステルを補因子の存在下にアルコールデヒドロゲナーゼまたはカルボニルレダクターゼを用いて酵素的に還元することを特徴とする、式 (R) - I I の (R) - 8 - クロロ - 6 - ヒドロキシ - オクタン酸アルキルエステルの製造方法。

【請求項 2】

式 (S) - I I

【化 2】



20

[式中、R はそれぞれ $C_1 \sim C_4$ - アルキルを表す] の (S) - 8 - クロロ - 6 - ヒドロキシ - オクタン酸アルキルエステルの製造方法において、式 I の 8 - クロロ - 6 - オキソ - オクタン酸アルキルエステルを補因子の存在下にアルコールデヒドロゲナーゼまたはカルボニルレダクターゼを用いて酵素的に還元することを特徴とする、式 (S) - I I の (S) - 8 - クロロ - 6 - ヒドロキシ - オクタン酸アルキルエステルの製造方法。

30

【請求項 3】

テルモアナエロビウム - プロキイからのアルコールデヒドロゲナーゼを使用する、請求項 1 記載の方法。

【請求項 4】

ラクトバチラス - プレビスからのアルコールデヒドロゲナーゼを使用する、請求項 2 記載の方法。

【請求項 5】

還元を平衡を推移させる補因子再生系を酵素的還元に加える、請求項 1 から 4 までのいずれか 1 項記載の方法。

40

【請求項 6】

(R) - または (S) - リポ酸の製造方法において、請求項 1 から 5 までのいずれか 1 項記載の方法により得られる (R) - または (S) - 8 - クロロ - 6 - ヒドロキシ - オクタン酸アルキルエステルを自体公知の方法により反応させることを特徴とする、(R) - または (S) - リポ酸の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

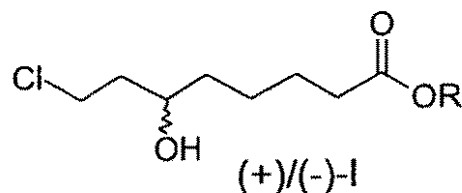
【0001】

50

本発明は、適切なプロキラルなケト化合物を酵素的に還元することにより、式 I

【 0 0 0 2 】

【 化 1 】



R = アルキル

10

の (R) - および (S) - 8 - クロロ - 6 - ヒドロキシ - オクタン酸アルキルエステルを製造する方法に関する。

【 0 0 0 3 】

工業的な規模での - リポ酸の合成は、8 - クロロ - 6 - オキソ - オクタン酸アルキルエステルから出発し、該エステルを NaBH_4 - 還元により 8 - クロロ - 6 - ヒドロキシ - オクタン酸アルキルエステルに変換して行われる (文献 : Kleemann および Engel、Pharmaceutical Substances、第 3 版、Thieme、1999 年、第 1860 頁)。連続する 3 段階の合成順序によりラセミ体の - リポ酸が高い全収率で得られる。ラセミ体の - リポ酸の合成以外に、適切な製薬学的使用のために純粋なエナンチオマーの合成もまた極めて重要である (たとえば EP 0 4 2 7 2 4 7 を参照のこと)。純粋なエナンチオマーの合成は、ラセミ体作用物質の確立された経済的な合成方法と同様に実施することが考えられる。相応してエナンチオマー純粋な中間体を製造するための種々の方法が開発されたが、特に DE - A 1 9 5 3 3 8 8 2 を参照のこと。プロキラルなケトン化合物の、キラルな第二アルコールへのエナンチオ選択的な還元は DE - A - 1 9 7 0 9 0 6 9 に記載されており、該第二アルコールは中間体として代替的な合成経路でエナンチオマー純粋な - リポ酸を生じる。全ての方法において連続する多段階の合成順序が存在し、これらは部分的に高価な精製工程と結びついているか、またはラセミ体分割 (DE 4 1 3 7 7 7 3) に基づいており、このことにより、ラセミ化または転化により返送することなくエナンチオマーの最大の収率は 50 % である。これらの方法の低い全収率により、これらの方法は経済的に引き合わないように思われる。記載されている方法のいずれも、ラセミ体の - リポ酸を合成するための確立された経済的な方法のエナンチオマー純粋な中間体の直接的な 1 段階の製造に基づいていない。

20

30

【 0 0 0 4 】

従って本発明の課題は、(R) - および (S) - - リポ酸を製造するための特定の中間生成物および (R) - および (S) - - リポ酸自体を製造するための方法であり、これらの化合物ならびに中間生成物の製造を高い収率および高いエナンチオマー純度で可能にする方法を提供することである。

【 0 0 0 5 】

これらの課題は、アルコールデヒドロゲナーゼまたはカルボニルレダクターゼを用いて 8 - クロロ - 6 - オキソ - オクタン酸アルキルエステルを酵素により還元することにより解決される。この反応の場合、特許請求の範囲に記載した式 (R) - II または (S) - II の (R) - または (S) - 8 - クロロ - 6 - ヒドロキシ - オクタン酸アルキルエステルが得られる。

40

【 0 0 0 6 】

本発明は、公知のアルコールデヒドロゲナーゼまたはカルボニルレダクターゼを用いて、使用される出発エステルを容易な方法で、および極めて効果的に還元することができるという認識に由来する。

【 0 0 0 7 】

文献には、キラルな化合物を合成するためにデヒドロゲナーゼが適切であり得るという明

50

確な示唆が見られる（特にKraglおよびKula、Stereoselective Biotransformations、R. Patel、Marcel Dekker編、2000年、第839～866頁を参照のこと）。しかしこれらの、および類似の文献箇所の一般的な記載は、複合体出発化合物に転用することができない。当業者はこの場合、一般に副反応ならびにエナンチオ選択性の低下を懸念する。たとえば文献ではクロロエチルケトンの生物触媒による還元に関する例が1つ見られるにすぎない（Mele等、J. Org. Chem. 1991, 56, 6019）。この場合、全細胞生体内変化（サッカロミセス - セレビジエ）によりクロロエチル - アリール - ケトンを手性な第二アルコールへと還元する。還元は高化学選択的にも、高エナンチオ選択的にも進行しない。生物触媒は式Iの化合物の場合と同様に第二のかさ高な置換基を有しており、該触媒によるクロロエチルケトンの還元の場合、置換基の高い空間的要求に基づいて、特定の生物触媒がこのような化合物を基質として受け入れるかどうかを予測することは不可能である。

10

【0008】

J. Org. Chem. 66, 8682-84 (2001) から、相応するケトンから精製されたカルボニルレダクターゼおよび完全な細胞を用いて還元することにより8 - クロロ - 3 - ヒドロキシ - オクタン酸アルキルエステルが得られることが明らかである。EP0939132A1は、4 - ハロゲン - 3 - ケト酪酸エステルの酵素的還元を開示している。J. Org. Chem. 63, 1102-08 (1998) には、3 - クロロ - 4 - ケト - オクタン酸エチルエステルの還元が記載されている。EP0487986A2からは、リポ酸を製造するためにパン酵母を用いた還元により(3S) - 3 - ヒドロキシオクタン二酸ジエステルが得られることが公知である。

20

【0009】

意外なことに、種々のアルコールデヒドロゲナーゼおよびカルボニルレダクターゼは基質として式Iの化合物に関して高い受容性を有し（分析アッセイ）、これはプレパラティブ反応においても確認することができた。

【0010】

本発明は請求項1およびその他の従属請求項により詳しく記載されている。本発明による反応の場合、一般に公知の補因子、たとえばNAD(H)、NADP(H)、FADH₂を使用する。有利にはNAD(H)またはNADP(H)を使用する。

【0011】

得られる8 - クロロ - 6 - ヒドロキシ - オクタン酸アルキルエステルの立体配置は使用される酵素により決定される。従って8 - クロロ - 6 - オキソ - オクタン酸アルキルエステルをテルモアナエロビウム - プロキイからのアルコールデヒドロゲナーゼにより還元することによってエナンチオマー純粋な(R) - 8 - クロロ - 6 - ヒドロキシ - オクタン酸アルキルエステルが得られる。ラクトバチラス - プレビスのアルコールデヒドロゲナーゼによる還元の場合、エナンチオ選択的に(S) - 8 - クロロ - 6 - ヒドロキシオクタン酸アルキルエステル(ee > 65%)が形成される。基質としての式Iの化合物により活性を示す酵素を以下の表に記載する。

30

【0012】

酵素は市販されている。

【0013】

中間生成物、プロキラルな8 - クロロ - 6 - オキソ - オクタン酸アルキルエステルを製造するための出発化合物は公知の方法で得られる(L. J. Reed等、J. Am. Chem. Soc. 1955, 774, 416)。

40

【0014】

Y - ADH	酵母のアルコールデヒドロゲナーゼ
HL - ADH	ウマ肝臓 - ADH
READH	ロドコッカス - エリスポリス - ADH
CPCR	カンジダ - パラシローシス - カルボニルレダクターゼ
CBADH	カンジダ - ボイジニイ - ADH
LKADH	ラクトバチラス - ケフィア - ADH

50

L B A D H ラクトバチラス - プレビス - A D H
 T B A D H テルモアナエロビウム - プロキイ - A D H
 T E A トリエタノールアミン
 T r i s トリスヒドロキシメチルアミノメタン
 K p i 1 カリウムリン酸塩および 2 カリウムリン酸塩の混合物
 D T T ジチオトレイトール

【 0 0 1 5 】

【 表 1 】

酵素	補因子	緩衝液	補助基質/ 補酵素	活性 / (反応率)	標準液
Y-ADH	NAD(H)	100 mM TEA, pH 7.0		20%	2-ブタノン
HL-ADH	NAD(H)	100 mM TEA, 1 mM MgCl ₂ , pH 7.0		< 1%	アセト酢酸 メチルエステル
READH	NAD(H)	100 mM グリシル -グリシン, pH 6.5		2%	アセト酢酸 メチルエステル
CBADH	NAD(H)	50 mM Kpi, pH 6.5	(30°C)	60%	アセトン
CPCR	NAD(H)	100 mM TEA, pH 7.8	(HCO ₂ Na, FDH)	60%	アセト酢酸 メチルエステル
LKADH	NADP(H)	50 mM Kpi, 0.1 mM MgCl ₂ , pH 7.0	イソ-プロパ ノール 200 mM	10% (36%)	アセトフェノン
LBADH	NADP(H)	50 mM Kpi, 1 mM MgCl ₂ , pH 6.5	イソ-プロパ ノール 200 mM	6% (> 25%)	アセト酢酸 メチルエステル
TBADH	NADP(H)	50mM Tris, 1mM DTT, pH 7.8	HCO ₂ Na, FDH (37°C)	6% (> 85%)	2-ブタノン

【 0 0 1 6 】

プレパラティブ反応のために補因子再生系を酵素の生体内変化に取り入れることは有利であることが判明した。主反応の平衡をシフトさせる補因子再生系が特に有利であることが判明した。従ってたとえばラクトバチラス - プレビスのアルコールデヒドロゲナーゼによる還元の場合、有利には基質結合補因子再生を過剰の第二アルコール（たとえば 2 - プロパノール）の存在下に行うことができる。あるいは、N A D (P) を N A D (P) H へと還元するために利用することができる酵素結合補因子再生系（たとえばホルメートデヒド

10

20

30

40

50

ロゲナーゼ (F D H) / ホルメート) を使用することができる。補助基質であるナトリウムホルメートの酸化から生じる CO_2 は気体として漏出し、ひいては平衡から除去される。N A D 依存型および N A D P 依存型のホルメートデヒドロゲナーゼが文献に記載されており、かつ市販されている。

【 0 0 1 7 】

式 I の 8 - クロロ - 6 - ヒドロキシ - オクタン酸アルキルエステルの光学異性体の絶対的な立体配置は、特異的な旋光性の記号を文献データ (Gewald 等、D E 1 9 5 3 3 8 8 1) と比較することにより決定した。さらに式 I の 8 - クロロ - 6 - ヒドロキシ - オクタン酸アルキルエステルの光学異性体の相対的な含有率を、キラルな相を有するカラムを用いて G C により $< 0.5\%$ の検出限界で測定した。

10

【 0 0 1 8 】

本発明により、式 I の (R) - および (S) - 8 - クロロ - 6 - ヒドロキシ - オクタン酸アルキルエステルを容易に、かつ経済的な方法で 1 段階の方法において高い化学的および光学的収率 (理論的に化学的および光学的収率 100%) で得ることが可能である。

【 0 0 1 9 】

本発明の対象は、(R) - または (S) - リポ酸を自体公知の方法で製造するための、本発明による方法で得られるエナンチオマー純粋なオクタン酸アルキルエステルの使用でもある。通常、公知の方法ではクロロヒドロキシオクタン酸アルキルエステルを相応するジクロロオクタン酸アルキルエステルへと変換する。公知のリポ酸構造は別の反応工程で硫黄の導入により得られる。

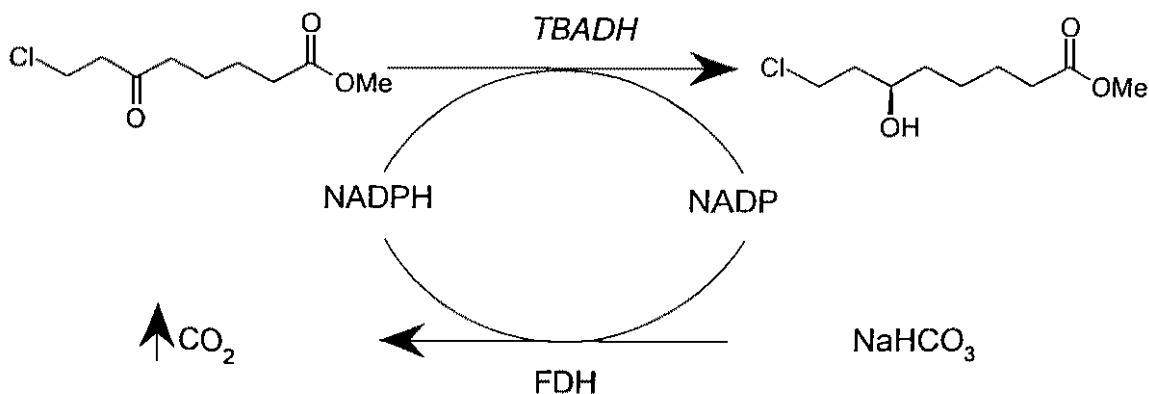
20

【 0 0 2 0 】

本発明に相応する 8 - クロロ - 6 - ヒドロキシ - オクタン酸アルキルエステルのエナンチオ選択的な製造のための例として、以下の図式においてエナンチオマー純粋な (R) - 8 - クロロ - 6 - ヒドロキシ - オクタン酸メチルエステルの製造を示す。

【 0 0 2 1 】

【 化 2 】



30

40

【 0 0 2 2 】

同様にして、生物触媒としてたとえばラクトバチラス・ブレビスのアルコールデヒドロゲナーゼを使用することにより (S) - 8 - クロロ - 6 - ヒドロキシ - オクタン酸アルキルエステルが得られる。(+) - および (-) - 8 - クロロ - 6 - ヒドロキシ - オクタン酸アルキルエステルから出発する (+) - および (-) - リポ酸の合成は、公知の方法に相応して実施することができる。本発明を以下の実施例により詳細に説明する。

【 0 0 2 3 】

例 1

8 - クロロ - 6 - オキソ - オクタン酸メチルエステル (基質) 100 mg (0.5 mmol) を、D T T 0.1 mM および N A D P 0.5 mM を含有する T R I S - 緩衝液 (p

50

H 7) 5 0 m l (5 0 m M) 中 に 溶 解 し て 、 そ の つ ど T B A D H お よ び F D H (N A P D 依 存 性) を 2 U / m g (基 質) 添 加 し 、 か つ 3 7 で 攪 拌 し た 。 標 準 法 に よ る 後 処 理 に よ り エ ナ ン チ オ マ ー 純 粋 (e e > 9 9 . 5 %) な (R) - 8 - ク ロ ロ - 6 - ヒ ド ロ キ シ オ ク タ ン 酸 メ チ ル エ ス テ ル (生 成 物) が 得 ら れ た 。

【国際公開パンフレット】

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
1. Mai 2003 (01.05.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/035885 A1

(51) Internationale Patentklassifikation: C12P 7/42, 7/62,
C07C 59/115, C12P 1/00, C07D 339/04

SAUER, Wolfgang (DE/DE); Platzenstrasse 39, 01129
Dresden (DE); LABAN, Gunter (DE/DE); Neulussheimer
Strasse 41, 01465 Dresden-Langebrück (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/11470

(74) Anwalt: WIBBELMANN, Jobst; Wuesthoff &
Wuesthoff, Schweigerstrasse 2, 81541 München (DE).

(22) Internationales Anmeldedatum:
14. Oktober 2002 (14.10.2002)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, GR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
101 52 113.8 23. Oktober 2001 (23.10.2001) DE

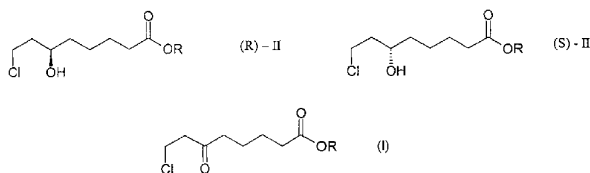
(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): VIATRIS GMBH & CO. KG (DE/DE); Weismüller-
strasse 45, 60314 Frankfurt am Main (DE).

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GI,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT,
SE, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR THE PRODUCTION OF (R)- AND (S)-8-CHLORO-6-HYDROXY-OCTANIC ACID ALKYL ES-
TERS BY ENZYMATIC REDUCTION

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON (R)- UND (S)-8-CHLOR-6-HYDROXY-OCTANSÄUREALKYL-
ESTERN DURCH ENZYMATISCHE REDUKTION



(57) Abstract: The invention relates to a method for the production of (R)- or (S)-8-chloro-6-hydroxy-octanoic acid alkyl esters of general formula (R)-II or (S)-II, wherein R is C₁₋₄-alkyl, from 8-chloro-6-oxo-octanoic acid alkyl esters of general formula (I), wherein R has the meaning cited above, by enzymatic reduction by means of alcohol dehydrogenases, such as *Lactobacillus brevis* or *Thermoanaerobium brockii*, in the presence of co-factor regeneration systems. The (R)- or (S)-8-chloro-6-hydroxy-octanoic acid esters thus obtained can be reacted in a manner known per se to form (R)-α-liponic acid or (S)-α-liponic acid.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von (R)- bzw. (S)-8-Chlor-6-hydroxy-octansäurealkylestern der allgemeinen Formel (R)-II oder (S)-II, worin R die Bedeutung C₁₋₄-Alkyl hat, aus 8-Chlor-6-oxo-octansäurealkylestern der allgemeinen Formel (I), worin R die obige Bedeutung hat, durch enzymatische Reduktion mittels Alkoholdehydrogenasen, wie *Lactobacillus brevis* oder *Thermoanaerobium brockii*, in Gegenwart von Cofaktorregenerierungssystemen. Die erhaltenen (R)- bzw. (S)-8-Chlor-6-hydroxy-octansäureester können in bekannter Weise zu (R)-α-Liponsäure bzw. (S)-α-Liponsäure umgesetzt werden.



WO 03/035885 A1

WO 03/035885 A1 **Veröffentlicht:**

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

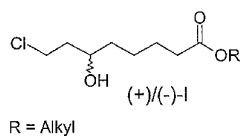
WO 03/035885

PCT/EP02/11470

- 1 -

**Verfahren zur Herstellung von (R)- und (S)-8-Chlor-6-hydroxy-octansäurealkylestern
durch enzymatische Reduktion**

- 5 Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von (R)- und (S)-8-Chlor-6-hydroxy-octansäurealkylestern der Formel I durch enzymatische Reduktion einer geeigneten prochiralen Ketoverbindung.



- 10 Die Synthese der α -Liponsäure im technischen Maßstab erfolgt ausgehend von 8-Chlor-6-oxo-octansäurealkylestern, welche durch NaBH_4 -Reduktion in 8-Chlor-6-hydroxy-octansäurealkylester überführt werden (Lit.: Kleemann und Engel, Pharmaceutical Substances, 3rd Ed., Thieme, 1999, S. 1860). Durch eine nachfolgende dreistufige Synthesesequenz wird die racemische α -Liponsäure in hoher Gesamtausbeute erhalten. Neben der Synthese von racemischer α -Liponsäure ist auch die Synthese der reinen Enantiomere zum gezielten pharmazeuti-
- 15 schen Einsatz von großer Wichtigkeit (siehe dazu z.B. EP 04 27 247). Es bietet sich an, die Synthese der reinen Enantiomere analog dem etablierten wirtschaftlichen Syntheseverfahren des racemischen Wirkstoffes durchzuführen. Entsprechend wurden verschiedene Methoden zur Darstellung der enantiomerenreinen Zwischenstufen entwickelt, siehe unter anderem DE-
- 20 A-19533882. Enantioselektive Reduktionen prochiraler Ketonverbindungen zu chiralen sekundären Alkoholen, welche als Zwischenstufen in alternativen Syntheserouten zu enantiomerenreinen α -Liponsäuren führen, finden sich in DE-A-197 09 069. Bei allen Verfahren werden vielstufige Synthesesequenzen durchlaufen, die teilweise mit aufwendigen Reinigungsoperationen verbunden sind oder aber auf Racematspaltung (DE 4137773) basieren,
- 25 wodurch - ohne Rückführung durch Racemisierung oder Inversion - die maximale Ausbeute eines Enantiomers 50% beträgt. Die niedrige Gesamtausbeute dieser Verfahren lassen diese als wirtschaftlich unrentabel erscheinen. Keines der beschriebenen Verfahren basiert auf einer

WO 03/035885

PCT/EP02/11470

- 2 -

direkten, einstufigen Darstellung einer enantiomerenreinen Zwischenstufe des etablierten wirtschaftlichen Verfahrens zur Synthese der racemischen α -Liponsäure.

Die Aufgabe der Erfindung bestand also darin, ein Verfahren zur Herstellung bestimmter Zwischenprodukte zur Herstellung der (R)- und (S)- α -Liponsäure und der (R)- und (S)- α -Liponsäure selber anzugeben, das eine Herstellung dieser Verbindungen sowie der Zwischen-

produkte mit hoher Ausbeute und hoher Enantiomerenreinheit möglich macht. Diese Aufgabe wird dadurch gelöst, dass man 8-Chlor-6-oxo-octansäurealkylester enzymatisch mittels Alkoholdehydrogenasen oder Carbonylreduktasen reduziert. Bei dieser Umsetzung erhält man entweder den (R) oder (S)-8-Chlor-6-hydroxy-octansäurealkylester der im Anspruch angegebenen Formel (R)-II oder (S)-II.

Die Erfindung geht auf die Erkenntnis zurück, dass der eingesetzte Ausgangsester in einfacher Weise und sehr wirkungsvoll mittels bekannter Alkoholdehydrogenasen bzw. Carbonylreduktasen reduziert werden kann.

In der Literatur findet man gewisse Hinweise, dass sich Dehydrogenasen zur Synthese von chiralen Verbindungen eignen könnten (siehe unter anderem Kragl und Kula, in *Stereoselective Biotransformations*, Herausgeber R. Patel, Marcel Dekker, 2000, Seiten 839-866.) Die allgemeinen Aussagen dieser und ähnlicher Literaturstellen lassen sich aber nicht auf komplexe Ausgangsverbindungen übertragen. Ein Fachmann befürchtet hier regelmäßige Nebenreaktionen sowie eine verminderte Enantioselektivität. So konnte in der Literatur nur ein Beispiel für die biokatalytische Reduktion eines Chlorethylketons gefunden werden (Mele et al., *J. Org. Chem.* 1991, 56, 6019). Hierbei wird durch Ganzzellbiotransformation (*Saccharomyces cerevisiae*) ein Chlorethyl-aryl-ke-ton zum chiralen sekundären Alkohol reduziert. Die Reduktion verläuft weder hoch chemo- noch hoch enantioselektiv. Bei der Reduktion von Chlorethylketonen mit Biokatalysatoren, die wie im Fall von Verbindungen der Formel I einen zweiten sperrigen Substituenten besitzen, ist aufgrund des hohen Raumanspruches der Substituenten eine Vorhersage, ob ein bestimmter Biokatalysator eine solche Verbindung als Substrat akzeptiert, nicht möglich.

Aus *J. Org. Chem.* 66, 8682-84 (2001) geht hervor, dass man ein 8-Chlor-3-hydroxy-octansäurealkylester durch Reduktion aus dem entsprechenden Keton mit gereinigter Carbonylreduktase und ganzen Zellen erhalten kann. Die EP 0 939 132 A1 offenbart eine enzymatische Reduktion von 4-Halogen-3-ketobuttersäureestern. In *J. Org. Chem.* 63, 1102-08 (1998) wird die Reduktion von 3-Chlor-4-keto-octansäureethylestern beschrieben. Aus EP 0 487 986

WO 03/035885

PCT/EP02/11470

- 3 -

A2 ist bekannt (3S)-3-Hydroxyoctandisäurediester zur Herstellung von Liponsäure durch Reduktion mit Bäckerhefe zu erhalten.

Überraschenderweise zeigen verschiedene Alkoholdehydrogenasen und Carbonylreduktasen eine hohe Akzeptanz bezüglich der Verbindungen der Formel I als Substrat (analytischer Assay), welche auch in präparativen Umsetzungen bestätigt werden konnte.

Die Erfindung wird in Anspruch 1 und weiteren abhängigen Ansprüchen genauer angegeben. Bei der erfindungsgemäßen Umsetzung kommen allgemein bekannte Cofaktoren zum Einsatz, wie beispielsweise NAD(H), NADP(H), FADH₂. Vorzugsweise verwendet man NAD(H) oder NADP(H).

Die Konfiguration der erhaltenen 8-Chlor-6-hydroxy-octansäurealkylester wird von dem eingesetzten Enzym bestimmt. So werden durch Reduktion von 8-Chlor-6-oxo-octansäurealkylestern mittels Alkoholdehydrogenase aus *Thermoanaerobium brokii* enantiomerenreine (R)-8-Chlor-6-hydroxy-octansäurealkylester erhalten. Im Falle der Reduktion mittels *Lactobacillus brevis* Alkoholdehydrogenase wird enantioselektiv (S)-8-Chlor-6-hydroxyoctansäurealkylester (ee > 65%) gebildet. Enzyme, welche eine Aktivität mit den Verbindungen der Formel I als Substrat zeigen, sind in nachfolgender Tabelle aufgeführt.

Die Enzyme sind kommerziell erhältlich.

Die Ausgangsverbindungen zur Herstellung der Zwischenprodukte, die prochiralen-8-chlor-6-oxo-octansäurealkylester können auf bekanntem Wege gewonnen werden (L.J.Reed et al., J. Am. Chem. Soc. 1955, 774, 416).

Y-ADH	Hefe-Alkoholdehydrogenase
HL-ADH	Pferdeleber-ADH
READH	<i>Rhodococcus erythropolis</i> -ADH
CPCR	<i>Candida parapsilosis</i> -Carbonylreduktase
CBADH	<i>Candida boidinii</i> -ADH
LKADH	<i>Lactobacillus kefir</i> -ADH
LBADH	<i>Lactobacillus brevis</i> -ADH
TBADH	<i>Thermoanaerobium brokii</i> -ADH
TEA	Triethanolamin
Tris	Trishydroxymethylaminomethan

WO 03/035885

PCT/EP02/11470

- 4 -

Kpi Gemisch Monokalium- und Dikaliumphosphat
 DTT Dithiothreitol

Enzym	Cofaktor	Puffer	Cosubstrat/ Coenzym	Aktivität/ (Umsatz)	Standard
Y-ADH	NAD(H)	100 mM TEA, pH 7.0		20%	2-Butanon
HL-ADH	NAD(H)	100 mM TEA, 1 mM MgCl ₂ , pH 7.0		< 1%	Acetessigsäure- methylester
READH	NAD(H)	100 mM Glycyl- glycin, pH 6.5		2%	Acetessigsäure- methylester
CBADH	NAD(H)	50 mM Kpi, pH 6.5	(30°C)	60%	Aceton
CPCR	NAD(H)	100 mM TEA, pH 7.8	(HCO ₂ Na, FDH)	60%	Acetessigsäure- methylester
LKADH	NADP(H)	50 mM Kpi, 0.1 mM MgCl ₂ , pH 7.0	iso-Propanol 200 mM	10% (36%)	Acetophenon
LBADH	NADP(H)	50 mM Kpi, 1 mM MgCl ₂ , pH 6.5	iso-Propanol 200 mM	6% (> 25%)	Acetessigsäu- remethylester
TBADH	NADP(H)	50mM Tris, 1mM DTT, pH 7.8	HCO ₂ Na, FDH (37°C)	6% (> 85%)	2-Butanon

5

Für präparative Umsetzungen erweist es sich als vorteilhaft ein Cofaktorregenerierungssystem in die enzymatische Biotransformation einzubeziehen. Als besonders vorteilhaft erweisen sich Cofaktorregenerierungssysteme, welche eine Gleichgewichtsverschiebung der Hauptreaktion bewirken. So kann beispielsweise im Fall von Reduktionen mit *Lactobacillus brevis* Alkoholdehydrogenase vorteilhaft eine substratgekoppelte Cofaktorregenerierung in Gegenwart eines Überschusses eines sekundären Alkohols (z.B. 2-Propanol) erfolgen. Alternativ können

10

WO 03/035885

PCT/EP02/11470

- 5 -

enzymgekoppelte Cofaktorregenerierungssysteme (z.B. Formiatdehydrogenase (FDH)/Formiat) eingesetzt werden, die dazu genutzt werden können, NAD(P) zu NAD(P)H zu reduzieren. Das entstehende CO₂ aus der Oxidation des Cosubstrates Natrium-Formiat entweicht als Gas und wird so dem Gleichgewicht entzogen. Es sind sowohl NAD- als auch NADP-abhängige Formiatdehydrogenasen in der Literatur beschrieben und kommerziell erhältlich.

Die absolute Konfiguration der optischen Isomere der 8-Chlor-6-hydroxy-octansäurealkylester der Formel I wurde mittels Vergleich der Vorzeichen der spezifischen optischen Drehwerte mit Literaturdaten (Gewald et al., DE 195 33 881) bestimmt. Weiterhin wurden die relativen Gehalte der optischen Isomere der 8-Chlor-6-hydroxy-octansäurealkylester der Formel I durch GC an Säulen mit chiraler Phase mit einer Nachweisgrenze von < 0.5% ermittelt.

Die vorliegende Erfindung ermöglicht es, die (R)- und (S)-8-Chlor-6-hydroxy-octansäurealkylester der Formel I auf einfache und wirtschaftliche Weise in hoher chemischer und optischer Ausbeute (theoretisch 100% chemische und optische Ausbeute) in einem einstufigen Verfahren zugänglich zu machen.

Gegenstand der Erfindung ist auch die Verwendung der in dem erfindungsgemäßen Verfahren erhaltenen enantiomerenreinen Octansäurealkylester zur Herstellung von (R)- oder (S)- α -Liponsäure in an sich bekannter Weise. Üblicherweise werden in den bekannten Verfahren die Chlorhydroxyoctansäurealkylester in die korrespondierenden Dichloroctansäurealkylester umgewandelt. Die bekannte Liponsäurestruktur erhält man dann in einem weiteren Reaktionsschritt durch Schwefeleinführung.

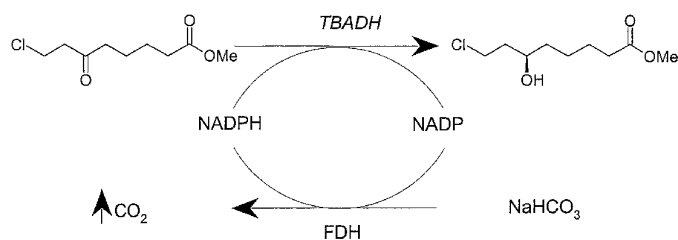
Als Beispiel für die enantioselektive Herstellung eines 8-Chlor-6-hydroxy-octansäurealkylesters entsprechend der vorliegenden Erfindung wird im folgendem Schema die Herstellung des enantiomerenreinen (R)-8-Chlor-6-hydroxy-octansäuremethylesters gezeigt.

25

WO 03/035885

PCT/EP02/11470

- 6 -



5 In analoger Weise sind (*S*)-8-Chlor-6-hydroxy-octansäurealkylester zugänglich, indem als Biokatalysator beispielsweise *Lactobacillus brevis* Alkoholdehydrogenase eingesetzt wird. Die Synthese von (+)- und (-)- α -Liponsäuren ausgehend von (+)- und (-)-8-Chlor-6-hydroxy-octansäurealkylestern kann entsprechend den bekannten Verfahren durchgeführt werden. Die Erfindung wird durch nachfolgendes Beispiel näher erläutert.

10

Beispiel 1

15

100 mg (0.5 mmol) 8-Chlor-6-oxo-octansäuremethylester (Substrat), gelöst in 50 ml 50 mM TRIS-Puffer pH 7, enthaltend 0.1 mM DTT und 0.5 mM NADP, werden mit jeweils 2 U / mg(Substrat) TBADH und FDH (NADP-abhängig) versetzt und bei 37°C gerührt. Aufarbeitung nach Standardmethoden liefert enantiomerenreinen (ee > 99.5%) (*R*)-8-Chlor-6-hydroxy-octansäuremethylester (Produkt).

20

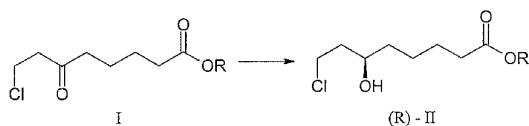
WO 03/035885

PCT/EP02/11470

- 7 -

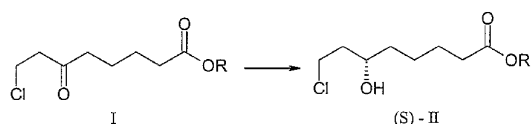
Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von (R)-8-Chlor-6-hydroxy-octansäurealkylestern der Formel (R)-II,



- 10 worin R jeweils die Bedeutung C₁₋₄-Alkyl hat, dadurch gekennzeichnet, dass man 8-Chlor-6-oxo-octansäurealkylester der Formel I enzymatisch mittels Alkoholdehydrogenasen oder Carbonylreduktasen in Gegenwart eines Cofaktors reduziert.

- 15 2. Verfahren zur Herstellung von (S)-8-Chlor-6-hydroxy-octansäurealkylestern der Formel (S)-II,



- 20 worin R jeweils die Bedeutung C₁₋₄-Alkyl hat, dadurch gekennzeichnet, dass man 8-Chlor-6-oxo-octansäurealkylester der Formel I enzymatisch mittels Alkoholdehydrogenasen oder Carbonylreduktasen in Gegenwart eines Cofaktors reduziert.

- 25 3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Alkoholdehydrogenase aus *Thermoanaerobium brokii* einsetzt.
- 30 4. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Alkoholdehydrogenase aus *Lactobacillus brevis* einsetzt.
- 35 5. Verfahren nach den Ansprüchen 1-4, dadurch gekennzeichnet, dass man ein Cofaktorgenerierungssystem, welches eine Gleichgewichtsverschiebung der Reduktion bewirkt, in die enzymatische Reduktion einbezieht.
- 40 6. Verfahren zur Herstellung der (R) oder (S)- α -Liponsäure, dadurch gekennzeichnet, dass ein nach einem der vorstehenden Verfahren erhaltener (R)- oder (S)-8-Chlor-6-hydroxy-octansäurealkylester in an sich bekannter Weise umgesetzt wird.

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		In ternational Application No PCT/EP 02/11470
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C12P7/42 C12P7/62 C07C59/115 C12P1/00 C07D339/04		
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 7 C12P C07C C07D		
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 practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X, P	WO 02 10422 A (ASTA MEDICA AG) 7 February 2002 (2002-02-07) the whole document	1, 2, 5, 6 3, 4
A	---	
Y	FRONZA ET AL.: "On the Mode of Bakers' Yeast Transformation of 3-Chloropropiophenone and Related Ketones." J. ORG. CHEM., vol. 56, 1991, pages 6019-6023, XP00228458 cited in the application	1, 2, 5
A	the whole document --- -/--	3, 4
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in 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 document 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 "S" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 23 January 2003		Date of mailing of the international search report 06/02/2003
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5616 Palantian 2 NL - 2200 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx: 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Douschan, K

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		Int. l. Application No. PCT/EP 02/11470
G ₁ (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	TSUBOI ET AL.: "Highly Enantioselective Synthesis of Both Enantiomers of gamma-Substituted Butenolides by Bakers' Yeast Reduction and Lipase-Catalyzed Hydrolysis." J. ORG. CHEM., vol. 63, 1998, pages 1102-1108, XP002228459 cited in the application the whole document	1,2,5 3,4
A	EP 0 939 132 A (DAICEL CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) 1 September 1999 (1999-09-01) cited in the application the whole document	1,2,5 3,4
Y	EMA ET AL.: "High Enantioselectivity and Broad Substrate Specificity of a Carbonyl Reductase." J. ORG. CHEM., vol. 66, 2001, pages 8682-8684, XP002228460 cited in the application the whole document	1,2,5 3,4
X	DE 195 33 882 A (ARZNEIMITTELWERK DRESDEN GMBH) 20 March 1997 (1997-03-20) cited in the application the whole document	6 6
X	KLEEMANN UND ENGEL: "Pharmaceutical Substances" 1999, THIEME VERLAG XP001121918 cited in the application page 1860 -page 1861	6 6

Form PCT/ISA210 (continuation of second sheet) (July 1999)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No.
PCT/EP 02/11470

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
WO 0210422	A	07-02-2002	DE	10056025 A1	07-02-2002
			AU	8200201 A	13-02-2002
			WO	0210422 A1	07-02-2002
EP 0939132	A	01-09-1999	JP	11239478 A	07-09-1999
			EP	0939132 A1	01-09-1999
			US	6168935 B1	02-01-2001
DE 19533882	A	20-03-1997	DE	19533882 A1	20-03-1997
			AT	202332 T	15-07-2001
			DE	59607119 D1	26-07-2001
			DK	763516 T3	17-09-2001
			EP	0763516 A1	19-03-1997
			ES	2159665 T3	16-10-2001
			GR	3036631 T3	31-12-2001
			JP	9169692 A	30-06-1997
			PT	763516 T	30-11-2001
			RU	2175965 C2	20-11-2001
			US	5869713 A	09-02-1999

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT		Internationales Aktenzeichen PCT/EP 02/11470
A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 7 C12P7/42 C12P7/62 C07C59/115 C12P1/00 C07D339/04		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationsymbole) IPK 7 C12P C07C C07D		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, CHEM ABS Data		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X, P	WO 02 10422 A (ASTA MEDICA AG) 7. Februar 2002 (2002-02-07)	1, 2, 5, 6
A	das ganze Dokument	3, 4
Y	FRONZA ET AL.: "On the Mode of Bakers' Yeast Transformation of 3-Chloropropiophenone and Related Ketones." J. ORG. CHEM., Bd. 56, 1991, Seiten 6019-6023, XP002228458	1, 2, 5
A	in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	3, 4

	--- --	
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam angesehen ist. *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist. *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt). *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benützung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht. *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist. *I* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist. ** Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden. *** Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist. **** Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist.		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 23. Januar 2003		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts 06/02/2003
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2260 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Beauftragter Douschan, K

Formblatt PCT/ISA/210 (Blatt 2) (Juli 1992)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT		Internationales Aktenzeichen PCT/EP 02/11470
C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	TSUBOI ET AL.: "Highly Enantioselective Synthesis of Both Enantiomers of gamma-Substituted Butenolides by Bakers' Yeast Reduction and Lipase-Catalyzed Hydrolysis." J. ORG. CHEM., Bd. 63, 1998, Seiten 1102-1108, XP002228459 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	1,2,5 3,4
A	EP 0 939 132 A (DAICEL CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) 1. September 1999 (1999-09-01) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	1,2,5 3,4
Y	EMA ET AL.: "High Enantioselectivity and Broad Substrate Specificity of a Carbonyl Reductase." J. ORG. CHEM., Bd. 66, 2001, Seiten 8682-8684, XP002228460 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	1,2,5 3,4
X	DE 195 33 882 A (ARZNEIMITTELWERK DRESDEN GMBH) 20. März 1997 (1997-03-20) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	6
X	KLEEMANN UND ENGEL: "Pharmaceutical Substances" 1999, THIEME VERLAG XP001121918 in der Anmeldung erwähnt Seite 1860 -Seite 1861	6

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT				Internationales Abkürzungen PCT/EP 02/11470	
Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 0210422	A	07-02-2002	DE 10056025 A1		07-02-2002
			AU 8200201 A		13-02-2002
			WO 0210422 A1		07-02-2002
EP 0939132	A	01-09-1999	JP 11239478 A		07-09-1999
			EP 0939132 A1		01-09-1999
			US 6168935 B1		02-01-2001
DE 19533882	A	20-03-1997	DE 19533882 A1		20-03-1997
			AT 202332 T		15-07-2001
			DE 59607119 D1		26-07-2001
			DK 763516 T3		17-09-2001
			EP 0763516 A1		19-03-1997
			ES 2159665 T3		16-10-2001
			GR 3036631 T3		31-12-2001
			JP 9169692 A		30-06-1997
			PT 763516 T		30-11-2001
			RU 2175965 C2		20-11-2001
			US 5869713 A		09-02-1999

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
(C 1 2 P 7/62	C 1 2 P 7/62	
C 1 2 R 1:24)	C 1 2 R 1:24	
(C 1 2 P 17/00	C 1 2 P 17/00	
C 1 2 R 1:01)	C 1 2 R 1:01	
(C 1 2 P 17/00	C 1 2 P 17/00	
C 1 2 R 1:24)	C 1 2 R 1:24	

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW, ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES, FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,N O,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100099483
弁理士 久野 琢也

(74)代理人 100114890
弁理士 アインゼル・フェリックス＝ラインハルト

(74)代理人 230100044
弁護士 ラインハルト・アインゼル

(72)発明者 ミヒャエル ミュラー
ドイツ連邦共和国 ユーリッヒ プファラー - エンゲルスシュトラッセ 9 アー

(72)発明者 ヴォルフガング ザウアー
ドイツ連邦共和国 ドレスデン プラターネンシュトラッセ 3 9

(72)発明者 グンター ラーバン
ドイツ連邦共和国 ドレスデン - ランゲブリュック ノイルスハイマー シュトラッセ 4 1

F ターム(参考) 4B064 AD75 AE43 CA21 CB18 CC03 CD15
4C023 MA03