



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111065270 A

(43)申请公布日 2020.04.24

(21)申请号 201880055067.1

J·纳尔逊 P·安德烈斯

(22)申请日 2018.07.17

(74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

(30)优先权数据

62/533,944 2017.07.18 US

62/653,736 2018.04.06 US

代理人 王贵杰

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2020.02.25

(51)Int.Cl.

A01N 57/20(2006.01)

B01D 15/36(2006.01)

G01N 23/207(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/042503 2018.07.17

(87)PCT国际申请的公布数据

W02019/018406 EN 2019.01.24

(71)申请人 阿格里麦蒂斯有限责任公司

地址 美国马里兰

(72)发明人 S·C·菲德斯 M·R·奥贝霍尔泽

B·M·格林 S·库尔卡尼

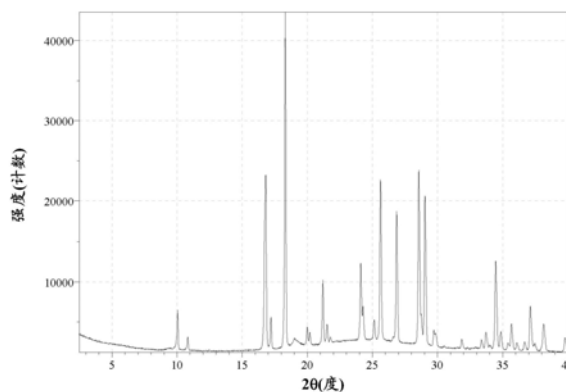
权利要求书3页 说明书36页 附图8页

(54)发明名称

L-草胺磷的生产方法

(57)摘要

提供了用于从包含L-草胺磷和谷氨酸的组合物中分离L-草胺磷的组合物和方法。该方法包括将谷氨酸转化为焦谷氨酸,然后将L-草胺磷与组合物的焦谷氨酸和其它组分分离,以得到基本上纯化的L-草胺磷。使包含L-草胺磷和谷氨酸的组合物经受升高的温度足够的时间以将谷氨酸转化为焦谷氨酸,然后将L-草胺磷与组合物的焦谷氨酸和其它组分分离,以得到基本上纯化的L-草胺磷。可替代地,可以通过酶促转化将谷氨酸转化为焦谷氨酸。纯化的L-草胺磷在最终组合物中以占L-草胺磷、谷氨酸和焦谷氨酸总和的90%或更高的浓度存在。在一些实施方案中,可以使用结晶步骤将起始组合物中的一部分谷氨酸与L-草胺磷分离。还描述了L-草胺磷材料的固体形式,包括结晶L-草胺磷。



1. 用于从包含L-草胺磷和谷氨酸的组合物中纯化L-草胺磷的方法,通过将大量的谷氨酸转化为焦谷氨酸以促进L-草胺磷的分离来进行,该方法包括:

使包含L-草胺磷和谷氨酸的L-草胺磷组合物在升高的温度下反应足够的时间期限,以将大部分谷氨酸转化为焦谷氨酸;和

将L-草胺磷与组合物的焦谷氨酸和其它组分分离,以得到基本上纯化的L-草胺磷(占L-草胺磷、谷氨酸和焦谷氨酸总和的90%或更高)的组合物。

2. 权利要求1的方法,其中首先通过结晶和过滤将组合物中一部分初始的谷氨酸与L-草胺磷分离,然后将组合物中的谷氨酸转化为焦谷氨酸。

3. 权利要求2的方法,其中使分离的谷氨酸再循环至酶促反应,用于使用D-氨基酸氧化酶和转氨酶和谷氨酸将D-草胺磷转化为L-草胺磷。

4. 权利要求1的方法,其中使用离子交换将L-草胺磷与焦谷氨酸分离。

5. 权利要求1的方法,其中所述升高的温度包括120℃至180℃的温度。

6. 权利要求1的方法,其中所述足够的时间期限包括至少2小时。

7. 权利要求6的方法,其中所述足够的时间期限包括2小时-18小时。

8. 用于从包含谷氨酸的组合物中纯化L-草胺磷的方法,包括将过量的谷氨酸转化为焦谷氨酸以促进L-草胺磷的分离,该方法包括:

使包含L-草胺磷和谷氨酸的L-草胺磷组合物在谷氨酰胺酰基-肽环化转移酶存在下反应足够的时间期限,以将大部分谷氨酸转化为焦谷氨酸;和

将L-草胺磷与组合物的焦谷氨酸和其它组分分离,以得到基本上纯化的L-草胺磷(占L-草胺磷、谷氨酸和焦谷氨酸总和的90%或更高)的组合物。

9. 权利要求8的方法,其中所述足够的时间期限包括至少2小时。

10. 权利要求9的方法,其中所述足够的时间期限包括2小时-18小时。

11. 权利要求8的方法,其中使用离子交换将L-草胺磷与焦谷氨酸分离。

12. 用于从制备L-草胺磷的方法中纯化作为副产物的2-氧代戊二酸的方法,包括:

使用来自谷氨酸的胺基,通过转氨酶(TA)将PPO胺化为L-草胺磷;

通过离子交换将2-氧代戊二酸从组合物中分离,以得到基本上纯化的2-氧代戊二酸的组合物;和

使基本上纯化的2-氧代戊二酸与过氧化氢接触,以得到基本上纯化的琥珀酸的组合物。

13. 权利要求1或8的方法,其中首先通过结晶和过滤将组合物中一部分初始的谷氨酸与L-草胺磷分离,然后将谷氨酸转化为焦谷氨酸。

14. 权利要求1或8的方法,其中添加酸以导致谷氨酸结晶。

15. 权利要求14的方法,其中所述酸选自硫酸、盐酸、磷酸、甲酸和乙酸。

16. 权利要求14的方法,其中在添加所述酸之前、期间或之后将组合物加热至升高的温度。

17. 权利要求16的方法,其中所述酸选自硫酸、盐酸和磷酸。

18. 权利要求16的方法,其中将pH调节至约pH 3至约pH 4。

19. 用于从包含L-草胺磷和谷氨酸的组合物中纯化L-草胺磷的方法,通过将谷氨酸转化为焦谷氨酸以促进L-草胺磷的分离来进行,该方法包括:

添加硫酸,以使组合物达到pH 3.7,从而使谷氨酸结晶,并将固体谷氨酸从组合物中除去;

使组合物在升高的温度下反应足够的时间期限,以将大部分剩余的谷氨酸转化为焦谷氨酸;

减少组合物的体积;

添加氢氧化钠,直至组合物的pH为pH 6至pH 7;

将组合物冷却到5℃至混合物的凝固点(大约-10至-20℃)的温度,在此期间硫酸钠沉淀;

将硫酸钠晶体从组合物中过滤;

使组合物与离子交换树脂接触以除去焦谷氨酸,并得到基本上纯化的L-草胺磷的组合物;和

减少所述基本上纯化的L-草胺磷的组合物的体积。

20. 权利要求19的方法,其中将所述基本上纯化的L-草胺磷的组合物的体积减少至得到固体。

21. 权利要求19的方法,其中将所述基本上纯化的L-草胺磷的组合物的体积浓缩至适用于除草剂制剂的量。

22. 权利要求19的方法,其中通过过滤或离心从组合物中除去所述固体谷氨酸。

23. 权利要求19的方法,其中通过真空蒸馏、膜分离、蒸发、薄膜蒸发或刮膜蒸发来减少组合物的体积。

24. 权利要求19的方法,其中通过过滤或离心从组合物中过滤所述硫酸钠晶体。

25. 权利要求4、权利要求11或权利要求19的方法,还包括将使用离子交换分离的L-草胺磷与甲醇接触以沉淀无机盐。

26. L-草胺磷形式A,其特征在于X-射线粉末衍射(XRPD)图案,所述XRPD图案包含至少3个峰,其选自10.1,10.8,16.8,17.2,18.3,20.0,20.2,21.2,21.5,24.1,24.3,25.1,25.6,26.9,28.6,29.0,29.7,29.9,31.9,33.4,33.7,34.5,34.9,35.4,35.7,36.1,36.7,37.1,37.5,38.2和39.8°2θ,±0.2°2θ,如在使用Cu-Kα射线的衍射仪上所测定的。

27. 权利要求26的L-草胺磷形式A,其中所述XRPD图案包含至少6个峰,其选自10.1,16.8,18.3,21.2,24.1,24.3,25.6,26.9,28.6,29.0和34.5°2θ,±0.2°2θ。

28. 权利要求26的L-草胺磷形式A,其中所述XRPD图案包含至少10个峰,其选自10.1,16.8,18.3,21.2,24.1,24.3,25.6,26.9,28.6,29.0和34.5°2θ,±0.2°2θ。

29. 权利要求26的L-草胺磷形式A,其中所述XRPD图案基本上与图1一致。

30. L-草胺磷形式B,其特征在于X-射线粉末衍射(XRPD)图案,所述XRPD图案包含至少3个峰,其选自10.0,11.4,12.5,16.5,17.4,18.1,19.6,20.0,21.8,22.9,23.6,24.0,25.1,25.5,26.1,26.3,26.4,27.9,28.2,28.4,28.7,29.2,30.2,30.9,31.6,31.7,32.7,33.0,33.3,34.3,35.2,36.7,37.2,37.4,37.8,38.3,38.7和39.3°2θ,±0.2°2θ,如在使用Cu-Kα射线的衍射仪上所测定的。

31. 权利要求30的L-草胺磷形式B,其中所述XRPD图案包含至少6个峰,其选自10.0,12.5,16.5,17.4,18.1,19.6,20.0,21.8,22.9,23.6,24.0,25.5,26.3,26.4,29.2,34.3,35.2和37.4°2θ,±0.2°2θ。

32. 权利要求30的L-草胺磷形式B,其中所述XRPD图案包含至少10个峰,其选自10.0, 12.5, 16.5, 17.4, 18.1, 19.6, 20.0, 21.8, 22.9, 23.6, 24.0, 25.5, 26.3, 26.4, 29.2, 34.3, 35.2和 $37.4^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$ 。

33. 权利要求30的L-草胺磷形式B,其中所述XRPD图案基本上与图3一致。

34. L-草胺磷形式C,其特征在于X-射线粉末衍射(XRPD)图案,所述XRPD图案包含至少3个峰,其选自9.1, 10.9, 16.1, 16.8, 17.3, 18.3, 20.1, 21.4, 21.8, 22.4, 22.7, 24.1, 24.9, 25.4, 25.6, 26.1, 26.6, 27.7, 28.3, 28.9, 30.8, 31.9, 32.6, 33.6, 33.9, 35.1, 36.6, 37.1, 37.5, 38.3, 38.9和 $39.7^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$,如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。

35. 权利要求34的L-草胺磷形式C,其中所述XRPD图案包含至少6个峰,其选自9.1, 16.1, 16.8, 17.3, 21.8, 24.1, 24.9, 25.6, 26.1, 28.3和 $28.9^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$ 。

36. 权利要求34的L-草胺磷形式C,其中所述XRPD图案包含至少10个峰,其选自9.1, 16.1, 16.8, 17.3, 21.8, 24.1, 24.9, 25.6, 26.1, 28.3和 $28.9^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$ 。

37. 权利要求34的L-草胺磷形式C,其中所述XRPD图案基本上与图5一致。

38. L-草胺磷形式D,其特征在于X-射线粉末衍射(XRPD)图案,所述XRPD图案包含至少3个峰,其选自9.1, 11.6, 13.1, 14.1, 14.4, 16.2, 17.7, 18.2, 18.9, 19.3, 19.7, 21.2, 21.8, 22.4, 23.2, 23.5, 25.3, 25.8, 26.2, 27.2, 28.6, 29.1, 30.0, 30.6, 31.1, 31.6, 32.7, 33.5, 34.4, 34.7, 35.4, 35.9, 36.4和 $37.4^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$,如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。

39. 权利要求38的L-草胺磷形式D,其中所述XRPD图案包含至少6个峰,其选自9.1, 17.7, 18.2, 18.9, 22.4, 23.2, 23.5, 26.2, 33.5和 $36.4^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$ 。

40. 权利要求38的L-草胺磷形式D,其中所述XRPD图案包含在9.1, 17.7, 18.2, 18.9, 22.4, 23.2, 23.5, 26.2, 33.5和 $36.4^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$ 的峰。

41. 权利要求38的L-草胺磷形式D,其中所述XRPD图案基本上与图7一致。

42. L-草胺磷盐酸盐形式E,其特征在于X-射线粉末衍射(XRPD)图案,所述XRPD图案包含至少3个峰,其选自13.1, 16.8, 18.2, 19.4, 20.5, 20.9, 21.4, 22.5, 23.4, 25.3, 26.2, 26.5, 26.9, 27.8, 28.1, 30.2, 31.2, 31.5, 32.3, 33.8, 34.4, 35.3, 35.7, 36.3, 36.9, 37.8, 38.2, 38.8和 $39.4^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$,如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。

43. 权利要求42的L-草胺磷盐酸盐形式E,其中所述XRPD图案包含至少6个峰,其选自16.8, 18.2, 20.5, 21.4, 22.5, 22.9, 23.4, 25.3, 30.2和 $31.2^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$ 。

44. 权利要求42的L-草胺磷盐酸盐形式E,其中所述XRPD图案包含至少10个峰,其选自16.8, 18.2, 20.5, 21.4, 22.5, 22.9, 23.4, 25.3, 30.2和 $31.2^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$ 。

45. 权利要求42的L-草胺磷盐酸盐形式E,其中所述XRPD图案基本上与图9一致。

46. 固体L-草胺磷,其为X-射线无定形的。

L-草胺磷的生产方法

相关申请的交叉引用

本申请要求2017年7月18日提交的美国临时专利申请No.62/533,944和2018年4月6日提交的美国临时申请No.62/653,736的优先权,这些申请通过引用整体并入本文。

领域

本文描述了用于纯化L-草胺磷(L-glufosinate)的方法。

背景

从毒理学或环境的观点来看,除草剂草胺磷是一种非选择性的叶面应用的除草剂,其被视为最安全的除草剂之一。目前商业上用于草胺磷的化学合成方法产生了L-和D-草胺磷的外消旋混合物(Duke et al.2010Toxins 2:1943-1962)。然而,L-草胺磷(也称作草丁膦或(S)-2-氨基-4-(羟基(甲基)膦酰基)丁酸)的有效性远高于D-草胺磷(Ruhland et al.(2002)Environ.Biosafety Res.1:29-37)。

因此,需要仅产生或主要产生活性L-草胺磷形式的方法。以前,尚无可利用的生成纯L-草胺磷或富含L-草胺磷的D-和L-草胺磷混合物的有效方法。

概述

提供了用于从包含L-草胺磷和谷氨酸(glutamate)的组合物中分离L-草胺磷的组合物和方法。该方法包括将谷氨酸转化为焦谷氨酸(pyroglutamate),然后将L-草胺磷与组合物的焦谷氨酸和其它组分分离,以得到基本上纯化的L-草胺磷。在一个实施方案中,使包含L-草胺磷和谷氨酸的组合物经受升高的温度足够的时间以将谷氨酸转化为焦谷氨酸,然后将L-草胺磷与组合物的焦谷氨酸和其它组分分离,以得到基本上纯化的L-草胺磷。在另一个实施方案中,通过酶促转化将谷氨酸转化为焦谷氨酸,然后通过离子交换从组合物中除去焦谷氨酸,以得到包含基本上纯化的L-草胺磷的组合物。可以减少组合物的体积以得到L-草胺磷的浓缩溶液,或者减少组合物的体积以得到L-草胺磷的固体粉末。在一个实施方案中,纯化的L-草胺磷以占最终组合物中L-草胺磷、谷氨酸和焦谷氨酸总和的70%或更高、80%或更高或90%或更高的浓度存在。在一些实施方案中,在将谷氨酸转化为焦谷氨酸之前,通过结晶步骤将起始组合物中的一部分谷氨酸与L-草胺磷分离。本文还提供了在去除L-草胺磷之后将2-氧代戊二酸(2-oxoglutaric acid)(本文还称为2-氧代戊二酸(2-oxoglutarate))从组合物中分离的方法。例如,可以通过离子交换除去2-氧代戊二酸以得到基本上纯化的2-氧代戊二酸的组合物,然后可以便利地将其转化为基本上纯化的琥珀酸。

本文描述的方法产生基本上纯化的L-草胺磷的组合物。在进一步的实施方案中,所述方法产生基本上纯化的2-氧代戊二酸组合物。还提供了L-草胺磷材料的结晶形式。

附图简述

图1显示使用Cu-K α 射线收集的L-草胺磷(glufosinate ammonium)形式A的XRPD图案。

图2显示通过热重分析(顶部迹线)和差示扫描量热法(底部迹线)收集的L-草胺磷形式A的热数据。

图3显示使用Cu-K α 射线收集的L-草胺磷形式B的XRPD图案。

图4显示通过热重分析(顶部迹线)和差示扫描量热法(底部迹线)收集的L-草胺磷形式B的热数据。

图5显示使用Cu-K α 射线收集的L-草胺磷形式C的XRPD图案。

图6显示通过热重分析(顶部迹线)和差示扫描量热法(底部迹线)收集的L-草胺磷形式C的热数据。

图7显示使用Cu-K α 射线收集的L-草胺磷形式D的XRPD图案。

图8显示通过热重分析(顶部迹线)和差示扫描量热法(底部迹线)收集的L-草胺磷形式D的热数据。

图9显示使用Cu-K α 射线收集的L-草胺磷盐酸盐形式E的XRPD图案。

详细描述

提供了用于生产基本上纯化的L-草胺磷(也称作草丁磷或(S)-2-氨基-4-(羟基(甲基)磷酰基)丁酸)组合物的组合物和方法。2017年2月28日提交的美国专利申请No.15/445,254(“254申请”)涉及用于生产L-草胺磷的组合物和方法,其通过引用并入。该方法涉及将D-草胺磷氧化脱胺化为PP0(2-氧代-4-(羟基(甲基)磷酰基)丁酸),随后使用来自一个或多个胺供体的胺基将PP0特异性胺化为L-草胺磷。通过合并这两个反应,可以在外消旋草胺磷混合物中大幅增加L-草胺磷的比例。因此,“254申请”的方法可以使用外消旋D-/L-草胺磷混合物作为起始混合物,并将无活性的D-形式转化为活性的L-形式。“254申请”的方法产生包含L-草胺磷、PP0和D-草胺磷混合物的组合物,其中L-草胺磷为L-草胺磷、PP0和D-草胺磷混合物中主要的化合物。当谷氨酸或L-谷氨酸用作PP0胺化为L-草胺磷的胺供体时,谷氨酸(是指L-谷氨酸、D-谷氨酸或两者的组合),也称作谷氨酸(是指L-谷氨酸、D-谷氨酸或两者的组合)可以存在于组合物中。

[0017] 在反应后的混合物中从2-氧代戊二酸、PP0和谷氨酸中分离L-草胺磷典型地需要多重操作,因为这些组分的化学结构和化学特性极为类似。L-谷氨酸呈现主要的挑战,因为它相对于L-草胺磷以高浓度存在并且在结构上类似于L-草胺磷。

I. 纯化方法

本文提供了用于从包括L-草胺磷和谷氨酸的组合物中纯化L-草胺磷的方法。该方法包括将谷氨酸转化为焦谷氨酸以促进L-草胺磷的分离。通过使组合物经受升高的温度足够的时间期限,以将大部分谷氨酸转化为焦谷氨酸(其在本文中还可称作焦谷氨酸),可以将谷氨酸转化为焦谷氨酸。参见,例如,PCT 2010/013242,U.S.2003/0018202,Corma et al.(2007) Chem.Rev.107:2411-2502,Purwaha et al.(2014) Anal.Chem.86(12):5633-5637,Dubourg et al.(1956) Bulletin de la Societe Chimique de France 1351-1355,和 Helv.Chim.Acta(1958) 181,全部文献通过引用并入本文。或者,可以通过酶促转化将谷氨酸转化为焦谷氨酸。在使得到的混合物暴露于阳离子交换树脂时,草胺磷(和谷氨酸,如果存在的话)典型地比焦谷氨酸吸收更强烈。在使得到的混合物暴露于阴离子交换树脂时,焦谷氨酸典型地比草胺磷吸收更强烈。

对于谷氨酸非酶促转化为焦谷氨酸,优选酸性pH。如果反应混合物还不是酸性的,则可以使用酸来调节反应混合物的pH。可以用于调节pH的适合的酸包括盐酸,硫酸,三氟乙酸,磷酸,乙酸或具有pKa<5的任何其它材料。参见,例如,DE3920570C2,其通过引用并入本文。可以将pH调节至约0.4至约7的值,约1.0至约6.0的值,约2.0至约5.0的值,或约2.5至约3.5

的值。

如所指出的,可以通过使组合物经历升高的温度足够的时间期限,以将大部分谷氨酸转化为焦谷氨酸。升高的温度可以为至少100℃、至少110℃、至少120℃、至少130℃、至少140℃、至少150℃、至少160℃、至少170℃、至少180℃或至少190℃。典型地,升高的温度可以为约120℃至约180℃。可以使用任何适合将材料的温度增加至如上所述的升高的温度的方法,并且这些方法包括在本文所述的方法内。例如,可以通过在适度压力下在高压釜中加热混合物或组合物来达到升高的温度;使用加热罩,沸腾板,油或硅氧烷浴加热纯的或在高沸点惰性溶剂中加热;在夹套反应器中再循环流体;或本领域技术人员已知的用于施加热量的任何其它方法。这些方法中还包括使用热风枪和明火。

如本文所用,术语组分的“大部分”是指占所述组分重量至少50%的量。例如,术语“大部分”可以指组分的50wt.%或更多、55wt.%或更多、60wt.%或更多、65wt.%或更多、70wt.%或更多、75wt.%或更多、80wt.%或更多、85wt.%或更多、90wt.%或更多、95wt.%或更多或99wt.%或更多。

如本文所用,与特定组分相关的术语“基本上纯的”或“基本上纯化的”是指该组分以占组合物中存在的全部组分总和70%或更高、75%或更高、80%或更高、85%或更高、90%或更高或95%或更高的量存在于组合物中。

将谷氨酸转化为焦谷氨酸允许进行足够的时间期限,以将大部分谷氨酸转化为焦谷氨酸。通常,大部分谷氨酸在约2小时至约20小时(例如约2小时至约15小时)。即升高的温度下的转化时间可以为约2小时或更长、约3小时或更长、约4小时或更长、约5小时或更长、约6小时或更长、约7小时或更长、约8小时或更长、约9小时或更长、约10小时或更长、约11小时或更长、约12小时或更长、约13小时或更长、约14小时或更长、约15小时或更长、约16小时或更长、约17小时或更长、约18小时或更长、约19小时或更长或约20小时。

可以在将谷氨酸转化为焦谷氨酸之前或之后浓缩反应混合物。可以使用本领域技术人员已知的任何浓缩方式,例如蒸馏,包括真空蒸馏,薄膜蒸发,刮膜蒸发,全蒸发,反渗透等。如果需要,可以将浓缩除去的水和其它挥发性物质再循环用于工艺中。任选地,通过从反应混合物中除去水蒸气和其它挥发性物质,可以在将谷氨酸转化为焦谷氨酸的过程中浓缩反应混合物,因为这种操作方式最有效地利用了时间和能量。

谷氨酸转化为焦谷氨酸后,可用吸附剂或其它固体材料处理反应混合物以减少或去除颜色,而不会损失L-草胺磷。适合的吸附剂包括活性炭(也称为活性碳),骨炭等。聚合材料、例如美国专利No.4,950,332中描述的那些(其通过引用并入本文)或其它离子交换树脂在商业化操作中对于反应混合物的脱色特别有用。可以使用本领域技术人员已知的其它处理方法使反应混合物脱色。

在一个实例中,在转化为焦谷氨酸之后,可以将不同量的活性碳添加到相同反应混合物的部分中。在室温下混合大约20分钟后,可以在预洗涤**Celite®**床的顶部过滤活性碳。然后将滤饼用水洗涤,并将滤饼洗涤物与滤液合并。在该实例中,当使用焦谷氨酸作为内标检查滤液相对于未处理样品的L-草胺磷回收时,下表显示了回收和颜色观察结果。

Wt%活性碳	L-草胺磷回收	颜色观察结果
0.25	104%	轻度橙色
0.5	103%	轻度橙色

1.0	98%	轻度橙色
3.0	103%	无颜色
5.0	98%	无颜色

在一个实施方案中,在将谷氨酸转化为焦谷氨酸后,可以将反应混合物冷却至低于20℃的温度。在一个优选的实施方案中,在反应之前使用硫酸将反应混合物调节至约pH 3,然后在将谷氨酸转化为焦谷氨酸之后用氢氧化钠调节至约pH 6,然后冷却至恰好高于该反应混合物凝固点(例如约5℃或以下)的温度。任选地,在冷却之前,如上所述将反应物料浓缩和/或脱色。该方法的优点在于硫酸钠将从反应混合物中沉淀或结晶。可以为无水或水合形式的固体硫酸钠基本上是纯的,并可以通过过滤、离心或任何其它适合的方式从反应混合物中除去,以将固体与本领域技术人员已知的液体分离。任选地,可以将无水或水合硫酸钠的晶种加入到混合物中以引发结晶。

与膜分离工艺相比时,通过蒸发浓缩、冷却结晶和过滤的组合实现的除盐效果不是特别有效。随着技术的发展,膜分离器被用于许多工业以实现各种分离,常用技术的描述可以在“Unit Operations of Chemical Engineering”,W.L.McCabe,J.C.Smith和P.Harriott,第6版;McGraw-Hill,2001;ISBN:0070393664中找到,其为可以以工业化规模实施的膜分离技术的实例。术语“纳米过滤”用于描述使用具有比反渗透膜中的孔大但比超滤膜中的孔小的孔的膜的分离。膜孔径是一个重要的参数,因为在许多应用中,会基于膜大小的差异选择膜来分离混合物的各个组分。美国专利No.5,447,635(通过引用并入本文)公开了一种膜分离方法,其中从X-射线造影剂碘帕醇的水溶液中除去盐和其它低分子量溶质。同时,浓缩碘帕醇的溶液。膜分离工艺可以与其它单元操作组合使用,以优化产物流的纯度。美国专利No.5,811,581(其通过引用并入本文)公开了一种方法,其中首先通过色谱分离、然后通过膜分离方法来纯化包含碘帕醇的水流。实施例教导使用组合技术可以以高纯度和高收率得到碘帕醇。

在谷氨酸转化为焦谷氨酸之前或之后,可使用膜从L-草胺磷混合物中除去无机盐和一些水。可以将包含L-草胺磷的混合物泵送通过膜分离器,此时无机盐和一些水通过膜离开L-草胺磷混合物。盐可以包括用于在谷氨酸转化之前调节pH的酸的钠盐,例如,硫酸钠,条件是使用硫酸调节pH;或氯化钠,条件是使用盐酸调节pH。选择的膜可以允许一些谷氨酸和/或焦谷氨酸与盐和水一起通过。

适合的膜可以由天然或合成的聚合物制成,包括但不限于纤维素,聚碳酸酯,聚乙烯,聚丙烯,聚砜,聚乳酸,聚丙烯酰胺,polyvinylidene等。如果需要,可以对聚合物进行化学修饰。或者,可以使用陶瓷膜。美国专利No.3,556,305;No.3,556,992;No.3,628,669;No.3,950,255和No.3,950,255公开了制备膜的方法及其在分离方法中的用途。用于膜分离的标准设备可以用于膜分离。本领域技术人员将认识到,膜可以以多种构造使用,包括但不限于用于板框构造的平板或用于管壳构造的中空纤维管。当用于此目的时,螺旋卷式膜组件可以是特别有效的。美国专利No.3,228,876;No.3,401,798;No.3,682,317和No.3,682,317公开了几种适合于商业化操作的膜构造。

可将L-草胺磷混合物以单程或多程的方式泵送通过膜分离器,以达到期望的脱盐和浓缩水平。如果需要,可以将所得的脱盐和浓缩的L-草胺磷混合物进一步纯化。

可以将L-草胺磷与组合物的焦谷氨酸和其它组分分离,以得到基本上纯化的L-草胺磷

的组合物。术语“基本上纯化的L-草胺磷”或“基本上纯的L-草胺磷”用于表示最终组合物中L-草胺磷的量最终组合物中L-草胺磷、谷氨酸、焦谷氨酸和任意其它组分的总和的70%或更高、75%或更高、80%或更高、85%或更高、90%或更高或95%或更高。

在某些情况下,可以通过酶促转化将谷氨酸转化为焦谷氨酸。参见,例如,美国专利No.3,086,916,通过引用并入本文。按照这种方式,可以将谷氨酰胺酰基-肽环化转移酶(例如,EC 2.3.2.5)添加到包含L-草胺磷和谷氨酸的组合物中足够的时间,以将谷氨酸转化为焦谷氨酸。足以转化的时间长短将取决于反应中所用酶的活性和浓度。通常,所述时间为至少2小时、至少4小时、至少6小时、至少8小时、至少10小时、至少12小时或更长。

在一些实施方案中,在将剩余的谷氨酸转化为焦谷氨酸之前,结晶步骤可以用于除去一部分谷氨酸。按照这种方式,在第一步中,可以使一部分谷氨酸结晶,并且通过过滤、离心或本领域技术人员公知的任意其它适合的固-液分离方法从起始组合物中除去。例如,可以使0.1wt.%或更高、0.5wt.%或更高、1wt.%或更高、5wt.%或更高、10wt.%或更高、15wt.%或更高或20wt.%或更高的存在的谷氨酸结晶并且从起始组合物中除去。可以再利用结晶的谷氨酸,例如,在随后的D-草胺磷酶促转化过程中。

为了结晶,可以通过添加酸将组合物调节至pH约3至约5(例如约3.5至约4.5、约3.5至约3.8或约3.7至约4.2)。用于调节pH的适合的酸包括盐酸、硫酸、三氟乙酸、磷酸、乙酸或任意其它具有 $pK_a < 5$ 的物质。参见,例如,DE3920570C2,其通过引用并入本文。

[0036] 在一些实例中,谨慎地控制组合物的温度。按照这种方式,可以将组合物加热至约30℃、约35℃、约40℃等的温度,然后添加酸。将酸(例如浓盐酸或硫酸)连续或部分以缓慢速率添加到装有反应混合物的适合容器中。在酸添加过程中搅拌混合物是优选的,并且可以通过任何适合的方式完成。充分混合时,当混合物的pH值超过约pH 5时,向混合物中添加酸通常对添加速率不敏感,因为通常在高于pH 5的情况下未观察到沉淀或结晶。在实验室中,使用适合的设备,在低于pH 5时以滴加速率进行酸添加,滴加速率是指以每几秒中小于0.1mL、小于0.2mL、小于0.3mL、小于0.4mL的部分,使得谷氨酸的结晶在浓盐酸或硫酸添加结束之前开始。例如,当在实验室中进行操作时,可以在一段时间期限(例如15至20分钟)内将大约35mL至40mL的10M硫酸滴加到体积为约1L的批量中。

然后将反应混合物加热至约35℃至约90℃(例如约40℃至约80℃、约50℃至约70℃或约55℃至约65℃)的升高的温度,并在升高的温度下保持至少约20分钟(例如至少约25分钟或至少约30分钟)。在一些实例中,与添加酸相关的一些热量没有立即消除,并且使反应混合物缓慢自热。保持在所述的升高的温度之后,将所得的组合物随时间缓慢冷却至0℃。任选地,组合物可以在几分钟至几天的时间内冷却至0℃,并且可以在几小时或几天内保持至少约30分钟,约45分钟,约50分钟,约60分钟,然后过滤反应物料。

如上所述控制温度的一个优点在于产生易于过滤的高纯度谷氨酸晶体。任选地,可以在存在谷氨酸晶种(例如,在添加酸期间添加到混合物中的谷氨酸晶体,来自前一批中遗留的谷氨酸晶体或存在于连续结晶器中的谷氨酸晶体)的情况下实施结晶方法,以帮助晶体生长到易于过滤的尺寸。

如上所述控制温度、更具体地为将温度降低到室温以下的另一个优点在于更多的谷氨酸会结晶,因此,残留在滤液中的谷氨酸的量将减少。任选地,可以加入与水混溶的溶剂以进一步降低谷氨酸在混合物中的溶解度。加入与水混溶的溶剂还可以在不冷冻混合物的情

况下达到较低的温度。

从反应物料或起始组合中结晶谷氨酸的本方法显著地减少了溶液中谷氨酸的量。如上所述,反应混合物或组合中残留的谷氨酸可以在升高的温度下转化为焦谷氨酸。在单一离子交换步骤(即阳离子或者阴离子交换,不需要阳离子交换和阴离子交换步骤)或其它分离方法的情况下,易于将得到的焦谷氨酸从L-草胺膦中分离出来,并且产生高纯度的L-草胺膦和低水平的谷氨酸。

在一个实施方案中,阴离子交换树脂用于在环境温度或升高的温度下在弱碱性、中性或酸性pH值下从焦谷氨酸、2-氧代戊二酸和PPO中纯化L-草胺膦。在一些实例中,L-草胺膦与阴离子交换树脂之间的相互作用可能不如阴离子交换树脂与2-氧代戊二酸、PPO和焦谷氨酸中的每一种之间的相互作用强。相互作用行为的差异可用于实现L-草胺膦的纯化。在该方法中,可以将阴离子交换树脂装入适合的容器中,例如罐或柱。在一些实例中,使用适合的无机碱(例如氢氧化钠或氢氧化钾)的水溶液将阴离子交换树脂转化为羟基形式。在某些情况下,使用硫酸或无机硫酸盐或硫酸氢盐将阴离子树脂转化为硫酸或硫酸氢盐形式。然后,通过外部加热(例如,使传热液流入容器的夹套中)或通过期望温度下将流体泵送穿过容器或它们两者,使树脂在期望温度下平衡。使用稀酸、稀碱和/或水在期望的pH下平衡树脂。可以从谷氨酸环化步骤得到反应混合物,可以将其任选地如上所述进行浓缩,和/或可以将其任选地按照上述方法脱色,可以将其调节至与树脂相同的pH。还可以将该反应混合物调节至与树脂相同的温度,且典型地以向下流动的方式泵送通过容器中的阴离子交换树脂。可以分部分收集流出容器的流出液。可以将包含大部分L-草胺膦的部分流出液合并,形成基本上纯化的L-草胺膦的溶液。不受任何特定理论束缚,焦谷氨酸、2-氧代戊二酸、PPO和其它杂质与阴离子交换树脂相互作用,使得与L-草胺膦相比,各组分以不同的速率通过柱,由此使基本上纯化的L-草胺膦收集在单独的溶液中。

如上所述,可以使用多种可商购的阴离子交换树脂来制备基本上纯化的L-草胺膦。适合的树脂的实例包括由交联的共聚物骨架构成的那些树脂(例如由单乙烯基单体如苯乙烯、丙烯酸酯等和聚乙烯基交联剂如二乙烯基苯等制成)。美国专利No.3,458,976和No.6,924,317(均通过引用并入本文)公开了可用于产生适合的共聚物骨架材料的其它单乙烯基单体和聚乙烯交联剂。可以使用各种孔隙率的树脂,包括微孔和大孔。术语“微孔”和“大孔”是指固体颗粒中的孔的尺寸范围。确定孔径的两种常用方法为氮吸附-解吸和汞孔隙率法(参见W.C.Connor et al.1986Langmuir 2(2):151-154)。本领域技术人员应理解,大孔材料既包含大孔又包含中孔;中孔的尺寸范围在约20埃至约500埃,且大孔的尺寸大于约500埃。微孔材料具有小于20埃的微孔尺寸。参见PCT/US2016/063219,其通过引用并入本文。凝胶型树脂,例如美国专利No.4,256,840号和No.5,244,926所描述的那些均被视为微孔,并且也可以使用,它们均通过引用并入本文。珠粒形式的树脂颗粒,即球形或接近球形,在本发明方法中特别有用。珠粒可以是均匀的(也称作“单分散的”),也可以是高斯或多分散粒径分布。“均匀的”或“单分散的”是指至少至少90体积百分比的珠粒具有约0.8至约1.2且更优选0.85至1.15倍于体积平均粒径的粒径。参见PCT/US2016/063220,其通过引用并入本文。

通过用一种或多种类型的胺官能化,可以将树脂转化为阴离子交换树脂。可以使树脂官能化的一种方法在于通过使共聚物进行氯甲基化反应,然后与伯胺、仲胺、叔胺、氨基醇、

聚胺或氨反应来进行,如美国专利No.6,924,317中所述。具有约0.1至约4毫当量/克的阴离子容量的阴离子交换树脂适用于本方法,其中阴离子容量根据ASTM D2187-94 (2004年重新批准) 测量。用伯胺和仲胺官能化的树脂是本领域技术人员已知的弱碱性阴离子树脂。本领域技术人员已知为强碱性阴离子交换树脂的用叔胺和叔多胺官能化的树脂特别适合于本方法。在一个实施方案中,将强碱性阴离子交换树脂和弱碱性阴离子交换树脂的混合物用于生产基本上纯化的L-草胺磷。

可以选择树脂颗粒的尺寸以在用于离子交换方法的设备中在可接受的压降下实现纯化。该方法中使用的树脂颗粒的优选的中值体积平均直径在约10微米至约2000微米的范围内。中值直径的特别有用的范围是约100微米至约1000微米。适合的树脂的实例包括、但不限于:DOWEX™MARATHON™A,DOWEX™MONOSPHERE™550A,DOWEX™MONOSPHERE™MSA,DOWEX™XUR-1525-L09-046,一种实验性凝胶型、均匀粒径在300微米范围内的强碱性阴离子树脂I型(三甲基胺季铵盐,氯化物形式,得自Dow Chemical Company),以及其它本领域技术人员已知的物质。

在一些实例中,升高的温度用于分离。可以将进料到柱的反应混合物以及柱本身维持在约25℃至约30℃、约30℃至约35℃、约35℃至约40℃、约45℃至约50℃、约50℃至约55℃、约55℃至约60℃、约60℃至约65℃或约65℃至约70℃的温度下。可以通过使用套在柱壁上的加热套使加热流体在夹套柱中流动,将柱维持在加热的外壳内或通过本领域技术人员已知的任何其它加热方式来维持柱温。

可以在约pH 0.4至pH 8的pH范围内进行分离;即在约pH 0.4、约pH 0.6、约pH 1、约pH 2、约pH 3、约pH 4、约pH 5、约pH 6、约pH 7或约pH 8。可以用于pH调节的酸包括盐酸、硫酸、磷酸、三氟乙酸、乙酸、甲磺酸等。可以用于pH调节的碱包括氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化铵等。

如在离子交换分离领域中已知的,可以将树脂再生以再利用。例如,美国专利No.3,458,439描述了用于阴离子树脂再生的方法。在这种再生方法中,用一种或多种溶液处理树脂,所述溶液使先前吸附的组分从树脂上解吸,并使树脂返回到优选的形式以进行分离。典型地,该溶液包含酸或碱以及任选的无机盐,例如氯化钠、磷酸钠、硫酸钠、硫酸铵等。在一个实施方案中,阴离子交换树脂可以用苛性盐水(即氢氧化钠和氯化钠的混合物),酸性盐水(即盐酸和氢氧化钠的混合物),硫酸(与或不与氯化钠一起)或单独的氯化钠再生。有用的苛性盐水组合物包括约0.01M至约0.5M的氢氧化钠浓度和约0.1M至约1.5M的氯化钠浓度。有用的酸性盐水组合物包括约0.01M至约0.5M的盐酸浓度和约0.01M至约0.5M的氯化钠浓度。在一些实例中,酸性盐水包括约0.1M至约1.5M的硫酸浓度和约0.1M至约1.5M的氯化钠浓度。任选地,可以使用硫酸调节至pH 1的水。

当用于实施本文描述的方法时,某些再生方法可以是有利的。当与阴离子交换树脂再生方法结合使用时,用于产生基本上纯化的L-草胺磷的方法也可以用于产生基本上纯化的2-氧代戊二酸(本文还称作2-氧代戊二酸)。所谓基本上纯化的2-氧代戊二酸或基本上纯的2-氧代戊二酸是指最终组合物中的2-氧代戊二酸的量与最终组合物中的2-氧代戊二酸、L-草胺磷、谷氨酸、琥珀酸和焦谷氨酸的总和相比为70%或更高、75%或更高、80%或更高、85%或更高、90%或更高或95%或更高。使用本发明的方法分离后,可以将基本上纯化的2-氧代戊二酸便利且有效地转化为琥珀酸(用作食品添加剂和膳食补充剂)。

在一些实例中,根据本文所述的方法,通过纯化L-草胺膦可以以高浓度得到基本上纯化的2-氧代戊二酸。例如,在柱色谱法中(例如使用阴离子交换树脂)使用氢氧化钠和氯化钠水溶液(例如0.1M NaOH和1.5M NaCl水溶液)作为洗脱液,可以得到高浓度的基本上纯的2-草酸戊二酸。2-氧代戊二酸是PPO胺化的副产物,并且不能在‘254申请中所述的方法中重复使用。通过使2-氧代戊二酸与过量的稀过氧化氢在室温下接触,可以将离开柱的级分中收集的2-氧代戊二酸转化为琥珀酸。参见,例如,A.Lopalco和V.J.Stella (2016) J.Pharm.Sci.105:2879-2885,其通过引用并入本文。

琥珀酸大量用作各种商业商品中的成分或其原料。如果需要,可以通过本领域技术人员已知的方式进一步纯化、浓缩和/或分离通过该方法产生的基本上纯化的琥珀酸。所谓基本上纯化的琥珀酸或基本上纯的琥珀酸是指最终组合物中的琥珀酸的量与最终组合物中的琥珀酸、L-草胺膦、谷氨酸、2-氧代戊二酸和焦谷氨酸的总和相比为70%或更高、75%或更高、80%或更高、85%或更高、90%或更高或95%或更高。

在另一个实施方案中,阳离子交换树脂可用于从焦谷氨酸、2-氧代戊二酸和PPO中纯化L-草胺膦。在该实施方案中,该方法可以分两个步骤进行。在第一步中,可以将来自谷氨酸环化步骤的反应混合物与已经使用适合的酸转化为氢形式的阳离子交换树脂混合。此类酸包括但不限于浓盐酸,硫酸,磷酸,甲酸,乙酸,三氟乙酸和甲磺酸。类似地,将来自谷氨酸环化步骤的反应混合物调节至酸性pH,即小于约7.0的pH(例如约0.5至约1.0、约1.0至约2.0、约2.0至约3.0、约3.0至约4.0、约4.0至约5.0、约5.0至约6.0或约6.0至约6.9的pH)。任选地,可以如上所述浓缩和/或脱色来自谷氨酸环化步骤的反应混合物,然后与阳离子树脂混合。当与树脂混合时,L-草胺膦和残留的谷氨酸吸附在树脂上,而2-氧代戊二酸、PPO和焦谷氨酸不会吸附在树脂上。在适当的时间期限后,可以从包含L-草胺膦的树脂上分离包含杂质的液体。任选地,在吸附L-草胺膦完成后,可以用适合的液体例如水洗涤树脂,这置换了包含杂质的残留溶液,但不会从树脂上除去L-草胺膦。

在第二步中,可以将含有L-草胺膦的树脂与水溶性碱混合,所述水溶性碱使L-草胺膦从树脂解吸,形成基本上纯化的L-草胺膦的溶液。适合于从阳离子树脂中除去L-草胺膦的碱包括氢氧化钠,氢氧化钾,氢氧化铵,异丙胺,乙醇胺,二乙醇胺等。该方法可以通过如上所述以分批模式或以流动模式使树脂和溶液接触来进行,其中树脂在容器中保持静止,并使溶液通过。该方法可以在适合的温度下进行,例如,约20℃至约70℃。即温度在约25℃至约65℃、约30℃至约60℃或约40℃至约50℃的范围。可以通过与适合的酸例如盐酸、硫酸等或如上所述的酸与无机盐的混合物接触再生树脂。

如上所述,许多不同类型的可商购的阳离子交换树脂可用于纯化。用作阳离子交换树脂的适合的树脂可以由具有各种孔隙度即微孔的共聚物骨架构成。凝胶型阳离子交换树脂也是适合的。适合的树脂可以具有均匀的高斯或多分散性粒度分布。对于本方法,具有珠粒形状和均匀粒度分布的那些可能是优选的。在本方法中使用的树脂颗粒的优选的平均体积平均直径在约10微米至约2000微米,并且中值直径的特别有用的范围在约100微米至约1000微米。

通过使树脂进行磺化反应,可以将树脂转化为强酸阳离子交换树脂。当树脂与各种磺化剂如三氧化硫,浓硫酸,氯磺酸,发烟硫酸等接触时发生磺化(参见美国专利No.2,500,149;No.2,527,300;和No.2,597,439,其全部通过引用并入本文)。一些树脂,例如包括羧酸

单体的那些树脂,可以充当弱酸阳离子树脂(美国专利No.4,062,817和No.4,614,751,它们均通过引用并入本文)。具有阳离子容量为每克约0.1至约4毫当量的阳离子交换树脂,其中阳离子容量通过ASTM D2187-94(2004年重新批准)测量,其适用于本方法。适合的树脂的实例包括DOWEX™50WX8,DOWEX™MONOSPHERE™99K/350,DOWEX™MONOSPHERE™C,DOWEX™MARATHON™MSC以及本领域技术人员已知的其它物质。

本领域技术人员将认识到,多个包含树脂的容器、例如美国专利No.4,001,113所公开的那些容器可以用于平行或串联操作中的流动模式的有效操作。平行操作允许同时在每个包含离子交换树脂的几个类似容器中纯化反应混合物。在连续操作中,将离开树脂容器的不期望的纯度的部分纯化的L-草胺磷溶液进料至包含新鲜或再生树脂的后续容器中,以继续纯化过程。在将部分纯化的L-草胺磷溶液进料到随后的容器中之后,即刻将未与树脂混合的反应混合物进料到同一容器中。按照这种方式,反应混合物的位置移动到随后的容器中。对于其它串联的容器,重复此过程。在一些实例中,使用过的树脂在某些容器中再生,而部分纯化的L-草胺磷溶液则进料到其它容器中的新鲜或再生树脂中。该方法特别适合于连续操作。

任选地,离开离子交换步骤的包含基本上纯化的L-草胺磷的溶液的体积可以与水混溶的有机溶剂接触以引起无机盐的沉淀。可用于此目的溶剂包括丙酮,甲醇,乙醇,1-丙醇,2-丙醇,乙腈,四氢呋喃,1-甲基-2-丙醇,1,2-丙二醇和1,2-乙二醇。甲醇在许多实施方案中可能特别有用。在一些实施方案中,使从离子交换步骤获得的溶液体积与一个或多个体积(例如四个体积)的甲醇接触,从而形成硫酸钠沉淀。可以很容易地除去几乎不含L-草胺磷或不含L-草胺磷的沉淀。

基于分子尺寸的色谱方法(已知为尺寸排阻)或凝胶过滤色谱法也可以用于从反应混合物中纯化L-草胺磷。在尺寸排阻色谱法中,溶液通过包含具有特定孔径分布的树脂的容器。不受任何特定理论束缚,溶质过大而不能进入树脂的孔中,则溶质相对较快地穿过容器。这些溶质不移入树脂颗粒中。足够小以进入孔的溶质将移动到树脂颗粒中,因此将在容器中保留更长的时间期限。除了溶质尺寸之外的其它因素,例如,溶质结构,浓度,存在的盐,溶液pH等也可能影响得到的分离度。溶质的分离可以通过与树脂的多种相互作用方式发生,即尺寸排阻与吸附或离子交换或它们两者的结合。该技术的描述可以在“Modern Size Exclusion Chromatography:Practice of Gel Permeation and Gel Filtration”,第2版,A.M.Striegel,et al.,John Wiley and Sons,Inc.,2009;ISBN 9780471201724中找到。

可以通过使混合物通过合适的尺寸排阻树脂的容器来纯化L-草胺磷混合物。与L-草胺磷相比,混合物中尺寸更小、形状更紧凑的组分在容器内的停留时间更长。混合物中的全部或部分L-草胺磷将从柱上洗脱下来,然后再洗脱其它组分,包括无机盐、焦谷氨酸和/或谷氨酸。

可以如上所述用于离子交换树脂的方法制备用于尺寸排阻色谱的树脂,其中使用或不使用官能化。美国专利No.3,857,824和No.4,314,032以及英国专利GB1135302A公开了制备用于尺寸排阻色谱的树脂珠的其它方法。适合的树脂可从几家制造商以商业规模获得,包括但不限于 **Toyopearl®** HW-40,Tosoh Bioscience的产品;SEPABEADS™SP825L,DIAION™HP20SS和DIAION™HP2MGL,Mitsubishi Chemical Company的产品;和

Sephadex® G-10, GE Life Sciences的产品。

模拟移动色谱法(“SMB”)可以与离子交换树脂或尺寸排阻树脂结合使用,以生产基本上纯化的L-草胺磷。在许多出版物中都描述了SMB,例如“Simulated Moving Bed Technology: Principles, Design and Process Applications”, A. Rodriguez; Butterworth-Heinemann, 2015; ISBN: 978-0128020241和美国专利No. 2,985,589; No. 4,182,633; No. 4,319,929; No. 4,412,866; No. 5,102,553; No. 7,229,558; 和No. 7,931,751,其全部通过引用并入本文。SMB操作有效地利用了树脂和液体流,例如粗进料流和洗脱液流。SMB的另一个优点在于该方法可用于以商业规模连续纯化反应混合物。在SMB技术中,几个容器串联连接,从而形成一个连续的循环。每个容器都包含适合分离组分的树脂。阀门和管道连接到每个容器,以使至少四种不同类型的流体进出每个容器;在美国专利No. 6,431,202中描述了用于该目的阀门的实例。这些流体由待纯化的混合物、洗脱液、快速移动的一种或多种组分的基本上纯化的物流和慢速移动的一种或多种组分的基本上纯化的物流组成。将待纯化的混合物和洗脱液输入到工艺中(意味着分别进料到单独的容器中),同时从工艺中取出快速移动的组分和缓慢移动的组分。选择SMB中使用的树脂、洗脱液、温度和流速,以便在快速移动的组分流或慢速移动的组分流中获得基本上纯化的产物。不受任何特定理论束缚,该技术利用了混合物中的组分与树脂之间的差别相互作用,这导致组分通过连续回路的转换速率不同。作为结果,可以以更高的效率利用树脂并且可以最小化洗脱液的体积。按照相同的方式,该方法可以被设计为使得L-草胺磷可以为快速移动的组分或慢速移动的组分。

在一个实施方案中,SMB分离可以与预处理步骤结合,其中在SMB操作之前通过使混合物与吸附剂接触除去混合物的一种或多种组分。除去的此类组分包括PPO、2-氧代戊二酸和有色物体。

在另一个实施方案中,SMB分离与如前所述的膜分离方法合并。如果需要,可以使用膜分离步骤从溶液中除去无机盐和/或水。膜分离操作可以在SMB分离之前或之后进行。

如通过¹H-NMR测定的,本文所述方法可去除大约80%或更多(例如约85%或更多、约87%或更多或约90%或更多)的未反应的谷氨酸,不过,HPLC和其它分析方法也可以用于测定百分比。

通过这种方法分离出基本上纯化的L-草胺磷。因此,该方法提供了基本上纯化的L-草胺磷的组合物。L-草胺磷的形式可以是结晶、液体、油或无定形固体。例如,基本上纯化的L-草胺磷的组合物包含大于70%的纯L-草胺磷的材料或被小于30%的D-草胺磷、PPO、2-氧代戊二酸、焦谷氨酸、谷氨酸或其它杂质(所述其它杂质存在于原料中,在材料的反应过程中、加热过程中或冷却过程中被引入(水除外))污染的材料;大于80%的纯L-草胺磷或被小于20%的D-草胺磷、PPO、2-氧代戊二酸、焦谷氨酸、谷氨酸或其它杂质(所述其它杂质存在于原料中,在材料的反应过程中、加热过程中或冷却过程中被引入(水除外))污染的材料;大于85%的纯L-草胺磷或被小于15%的D-草胺磷、PPO、2-氧代戊二酸、焦谷氨酸、谷氨酸或其它杂质(所述其它杂质存在于原料中,在材料的反应过程中、加热过程中或冷却过程中被引入(水除外))污染的材料;大于90%的纯L-草胺磷或被小于10%的D-草胺磷、PPO、2-氧代戊二酸、焦谷氨酸、谷氨酸或其它杂质(所述其它杂质存在于原料中,在材料的反应过程中、加热过程中或冷却过程中被引入(水除外))污染的材料;或大于95%的纯L-草胺磷或被小于

5%的D-草胺膦、PP0、2-氧代戊二酸、焦谷氨酸、谷氨酸或其它杂质(所述其它杂质存在于原料中,在材料的反应过程中、加热过程中或冷却过程中被引入(水除外))污染的材料。

在一个实施方案中,可以将离开离子交换步骤的包含基本上纯化的L-草胺膦的溶液的体积减小至基本上可以直接配制成除草剂产品的浓缩物。可以使用本领域技术人员已知的任何浓缩方式,例如蒸馏(包括真空蒸馏),薄膜蒸发,刮膜蒸发,以及利用膜的方法,例如全蒸发,反渗透,纳滤,超滤等。如果需要,可以将通过浓缩除去的水和溶剂再循环到工艺中。

在另一个实施方案中,可以使用上述任何方法将浓缩的L-草胺膦溶液进一步浓缩,直到沉淀或结晶发生。任选地,可以在该过程中的任何点添加溶剂或溶剂混合物以帮助水的蒸发,以增加固体L-草胺膦的纯度,从而增加基本上纯化的L-草胺膦的收率或改变固体颗粒的尺寸和/或形状。在水中的溶解度为至少10wt.%的溶剂特别适合于此目的。有用的溶剂包括丙酮,甲醇,乙醇,1-丙醇,2-丙醇,乙腈,四氢呋喃,1-甲基-2-丙醇,1,2-丙二醇,1,2-乙二醇,三乙胺,异丙胺和氢氧化铵。可以将通过沉淀或结晶产生的固体材料过滤并干燥以得到包含基本上纯的L-草胺膦的固体。如果需要,可以将滤液再循环回工艺中。任何适合的过滤设备和干燥设备均可用于此目的。如果需要,可以将通过浓缩除去的水和溶剂再循环到工艺中。

在另一个实施方案中,可以浓缩离开离子交换步骤的包含基本上纯化的L-草胺膦的溶液的体积,直到沉淀或结晶发生,然后可以继续蒸发水和存在的其它挥发性物质,直到得到基本上干燥的固体。使用该方法的一个优点在于不需要过滤步骤。任选地,可在任何点添加溶剂或溶剂混合物以帮助水的蒸发,例如与水形成共沸物的那些溶剂,包括甲苯,1-丁醇,叔戊醇等。任选地,如上所述,可以添加组分以改变固体颗粒的尺寸和/或形状。包含基本上纯化的L-草胺膦的固体可以作为粉末、颗粒、大块或其混合物的形式得到。可以使用用于进行该方法的任何适合的设备,包括旋转蒸发器(rotovap),搅拌锅式干燥器,水平轴搅拌式干燥器等。如果需要,可以对干燥的固体进行均化。如果需要,可以将该过程中除去的水和溶剂再循环利用。

在另一个实施方案中,可以将离开离子交换步骤的包含基本上纯化的L-草胺膦的溶液的体积转移到喷雾干燥器中。在转移到喷雾干燥器之前可以将该溶液部分浓缩,并且部分浓缩的混合物可以为溶液的形式,或者,如果已经发生沉淀或结晶,则可以为浆料的形式。喷雾干燥后得到的固体可以是粉末或颗粒形式,其包含基本上纯的L-草胺膦。在另一个实施方案中,可以在喷雾干燥之前将可以改善干燥颗粒或其它组分的流动性的试剂混合到浓缩溶液或浆料中。在另一个实施方案中,可以在喷雾干燥之前将其它材料(如制剂成分)混合到溶液或部分浓缩的混合物中。

II. 固体形式

本文还提供了L-草胺膦的多种固体形式,包括结晶形式和无定形形式。

在一些实施方案中,提供了L-草胺膦形式A。在一些实施方案中,形式A的特征在于X-射线粉末衍射(XRPD)图案,所述XRPD图案包含至少3个峰,其选自10.1,10.8,16.8,17.2,18.3,20.0,20.2,21.2,21.5,24.1,24.3,25.1,25.6,26.9,28.6,29.0,29.7,29.9,31.9,33.4,33.7,34.5,34.9,35.4,35.7,36.1,36.7,37.1,37.5,38.2和39.8°2 θ , $\pm 0.2^\circ 2\theta$,如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。例如,形式A的XRPD图案可以包含3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30或31个这类峰。

在一些实施方案中,形式A的特征在于XRPD图案包含至少6个峰,其选自10.1,16.8,18.3,21.2,24.1,24.3,25.6,26.9,28.6,29.0和 $34.5^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$,如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。在一些实施方案中,形式A的特征在于XRPD图案包含至少10个峰,其选自10.1,16.8,18.3,21.2,24.1,24.3,25.6,26.9,28.6,29.0和 $34.5^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$,如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。在一些实施方案中,形式A的特征在于XRPD图案,其基本上与图1一致。如下所述,已经通过离子色谱法分析了形式A,其指示草胺磷:铵的比例为大约1.4:1。在一些实施方案中,形式A的特征在于差示扫描量热法(DSC)曲线表现出起始范围为约119至约123°C的吸热。在一些实施方案中,DSC曲线基本上与图2中所示的DSC曲线一致。

L-草胺磷形式A可以根据下述方法制备。在一些实施方案中,L-草胺磷形式A的制备包括将L-草胺磷与极性溶剂(例如异丙醇或甲醇)或极性溶剂和水的混合物混合;将所得浆液维持在约20°C至约50°C的温度下1小时至14天的时间期限;并从浆液中分离出形式A。

在一些实施方案中,提供了L-草胺磷形式B。在一些实施方案中,形式B的特征在于X-射线粉末衍射(XRPD)图案,所述XRPD图案包含至少3个峰,其选自10.0,11.4,12.5,16.5,17.4,18.1,19.6,20.0,21.8,22.9,23.6,24.0,25.1,25.5,26.1,26.3,26.4,27.9,28.2,28.4,28.7,29.2,30.2,30.9,31.6,31.7,32.7,33.0,33.3,34.3,35.2,36.7,37.2,37.4,37.8,38.3,38.7和 $39.3^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$,如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。例如,形式B的XRPD图案可以包含3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37或38个这类峰。

在一些实施方案中,形式B的特征在于XRPD图案包含至少6个峰,其选自10.0,12.5,16.5,17.4,18.1,19.6,20.0,21.8,22.9,23.6,24.0,25.5,26.3,26.4,29.2,34.3,35.2和 $37.4^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$,如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。在一些实施方案中,形式B的特征在于XRPD图案包含至少10个峰,其选自10.0,12.5,16.5,17.4,18.1,19.6,20.0,21.8,22.9,23.6,24.0,25.5,26.3,26.4,29.2,34.3,35.2和 $37.4^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$,如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。在一些实施方案中,形式B的特征在于XRPD图案,其基本上与图3一致。如下所述,已经通过离子色谱法分析了形式B,其指示草胺磷:铵的比例为大约5.3:1。在一些实施方案中,形式B的特征在于差示扫描量热(DSC)曲线表现出起始为约123°C的吸热。在一些实施方案中,DSC曲线基本上与图4中所示的DSC曲线一致。

L-草胺磷形式B可以根据下述方法制备。在一些实施方案中,L-草胺磷形式B的制备包括将L-草胺磷与极性溶剂和水的混合物合并;将所得浆液在约20°C至约50°C的温度下维持1小时至14天的时间期限;并从浆液中分离出形式B。

在一些实施方案中,提供L-草胺磷形式C。在一些实施方案中,形式C的特征在于X-射线粉末衍射(XRPD)图案,所述XRPD图案包含至少3个峰,其选自9.1,10.9,16.1,16.8,17.3,18.3,20.1,21.4,21.8,22.4,22.7,24.1,24.9,25.4,25.6,26.1,26.6,27.7,28.3,28.9,30.8,31.9,32.6,33.6,33.9,35.1,36.6,37.1,37.5,38.3,38.9和 $39.7^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$,如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。例如,形式C的XRPD图案可以包含3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33或34个这类峰。

在一些实施方案中,形式C的特征在于XRPD图案包含至少6个峰,其选自9.1,16.1,

16.8, 17.3, 21.8, 24.1, 24.9, 25.6, 26.1, 28.3和 $28.9^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$, 如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。在一些实施方案中, 形式C的特征在于XRPD图案包含至少10个峰, 其选自9.1, 16.1, 16.8, 17.3, 21.8, 24.1, 24.9, 25.6, 26.1, 28.3和 $28.9^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$, 如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。在一些实施方案中, 形式C的特征在于XRPD图案, 其基本上与图5一致。如下所述, 已经通过离子色谱法分析了形式C, 其指示草胺磷: 铵的比例为大约1.4:1。在一些实施方案中, 形式C的特征在于差示扫描量热 (DSC) 曲线表现出起始为约100 $^{\circ}\text{C}$ 的吸热和/或起始为约131 $^{\circ}\text{C}$ 的吸热。在一些实施方案中, DSC曲线基本上与图6中所示的DSC曲线一致。

L-草胺磷形式C可以根据下述方法制备。在一些实施方案中, L-草胺磷形式C的制备包括将L-草胺磷与溶剂蒸气 (例如甲醇蒸气) 在约20 $^{\circ}\text{C}$ 至约30 $^{\circ}\text{C}$ 的温度下接触1小时至14天的时间期限; 并分离形式C。

在一些实施方案中, 提供了L-草胺磷形式D。在一些实施方案中, 形式D的特征在于X-射线粉末衍射 (XRPD) 图案, 所述XRPD图案包含至少3个峰, 其选自9.1, 11.6, 13.1, 14.1, 14.4, 16.2, 17.7, 18.2, 18.9, 19.3, 19.7, 21.2, 21.8, 22.4, 23.2, 23.5, 25.3, 25.8, 26.2, 27.2, 28.6, 29.1, 30.0, 30.6, 31.1, 31.6, 32.7, 33.5, 34.4, 34.7, 35.4, 35.9, 36.4和 $37.4^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$, 如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。例如, 形式D的XRPD图案可以包含3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33或34个这类峰。

在一些实施方案中, 形式D的特征在于XRPD图案包含至少6个峰, 其选自9.1, 17.7, 18.2, 18.9, 22.4, 23.2, 23.5, 26.2, 33.5和 $36.4^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$, 如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。在一些实施方案中, 形式D的特征在于XRPD图案包含在9.1, 17.7, 18.2, 18.9, 22.4, 23.2, 23.5, 26.2, 33.5和 $36.4^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$ 的峰, 如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。在一些实施方案中, 形式D的特征在于XRPD图案, 其基本上与图7一致。如下所述, 已经通过离子色谱法分析了形式D, 其指示草胺磷: 铵的比例为大约3.9:1。在一些实施方案中, 形式D的特征在于差示扫描量热 (DSC) 曲线表现出起始为约140 $^{\circ}\text{C}$ 的宽的吸热。在一些实施方案中, DSC曲线基本上与图8中所示的DSC曲线一致。

L-草胺磷形式D可以根据下述方法制备。在一些实施方案中, L-草胺磷形式D的制备包括将L-草胺磷与溶剂 (例如甲醇, 乙醇, 三氟乙醇, 异丙醇, 丙酮, 二甲基乙酰胺等, 其任选为无水的) 的混合物合并; 将所得的浆液在约50 $^{\circ}\text{C}$ 至约60 $^{\circ}\text{C}$ 的温度下维持1小时至14天的时间期限; 并从浆液中分离出形式D。

在一些实施方案中, 提供了L-草胺磷盐酸盐形式E。在一些实施方案中, 形式E的特征在于X-射线粉末衍射 (XRPD) 图案, 所述XRPD图案包含至少3个峰, 其选自13.1, 16.8, 18.2, 19.4, 20.5, 20.9, 21.4, 22.5, 23.4, 25.3, 26.2, 26.5, 26.9, 27.8, 28.1, 30.2, 31.2, 31.5, 32.3, 33.8, 34.4, 35.3, 35.7, 36.3, 36.9, 37.8, 38.2, 38.8和 $39.4^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$, 如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。例如, 形式E的XRPD图案可以包含3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30或31个这类峰。

在一些实施方案中, 形式E的特征在于XRPD图案包含至少6个峰, 其选自16.8, 18.2, 20.5, 21.4, 22.5, 22.9, 23.4, 25.3, 30.2和 $31.2^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$, 如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。在一些实施方案中, 形式E的特征在于XRPD图案包含至少10个峰, 其选自

16.8, 18.2, 20.5, 21.4, 22.5, 22.9, 23.4, 25.3, 30.2和31.2°2 θ , $\pm 0.2^\circ 2\theta$, 如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。在一些实施方案中,形式E的特征在于XRPD图案,其基本上与图9一致。如下所述,已经通过离子色谱法分析了形式E,其指示化学计算量的L-草胺膦和氯化物。

L-草胺膦盐酸盐形式E可以根据下述方法制备。在一些实施方案中,L-草胺膦盐酸盐形式E的制备包括将L-草胺膦与水和盐酸合并;向所得混合物中加入溶剂(例如甲醇,乙醇,三氟乙醇,异丙醇,丙酮,二甲基乙酰胺等);将该混合物在约20°C至约30°C的温度下维持1小时至14天的时间期限;并从该混合物中分离出形式E。

III. 组合物

本文还描述了包含上述L-草胺膦的组合物。在一些实施方案中,该组合物基本上包含L-草胺膦和可接受的阳离子或阴离子盐形式,例如钠盐,钾盐,盐酸盐,硫酸盐,铵盐或异丙基铵盐。该组合物还可以包含L-草胺膦、PPO和D-草胺膦的混合物,其中L-草胺膦是主要的化合物。换句话说,L-草胺膦以大于约50wt.%(例如大于约55wt.%,大于约60wt.%,大于约65wt.%,大于约70wt.%,大于约75wt.%,大于约80wt.%,大于约85wt.%,大于约90wt.%或大于约95wt.%)的量存在于组合物中。

本文所述的纯化的L-草胺膦可用于应用于作物领域以预防或控制杂草的组合物。可以将所述组合物配制成用于在田间喷雾的液体。L-草胺膦以有效量存在于组合物中。如本文所用,有效量是指约10克活性成分/公顷至约1,500克活性成分/公顷,例如约50克至约400克或约100克至约350克。在一些实施方案中,活性成分为L-草胺膦。例如,组合物中L-草胺膦的量可以为约10克、约50克、约100克、约150克、约200克、约250克、约300克、约350克、约400克、约450克、约500克、约550克、约600克、约650克、约700克、约750克、约800克、约850克、约900克、约950克、约1,000克、约1,050克、约1,100克、约1,150克、约1,200克、约1,250克、约1,300克、约1,350克、约1,400克、约1,450克或约1,500克L-草胺膦/公顷。

本文所述的除草剂组合物(包括在施用于植物之前需要稀释的浓缩物)包含L-草胺膦(即活性成分)、任选的一些残留的D-草胺膦和/或PPO和一种或多种呈液体或固体形式的佐剂组分。

通过将活性成分与一种或多种佐剂(例如稀释剂,增充剂,载体,表面活性剂,有机溶剂,保湿剂或调理剂)混合,得到细分颗粒固体,丸剂,溶液,分散液或乳液形式的组合物,来制备组合物。因此,可以将活性成分与佐剂一起使用,例如细分固体,有机来源的液体,水,润湿剂,分散剂,乳化剂或任意这些的适合的组合。从经济和便利的角度来看,水是优选的稀释剂。然而,并非所有化合物都可抵抗水解,并且在某些情况下,可能决定使用非水溶剂介质,正如本领域技术人员所理解的。

任选地,可以将一种或多种另外的组分添加到组合物中以产生配制的除草剂组合物。此类配制的组合物可以包括L-草胺膦、载体(例如稀释剂和/或溶剂)和其它组分。配制的组合物包含有效量的L-草胺膦。任选地,L-草胺膦可以以L-草胺膦的形式存在。L-草胺膦的存在量可以占配制的组合物重量的10%-30%。例如,L-草胺膦的存在量可以占配制的组合物重量的10%,12%,14%,16%,18%,20%,22%,24%,26%,28%或30%。任选地,L-草胺膦以占配制的组合物重量的12.25%或24.5%的量存在。

在一些实例中,配制的组合物可以包括一种或多种表面活性剂。用于配制的组合物中

的适合的表面活性剂包括烷基醚硫酸钠。表面活性剂可以以占配制的组合物重量的10%-40%的量存在。例如,表面活性剂可以以占配制的组合物重量的10%,12%,14%,16%,18%,20%,22%,24%,26%,28%,30%,32%,34%,36%,38%或40%的量存在。任选地,烷基醚硫酸钠的存在量占配制的组合物重量的11.05%,15.8%,22.1%或31.6%。

配制的组合物可以任选地包括一种或多种溶剂(例如有机溶剂)。任选地,溶剂可以为1-甲氧基-2-丙醇、一缩二丙二醇、乙二醇及其混合物。一种或多种溶剂的存在量可以占配制的组合物重量的0.5%-20%。例如,组合物中溶剂的总量可以占配制的组合物重量的0.5%-18%、5%-15%或7.5%-10%。

任选地,溶剂包括两种溶剂的组合。例如,制剂中的溶剂可以包括1-甲氧基-2-丙醇和一缩二丙二醇。例如,1-甲氧基-2-丙醇可以以占配制的组合物重量的0.5%-2%的量存在。例如,1-甲氧基-2-丙醇可以以占配制的组合物重量的0.5%,0.6%,0.7%,0.8%,0.9%,1.0%,1.1%,1.2%,1.3%,1.4%,1.5%,1.6%,1.7%,1.8%,1.9%或2.0%的量存在。任选地,1-甲氧基-2-丙醇可以以占配制的组合物重量的0.5%或1.0%的量存在。一缩二丙二醇的存在量可以占配制的组合物重量的4%-18%。例如,一缩二丙二醇的存在量可以占配制的组合物重量的4%,6%,8%,10%,12%,14%,16%或18%。任选地,一缩二丙二醇的存在量占配制的组合物的重量的4.3%或8.6%。

配制的组合物还可包括一种或多种多糖保湿剂。适合的多糖保湿剂的实例包括,例如,烷基多糖,戊糖,高果糖玉米糖浆,山梨醇和糖蜜。多糖保湿剂如烷基多糖在配制的组合物中的存在量可以占配制的组合物重量的4%-20%。例如,组合物中多糖保湿剂的总量可以占配制的组合物重量的4%-18%、4.5%-15%或5%-10%。在一些实例中,配制的组合物中存在的多糖保湿剂如烷基多糖的总量可以占配制的组合物的重量的4%,5%,6%,7%,8%,9%,10%,11%,12%,13%,14%,15%,16%,17%或18%。任选地,烷基多糖可以以占配制的组合物重量的3.2%、4.9%、6.2%或9.8%的量存在。

配制的组合物中也可以包括稀释剂。适合的稀释剂包括水和其它水性组分。任选地,稀释剂以产生准备包装或使用的组合物必不可少的量存在。

在一个实例中,配制的组合物包含占制剂重量的12.25%的量的L-草铵膦;占制剂重量的31.6%的量的烷基醚硫酸钠;占制剂重量的1%的量的1-甲氧基-2-丙醇;占制剂重量的8.6%的量的的一缩二丙二醇;占制剂重量的9.8%的量的烷基多糖;和水。在一些实施方案中,配制的组合物包括占制剂重量的36.75%的量的水。

在另一个实例中,配制的组合物包含占制剂重量的24.5%的量的L-草铵膦;占制剂重量的31.6%的量的烷基醚硫酸钠;占制剂重量的1%的量的1-甲氧基-2-丙醇;占制剂重量的8.6%的量的的一缩二丙二醇;占制剂重量的9.8%的量的烷基多糖;和水。在一些实施方案中,配制的组合物包括占制剂重量的36.75%的量的水。

在另一个实例中,配制的组合物包含占制剂重量的12.25%的量的L-草铵膦;占制剂重量的15.8%的量的烷基醚硫酸钠;占制剂重量的0.5%的量的1-甲氧基-2-丙醇;占制剂重量的4.3%的量的烷基多糖;和水。在一些实施方案中,配制的组合物包括占制剂重量的62.25%的量的水。

在另一个实例中,配制的组合物包含占制剂重量的24.5%的量的L-草铵膦;占制剂重量的22.1%的量的烷基醚硫酸钠;占制剂重量的1%的量的1-甲氧基-2-丙醇;占制剂重量

的6.2%的量的烷基多糖;和水。在一些实施方案中,配制的组合物包括占制剂重量的46.2%的量的水。

在另一个实例中,配制的组合物包含占制剂重量的12.25%的量的L-草铵膦;占制剂重量的22.1%的量的烷基醚硫酸钠;占制剂重量的1%的量的1-甲氧基-2-丙醇;占制剂重量的6.2%的量的烷基多糖;和水。在一些实施方案中,配制的组合物包括占制剂重量的58.45%的量的水。

在另一个实例中,配制的组合物包含占制剂重量的12.25%的量的L-草铵膦;占制剂重量的11.05%量的烷基醚硫酸钠;占制剂重量的0.5%的量的1-甲氧基-2-丙醇;占制剂重量的3.1%的量的烷基多糖;和水。在一些实施方案中,配制的组合物包括占制剂重量的73.1%的量的水。

水的总量可以变化,并且将部分取决于配制的组合物中其它组分的数量和用量。适用于本文提供的配制的组合物的其它组分在美国专利No.4,692,181和No.5,258,358中描述,这两篇专利的全部内容通过引用并入本文。

本文所述的配制的组合物、特别是液体和可溶性粉末可以包含一种或多种表面活性剂作为另外的助剂组分,其量足以使给定的组合物易于分散在水或油中。将表面活性剂掺入组合物中显著提高了它们的效能。本文所用的表面活性剂包括润湿剂,分散剂,助悬剂和乳化剂。阴离子、阳离子和非离子试剂可以同样的方式使用。

适合的润湿剂包括烷基苯和烷基萘磺酸盐,硫酸化脂肪醇,胺或酰胺,异硫代硫酸钠的长链酸酯,磺基琥珀酸钠的酯,硫酸化或磺酸化的脂肪酸酯石油醚磺酸盐,磺化的植物油,二叔炔二醇,烷基酚(尤其是异辛基苯酚和壬基苯酚)的聚氧乙烯衍生物,以及己糖醇酐(例如山梨坦)的单-高级脂肪酸酯的聚氧乙烯衍生物。示例性的分散剂包括甲基纤维素,聚乙烯醇,木质素磺酸钠,聚合烷基萘磺酸盐,萘磺酸钠,聚亚甲基双萘磺酸盐和N-甲基-N-(长链酸)月桂酸钠。

可以制备包含一种或多种活性成分、惰性固体增充剂和一种或多种润湿剂和分散剂的水可分散性粉末组合物。惰性固体增充剂通常是矿物来源的,例如天然粘土、硅藻土和衍生自二氧化硅的合成矿物等。这类增充剂的实例包括高岭石、绿坡缕石粘土和合成硅酸镁。本文所述的水可分散性粉末可任选地包含约5至约95重量份的活性成分(例如约15至30重量份的活性成分)、约0.25至25重量份的润湿剂、约0.25至25重量份的分散剂和4.5至约94.5重量份的惰性固体增充剂,所有份数均以总组合物的重量为基准。必要时,约0.1至2.0重量份的固体惰性增充剂可以用腐蚀性抑制剂或消泡剂或它们两者替代。

可以通过溶解或混合在一起并在分散剂的存在下将水不溶性活性成分的水性浆液研磨以得到极细颗粒的浓缩浆液来制备水性悬浮液。所得浓缩的水性悬浮液的特征在于其极小的粒度,因此当稀释和喷雾时,覆盖非常均匀。

可乳化的油通常是活性成分在与水不混溶或部分与水不混溶的溶剂以及表面活性剂中的溶液。本文所述的活性成分的适合溶剂包括烃和与水不混溶的醚、酯或酮。可乳化的油组合物通常包含约5至95份的活性成分,约1至50份的表面活性剂和约4至94份的溶剂,所有份均基于可乳化的油的总重量计。

本文所述的配制的组合物还可包含其它添加剂,例如,用作佐剂或与任何上述佐剂组合的肥料、植物毒素和植物生长调节剂、农药等。本文所述的配制的组合物也可以与其它材

料,例如肥料、其它植物毒性剂等混合,并以单次施用的形式施用。

在本文所述的每种制剂类型中,例如液体和固体制剂中,活性成分的浓度可以相同。

在一些实施方案中,该组合物可以包含2-氧代戊二酸作为主要组分。2-氧代戊二酸是重要的二羧酸,并且是三羧酸循环和氨基酸代谢中的关键中间体之一。可以通过诸如法国专利No.07199中阐述的方法从反应混合物中分离2-氧代戊二酸,该专利作为引用并入本文。2-氧代戊二酸组合物可以与药用赋形剂和载体、食品添加剂或用于形成生物材料的组分一起配制。如在Li et al.,*Bioprocess Biosyst Eng*,39:967-976 (2016)中所述,2-氧代戊二酸组合物可用于多种应用中,包括用于合成药剂、食品添加剂和生物材料。

公认配制的除草剂组合物可以与其它除草剂结合使用。本文所述的除草剂组合物通常与一种或多种其它除草剂联合施用,以控制更广泛的不良植物。当与其它除草剂结合使用时,本发明所要求保护的化合物可以与其它除草剂一起配制,与其它除草剂桶装混合或与其它除草剂依次施用。可以与本文所述的配制的除草剂组合物结合使用的一些除草剂包括:酰胺除草剂,例如草毒死、6-芳基吡啶甲酸酯、氟丁酰草胺、毒苯安、苄草胺、溴丁酰草胺、唑草胺、CDEA、赛草青、6-环丙基吡啶甲酸酯、三环塞草胺、二甲噻草胺、二甲噻草胺-P、草乃敌、三唑磺、乙胺草醚、四唑草胺、氟胺草唑、氟磺胺草醚、halosafen、丁腈酰胺、异恶唑草胺、草萘胺、萘草胺、烯草胺、拿草特、克藻胺和牧草胺;酰苯胺除草剂,例如丁酰草胺、落草胺、氯甲酰草胺、环丙草胺、吡氟酰草胺、乙氧苯草胺、双氧威、氟噻草胺、吡氟草胺、苯噻草胺、氟磺酰草胺、恶唑酰草胺、杀草利、萘丙胺、甲氯酰草胺、氟吡酰草胺和敌稗;芳基丙氨酸除草剂,例如新燕灵、异丙草氟安和异丙草氟安-M;氯乙酰苯胺除草剂,例如乙草胺、甲草胺、丁草胺、丁烯草胺、异丁草胺、乙酰甲草胺、二甲草胺、吡唑草胺、异丙甲草胺、S-异丙甲草胺、丙草胺、毒草安、异丙草胺、丙炔草胺、特丁草胺、甲氧噻草胺和二甲苯草胺;磺酰苯胺除草剂,例如乙羧氟草醚、黄草伏、嘧啶硫丹和氟唑草胺;磺酰胺除草剂,例如磺草灵、威磺灵、双氧威和氨磺乐灵;抗生素除草剂,例如双丙氨酰膦;苯甲酸除草剂,例如草灭平、麦草畏、2,3,6-TBA和杀草畏;嘧啶基氧基苯甲酸除草剂,例如双嘧菌和嘧菌;嘧啶基硫代苯甲酸除草剂,例如嘧硫草醚;邻苯二甲酸除草剂,例如敌草索;吡啶甲酸除草剂,例如氯氨吡啶酸、毕克草和氨氯吡啶酸;喹啉甲酸除草剂,例如二氯喹啉酸和喹草酸;含砷除草剂,例如二甲基胂酸、CMA、DSMA、六氟盐、MAA、MAMA、MSMA、亚砷酸钾和亚砷酸钠;苯甲酰基环己烷二酮除草剂,例如甲基磺草酮、磺草酮、特呋三酮和环磺酮;苯并呋喃基烷基磺酸盐除草剂,例如呋草磺和乙氧呋草黄;氨基甲酸酯除草剂,例如磺草灵、特噁挫威、草败死、苄胺灵、双氧威、特胺灵和特草灵;苯基氨酸甲酸酯除草剂,例如燕麦灵、BCPC、威磺灵、长杀草、CEPC、氯草灵、氯苯胺灵、CPPC、甜菜安、棉胺宁、甜菜宁、乙甲二威灵、苯胺灵和swep;环己烯脞除草剂,例如禾草灭、丁苯草酮、烯草酮、环丁烯草酮、噻草酮、环苯草酮、烯禾啉、吡喃草酮和三甲苯草酮;环丙基异噁唑除草剂,例如异噁唑草酮和异恶唑草酮;二甲酰亚胺除草剂,例如双苯噻草酮、吡啶酮草酯、氟默啉、flumiclorac、丙炔氟草胺和flumipropyn;二硝基苯胺除草剂,例如乙丁氟东灵、仲丁灵、敌乐胺、烯氯乐灵、氟消草、异乐灵、methalpropalin、磺乐灵、黄草消、二甲戊灵、氨基丙氟灵、环丙氟灵和氟乐灵;二硝基苯酚除草剂,例如地乐特、丙硝酚、戊硝酚、地乐酚、特乐酚、DNOC、硝草酚和地乐施;二苯基醚除草剂,例如氟乳醚;硝基苯基醚除草剂,例如杂草焚、苯草醚、甲羧除草醚、甲氧除草醚、全滅草、乙胺草醚、消草醚、乙羧氟草醚、氟草醚、氟磺胺草醚、呋氧草醚、halosafen、乳氟禾草灵、除草醚、三氟甲草醚和

乙氧氟草醚;氨基二硫代氨基甲酸酯除草剂,例如棉隆和威百亩;卤代脂族化合物除草剂,例如alorac、三氯丙酸、茅草枯、四氯丙酸、六氯丙酮、碘甲烷、溴甲烷、一氯乙酸、SMA和TCA;咪唑啉酮除草剂,例如咪草酸、甲氧咪草烟、甲咪唑烟酸、灭草烟、灭草嗉和咪唑乙烟酸;无机除草剂,例如氨基磺酸铵、硼砂、氯酸钙、硫酸铜、硫酸亚铁、叠氮化钾、氰酸钾、叠氮化钠、氯酸钠和硫酸;腈除草剂,例如糠溴草腈、溴苯腈、羟敌草腈、敌草腈、碳烯碘草腈、碘苯腈和双唑草腈;有机磷除草剂,例如胺草磷、莎稗磷、地散磷、双丙氨酰膦、抑草磷、2,4-DEP、DMPA、EBEP、杀木磷、草甘膦和哌草磷;苯氧基除草剂,例如杀草全、氯甲酰草胺、2,4-DEB、2,4-DEP、戊味禾草灵、disul、抑草蓬、乙胺草醚、fenteracol和trifopside;苯氧基乙酸除草剂,例如4-CPA、2,4-D、3,4-DA、MCPA、MCPA-thioethyl和2,4,5-T;苯氧基丁酸除草剂,例如4-CPB、2,4-DB、3,4-DB、MCPB和2,4,5-TB;苯氧基丙酸除草剂,例如调果酸、4-CPP、滴丙酸、3,4-DP、涕丙酸、氯苯氧丙酸和精2甲4氯丙酸;芳氧基苯氧基丙酸除草剂,例如炔禾灵、炔草酸、clofop、环氟磷、二氯苯氧基苯氧基丙酸、噁唑禾草灵、fenoxaprop-P、噁唑禾草灵、吡氟禾草灵、精吡氟禾草灵、氟吡甲禾灵、高效氟吡甲禾灵、噁草醚、恶唑酰草胺、啉草酯、啉禾灵、精啉禾灵和三氟苯氧丙酸;苯二胺除草剂,例如敌乐胺和氨基丙氟灵;吡唑基除草剂,例如吡草酮、吡唑特、磺酰草吡唑、苄草唑、砒吡草唑和苯吡唑草酮;吡唑基苯基除草剂,例如异丙吡草酯和pyraflufen;哒嗪除草剂,例如哒草醚、pyridafol和哒草特;哒嗪酮除草剂,例如溴莠敏、杀草敏、dimidazon、氟哒嗪草酯、二甲哒草伏、达草灭、草哒松和pydanon;吡啶除草剂,例如氯氨吡啶酸、碘氯啶酯、毕克草、氟硫草定、氟草烟、氟草啶、毒莠定、氟吡草胺、氯草定、噁唑烟酸和三氯吡氧乙酸;嘧啶二胺除草剂,例如异草啶和嘧草胺;季铵除草剂,例如苯草快、二乙除草双、野燕枯、敌草快、伐草快和百草枯;硫代氨基酸甲酸至除草剂,例如丁草特、草灭特、燕麦敌、EPTC、禾草畏、抑草威、氮草草、甲硫苯威、禾草特、坪草丹、克草猛、苄草丹、稗草畏、草克死、禾草丹、仲草丹、野麦畏和外莫特;硫代碳酸酯除草剂,例如敌灭生、EXD和扑灭生;硫脲除草剂,例如灭草恒;三嗪除草剂,例如杀草净、三嗪氟草胺和氰尿酸;氯三嗪除草剂,例如莠去津、可乐津、氰草津、环草津、甘草津、草怕津、灭莠津、环丙腈津、甘扑津、扑灭津、另丁津、西玛津、特丁津和草达津;甲氧基三嗪除草剂,例如阿特拉通、醚草通、扑灭通、仲丁通、西玛通和特丁通;甲基硫代三嗪除草剂,例如莠灭净、叠氮津、氰草净、敌草净、威罗生、盖草津、扑草净、西草净和特丁净;三嗪酮除草剂,例如胺嗪酮、胺嗪草酮、环嗪酮、丁胺嗪、苯嗪草酮和赛克津;三唑除草剂,例如杀草强、唑草胺、三唑磺和氟胺草唑;三唑酮除草剂,例如氨唑草酮、苯唑磺隆、carfentrazone、氟酮磺隆、丙苯磺隆、甲磺草胺和噁酮磺隆;三嗪并嘧啶除草剂,例如氯酯磺草胺、双氯磺草胺、双氟磺草胺、唑嘧磺草胺、磺草唑胺、五氟磺草胺和甲氧磺草胺;尿嘧啶除草剂,例如氟丙嘧草酯、除草定、flupropacil、isocil、环草定和特草定;3-苯基尿嘧啶;脲除草剂,例如噁草隆、苄草隆、环莠隆、氯双脲、氟吡草隆、异草完隆、异恶隆、噁唑隆、特唑隆和草完隆;苯基脲除草剂,例如anisuron、炔草隆、氯溴隆、乙氧苯隆、绿麦隆、枯草隆、杀草隆、枯莠隆、噁唑隆、敌草隆、非草隆、伏草隆、氟硫隆、异丙隆、利谷隆、灭草恒、甲基杀草隆、吡喃隆、秀谷隆、甲氧隆、绿谷隆、灭草隆、草不隆、对伏草隆、稀草隆、环草隆、四氯隆和噁苯隆;嘧啶基磺酰脲除草剂,例如酰嘧磺隆、四唑嘧磺隆、苄嘧磺隆、氯嘧磺隆、环丙嘧磺隆、乙氧嘧磺隆、啶嘧磺隆、氟吡磺隆、氟啶嘧磺隆、甲酰胺基嘧磺隆、卤磺隆、依速隆、甲基二磺隆、烟嘧磺隆、嘧苯胺磺隆、环氧嘧磺隆、氟嘧磺隆、吡嘧磺隆、砒嘧磺隆、磺甲基隆、磺酰磺隆和三氟啶磺隆;三嗪基磺酰脲除草剂,例如氯

磺隆、醚磺隆、胺苯磺隆、碘甲磺隆、甲磺隆、氟磺隆、噻吩磺隆、醚苯磺隆、苯磺隆、氟胺磺隆和三氟甲磺隆；噻二唑基脲除草剂，例如丁噻隆、砒噻隆、丁噻隆、噻氟隆和噻苯隆；和未分类的除草剂，例如丙烯醛、烯丙醇、氯丙嘧啶酸、嘧啶草酮、草除灵、苯达松、双环磺草酮、丁硫咪唑酮、氰氨化钙、克草胺酯、伐草克、chlorfenprop、氟咪杀、整形素、环庚草醚、广灭灵、CPMF、甲酚、邻二氯苯、哌草丹、草藻灭、嘧啶草、氟啶草酮、氟咯草酮、呋草酮、噻草酸甲酯、茚草酮、灭草定、异硫氰酸甲酯、吡氯草胺、OCH、丙炔恶草酮、恶草酮、噁嗪草酮、五氯酚、噁嗪酮、乙酸苯汞、草吡唑、甲硫基磺乐灵、嘧啶肟草醚、环酯草醚、灭藻醌、硫氰苯胺、吡啶磺酯、噻二唑草胺、灭草环、三甲隆、茚草酮和草达克。本发明的除草剂组合物还可以与草甘膦、麦草畏或2,4-D结合在耐草甘膦、耐麦草畏或耐2,4-D的作物上使用。通常优选将本文所述的组合物与除草剂组合使用，所述除草剂对所处理的农作物具有选择性，并且在所采用的施用率下补充由这些组合物控制的杂草谱。进一步通常优选作为组合制剂或作为桶混物同时施用本文所述的组合物和其它补充除草剂。

IV. 使用方法

本文所述的组合物可以用于在田间或任何其它区域中选择性地控制杂草的方法中，所述田间或其它区域包括例如铁路、草坪、高尔夫球场以及其中期望控制杂草的其它区域。任选地，田间或其它区域可以包含对草胺膦具有抗性的已种植的种子或农作物。该方法可以包括将有效量的包含本文所述的L-草胺膦的组合物施用于田地。

本文所述的组合物可用于应用于作物领域以预防或控制杂草。可以将所述组合物配制成用于在田间喷雾的液体。L-草胺膦以有效量存在于组合物中。如本文所用，有效量是指约10克活性成分/公顷至约1,500克活性成分/公顷，例如约50克至约400克或约100克至约350克。在一些实施方案中，活性成分为L-草胺膦。例如，组合物中L-草胺膦的量可以为约10克、约50克、约100克、约150克、约200克、约250克、约300克、约350克、约400克、约500克、约550克、约600克、约650克、约700克、约750克、约800克、约850克、约900克、约950克、约1,000克、约1,050克、约1,100克、约1,150克、约1,200克、约1,250克、约1,300克、约1,350克、约1,400克、约1,450克或约1,500克L-草胺膦/公顷。

V. 示例性实施方案

非限制性实施方案包括：

1. 用于从包含L-草胺膦和谷氨酸的组合物中纯化L-草胺膦的方法，通过将谷氨酸转化为焦谷氨酸以促进L-草胺膦的分离来进行，该方法包括：

使包含L-草胺膦和谷氨酸的L-草胺膦组合物在升高的温度下反应足够的时间期限，以将大部分谷氨酸转化为焦谷氨酸；和

将L-草胺膦与组合物的焦谷氨酸和其它组分分离，以得到基本上纯化的L-草胺膦(占L-草胺膦、谷氨酸和焦谷氨酸总和的90%或更高)的组合物。

2. 实施方案1的方法，其中首先通过结晶和过滤将组合物中一部分初始的谷氨酸与L-草胺膦分离，然后将谷氨酸转化为焦谷氨酸。

3. 实施方案2的方法，其中将分离的谷氨酸再循环到合并D-氨基酸氧化酶和转氨酶的酶促反应中。

4. 实施方案1的方法，其中使用离子交换将L-草胺膦与焦谷氨酸分离。

5. 实施方案4的方法，还包括将使用离子交换分离的L-草胺膦与甲醇接触以沉淀无机

盐。

6. 实施方案1的方法,其中使用尺寸排阻色谱法将L-草胺磷与焦谷氨酸分离。

7. 实施方案1的方法,其中所述升高的温度包括120℃至180℃的温度

8. 实施方案1的方法,其中所述足够的时间期限包括至少2小时。

9. 实施方案8的方法,其中所述足够的时间期限包括2小时至18小时。

10. 用于纯化L-草胺磷的方法,包括将过量的谷氨酸转化为焦谷氨酸以促进L-草胺磷的分离,该方法包括:

使包含L-草胺磷和谷氨酸的L-草胺磷组合物在谷氨酰胺酰基-肽环化转移酶存在下反应足够的时间期限,以将大部分谷氨酸转化为焦谷氨酸;和

将L-草胺磷与组合物的焦谷氨酸和其它组分分离,以得到基本上纯化的L-草胺磷(占L-草胺磷、谷氨酸和焦谷氨酸总和的90%或更高)的组合物。

11. 实施方案10的方法,其中所述足够的时间期限包括至少2小时。

12. 实施方案11的方法,其中所述足够的时间期限包括2小时至18小时。

13. 实施方案10的方法,其中使用离子交换将L-草胺磷与焦谷氨酸分离。

14. 实施方案13的方法,还包括将使用离子交换分离的L-草胺磷与甲醇接触以沉淀无机盐。

15. 实施方案10的方法,其中使用尺寸排阻色谱法将L-草胺磷与焦谷氨酸分离。

16. 用于从制备L-草胺磷的方法中得到作为副产物的纯化的琥珀酸的方法,该方法包括:

使用来自组合物中存在的谷氨酸的胺基,通过转氨酶(TA)将PPO胺化为L-草胺磷,由此产生2-氧代戊二酸副产物;

使包含L-草胺磷、谷氨酸和2-氧代戊二酸的L-草胺磷组合物在升高的温度下反应足够的时间期限,以将大部分谷氨酸转化为焦谷氨酸;

通过离子交换将2-氧代戊二酸从组合物中分离,以得到基本上纯化的2-氧戊二酸的组合物;和

使基本上纯化的2-氧代戊二酸与过氧化氢接触,以得到基本上纯化的琥珀酸的组合物。

17. 实施方案10或16的方法,其中首先通过结晶和过滤将组合物中一部分初始的谷氨酸与L-草胺磷分离,然后将谷氨酸转化为焦谷氨酸。

18. 实施方案17的方法,其中添加酸以使谷氨酸结晶。

19. 实施方案18的方法,其中所述酸选自硫酸、盐酸、磷酸、甲酸和乙酸。

20. 实施方案18的方法,其中在添加所述酸之前、期间或之后,将所述组合物加热至升高的温度。

21. 实施方案20的方法,其中所述升高的温度的范围在约35℃至约90℃。

22. 实施方案20的方法,其中所述升高的温度的范围在约40℃至约80℃。

23. 实施方案20的方法,其中所述升高的温度的范围在约50℃至约70℃。

24. 实施方案20的方法,其中在加热后将所述组合物冷却至低于25℃的温度。

25. 实施方案24的方法,其中所述温度的范围在约-5℃至约15℃。

26. 实施方案24的方法,其中所述温度的范围在约0℃至约10℃。

27. 实施方案17的方法, 其中将分离的谷氨酸再循环到合并D-氨基酸氧化酶和转氨酶的酶促反应中。

28. 实施方案1或16的方法, 其中所述升高的温度包括120℃至180℃的温度。

29. 实施方案10或16的方法, 其中所述足够的时间期限包括至少2小时。

30. 实施方案29的方法, 其中所述足够的时间期限包括2小时至18小时。

31. 实施方案1或16的方法, 其中在加热至升高的温度之前, 通过添加酸将组合物的pH调节至<7。

32. 实施方案31的方法, 其中所述酸选自硫酸、盐酸和磷酸。

33. 实施方案31的方法, 其中将pH调节至约pH 1至约pH 6。

34. 实施方案31的方法, 其中将pH调节至约pH 2至约pH 5。

35. 实施方案31的方法, 其中将pH调节至约pH 3至约pH 4。

36. 实施方案1、10和16任一项的方法, 其中在离子交换步骤之前, 将碱加入到所述组合物中。

37. 用于从制备L-草胺膦的方法中得到作为副产物的纯化的琥珀酸的方法, 该方法包括:

使用来自组合物中存在的谷氨酸的氨基, 通过转氨酶(TA)将PPO胺化为L-草胺膦, 由此产生2-氧代戊二酸副产物;

使包含L-草胺膦、谷氨酸和2-氧代戊二酸的L-草胺膦组合物在升高的温度下反应足够的时间期限, 以将大部分谷氨酸转化为焦谷氨酸;

通过尺寸排阻色谱法将2-氧代戊二酸从组合物中分离, 以得到基本上纯化的2-氧戊二酸的组合物; 和

使基本上纯化的2-氧代戊二酸与过氧化氢接触, 以得到基本上纯化的琥珀酸的组合物。

38. 实施方案37的方法, 其中在尺寸排阻步骤之前, 将碱加入到所述组合物中。

39. 实施方案36或实施方案38的方法, 其中所述碱选自氢氧化钠、氢氧化钾和氢氧化铵。

40. 实施方案36或实施方案38的方法, 其中将所述组合物的pH调节至约pH 2至约pH 8。

41. 实施方案36或实施方案38的方法, 其中将所述组合物的pH调节至约pH 3至约pH 7。

42. 实施方案36或实施方案38的方法, 其中将所述组合物的pH调节至约pH 4至约pH 6。

43. 实施方案36或实施方案38的方法, 其中将得到的组合物通过膜分离器加工。

44. 实施方案36或实施方案38的方法, 其中将所述组合物冷却至低于约25℃的温度, 保持足够的时间期限, 且然后过滤。

45. 实施方案44的方法, 其中所述温度不超过约20℃。

46. 实施方案的方法44, 其中所述温度不超过约10℃。

47. 实施方案44的方法, 其中所述温度不超过约5℃。

48. 实施方案44的方法, 其中所述温度不超过约0℃。

49. 实施方案44的方法, 其中所述足够的时间期限包括至少1小时。

50. 实施方案49的方法, 其中所述足够的时间期限包括1小时至24小时。

51. 实施方案1、10和16任一项的方法, 其中所述离子交换通过使组合物与阴离子交换

树脂或阳离子交换树脂接触来进行。

52. 实施方案51的方法,其中所述离子交换树脂由基于聚合物的交联基质组成,所述基于聚合物的交联基质由单乙烯基单体和聚乙烯交联剂制成。

53. 实施方案52的方法,其中所述单乙烯基单体为苯乙烯,且所述聚乙烯基交联剂为二乙烯基苯。

54. 实施方案52的方法,其中所述离子交换树脂的孔隙率为微孔、中孔或大孔。

55. 实施方案52的方法,其中所述离子交换树脂为凝胶型树脂。

56. 实施方案52的方法,其中所述离子交换树脂具有10微米至2000微米的中值粒径。

57. 实施方案52的方法,其中所述离子交换树脂具有100微米至1000微米的中值粒径。

58. 实施方案52的方法,其中所述离子交换树脂为具有均匀粒径分布的珠粒形式。

59. 实施方案51-58的任一项或多项的方法,其中所述离子交换树脂为强阴离子交换树脂。

60. 实施方案59的方法,其中所述阴离子交换树脂选自DOWEX™MARATHON™A, DOWEX™MONOSPHERE™550A, **DOWEX®** MONOSPHERE™MSA和DOWEX™XUR-1525-L09-046,一种实验性凝胶型、均匀粒径在300微米范围内的强碱性阴离子树脂I型(三甲胺季铵,氯化物形式)。

61. 实施方案59的方法,其中所述阴离子交换树脂以羟基形式使用。

62. 实施方案1、10和16任一项的方法,其中所述离子交换方法在3-8的pH范围内进行。

63. 实施方案1、10和16任一项的方法,其中所述离子交换方法在4-8的pH范围内进行。

64. 实施方案1、10和16任一项的方法,其中所述离子交换方法在5-8的pH范围内进行。

65. 实施方案1、10和16任一项的方法,其中所述离子交换方法在6-7的pH范围内进行。

66. 实施方案1、10和16任一项的方法,其中所述离子交换方法在20℃-70℃的温度范围内进行。

67. 实施方案1、10和16任一项的方法,其中所述离子交换方法在30℃-60℃的温度范围内进行。

68. 实施方案1、10和16任一项的方法,其中所述离子交换方法在40℃-50℃的温度范围内进行。

69. 实施方案51-58的任一项或多项的方法,其中所述离子交换树脂为强阳离子交换树脂。

70. 实施方案69的方法,其中所述阳离子交换树脂以氢形式使用。

71. 实施方案69的方法,其中所述阳离子交换树脂选自DOWEX™50WX8, DOWEX™MONOSPHERE™99K/350, DOWEX™MONOSPHERE™C和DOWEX™MARATHON™MSC。

72. 实施方案69的方法,其中所述离子交换方法在0.4-7的pH范围内进行。

73. 实施方案69的方法,其中所述交换方法在0.6-7的pH范围内进行。

74. 实施方案69的方法,其中所述离子交换方法在1-6的pH范围内进行。

75. 实施方案69的方法,其中所述离子交换方法在1-4.5的pH范围内进行。

76. 实施方案69的方法,其中所述离子交换方法在20℃-70℃的温度范围内进行。

77. 实施方案69的方法,其中所述离子交换方法在30℃-60℃的温度范围内进行。

78. 实施方案69的方法,其中所述离子交换方法在40℃-50℃的温度范围内进行。

79. 实施方案1、10和16任一项的方法,其中在所述离子交换之前,将所述组合物浓缩或脱色或进行它们两者。

80. 实施方案79的方法,其中用活性炭或活性碳给所述组合物脱色。

81. 实施方案79的方法,其中用聚合物材料给所述组合物脱色。

82. 实施方案1、10和16任一项的方法,其中使所述组合物和离子交换树脂以分批模式接触。

83. 实施方案1、10和16任一项的方法,其中使所述组合物和离子交换树脂以流动模式接触。

84. 实施方案83的方法,其中所述流动模式使用模拟移动床色谱法。

85. 实施方案84的方法,其中在模拟移动床色谱法之前,对所述组合物进行预处理吸附步骤以除去组合物中的一种或多种组分。

86. 再生用于实施方案1、10和16任一项的方法的树脂的方法,其中使所述树脂与包含酸、碱、水和无机盐的一种或多种的组合物接触。

87. 实施方案86的方法,其中所述碱为氢氧化钠。

88. 实施方案86的方法,其中所述无机盐选自氯化钠、硫酸钠、氯化铵和硫酸铵。

89. 实施方案86的方法,其中所述酸为硫酸。

90. 实施方案86的方法,其中所述组合物包含不超过0.5M氢氧化钠和不超过1.5M氯化钠。

91. 实施方案86的方法,其中所述组合物包含不超过0.1M氢氧化钠和不超过1.5M氯化钠。

92. 实施方案的方法86,其中所述组合物包含不超过0.5M氯化钠。

93. 实施方案86的方法,其中所述组合物包含不超过0.5M硫酸钠。

94. 实施方案86的方法,其中所述再生产生基本上纯化的2-氧代戊二酸的溶液。

95. 实施方案94的方法,其中使基本上纯化的2-氧代戊二酸的溶液与过氧化氢接触,产生基本上纯化的琥珀酸。

96. 实施方案1、10和16任一项的方法,其中将所述基本上纯化的L-草胺膦减少至得到浓缩物,可以将其直接配制成除草剂产品。

97. 实施方案1、10和16任一项的方法,其中使所述基本上纯化的L-草胺膦浓缩通过其中结晶或沉淀发生的点,并将得到的固体过滤和干燥。

98. 实施方案97的方法,其中在所述浓缩之前、期间或之后添加溶剂。

99. 实施方案98的方法,其中所述溶剂选自丙酮,甲醇,乙醇,1-丙醇,2-丙醇,乙腈,四氢呋喃,1-甲基-2-丙醇,1,2-丙二醇,1,2-乙二醇,三乙胺,异丙胺和氢氧化铵。

100. 实施方案1、10和16任一项的方法,其中将基本上纯化的L-草胺膦浓缩,产生干燥的固体。

101. 实施方案1、10和16任一项的方法,其中将基本上纯化的L-草胺膦喷雾干燥。

102. 实施方案1、10和16任一项的方法,其中在喷雾干燥之前将基本上纯化的L-草胺膦部分浓缩。

103. 实施方案1、10和16任一项的方法,其中在喷雾干燥之前将制剂成分与基本上纯化的L-草胺膦混合。

104. 用于从包含L-草胺磷和谷氨酸的组合物中纯化L-草胺磷的方法, 通过将谷氨酸转化为焦谷氨酸以促进L-草胺磷的分离来进行, 该方法包括:

添加硫酸以使组合物达到pH 3.7, 从而使谷氨酸结晶, 并将固体谷氨酸从组合物中除去;

使组合物在升高的温度下反应足够的时间期限, 以将大部分剩余的谷氨酸转化为焦谷氨酸;

减少组合物的体积;

添加氢氧化钠, 直至组合物的pH为pH 6至pH 7;

将组合物冷却到5°C至混合物的凝固点(大约-10至-20°C)的温度, 在此期间硫酸钠沉淀;

将硫酸钠晶体从组合物中过滤;

使组合物与离子交换树脂接触以除去焦谷氨酸, 并得到基本上纯化的L-草胺磷的组合物; 和

减少所述基本上纯化的L-草胺磷的组合物体积。

105. 实施方案104的方法, 其中将所述基本上纯化的L-草胺磷的组合物体积减少至得到固体。

106. 实施方案104的方法, 其中将所述基本上纯化的L-草胺磷的组合物体积浓缩至适用于除草剂制剂的量。

107. 实施方案104的方法, 其中通过过滤或离心从组合物中除去所述固体谷氨酸。

108. 实施方案104的方法, 其中通过真空蒸馏、膜分离、蒸发、薄膜蒸发或刮膜蒸发来减少组合物的体积。

109. 实施方案104的方法, 其中通过过滤或离心从组合物中过滤所述硫酸钠晶体。

110. L-草胺磷形式A, 其特征在于X-射线粉末衍射(XRPD)图案, 所述XRPD图案包含至少3个峰, 其选自10.1, 10.8, 16.8, 17.2, 18.3, 20.0, 20.2, 21.2, 21.5, 24.1, 24.3, 25.1, 25.6, 26.9, 28.6, 29.0, 29.7, 29.9, 31.9, 33.4, 33.7, 34.5, 34.9, 35.4, 35.7, 36.1, 36.7, 37.1, 37.5, 38.2和39.8°2 θ , $\pm 0.2^\circ 2\theta$, 如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。

111. 实施方案110的L-草胺磷形式A, 其中所述XRPD图案包含至少6个峰, 其选自10.1, 16.8, 18.3, 21.2, 24.1, 24.3, 25.6, 26.9, 28.6, 29.0和34.5°2 θ , $\pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

112. 实施方案110的L-草胺磷形式A, 其中所述XRPD图案包含至少10个峰, 其选自10.1, 16.8, 18.3, 21.2, 24.1, 24.3, 25.6, 26.9, 28.6, 29.0和34.5°2 θ , $\pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

113. 实施方案110的L-草胺磷形式A, 其中所述XRPD图案基本上与图1一致。

114. L-草胺磷形式B, 其特征在于X-射线粉末衍射(XRPD)图案, 所述XRPD图案包含至少3个峰, 其选自10.0, 11.4, 12.5, 16.5, 17.4, 18.1, 19.6, 20.0, 21.8, 22.9, 23.6, 24.0, 25.1, 25.5, 26.1, 26.3, 26.4, 27.9, 28.2, 28.4, 28.7, 29.2, 30.2, 30.9, 31.6, 31.7, 32.7, 33.0, 33.3, 34.3, 35.2, 36.7, 37.2, 37.4, 37.8, 38.3, 38.7和39.3°2 θ , $\pm 0.2^\circ 2\theta$, 如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。

115. 实施方案114的L-草胺磷形式B, 其中所述XRPD图案包含至少6个峰, 其选自10.0, 12.5, 16.5, 17.4, 18.1, 19.6, 20.0, 21.8, 22.9, 23.6, 24.0, 25.5, 26.3, 26.4, 29.2, 34.3, 35.2和37.4°2 θ , $\pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

116. 实施方案114的L-草胺膦形式B,其中所述XRPD图案包含至少10个峰,其选自10.0, 12.5, 16.5, 17.4, 18.1, 19.6, 20.0, 21.8, 22.9, 23.6, 24.0, 25.5, 26.3, 26.4, 29.2, 34.3, 35.2和 $37.4^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$ 。

117. 实施方案114的L-草胺膦形式B,其中所述XRPD图案基本上与图3一致。

118. L-草胺膦形式C,其特征在于X-射线粉末衍射(XRPD)图案,所述XRPD图案包含至少3个峰,其选自9.1, 10.9, 16.1, 16.8, 17.3, 18.3, 20.1, 21.4, 21.8, 22.4, 22.7, 24.1, 24.9, 25.4, 25.6, 26.1, 26.6, 27.7, 28.3, 28.9, 30.8, 31.9, 32.6, 33.6, 33.9, 35.1, 36.6, 37.1, 37.5, 38.3, 38.9和 $39.7^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$,如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。

119. 实施方案118的L-草胺膦形式C,其中所述XRPD图案包含至少6个峰,其选自9.1, 16.1, 16.8, 17.3, 21.8, 24.1, 24.9, 25.6, 26.1, 28.3和 $28.9^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$ 。

120. 实施方案118的L-草胺膦形式C,其中所述XRPD图案包含至少10个峰,其选自9.1, 16.1, 16.8, 17.3, 21.8, 24.1, 24.9, 25.6, 26.1, 28.3和 $28.9^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$ 。

121. 实施方案118的L-草胺膦形式C,其中所述XRPD图案基本上与图5一致。

122. L-草胺膦形式D,其特征在于X-射线粉末衍射(XRPD)图案,所述XRPD图案包含至少3个峰,其选自9.1, 11.6, 13.1, 14.1, 14.4, 16.2, 17.7, 18.2, 18.9, 19.3, 19.7, 21.2, 21.8, 22.4, 23.2, 23.5, 25.3, 25.8, 26.2, 27.2, 28.6, 29.1, 30.0, 30.6, 31.1, 31.6, 32.7, 33.5, 34.4, 34.7, 35.4, 35.9, 36.4和 $37.4^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$,如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。

123. 实施方案122的L-草胺膦形式D,其中所述XRPD图案包含至少6个峰,其选自9.1, 17.7, 18.2, 18.9, 22.4, 23.2, 23.5, 26.2, 33.5和 $36.4^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$ 。

124. 实施方案122的L-草胺膦形式D,其中所述XRPD图案包含在9.1, 17.7, 18.2, 18.9, 22.4, 23.2, 23.5, 26.2, 33.5和 $36.4^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$ 的峰。

125. 实施方案122的L-草胺膦形式D,其中所述XRPD图案基本上与图7一致。

126. L-草胺膦盐酸盐形式E,其特征在于X-射线粉末衍射(XRPD)图案,所述XRPD图案包含至少3个峰,其选自13.1, 16.8, 18.2, 19.4, 20.5, 20.9, 21.4, 22.5, 23.4, 25.3, 26.2, 26.5, 26.9, 27.8, 28.1, 30.2, 31.2, 31.5, 32.3, 33.8, 34.4, 35.3, 35.7, 36.3, 36.9, 37.8, 38.2, 38.8和 $39.4^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$,如在使用Cu-K α 射线的衍射仪上所测定的。

127. 实施方案126的L-草胺膦盐酸盐形式E,其中所述XRPD图案包含至少6个峰,其选自16.8, 18.2, 20.5, 21.4, 22.5, 22.9, 23.4, 25.3, 30.2和 $31.2^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$ 。

128. 实施方案126的L-草胺膦盐酸盐形式E,其中所述XRPD图案包含至少10个峰,其选自16.8, 18.2, 20.5, 21.4, 22.5, 22.9, 23.4, 25.3, 30.2和 $31.2^{\circ}2\theta$, $\pm 0.2^{\circ}2\theta$ 。

129. 实施方案126的L-草胺膦盐酸盐形式E,其中所述XRPD图案基本上与图9一致。

130. 固体L-草胺膦,其为X-射线无定形的。

下列实施例通过示例提供,但决不起限定作用。

实施例

实施例1:在3L反应规模下的外消旋D/L-草胺膦的去外消旋化

在本实施例中,反应在3L搅拌的夹套反应器中进行。反应开始时添加了以下试剂: 900mM D,L-草胺膦、2700mM谷氨酸和2,535克水。加热至30°C后,使用约45克3N NaOH将pH调

节至7.8。向反应器中添加0.30克消泡剂AF204 (Sigma-Aldrich) 和0.60克溶于10mL水的过氧化氢酶。向反应器中装入188克塑料珠粒,在其上固定6克AC302 DAAO和0.9克大肠杆菌gab T转氨酶,然后加入400克水。在搅拌反应体系的过程中,通过两个不锈钢喷石以1.7VVM (气体体积/反应混合物体积/每分钟) 导入富含氧的空气 (35%O₂,65%N₂)。反应的HPLC分析表明,在10小时内达到平衡,L-草胺磷相对D-草胺磷的对映体过量大于99%,且L-草胺磷与PPO之比为90%:10%。该结果表明,在较大规模上,通过RgDAAO/EcgabT酶对,D/L-草胺磷有效地去外消旋化为L-草胺磷。

实施例2:使用浓盐酸结晶谷氨酸

按照与实施例1类似的方法,通过过滤除去珠粒,并将滤液加热至35℃。将浓盐酸缓慢加入该批料中,直到pH达到3.7。在加热浴中将该批料加热至60℃并保持60分钟。关闭加热浴,并使该批料冷却至环境温度过夜。将该批料冷却至0℃并保持1小时。过滤除去白色沉淀。通过NMR分析测定滤液中L-草胺磷与谷氨酸的摩尔比为88:12。

实施例3:使用浓硫酸结晶谷氨酸

按照与实施例1类似的方法,通过过滤除去珠粒,并将滤液加热至35℃。将浓硫酸缓慢加入到批料中,直到pH达到3.7。在加热浴中将该批料加热至60℃并保持60分钟。关闭加热浴,并使该批料冷却至环境温度过夜。将该批料冷却至0℃并保持1小时。过滤除去白色沉淀。通过NMR分析测定滤液中L-草胺磷与谷氨酸的摩尔比为85:15。

实施例4:焦谷氨酸的形成

按照与实施例2类似的方法,将部分滤液在高压釜中加热至140℃达3.5小时。反应物料样品的NMR分析表明,L-草胺磷与谷氨酸的摩尔比为95:5。NMR分析也证实存在焦谷氨酸。在NMR结果中没有观察到L-草胺磷分解的证据。

实施例5:焦谷氨酸的形成

按照与实施例3类似的方法,将一部分滤液用硫酸进一步调节至pH 3.0。调节pH之前,L-草胺磷的浓度为大约310mM。然后在高压釜中将液体加热到125℃保持18小时。反应物料样品的NMR分析表明,L-草胺磷与谷氨酸的摩尔比为98:2。NMR分析也证实存在焦谷氨酸。在NMR结果中没有观察到L-草胺磷分解的证据。

实施例6:浓缩反应物料、然后形成焦谷氨酸

按照与实施例3类似的方法,通过真空蒸馏将滤液浓缩至大约412mM的L-草胺磷浓度。使用硫酸将一部分浓缩溶液的pH进一步调节至3.0。然后在高压釜中将液体加热到125℃保持18小时。反应物料样品的NMR分析表明,L-草胺磷与谷氨酸的摩尔比为98:2。NMR分析也证实存在焦谷氨酸。在NMR结果中没有观察到L-草胺磷分解的证据。

实施例7:浓缩反应物料、然后冷却并沉淀出硫酸钠

按照与实施例5类似的方法,通过真空蒸馏将环化反应后的反应物料浓缩至大约404mM的L-草胺磷浓度,然后冷却至室温。将300mL部分的浓缩溶液转移至烧杯中,并通过添加11.7克固体氢氧化钠(97%,Sigma-Aldrich)将pH调节至6.2。将烧杯置于-20℃的冰箱中约4小时,在此期间整个混合物冻结。将烧杯从冰箱中移出,并置于大约0℃的冰浴中约4小时。在此期间,定期用手将内含物适度混合。烧杯中的内容物用预先冷却至约4℃的布氏漏斗过滤在滤纸上。滤液的重量为247克,滤液的体积为215mL。L-草胺磷的浓度为约550mM。排干所有液体后,晶体的总重量为115克;晶体的HPLC分析表明仅存在痕量的L-草胺磷和其它有机

杂质。将10克部分的干燥晶体转移至烧杯中,将其置于加热至45℃的温育箱中。此后不久,观察到几乎所有晶体熔化。根据Handbook of Chemistry and Physics (63rd Ed. (1982), R.C.Weast, Ed.; CRC Press, Inc., Boca Raton, FL; B-150页),十水硫酸钠的熔点为32.38℃。将烧杯从温育箱中移出并置于水浴中。使水浴达到沸腾。最终,烧杯中的液体消失,得到固体。在通过蒸发将所有液体从烧杯中除去之后,将烧杯冷却并称重剩余的固体。烧杯中残留大约4.2克固体。

实施例8:焦谷氨酸的形成和用阳离子交换树脂的纯化(分批模式)

按照类似于实施例1的方法,通过过滤除去珠粒,并向该批料中缓慢加入浓HCl直至pH达到4.0。过滤除去白色沉淀。然后将一部分滤液在高压釜中加热到140℃4小时。反应物料样品的NMR分析显示谷氨酸转化为焦谷氨酸的转化率>94%。

冷却至室温后,添加37% HCl以将溶液调节至pH 1。该溶液用预洗洗涤的DOWEX™50WX8阳离子交换树脂处理。在处理过程中,使溶液与树脂混合30分钟,此后,用过滤器分离树脂。然后将树脂用水洗涤,然后用4M NH₄OH洗脱。将洗脱液真空浓缩成固体,该固体含有90-98%的纯L-草胺磷和2-10%的谷氨酸,均为它们的单铵盐,如通过NMR所测定的。

实施例9:在柱中使用阴离子交换树脂的纯化(流动模式)

给1"直径和24"长度的带夹套玻璃柱填充强碱阴离子交换树脂(DOWEX™XUR-1525-L09-046,一种实验性凝胶型、均匀粒径在300微米范围内的强碱性阴离子树脂I型(三甲基胺季铵盐,氯化物形式,得自Dow Chemical Company)),其已转化为羟基形式。将树脂柱加热至约60℃,并用水冲洗,直到流出物的pH为大约pH 6。向该柱中泵入270mL按照与实施例5类似的方法制备的溶液。在泵送之前,用NaOH将溶液调节至pH 6并加热至约60℃。流速为大约10.5mL/min。当反应混合物向柱的进料完成时,将约900mL的水调节至pH 6,进料至柱中。收集大约100mL的柱流出液,并作为空体积丢弃,然后使用级分收集器收集65个各大约12mL的级分。通过HPLC/UV分析级分,且下表1显示了L-草胺磷和其它组分的浓度。

表1

级分#	L-草胺磷 (mM)	焦谷氨酸 (mM)	2-氧代戊二酸 (mM)	PPO (mM)
1	0	0.045	0	0
4	0	0.044	0	0
7	10.3	0.11	1.5	0
10	104	0.89	3.1	0
13	138	1.06	2.8	0
16	165	0.93	2.3	0
19	171	2.57	2.7	0
22	182	17.2	3.5	0
25	157	51.4	0.77	0
7-22	130	2.08	2.6	0

表1中的最后一行显示了将级分7至22合并为基本上纯化的L-草胺磷的单一溶液后的HPLC结果。

实施例10:在柱中使用阴离子交换树脂纯化浓缩的反应物料(流动模式)

按照与实施例5类似的方法制备溶液,除了通过真空蒸馏浓缩溶液之外。将溶液的体积减少约2.3倍。使用NaOH将该溶液的pH调节至6.7,并加热至约60℃。按照与实施例8类似的方法,将270mL溶液进料至强碱性阴离子树脂(DOWEX™XUR-1525-L09-046,一种实验性凝胶型、均匀粒径在300微米范围内的强碱性阴离子树脂I型(三甲基胺季铵盐,氯化物形式,得自Dow Chemical Company)),其已转化为羟基形式。在进料该溶液之前,将树脂柱加热至约60℃并用水冲洗,直到流出液的pH为大约pH 6。流速为大约10.5mL/min。当反应混合物向柱的进料完成时,将大约900mL的水调节至pH 6,进给至柱。收集大约100mL的柱流出液,并作为空体积丢弃,然后使用级分收集器收集66个各大约15mL的级分。通过HPLC/UV分析级分,且下表2显示了L-草胺磷和其它组分的浓度。

表2

级分#	L-草胺磷 (mM)	焦谷氨酸 (mM)	2-氧代戊二酸 (mM)	PPO (mM)
1	0	0.20	0	0
4	0	0.38	0	0
7	148	2.5	0	0
10	281	0	0	0
13	320	2.5	0	0
16	335	10	3.7	0
19	310	86	8.9	0
22	299	218	14	0
25	179	9.7	0	0
6-19	385	15.7	3.6	0

表2中的最后一行显示了将级分6至19合并为基本上纯化的L-草胺磷的单一溶液后的HPLC结果。

实施例11:使用阴离子交换树脂在35℃在柱中纯化浓缩的反应物料(流动模式)

按照与实施例5类似的方法制备溶液。使用NaOH将该溶液的pH调节至6.2,并加热至约35℃。按照与实施例8类似的方法,将270mL溶液进料至强碱阴离子树脂(DOWEX™MONOSPHERE™550A,为氢氧化物形式,Dow Chemical Company的产品)。在进料该溶液之前,将树脂柱加热至约35℃并用水冲洗,直到流出物的pH为约pH 7。流速为大约5.5mL/min。当反应混合物向柱的进料完成时,将大约1000mL的水调节至pH 7,进料至柱。收集大约100mL的柱流出液,并作为空体积丢弃,此后使用级分收集器收集44个各大约15mL的级分。通过HPLC/UV分析级分,且下表3显示了L-草胺磷和其它组分的浓度。

表3

级分#	L-草胺膦 (mM)	焦谷氨酸 (mM)	2-氧代戊二酸 (mM)	PPO (mM)
1	0	0	0	0
3	0	0	0	0
5	48	0	0	0
7	319	2.5	0	0
9	187	3.5	0.54	0
11	135	4.6	1.2	0
13	116	8.9	1.3	0
15	155	24	2.1	0
17	169	47	0	0
19	152	64	0	0
21	141	80	0	0
23	62	103	0	0
25	0	7.9	0	0
5-15	113	5.7	0.6	0

表3中的最后一行显示了将级分5-15合并为基本上纯化的L-草胺膦的单一溶液后的HPLC结果。

实施例12:使用阴离子交换树脂在25℃在两个串联操作的柱中对反应物料进行纯化(流动模式)

给两根24"柱填充强碱性阴离子树脂(DOWEX™XUR-1525-L09-046,一种实验性凝胶型、均匀粒径在300微米范围内的强碱性阴离子树脂I型(三甲基胺季铵盐,氯化物形式,得自Dow Chemical Company)),其已被转化为羟基形式。将柱维持在约25℃的温度。将管路和多通阀连接到每个柱的入口,以便可以分别添加反应混合物、pH 6的水或树脂再生溶液。管路和多通阀连接到第一柱的出口,使得离开第一柱的流体可以通过级分收集器收集或转移到第二柱的入口。将两个柱均用约pH 6的水冲洗直到流出液的pH为约pH 6。按照与实施例5类似的方法制备反应混合物并调节至约pH 6.4。将约270mL的反应混合物以约10.5mL/min的流速泵入第一柱。进料反应混合物后,将约210mL pH 6的水进料到柱中;因此,送入第一柱的总体积为480mL。收集从第一柱流出的总计330mL流体,各约15mL。收集完最后一个级分后,将阀门设置为泵送下一个150mL离开第一柱到第二柱的入口。从第一柱进料到第二柱后,将约270mL反应混合物进料到第二柱的入口。进料从第一柱到第二柱之后,使约270mL反应混合物进料至第二柱的入口,此后进料600mL pH 6的水。因此,将总体积为1020mL的物料送入第二柱。离开第二柱的所有流体均以约15mL的级分收集。将从两个柱收集的级分通过HPLC分析。下表4显示了从第一柱收集的级分。

表4

级分#	L-草胺膦 (mM)	焦谷氨酸 (mM)	2-氧代戊二酸 (mM)	PPO (mM)
1	0	0	0	0
4	0	0	0	0
5	30	0	0	0
6	70	0	0	0
7	111	0	0	0
10	156	1.1	0	0
13	178	12	0	0
16	186	50	1.0	0
7-15	146	6.4	0.7	0

表4中的最后一行显示将级分7至15合并为基本上纯化的L-草胺膦的单一溶液后的HPLC结果。

下表5显示了从第二栏中收集的级分。

表5

级分#	L-草胺膦 (mM)	焦谷氨酸 (mM)	2-氧代戊二酸 (mM)	PPO (mM)
1	0	0	0	0
4	0	0	0	0
7	0	0	0	0
10	0	0.54	0	0
13	85	0	0	0
16	159	0	0	0
19	89	4.9	0	0
22	159	24	0	0
25	166	55	0	0
28	177	86	0	0
31	174	111	0	0
34	184	135	0	0
37	181	560	4.0	0
40	0	3.1	0	0
12-22	131	4.5	0.7	0

表5中的最后一行显示了将级分12至22合并为基本上纯化的L-草胺膦的单一溶液后的HPLC结果。

实施例13:阴离子交换纯化和树脂再生后得到的纯化的2-氧代戊二酸的生产

按照与实施例8类似的方法,在将pH值调节至6的水完成向柱的进料后,将0.1M氢氧化钠和1.5氯化钠的溶液在约60℃和约10.5mL/min的条件下进料至柱;收集88个各15mL的级分。通过HPLC分析级分显示2-氧代戊二酸在非常窄范围的级分中洗脱,如下表6所示。

表6

级分#	L-草胺膦 (mM)	焦谷氨酸 (mM)	2-氧代戊二酸 (mM)	PPO (mM)
1	0	0.14	0	0
11	0	0.89	1.2	0
22	0	1.2	3.0	0
27	0	0.69	113	0
28	0	0	325	0
30	0	0	66	0
33	0	0	2.7	0
44	0	0.47	0	0

在级分44或级分44之后收集的任何其它级分中未检测到2-氧戊二酸,并选择进行分析。本实验中的2-氧代戊二酸的量超过了单一离子交换实验中预期的量。不受理论束缚,有可能在本实验之前树脂没有充分地再生。

实施例14:由阴离子交换纯化和树脂再生后得到的2-氧代戊二酸生产琥珀酸

按照类似于实施例12的方法,生产含有180mM 2-氧代戊二酸的级分。将该级分的0.266mL样品与1.5摩尔当量的过氧化氢(0.128M)合并,并在容器中稀释至0.5mL的总体积。将该容器在30℃摇动,大约每5分钟取样一次以进行HPLC分析。10分钟后,大约70%的2-氧代谷氨酸已经转化为琥珀酸。

实施例15:在谷氨酸转化为焦谷氨酸后所得反应混合物的脱色

如上所述,将不同量的活性碳(0.25wt.%、0.5wt.%、1.0wt.%、3.0wt.%和5.0wt.%)添加到将谷氨酸转化为焦谷氨酸得到的部分反应混合物中。在室温下混合大约20分钟后,在预洗涤的**Celite®**的顶部将活性碳过滤。然后将所得滤饼用水洗涤,并将滤饼与滤液合并。然后使用焦谷氨酸作为内标,检查滤液相对于未处理样品的L-草胺膦回收。下表7显示了回收和颜色观察结果。

表7

活性碳(wt.%)	L-草胺膦回收(%)	颜色观察结果
0.25	104	轻度橙色
0.5	103	轻度橙色
1.0	98	轻度橙色

3.0	103	无颜色
5.0	98	无颜色

实施例16:L-草胺磷多晶型物的制备和表征

收到了两批L-草胺磷并用于以下描述的研究中。其中一批的XRPD分析确认样品为X-射线无定形的。另一批次的IC分析表明,样品中的铵含量低于化学计量。

测定了L-草胺磷的溶解度水平,表明该材料在水中非常易溶,并且在大多数有机溶剂中难溶。有机/水性混合物易于形成油。在诸如二甲亚砜、二甲基乙酰胺和N-甲基-2-吡咯烷酮这样的溶剂中,有机溶解度通常仍然很差。三氟乙醇(TFE)是唯一显示溶解度>2mg/mL的有机溶剂。

使用不同的结晶技术进行L-草胺磷的多晶型物筛选,以改变成核和生长条件,从而研究了热力学和动力学条件。结晶技术包括在室温和升高的温度下制浆,蒸发,抗溶剂添加/沉淀和冷却。在这些实验中,动力学因素如冷却速率、蒸发速率或抗溶剂添加速率可变。还使用了基于非溶剂的技术,例如蒸气应力和将L-草胺磷无定形材料加热到高于玻璃化转变温度。

试图改变在多晶型物筛选期间使用的溶剂体系,然而,由于在大多数有机溶剂体系中的溶解度有限,因此,在许多情况下,添加水或TFE以改善溶解度。在纯溶剂中进行的实验通常由室温或升高的温度下的长期浆料组成。还通过在水和具有不同水活度的水-有机体系中进行结晶实验研究了水合物的形成,然而,在许多此类溶剂体系中均观察到了凝胶和油。还研究了无水条件,以确定在这些条件下是否可以生成新形式。在这些实验中,用干燥剂预干燥L-草胺磷原料,以从原料中除去任何潜在的残留水分。

由于在一些原料中观察到亚化学计量的量的铵,因此使用过量的氢氧化铵进行了选定的结晶实验。类似地,在使用HCl的酸性条件下进行了几个实验。

在筛选过程中观察到五种独特的结晶L-草胺磷材料,且分别命名为形式A、形式B、形式C、形式D和形式E。形式A和形式C显然是L-草胺磷的亚稳态形式,其倾向于转化为形式B。形式B和形式D显然是L-草胺磷游离形式的无水结晶形式。形式E显然是L-草胺磷HCl盐。

急速冷却(CC):在升高的温度下,在选定的溶剂或溶剂混合物中制备L-草胺磷溶液。一旦目视观察后获得澄清溶液,则将该溶液通过0.2 μ m或0.45 μ m注射式过滤器过滤到预热的小瓶中。然后将小瓶封盖并立即置于低于环境温度的预冷反应器中。通过离心或真空过滤收集固体并进行分析。

转化浆液:在环境温度下,将具有额外峰的形式B在乙醇/水(95/5v/v)中制浆一天。添加具有额外峰的BIPXAZ(剑桥结构数据库,版本5.38,2016年11月)晶种和形式D,并将混合物在环境温度下制浆延长的期限。通过离心过滤收集固体,然后进行分析。

快速冷却(FC):在升高的温度下,在选定的溶剂或溶剂混合物中制备L-草胺磷溶液。一旦目视观察后获得澄清溶液,则将该溶液通过0.2 μ m或0.45 μ m注射式过滤器过滤到预热的小瓶中。然后将小瓶封盖并立即置于环境温度下。通过离心或真空过滤收集固体并进行分析。

快速蒸发(FE):在环境温度下,在选定的溶剂或溶剂混合物中制备L-草胺磷溶液。一定能目视观察后获得澄清溶液,则将该溶液通过0.2 μ m或0.45 μ m注射式过滤器过滤到清洁的小瓶中。然后在环境温度下蒸发该溶液。将固体收集在封闭的小瓶中,然后进行分析。

旋转蒸发:在环境温度下,在不同溶剂中制备L-草铵膦溶液。将该溶液过滤到清洁的小瓶中,并使用旋转蒸发器剥离溶剂。将固体收集在封闭的小瓶中,然后进行分析。

缓慢冷却:在升高的温度下在金属块 (metal block) 中,在不同的溶剂或溶剂混合物中制备L-草铵膦溶液。一旦目视观察后获得澄清溶液,则将溶液通过0.2 μ m或0.45 μ m注射式过滤器过滤至预热的小瓶中。然后使溶液缓慢冷却至环境温度。通过离心或真空过滤收集固体,然后进行分析。

浆液:通过在环境温度或升高的温度下将足够的固体添加到给定的溶剂或溶剂混合物中制备L-草铵膦浆液,以使存在不溶解的固体。然后将混合物在密闭的小瓶中于环境温度、低于环境温度或升高的温度下搅拌延长的时间期限。通过离心或真空过滤收集固体,然后进行分析。

蒸气压力 (VS):将L-草铵膦的固体转移至1打兰 (dram) 小瓶中,然后将其放入包含溶剂的20mL小瓶中。保留1打兰样品瓶的不加盖状态,并盖上20mL的小瓶以使发生蒸气应力。蒸气压力实验在环境和温度下进行。通过离心分离固体并进行分析。

蒸气扩散 (VD):在环境温度下在金属块中,用不同的溶剂或溶剂混合物制备L-草铵膦的浓缩溶液。一旦肉眼观察后获得透明溶液后,则使该溶液通过0.2 μ m或0.45 μ m尼龙注射式过滤器过滤后放入干净的小瓶中。将该小瓶不加盖地放置在含有抗溶剂的较大的瓶中。封盖较大的瓶以允许蒸气扩散发生。通过倾析分离固体,收集在封闭的小瓶中,且然后分析。

差示扫描量热法 (DSC):DSC使用Mettler Toledo TGA/DSC 3+进行。使用NIST-可追踪的铟金属进行温度校准。使用金刚烷、水杨酸苯酯、铟、锡和锌进行温度校准。将样品放入盖有盖子的铝制DSC盘中,并准确记录重量。将配置为样品盘的称重铝盘放在样品池的参比侧。在样品分析之前将盘盖刺穿。使用环境温度至350 $^{\circ}$ C范围内的10 $^{\circ}$ C/min的加热速率或从环境温度至-30 $^{\circ}$ C至250 $^{\circ}$ C循环获得数据。

在配备有冷藏冷却系统 (RCS) 的TA Instruments Q2000差示扫描量热仪上获得调制后的DSC数据。使用NIST-可追踪的铟金属进行温度校准。将样品放入铝制DSC盘中,并精确记录重量。锅上盖有打有激光针孔的盖子,将盖卷边。将称重的卷曲铝盘放在池的参比侧获得数据,其中使用 $\pm 0.08^{\circ}$ C的调制幅度和60秒的周期,从环境温度到300 $^{\circ}$ C的2 $^{\circ}$ C/分钟基本加热速率。从可逆热流对温度曲线的阶跃变化拐点获得报告的玻璃化转变温度。

热重 (TG) 分析:使用Mettler Toledo TGA/DSC3+分析仪或TA Instruments Q5000 IR热重分析仪Q5000IR进行TG分析。使用水杨酸苯酯、铟、锡和锌进行温度校准。将样品放在铝盘中。密封样品,刺穿盖,然后插入TG炉中。将炉在氮气气氛中加热。在环境温度至350 $^{\circ}$ C范围内以10 $^{\circ}$ C/min的加热速率获得数据。

核磁共振 (NMR) 光谱法:用Agilent DD2-400光谱仪在SSCI获取溶液的NMR光谱。通过将少量样品溶于D₂O/TSP-d₂制备样品。另外的数据在Spectral Data Services, Inc., Champaign, Illinois在D₂O/TSP-d₂或CF₃CD₂OD中获取。数据收集参数显示在此报告的数据部分中的光谱的第一个各自的图中。

偏振光显微镜检查 (PLM):使用具有交叉偏振器的光学显微镜或带有一阶红色补偿器的立体显微镜进行偏振光显微镜检查。

X-射线粉末衍射 (XRPD), 反射模式:XRPD图案采用PANalytical X'Pert PRO MPD衍射仪收集,其中使用了长精细聚焦源和镍滤光片产生的Cu K α 射线入射光束。衍射仪使用对称

的Bragg-Brentano几何形状配置。在分析之前,对硅样品(NIST SRM 640e)进行分析,以验证观察到的Si 111峰的位置与NIST认证的位置一致。将样品的样本制备成以硅零本底衬底为中心的圆形薄层。防散射狭缝(SS)用于最小化空气产生的背景。入射光束和衍射光束的索勒狭缝用于最小化来自轴向发散的展宽。使用距样品240mm的扫描位置敏感检测器(X'Celerator)和数据收集软件v.2.2b收集衍射图案。

XRPD,传输方式:用PANalytical X'Pert PRO MPD衍射仪收集XRPD图案,其中使用应用Optix长精细聚焦源产生的Cu射线的入射光束。使用椭圆渐变的多层反射镜将Cu K α X-射线聚焦穿过样品并到达检测器上。在分析之前,对硅样本(NIST SRM 640e)进行分析,以验证观察到的Si 111峰的位置与NIST认证的位置一致。将样品的样本夹在3- μ m-厚的膜之间,并进行透射几何分析。使用光束停止、短的防散射扩展、防散射刀刃来最小化空气产生的背景。入射光束和衍射光束的索勒狭缝用于最小化来自轴向发散的展宽。使用距样品240mm的扫描位置敏感检测器(X'Celerator)和数据收集软件v.2.2b收集衍射图案。

1. 形式A

L-草胺磷形式A首先由IPA浆料制成,该浆料已从水溶液中剥离。形式A是研究过程中最常观察到的材料,尽管它经常作为与形式D、形式C或X-射线无定形材料地混合物被观察到。形式A是在升高的温度或室温下从几种长期浆料中生成。

在一种情况下,从在93/7v/v甲醇/水中的7天浆液中分离出形式A。样品的XRPD图案表明样品主要由单晶相组成(图1)。在 $\sim 19.0^\circ$ 的衍射角处观察到较小的附加峰。该材料的 ^1H NMR光谱与L-草胺磷一致,并且包含与甲醇一致的化学位移。离子色谱分析表明铵含量为6.4wt%,这比理论上的单铵盐(9.1wt%)所预期的少,并且略低于所接收的材料(7.0wt%)。材料的热分析与无水/非溶剂化形式一致。在 $\sim 123^\circ\text{C}$ (起始)下发生大的吸热之前,在DSC中未观察到显著事件。在该温度附近观察到TGA斜率的显著变化,这启示潜在的熔化/分解事件。注意到该样品的热行为与L-草胺磷形式B极为相似。通过XRPD对样品进行了重新分析,并且发现在干燥剂上储存后,形式A已转化为具有较小的附加峰的形式B。结果启示形式A是亚稳态的并且倾向于转化。

通过将所接收的L-草胺磷在甲醇中与 ~ 1 摩尔过量的氢氧化铵成浆制备新的形式A样品。然而,该样品的热分析(图2)与先前的分析一致,显示失重较少,然后可能是由于材料分解发起始在 $\sim 116^\circ\text{C}$ 开始显著的重量减轻。观察到单一吸热,起始为 $\sim 119^\circ\text{C}$ 。该数据启示熔化/分解事件。

2. 形式B

最初从多步结晶中观察到L-草胺磷的形式B,该过程涉及将IPA/水中的L-草胺磷浆化以形成凝胶,然后在室温下将凝胶在丙酮中重新浆化。从几种浆液中回收形式B,这些浆液典型地牵涉较高的水活度的有机-水混合物。形式B的XRPD图案已成功建立索引(图3),但是在该图案中观察到了几个较小的附加峰。实际上,典型地观察到具有较小的附加峰的形式B。

形式B的特征在于 ^1H NMR、IC、DSC和TGA。 ^1H NMR光谱与L-草胺磷一致,并且未显示残留有机溶剂。对不同的形式B样品的离子色谱分析显示仅少量的铵含量(0.17wt%),这启示形式B不是铵盐,而是L-草胺磷两性离子的结晶形式。样品的热分析(图4)与未溶剂化/无水结晶形式一致。在 123°C (起始)发生大的吸热之前,未观察到明显的热事件。在此温度附近还

观察到TGA斜率的显著变化,这启示这可能是熔化/分解事件。在干燥剂上储存47天时,没有观察到样品的XRPD图案的显著变化。

3. 形式C

通过用MeOH蒸气压制L-草胺磷制备具有次要形式A的形式C。将形式C的XRPD图案索引化,然而,观察到几个与形式A一致的峰(图5)。¹H NMR光谱与L-草胺磷一致,然而,离子色谱显示铵含量为低于化学计量的(6.3wt%,与理论上的单盐9.1wt%和所接收的材料7.0wt%相比而言)。

将具有次要A形式的形式C的样品在干燥剂中保存36天,样品的XRPD分析表明,转化为具有次要A形式和一些次要额外峰的形式B。IC分析还显示,在这段时间期限内,铵含量显著下降(3.2wt%与初始6.3wt%)。结果启示,形式C是亚稳态的,并且在干燥剂下长期储存时,倾向于形成铵盐的转化/解离。

通过使用MeOH的蒸气应力成功地重新制备了具有次要形式A的形式C。新样品的¹H NMR分析与L-草胺磷的化学结构一致。热分析显示在100°C和131°C下有两个重叠的宽吸热峰(图6)。在吸热下观察到~10wt%的重量损失,随后在继续加热时发生逐渐重量损失。

4. 形式D

形式D由多晶型物筛选中的几种室温或升高的温度的浆料制备,典型地为与形式A的混合物。通过¹H NMR分析发现形式A和形式D的混合物与L-草胺磷的化学结构一致。在干燥剂上储存后,在形式D+次要形式A的样品的XRPD图案中没有观察到显著变化。

形式D在60°C、在50/50v/v TFE/丙酮中从三天的浆液中分离。形式D的XRPD图案(图7)表明样品主要或仅由单晶相组成。离子色谱分析表明,铵含量为2.3wt%,明显低于理论单铵盐的预期含量(9.1wt%)。基于存在的亚化学计算量的铵,形式D可能是L-草胺磷两性离子的结晶形式。样品的热分析(图8)显示出一致性的逐渐失重和151°C附近的斜率变化,这启示分解的起始。观察到非常宽的吸热,其中起始为~140°C,这启示发生了熔化/分解事件。

5. 形式E

初次筛选时观察到形式E,为按原样接收的样品,并且为从含HCl的丙酮水溶液中结晶的样品。形式E的¹H NMR光谱与L-草胺磷一致,但有峰移动启示潜在的电离差异。IC分析显示仅有少量的铵以及化学计算量的氯化物。结果启示形式E不是L-草胺磷的形式,而是L-草胺磷HCl的形式。

6. 无定形材料

从在溶剂(如N-甲基-2-吡咯烷酮(NMP),四氢呋喃(THF)和2,2,2-三氟乙醇(TFE))中的浆液中收集X-射线无定形材料,将其维持在50°C-60°C延长期限(例如12天)。无定形L-草胺磷的¹H NMR分析与结构一致,并显示出存在较小的未知峰。对材料的热分析揭示出在~55°C时明显的玻璃化转变温度T_g。

应当理解,本文所使用的术语仅出于描述特定实施方案的目的,并且该术语并非旨在进行限制。本发明的范围将仅由所附权利要求书限制。除非另有定义,否则本文中使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的相同含义。在提供数值范围的情况下,应当理解,除非上下文另有明确规定,否则为下限单位的十分之一的每个居间值、介于该范围的上限和下限之间和所述范围的任何另外实施或居间值包括在本发

明范围内。这些较小范围的上限和下限可以独立地包括在较小范围内,并且也包括在本发明范围内,但要遵守所述范围内任何明确排除的限制。当所述范围包括极限之一或两者时,本发明也包括不包括那些的任一或两个的范围。本文中给出了某些范围,其中数值之前带有术语“约”或术语“大约”。本文中使用术语“约”和“大约”来为其之前的精确数字以及与该术语之前的数字接近或近似的数字提供文字支持。在确定一个数字是否接近或近似于一个具体叙述的数值时,该接近或近似于未叙述的数值可以是一个数字,在呈现该数字的上下文中,该数字提供了该特定叙述的数字的实质等同。如果“X”是被“约”或“大约”修饰的值,则“约X”或“大约X”通常表示从0.95X到1.05X的值,包括,例如从0.98X到1.02X或从0.99X至1.01X。任何对“约X”或“大约X”的引用均特别地至少表示值X,0.95X,0.96X,0.97X,0.98X,0.99X,1.01X,1.02X,1.03X,1.04X和1.05X。因此,“约X”和“大约X”旨在教导和提供对例如“0.98X”的请求限制的书面描述支持。

本说明书中引用的所有出版物、专利和专利申请均通过引用并入本文,如同每个单独的出版物、专利或专利申请均被明确地并单独地指出通过引用并入一样。此外,每篇引用的出版物、专利或专利申请通过引用并入本文,以公开和描述与引用出版物有关的主题。任何出版物的引用均是其在申请日之前的公开内容,但不应解释为承认此处所述的发明无权凭借在先发明而早于该出版物。此外,提供的发布日期可能与实际的发布日期不同,而实际的发布日期可能需要独立确认。

应当注意,权利要求书可以被撰写为排除任何可选要素。照此,该陈述旨在作为与权利要求要素的叙述或“否定”限制的使用结合使用诸如“单独地”、“仅”等排他性术语的先行基础。对于本领域技术人员而言,在阅读本公开后将显而易见的是,本文描述和示例的每个单独的实施方案具有离散的要素和特征,在不脱离本发明的范围或精神的情况下,其易于与其它几个实施方案中的任何一个的特征分离或组合。任何叙述的方法都可以按照叙述的事件的顺序或以逻辑上可能的任何其它顺序进行。尽管与本文描述的那些方法或材料相似或等同的任何方法和材料也可以用于本发明的实施或测试中,但是目前描述代表性的示例性方法和材料。

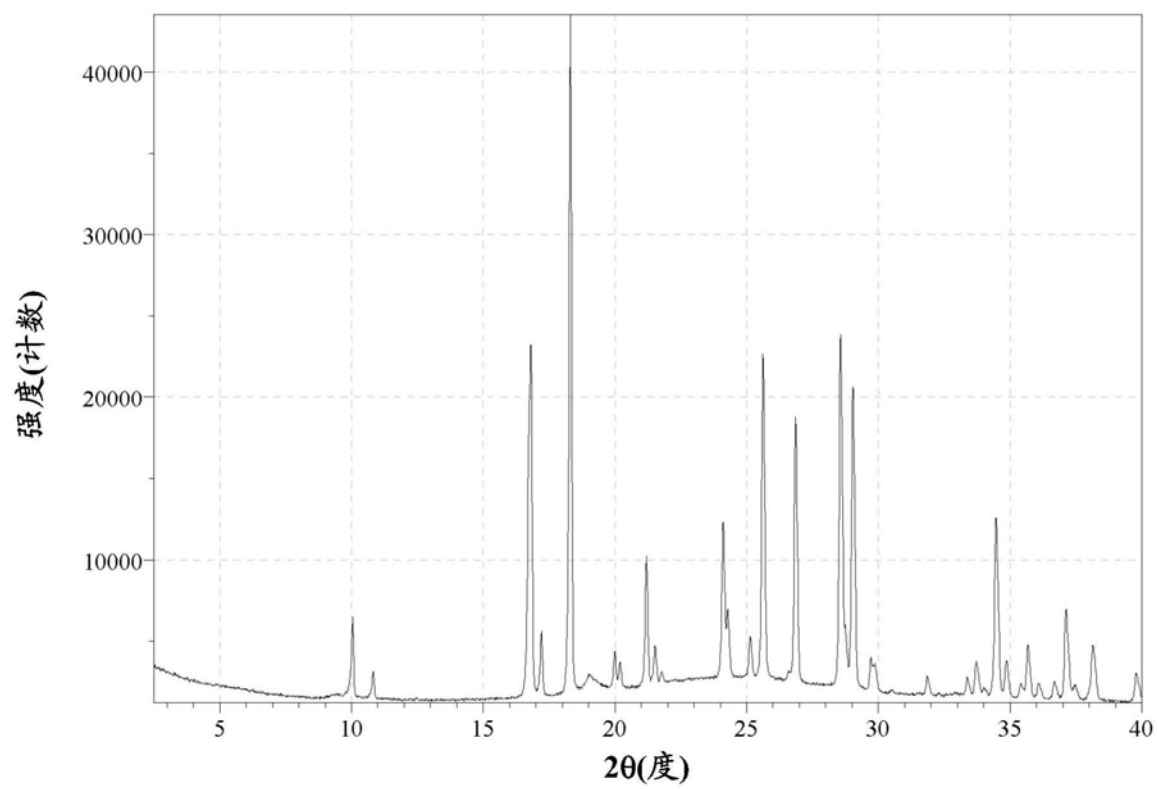


图1

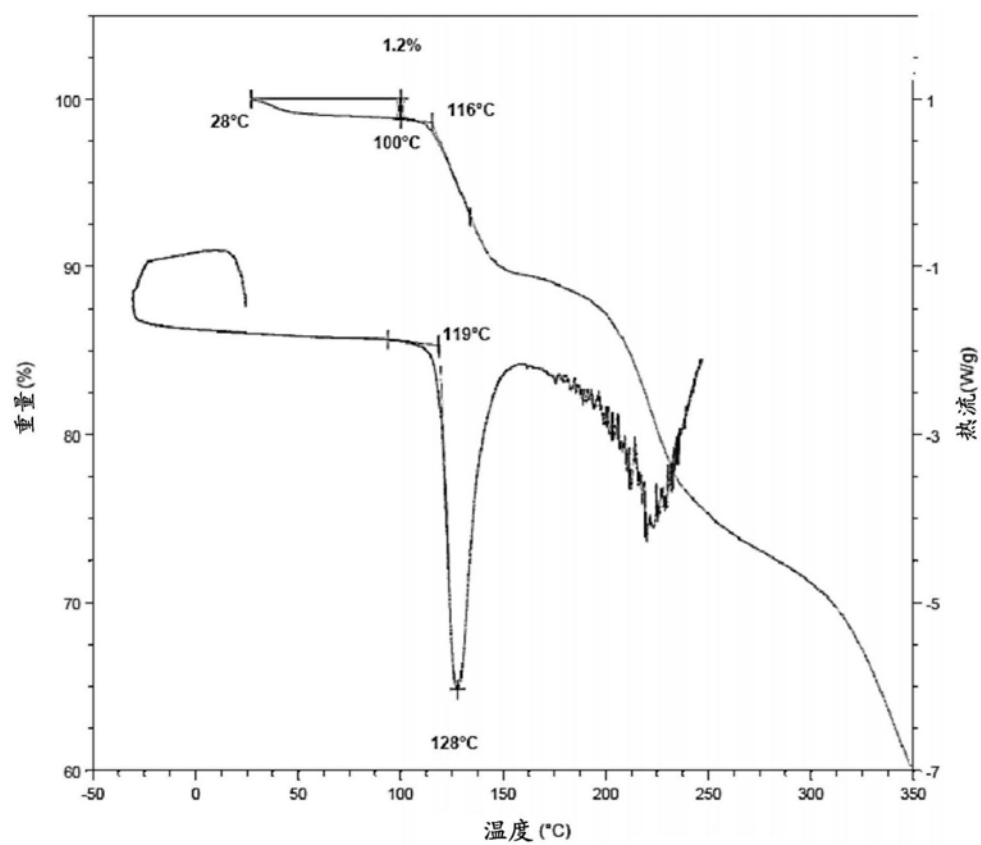


图2

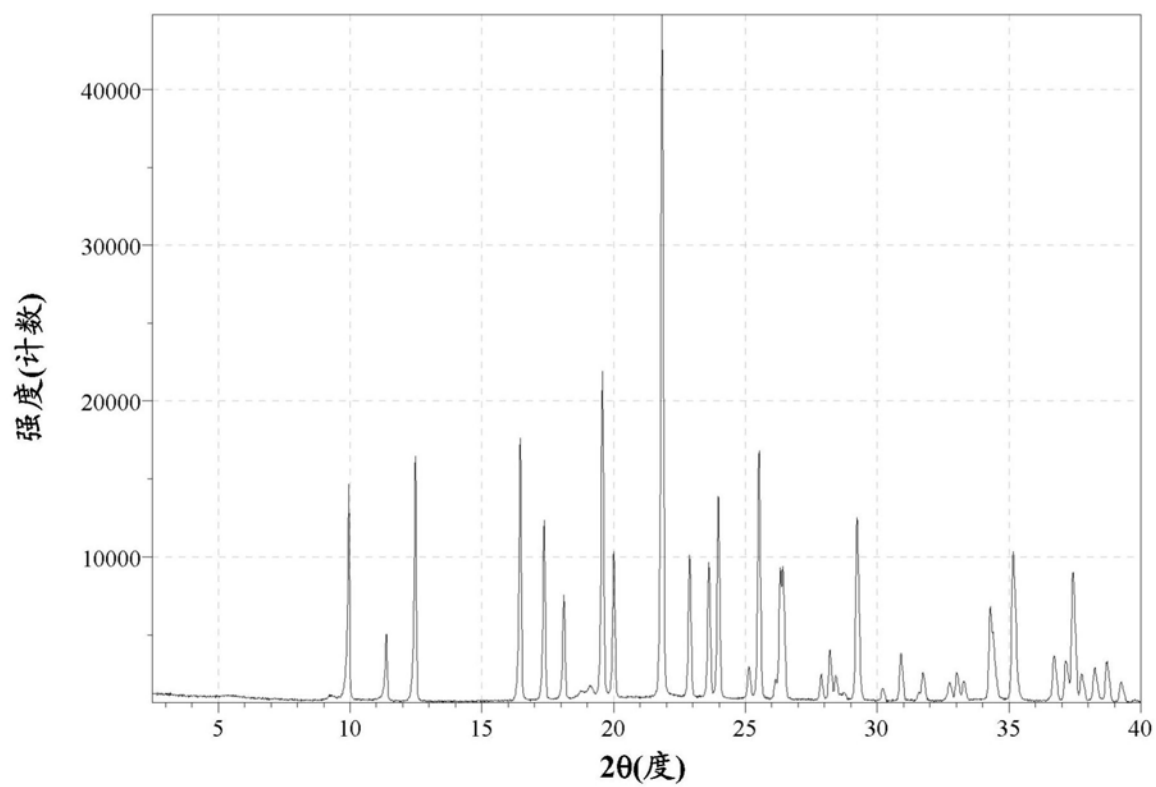


图3

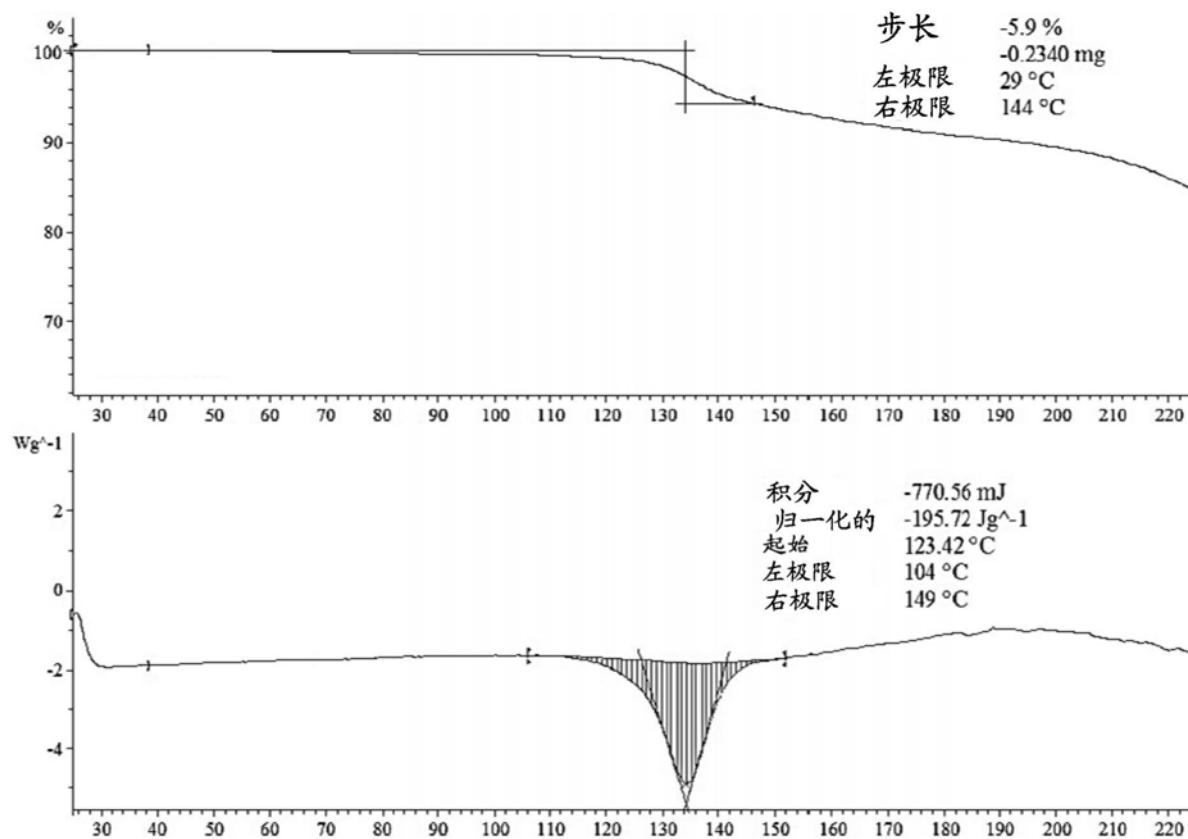


图4

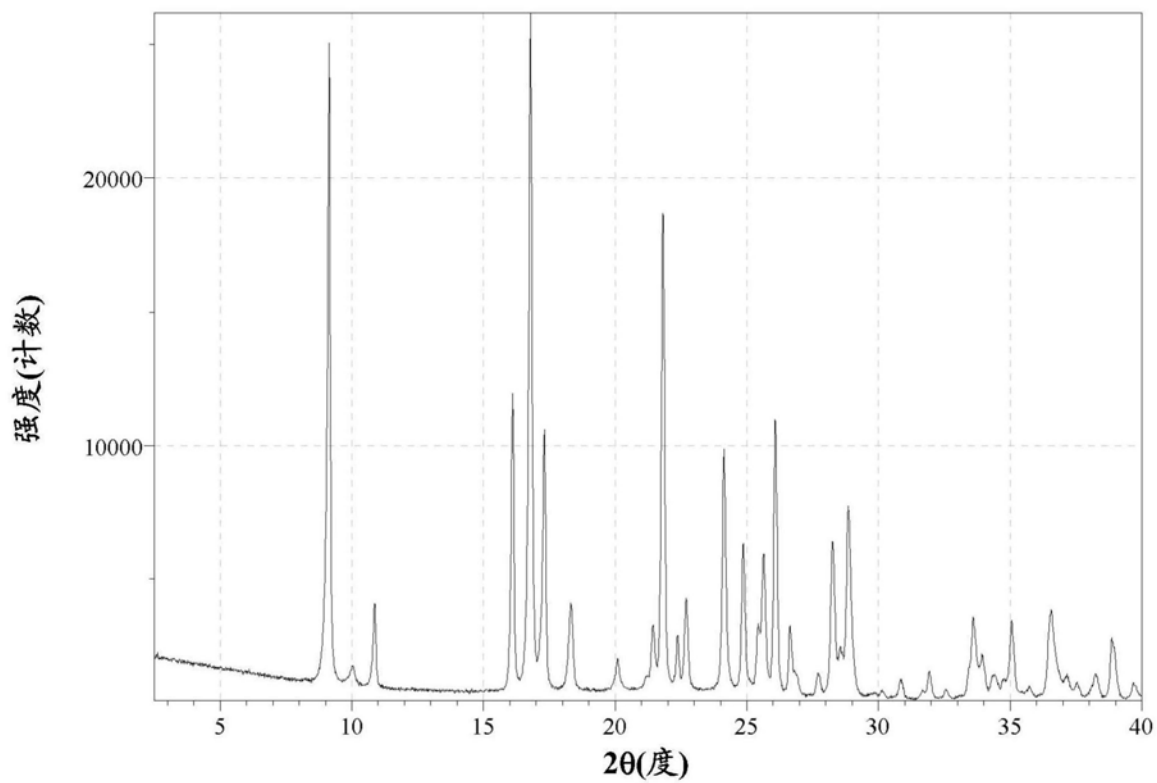


图5

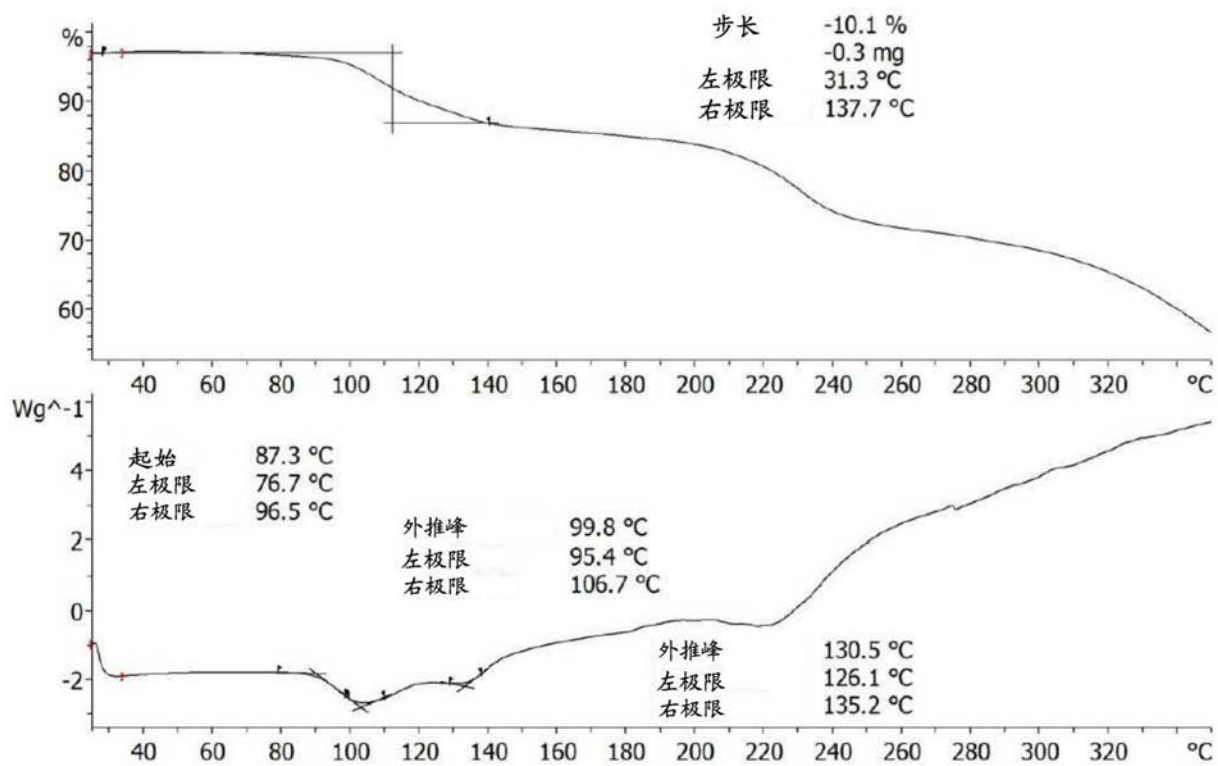


图6

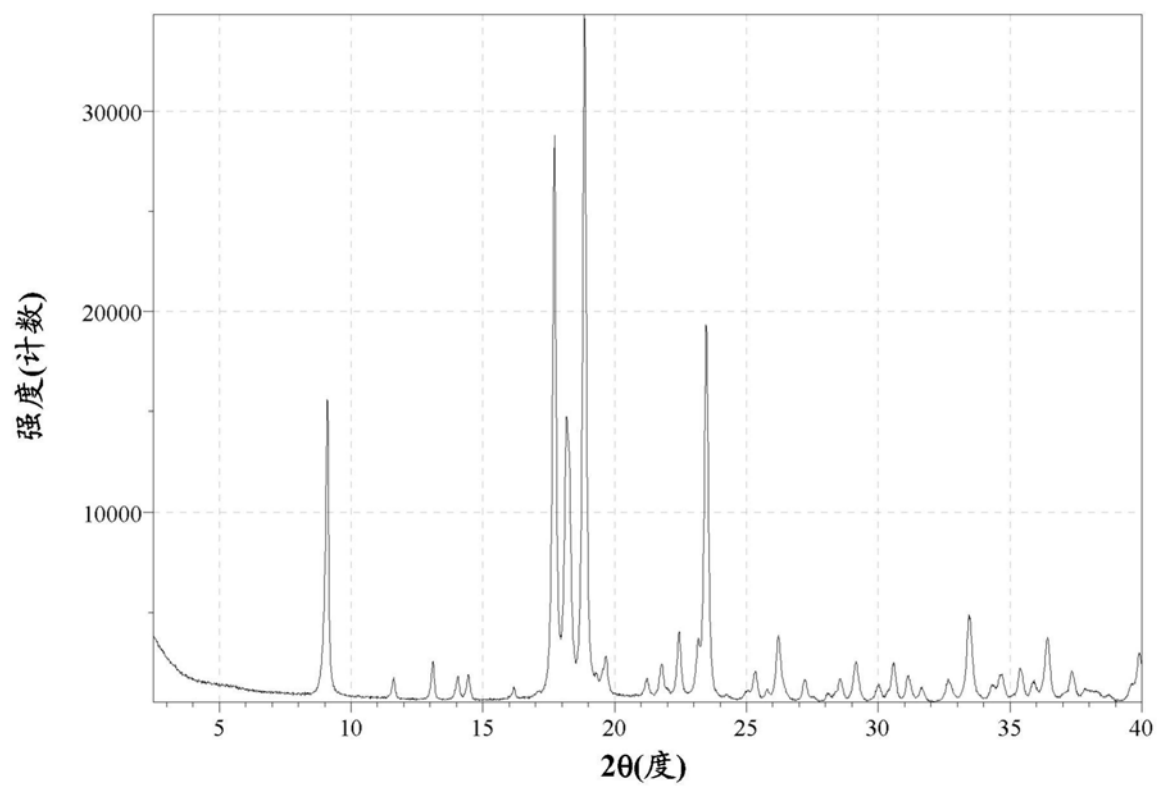


图7

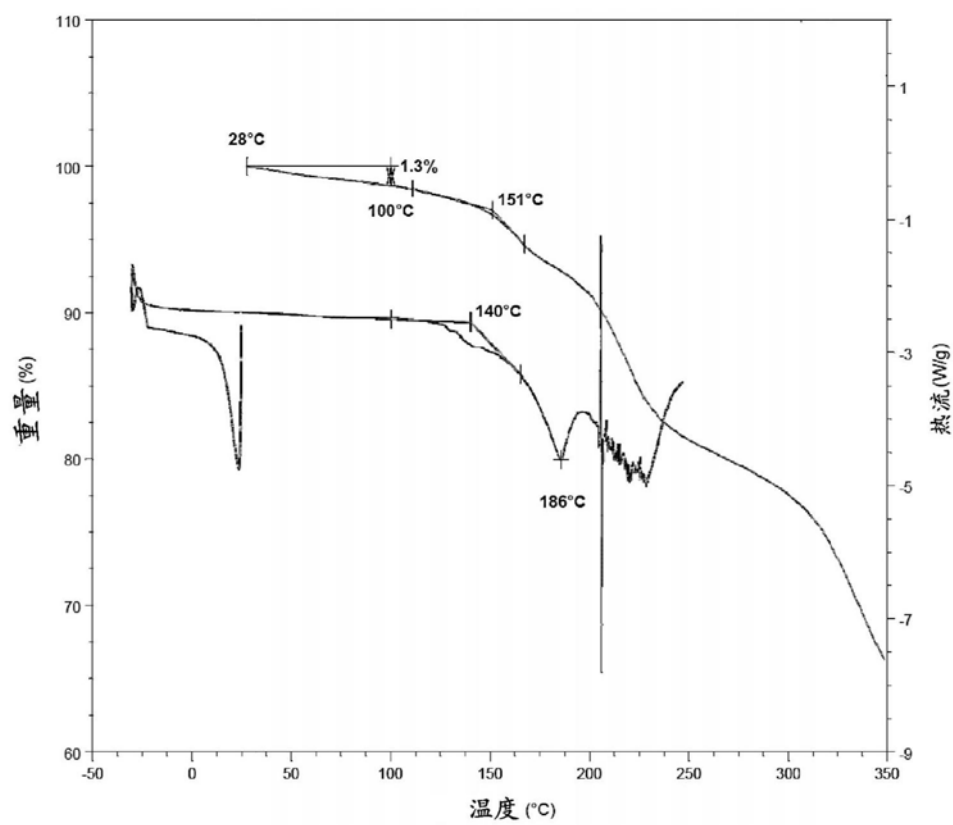


图8

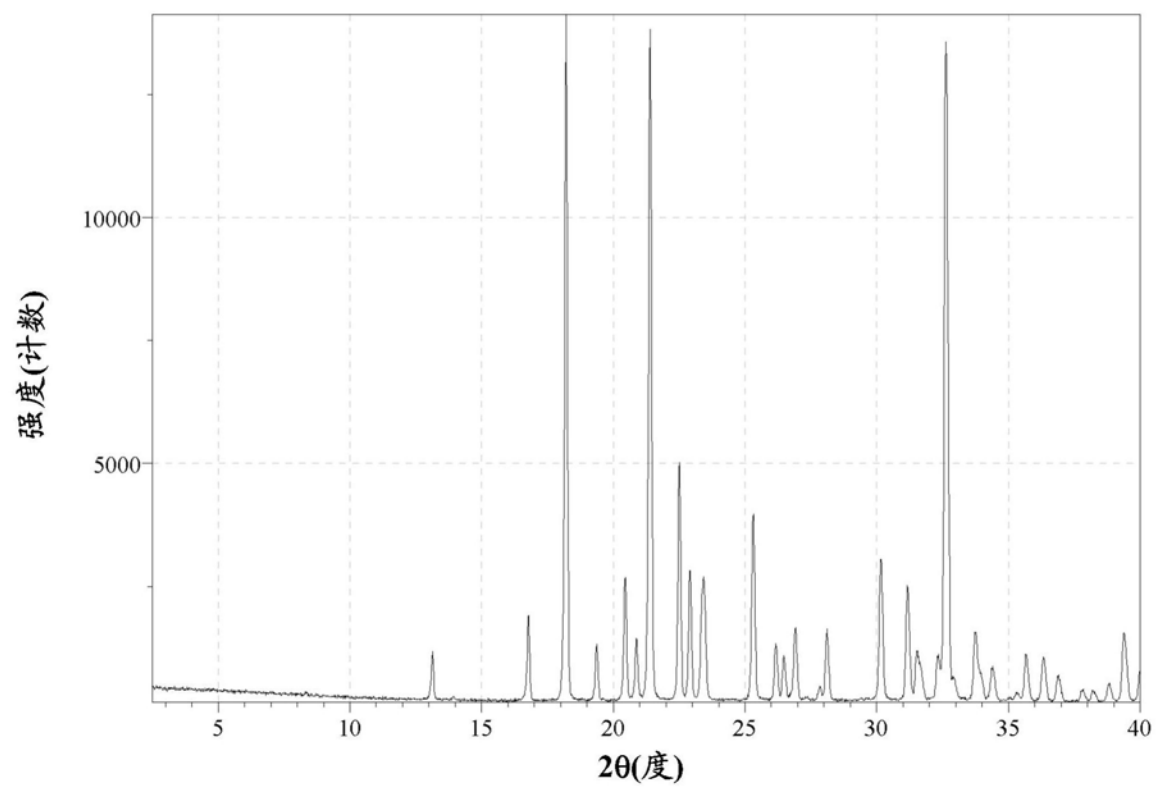


图9