

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号  
特許第4764416号  
(P4764416)

(45) 発行日 平成23年9月7日 (2011.9.7)

(24) 登録日 平成23年6月17日 (2011.6.17)

(51) Int.Cl. F I

C O 7 C 37/50 (2006.01)

C O 7 C 39/20 (2006.01)

C O 7 C 39/19 (2006.01)

C O 7 C 69/157 (2006.01)

C O 7 C 69/16 (2006.01)

C O 7 C 37/50

C O 7 C 39/20

C O 7 C 39/19

C O 7 C 69/157

C O 7 C 69/16

請求項の数 2 (全 30 頁) 最終頁に続く

|               |                               |           |                       |
|---------------|-------------------------------|-----------|-----------------------|
| (21) 出願番号     | 特願2007-505052 (P2007-505052)  | (73) 特許権者 | 390023674             |
| (86) (22) 出願日 | 平成17年3月21日 (2005.3.21)        |           | イー・アイ・デュポン・ドウ・ヌムール・   |
| (65) 公表番号     | 特表2007-530548 (P2007-530548A) |           | アンド・カンパニー             |
| (43) 公表日      | 平成19年11月1日 (2007.11.1)        |           | E. I. DU PONT DE NEMO |
| (86) 国際出願番号   | PCT/US2005/009290             |           | URS AND COMPANY       |
| (87) 国際公開番号   | W02005/097719                 |           | アメリカ合衆国、デラウェア州、ウイルミ   |
| (87) 国際公開日    | 平成17年10月20日 (2005.10.20)      |           | ントン、マーケット・ストリート 100   |
| 審査請求日         | 平成20年3月19日 (2008.3.19)        |           | 7                     |
| (31) 優先権主張番号  | 60/556,861                    | (74) 代理人  | 100127926             |
| (32) 優先日      | 平成16年3月26日 (2004.3.26)        |           | 弁理士 結田 純次             |
| (33) 優先権主張国   | 米国 (US)                       | (74) 代理人  | 100140132             |
|               |                               |           | 弁理士 竹林 則幸             |
|               |                               | (74) 代理人  | 100091731             |
|               |                               |           | 弁理士 高木 千嘉             |
|               |                               | 最終頁に続く    |                       |

(54) 【発明の名称】 ヒドロキシスチレンおよびそのアセチル化誘導体を製造する方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(a) 一般構造:

【化 1】

10

[ 式中、R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub>、および R<sub>5</sub> は H、OH、または OCH<sub>3</sub> であり；R<sub>2</sub> および R<sub>4</sub> は H、OH、OCH<sub>3</sub> または直鎖状もしくは分岐状アルキルであり；R<sub>6</sub> および R<sub>7</sub> は H、ハロ、またはシアノであり、ただし、R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub>、または R<sub>5</sub> のうち少なくとも 1 つは OH であり、そして R<sub>2</sub> および R<sub>4</sub> は両方同時に t - ブチルではない ]

を有するフェノール性基質を準備する工程；

(b) i) 非アミン塩基性触媒；および

20

ii) 少なくとも1種の極性非プロトン性有機溶媒または極性非プロトン性有機溶媒の混合物；

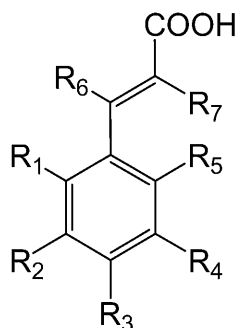
を含んでなる反応混合物を準備する工程；

(c) フェノール性基質を脱炭酸化生成物に脱炭酸化するのに十分な時間、少なくとも100の温度で(a)のフェノール性基質を(b)の反応混合物と接触させる工程；を含んでなる、フェノール性基質を脱炭酸化してビニルモノマーを製造する方法。

【請求項2】

(a) 一般構造：

【化2】



10

[式中、 $R_1$ 、 $R_3$ 、および $R_5$ はH、OH、または $\text{OCH}_3$ であり； $R_2$ および $R_4$ はH、OH、 $\text{OCH}_3$ または直鎖状もしくは分岐状アルキルであり； $R_6$ および $R_7$ は、H、ハロ、またはシアノであり、ただし、 $R_1$ 、 $R_3$ 、または $R_5$ のうち少なくとも1つはOHである]

20

を有するフェノール性基質を準備する工程；

(b) i) 非アミン塩基性触媒；および

ii) 少なくとも1種の極性非プロトン性有機溶媒または極性非プロトン性有機溶媒の混合物；

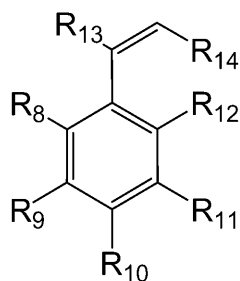
を含んでなる反応混合物を準備する工程；

(c) フェノール性基質を脱炭酸化して脱炭酸化生成物を生成せしめるのに十分な時間、少なくとも100の温度で(a)のフェノール性基質を(b)の反応混合物と接触させる工程；

30

(d) (c)の脱炭酸化生成物をアセチル化剤と接触させて、一般構造：

【化3】



40

[式中、 $R_8$ 、 $R_{10}$ 、および $R_{12}$ はH、 $\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{CH}_3$ または $\text{OCH}_3$ であり； $R_9$ および $R_{11}$ はH、OH、 $\text{OCH}_3$ または直鎖状もしくは分岐状アルキルであり； $R_{13}$ および $R_{14}$ はH、ハロ、またはシアノであり、ただし、 $R_8$ 、 $R_{10}$ 、または $R_{12}$ のうちの少なくとも1つは $\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{CH}_3$ である]

を有するアセチル化生成物を生成せしめる工程；

の連続した工程を含んでなる、フェノール性基質からアセチル化生成物を合成する方法。

【発明の詳細な説明】

50

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、有機合成分野に関する。さらに具体的には、本発明は、単一反応器内で2工程プロセスにおいて、フェノール性基質を熱的塩基触媒脱炭酸化し、続いて得られた生成物をアセチル化することによって、ヒドロキシスチレンを製造する方法に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

4 - ヒドロキシスチレン ( p H S ) などのヒドロキシスチレンおよび4 - アセトキシスチレン ( p A S ) などのそのアセチル化誘導体は、多種多様な工業用途において潜在的な有用性を有する芳香族化合物である。例えば、これらの化合物は、樹脂、エラストマー、  
10 接着剤、コーティング、自動車仕上げ塗装およびインクの製造用のモノマーにおける用途、ならびに電子材料における用途を有する。これらの化合物は、エラストマーおよび樹脂配合物において添加剤として使用することもできる。

## 【0003】

ヒドロキシスチレンおよびそのアセチル化誘導体を化学合成する多くの方法が知られている。しかしながら、これらの方法には、高価な試薬、厳しい条件が必要であり、一般に収率が30 ~ 63 %と比較的低い。例えば、ソルヴィッシュ ( S o v i s h ) ( 非特許文献1 ) によって、p - ヒドロキシケイ皮酸 ( p H C A ) から4 - ヒドロキシスチレン ( p - ビニルフェノールとしても知られる ) を製造する方法が記載されている。p H C A は、  
20 温度約225 で銅粉末によってキノリン中で脱炭酸化される。4 - ヒドロキシスチレンの収率は約41 %であった。

## 【0004】

ピテ ( P i t t e t ) らは、特許文献1において、p - ビニルフェノールの製造方法を記述している。その方法では、最初に、エチレンジアミンを触媒として使用して、p - ヒドロキシベンズアルデヒドをマロン酸と反応させ、p H C A を生成し、それを温度115 ~ 120 にてその場で脱炭酸化し、純粋でないp - ビニルフェノールが形成される。p - ビニルフェノールを反応混合物から単離し、水酸化ナトリウムまたは水酸化カリウムなどの塩基の存在下にて無水酢酸と反応させ、4 - アセトキシスチレンを形成し、それを反応混合物から分離し、強塩基の存在下において加水分解して、精製p - ビニルフェノール  
30 が得られる。4 - ビニルフェノールの収率は約31 %であった。

## 【0005】

シャデリ ( S c h a e d e l i ) は、特許文献2において、p H C A で開始して4 - ヒドロキシスチレンを製造する方法を記述している。その方法では、アミン触媒、つまり1, 8 - ジアザビシクロ [ 5 , 4 - 0 ] ウンデカ - 7 - エンおよびヒドロキノンの存在下にて、p H C A をジメチルスルホキシド中で135 にて脱炭酸化し、4 - ヒドロキシスチレンを生成する。この方法での収率は63 %であった。

## 【0006】

ララ ( L a l a ) らは、特許文献3において、非プロトン性溶媒中でアミン触媒を使用して、オルトまたはパラ - ヒドロキシアリールカルボン酸を熱的脱炭酸化して、ビニル誘導体を形成する方法を記述している。さらに、ヒドロキシアリールカルボン酸をその場で  
40 形成し、続いて熱的脱炭酸化することによってビニルヒドロキシアリール化合物を製造する方法が記載されている。ヒドロキシアリールカルボン酸は、塩基媒体中で脂肪族ジカルボン酸または脂肪族無水物をヒドロキシアリールアルデヒドと反応させることによって形成される。これらの方法における収率の範囲は15 ~ 60 %であった。

## 【0007】

シュタインマン ( S t e i n m a n n ) は、特許文献4において、触媒の非存在下にて150 でジメチルホルムアミド中でコーヒ酸を熱的脱炭酸化することによる3, 4 - ジヒドロキシスチレンの合成を記述している。この方法で得られる収率は記載されていない。

## 【0008】

10

20

30

40

50

ムンテアーヌ (Munteanu) ら (非特許文献 2) は、双極性非プロトン性溶媒中で非アミン塩基触媒を使用して、および使用することなく、トランス - 3, 5 - ジ - t - ブチル - 4 - ヒドロキシケイ皮酸を熱分解することによる 3, 5 - ジ - t - ブチル - 4 - ヒドロキシスチレンの製造を記述している。報告されている収率は 95 % であった。他のケイ皮酸誘導体の熱的脱炭酸化は、その開示内容において記載されていない。

【0009】

置換ケイ皮酸の熱的脱炭酸化が水性媒体中で研究されている。ピサロ (Pysalo) ら (非特許文献 3) は、pH 1 ~ 6 の水性バッファー中での 100 % の置換ケイ皮酸誘導体の熱的脱炭酸化を記述している。コーエン (Cohen) ら (非特許文献 4) は、pH 1 ~ 12 の水性バッファー中での p - ヒドロキシケイ皮酸の熱的脱炭酸化を記述して

10

【0010】

【特許文献 1】米国特許第 4, 316, 995 号明細書

【特許文献 2】米国特許第 5, 274, 060 号明細書

【特許文献 3】豪州特許出願第 7247129 号明細書

【特許文献 4】米国特許第 5, 324, 804 号明細書

【非特許文献 1】ソルヴィッシュ (Sovish)、J. Org. Chem. 24: 1345 - 1347 (1959)

【非特許文献 2】ムンテアーヌ (Munteanu) ら、J. Thermal Anal. 37: 411 - 426 (1991)

20

【非特許文献 3】ピサロ (Pysalo) ら、Lebensmittel - Wissenschaft u. Technol. 10 (Food Science and Technology): 145 - 147 (1977)

【非特許文献 4】コーエン (Cohen) ら、J. Amer. Chem. Soc. 82: 1907 - 1911 (1960)

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

したがって、比較的安価な試薬、比較的穏やかな条件を使用し、高い収率が得られる、ヒドロキシスチレンおよびそのアセチル化誘導体を製造する方法が必要とされている。

30

【0012】

本出願人は、比較的穏やかな条件の下で比較的安価な試薬を使用して、100%までの収率でヒドロキシスチレンおよびそのアセチル化誘導体を製造する方法を発見することによって上記の問題を解決した。ヒドロキシスチレンは、非アミン塩基性触媒の存在下においてフェノール性基質を熱的脱炭酸化することによって製造される。アセチル化誘導体は、同一反応器内で得られたヒドロキシスチレンをアセチル化剤と反応させることによって形成される。

【課題を解決するための手段】

【0013】

本発明は、非アミン塩基性触媒の存在下でフェノール性基質を熱的脱炭酸化する方法に関する。脱炭酸反応の生成物はさらに、同一反応器内でアセチル化剤の存在下にてアセチル化される。場合により重合防止剤または重合遅延剤が反応混合物に添加される。脱炭酸化またはアセチル化生成物の収率は一般に、63%を超える。

40

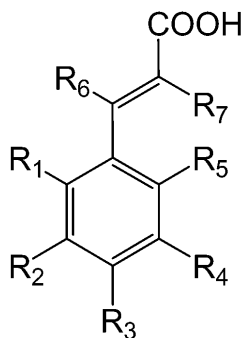
【0014】

したがって、

a) 一般構造:

【0015】

## 【化 1】



10

## 【 0 0 1 6 】

[ 式中、 $R_1$ 、 $R_3$ 、および  $R_5$  は、 $H$ 、 $OH$ 、または  $OCH_3$  であり； $R_2$  および  $R_4$  は、 $H$ 、 $OH$ 、 $OCH_3$  または直鎖状もしくは分岐状アルキルであり； $R_6$  および  $R_7$  は、 $H$ 、ハロ、またはシアノであり、ただし、 $R_1$ 、 $R_3$ 、または  $R_5$  のうち少なくとも 1 つは  $OH$  であり、そして  $R_2$  および  $R_4$  は両方同時に  $t$ -ブチルではない]

を有するフェノール性基質を準備する工程；

b) i) 非アミン塩基性触媒；および

ii) 少なくとも 1 種の極性有機溶媒または極性有機溶媒混合物；

を含んでなる反応混合物を準備する工程；

20

c) フェノール性基質を脱炭酸化生成物に脱炭酸化するのに十分な時間、少なくとも約 100 の温度で (a) のフェノール性基質を (b) の反応混合物と接触させる工程；

を含んでなる、フェノール性基質を脱炭酸化してビニルモノマーを製造する方法を提供することは本発明の範囲内である。場合により脱炭酸化生成物は当技術分野でよく知られている手段によって回収される。

## 【 0 0 1 7 】

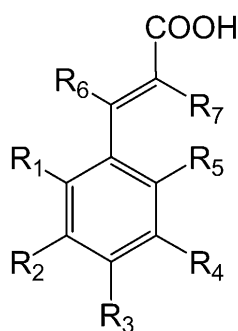
他の実施形態において、本発明は、

a) 一般構造：

## 【 0 0 1 8 】

## 【化 2】

30



40

## 【 0 0 1 9 】

[ 式中、 $R_1$ 、 $R_3$ 、および  $R_5$  は、 $H$ 、 $OH$ 、または  $OCH_3$  であり； $R_2$  および  $R_4$  は、 $H$ 、 $OH$ 、 $OCH_3$  または直鎖状もしくは分岐状アルキルであり； $R_6$  および  $R_7$  は、 $H$ 、ハロ、またはシアノであり、ただし  $R_1$ 、 $R_3$ 、または  $R_5$  のうち少なくとも 1 つが  $OH$  である]

を有するフェノール性基質を準備する工程；

b) i) 非アミン塩基性触媒；および

ii) 少なくとも 1 種の極性非プロトン性有機溶媒または極性非プロトン性有機溶媒混合物；

を含んでなる反応混合物を準備する工程；

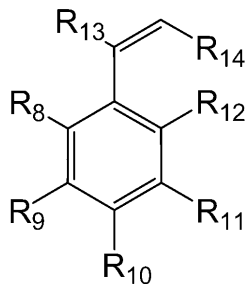
50

c) フェノール性基質を脱炭酸化して脱炭酸化生成物を生成せしめるのに十分な時間、少なくとも約 100 の温度で (a) のフェノール性基質を (b) の反応混合物と接触させる工程；

d) (c) の脱炭酸化生成物をアセチル化剤と接触させて、一般構造：

【0020】

【化3】



10

【0021】

[式中、 $R_8$ 、 $R_{10}$ 、および $R_{12}$ は、 $H$ 、 $O(C=O)CH_3$ 、または $OCH_3$ であり； $R_9$ および $R_{11}$ は、 $H$ 、 $OH$ 、 $OCH_3$ または直鎖状もしくは分岐状アルキルであり； $R_{13}$ および $R_{14}$ は、 $H$ 、ハロ、またはシアノであり、ただし、 $R_8$ 、 $R_{10}$ 、または $R_{12}$ のうちの少なくとも1つは $O(C=O)CH_3$ である]

20

を有するアセチル化生成物を生成せしめる工程；

の連続した工程を含んでなる、フェノール性基質からアセチル化生成物を合成する方法を提供する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0022】

本発明は、フェノール性基質を熱的非アミン塩基触媒脱炭酸化することによりヒドロキシシスチレンを製造する方法を提供する。得られたヒドロキシシスチレンは、アセチル化剤を添加することによって同一反応器内でアセチル化される。ヒドロキシシスチレンおよびそのアセチル化誘導体が、樹脂、エラストマー、接着剤、コーティング、自動車仕上げ塗装、インクおよび電子材料の製造に使用されるモノマーとしての、およびエラストマーおよび樹脂配合物における添加剤としての用途を有することから、この方法は有用である。

30

【0023】

以下の定義が本明細書において使用され、特許請求の範囲および明細書の解釈のために言及される。

【0024】

「p」はパラを意味する。

【0025】

「pAS」は、パラ - アセトキシシスチレンに使用される略語であり、p - アセトキシシスチレンまたは4 - アセトキシシスチレンとしても表される。

【0026】

「pHS」は、パラ - ヒドロキシシスチレンに使用される略語であり、p - ヒドロキシシスチレンまたは4 - ヒドロキシシスチレンとしても表される。

40

【0027】

「CA」はケイ皮酸を意味する。

【0028】

本明細書で使用される「収率」という用語は、化学反応で生成される生成物の量を意味する。収率は一般に、反応の理論収量のパーセンテージとして表される。「理論収量」という用語は、最初に存在する基質の量に対してされる予想される生成物の期待量および反応の化学量論を意味する。

【0029】

50

本発明の溶媒に適用される「極性」という用語は、かなり大きな永久双極子モーメントを有する分子によって特徴付けられる溶媒を意味する。

【0030】

本発明の溶媒に適用される「非プロトン性」という用語は、不安定な陽子供与体または受容体として働くことができない溶媒を意味する。

【0031】

本発明の溶媒に適用される「プロトン性」という用語は、不安定な陽子供与体または受容体として働くことができる溶媒を意味する。

【0032】

「極性有機溶媒混合物」という用語は、少なくとも1種の極性溶媒を含んでなる有機溶媒の混合物を意味する。

10

【0033】

「極性非プロトン性有機溶媒混合物」という用語は、少なくとも1種の極性非プロトン性溶媒を含んでなる有機溶媒の混合物を意味する。

【0034】

「TAL」は、チロシアンモニアリアーゼに使用される略語である。

【0035】

「PAL」は、フェニルアラニンアンモニアリアーゼに使用される略語である。

【0036】

「PAH」は、フェニルアラニンヒドロキシラーゼに使用される略語である。

20

【0037】

「TAL活性」という用語は、チロシンのpHCAへの直接変換を触媒するタンパク質の能力を意味する。

【0038】

「PAL活性」という用語は、フェニルアラニンのケイ皮酸への変換を触媒するタンパク質の能力を意味する。

【0039】

「pal」とは、PAL活性を有する酵素をコードする遺伝子を表す。

【0040】

「tal」とは、TAL活性を有する酵素をコードする遺伝子を表す。

30

【0041】

「PAL/TAL活性」または「PAL/TAL酵素」という用語は、PAL活性およびTAL活性のどちらも含むタンパク質を意味する。かかるタンパク質は、酵素基質としてチロシンとフェニルアラニンの両方に対して少なくともいくらかの特異性を有する。

【0042】

「P-450/P-450レダクターゼ系」という用語は、ケイ皮酸のpHCAへの触媒変換を担うタンパク質系を意味する。P-450/P-450レダクターゼ系は、シンナメート4-ヒドロキシラーゼ機能を果たす、当技術分野で公知のいくつかの酵素または酵素系のうちの1つである。本明細書で使用される「シンナメート4-ヒドロキシラーゼ」という用語は、ケイ皮酸のpHCAへの変換を生じさせる一般的な酵素活性を意味するのに対して、「P-450/P-450レダクターゼ系」は、シンナメート4-ヒドロキシラーゼ活性を有する特異的な二元タンパク質系を意味する。

40

【0043】

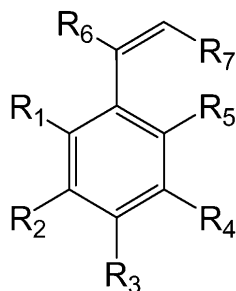
本明細書に記載のすべての範囲は、その範囲の終端およびそのすべての中間範囲点も含む。

【0044】

本発明は、  
一般式：

【0045】

## 【化 4】



10

## 【 0 0 4 6 】

〔式中、 $R_1$ 、 $R_3$ 、および $R_5$ は、H、OH、または $OC H_3$ であり； $R_2$ および $R_4$ は、H、OH、 $OC H_3$ または直鎖状もしくは分岐状アルキルであり； $R_6$ および $R_7$ は、H、ハロ、またはシアノであり、 $R_2$ および $R_4$ が両方同時に $t$ -ブチルではないことが好ましい、ただし、 $R_1$ 、 $R_3$ 、または $R_5$ のうちの少なくとも1つはOHである〕を有する、ビニルモノマー、具体的にはヒドロキシスチレンを製造する方法を含んでなる。本発明の方法によって製造されるヒドロキシスチレンの例としては、限定されないが、4-ヒドロキシスチレン、3-メトキシ-4-ヒドロキシスチレン、3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチレン、3,4-ジヒドロキシスチレン、2-ヒドロキシスチレンおよび-シアノ-4-ヒドロキシスチレンが挙げられる。

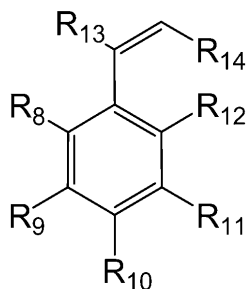
20

## 【 0 0 4 7 】

さらに、反応器にアセチル化剤を添加することによって、得られたヒドロキシスチレンをアセチル化して、一般構造：

## 【 0 0 4 8 】

## 【化 5】



30

## 【 0 0 4 9 】

〔式中、 $R_8$ 、 $R_{10}$ 、および $R_{12}$ は、H、 $O(C=O)CH_3$ 、または $OC H_3$ であり； $R_9$ および $R_{11}$ は、H、OH、 $OC H_3$ または直鎖状もしくは分岐状アルキルであり； $R_{13}$ および $R_{14}$ は、H、ハロ、またはシアノであり、ただし、 $R_8$ 、 $R_{10}$ 、または $R_{12}$ のうちの少なくとも1つは $O(C=O)CH_3$ である〕を有するアセチル化生成物が得られる。

40

## 【 0 0 5 0 】

アセチル化生成物の例としては、限定されないが、4-アセトキシスチレン、3-メトキシ-4-アセトキシスチレン、3,5-ジメトキシ-4-アセトキシスチレン、3,4-ジアセトキシスチレン、2-アセトキシスチレン、および-シアノ-4-アセトキシスチレンが挙げられる。

## 【 0 0 5 1 】

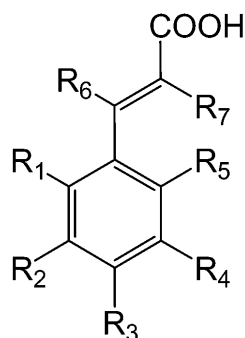
フェノール性基質

本発明で使用されるフェノール性基質は、一般構造：

## 【 0 0 5 2 】



## 【化 6】



10

## 【 0 0 5 3 】

[ 式中、 $R_1$ 、 $R_3$ 、および $R_5$ は、 $H$ 、 $OH$ 、または $OCH_3$ であり； $R_2$ および $R_4$ は、 $H$ 、 $OH$ 、 $OCH_3$ または直鎖状もしくは分岐状アルキルであり； $R_6$ および $R_7$ は、 $H$ 、ハロ、またはシアノであり、ただし、 $R_1$ 、 $R_3$ 、または $R_5$ のうちの少なくとも1つは $OH$ である ]

を有する。適切なフェノール性基質の例としては、限定されないが、4 - ヒドロキシケイ皮酸、フェルラ酸、シナピン酸、コーヒー酸、2 - ヒドロキシケイ皮酸、および - シアノ - 4 - ヒドロキシケイ皮酸が挙げられる。立体障害のあるフェノールよりも生成物分解する傾向がある、立体障害のないフェノール基質でさえ、高収率の脱炭酸化生成物が得られることが発見された。本明細書において立体障害のあるフェノールは、 $R_2$ および $R_4$ 位置の両方で、 $t$  - ブチルなどの大きな嵩高い基として定義される。立体障害のないフェノールは、 $R_2$ および $R_4$ 位置の両方で、大きな嵩高い基を保持しないフェノールである。立体障害のないフェノール基質としては、限定されないが、 $R_2$ または $R_4$ のうちの少なくとも1つが、 $H$ 、 $OH$ 、 $OCH_3$ 、メチル、エチル、またはプロピルであるフェノールが挙げられる。さらに、生成物分解する傾向があるオルト非置換フェノール基質でさえ、高収率の脱炭酸化生成物が得られることが発見された。本明細書においてオルト非置換フェノールは、 $R_2$ または $R_4$ のうちの少なくとも1つが $H$ であるフェノールとして定義される。

20

## 【 0 0 5 4 】

これらのフェノール性基質は多くの方法で得ることができる。例えば、主にトランス形の4 - ヒドロキシケイ皮酸 (pHCA) は、アルドリッチ社 (Aldrich) (ウィスコンシン州ミルウォーキー (Milwaukee, WI)) およびTCIアメリカ社 (TCI America) (オレゴン州ポートランド (Portland, OR)) などの会社から市販されている。さらに、pHCAは、当技術分野で公知の方法を使用して化学合成によって製造することができる。例えば、米国特許第4,316,995号明細書にピテ (Pittet) らによって、または米国特許第5,990,336号明細書にアレキサンドラトス (Alexandratos) によって記載されているように、マロン酸をパラ - ヒドロキシベンズアルデヒドと反応させることによって、pHCAを製造することができる。代替方法としては、植物からpHCAを単離することもできる (R. ベンリエフ (Benrief) ら, *Phytochemistry* 47: 825 - 832 (1998) および米国特許出願公開第20020187207号明細書)。一実施形態において、pHCAの源は、生産宿主を使用した生物生産 (bioproduction) に由来する。他の実施形態において、生産宿主は、標準DNA技術を使用して製造される組換え宿主細胞である。これらの組換えDNA技術は、参照により本明細書に組み込まれる、サンプブルック (Sambrook), J., フリッツシュ (Fritsch), E. F. およびマニアティス (Maniatis), T., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 第2版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1989) に記載されている。

30

40

50

## 【 0 0 5 5 】

一実施形態において、参照により本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第 2 0 0 3 0 0 7 9 2 5 5 号明細書にチー ( Q i ) らによって記載されているように p H C A が生成される。開示内容に従って、フェニルアラニンヒドロキシラーゼ ( P A H ) 活性をコードする少なくとも 1 つの遺伝子およびチロシンアンモニリアーゼ ( T A L ) 活性をコードする少なくとも 1 つの遺伝子を発現するように遺伝子操作された組換え微生物を使用して、p H C A が生成される。この形質転換された微生物は、グルコースなどの発酵性炭素源を、P A H によってチロシンに変換されるフェニルアラニンへと代謝する。生成されたチロシンは、T A L 酵素によって p H C A に変換される。T A L 活性を有する適切な酵素が使用される。例えば、P A L 活性と T A L ( P A L / T A L ) 活性のどちらも有する酵素が使用される。米国特許第 6 , 3 6 8 , 8 3 7 号明細書にゲートンビー ( G a t e n b y ) らによって記載されるように、向上した T A L 活性を有するように、野生型酵母 P A L 酵素の突然変異生成によって生成された T A L 酵素も使用することができる。代替方法としては、米国特許出願公開第 2 0 0 4 0 0 2 3 3 5 7 号明細書に記載される酵母トリコスポロン - クタネウム ( T r i c h o s p o r o n c u t a n e e u m ) からの誘導性 T A L 酵素、またはキント ( K y n d t ) ら ( F E B S L e t t . 5 1 2 : 2 4 0 - 2 4 4 ( 2 0 0 2 ) ) もしくはファング ( H u a n g ) ら ( 米国特許出願公開第 2 0 0 4 0 0 5 9 1 0 3 号明細書 ) に記述されるような細菌 T A L 酵素が使用される。

10

## 【 0 0 5 6 】

他の実施形態において、p H C A は、参照により本明細書に組み込まれる上記のゲートンビー ( G a t e n b y ) らにより開示されている方法のうちのいずれか 1 つによって生成される。例えば、p H C A は、酵母 P A L 活性をコードする遺伝子および植物 P - 4 5 0 / P - 4 5 0 レダクターゼ系をコードする遺伝子を発現するように遺伝子操作された組換え微生物を使用して生成される。この形質転換された微生物は、グルコースなどの発酵性炭素源を、P A L 酵素によってケイ皮酸 ( C A ) に変換されるフェニルアラニンへと代謝する。続いて、C A は、P - 4 5 0 / P - 4 5 0 レダクターゼ系の作用によって p H C A に変換される。代替方法として、T A L 活性をコードする遺伝子を発現する組換え微生物を使用して、p H C A を生成することができる。T A L 酵素は直接、チロシンを p H C A に変換する。上述のように、いずれかの適切な T A L 酵素を使用することができる。

20

## 【 0 0 5 7 】

他の実施形態において、p H C A は、参照により本明細書に組み込まれる、係属中かつ同一出願人による米国特許出願第 6 0 / 5 6 3 6 3 3 号明細書にベン - バサット ( B e n - B a s s a t ) により記載されているように 2 段階発酵を用いて生成される。第 1 段階は、芳香族アミノ酸チロシンを生成する向上した能力を有する微生物の生産宿主 ( 過剰産生体 ( o v e r - p r o d u c e r ) ) を提供することを含んでなる。これらの細胞は、生理学的 p H にて、チロシンが増殖培地に蓄積する時点まで増殖する。発酵の第 2 段階中に、細胞を p H 約 8 . 0 ~ 約 1 1 . 0 で T A L の源と接触させる。この段階中、チロシンは、比較的高い速度および収率で p H C A に変換される。代替方法として、2 つの段階は、2 つの別々の段階として行うことができ、チロシンを第 1 段階の発酵培地から単離し、次いで T A L の源と接触させる。

30

40

## 【 0 0 5 8 】

p H C A の生物産生に関しては、使用される微生物を発酵槽内で適切な増殖培地において培養する。攪拌タンク発酵槽、エアリフト発酵槽、気泡発酵槽、またはそのいずれかの組み合わせを含む、いずれかの適切な発酵槽を使用することができる。微生物培養物の維持および増殖のための材料および方法は、微生物学または発酵科学の当業者にはよく知られている ( 例えば、ベイリー ( B a i l e y ) ら、B i o c h e m i c a l E n g i n e e r i n g F u n d a m e n t a l s 、第 2 版、M c G r a w H i l l 、N e w Y o r k 、1 9 8 6 参照 ) 。生物産生された p H C A は、当技術分野で公知の方法を用いて、本発明で使用される発酵培地から単離される。例えば、遠心分離によって、発酵培地から固体が除去される。次いで、培地を酸性化することによって、p H C A を沈殿させ、

50

遠心分離によって回収する。所望の場合には、例えば有機溶媒抽出を用いて、pHCAをさらに精製することができる。

#### 【0059】

同様に、フェルラ酸、シナピン酸、およびコーヒー酸は、アルドリッチ社 (Aldrich) (ウィスコンシン州ミルウォーキー (Milwaukee, WI)) およびTCIアメリカ社 (TCI America) (オレゴン州ポートランド (Portland, OR)) などの会社から市販されている。代替方法としては、リグニン生合成経路の要素を含んでなるこれらの基質は、すべて天然植物産物であるため、植物組織から容易に単離することができる (例えばチャン (Jang) ら、Archives of Pharmacol Research (2003)、26(8)、585-590; マツフジ (Matsufuji) ら、Journal of Agricultural and Food Chemistry (2003)、51(10)、3157-3161; 国際公開第2003046163号パンフレット; クテアウ (Couteau) ら、Bioresour Technol (1998)、64(1)、17-25; およびバルトロメ (Bartolome) ら、Journal of the Science of Food and Agriculture (1999)、79(3)、435-439参照)。さらに、多くのより一般的なフェノール性基質についての化学合成法が知られている (例えば、国際公開第2002083625号パンフレット (「Preparation of ferulic acid dimers and their pharmaceutically acceptable salts, and use thereof for treating dementia」); 特開2002155017号公報 (「Preparation of caffeic acid from ferulic acid」); およびタニグチ (Taniguchi) ら、Anticancer Research (1999)、19(5A)、3757-3761参照)。アルキル化pHCA誘導体の製造は、豪州特許出願第7247129号明細書にララ (Lala) らによって記述されている。

#### 【0060】

##### 非アミン塩基性触媒

本発明の方法では、非アミン塩基性触媒を使用する。非アミン塩基性触媒は、アミンを含有しない本発明の反応を促進することができる塩基性化合物である。比較として、アミン含有触媒の例は、ピリジンおよびエチレンジアミンである。実質的に、本発明の反応条件と適合性の非アミン塩基性触媒が使用され、金属塩および特にカリウム塩または酢酸塩が好ましい。本発明において特に適している触媒としては、限定されないが、酢酸カリウム、炭酸カリウム、水酸化カリウム、酢酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウムおよび酸化マグネシウムが挙げられる。

#### 【0061】

本発明の非アミン触媒はすべて、例えば、EMサイエンス社 (EM Science) (ニュージャージー州ギブスタウン (Gibbstown, NJ)) またはアルドリッチ社 (Aldrich) (ウィスコンシン州ミルウォーキー (Milwaukee, WI)) から市販されている。

#### 【0062】

非アミン塩基性触媒の最適濃度は、基質の濃度、使用する溶媒の性質および反応条件に応じて異なる。一般に、反応混合物中で基質に対して約1モル%~約30モル%の濃度が好ましい。

#### 【0063】

##### 有機溶媒

脱炭酸反応のみについては、極性非プロトン性有機溶媒およびプロトン性極性有機溶媒を含む多種多様な有機溶媒が使用される。単一のプロトン性極性溶媒または単一の極性非プロトン性溶媒を使用することができる。さらに、極性非プロトン性溶媒の混合物、プロトン性極性溶媒の混合物、極性非プロトン性溶媒とプロトン性極性溶媒との混合物、およ

び非プロトン性もしくはプロトン性溶媒と非極性溶媒との混合物を使用することができ、極性非プロトン性溶媒またはその混合物が好ましい。適切な極性非プロトン性溶媒としては、限定されないが、N, N - ジメチルホルムアミド、1 - メチル - 2 - ピロリジノン、N, N - ジメチルアセトアミド、ジメチルスルホキシド、ヘキサメチルホスホルアミド、およびヘキサメチル亜リン酸トリアミドが挙げられる。適切なプロトン性極性溶媒としては、限定されないが、ジ(プロピレングリコール)メチルエーテル(ドワノール(Dowanol)(商標)DPM)、ジ(エチレングリコール)メチルエーテル、2 - ブトキシエタノール、エチレングリコール、2 - メトキシエタノール、プロピレングリコールメチルエーテル、n - ヘキサノール、およびn - ブタノールが挙げられる。

【0064】

10

2工程脱炭酸化 - アセチル化プロセスに関しては、有機溶媒は、非プロトン性および極性の両方の最終的な特性を有するべきである。単一の極性非プロトン性溶媒を使用してもよいし、または極性非プロトン性溶媒の混合物を使用してもよい。代替方法としては、極性非プロトン性溶媒を非極性溶媒と組み合わせて使用することができる；しかしながら、プロトン性溶媒は、その反応性のためにアセチル化剤を消費する傾向があるため望ましくない。本発明の2工程プロセスにおいて特に適している溶媒としては、限定されないが、N, N - ジメチルホルムアミド、1 - メチル - 2 - ピロリジノン、N, N - ジメチルアセトアミド、ジメチルスルホキシド、ヘキサメチルホスホルアミド、およびヘキサメチル亜リン酸トリアミドが挙げられる。

【0065】

20

#### 重合防止剤

本発明の方法において重合防止剤が有用であるが、必要ではない。本発明に記載の脱炭酸反応に必要な温度に耐性のある適切な重合防止剤が使用される。適切な重合防止剤の例としては、限定されないが、ヒドロキノン、ヒドロキノンモノメチルエーテル、4 - t e r t - ブチルカテコール、フェノチアジン、N - オキシル(ニトロキシド)防止剤、例えば、プロスタブ(Prostab)(登録商標)5415(ニューヨーク州タリータウンのチバ・スペシャリティ・ケミカルズ社(Ciba Specialty Chemicals, Tarrytown, NY)から市販されているビス(1 - オキシル - 2, 2, 6, 6 - テトラメチルピペリジン - 4 - イル)セバケート, CAS # 2516 - 92 - 9)、4 - ヒドロキシ - T E M P O (TCIアメリカ社(TCI America)から市販されている4 - ヒドロキシ - 2, 2, 6, 6 - テトラメチルピペリジン - 1 - イルオキシ, CAS # 2226 - 96 - 2)およびユビナル(Uvinul)(登録商標)4040P(マサチューセッツ州ウスターのBASF社(BASF Corp., Worcester, MA)から市販されている1, 6 - ヘキサメチレン - ビス(N - ホルミル - N - (1 - オキシル - 2, 2, 6, 6 - テトラメチルピペリジン - 4 - イル)アミン)が挙げられる。

30

【0066】

#### 重合遅延剤

場合によっては、本発明の反応に重合防止剤と組み合わせて重合遅延剤を使用することも有利である。重合遅延剤は当技術分野でよく知られており、重合反応を遅くするが、重合をすべては防ぐことができない化合物である。一般的な遅延剤は、ジニトロ - オルト - クレゾール(DNOC)およびジニトロブチルフェノール(DNBP)などの芳香族ニトロ化合物である。重合遅延剤の製造方法は一般的であり、技術分野でよく知られており(例えば米国特許第6, 339, 177号明細書; パーク(Park)ら、Polymer(Korea)(1988)、12(8)、710 - 19参照)、スチレン重合の制御でのその使用はかなり記録に残されている(例えばブッシュビー(Bushby)ら、Polymer(1998)、39(22)、5567 - 5571参照)。

40

【0067】

#### 反応条件

フェノール性基質、非アミン塩基性触媒、および有機溶媒を反応器に添加して、反応混

50

合物を形成する。いずれかの適切な反応器が使用される。

【0068】

反応温度は、基質の濃度、形成された生成物の安定性、触媒の選択および所望の収率に応じて異なる。一般に、少なくとも約100の温度が適しており、少なくとも約100～約200の範囲の温度が生成物の有効な生成と一致する。基質として4-ヒドロキシケイ皮酸を使用した反応では、好ましい温度範囲は約120～約150である。それより低い安定性の生成物、例えばコーヒ酸を生成する基質には、範囲約100～約120の低い温度が使用される。それより高い安定性の生成物、例えば3,5-ジメチル-4-ヒドロキシケイ皮酸を生成する基質では、範囲約150～約200の高い温度が使用される。

10

【0069】

反応は、気圧～約1000psig(6895kPa)の範囲の圧力で行われ、約500psig(3447kPa)の圧力もまた使用することができる。窒素などの不活性ガスを使用して、圧力を調節することができる。高圧での反応には、限定されないが、振とう容器、ロッカー容器(rockervessel)および攪拌オートクレープを含む従来の圧力反応器が使用される。

【0070】

反応に対する時間の制限はない；しかしながら、大部分の反応は4時間未満で行われ、反応時間約45分～約180分が一般的である。

【0071】

20

ヒドロキシスチレンのアセチル化

一実施形態において、脱炭酸反応が終了した後に、アセチル化剤を反応混合物に直接添加することによって、脱炭酸化されたフェノール系生成物がアセチル化誘導体に変換される。一般に、アセチル化剤は過剰量で添加され、基質に比べて少なくとも1モル当量の濃度が好ましい。適切なアセチル化剤としては、限定されないが、無水酢酸、塩化アセチル、および酢酸が挙げられる。一実施形態において、アセチル化剤は無水酢酸である。

【0072】

アセチル化反応は、温度範囲約25～約150、さらに温度範囲約100～約140、圧力範囲気圧～約1000psig(6895kPa)にて高収率で行われる。当業者には、基質と触媒の両方が可溶性である温度が使用されるべきであることは理解されよう。最も簡単な方法は、脱炭酸反応工程の終了直後にアセチル化剤を添加し、脱炭酸反応と同じ温度でアセチル化を行うことである。

30

【0073】

脱炭酸化およびアセチル化生成物の単離および精製

反応の終了後に、当技術分野で公知の適切な方法を使用して、脱炭酸化生成物またはアセチル化生成物を単離する。例えば、反応混合物を氷水上に注ぎ、酢酸エチルまたはジエチルエーテルなどの有機溶媒中に抽出する。次いで、減圧での蒸発を用いて溶媒を除去することによって、生成物を回収する。一実施形態において、ヒドロキシスチレン生成物の生成物収率は、理論収量の少なくとも63%である。他の実施形態において、アセチル化生成物の収率は、理論収量の少なくとも63%である。

40

【0074】

当技術分野でよく知られている再結晶化、真空蒸留、フラッシュ蒸留またはクロマトグラフィー技術を用いて、脱炭酸化生成物またはそのアセチル化誘導体をさらに精製する。

【0075】

次いで、樹脂、エラストマー、接着剤、コーティング、自動車仕上げ塗装、インクの製造に使用されるモノマーとして、およびエラストマーおよび樹脂配合物における添加剤として、得られたヒドロキシスチレンまたはそのアセチル化誘導体を使用することができる。

【実施例】

【0076】

50

本発明は、以下の実施例においてさらに定義される。本発明の好ましい実施形態を示すこれらの実施例は、単に例証として示されることを理解されたい。上記の説明およびこれらの実施例から、当業者は、本発明の本質的な特徴を把握し、本発明の精神および範囲から逸脱することなく、本発明に種々の変更および修正を加えて、種々の用途および条件にそれを適応させることができる。

#### 【0077】

使用される略語の意味は以下のとおりである：「min」は分（間）、「h」は時（間）、「sec」は秒（間）、「mL」はミリリットル、「L」はリットル、「μL」はマイクロリットル、「μm」はマイクロメートル、「mol」はモル、「mmol」はミリモル、「g」はグラム、「mg」はミリグラム、「ppm」は百万分率、「M」はモル濃度、「m」は重量モル濃度、「eq」は当量、「v/v」は容積対容積比、「Pa」はパスカル、「mPa」はミリパスカル、「psi」はゲージpsi、「MHz」はメガヘルツ、「TLC」は薄層クロマトグラフィー、「HPLC」は高性能液体クロマトグラフィー、「LC-MS」は液体クロマトグラフィー-質量分析法、「NMR」は核磁気共鳴分光法、「DMF」はN,N-ジメチルホルムアミド、「DMAc」はN,N-ジメチルアセトアミド、「NMP」は1-メチル-2-ピロリジノン、「nd」は未決定、「kPa」はキロパスカル、「rpm」は毎分回転数、「UV」は紫外線を意味する。

#### 【0078】

一般的方法：

試薬：

別段の指定がない限り、パラ-ヒドロキシケイ皮酸は、アルドリッチ社（Aldrich）（ウィスコンシン州ミルウォーキー（Milwaukee, WI））およびTCIアメリカ社（TCI America）（オレゴン州ポートランド（Portland, OR））から入手し；3,4ジヒドロキシケイ皮酸は、アルドリッチ社（Aldrich）から入手した。すべての溶媒は試薬用であり、アルドリッチ社（Aldrich）から入手した。塩基性触媒は、アルドリッチ社（Aldrich）またはEMサイエンス社（EM Science）（ニュージャージー州ギブスタウン（Gibbstown, NJ））から入手した。重合防止剤プロスタブ（Prostab）（登録商標）5415は、ニューヨーク州タリータウンのチバ・スペシャリティ・ケミカルズ社（Ciba Specialty Chemicals, Tarrytown, NY）から入手した。

#### 【0079】

分析方法：

TLC法：

固体担体としてシリカゲル（Silica gel）60F<sub>254</sub>（EMサイエンス社（EM Science））を使用して、TLCを行った。pHCAの分析に移動相として、エチルアセレートとヘキサンの1：1混合物を使用し、エチルアセレートとヘキサンの1：4混合物をpHSに使用した。その試料をpHCAおよびpHSの基準試料と比較した。254nmの紫外線ランプを使用して、TLCプレートを観察した。

#### 【0080】

HPLC法：

方法1：

逆相ゾルボックス（Zorbax）SB-C8カラム（4.6mm×150mm, 3.5μm, ペンシルバニア州チャッツフォードのMAC-MODアナリティカル社（MAC-MOD Analytical Inc., Chadds Ford, PA）によって供給されている）と共に、アジレント（Agilent）1100HPLCシステム（デラウェア州ウィルミントンのアジレント・テクノロジーズ社（Agilent Technologies, Wilmington, DE））を使用した。2種類の溶媒：溶媒A、HPLCグレードの水中の0.1%トリフルオロ酢酸および溶媒B、アセトニトリル中の0.1%トリフルオロ酢酸を合わせた勾配を用いて、HPLC分離を達成した。移動相の流量は1.0mL/分であった。使用された溶媒勾配を表1に示す。温度45 および

試料注入量 5  $\mu$ L を用いた。

【 0 0 8 1 】

【 表 1 】

表 1  
HPLC 法 1 に使用される溶媒勾配

| 時間(分) | 溶媒 A | 溶媒 B |
|-------|------|------|
| 0     | 95%  | 5%   |
| 8     | 20%  | 80%  |
| 10    | 20%  | 80%  |
| 11    | 95%  | 5%   |

10

【 0 0 8 2 】

各実施後に、A 9 5 % と B 5 % との溶媒混合物で、再度カラムを 5 分間平衡化した。

【 0 0 8 3 】

標準 pH S 溶液を使用して、適切な較正曲線が形成された。ロイツェリッツ ( L e u t e r i t z ) ら ( P o l y m e r P r e p r i n t s 4 3 ( 2 ) : 2 8 3 - 2 8 4 ( 2 0 0 2 ) ) によって記載されている方法と同様な方法を用いて、アセトキシスチレンを使用して標準のための pH S を調製した。較正曲線を用いて、H P L C ピーク領域から各試料における p H C A および p H S の重量 % を決定した。サンプリングの時点での反応混合物のこの情報および全重量に関しては、p H C A の転化率 % および p H S の収率 % を計算した。

20

【 0 0 8 4 】

方法 2 : 逆相ゾルボックス ( Z o r b a x ) S B - C 1 8 カラム ( 4 . 6 m m x 1 5 0 m m , 3 . 5  $\mu$  m , アジレント・テクノロジーズ社 ( A g i l e n t T e c h n o l o g i e s ) によって供給されている ) と共に、アジレント ( A g i l e n t ) 1 1 0 0 H P L C システムを使用した。2 種類の溶媒 : 溶媒 A 、 H P L C グレードの水中の 0 . 1 % トリフルオロ酢酸および溶媒 B 、アセトニトリル中の 0 . 1 % トリフルオロ酢酸を合わせた勾配を用いて、H P L C 分離を達成した。移動相の流量は 1 . 2 5 m L / 分であった。使用された溶媒勾配を表 2 に示す。温度 4 0 および試料注入量 1  $\mu$  L を用いた。

30

【 0 0 8 5 】

【 表 2 】

表 2  
HPLC 法 2 に使用される溶媒勾配

| 時間(分) | 溶媒 A | 溶媒 B |
|-------|------|------|
| 0     | 90%  | 10%  |
| 35    | 35%  | 65%  |
| 35.1  | 90%  | 10%  |
| 45    | 90%  | 10%  |

40

【 0 0 8 6 】

上述のように、適切な較正曲線を形成し、それを用いて、H P L C ピーク領域から各試料における p H C A および p H S の重量 % を決定した。それぞれの時点での反応混合物の

50

この情報および全重量（脱炭酸化時の $\text{CO}_2$ の減少に対する補正を含む）に関しては、時間に対する $\text{pHCA}$ および $\text{pHS}$ の重量およびモルを計算した。

【0087】

方法3：逆相ゾルボックス（Zorbax）XDB-C18カラム， $2.1 \times 50 \text{ mm}$ （アジレント・テクノロジーズ社（Agilent Technologies）によって供給されている）と共に、アジレント（Agilent）1100 HPLCシステムを使用した。2種類の溶媒：溶媒A、HPLCグレードの水+0.05%トリフルオロ酢酸および溶媒B、HPLCグレードのアセトニトリル+0.05%トリフルオロ酢酸を合わせた勾配を用いて、HPLC分離を達成した。勾配は、45分間にわたってA95%からA0%となり、それを0.5分間維持し、次いで最初の状態に戻った。移動相の流量は0.8 mL/分であった。温度60 および試料注入量1  $\mu\text{L}$ を用いた。

10

【0088】

方法4：逆相ゾルボックス（Zorbax）SB-C18カラム（ $4.6 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}$ ， $3.5 \mu\text{m}$ ，アジレント・テクノロジーズ社（Agilent Technologies）によって供給されている）と共に、アジレント（Agilent）1100 HPLCシステムを使用した。2種類の溶媒：溶媒A、HPLCグレードの水中の0.1%トリフルオロ酢酸および溶媒B、アセトニトリル中の0.1%トリフルオロ酢酸を合わせた勾配を用いて、HPLC分離を達成した。移動相の流量は1.0 mL/分であった。使用された溶媒勾配を表3に示す。温度40 および試料注入量1  $\mu\text{L}$ を用いた。

20

【0089】

【表3】

表3  
HPLC法4に使用される溶媒勾配

| 時間(分) | 溶媒 A | 溶媒 B |
|-------|------|------|
| 0     | 95%  | 5%   |
| 10    | 100% | 0%   |
| 12    | 100% | 0%   |
| 12.5  | 95%  | 5%   |

30

【0090】

上述のように適切な校正曲線を形成し、それを用いて、HPLCピーク領域から各試料における $\text{pHCA}$ および $\text{pHS}$ の重量%を決定した。それぞれの時点での反応混合物のこの情報および全重量（脱炭酸時の $\text{CO}_2$ の減少に対する補正を含む）に関しては、時間に対する $\text{pHCA}$ および $\text{pHS}$ の重量およびモルを計算した。

【0091】

$^1\text{H}$  NMR：

40

ブルカー（Bruker）DRX（マサチューセッツ州ビルリカのブルカーNMR社（Bruker NMR, Billerica, MA））を使用して、500 MHzでプロトンNMRデータを得た。

【0092】

LC-MS方法：

ヒューレット・パカード（Hewlett Packard）LC/MSDシリーズ1100装置（デラウェア州ウィルミントンのアジレント社（Agilent Technologies, Wilmington, DE））をLC-MS分析に使用した。2つの溶媒：溶媒A、水中の0.05%トリフルオロ酢酸および溶媒B、アセトニトリル中の0.05%トリフルオロ酢酸からなる溶媒勾配でのLC分離において、ゾルボックス・エ

50



クリプス (Zorbax Eclipse) XDB - C18 カラム (2.1 mm × 50 mm, MAC - MOD アナリティカル社 (MAC - MOD Analytical Inc.)) を使用した。勾配は、4.5 分間にわたって溶媒 A 95 % から溶媒 A 0 % となり、続いて溶媒 A 0 % で 2.5 分間、次いで溶媒 A 95 % に戻り、流量は 0.8 mL / 分であった。220 nm での検出で、温度 60 にて LC 分離を行った。

【0093】

実施例 1 ~ 13

パラ - ヒドロキシケイ皮酸の脱炭酸化による 4 - ヒドロキシスチレンの製造

これらの実施例の目的は、塩基性触媒および溶媒の種々の組み合わせを用いて、重合防止剤の存在下にて、パラ - ヒドロキシケイ皮酸の熱的塩基触媒脱炭酸化によって 4 - ヒドロキシスチレンを製造することである。

10

【0094】

これらの実施形態において、溶媒 1 mL 中で濃度 1 M でパラ - ヒドロキシケイ皮酸をフェノール性基質として使用した。実施例で使用される塩基性触媒および溶媒を表 4 に示す。塩基性触媒は、フェノール性基質に対して 3 モル % の濃度で使用した。重合防止剤プロスタブ (Prostab) (登録商標) 5415 をすべての反応において濃度 1000 ppm で使用した。特注のミニブロック圧力反応器において、500 psi g 窒素下にて温度 150 で反応を行った。ミニブロック圧力反応器は、それぞれが別々の反応混合物を含有する 1 ~ 2 mL ガラスバイアル 8 個を収容するように設計されたステンレス鋼製反応器である。反応器は、1250 psi g で 260 の最大定格を有する。反応混合物を含有するガラスバイアルを反応器に装入した後、それを密閉し、窒素で加圧し、ブロックヒーターで加熱した。

20

【0095】

1 時間の反応時間後、反応器を減圧し、反応混合物の試料を上述のように方法 1 を用いて、HPLC によって分析した。各実施例について、反応で消費されたフェノール性基質の量 (pHCA 転化率) および 4 - ヒドロキシスチレンの収率を表 4 にまとめる。

【0096】

【表 4】

表 4  
実施例 1～13 において使用された塩基性触媒および溶媒の組み合わせ

| 実施例 | 溶媒                      | 塩基性触媒      | pHCA<br>転化率% | 生成物<br>収率% |
|-----|-------------------------|------------|--------------|------------|
| 1   | DMF                     | 酢酸カリウム     | 99.8         | 88.8       |
| 2   | DMAc                    | ナトリウムメトキシド | 90.7         | 81.5       |
| 3   | 2-ヘプタノン                 | 炭酸カリウム     | 64.2         | 68.2       |
| 4   | トルエン/DMF<br>(80/20 v/v) | 酸化マグネシウム   | 98.9         | 55.0       |
| 5   | $\gamma$ -ブチロラクトン       | 水酸化カリウム    | 99.9         | 78.7       |
| 6   | DMF                     | 水酸化カリウム    | 99.7         | 95.2       |
| 7   | ジグリム                    | 酢酸カリウム     | 7.2          | 30.8       |
| 8   | 2-ヘプタノン                 | ナトリウムメトキシド | -7.7         | 9.6        |
| 9   | トルエン / DMF              | 炭酸カリウム     | 67.1         | 49.0       |
| 10  | $\gamma$ -ブチロラクトン       | 酸化マグネシウム   | 3.7          | 20.4       |
| 11  | DMF                     | 炭酸カリウム     | 99.8         | 84.9       |
| 12  | DMF                     | 酢酸カリウム     | 99.0         | 106.9      |
| 13  | NMP                     | 酢酸カリウム     | 99.7         | 107.2      |

## 【0097】

表 4 の結果から分かるように、酢酸カリウム、ナトリウムメトキシド、水酸化カリウム、および炭酸カリウムを塩基性触媒として使用して、DMF、DMAc、およびNMPにおいて最も高い生成物収率が得られた。

## 【0098】

## 実施例 14

DMF中で塩基性触媒として酢酸カリウムを使用して、パラ-ヒドロキシケイ皮酸を脱炭酸化することによる4-ヒドロキシシスチレンの製造

この実施例の目的は、重合防止剤（プロスタブ（Prostab）（登録商標）5415 1000 ppm）の存在下にて、DMF中で塩基性触媒として酢酸カリウム（10モル％）を使用して、パラ-ヒドロキシケイ皮酸を熱的塩基触媒脱炭酸化することによって、4-ヒドロキシシスチレンを製造することである。三口丸底フラスコに、pHCA（5g、30.458 mmol、1当量）、DMF 30 mL（pHCAの1 M溶液を調製するため）、プロスタブ（Prostab）（登録商標）5415 1000 ppm（5 mg）、および酢酸カリウム（0.3 g、10モル％）を添加した。攪拌しながら、かつ還流冷却器を使用して、窒素下にて反応を行った。油浴および温度調節器（ガス温度過昇防止装置を備えた）を用いて、反応を150℃に加熱した。酢酸カリウムは室温では可溶性ではないが、熱を加えると溶解し、淡黄色の溶液が得られた。上記のようにTLCによって、反応をモニターした。150℃で1.5時間後、TLCによって決定されるように、反応が終了した。加熱を止め、反応混合物を室温に冷却した。次いで、反応混合物を氷水100 mL上に注ぎ、それを塩化ナトリウムで飽和させ、酢酸エチル（75 mL分）で2回抽出した。2回の抽出から得られた有機層を合わせ、2% NaHCO<sub>3</sub> 溶液100 mLで洗

浄し、次いで水100mLで洗浄した。有機層を $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で乾燥させ、濾過し、回転蒸発器で蒸発させることによって濃縮した。残留物を-20℃で一晩保存した。次いで、その残留物をさらに、減圧(10Pa)下に乾燥させ、淡黄色/黄褐色固体3.44gを得た(理論収量の94%)。 $^1\text{H}$  NMRを用いて、生成物を分析した。

$^1\text{H}$  NMR(500MHz, MeOD): (ppm) 7.998(0.04H, s), 7.275(2H, ABq,  $J=9.0\text{Hz}$ ), 6.758(2H, ABq,  $J=9.1\text{Hz}$ ), 6.65(1H, dd,  $J=17.6$ および $11.0\text{Hz}$ ), 5.575(1H, dd,  $J=17.6$ および $1.1\text{Hz}$ ), 5.048(1H, dd,  $J=11.0$ および $1.4\text{Hz}$ )。

【0099】

10

#### 実施例15

DMF中で塩基性触媒として酢酸カリウムを使用して、パラ-ヒドロキシケイ皮酸を脱炭酸化することによる4-ヒドロキシシスチレンの製造

この実施例の目的は、重合防止剤(プロスタブ(Prostab)(登録商標)5415 100ppm)の存在下にて、DMF中で塩基性触媒として酢酸カリウム(3モル%)を使用して、パラ-ヒドロキシケイ皮酸を熱的塩基触媒脱炭酸化することによって、4-ヒドロキシシスチレンを製造することである。

【0100】

プロスタブ(Prostab)(登録商標)5415 100ppm(0.5mg, DMF中の2mg/mL溶液250 $\mu\text{L}$ として添加された)および酢酸カリウム3モル%(90mg)を使用したことを除いては、実施例14に記載のように反応を行った。実施例14に記載のように生成物を単離し、その結果、鮮黄色の半固体3.82gが得られた(理論収量の104.6%)。 $^1\text{H}$  NMRを用いて、生成物を分析した。

20

$^1\text{H}$  NMR(500MHz, MeOD): (ppm) 7.993(0.22H, s), 7.275(2H, ABq,  $J=8.6\text{Hz}$ ), 6.76(2H, ABq,  $J=8.6\text{Hz}$ ), 6.65(1H, dd,  $J=17.6$ および $10.9\text{Hz}$ ), 5.577(1H, dd,  $J=17.6$ および $1.4\text{Hz}$ ), 5.048(1H, dd,  $J=11.0$ および $0.7\text{Hz}$ )。

【0101】

#### 実施例16

30

単一容器反応においてパラ-ヒドロキシケイ皮酸を脱炭酸化し、続いてアセチル化することによる4-アセトキシシスチレンの製造

この実施例の目的は、2工程の単一容器反応において、パラ-ヒドロキシケイ皮酸を熱的塩基触媒脱炭酸化し、続いて、得られた4-ヒドロキシシスチレンを無水酢酸でアセチル化することにより4-アセトキシシスチレンを製造することである。濃度100ppmでプロスタブ(Prostab)(登録商標)5415を重合防止剤として使用した。

【0102】

三口丸底フラスコに、pHCA(5g, 30.458mmol, 1当量)、DMF30mL(pHCAの1M溶液を調製するため)、プロスタブ(Prostab)(登録商標)5415 100ppm(0.5mg, DMF中の2mg/mL溶液250 $\mu\text{L}$ として添加された)、および酢酸カリウム(30mg, 1モル%)を添加した。攪拌しながら、かつ還流冷却器を使用して、窒素下にて反応を行った。油浴および温度調節器(ガス温度過昇防止装置を備えた)を用いて、反応を150℃に加熱した。酢酸カリウムは室温では可溶性ではないが、熱を加えると溶解し、淡黄色の溶液が得られた。上記のようにTLCによって、反応をモニターした。150℃で2時間後、TLCによって決定されるように、反応が終了した様子であった。次いで、反応温度を140℃に下げ、無水酢酸(4.32mL, 45.687mmol, 1.5当量)を反応混合物に一滴ずつ添加し、それを140℃に維持した。反応混合物の色は薄くなった。TLCを用いて決定されるように、反応は0.75時間後に終了した。加熱を止め、反応混合物を室温に冷却した。反応混合物を-20℃で一晩保存した。

40

50

## 【0103】

4 - ヒドロキシスチレンを単離するための実施例 14 に記載の手順を用いて、4 - アセトキシスチレンを単離し、淡黄色の半固体 5.39 g が得られた (理論収量の 109%)。<sup>1</sup>H NMR を用いて、生成物を分析した。得られた収量が理論収量よりも高いこと、かつ生成物 (つまり、淡黄色の半固体) の性質によって、生成物はいくらかの不純物を含むことが示唆されている。

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): (ppm) 7.40 (2H, ABq, J = 8.6 Hz), 7.045 (2H, ABq, J = 8.5 Hz), 6.693 (1H, dd, J = 17.5 および 11.0 Hz), 5.693 (1H, dd, J = 17.6 および 0.7 Hz), 5.234 (1H, dd, J = 10.9 および 0.8 Hz), 2.29 (2.64 H, s)

10

## 【0104】

## 実施例 17

単一容器反応においてパラ - ヒドロキシケイ皮酸を脱炭酸化し、続いてアセチル化することによる 4 - アセトキシスチレンの製造

この実施例の目的は、パラ - ヒドロキシケイ皮酸を熱的塩基触媒脱炭酸化し、続いて、2工程の単一容器反応において、得られた 4 - ヒドロキシスチレンを無水酢酸でアセチル化することにより 4 - アセトキシスチレンを製造することである。濃度 1000 ppm でプロスタブ (Prostab) (登録商標) 5415 を重合防止剤として使用した。

## 【0105】

20

プロスタブ (Prostab) (登録商標) 5415 1000 ppm (5 mg) を重合防止剤として使用したことを除いては、実施例 16 に記載のように脱炭酸化およびアセチル化反応を行った。実施例 16 に記載のように 4 - アセトキシスチレン生成物を単離し、その結果、黄色のオイル 4.82 g (理論収量の 97.5%) が得られた。<sup>1</sup>H NMR を用いて、生成物を分析した。

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): (ppm) 7.40 (2H, ABq, J = 8.4 Hz), 7.04 (2H, ABq, J = 8.5 Hz), 6.695 (1H, dd, J = 17.6 および 11.0 Hz), 5.695 (1H, d, J = 17.6 Hz), 5.235 (1H, d, J = 10.9 Hz), 2.29 (3H, s)。

## 【0106】

30

## 実施例 18

単一容器反応において 3, 4 - ジヒドロキシケイ皮酸を脱炭酸化し、続いてアセチル化することによる 3, 4 - ジアセトキシスチレンの製造

この実施例の目的は、2工程の単一容器反応において、3, 4 - ジヒドロキシケイ皮酸を熱的塩基触媒脱炭酸化し、続いて、得られた 3, 4 - ヒドロキシスチレンを無水酢酸でアセチル化することにより 3, 4 - ジアセトキシスチレンを製造することである。濃度 1000 ppm でプロスタブ (Prostab) (登録商標) 5415 を重合防止剤として使用した。

## 【0107】

窒素下にて、かつ機械混合しながら、1 L 三口丸底フラスコに、プロスタブ (Prostab) (登録商標) 5415 0.5 g、酢酸カリウム 2.725 g、および 3, 4 - ジヒドロキシケイ皮酸 50.0 g を添加した。次いで、DMF (280 mL) を添加し、その結果、暗褐色の溶液が得られた。水凝縮器を使用して、この反応混合物を 100 に加熱した。試料を抜き取り、LC - MS を使用してそれを分析することによって、反応の進行を一定間隔をあけて確認した。4.5 時間後、3, 4 - ジヒドロキシスチレン中間体の理論収量の 96.6% が形成したことが決定された。反応をさらに 45 分間加熱した。次いで、無水酢酸 132.7 mL を 15 分間にわたって反応混合物に添加した。反応をさらに 15 分間続け、その後、反応混合物を 45 分間にわたって室温に冷却した。

40

## 【0108】

水約 400 mL を含有するビーカーに反応混合物を注ぎ、次いでジエチルエーテルで 3

50

回抽出した。これらの抽出から得られた、合わせた有機層を2%  $\text{NaHCO}_3$  溶液で3回抽出し、続けてブラインで1回抽出した。有機層を  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、濾過し、回転蒸発器で40℃で1時間蒸発させることによって濃縮し、暗褐色のオイル95.2gが得られた。オイルを-20℃で一晩保存した。次いで、105~107℃、圧力1.3mPaで真空蒸留を用いて、オイルを蒸留し、透明な粘性の液体45.11g(理論収量の79.1%)を得た。 $^1\text{H}$  NMRおよびLC-MSによって、3,4-ジアセトキシシチレン生成物を分析し、純度99.7%であることが判明した。

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): (ppm) 7.26 (1H, dd,  $J = 8$  および 2 Hz), 7.22 (1H, d,  $J = 2$  Hz), 7.13 (1H, d,  $J = 9$  Hz), 6.65 (1H, dd,  $J = 18$  および 11 Hz), 5.68 (1H, dd,  $J = 18$  および 1 Hz), 5.26 (1H, d,  $J = 11$  Hz), 2.27 (3H, s), 2.26 (3H, s)。

【0109】

#### 実施例19

重合防止剤の非存在下でのパラ-ヒドロキシケイ皮酸の脱炭酸化による4-ヒドロキシシチレンの製造

この実施例の目的は、重合防止剤の非存在下でDMAc中で塩基性触媒として酢酸カリウム(1モル%)を使用して、濃(concentrated)パラ-ヒドロキシケイ皮酸(4mまたは2.54M)を熱的塩基触媒脱炭酸化することによって4-ヒドロキシシチレンを製造することである。

【0110】

三口丸底フラスコに、pHCA(20.035g, 122.05mmol)およびDMAc30.034g(pHCAの2.54M溶液を調製するため)を添加した。反応フラスコを150℃の予熱された油浴中に沈め、溶液は約15分後にその温度に達した。酢酸カリウム(0.124g, 1モル%)を一度にすべて添加した。攪拌しながら、還流冷却器を使用して、窒素下にて反応を8時間行った。酢酸カリウムを添加する直前(時点0)で、かつ15分、30分、1時間、2時間、4時間、6時間、および8時間の時点で、試料を採取し、上記の方法2を用いてpHCAおよびpHSについてHPLCによって分析した。表5に示す結果から、pHCAの転化は4時間後に本質的に完了しており、その時点でのpHSの収率は87.1%であることが示されている。

【0111】

10

20

30

## 【表 5】

表 5  
様々な時点での pHCA および  
pHS の HPLC による決定

| 反応時間<br>(分) | pHCA<br>(mmol) | pHS<br>(mmol) |
|-------------|----------------|---------------|
| 0           | 116.9          | 4.8           |
| 15          | 97.0           | 23.4          |
| 30          | 83.0           | 42.5          |
| 60          | 50.6           | 66.1          |
| 120         | 17.0           | 96.0          |
| 240         | 0.6            | 106.3         |
| 360         | 0              | 103.4         |
| 480         | 0              | 96.6          |

10

20

## 【0112】

## 実施例 20 ~ 22

DMAc 中で塩基性触媒として異なるレベルの酢酸カリウムを使用して、パラ - ヒドロキシケイ皮酸を脱炭酸化することによる 4 - ヒドロキシスチレンの製造

これらの実施例の目的は、塩基性触媒として異なるレベルで酢酸カリウムを使用して、DMAc 中で濃パラ - ヒドロキシケイ皮酸 (2.5 M) を熱的塩基触媒脱炭酸化することにより 4 - ヒドロキシスチレンを製造することである。

30

## 【0113】

これらの実施例において、反応溶液に添加される酢酸カリウムの量を除いては、実施例 19 に記載の手順と同じ手順を使用した。三口丸底フラスコに、pHCA (19.11 g, 116.4 mmol) および DMAc 30.0 g (pHCA の 2.5 M 溶液を調製するため) に添加した。反応フラスコを 135 の予熱された油浴中に沈め、溶液は約 15 分後にその温度に達した。酢酸カリウム (表 6 に示す量) を一度にすべて添加した。攪拌しながら、還流冷却器を使用して、窒素下にて 4 ~ 6 時間反応を行った。酢酸カリウムを添加する直前 (時点 0) で、かつ 15 分、30 分、1 時間、2 時間、4 時間、および 6 時間の時点で、試料を採取し、上記の方法 2 を用いて pHCA および pHS について HPLC によって分析した。酢酸カリウムを使用していない比較例 22 については、時点 0 は、反応溶液の温度が 135 に平衡化した時点であると解釈した。

40

## 【0114】

## 【表 6】

表 6  
異なるレベルの酢酸カリウムを使用した反応における  
様々な時点での pHCA および pHS の HPLC による決定

|             | 実施例 20             |               | 実施例 21              |               | 比較例 22         |               |
|-------------|--------------------|---------------|---------------------|---------------|----------------|---------------|
| 酢酸カリウム      | 1.146g<br>(10mol%) |               | 2.860g*<br>(25mol%) |               | 0<br>(0mol%)   |               |
| 反応時間<br>(分) | pHCA<br>(mmol)     | pHS<br>(mmol) | pHCA<br>(mmol)      | pHS<br>(mmol) | pHCA<br>(mmol) | pHS<br>(mmol) |
| 0           | 113.3              | 0             | 114.3               | 0             | 114.2          | 0             |
| 15          | 87.0               | 26.7          | 67.6                | 46.4          | 114.7          | 1.5           |
| 30          | 63.4               | 50.0          | 35.8                | 79.2          | 112.1          | 3.7           |
| 60          | 28.5               | 84.7          | 8.3                 | 105.2         | 105.0          | 8.8           |
| 120         | 4.7                | 107.9         | 0.5                 | 102.1         | 95.9           | 18.3          |
| 240         | 0                  | 102.1         | 0                   | 88.7          | 76.9           | 34.1          |
| 360         | 0                  | 89.5          | 0                   | 71.9          | nd             | nd            |

\* 実施例 21 において 60～120 分の間に沈殿した酢酸カリウムとして同定された固体

## 【0115】

表 6 に示す結果から分かるように、実施例 20 では 2 時間後に pHS の収率 92.7% が得られ、実施例 21 では、1 時間後に pHS の収率 90.4% が得られている。どちらの実施例からも、4 時間未満での pHCA の完全な転化が示されている。対照的に、塩基性触媒を使用しなかったことを除いて同じ条件で行われた比較例 22 では、4 時間後でさえ pHS の収率がわずかに 29.3%、pHCA の転化率がわずかに 33.9% であることが示されている。

## 【0116】

## 実施例 23

ジ（プロピレングリコール）メチルエーテル中で塩基性触媒として酢酸カリウムを使用して、パラ - ヒドロキシケイ皮酸を脱炭酸化することによる 4 - ヒドロキシスチレンの製造

この実施例の目的は、プロトン性溶媒ジ（プロピレングリコール）メチルエーテル（ドワノール（Dowanol）（商標）DPM；ミシガン州ミッドランドのダウ・ケミカル社（Dow Chemical Co., Midland, MI））中で塩基性触媒として酢酸カリウム（10 モル%）を使用して、パラ - ヒドロキシケイ皮酸（2.5 m）を熱的塩基触媒脱炭酸化することによって 4 - ヒドロキシスチレンを製造することである。

## 【0117】

三口丸底フラスコに、pHCA（12.318 g，75.04 mmol）およびジ（プロピレングリコール）メチルエーテル 30.052 g を添加した（pHCA の 2.5 m 溶液を調製するため）。反応フラスコを 135 の予熱された油浴中に沈め、溶液は約 15 分後にその温度に達した。溶液を加熱すると、pHCA は完全に溶解した。酢酸カリウム（0.739 g，10 モル%）を一度にすべて添加した。攪拌しながら、還流冷却器を使用して、窒素下にて 8 時間反応を行った。塩基を添加すると固体が形成し、約 3 時間まで増加し、次いで、再び約 5 時間で完全に溶解した。酢酸カリウムを添加する直前（時点 0）で、かつ 15 分、30 分、1 時間、2 時間、4 時間、6 時間、および 8 時間の時点で、試料を採取し、上記の方法 2 を用いて pHCA および pHS について HPLC によって分

析した。その結果（表 7 参照）から、2 時間後の pH S の収率は 67.3 % であることが示されている。追加の反応時間によって、収率が低下した。この結果から、プロトン性溶媒を熱的脱炭酸化反応に使用することができることが実証されている。

【 0 1 1 8 】

【表 7】

表 7

溶媒としてジ(プロピレングリコール)

メチルエーテルを使用した反応における様々な時点での  
pHCA および pH S の HPLC による決定

| 反応時間<br>(分) | pHCA<br>(mmol) | pHS<br>(mmol) |
|-------------|----------------|---------------|
| 0           | 73.5           | 0             |
| 15          | 60.6           | 12.0          |
| 30          | 46.2           | 21.9          |
| 60          | 31.6           | 38.0          |
| 120         | 12.3           | 50.5          |
| 240         | 2.2            | 45.9          |
| 360         | 0              | 17.7          |
| 480         | 0              | 7.2           |

【 0 1 1 9 】

実施例 2 4

マイクロ波加熱を用いて、DMF 中で塩基性触媒として酢酸カリウムを使用して、パラ - ヒドロキシケイ皮酸を脱炭酸化することによる 4 - ヒドロキシスチレンの製造

この実施例の目的は、重合防止剤（プロスタブ（Prostab）（登録商標）5415 1000 ppm）の存在下で、DMF 中で塩基性触媒として酢酸カリウムを使用して、パラ - ヒドロキシケイ皮酸を熱的塩基触媒脱炭酸化することによって 4 - ヒドロキシスチレンを製造することである。この実施例では、マイクロ波加熱を用い、その結果、温度が高いほど、反応時間が短くなる。

【 0 1 2 0 】

攪拌子を備えた 5 mL バイオタージ（Biotaige）試験管バイアル（バージニア州シャーロットヴィルのバイオタージ AB 社（Biotaige AB, Charlottesville, VA））に、pHCA（1.002 g, 6.104 mmol）、DMF 3 mL（pHCA の約 2 M 溶液を調製するため）、プロスタブ（Prostab）（登録商標）5415 1000 ppm（1 mg）、および酢酸カリウム（63 mg, 10 モル%）を添加した。窒素を試験管中に吹き込み、試験管をすぐにクリップキャップした。密閉されたバイアルをバイオタージ・イニシエーター（Biotaige Initiator）60 マイクロ波反応器（バイオタージ AB 社（Biotaige AB））に入れた。150 ワットの間電力下にて、70 ~ 80 秒の昇温時間後に、試料温度が 190 に達した。短時間の間、約 200 に上昇し過ぎたが、試料を 190 で 3 分間維持した。実施中、試料圧力は 16 パール（1600 kPa）に達した。上記のように方法 3 を使用して、露出試料の定性的 HPLC によって、pHCA の完全な転化が示され；紫外線スペクトル範囲 220 ~ 312 nm にわたって、pHCA は検出されなかった。pHS によるピークは、220 nm で領域 73.3 % であり、312 nm では領域 100 % であり、反応の



優れた選択性が示されている。

【0121】

実施例25

単一容器反応においてパラ-ヒドロキシケイ皮酸を脱炭酸化し、続いてアセチル化することによる4-アセトキシスチレンの製造

この実施例の目的は、2工程の単一容器反応において、パラ-ヒドロキシケイ皮酸を熱的塩基触媒脱炭酸化し、続いて、得られた4-ヒドロキシスチレンを無水酢酸でアセチル化することにより4-アセトキシスチレンを製造することである。重合防止剤はこの実施例では使用せず、出発pHCAは、チロシンの生物変換から誘導され、およそ純度85%であった。

10

【0122】

係属中かつ同一出願人による米国特許出願第60/563633号明細書にベン・バサット(Ben Bassat)らにより記載されている方法と同様な方法を用いて、出発pHCA材料を製造した。この方法は、グルコースからpHCAを生成するための2段階プロセスを含む。この実施例で使用される方法において、2つの段階は、2つの別々の工程として行われた。第1の段階では、チロシン過剰産生株を使用して発酵させることによってグルコースからチロシンを生成した。低速遠心分離を用いて、発酵ブロスからチロシンを分離した。得られた沈殿物を水に懸濁し、低速遠心分離を再び使用して分離した。チロシンの純度は、HPLCを用いて90~98%であると推定された。次いで、第2段階において、チロシンアンモニアリアーゼ活性を有する酵素を含んでなる宿主細胞を使用してpH10.0で、チロシンをpHCAに変換した。pHCAは発酵培地中に蓄積した。pHCA含有ブロス約7.5kgを遠心し、固体を廃棄した。35 および600rpmで操作される14Lブラウン(Braun)発酵槽、バイオスタット(BioStat) C.B.(ドイツ、メルスンゲンのブラウン・バイオテック・インターナショナル社(Braun Biotech International, Melesungen, Germany))に上清を移した。硫酸を使用して、溶液のpHを9.0に調節した。次いで、アルカラゼ(Alcalase)(登録商標)(デンマーク、バグスバード2880, クログシューヴェイ36, ノボザイムズ社(Novozymes, Krogshoejvej 36, 2880 Bagsvaerd, Denmark))0.254mLおよびブロメライン(Bromelain)(アクロスオーガニクス社(Acros Organics), ペンシルバニア州ピッツバーグのフィッシャー・サイエンティフィック社(Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)から入手された)0.134gを添加した。1時間インキュベートした後、溶液を滴定してpH2.2とし、pHCAを沈殿させた。得られた懸濁液を遠心し、固形分約40%の湿ったケーキ600gとしてpHCAを回収した。pHCAの他に、湿ったケーキは、タンパク質、細胞壊死組織片、塩、ケイ皮酸約0.21%、およびチロシン0.1%も含有した。その湿ったケーキを窒素下にて80 で12時間乾燥させて、pHCA約85%を含有する乾燥ケーキを得た。

20

30

【0123】

生物産生されたpHCAを以下のように抽出によって精製した。1L反応がまに、pHCAを含有する乾燥ケーキ163.88gを添加した。その反応がまに、DMAc350mLを添加し、機械攪拌しながら、内容物を2時間、60 に加熱した。混合物をワットマン(Whatmann)No.4濾紙を通して濾過し、不溶物をDMAc50mLで洗浄した。

40

【0124】

オーバーヘッドスターラー、還流冷却器、添加漏斗、および温度プローブを備えた1L四口フラスコに、抽出から得られた、合わせた濾液および洗液を添加した。上述のようにHPLC法4によって、反応混合物を分析し、pHCA122.98gを含有することが見出された。その混合物に酢酸カリウム8.8g(10モル%)を添加し、混合物を窒素下にて3時間、135 に加熱した。無水酢酸91.77g、84.97mLを8分間に

50

わたって添加漏斗によって添加した。反応混合物をさらに 0.5 時間攪拌し、次いで室温に冷却した。2.8 トル (0.37 kPa) および 65 で回転蒸発器によって溶媒を除去した。固体を混合物から分離し、ワットマン (Whatmann) No. 4 濾紙を通して濾過除去した。固体を DMAc 30 mL で洗浄した。2.5 トル (0.33 kPa) および 65 で回転蒸発器によって、溶媒が蒸留除去されなくなるまで、合わせた濾液をさらに濃縮した。

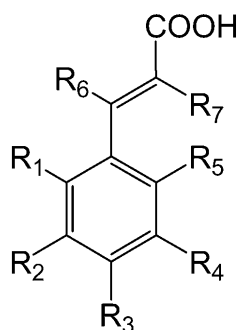
#### 【0125】

このようにして得られた未精製 pAS 157.5 g を、メチルヒドロキノン 200 ppm を添加することによって安定化し、薄膜蒸発器 (UIC 社, シャナホン通り 1225, ジョリエット, II60436 (UIC Inc. 1225 Channahon Rd., Joliet, II60436)) から市販の表面積 0.04 m<sup>2</sup> を有するモデル KDL-4) で蒸留した。流量 2.0 mL / 分、攪拌速度 300 rpm で 2.00 mmHg (0.267 kPa) にて蒸留を行った。入口温度は 71 であり、出口温度は 70 であり、指形冷却器は 10 に維持した。pAS は、オーバーヘッド中に残留 DMAc 112.9 g と共にあり、重質留分 (27.6 g) は、最終蒸留中に形成した pAS およびそのオリゴマーを含有した。0.02 トル (2.7 Pa) および 45 で蒸留することによって DMAc をオーバーヘッド留分から除去し、pAS 86.2 g (収率 71%) を得た。

なお、本発明の特徴および態様を要約すれば以下のとおりである。

#### 1. (a) 一般構造:

#### 【化 7】



[式中、R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub>、および R<sub>5</sub> は H、OH、または OCH<sub>3</sub> であり；R<sub>2</sub> および R<sub>4</sub> は H、OH、OCH<sub>3</sub> または直鎖状もしくは分岐状アルキルであり；R<sub>6</sub> および R<sub>7</sub> は H、ハロ、またはシアノであり、ただし、R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub>、または R<sub>5</sub> のうち少なくとも 1 つは OH であり、そして R<sub>2</sub> および R<sub>4</sub> は両方同時に t-ブチルではない]

を有するフェノール性基質を準備する工程；

(b) i) 非アミン塩基性触媒；および

ii) 少なくとも 1 種の極性有機溶媒または極性有機溶媒混合物；

を含んでなる反応混合物を準備する工程；

(c) フェノール性基質を脱炭酸化生成物に脱炭酸化するのに十分な時間、少なくとも約 100 の温度で (a) のフェノール性基質を (b) の反応混合物と接触させる工程；  
を含んでなる、フェノール性基質を脱炭酸化してビニルモノマーを製造する方法。

2. R<sub>3</sub> が OH である上記 1 に記載の方法。

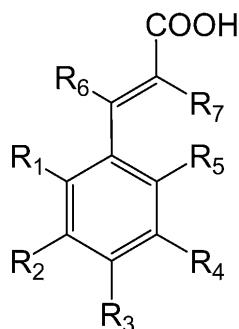
3. フェノール性基質が 4-ヒドロキシケイ皮酸、フェルラ酸、シナピン酸、コーヒー酸、2-ヒドロキシケイ皮酸、および -シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸よりなる群から選択される上記 1 に記載の方法。

4. 脱炭酸化生成物が 4-ヒドロキシスチレン、3-メトキシ-4-ヒドロキシスチレン、

3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシスチレン、3,4-ジヒドロキシスチレン、2-ヒドロキシスチレンおよび -シアノ-4-ヒドロキシスチレンよりなる群から選択される上記 1 に記載の方法。

5. 非アミン塩基性触媒がカリウムを含んでなる上記 1 に記載の方法。
6. 非アミン塩基性触媒が酢酸塩である上記 1 に記載の方法。
7. 非アミン塩基性触媒が金属塩である上記 1 に記載の方法。
8. 非アミン塩基性触媒が酢酸カリウム、炭酸カリウム、水酸化カリウム、酢酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウムおよび酸化マグネシウムよりなる群から選択される上記 7 に記載の方法。
9. 非アミン塩基性触媒が反応混合物中で基質に対して約 1 モル% ~ 約 30 モル%の濃度である上記 1 に記載の方法。
10. 極性有機溶媒が非プロトン性である上記 1 に記載の方法。
11. 極性非プロトン性有機溶媒が N, N - ジメチルホルムアミド、1 - メチル - 2 - ピロリジノン、N, N - ジメチルアセトアミド、ジメチルスルホキシド、ヘキサメチルホスホルアミド、およびヘキサメチル亜リン酸トリアミドよりなる群から選択される上記 10 に記載の方法。
12. 極性有機溶媒がプロトン性である上記 1 に記載の方法。
13. プロトン性溶媒がジ(プロピレングリコール)メチルエーテル(ドワノール(Dowanol)(商標)DPM)、ジ(エチレングリコール)メチルエーテル、2 - ブトキシエタノール、エチレングリコール、2 - メトキシエタノール、プロピレングリコールメチルエーテル、n - ヘキサノール、および n - ブタノールよりなる群から選択される上記 12 に記載の方法。
14. 反応混合物が場合により重合防止剤を含んでなる上記 1 に記載の方法。
15. 重合防止剤がヒドロキノン、ヒドロキノンモノメチルエーテル、4 - tert - ブチルカテコール、フェノチアジン、N - オキシル(ニトロキシド)防止剤、4 - ヒドロキシ - TEMPO(4 - ヒドロキシ - 2, 2, 6, 6 - テトラメチルピペリジン - 1 - イルオキシ, CAS # 2226 - 96 - 2)およびユビナル(Uvinul)(登録商標)4040P(1, 6 - ヘキサメチレン - ビス(N - ホルミル - N - (1 - オキシル - 2, 2, 6, 6 - テトラメチルピペリジン - 4 - イル)アミン)よりなる群から選択される上記 14 に記載の方法。
16. 重合防止剤がプロスタブ(Prostab)(登録商標)5415(ビス(1 - オキシル - 2, 2, 6, 6 - テトラメチルピペリジン - 4 - イル)セバケート, CAS # 2516 - 92 - 9)である上記 15 に記載の方法。
17. 反応混合物が場合により重合遅延剤を含んでなる上記 1 に記載の方法。
18. 重合遅延剤がジニトロ - オルト - クレゾール(DNOC)およびジニトロブチルフェノール(DNBP)よりなる群から選択される上記 17 に記載の方法。
19. 脱炭酸化生成物の収率が 63 %を超える上記 1 に記載の方法。
20. 温度が約 100 ~ 約 200 である上記 1 に記載の方法。
21. (a) 一般構造:

## 【化 8】



[式中、 $R_1$ 、 $R_3$ 、および $R_5$ はH、OH、または $OCCH_3$ であり； $R_2$ および $R_4$ はH、OH、 $OCCH_3$ または直鎖状もしくは分岐状アルキルであり； $R_6$ および $R_7$ は、H、ハロ

10

20

30

40

50

、またはシアノであり、ただし、 $R_1$ 、 $R_3$ 、または $R_5$ のうち少なくとも1つはOHである]

を有するフェノール性基質を準備する工程；

(b) i) 非アミン塩基性触媒；および

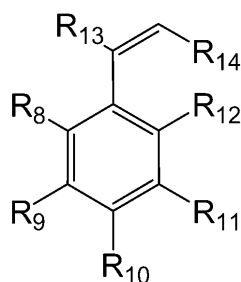
i i) 少なくとも1種の極性非プロトン性有機溶媒または極性非プロトン性有機溶媒混合物；

を含んでなる反応混合物を準備する工程；

(c) フェノール性基質を脱炭酸化して脱炭酸化生成物を生成せしめるのに十分な時間、少なくとも約100の温度で(a)のフェノール性基質を(b)の反応混合物と接触させる工程；

(d) (c)の脱炭酸化生成物をアセチル化剤と接触させて、一般構造：

【化9】



[式中、 $R_8$ 、 $R_{10}$ 、および $R_{12}$ はH、 $O(C=O)CH_3$ または $CH_3O$ であり； $R_9$ および $R_{11}$ はH、OH、 $CH_3O$ または直鎖状もしくは分岐状アルキルであり； $R_{13}$ および $R_{14}$ はH、ハロ、またはシアノであり、ただし、 $R_8$ 、 $R_{10}$ 、または $R_{12}$ のうちの少なくとも1つは $O(C=O)CH_3$ である]

を有するアセチル化生成物を生成せしめる工程；

の連続した工程を含んでなる、フェノール性基質からアセチル化生成物を合成する方法。

22. アセチル化剤が無水酢酸、塩化アセチル、および酢酸よりなる群から選択される上記21に記載の方法。

23. アセチル化剤が無水酢酸である上記21に記載の方法。

24. アセチル化生成物が4-アセトキシスチレン、3-メトキシ-4-アセトキシスチレン、3,5-ジメトキシ-4-アセトキシスチレン、3,4-ジアセトキシスチレン、2-アセトキシスチレン、および-シアノ-4-アセトキシスチレンよりなる群から選択される上記21に記載の方法。

25. アセチル化生成物が4-アセトキシスチレンである上記21に記載の方法。

26. フェノール性基質が4-ヒドロキシケイ皮酸、フェルラ酸、シナピン酸、コーヒー酸、2-ヒドロキシケイ皮酸、および-シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸よりなる群から選択される上記21に記載の方法。

27. 非アミン塩基性触媒がカリウムを含んでなる上記21に記載の方法。

28. 非アミン塩基性触媒が酢酸塩である上記21に記載の方法。

29. 非アミン塩基性触媒が金属塩である上記21に記載の方法。

30. 非アミン塩基性触媒が酢酸カリウム、炭酸カリウム、水酸化カリウム、酢酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウムおよび酸化マグネシウムよりなる群から選択される上記28に記載の方法。

31. 非アミン塩基性触媒が反応混合物中で基質に対して約1モル%~約30モル%の濃度である上記21に記載の方法。

32. 極性非プロトン性有機溶媒がN,N-ジメチルホルムアミド、1-メチル-2-ピロリジノン、N,N-ジメチルアセトアミド、ジメチルスルホキシド、ヘキサメチルホスホルアミド、およびヘキサメチル亜リン酸トリアミドよりなる群から選択される上記21に記載の方法。

10

20

30

40

50

33. 反応混合物が場合により重合防止剤を含んでなる上記21に記載の方法。
34. 重合防止剤がヒドロキノン、ヒドロキノンモノメチルエーテル、4-tert-ブチルカテコール、フェノチアジン、N-オキシル(ニトロキシド)防止剤、4-ヒドロキシ-TEMPO(4-ヒドロキシ-2,2,6,6-テトラメチルピペリジン-1-イルオキシ, CAS# 2226-96-2)およびユビナル(Uvinul)(登録商標) 4040P(1,6-ヘキサメチレン-ビス(N-ホルミル-N-(1-オキシル-2,2,6,6-テトラメチルピペリジン-4-イル)アミン)よりなる群から選択される上記33に記載の方法。
35. 重合防止剤がプロスタブ(Prostab)(登録商標) 5415(ビス(1-オキシル-2,2,6,6-テトラメチルピペリジン-4-イル)セバケート, CAS# 2516-92-9)である上記34に記載の方法。 10
36. 反応混合物が場合により重合遅延剤を含んでなる上記21に記載の方法。
37. 重合遅延剤がジニトロ-オルト-クレゾール(DNOC)およびジニトロブチルフェノール(DNBP)よりなる群から選択される上記36に記載の方法。
38. アセチル化生成物の収率が63%を超える上記21に記載の方法。
39. 工程(c)における温度が約100 ~ 約200 であり、そして工程(d)における温度が室温 ~ 約150 である上記21に記載の方法。

## フロントページの続き

|                |           |                     |
|----------------|-----------|---------------------|
| (51)Int.Cl.    |           | F I                 |
| C 0 7 C 67/08  | (2006.01) | C 0 7 C 67/08       |
| C 0 7 C 255/55 | (2006.01) | C 0 7 C 255/55      |
| C 0 7 C 255/53 | (2006.01) | C 0 7 C 255/53      |
| C 0 7 C 253/30 | (2006.01) | C 0 7 C 253/30      |
| C 0 7 C 37/88  | (2006.01) | C 0 7 C 37/88       |
| C 0 7 C 67/62  | (2006.01) | C 0 7 C 67/62       |
| C 0 7 C 253/32 | (2006.01) | C 0 7 C 253/32      |
| C 0 7 B 61/00  | (2006.01) | C 0 7 B 61/00 3 0 0 |

- (72)発明者 クニツキ，キース  
アメリカ合衆国ペンシルベニア州 1 9 3 9 0 ウエストグローブ・ウエストハンタークリークレーン  
2 2
- (72)発明者 シヤー，ムケシユ・シー  
アメリカ合衆国デラウェア州 1 9 7 0 7 ホツケシン・ルサナウエイ 7
- (72)発明者 シューイ，スチーブン・ダブリュー  
アメリカ合衆国ペンシルベニア州 1 9 3 5 0 ランデンバーグ・バトンウツドロード 4 3 5
- (72)発明者 トロスト，バリー・エム  
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 0 2 4 ロスアルトスヒルズ・アミゴスコート 2 4 5 1 0
- (72)発明者 ワグマン，マーク・イー  
アメリカ合衆国デラウェア州 1 9 8 1 0 ウイルミントン・ウエクスフォードドライブ 2 5 1 9

審査官 高橋 直子

- (56)参考文献 特開 2 0 0 4 - 2 3 1 5 2 4 ( J P , A )  
米国特許第 0 4 3 1 6 9 9 5 ( U S , A )

- (58)調査した分野(Int.Cl.，D B 名)  
C07B 31/00-63/04  
C07C 1/00-409/44