

명세서

발명의 명칭: L-호모세린 제조 방법

기술분야

- [1] L-호모세린의 제조 방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 산업계에서 사용되는 화합물은 주로 화석 연료를 사용하는 석유화학 공정에서 얻어지는 물질이다. 석유화학 공정은 환경에 유해한 부산물을 생성하고 화석 연료의 매장량에도 한계가 있다.
- [3] 따라서, 기존의 화석 연료를 사용하는 석유화학 공정을 대체하여 지속 가능한 방법으로 산업계에서 사용되는 화합물을 공급하려는 연구가 시도되고 있다.
- [4] 식물계로부터 유래하는 당을 사용하여 미생물의 발효에 의한 생합성을 통하여 다양한 화합물을 생산하는 것이 가능하다. 예를 들어, 페티오닌, 쓰레오닌, 이소류신 등의 화합물이 생합성에 의하여 생산된다.
- [5] 한편, 호모세린은 페티오닌, 쓰레오닌, 이소류신 등의 생합성에 중간체로 사용되는 등 다양한 반응에 사용된다.
- [6] 따라서, 호모세린을 간단하게 제조하는 방법이 요구된다.

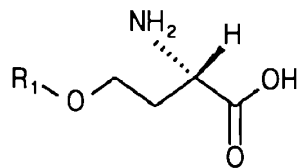
발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [7] 본 출원의 한 측면은 높은 순도(purity)를 가지는 L-호모세린을 간단하게 높은 회수율로 제조하는 방법을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

- [8] 한 측면에 따라,
- [9] 본 출원에서는 하기 화학식 1로 표시되는 L-호모세린 유도체를 고체 산(solid acid) 촉매와 접촉시키는 단계;를 포함하는 L-호모세린 제조 방법이 제공된다.
- [10] <화학식 1>
- [11]



- [12] 상기 화학식 1에서,
- [13] R_1 은 $R_a-(C=O)-$ 이며,
- [14] R_a 는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 6의 알킬기, 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 6의 알케닐기, 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 6의 알키닐기, 치환 또는 비치환된 탄소수 3 내지 10의 시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 탄소수 6 내지 20의 아릴기, 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 2 내지 10의 헤테로아릴기이며,

- [15] 상기 알킬기, 알케닐기, 알키닐기, 시클로알킬기, 아릴기, 및 헤테로아릴기의 치환기는 서로 독립적으로 할로젠, 카르복실기(-COOH), 아세틸기(-COCH₃), 아미노기(-NH₂), 니트로기(-NO₂), 시아노기(-CN), 탄소수 1 내지 6의 알킬기, 탄소수 6 내지 10의 아릴기 또는 탄소수 3 내지 10의 시클로알킬기이다.

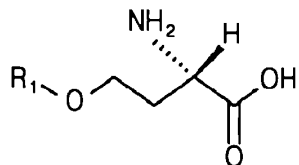
발명의 효과

- [16] 본 출원의 일 실시예에 따른 L-호모세린 제조 방법은 고체 산 촉매(solid acid catalyst)를 사용함에 의하여 간단하게 높은 순도(purity)를 가지는 L-호모세린을 높은 회수율로 제조하는 것이 가능하다.
- [17] 또한, 본 출원의 일 실시예에 따른 L-호모세린 제조 방법에 의하면 생산 효율이 현저히 향상되고 촉매 재생이 용이하며 유지 비용이 감소되는 바 경제성 확보가 가능하다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [18] 이하, 본 출원의 일구현예에 따른 L-호모세린 제조 방법에 대하여 보다 상세하게 설명하기로 한다.
- [19] 이하에서 설명되는 본 출원의 창의적 사상(inventive concept)은 다양한 변환을 가할 수 있고 여러 가지 실시예를 가질 수 있는 바, 특정 실시예들을 예시하고, 상세한 설명에 상세하게 설명한다. 그러나, 이는 본 출원의 창의적 사상을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 출원의 창의적 사상의 기술 범위에 포함되는 모든 변환, 균등물 또는 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.
- [20] 본 명세서에서 제1, 제2, 제3, 제4 등의 용어는 다양한 구성 요소들을 설명하는데 사용될 수 있지만, 구성 요소들은 이러한 용어들에 의하여 한정되어서는 안 된다. 용어들은 하나의 구성 요소를 다른 구성 요소로부터 구별하는 목적으로만 사용된다.
- [21] 본 명세서에서 용어 'L-호모세린'은 호모세린의 L-이성질체이다.
- [22] 본 명세서에서 용어 'D-호모세린'은 호모세린의 D-이성질체이다.
- [23] 본 명세서에서 용어 '거울상 초과량(%enantiomeric excess: %ee)'은 샘플의 거울상체 순도, 즉 샘플 내 다른 거울상체를 초과하는 하나의 거울상체의 백분율을 의미한다. 예를 들어, L-호모세린의 거울상 초과량은 호모세린 내에서 D-호모세린을 초과하는 L-호모세린의 백분율이다. 예를 들어, L-호모세린의 거울상 초과량은 하기 수학적 식 1로 표시된다.
- [24] <수학적 식 1>
- [25]
$$\text{L-호모세린의 거울상 초과량} = \frac{(\text{L-호모세린의 함량} - \text{D-호모세린의 함량})}{(\text{L-호모세린의 함량} + \text{D-호모세린의 함량})} \times 100$$
- [26] 일 구현예에 따른 L-호모세린 제조 방법은, 하기 화학식 1로 표시되는 L-호모세린 유도체를 고체 산(solid acid) 촉매와 접촉시키는 단계를 포함한다:
- [27] <화학식 1>

[28]



[29] 상기 화학식 1에서,

[30] R_1 은 $R_a-(C=O)-$ 이며,

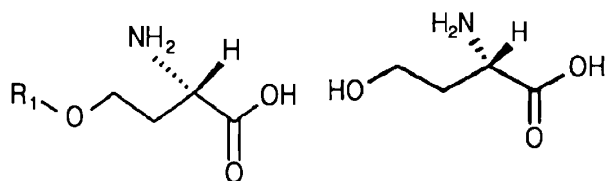
[31] R_a 는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 6의 알킬기, 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 6의 알케닐기, 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 6의 알키닐기, 치환 또는 비치환된 탄소수 3 내지 10의 시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 탄소수 6 내지 20의 아릴기, 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 2 내지 10의 헤테로아릴기이며,

[32] 상기 알킬기, 알케닐기, 알키닐기, 시클로알킬기, 아릴기, 및 헤테로아릴기의 치환기는 서로 독립적으로 할로젠, 카르복실기($-COOH$), 아세틸기($-COCH_3$), 아미노기($-NH_2$), 니트로기($-NO_2$), 시아노기($-CN$), 탄소수 1 내지 6의 알킬기, 탄소수 6 내지 10의 아릴기 또는 탄소수 3 내지 10의 시클로알킬기이다.

[33] 예를 들어, L-호모세린 제조 방법은, 하기 화학식 1로 표시되는 L-호모세린 유도체를 고체 산(solid acid) 촉매 하에서 가수분해 반응시켜 하기 화학식 2로 표시되는 L-호모세린을 준비하는 단계;를 포함할 수 있다.

[34] <화학식 1> <화학식 2>

[35]



[36] 상기 식들에서,

[37] R_1 은 $R_a-(C=O)-$ 이며,

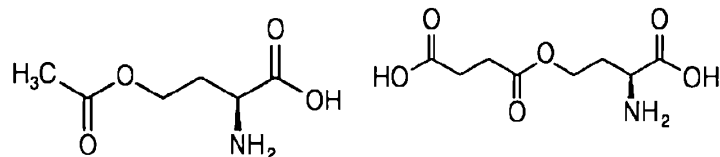
[38] R_a 는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 6의 알킬기, 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 6의 알케닐기, 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 6의 알키닐기, 치환 또는 비치환된 탄소수 3 내지 10의 시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 탄소수 6 내지 20의 아릴기, 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 2 내지 10의 헤테로아릴기이며,

[39] 상기 알킬기, 알케닐기, 알키닐기, 시클로알킬기, 아릴기, 및 헤테로아릴기의 치환기는 서로 독립적으로 할로젠, 카르복실기($-COOH$), 아세틸기($-COCH_3$), 아미노기($-NH_2$), 니트로기($-NO_2$), 시아노기($-CN$), 탄소수 1 내지 6의 알킬기, 탄소수 6 내지 10의 아릴기 또는 탄소수 3 내지 10의 시클로알킬기이다.

[40] 이러한 본 출원의 L-호모세린 제조 방법은 L-호모세린 유도체를 출발 물질로 사용하며, 고체 산 촉매를 사용함에 의하여 간단하게 높은 순도를 가지는 L-호모세린을 높은 회수율로 제조하는 것이 가능할 수 있다.

- [41] 본 출원의 화학식 1로 표시되는 L-호모세린 유도체에서, 예를 들어 R_6 가 메틸($-\text{CH}_3$), 카르복시에틸($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$), 아세틸에틸($-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})\text{CH}_3$), 2-피라지닐($-\text{C}_4\text{H}_3\text{N}_2$), 2-아미노-5-피리디닐($-\text{C}_6\text{H}_3\text{N}-\text{NH}_2$)), 4-피리디닐($-\text{C}_6\text{H}_4\text{N}$), 또는 (3-아미노-5-메틸)페닐($-\text{C}_6\text{H}_3(\text{CH}_3)(\text{NH}_2)$)일 수 있다. 특히, 본 출원의 화학식 1로 표시되는 L-호모세린 유도체에서, 예를 들어 R_4 는 아세틸, 또는 석시닐일 수 있다. 본 출원의 화학식 1로 표시되는 L-호모세린 유도체가 이러한 작용기를 가짐에 의하여 향상된 순도를 가지는 L-호모세린을 더욱 용이하게 제조할 수 있다.
- [42] 본 출원의 L-호모세린 유도체를 고체 산(solid acid) 촉매와 접촉시키는 단계에서, 본 출원의 화학식 1로 표시되는 L-호모세린 유도체는, 예를 들어 L-호모세린 유도체를 포함하는 발효액으로부터 준비될 수 있다. 따라서, 발효 과정에서 생성되는 화학식 1로 표시되는 L-호모세린 유도체를 사용하여 L-호모세린의 효율적인 제조가 가능하다. 즉, 본 출원의 방법은 본 출원의 L-호모세린 유도체를 고체 산(solid acid) 촉매와 접촉시키는 단계전에, L-호모세린 유도체를 포함하는 발효액으로부터 L-호모세린 유도체를 준비하는 단계를 더 포함할 수 있다. 본 출원의 L-호모세린 유도체를 포함하는 발효액으로부터 L-호모세린 유도체를 준비하는 단계는 L-호모세린 유도체를 포함하는 발효액으로부터 멤브레인 필터를 통하여 균체를 제거하는 단계를 포함할 수 있다. 본 출원의 L-호모세린 유도체를 포함하는 발효액으로부터 멤브레인 필터를 통하여 균체를 제거함에 의하여, 본 출원의 L-호모세린 유도체를 포함하는 수용액이 준비될 수 있다.
- [43] 본 출원에서 용어, 'L-호모세린 유도체를 포함하는 발효액'은 발효 과정으로부터 생성된 L-호모세린 유도체를 포함하는 발효액일 수 있다. 발효액은 당을 포함하는 배지에서 미생물을 배양하여 수득한 발효액일 수 있으며, 또는 미생물을 배양하여 수득한 발효액을 효소 전환하여 수득한 발효액일 수 있다. 예를 들어, 본 출원의 L-호모세린 유도체를 포함하는 발효액은, 당을 포함하는 배지에서 미생물을 배양하여 L-호모세린 유도체를 직접 생산한 발효액, 또는 당을 포함하는 배지에서 미생물을 배양하여 생산한 아미노산을 효소전환하여 수득한 L-호모세린 유도체를 포함하는 발효액일 수 있다. 본 출원의 L-호모세린 유도체를 포함하는 발효액의 제조에 사용되는 미생물의 종류는 특별히 한정되지 않으며 당해 기술분야에서 L-호모세린 유도체를 직접발효생산 또는 효소전환하여 생산할 수 있는 미생물이라면 모두 가능하다.
- [44] 본 출원의 화학식 1로 표시되는 L-호모세린 유도체는 예를 들어 하기 화학식 3 내지 8로 표시되는 화합물일 수 있다:
- [45] <화학식 3> <화학식 4>

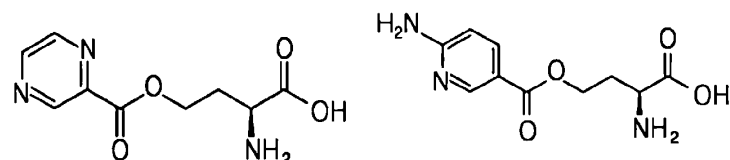
[46]



[47]

<화학식 5> <화학식 6>

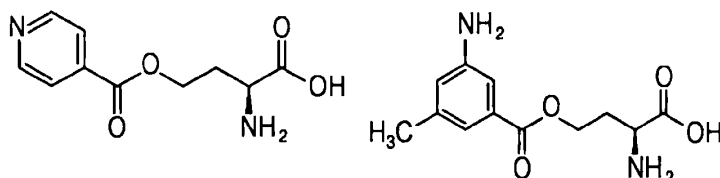
[48]



[49]

<화학식 7> <화학식 8>

[50]



[51]

본 출원의 L-호모세린 유도체는 특히 O-아세틸-L-호모세린, O-석시닐-L-호모세린이나 반드시 이들로 한정하지 않으며 발효 과정에서 얻어지며 당해 기술 분야에서 L-호모세린의 말단 산소에 치환기가 연결된 유도체라면 모두 가능하다. 본 출원의 L-호모세린 유도체를 포함하는 발효액은 예를 들어, KR 10-2014-0116010의 실시예 2에 개시된 O-숙시닐-L-호모세린 생산 균주인 CJM-BTJ/pCJ-MetA-CL (수탁 번호: KCCM-10872) 또는 O-아세틸-L-호모세린 생산 균주인 CJM-BTJA/pCJ-MetX-CL (수탁번호: KCCM-10873)를 포함하는 배지를 발효시켜 얻어지는 발효액일 수 있다.

[52]

본 출원의 L-호모세린 유도체를 고체 산(solid acid) 촉매와 접촉시키는 단계는, 예를 들어 L-호모세린 유도체를 물 및 고체 산(solid acid) 촉매와 접촉시키는 단계일 수 있다.

[53]

물은 예를 들어 증류수 등의 순수한 물일 수 있으나, 반드시 이러한 순수한 물로 한정되지 않으며, 물을 주성분으로 포함하는 조성물을 포함한다. 물을 주성분으로 포함하는 조성물이 포함하는 물의 함량은 예를 들어, 조성물 전체 중량에 대하여 50중량% 내지 100중량%, 60 중량% 내지 100중량%, 70중량% 내지 100중량%, 80중량% 내지 100 중량%, 90 중량% 내지 100중량%, 95중량% 내지 100중량%, 또는 99 중량% 내지 100 중량%이다.

[54]

본 출원의 고체 산 촉매는 용매와 혼합하여도 용매에 용해되지 않고 고체 상태를 유지하는 촉매를 의미한다.

[55]

본 출원의 고체 산 촉매는 수지 촉매(resin catalyst)를 포함할 수 있다. 구체적으로, 본 출원의 고체 산 촉매는 예를 들어 양이온 교환 수지 촉매(cation

exchange resin catalyst)를 포함할 수 있다.

- [56] 본 출원의 양이온 교환 수지 촉매는 고분자에 산성 작용기가 연결된 구조를 가진다. 본 출원의 양이온 교환 수지 촉매가 산성 작용기를 포함함에 의하여, 산성 작용기가 산 촉매로 작용할 수 있다.
- [57] 본 출원의 양이온 교환 수지 촉매는 고분자를 포함할 수 있으며, 구체적으로 상기 고분자는 폴리스티렌에 디비닐벤젠이 가교된 공중합체 또는 폴리스티렌-호모중합체일 수 있으나, 이들로 한정되지 않으며 당해 기술분야에서 양이온 교환 수지 촉매로 사용할 수 있는 고분자라면 모두 포함될 수 있다. 본 출원의 양이온 교환 수지 촉매는 장기간 사용으로 인하여 촉매 활성이 저하되는 경우, 재생 공정을 통하여, 촉매의 교환 없이 재사용할 수 있다.
- [58] 본 출원의 양이온 교환 수지 촉매는 예를 들어 $-SO_4H$ 및 $-COOH$ 중에서 선택된 하나 이상의 산성 작용기를 포함할 수 있다. 본 출원의 양이온 교환 수지 촉매는 이러한 산성 작용기를 포함함에 의하여 산 촉매로 작용할 수 있다. 본 출원의 $-SO_4H$ 작용기를 포함하는 양이온 교환 수지 촉매는 강산성이다. 강산성은 예를 들어 pH 1 내지 5 미만이다. 본 출원의 $-COOH$ 작용기를 포함하는 양이온 교환 수지는 약산성이다. 약산성은 예를 들어 pH 5 내지 7 미만이다.
- [59] 본 출원의 양이온 교환 수지 촉매는 예를 들어 폴리스티렌-디비닐벤젠 공중합체에 $-SO_4H$ 및 $-COOH$ 중에서 선택된 하나 이상의 산성 작용기가 연결된 구조를 가질 수 있다.
- [60] 상업적으로 입수할 수 있는 양이온 교환 수지 촉매는 예를 들어 Amberlyst 15, Purolite CT275, TRILITE SPC160H, DOWEX M-31(H) 등이나 본 출원의 양이온 교환 수지 촉매는 반드시 이들로 한정되지 않으며, 당해 기술 분야에서 양이온 교환 수지 촉매로 사용할 수 있는 것이라면 모두 가능하다.
- [61] 본 출원의 양이온 교환 수지 촉매는 예를 들어 입자상일 수 있다. 입자의 크기는 예를 들어, 0.1 내지 10 mm, 0.1 내지 5 mm, 0.1 내지 4mm, 0.1 내지 3 mm, 0.1 내지 2 mm, 또는 0.1 내지 1 mm 일 수 있다. 입자는 예를 들어 다공성 입자일 수 있다. 다공성 입자가 포함하는 기공의 평균 직경은 10 nm 내지 500 nm, 10 nm 내지 200 nm, 10 nm 내지 100 nm, 10 nm 내지 90 nm, 20 nm 내지 80 nm, 또는 30 nm 내지 70 nm 일 수 있다. 본 출원의 양이온 교환 수지 촉매가 포함하는 전체 기공 부피는 0.1 mL/g 내지 10 mL/g, 0.1 mL/g 내지 5 mL/g, 0.1 mL/g 내지 2 mL/g, 0.1 mL/g 내지 1 mL/g, 0.1 mL/g 내지 0.90 mL/g, 0.2 mL/g 내지 0.8 mL/g, 0.3 mL/g 내지 0.7 mL/g, 또는 0.4 mL/g 내지 0.6 mL/g 일 수 있다. 양이온 교환 수지 촉매가 이러한 입자 크기, 기공 직경 및/또는 전체 기공 부피를 가짐에 의하여 더욱 향상된 수율로 L-호모세린을 제조할 수 있다.
- [62] 본 출원의 L-호모세린 유도체를 고체 산(solid acid) 촉매와 접촉시키는 단계는, 양이온 교환 수지 촉매를 포함하는 수지탑(resin tower)에서 수행될 수 있다.
- [63] 본 출원의 방법은 상기 접촉시키는 단계 이후 또는 동시에 상기 L-호모세린 유도체를 가수분해시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

- [64] 본 출원의 수지탑은 양이온 교환 수지 촉매가 내부에 충전된 탑일 수 있다. 구체적으로 본 출원의 수지탑 내에서 L-호모세린 유도체의 가수분해가 수행될 수 있다. 본 출원의 수지탑 내에 양이온 교환 수지 촉매가 배치되는 방식은 특별히 한정되지 않는다. 본 출원의 수지탑 내에서 본 출원의 양이온 교환 수지 촉매가 차지하는 부피는 예를 들어 수지탑의 전체 내부 부피의 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상 또는 90% 이상일 수 있다.
- [65] 본 출원의 양이온 교환 수지 촉매의 함량은 예를 들어 화학식 1로 표시되는 L-호모세린 유도체 1 당량(equivalent)에 대하여 0.1 내지 10 당량, 0.1 내지 5 당량, 0.1 내지 4 당량, 0.1 내지 3 당량, 0.1 내지 2 당량, 0.1 내지 1.5 당량, 0.1 내지 1.3 당량, 또는 0.1 내지 1.2 당량일 수 있다. 본 출원의 양이온 교환 수지 촉매의 함량이 L-호모세린 유도체 1 당량에 대하여 0.1 당량 이상이면 상기 촉매가 반응 속도를 증가시킬 수 있다. 한편, 양이온 교환 수지 촉매의 함량이 L-호모세린 유도체 1 당량에 대하여 10 당량 이하이면, 부산물이 증가하여 별도의 정제 공정이 수반됨을 방지할 수 있고 최종 목적물의 순도/수율이 낮아지는 것을 방지할 수 있다.
- [66] 본 출원의 L-호모세린 유도체를 고체 산(solid acid) 촉매와 접촉시키는 단계에서 본 출원의 고체 산 촉매를 포함하는 수용액은 pH가 1 내지 5, 1 내지 4.5, 1 내지 4.0, 1 내지 3.5, 2 내지 5, 2 내지 4.5, 2 내지 4.0, 2 내지 3.5, 3 내지 5, 3 내지 4.5 또는 3 내지 3.5일 수 있다. 본 출원의 양이온 교환 수지 촉매를 포함하는 수용액이 이러한 범위의 pH를 가짐에 의하여 가수분해 반응이 효과적으로 진행될 수 있다.
- [67] 본 출원의 양이온 교환 수지 촉매를 사용하여 L-호모세린을 제조하는 단계에서 접촉은 예를 들어 20°C 내지 150°C, 20°C 내지 140°C, 20°C 내지 130°C, 20°C 내지 120°C, 40°C 내지 110°C, 50°C 내지 100°C, 60°C 내지 90°C 또는 70°C 내지 90°C의 온도에서 수행될 수 있다. 양이온 교환 수지 촉매를 사용하여 L-호모세린을 제조하는 단계에서 접촉은 예를 들어 0.1 내지 30 시간, 0.5 내지 20 시간, 1 내지 10 시간, 2 내지 8 시간, 3 내지 7 시간, 또는 4 내지 6 시간 동안 수행될 수 있다. 가수 분해 반응이 이러한 온도 범위 및 시간 범위에서 수행됨에 의하여 보다 용이하게 L-호모세린을 준비할 수 있다.
- [68] 본 출원의 L-호모세린 유도체를 고체 산(solid acid) 촉매와 접촉시키는 단계에서 수지탑 내의 압력은 예를 들어 0.01atm 내지 1atm, 0.05 atm 내지 1atm, 0.1 atm 내지 1atm, 또는 0.5atm 내지 1 atm일 수 있다. 수지탑 내의 압력은 예를 들어 1 atm 일 수 있다.
- [69] 본 출원의 L-호모세린 유도체를 고체 산(solid acid) 촉매와 접촉시키는 단계는, L-호모세린 유도체를 공급하는 단계; 상기 L-호모세린 유도체를 상기 고체 산(solid acid) 촉매와 접촉시켜 L-호모세린을 생성하는 단계; 및/또는 상기 L-호모세린을 방출하는 단계;를 추가로 포함할 수 있다.

- [70] 본 출원의 L-호모세린 유도체를 고체 산(solid acid) 촉매와 접촉시키는 단계는, 보다 구체적으로 수지탑에 L-호모세린 유도체를 포함하는 제1 조성물을 공급하는 단계; 수지탑 내에서 L-호모세린 유도체를 포함하는 제1 조성물을 고체 산(solid acid) 촉매 하에서 가수분해시켜 L-호모세린을 포함하는 제2 조성물을 생성하는 단계; 및/또는 수지탑으로부터 상기 L-호모세린을 포함하는 제2 조성물을 방출하는 단계;를 포함할 수 있다. 상기 수지탑에 L-호모세린 유도체를 포함하는 제1 조성물을 공급하는 단계에서 상기 L-호모세린 유도체를 포함하는 제1 조성물은 공급 탱크로부터 공급될 수 있다. 상기 공급 탱크 및/또는 수지탑을 이용하여 L-호모세린 유도체를 대량으로 공급할 수 있으므로, 대량의 가수분해 반응 짧은 시간에 수행될 수 있다. 본 출원의 제1 조성물 및 제2 조성물은 실질적으로 액체일 수 있다. 본 출원의 제1 조성물은 예를 들어 L-호모세린 유도체를 포함하는 수용액일 수 있다. 본 출원의 제2 조성물은 예를 들어 L-호모세린을 포함하는 수용액일 수 있다.
- [71] 본 출원의 수지탑에 제1 조성물의 공급 및 수지탑으로부터 제2 조성물의 방출이 연속적으로 수행되거나 불연속적으로 수행될 수 있다. 본 출원의 용어 "연속적으로 수행"은 용어 "연속식으로 수행"과, 용어 "불연속적으로 수행"은 용어 "배치식으로 수행"과 혼용하여 사용될 수 있다.
- [72] 본 출원의 연속식에서는 본 출원의 수지탑에 제1 조성물이 공급되는 동안 수지탑으로부터 제2 조성물이 방출될 수 있다. 본 출원의 연속식에서는 예를 들어 수지탑에 제1 조성물이 공급되고 제2 조성물이 방출되는 동안 수지탑 내에서 본 출원의 L-호모세린 유도체의 가수분해 반응이 중단없이 수행될 수 있다.
- [73] 본 출원의 연속식은 본 출원의 배치식에 비하여 연속적인 L-호모세린의 생산이 가능하므로 생산 효율이 현저히 개선될 수 있으며, 수지 촉매의 분리 없이 공급액의 조성 변경만으로 수지 촉매의 재생이 가능할 수 있다. 따라서, 본 출원의 연속식은, 수지 촉매의 분리 및 정제가 필요한 배치식에 비하여 수지 촉매의 재생이 용이할 수 있다. 결과적으로, 본 출원의 연속식은 배치식에 비하여 전체적인 공정의 유지 및/또는 보수가 간단해지고 유지 비용이 감소하므로, 전체적인 공정의 원가가 감소될 수 있다. 따라서, 본 출원의 연속식의 전체적인 공정의 경제성이 본 출원의 배치식에 비하여 추가적으로 향상될 수 있다.
- [74] 본 출원의 배치식에서는 수지탑에 제1 조성물의 공급과 수지탑으로부터 제2 조성물의 방출이 불연속적으로 수행된다. 예를 들어, 배치식에서는 수지탑에 제1 조성물이 공급되는 동안 수지탑으로부터 제2 조성물이 방출되지 않는다. 또한, 수지탑 내에서 제2 조성물이 방출되는 동안 수지탑에 제1 조성물이 공급되지 않는다. 배치식에서는 예를 들어 수지탑에 제1 조성물이 공급되거나 수지탑으로부터 제2 조성물이 방출되는 동안 본 출원의 L-호모세린 유도체의 가수분해 반응이 수행되지 않을 수 있다.

- [75] 본 출원의 L-호모세린의 제조 방법은, 예를 들어, 상술한 단계들 외에, 본 출원의 L-호모세린을 수득하는 단계들 더 포함할 수 있다.
- [76] 본 출원의 L-호모세린의 제조 방법은, 예를 들어 상술한 단계들 외에, L-호모세린을 포함하는 제2 조성물을 에이징 탱크(ageing tank)에 공급하여 결정화된 L-호모세린을 포함하는 제3 조성물을 준비하는 단계; 결정화된 L-호모세린을 포함하는 제3 조성물을 분리기(separator)에 공급하여 분리된 L-호모세린을 포함하는 제4 조성물을 준비하는 단계; 및/또는 분리된 L-호모세린을 포함하는 제4 조성물을 건조기(dryer)에 공급하여 건조된 L-호모세린을 수득하는 단계들 더 포함할 수 있다. L-호모세린 제조 방법이 이러한 단계들을 추가적으로 포함함에 의하여 제조되는 L-호모세린의 순도 및/또는 수율이 더욱 향상될 수 있다.
- [77] 본 출원의 L-호모세린을 포함하는 제2 조성물을 에이징 탱크(ageing tank)에 공급하여 결정화된 L-호모세린을 포함하는 제3 조성물을 준비하는 단계에서, 수지탑으로부터 방출된 제2 조성물을 에이징 탱크에서 상온으로 냉각시켜 L-호모세린의 적어도 일부를 결정화시킬 수 있다. 따라서, L-호모세린의 결정을 포함하는 제3 조성물, 즉 슬러리 용액이 준비될 수 있다. 슬러리 용액에 L-호모세린의 비용매를 추가하여 L-호모세린을 추가적으로 결정화시킬 수 있다. 상기 비용매는 예를 들어 에탄올이다.
- [78] 결정화된 L-호모세린을 포함하는 제3 조성물을 분리기(separator)에 공급하여 분리된 L-호모세린을 포함하는 제4 조성물을 준비하는 단계에서, 여과기 등의 분리를 사용하여 결정화된 L-호모세린을 분리할 수 있다. 제4 조성물은 L-호모세린과 약간의 용매를 포함할 수 있다. 제4 조성물은 실질적으로 고체 상태일 수 있다.
- [79] 분리된 L-호모세린을 포함하는 제4 조성물을 건조기(dryer)에 공급하여 건조된 L-호모세린을 수득하는 단계에서, 분리된 L-호모세린을 건조시켜 L-호모세린 결정 분말을 높은 순도 및/또는 수율로 수득할 수 있다.
- [80] 본 출원의 L-호모세린 제조 방법에서, 제조되는 L-호모세린의 수율은 예를 들어 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상 또는 99% 이상일 수 있다.
- [81] 본 출원의 L-호모세린 제조 방법에서, 제조되는 L-호모세린의 순도(purity)는 예를 들어 98% 이상, 98.5% 이상, 99% 이상, 99.1% 이상, 99.2% 이상, 99.3% 이상, 99.4% 이상, 99.5% 이상, 99.6% 이상, 99.6% 이상, 99.7% 이상, 99.8% 이상, 또는 99.9% 이상일 수 있다.
- [82] 본 출원의 L-호모세린 제조 방법에서, 제조되는 L-호모세린의 거울상 초과량(enantiomeric excess)은 예를 들어 10% ee 이상, 20% ee 이상, 30% ee 이상, 40% ee 이상, 50% ee 이상, 60% ee 이상, 70% ee 이상, 80% ee 이상, 90% ee 이상, 91% ee 이상, 92% ee 이상, 93% ee 이상, 94% ee 이상, 95% ee 이상, 96% ee 이상,

97% ee 이상, 98% ee 이상, 또는 99% ee 이상일 수 있다. 예를 들어, L-호모세린 제조 방법에서, 제조되는 L-호모세린의 거울상 초과량(enantiomeric excess)은 100% ee 일 수 있다.

[83]

[84] 본 출원의 L-호모세린의 제조는 예를 들어 대량 생산을 위하여 L-호모세린 제조용 시스템에서 수행될 수 있으나, 반드시 이러한 예시적인 구현예로 한정되지 않으며 당해 기술분야에서 사용 가능한 공정, 반응기, 시스템, 및/또는 방법이라면 모두 가능하다.

[85] 본 출원의 L-호모세린 제조용 시스템은 예를 들어 공급 탱크, 수지탑, 결정화기, 에이징 탱크, 분리기 및/또는 건조기를 포함할 수 있다. 다르게는, L-호모세린 제조용 시스템에서 에이징 탱크가 결정화기의 역할도 동시에 수행함에 의하여 결정화기가 생략될 수 있다. 본 출원의 L-호모세린 제조용 시스템은 예를 들어 공급 탱크, 수지탑, 결정화기, 에이징 탱크, 분리기 및/또는 건조기를 포함할 수 있다.

[86] 본 출원의 공급 탱크는 L-호모세린 유도체를 포함하는 제1 조성물을 포함할 수 있으며, 제1 조성물을 수지탑의 상부에 공급할 수 있다. 본 출원의 공급 탱크가 포함하는 제1 조성물은 균체가 제거된 조성물일 수 있다. 다르게는, 공급 탱크가 포함하는 제1 조성물은 발효액일 수 있다. 본 출원의 공급 탱크가 발효액을 포함하는 경우, 공급 탱크의 출구 또는 공급 탱크와 수지탑 사이에 멤브레인 필터를 배치하여 발효액으로부터 균체를 제거할 수 있다.

[87] 본 출원의 수지탑은 상술한 바와 같이 양이온 교환 수지 촉매를 포함할 수 있다. 본 출원의 수지탑이 양이온 교환 수지 촉매를 포함함에 의하여 수지탑 내에서 L-호모세린 유도체를 포함하는 제1 조성물이 가수분해 반응에 의하여 L-호모세린을 포함하는 제2 조성물로 전환될 수 있다. 수지탑의 형태는 특별히 한정되지 않으며 당해 기술분야에서 사용하는 형태라면 모두 가능하다. 본 출원의 수지탑의 온도는 예를 들어 20°C 내지 150°C, 20°C 내지 140°C, 20°C 내지 130°C, 20°C 내지 120°C, 40°C 내지 110°C, 50°C 내지 100°C, 60°C 내지 90°C 또는 70°C 내지 90°C일 수 있다. 본 출원의 수지탑에 공급된 제1 조성물이 제2 조성물로 전환되어 수지탑으로부터 방출되기까지 소요되는 시간은 예를 들어 0.1 내지 30 시간, 0.5 내지 20 시간, 1 내지 10 시간, 2 내지 8 시간, 3 내지 7 시간, 또는 4 내지 6 시간일 수 있다. 본 출원의 수지탑의 재료는 스테인레스 스틸일 수 있다. 예를 들어, 본 출원의 수지탑의 재료는 내산성을 가지는 스테인리스 강 일 수 있다.

[88] 본 출원의 결정화기는 제2 조성물이 포함하는 L-호모세린의 적어도 일부를 결정화시킬 수 있다. 결정화는 온도 감소, 비용매(non solvent)의 추가 등에 의하여 수행될 수 있다. 결정화 시간은 0.1 내지 30 시간, 0.5 내지 20 시간, 또는 1 내지 10 시간일 수 있다. 본 출원의 결정화 온도는 1°C 내지 30°C, 10°C 내지 30°C 또는 20°C 내지 30°C일 수 있다. 본 출원의 결정화기는 예를 들어 강제 순환식

농축관 일 수 있다. 구체적으로, 본 출원의 결정화기는 예를 들어 진공 펌프, 콘덴서, 교반기 및 냉각용 자켓 중에서 선택된 하나 이상을 포함할 수 있다. 본 출원의 결정화기의 재료는 스테인레스 스틸일 수 있다. 예를 들어, 본 출원의 결정화기의 재료는 내산성을 가지는 스테인리스 강 일 수 있다.

- [89] 본 출원의 에이징 탱크는 L-호모세린의 결정을 포함하는 조성물을 안정화시켜, 이어지는 분리기에서의 L-호모세린 결정의 분리를 더욱 용이하게 도와줄 수 있다. 본 출원의 에이징 시간은 0.1 내지 30 시간, 0.5 내지 20 시간, 또는 1 내지 10 시간일 수 있다. 본 출원의 에이징 온도는 1°C 내지 30°C, 10°C 내지 30°C 또는 20°C 내지 30°C일 수 있다. 본 출원의 에이징 탱크의 재료는 스테인레스 스틸일 수 있다. 예를 들어, 본 출원의 에이징 탱크의 재료는 내산성을 가지는 스테인리스 강 일 수 있다. 본 출원의 분리기는 L-호모세린을 포함하는 조성물로부터 L-호모세린 결정을 분리할 수 있다. 본 출원의 분리기는 예를 들어 벨트식 분리기, 원심 분리기 등일 수 있다.
- [90] 본 출원의 건조기는 분리된 L-호모세린 결정으로부터 잔류 수분 등의 휘발성 성분을 제거할 수 있다. 본 출원의 건조기는 예를 들어 오븐, 유동층 건조기 등 일 수 있다. 건조 온도는 20°C 내지 100°C, 30°C 내지 80°C 또는 40°C 내지 60°C일 수 있다. 본 출원의 건조기의 압력은 1 기압 또는 1 미만의 기압일 수 있다. 본 출원의 건조 시간은 0.1 내지 30 시간, 0.5 내지 20 시간, 또는 1 내지 10 시간일 수 있다. 예를 들어, 본 출원의 유동층 건조기는 연속적인 건조가 가능한 이점이 있다.
- [91] 예를 들어, 본 출원의 L-호모세린 제조용 시스템을 사용한 L-호모세린의 제조는 다음과 같이 수행될 수 있다.
- [92] 공급 탱크로부터 수지탑의 상부에 L-호모세린 유도체를 포함하는 제1 조성물이 공급될 수 있다. 상기 수지탑 내에서 L-호모세린 유도체를 포함하는 제1 조성물이 고체 산(solid acid) 촉매 하에서 가수분해 반응을 진행하여 L-호모세린을 포함하는 제2 조성물로 전환될 수 있다. 상기 수지탑 하부로부터 L-호모세린을 포함하는 제2 조성물이 방출될 수 있다. 상기 수지탑 하부로부터 방출된 제2 조성물이 결정화기에 공급될 수 있다. 상기 결정화기에서 제2 조성물이 포함하는 L-호모세린의 적어도 일부가 결정화될 수 있다. 상기 결정화된 L-호모세린을 포함하는 조성물이 에이징 탱크에 공급되어 안정화될 수 있다. 상기 안정화된 조성물이 분리기에 공급되고 분리기에서 L-호모세린 결정을 분리할 수 있다. 상기 분리된 L-호모세린 결정을 건조기에 공급하여 건조된 L-호모세린 분말을 수득할 수 있다.
- [93] 예를 들어, 상기 에이징 탱크에서 결정화 및 안정화가 동시에 진행되는 경우 상기 결정화기는 생략될 수 있다.
- [94] 예를 들어, 본 출원의 L-호모세린 제조용 시스템을 사용한 L-호모세린의 제조는 다음과 같이 수행될 수 있다.
- [95] 공급 탱크로부터 수지탑의 상부에 L-호모세린 유도체를 포함하는 제1

조성물이 공급될 수 있다. 상기 수지탑 내에서 L-호모세린 유도체를 포함하는 제1 조성물이 고체 산(solid acid) 촉매 하에서 가수분해 반응을 진행하여 L-호모세린을 포함하는 제2 조성물로 전환될 수 있다. 상기 수지탑 하부로부터 L-호모세린을 포함하는 제2 조성물이 방출될 수 있다. 상기 수지탑 하부로부터 방출된 제2 조성물이 에이징 탱크에 공급될 수 있다. 상기 에이징 탱크에서 제2 조성물이 포함하는 L-호모세린의 적어도 일부가 결정화되고 결정화된 L-호모세린을 포함하는 조성물이 안정화될 수 있다. 상기 안정화된 조성물이 분리기에 공급되고 분리기에서 L-호모세린 결정을 분리할 수 있다. 상기 분리된 L-호모세린 결정을 건조기에 공급하여 건조된 L-호모세린 분말을 수득할 수 있다. 상기 결정화기가 에이징 탱크에 병합됨에 의하여 시스템 및 제조 공정이 보다 간단해질 수 있다. 상기 결정화기가 병합된 에이징 탱크는, 에이징 탱크에 진공 펌프, 콘덴서, 교반기 및 냉각용 자켓 중에서 선택된 하나 이상의 장치가 부가된 구조를 가질 수 있다. 이러한 구조를 가짐에 의하여 에이징 및 결정화가 동시에 수행될 수 있다.

- [96]
- [97] 본 명세서에서 용어 "알킬"은 완전 포화된 분지형 또는 비분지형 (또는 직쇄 또는 선형) 탄화수소를 말할 수 있다.
- [98] "알킬"의 비제한적인 예로는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, sec-부틸, n-펜틸, 이소펜틸, 네오펜틸, n-헥실, 3-메틸헥실, 2,2-디메틸펜틸, 2,3-디메틸펜틸, n-헵틸 등을 들 수 있다.
- [99] "알킬"중 하나 이상의 수소 원자는 할로젠 원자, 할로젠 원자로 치환된 C1-C20의 알킬기(예: -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -CCl₃ 등), C1-C20의 알콕시, C2-C20의 알콕시알킬, 히드록시기, 니트로기, 시아노기, 아미노기, 아미디노기, 히드라진, 히드라존, 카르복실기나 그의 염, 술폰닐기, 설파모일(sulfamoyl)기, 술폰산기나 그의 염, 인산이나 그의 염, 또는 C1-C20의 알킬기, C2-C20 알케닐기, C2-C20 알키닐기, C1-C20의 헤테로알킬기, C6-C20의 아릴기, C6-C20의 아릴알킬기, C6-C20의 헤테로아릴기, C7-C20의 헤테로아릴알킬기, C6-C20의 헤테로아릴옥시기, C6-C20의 헤테로아릴옥시알킬기 또는 C6-C20의 헤테로아릴알킬기로 치환될 수 있다.
- [100] 본 명세서에서 용어 "할로젠"은 불소, 브롬, 염소, 요오드 등을 포함할 수 있다.
- [101] 본 명세서에서 용어 "알콕시"는 "알킬-O-"을 나타내며, 알킬은 상술한 바와 같다. 알콕시기는 예를 들어 메톡시기, 에톡시기, 2-프로폭시기, 부톡시기, t-부톡시기, 펜틸옥시기, 헥실옥시기 등을 들 수 있다. 알콕시중 하나 이상의 수소 원자는 상술한 알킬기의 경우와 동일한 치환기로 치환될 수 있다.
- [102] 본 명세서에서 용어 "알케닐"은 적어도 하나의 탄소-탄소 이중결합을 갖는 분지형 또는 비분지형 탄화수소를 말할 수 있다. 알케닐기의 비제한적인 예로는 비닐, 알릴, 부테닐, 프로페닐, 이소부테닐 등을 들 수 있고, 알케닐중 하나 이상의 수소 원자는 상술한 알킬기의 경우와 동일한 치환기로 치환될 수 있다.

- [103] 본 명세서에서 용어 "알킬닐"은 적어도 하나의 탄소-탄소 삼중결합을 갖는 분지형 또는 비분지형 탄화수소를 말할 수 있다. "알킬닐"의 비제한적인 예로는 에틸닐, 부틸닐, 이소부틸닐, 이소프로피닐 등을 들 수 있다.
- [104] 본 명세서에서 용어 "알킬닐"중 하나 이상의 수소 원자는 상술한 알킬기의 경우와 동일한 치환기로 치환될 수 있다.
- [105] 본 명세서에서 용어 "아릴"은 방향족 고리가 하나 이상의 탄소고리에 선택적으로 융합된 그룹도 포함할 수 있다. "아릴"의 비제한적인 예로서, 페닐, 나프틸, 테트라히드로나프틸 등이 있다. "아릴"기중 하나 이상의 수소 원자는 상술한 알킬기의 경우와 마찬가지로 치환기로 치환가능하다.
- [106] 본 명세서에서 용어 "헤테로아릴"은 N, O, P 또는 S 중에서 선택된 하나 이상의 헤테로원자를 포함하고, 나머지 고리원자가 탄소인 모노사이클릭(monocyclic) 또는 바이사이클릭(bicyclic) 유기 그룹을 의미할 수 있다. 헤테로아릴기는 예를 들어 1-5개의 헤테로원자를 포함할 수 있고, 5-10 고리 멤버(ring member)를 포함할 수 있다. 상기 S 또는 N은 산화되어 여러가지 산화 상태를 가질 수 있다.
- [107] 헤테로아릴의 예로는 티에닐, 푸릴, 피롤릴, 이미다졸릴, 피라졸릴, 티아졸릴, 이소티아졸릴, 1,2,3-옥사디아졸릴, 1,2,4-옥사디아졸릴, 1,2,5-옥사디아졸릴, 1,3,4-옥사디아졸릴, 1,2,3-티아디아졸릴, 1,2,4-티아디아졸릴, 1,2,5-티아디아졸릴, 1,3,4-티아디아졸릴, 이소티아졸-3-일, 이소티아졸-4-일, 이소티아졸-5-일, 옥사졸-2-일, 옥사졸-4-일, 옥사졸-5-일, 이소옥사졸-3-일, 이소옥사졸-4-일, 이소옥사졸-5-일, 1,2,4-트리아졸-3-일, 1,2,4-트리아졸-5-일, 1,2,3-트리아졸-4-일, 1,2,3-트리아졸-5-일, 테트라졸릴, 피리드-2-일, 피리드-3-일, 2-피라진-2일, 피라진-4-일, 피라진-5-일, 2- 피리미딘-2-일, 4- 피리미딘-2-일, 또는 5-피리미딘-2-일을 들 수 있다.
- [108] 헤테로아릴은 헤테로방향족 고리가 하나 이상의 아릴, 지환족(cyclyaliphatic), 또는 헤테로사이클에 선택적으로 융합된 경우를 포함할 수 있다.

발명의 실시를 위한 형태

- [109] 이하의 실시예 및 비교예를 통하여 본 출원이 더욱 상세하게 설명된다. 단, 실시예는 본 출원을 예시하기 위한 것으로서 이들만으로 본 출원의 범위가 한정되는 것이 아니다.
- [110] 비교예 1: 염산 촉매 1.02 당량
- [111] 배양이 종료된 발효액으로부터 멤브레인 필터(membrane filter)를 통하여 균체를 제거하고 O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액을 수득하였다.
- [112] O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액 40mL (O-Acetyl-L-homoserine 농도 300g/L, 74.5mmol)를 반응기에 공급한 후, 반응기에 6N HCl 12.4mL(76.0mmol, 1.02eq)을 천천히 투입하여 pH 0.1 ~1.0의 반응 용액을 준비하였다. 준비된 반응 용액을 80°C로 승온시킨 후 3시간 동안 반응시켰다. HPLC로 반응 종료를 확인하였다.

- [113] 반응이 종료되어 생성물을 포함하는 용액을 농축관으로 이송한 후 480g/L의 농도로 농축하여 농축액을 준비하였다. 농축액을 에이징 탱크(aging tank)로 이송한 후 25°C로 냉각시켜 생성물을 결정화시켰다. 결정화된 생성물을 포함하는 슬러리 용액에 에탄올 157mL를 서서히 투입하여 생성물을 추가적으로 결정화시켰다. 결정화된 생성물을 분리한 후 에탄올 52mL로 세척하고 50°C에서 건조시켜 L-호모세린 결정을 수득하였다.
- [114] L-호모세린의 회수율은 45.9%이고, 순도(purity)는 98.0% 이었다.
- [115] 비교예 2: 염산 촉매 3.06 당량
- [116] 배양이 종료된 발효액으로부터 멤브레인 필터(membrane filter)를 통하여 균체를 제거하고 O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액을 수득하였다.
- [117] O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액 300mL (O-Acetyl-L-homoserine 농도 186g/L, 346.2mmol)를 반응기에 공급한 후, 반응기에 6N HCl 187.3 mL(1,059.5 mmol, 3.06 eq)을 천천히 투입하여 pH 0.1~1.0의 반응 용액을 준비하였다. 준비된 반응 용액을 80°C로 승온시킨 후 3시간 동안 반응시켰다. HPLC로 반응 종료를 확인하였다.
- [118] 반응이 종료되어 생성물을 포함하는 용액을 농축관으로 이송한 후 480g/L의 농도로 농축하여 농축액을 준비하였다. 농축액을 에이징 탱크(aging tank)로 이송한 후 25°C로 냉각시켜 생성물을 결정화시켰다. 결정화된 생성물을 포함하는 슬러리 용액에 에탄올 1460 mL를 서서히 투입하여 생성물을 추가적으로 결정화시켰다. 결정화된 생성물을 분리한 후 에탄올 490mL로 세척하고 50°C에서 건조시켜 L-호모세린 결정을 수득하였다.
- [119] L-호모세린의 회수율은 52.7%이고, 순도(purity)는 98.1% 이었다.
- [120] 비교예 3: 황산 촉매 1.07 당량
- [121] 배양이 종료된 발효액으로부터 멤브레인 필터(membrane filter)를 통하여 균체를 제거하고 O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액을 수득하였다.
- [122] O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액 40 mL (O-Acetyl-L-homoserine 농도 300g/L, 74.5mmol)를 반응기에 공급한 후, 반응기에 98% H₂SO₄ 4.3ml (79.3mmol, 1.07eq)을 천천히 투입하여 pH 0.1~1.0의 반응 용액을 준비하였다. 준비된 반응 용액을 80°C로 승온시킨 후 5시간 동안 반응시켰다. HPLC로 반응 종료를 확인하였다.
- [123] 반응이 종료되어 생성물을 포함하는 용액을 농축관으로 이송한 후 480g/L의 농도로 농축하여 농축액을 준비하였다. 농축액을 에이징 탱크(aging tank)로 이송한 후 25°C로 냉각시켜 생성물을 결정화시켰다. 결정화된 생성물을 포함하는 슬러리 용액에 에탄올 132 mL를 서서히 투입하여 생성물을 추가적으로 결정화시켰다. 결정화된 생성물을 분리한 후 에탄올 44 mL로 세척하고 50°C에서 건조시켜 L-호모세린 결정을 수득하였다.
- [124] L-호모세린의 회수율은 44.7%이고, 순도(purity)는 98.0% 이었다.
- [125] 비교예 4: 황산 촉매 3.06 당량

- [126] 배양이 종료된 발효액으로부터 멤브레인 필터(membrane filter)를 통하여 균체를 제거하고 O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액을 수득하였다.
- [127] O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액 330 mL (O-Acetyl-L-homoserine 농도 300g/L, 620.5 mmol)를 반응기에 공급한 후, 반응기에 98% H₂SO₄ 103.8ml (1,898.7mmol, 3.06eq)을 천천히 투입하여 pH 0.1~1.0의 반응 용액을 준비하였다. 준비된 반응 용액을 80°C로 승온시킨 후 5시간 동안 반응시켰다. HPLC로 반응 종료를 확인하였다.
- [128] 반응이 종료되어 생성물을 포함하는 용액을 농축관으로 이송한 후 480g/L의 농도로 농축하여 농축액을 준비하였다. 농축액을 에이징 탱크(aging tank)로 이송한 후 25°C로 냉각시켜 생성물을 결정화시켰다. 결정화된 생성물을 포함하는 슬러리 용액에 에탄올 1300 mL를 서서히 투입하여 생성물을 추가적으로 결정화시켰다. 결정화된 생성물을 분리한 후 에탄올 430 mL로 세척하고 50°C에서 건조시켜 L-호모세린 결정을 수득하였다.
- [129] L-호모세린의 회수율은 55.9%이고, 순도(purity)는 98.1% 이었다.
- [130] 비교예 5: 아세트산 촉매 1.03 당량
- [131] 배양이 종료된 발효액으로부터 멤브레인 필터(membrane filter)를 통하여 균체를 제거하고 O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액을 수득하였다.
- [132] O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액 40 mL (O-Acetyl-L-homoserine 농도 300g/L, 74.5mmol)를 반응기에 공급한 후, 반응기에 99% 아세트산 4.4ml (76.7 mmol, 1.03 eq)을 천천히 투입하여 pH 1.0~2.0의 반응 용액을 준비하였다. 준비된 반응 용액을 80°C로 승온시킨 후 5시간 동안 반응시켰다. HPLC로 반응 종료를 확인하였다.
- [133] 반응이 종료되어 생성물을 포함하는 용액을 농축관으로 이송한 후 480g/L의 농도로 농축하여 농축액을 준비하였다. 농축액을 에이징 탱크(aging tank)로 이송한 후 25°C로 냉각시켜 생성물을 결정화시켰다. 결정화된 생성물을 포함하는 슬러리 용액에 에탄올 132 mL를 서서히 투입하여 생성물을 추가적으로 결정화시켰다. 결정화된 생성물을 분리한 후 에탄올 44 mL로 세척하고 50°C에서 건조시켜 L-호모세린 결정을 수득하였다.
- [134] L-호모세린의 회수율은 6.2%이고, 순도(purity)는 98.0% 이었다.
- [135] 비교예 6: 아세트산 촉매 3.06 당량
- [136] 배양이 종료된 발효액으로부터 멤브레인 필터(membrane filter)를 통하여 균체를 제거하고 O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액을 수득하였다.
- [137] O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액 1030 mL (O-Acetyl-L-homoserine 농도 320g/L, 620.5 mmol)를 반응기에 공급한 후, 반응기에 99% 아세트산 108.5 ml (1898.7 mmol, 3.06 eq)을 천천히 투입하여 pH 1.0~2.0의 반응 용액을 준비하였다. 준비된 반응 용액을 80°C로 승온시킨 후 5시간 동안 반응시켰다. HPLC로 반응 종료를 확인하였다.
- [138] 반응이 종료되어 생성물을 포함하는 용액을 농축관으로 이송한 후 480g/L의

농도로 농축하여 농축액을 준비하였다. 농축액을 에이징 탱크(aging tank)로 이송한 후 25°C로 냉각시켜 생성물을 결정화시켰다. 결정화된 생성물을 포함하는 슬러리 용액에 에탄올 1300 mL를 서서히 투입하여 생성물을 추가적으로 결정화시켰다. 결정화된 생성물을 분리한 후 에탄올 430 mL로 세척하고 50°C에서 건조시켜 L-호모세린 결정을 수득하였다.

- [139] L-호모세린의 회수율은 5 %이고, 순도(purity)는 98.7% 이었다.
- [140] 실시예 1: 고체 수지 촉매(Amberlyst-15 수지), 배치식
- [141] 배양이 종료된 발효액으로부터 멤브레인 필터(membrane filter)를 통하여 균체를 제거하고 O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액을 수득하였다.
- [142] O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액 40 mL (O-Acetyl-L-homoserine 농도 300g/L, 74.5mmol)를 반응기에 공급한 후, 반응기에 고체 양이온 교환 수지(Amberlyst-15 수지)를 74.46g(74.5mmol, 1eq)을 투입하여 pH 2.0~3.0의 반응 용액을 준비하였다. 준비된 반응 용액을 85°C로 승온시킨 후 5시간 동안 반응시켰다. HPLC로 반응 종료를 확인하였다.
- [143] 반응이 종료되어 생성물을 포함하는 용액을 농축관으로 이송한 후 480g/L의 농도로 농축하여 농축액을 준비하였다. 농축액을 에이징 탱크(aging tank)로 이송한 후 25°C로 냉각시켜 생성물을 결정화시켰다. 결정화된 생성물을 포함하는 슬러리 용액에 에탄올 120 mL를 서서히 투입하여 생성물을 추가적으로 결정화시켰다. 결정화된 생성물을 고체 양이온 교환 수지로부터 분리한 후 에탄올 40 mL로 세척하고 50°C에서 건조시켜 L-호모세린 결정을 수득하였다.
- [144] L-호모세린의 회수율은 72%이고, 순도(purity)는 99.3% 이었다.
- [145] 고체 양이온 교환 수지로 사용된 Amberlyst-15 수지의 물성은 다음과 같다.
- [146] a) 물리적 물성(physical properties)
- [147] 공중합체: 스티렌-디비닐벤젠
- [148] 매트릭스: 메트로다공성(macroporous)
- [149] 타입: 강산 양이온(stong acid cation)
- [150] 작용기: 술폰산(sulfonic acid)
- [151] 물리적 형태: 회색(gray), 불투명(opaque), 구형 비드(spherical bead)
- [152] b) 질소 BET
- [153] 표면적: 53 m²/g
- [154] 전체 기공 부피(total pore volume): 0.40 cc/g
- [155] 평균 기공 직경(average pore diameter): 300Å
- [156] c) 화학적 물성(chemical properties)
- [157] 발주된 이온 형태(ionic form as shipped): H⁺
- [158] 산 지점 농도(concentration of acid site): ≥ 4.70 eq/kg (건조 중량 용량(dry weight capacity) ≥ 4.70 eq/kg)
- [159] 촉매 휘발성(catalyst volatilities): 1.6%

- [160] d) 입자 크기(particle size)
- [161] < 300 μm : $\leq 0.5\%$
- [162] < 425 μm : $\leq 2.0\%$
- [163] e) (용매에서) 스웰링(swelling (in solvent))
- [164] 폐놀: 38%
- [165] f) 밀도(density)
- [166] 발주 중량(shipping weight): 610 g/L
- [167] 실시예 2: 고체 수지 촉매(Amberlyst-15 수지), 배치식
- [168] 배양이 종료된 발효액으로부터 멤브레인 필터(membrane filter)를 통하여 균체를 제거하고 O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액을 수득하였다.
- [169] O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액 3,000 mL (O-Acetyl-L-homoserine 농도 100g/L, 1,861.5mmol)를 반응기에 공급한 후, 반응기에 고체 양이온 교환 수지(Amberlyst-15 수지)를 1,861.5g(1,861.5mmol, 1eq)을 투입하여 pH 4.5의 반응 용액을 준비하였다. 준비된 반응 용액을 85°C로 승온시킨 후 5시간 동안 반응시켰다. HPLC로 반응 종료를 확인하였다.
- [170] 반응이 종료되어 생성물을 포함하는 용액을 농축관으로 이송한 후 480g/L의 농도로 농축하여 농축액을 준비하였다. 농축액을 에이징 탱크(aging tank)로 이송한 후 25°C로 냉각시켜 생성물을 결정화시켰다. 결정화된 생성물을 포함하는 슬러리 용액에 에탄올 9000 mL를 서서히 투입하여 생성물을 추가적으로 결정화시켰다. 결정화된 생성물을 고체 양이온 교환 수지로부터 분리한 후 에탄올 3,000 mL로 세척하고 50°C에서 건조시켜 L-호모세린 결정을 수득하였다.
- [171] L-호모세린의 회수율은 73.2%이고, 순도(purity)는 99.1% 이었다.
- [172] 실시예 3: 고체 수지 촉매(Amberlyst-15 수지), 배치식
- [173] 배양이 종료된 발효액으로부터 멤브레인 필터(membrane filter)를 통하여 균체를 제거하고 O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액을 수득하였다.
- [174] O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액 1280 mL (O-Acetyl-L-homoserine 농도 185g/L, 1,471.6mmol)를 반응기에 공급한 후, 반응기에 고체 양이온 교환 수지(Amberlyst-15 수지)를 1471.6g(1,471.6mmol, 1eq)을 투입하여 pH 4.5의 반응 용액을 준비하였다. 준비된 반응 용액을 85°C로 승온시킨 후 5시간 동안 반응시켰다. HPLC로 반응 종료를 확인하였다.
- [175] 반응이 종료되어 생성물을 포함하는 용액을 농축관으로 이송한 후 480g/L의 농도로 농축하여 농축액을 준비하였다. 농축액을 에이징 탱크(aging tank)로 이송한 후 25°C로 냉각시켜 생성물을 결정화시켰다. 결정화된 생성물을 포함하는 슬러리 용액에 에탄올 3,840 mL를 서서히 투입하여 생성물을 추가적으로 결정화시켰다. 결정화된 생성물을 고체 양이온 교환 수지로부터 분리한 후 에탄올 1,470 mL로 세척하고 50°C에서 건조시켜 L-호모세린 결정을 수득하였다.

- [176] L-호모세린의 회수율은 71.5%이고, 순도(purity)는 99.0% 이었다.
- [177] 실시예 4: 고체 수지 촉매(Purolite CT275수지), 배치식
- [178] 배양이 종료된 발효액으로부터 멤브레인 필터(membrane filter)를 통하여 균체를 제거하고 O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액을 수득하였다.
- [179] O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액 300 mL (O-Acetyl-L-homoserine 농도 100 g/L, 186.2 mmol)를 반응기에 공급한 후, 반응기에 고체 양이온 교환 수지(Purolite CT275 수지)를 186.2g(186.2mmol, 1eq)을 투입하여 pH 4.5의 반응 용액을 준비하였다. 준비된 반응 용액을 85°C로 승온시킨 후 5시간 동안 반응시켰다. HPLC로 반응 종료를 확인하였다.
- [180] 반응이 종료되어 생성물을 포함하는 용액을 농축관으로 이송한 후 480g/L의 농도로 농축하여 농축액을 준비하였다. 농축액을 에이징 탱크(aging tank)로 이송한 후 25°C로 냉각시켜 생성물을 결정화시켰다. 결정화된 생성물을 포함하는 슬러리 용액에 에탄올 900 mL를 서서히 투입하여 생성물을 추가적으로 결정화시켰다. 결정화된 생성물을 고체 양이온 교환 수지로부터 분리한 후 에탄올 300 mL로 세척하고 50°C에서 건조시켜 L-호모세린 결정을 수득하였다.
- [181] L-호모세린의 회수율은 81.6%이고, 순도(purity)는 99.4% 이었다.
- [182] 고체 양이온 교환 수지로 사용된 Purolite CT275 수지의 물성은 다음과 같다.
- [183] 고분자 구조: 디비닐벤젠으로 가교된 메크로다공성 폴리스티렌(macroporous polystyrene crosslinked with divinylbenzene)
- [184] 외관(appearance): 구형 비드(spherical beads)
- [185] 작용기: 술폰산(sulfonic acid)
- [186] 이온 형태(ionic form): H⁺ 형태(form)
- [187] 건조 중량 용량(dry weight capacity (min.)) 5.2 eq/kg (H⁺ form)
- [188] 수분 유지율(moisture retention): 51-59 % (H⁺ form)
- [189] 입자 크기 범위(partice size range): 425-1200 um
- [190] < 425 um (max.) : 1%
- [191] 균일성 계수(uniformity coefficient (max.)): 1.7
- [192] 표면적(surface area): 20-40 m²/g
- [193] 기공 부피(pore volume): 0.4~0.6 mL/g
- [194] 메디안 기공 직경(median pore diameter): 400~700 Å
- [195] 표면 산성 산 강도(surface acidity acid strength): 60 kJ/mol
- [196] 비중(specific gravity): 1.2
- [197] 발주 중량(shipping weight (approx.)): 755~790 g/L (47.2~49.4 lb/ft³)
- [198] 온도 한계(temperature limit): 130 °C (266.0 °F)
- [199] 실시예 5: 고체 수지 촉매(Purolite CT275 수지), 연속식
- [200] 배양이 종료된 발효액으로부터 멤브레인 필터(membrane filter)를 통하여 균체를 제거하고 O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액을 수득하였다.

- [201] O-Acetyl-L-homoserine을 포함하는 수용액 300 mL (O-Acetyl-L-homoserine 농도 100 g/L, 186.2 mmol)를 수지탑(resin tower)의 하부에 일정한 속도로 연속적으로 공급한 후 수지탑 상부에서 동일한 속도로 반응 생성물을 포함하는 용액을 방출하였다.
- [202] 수지탑 내부에는 Purolite CT275수지 186.2g(186.2mmol, 1eq)이 채워져 있으며, 수지탑 내부는 pH3.2, 온도는 85°C이었다. 수용액이 수지탑을 통과하는 시간은 5시간이었다. 반응 생성물을 포함하는 용액에서 HPLC로 반응 종료를 확인하였다.
- [203] 수지탑에서 방출된 생성물을 포함하는 용액을 농축관으로 이송시켜 480g/L의 농도로 농축된 농축액을 준비하였다. 준비된 농축액을 에이징 탱크(aging tank)로 이송한 후 25°C로 냉각시켜 생성물을 결정화시켰다.
- [204] 결정화된 생성물을 포함하는 슬러리 용액에 에탄올 900 mL를 서서히 투입하여 생성물을 추가적으로 결정화시켰다.
- [205] 결정화된 생성물을 분리기로 분리하였다. 분리된 생성물을 에탄올 300 mL로 세척하고 건조기에서 50°C에서 건조시켜 L-호모세린 결정을 수득하였다.
- [206] L-호모세린의 회수율은 81.6%이고, 순도(purity)는 99.4% 이었다.
- [207] 상기 비교예 1 내지 6 및 실시예 1 내지 5에서의 반응 조건, 촉매 종류, 회수율 등을 하기 표 1에 나타내었다.
- [208] 순도는 생성물에서 호모세린 이외의 다른 고형분 불순물을 제외한 함량이다.
- [209] 회수율은 투입된 L-호모세린 유도체로부터 얻어지는 L-호모세린의 이론치에 대한 실제 생성된 L-호모세린의 비율이다.

[210] [표1]

	산 촉매	반응 타입	산촉매 함량[eq.]	공급되는 L-호모세린 유도체 함유 수용액 농도[g/L]	회수율 [%]	순도[%]
비교예 1	HCl	배치식	1.02	300	45.9	98.0
비교예 2	HCl	배치식	3.06	186	52.7	98.1
비교예 3	H ₂ SO ₄	배치식	1.07	300	44.7	98.0
비교예 4	H ₂ SO ₄	배치식	3.06	300	45.9	98.1
비교예 5	CH ₃ COOH	배치식	1.03	300	6.2	98.0
비교예 6	CH ₃ COOH	배치식	3.06	320	5.0	98.7
실시예 1	Amberlyst-15 수지	배치식	1.00	300	72.0	99.3
실시예 2	Amberlyst-15 수지	배치식	1.00	100	73.2	99.1
실시예 3	Amberlyst-15 수지	배치식	1.00	185	71.5	99.0
실시예 4	Purolite CT275수지	배치식	1.00	100	81.6	99.4
실시예 5	Purolite CT275수지	연속식	1.00	100	81.6	99.4

[211] 상기 표 1에서 보여지는 바와 같이, 실시예 1 내지 5의 고체 산 촉매를 사용하는 제조 방법에 의할 때 액체 산 촉매를 사용하는 비교예 1 내지 6의 제조 방법에 비하여 얻어지는 L-호모세린의 회수율 및 순도가 향상되었다. 또한, 실시예 5의 연속식 제조 방법은 실시예 1 내지 4에 비하여서도 연속적인 L-호모세린의 생산이 가능하므로 생산 효율이 더욱 증가하며 수지 촉매의 분리 및 정제 없이 공급액의 조성 변경만으로 수지 촉매의 재생이 용이하여 유지비용 감소의

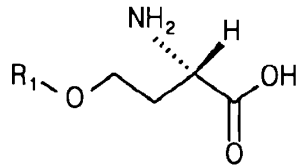
추가적 효과가 있다.

산업상 이용가능성

- [212] L-호모세린 제조 방법은 고체 산 촉매(solid acid catalyst)를 사용함에 의하여 간단하게 높은 순도(purity)를 가지는 L-호모세린을 높은 회수율로 제조하는 것이 가능하다.
- [213] 또한, L-호모세린 제조 방법에 의하면 생산 효율이 현저히 향상되고 촉매 재생이 재생이 용이하며 유지 비용이 감소되는 바 경제성 확보가 가능하다.

청구범위

- [청구항 1] 하기 화학식 1로 표시되는 L-호모세린 유도체를 고체 산(solid acid) 촉매와 접촉시키는 단계를 포함하는, L-호모세린 제조 방법:
<화학식 1>



상기 화학식 1에서,

R_1 은 $R_a-(C=O)-$ 이며,

R_a 는 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 6의 알킬기, 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 6의 알케닐기, 치환 또는 비치환된 탄소수 1 내지 6의 알키닐기, 치환 또는 비치환된 탄소수 3 내지 10의 시클로알킬기, 치환 또는 비치환된 탄소수 6 내지 20의 아릴기, 또는 치환 또는 비치환된 탄소수 2 내지 10의 헤테로아릴기이며,

상기 알킬기, 알케닐기, 알키닐기, 시클로알킬기, 아릴기, 및 헤테로아릴기의 치환기는 서로 독립적으로 할로젠, 카르복실기(-COOH), 아세틸기(-COCH₃), 아미노기(-NH₂), 니트로기(-NO₂), 시아노기(-CN), 탄소수 1 내지 6의 알킬기, 탄소수 6 내지 10의 아릴기 또는 탄소수 3 내지 10의 시클로알킬기이다.

- [청구항 2] 제1 항에 있어서, 상기 R_1 이 아세틸 또는 석시닐인, L-호모세린 제조 방법.
- [청구항 3] 제1 항에 있어서, 상기 접촉시키는 단계는 상기 L-호모세린 유도체를 물 및 고체 산(solid acid) 촉매와 접촉시키는 것인, L-호모세린 제조 방법.
- [청구항 4] 제1 항에 있어서, 상기 고체 산 촉매가 수지 촉매(resin catalyst)를 포함하는, L-호모세린 제조방법.
- [청구항 5] 제4 항에 있어서, 상기 고체 산 촉매가 양이온 교환 수지 촉매를 포함하는, L-호모세린 제조 방법.
- [청구항 6] 제5 항에 있어서, 상기 양이온 교환 수지 촉매가 -SO₃H 및 -COOH 중에서 선택된 하나 이상의 산성 작용기를 포함하는, L-호모세린 제조 방법.
- [청구항 7] 제5 항에서 있어서, 상기 양이온 교환 수지 촉매는 폴리스티렌-디비닐벤젠 공중합체에 -SO₃H 및 -COOH 중에서 선택된 하나 이상의 산성 작용기가 연결된 구조를 포함하는, L-호모세린 제조 방법.
- [청구항 8] 제1 항에 있어서, 상기 접촉은, 고체 산 촉매를 포함하는 수지탑(resin tower)에서 수행되는, L-호모세린 제조 방법.
- [청구항 9] 제1 항에 있어서, 상기 고체 산 촉매의 함량이 L-호모세린 유도체 1 당량에 대하여 0.1 내지 10 당량인, L-호모세린 제조 방법.

- [청구항 10] 제1 항에 있어서, 상기 고체 산 촉매를 포함하는 수용액의 pH가 1 내지 5인, L-호모세린 제조 방법.
- [청구항 11] 제1 항에 있어서, 상기 접촉은 20°C 내지 150°C의 온도에서 수행되는, L-호모세린 제조 방법.
- [청구항 12] 제1 항에 있어서, 상기 접촉은 0.1 시간 내지 20 시간 동안 수행되는, L-호모세린 제조방법.
- [청구항 13] 제1 항에 있어서, 상기 접촉시키는 단계가,
L-호모세린 유도체를 공급하는 단계;
상기 L-호모세린 유도체를 고체 산(solid acid) 촉매와 접촉시켜
L-호모세린을 생성하는 단계; 및
상기 L-호모세린을 방출하는 단계;를 포함하는 L-호모세린 제조 방법.
- [청구항 14] 제13 항에 있어서, 상기 L-호모세린의 공급 및 상기 L-호모세린의 방출이 연속적으로 수행되는, L-호모세린 제조 방법.
- [청구항 15] 제1 항에 있어서,
상기 L-호모세린을 수득하는 단계;를 더 포함하는, L-호모세린 제조방법.