

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.⁶
 C07D 303/40

(11) 공개번호 특 1998-071725
 (43) 공개일자 1998년 10월 26일

(21) 출원번호	특 1998-006068
(22) 출원일자	1998년 02월 26일
(30) 우선권주장	97-43378 1997년 02월 27일 일본(JP)
(71) 출원인	다나베 세이야꾸 가부시끼가이사 다나까 도시오 일본 오사까후 오사까시 쥬오꾸 도쇼마찌 3쪽에 2방 10고
(72) 발명자	후루이, 마사까쓰 일본 오사까후 다카쓰끼시 다까미다이 17방 5고 후루따니, 도시유끼 일본 효고켄 산다시 야요이가오까 6-2-4-305
(74) 대리인	위혜숙, 이상희

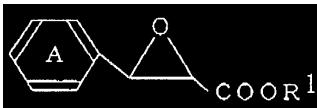
심사청구 : 없음

(54) 광학 활성 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르의 제조 방법

요약

본 발명은 하기 화학식 1의 광학 활성 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르 화합물의 제조 방법을 제공하며,

[화학식 1]



{상기 식에서, 고리 A는 치환 또는 비치환 벤젠 고리이고, R¹은 에스테르 잔기이다}, 상기 방법은 에스테르 화합물(I)의 어느 하나의 광학 이성체(A)와 다른 하나의 광학 이성체(B)(이들은 둘 모두 2- 및 3-위치의 비대칭 탄소로 인하여 광학 이성체이다), 및 에스테르 잔기 R¹만이 이성체(B)와 상이한 에스테르 화합물(B')의 용액을 제조하고, 에스테르 화합물(B')이 존재하지 않는다면 광학 이성체(B)가 침전하지만 에스테르 화합물(B')의 존재로 인해 광학 이성체(B)를 침전시키지 않으면서 광학 이성체(A)가 결정화될 때까지 상기 용액으로부터 광학 이성체(A)를 결정화시키며, 광학 이성체(A)의 결정을 분리하는 것을 포함하고, 이에 의해 원하는 광학 이성체(A)를 높은 순도로 및 모액 중의 원하는 이성체의 농도가 종래의 방법에 비해 매우 적게 될 때까지 원하는 이성체를 결정화시킬 수 있는 정도로 높은 수율로 수득할 수 있다.

대표도

도1

명세서

도면의 간단한 설명

도 1은 시간과 온도의 변수를 사용함으로써 광학 이성체(A)와 (B) 및 에스테르 화합물(B')을 함유하는 용액 (a)로부터 광학 이성체(A)를 결정화되지만, 에스테르 화합물(B')의 부재하에 광학 이성체(B)가 침전하더라도 에스테르 화합물(B')의 존재로 인해 광학 이성체(B)가 침전하지 않는 조건의 설명도이다.

이와 관련하여, 상기 용액(a) 중의 광학 이성체(A)와 (B) 및 에스테르 화합물(B')의 비는 광학 이성체 (B)의 결정화를 억제하기에 충분한 것으로 생각된다.

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 광학 활성 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르의 제조 방법에 관한 것이다. 더 특히, 본 발명은 제약 화합물의 합성 중간체로서 유용한 트란스-3-(치환 또는 비치환 페닐)글리시드산 에스테르의 광학 이성체의 제조 방법과 광학 이성체의 사용에 관한 것이다.

염산 딜티아젬(화학명: 염산염)은 칼슘 채널 차단제로서 협심증 및 본태성 고혈압증 등의 치료에 널리 사용되는 제약 화합물이다 (Merck Index, 12판. 541페이지).

딜티아젬의 제조를 위해, 일본 특허 공고 제 46-16749호, 제 53-18038호 및 제 61-52142호에 개시된 바와 같이, 라세미형 트란스-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 에스테르를 출발 물질로서 사용하고, 합성의 후반 공정에서 광학 분할을 수행하는 방법이 종래에 공지되어 있다.

또한, 딜티아젬의 제조를 위해 라세미형 트란스-글리시드산 에스테르를 광학 분할함으로써 수득한 (2R,3S)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르를 사용하는 방법이 일본 특허 공개 제 60-13776호에서 제안되었다.

따라서, 광학 활성 트란스-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 에스테르의 다양한 제조 방법이 연구되었고, 예를 들면, 하기 언급된 방법이 제안되었다 :

(a) 라세미형 트란스-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르를 가수분해시켜 알칼리 금속염을 형성하고, $(-)\alpha$ -메틸벤질아민과 같은 광학 분할제를 사용하여 그의 디아스테로이머 염을 형성하고, 이 염을 분할시킨 다음, 수득한 광학 활성 염을 다시 에스테르화하는 것을 포함하는 방법 (일본 특허 공개 제 61-145174호 및 제 2-231480호).

(b) p-아니스알데하이드를 사용하여, $(-)$ -메틸기, $(-)$ -2-페닐시클로헥실기 또는 $(-)$ -8페닐메틸기와 같은 비 대칭 에스테르 잔기를 갖는 클로로아세트산 에스테르의 다젠스(Darzens) 반응을 수행하는 것을 포함하는 방법 (일본 특허 공개 제 61-268663호, 제 2-17170호 및 제 2-17169호).

(c) 라세미형 트란스-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르에서 (2S,3R)-이성체를 효소적으로 및 비 대칭적으로 가수분해시키고, 잔류하는 (2R,3S)-이성체를 회수하는 것을 포함하는 방법 (일본 특허 공개 제 2-109995호 및 제 3-15398호, 및 국제 특허 공개 제 90/04643호).

(d) 트란스-4-메톡시신남산 메틸 에스테르를 비대칭 촉매의 존재하에 오스뮴 산화시켜 광학 활성 디올을 제공하고, 이 디올을 분자내 폐환시켜 원하는 화합물을 제공하는 것을 포함하는 (2R,3S)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르의 비대칭 합성 방법 (국제 특허 공개 제 89/02428호 및 제 89/10350호).

(e) 라세미형 트란스-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르에서 (2S,3R)-이성체를 부탄올로 효소적 비대칭 에스테르 교환 반응시켜 (2R,3S)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르를 제공하는 것을 포함하는 방법 (일본 특허 공개 제 4-228095호 및 제 6-78790호).

딜티아젬 이외의 일부 1,5-벤조티아제핀 유도체가 우수한 약리 활성을 갖는 것이 또한 공지되어 있다. 예를 들면, 일본 특허 공개 제 60-202871호에서는 2- 및 3- 위치에서 딜티아젬의 역전 절대 배위를 갖는 벤조티아제핀 유도체가 혈소판 응집 억제 활성 등을 갖는 것이 개시되어 있다.

이 유도체의 합성에 유용한 (2S,3R)-3-(4-메틸페닐)글리시드산 메틸 에스테르를 라세미형 트란스-3-(4-메틸페닐)글리시드산 메틸 에스테르의 효소적 비대칭 가수분해에 의해 제조하는 방법이 또한 공지되어 있다 (일본 특허 공개 제 3-175995호).

일본 특허 공개 제 8-259552호에는 라세메이트 내의 (2S,3R)-이성체를 부탄올로 효소적으로 및 비대칭적으로 에스테르 교환시키고, 에스테르 교환되지 않은 (2R,3S)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르를 회수하고, 에스테르 교환된 생성물, 즉, (2S,3R)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 부틸 에스테르를 화학적으로 에스테르 교환 반응시켜 상응하는 메틸 에스테르로 전환시킴으로써, 라세메이트로부터 트란스-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르의 두 이성체를 모두 높은 광학 순도로 수득하는 방법이 개시되어 있다.

일본 특허 공개 제 4-217969호에는 (2R,3S)-이성체와 (2S,3R)-이성체의 등물량 혼합물 및 (2R,3S)-이성체를 t-부틸 메틸 에테르 용매에 가열하에 용해시키고, (2R,3S)-이성체의 결정핵을 접종하고, (2R,3S)-이성체를 결정화시킴으로써 처음에 등물량 혼합물과 함께 용해시킨 (2R,3S)-이성체의 양보다 약간 더 많은 양으로 결정성 (2R,3S)-이성체를 수득하는 것을 포함하는, 트란스-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르의 (2R,3S)-이성체의 결정을 수득하는 방법이 개시되어 있다.

또한, 일본 특허 공개 제 5-301864호에서는 (2R,3S)-이성체와 (2S,3R)-이성체의 등물량 혼합물 및 (2R,3S)-이성체를 테트라하이드로푸란 중에 가열 용해시키고, (2R,3S)-이성체의 결정핵을 접종하고, 30°C에서 (2R,3S)-이성체를 결정화시킴으로써, 처음에 등물량 혼합물과 함께 용해시킨 (2R,3S)-이성체의 양보다 약간 더 많은 양으로 결정성 (2R,3S)-이성체를 수득하는 것을 포함하는, 트란스-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 4-클로로-3-메틸페닐 에스테르의 (2R,3S)-이성체의 결정을 수득하는 방법이 개시되어 있다.

더욱, 일본 특허 공개 제 8-259552호에서는, (2R,3S)-이성체와 (2S,3R)-이성체의 등물량 혼합물로부터 혼합물내의 (2S,3R)-이성체를 부탄올로 효소적으로 및 비대칭적으로 에스테르 교환 반응시켜 (2S,3R)-부틸 에스테르/(2S,3R)-메틸 에스테르의 물비가 7.8/10이 되도록 하고, 생성된 (2R,3S)-이성체를 결정화시킴으로써, 트란스-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르의 (2R,3S)-이성체를 수득하는 방법이 개시되어 있다.

그러나, 상기 방법에서, 소량으로 잔류하는 비에스테르화된 (2S,3R)-메틸 에스테르의 결정화에 의한 원하는 (2R,3S)-메틸 에스테르의 오염을 방지하기 위해, 모액 중에 (2R,3S)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르가 에스테르 교환되지 않은 (2S,3R)-이성체 보다 많은 양으로 여전히 잔류하는 단계에서 결정화를 중지시켰다.

따라서, 상기 에스테르 교환반응에서 (2R,3S)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르가 거의 에스테르 교환되지 않고, (2S,3R)-이성체의 에스테르 교환의 전환율이 높음에도 불구하고, 결정 형태로 수득되는 (2R,3S)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르의 수율은 충분하지 않다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명의 목적은 트란스-3-(치환 또는 비치환 페닐)글리시드산 에스테르를 간단한 방식으로 높은 수율로 및 높은 광학 순도로 광학 분할하는 방법을 제공하는 것이다.

본 발명의 추가의 목적은 트란스-3-(치환 또는 비치환 페닐)글리시드산 에스테르의 원하는 광학 이성체를 그의 광학 이성체의 혼합물을 함유하는 용액으로부터 높은 순도로, 및 모액 중에 잔류하는 원하는 광학 이성체의 농도가 공지된 방법에 비해 매우 낮을 때까지 원하는 광학 이성체를 결정화시킬 수 있으므로 높은 수율로 결정화시키는 방법을 제공하는 것이다.

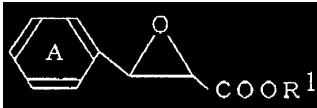
본 발명의 추가의 목적은 라세메이트의 효소적 비대칭적 에스테르 교환의 반응 혼합물로부터 트란스-3-(치환 또는 비치환 페닐)글리시드산 에스테르의 원하는 광학 이성체를 높은 순도로 결정화시켜, 모액에 잔류하는 원하는 광학 이성체의 농도가 공지된 방법에 비해 매우 낮도록 하는 방법을 제공하는 것이다.

발명의 구성 및 작용

본 발명의 발명자들은 라세미형 트란스-3-(치환 또는 비치환 페닐)글리시드산 에스테르, 및 에스테르 잔기만이 라세미형 에스테르의 한 이성체와 상이하고 트란스-3-(치환 또는 비치환 페닐)글리시드산 에스테르의 이성체보다 용해도가 큰 에스테르 화합물을 함유하는 용액 중에서, 에스테르 화합물과 동일한 절대 배위를 갖는 이성체의 결정화가 저해되는 사실을 발견하기에 이르렀다.

따라서, 본 발명에 따라, 하기 화학식 1의 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르 화합물의 어느 하나의 광학 이성체(A)와 다른 하나의 광학 이성체(B)(이들은 둘 모두 2- 및 3-위치의 비대칭 탄소로 인하여 광학 이성체이다), 및 에스테르 잔기 R^1 만이 이성체(B)와 상이한 에스테르 화합물(B')의 용액을 제조하고, 에스테르 화합물(B')이 존재하지 않는다면 광학 이성체(B)가 침전하지만 에스테르 화합물(B')의 존재로 인해 광학 이성체(B)를 침전시키지 않으면서 광학 이성체(A)가 결정화되는 정도까지 상기 용액으로부터 광학 이성체(A)를 결정화시키며, 광학 이성체(A)의 결정을 분리하는 것을 포함하는, 하기 화학식 1의 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르 화합물의 광학 활성 이성체의 제조 방법을 제공한다.

화학식 1



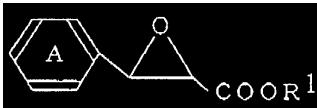
상기 식에서, 고리 A는 치환 또는 비치환 벤젠 고리이고, R¹은 에스테르 잔기이다.

광학 이성체(A)를 결정화에 사용할 용액은 추가로 에스테르 잔기 R¹만이 광학 이성체(A)와 상이하고 에스테르 화합물(B')과 동일한 에스테르 잔기를 갖는 에스테르 화합물(A')을 소량 함유할 수 있다.

광학 이성체(A)를 결정화에 사용할 용액은 광학 이성체(A)와 (B) 및 알코올의 용액을 알코올을 사용하여 이성체(B)를 에스테르 교환 반응시켜 에스테르 화합물(B')을 생산하는 입체 선택적 에스테르 교환능이 있는 효소의 존재하에 에스테르 교환시킴으로써 수득된 용액일 수 있다.

따라서, 본 발명은 하기 화학식 1의 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르 화합물의 어느 하나의 광학 이성체(A)와 다른 하나의 광학 이성체(B)(이들은 둘 모두 2- 및 3-위치의 비대칭 탄소로 인하여 광학 이성체이다)의 혼합물을 알코올과 입체 선택적 에스테르 교환능이 있는 효소의 존재하에 에스테르 교환시킴으로써, 알코올을 사용하여 광학 이성체(B)를 에스테르 교환반응시켜 에스테르 화합물(B')/이성체(B)의 몰비가 13/7 내지 7.8/1의 범위내에 있을 때까지 에스테르 잔기 R¹만이 이성체(B)와 상이한 에스테르 화합물(B')을 생산하고, 이성체(A), 에스테르 교환되지 않은 이성체(B) 및 에스테르 화합물(B')을 함유하는 생성된 용액으로부터 광학 이성체(A)를 결정화시키며, 99% 이상의 광학 순도를 갖는 이성체(A)를 광학 이성체(A)의 초기량을 기준으로 75% 이상의 수율로 분리하는 것을 포함하는, 하기 화학식 1의 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르 화합물의 광학 활성 이성체의 제조 방법을 또한 제공한다.

화학식 1



상기 식에서, 고리 A는 치환 또는 비치환 벤젠 고리이고, R¹은 에스테르 잔기이다.

이성체(A)를 분리한 후, 모액 중의 에스테르 화합물(B')을 화학적으로 에스테르 교환 반응시켜 이성체(B)로 전환시키고, 이성체(B)를 결정화시킨 후 이를 분리함으로써, 다른 하나의 광학 이성체(B)를 또한 높은 순도로 및 높은 수율로 수득할 수 있다.

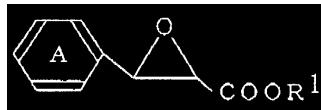
본 발명에 따라, 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)의 광학 이성체를 에스테르(I)의 광학 이성체의 혼합물 및 에스테르 잔기만이 이성체 중 하나와 상이한 에스테르 화합물의 용액으로부터 결정화시키고, 모액 중 원하는 광학 이성체의 농도가 종래의 방법에서의 농도와 비교할 때 매우 낮게 되는 정도까지 높

은 순도로 수득할 수 있다.

더욱, 라세미형 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르로부터, 라세미형 에스테르의 효소적 비대칭적 에스테르 교환 반응을 수행한 후, 생성된 반응 혼합물로부터 원하는 이성체를 결정화시킴으로써 높은 순도의 원하는 이성체를 간단한 방식으로 높은 수율로 수득할 수 있다.

본 발명에서, 하기 화학식 1의 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르의 어느 하나의 광학 이성체(A)와 다른 하나의 광학 이성체(B)(이들은 둘 모두 에스테르(I)의 2- 및 3- 위치의 비대칭 탄소로 인하여 광학 이성체이다) 및 에스테르 잔기만이 광학 이성체(B)와 상이한 에스테르 화합물(B')을 용매에 용해시킨 용액(이후 용액 ABB'로 지칭)을 결정화에 사용한다.

화학식 1



상기 식에서, 고리 A는 치환 또는 비치환 벤젠 고리이고, R¹은 에스테르 잔기이다.

이성체(A)와 (B) 및 에스테르 화합물(B')의 용액은 추가로 에스테르 잔기 R¹만이 광학 이성체(A)와 상이하고 에스테르 화합물(B')과 동일한 에스테르 잔기 R¹를 갖는 에스테르 화합물(A')을 소량 함유할 수 있다 (이후 용액 AA'BB'로 지칭).

본 발명에서 사용된 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)(즉, 그의 광학 이성체(A)와 (B)의 혼합물)는 고리 A가 치환 또는 비치환 벤젠 고리이고, R¹이 결정화 용매 중에서 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)를 결정화시킬 수 있는 에스테르 잔기인 화학식 1의 화합물이다.

그러한 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르는 예를 들면, 고리 A가 (a) 작쇄 또는 분지쇄 저급 알킬기, 예를 들면, 메틸기, 에틸기, 프로필기, 이소프로필기, n-부틸기, 2급-부틸기, t-부틸기, n-헥실기, 2-헥실기 또는 3-헥실기; (b) 작쇄 또는 분지쇄 저급 알콕시기, 예를 들면, 메톡시기, 에톡시기, 프로필옥시기, 이소프로필옥시기, n-부톡시기, 2급-부톡시기, t-부톡시기, n-헥실옥시기, 2-헥실옥시기 또는 3-헥실옥시기; 또는 (c) 할로겐 원자, 예를 들면, 불소 원자, 염소 원자, 브롬 원자 또는 요오드 원자에 의해 치환되어도 좋은 페닐기이고, R¹이 (a) 작쇄 또는 분지쇄 저급 알킬기, 예를 들면, 메틸기, 에틸기, 프로필기, 이소프로필기, n-부틸기, 2급-부틸기, t-부틸기, n-헥실기, 2-헥실기 또는 3-헥실기; (b) 치환 시클로알킬기, 예를 들면, 2-페닐시클로알킬기; 또는 (c) 치환 또는 비치환 아릴기, 예를 들면, 4-클로로-3-메틸페닐기인 화학식 1의 화합물이다.

트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)의 바람직한 예는 예를 들면, 고리 A가 메틸페닐기 또는 메톡시페닐기이고, R¹이 메틸기, 에틸기, 2-페닐시클로헥실기 또는 4-클로로-3-메틸페닐기인 화학식 1의 화합물이다. 특히, 고리 A가 4-메틸페닐기 또는 4-메톡시페닐기이고 R¹이 메틸기 또는 에틸기인 화학식 1의 화합물이 가장 바람직한 예이다.

에스테르 화합물(B')의 에스테르 잔기로는, 결정화에 사용된 용매 중에서 에스테르 화합물(B')에 우수한 용해도를 제공하는 한 임의의 에스테르 잔기를 사용할 수 있다.

에스테르 화합물(B')의 에스테르 잔기는 예를 들면, (a) 치환체를 가질 수 있고, 광학 이성체(B)의 에스테르 잔기 R¹의 탄소 원자수보다 많은 탄소 원자수를 갖는 작쇄 또는 분지쇄 알킬기, 예를 들면, 프로필기, 이소프로필기, n-부틸기, 2급-부틸기, t-부틸기, n-펜틸기, 2-펜틸기, 3-펜틸기, n-헥실기, 2-헥실기, 3-헥실기, n-헵틸기, 2-헵틸기, 3-헵틸기, 4-헵틸기, n-옥틸기, 2-옥틸기, 3-옥틸기, 4-옥틸기, n-노닐기, 2-노닐기, 3-노닐기, 4-노닐기, 5-노닐기, n-데실기, 2-데실기, 3-데실기, 4-데실기 또는 5-데실기; (b) 치환체를 가질 수 있는 알콕시알킬기, 예를 들면, 메톡시메틸기, 에톡시메틸기, 프로필옥시메틸기, 메톡시에틸기, 메톡시프로필기, 메톡시부틸기, 에톡시에틸기 또는 프로필옥시프로필기; 및 (c) 치환체를 가질 수 있는 아릴알킬기, 예를 들면, 벤질기, 페네틸기, 페닐프로필기 또는 나프틸메틸기이다.

작쇄 또는 분지쇄 알킬기 (a) 및 알콕시알킬기 (b)에 대한 치환체는 예를 들면, 불소 원자, 염소 원자, 브롬 원자 또는 요오드 원자와 같은 할로겐 원자를 포함한다. 아릴알킬기 (c)에 대한 치환체는 예를 들면, 작쇄 또는 분지쇄 저급 알킬기, 예를 들면, 메틸기, 에틸기, 프로필기, 이소프로필기, n-부틸기, 2급-부틸기, t-부틸기, n-헥실기, 2-헥실기 또는 3-헥실기; 작쇄 또는 분지쇄 저급 알콕시기, 예를 들면, 메톡시기, 프로필옥시기, 이소프로필옥시기, n-부톡시기, 2급-부톡시기, t-부톡시기, n-헥실옥시기, 2-헥실옥시기 또는 3-헥실옥시기; 및 할로겐 원자, 예를 들면, 불소 원자, 염소 원자, 브롬 원자 또는 요오드 원자 등을 포함한다.

트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)의 에스테르 잔기가 메틸기 또는 에틸기이면, 에스테르 화합물(B')의 에스테르 잔기의 바람직한 예는 예를 들면, 이소프로필기, n-부틸기, 2급-부틸기, t-부틸기, n-펜틸기, n-헥실기, n-옥틸기, n-노닐기, n-데실기, 벤질기 및 페네틸기이다.

더욱, 에스테르 화합물(B')의 절대 배위는 (2R,3S) 및 (2S,3R) 중 임의의 것일 수 있다.

(2R,3S)-에스테르 화합물(B')을 용액으로 용해시키면, (2S,3R)-이성체(A)가 모액 중의 (2S,3R)-이성체(A)의 농도가 종래 방법과 비교할 때 매우 낮게 될 때까지 결정화되어 높은 순도의 결정을 제공할 수 있다. 반면, (2S,3R)-에스테르 화합물(B')을 용액에 용해시키면, (2R,3S)-이성체(A)가 모액 중의 (2R,3S)-이성체(A)의 농도가 종래 방법과 비교할 때 매우 낮게 될 때까지 결정화되어 높은 순도의 결정을 제공할 수 있다. 따라서, 어느 경우든, 원하는 생성물을 종래의 방법과 비교할 때 더 높은 수율로 수득할 수 있

다.

트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)의 재결정화에 사용할 수 있는 임의의 용매를 또한 본 발명의 결정화 용매로서 사용할 수 있다. 그러한 결정화 용매의 예는 예를 들면, 메탄올, 에탄올, n-프로판올, 이소프로판올 또는 n-부탄올과 같은 알코올 용매; 디에틸 에테르, t-부틸 메틸 에테르, 디이소프로필 에테르, 테트라하이드로푸란 또는 디옥산과 같은 에테르 용매; 벤젠, 톨루엔, 크실렌, 클로로벤젠 또는 디클로로벤젠과 같은, 할로겐 원자에 의해 치환되어도 좋은 방향족 탄화수소 용매; 헥산, 시클로헥산, n-헵탄, n-옥탄, 디클로로메탄, 클로로포름, 1,2-디클로로에탄 또는 사염화탄소와 같은, 할로겐 원자에 의해 치환되어도 좋은 지방족 탄화수소 용매; 및 메틸 아세테이트 또는 에틸 아세테이트와 같은 에스테르 용매 등이다. 용매를 단독으로 또는 용매의 혼합물을 사용할 수 있다.

트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)와 에스테르 화합물(B')의 에스테르 잔기, 및 에스테르(I)의 폐닐기 상의 치환체에 따라 적절한 용매를 선택할 수 있다. 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)의 광학 이성체(A)의 용해도가 온도에 따라 크기 변하고, 에스테르 화합물(B')의 용해도가 광학 이성체(A)의 용해도 보다 훨씬 큰 용매를 사용하는 것이 바람직하다. 예를 들면, 트란스-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르를 에스테르(I)로서 사용하고, 그의 n-부틸 에스테르를 에스테르 화합물(B')로서 사용하는 경우, 메탄올, 에탄올 및 크실렌 등이 이들 화합물을 용해시키는 용매로서 바람직하다.

용매의 적합한 양은 광학 이성체(A)와 (B) 및 에스테르 화합물(B')을 한번에 용해시킬 수 있고, 용액의 온도를 저하시킴으로써 이성체(A)가 결정화될 수 있는 범위내에서 결정할 수 있다. 따라서, 용매의 양의 적절한 범위를 광학 이성체(A)와 (B), 및 에스테르 화합물(B')의 종류, 그의 비 및 결정화 온도 등에 따라 실험적으로 구할 수 있다. 일반적으로, 광학 이성체(A)와 (B)의 용해도가 크고, 온도 변화에 따라 용해도가 크게 변하는 용매를 사용할 때, 용매의 양을 감소시킬 수 있다.

예를 들면, 하기의 트란스-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 에스테르의 혼합물을 크실렌 100mℓ에 용해시키고, 생성된 용액을 -10°C로 냉각시키는 경우, 용액중의 (2R,3S) 메틸 에스테르의 농도가 (2S,3R) 메틸 에스테르의 농도 보다 작은 경우에 조차, (2R,3S) 메틸 에스테르가 용액으로부터 효율적으로 결정화될 수 있다.

크실렌 100 mL에 용해된 글리시드산 에스테르의 혼합물	
(2R,3S) 메틸 에스테르	49 g
(2S,3R) 메틸 에스테르	14 g
(2S,3R) n-부틸 에스테르	39 g
(2R,3S) 메틸 에스테르의 결정화 후 용액 중에 남아있는 글리시드산 에스테르의 조성	
(2R,3S) 메틸 에스테르	9 g
(2S,3R) 메틸 에스테르	변화 없음
(2S,3R) n-부틸 에스테르	변화 없음

결정화 전 용액 중의 광학 이성체(A)의 농도는 이성체(A)와 용매의 종류, 및 결정화 온도 등에 따라 변할 수 있지만, 일반적으로 0.5 내지 4 몰/ℓ이다.

본 발명의 방법의 용액에서, 광학 이성체(A)/광학 이성체(B)의 비는 에스테르 화합물(B')에 의해 결정화가 억제되는 광학 이성체(B) 보다 광학 이성체(A)가 더 쉽게 결정화되는 범위 내에 있어야 할 필요가 있다.

에스테르 화합물(B')이 존재하지 않는다면 광학 이성체(B)가 침전하는 (A)/(B)의 비에서 조차, 본 발명의 방법에 의해 광학 이성체(A)를 결정으로서 수득할 수 있다.

물론, 본 발명의 방법에서 광학 이성체(A)를 광학 이성체(B) 보다 더 많은 양으로 함유하는 용액을 사용할 수 있고 바람직하며, 이는 그러한 부가적인 다량의 광학 이성체(A)를 또한 에스테르 화합물(B')의 존재로 인한 이성체(B)의 결정화의 억제에 의해 수득된 광학 이성체(A)의 결정에 추가로 결정으로서 수득할 수 있기 때문이다. 따라서, 이성체(B) 보다 많은 양의 이성체(A)를 함유하는 용액으로부터 본 발명의 방법을 시작할 수 있다.

더욱, 광학 이성체(B)의 결정화에 대한 에스테르 화합물(B')의 억제 효과는 에스테르 화합물(B')/광학 이성체(B)의 비가 증가함에 따라 향상되고, 증가된 양의 광학 이성체(A)를 수득할 수 있다. 따라서, 에스테르 화합물(B')/이성체(B)의 비가 높은 것이 본 발명의 방법에서 더 바람직하다.

본 발명의 결정화를 위한 초기 용액 중의 이들 화합물의 비는 에스테르 화합물(B')의 에스테르 잔기와 결정화에 사용된 용매의 종류에 따라 다양하다. 일반적으로, 광학 이성체(A)/광학 이성체(B)의 몰비는 약 4/6 내지 약 10/10이고, 에스테르 화합물(B')/광학 이성체(B)의 몰비는 약 5/3 내지 약 10/10이다. 바람직하게는 이성체(A)/이성체(B)의 몰비는 약 1/1 내지 약 4/10이고, 에스테르 화합물(B')/이성체(B)의 몰비는 약 2/1 내지 약 7.8/10이다.

본 발명의 방법에서, 이성체(A)와 (B), 및 에스테르 화합물(B') 이외의 성분을 함유하는 용액으로부터 결정화를 또한 수행할 수 있다. 예를 들면, 이들 3 가지 성분 이외에, 용액은 에스테르 잔기만이 광학 이성체(A)와 상이한 광학 이성체(에스테르 화합물(A'))를 함유할 수 있다. 에스테르 화합물(A')이 용액에 함유되는 경우, 에스테르 화합물(A')/이성체(A)의 몰비는 바람직하게는 에스테르 화합물(B')/이성체(B)의 몰비의 9/35 이하이어서, 이성체(A)의 결정화에 대한 에스테르 화합물(A')의 억제 효과를 최소화시킬 수 있고, 이성체(A)를 다량으로 및 높은 순도로 수득할 수 있다.

즉, 광학 이성체(A)의 결정화가 에스테르 화합물(A')의 존재에 의해 억제될 수 있기는 하지만, 광학 이성체(A)가 단지 광학 이성체(B)의 결정화에 대한 에스테르 화합물(B')의 억제 효과로 인해 결정화되는 한, 에스테르 화합물(A')이 본 발명의 결정화시키기 위한 용액 중에 존재할 수 있다.

용액 중에 존재하는 에스테르 화합물(B')의 이성체(B)의 결정화에 대한 억제 효과가 에스테르 화합물(A')의 이성체(A)의 결정화에 대한 억제 효과보다 더 클 때, 이성체(A)가 이성체(B) 보다 쉽게 결정화될 수 있고, 본 발명의 방법에 의해 이성체(A)를 수득할 수 있다.

본 발명의 방법에서, 적어도 3 가지 이성체(즉, 광학 이성체(A)와 (B), 및 에스테르 화합물(B'))이 용액 중에 존재하도록 요구된다. 이러한 점에서, 본 발명의 방법은 이성체(A)와 (B)만을 함유하는 용액으로부터의 우선 결정화 방법과 명확하게 상이하다. 또한 본 발명의 방법은 이성체(B)의 결정화에 대한 에스테르 화합물(B')의 억제 효과와 원하는 이성체(A)의 분리가 1회의 결정화-분리 절차에 의해 성취될 수 있는 이점을 갖는다. 이러한 면에서, 본 발명의 방법은 또한 하기 단계:

(i) 광학 이성체(A)의 결정을 이성체(A) 와 (B)만을 함유하는 용액에 접종하여, 광학 이성체(A)를 결정화시키고 분리하는 단계; 및

(ii) 광학 이성체(B)의 결정을 단계 (i)에서 생성된 용액에 접종하여, 광학 이성체(B)를 결정화시키고 분리시키는 단계를 반복해야 할 필요가 있는 우선 결정화 방법과 상이하다.

더욱, 본 발명의 방법은 광학 이성체의 결정화를 다량의 어느 하나의 광학 이성체와 소량의 다른 하나의 광학 이성체를 함유하는 용액을 사용하여 수행하여야 하는 우선 결정화 방법과 상이하다. 이와 반대로, 본 발명의 방법에 따라, 용액 중의 광학 이성체(A) 광학 이성체(B) 내지 용액 중의 광학 이성체(A) 광학 이성체(B)인 넓은 범위내에서 광학 이성체(A)의 결정화가 가능하다.

동시에, 본 발명의 방법은 광학 이성체(A)의 결정을 또한 함유하는 용액으로부터 결정화를 수행하는 실시태양을 포함한다. 그러나, 광학 이성체(B)와 에스테르 화합물(B') 중 적어도 하나를 함유하지 않는 용액으로부터의 광학 이성체(A)의 결정화는 광학 이성체(B)의 결정화의 억제가 불가능하므로 본 발명에서 제외된다.

본 발명에 따른 결정화를 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)의 광학 이성체(A)는 결정화되지만, 광학 이성체(B)와 에스테르 화합물(B')은 침전되지 않는 온도에서 수행하여야 한다.

용액을 얼마 동안 방치시킨 후에만 광학 이성체(B)의 결정화가 시작되는 온도는 본 발명의 온도 범위 내에 포함된다. 그러한 결정화 온도는 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)의 종류, 용매의 종류 및 결정화에 사용할 용액의 조성에 따라 변한다. 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)의 옥시란 고리의 안정성을 고려할 때, 광학 이성체(A)와 (B) 및 에스테르 화합물(B')을 고온에서 용해시킴으로써 결정화 용액을 제조하는 것은 바람직하지 않다. 70°C 이하의 온도에서 용해를 수행하고, 실온 이하의 온도에서 결정화를 수행하는 것이 바람직하다.

또한, 일반적으로, 용매의 양이 많을 때, 용액이 저온으로 냉각되지 않으면 이성체(A)의 결정화가 진행하지 않는 반면, 용매의 양이 적을 때 비교적 고온에서도 결정화가 진행한다. 따라서, 본 발명의 방법을 공업 규모로 수행할 때, 용매의 양, 설비 및 에너지의 관점에서, 용매를 감소시키고, 주변 온도 부근에서 농축 용액으로부터 결정화를 수행하는 것이 바람직하다.

반면, 농축 용액으로부터 결정화를 수행할 때, 생성물은 일반적으로 증가된 양의 불순물을 함유하는 경향이 있다. 따라서, 순도의 면에서, 다량의 용매를 사용하고, 저온에서 결정화를 수행하는 것이 바람직하다.

그러한 이유로, 광학 이성체(A)의 결정화를 효율적으로 수행하기 위해, 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)의 종류, 에스테르 화합물(B')의 에스테르 잔기, 사용된 용매의 종류 및 결정화에 사용할 용액의 조성에 따라 실험적으로 최적 온도 범위를 설정하여야 한다.

예를 들면, 광학 이성체(A)와 (B)가 메틸 에스테르이고, 에스테르 화합물(B')이 n-부틸 에스테르일 때, 메탄올로부터 결정화를 수행하는 경우, -30 °C 내지 +15°C의 온도에서 결정화를 수행하는 것이 바람직하다. 다른 경우에 유사한 온도 범위를 적용할 수도 있다.

본 발명의 방법에서, 광학 이성체(B)의 결정화가 에스테르 화합물(B')에 의해 억제되므로, 동일한 용해도를 갖는 광학 이성체 사이의 침전 속도의 차이를 이용하여, 우선 결정화 방법에 있어서는 필수적인 임의의 매우 엄격한 온도 조절 없이도 광학 이성체(B)로 임의로 오염되지 않은 광학 이성체(A)를 수득할 수 있다. 따라서, 본 발명의 허용 온도 범위는 우선 결정화 방법에 비해 넓다.

본 발명의 방법에 따라, 에스테르 화합물(B')에 의해 광학 이성체(B)의 결정화가 억제된다. 광학 이성체(B)의 침전이 일어날 때, 광학 이성체(B)는 에스테르 화합물(B')와 함께 비결정질 형태로 침전한다. 광학 이성체(A)의 결정화는 그러한 침전과 외관상 구별된다.

동시에, 본 발명에 따른 광학 이성체(A)의 결정화를 에스테르 화합물(B')이 존재하지 않는다면 광학 이성체(B)가 침전하는 정도까지 광학 이성체(A)와 (B) 및 에스테르 화합물(B')을 함유하는 용액으로부터 수행할 수 있다. 광학 이성체(A)와 (B) 및 에스테르 화합물(B')의 용해도에 의존하여 그러한 정도에 도달하든가 그렇지 않으므로, 그러한 정도는 어떤 온도에서 도달하지 않더라도, 다른 온도에는 그러한 정도에 도달할 수 있고, 그 역도 가능하다.

하기에서, 광학 이성체(A)와 (B) 및 에스테르 화합물(B')을 함유하는 용액으로부터 광학 이성체(A)가 결정화되지만, 에스테르 화합물(B')이 존재하지 않으면 광학 이성체(B)가 침전하지만 에스테르 화합물(B')의 존재에 의해 광학 이성체(B)가 침전하지 않는 조건을, 온도와 시간의 변수를 이용함으로써 본 발명의 방법에 의해 도달되는 정도를 예시하는 도 1을 이용하여 설명한다. 이와 관련하여, 용액 중의 광학 이성체(A)의 초기 농도는 용액 중의 광학 이성체(B)의 농도보다 더 크고, 용액 중의 에스테르 화합물(B')의 양이 광학 이성체(B)의 결정화를 억제하기에 충분한 것으로 생각된다.

용액 (a)은 완전한 균일 용액이다. 용액 (a)을 냉각시키면, (b) 지점에서 이성체(A)가 결정화하기 시작한다. 용액을 더욱 냉각시키면, 이성체(B)가 과도한 용액에서 이성체(A)가 결정화하여 이성체(A)/이성체(B)의 몰비가 1/1인 (c) 지점에 도달한다.

이론적으로, 용액 (a)을 냉각시키는 동안, 즉, (b) 지점에서 (c) 지점까지 이성체(A)만이 결정화되는 것이 가능하다. 그러나, 일본 특허 공개 제 8-259552호에 기재된 방법에서, 결정화 후 모액 중의 이성체(A)/이성체(B)의 몰비가 약 1.3/1인 정도까지만 이성체(A)가 결정화된다. 이는 일반적인 결정화 기술의 지식에 따라, 용액 (a)을 (b) 지점에서 (c) 지점으로 냉각시키면, 광학 이성체(A)의 결정이 침전함에 따라 용액 중의 광학 이성체(B)/광학 이성체(A)의 몰비가 증가하고, 광학 이성체(B)의 용해도가 감소하기 때문이다. 따라서, 용액의 변동(즉, 용액의 온도 및 농도 등의 부분적인 불균일성)이 이성체(B)의 결정화에 영향을 끼친다.

(c) 지점에서 용액은 이성체(A)와 (B)를 등량으로 함유한다. 따라서, (c) 지점으로부터 용액을 냉각시키면, 광학 이성체(A)와 (B)는 그의 등을 혼합물의 형태로 결정화하는 것으로 생각되었다.

그럼에도 불구하고, 본 발명에서는, 에스테르 화합물(B')이 용액 중에 존재하므로 이성체(B)의 결정화는 그에 의해 억제된다. 따라서, (c) 지점으로부터 용액을 더욱 냉각시키더라도, 이성체(A)는 결정화되지만 이성체(B)는 결정화되지 않아, 이성체(A)의 수율을 증대시킬 수 있다.

(c) 지점을 통과한 후, 용액을 저온으로 더욱 냉각시키면, 용액은 최종적으로 전체 용액이 백탁되고, 이성체(A)가 결정화될 뿐만 아니라 이성체(B)와 에스테르 화합물(B')의 비결정질 형태가 또한 침전하는 (d) 지점에 도달한다. 따라서, 본 발명의 방법을 (d) 지점 보다 높은 온도에서 수행해야 한다.

(c) 지점을 통과한 후, 예를 들면, (e) 지점에 도달하도록 용액을 더욱 냉각시키고, 용액을 이 온도에서 일정 시간 유지시키면, 용액은 시간 t의 경과 후 전체 용액이 백탁되고 (d) 지점에서와 동일한 현상이 나타나는 (f) 지점에 도달한다. 즉, 에스테르 화합물(B')에 의해 침전이 억제되었던 이성체(B)가 에스테르 화합물(B')과 함께 비결정질 형태로 침전한다. 따라서, 본 발명의 방법에서 용액이 백탁되는 시간 t 이전에 광학 이성체(A)의 결정화 및 분리를 중지시켜야 할 필요가 있다.

상기 설명한 바와 같이, 본 발명의 방법의 목적이 되는 결정화 정도는 도 1에 나타낸 범위 본 발명의 방법에 의해 도달되는 범위 내에 있다. 이 범위는 다양한 인자, 예를 들면, 이성체(A)와 (B) 및 에스테르 화합물(B')의 종류와 비율 및 용매의 종류와 양에 따라 변한다. 따라서, 적합한 영역은 이들 인자에 따라 결정될 수 있다. 예를 들면, 도 1에 나타낸 바와 같은 용액 (a)에서 이성체(A)의 양이 이성체(B)의 양보다 더 적은 경우, 이성체(A)의 결정화의 개시점은 (d) 지점과 (c) 지점 사이의 임의의 위치에 있고, (d) 지점까지 이성체(A)를 순수 형태로 결정화시키고 분리할 수 있다.

결정성 이성체(A)의 분리를 따로이 봇기 및 여과와 같은 통상의 방법으로 수행할 수 있다. 결정화를 대규모로 수행하는 경우, 분리를 위해 장시간이 요구되지만, 소규모의 분리는 단시간 내에 완수될 수 있다. 실험실 규모의 분리의 경우, 심지어 순간적인 분리가 가능하다. 공업적 생산의 경우에서와 같이 분리에 장시간이 필요하다면, 결정화를 예를 들면, (e) 지점에서 중지시켜, 분리가 t 시점까지의 시간 길이내에 임의의 오염 없이 완결될 수 있도록 하는 것이 바람직하다.

본 발명의 방법에 따라, 예를 들면, 라세미형 트란스-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르, 및 이 메틸 에스테르의 (2S,3R)-이성체의 침전을 억제하기 위해 충분한 양의 (2S,3R)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 n-부틸 에스테르를 함유하는 용액으로부터 결정화를 수행하면, 결정화후 모액 중의 (2S,3R)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르의 농도가 (2R,3S)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르의 양의 2 배 이상이 될 때까지 (2R,3S)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르를 결정화시킬 수 있다. 더욱, 99% 이상의 광학 순도를 갖는 (2R,3S)-이성체의 결정을 또한 수득할 수 있다.

따라서, 본 발명에 따라, 모액 중의 이성체(A)의 양이 이성체(B)의 양과 동일할 때까지 광학 이성체(B)의 임의의 침전 없이 광학 이성체(A)의 결정화를 수행한 후, 모액 중의 이성체(A)의 양이 이성체(B)의 양보다 적어질 때까지 이성체(A)의 결정화를 지속할 수 있다.

일본 특허 공개 제 8-259552호에서는 라세미형 트란스-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르를 세라티아 마르세스(Serratia marcescens)로부터 유래된 에스테라제의 존재하에 비대칭적으로 에스테르 교환 반응시켜 7.8/8.8(약 88.6%)의 (2S,3R)-이성체를 n-부틸 에스테르로 전환시키고, 효소를 제거하고, 용매를 감압하에 종류 제거한 다음, 이소프로판올로부터 결정화를 수행함으로써, 99% 이상의 광학 순도를 갖는 (2R,3S)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르의 결정을 수득하는 것이 기술되어 있다.

그러나, 결정화 후 모액 중에 원하는 (2R,3S)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르의 양이 (2S,3R)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르의 양의 약 1.3 배 정도인 단계에서 결정화를 정지시킨다. 이는 원하지 않는 (2S,3R)-이성체의 결정화에 의한 오염을 피하기 위해 결정화를 정지시키는 것이 필요한 것으로 생각되었기 때문이다.

대조적으로, 본 발명에 따라, 결정화 후 모액 중에 원하는 (2R,3S)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르의 양이 원하지 않는 (2S,3R)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르의 약 1/20 될 때까지 결정화를 수행할 수 있다.

이성체(A)가 결정화되는 정도, 즉, 결정화를 지속하는 정도는 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)/에스테르 화합물(B')의 비, 결정화용 용매 및 결정화 온도 등에 따라 변한다. 그러나, 이성체(B)와 에스테르 화합물(B')의 비결정질 형태가 침전하기 시작하는 단계에서 결정화된 용액이 백탁되므로, 용액의 백탁의 외형을 모니터링함으로써 이성체(A)의 결정화의 종말점을 알 수 있다.

결정의 순도는 일반적으로 결정화되는 용액의 농도(또는 용매/광학 이성체의 양의 비), 광학 이성체(A)/광학 이성체(B)의 비율, 온도 및 수득된 결정의 양 등에 의해 영향을 받을 수 있다.

일반적으로 말하면, 이성체(A)와 (B)가 결정화되기 어렵고 광학 이성체(A)의 침전된 결정의 양이 적은 정도까지 결정화를 수행하면 광학 이성체(A)의 결정의 순도는 높아지는 경향이 있다. 예를 들면, 결정화 용액 중의 이성체(A)와 (B)의 농도가 낮으면, 이성체(A)/이성체(A)와 (B)의 비율이 높고, 결정화 온도가 높고, 광학 이성체(A)의 결정의 양이 적으며, 결정질 이성체(A)의 순도는 높다. 이와는 반대로, 농도가 낮으면 광학 이성체의 결정의 수율은 일반적으로 낮아지는 경향이 있다.

그러나, 본 발명에 따라, 에스테르 화합물(B')의 존재에 의해 광학 이성체(B)의 침전을 억제시키면, 99% 이상의 순도를 갖는 광학 이성체(A)를 높은 수율로 수득할 수 있다.

결정화 절차는 단지 에스테르 화합물(B')이 존재하지 않으면 광학 이성체(B)가 침전하지만 에스테르 화합물(B')의 존재에 의해 광학 이성체(B)가 침전하지 않는 정도까지 광학 이성체(A)와 (B) 및 에스테르 화합물(B')의 용액으로부터 광학 이성체(A)의 결정화를 수행하고, 이에 의해 광학 이성체(A)의 양이 결정화의 모액 중의 광학 이성체(B)의 양보다 더 적은 범위까지 결정화를 지속하는 것만을 포함하므로 매우 간단하다.

종래 결정화에서, 광학 이성체(A)의 결정은 광학 이성체(A)와 (B)를 함유하는 용액(AB)로부터 모액 중의 이성체(A)의 양이 이성체(B)의 양보다 더 큰 정도까지 결정화함으로써 수득된다. 그러한 결정화에서, 광학 이성체(B)의 임의의 결정화 없이 광학 이성체(A)를 높은 순도로 수득하기 위해 용매, 온도 및 농도를 각각 조심스럽게 선택하지만, 광학 이성체(A)의 수율이 어느 정도 희생될 수밖에 없었다.

그러나, 본 발명의 방법에 따라, 결정화 용액 중에 에스테르 화합물(B')이 존재하지 않는 종래의 결정화에서 광학 이성체(A)와 (B)가 모두 결정화되는 정도까지더라도 이성체(B)의 침전을 일으키지 않으면서 광학 이성체(A)를 결정화시킬 수 있다.

결정화시키기 위한 용액(ABB')과 용액(AA'BB')의 제조 방법을 하기에 설명한다.

에스테르 화합물(A')은 이성체(A)의 수율을 저하시키는 작용을 할 수 있으므로, 결정화에 사용할 용액에 에스테르 화합물(A')을 함유시키지 않는 것이 바람직하다. 에스테르 화합물(A')은 일부 경우에 용액의 제조에서 그러한 오염이 불가피할 수 있더라도 용액에 적극적으로 첨가되는 성분이 아니므로, 용액(AB B')이 용액(AA'BB') 보다 더 바람직하다.

예를 들면, 광학 이성체(A)와 (B)를 함유하는 용액(AB)에 에스테르 화합물(B')을 첨가함으로써, 또는 입체 선택적 에스테르 교환능이 있는 효소의 존재하에 알코올(R^3 -OH(여기에서, R^3 은 치환되어도 좋은 직쇄 또는 분자쇄 알킬기, 치환되어도 좋은 알콕시알킬기 또는 치환되어도 좋은 아릴알킬기이다))을 사용함으로써 용액(AB) 중의 광학 이성체(B)를 에스테르 화합물(B')로 에스테르 교환시킴으로써 용액(ABB')을 제조할 수 있다.

효소적 에스테르 교환 반응의 경우, 효소의 입체선택성이 100%일 때에만 용액(ABB')이 수득되고, 100% 미만의 입체선택성을 갖는 효소는 용액(AA'BB')을 생산할 수 있다. 따라서, 우수한 입체선택성을 갖는 효소를 사용하는 것이 바람직하다.

용액(AB)은 일반적으로 화학 합성법에 의해 수득되며, 이는 비대칭 합성법의 경우를 제외하고는 그의 생성물이 광학 이성체의 등을 혼합물이기 때문이다.

에스테르 화합물(B')은 본 발명에 따라 광학 이성체(A)를 결정화시키고 분리시킨 후 모액 중에 높은 농도로 잔존하며, 필요한 경우 그로부터 취할 수 있다. 또한 에스테르 화합물(A')과 (B')의 혼합물 중의 에스테르 화합물(A')을 효소적으로 및 선택적으로 가수분해시킴으로써 에스테르 화합물(B')을 수득할 수 있다.

용액(ABB')을 제조하는 경우, 일반적으로 용액(AB)에 에스테르 화합물(B')을 첨가하여, 이성체(A)는 결정화되지만, 에스테르 화합물(B')의 존재에 의해 이성체(B)는 결정화되지 않는 조건을 만족시키는 용액(ABB')을 제조한다.

에스테르 화합물(B')을 첨가한 용액(AB)은 광학 이성체(A)와 (B)의 등을 혼합물의 용액으로 제한되지 않고, 이성체(A)와 (B)를 상이한 양으로 함유하는 용액일 수 있다. 예를 들면, 그러한 용액(AB)을 예를 들면, 일본 특허 공개 제 61-268663호, 제 2-17170호 및 제 2-17169호 및 국제 출원 공개 제 89/02428호 및 제 89/10350호에 개시된 바와 같은 비대칭 합성법에 의해 제조할 수 있다.

이성체(A)와 (B)를 상이한 양으로 함유하는 용액(AB)은 또한 일본 특허 공개 제 2-109995호 및 제 3-15398호 및 일본 특허 공표 제 4-501360호에 기재된 바와 같이 라세미형 용액을 효소적으로 및 비대칭적으로 가수분해시킴으로써 제조되거나, 예를 들면, 일본 특허 공개 제 61-145174호 및 제 2-231480호에 개시된 바와 같이 라세미형 용액을 화학적으로 광학 분할시킴으로써 제조된 용액일 수 있다.

상기 언급한 바와 같이, 본 발명의 방법을 공지된 방법, 예를 들면, 비대칭 합성법, 화학적 또는 효소적 광학 분할법 등의 조합으로 실시할 수 있다. 이러한 경우, 공지된 방법에서의 비대칭 유도, 또는 광학 분할법의 속도가 불충분하더라도, 그러한 불충분한 방법을 본 발명의 방법과 혼용함으로써 높은 순도를 갖는 광학 이성체(A)를 높은 수율로 회수할 수 있다.

또한, 용액(AB)에 에스테르 화합물(B')을 첨가하는 대신 용액(AB)을 효소적 에스테르 교환 반응시킴으로써 제조한 용액에 본 발명의 방법을 적용할 수 있다. 예를 들면, n-부탄올을 사용하여 라세미형 트란스-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르를 효소적 비대칭 에스테르 교환 반응시킴으로써 (2S,3R)-이성체를 전환시켜 (2R,3S)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르를 수득하는, 일본 특허 공개 제 4-228095, 제 6-78790호 및 제 8-259552호에 개시된 방법에서 수득한 용액(ABB')에 본 발명의 방법을 적용할 수 있다.

본 발명의 방법의 다양한 적용 및 변경이 가능하다. 예를 들면,

(a) 에스테르 화합물(I)의 어느 하나의 광학 이성체(A)와 다른 하나의 광학 이성체(B)(이들은 둘 모두 2- 및 3-위치의 비대칭 탄소로 인하여 광학 이성체이다), 및 에스테르 잔기 R^1 만이 이성체(B)와 상이한 에스테르 화합물(B')의 용액을 제조하는 단계;

(b) 에스테르 화합물(B')이 존재하지 않으면 광학 이성체(B)가 침전하지만 에스테르 화합물(B')의 존재로 인해 광학 이성체(B)의 침전을 일으키지 않으면서 광학 이성체(A)가 결정화되는 정도까지 상기 용액으로

부터 광학 이성체(A)를 결정화시키는 단계;

(c) 광학 이성체(A)의 결정을 분리하는 단계;

(d) 생성된 모액에 잔류하는 광학 이성체(A)와 (B)를 함께 함유된 에스테르 화합물(B')을 화학적으로 에스테르 교환 반응시켜, 에스테르 화합물(B')을 광학 이성체(B)로 전환시킨 다음, 이성체(B)를 결정화하고 분리하는 단계;

(e) 라세미형 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)와 에스테르 화합물(B')을 상기 생성된 모액에 첨가하여 단계 (b)의 결정화를 수행하기 위한 용액을 제공하는 단계; 및

(f) 상기 언급한 단계 (b), (c), (d) 및 (e)를 이 순서로 반복하는 단계를 포함하는 재순환 방법에 의해 광학 이성체(A)와 (B)를 높은 순도로 수득할 수 있다.

상기 재순환 방법에서, 단계 (d)에서의 화학적 에스테르 교환의 반응 혼합물 중 이성체(B)의 농도가 이성체(A)의 농도보다 크고, 따라서, 종래의 결정화 및 분리를 수행함으로써 이성체(B)만을 수득할 수 있다.

단계 (d)에서 이성체(B)를 결정화시키기 전에 에스테르 화합물(A')을 화학적 에스테르 교환의 반응 혼합물에 첨가하면, 이성체(A)의 결정화에 대한 에스테르 화합물(A')의 억제 효과에 의해 이성체(B)를 더 효율적으로 결정화시킬 수 있다. 단계 (d)에서 에스테르 화합물(A')을 첨가하는 경우, 생성된 모액 중에 함유된 그러한 에스테르 화합물(A')은 단계 (e)에서 이성체(A)로 화학적 에스테르 교환된다.

단계 (d)에서 첨가된 에스테르 화합물(A')의 양은 단계 (a)에서 용액 중에 함유된 에스테르 화합물(B')의 양에 상응하는 것이 바람직하다. 에스테르 화합물(A')의 양은 이성체(A)와 (B) 및 에스테르 화합물(A')의 에스테르 잔기, 및 결정화에 사용된 용매에 따라 다양하지만, 일반적으로 에스테르 화합물(A')의 양은 에스테르 화합물(A')/이성체(A)의 몰비가 약 5/3 내지 약 10/10이 되도록 조정될 수 있다.

단계 (c)에서 수득한 모액에 유기 아민과 수득할 광학 이성체의 에스테르 잔기에 대응하는 알코올을 첨가하고, 에스테르 교환 반응을 수행한 다음, 유기 아민과 알코올을 종류 제거함으로써, 상기 재순환 방법에 사용된 화학적 에스테르 교환 반응을 수행한다. 에스테르 화합물(A')의 화학적 에스테르 교환을 동일한 방식으로 수행한다.

화학적 에스테르 교환에 사용된 알코올의 양은 바람직하게는 에스테르 교환시킬 에스테르 1 몰당 1 내지 1,000 몰, 특히 2 내지 10 몰일 수 있다. 이성체(A)와 (B)의 재순환의 관점에서, 화학적 에스테르 교환을 위해 바람직하게 저비점의 알코올, 예를 들면, 메탄올 또는 에탄올을 사용할 수 있다.

화학적 에스테르 교환에 사용된 아민의 예는 예를 들면, 모노알킬아민(예: 메틸아민, 에틸아민, 프로필아민, 부틸아민); 디알킬아민(예: 디메틸아민, 디에틸아민, 디프로필아민, 디이소프로필아민); 트리알킬아민(예: 트리메틸아민, 트리에틸아민); 시클릭 아민(예: 모르폴린); 및 방향족 아민(예: 피리딘)이다. 저비점의 디알킬아민, 예를 들면, 디메틸아민, 디프로필아민 또는 디이소프로필아민을 사용하는 것이 특히 바람직하다. 유기 아민은 바람직하게 에스테르 교환시킬 에스테르 1 몰당 0.01 내지 1,000 몰, 특히 0.1 내지 10 몰의 양으로 사용된다.

상기 재순환 방법을 수행할 때, 1 사이클에서 이성체(A)와 (B)를 모두 높은 순도로 수득할 수 있다. 화학적 에스테르 교환 후 유기 아민과 알코올을 충분히 종류 제거할 수 있으면, 상기 방법을 실제적으로 무한히 수행할 수 있으므로, 비대칭 화학 반응을 수행하지 않으면서 상기 방법을 재순환시키기만함으로써 높은 순도의 이성체(A)와 (B)를 효율적으로 수득할 수 있다.

더욱, 결정화 용액의 변동(용액 온도, 농도 등의 부분적 불균일성)에 의한 반대 이성체의 혼입으로 인한 광학 순도의 감소를 억제할 수 있고, 1 사이클에서 수득된 광학 이성체의 양은 많다. 따라서, 상기 재순환 방법은 공업상 유리하다.

에스테르 교환 방법에 의해 광학 이성체(A)와 (B), 및 에스테르 화합물(B')을 함유하는 용액을 제조한 다음, 본 발명의 방법을 적용하는 방법을 하기 설명한다.

다량의 이성체(A)와 소량의 이성체(B)를 이성체(B)의 결정화를 억제하는 에스테르 화합물(B')과 함께 함유하는 용액을 단일 반응 단계로 수득할 수 있으므로, 광학 이성체(A)와 (B)의 용액 중의 이성체(B)를 에스테르 화합물(B')으로 효소적으로 에스테르 교환시킴으로써, 광학 이성체(A)의 결정화를 위해 사용할 용액을 제조하는 것이 바람직하다.

본 발명의 방법에서, 에스테르 교환으로부터 생성된 반응 혼합물 중의 이성체(A)/이성체(B)의 비는 가능한 큰 것이 바람직하다. 즉, 에스테르 화합물(B')을 반응 혼합물 중에 풍부하게 하는 것이 바람직하다. 이러한 경우, 용액 중의 이성체(B)의 양을 감소시키기 위해, 예를 들면, 효소와 에스테르 교환을 위해 사용된 알코올의 양을 증가시키고, 장시간 동안 반으로 수행하는 것이 필요하다. 그러나, 그러한 절차는 비용을 증가시키고, 부반응을 일으킨다.

본 발명의 방법에 따라, 종래의 방법과는 달리 에스테르 교환 정도가 낮더라도, 생성된 용액을 광학 분할을 위해 성공적으로 사용할 수 있다. 이는 에스테르 화합물(B')이 이성체(B)의 침전을 억제하기 때문이다. 이성체(A)/이성체(B)의 몰비가 4/6 내지 10/10이고 에스테르 화합물(B')/이성체(B)의 몰비가 5/3 내지 10/1인 한, 높은 순도의 이성체(A)를 높은 수율로 수득할 수 있다. 이성체(A)/이성체(B)의 몰비가 3/1 내지 4/1이고, 에스테르 화합물(B')/이성체(B)의 몰비가 2/1 내지 7.8/1인 것이 특히 바람직하다.

상기 에스테르 교환에 사용된 알코올은 상기 언급한 에스테르 화합물(B')의 에스테르 잔기에 상응하는 것이다.

트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)를 입체 선택적으로 에스테르 교환시키는 능력을 갖는 임의의 효소를 에스테르 교환반응에 사용할 수 있다.

트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)의 (2S,3R)-이성체를 선택적으로 에스테르 교환시킬 수 있는 그러

한 효소는 예를 들면, 세라티아(*Serratia*)속, 칸디다(*Candida*)속, 무코르(*Mucor*)속, 슈도모나스(*Pseudomonas*)속, 아스페길루스(*Aspergillus*)속, 알카리제네스(*Alcaligenes*)속, 암시디아(*Absidia*)속, 푸사리움(*Fusarium*)속, 기베렐라(*Gibberella*)속, 뉴로스포라(*Neurospora*)속, 트리코더마(*Trichoderma*)속, 리조푸스(*Rhizopus*)속, 아크로모박터(*Achromobacter*)속, 바실루스(*Bacillus*)속, 브레비박테리움(*Brevibacterium*)속, 코리네박테리움(*Corynebacterium*)속, 프로비덴시아(*Providencia*)속, 사카로마이코시스(*Saccharomyces*)속, 노카르디아(*Nocardia*)속 및 아르쓰로박터(*Arthrobacter*)속에 속하는 미생물로부터 유래된 에스테라제, α -키모트립신, 돼지 간 에스테라제, 돼지 췌장 에스테라제 등을 포함한다.

상기 언급한 효소의 구체적인 예는 예를 들면, 암시디아 코리비페라(*Absidia corymbifera*) IFO 4009 및 IFO 4010, 아스페길루스 오크라세우스(*Aspergillus ochraceus*) IFO 4346, 아스페길루스 테레우스(*Aspergillus terreus*) IFO 6123, 푸사리움 옥시스포룸(*Fusarium oxysporum*) IFO 5942, 푸사리움 옥시스포룸 ATCC 659, 푸사리움 솔라니(*Fusarium solani*) IFO 5232, 기베렐라 후지쿠로이(*Gibberella fujikuroi*) IFO 5368, 무코르 앵글리마크로스포루스(*Mucor angulimacrosporus*) IAM 6149, 무코르 시르시넬로이데스(*Mucor circinelloides*) IFO 6746, 무코르 플라부스(*Mucor flavus*) IAM 6143, 무코르 프라질리스(*Mucor fragilis*) IFO 6449, 무코르 제네벤시스(*Mucor genevensis*) IAM 6091, 무코르 글로보수스(*Mucor globosus*) IFO 6745, 무코르 잔세니(*Mucor janssenii*) IFO 5398, 무코르 자바니쿠스(*Mucor javanicus*) IFO 4569, IFO 4570, IFO 4572 및 IFO 5382, 무코르 람프로스포루스(*Mucor lamprosporus*) IFO 6337, 무코르 페트린술라리스(*Mucor petrinularis*) IFO 6751, 무코르 플룸베우스(*Mucor plumbeus*) IAM 6117, 무코르 프라이니(*Mucor praini*) IAM 6120, 무코르 푸실루스(*Mucor pusillus*) IAM 6122, 무코르 라세모수스(*Mucor racemosus*) IFO 4581, 무코르 라만니아누스(*Mucor ramannianus*) IAM 6128, 무코르 레쿠르부스(*Mucor recurvus*) IAM 6129, 무코르 실바티쿠스(*Mucor silvaticus*) IFO 6753, 무코르 스피네스(*Mucor spinescens*) IAM 6071, 무코르 섭틸리시무스(*Mucor subtilissimus*) IFO 6338, 뉴로스포라 크라사(*Neurospora crassa*) IFO 6068, 리조푸스 아리주스(*Rhizopus arrhizus*) IFO 5780, 리조푸스 델레마르(*Rhizopus delemar*) ATCC 34612, 리조푸스 자포니쿠스(*Rhizopus japonicus*) IFO 4758, 트리코더마 비리데(*Trichoderma viride*) IFO 4847, 아크로모박터 시클로클라스테스(*Achromobacter cycloclastes*) IAM 1013, 바실루스 스파리쿠스(*Bacillus sphaericus*) IFO 3525, 브레비박테리움 케토글루타미쿰(*Brevibacterium ketoglutamicum*) ATCC 15588, 코리네박테리움 알카놀리티쿰(*Corynebacterium alkanolyticum*) ATCC 21511, 코리네박테리움 히드로카르보클라스툼(*Corynebacterium hydrocarboplastum*) ATCC 15592, 코리네박테리움 프리모리옥시단스(*Corynebacterium primorioxydans*) ATCC 31015, 프로비덴시아 알칼리파시엔스(*Providencia alcalifaciens*) JCM 1673, 슈도모나스 무타빌리스(*Pseudomonas mutabilis*) ATCC 31014, 슈도모나스 푸티다(*Pseudomonas putida*) ATCC 17426, ATCC 17453 및 ATCC 33015, 세라티아 리퀴에파시엔스(*Serratia liquefaciens*) ATCC 27592, 세라티아 마르세슘 ATCC 13880, ATCC 14764, ATCC 19180, ATCC 21074, ATCC 27117 및 ATCC 21212, 세라티아 마르세슘 Sr41 FERM BP-487, 칸디다 파라실로시스(*Candida parapsilosis*) IFO 0585, 사카로마이코시스 리폴리티카(*Saccharomyces lipolytica*) IFO 0717, IFO 0746, IFO 1195, IFO 1209 및 IFO 1548, 노카르디아 아스테로이데스(*Nocardia asteroides*) IFO 3384, IFO 3424 및 IFO 3423, 노카르디아 가드네리(*Nocardia gardneri*) ATCC 9604, 아르쓰로박터 우레아파시엔스 노브. 변종(*Arthrobacter ureafaciens* nov. var.), 아르쓰로박터 글로비포르미스(*Arthrobacter globiformis*) 및 칸디다 실린드라세아(*Candida cylindracea*)로부터 유래된 에스테라제이다.

상업적으로 이용가능한 효소, 예를 들면, 알칼리성 리파제(아크로모박터 유래, Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), 리파제 B(슈도모나스 프라지(*Pseudomonas fragi*) 22-39B, Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), 리파제 M 아마노(AMANO) 10(무코르 자바니쿰 유래, Amano Seiyaku Kabushiki Kaisha), 리파제 타입 XI(리조푸스 아리주스 유래, Sigma Chemical Co., Ltd.), 탈리파제(리조푸스 델라마르(*Rhizopus delemar*) 유래, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.), 리파제 NK-116(리조푸스 자포니쿠스 유래, Nagase Sangyo Kabushiki Kaisha), 리파제 N(리조푸스 니베우스 유래, Amano Seiyaku Kabushiki Kaisha), 리파제 SP 435 535(칸디다 안타르티카(*Candida antarctica*) 유래, Novo), 알칼라제(바실루스 리체니포르미스(*Bacillus licheniformis*) 유래, Novo), 리파제 타입 VII(칸디다 실린드라세아(*Candida cylindracea*) 유래, Sigma Chemical Co., Ltd.), 리파제(돼지 췌장 유래, Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), 에스테라제(돼지 간 유래, Sigma Chemical Co., Ltd.), 콜레스테롤 에스테라제(칸디다 루고사(*Candida rugosa*) 유래, Nagase Sangyo Kabushiki Kaisha), 리파제 OF(칸디다 실린드라세아 유래, Meito Sangyo Kabushiki Kaisha), 리파제 AL(아크로모박터 종(*Achromobacter sp.*) 유래, Meito Sangyo Kabushiki Kaisha), 리파제 PL(알칼리제네스 종(*Alkaligenes sp.*) 유래, Meito Sangyo Kabushiki Kaisha) 및 리파제 PL(알칼리제네스 종 유래, Meito Sangyo Kabushiki Kaisha)가 또한 유용하다.

이들 효소 중에, 세라티아속, 칸디다속, 알칼리제네스속 및 아크로모박터속에 속한 미생물로부터 유래된 에스테라제가 바람직하고, 특히 세라티아 마르세슘 및 칸디다 실린드라세아와 같은 미생물로부터 유래된 에스테르제가 바람직하다.

반면, 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)의 (2R,3S)-이성체를 선택적으로 에스테르 교환시킬 수 있는 효소는 예를 들면, 마이크로코커스(*Micrococcus*)속, 아그로박테리움(*Agrobacterium*)속, 마이크로박테리움(*Microbacterium*)속, 리조븀(*Rhizobium*)속, 시트로박터(*Citrobacter*)속, 데바리오마이시스(*Debaryomyces*)속, 한세니아스포라(*Hanseniaspora*)속, 한세눌라(*Hansenula*)속, 피치아(*Pichia*)속, 로도스포리듐(*Rhodosporidium*)속, 쇠조사카로마이시스(*Schizosaccharomyces*)속, 스포로볼로마이시스(*Sporobolomyces*)속, 클로에케라(*Kloeckera*)속, 토룰라스포라(*Torulopsispora*)속 및 스트렙토마이시스(*Streptomyces*)속 등에 속한 미생물로부터 유래된 에스테라제를 포함한다.

(2R,3S)-이성체를 선택적으로 에스테르 교환반응시킬 수 있는 그러한 미생물 효소의 구체적인 예는 예를 들면, 마이크로코커스 우레아(*Micrococcus ureae*) IAM 1010 (FERM BP-2996), 아그로박테리움 라디오박터(*Agrobacterium radiobacter*) IAM 1526 및 IFO 13259, 마이크로박테리움 종(*Microbacterium sp.*) ATCC 21376, 리조븀 멜리오티(*Rhizobium meliloti*) IFO 13336, 시트로박터 프로인디(*Citrobacter freundii*) ATCC 8090, 데바리오마이시스 한센니이 변종 파브리(*Debaryomyces hansenii* var. *fabryi*) IFO 0015, 데바리오마이시스 네팔렌시스(*Debaryomyces nepalensis*) IFO 0039, 한세니아스포라 발바이엔스(*Hanseniaspora valbyens*) IFO 0115, 한세눌라 폴리모르파(*Hansenula polymorpha*) IFO 1024, 한세눌라 사투르누스

(*Hansenula saturnus*) HUT 7087, 피치아 파리노사(*Pichia farinosa*) IFO 0607, 피치아 파스토리스(*Pichia pastoris*) IFO 0948, IFO 1013 및 IAM 12267, 피치아 위케르하미(*Pichia wickerhamii*) IFO 1278, 로도스 포리듐 토룰로이데스(*Rhodosporium toruloides*) IFO 0559, 쉬조사카로마이시스 품베(*Schizosaccharomyces pombe*) IFO 0358, 스포로볼로마이시스 그라실리스(*Sporobolomyces gracilis*) IFO 1033, 클로에케라 코르티시스(*Kloeckera corticis*) IFO 0633, 토룰라스포라 멜브루에키(*Torulaspora delbrueckii*) IFO 0422, 스트렙토마이시스 그리세우스 아종 그리세우스(*Streptomyces griseus* subsp. *griseus*) IFO 3430 및 IFO 3355, 및 스트렙토마이시스 라벤둘래 아종 라벤둘래(*Streptomyces lavendulae* subsp. *lavendulae*) IFO 3361, IFO 3415 및 IFO 3146로부터 유래된 에스테라제이다.

본 발명에 사용한 효소는 상업적으로 이용 가능한 효소이거나, 미생물 세포의 배양액으로부터 수득한 효소일 수 있다. 또한, 효소는 야생주 또는 돌연변이주로부터 수득한 효소이거나, 유전자 재조합 또는 세포융합과 같은 생물공학 기술에 의해 수득한 미생물로부터 수득한 효소일 수 있다.

상기 언급한 바와 같은 미생물 효소를 종래의 방식, 예를 들면, 통상의 탄소원, 질소원 및 무기염을 함유하는 배지내에서 실온 또는 승온에서 호기 조건하에 5 내지 8의 pH에서 미생물을 배양하고, 배양액으로부터 원심분리 또는 여과와 같은 종래의 방식으로 세포를 제거하고, 수지 흡착제를 사용하여 임의로 불순물을 더욱 제거함으로써 수득할 수 있다. 미생물의 배양액을 효소로서 직접 사용할 수 있다.

이렇게 수득한 용액을 효소로서 직접 사용할 수 있거나 동결건조시킬 수 있다. 또한, 효소를 폴리아크릴아미드법, 황 험유 폴리사카라이드 겔법(예를 들면, 카라기이닌 겔법), 한천 겔법, 광가교결합성 수지법, 폴리에틸렌 글리콜법, 셀라이트법 또는 막흡착법과 같은 공지된 방법에 의해 고정시킬 수 있다. 고정된 효소를 칼럼에 충진시키고 에스테르 교환 반응에 사용할 수 있다.

한편, 높은 E-값을 갖는 효소는 높은 입체선택성을 갖는다. 그러한 효소를 사용하여, 광학 이성체(A)를 에스테르 화합물(A')로 소량으로 에스테르 교환시키는 한편, 광학 이성체(B)를 에스테르 화합물(B')로 대량으로 에스테르 교환시킨다. 원하는 이성체(A)의 침전을 억제하는 에스테르 화합물(A')의 양을 감소시켜 결정화되는 이성체(A)의 양을 증가시켜야 하는 한편, 이성체(B)의 침전은 에스테르 화합물(B')에 의해 억제되므로, 상기 언급한 바와 같은 효소 중에서 높은 E-값을 갖는 효소가 바람직하다.

E-값은 효소의 입체선택성을 나타내기 위한 일반적인 지표 중 하나이고, 단위 농도당 각각의 입체이성체에 대한 효소 반응 속도비(예를 들면, (2R,3S)-이성체의 에스테르 교환 속도/(2S,3R)-이성체의 에스테르 교환 속도의 비)이다.

일반적으로, 반응을 큰 정도로 진행시키는 경우, E-값은 효소의 불활성화, 부반응 및 측정 오차 등에 의해 크게 영향을 받는다. 따라서, 본원에서 E-값은 부반응, 가역 반응 및 측정 오차가 경미한 범위인 전환율이 10%일 때(트란스-dI-형태의 10%가 에스테르 교환된 시점) 측정한 값이다.

E-값은 하기 식에 의해 표현되고, 각각의 효소에 대한 특유의 값이다.

$$E = \frac{\ln[(1-c)(1-ee(\text{광학 이성체 } A))]}{\ln[(1-c)(1+ee(\text{광학 이성체 } A))]}$$

상기 식에서,

$$C = \frac{\text{에스테르 } A' \text{의 양} + \text{에스테르 } B' \text{의 양}}{\text{이성체 } A \text{의 양} + \text{이성체 } B \text{의 양} + \text{에스테르 } A' \text{의 양} + \text{에스테르 } B' \text{의 양}} \text{이고,}$$

$$ee(\text{광학 이성체 } A) = \frac{\text{이성체 } A \text{의 양} - \text{에스테르 } A' \text{의 양}}{\text{이성체 } A \text{의 양} + \text{에스테르 } A' \text{의 양}} \text{이다.}$$

따라서, E-값과 에스테르 교환 전환율이 결정되면, 효소의 종류와 무관하게 에스테르 교환 반응 후의 광학 이성체의 비율을 결정할 수 있고, 그로부터 수득된 결정의 광학 순도와 수율을 예측할 수 있다.

본 발명에 따라 결정화에 사용할 용액의 제조를 위해 바람직한 E-값은 20 이상이고, 특히 50 이상이다. 상기 언급한 바와 같은 바람직한 E-값을 갖는 효소를 실험적으로 적합하게 선택할 수 있다.

효소의 사용량은 사용된 효소의 종류 및 사용 형태 등에 따라 변한다. 그러나, 이성체(B) 1g당 1×10 내지 1×10^5 U, 특히 1×10^2 내지 1×10^4 U의 올리브유 가수분해 활성을 갖는 양으로 효소를 사용하는 것이 바람직하다.

올리브유 가수분해 활성을 문헌[이야쿠힌 켄쿄(Iyakuhin Kenkyu), vol. 11, No. 3, 505-506 (1980)]에 기록된 지방 소화력 시험법에 따라 에스테라제에 의해 올리브유 내의 에스테르 결합을 절단시킴으로써 생성된 지방산의 양을 측정함으로써 평가한다.

에스테르 교환 반응을 적절한 용매 중에서 또는 용매의 부재하에 수행할 수 있다. 용매의 예는 벤젠, 틀루엔 또는 크실렌과 같은 방향족 유기 용매; 클로로벤젠 또는 디클로로벤젠과 같은 할로겐화 방향족 유기 용매; 헥산, 헬탄 또는 시클로헥산과 같은 지방족 유기 용매; 디클로로메탄, 클로로포름, 사염화탄소 또는 트리클로로에탄과 같은 할로겐화 지방족 유기 용매; 아세톤, 메틸 에틸 케톤 또는 메틸 이소부틸 케톤과 같은 케톤 용매; 디메틸 에테르, 디에틸 에테르, 디이소프로필 에테르, 3급-부틸 메틸 에테르, 테트라히드로푸란 또는 1,4-디옥산과 같은 에테르 용매; 및 에틸 아세테이트 또는 부틸 아세테이트와 같은 에스

테르 용매 등이다.

특히, 톨루엔, 크실렌, 헥산, 사염화탄소, 3급-부틸 메틸 에테르 및 디이소프로필 에테르를 사용하면 효소의 탈활성화가 적고 반응이 높은 속도로 진행하므로 바람직하다.

반응 속도가 높고, 에스테르 교환 반응용 설비를 소형화할 수 있으므로 기질, 즉, 이성체(A)와 (B)의 농도는 바람직하게는 약 0.02 내지 약 3몰/ℓ, 특히 약 0.02 내지 약 2몰/ℓ이다. 에스테르 교환을 위한 알코올의 양은 바람직하게는 이성체(B) 1몰당 0.6 내지 10몰, 특히 0.8 내지 5몰이어서, 효소가 탈활성화되는 것을 억제할 수 있고, 반응 속도를 증진시킬 수 있다.

반응계에 수분이 훈입되면, 에스테르 교환 반응과 동시에 가수분해 반응을 일으켜, 수득된 용액을 본 발명의 방법에 적용할 때 수율이 감소된다. 따라서, 에스테르 교환반응 활성을 나타내기 위해 효소에 필요한 양을 초과하는 여분의 물의 존재를 가능한 한 피하면서 반응을 수행하는 것이 바람직하다. 더욱, 가수분해 생성물은 일부 용매에 불용성이고, 이는 그러한 부산물의 오염에 의한 원하는 생성물의 순도를 감소시킨다.

에스테르 교환 반응을 실온 또는 승온, 바람직하게는 10 내지 50°C, 특히 20 내지 40°C의 온도에서 수행한다.

에스테르 교환 반응에서 전환율을 효소의 입체선택성, 광학 이성체(A)의 수율 등에 따라 적합하게 선택할 수 있다. 그러한 전환율을, 기질, 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I), 및 에스테르 화합물(B')의 에스테르 잔기에 따라 효소 활성, 반응 온도 및 반응 시간 등을 변화시킴으로써 자유롭게 조정할 수 있다.

종래의 방법에 의해 높은 순도의 광학 이성체(A)를 높은 수율로 수득하기 위해, 일반적으로 에스테르 교환 반응에서 전환율을 높이고, 매우 높은 선택성을 갖는 효소를 사용하는 것이 필요하다.

그러나, 전환율을 높이기 위해 반응을 큰 정도로 진행시킨 단계에서, 반응 혼합물 중에 소량으로 잔류하는 이성체(B)를 추가로 에스테르 교환 반응시켜야 한다. 따라서, 고가의 효소가 다량 필요하고, 장시간의 반응 중에 효소가 쉽게 불활성화되며, 불안정한 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)가 장시간의 반응 중에 분해되기 쉽고, 효소의 불충분한 선택성으로 인한 일부 이성체(A)의 효소적 에스테르 교환을 피할 수 없는 사실을 고려하면, 전환율을 고도로 높이는 것은 공업상 불가능하다.

예를 들면, 일본 특히 공개 제 8-259552호에서는 세라티아 마르세스에서 유래된 에스테라제를 사용하는 라세미형 트란스-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르의 비대칭적 에스테르 교환 반응을 수행하여, 라세미형 메틸 에스테르의 (2S,3R)-이성체를, (2S,3R)-부틸 에스테르/(2S,3R)-메틸 에스테르의 몰비가 7.8/10이 될 [(2S,3R)-메틸 에스테르는 10.8g이고, (2S,3R)-n-부틸 에스테르는 101.85g이다] 때까지 (2S,3R)-n-부틸 에스테르로 전환시키는 것을 개시하고 있다.

그러나, 이러한 에스테르 교환 반응을 먼저 기질 1몰당 5×10^5 U의 에스테라제를 사용하여 24시간 동안 반응을 수행하고, 반응 혼합물의 부피가 1/30이 될 때까지 용매를 증류 제거한 후, 5×10^5 U의 에스테라제를 첨가하고 16시간 동안 더욱 반응을 수행하는 방식으로 수행한다. 반응 시간이 너무 길고, 절차가 너무 복잡하며 고가의 효소의 사용양이 너무 많으므로, 그러한 절차를 실질적으로 공업 생산에 적용할 수 없다.

대조적으로, 본 발명에 따라, 에스테르 교환의 전환율을 높은 수준으로 상승시키지 않더라도 높은 순도의 광학 이성체(A)를 높은 수율로 수득할 수 있다.

예를 들면, (2S,3R)-이성체의 단지 70%를 n-부틸 에스테르로 전환시키는(에스테르 화합물(B')/광학 이성체(B)=7/3), 세라티아 마르세스 Sr41 FERM BP-487로부터 유래된 에스테라제를 사용하는 라세미형 트란스-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르의 에스테르 교환반응에 의해(1×10^5 U, 24 시간), 수득된 반응 혼합물로부터 99% 이상의 순도를 갖는 (2S,3R)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르를 80% 이상의 수율로 수득할 수 있다.

일부 용매에 대한 기질의 용해도가 낮으므로, 에스테르 교환 동안 반응 혼합물 중에 기질의 결정이 잔류하는 실시태양이 본 발명에 포함된다.

이러한 경우, 원하는 이성체를 가용성 에스테르 화합물로 전환시키는 에스테르 교환 반응 후;

효소와 결정 형태의 원하는 이성체의 혼합물을 여과하고, 원하는 이성체에 훈입된 효소를 제거하는 한편, 여액을 냉각시키고, 생성된 결정을 여과에 의해 수득하거나,

반응 혼합물을 직접 냉각시키고, 효소와 결정 형태의 원하는 이성체의 혼합물을 여과하고 그로부터 효소를 제거함으로써, 반응 혼합물로부터 원하는 생성물을 수득할 수 있다.

또한, 반응을 정상 절차로 수행하면 에스테르 교환 동안 결정이 침전하지 않지만, 반응 과정 중에 용매를 적극적으로 증류 제거함에 의해 결정이 침전하는 실시태양이 본 발명에 포함된다. 용매의 증류에 의해 침전되는 결정의 분리를, 상기와 동일한 방식으로 수행할 수 있다. 용매의 대부분을 증류 제거하고 반응 혼합물에 다른 용매를 침가하는 경우, 결정의 분리를 또한 상기 언급한 바와 동일한 방식으로 수행할 수 있다.

그러한 경우에, 에스테르 교환으로부터 생성된 알코올을 용매의 증류와 동시에 반응계 외부로 제거할 수 있고, 따라서, 후속의 에스테르 교환이 쉽게 진행한다.

상기 언급한 바와 같이, 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)의 광학 이성체(A)를 공업 규모로 바람직하게 제조하는 점에서 본 발명의 방법이 유리하다. 이는 단독으로는 공업적으로 부적당한 것으로 생각되는 결정법과 에스테르 교환법을 조합시킴으로써, 라세미아트의 에스테르 교환 반응의 전환율이 낮은 단계에서 효소 반응을 정지시키더라도 높은 순도의 이성체(A)를 높은 수율로 수득할 수 있기 때문이다.

상기 설명은 에스테르 화합물(B')이 존재하지 않으면 광학 이성체(B)가 침전하지만, 에스테르 화합물(B')의 존재로 인해 이성체(B)가 결정화하지 않는 정도까지 이성체(A)를 결정화시킴으로써 광학 이성체(A)를 분리하는 방법을 참고로 한다.

그러나, 본 발명의 방법에 따라, 이성체(A)는 결정화되지만 이성체(B)는 결정화되지 않는 조건 하에 용액(AB)로부터 이성체(A)를 결정화시키는 종래의 방법에 비해 더 많은 양의 광학 이성체(A)의 결정을 수득할 수 있다. 이는 용액($AA'BB'$) 또는 (ABB') 중의 에스테르 화합물(B')이 광학 이성체(B)의 침전을 억제하기 때문이다.

더욱, 심지어 낮은 전환율의 에스테르 교환에 의해 수득된 용액(ABB') 또는 용액($AA'BB'$)으로부터도 종래 방법에 비해 높은 순도의 광학 이성체(A)를 높은 수율로 수득할 수 있다.

예를 들면, 이성체(A)와 (B)의 혼합물을, 이성체(B)를 에스테르 화합물(B')로 입체 선택적으로 에스테르 교환시킬 수 있는 능력을 가진 효소(특히 20 이상의 E-값을 갖는, 예를 들면 세라티아 마르세스 $Sr41$ FERM BP-487로부터 유래된 에스테라제)를 사용하여 에스테르 화합물(B')에 상응하는 알코올로 에스테르 화합물(B')/이성체(B)의 몰비가 13/7 내지 7.8(특히 2/1 내지 8/2)가 될 때까지 에스테르 교환시키고,

상기 생성된 반응 용액(이의 용매를 교환할 수 있다)으로부터 이성체(A)를 결정화시킴으로써, 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)의 이성체(A)를 99% 이상의 광학 순도를 갖는 결정 형태로 75% 이상(특히 80% 이상)의 수율로 수득한다.

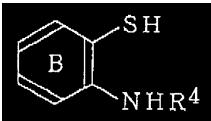
동시에, 상기 언급한 용매를 교환할 수 있는 반응 용액은 예를 들면, 에스테르 교환 중에 생성되는 알코올을 제거하기 위해 반응 용액의 용매를 일부 또는 전부 교환함으로써 수득된 용액, 또는 에스테르 교환을 적당한 용매 중에서 수행하고, 결정화를 이 목적에 적합한 용매 중에서 수행하기 위해, 에스테르 교환 반응 후 용매를 일부 또는 전부 교환함으로써 수득된 용액을 포함한다.

에스테르 교환 반응에 의해 수득한 용액은 또한 여과 또는 기울어 따르기와 같은 종래의 방식으로 에스테르 교환 반응에 의해 생성된 반응 혼합물로부터 효소를 제거함으로써 수득한 용액일 수 있다.

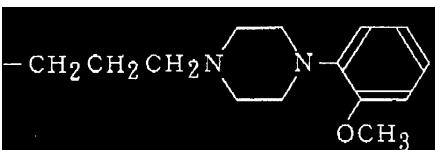
상기 광학 이성체(A)에서와 같이 수득한 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르의 ($2R,3S$)-이성체를 사용하여, 다양한 방법, 예를 들면, 일본 특허 공고 제 46-16749호, 공고 제 63-13994호, 공개 제 5-201865호, 공개 제 2-289558호 및 공고 제 2-28594호, 문헌[Chem. Pharm. Bull., 18(10), 2028-2037 (1970)] 및 일본 특허 공개 제 2-17168호, 제 4-234866호, 제 5-222016호, 제 4-221376호, 제 5-202013호, 제 2-17170호, 제 2-286672호, 제 6-279398호, 제 58-99471호, 제 8-269026호, 제 61-118377호, 제 6-228117호 및 제 2-78673호, 유럽 특허 공보 제 796853호 및 독일 특허 공보 제 1006293호에 개시된 방법에 의해 ($2S,3S$)-1,5-벤조티아제핀 유도체 또는 제약학적으로 허용되는 염을 제조할 수 있다.

즉, ($2R,3S$)-이성체를 하기 화학식 4의 아미노티오페놀 유도체

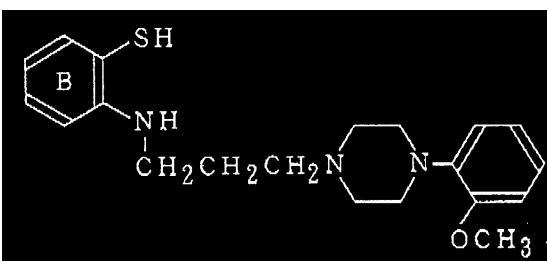
[화학식 4]



{상기 식에서, 고리 B는 상기 정의한 바와 같고, R^4 는 수소 원자, 2-(디메틸아미노)에틸기 또는 하기 화학식의 기



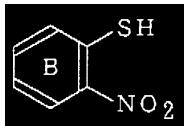
이다}, 예를 들면, 2-아미노티오페놀, 2-아미노-5-클로로티오페놀, 2-아미노-5-벤질티오페놀, 2-(디메틸아미노에틸아미노)-티오페놀 또는 하기 화학식의 화합물과 반응시키거나



{상기 식에서, 고리 B는 상기 정의한 바와 같다},

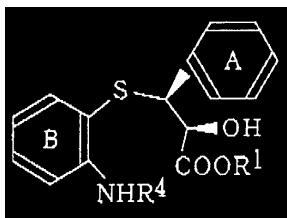
($2R,3S$)-이성체를 하기 화학식 5의 니트로티오페놀 유도체

[화학식 5]



{상기 식에서, 고리 B는 상기 정의한 바와 같다}, 예를 들면, 2-니트로티오페놀, 2-니트로-5-클로로티오페놀 또는 2-니트로-5-벤질티오페놀과 반응시킨다. 다음, 니트로기를 환원시켜 하기 화학식 6의 (2S,3S)-3-(2-아미노페닐티오)-3-페닐-2-하이드록시프로피온산 에스테르를 제조하고

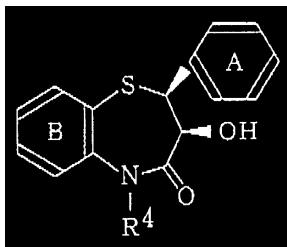
[화학식 6]



{상기 식에서, 고리 A와 B, 및 R¹과 R⁴는 상기 정의한 바와 같다};

상기 생성된 화학식 6의 화합물을 직접적으로 또는 그의 가수분해를 수행한 후 분자내 폐환시켜 하기 화학식 7의 (2S,3S)-2-페닐-3-하이드록시-1,5-벤조티아제핀 유도체를 제조하고

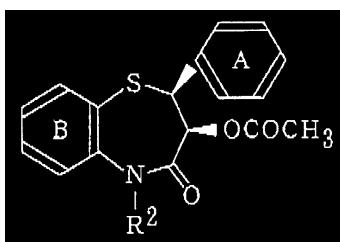
[화학식 7]



{상기 식에서, 고리 A와 B, 및 R⁴는 상기 정의한 바와 같다};

상기 생성된 화학식 7의 화합물을 5-위치의 질소 원자를 디메틸아미노에틸화시키고, 3-위치에 치환된 히드록시기를 아세틸화시켜 전적으로 하기 화학식 2의 (2S,3S)-1,5-벤조티아제핀 유도체 또는 그의 제약학적으로 허용되는 염을 제조함으로써, (2S,3S)-1,5-벤조티아제핀 유도체 또는 제약학적으로 허용되는 염을 제조할 수 있다.

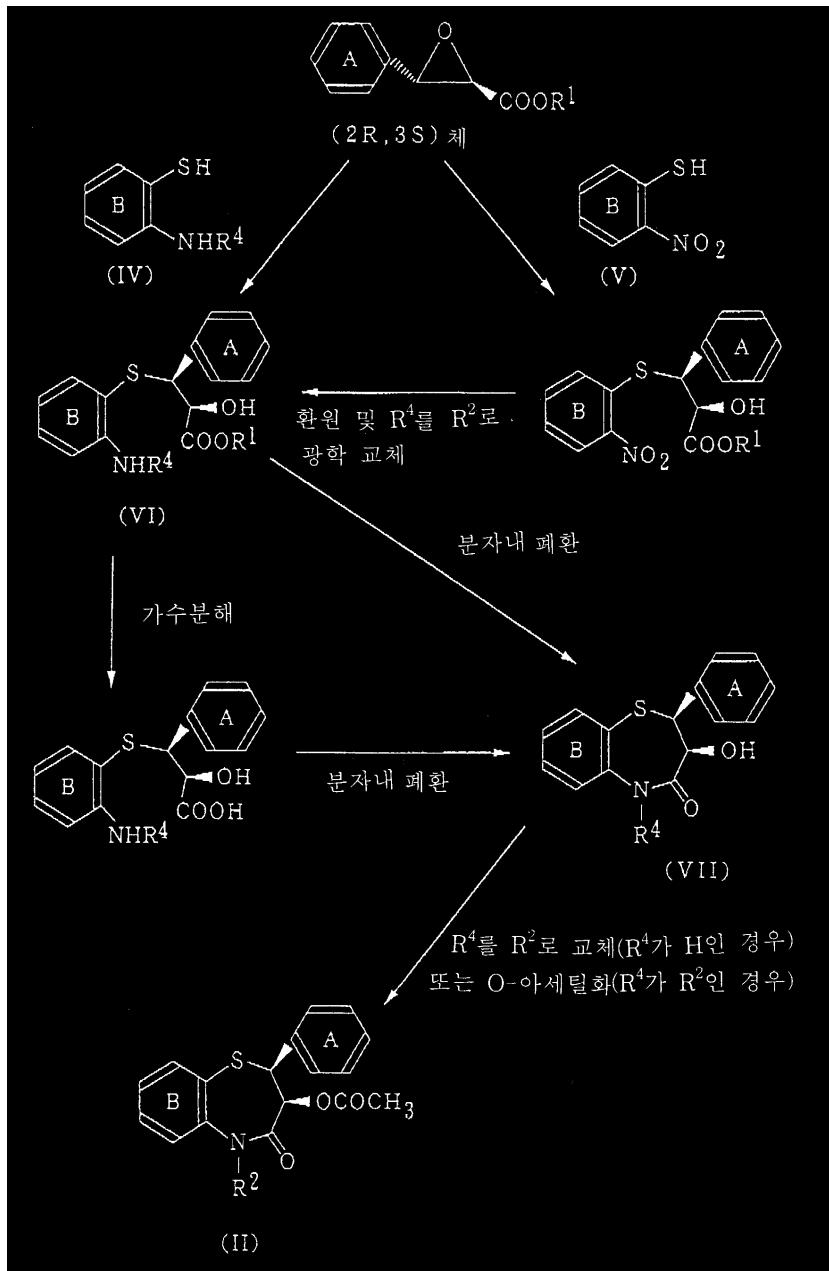
[화학식 2]



{상기 식에서, 고리 A와 B, 및 R²는 상기 정의한 바와 같다}.

상기 언급한 전환의 전체 반응식을 하기와 나타냈다.

[반응식 1]

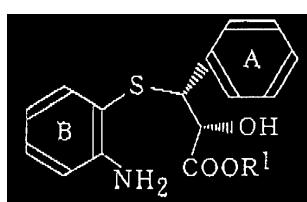


화학식 2의 (2S,3S)-1,5-벤조티아제핀 유도체 및 그의 제약학적으로 허용되는 염의 예를 들면, (딜티아젬), 및 이들의 제약학적으로 허용되는 염이다.

한편, 상기 광학 이성체(A)에서와 같이 수득한 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르의 (2S,3R)-이성체를 사용하여, 공지된 방법에 따라 상기한 바와 유사한 방식으로 (2R,3R)-1,5-벤조티아제핀 유도체 또는 제약학적으로 허용되는 염을 제조할 수 있다.

즉, 상기 언급한 (2R,3S)-이성체로부터 화학식 2의 (2S,3S)-1,5-벤조티아제핀 유도체를 제조하는 바와 동일한 방식으로, (2S,3R)-이성체를 화학식 4의 아미노티오페놀 유도체와 반응시키거나, 화학식 5의 니트로티오페놀 유도체와 반응시킨 후 니트로기를 환원시켜, 하기 화학식 8의 (2R,3R)-3-(2-아미노페닐티오)-3-페닐-2-하이드록시프로피온산 에스테르를 제조하고

[화학식 8]

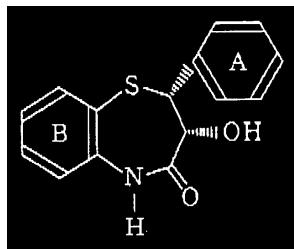


{상기 식에서, 고리 A와 B, 및 R¹은 상기 정의한 바와 같다};

상기 생성된 화학식 8의 화합물을 직접적으로 또는 가수분해를 수행한 후 분자내 폐환시켜 하기 화학식 9

의 (2R,3R)-2-페닐-3-하드록시-1,5-벤조티아제핀 유도체를 제조하고

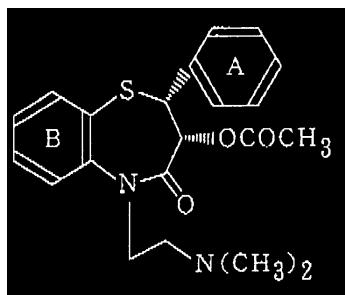
[화학식 9]



{상기 식에서, 고리 A와 B는 상기 정의한 바와 같다};

상기 생성된 화학식 9의 화합물을 5-위치의 질소 원자를 디메틸아미노에틸화시키고, 3-위치에 치환된 히드록시기를 아세틸화시켜 전적으로 하기 화학식 3의 (2R,3R)-1,5-벤조티아제핀 유도체 또는 그의 제약학적으로 허용되는 염을 제조함으로써, (2S,3R)-1,5-벤조티아제핀 유도체 또는 제약학적으로 허용되는 염을 제조할 수 있다.

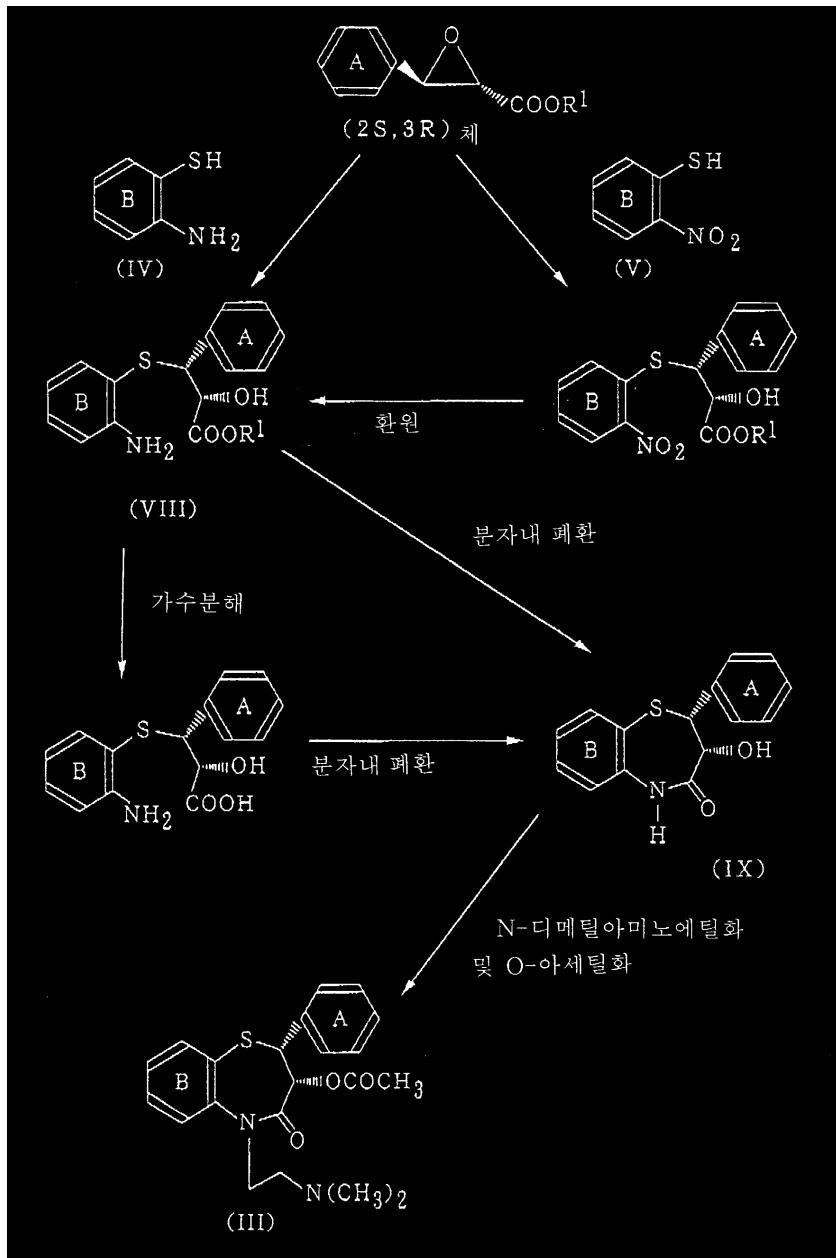
[화학식 3]



{상기 식에서, 고리 A와 B는 상기 정의한 바와 같다}.

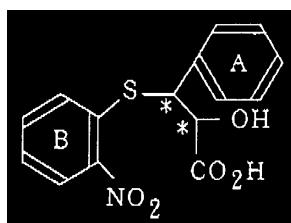
상기 언급한 전환의 전체 반응식을 하기에 나타냈다.

[반응식 2]



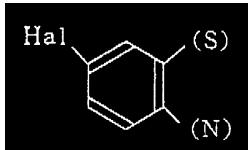
화학식 3의 (2R,3R)-1,5-벤조티아제핀 유도체 및 그의 제약학적으로 허용되는 염의 예를 들면, 및 그의 제약학적으로 허용되는 염이다.

더욱, 광학 분할제로서 유용한 하기 화학식의 광학 활성 트레오-니트로카르복실산 화합물을 본 발명의 방법에 의해 수득한 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르의 광학 이성체(A)를 사용하여 제조할 수 있다.



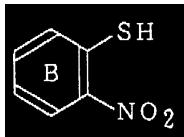
상기 식에서, 고리 A와 고리 B는 상기 정의한 바와 같고, *는 비대칭 탄소 원자를 나타낸다.

그러한 광학 활성 트레오-니트로카르복실산 화합물의 제조에서, 고리 A와 B는 예를 들면, 상기 언급한 1,5-벤조티아제핀 유도체의 제조에서 언급한 바와 동일한 고리이다. 바람직하게는, 고리 A는 4-저금 알콕시페닐기이고, 고리 B는 하기 화학식의 치환 벤젠 고리이다.



상기 식에서, Hal은 할로겐 원자이다. 더 바람직하게는 고리 A는 4-메톡시페닐기이고, 고리 B는 Hal이 염소 원자인 상기 화학식의 치환 벤젠 고리이다.

트레오-니트로카르복실산 화합물의 제조를 예를 들면, 일본 특허 공고 제 61-18549호에 개시된 바와 같은 방식으로 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르의 광학 이성체(A)를 하기 화학식의 니트로티오페놀 화합물과 반응시킨 다음, 문헌[Chem. Pharm. Bull., 18(10), 2028-2037 (1970)]에 개시된 방법에 따라 생성물을 가수분해시킴으로써 실행할 수 있다.



상기 식에서, 고리 B는 상기 정의한 바와 같다.

상기 방법에 따라, 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)의 (2R,3S)-이성체를 사용하면, 트레오-니트로카르복실산 화합물의 (2S,3S)-이성체를 수득할 수 있고, 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)의 (2S,3R)-이성체를 사용하면, 트레오-니트로카르복실산 화합물의 (2R,3R)-이성체를 수득할 수 있다.

동시에, 본원에 사용한 용어 직쇄 또는 분지쇄 저급 알킬기는 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 알킬기를 의미한다. 또한, 본원에 사용한 용어 직쇄 또는 분지쇄 저급 알콕시기는 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 알콕시기를 의미한다. 더욱, 본원에 사용한 용어 시클로알킬기는 3 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 시클로알킬기를 의미하고, 본원에 사용한 용어 아릴기는 6 내지 10개의 탄소 원자를 갖는 아릴기를 의미한다.

또한, 본원에 사용한 용어 직쇄 또는 분지쇄 알킬기는 1 내지 12개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄 알킬기를 의미한다. 본원에 사용한 용어 알콕시알킬기는 알콕시기는 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖고 알킬기는 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 알콕시알킬기를 의미한다. 또한 본원에 사용한 용어 아릴알킬기는 아릴기는 6 내지 10개의 탄소 원자를 갖고, 알킬기는 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 아릴알킬기를 의미한다.

하기 실시예를 참고로 본 발명을 더욱 구체적으로 기술하고 설명한다. 본 발명이 이들 실시예로 제한되지 않음이 이해되어야 한다.

실시예 1

300mℓ의 가지(eggplant)형 플라스크에 하기 표 1에 기재된 양의 (2R,3S)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 메틸 에스테르(이후 MPGM으로 지칭), (2S,3R)-MPGM 및 (2S,3R)-MPGR³ [(2R,3S)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산의 R³ 에스테르, 즉, (2S,3R)-MPGM의 메틸기를 R³기로 변화시킨 화합물; R³ = n-프로필기, n-부틸기, n-옥틸기, n-데실기, 벤질기, 시클로헥실기 또는 2-옥틸기]을 메탄올 30mℓ과 함께 넣었다. 승온에서 이들을 메탄올에 용해시켰다. 용액을 자기 교반기로 교반하면서 -15℃로 냉각시키고, -15℃에서 5분 동안 정지시켰다. 생성된 상등액 중의 각각의 성분의 농도를 HPLC*에 의해 측정하였다.

*:HPLC 조건: 칼럼, CHIRACEL OD (Daicel Chemical Co.); 검출, UV 237에서; 온도, 40℃; 유속, 1.0 mL/분; 전개 용매, 헥산/이소프로판올 = 20/1.

상기 농도로부터 상등액 중에 함유된 각각의 성분의 양을 구하였다. 더욱, 결정 석출량을 다음 식에 따라 구하였다: (결정화전 (2R,3S)-MPGM의 양)-(상등액 중의 (2R,3S)-MPGM의 양).

결과를 하기 표 1에 나타냈다.

여과에 의해 결정의 일부를 수득하고, 이 부분과 등량의 메탄올(-15℃)로 세척하고, 진공 건조시키고, HPLC에 의해 결정의 순도를 측정하였다. 결정 중의 (2R,3S)-MPGM의 함량은 모든 경우에 99% 이상인 것으로 밝혀졌다.

[표 1]

R ³	결정화전 조성 (g)	상등액 중의 양 (g)	결정 석출량 (g)
n-프로필기	(2R,3S)-MPGM: 9.8	(2R,3S)-MPGM: 1.1	(2R,3S)-MPGM: 8.7
	(2S,3R)-MPGM: 2.0	(2S,3R)-MPGM: 무변	
	(2S,3R)-MPGR ³ : 8.3	(2S,3R)-MPGR ³ : 무변	

n-부틸기	(2R,3S)-MPGM: 9.9	(2R,3S)-MPGM: 1.0	(2R,3S)-MPGM: 8.9
	(2S,3R)-MPGM: 2.7	(2S,3R)-MPGM: 무변	
	(2S,3R)-MPGR ³ : 8.5	(2S,3R)-MPGR ³ : 무변	
n-옥틸기	(2R,3S)-MPGM: 9.4	(2R,3S)-MPGM: 1.4	(2R,3S)-MPGM: 8.0
	(2S,3R)-MPGM: 2.2	(2S,3R)-MPGM: 무변	
	(2S,3R)-MPGR ³ : 6.7	(2S,3R)-MPGR ³ : 무변	
n-데실기	(2R,3S)-MPGM: 10.3	(2R,3S)-MPGM: 1.6	(2R,3S)-MPGM: 8.7
	(2S,3R)-MPGM: 2.8	(2S,3R)-MPGM: 무변	
	(2S,3R)-MPGR ³ : 8.6	(2S,3R)-MPGR ³ : 무변	
벤질기	(2R,3S)-MPGM: 9.6	(2R,3S)-MPGM: 1.6	(2R,3S)-MPGM: 8.0
	(2S,3R)-MPGM: 2.2	(2S,3R)-MPGM: 무변	
	(2S,3R)-MPGR ³ : 7.7	(2S,3R)-MPGR ³ : 무변	
시클로헥실기	(2R,3S)-MPGM: 9.7	(2R,3S)-MPGM: 1.5	(2R,3S)-MPGM: 8.2
	(2S,3R)-MPGM: 2.5	(2S,3R)-MPGM: 무변	
	(2S,3R)-MPGR ³ : 6.6	(2S,3R)-MPGR ³ : 무변	
2-옥틸기	(2R,3S)-MPGM: 9.3	(2R,3S)-MPGM: 1.4	(2R,3S)-MPGM: 7.9
	(2S,3R)-MPGM: 2.0	(2S,3R)-MPGM: 무변	
	(2S,3R)-MPGR ³ : 5.1	(2S,3R)-MPGR ³ : 무변	

실시예 2

300mℓ의 가지형 플라스크에 하기 표 2 내지 표 7에 기재된 양의 (2R,3S)-MPGM, (2S,3R)-MPGM 및 (2S,3R)-MPGnBu [(2S,3R)-3-(4-메톡시페닐)글리시드산 n-부틸 에스테르]을 메탄올 30mℓ과 함께 넣었다. 혼합물을 2.5 cm 자기 교반기로 300 r.p.m.에서 교반함으로써 이들을 용해시켰다. 용액을 하기 표 2 내지 표 7에 기재된 온도로 냉각시키고, 소정 시간(0, 0.5 또는 1 시간)이 경과한 후 교반을 중지하였다. 상등액의 일부를 취하고, 상등액 중의 각각의 성분의 농도를 HPLC에 의해 측정하였다.

상기 농도로부터 상등액 중에 함유된 각각의 성분의 양을 구하였다. 더욱, 결정 석출량을 다음 식에 따라 구하였다: (결정화전 (2R,3S)-MPGM의 양)-(상등액 중의 (2R,3S)-MPGM의 양).

백탁 시간은 결정화 온도에 도달한 후 용액이 백탁하기까지의 시간을 나타낸다. 상등액 중의 각각의 이 성체의 양을 백탁의 발생 전에 취한 샘플에 대해 HPLC에 의해 측정하였다.

[표 2]

(2S,3R)-MPGnBu/(2S,3R)-MPGM의 몰비 = 1.7

결정화전 조성 (g)	결정화 온도 (°C)	백탁 시간 (분)	상등액 중의 양 (g)	결정 석출량 (g)
(2R,3S)-MPGM: 10.3	10	60	(2R,3S)-MPGM: 2.7	(2R,3S)-MPGM: 7.6
(2S,3R)-MPGM: 3.6				
(2S,3R)-MPGnBu: 7.5				

[표 3]

(2S,3R)-MPGnBu/(2S,3R)-MPGM의 몰비 = 2.0

결정화전 조성 (g)	결정화 온도 (°C)	백탁 시간 (분)	상등액 중의 양 (g)	결정 석출량 (g)
(2R,3S)-MPGM: 10.3	10	60	(2R,3S)-MPGM: 2.5	(2R,3S)-MPGM: 7.8
(2S,3R)-MPGM: 3.4				
(2S,3R)-MPGnBu: 7.9				

[표 4]

(2S,3R)-MPGnBu/(2S,3R)-MPGM의 몰비 = 2.2

결정화전 조성 (g)	결정화 온도 (°C)	백탁 시간 (분)	상등액 중의 양 (g)	결정 석출량 (g)
(2R,3S)-MPGM: 10.3	10	60	(2R,3S)-MPGM: 2.2	(2R,3S)-MPGM: 8.1
(2S,3R)-MPGM: 3.2				
(2S,3R)-MPGnBu: 8.3				
(2R,3S)-MPGM: 10.3	0	35	(2R,3S)-MPGM: 1.6	(2R,3S)-MPGM: 8.7
(2S,3R)-MPGM: 3.1				
(2S,3R)-MPGnBu: 8.2				
(2R,3S)-MPGM: 10.3	-10	5	(2R,3S)-MPGM: 0.9	(2R,3S)-MPGM: 9.4
(2S,3R)-MPGM: 3.1				
(2S,3R)-MPGnBu: 8.2				

[표 5]

(2S,3R)-MPGnBu/(2S,3R)-MPGM의 몰비 = 2.4

결정화전 조성 (g)	결정화 온도(°C)	백탁 시간 (분)	상등액 중의 양 (g)	결정 석출량 (g)
(2R,3S)-MPGM: 10.4	10	60	(2R,3S)-MPGM: 2.2	(2R,3S)-MPGM: 8.2
(2S,3R)-MPGM: 3.0				
(2S,3R)-MPGnBu: 8.7				
(2R,3S)-MPGM: 10.3	0	55	(2R,3S)-MPGM: 2.0	(2R,3S)-MPGM: 8.3
(2S,3R)-MPGM: 2.9				
(2S,3R)-MPGnBu: 8.4				
(2R,3S)-MPGM: 10.3	-10	50	(2R,3S)-MPGM: 1.1	(2R,3S)-MPGM: 9.2
(2S,3R)-MPGM: 2.9				
(2S,3R)-MPGnBu: 8.4				

[표 6]

(2S,3R)-MPGnBu/(2S,3R)-MPGM의 몰비 = 2.7

결정화전 조성 (g)	결정화 온도(°C)	백탁 시간 (분)	상등액 중의 양 (g)	결정 석출량 (g)
(2R,3S)-MPGM: 10.3	10	60	(2R,3S)-MPGM: 2.3	(2R,3S)-MPGM: 8.0
(2S,3R)-MPGM: 2.7				
(2S,3R)-MPGnBu: 8.7				
(2R,3S)-MPGM: 10.3	0	60	(2R,3S)-MPGM: 1.4	(2R,3S)-MPGM: 8.9
(2S,3R)-MPGM: 2.7				
(2S,3R)-MPGnBu: 8.7				
(2R,3S)-MPGM: 10.3	-10	55	(2R,3S)-MPGM: 0.8	(2R,3S)-MPGM: 9.5
(2S,3R)-MPGM: 2.7				
(2S,3R)-MPGnBu: 8.7				

[표 7]

(2S,3R)-MPGnBu/(2S,3R)-MPGM의 몰비 = 3.8

결정화전 조성 (g)	결정화 온도(°C)	백탁 시간 (분)	상등액 중의 양 (g)	결정 석출량 (g)
(2R,3S)-MPGM: 10.3	0	60	(2R,3S)-MPGM: 1.4	(2R,3S)-MPGM: 8.9
(2S,3R)-MPGM: 2.0				
(2S,3R)-MPGnBu: 9.2				

(2R,3S)-MPGM: 10.3	-10	60	(2R,3S)-MPGM: 0.8	(2R,3S)-MPGM: 9.5
(2S,3R)-MPGM: 2.0				
(2S,3R)-MPGnBu: 9.2				

실시예 3

1,000mℓ의 가지형 플라스크에 하기 표 8에 기재된 양의 (2R,3S)-MPGM, (2S,3R)-MPGM 및 (2S,3R)-MPGnBu를 하기 표 8에 기재된 양의 용매와 함께 넣었다. 혼합물을 2.5 cm 자기 교반기로 300 r.p.m.에서 교반함으로써 이들을 용매에 용해시켰다. 용액을 하기 표 8에 기재된 온도로 냉각시키고, 즉시 교반을 중지하였다. 상등액의 일부를 취하고, 상등액 중의 각각의 성분의 농도를 HPLC에 의해 측정하였다.

상기 농도로부터 상등액 중에 함유된 각각의 성분의 양을 구하였다. 더욱, 결정 석출량을 다음 식에 따라 구하였다: (결정화전 (2R,3S)-MPGM의 양)-(상등액 중의 (2R,3S)-MPGM의 양). 결과를 하기 표 8에 나타냈다.

결정의 일부를 여과에 의해 수득하고, 이 부분과 등량의 메탄올로(-10℃) 세척하고, 진공 건조시키고, HPLC에 의해 결정의 순도를 측정하였다. 결정 중의 (2R,3S)-MPGM의 함량은 모든 경우에 99% 이상인 것으로 밝혀졌다.

[표 8]

결정화 용매	용매의 양(mℓ)	결정화 온도(℃)	결정화전 조성(g)	상등액 중의 양(g)	결정 석출량(g)
크실렌	100	-10	(2R,3S)-MPGM: 49	(2R,3S)-MPGM: 9	(2R,3S)-MPGM: 40
			(2S,3R)-MPGM: 14	(2S,3R)-MPGM: 무변	
			(2S,3R)-MPGnBu: 39	(2S,3R)-MPGnBu: 무변	
톨루엔	100	-10	(2R,3S)-MPGM: 49	(2R,3S)-MPGM: 9	(2R,3S)-MPGM: 40
			(2S,3R)-MPGM: 14	(2S,3R)-MPGM: 무변	
			(2S,3R)-MPGnBu: 39	(2S,3R)-MPGnBu: 무변	
이소프로필 에테르	100	-10	(2R,3S)-MPGM: 49	(2R,3S)-MPGM: 8	(2R,3S)-MPGM: 41
			(2S,3R)-MPGM: 14	(2S,3R)-MPGM: 무변	
			(2S,3R)-MPGnBu: 39	(2S,3R)-MPGnBu: 무변	
t-부틸 메틸 에테르	150	-10	(2R,3S)-MPGM: 49	(2R,3S)-MPGM: 9	(2R,3S)-MPGM: 40
			(2S,3R)-MPGM: 14	(2S,3R)-MPGM: 무변	
			(2S,3R)-MPGnBu: 39	(2S,3R)-MPGnBu: 무변	
이소프로판올	150	3	(2R,3S)-MPGM: 49	(2R,3S)-MPGM: 8	(2R,3S)-MPGM: 41
			(2S,3R)-MPGM: 14	(2S,3R)-MPGM: 무변	
			(2S,3R)-MPGnBu: 39	(2S,3R)-MPGnBu: 무변	
에탄올	150	-10	(2R,3S)-MPGM: 50	(2R,3S)-MPGM: 6	(2R,3S)-MPGM: 44
			(2S,3R)-MPGM: 14	(2S,3R)-MPGM: 무변	
			(2S,3R)-MPGnBu: 42	(2S,3R)-MPGnBu: 무변	

실시예 4

300mℓ의 가지형 플라스크에 하기 표 9에 기재된 양의 (2R,3S)-MPGM, (2S,3R)-MPGM 및 (2S,3R)-MPGnBu를 하기 표 9에 기재된 양의 메탄올과 함께 넣었다. 혼합물을 2.5 cm 자기 교반기로 300 r.p.m.에서 교반함으로써 이들을 메탄올에 용해시켰다. 용액을 -10℃로 냉각시켰다. 이 온도에서 1 시간 동안 교반한 후, 즉시 교반을 중지하였다. 상등액의 일부를 취하고, 상등액 중의 각각의 성분의 농도를 HPLC에 의해 측정하였다.

상기 농도로부터 상등액 중에 함유된 각각의 성분의 양을 구하였다. 더욱, 여과에 의해 결정을 수득하고, 결정과 등량의 메탄올로(-10℃) 세척하고, 진공 건조시키고, HPLC에 의해 결정의 조성을 측정하였다. 결과를 하기 표 9에 나타냈다.

[표 9]

용매 양 (mℓ)	결정화 온도 (℃)	결정화전 조성 (g)	상등액 중의 양 (g)	결정 수득량 (g)	결정의 조성 (몰%)
30	-10	(2R,3S)-MPGM: 10.0	(2R,3S)-MPGM: 0.8	8.5	(2R,3S)-MPGM: 99.8
		(2S,3R)-MPGM: 2.5	(2S,3R)-MPGM: 무변		
		(2S,3R)-MPGnB u: 9.3	(2S,3R)-MPGnB u: 무변		
20	-10	(2R,3S)-MPGM: 10.0	(2R,3S)-MPGM: 0.7	9.2	(2R,3S)-MPGM: 99.2
		(2S,3R)-MPGM: 2.5	(2S,3R)-MPGM: 무변		
		(2S,3R)-MPGnB u: 9.3	(2S,3R)-MPGnB u: 무변		

실시예 5

300mℓ의 가지형 플라스크에 하기 표 10에 기재된 양의 (2R,3S)-MPGM, (2S,3R)-MPGM, (2R,3S)-MPGnBu 및 (2S,3R)-MPGnBu를 메탄을 30mℓ과 함께 넣었다. 혼합물을 2.5 cm 자기 교반기로 300 r.p.m.에서 교반함으로써 이들을 메탄올에 용해시켰다. 용액을 30분에 걸쳐 -15℃로 냉각시켰다. 이 온도에서 2 시간 동안 추가로 교반한 후, 교반을 중지하고, 상등액의 일부를 취하고, 상등액 중의 각각의 성분의 농도를 HPLC에 의해 측정하였다.

상기 농도로부터 상등액 중에 함유된 각각의 성분의 양을 구하였다. 더욱, 결정 석출량을 다음 식에 따라 구하였다: (결정화전 (2R,3S)-MPGM의 양)-(상등액 중의 (2R,3S)-MPGM의 양).

더욱, 여과에 의해 결정을 수득하고, 결정과 등량의 메탄올(-15℃)로 세척하고 진공 건조시키고, HPLC에 의해 결정의 조성을 측정하였다. 결과를 하기 표 10에 나타냈다.

[표 10]

(2R,3S)-MPGnBu (2R,3S)-MPGM (몰비)	결정화전 조성 (g)	결정 석출량 (g)	결정의 조성 (몰%)
0.01	(2R,3S)-MPGM: 9.9	(2R,3S)-MPGM: 8.9	(2R,3S)-MPGM: 99.7
	(2S,3R)-MPGM: 2.7		
	(2R,3S)-MPGnBu: 0.1		
	(2S,3R)-MPGnBu: 8.5		
0.10	(2R,3S)-MPGM: 8.1	(2R,3S)-MPGM: 6.5	(2R,3S)-MPGM: 96.1
	(2S,3R)-MPGM: 2.1		
	(2R,3S)-MPGnBu: 1.0		
	(2S,3R)-MPGnBu: 5.5		
0.25	(2R,3S)-MPGM: 7.6	(2R,3S)-MPGM: 6.0	(2R,3S)-MPGM: 96.6
	(2S,3R)-MPGM: 2.1		
	(2R,3S)-MPGnBu: 2.3		
	(2S,3R)-MPGnBu: 7.1		

0.50	(2R,3S)-MPGM: 6.5	(2R,3S)-MPGM: 5.0	(2R,3S)-MPGM: 93.8
	(2S,3R)-MPGM: 1.7		
	(2R,3S)-MPGnBu: 3.8		
	(2S,3R)-MPGnBu: 9.0		

실시예 6

메탄올 150mℓ 중의 (2R,3S)-MPGM 10.4g, (2S,3R)-MPGM 10.4g 및 (2S,3R)-MPGnBu 40.5g의 용액을 500mℓ의 가지형 플라스크에 넣고, 2.5 cm 자기 교반기로 300 r.p.m.에서 교반하였다. 용액을 30분에 걸쳐 -10℃로 냉각시키고 추가로 10분 동안 교반하였다. 여과에 의해 결정을 수득하고, 메탄올(-10℃) 10mℓ로 세척하고, 진공 건조시켰다. HPLC에 의해 결정의 조성을 측정하였다. 결정 4.5g(결정화 전의 (2R,3S)-MPGM의 양을 기준으로 43%의 수율) 중의 (2R,3S)-MPGM의 함량은 99% 이상인 것으로 밝혀졌다.

결정을 수득한 후, 여과액과 세척액의 혼합물을 중 세척액에 상응하는 메탄올 10mℓ를 증류 제거하였다.

농축된 혼합물을 -10℃로 냉각시키고, 여기에 (2S,3R)-MPGM의 접종 결정을 첨가하였다. 혼합물을 이 온도에서 30분 동안 교반할 때, 혼탁해지고 비결정질 물질이 침전되었다.

비결정질 물질을 여과에 의해 수득하고, 그의 조성을 HPLC에 의해 측정하였다. 비결정질 물질은 접종 결정과 동일한 절대 배위를 갖는 (2S,3R)-MPGM을 가장 많은 양으로 함유하고, 거의 등량의 (2R,3S)-MPGM과 그의 약 2/3 양의 (2S,3R)-MPGnBu를 함께 포함하는 고체인 것으로 밝혀졌다.

실시예 7

크실렌 500mℓ, n-부탄을 80mℓ 및 물 0.25mℓ의 혼합 용매에 (2RS,3SR)-MPGM 104g(0.5몰)[(2R,3S)-MPGM 52g 및 (2S,3R)-MPGM 52g]을 용해시켰다. 생성된 용액에 후술한 참고 실시예 1-(2-b)에서 수득한, 세라티아 마르세슨스로부터 유래된 에스테라제 200mg(올리브유 가수분해 활성: 4×10^4 U)를 혼탁시켰다. 용액을 30℃에서 24시간 동안 교반하고, 반응 혼합물을 HPLC에 의해 분석하였다. 생성물은 (2R,3S)-MPGM 50g, (2S,3R)-MPGM 13.5g 및 (2S,3R)-MPGnBu 44g로 이루어진 것으로 밝혀졌다. 여과에 의해 반응 혼합물로부터 효소를 제거하고, 감압하에 여과물로부터 전체 용매를 증류 제거하여 오일상 잔사를 수득하였다. 이 잔사에 메탄올 150mℓ를 첨가하고, 교반시켜 결정화시켰다. 수율을 더욱 높이기 위해, 혼합물을 -15℃로 냉각시키고 이 온도에서 30분 동안 교반하였다. 여과에 의해 결정을 수득하고, 메탄올(-15℃) 40mℓ로 세척하고, 진공 건조시켜 (2R,3S)-MPGM 44.2g를 수득하였다.

이때 수득한 여과물을 분석하여, 모액에 (2R,3S)-MPGM 6g, (2S,3R)-MPGM 13.5g 및 (2S,3R)-MPGnBu 44g가 함유됨을 또한 밝혔다. 결정의 수율은 85.0%였다(부하된 라세미형 혼합물 중의 (2R,3S)-MPGM을 100%로 한 백분율). 결정 중의 (2R,3S)-MPGM의 함량은 99% 이상인 것으로 밝혀졌다.

실시예 8

(2RS,3SR)-MPGM 20.8g [(2R,3S)-MPGM 10.4g 및 (2S,3R)-MPGM 10.4g], 크실렌 100mℓ, n-부탄을 16mℓ, 물 25μℓ 및 후술한 참고 실시예 1-(2-b)에서 수득한, 세라티아 마르세슨스로부터 유래된 에스테라제 10mg(올리브유 가수분해 활성: 2×10^3 U)를 혼합하였다. 혼합물을 30℃에서 하기 표 11에 기재된 에스테르 교환의 전환율에 도달할 때까지 효소적 에스테르 교환 반응시켰다. 여과에 의해 효소를 반응 혼합물로부터 제거하고, 60 내지 70℃의 온도에서 감압하에 여과물로부터 전체 용매를 증류 제거하여 오일상 잔사를 수득하였다.

이 잔사에 메탄올 30mℓ를 첨가하고, 가지형 플라스크에서 2.5 cm 자기 교반기로 300 r.p.m.에서 교반하였다. 혼합물을 -10℃로 냉각시킨 후, 교반을 중지하였다. 상등액의 일부를 취하고, 상등액 중의 성분의 농도를 HPLC에 의해 측정하였다. 이 농도로부터 상등액 중에 함유된 화합물의 양을 구하였다.

더욱, 결정 석출량을 다음 식에 따라 구하였다: (결정화 전의 (2R,3S)-MPGM의 양)-(상등액 중의 (2R,3S)-MPGM의 양). 결과를 하기 표 11에 나타냈다.

결정의 일부를 여과에 의해 수득하고, 결정과 등량의 -10℃ 메탄올로 세척하고, 진공 건조시키고, HPLC에 의해 분석하였다. 결정 중의 (2R,3S)-MPGM의 함량은 모든 경우에 99% 이상인 것으로 밝혀졌다.

[표 11]

전환율	결정화전 조성 (g)	상등액 중의 양 (g)	결정 석출량 (g)
-----	-------------	--------------	------------

0.36	(2R,3S)-MPGM: 10.2	(2R,3S)-MPGM: 0.9	(2R,3S)-MPGM: 9.3
	(2S,3R)-MPGM: 3.1	(2S,3R)-MPGM: 무변	
	(2R,3S)-MPGnBu: 0.03	(2R,3S)-MPGnBu: 무변	
	(2S,3R)-MPGnBu: 8.2	(2S,3R)-MPGnBu: 무변	
0.37	(2R,3S)-MPGM: 10.2	(2R,3S)-MPGM: 1.1	(2R,3S)-MPGM: 9.1
	(2S,3R)-MPGM: 2.9	(2S,3R)-MPGM: 무변	
	(2R,3S)-MPGnBu: 0.03	(2R,3S)-MPGnBu: 무변	
	(2S,3R)-MPGnBu: 8.3	(2S,3R)-MPGnBu: 무변	
0.38	(2R,3S)-MPGM: 10.2	(2R,3S)-MPGM: 0.8	(2R,3S)-MPGM: 9.4
	(2S,3R)-MPGM: 2.7	(2S,3R)-MPGM: 무변	
	(2R,3S)-MPGnBu: 0.03	(2R,3S)-MPGnBu: 무변	
	(2S,3R)-MPGnBu: 8.6	(2S,3R)-MPGnBu: 무변	
0.41	(2R,3S)-MPGM: 10.2	(2R,3S)-MPGM: 0.8	(2R,3S)-MPGM: 9.4
	(2S,3R)-MPGM: 2.0	(2S,3R)-MPGM: 무변	
	(2R,3S)-MPGnBu: 0.03	(2R,3S)-MPGnBu: 무변	
	(2S,3R)-MPGnBu: 9.2	(2S,3R)-MPGnBu: 무변	

실시예 9

크실렌 500mℓ 및 n-부탄을 80mℓ의 혼합 용매에 (2RS,3SR)-MPGM 104g(0.5몰) [(2R,3S)-MPGM 52g 및 (2S,3R)-MPGM 52g]를 용해시켰다. 생성된 용액에 후술한 참고 실시예 1-(2-a)에서 수득한, 셀라이트에 고정된 에스테라제 3.0g(올리브유 가수분해 활성: 2.5×10^4 U)를 혼탁시켰다. 용액을 30℃에서 24시간 동안 교반하고, 반응 혼합물을 HPLC에 의해 분석하였다. 생성물은 (2R,3S)-MPGM 51g, (2S,3R)-MPGM 14.7g 및 (2S,3R)-MPGnBu 38g로 이루어진 것으로 밝혀졌다. 여과에 의해 반응 혼합물을부터 셀라이트-고정된 에스테라제를 제거하고, 60 내지 70℃의 온도에서 감압하에 여과물로부터 전체 용매를 증류 제거하여 오일상 잔사를 수득하였다. 이 잔사에 메탄을 150mℓ를 첨가하고, 교반시켜 결정화시켰다. 수율을 더욱 높이기 위해, 혼합물을 -10℃로 냉각시키고 이 온도에서 30분 동안 교반하였다. 여과에 의해 결정을 수득하고, -10℃의 메탄을 40mℓ로 세척하고, 진공 건조시켜 (2R,3S)-MPGM 43.1g를 수득하였다.

이때 수득된 여과물을 분석하여, 모액에 (2R,3S)-MPGM 7g, (2S,3R)-MPGM 14.7g 및 (2S,3R)-MPGnBu 38g가 함유됨을 또한 밝혔다. 결정의 수율은 82.9%였다 (부하된 라세미형 혼합물 중의 (2R,3S)-MPGM을 100%로 한 백분율). 결정 중의 (2R,3S)-MPGM의 함량은 99% 이상인 것으로 밝혀졌다.

실시예 10

(1) (2RS,3SR)-MPGM 20g 및 (2S,3R)-MPGnBu 41g를 메탄을 150mℓ에 30 내지 40℃의 온도에서 용해시켰다. 용액을 교반하면서 냉각시키고, 0℃에서 용액에 (2R,3S)-MPGM의 접종 결정 10mg를 첨가하였다. 용액을 30분에 걸쳐 추가로 -10℃로 냉각시키고, 이 온도에서 10분 동안 교반시켰다. 유리 필터를 사용하여 여과에 의해 결정을 수득하고, -10℃의 메탄을 20mℓ로 세척하고, 진공 건조시켜 (2R,3S)-MPGM을 수득하였다. 여과액과 세척액을 합하여 (2R,3S)-MPGM, (2S,3R)-MPGM 및 (2S,3R)-MPGnBu를 함유하는 메탄 온액을 수득하였다.

(2) 상기 메탄 온액에 메탄을 100mℓ 및 디이소프로필아민 10mℓ를 첨가하였다. 용액을 30℃에서 16 시간 동안 교반하여, (2S,3R)-MPGnBu를 (2S,3R)-MPGM으로 전환시켰다.

(3) 단계 (2)에서 수득한 반응 혼합물을 0℃에서 30분 동안 정치시켰다. 여과에 의해 (2S,3R)-MPGM의 결정을 수득하고, 5℃의 메탄을 40mℓ로 세척하였다. 여과물을 감압하에 농축시켜, 대략 등량의 (2S,3R)-MPGM 및 (2R,3S)-MPGM을 함유하는 잔사를 수득하였다.

(4) 상기 잔사에 (2RS,3SR)-MPGM을 첨가하여 (2RS,3SR)-MPGM의 총량이 약 20g이 되도록 하였다. 여기에 추가로 (2S,3R)-MPGnBu와 메탄을 첨가하였다. 생성된 용액을 상기 단계 (1)에 적용하였다. 단계 (1) 내지 (4)로 이루어진 절차를 3회 반복하고, 그 결과를 하기 표 12에 나타냈다.

[표 12]

(메탄올 용액 중의 성분의 조성 변화)

조작	(2R,3S)-MPGM (a)	(2S,3R)-MPGM (a)	(2S,3R)-MPGnBu (a)
라세미 혼합물 첨가	10 (+10 첨가)	10 (+10 첨가)	41 (+41 첨가)
결정화	4.4 (-5.6 침전)	10	41
화학적 에스테르 교환	4.4	44 (+34.1 에스테르 교환 -0.1*)	0 (-41 에스테르 교환)
결정화	3.6 (-0.8***)	3.9 (-37.9 침전 -2.2**)	0
라세미 혼합물 첨가	10 (+6.4 첨가)	10.3 (+6.4 첨가)	41 (+41 첨가)
결정화	4.2 (-5.8 침전)	10.3	41
화학적 에스테르 교환	4.2	44 (+34.1 에스테르 교환 -0.4*)	0 (-41 에스테르 교환)
결정화	4.2	4.4 (-35.8 침전 -3.8**)	0
라세미 혼합물 첨가	10 (+5.8 첨가)	10.2 (+5.8 첨가)	41 (+41 첨가)
결정화	5.2 (-4.8 침전)	10.2	41
화학적 에스테르 교환	5.2	44 (+34.1 에스테르 교환 -0.3*)	0 (-41 에스테르 교환)
결정화	5.2	6.2 (-37.0 침전 -0.8**)	0
* 에스테르 교환시의 손실			
** 결정 세척시의 손실			
*** 세척 등에 의한 손실			

상기 3회 사이클 조작에 의해, (2R,3S)-MPGM 총 16.2g을 수득하였다. 각 사이클에서 수득된 (2R,3S)-MPGM의 순도와 광학 순도는 각각 98% 또는 그 이상 및 97% 또는 그 이상이었다.

에스테르 화합물로 사용된 (2S,3R)-MPGnBu보다 더 많은 몰량의(2S,3R)-MPGM을 결정으로서 수득할 수 있으므로, 이렇게 수득한 (2S,3R)-MPGM을 다음 사이클에서 필요한 (2S,3R)-MPGnBu의 필요량으로만 (2S,3R)-MPGnBu로 화학적 에스테르 교환 반응시키면 높은 순도의 (2S,3R)-MPGM을 또한 수득할 수 있다.

실시예 11

교반기가 장치된 2ℓ 반응기에서, (2RS,3SR)-MPGM 187g(0.9 몰) [(2R,3S)-MPGM 93.5g 및 (2S,3R)-MPGM 93.5g]를 크실렌 720mℓ 및 n-부탄올 57.6mℓ(0.9 몰)의 혼합 용매에 용해시켰다. 생성된 용액에 후술한 참고 실시예 1-(2-a)에서 수득한, 셀라이트-고정된 에스테라제 3.0 g(여기에 정제수 0.81mℓ를 미리 첨가하였고, 올리브유 가수분해 활성은 2.5×10^4 U였다)를 혼탁시켰다. 용액을 15mmHg의 감압하에 30°C에서 4시간 동안 교반하고, 반응 혼합물을 HPLC에 의해 분석하였다. 생성물은 (2R,3S)-MPGM 91.6g, (2S,3R)-MPGM 24.3g 및 (2S,3R)-MPGnBu 83.2g로 이루어진 것으로 밝혀졌다.

여과에 의해 반응 혼합물을로부터 셀라이트-고정된 에스테라제를 제거하고, 여과물을 60 내지 70°C의 온도에서 감압 농축시켜 오일상 잔사를 수득하였다. 이 잔사에 메탄올 150mℓ를 첨가하고, 이를 교반하면서 -10°C로 냉각시키고, 이 온도에서 30분 동안 추가로 교반하였다. 여과에 의해 결정을 수득하고, -10°C의 메탄올로 세척하고, 진공 건조시켜 (2R,3S)-MPGM 82.3g을 수득하였다. 모액과 세척액을 합하고 HPLC에 의해 분석하였다. 혼합물이 (2R,3S)-MPGM 9.1g, (2S,3R)-MPGM 24.1g 및 (2S,3R)-MPGnBu 83.0g로 이루어진 것으로 밝혀졌다.

참고 실시예 1

(1) 30ℓ의 자야(jar) 발효조에 텩스트린 1%, 황산암모늄 0.2%, 미스트 S(Meast S, Asahi Breweries, Ltd.에서 제조) 2%, 인산이수소칼륨 0.2%, 황산마그네슘 0.05%, 황산제1철 0.001%, 소르비탄 트리올리에이트 계면활성제(Rheodol SP-030, Kao Corporation에서 제조) 1.5w/v% 및 폴리알킬렌 글리콜 유도체 계면활성제(상표명: Kararin 102, Sanyo Chemical Industries, Ltd.에서 제조) 0.2v/v%를 함유하는 pH 7.0의 액체 배지 18ℓ를 넣었다. 배지를 멀균한 후, 상기에서와 동일한 배양 배지내에서 27.5°C에서 20 시간 동안 왕복 진탕으로 미리 배양한 세라티아 마르세스ون스 Sr41 FERM BP-487의 예비배양액 200mℓ를 멀균 배지에 접종하였다. 0.33 vvm, 0.5kg/cm² · G 및 300 r.p.m.의 조건 하에 L-프롤린 1.5%를 배지에 연속적으로 첨가하면서 혼합물을 25°C에서 28 시간 동안 배양하였다. 배양액 10ℓ를 원심분리하여 세포를 제거하고, 흡착 수지 SP207 (Mitsubishi Chemical Corporation에서 제조)를 사용하여 상등액으로부터 불순물을 제거하였다. 이렇게 수득한 상등액을 한외여과막(SLP1053, Asahi Chemical Industry Co., Ltd.에서 제조)을 사용하여 1ℓ로 농축시켜 1.0×10^4 U/mℓ의 올리브유 가수분해 활성을 갖는 에스테라제의 농축액 1,080mℓ를 수득하였다.

(2-a) 상기 단계 (1)에서 수득한 농축 효소액 30mℓ를 500mℓ의 가지형 플라스크에 놓인 셀라이트(Celite Corporation, California, U.S.A.에서 제조) 30g에 첨지시킨 후, 균일하게 혼합하고, 회전 증발기를 사용하여 30°C의 외부 온도에서 감압하에 건조시켜 8.2U/mg의 활성을 갖는 셀라이트-고정된 에스테라제 36.5g를 수득하였다.

(2-b) 상기 단계 (1)에서 수득한 농축 효소액 1,000mℓ를 동결건조시켜 1.96×10^5 U/g의 올리브유 가수분해 활성을 갖는 에스테라제 54g을 수득하였다.

참고 실시예 2

2% 폴리비닐 알코올 수용액(상표 Poval 117, Kuraray Co., Ltd.에서 제조) 225mℓ 및 올리브유 75mℓ의 혼합물을 5 내지 10°C의 온도에서 10분 동안 14,500 r.p.m.으로 교반하여 유화액을 형성하였다. 어어서, 수득한 올리브유 유화액 5.0mℓ와 0.25M 트리스-HCl 완충액(pH 8.0, 2.5 mM의 염화칼슘 함유) 4.0mℓ를 37°C에서 10분 동안 예비가열하고, 여기에 효소액 1mℓ를 첨가하였다. 반응을 37°C에서 20분 동안 수행하고, 아세톤-에탄올 혼합 용매(1:1) 20mℓ를 반응 혼합물에 첨가하여 반응을 정지시켰다. 반응 혼합물을 페놀프탈레인을 지시약으로 사용하여 0.05N NaOH 용액으로 적정하였다. 상기 절차에 의해 1분당 1 μmole의 지방산을 유리시키는 효소의 양을 1 단위(U)로 정의하였다.

발명의 효과

전술한 바와 같이, 본 발명에 따라 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르의 광학 이성체의 혼합물을 함유하는 용액으로부터, 높은 순도의 원하는 광학 이성체를 모액 중의 원하는 광학 이성체의 농도가 종래의 방법에 비해 매우 낮을 때까지 결정화시킬 수 있다.

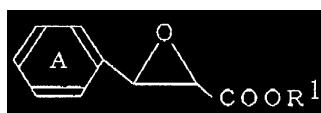
더욱, 라세미형 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르를 비대칭적으로 및 효소적으로 에스테르 교환시킨 후, 반응 혼합물로부터 높은 순도의 원하는 광학 이성체를 모액 중의 원하는 광학 이성체의 농도가 종래의 방법에 비해 매우 낮을 때까지 결정화시킬 수 있다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1의 광학 활성 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르 화합물의 어느 하나의 광학 이성체(A)와 다른 하나의 광학 이성체(B)(이들은 둘 모두 2- 및 3-위치의 비대칭 탄소로 인하여 광학 이성체이다), 및 에스테르 잔기 R¹만이 이성체(B)와 상이한 에스테르 화합물(B')의 용액을 제조하고, 에스테르 화합물(B')이 존재하지 않는다면 광학 이성체(B)가 침전하지만, 에스테르 화합물(B')의 존재로 인해 광학 이성체(B)를 침전시키지 않으면서 광학 이성체(A)가 결정화되는 정도까지 상기 용액으로부터 광학 이성체(A)를 결정화시키며, 광학 이성체(A)의 결정을 분리하는 것을 포함하는, 하기 화학식 1의 광학 활성 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르 화합물의 광학 활성 이성체의 제조 방법.

화학식 1



상기 식에서, 고리 A는 치환 또는 비치환 벤젠 고리이고, R¹은 에스테르 잔기이다.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 용액이 추가로 에스테르 잔기 R¹만이 이성체(A)와 상이하고 에스테르 화합물(B')과 동일한 에스테르 잔기를 갖는 에스테르 화합물(A')을 소량 함유하는 방법.

청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서, 이성체(B)의 에스테르 잔기는 메틸기 또는 에틸기이고, 에스테르 화합물(B')의 에스테르 잔기는 (a) 광학 이성체(B)의 에스테르 잔기 R¹의 탄소 원자수보다 많은 탄소 원자수를 갖고, 할로겐 원자에 의해 치환되어도 좋은 직쇄 또는 분지쇄 알킬기; (b) 할로겐 원자에 의해 치환되어도 좋은 알콕시알킬기; 및 (c) 직쇄 또는 분지쇄 저급 알킬기, 직쇄 또는 분지쇄 저급 알콕시기 또는 할로겐 원자에 의해 치환되어도 좋은 아릴알킬기로 이루어진 군 중에서 선택된 것인 방법.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 용액 중의 이성체(A)/이성체(B)의 몰비가 4/6 내지 10/10이고, 용액 중의 에스테르 화합물(B')/이성체(B)의 몰비가 5/3 내지 10/1인 방법.

청구항 5

제 2 항에 있어서, 용액 중의 에스테르 화합물(A')/이성체(A)의 몰비가 에스테르 화합물(B')/이성체(B)의 몰비의 9/35 이하인 방법.

청구항 6

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서, 용액의 용매가 알코올 용매, 에테르 용매, 할로겐 원자로 치환되어도 좋은 방향족 탄화수소 용매, 할로겐 원자로 치환되어도 좋은 지방족 탄화수소 용매 및 에스테르 용매로 이루어진 군 중에서 선택된 것인 방법.

청구항 7

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서, 결정화 이전의 용액 중의 이성체(A)의 농도가 0.5 내지 4 몰/l이고, 결정화가 -30 내지 +15°C에서 수행되는 방법.

청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서, 결정화에 사용할 용액이 광학 이성체(A)와 광학 이성체(B)의 용액 중의 광학 이성체(B)를 입체 선택적으로 에스테르 교환시키는 능력을 갖는 효소의 존재하에 알코올을 사용하여 에스테르 화합물(B')로 에스테르 교환 반응시킴으로써 수득한 용액인 방법.

청구항 9

제 8 항에 있어서, 상기 효소는 에스테르 교환 반응의 전환율이 10%일 때 측정한 E-값이 10 이상인 것인 방법.

청구항 10

제 8 항에 있어서, 에스테르 교환 반응을 에스테르 화합물(B')/이성체(B)의 몰비가 5/3 내지 10/10이 되도록 수행하는 방법.

청구항 11

제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서, 이성체(A)가 (2R,3S)의 절대 배위를 갖고, 이성체(B)가 (2S,3R)의 절대 배위를 갖는 방법.

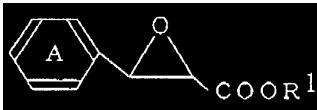
청구항 12

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서, 고리 A가 4-메톡시페닐기이고, 이성체(B)의 에스테르 잔기가 메틸기이고, 에스테르 화합물(B')의 에스테르 잔기가 n-부틸기인 방법.

청구항 13

하기 화학식 1의 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르 화합물의 어느 하나의 광학 이성체(A)와 다른 하나의 광학 이성체(B)(이들은 둘 모두 2- 및 3-위치의 비대칭 탄소로 인하여 광학 이성체이다)의 혼합물을 알코올과 입체 선택적 에스테르 교환능이 있는 효소의 존재하에 에스테르 교환 반응시킴으로써, 광학 이성체(B)를 알코올로 에스테르 교환 반응시켜 에스테르 화합물(B')/이성체(B)의 몰비가 13/7 내지 7.8/1의 범위내에 있을 때까지 에스테르 잔기 R¹만이 이성체(B)와 상이한 에스테르 화합물(B')을 생산하고, 이성체(A), 에스테르 교환 반응되지 않은 이성체(B) 및 에스테르 화합물(B')을 함유하는 생성된 용액으로부터 광학 이성체(A)를 결정화시키고, 99% 이상의 광학 순도를 갖는 이성체(A)를 이성체(A)의 초기량을 기준으로 75% 이상의 수율로 분리하는 것을 포함하는, 하기 화학식 1의 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르 화합물의 광학 활성 이성체의 제조 방법.

화학식 1



상기 식에서, 고리 A는 치환 또는 비치환 벤젠 고리이고, R¹은 에스테르 잔기이다.

청구항 14

제 13 항에 있어서, 상기 효소는 에스테르 교환 반응의 전환율이 10%일 때 측정한 E-값이 20 이상인 것인 방법.

청구항 15

제 13 항 또는 제 14 항에 있어서, 이성체(A)가 (2R,3S)의 절대 배위를 갖고, 이성체(B)가 (2S,3R)의 절대 배위를 갖는 방법.

청구항 16

제 13 항에 있어서, 효소가 세라티아 마르세스(Serratia marcescens)로부터 유래된 에스테라제이고, 에스테르 화합물(B')/이성체(B)의 몰비가 2/1 내지 8/2이며, 이성체(A)의 수율이 80% 이상인 방법.

청구항 17

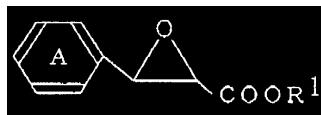
제 13 항 내지 제 16 항 중 어느 한 항에 있어서, 고리 A가 4-메톡시페닐기이고, 이성체(B)의 에스테르 잔기가 메틸기이고, 에스테르 화합물(B')의 에스테르 잔기가 n-부틸기인 방법.

청구항 18

(a) 하기 화학식 1의 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르 화합물의 어느 하나의 광학 이성체(A)와 다른 하나의 광학 이성체(B)(이들은 둘 모두 2- 및 3-위치의 비대칭 탄소로 인하여 광학 이성체이다), 및 에스테르 잔기 R¹만이 이성체(B)와 상이한 에스테르 화합물(B')의 용액을 제조하는 단계; (b) 에스테르 화합물(B')이 존재하지 않으면 광학 이성체(B)가 침전하지만 에스테르 화합물(B')의 존재로 인해 광학 이성체(B)의 침전을 일으키지 않으면서 광학 이성체(A)가 결정화되는 정도까지, 용액으로부터 광학 이성체(A)를 결정화시키는 단계; (c) 광학 이성체(A)의 결정을 분리하는 단계; (d) 생성된 모액 중에 잔류하는 광학 이성체(A)와 (B)를 함께 함유된 에스테르 화합물(B')을 화학적으로 에스테르 교환 반응시켜, 에스테르 화합물(B')을 광학 이성체(B)로 전환시킨 다음, 이성체(B)를 결정화하고 분리하는 단계; (e) 생성된 모액에 하기 화학식 1의 라세미형 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르와 에스테르 화합물(B')을 첨가하여 단계 (b)의 결정화시키기 위한 용액을 제공하는 단계; 및 (f) 상기 언급한 단계 (b), (c), (d) 및 (e)를 이 순서로 반복하는 단계를 포함하는, 하기 화학식 1의 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르 화합물의 각각의

광학 활성 이성체의 분리 방법.

화학식 1



상기 식에서, 고리 A는 치환 또는 비치환 벤젠 고리이고, R¹은 에스테르 잔기이다.

청구항 19

제 18 항에 있어서, 단계 (d)에서, 생성된 모액에 에스테르 잔기 R¹만이 이성체(A)와 상이하고 에스테르 화합물(B')과 동일한 에스테르 잔기를 갖는 에스테르 화합물(A')을 첨가하고, 단계 (e)에서, 첨가된 에스테르 화합물(A')을 화학적으로 에스테르 교환 반응시켜 광학 이성체(A)를 수득하는 방법.

청구항 20

제 18 항 또는 제 19 항에 있어서, 단계 (a)에서의 용액이 추가로 에스테르 잔기 R¹만이 이성체(A)와 상이하고 에스테르 화합물(B')과 동일한 에스테르 잔기를 갖는 에스테르 화합물(A')을 소량 함유하는 방법.

청구항 21

제 18 항 내지 제 20 항 중 어느 한 항에 있어서, 이성체(B)의 에스테르 잔기는 메틸기 또는 에틸기이고, 에스테르 화합물(B')의 에스테르 잔기는 이성체(B)의 에스테르 잔기의 탄소 원자수보다 많은 탄소 원자수를 갖고, 할로겐 원자에 의해 치환되어도 좋은 작쇄 또는 분지쇄 알킬기, 할로겐 원자에 의해 치환되어도 좋은 알콕시알킬기, 및 작쇄 또는 분지쇄 저급 알킬기, 작쇄 또는 분지쇄 저급 알콕시기 또는 할로겐 원자에 의해 치환되어도 좋은 아릴알킬기로 이루어진 군 중에서 선택된 것인 방법.

청구항 22

제 18 항에 있어서, 단계 (a)의 용액에서, 이성체(A)/이성체(B)의 몰비가 4/6 내지 10/1이고, 에스테르 화합물(B')/이성체(B)의 몰비가 5/3 내지 10/1인 방법.

청구항 23

제 19 항에 있어서, 단계 (a)의 용액에서, 이성체(A)/이성체(B)의 몰비가 4/6 내지 10/1이고, 에스테르 화합물(B')/이성체(B)의 몰비가 5/3 내지 10/1이고, 단계 (d)에서 첨가한 에스테르 화합물(A')의 양은 생성된 용액 중의 에스테르 화합물(A')/이성체(A)의 몰비가 5/3 내지 10/1이 되도록 하는 양인 방법.

청구항 24

제 20 항에 있어서, 단계 (a)의 용액에서, 에스테르 화합물(A')/이성체(A)의 몰비가 에스테르 화합물(B')/이성체(B)의 몰비의 9/35 이하인 방법.

청구항 25

제 18 항 내지 제 24 항 중 어느 한 항에 있어서, 사용된 용매가 알코올 용매, 에테르 용매, 할로겐 원자로 치환되어도 좋은 방향족 탄화수소 용매, 할로겐 원자로 치환되어도 좋은 지방족 탄화수소 용매, 및 에스테르 용매로 이루어진 군 중에서 선택된 것인 방법.

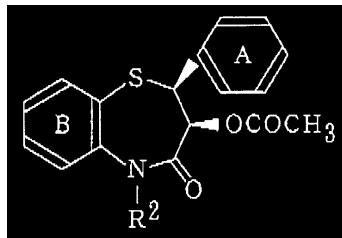
청구항 26

제 18 항 내지 제 25 항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (a)에서 이성체(A)를 결정화하기 전의 용액이 0.5 내지 4몰/l 농도의 이성체(A)를 함유하고, 이성체(A)의 결정화가 -30 내지 +15°C의 온도에서 수행되는 방법.

청구항 27

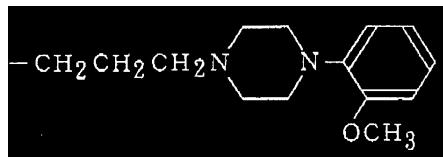
하기 화학식 2의 (2S,3S)-1,5-벤조티아제핀 유도체 또는 그의 제약학적으로 허용되는 염의 제조 방법에 있어서, 제 1 항 내지 제 26 항 중 어느 한 항 기재의 방법에서 광학 이성체(A)로 수득한 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)의 (2R,3S)-이성체를 출발 물질로 사용하는 것을 특징으로 하는 방법.

화학식 2



상기 식에서, 고리 A 및 고리 B는 독립적으로 치환 또는 비치환 벤젠 고리이고,

R^2 는 2-(디메틸아미노)에틸기 또는 하기 화학식의 기이다.



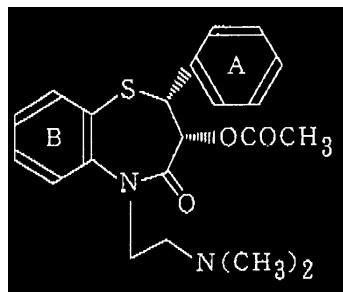
청구항 28

제 27 항에 있어서, 고리 A가 4-메톡시페닐기이고, 고리 B가 비치환 벤젠 고리이고, R^2 가 2-(디메틸아미노)에틸기인 방법.

청구항 29

하기 화학식 3의 (2R,3R)-1,5-벤조티아제핀 유도체 또는 그의 제약학적으로 허용되는 염의 제조 방법에 있어서, 제 1 항 내지 제 26 항 중 어느 한 항 기재의 방법에서 광학 이성체(A)로 수득한 트란스-3-치환 글리시드산 에스테르(I)의 (2S,3R)-이성체를 출발 물질로 사용하는 것을 특징으로 하는 방법.

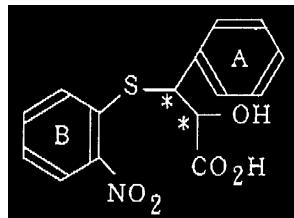
화학식 3



상기 식에서, 고리 A 및 고리 B는 독립적으로 치환 또는 비치환 벤젠 고리이다.

청구항 30

하기 화학식의 광학 활성 트레오-니트로카르복실산 화합물의 제조 방법에 있어서, 제 1 항 내지 제 26 항 중 어느 한 항 기재의 방법에서 수득한 광학 이성체(A)를 출발 물질로 사용하는 것을 특징으로 하는 방법.



상기 식에서, 고리 A 및 고리 B는 독립적으로 치환 또는 비치환 벤젠 고리이고, *는 비대칭 탄소 원자를 나타낸다.

도면

도면1

