酵素反応と化学反応のハイブリッドプロセスによるジルチアゼム中間体の製法開発

古谷 敏行
Toshiyuki Furutani

キーワード：ハイブリッドプロセス、ジルチアゼム、酵素、光学活性、環境

筆者の所属する部門では原薬製造プロセスを研究しており、新薬の効率的製法開発と既製品の工程改良による製造コスト削減を目指している。このなかで、主に酵素反応と有機合成反応とを組み合わせ、いわゆるハイブリッドプロセスを基盤として研究を行っている。このような分野に従事してきたなかで、最も強く関わってきたのがジルチアゼムの製法開発である。ジルチアゼムは、田辺製薬(株)で開発された冠血管拡張剤であり、100ヵ国以上で販売され今なお世界的に高い評価を受けている。ここではジルチアゼムの製法開発例を通じて、企業の研究者としてプロセス研究の進め方・考え方を披露したい。

ジルチアゼムは1,5-ベンゾチアゼピン骨格を有し、2つの不斉炭素をもつため4種類の構造異性体が存在する。このうち主作用を有するものは(2*S*,3*S*)体であり、当初から光学活性体として開発された。スキーム1に当社で開発した主な製造ルートを示す。当初の製造にはジアステレオマー光学分割法によって(2*S*,3*S*)-3を得る方法が採用された¹⁾。しかし、その後この方法は工程数が長いことと、分割により大量の廃棄物が副生すること

から、さらに効率的な製法開発が要望された。一般に光学活性体の製造において、後工程でラセミ化が起らない限り、なるべく出発原料に近い段階でキラリティーを構築するのが、生産効率・経済性・廃棄物処理の面で有利である。この考えに基づいて、*trans* ラセミ体として最初に不斉中心が現れる(2*RS*,3*SR*)-グリシッド酸エステル2での光学分割に注目した。しかし、(2*RS*,3*SR*)-2は、酸・塩基の官能基をもたず、さらにベンゼン環に隣接して反応性に富むオキシラン環を有するため、ジアステレオマー誘導法などの光学分割は困難であった。

酵素分割による光学活性グリシッド酸エステルの製法

当時、酵素反応を有機化合物に利用する研究が盛んに試みられるようになってきており、我々の部門でもその導入を検討していた。酵素反応は選択性が高く反応が穏やかであるため光学活性体の製法に有用であると考え、(2*RS*,3*SR*)-2の光学分割の研究に利用した。種々の微生物・酵素についてスクリーニングした結果、*Serratia marcescens* が生産するリパーゼが、水相(酵素)-水難溶性有機溶媒相(基質)の二相で高選択的に不要な(2*S*,3*R*)-

Scheme 1 Synthetic route for diltiazem hydrochloride.

Scheme 2 Synthetic route for ketone catalyst.

2を加水分解することを見いだした。直ちにこの方法の工業化検討を開始したが、反応方法の効率化、未反応物として残存する(2*S*,3*R*)-2の単離・回収法を新たに開発することが必要であった。酵素反応は二相系で効率良く進行するが、2が化学的に不安定であるため、また反応混合物がエマルジョンとなり、当初目的物を容易に単離できなかった。ここで、酵素タンパクがエマルジョン形成に関与していると考え、この機能を打ち消すための界面活性剤の使用、溶媒比率の最適化を試みた結果、反応と分離ともに効率良く達成可能なエマルジョン式の製法を開発できた²⁾。これは小さなアイデアであったが、実際に工業生産が可能な製法開発につながった。また、より経済的な製法とするため、酵素を固定化した膜反応器と、ろ過器を有する晶析槽を併設した新規な反応-分離システムを考案し、懸濁状態の基質(2*RS*,3*SR*)-2から(2*R*,3*S*)-2を結晶状生成物として効率良く得る方法を完成するに至った³⁾。

不斉酸化による光学活性グリシッド酸エステルの製法

前述の(2*RS*,3*SR*)-2を光学分割する方法は優れた方法であったが、理論的に収率が50%を超えないため原価低減には限界があった。これを解決する手段として不斉合成法の検討を押し進め、その過程でYangらの開発した不斉触媒⁴⁾(*R*)-6が4の不斉エポキシ化反応に有効であることを見いだした。この触媒を工業的に製造するため、スキーム2に示す独自の合成ルートを構築した。光学活性な前駆体(*R*)-5を得るために、種々の酵素による光学分割を検討した結果、前述のラセミ2の光学分割に有効であった*S. marcescens*が生産するリパーゼ(凍結乾燥品: lipase SM)が有機溶媒中で不要な(*S*)-5を選択的にアシル化し、目的とする(*R*)-5を高収率かつ高選択的(光学純度 >99% ee, 収率 48%)に与えることがわかった。このリパーゼによる不斉アシル化とコバルト-サレン触媒を用いる11員環骨格の構築法を組み合わせることによって、(*R*)-5を効率的に取得し、さらに酸化することにより、>99% eeのケトン触媒(*R*)-6に導く製法を開発できた⁵⁾。

このケトン触媒(*R*)-6を用いてオキソソ存在下桂皮酸

誘導体4を不斉酸化する方法を検討した結果、収率80%以上、不斉収率70%以上で2が得られるようになり、現在さらに検討を進めている(スキーム1)。さらにこれまで困難とされてきた、2と触媒6の分離については、それぞれの溶媒に対する溶解度の温度依存性の差を利用した新規な分離システムを開発することによって99% ee以上の光学活性(2*R*,3*S*)-2を60%以上の収率で単離するとともに触媒を約90%で回収できるプロセスを完成している。

これらのハイブリッドプロセス研究は、共同研究者を含むグループの一員として行った仕事である。その中で、自らの着想、アイデアが生かされてプロセスが完成していくところを実感できた点、研究者としてエキサイティングであった。いずれのプロセスにおいても実用化のポイントは、どこでどのように酵素を利用するか、どのように目的物を単離するか、(酵素)触媒をどのようにリサイクルするか、経済的か、環境に配慮されているかなどであり、これらを常に念頭におきながら研究に取り組んでいる。これらのことを達成して実際に工業化研究を行うためには、ハイブリッドプロセスだけでなく、周辺の技術開発が重要であり、これらを視野に入れた幅広い知識が必要であることは言うまでもない。

最近の医薬品は不斉中心を有するものが増えてきており、そのほとんどが光学活性体として開発されるようになってきている。光学活性体の製造には、酵素反応は有効な手法であり、このようなハイブリッドプロセスは今後ますます重要になってくると予想される。また、地球環境保全が強く叫ばれる中、酵素反応を組み込む方法は環境への影響の少ないプロセスであると考えられる。最近では酵素や酵素スクリーニングキットが市販されており、有機合成化学者にも利用しやすくなっているため、今後多くの方が酵素反応を利用されることをお勧めしたい。

文 献

- 1) 橋山富樹, 有合化, 57, 394(1999)
- 2) T. Furutani, M. Furui, T. Mori, T. Shibatani, *Appl. Biochem. Biotech.*, 59, 319(1996)
- 3) M. Furui, T. Furutani, T. Shibatani, Y. Nakamoto, T. Mori, *J. Ferment. Bioeng.*, 81, 21(1996)
- 4) D. Yang, Y.-C. Yip, M.-W. Tang, M.-K. Wong, J.-H. Zheng, K.-K. Cheung, *J. Am. Chem. Soc.*, 118, 491(1996)
- 5) T. Furutani, M. Hatsuda, T. Shimizu, M. Seki, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 65, 180(2001)

(2001年1月31日受理)

PROFILE

古谷敏行 田辺製薬株式会社製品技術研究所・研究員 工学博士
 [経歴] 1986年長崎大学薬学部卒、同年田辺製薬株式会社入社、1994-95年大阪市立大学工学部研究生。[専門] 生物化学工学。[連絡先] ■■■■