

⑨ 日本国特許庁 (J P)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭62-286959

⑬ Int. Cl. 4

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和62年(1987)12月12日

C 07 C 121/453

7451-4H

120/00

// C 07 B 57/00

3 5 0

7457-4H

審査請求 未請求 発明の数 1 (全6頁)

⑮ 発明の名称 光学活性シアノカルニチン塩の製造方法

⑯ 特 願 昭61-131608

⑰ 出 願 昭61(1986)6月5日

⑱ 発 明 者	森 下	剛 志	姫路市飾磨区今在家1044
⑲ 発 明 者	河 村	昌 男	明石市東朝霧丘18-10
⑳ 発 明 者	安 久 津	成 一	加古川市山手2-24-15
㉑ 発 明 者	福 田	博 介	姫路市飾磨区今在家1044
㉒ 発 明 者	畑	啓 之	加古川市上荘町国包189-1
㉓ 発 明 者	叶	健 児	姫路市飾磨区今在家1044
㉔ 発 明 者	西 森	弘 訓	姫路市飾磨区今在家1044
㉕ 出 願 人	製鉄化学工業株式会社		兵庫県加古郡播磨町宮西346番地の1

明 細 書

1. 発明の名称

光学活性シアノカルニチン塩の製造方法

2. 特許請求の範囲

- (1) 水酸化DL-シアノカルニチンと光学活性な酸との塩を分別晶出することにより製造したL-またはD-シアノカルニチン塩を陰イオン交換試剤で処理して水酸化L-またはD-シアノカルニチンとした後、これと光学不活性な酸との塩を形成させ、分別晶出することによりL-またはD-シアノカルニチン塩の光学純度および製造効率を向上させることを特徴とする光学活性シアノカルニチン塩の製造方法。
- (2) 光学活性な酸がd-ショウノウ-10-スルホン酸である特許請求の範囲第1項記載の方法。
- (3) 光学活性な酸がN-アセチルL-グルタミン酸である特許請求の範囲第1項記載の方法。
- (4) 光学活性な酸がLg (+) 酒石酸である特許請求の範囲第1項記載の方法。

(5) 光学活性な酸が(-)-ジベンゾイル-Lg-酒石酸である特許請求の範囲第1項記載の方法。

(6) 光学不活性な酸がシュウ酸である特許請求の範囲第1項、第2項、第3項、第4項、第5項記載の方法。

(7) 光学不活性な酸が過塩素酸である特許請求の範囲第1項、第2項、第3項、第4項、第5項記載の方法。

(8) 陰イオン交換試剤が水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、陰イオン交換樹脂または酸化銀である特許請求の範囲第1項記載の方法。

発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明はL-カルニチンの合成に用いられる重要な中間体であるL-(2-ヒドロキシ-3-シアノプロピル)トリメチルアンモニウム塩(以下L-シアノカルニチン塩と略す)を製造する方法において分割剤である光学活性な酸と光学不活性な酸を組み合わせて用いることによってDL-シアノカルニチ

ン塩を効率的に光学分割し、L-シアノカルニチン塩のみを収率良く、かつ、光学的に高純度で製造することを目的とする。

L-カルニチンはビタミンB<sub>7</sub>として知られ、人間から微生物に至る多くの生物組織中に含有されている重要な化合物である。近年、その生理作用ならびに臨床的応用に関して多くの研究がなされ慢性の血液透析、心臓不整脈の抑制などの臨床的分野における治療剤として注目されている。従来臨床的にはDL-カルニチン(ラセミ体)が用いられていたが、D-カルニチンがL-カルニチンの生理作用を競合的に阻害することが知られるようになり、(アイ・ビー・フリッツ等、ジャーナル、オブ、バイオロジカル、ケミストリー、I.B.Fritz; J. Biol. Chem., 240, 2188(1965))治療や研究の目的にL-カルニチンを工業的に安価に製造することが必要になってきた。

(従来の技術)

L-カルニチンの製法は、先ず、DL-シアノカルニチン塩を合成し、これを光学分割することによ

って得られるL-シアノカルニチン塩を加水分解する方法が一般的である。そのうち、DL-シアノカルニチン塩を光学活性な分割剤を用いて分割する方法としては、従来次のものが公知である。

- ① 光学分割剤としてd-ショウノウ-10-スルホン酸と(-)-ジベンゾイル-Lg-酒石酸の2種類を組合わせて用いる方法(エー・シュトラック等; ツァイトシュリフト、フィール、フィジオロジッシェ、ヘミー、E.Strack等; Z. Physiol. Chem., 318, 129(1960))。この方法では、先ず、塩酸DL-シアノカルニチンを酸化銀で処理して水酸化DL-シアノカルニチンとし、これにd-ショウノウ-10-スルホン酸を添加してDL-シアノカルニチン・d-ショウノウ-10-スルホン酸塩を形成させ、生成した2種のジアステレオマー間の溶媒に対する溶解度差を利用して両者を分離する。この際、母液中に残る粗L-シアノカルニチン・d-ショウノウ-10-スルホン酸塩を塩酸処理して得た粗塩酸L-シアノカルニチンを再び酸化銀で処理

して粗水酸化L-シアノカルニチンとし、これに、もう1つの分割剤である(-)-ジベンゾイル-Lg-酒石酸を添加して難溶性塩であるL-シアノカルニチン・(-)-ジベンゾイル-Lg-酒石酸塩を形成させ、分別晶出により精製する。

- ② 分割剤としてLg-(+)-酒石酸、または(-)-ジベンゾイル-Lg-酒石酸を用いてL-シアノカルニチン塩を分割取得する方法(綾田; 薬誌、91、778(1961))。
- ③ 分割剤としてl-ショウノウ-10-スルホン酸を用いてL-シアノカルニチン塩を分割取得する方法(堀内等; 特公昭 40-3891)。
- ④ 分割剤としてN-アセチル-D-グルタミン酸を用いてL-シアノカルニチン塩を分割取得する方法、または、N-アセチル-L-グルタミン酸を用いてD-シアノカルニチン塩を分割取得する方法(土肥等; 特公昭 43-8248)。

(発明が解決しようとする問題点)

従来の方法のうち① E.Strack 法は目的とする

L-シアノカルニチン・d-ショウノウ-10-スルホン酸塩が溶媒に易溶性の塩であるため、そのままでは精製して光学純度を上げることはできないのもう1つの分割剤である(-)-ジベンゾイル-Lg-酒石酸を用いて再び精製する必要がある。このように2種の分割剤を用いると分割剤が製品に比べて高価であるので生成コストが高くなり、工業的分割法としては不適当である。また、②綾田法は分割剤との間で精製する2種のジアステレオマー塩間の溶解度差が小さいので、分割の効率が悪い。③堀内法は、分割剤が天然物由来でないため、コストが高くなる。④土肥法も、目的のL-シアノカルニチン塩を取得するための分割剤が天然由来のN-アセチル-L-グルタミン酸でなくその対置体であるN-アセチル-D-グルタミン酸であるので工業的に不利である。またD-シアノカルニチン・N-アセチル-L-グルタミン酸塩を取出した母液から目的とするL-シアノカルニチン塩を取出すには、これを相当する塩酸塩に変えたのち、光学純度を上げるために分別晶出を繰返し行なう必要があり、

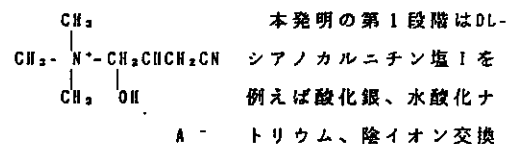
精製の効率が悪い。

これに対し、本発明は分割剤を用いてDL-シアノカルニチン塩を光学分割した分割母液中に残存する粗L-シアノカルニチン塩、もしくは光学分割で効率よく精製できなかった粗L-シアノカルニチン塩を更に光学的に精製するために、そのシアノカルニチンの対イオンである光学活性な酸(分割剤)を、より安価な光学不活性な酸に交換し、それによって分割効率の良いラセミ混合物の塩を形成させ、分別晶出により、高収率かつ高純度でL-シアノカルニチン塩を製造する方法である。また、使用する対イオンが光学不活性な酸であるため多数の候補の中から、目的に応じて任意に選ぶことができ、かつ、光学分割剤に比べて安価に入手できるので工業的に応用できる有利な方法である。なお、シアノカルニチンとラセミ混合物を形成する光学不活性な酸としては、従来、塩酸、シュウ酸、および過塩素酸、(ジェー・ジャーク等; J. Jacques 等; Fr. 2,536,391(1984)) が公知である。また、この方法はD-シアノカルニチン塩を効

率良く高純度で製造したい場合にも全く同様に用いることができる。

(問題点を解決するための手段)

DL-シアノカルニチン塩 I の光学分割は、幾つかの光学活性な酸を分割剤として試みられてきたが、いずれも効率良く、かつ安価にL-シアノカルニチン塩を精製し製造することができなかった。我々は更に分割効率の良い光学活性な酸を求めて探索研究を行なうと共に、一旦分割した粗L-シアノカルニチン塩の光学純度および精製効率を向上させる方法を模索するうち、L-シアノカルニチン塩を形成している光学活性な酸 R\*H を光学不活性な酸 RH と置き換えることによって、L-シアノカルニチン塩自体の結晶性が良くなり、かつ優先的にL-体のみが晶出し易くなる事実を発見し、本発明に至った。



I ; A = Cl, Br, I

II ; A H = R\* H (光学活性な酸)

III ; A H = R H (光学不活性な酸)

樹脂などで処理することによって生成した水酸化DL-シアノカルニチンに分割剤である光学活性な酸 R\*H を加えて、光学活性な対アニオン R\*- と被分割剤であるDL-シアノカルニチンカチオンとのジアステレオマー塩 II を形成させ、2種のジアステレオマー塩間の溶媒に対する溶解度差を利用して、分別晶出し、両者を大まかに分割するものである。

本発明に利用できる第1段階の光学分割剤は光学活性な酸もしくは光学活性な酸性化合物 R\*H であって、シアノカルニチンと塩を形成し、生成する2種のジアステレオマー塩 II 間に溶媒に対する溶解度差があるものであれば何でもよく、例えば、ショウノウ-10-スルホン酸、マンデル酸、シス-2-ベンズアミドシクロヘキサンカルボン酸、2-フェニルプロピオン酸、2-フェニル-3-メチルブタン酸、2-フェノキシプロピオン酸、5-ヒダ

トインプロピオン酸、1,1-メチレンビス(5-オキソ-2-ピロリジン)カルボン酸、2-ブタンスルホン酸、ピロリドンカルボン酸、1-フェニルエタンスルホン酸、酒石酸モノメチルエステル、3-ブロムショウノウ-8-スルホン酸、フタル酸モノ1-フェニルエチルアミド、フタル酸モノメンチルアミドなどの一塩基酸、酒石酸、リンゴ酸、ショウノウ酸、ジベンズイル酒石酸、ジアセチル酒石酸、モノベンズイル酒石酸、ジトルイル酒石酸、6,6-ジニトロジフェン酸などの二塩基酸、グルタミン酸、アスパラギン酸、ホモシステイン酸、N-アセチルバリン、N-アセチルイソロイシン、N-アセチルセリン、N-アセチルスレオニン、N-アセチルヒドロキシプロリン、N-アセチルプロリン、N-アセチルフェニルアラニン、N-アセチルチロシン、N-アセチルヒドロキシフェニルグリシン、N-アセチルグルタミン酸、N-アセチルアスパラギン酸、N-アセチル-3,5-ジブロモチロシン、カルバモイルバリン、p-ニトロベンズイルグルタミン酸、カルバモイルグルタミン酸などのアミノ酸類などの他、

キナ酸、2-ケトグルコン酸、2,3,4,6-テトラ-O-アセチル-グルコース、グルコン酸、アスコルビン酸、イソアスコルビン酸、ガラクトン酸、グルクロン酸、 $\alpha$ -ガラクトン酸などの糖類があげられる。

上に挙げた光学活性な酸 R\* H と水酸化 DL-シアノカルニチンの比は当量が好ましく、光学活性な多塩基酸に対しては、一つの酸性置換基に対して DL-シアノカルニチンが当量でよい場合もある。分別晶出に用いる溶媒としては水、メタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、メトキシエタノール、およびこれらと水の混合溶媒であり、好ましくはメタノール、エタノール、および、これらと水の混合溶媒がよい。分別晶出の回数は次の工程で更に精製できるので、1回でも充分であるが、分別晶出を繰り返すことによって著しく光学純度が上がる場合には、数回繰り返してもよい。

本発明の第2段階では第1段階で得られた粗 L または D-シアノカルニチンの光学活性塩 II の対ア

ニオン R<sup>-</sup> を光学不活性な酸 R H から生ずる対イオン R<sup>-</sup> に置き換えて、シアノカルニチン塩 III がラセミ混合物である塩を生成させ、その塩 III の光学活性体と DL (ラセミ) 体との間の溶媒に対する溶解度差および同種の光学活性体同士の親和力が大きく、L または D の光学活性体のみが晶出し易い性質を利用して、分別晶出させるものである。

その詳細な方法は以下の如くである。光学活性な酸 R\* H を対アニオンとする当該塩 II の分割後の母液もしくは当該塩 II を溶媒に溶かした溶液に光学不活性な酸の塩 III を構成する対アニオンを生ずる当該酸 R H を加えて、光学活性な酸 R\* H を析出させ、効率良く回収できる場合には上記の方法により、一方、この方法では当該酸 R\* H が析出しない場合、もしくは、抽出等により効率良く回収されない場合には、光学活性な酸の塩 II の水溶液を陰イオン交換樹脂 (OH型) に通液して水酸化 L または D-シアノカルニチンの水溶液とし、これに光学不活性な酸 R H を添加して、当該塩 III を形成させてもよい。

この場合に用いる陰イオン交換樹脂としては、例えばアンバーライト IRA-400、IRA-910 (オルガン社製)、ダウエックス 1、2 (ダウケミカル社製) などがある。

光学不活性な酸 R H としては、当該対アニオン R<sup>-</sup> がシアノカルニチンと結晶性の良い塩を形成し、その生成した塩がラセミ混合物であるものであれば何でもよく、例えばベンゼンスルホン酸、フェノール-4-スルホン酸、p-クロロベンゼンスルホン酸、p-または o-トルエンスルホン酸、2,5-ジメチルベンゼンスルホン酸、m-キシレンスルホン酸、2-メシチレンスルホン酸、2-ナフタリンスルホン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸などのスルホン酸類、安息香酸、p-または o-トルイル酸、p-または o-ブロム安息香酸、t-ブチル安息香酸、p-, m- または o-ニトロ安息香酸 p-, m- または o-クロロ安息香酸、p-または m-ヒドロキシ安息香酸、サリチル酸、アセチルサリチル酸、ベンゾイルサリチル酸、p-アセチル安息香酸、m-アニス酸、m-フェノキシ安息香酸、p-アセチルアミノ安息香

酸、チオサリチル酸、3,5-ジニトロ安息香酸、2,4-ジクロロ安息香酸、2,4-ジヒドロキシ安息香酸、ベラトルム酸、4-または 5-クロロサリチル酸、5-ブromoサリチル酸、4-クロロ-0-アニス酸、2-クロロ-4-ニトロ安息香酸、2-ニトロ-4-クロロ安息香酸、3-ニトロ-4-クロロ安息香酸、2-クロロ-4-ニトロ安息香酸などの安息香酸誘導体、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、 $\beta$ -ブロムプロピオン酸、p-ヒドロキシフェニル酢酸、o-クロロフェニル酢酸、 $\alpha$ -ナフタリン酢酸、フェノキシ酢酸、馬尿酸、ジフェニル酢酸、ベンジル酸、ケイ皮酸、2-フランカルボン酸、チオフェン-2-カルボン酸などの一塩基酸、シュウ酸、マロン酸、コハク酸、 $\alpha$ -アジピン酸、ピメリン酸、スベリン酸、アゼライン酸、セバシン酸、フマル酸、マレイン酸、イタコン酸、フェニルマロン酸、1,3-アセトンジカルボン酸、2-ケトグルタル酸、フタル酸、イソフタル酸、テレフタル酸、スルホサリチル酸、2,2-チオグリコール酸などの二塩基酸、トランス-アコニット酸、クエン酸、トリメシ

酸、トリメリト酸、などの多価酸、硫酸、ホウ酸、リン酸、過塩素酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸などの無機酸であり、また、ピクリン酸などの酸性化合物であってもよい。

水酸化シアノカルニチンと当該RHとの比は当該酸が1価であるものについては1:1、2価であるものについては1:1もしくは2:1が好ましい。多価であるものについては1:1もしくは当該酸RHの一つの酸性官能基に対して水酸化シアノカルニチンが当量でよい場合もある。ここで得られるL-シアノカルニチンと光学不活性な酸RHとの塩を分別晶出する溶媒としては例えばメタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、メトキシエタノールまたは、これらと水の混合溶媒が用いられる。分別晶出の回数、濃度および温度は分別晶出を行なう当該塩Ⅲの性質および塩Ⅲと溶媒の組合せによって異なるが、1回ないし数回の分別晶出および、溶媒に対して当該塩Ⅲが10~70%の濃度になるように40~80℃付近で溶解させ、-10~50℃で徐々に晶出させるのが好ましい。

ホン酸塩の結晶を濾別し、母液を濃縮した後、この残渣を200 mlの水に溶かし、再びこれをアンバーライトIRA-410(OH型)のカラム(22mm×150mm)に流下させ、生成する粗水酸化L-シアノカルニチンの水溶液にシュウ酸・二水和物7.2gを加えて濃縮乾固する。得られた粗結晶を70%メトキシエタノール35gに加熱溶解し、再結晶を行なう。この溶液を10℃まで徐冷して晶出するL-シアノカルニチン、酸性シュウ酸塩の結晶を濾過して減圧下乾燥させ、10.0g(収率80%)の結晶を得る。mp.146-7℃、 $[\alpha]_D^{25} = -20.6^\circ$ (C=2、水)。

上記のL-シアノカルニチン・酸性シュウ酸塩9.0gに濃塩酸10mlを加えて80℃で2時間加熱した後、濃縮乾固する。得られた残渣を5%水溶液とし、アンモニア水で中和して、これをアンバーライトIR-120B(II型)のカラム(22mm×170mm)に流下させて吸着させ、水で洗った後、1Nアンモニア水でL-カルニチンを脱着させる。流出液を濃縮乾固し、L-カルニチン5.6g

こうして得られた光学活性の当該塩Ⅲは、相当する塩化物に変えることなくそのまま引き続き塩酸を加えて、加熱、加水分解し、L-カルニチン塩酸塩とする。この際、塩酸添加により生成する光学不活性な酸RHは濾過、もしくは溶媒による抽出によって回収することも可能である。このL-カルニチン塩酸塩の溶液より、イオン交換樹脂を用いて精製し、L-カルニチンを単離する方法については既に本発明者らが発明し出願した特許出願(出願番号59-187377)している通りである。

(実施例)

#### 実施例1

塩化DL-シアノカルニチン17.9gを10%水溶液とし、これをアンバーライトIRA-410(OH型)のカラム(22mm×300mm)に流下させて得られる水酸化DL-シアノカルニチン溶液に光学分割剤として等モルのD-ショウノウ-10-スルホン酸23.2gを加えて溶解させ、減圧下濃縮乾固する。この濃縮残渣をエタノールより再結晶して得られたD-シアノカルニチン・D-ショウノウ-10-スル

(収率96%)を得る mp.202-204℃、 $[\alpha]_D^{25} = -30.8^\circ$ (C=2、水)。

#### 実施例2

実施例1と全く同じ方法で得た水酸化DL-シアノカルニチン溶液にN-アセチル-L-グルタミン酸18.9gを加え溶解する。この溶液を減圧下濃縮乾固し、残渣を95%エタノールより再結晶して得られるD-シアノカルニチン・N-アセチル-L-グルタミン酸塩の結晶を濾別し、母液を約20mlまで減圧下濃縮して60%過塩素酸5.5mlを加えて冷却すると、N-アセチル-L-グルタミン酸が析出する。これを濾別し、濾液を減圧下20mlまで濃縮、続いてアセトンを加えて析出した粗結晶を、メタノール50mlに加熱溶解し、再結晶を行なう。この溶液を0℃まで徐冷して晶出するL-シアノカルニチン・過塩素酸塩の結晶を濾集して、減圧乾燥させ9.1g(収率75%)の結晶を得る。mp.171-3℃、 $[\alpha]_D^{25} = -19.4^\circ$ (C=2、水)。

上記のL-シアノカルニチン・過塩素酸塩8.5g

に濃塩酸9.5mlを加えて、実施例1と同様に処理し、L-カルニチン5.4g(収率95%)を得る。  
mp.201-202℃、 $[\alpha]_D^{25} = -30.2^\circ$  (C=1, 水)

実施例3~7

表-1に示した光学活性な酸R<sup>+</sup>Hと光学不活性な酸RHの組合わせを用いる以外は実施例1と同様の方法でL-カルニチンを分割取得する。この時のL-カルニチンの収率と比旋光度を表-1に示す。

表-1

実施例	光学活性なR <sup>+</sup> H	光学不活性なRH	L-カルニチンの収率(%)	比旋光度(α) <sub>D</sub> <sup>25</sup>
3	(+)-2-ブタンズルホン酸	p-ニトロ安息香酸	4.2	-29.2°
4	d-α-ブロムショウノウ-π-スルホン酸	ピクリン酸	3.1	-30.1°
5	Lg(+)-酒石酸	シユウ酸	6.2	-29.6°
6	D(-)-キナ酸	ベンジル酸	3.5	-28.4°
7	α-ケト-D-グルコン酸	フマル酸	4.3	-29.2°

実施例8~12

表-2に示した光学活性な酸R<sup>+</sup>Hと光学不活性な酸RHの組合わせを用いる以外は実施例

きる。

出願人 製鉄化学工業株式会社  
代表者 増田 裕治

2と同様の方法でL-カルニチンを分割取得する。この時のL-カルニチンの収率と比旋光度を表2に示す。

表-2

実施例	光学活性なR <sup>+</sup> H	光学不活性なRH	L-カルニチンの収率(%)	比旋光度(α) <sub>D</sub> <sup>25</sup>
8	(+)-α-フェニルプロピオン酸	隣酸	2.0	-28.1°
9	d-ショウノウ酸	m-キシレンスルホン酸	4.4	-30.0°
10	Lg(-)-ジベンゾイル酒石酸	過塩素酸	6.5	-30.7°
11	D-アセチル-L-アスパラギン酸	リン酸	5.3	-29.7°
12	D-p-ニトロベンゾイル-L-グルタミン酸	メチレンスルホン酸	5.5	-29.4°

(発明の効果)

このように、本発明の方法を用いることによって、従来の光学分割剤のみを用いる方法では限界のあったL-またはD-シアノカルニチン塩の光学純度と製造効率を更に向上させることができるので、L-カルニチンだけでなくD-カルニチンをも治療や研究の目的に対して十分な光学純度をもった製品として工業的に安価に製造し、供給することがで