

総合論文

液体クロマトグラフィーによる光学分割 —多糖誘導体系固定相の開発と分割特性及び大量分取への応用—

市田 昭人^{*,**}

Liquid chromatographic resolution —Development and characteristics of the chiral stationary phases consist of polysaccharide derivatives and application to large-scale separation—

Akito ICHIDA^{*}^{*}Research Center, Daicel Chemical Industries Ltd., 1239, Shinzaike, Aboshi-ku, Himeji-shi, Hyogo 671-12

(Received 27 January 1997, Accepted 19 May 1997)

The importance of optically active compounds for pharmaceutical use has increased. The high-performance liquid chromatographic resolution on chiral stationary phases is useful for large-scale preparation of optically active compounds and estimations of their separating costs as well as determination of optical purity. Chiral stationary phases consisting of polysaccharide derivatives were developed by adsorbing them onto silica gel based on the findings obtained from cellulose triacetate. The characteristics of cellulosic carbamates (OC, OF, OG, OD) and amylosic carbamates (AS, AD) as well as cellulosic esters (OA, OB, OJ, OK) in chiral recognition are considered here along with resolved compounds. Optimization of the separating conditions was performed while considering differences among acidic, neutral and basic analytes. Furthermore, we introduced the principle and applications on the Simulated Moving Bed process to produce optically active compounds on the industrial scale.

Keywords : chiral stationary phases (CSPs); polysaccharide derivatives; optical resolution; liquid chromatography (HPLC); simulated moving bed process (SMB).

1 はじめに

光学活性化合物の製造法及び分析法の技術確立は、医薬、不斉合成の分野においてその重要性を増してきている。キラル固定相を用いる液体クロマトグラフィーによる光学分割法は、光学純度の分析から目的とする光学活性化合物の分取までと適用範囲が広く、簡便さと実用性

を兼ね備えた方法として広く受け入れられている¹⁾。キラル固定相は、用いる不斉認識剤の分子量の大きさによって、光学活性アミノ酸誘導体などの低分子と、タンパク質や多糖誘導体などの高分子とに大別される²⁾。低分子の場合には、分割の際に固定相と化合物との間に生ずるであろう相互作用を予想して設計された固定相が多く、分割機構もかなり解明されている。一方、高分子の場合には、単純な脂肪族カルボニル化合物から複雑な構造の化合物まで分割できる化合物の範囲が広く、分割機構の解明も最近精力的に行われている³⁾。

本稿では、著者らが関わってきた多糖誘導体系の固

^{*} ダイセル化学工業(株)総合研究所: 671-12 兵庫県姫路市網干区新在家 1239

^{**} 現在ダイセル化学工業(株)キラルケミカルズ事業部: 100 東京都千代田区霞が関 3-2-5, 霞が関ビル

定相を中心に、それらの開発及び分割特性、大量分取への応用について解説する⁴⁾。

2 セルロース及びアミロース誘導体系 固定相の開発経緯

セルロースは、D-グルコピラノースが β -1,4 型で繰り返し結合した自然界に最も広く存在する光学活性な高分子である。安価で大量に高純度品を入手でき、しかも誘導体化が可能な水酸基を有する魅力的な材料である。

開発に着手した当時、既に Hesse らによって天然の微結晶セルロースを不均一条件下でアセチル化して得た微結晶三酢酸セルロース (MCTA) による興味深い光学分割の例が知られていた⁵⁾。しかし、分割できる化合物の範囲は限られ、粉碎型 MCTA を充てん剤に用いているためカラム段数も低く、実用性の乏しいものであった。これらの欠点は、セルロースの水酸基をベースにアセテートから他の誘導体へ変換し、誘導体を機械的強度と形状の均一性とを兼ね備えた担体にコーティングすることにより克服され、実用化⁶⁾への道が開けると思われた。

Hesse らの論文には MCTA をいったん溶解後、再析出させた三酢酸セルロースでは光学分割能がほとんど消

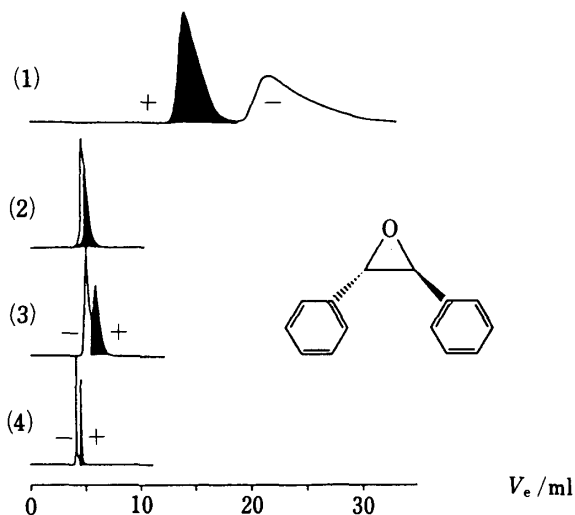


Fig. 1 Chiral discrimination of *trans*-1,2-diphenyl-oxiran

(1): on MCTA; eluent, ethanol; (2): on cellulose triacetate crystallized in formamide at 180°C; eluent, ethanol; (3): on moderate crystalline CTA; eluent, ethanol; (4): on CTA coated on silica gel; eluent, hexane/2-propanol (9/1, v/v); column size 0.46 cm i.d. $\times$ 25 cm; flow rate, 0.5 ml/min; V_e : elution volume; V_D : dead volume

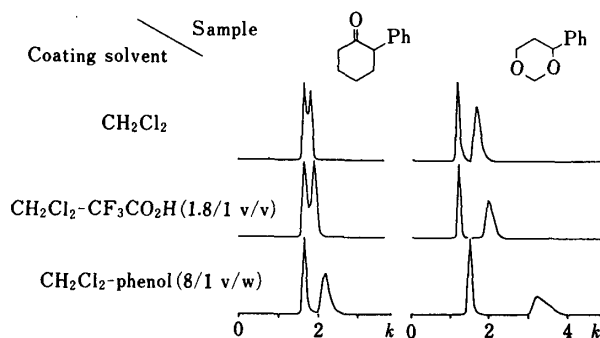


Fig. 2 Effect of coating solvents on chiral discrimination ability of cellulose triacetate

k = capacity factor

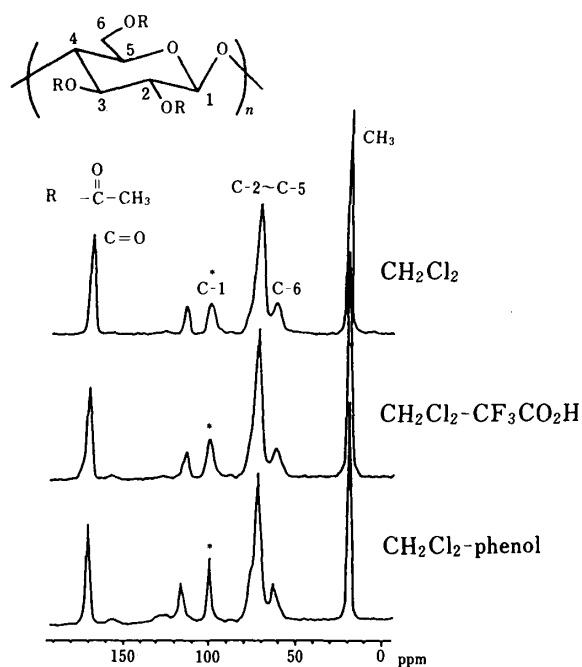


Fig. 3 67.8 MHz cross-polarization/magic angle spinning (CP/MAS) ^{13}C NMR spectra for cellulose triacetates solidified from different solvents

失することから、天然のセルロースが持つ結晶構造が光学分割に重要な役割を果たしており、MCTA の溶解を伴う操作は適用できないことが示唆されていた。

ところが、Fig. 1 に示すように均一条件下得られた通常の三酢酸セルロースを粉碎した充てん剤でも、又シリカゲルに三酢酸セルロースをコーティングした充てん剤でもシャープな分離ピークを与えることが分かった⁷⁾。このことから光学分割能の発現には、天然セルロースに由来する結晶構造は必ずしも必要ではないことが分かつ

た。Fig. 2 にはコーティング時の溶媒の種類による光学分割能の変化を示した。興味深いことは、溶媒の種類によってラセミ体に対する光学分割能が変化することである⁸⁾。コーティング溶媒の違いは三酢酸セルロースにどのような変化を引き起こしているのだろうか。このことを知るために、各コーティング溶媒から再沈析出させた三酢酸セルロースの ^{13}C NMR スペクトルを測定した (Fig. 3)。各炭素の化学シフト値はほとんど変化していないが、多糖の立体構造を最も反映するグルコース残基 1 位炭素のシグナル幅が塩化メチレン、塩化メチレン-トリフロロ酢酸、塩化メチレン-フェノールの順にシャープになっており、かつそれぞれの緩和時間には違いが認められなかった⁹⁾。このことから、Fig. 3 に示した溶媒の順に三酢酸セルロースの立体規則性が増し、光学分割能が向上したと考えられる。

三酢酸セルロースの光学分割能発現の要件解明を契機に、溶解操作を伴う均一条件下での反応、コーティングが可能となり、各種セルロース誘導体開発の途が開けた (Fig. 4)。一方、アミロースはセルロースと同じグルコース残基を繰り返し単位に持つが、結合様式が α 型であるためアミロース主鎖はラセン構造を持つと言われている¹⁰⁾。アミロース誘導体については、著者らのこれまでの経験によると、エステルよりもカルバメート誘導体で高い分割能が得られる傾向にある。これら多糖誘導体系の固定相では、誘導体化で導入されたアルキルあ

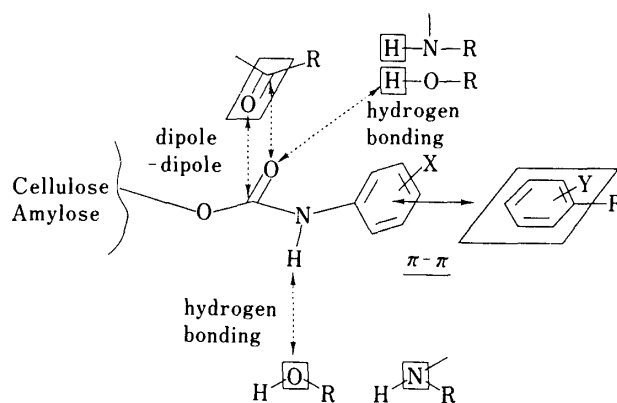


Fig. 5 Interactions between a chiral stationary phase and analytes

るいは芳香族エステル、カルバメート基が規則正しく配列した“不斉場”が形成されていると考えられる。

Fig. 5 には、多糖誘導体が持つ官能基と基質（ラセミ体）が有する水酸基あるいはアミノ基、カルボニル基、芳香族基との間に推定される相互作用を示した。対掌体間におけるこれら相互作用の違いがカラム内での移動速度に反映され、光学分割が行われると考えられる。

以下に主なセルロース系、アミロース系固定相の特徴について述べる。

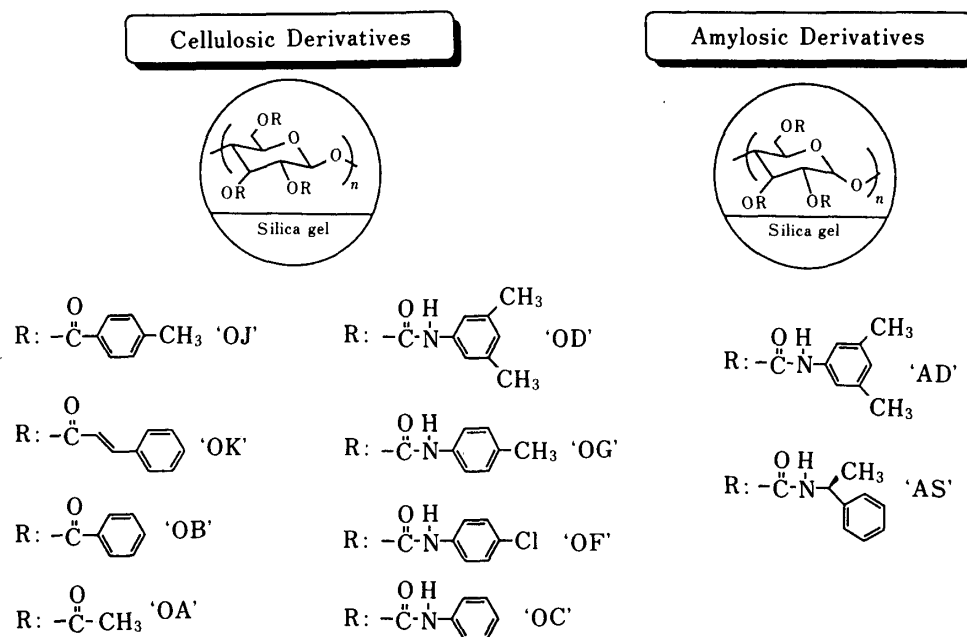
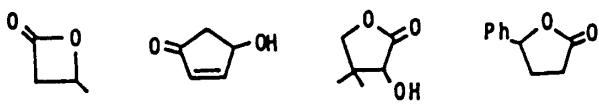
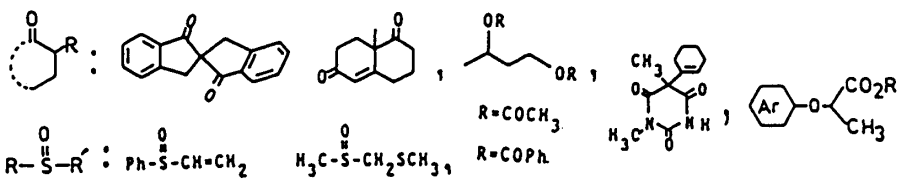
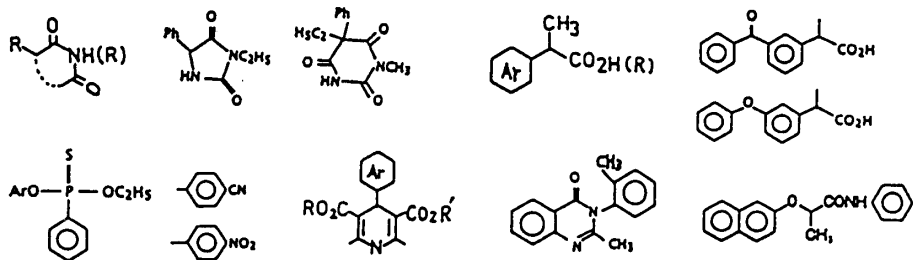


Fig. 4 Commercially available chiral stationary phases consisting of polysaccharide derivatives

Table 1 Chiral recognition ability of cellulosic esters

General tendency	Examples of structures
OA • Smaller size cyclic carbonyl compds.	4 or 5-member ring lactone derivs., β -butyrolactone, pantolactone, 4-hydroxycyclopentenone etc. 
OB • Smaller-median size aliphatic carbonyl compds. • Smaller-median size aromatic compds.	• cyclic ketone, sulfoxides, 5 or 6-member ring imides derivs., diol diacetates etc. • acyclic or cyclic alcohols cont'g aromatic group or its esters, methyl 2-phenoxypropionates, etc. 
OJ OK Median size aromatic compds.	cyclic imides cont'g aromatic substituent, aryl propionic acid derivs., aryl thiophosphate, dihydropyridine derivs., etc. 

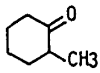
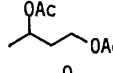
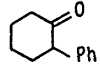
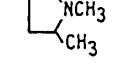
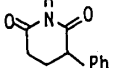
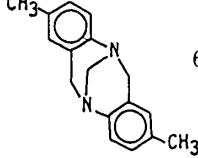
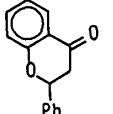
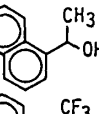
3 分割特性

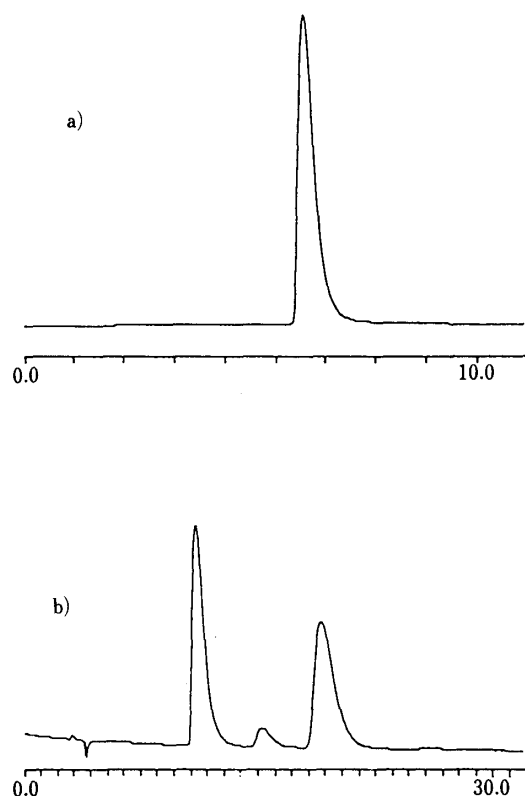
3・1 セルロースエステル誘導体

Table 1 には、セルロースエステル誘導体で分割される代表的な化合物を示した。三酢酸セルロースをシリカゲルにコーティングした固定相 (OA) では、分子サイズの小さいカルボニル化合物が、セルローストリベンズエート (OB)⁴⁾⁷⁾¹¹⁾ では分子サイズのより大きなカルボニル化合物やその類縁体であるスルホキシド類がよく分割される。カルボニル基だけを持つ化合物も分割され、固定相と化合物が有するカルボニル基どうしの双極子-双極子相互作用が分割に重要な働きをしていると思われる。セルローストリシナメート (OJ) の分割特性はセルローストリシナメート (OK) と似ているが、溶出時間は OK よりも短く、医薬品によく見られる環状イミドやアリールプロピオン酸系誘導体に高い光学分割能を示す。

OB と OJ との構造的な違いは、フェニル基上のメチル基の有無だけであるが、両者の光学分割能は大きく異なる (Table 2)。2-フェニルシクロヘキサノンやフェニルエチルアルコールといった分子サイズの小さい化合物は OB で、9-アントラニトリフプロロエタノールやトレガー塩基のように分子サイズの大きな化合物は OJ で分割されやすい。メチル基の有無が“不斉の場”の構造に大きな影響を及ぼしていると考えられる。多糖誘導体の中でも、セルロース 3,5-ジメチルフェニルカルバメート¹²⁾ 及びセルロース 4-メチルベンズエート^{13)~15)} は含水アセトニトリルあるいは過塩素酸ナトリウムを含む水/アセトニトリルなどを移動相として、各種の化合物が分割される。興味深い分割例として Fig. 6 には、ニコチンの分割を示した。化合物は塩基性であるが、移動相にトリフルオロ酢酸を添加することにより、良い分離が得られた。移動相中でニコチンのピリジン環窒素とトリフルオロ酢酸 ion-pair zwitter ion 型の分子が形成

Table 2 Difference of the chiral recognition ability (α -value) between cellulose benzoate (OB) and cellulose 4-methylbenzoate (OJ)

	OJ	OB		OJ	OB		OJ	OB
	1.0	1.15		1.17	1.57		1.0	1.73
	1.18	1.47		1.58	1.20		1.0	1.21
	2.15	1.19		1.21	1.0		6.05	1.0
	1.17	1.0		1.54	1.37			
				1.22	1.0			

**Fig. 6** Resolution of racemic nicotine on cellulose *p*-methyl benzoate (OJ)

Eluent: a) hexane/2-propanol=99/1; b) hexane/EtOH/trifluoroacetic acid=90/10/0.1; Flow rate: 1.0 ml/min; Detection: UV 240 nm

され、トリフルオロ酢酸セルロース 4-メチルベンゾエートのカルボニル基とが双極子-双極子相互作用し、分割できたものと推定している。

3・2 セルロースカルバメート誘導体

セルロースフェニルカルバメート (OC) 及び一置換フェニルカルバメート誘導体 (OG: 4-メチル, OF: 4-クロロ)¹¹⁾¹⁶⁾を用いた固定相は、それ自体が水素結合のプロトンドナー及びアクセプターとしてのアミド官能基を有しており、様々なラセミ体が分割される (Table 3)。カルバメート誘導体の中でもセルロース 3,5-ジメチルフェニルカルバメート (OD) は、広い範囲のラセミ体に高い光学分割能を示す。特に、アリアルオキシプロパノールアミンの構造を有する β -ブロッカー系の医薬品及び軸不斉を有するビナフチル誘導体、アミノ基を保護したアミノ酸誘導体等がよく分割される。

3・3 アミロースカルバメート誘導体

アミロースカルバメート誘導体はセルロースとは異なる特徴的な光学分割能を有する (Table 4)。光学活性基を導入した (*S*)-メチルベンジルカルバメート (AS) は環上に不斉中心を有する β -ラクタム類を初めとするラセミ体に高い光学分割能を示す。3,5-ジメチルフェニルカルバメート (AD) は、立体的に込み合っている三級あるいは四級の不斉中心を持つ化合物に対して、高い光学分割能を示す。AD は OD と同じ導入基を持つが、

Table 3 Chiral recognition ability of cellulosic carbamates

General tendency	Examples of structures
OC OG OF • Aliphatic ketones • Aromatic compds. cont'g various functional group	• 4-siloxycyclopentenone, 4-alkoxycarbonylmethylcyclopentenone (OC, OG) • tetrahydroquinoline alkaloids, biphenyl atrop isomers sulfoximines, benzodiazepine derivs., dihydropyridine derivs., etc.
OD Aromatic compds. cont'g various functional group	• amines cont'g aromatic ring (s): (tetrahydroquinoline alkaloids, atropine, homatropine) • aryl propanolamines (propranolol etc.), dihydropyridines • N-substituted amino acids • binaphthol analogs

Table 4 Chiral recognition ability of amylosic carbamates

General tendency	Examples of structures
AS Heterocyclic compds. their chiral centers on the ring	β -lactames, dihydrobenzothiadiazine derivs.
AD Compds. with bulky substituents at the chiral center	a: R = Me b: R = Et c: R = CH₂Ph d: R = CH₂CH=CH₂

分割される化合物の構造は OD で分割される化合物とは相補的である¹⁷⁾。

3・4 分離のメカニズム

クロマトグラム上で分離ピークを見る度に、どのような機構で分割されているのだろうかを考えるのは、著者だけではないと思う。

分割を左右する移動相条件については次節で述べるが、ここでは不斉認識剤である多糖誘導体に視点を置いて述べる。不斉認識の中味は例えば「同数の右手と左手が存在する系に、第三者の例えば右手を差し入れて、握手のしやすさによって系内の右、左手を識別する」とことと換言できる。液体クロマトグラフィーによる不斉認識の場合には、「ラセミ体がカラムの中を通過する際、各対象体とキラルな固定相との間でジアステレオメリックな会合体が可逆的に形成され、それらの安定性の違いが各対象体のカラム内での移動速度に反映されて分割が行われる」と説明できる。

高分子系の不斉認識剤の場合には、高分子主鎖の立体構造及び導入する側鎖の官能基の構造により不斉識別能が変わってくる。アミロース トリス ((*S*)-メチルベンジルカルバメート) (AS) は、 β -ラクタム類に高い不斉識別能を示す。一連の β -ラクタム類 18 種類に対する不斉識別能を調べたところ、完全分割が 15 個及び部分分割が 2 個、分割しなかったのが 1 個であった。対応するセルロースカルバメート (CS) の場合では、完全分割が 1 個、部分分割が 2 個、分割せずが 14 個と能力に大きな違いが見られ、多糖主鎖の立体構造の違いが不斉識別に重要な影響を与えている。一方、導入する置換基の立体構造を変えたアミロース トリス ((*R*)-メチルベンジルカルバメート) (AR) の場合には、完全分割が 8 個、部分分割 6 個と、CS の場合ほどではないが低い不斉識別能であった。導入基の立体構造による不斉選択性の違いについては既に報告されている。例えば AS 及び AR で共に分割されるが、一方での分離係数が小さい二、三の化合物では、各々の固定相での対掌体の溶出順番の逆転が見られる¹⁸⁾。高い不斉識別場を構築するためには多糖主鎖及び導入する置換基の構造との最適な組み合わせをいかに行うかが重要となる。そのような設計指針はいまだ確立されておらず、試行錯誤によるところが大きい。多糖誘導体系の固定相では、誘導体化で導入されたアルキルあるいは芳香族エステル、カルバメート基が規則正しく配列した“不斉の場”が形成されていると考えられる。その場において化合物と多糖誘導体との間に生ずる相互作用の強さが対掌体間で差異があるた

めに、不斉識別が成される。分割機構の解明には入手が容易ではない多糖誘導体の高次構造に関する情報が必要であり、分離結果を説明できる各対掌体の多糖誘導体に対する相互作用の差異の把握は大きな関心事であった。しかし、最近セルロースカルバメート誘導体共存下でのビナフトールの NMR スペクトルの詳細な解析が報告されている。それによると、ビナフトールのセルロースカルバメート誘導体に対する相互作用の強さは対掌体間で明らかに違い、カルバメートのカルボニル基の酸素原子とビナフトール水酸基の水素原子との水素結合の可能性が示されている¹⁹⁾。

4 カラム分離の最適化

4・1 順相系分離の最適化

Fig. 7 には、有機溶媒を移動相に用いる場合の分割条件 (カラム, 移動相) 設定の考え方を示した。まずラセミ体の官能基から、その化合物が中性、塩基性、酸性のいずれに相当するかを判断する。中性、塩基性ならばヘキサン/2-プロパノール混合溶媒を移動相に用いて、分割能が高い OD, AD から順に試みるのが良い。部分分割した場合には、両溶媒の混合比率を変化させて最適化を試みる。特に、AD 及び AS では 2-プロパノールの代わりにエタノールを用いると良い分離を達成できることが多い。遊離のカルボン酸基を持つラセミ体場合には OD, OJ を用いて移動相にトリフロロ酢酸を 0.1% 添加すると効果がある。酸無添加系ではラセミ体は溶出せず、酸添加によりラセミ体が有するカルボン酸の解離が抑えられ、固定相との好ましい相互作用が促進されることが考えられる。フェノール性の水酸基を複数個有する場合にも酸添加は効果がある。塩基性化合物の場合には、酸性のラセミ体ほど顕著な効果はないが、移動相にジエチルアミンを加えることにより、シャープな分離を達成できることがある。又、ヘキサン/アルコール系で化合物の保持能が弱い場合には、アルコールの代わりにメチル *t*-ブチルエーテルを用いると保持が強くなり、分離される。特に、光学分割に固定相とラセミ体との水素結合相互作用が大きな役割を果たしていると考えられる場合に効果がある。

4・2 逆相系分離の最適化

逆相系の固定相としては OD-R, OJ-R があり、移動相設定の考え方は両者共通である。中性及び塩基性、酸性の 3 種のラセミ体に共通して使用できる移動相は、pH 2 の過塩素酸ナトリウムを含む含水アセトニトリル溶液であり、まずはこの移動相で試みるのが良い。更に

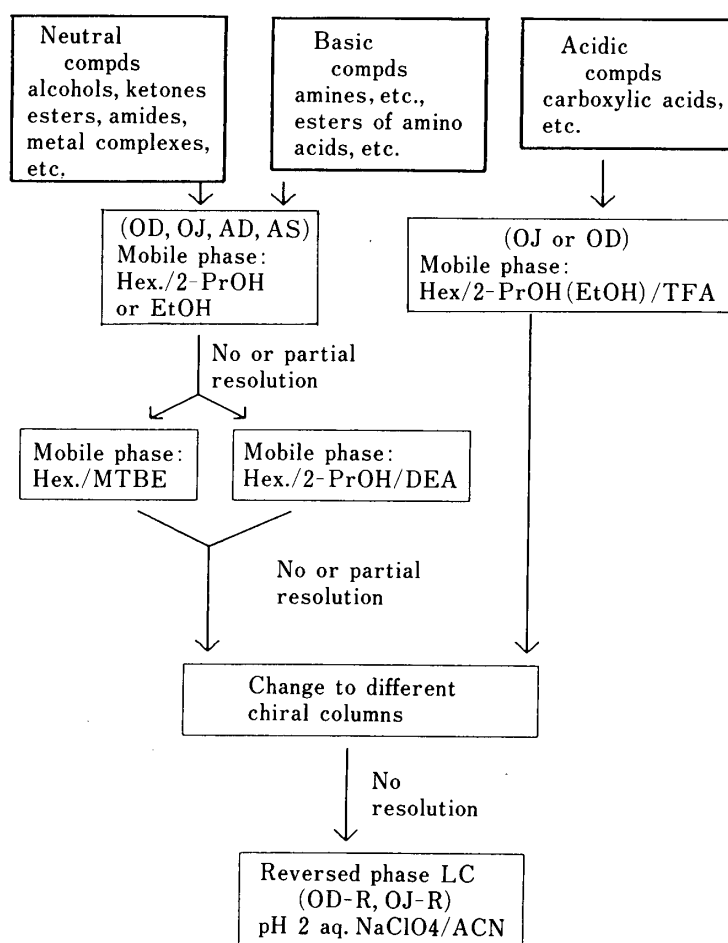


Fig. 7 Flowchart for optimization of separating conditions

TFA: trifluoroacetic acid; MTBE: methyl *t*-butylether; DEA: diethylamine; ACN: acetonitrile

良い分離を得るには、pH 及び有機溶媒、添加塩の種類、温度を最適化することが必要である。Fig. 8 には、それぞれの分離条件の設定指針を示した。中性化合物は水/有機溶媒の混合系、有機溶媒としてはアセトニトリルでシャープな分離が、メタノールで大きい分離係数が得られる傾向にある。酸性ラセミ体の場合には、移動相の酸性度を高めて、酸性基の解離を抑制することがポイントであり、pH の調整にはリン酸緩衝液のほかに過塩素酸が有効である。塩基性ラセミ体の場合には、アミンあるいはアンモニウム型いずれでも分割される。担体シリカゲルの安定性からは、pH 値を下げてアンモニウム型とし、移動相中の塩とイオン対を形成させて分割する方法が最適である。添加する塩としては、過塩素酸ナトリウムのほかに六フッ化リン酸カリウムあるいはトリフロロメタンスルホン酸ナトリウムが適している。

5 光学活性体の生産手段としての有用性

多糖誘導体系の充てん剤は大量合成が可能、取り扱いが容易で耐久性もあり、分取用としてもふさわしい特性を兼ね備えている。以下に、大量分取技術について紹介する。

光学活性体を生産する手段には、不斉合成法や微生物で目的とする一方の光学活性体を選択的に合成する方法と、ラセミ体から優先晶出法やジアステレオマー法で片方のみを分離する光学分割法との二つがある。HPLC 法は後者の一つであり、充てん剤の開発と HPLC 機器の著しい進歩とが相まって、ここ 10 年の間に急速に発展してきた技術である。

工業規模の生産プロセスとしては、総合的にコストの安いプロセスが採用される。実際には、それぞれの製薬企業が培ってきた自社技術を優先的に検討した後、困難

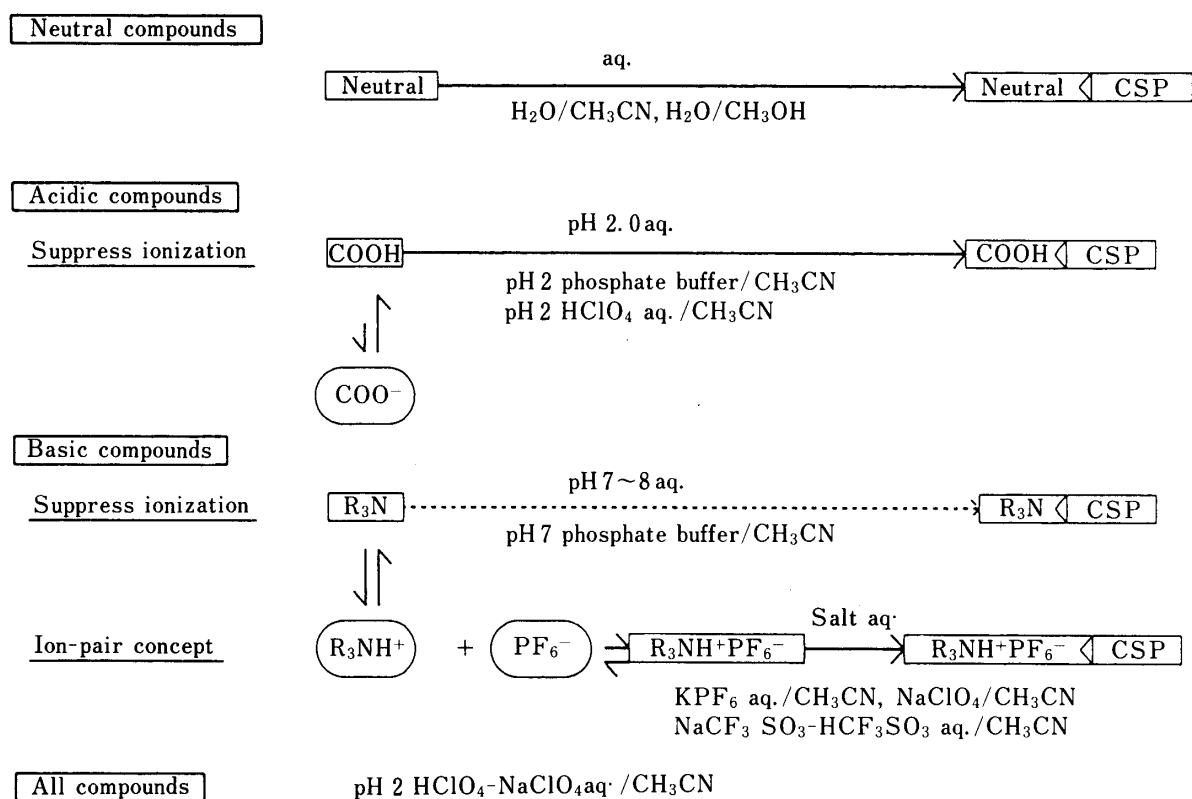


Fig. 8 Optimum mobile phases for resolution under reversed phase conditions

が伴う場合に他技術での可能性を探ることになる。各技術の特徴や対象化合物の種類によって、採用プロセスは千差万別であり、それぞれにすみ分けが進むものと思われる。

6 擬似移動床法 (SMB 法) によるキラル分離

6・1 SMB 法開発の背景

新規医薬品の商品化までには 12~15 年の期間が必要と言われており、製薬企業各社は時間との競争の下でのぎを削っている。開発段階では、高い光学純度を持つ評価用サンプルを迅速に確保することが大きな課題であり、HPLC 法による分取が極めて有効であることはよく知られている。しかし、新薬上市の段階ではその生産コストをいかに抑えるかが最も重要な課題となる。一般に、医薬品生産プロセスの決定は臨床の初期段階から中期にかけて行われ、決定には各社の開発の歴史、技術的背景が大きく影響すると思われる。

シングルカラムを用いる HPLC 法による光学活性体の生産は溶剤使用量が多く、生産効率も低いため、コスト面での競争力が低く、付加価値の高い一部の医薬品への適用を除けば、生産プロセスには不向きというのが一

般的な認識であろう。そこで、より分離効率の高い擬似移動床モデル (Simulated moving bed, SMB 法) が注目され、工業規模での生産プロセスへの応用研究が、ここ 5~6 年の間に日・米・欧で急ピッチで進められている。以下、SMB 法の原理、特徴、日・米・欧の開発の現状について紹介する。

6・2 SMB 法の原理

SMB 法の基本原理²⁰⁾は 30 年以上前に米国の UOP 社により、混合キシレンからパラキシレンを分離するためのプロセスとして開発され、1970 年代後半には異性化糖分離プロセスとして広く普及した。本法の基本特許 (米国) は 1976 年に切れており、現在では石油化学製品をはじめとして多数の商業プラントが稼働している。

Fig. 9 に、移動床モデル (True moving bed, TMB 法) と比較した SMB 法の原理を示した。TMB 法では、カラム内を充てん剤が左から右へ (速度 = +U)、移動相溶液が右から左へ (速度 = -V) と、向流で各々循環している。中央からラセミ体を注入すると、充てん剤との吸着力の強い R 体は充てん剤の流れ方向 (右) へ流され、右から入ってくる移動相溶液の一部とともに

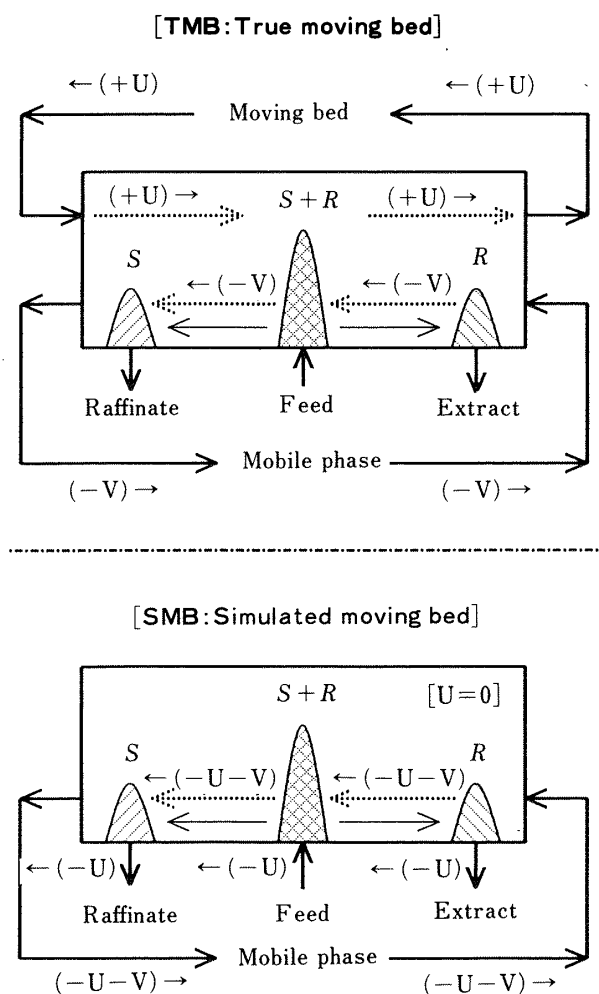


Fig. 9 Concepts of SMB and TMB

“抽出液”として系外に抜き取られる。一方、吸着力の弱い S 体は移動相溶液の流れ方向（左）に移動し、“回収液”として移動相溶液とともに系外に排出される。しかし、充てん剤を移動させることは不可能なため、Fig. 9 上の TMB 法において、“充てん剤移動速度 $U=0$ ” の場合を想定した方法が下に示す SMB 法である。SMB 法で“充てん剤移動速度 $=0$ 、移動相溶液移動速度 $=-U-V$ 、仕込口及び抜取口移動速度 $=-U$ ”とすると充てん剤、移動相溶液、仕込口及び抜取口の3者間に TMB 法と同じ相対速度が再現されることになり、TMB 法と同様の分離結果が期待される。問題は静止している仕込口、抜取口をいかに速度 $-U$ で左方向へ移動させるかという点にある。これを説明するために、Fig. 10 にはシステムの概念図を示した。①カラム、②ポンプ、③8方回転バルブ、④逆流防止弁、⑤仕込液タンク、⑥移動相溶液タンク、⑦分離液タンク（回収液及び濃縮液）、⑧システムコントローラーを表している。

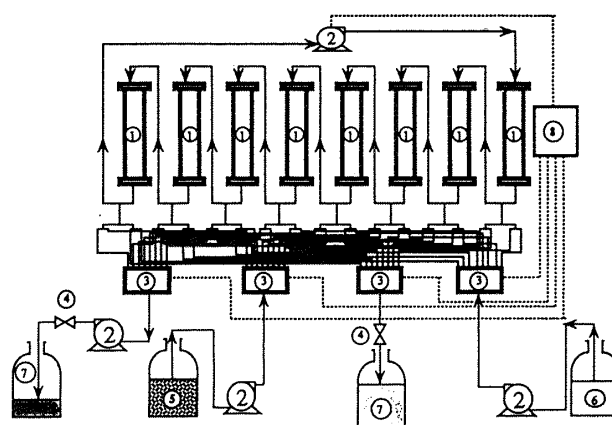


Fig. 10 Schematic flow diagram of SMB system for optical resolution

1: column, 150 mm $\times$ 20 mm i.d.; 2: HPLC pump; 3: rotary valve (8-port type); 4: back-pressure-valve; 5: feed (racemate) reservoir; 6: desorbent reservoir; 7: extract and raffinate collector; 8: system controller

る。多数本のカラムを直列に接続し、タンクとカラムとの接続配管の途中に回転バルブを配したシステムである。

上記の“静止している仕込口、取出口の左方向への移動”は4個の回転バルブを一定時間ごと（ステップタイム）に同時に切り替え、各液の仕込口、抜取口を順次一つずつ左へ移動させる。ステップタイムは生産性を左右する重要な運転条件の一つである。

6.3 SMB 法の特徴

このシステムの特徴は、①2成分の分離に適していること、②対象化合物と移動相溶液の仕込み及び分離液の抜き取りを連続的に行える、という点にある。連続操作で2成分の分離効率を飛躍的に高めることができる。著者らは、光学分割が主に2成分の分離であることから本方法に着目し、工業規模の生産プロセスとして1989年に本格的な開発に着手した。シングルカラム法と比較した場合 SMB 法は小回りがきかないため、多品種少量生産には不向きであるが、長期間の連続運転により、生産性向上やコスト低減に威力を発揮する。対象化合物及び移動相溶液の連続仕込みが可能なることから、固定相の利用度及び分離液中の目的成分の濃度はシングルカラム法よりも高い。そのため、溶剤の使用量が少なく、プロセス循環液量が大幅に削減でき、分離コスト低減に大きく寄与する。両者の主な違いを Table 5 にまとめた。

Table 5 Difference between single column method and SMB system

	Method	
	Single column	SMB
(1) Number of column	1(or 2)	4~32
(2) Sample feeding	Batch feeding	continuous feeding
(3) Suitability in separation	a) Component	• suitable for the separation of a component from many components
	b) Amount	• large-huge amount
(4) Difficulty in setting up operating conditions	easy	many factors, need much time
(5) Operability	moderate easy control	complicate CPU is indispensable
(6) Sample concentration in fractions	low	high
(7) Equipment	simple system lower cost	complicated system higher cost
(8) Others	• short equilibration time in a system • easy change of sistem for other items	• long equilibration time in a system • cost-merit in a long term operation

分離コストは一般に、ラセミ体の分離の程度及び溶解性に大きく左右される。ある種のラセミ医薬中間体を実際に分取し、生産性及び溶剤使用量をシングルカラム法と比べると、SMB法で生産性が3倍、溶剤使用量は1/6という結果が得られ、SMB法の優位性を確認できた。又、シングルカラム法では目的物が後成分の場合その生産性は、前成分を分取する場合に比べて大きく低下するが、SMB法では前、後成分いずれであってもその生産性に大きな違いは見られない。文献や学会、カタログ等でシングルカラム法と比べての優位性が多数紹介されているが、総じて生産性で2~10倍、溶剤使用量で数分の1~数十分の1の範囲である。光学活性体の収率もシングルカラム法が40~70%程度であるのに対し、SMB法では90~95%の高収率が期待でき、ラセミ体が高価である医薬分野においては非常に重要な要因の一つとなる。

6・4 SMB法によるキラル分離の現状

SMB法を利用したラセミ体の分離研究はここ数年で盛んになっており、多くの医薬品メーカーが新しい技術として大きな関心を示している。日・米・欧について見ると、開発が最も進んでいるのは欧州であり、1998年には世界で最初の実用プラントが稼動すると言われている。バイエル、チバガイギー、サンド、ベーリンガー、ヤンセン等も開発に着手しており、次々と実用化される期待も大きい。一方、日本ではこの1~2年の間に実用的なベンチ装置が市場に投入され、本法に対する関心がようやく高まりつつある。最初の実用プラントの稼動は欧州よりも少し遅れると見られている。予想に反して実用化の立ち上がりが遅れている米国についても、最近ある企業が本格的な検討に着手したとの情報がある。Table 6には、これまでに報告されたSMB法による光学分割の例を示した。

Table 6 Examples of chiral separation by SMB process

Year	Compounds	CSP	Companies	ref.
1992	Phenethylalcohol	Chiralcel OD	Daicel	21)
1992	D, L-Threonine	Chirosolve L-Proline	Separex	22)
1992	5-Isopropyl-hydantoin (IPH)	Poly (N-benzyl-L-glutamine)	Mitsubishi Kasei	23)
1992	Propranolol	Chiralcel OD	Daicel	24)
1993	Chiral epoxide	Cellulose triacetate	Separex/Sandoz Pharma	25)
1993	Hetrazepine; WEB2170	Cellulose triacetate	Separex/Boehringer Ingel.	26)
1993	Thiadiazine-2-one; EMD53986	Celluspher	Separex/E. Merck	26)
1993	Praziquantel	Cellulose triacetate	National Univ. of Singapore	27)
1993	β -Blockers	Chiralcel OD	Daicel	28)
1994	Propranolol	Chiralcel OD	UOP/Daicel	29)
1994	Propranolol	Chiralcel OD	UOP	30)
1995	Chiral epoxide	Chiralcel OD	Sandoz	31)
1995	3-Chloro-1-phenyl-1-propanol	Chiralcel OD	UOP	32)
1995	Pharmaceutical intermediate	Chiralcel OJ	UOP	33)
1995	Binaphthol	3, 5-DNBPG-Si	Separex	33)
1995	Propranolol	Chiralcel OD	Prochrom	34)
1996	Pharmaceutical intermediate	Chiralcel OF	Daicel/Nissan Chemical	35)

7 おわりに

三酢酸セルロースにおける光学分割能発現の要件解明を契機に、各種の多糖誘導体系固定相の開発が可能となった。開発当時は、ラセミ体の溶出ピークが二つに分離することすら珍しい状況であったが、現在では大概の化合物は分離できるようになってきた。しかし、多糖誘導体の立体構造と光学分割能との関係解明は、今後の大きな課題として残されている。一方、分析用から分取用への展開においては、バッチ式の従来のシングルカラム法から連続式の SMB 法を用いて工業規模での生産を実施する段階に入っている。

液体クロマトグラフィーによる光学分割は、クロマトグラム上では二つの分離ピークで現される単純な現象であるが、高分子系固定相による分割機構の解明はイメージの段階から定量的な取り扱いへと推移しており、今後の展開が期待される。

最後に、本研究・開発を進める中でご指導を賜りました名古屋大学工学部合成化学科岡本佳男教授に心から感謝を申し上げます。又、研究の推進にご配慮をいただきましたダイセル化学工業(株)の諸先輩・同僚及び総合研究所、開発部牧野部長、生産グループの諸氏に心から御礼を申し上げますとともに、逆相系の分割資料及び分離条件の最適化に際しては議論に加わっていただきました Chiral Technologies Inc.(USA) の R. Bopp 博士に御礼を申し上げます。

文 献

- 1) I. W. Wainer (ed.): "Drug Stereochemistry, Analytical Methods and Pharmacology", 2nd ed. (1993),

(Marcel Dekker, New York').

- 2) 岡本佳男: "光学異性体の分離", 季刊化学総説, No. 6, p. 132 (1989), (学会出版センター).
- 3) E. Yashima, M. Yamada, Y. Kaida, Y. Okamoto: *J. Chromatogr. A*, **694**, 347 (1995); K. B. Lipkowitz: *J. Chromatogr. A*, **694**, 15 (1995).
- 4) 大西 敦, 市田昭人, 牧野成夫: 有機合成化学協会誌, **54**, 344 (1996).
- 5) G. Hesse, R. Hagel: *Chromatographia*, **6**, 277 (1973); G. Hesse, R. Hagel: *Liebigs Ann. Chem.*, **1977**, 996.
- 6) Y. Okamoto, K. Suzuki, K. Ohta, K. Hatada, H. Yuki: *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 4763 (1979); Y. Okamoto, S. Honda, I. Okamoto, H. Yuki, S. Murata, R. Noyori, H. Takaya: *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 6971 (1981).
- 7) A. Ichida, T. Shibata, I. Okamoto, Y. Yuki, H. Namikoshi, Y. Toga: *Chromatographia*, **19**, 280 (1984); Y. Okamoto, M. Kawashima, K. Yamamoto, K. Hatada: *Chem. Lett.*, **1984**, 739.
- 8) T. Shibata, T. Sei, H. Nishimura, K. Deguchi: *Chromatographia*, **24**, 552 (1987).
- 9) T. Sei, H. Matsui, T. Shibata, S. Abe: "Viscoelasticity of Biomaterials", Ch. 4, pp. 53~64 (1992), (American Chemical Society, Washington, D. C.).
- 10) 久下 喬: 澱粉科学, **34**, 49 (1987).
- 11) K. Oguni, H. Hirofumi, A. Ichida: *J. Chromatogr. A*, **694**, 91 (1995).
- 12) K. Ikeda, T. Hamasaki, H. Kohno, T. Ogawa, T. Matsumoto, J. Sakai: *Chem. Lett.*, **1989**, 1089; A. Ishikawa, T. Shibata: *J. Liq. Chromatogr.*, **16**, 859 (1993).
- 13) T. Murakami, T. Muromoto, A. Ichida: Poster presentation, 6th International Symposium on

- Chiral Discrimination, St. Louis, 1995.
- 14) M. Tanaka, H. Yamazaki: *Anal. Chem.*, **68**, 1513 (1996).
 - 15) A. Van Overbeke, W. Baeyens, H. Oda, H. Y. Aboul-Enein: *Chromatographia*, **43**, 599 (1996).
 - 16) E. Yashima, Y. Okamoto: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **68**, 3289 (1995).
 - 17) 岡本佳男, 海田由里子: 有機合成化学協会誌, **51**, 41 (1993).
 - 18) Y. Okamoto, Y. Kaida, H. Hayashida: *Chem. Lett.*, **1990**, 909.
 - 19) E. Yashima, C. Yamamoto, Y. Okamoto: *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 4036 (1996).
 - 20) D. B. Broughton, C. G. Gerhold: U. S. Patent, 2985589 (1961).
 - 21) M. Negawa, F. Shoji: *J. Chromatogr.*, **590**, 113 (1992).
 - 22) G. Fuchs, R. M. Nicoud, M. Bailly: Proceedings of the 9th Symp. on Prep. and Ind. Chromato., 'Prep 92', Nancy, 1992, Edited by Societe Francaise de Chimie, 395 (1992).
 - 23) 倉田恒彦, 安藤信吾: *Mitsubishi Kasei R & D Review*, **6** (2), 102 (1992).
 - 24) M. Negawa, H. Ikeda: Poster presentation, 3rd Int'l Sympo. on Chiral Discrimination, Tubingen, 1992.
 - 25) R. M. Nicoud, G. Fuchs, P. Adam, M. Bailly, E. Kusters, F. D. Antia, R. Reuille, E. Schmid: *Chirality*, **5** (4), 267 (1993).
 - 26) R. M. Nicoud, M. Bailly, J. N. Kinkel, R. M. Devant, Th. R. E. Hampe, E. Kusters: Proceedings of European Meeting on SMB: Basics & Applications, Nancy, 1993.
 - 27) C. B. Ching, B. G. Lim, E. J. D. Lee, S. C. Ng: *J. Chromatogr.*, **634**, 215 (1993).
 - 28) K. Murata, H. Ikeda: Poster presentation, 4th Int'l Symp. on Chiral Discrimination, Montreal, 1993.
 - 29) M. J. Gattuso, S. Makino: Poster presentation, Chiral USA '94, Reston, 1994.
 - 30) M. J. Gattuso, B. McCulloch, J. W. Priegnitz: Proceedings of Chiral Europe '94, 1994.
 - 31) E. Kusters, G. Gerber, F. D. Antia: *Chromatographia*, **40**, 387 (1995).
 - 32) B. McCulloch, A. Chandok, H. Dandekar, J. Priegnitz, E. Arnold: Poster presentation, 6th Int'l Symp. on Chiral Discrimination, St. Louis, 1995.
 - 33) J. Blehaut, R. M. Nicoud: Poster presentation, PREP '95, Washington, D. C., 1995.
 - 34) G. B. Cox: Workshop on SMB, PREP '95, Washington, D. C., 1995.
 - 35) S. Nagamatsu, K. Murazumi, H. Matsumoto, S. Makino: on Chiral Europe '96, Strasbourg, 1996.

要 旨

溶解・再析出を経験した三酢酸セルロースを粉末化あるいはシリカゲルにコーティングした固定相でも光学分割能を示す。その光学分割能は微結晶三酢酸セルロースで重要視された天然セルロースが持つ結晶構造には依存しない。酢酸セルロース分子鎖の立体構造の規則性が重要であり、シリカゲルに担持させる際に三酢酸セルロースを溶解させるために用いる溶媒に左右される。セルロース、アミロース誘導体を用いた固定相では多数の化合物が分割されるが、それぞれ分割される化合物には違いがある。多糖を導入する置換基の構造よりも、多糖主鎖の構造の違いのほうが光学分割能に大きな差異を示す。カラム法による光学活性体の生産規模での分離には、シングルカラムを用いるバッチ式よりも試料の注入と分離成分の抜き取りを連続的に行う SMB 法が高い分離効率を示し、工業規模での生産プロセスへの応用研究が急ピッチで進められている。