

日本プロセス化学会
2012 ウィンターシンポジウム
講演要旨集

J. S. P. C.

The Japanese Society for Process Chemistry

2012 年 12 月 7 日(金)

静岡グランシップ

主催：日本プロセス化学会

協賛：有機合成化学協会、分離技術会

静岡県立大学

検索無料!!

ケムeデータ

<http://www.chem-edata.com>

「委託なんでも相談」をスタートさせました。

化学品検索

化学品データベース

※化学工業・第一利用の手引き(※登録済の企業内)(化学工業日報) [English]

化学品 化学品用途 反応条件 反応条件 蒸留塔 化学機器

検索結果: 45件ヒットしました
3ページ中1ページ(1~20)を表示しています

化学品インデックス内容

- 化学品分類
- CAS番号
- 化学構造
- 化学式
- 化学名
- 化学用途
- 反応条件
- 蒸留塔
- 化学機器

化学品インデックス内容

- 化学品分類
- CAS番号
- 化学構造
- 化学式
- 化学名
- 化学用途
- 反応条件
- 蒸留塔
- 化学機器

化学品インデックス内容

- 化学品分類
- CAS番号
- 化学構造
- 化学式
- 化学名
- 化学用途
- 反応条件
- 蒸留塔
- 化学機器

化学品用途検索

化学品データベース

※化学工業・第一利用の手引き(※登録済の企業内)(化学工業日報) [English]

化学品 化学品用途 反応条件 反応条件 蒸留塔 化学機器

検索結果: 45件ヒットしました
3ページ中1ページ(1~20)を表示しています

化学品用途検索

- 化学品分類
- CAS番号
- 化学構造
- 化学式
- 化学名
- 化学用途
- 反応条件
- 蒸留塔
- 化学機器

化学品用途検索

- 化学品分類
- CAS番号
- 化学構造
- 化学式
- 化学名
- 化学用途
- 反応条件
- 蒸留塔
- 化学機器

化学品用途検索

- 化学品分類
- CAS番号
- 化学構造
- 化学式
- 化学名
- 化学用途
- 反応条件
- 蒸留塔
- 化学機器

反応技術 (ディレクトリ) 検索

化学品データベース

※化学工業・第一利用の手引き(※登録済の企業内)(化学工業日報) [English]

化学品 化学品用途 反応条件 反応条件 蒸留塔 化学機器

検索結果: 45件ヒットしました
3ページ中1ページ(1~20)を表示しています

反応技術 (ディレクトリ) 検索

- 化学品分類
- CAS番号
- 化学構造
- 化学式
- 化学名
- 化学用途
- 反応条件
- 蒸留塔
- 化学機器

反応技術 (ディレクトリ) 検索

- 化学品分類
- CAS番号
- 化学構造
- 化学式
- 化学名
- 化学用途
- 反応条件
- 蒸留塔
- 化学機器

反応技術 (ディレクトリ) 検索

- 化学品分類
- CAS番号
- 化学構造
- 化学式
- 化学名
- 化学用途
- 反応条件
- 蒸留塔
- 化学機器

反応釜検索

化学品データベース

※化学工業・第一利用の手引き(※登録済の企業内)(化学工業日報) [English]

化学品 化学品用途 反応条件 反応条件 蒸留塔 化学機器

検索結果: 45件ヒットしました
3ページ中1ページ(1~20)を表示しています

反応釜検索

- 化学品分類
- CAS番号
- 化学構造
- 化学式
- 化学名
- 化学用途
- 反応条件
- 蒸留塔
- 化学機器

反応釜検索

- 化学品分類
- CAS番号
- 化学構造
- 化学式
- 化学名
- 化学用途
- 反応条件
- 蒸留塔
- 化学機器

反応釜検索

- 化学品分類
- CAS番号
- 化学構造
- 化学式
- 化学名
- 化学用途
- 反応条件
- 蒸留塔
- 化学機器

蒸留塔検索

化学品データベース

※化学工業・第一利用の手引き(※登録済の企業内)(化学工業日報) [English]

化学品 化学品用途 反応条件 反応条件 蒸留塔 化学機器

検索結果: 45件ヒットしました
3ページ中1ページ(1~20)を表示しています

蒸留塔検索

- 化学品分類
- CAS番号
- 化学構造
- 化学式
- 化学名
- 化学用途
- 反応条件
- 蒸留塔
- 化学機器

蒸留塔検索

- 化学品分類
- CAS番号
- 化学構造
- 化学式
- 化学名
- 化学用途
- 反応条件
- 蒸留塔
- 化学機器

蒸留塔検索

- 化学品分類
- CAS番号
- 化学構造
- 化学式
- 化学名
- 化学用途
- 反応条件
- 蒸留塔
- 化学機器

化学機器検索

化学品データベース

※化学工業・第一利用の手引き(※登録済の企業内)(化学工業日報) [English]

化学品 化学品用途 反応条件 反応条件 蒸留塔 化学機器

検索結果: 45件ヒットしました
3ページ中1ページ(1~20)を表示しています

化学機器検索

- 化学品分類
- CAS番号
- 化学構造
- 化学式
- 化学名
- 化学用途
- 反応条件
- 蒸留塔
- 化学機器

化学機器検索

- 化学品分類
- CAS番号
- 化学構造
- 化学式
- 化学名
- 化学用途
- 反応条件
- 蒸留塔
- 化学機器

化学機器検索

- 化学品分類
- CAS番号
- 化学構造
- 化学式
- 化学名
- 化学用途
- 反応条件
- 蒸留塔
- 化学機器

ケル e データ へのご登録をご検討下さい。

中国化学品法規制データベース

環境(大気、水質、土壌)、安全生産、労働安全衛生、消防、危険物および危険化学品、危険物輸送および貨物管理、危険廃棄物およびリサイクル、規制化学品、化学物質、易制毒化学品および麻薬・精神薬、化粧品、医薬品、獣用薬品、農薬、食品・食品容器包装およびその添加物、飼料添加剤、電気・電子機器、自動車。

環境(大気、水質、土壌)、安全生産、労働安全衛生、消防、危険物および危険化学品、危険物輸送および貨物管理、危険廃棄物およびリサイクル、規制化学品、化学物質、易制毒化学品および麻薬・精神薬、化粧品、医薬品、獣用薬品、農薬、食品・食品容器包装およびその添加物、飼料添加剤、電気・電子機器、自動車。

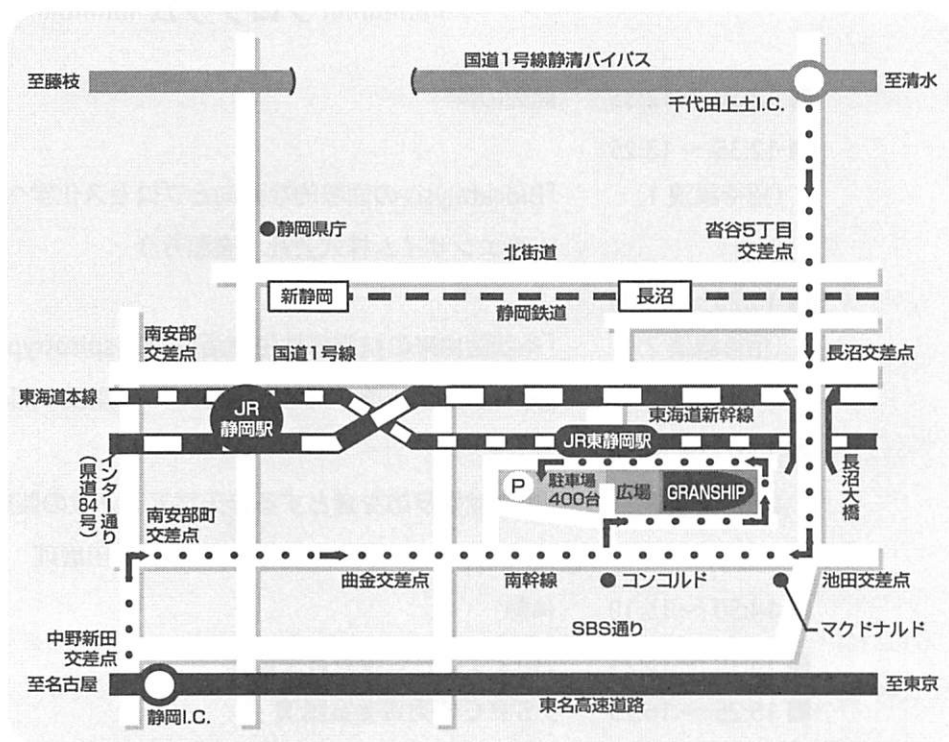
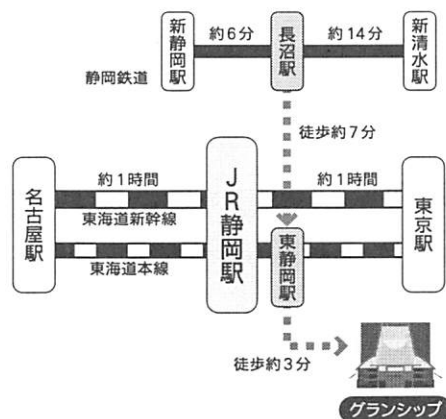
有限会社 化学品イー・データ開発

TEL: 03-3663-1988 FAX: 03-3663-1911

〒103-0007 東京都中央区日本橋浜町3-10-2 神田ビル2F

e-mail: iced@chem-edata.com

交通案内 access map



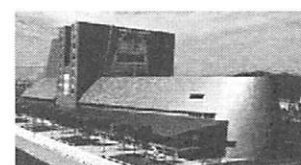
- お車で越しの場合 東名高速道路 静岡I.C.から6km、車で約20分。 静岡バイパス 千代田上土I.C.から4km、車で約10分。
- JRをご利用の場合 東海道新幹線(ひかり)で東京から1時間、大阪から2時間。静岡駅下車。東海道本線上り方面に乗り換、東静岡駅まで約3分。東静岡駅南口に隣接、メインエントランスまで徒歩約3分。
- 静鉄をご利用の場合 静岡鉄道 新静岡駅から6分、新清水駅から14分。長沼駅下車。JR東静岡駅コンコース通過、南口出口まで徒歩約7分。メインエントランスまで徒歩約3分。

JR静岡駅時刻表⇒JR東静岡駅へ (熱海方面)

10	3	13	21	33	44	55
11	3	13	23	34	43	53
12	3	13	21	33	43	53
13	3	13	22	33	44	54
14	3	13	23	33	42	53
15	3	13	22	33	43	53

JR東静岡駅時刻表⇒JR静岡駅へ (浜松方面)

15	5	17	26	39	48	55
16	8	17	24	38	50	
17	2	8	20	27	45	56
18	13	25	37	50		
19	4	21	33	41	55	
20	14	23	34	48		
21	8	18	38	49		
22	1	26	45			



静岡県コンベンションアーツセンター グランシップ

〒422-8005 静岡県静岡市駿河区池田 79-4
TEL 054-203-5710 (代表) FAX 054-203-5716
<http://www.granship.or.jp/>

日本プロセス化学会 2012 ウィンターシンポジウム

■■■■■■■■■■ プログラム ■■■■■■■■■■

- 12:30 ~ 12:35 開会の辞 満田勝 (カネカ)
- 12:35 ~ 13:25
(招待講演 1) 「Biocatalysis の国際的な動向とプロセス化学への貢献」
天野エンザイム株式会社 廣瀬芳彦 座長：加藤敏久 (味の素)
- 13:25 ~ 14:05
(招待講演 2) 「糸状菌由来の抗腫瘍性生物活性物質 spirotryprostatin 類の生物合成」
静岡県立大学 薬学部 渡辺 賢二 座長：間瀬俊明 (Meiji Seika ファルマ)
- 14:05 ~ 14:50
(招待講演 3) 「生体触媒反応を鍵とする非天然アミノ酸の製造」
株式会社エーピーアイコーポレーション 安田磨理 座長：八十原良彦 (カネカ)
- 14:50 ~ 15:10 休憩
- 15:10 ~ 15:25 2012 J S P C 優秀賞授賞式
- 15:25 ~ 16:25 J S P C 優秀賞受賞講演 座長：日景尚睦 (第一三共)
- (JSPC 優秀賞 1) LC-MS を用いた反応解析—プロセス理解を志向して—
(エーザイ) ○赤尾淳史, 宮下祐輔, 大江浩志, 小坂由紀, 新島淳, 堀昌樹
- (JSPC 優秀賞 2) Pd 触媒を用いたシアノ化によるベンゾニトリル誘導体合成のスケールアップ
(田辺三菱) ○宇津木雅之, 小澤宏樹, 初田正典
- (JSPC 優秀賞 3) 溶媒媒介転移を利用する ALK 阻害剤 ASP3026 の結晶多形制御
(アステラス) ○平澤俊, 小櫃和義, 竹口和宏, 織井亮毅, 家田成, 岡田稔
- (JSPC 優秀賞 4) 重水素化ベンゾチアゾリンを用いたリン酸触媒によるケトイミンの
不斉重水素還元反応
(学習院大理) ○酒本翼, 森啓二, 秋山隆彦
- 16:25 ~ 17:10
(招待講演 4) 「新しい酵素反応の開発と有効利用」
富山県立大学 工学部生物工学科 浅野泰久 座長：鴻池敏郎 (塩野義)
- 17:10 ~ 17:15 閉会の辞 赤井周司 (静岡県立大学)
- 17:45 ~ 19:45 情報交換会

講演者プロフィール

招待講演 1 廣瀬 芳彦 (天野エンザイム)

招待講演 2 渡辺 賢二 (静岡県立大学薬学部)

招待講演 3 安田 磨理 (エーピーアイコーポレーション)

招待講演 4 浅野 泰久 (富山県立大学工学部科)

J S P C 優秀賞 1 赤尾 淳史 (エーザイ)

J S P C 優秀賞 2 宇津木雅之 (田辺三菱)

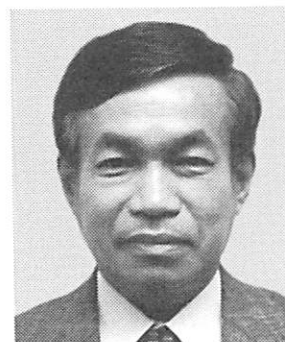
J S P C 優秀賞 3 平澤 俊 (アステラス)

J S P C 優秀賞 4 酒本 翼 (学習院大理)

廣瀬 芳彦 Yoshihiko Hirose

天野エンザイム株式会社

メディカル用酵素事業部シニアアドバイザー



【略歴】

1978 年 3 月 岐阜薬科大学薬学部製造薬学科 卒業
1978 年 4 月 岐阜薬科大学大学院博士前期課程 進学
1980 年 3 月 岐阜薬科大学大学院博士前期課程 終了
1980 年 4 月 天野製薬株式会社（現 天野エンザイム）入社
研究開発本部 第 3 G 配属（ペプチド合成、天然物医薬品合成）
1986 年 4 月 名城大学薬学部（故 鈴木真先生）研究生（1988 年 3 月まで）
1987 年 4 月 研究開発本部 研究部配属（酵素医薬品開発）
1989 年 12 月 研究開発本部 合成用酵素チーム配属（生体触媒化学）
1993 年 3 月 研究開発本部 合成用酵素チーム主任研究員
1995 年 3 月 静岡県立大学薬学部より学位取得（薬学）
2006 年 3 月 MKT 本部メディカル用酵素開発部長
2011 年 4 月 岐阜大学工学部非常勤講師
2012 年 3 月 MKT 本部メディカル用酵素事業部シニアアドバイザー

【専門分野】

- ・ バイオ（酵素）医薬品の研究・開発
- ・ 酵素を用いる医薬中間体・有用物質の生産
- ・ ヘルスケア用バイオ（酵素）サプリメントの開発
- ・ 診断薬用酵素の開発
- ・ 新規酵素の探索・用途開発
- ・ 天然物医薬品の研究・開発

【所属学会】

- 1) 日本薬学会
- 2) 日本化学会
- 3) アメリカ化学会
- 4) 酵素工学研究会（副会長）
- 5) 生体触媒化学研究会（幹事）

以上

渡辺 賢二 Watanabe Kenji

静岡県立大学 薬学部 准教授



【略歴】

1996 年 北海道大学 農学部卒業
1998 年 北海道大学 大学院農学研究科博士前期課程修了
1998 年 日本学術振興会特別研究員 (DC1) (北海道大学)
2000 年 北海道大学 大学院農学研究科博士後期課程修了
2000 年 博士 (農学) 北海道大学
2000 年 米国 ウィスコンシン大学 マディソン校 薬学部 博士研究員
2000 年 日本学術振興会特別研究員 (PD) (ウィスコンシン大学)
2001 年 米国 スタンフォード大学 化学および化学工学部 博士研究員
2003 年 北海道大学 大学院農学研究科 応用生命科学専攻 助手
2004 年 米国 南カリフォルニア大学 薬学部 Senior Research Associate
2006 年 米国 南カリフォルニア大学 薬学部 Research Assistant Professor
2008 年 北海道大学 大学院理学院 化学専攻 特任助教
2008 年 岡山大学 異分野融合先端研究コア テニユアトラック助教
2009 年～ 静岡県立大学 薬学部 准教授

【受賞歴】

2004 年 天然物化学談話会 奨励賞
2005 年 天然有機化合物討論会 奨励賞
2005 年 有機合成化学協会 研究企画賞
2006 年 日本農芸化学会 研究企画賞
2008 年 日本農芸化学会 農芸化学奨励賞
2009 年 日本農芸化学会 BBB 論文賞

安田（原） 磨理 Mari Hara Yasuda

（株）エーピーアイコーポレーション ヘルスケア第一事業部



【略歴】

1988 年 東京大学農学部農芸化学科卒業

1988 年 （株）三菱化成工業 総合研究所応用生物研究所

1994 年 （株）三菱化学 横浜総合研究所応用生物研究所

2005 年 （株）三菱化学科学技術研究センター ライフサイエンス研究所

2006 年 （株）エーピーアイコーポレーション 基盤研究所

2008 年～ （株）エーピーアイコーポレーション ヘルスケア事業部

浅野 泰久 Yasuhisa Asano

富山県立大学 教授



【略歴】

- 1975 年 京都大学農学部農芸化学科卒業
- 1980 年 京都大学大学院農学研究科農芸化学専攻博士課程単位取得
- 1982 年 京都大学大学院農学研究科農芸化学専攻博士課程修了（京大農博）
- 1981 年 日本学術振興会奨励研究員
- 1982 年 米国パデュー大学薬学部およびオハイオ州立大学化学科博士研究員（Heinz G. Floss 教授）
- 1984 年 （財）相模中央化学研究所研究員および副主任研究員
- 1990 年 富山県立大学工学部助教授
- 1995 年 富山県立大学工学部教授（生物工学研究センター）
- 2006 年 富山県立大学生物工学研究センター所長
- 2011 年 富山県立大学附属図書館長
- 1995 年 *Journal of Molecular Catalysis B:Enzymatic* (Elsevier) 編集者（現在に至る）
- 2004 年 天野エンザイム研究奨励賞選考委員
- 2004 年 富山市バイオセミナー等実行委員会副会長
- 2005 年 日本生物工学会中部支部長
- 2005 年 日本生物工学会評議員
- 2008 年 日本農芸化学会評議員
- 2008 年 日本ビタミン学会評議員
- 2008 年 日本技術者教育認定機構（JABEE）認定委員
- 2009 年 日本酵素工学会会長
- 2010 年 日本ビタミン学会ビタミン B 委員会委員
- 2010 年 旭硝子財団研究助成選考委員
- 2011 年 ERATO 浅野酵素活性分子プロジェクト研究総括

【受賞歴】

- 1990 年 有機合成化学奨励賞（（社）有機合成化学協会）、
- 1991 年 農芸化学奨励賞（（社）日本農芸化学会）
- 1993 年 とやま賞（富山県置県百年記念財団）
- 2005 年 第 53 回化学技術賞（（社）日本化学会）
- 2008 年 日本農芸化学会賞（（社）日本農芸化学会）
- 2008 年 バイオインダストリー協会賞（（財）バイオインダストリー協会）
- 2011 年 紫綬褒章

赤尾 淳史 Atsushi Akao

エーザイプロダクトクリエーションシステムズ
ファーマシューティカル・サイエンス
&テクノロジー機能ユニット
原薬研究部 原薬分析研究室



【学歴】

1996年 富山大学理学部卒業（平井美朗教授）
1998年 名古屋大学大学院理学研究課 博士前期課程修了（山田静之教授、上村大輔教授）
2005年 名古屋大学大学院理学研究課 理学博士取得（論文博士、上村大輔教授）

【職歴】

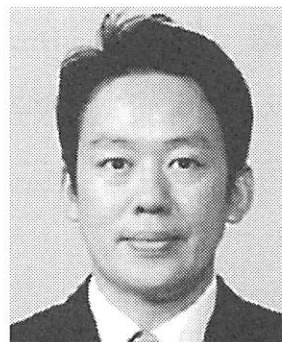
1998年～2007年 万有製薬株式会社 プロセス化学研究室
1999年 メルク・リサーチ・ラボラトリーズ（米国）滞在研究員
2007年～2010年 エーザイ株式会社 原薬研究部 プロセス化学鹿島研究室
2010年～ エーザイ株式会社 原薬研究部 原薬分析研究室 構造解析担当

【受賞歴】

2012年 JSPC（日本プロセス化学会）優秀賞

宇津木 雅之 Masayuki Utsugi

田辺三菱製薬株式会社
CMC 本部プロセス化学研究所
研究主任



【略歴】

2003 年 早稲田大学理工学部化学科卒業

2005 年 早稲田大学大学院理工学研究科化学専攻修士課程修了

2007 年 早稲田大学理工学術院助手（～2008 年 3 月）

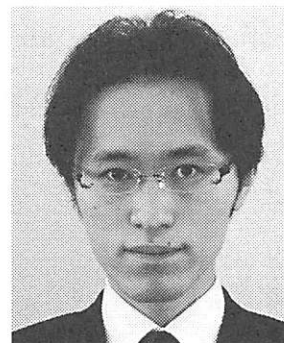
2008 年 早稲田大学大学院理工学研究科化学専攻博士課程修了
（博士（理学），中田 雅久教授）

2008 年 田辺三菱製薬株式会社 CMC 研究センタープロセス化学研究部入社

2011 年～ 現職

平澤 俊 Shun Hirasawa

アステラス製薬株式会社 合成技術研究所



【略歴】

2006 年 早稲田大学 理工学部 化学科 卒業

2008 年 早稲田大学 理工学研究科 化学専攻 修士課程 修了

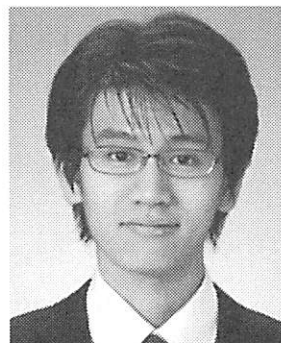
2008 年 アステラス製薬株式会社 合成技術研究所 入社

【受賞歴】

2012 年 JSPC（日本プロセス化学会）優秀賞 受賞

酒本 翼 Tsubasa Sakamoto

学習院大学大学院 自然科学研究科
化学専攻 博士後期課程 3 年



【略歴】

2003 年 神奈川県立多摩高等学校 卒業
2008 年 学習院大学 理学部化学科 卒業
2010 年 学習院大学大学院 自然科学研究科化学専攻 博士前期課程 修了
2010 年～現在 学習院大学大学院 自然科学研究科化学専攻 博士後期課程
(指導教員：秋山隆彦 教授)

【受賞歴】

2012 年 JSPC (日本プロセス化学会) 優秀賞 受賞

Biocatalysis の国際的な動向とプロセス化学への貢献

天野エンザイム（株）メディカル用酵素事業部

○ 廣瀬芳彦

Global trends in biocatalysis and its contributions to chemical processes

Yoshihiko Hirose,*

Medical Enzyme Division, Amano Enzyme Inc.

1-2-7, Nishiki, Naka-ku, Nagoya, 460-8630, Japan

yhirose@amano-enzyme.ne.jp

Enzymes have been used to obtain single enantiomers in pharmaceutical and agrochemical business as versatile biocatalysts since the 1980's. Among enzymes, hydrolases like lipases, proteases, acylases etc. have been most popular to resolve racemates because they have been commercially available and easy to handle for organic chemists. The simple yield of resolution is maximum 50% and it is not satisfied from the green chemistry. In order to overcome the disadvantage of resolution with hydrolases, the combination of racemization process using enzymes or chemical reagents as dynamic kinetic resolution (DKR) or desymmetrization using prochiral substrates has been investigated to improve the chemical yield up to 100% yield. In the 1990's, Oxidoreductases have been investigated to obtain chiral alcohols from ketones, however another enzymatic system is necessary to reproduce Co-enzymes like NAD^+ or NADP^+ . These systems sometimes apply with genetically modified microorganisms as whole cell biocatalyst instead of isolated enzymes. In the 2000's, transaminases, amine oxidases, etc have been investigated to produce chiral amines, and then aldolases have been used for C-C bond formation. Biocatalysts optimized by recent directed evolution meet the opportunity of the process research of new and recently launched drugs.

In this presentation, global trends in biocatalysis and its expectation will be reviewed.

海外大手製薬 3 社の開発中の合成医薬品 128 品目のうち、光学活性体は 69 品目（不斉炭素数 135 個）あり、54%の比率となっている¹⁾。その詳細を見てみると、69 品目のうち光学活性な原料を用いたキラルプール法による光学活性体は 27 品目（不斉炭素数 74 個）、不斉合成による得られる光学活性体は 30 品目（不斉炭素数 43 個）、さらにラセミ体からの不斉合成（分割）による光学活性体は 12 品目（不斉炭素数 18 個）となっており、不斉合成により導かれる医薬品比率は 61%（42/69）で、誘導された不斉炭素は 45%（61/135）となっている。ここに見られる最近の動向としては、化合物には分子内に 2 個（135/69）の不斉炭素を持ち、分子内で 1.5 個（61/42）の不斉炭素が誘導されている。また、2010 年に承認された合成新薬は 13 品目あり、そのうち光学活性体は 8 品目に

なり、83%の比率となっている²⁾。今更ながら、効率よく光学活性体を製造することが重要なことは言うまでもなく、酵素などの生体触媒を利用する方法はこの30年で大きく進展しており、最近のトレンドをまとめてみた。

1、生体触媒用酵素の世代分類

1980年以前にすでに工業規模で実用化されている例もあり、たとえばL-アミノアシラーゼによるアミノ酸製造などが代表的な例である。さらに、MITのKlibanovらにより有機溶媒中でのリパーゼの酵素反応も検討されていた。本年5月に、Bornscheuerらにより生体触媒を3世代に分類した変遷の報告³⁾があり、これを参考に大きく進展してきた最近の30年に絞り、酵素反応を形態別に3分割してみた。(図1)

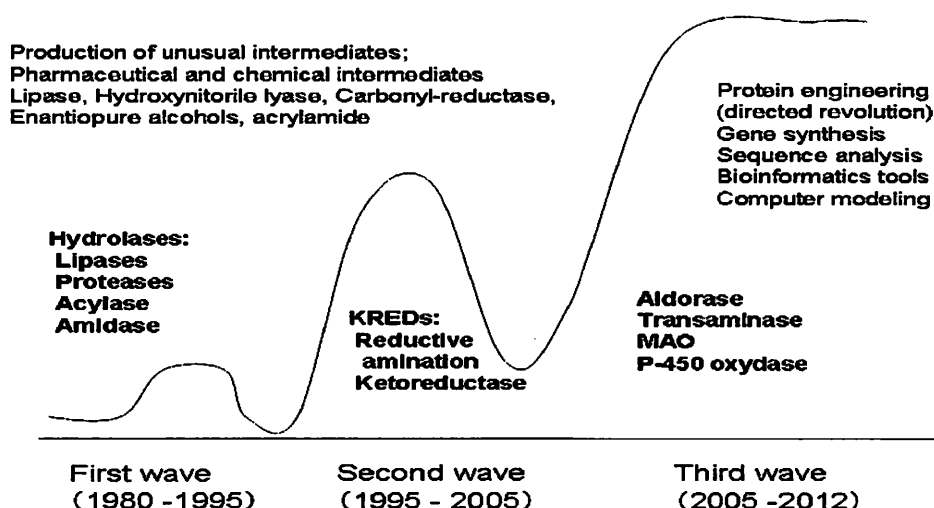


図1 合成用酵素のトレンド

第一世代：1980年代は、特にリパーゼ、エステラーゼやプロテアーゼといった加水分解酵素の利用が盛んであり、その理由としては、①多くの種類の酵素が工業的に安価に供給されていた ②取り扱いが簡単で常温、常圧の反応で特別な装置が不要である ③基質の認識が広く、立体あるいは位置特異性が高い ④多くの有機溶媒が使用可能である ⑤補酵素系を必要としないため反応系

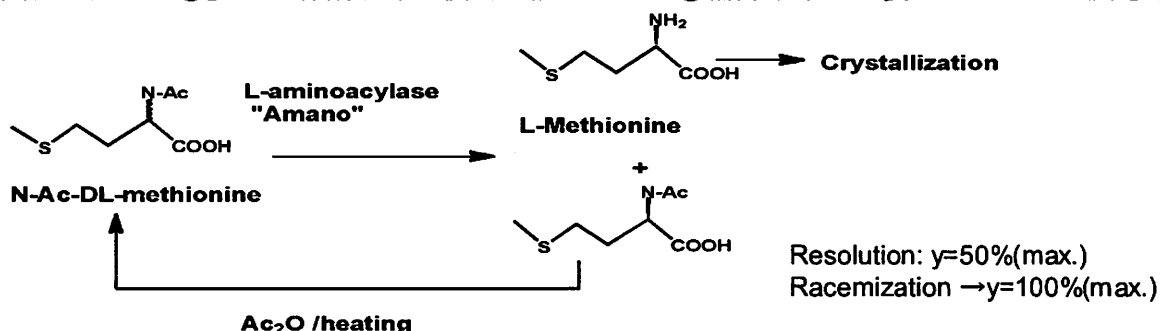


図2 L-アミノアシラーゼによるL-アミノ酸の生産

が単純であるなどがあげられる。医薬品の製造においては、特に治験の早い段階ではスピードが重視されることから、入手容易なラセミ体からのリパーゼを用いた分割反応が多く行われ、今でも重要な手法となっている。図2に古くからアミノ酸の分割に利用されているL-アミノアシラーゼを用

いる工業化方法を示すが、目的とするL-アミノ酸を晶析させ、残差を化学的ラセミ化を繰り返すことにより、収率よくL-アミノ酸が製造されている。

第二世代：1990年には、光学活性なアルコールを得るために、ケトン類の還元反応を利用する酸化還元酵素が盛んに検討されるようになった。ケトン類からの還元反応は、生体成分の分解、代謝工程に多く見られる反応で、古くから研究対象となっていた。しかし、本来の酵素反応に加え、補酵素による電子伝達反応が存在するために、もう一方の補酵素の再生酵素が必要となり、単離酵素を用いた場合は、2つの酵素反応の組み合わせによるスケールアップファクターが煩雑となる。

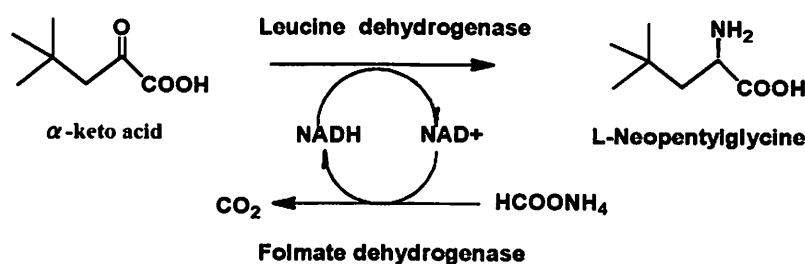


図3 酸化還元酵素による非天然アミノ酸の製造

還元的アミノ化反応により、基質となる α -ケト酸から収率よく光学活性アミノ酸が製造されている（図3）。一方で、ギ酸脱水素酵素の反応が必要で、補酵素の再生系（ $\text{NAD}^+ \rightarrow \text{NADH}$ ）が進行する2酵素反応系になっている。

第三世代：2000年代になると、転移反応、酸化反応、炭素-炭素結合反応など、さらに進化した酵素反応が実用化されてきた。代表的な酵素としては、トランスアミナーゼ、モノアミンオキシダーゼ、アルドラーゼなどが分類される。

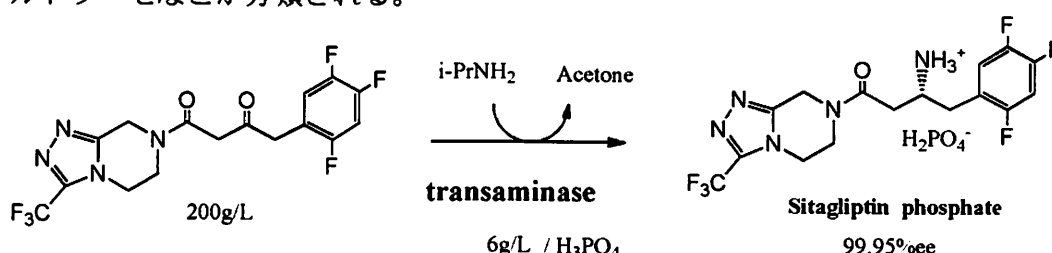


図4 酵素法による糖尿病治療薬の生産

図4は2010年にMerck/Codexis両社より発表されたプロセスで、化学法からの切り替えが成功した例としてグリーンケミストリーの観点からも大変興味深い例である⁵⁾。また、directed evolutionによる酵素改変や最終工程での酵素反応など多くの示唆を与える実例であり、詳細を後述したい。

2. 第一世代の酵素反応における最近の動向

単純な分割反応は、最大収率が50%にとどまることから、不要なエナンチオマーのラセミ化再利用が重要な付帯プロセスとなる。再利用する方法として、①別反応で、不要なエナンチオマーをラセミ化し、原料に戻す方法（図2）②酵素反応と同時にラセミ化を行うことで、動的に一方のエナンチオマーに収束させる方法（DKR：Dynamic kinetic resolution）があり、近年は種々のラセミ

化方法との組み合わせによる DKR が盛んに検討されている。ラセミ化法としては、(a) 化学条件、(b) 酵素条件、(c) 金属条件などがある（図 5）。これらの反応様式の構築により、最大収率 100% を目指すことが可能となる。

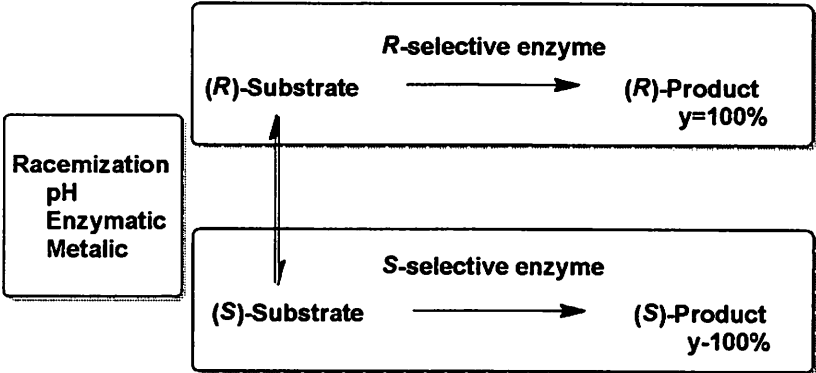


図 5 DKR の条件

図 6 には (b) 分割用酵素とラセミ化用酵素の組み合わせによる DKR の例として、D-アミノアシラーゼとアシルアミノ酸ラセマーゼの例を示すが、0. 1M の DL-N-Ac-Phe を原料として 24 時間の酵素反応を行うことで、約 95%の収率で D-Phe（光学純度 99. 5%ee 以上）を得ることに成功している⁶⁾。

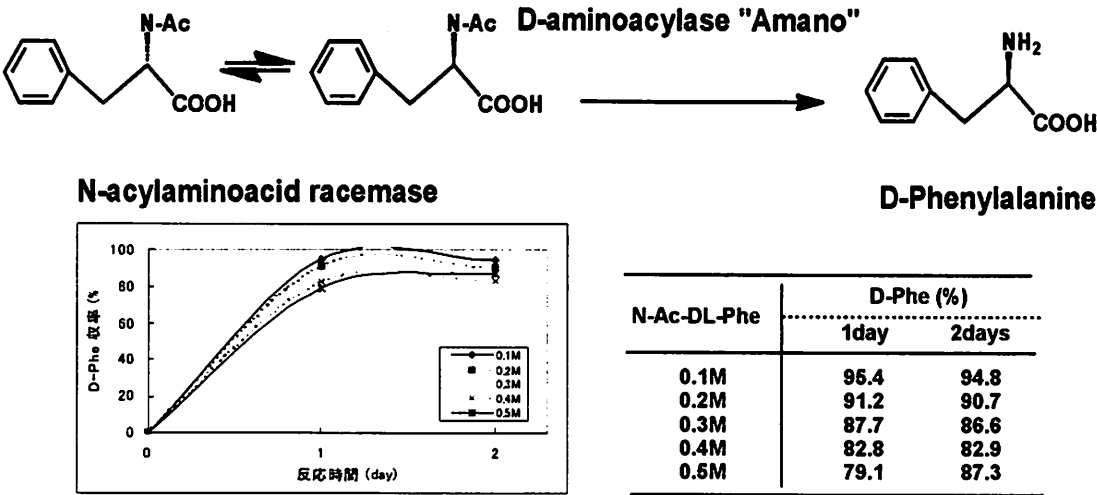


図 6 DKR による D-アミノ酸の生産

(D-アミノアシラーゼとアシルアミノ酸ラセマーゼの組み合わせ反応)

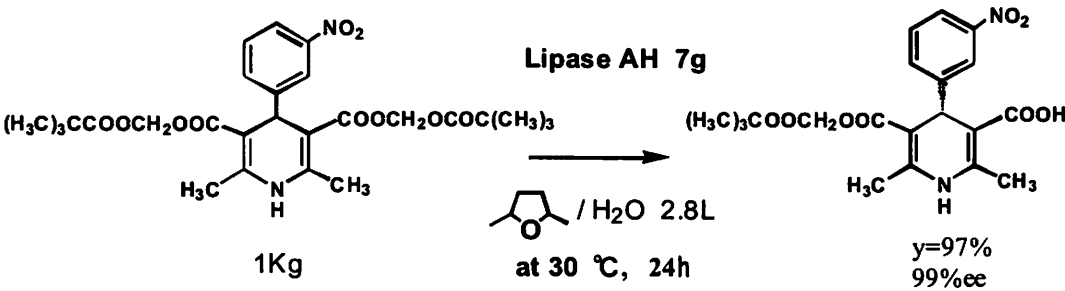


図 7 リパーゼによるジエステルの不斉加水分解反応⁷⁾

もう一つの反応例としては、基質にプロキラル体やメソ体を用いて一方のエナンチオマーのみが得られることから、Desymmetrization として大別されている。この例としては、リパーゼやプロテアーゼを用いたプロキラルなジエステルの加水分解反応やエステル交換反応の例を紹介する(図 7, 8)。

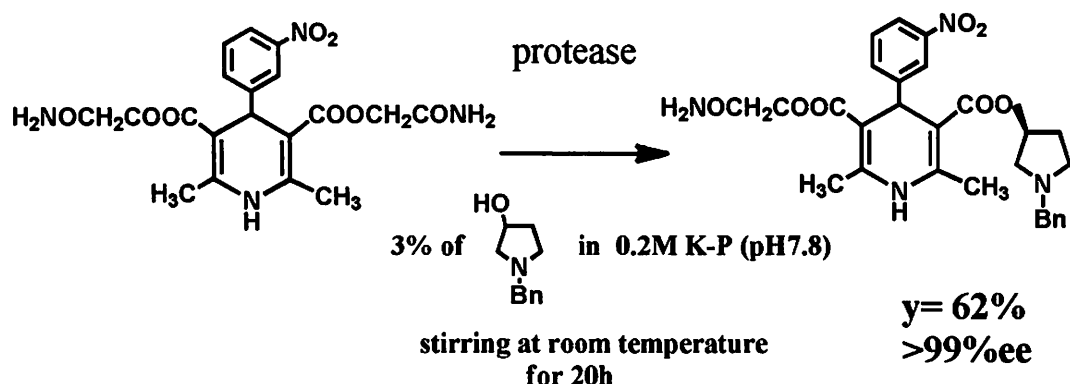


図 8 プロテアーゼによるジエステルの不斉エステル交換反応⁸⁾

3、酵素プロセスメリットの一例

図 4 の抗糖尿病薬の製法として以前に構築された化学法では、ロジウム触媒を用いる還元的アミノ化や光学純度向上のための結晶化などの工程の煩雑さや収率の低下が見られたが、図 4 に示す酵素反応への切り換えにより下記に示すメリットが報告されている⁵⁾。

Merits of biocatalytic process:

10~13% increase in overall yield

53% increase in productivity (Kg/L/day)

19% reduction in total waste, elimination of heavy metals

19% reduction of manufacturing cost

multipurpose vessels instead of high-pressure hydrogenation equipment

最適な酵素法への切り替えにより、産業廃棄物の低減や反応の簡易化ができ、大幅な収率改善が認められ、製造コストの低減に結びついている。

4、近年の Protein engineering technologies

開発スピードの向上：1980 年頃より、タンパク工学の進展に伴って、遺伝子改変による組み換え酵素の研究が盛んになったが、当初の主な目的は、同一酵素の生産性の向上であり、その後、pH 安定性や温度安定性への検討が拡大されてきた。近年では、酵素の立体構造データ (PDB) やゲノム解析データが充実してきており、これらを活用した酵素の立体特異性の改変や反応性の向上を目指した改変が盛んに検討されつつあり、今日の実用化につながっている。特に、医薬品開発では、開発スピードが非常に重要なファクターであり、従来の遺伝子組み換え技術では 2 年かかっていた改変酵素の最適化が約半年で達成できるようになっていることが、近年の医薬品製造プロセスに酵素法が採用されている大きな原動力となっている。図 4 のトランスアミナーゼの例では、実際に、酵素への変異導入から評価確認までの 1 回の変異導入作業が 1 ヶ月以内で行われている。さらに、

11 回の変異導入で 36, 480 個の改変体が評価され、元の酵素から 25, 000 倍に活性が向上し、一連の作業が 9 ヶ月で完成された。このスピードが医薬品のプロセス開発にミートしてきたことが最大の特徴となっている。

知財への懸念：近年のタンパク工学の進展により、構成アミノ酸の改変が系統的に行われるために、最終的に最適化された段階では、元の酵素から 10% 以上のアミノ酸が改変された組換え体（ミュータント）が得られている。たとえば、先のトランスアミナーゼでは 330 個のうち 27 個（8.2%）のアミノ酸が改変され、アトルバスタチンに利用されるハロヒドリンデハロゲナーゼの例では 254 個のうち 35 個（13.8%）のアミノ酸が改変され、それぞれの改変体で新規特許が取得されている。今後の特許請求範囲の在り方にも注意が必要となってきた。

5、最終製品への酵素の残存対策

酵素というタンパク質触媒を化学プロセスの工程で使用した場合に、最終物への残存が常に問題となる。これまでの実績からどのような分析や対応がなされているかをまとめてみた。多くの例では中間体の製造に使用されており、その後続く数工程のプロセスで酵素タンパクが除去されているケースが大半である。ここでは、酵素反応が最終段階（塩形成プロセスはあり）となっているトランスアミナーゼの例⁵⁾を参考に、対応が必要と思われる項目を列挙した。実際には、各製品のプロセスによって違いがあり、それぞれの判断が必要である。

（例）トランスアミナーゼ⁵⁾：

- Process Extraction with organic solvents, Filtration, Crystallization
- Analysis Enzyme activity
 HPLC/Electrophoresis
 ELISA analysis
- Safety study Safety study of the biocatalyst

6、まとめ

近年のタンパク工学の進展やゲノム情報により、最適な Biocatalysis の取得が飛躍的に早くなり、医薬品開発のみならず、多くの化成品のプロセスに実質的な貢献ができるようになってきた。以前は、「酵素の能力範囲内で化学プロセスが組み立てられた」が、現在は「期待される化学プロセスに合わせた酵素が利用できる」ようになってきた。今後の更なる活用を期待している⁹⁾。

〈参考文献〉

- 1) J. S. Carey *et al*, *Org. Biomol. Chem.*, **4**, 2337-2347 (2006). 2) 村上尚道, *ファインケミカル* **40**, 70-80 (2011). 3) U. T. Bornscheuer *et al*, *Nature* **485**, 185-194 (2012). 4) A. M. Thayer, *Chem. & Eng. News*, 13-18, May 28 (2012). 5) C. Savile *et al.*, *Science*, **239**, 305-309 (2010). 6) Y. Hirose *et al.*, *J. Mol. Catal. B*, **23**, 71 (2003). 7) Y. Hirose *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **33**, 7157 (1993). 8) Y. Hirose *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **34**, 3441 (1993). 9) 廣瀬芳彦, *有合化*, **69**, 506 (2011).

糸状菌由来の抗腫瘍性生物活性物質 spirotryprostatin 類の生物合成

静岡県立大学 薬学部

渡辺 賢二

Spiro-carbon formation via common epoxidation strategy in uncommon pathway crosstalk

Kenji Watanabe

Department of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka

52-1 Yada, Suruga-ku, Shizuoka, 422-8526, Japan

kenji55@u-shizuoka-ken.ac.jp

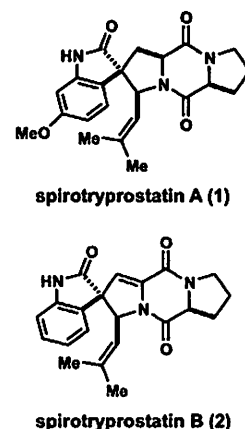
Spirotryprostatins, an indole alkaloid class of nonribosomal peptides isolated from a fungus *Aspergillus fumigatus*, are known for their anti-mitotic activity in tumor cells. Because spirotryprostatins and many other natural products having spiro-carbon structure exhibit useful biological activities, identifying and understanding the mechanism of biosynthesis of these complex chemical structures is of great interest. Here we report a detailed study of spiro-carbon formation in spirotryprostatins from tryprostatins that are derived from the fumitremorgin biosynthetic pathway, using reactants and products prepared from engineered yeast strains. Surprisingly, we found that Afua_6g12060, an FAD-dependent monooxygenase from unrelated fumiquinazoline biosynthetic pathway, catalyzed the oxidation and subsequent semipinacol-type rearrangement of tryprostatins that were key to the spiro-carbon formation. Our results highlight the versatile role of FAD-dependent monooxygenase-catalyzed oxidation in the biosynthesis of structurally complex natural products, and indicate that a crosstalk of different biosynthetic pathways allows diversification of products generated by a secondary metabolite-producing host.

切れ味鋭い生物活性や複雑な化学構造などに魅了された先人の天然物化学者により、自然界から数多くの天然物が見出されてきた。現代においても新たな生物活性天然物を取得することは学術的にも産業的にも重要であるが、近年ではその獲得が益々難しくなっている。地球上に存在する甚大な数の生物種について研究されてきたことから、現在では容易に獲得出来る天然物は既に取り尽された状況にある。ところで、近年の飛躍的な遺伝子解析技術の発展により、数多くの微生物種の全ゲノム情報が明らかにされた。その解析から、一生物種のゲノム中には予想よりも遥かに多い数の天然物生合成遺伝子が存在することが明らかにされた。特に放線菌や糸状菌など、これまでに数多くの天然物が発見されてきた微生物種においてこの傾向は顕著であり、すなわちこれまでの実験室レベルにおける培養法では多くの天然物生合成遺伝子がうまく働いていないことが示唆された。つまり、人類は微生物の本来もつ高い天然物生産能力を見逃していたのかも知れない。一方で、このような生合成遺伝子を人為的に制御し発現させることができれば、これまでになく骨格を有し

た天然物の獲得が期待できる。我々は、天然物生合成遺伝子の情報をもとに新たな天然物を生合成させる、高い汎用性を有するプラットフォームの構築を目指し、研究を展開してきた。本研究では、そのモデルとして糸状菌の生産する極微量成分 **spirotryprostatin** 類の生合成について解析を行ったので、以下にその詳細を報告する。

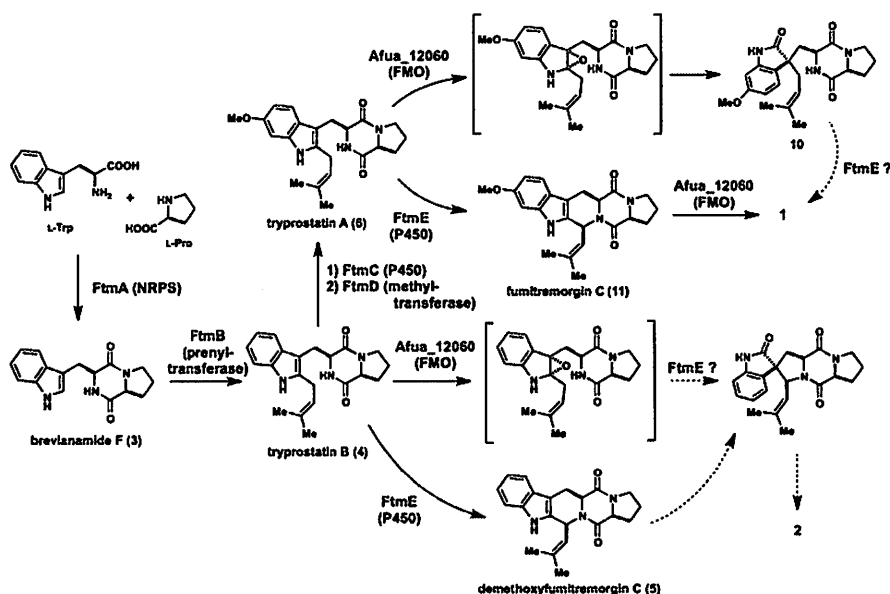
【抗腫瘍性生物活性物質 **spirotryprostatin** 類】

Spirotryprostatins A (1) および **B (2)** は静岡県大井沖海底土壌より分離された糸状菌 *Aspergillus fumigatus* BM939 株より単離された化合物である¹⁾。本化合物は哺乳動物細胞株に対し G2/M 期にて細胞周期の停止を促すことから、新たな抗がん剤のリード化合物となり得る。ところが、培養液約 400 L からわずかに数 mg ほどしか得られない微量成分であることが障害となり、作用機序解析や臨床応用への道が閉ざされている。本化合物は 5 つの環が縮環した特異な化学構造を持つ。なかでも、オキシインドール環とジケトピペラジン環がスピロ炭素を介して連なる点は非常に興味深い。ところが、そのスピロ環構造が生成する機構については一切不明であった。我々は、その化学構造に含まれる特異なスピロ環構造の構築機構の解明を目指すとともに、**spirotryprostatin** 類生合成遺伝子を用いて異種宿主生物による生物全合成を行うことを目指した。



【出芽酵母を宿主とした遺伝子強制発現システム】

Spirotryprostatin 類はその化学構造から **tryprostatin** 類から生合成されると考えられた。これらの化合物群の生合成経路については、既に長田らの先行研究によってその全容が明らかにされている²⁾。**Spirotryprostatin** 類生物全合成に向け、まずはその推定前駆体を生合成するために必要な全ての遺伝子について、出芽酵母の遺伝子強制発現システムを利用して生物合成を行うこととした。A.



fumigatus より調製したゲノム DNA または cDNA をもとに、非リボソーム依存性ペプチド合成酵素 (nonribosomal peptide synthetase, NRPS) (FtmA)、プレニル基転移酵素 (FtmB)、シトクロム P450 酸化酵素 (FtmE) および出芽酵母由来 NADPH-シトクロム P450 還元酵素 (Ncp1) の各遺伝子をガラクトース誘導にて発現可能な自立複製型プラスミドへと導入した。一方で、出芽酵母のゲノムを改変

することで効率的に二次代謝産物を産生させることを目指した。*Aspergillus nidulans* 由来ホスホペンテニル基転移酵素 NpgA およびマロニル-CoA 合成酵素 MatB などの遺伝子を特定の遺伝子座に導入した出芽酵母株 SCKW5 を構築した。本株について先述したプラスミドを導入し、プラスミドコピー数を上昇させた後、ガラクトース存在下で培養を行い、LC-MS にて代謝産物を解析した。その結果、spirotryprostatin 類の予想生合成中間体である brevianamide F (3, 49.3 mg/L)、tryprostatin B (4, 35.6 mg/L) および demethoxyfumitremorgin C (5, 3.4 mg/L) の産生を再現性よく確認することができた (Fig. 2)。それぞれの化合物は単離精製を行い、NMR 等によりその化学構造を確認した。従来出芽酵母は二次代謝産物を生合成しないことから、これら生産物の精製は非常に簡便である。加えて、天然物の単離精製にて時折問題となる極微量な高生物活性成分のコンタミネーションも起こらないため、工業化への応用も期待できる。

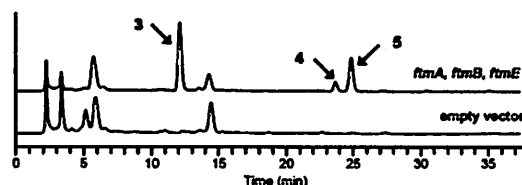


Fig. 2 糸状菌由来遺伝子の出芽酵母による発現と天然物生産

【スピロ環化酵素遺伝子 Afua_12060 の同定】

続いて我々は、spirotryprostatin 類が生合成される上で鍵となる、スピロ環構築の反応機構を解明することを目指した。Spirotryprostatin 類全合成の研究過程において、インドール環の NBS による酸化と、続く自発的なセミピナコール型転位反応の進行により、オキシインドール環の形成が報告されている³⁾。さらに最近、notoamide E を基質とし notoamide C への変換反応を触媒する酵素 NotB の推定反応機構が示された⁴⁾。これは FAD 依存型酸化酵素である NotB が一旦エポキシインドール中間体を与えた後、スピロ炭素を形成するものであった (Fig. 3)。我々は、これらの情報をもとにスピロ炭素の生合成に関与する遺伝子をバイオインフォマティクス解析により推定した。その結果、*A. fumigatus* 第 6 染色体上においてアミノ酸配列上 NotB と 72% の相同性を示す Afua_12060 遺伝子を見出した。続いて大腸菌発現系によって Afua_12060 を大量発現させ精製酵素を得た。得られた酵素を用い、各種推定基質に対する試験管内反応を検討した。その結果、用いた基質のうち、3 や 5 は本酵素による変換を受けないのに対し、4 および tryprostatin A (6) については速やかな基質の消失が確認された。ここで各種反応条件の検討を行ったものの、本酵素は基質に対して触媒回転することなく働き、完全な基質の消失のためには等量の酵素が必要であることが示唆された。その生成産物について NMR による構造解析を行い、4 からはジオール体

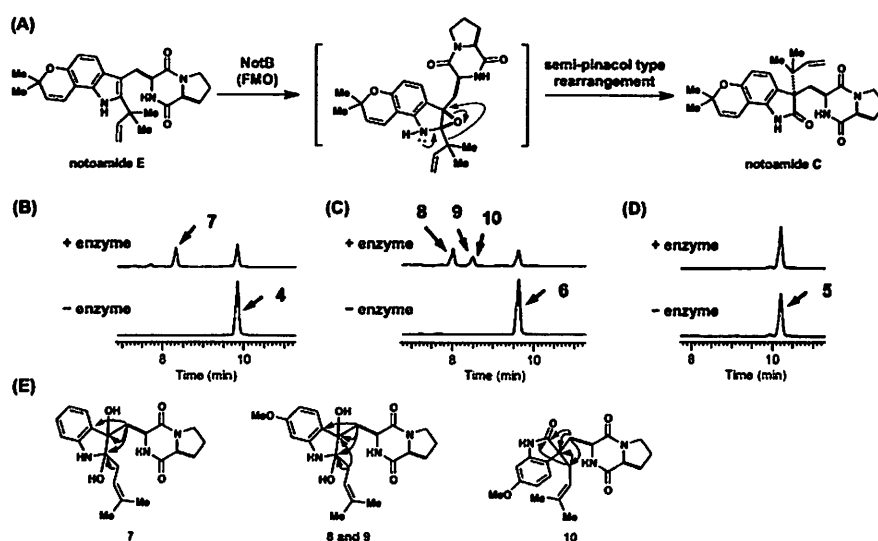


Fig. 3 Spirotryprostatin 類のスピロ環構造形成機構の解明
(A) フラビン依存性酸化酵素 NotB による Notoamide C の生成機構。(B-D) Afua_12060 精製酵素の各基質における試験管内反応。
(E) 酵素反応生成物の化学構造と HMBC 相関図

(7) が、6 からは 2 種類のジオール体 (8, 9) とセミピナコール型転位が進行した 10 が生成していることを確認した。これらの結果から、tryprostatin 類は Afua_12060 によってインドール環の 2, 3 位がエポキシ化され、続く加水分解あるいはセミピナコール型の転位反応が生じていることが示唆された。一方で、Afua_12060 に対し fumitremorgin C (11) を基質として酵素反応を行うとわずかながら反応が進行し、新たな微量生成物が得られた。本生成物は高分解能 MS ならびに標品との LC-MS における保持時間から 1 と決定した。以上の結果から、Afua_12060 は基質として 4, 6, 11 を受け入れ、いずれの場合においてもインドール環上のエポキシ化を担うことが明らかになり、本酵素による spirotryprostatin 類のスピロ炭素の構築を示す事ができた。

【Spirotryprostatin 類生物合成に向けて】

以上の結果を踏まえ、spirotryprostatin 類について、出芽酵母を宿主とし生物合成させることに取り組んだ。まず、6 を生合成させるために必要な酵素である、P450 酸化酵素 (FtmC) とメチル基転移酵素 (FtmD) を出芽酵母に導入したところ、desmethyltryprostatin A (12) と 6 の生産を確認したが、その生産量は微量であった。続いて、本系に Afua_12060 遺伝子を追加した。その結果、LC-MS にてわずかに 1 の生産は認められるものの、現在までに本化合物を単離し、NMR にて構造を確認するまでには至っていない。ところで、本酵素遺伝子は *A. fumigatus* において fumiquinazoline 類を生合成する遺伝子クラスター上に存在し、fumiquinazoline F のインドール環のエポキシ化を触媒することが報告されている⁵⁾。一方、tryprostatin 類の生合成遺伝子クラスターは *A. fumigatus* の別の染色体上に存在している。すなわち、本酵素は spirotryprostatin 類の生合成のための酵素と言うよりは、その広い基質許容性のために 4, 6, 11 が生体内にて変換され、spirotryprostatin 類を生み出したと推測される。天然から得られる量が極微量であるという結果と、試験管内反応における反応効率が極端に悪いという実験事実は、この推測の妥当性を支持していると考えられる。

【おわりに】

以上、今回我々は spirotryprostatin 類の生合成前駆体である tryprostatin 類を出芽酵母発現系によって生物合成することを可能とした。さらに、化学構造上特徴的なスピロ炭素の生合成機構の解明に関する重要な知見を得ることができた。現在までのところ、Afua_12060 酵素の反応活性の低さから、spirotryprostatin 類の量的供給が可能になったとは言えない。しかしながら、ここで得られた知見をもとに、今後は酵素の立体構造をもとにした遺伝子改変や各代謝経路の強化などにより、微量成分の生物全合成という困難な課題に挑戦するつもりである。このように生合成遺伝子、代謝経路を自在に操ることで天然物を獲得する試みは、バイオインフォマティクスに裏付けされている点で論理的であり、これまで経験とセレンディピティに頼りがちであった伝統的な天然物獲得法に加わる、新たな天然物創出法となることが期待される。

【謝辞】

本研究を遂行するにあたり、貴重な試料である spirotryprostatin A、tryprostatin A を快くご供与頂きました東京大学薬学研究科 福山 透 教授、下川 淳 助教 (現: 名古屋大学創薬科学研究科 助教) に深謝致します。

【参考文献】

- 1) Cui, C.-B.; Kakeya, H.; Osada, H. *Tetrahedron* 1996, 52, 12651-12666.
- 2) 鈴木宏和ら, 第 50 回天然有機化合物討論会, 2008, 137-142.
- 3) Edmondson, S. D.; Danishefsky, S. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* 1998, 37, 1138-1140.
- 4) Li, S.; Finefield, J. M.; Sunderhaus, J. D.; McAfoos, T. J.; Williams, R. M.; Sherman, D. H. *J. Am. Chem. Soc.* 2012, 134, 788-791.
- 5) Ames, B. D.; Liu, X.; Walsh, C. T. *Biochemistry* 2010, 49, 8564-8576.

生体触媒反応を鍵とする非天然アミノ酸の製造

エーピーアイコーポレーション ヘルスケア第一事業部

○安田（原）磨理

Unnatural amino acid production using biocatalysis as key reactions

Mari Hara Yasuda*

Business Development Group, Healthcare Business Division, API Corporation

2-3-4, Nihonbashi, Chuo-ku, Tokyo, 103-0027 JAPAN

2702885@cc.api-corp.co.jp

Amino acids and unnatural (nonproteinogenic) amino acids have been used in many pharmaceutical products. We have been investigating novel synthetic route for these compounds using biocatalysis as key reactions. We have established a new enzymatic system for the synthesis of optically pure *N*-methyl-L-amino acids with the novel enzyme, *N*-methyl-L-amino acid dehydrogenase from *Pseudomonas putida* ATCC12633. Using same key enzyme, cyclic amino acids were obtained from the corresponding diamino acids. Our carbonyl reductase was applied to biocatalytic dynamic kinetic resolution for the production of β -hydroxy-D-amino acids. Recently we established effective process for chiral α,α -disubstituted α -amino acids via enzymatic desymmetrization.

従来より非天然型（非タンパク質性）アミノ酸は様々な医薬中間体としての需要があるが、特にペプチド型医薬品の増加に従いその重要性は益々高まっている。これら中間体に対し化学的な製造方法や酵素的なアプローチなど、多くの研究グループにより様々な合成経路が研究されてきた。一般的に酵素法の方が立体選択性の高さ、穏和な条件での反応、環境負荷などの点で優れているが、酵素が許容できる基質が限定されるなどの問題点もある。筆者らが所属する三菱化学グループは、従来より化学法と酵素法を組み合わせた効率的なプロセスを構築し、医薬中間体の製造を行ってきた¹。その為豊富な微生物ライブラリーおよび酵素ライブラリーを保有する。ここでは筆者らが開発した独自の酵素反応を鍵とした非天然型（非タンパク質性）アミノ酸の製造例をいくつか紹介したい。

1 *N*-メチルアミノ酸 (NMA)

NMA は dolastatins や didemnin と呼ばれる生理活性のある化合物の構成アミノ酸として自然界にも存在し、NMA を含むペプチド型医薬品は様々な開発研究が行われている。筆者らは Vertex 社が開発している VX-853 (Timcodar dimesilate) の中間体として需要のある *N*-メチルフェニルアラニン誘導体 (図1) の効率的な合成方法の検討を開始した。

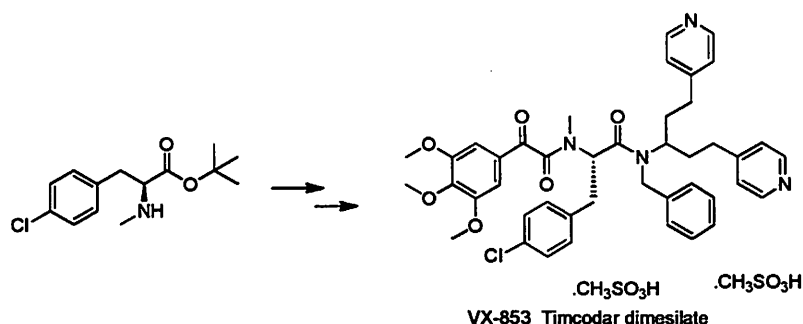


図1 VX-853 とその中間体

初期には酵素的加水分解法などを検討していたが、良い結果が得られなかった。そこで α -ケト酸に酵素で直接 N -メチル化が出来ないかと考え、微生物のスクリーニングを開始した。当初は突拍子もないアイデアに思われたものの、実際検討してみるといくつかの微生物で活性が確認された。共同研究先の京都大学にて *Pseudomonas putida* より本酵素が精製され、 N -methyl-L-amino acid dehydrogenase (NMAADH) と命名された。遺伝子クローニングと大腸菌での酵素高発現にも成功した²。次に NMAADA を用いての物質生産を検討した。*Bacillus subtilis* 由来の Glucose dehydrogenase と大腸菌内で酵素を共発現させる事により、 N -methyl-phenylalanine³ および N -methyl-alanine の効率的な生産方法を確認した。さらに基質の α -ケト酸が工業的に入手出来ない場合にそなえ、安価なラセミアミノ酸から酵素的に α -ケト酸を生成させ、つづけて NMAADH による N -メチル化という Cascade 反応も開発した。図2に D-アミノ酸から NMA の合成ルートを示す。

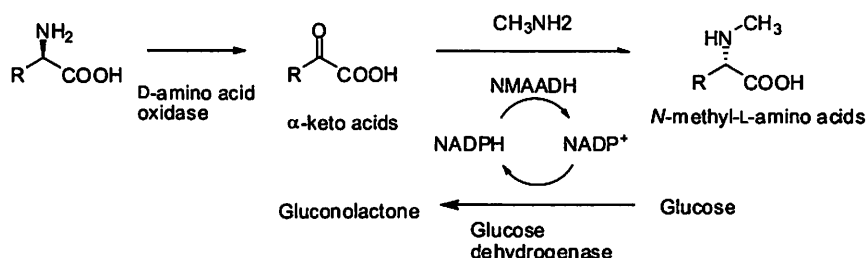


図2 D-アミノ酸からの NMA 合成

2 環状アミノ酸 (CAA)

NMAADHの基質特異性をさらに検討するなかで、 Δ^1 -ピペリジン-2-カルボン酸が最も活性を示す事が判明し、本酵素がイミンの還元を行っているとわかった。リジンのような末端 ω 位にアミノ基を持つアミノ酸 (DAA) を原料にアミノ酸オキシダーゼやトランスアミナーゼの作用により α -ケト- ω -アミノ酸を生成させると自然環化し環状のイミノ酸が容易に生成される。この反応と NMAADH の反応をカップリングさせることにより、DAA からの CAA 生成法を確立することができた⁴ (図3)。

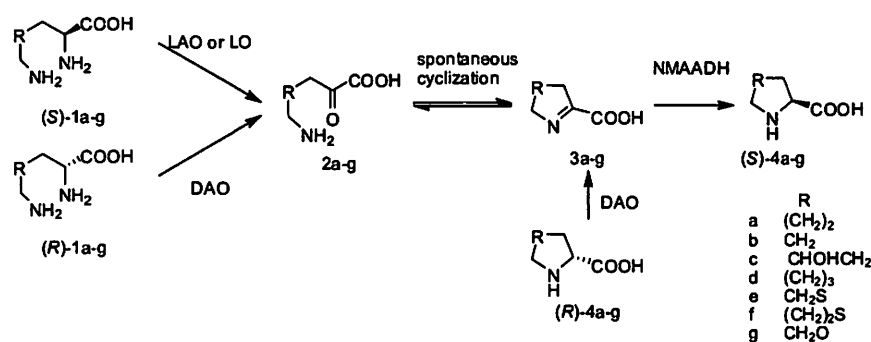


図3 D-DAA および L-DAA からの CAA の生成ルート

3 β-ヒドロキシアミノ酸 (bHAA)

bHAA はセリンやスレオニンに代表されるように自然界にも多く存在するアミノ酸群であるが、近年医薬の中間体に非天然型 bHAA が用いられている。開発薬の抗ウイルス剤にも bHAA 類が重要中間体として用いられている (図4)。

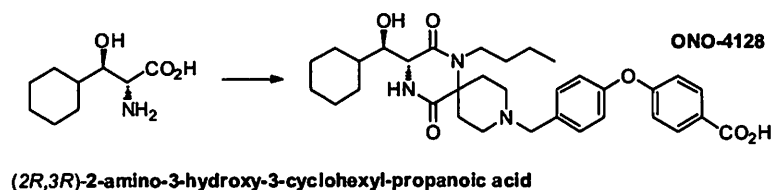


図4 ONO-4128 とその中間体

bHAA には2つの隣り合う不斉炭素があり4つの立体異性体が存在するため、目的とする立体異性体を得るために様々な合成法が開発されてきたが、いずれも工程数の長い方法であった⁵。

我々は光学活性アルコールの製造検討で取得した独自のカルボニル還元酵素ライブラリーを有しており、これら酵素を bHAA 製法の鍵反応として利用できないかと考えた。α-アミノ-β-ケトエステルは水溶液中でラセミ化するため所望の光学異性体のみを基質として認識し、かつ、所望の立体にカルボニル還元することができれば Dynamic Kinetic Resolution (DKR) となり極めて効率的な製法となる。

検討では還元酵素ライブラリー探索のみならず基質デザインも重要なポイントであった。

また初期には酵素活性が十分では無かった為 Directed Evolution により工業化に耐えうる反応性まで向上させる。基質合成の効率化も検討し、最終的には安価な原料から短工程での製造ルートを確認した (図5)。

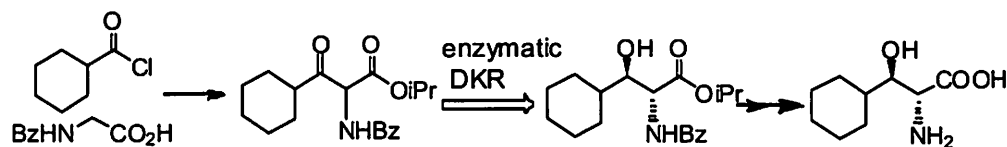


図5 カルボニル還元酵素反応を鍵とした bHAA の製造ルート

4 光学活性α,α-2置換α-アミノ酸

プロキラルなジエステルの一方のエステル結合を選択的に加水分解することで光学活性なモノエステ

ルを生成させる「酵素的非対称化」法は理論的に 100%の収率で所望の光学活性化合物を取得できる。我々はこの反応を鍵として光学活性 α,α -2 置換 α -アミノ酸の製造方法を検討した。医薬品の重要中間体として需要のある (1*R*,2*S*)-ethyl 1-amino-2-vinylcyclopropanecarboxylate (VCPA)に関して、図 6 に示す効率的な合成ルートを確認する事が出来た。

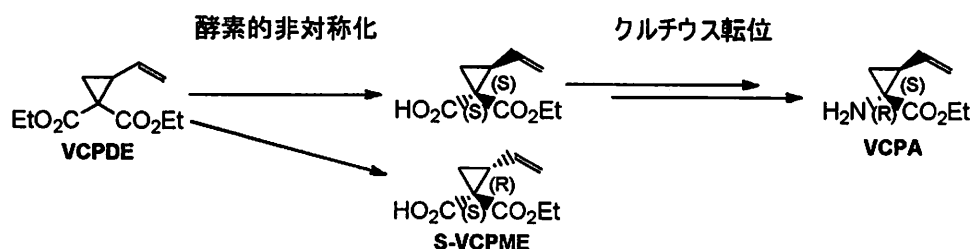


図 6 VCPA の合成法

終わりに

現在は酵素を様々な会社から購入する事ができ、酵素反応を取り入れたプロセスの開発は容易になって来ている。しかし実際に新規化合物の製造ルート開発には多くの経験や知識が必要であり、合成化学の研究者とバイオの研究者が日々アイデアを出し、トライ＆エラーを積み重ねることが重要である。我々は長年培ってきた酵素や微生物のノウハウと有機合成の知識を生かして、今後もより環境に優しい効率的なプロセスを開発していきたい。

¹ 上田 誠: BIOINDUSTRY 7月号, 70 (2008)

² Mihara, H., Kakutani, R., Muramatsu, H., Yasuda, M., Ueda, M., Kurihara, T., Esaki, N.: *FEBS Journal*, 272, 1117 (2005)

³ Muramatsu, H., Mihara, H., Kakutani, R., Yasuda, M., Ueda, M., Kurihara, T., Esaki, N.: *Tetrahedron Asymm.*, 15, 2841 (2004)

⁴ Yasuda, M., Ueda, M., Muramatsu, H., Mihara, H., Esaki, N.: *Tetrahedron Asymm.*, 17, 1775 (2006)

⁵ 田中洋己、西川和良、はま寄亮太、織田博史、岡野俊紀、中島賢則: WO 2005/040099

LC-MS を用いた反応解析—プロセス理解を志向して—

エーザイ㈱ 原薬研究部

○赤尾淳史, 宮下祐輔, 大江浩志, 小坂由紀, 新島淳, 堀昌樹

Reaction Analyses / Monitorings by LC-MS; Toward Process Understandings

Atsushi Akao,* Yusuke Miyashita, Hiroshi Oe, Yuki Kosaka, Jun Nijima and Masaki Hori

API Research, Eisai Product Creation Systems

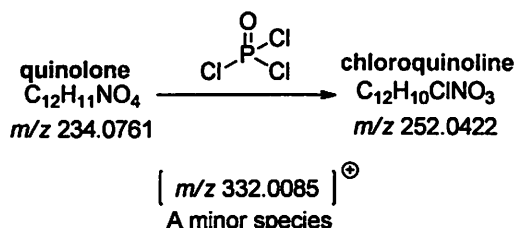
22-Sunayama, Kamisu, Ibaraki, 314-0255, Japan

a-akao@hhc.eisai.co.jp

Eisai is a human health care (*hhc*) company which gives first thought to patients and their families, and to increasing the benefits health care provides. In recent years, a paradigm shift for the quality assurance of pharmaceutical drugs is ongoing. “Quality by Design” (QbD) is a systematic approach to development that strives to design robust and well understood manufacturing processes founded upon good science and risk-based decision making to ensure product quality.¹ Process analytical technology² (PAT) is a powerful tool for Process understandings, which is a basis of the QbD. We utilized a liquid chromatography (LC) / mass spectrometry (MS) as a PAT tool.³ A result of reaction analysis and monitoring is presented.

During a study of chlorination step in a drug candidate, we found an issue which is low reaction reproducibility and stopping the reaction in the middle. From laborious process studies, it was found that low reaction temperature, higher dosing of the chlorinating agent and rapid addition of the agent would be effective to complete the reaction. For the purpose of deeply process understanding, and finding a true reason of this reaction stopping, we conducted reaction analyses and monitorings of this reaction by LC-MS.

(Scheme 1) We will present the result of reaction analyses and monitorings in detail.



Scheme 1 Chlorination step; occasional reaction stoppings

1 ICH-Q8(R2) PHARMACEUTICAL DEVELOPMENT

2 FDA-Guidance for Industry “PAT — A Framework for Innovative Pharmaceutical Development, Manufacturing, and Quality Assurance”

3 For a review see: Santos, L. S. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 235.

Pd 触媒を用いたシアノ化によるベンゾニトリル誘導体合成のスケールアップ

田辺三菱製薬 (株) CMC 本部プロセス化学研究所

○宇津木雅之・小澤宏樹・初田正典

Scale-up Studies on Synthesis of Benzonitrile Derivative via Pd-Catalyzed Cyanation

Masayuki Utsugi,* Hiroki Ozawa, Masanori Hatsuda

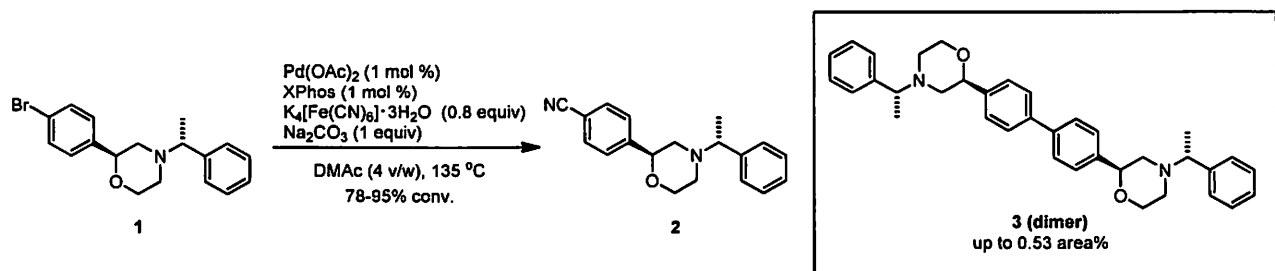
Process Chemistry Research Laboratories, CMC Division, Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation

3-16-89, Kashima, Yodogawa-ku, Osaka, 532-8505, Japan

Utsugi.Masayuki@mp.mt-pharma.co.jp

A practical and reproducible synthetic method of a benzonitrile derivative (**2**) via palladium-catalyzed cyanation reaction was established with DMAc-toluene as solvents. The optimized conditions were investigated by design of experiment (DoE) to obtain excellent reaction conversion and reduce an undesired impurity, Ullman-type homodimer (**3**). As a result of DoE, highly controlled cyanation reaction was achieved, and desired **2** was successfully obtained with high yield and high quality at 160 kg scale.

ベンゾニトリル誘導体は医薬品やその中間体に幅広く用いられている化合物である。これまでアリールハライドからベンゾニトリル誘導体の合成を目的とし、NaCN, KCN, Zn(CN)₂, TMSCN, およびアセトンシアノヒドリンをシアソースとした触媒的シアノ化反応が盛んに研究されてきた。¹⁾ これらの中で Beller らが報告した K₄[Fe(CN)₆]を用いたシアノ化反応は、K₄[Fe(CN)₆]が食品添加物であり、安全に取扱いできることから、工業的製法として非常に魅力的である (LD₅₀ 6400 mg/kg (rat, oral)).²⁾ しかし、触媒的シアノ化反応は一般的に触媒の失活を伴い、かつ K₄[Fe(CN)₆]・3H₂O を用いた場合には固液二相系反応となるため、スケールアップが困難であり、工業化に成功した例は少ない。³⁾ 今回我々は K₄[Fe(CN)₆]・3H₂O を用いた Pd 触媒によるシアノ化反応を、臨床試験用原薬の中間体であるベンゾニトリル誘導体 (**2**) の合成に適用し、反応上の課題を克服し、スケールアップに成功したのでここに報告する。



Scheme 1. 触媒的シアノ化反応の初期条件.

本反応の初期条件では、再現性、品質制御、関連特許の存在、製造コストなど、実製造に向けて克服すべき課題があった。すなわち、1) 反応が途中で停止し、抽出操作による触媒毒の除去と再反応が必要であること(再現性)、2) 後工程で除去困難な Ullmann 型の homodimer (3) (以下 dimer) が約 0.5% 生じること(品質制御)、3) 特許により保護されたりガンドを使用していること(特許の存在)、4) $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ の粉碎品の入手が困難であること(入手性)の4つが課題である。なお、反応が停止した反応系に触媒を添加しても反応は進行しなかった。

反応の再現性、品質制御、および特許の回避を目的としたリガンドスクリーニングにより、入手性が良く、dimer の生成量が少ないリガンドである $P(o\text{-tol})_3$ を見出した (Table 1, run 1 vs run 2)。 $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ の粉碎品については、メーカーの粒度を調査し、未粉碎でも粉碎品と同等の結果が得られるメーカーから入手することとした。

前述のように変更したものの、依然として反応の再現性が得られなかった。一般的に、Pd(0)触媒によるシアノ化反応において、系内に含まれる微量の酸素による酸化 ($Pd(0) \rightarrow Pd(II)$) や、系内の高いシアン濃度により $ArPd(CN)_3^{2-}$ 、 $Pd(CN)_4^{2-}$ などの不活性な錯体が生成され、触媒が失活する (Fig. 1)。⁴⁾ 触媒の不活化を防ぐため、系内に還元剤 ($Zn, Zn(OAc)_2$) を添加したが、dimer の量が増加した (run 3, dimer 0.48 - 0.54 area%)。一方、系内のシアン濃度の低減を目的として、溶媒に toluene を添加することにより、再現性良く反応が完結することができ、さらに dimer の副生量を抑制できることを見出した (run 4)。

Table 1. 初期条件からの改良検討：リガンドスクリーニングとトルエン添加効果。

run	$Pd(OAc)_2$ (mol%)	ligand (mol%)	$K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ (equiv)	solvent (v/w)	temp. (°C)	time (h)	conv. (%)	dimer (area%)
1 ^a	1	XPhos (1)	0.8	DMAc (4)	135	3-5	78-95	0.35-0.53
2	1	$P(o\text{-tol})_3$ (1)	0.8	DMAc (4)	135	2-9	94-100	0.31-0.35
3 ^b	1	$P(o\text{-tol})_3$ (1)	0.4	DMAc (4)	135	4-8	70-95	0.48-0.54
4	2	$P(o\text{-tol})_3$ (2)	0.4	DMAc (4), toluene (2)	125	6	100	0.14

Condition: Na_2CO_3 (1.0 equiv).

a) Initial condition. b) Zn (4 mol %), $Zn(OAc)_2$ (4 mol %) was added.

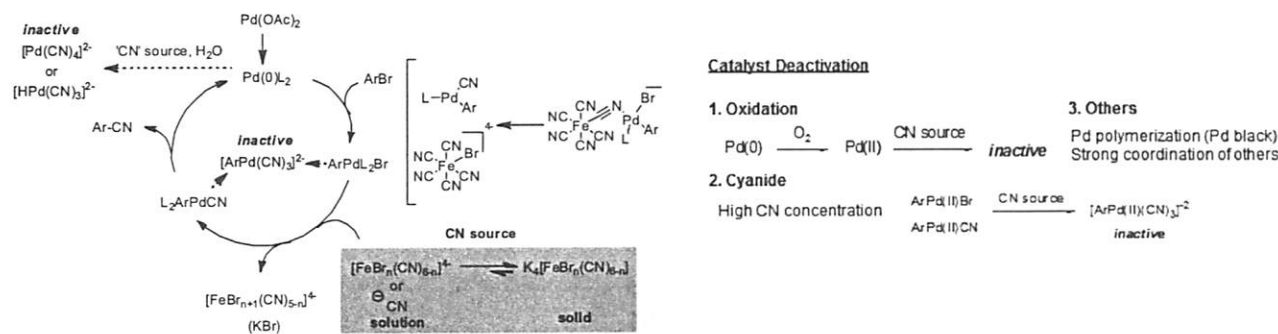


Figure 1. シアノ化反応における Pd 触媒の不活性化推定機構。

更なる条件最適化のため、Pd 量、リガンド量および DMAc 中の toluene 比率（計 6 v/w）について、実験計画法（DoE）を用いた条件最適化を実施した（Table 2）。その結果、転化率については、Pd 量、リガンド量が正の影響因子、toluene 比率が、負の影響因子であり、dimer 量については、toluene 比率、Pd 量が負の影響因子であることがわかった（いずれも p 値 ≤ 0.05 ）。転化率 100 %かつ dimer が最小になる条件は toluene 43 vol %の条件と推定でき、実際に攪拌子を用いた反応容器では最良の結果が得られた（反応時間 8 h, 100% conv., dimer 0.07 area%, Table 3 run 1）。

しかし、本最適化条件でも、実機を想定した攪拌翼を用いた場合には再現できなかった（run 2）。高温下 DMAc-toluene 混合溶媒中では、toluene 比率が高いと $K_4[Fe(CN)_6]$ 結晶が成長または会合するトレンドが *in situ* 粒度分布計（FBRM, Mettler-Toledo 社）にて観察されており、粒子が大きいと反応の進行が遅延することから、この原因は、 $K_4[Fe(CN)_6]$ 結晶のすりつぶし効果によるものと考えた。更なる条件検討により、toluene 比率 33 vol %の条件が、攪拌翼を用いた場合の最適値であることを突き止めた（run 4）。

Table 2. 3 因子 2 水準の実験計画法（Box-Behnken）。

run	Pd(OAc) ₂ (mol %)	P(o-tol) ₃ (mol %)	Toluene (vol %)	conv. (8 h) (%)	dimer (8 h) (HPLC area%)
1	0.5	1.25	16	100	0.46
2	2	1.25	16	100	0.32
3	0.5	1.25	50	79.1	0.13
4	2	1.25	50	99.6	0.12
5	0.5	0.25	33	79.1	0.29
6	2	0.25	33	97.7	0.15
7	0.5	2.25	33	99.9	0.34
8	2	2.25	33	99.9	0.14
9	1.25	0.25	16	93.4	0.47
10	1.25	0.25	50	81.1	0.10
11	1.25	2.25	16	99.9	0.31
12	1.25	2.25	50	90.6	0.08
13	1.25	1.25	33	99.9	0.22
14	1.25	1.25	33	99.9	0.18

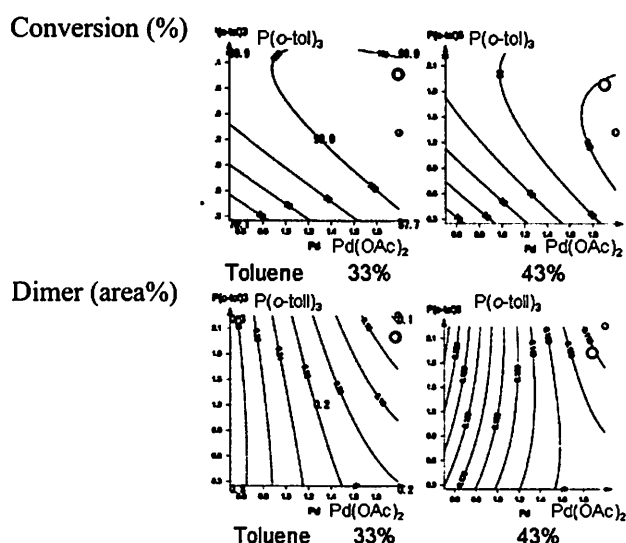


Figure 2. 実験計画法の結果（○実施点）。

Table 3. 最適条件における攪拌方法による影響。

run	stirrer	Pd(OAc) ₂ (mol%)	P(o-tol) ₃ (mol%)	toluene (vol %)	conversion (%, 8 h)	dimer (HPLC area%, 8 h)
1	magnetic	1.9	1.9	43	100	0.07
2	overhead	1.9	1.9	43	65	0.22
3	magnetic	2	2	33	100	0.14
4	overhead	2	2	33	100	0.18

製造に向けた検討では、攪拌方法だけでなく、反応容器及び攪拌翼ごとに dimer の生成量が異なることが認められた。そのため、製造予定の反応釜の相似形容器を用いて検討を実施した。そのスケールダウン実験では、特にアンカー翼を用いた際に $K_4[Fe(CN)_6]$ の槽底部への溜まりこみが観察された。そこで、槽底部から窒素をバブリングして $K_4[Fe(CN)_6]$ の流動性を改善させた結果、問題のない結果が得られることを確認した（Table 4, run 1, 3 次頁参照）。

反応の理解を深めるため、少量反応熱量計 (SuperCRC, Omnical 社) を用いた速度論解析を実施した。⁵⁾ 本反応は 1 mol% 以上の触媒量を用いると、初期の反応速度が低下した。しかし、転化率 60% 以降の反応速度はすべて同じ、即ち、触媒量に対して 0 次反応であることから、反応の後半ではシアンソース ($K_4[Fe(CN)_6] \cdot Br_n$) ($n \geq 2$) の mass transfer が律速段階であることを示唆された。これにより、触媒量の増量が反応促進に有効でないことがわかった。

以上の検討結果に基づいて 160 kg ヘスケールアップし、同等以上の反応成績でシアノ化を実施することができ (Table 4, run 4)、収量・品質ともに良好な **2** を取得することに成功した (収量 117 kg, 収率 86%, 純度 99.4%)。

Table 4. 最適化条件でのスケールアップ。

run	scale	reactor	impeller type	time (h)	conv. (%)	HPLC dimer (area%)
1	25 g	500 mL	Pfaudler	4	99	0.23
2	68 kg	1000 L	Pfaudler	8	100	0.12
3	25.0	500 mL	Anchor	6	100	0.23
4	160 kg	3000 L	Anchor	8	100	0.17

References

- 1) For recent papers of Pd-catalyzed Cyanation see: Anbarasan, P; Schareina, T.; Beller, M. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 5049–5067.
- 2) a) Shareina, T.; Zapf, A.; Beller, M. *J. Organometallic Chem.* **2004**, *689*, 4576–4583. b) Schareina, T.; Zapf, A.; Beller, M. *Chem. Commun.* **2004**, 1388–1389.
- 3) Weissman, S. A.; Zewge, D.; Chen, C. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1508–1510.
- 4) Erhardt, S.; Grushin, V. V.; Kilpatrick, A. H.; Macgregor, S. A.; Marshall, W. J.; Roe, D. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 4828–4845.
- 5) a) Blackmond, D. G. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, *44*, 4302–4320. b) Buono, F. G.; Chidambaram, R.; Mueller, R. H.; Waltermire, R. E. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 5325–5328.

Acknowledgements

本研究を進めるにあたり、お世話になりました岩村 寛氏、豊福英次氏と古矢力三氏に深く感謝いたします。

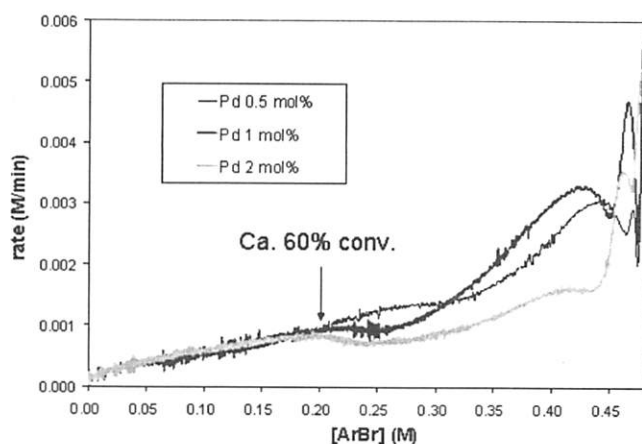
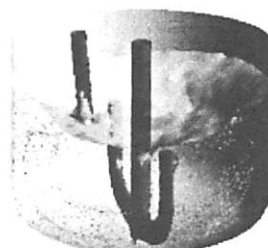


Figure 3. 触媒量を変化させたときの反応速度。

Conditions: ArBr (1 equiv, 0.48 M), Pd(OAc)₂: P(o-tol)₃ = (1:1), K₄[Fe(CN)₆]·3H₂O (0.4 equiv), Na₂CO₃ (1.0 equiv), DMAc-toluene (2:1, 6 v/w), 105 °C.



Pfaudler



Anchor

溶媒媒介転移を利用する ALK 阻害剤 ASP3026 の結晶多形制御

アステラス製薬(株) 技術本部 合成技術研究所
○平澤俊・小櫃和義・竹口和宏・織井亮毅・家田成・岡田稔

Polymorphic Control of Novel ALK Inhibitor ASP3026 via Solvent-Mediated Polymorphic Transformation

Shun Hirasawa*, Kazuyoshi Obitsu, Kazuhiro Takeguchi, Ryoki Orii, Shigeru Ieda, Minoru Okada
Process Chemistry Labs., Astellas Pharma Inc.
160-2 Akahama, Takahagi-shi, Ibaraki 318-0001, Japan
shun.hirasawa@astellas.com

We investigated a manufacturing process for ASP3026, an ALK inhibitor. Given the existence of five polymorphs, the key for scale-up was the crystallization process. Form A04 was found to be the most thermodynamically stable and therefore the desired polymorph. Through our investigations, form A04 was selectively obtained via solvent-mediated polymorphic transformation. We subsequently successfully demonstrated the selective crystallization process for form A04 in large-scale synthesis of ASP3026.

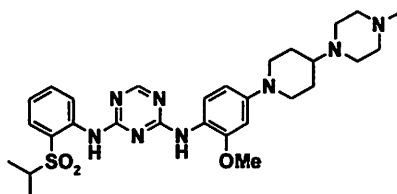
概要

ASP3026 は、弊社が創製した ALK 阻害剤であり、肺がんを含む固形がんを適応症として開発中の化合物である。

ASP3026 には A01～A05 形の 5 つの結晶多形が存在することが、結晶形スクリーニングなどにより確認された。初期研究段階では A01 形および A02 形の混合晶として ASP3026 を取得していたが、我々は熱力学的に最安定である A04 形結晶を選択的に取得すべく検討を行った。

その結果、準安定形 A02 形からの溶媒媒介転移を用いることで、選択的に A04 形を得る製造プロセスを開発することに成功した。さらに、本製造プロセスにてパイロットプラントでのスケールアップ製造を行い、再現性よく A04 形単一結晶を取得できた。また、溶媒媒介転移の経時的変化は FBRM においてインラインモニタリング可能であることを見出した。

本発表では、溶媒媒介転移による結晶多形制御法やスケールアップ結果について報告する。



ASP3026

ASP3026 の結晶多形

各結晶形について、DSC 曲線およびアセトン中での溶解度曲線をそれぞれ Figure 1, 2 に示す。

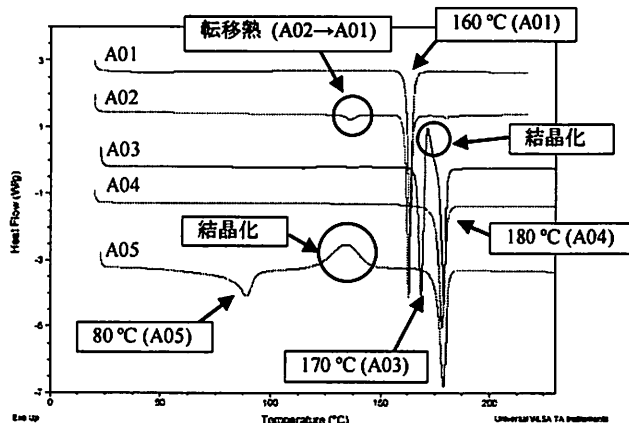


Figure 1. DSC 曲線

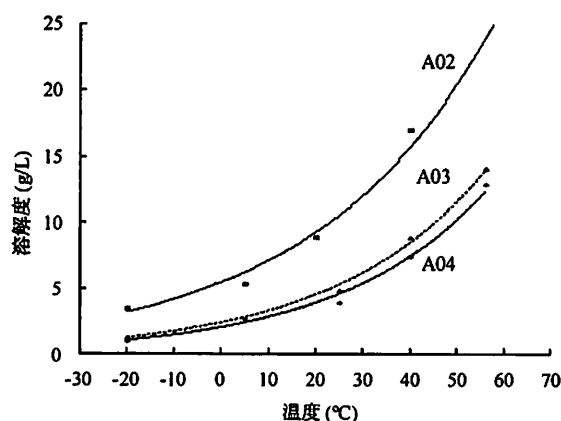


Figure 2. アセトン中での溶解度曲線

DSC および溶解度より、室温付近での結晶形の安定性は $A04 \geq A03 > A02 > A01 > A05$ と判明した。5 つの結晶多形の中で、最安定形である A04 形結晶の取得を目指し検討した。

結晶形制御検討の過程において多くのロットで A03 形と A04 形の混合晶が得られた。さらに、A03 形結晶から A04 形結晶への溶媒媒介転移についても検討したが、良好な結果は得られなかった。準安定形 A03 形と安定形 A04 形は溶解度差が小さく、熱力学的安定性準位が極めて近接していることが、A04 形単一結晶の取得を困難にしているものと推定した。

溶媒媒介転移検討

粗結晶は A03 形や A04 形よりも不安定な A02 形の単一結晶として取得できたことから、A02 形からの溶媒媒介転移の検討を行うこととした。A03 形から A04 形への転移はほとんど進行しないことから、A03 形を核化させることなく、A04 形の核化のみを進行させることが必要となる。

オストワルドの段階則によると、低過飽和条件下では安定形が優先的に核化し、高過飽和条件下では準安定形が優先的に核化する。そこで、過飽和比が核化に及ぼす影響について検討を行った。溶媒媒介転移であるため、過飽和比は各結晶形の溶解度比で計算した。また、過飽和比は、転移温度を変えることで変化させた。

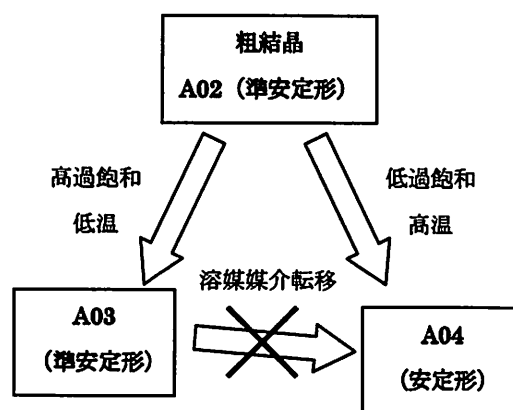


Figure 3. A02 形からの溶媒媒介転移

アセトン溶媒中、-20、-10、0、25、50℃においてA02形結晶の溶媒媒介転移を行った結果を示す (Figure 4, Table 1). 高温・低過飽和条件下 (50℃) では安定形のA04形が、低温・高過飽和条件下 (0℃以下) では準安定形のA03形が選択的に得られた。また、室温 (25℃) 付近で転移を行うと、A03形とA04形の混合晶が得られた。

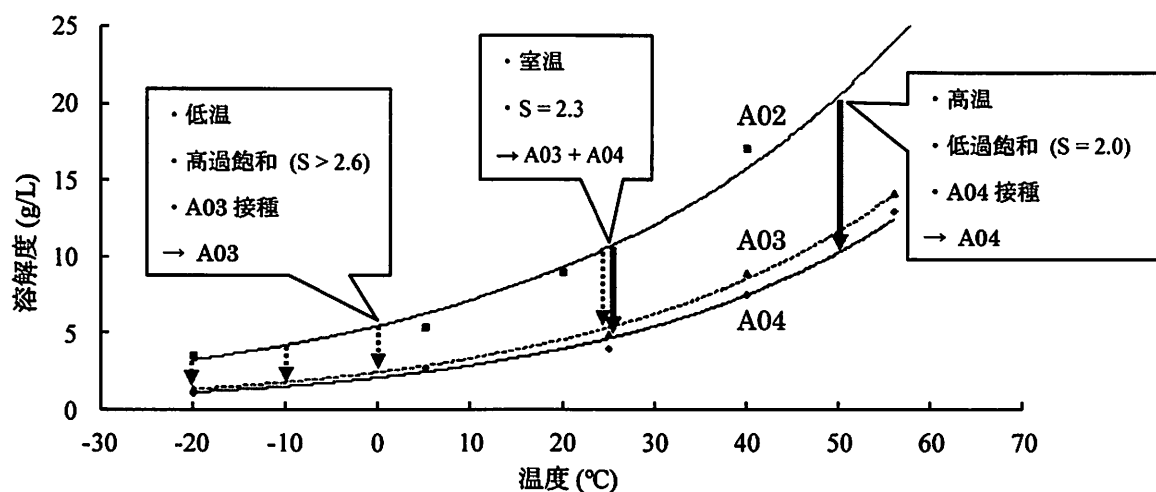


Figure 4. アセトン中におけるA02形結晶の溶媒媒介転移

Table 1. 溶媒媒介転移

転移温度 (°C)	-20～0	25	50
過飽和比 S	> 2.6	2.3	2.0
結晶形	A03	A03 + A04	A04

A02形からA04形への結晶形転移におけるDSC曲線の経時的変化をFigure 5に示す。時間の経過とともに160℃の吸熱ピークが減少し、A04形結晶の融解熱を示す180℃の吸熱ピークが増加した。5時間後には180℃の吸熱ピークに完全に収束し、A02形からA04形への溶媒媒介転移が完了することが判明した。

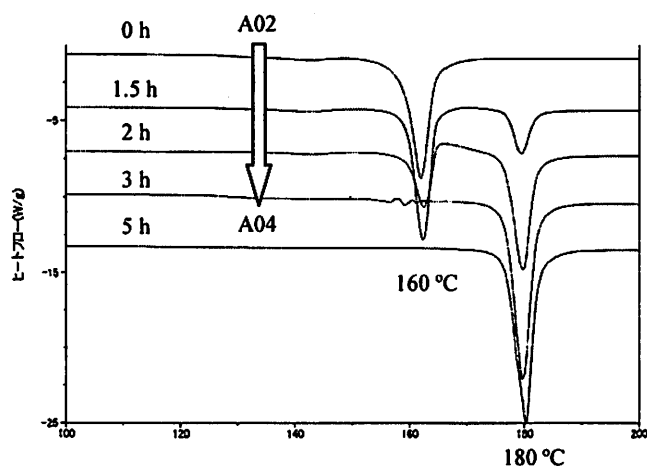


Figure 5. DSC 曲線の経時的変化

このようにして A04 形単一結晶が取得可能となったが、粗結晶中には無機塩が残留しており、アセトン溶媒では除去できなかった。無機塩の除去を目的とし、含水溶媒系での溶媒媒介転移検討を行ったところ、50%アセトン水溶液でも A04 形単一結晶を取得可能であることが判明した。

以上の検討結果より、Figure 6 に示すようなプロセスを開発した。すなわち、A02 形の粗結晶を、あらかじめ 55～65℃ に加熱した 50%アセトン水溶液 (6vol) に懸濁させ、A04 形の種晶を接種することで溶媒媒介転移を進行させる。転移に伴う流動性の低下を解消するため、50%アセトン水溶液 (2vol) を添加する。DSC, XRD にて転移の完了を確認した後、25℃ まで冷却し、濾過、乾燥を経て A04 形精結晶を取得するプロセスである。

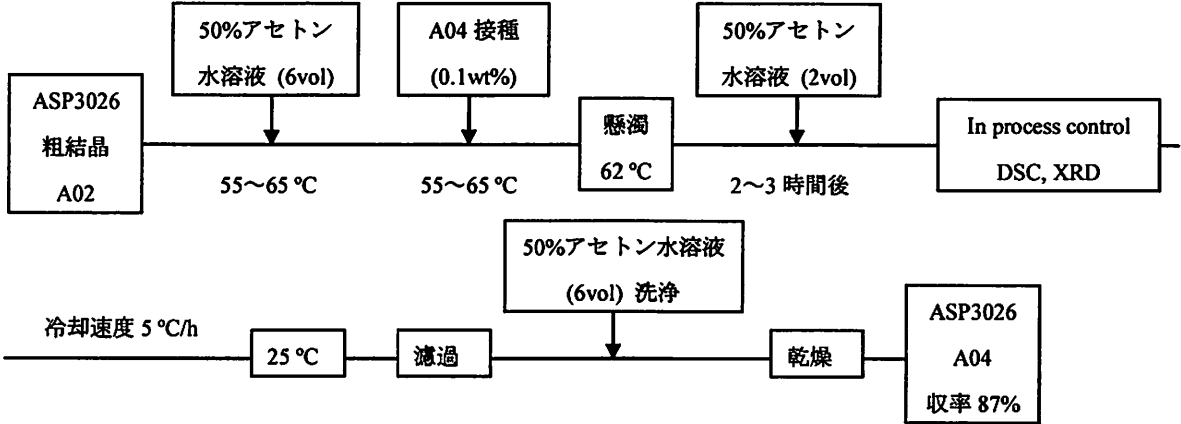


Figure 6. スケールアップ製造プロセス

スケールアップ製造

本プロセスにより 4 度のスケールアップ製造を行っているが、再現性よく A04 形単一結晶が得られた。

Table 2. スケールアップ製造結果

スケールアップ製造	1 st	2 nd	3 rd	4 th
製造量 (kg)	11	11	21	48
結晶形	A04	A04	A04	A04

FBRM (インライン式粒度分布計)

粗結晶の A02 形は鱗片状結晶、精結晶の A04 形は板状結晶で、粒子径に差があったため、溶媒媒介転移の経時的変化は FBRM によるリアルタイムでのモニタリングが可能であることを見出した。

Reference

1) 竹口和宏, 分離技術 2011, 41, 354-359.

重水素化ベンゾチアゾリンを用いた
リン酸触媒によるケトイミンの不斉重水素還元反応

学習院大理

○酒本翼・森啓二・秋山隆彦

Phosphoric Acid Catalyzed Enantioselective Transfer Deuteration of Ketimines
by Use of Deuterated Benzothiazoline

Tsubasa Sakamoto*, Keiji Mori, Takahiko Akiyama

Department of Chemistry, Faculty of Science, Gakushuin University

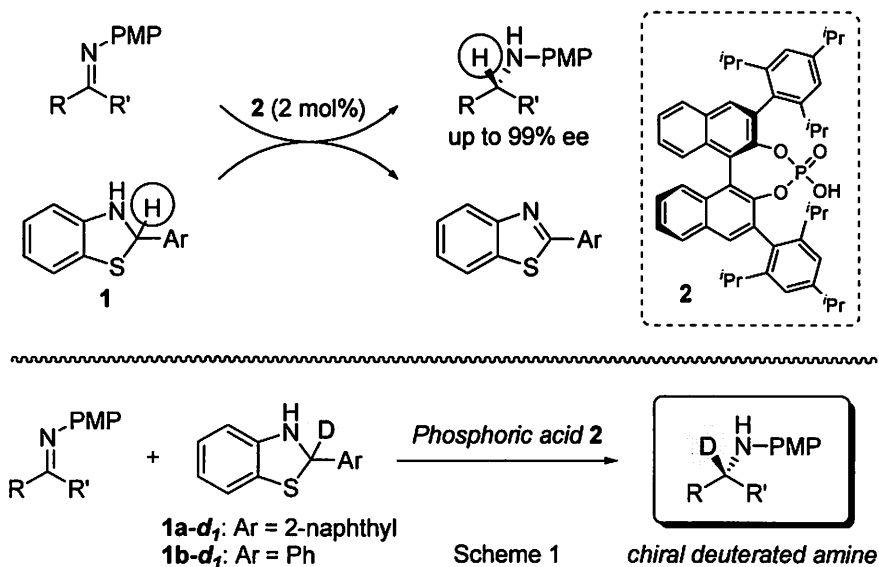
1-5-1 Mejiro, Toshima-ku, Tokyo 171-8588, Japan

takahiko.akiyama@gakushuin.ac.jp

Deuterated compounds are an important class of materials that are used in various areas. We synthesized 2-deuterated benzothiazoline as a deuterium donor and investigated the enantioselective transfer deuteration of *N*-PMP substituted ketimine by means of chiral phosphoric acid. Corresponding α -deuterated amines were obtained with excellent enantioselectivities. Removal of the *p*-methoxyphenyl group was successfully achieved.

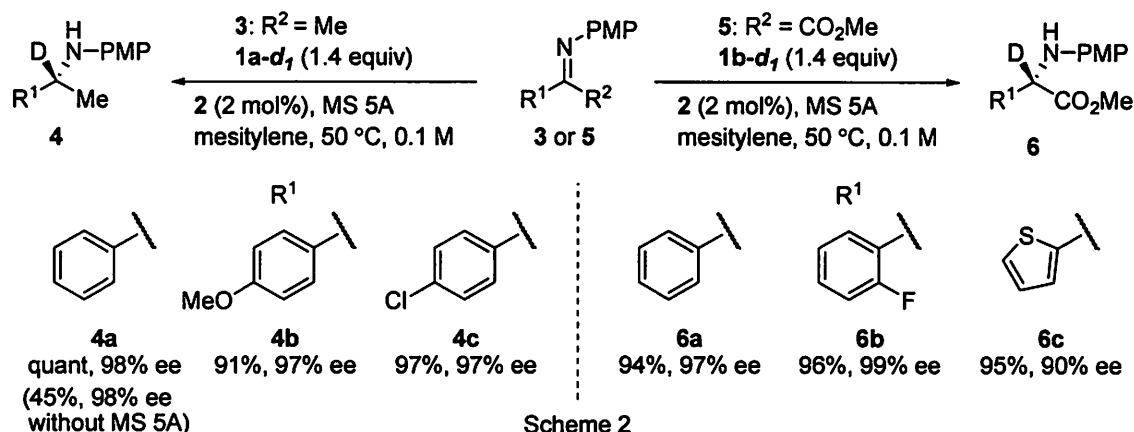
重水素は、化学反応および酵素反応の機構解明のための「重水素標識化合物」をはじめとして、様々な分野で用いられている。近年、重水素を導入することにより薬理活性を向上させた「重水素薬」も大きな注目を集めており、その重要性がますます高まっている。これまで様々な重水素の導入法が報告されているが、キラルな重水素化合物の合成例は極めて限られており、重水素化合物の優れた不斉合成法の開発が望まれている。

当研究室では、ベンゾチアゾリン **1** を水素供与体として用いることにより、リン酸触媒 **2** 存在下、様々なイミン誘導体の不斉還元反応が高いエナンチオ選択性で進行することを報告している¹。今回我々は、重水素化されたベンゾチアゾリン **1-d₁** を用いることで、イミン誘導体の不斉重水素置換反応へと展開できると考え、研究を行った (Scheme 1)²。

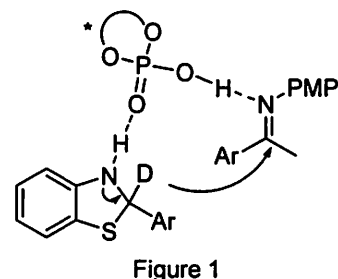


まず、重水素化ベンゾチアゾリンの重水素供与能を検討した。ケトイミン **3a** および重水素化ベンゾチアゾリン **1a-d₁** に対し、メシチレン溶媒中 50 °C でリン酸 **2** を作用させると、極めて高い光学純度かつほぼ 100% の重水素化率で α -重水素置換アミン **4a** が得られた (45%, 98% ee)。種々の検討の結果、MS 5A を添加することにより、様々なケトイミンに対して速やかに還元反応が進行し、 α -重水素置換アミン **4** が良好な収率かつ極めて高いエナンチオ選択性で得られることを見出した。

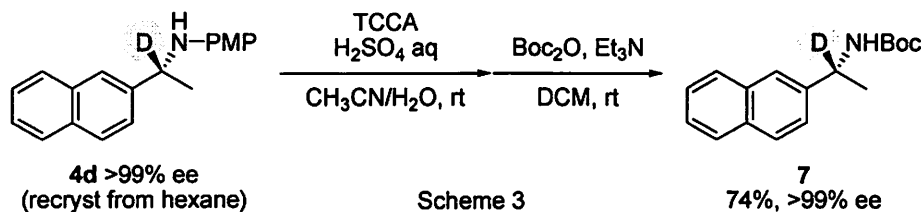
本重水素還元反応は、2 位にフェニル基を有する重水素化ベンゾチアゾリン **1b-d₁** を用いることにより、ケトイミンのみならず α -イミノエステルにも適用可能であり、電子供与性基や電子求引性基、複素環など、様々な置換基を有する α -重水素置換アミノエステル **6** が極めて良好なエナンチオ選択性および高い重水素化率で得られた (Scheme 2)。



重水素を利用し本反応の律速段階を考察した。ベンゾチアゾリン **1a** および **1a-d₁** 共存下、最適条件下でケトイミンの還元反応を行うと、顕著な速度論的同位体効果が観測され、対応するアミン **4a(H)** および **4a(D)** がおよそ 3.8 対 1 の割合で得られた。すなわち、本反応における律速段階はベンゾチアゾリンの炭素-重水素結合開裂反応であり、デューテリドとしてイミンを還元していることが示唆された (Figure 1)。



得られたアミンの窒素原子上の *p*-メトキシフェニル基は、トリクロロイソシアヌル酸 (TCCA) を作用させることにより脱保護可能であり、対応するアミン **7** を *N*-Boc 体として良好な収率で得た (Scheme 3)。



- [1] a) Zhu, C.; Akiyama, T. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4180. b) Zhu, C.; Akiyama, T. *Adv. Synth. Catal.* **2010**, *352*, 1846. c) Henseler, A.; Kato, M.; Mori, K.; Akiyama, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 8180. d) Zhu, C.; Akiyama, T. *Synlett* **2011**, 1251. e) Saito, K.; Akiyama, T. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 4573.

- [2] Sakamoto, T.; Mori, K.; Akiyama, T. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 3312.

新しい酵素反応の開発と有効利用

富山県立大学工学部生物工学科 教授
浅野酵素活性分子プロジェクト ERATO, JST
○浅野 泰久

Development of New Enzymatic Reactions and their Industrial uses

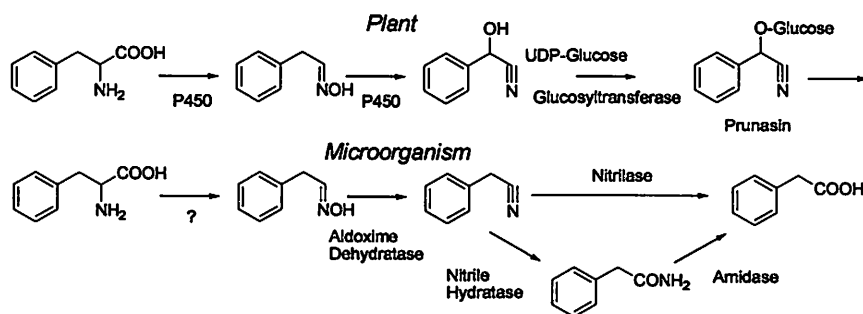
Yasuhisa Asano*

Biotechnology Research Center and Department of Biotechnology, Toyama Prefectural University,
5180 Kurokawa, Imizu, Toyama 939-0398, Japan
Asano Active Enzyme Molecule Project, ERATO, JST, 5180 Kurokawa Imizu, Toyama 939-0398, Japan.
asano@pu-toyama.ac.jp

Using enzymes in the “Aldoxime-nitrile pathway”, and related enzymes used sometime in cascade, the following reactions were developed or realized. (1) Enzymatic nitrile synthesis by aldoxime dehydratase, (2) Dynamic kinetic resolution of α -aminonitrile (the first DKR of α -aminonitrile, and protein engineering of ACL racemase), (3) Enzymatic transcrystallization reaction by ω -laurolactam hydrolase (an amidase), (4) Alkaline D-peptidase catalyzed synthesis of all-L-protein (peptide ligation reaction), (5) Synthesis of cyanohydrin and β -nitroalcohols (distribution of new HNLs and (*R*)-nitroalcohol synthesis), and (6) Soluble expression of HNLs by directed evolution (mutations to make HNL soluble in *E. coli*).

微生物と植物の “Aldoxime-Nitrile Pathway” の酵素群の発見と利用

- (1) 新酵素「アルドキシム脱水酵素」を見出し、ニトリルの定量的な合成に利用した。(2) アミノ酸アミドラセマーゼを見出し、アミノ酸アミドや α -アミノニトリルのダイミックな光学分割を実現した。(3) ω -ラウロラクタム加水分解酵素を用いる酵素的結晶変換反応を見出した。(4) アルカリ D-ペプチダーゼを用いて、ペプチドライゲーション反応を行い、L-ペプチドを合成した。(5)



各種ヒドロキシニトリルリアーゼを開発し、シアノヒドリンと β -ニトロアルコール等を合成した。(6)植物 *S* ヒドロキシニトリルリアーゼを改変し、大腸菌可溶性画分に大量に発現させた。

図 1. 植物と微生物のアルドキシムニトリル経路の比較

次回のお知らせ

日本プロセス化学会 2013 サマーシンポジウム

日時：2013 年 7 月 18 日(木)～19 日(金)

会場：つくば国際会議場（つくば市）

世話人 加藤 敏久（味の素）

須貝 威 （慶應大学薬学部）



日本プロセス化学会 2012 ウィンターシンポジウム（静岡）

世話人

満田 勝

株式会社カネカ

フロンティアバイオ・メディカル研究所

〒676-8688

兵庫県高砂市高砂町宮前町1-8

TEL:0794-45-2409

FAX:0794-45-2692

Masaru_Mitsuda@kn.kanaka.co.jp

赤井 周司

静岡県立大学薬学部

〒422-8526

静岡市駿河区谷田 52-1

TEL/FAX 054-264-5672

E-mail:akai@u-shizuoka-ken.ac.jp

Compliance

ますます厳密な化学物質の管理が求められるなか、化学物質法規制に関する
コンプライアンス業務の重要性は日々、大きくなっています。

日報化学品法規情報センターは、米国3E社の総代理店として、
コンプライアンス業務の効率的な達成をご支援いたします。

<http://www.chemicaldaily-r.co.jp/>

3E 製品&サービス

- **Ariel Websight - 世界の化学物質法規データベース**
長年にわたりお客様から高い評価と信頼を得ており、毎月更新されるデータベースは、化学企業のみならず、化学物質を使用する企業において世界中で広く利用されています。
- **ArielLogic - 世界の食品添加物・食品香料法規制データベース**
世界の食品添加物・香料関連の法規制を簡単に検索できます。法規制調査に要する時間を短縮すると共に、製品の海外展開に威力を発揮します。データベースは毎月更新されます。
- **MSDgen - 各国法規準拠・言語対応MSDS自動作成システム**
世界40言語、約60カ国向け各国法規準拠・GHS対応MSDSが日本語画面で容易に作成可能です。
Ariel法規データならびに豊富な物性・毒性データ装備。
- **MSDS受託作成サービス**
経験豊かな専門スタッフが、お客様のご要望にきめ細かくお応えし、世界各国の最新の法規制にマッチした
質の高いMSDSを各国言語で作成いたします。
- **Ariel Data Manager - 企業内化学物質管理システムへのArielデータ統合ツール**
Arielデータを企業内のシステムに統合し、法規改正のインパクト分析と意思決定の効率を促進します。
- **Ariel Solution for SAP EHS Management - SAP EHS 対応ソリューション**
SAP EHSモジュール対応の包括的な技術・データ・サービスを提供いたします。



株式
会社 **日報化学品法規情報センター**
Chemicaldaily Regulatory Info-Center Co., Ltd.

株式会社 日報化学品法規情報センター

〒103-0007 東京都中央区日本橋浜町3-16-8 化学工業日報ビル2F

TEL: 03-5623-3762 FAX: 03-5641-2112 E-mail: cric@chemicaldaily.co.jp 担当: 佐々木・古賀

3E製品説明会を随時実施しております。(無料・要予約)

You are ready

Thermo
SCIENTIFIC

分析業界をリードしている2つのメーカーの力を合わせた新しいLC-MSシステムは、最も複雑な試料中の化合物の同定、定量を可能にします。タンパク質構造の解析、新薬の開発、残留農薬の分析など、サイエンスと生産性を前進させる新たな可能性を提供します。高度なシステムとソフトウェアを使えば、新たな発見や課題に際しても、結果にゆるぎない自信をもつことができます。この先にどんな困難な分析課題が待っていようと、準備は万端です。

もっとも困難な分析への挑戦のために

新製品の情報はこれからwww.thermoscientific.jp/ready



Orbitrap™ Elite Hybrid LC-MS
最高分解能 240,000 まで到達
質量分析計のゴールドスタンダード



Q Exactive Benchtop Orbitrap LC-MS
高分解能・精密質量、定性・定量同時分析
可能なベンチトップ型四重極Orbitrap



Velos Pro Ion Trap LC-MS
HCD MS/MS が可能、もっとも高速で
高感度のイオントラップ



TSQ Quantum XLS Ultra GC-MS/MS
世界初 0.1Da による ultra-SRM に成功
高選択性の GC トリプル四重極



サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

☎ 0120-753-670 FAX.0120-753-671
〒221-0022 横浜市神奈川区守屋町3-9 C棟2F
〒532-0011 大阪市淀川区西中島6-3-14 DNX新大阪ビル

analyze.jp@thermofisher.com
www.thermoscientific.jp