

日本プロセス化学会
2020 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

2020年11月13日(金)

オンライン

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

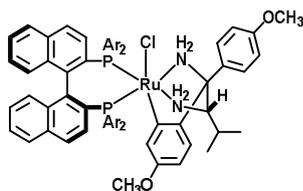
高砂触媒 が「効率的」「実用的」なプロセスの実現をサポート！

- ▶ 高活性・高選択性により「より経済的な」「より環境にやさしい」プロセスが実現可能です。
- ▶ 80製品を超える配位子・触媒を試薬レベル※から工業スケールまでご提供いたします。
- ▶ 触媒開発40年の実績に基づく技術サポートでスケールアップをお手伝いいたします。

※試薬スケールにつきましては、Strem Chemicals Inc.、Sigma-Aldrich Co. LLC.、東京化成工業株式会社よりご購入いただけます。

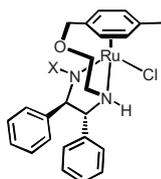
RUCY®

ケトン選択的不斉水素化



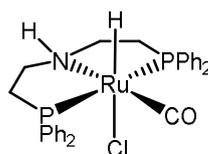
DENEB®

ケトン選択的不斉水素移動



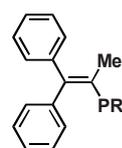
Ru-MACHO®

エステルの水素化還元



BRIDP®

触媒的カップリング

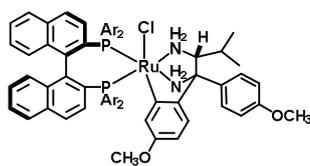


上記以外の配位子・触媒も豊富に取り扱っております。詳細に関しましては「高砂触媒」で検索を。

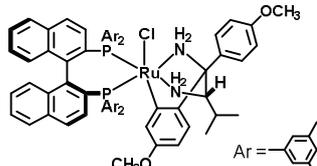


超高速不斉水素化触媒

RUCY®-XyIBINAP



(R)-RUCY®-XyIBINAP



(S)-RUCY®-XyIBINAP

・従来の常識を超える触媒回転数

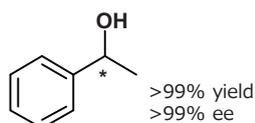
- ・ 1分当たり35,000回の触媒回転数

・高圧設備がなくても不斉水素化が可能

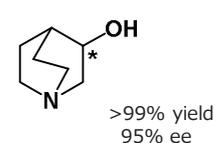
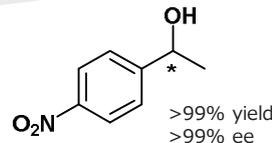
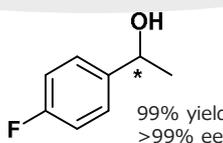
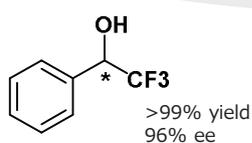
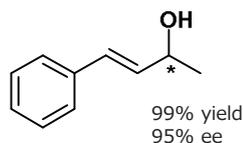
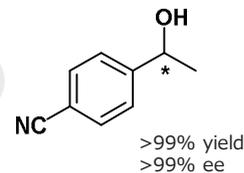
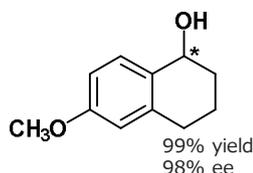
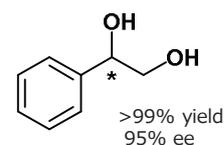
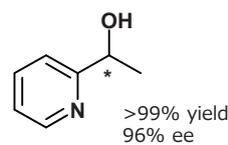
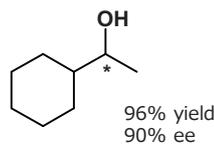
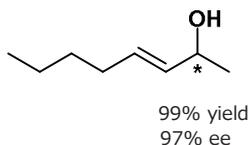
- ・ 常圧下での触媒使用量 0.1 mol%~
- ・ 1 MPa以下での触媒使用量 0.01 mol%~
- ・ 高圧下での触媒使用量 0.001 mol%~

・幅広いケトン基質で高収率、高光学収率

- ・ 環状芳香族ケトン、脂肪族ケトン、塩基に不安定なケトン



H₂ (1 atm) 0.1 mol%; 24 h
H₂ (7 atm) 0.01 mol%; 15 min
H₂ (50 atm) 0.001 mol%; 6 min



RUCY®, DENEB®, Ru-MACHO®, BRIDP®は高砂香料工業株式会社の登録商標です。

高砂香料工業株式会社

〒144-8721 東京都大田区蒲田5-37-1 ニッセイアロマスクエア17F
ファインケミカル事業本部 ファインケミカル販売部
TEL : 03-5744-0532 FAX : 03-5744-0675

<http://www.takasago.com/ja/>

日本プロセス化学会

2020 ウィンターシンポジウム プログラム

11月13日(金)

- 13:00 ~ 13:05 開会の辞 長澤 和夫 (東京農工大学)
- 13:05 ~ 13:45
(招待講演 1) 電子注入に基づく不飽和分子の活性化と有機合成への利用
依光 英樹 (京都大学) 座長: 小野田 俊彦 (第一三共)
- 13:45 ~ 14:25
(招待講演 2) 抗凝固薬 Edoxaban 中間体の原価低減製法の開発
道田 誠 (第一三共) 座長: 清水 仁 (中外製薬)
- 14:25 ~ 14:50 総会ならびに休憩
- 14:50 ~ 15:30
(招待講演 3) 微生物生合成マシナリーを用いた中分子修飾ペプチドの創製
尾仲 宏康 (東京大学) 座長: 栢野 明生 (エーザイ)
- 15:30 ~ 16:10
(招待講演 4) 貧溶媒晶析および冷却晶析における晶析速度解析と
原薬プロセス開発応用への課題
小寺 孝憲 (中外製薬) 座長: 家田 成 (アステラス製薬)
- 16:10 ~ 16:25 休憩
- 16:25 ~ 17:05
(招待講演 5) 生合成を拡張したアセンブリーライン合成プロセスの開発を目指して
大栗 博毅 (東京大学) 座長: 村瀬 徳晃 (大正製薬)
- 17:05 ~ 17:10 閉会の辞 田上 克也 (エーザイ)

※今回の情報交換会は開催しません。

※プログラムは変更する場合がございますので、あらかじめご了承ください。

講演者プロフィール

招待講演 1 依光 英樹 (京都大学)

招待講演 2 道田 誠 (第一三共)

招待講演 3 尾仲 宏康 (東京大学)

招待講演 4 小寺 孝憲 (中外製薬)

招待講演 5 大栗 博毅 (東京大学)

依光 英樹 Hideki Yorimitsu

京都大学 教授



【略歴】

- 1993年 土佐高等学校 卒業
- 1997年 京都大学 工学部 工業化学科 卒業
- 2002年 京都大学 大学院工学研究科 材料化学専攻 博士後期課程修了(大寫幸一郎教授)
- 2002年 東京大学 大学院理学系研究科 化学専攻 博士研究員(中村栄一教授)
- 2003年 京都大学 大学院工学研究科 材料化学専攻 助手/助教
- 2008年 同 准教授
- 2009年 京都大学 大学院理学研究科 化学専攻 准教授
- 2015年 同 教授

- 2012年 科学技術振興機構 先導的物質変換領域 ACT-C 研究代表者 (～2018年)
- 2014年 分子科学研究所 客員准教授/教授 (～2016年)
- 2018年 國立臺北科技大學 榮譽國際講座 教授 (～2020年)
- 2019年 科学技術振興機構 CREST [革新的反応] 研究代表者
- 2019年 Synthesis (Thieme), Associate Editor

【受賞歴】

- 2009年 日本化学会進歩賞
- 2011年 科学技術分野の文部科学大臣表彰若手科学者賞
- 2016年 Mukaiyama Award
- 2020年 日本学術振興会賞
- 2020年 日本学士院学術奨励賞

道田 誠 Makoto Michida

第一三共株式会社 製薬技術本部
プロセス技術研究所 主任研究員 博士（薬学）



【略歴】

1998年 青山学院大学大学院 博士前期課程修了（光延 旺洋 教授）
1998年 三共株式会社 第二生産技術研究所
2007年 社団法人北里研究所 受託研究員（向山 光昭 教授）
2009年 第一三共株式会社 プロセス技術研究所
2013年 スタンフォード大学化学科 客員研究員（Justin Du Bois 教授）
2014年より現職

【受賞歴】

なし

尾仲 宏康 Hiroyasu Onaka

東京大学 特任教授



【略歴】

1998年 東京大学大学院農学生命科学研究科博士課程修了

1997年～1999年 日本学術研究会特別研究員

1998年 米国コールドスプリングハーバー研究所及びペンシルバニア州立大学博士研究員

1999年 富山県立大学工学部生物工学研究センター助手

2006年 同講師

2010年 同准教授

2012年 東京大学大学院 農学生命科学研究科 微生物潜在機能探索（発酵研究所）寄付講座
特任教授

2017年 東京大学大学院 農学生命科学研究科 微生物潜在酵素（天野エンザイム）寄付講座
特任教授

【受賞歴】

2005年 日本放線菌学会／浜田賞

2008年 日本農芸化学会／農芸化学奨励賞

2010年 富山県ひとづくり財団／とやま賞

2016年 日本感染症医薬品協会／住木・梅澤記念賞

小寺 孝憲 Takanori Kodera

中外製薬株式会社 製薬研究部



【略歴】

- 2007年 早稲田大学工学部応用化学科卒業
- 2009年 早稲田大学先進理工学研究科応用化学専攻修了
- 2009年 エーザイ株式会社 原薬研究部
- 2020年 中外製薬株式会社 製薬研究部

【受賞歴】

なし

大栗 博毅 Hiroki Oguri

東京大学大学院 理学系研究科 化学専攻 教授



【略歴】

- 1989年 東北大学 理学部化学科 入学
 - 1993年 東北大学 理学部化学科 卒業
 - 1995年 東北大学大学院 理学研究科修士課程修了
 - 1998年 東北大学大学院 理学研究科博士課程修了
 - 1998年 博士（理学）（東北大学）（指導教員 平間正博教授）
 - 1998年 東北大学大学院 理学研究科 化学専攻・助手（平間正博教授主宰研究室）
 - 2003年 Harvard 大学 化学・化学生物学科 訪問研究員（Stuart L Schreiber教授）
 - 2004年 北海道大学大学院 理学研究院 化学部門・助／准教授
（及川英秋教授主宰研究室）
 - 2013年 科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業 さきがけ研究者（兼任）
 - 2015年 東京農工大学大学院 工学研究院 応用化学部門・教授
 - 2020年 東京大学大学院 理学系研究科 化学専攻・教授
- 現在に至る

【受賞歴】

- 2000年 井上研究奨励賞，井上研究振興財団
- 2002年 天然物化学談話会奨励賞
- 2005年 第55回 日本化学会進歩賞，日本化学会
- 2010年 Banyu Chemist Award 2010，万有生命科学振興国際交流財団
- 2017年 長瀬研究振興賞，長瀬科学技術振興財団
- 2019年 東京農工大学 学長賞
- 2019年 Asian Core Program Lectureship Awards 2019
[2カ国より受賞 China & Thailand]

特別価格キャンペーン

新製品 Cellulose-SZ の発売を記念し、
CHIRAL ART カラムを 30~50%OFF の特別価格でご提供いたします。
(キャンペーン期間：2021年1月31日ご注文分まで)



詳細は Web サイトへ
<http://www.ymc.co.jp/campaign/2020/C/>

多糖誘導体型キラル分離用HPLCカラム

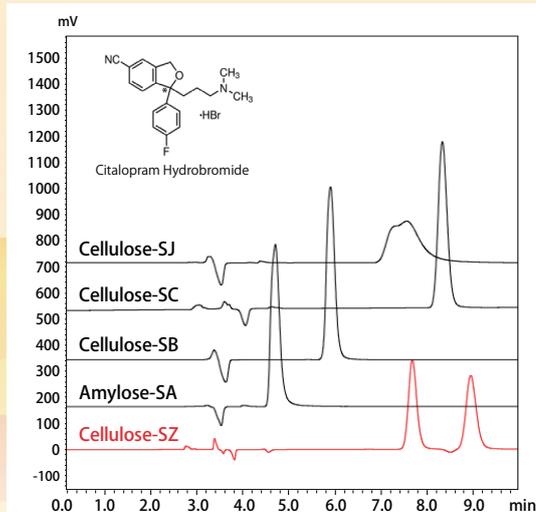
CHIRAL ART

ラインナップ
追加!!

特長

- 広範囲なキラル化合物の分離が可能
- LC-MS などの微量分析から大量分取まで対応

タイプ	カラム/充填剤名	キラルセクター
多糖誘導体 耐溶剤型	CHIRAL ART Amylose-SA	Amylose tris (3,5- dimethylphenylcarbamate)
	CHIRAL ART Cellulose-SB	Cellulose tris (3,5- dimethylphenylcarbamate)
	CHIRAL ART Cellulose-SC	Cellulose tris (3,5- dichlorophenylcarbamate)
	CHIRAL ART Cellulose-SJ	Cellulose tris (4- methylbenzoate)
	NEW CHIRAL ART Cellulose-SZ	Cellulose tris (3-chloro- 4-methylphenylcarbamate)
多糖誘導体 コーティング型	CHIRAL ART Amylose-C Neo	Amylose tris (3,5- dimethylphenylcarbamate)
	CHIRAL ART Cellulose-C	Cellulose tris (3,5- dimethylphenylcarbamate)



CHIRAL ART Cellulose-SZ は、従来品とは異なる分離
選択性を有するため、これまで分離できなかった化
合物の分離や、さらなる分離の改善が期待できます。

『CHIRAL ART+LC-Forte/R-II』で効率的かつ経済的な光学分割が可能!!

LC-Forte/R-II はリサイクル分離機能を標準搭載した
分取クロマトグラフィーシステムです

コンパクトかつ多機能なラボ用分取クロマトグラフィーシステム

LC-Forte/R-II

特長

- 分取 HPLC にもフラッシュ精製にも対応
- リサイクル分取機能を標準搭載
- 自動繰り返し注入機能により大量の試料処理も容易
- 専用ソフトウェアで直感的に設定・操作可能



株式会社ワイエムシー
〒600-8106 京都市下京区五条通烏丸西入醍醐町284
<http://www.ymc.co.jp>

お問い合わせ先
営業本部

京都 TEL.075-342-4503
東京 TEL.03-5439-9790

講演要旨

電子注入に基づく不飽和分子の活性化と有機合成への利用

京都大学 大学院理学研究科 化学専攻

○依光英樹

Activation of Unsaturated Molecules by Electron Injection for Organic Synthesis

Hideki Yorimitsu*

Department of Chemistry, Graduate School of Science, Kyoto University

Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan

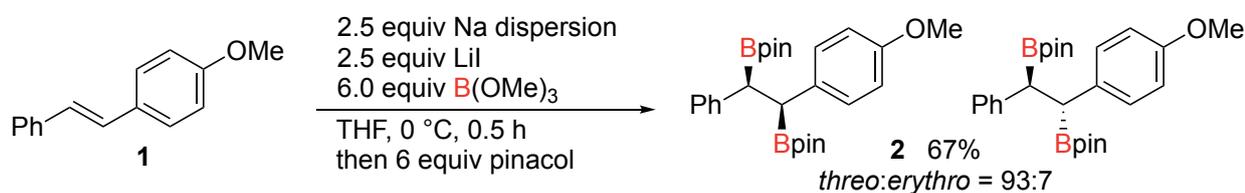
yori@kuchem.kyoto-u.ac.jp

As represented by dissolving metal reduction in liquid ammonia, reductive hydrogenations of unsaturated hydrocarbons using alkali metals constitute a fundamental class of reactions in organic synthesis. Such reductions mostly result in simply forming two new C-H bonds by in situ protonation. Introductions of substituents other than hydrogen by using aprotic electrophiles have been far less investigated, although they should pave the way for a new class of useful transformations that increase molecular complexity and diversity starting from simple unsaturated compounds. I will talk about our endeavor to develop reductive difunctionalization reactions of unsaturated molecules by electron injection from alkali metals in the presence of reduction-resistant electrophiles.

単体アルカリ金属を利用した不飽和化合物の還元は、ラジカルアニオン中間体を經由するユニークな分子変換を可能にする基本的かつ重要な手法である。このような還元的変換は一般にプロトン化剤共存下で行われ、例えば液体アンモニア中でのアルキンの *trans*-アルケンへの還元のように、生成物は単純水素化体になることがほとんどである。もし還元により生じる高反応性アニオン中間体をプロトン以外の求電子剤で捕捉できれば、合成可能な分子の多様性は格段に広がり、単体アルカリ金属による還元的変換に新しい展開がもたらされよう。しかしながら、この構想を実現するためには、二つの相反する問題を乗り越えなければならない。すなわち、生じる高反応性アニオン中間体を直ちに捕捉するために求電子剤ははじめから共存させておかなければならないが、求電子剤の反応性が低すぎる場合には、アニオン中間体をうまく捕捉できず反応が複雑となってしまう。一方、求電子剤の反応性が高すぎる場合には、不飽和化合物に優先して求電子剤が還元されてしまう。この問題を解決するためには、カルボアニオン中間体とは速やかに反応するものの、アルカリ金属からの強力な電子注入は受けない、絶妙な反応性を有する求電子剤が必要となる。本講演では、アルコキシホウ素化合物を中心とする耐還元性求電子剤を用いた不飽和化合物の還元的官能基化反応について述べる。

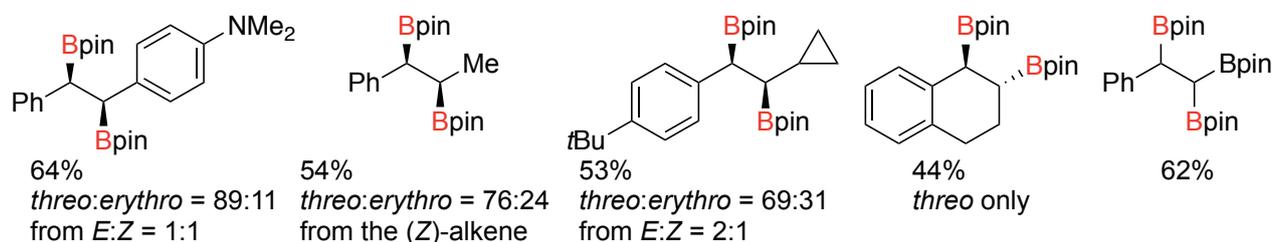
スチレン類の二重官能基化¹⁾

耐還元性求電子剤として過剰量のトリメトキシボラン $B(OMe)_3$ 共存下、THF-TMEDA 混合溶媒中スチルベン誘導体 **1** に対して 2.5 当量の金属ナトリウム鈹油分散体 (粒径 $<10 \mu\text{m}$)²⁾ とヨウ化リチウムを作用させた。30 分攪拌した後、ピナコールを加えることでホウ素置換基を安定で取り扱いやすいピナコラートボリル基に変換して後処理を行ったところ、ジボリル化 **2** 体が 67% の収率で高 *threo* 選択的に得られた。表面積の大きなナトリウム分散体を利用することは重要であり、リチウム粉末を用いると、反応の進行が遅くなり反応もやや複雑となった。また、ヨウ化リチウムを共存させておかないと、ジアステレオ選択性は 2:1 程度まで低下した。 $B(OMe)_3$ の共存は必須であり、還元を行った後に $B(OMe)_3$ を加えると、**1** のオリゴマー化が進行し **2** はほとんど得られない。

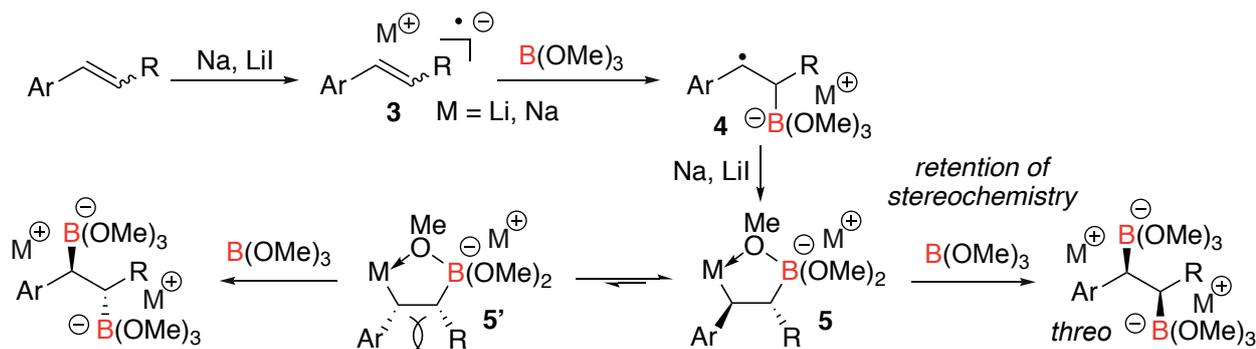


このジボリル化反応は様々なスチレン類に対して適用できる。本反応の特徴をいくつか述べる。

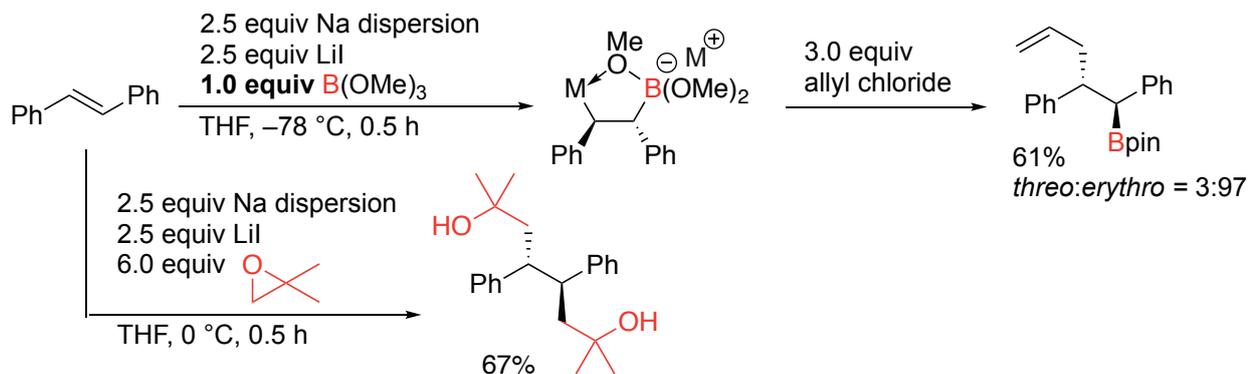
1) 反応のジアステレオ選択性は出発物質の立体化学に依存せず、立体収束的である。2) スチルベン誘導体では高い *threo* 選択性が見られるが、スチレン誘導体では中程度の選択性とどまる。3) シクロプロピルスチレンの反応では、シクロプロパンの開環は認められない。4) 環状アルケンからは *threo* 体のみが生じる。5) スチリルボロン酸エステルからはじめると、トリボリル体を得られる。



反応機構は次の通り想定している。まずナトリウムからの一電子注入により、対応するラジカルアニオン **3** が生じる。これが直ちに $B(OMe)_3$ により捕捉され、開殻ボラート **4** となる。もう一電子注入されてアニオン **5** および **5'** が生じる。より立体反発が小さく安定と考えられる **5** が優先的にもう一分子の $B(OMe)_3$ と立体保持で反応し、*threo* 体のジボリル化体が生成する。

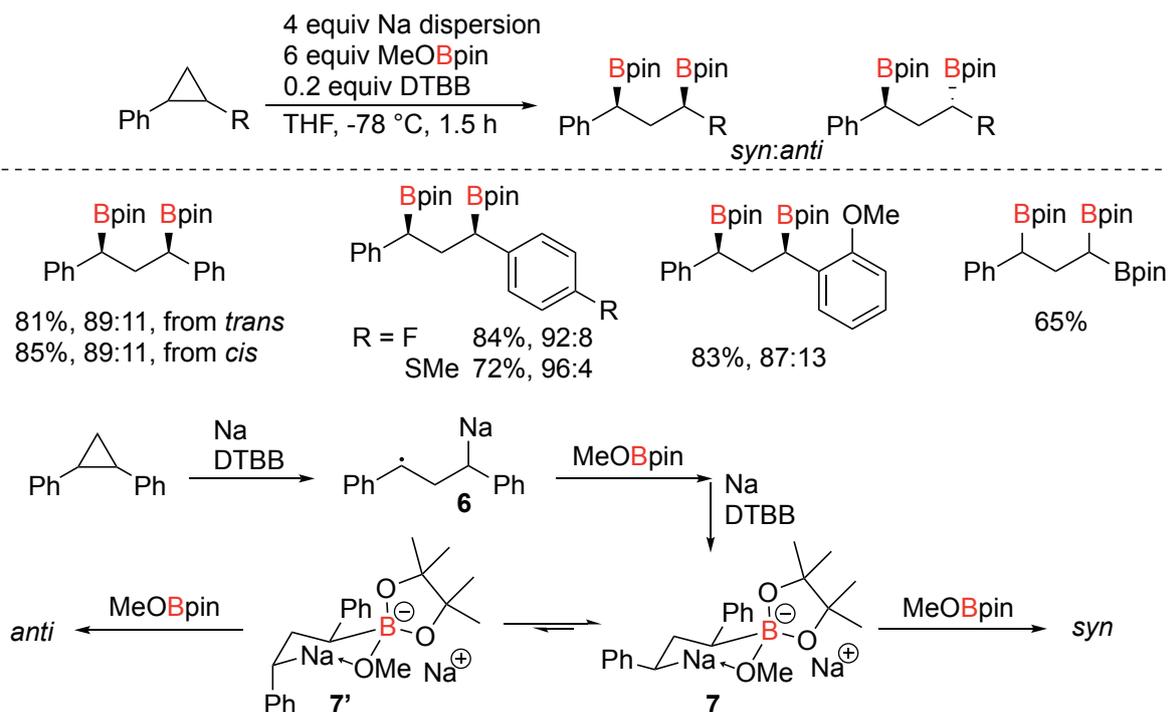


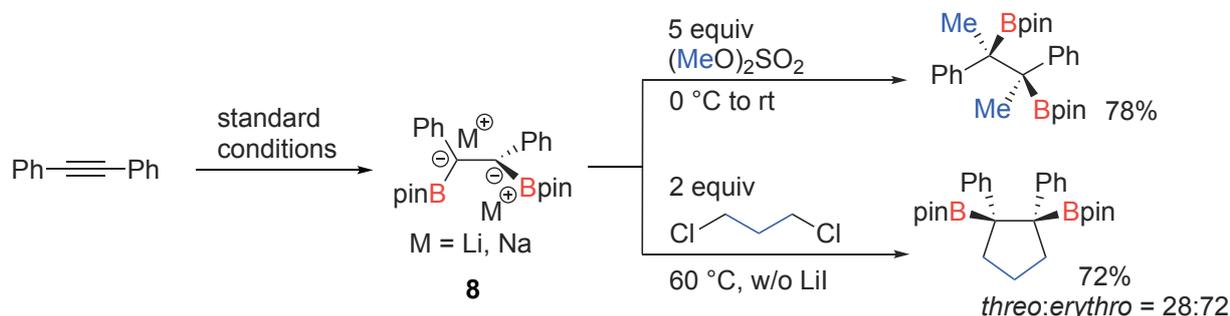
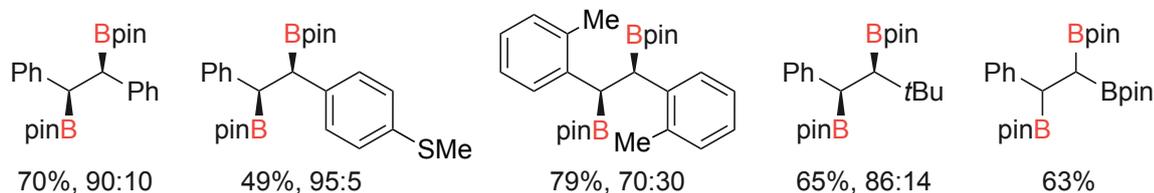
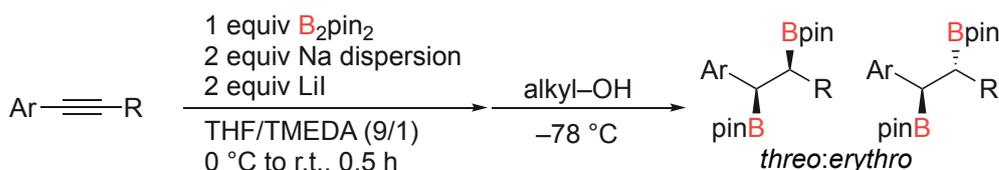
分子内配位により安定化された中間体 **5** を $\text{B}(\text{OMe})_3$ 以外の求電子剤で捕捉できれば、生成物の多様性が広がる。実際、 $\text{B}(\text{OMe})_3$ を 1 当量用いて反応を行ったのちに、ハロゲン化アルキルを作用させたところ、対応する生成物が高収率かつ高い立体選択性で得られた。この際、ジアステレオ選択性はジボリル化と逆になることは興味深い。中間体 **5** とハロゲン化アルキルの反応が立体反転を伴って進行することを示唆している。また、エポキシドも耐還元性求電子剤として利用できる。



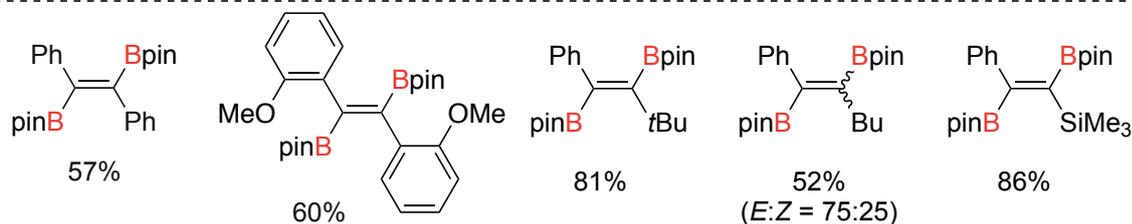
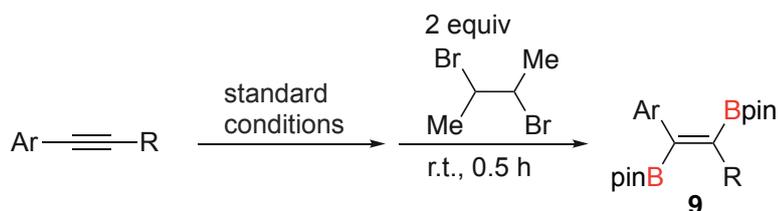
シクロプロパン類の開環を伴う 1,3-二重官能基化³⁾

スチレン類の代わりに 1,2-ジフェニルシクロプロパンに電子注入を行うと、耐還元性求電子剤としてメトキシピナコラートボラン MeOBpin と電子移動触媒として 4,4'-di-*t*-butylbiphenyl (DTBB) 共存下に効率よくシクロプロパン環の還元的開裂が進行し、1,3-ジボリルプロパン誘導体が高収率かつ高 *syn* 選択的に得られた。本反応はスチレン類との反応と同様の反応機構で進行すると考えられる。まずナトリウムからの一電子注入がシクロプロパンの開環をひきおこし、中間体 **6** となる。 MeOBpin による捕捉と続く一電子注入によりアニオン **7** および **7'** が生じる。より安定で優先的に存在すると考えられる **7** がもう一分子の MeOBpin と反応し、*syn* 体が主として生成する。





興味深いことに、臭化アルキルやヨウ化アルキルを求電子剤として作用させたところ、ジアニオン種 **8** が酸化され、(E)-1,2-ジボリルアルケン **9** を合成できた。電子豊富化学種 **8** からハロゲン化アルキルへの一電子移動を経由して酸化されると考えている。一般的にアルキンのジボリル化は *syn* 選択的に進行し、*anti* 選択的な反応は反応基質が限定される。本手法は、入手容易な $\text{B}_2(\text{pin})_2$ とフェニルアセチレン誘導体から(E)-1,2-ジボリルアルケンを合成できる有用な手法と考えられる。



以上の一連の研究は、単体リチウム金属を用いて頑丈なインドールを還元的に開環する反応を発見した^{6,7)}ことに端を発し、研究開始からわずか2年でまだまだ発展途上の段階にある。立体選択性の向上や新たな耐還元性求電子剤の発掘を通じて、有用な有機合成手法に育ち、ひいてはプロセス化学の発展に寄与できれば幸甚である。

参考文献

1. Fukazawa, M.; Takahashi, F.; Nogi, K.; Sasamori, T.; Yorimitsu, H. *Org. Lett.* **2020**, *22*, 2303.
2. 株式会社神鋼環境ソリューションから提供されたものであり、この場を借りて御礼申し上げます。なお、このナトリウム分散体は SD Super Fine™ として富士フイルム和光純薬株式会社および東京化成工業株式会社より市販されている。
3. Wang, S.; Kaga, A.; Yorimitsu, H. *Synlett* **2020**, in press.
4. Ito, S.; Fukazawa, M.; Takahashi, F.; Nogi, K.; Yorimitsu, H. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2020**, *93*, 1171.
5. Takahashi, F.; Nogi, K.; Sasamori, T.; Yorimitsu, H. *Org. Lett.* **2019**, *21*, 4739.
6. Tsuchiya, S.; Saito, H.; Nogi, K.; Yorimitsu, H. *Org. Lett.* **2019**, *21*, 3855.
7. Saito, H.; Yorimitsu, H. *Chem. Lett.* **2019**, *48*, 1019.

抗凝固薬 Edoxaban 中間体の原価低減製法の開発

第一三共株式会社 製薬技術本部 プロセス技術研究所
道田 誠

Development of an Efficient Manufacturing Process for a Key Intermediate in the Synthesis of Edoxaban

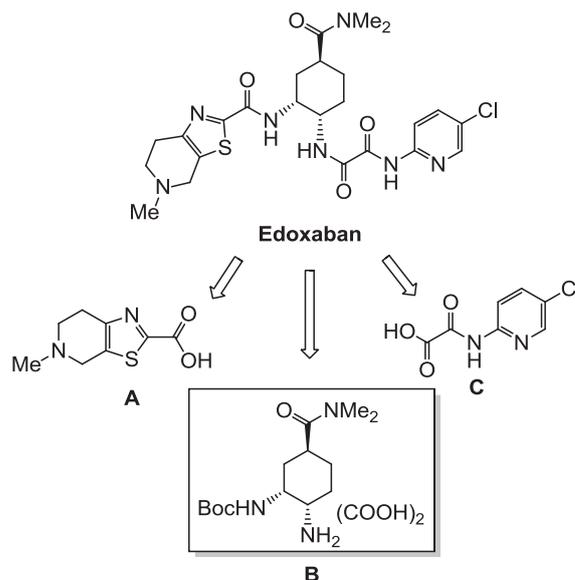
Makoto Michida

Process Technology Research Laboratories (PTRL), Daiichi Sankyo Co., Ltd.
michida.makoto.wp@daiichisankyo.co.jp

We have developed a novel highly efficient manufacturing method to access a key intermediate of edoxaban to increase the productivity and to reduce the manufacturing cost. A salient feature of the new synthetic route is a unique rearrangement reaction to construct a differentially protected 1,2-*cis*-diamine from 1,2-*trans*-aminoalcohol utilizing neighboring group participation. In addition, a flow reaction system has also been applied to the process in a large scale in order to suppress the degradation of the unstable reaction intermediate. Furthermore, the efficiency of the optical resolution of a chiral lactone intermediate was improved by employing enzymatic resolution.

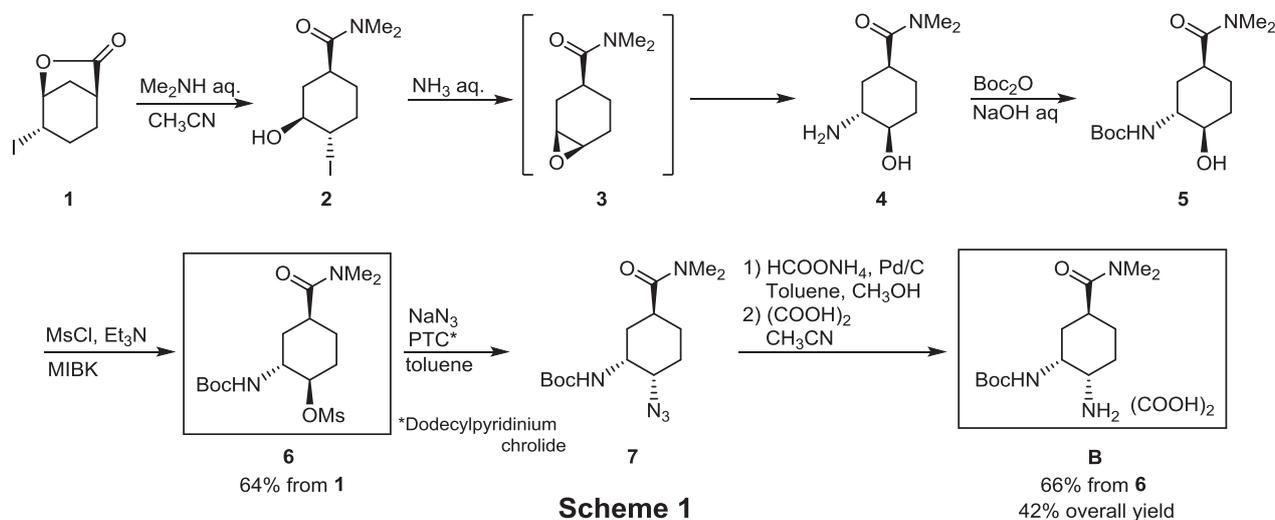
Edoxaban は、国内初の直接経口抗凝固薬として 2011 年に発売され、2015 年の適応拡大により本格的にグローバルに展開されている薬剤である。当研究所では、Edoxaban を使用される多くの患者に高品質な製品を届ける責任を果たすべく、合成ルートの変更も含め新技術を取り込みながら効率的な製造法を追求してきた。本セッションでは、新製法のプロセス開発で鍵となったポイントを中心に発表する。

右図に示すように、Edoxaban は 3 つの中間体 **A**, **B**, **C** を縮合することによって合成される。この中でキラルな中間体である **B** が最も合成難易度が高く、製造コストの大部分を占めていた。すなわち、**B** をいかに効率よく合成するかが Edoxaban 製造原価低減に対する最重要課題であった。



第一世代合成法とその問題点

Scheme 1 に **B** の合成法を示す。本ルートは、キラルなヨードラクトン **1** を原料として用い、ジメチルアミンによる開環、続くアンモニア水での処理によりエポキシド **3** を経て *trans*-アミノアルコール **4** に変換する。その後、アミノ基の保護、水酸基のメシル化により、**6** を結晶として単離する。その後、**6** をアジド化-還元することにより *cis*-ジアミン骨格を構築し、**B** をシュウ酸塩結晶として取得する。本製法は、数百 kg スケールでの製造の実績もあったが、更なる生産性の向上を狙うためには、**6**→**7** への変換の際に 10%程度副生する立体異性体 (*trans*-**7**) による収率低下の問題をいかに克服するかが課題となっていた。

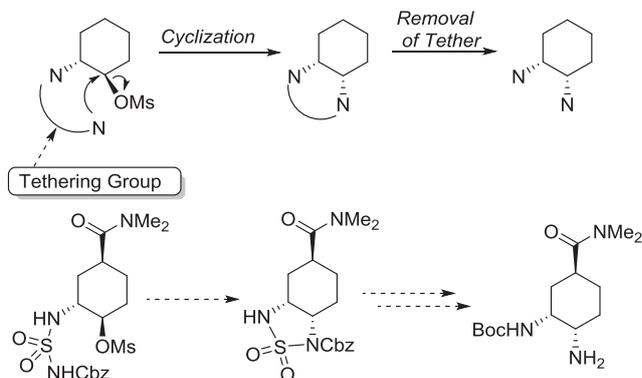


trans-**7** が生成してしまう理由としては、アミノ基の保護基である Boc 基の隣接基効果によるものであると考察し、本ルートでは *trans*-**7** の副生を完全に抑制できないと判断した。そこで、隣接基効果を積極的に利用した「分子内環化反応での *cis*-ジアミン骨格構築」のコンセプトのもと、新規合成ルートを考案した。

第二世代合成法のコンセプト

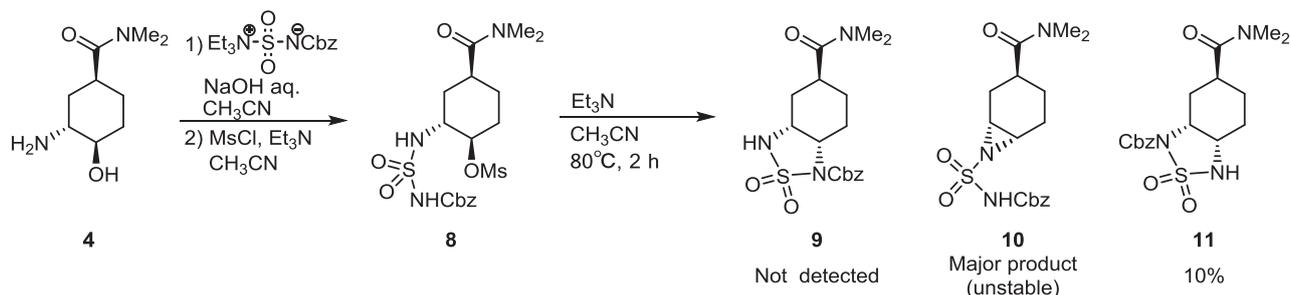
Fig. 1 に示すようにスルホニル基をテザーとして、導入する窒素原子を分子内の近傍にあらかじめ持たせておき、環化反応を行えば、分子内 S_N2 反応により所望の立体化学にて窒素を導入できると考えた (※当初のコンセプトであり結果は予想と異なる)。

Fig.1 New concept for *cis*-diamine synthesis



新規合成ルート探索

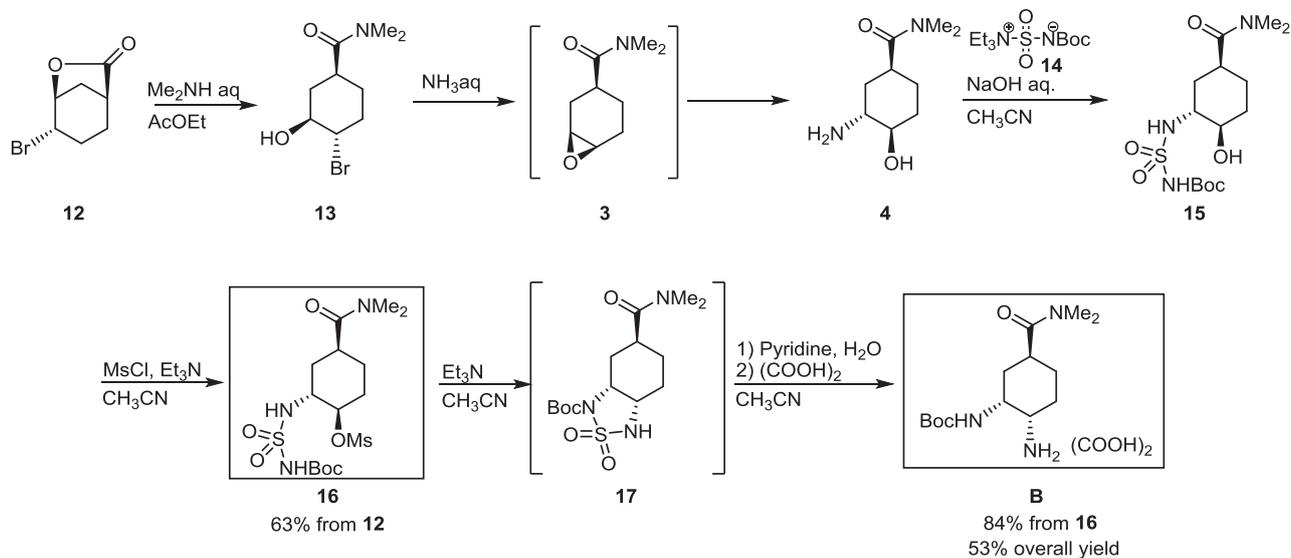
Scheme 2 に示すように、アミノアルコール **4** より誘導した **8** を、塩基存在下加熱したところ、主生成物は目的とする環状スルファミド **9** ではなく、アジリジン **10** であり、後処理中に容易に分解してしまった。一方、10%程度得られた生成物も **9** ではなく、興味深いことに Cbz 基がもう一方のアミノ基に結合した **9** の位置異性体 **11** であった。さらに、時間の経過に伴い最初に生成した **10** がスルファミド **11** に変換して主生成物となることが判明し、結果的に保護基の位置が想定と逆ではあるが、所望の *cis*-ジアミン骨格を構築できることが明らかとなった。



Scheme 2

この反応を応用し、ターゲットである **B** に相当する Boc 基を導入した **15** を用いて反応を行ったところ、予期したとおり **16** が高収率で生成した。さらにピリジン/水を添加する事によってテザーであるスルホン基が除去され、ワンポットで **B** に変換することが出来た (Scheme 3)。本ルートを適用することにより、短工程かつ高い立体選択性で *cis*-ジアミン骨格を構築することができ、これまで問題となっていた収率が大幅に改善された。

同時に、ヨードラクトン **1** の代わりに、比較的安価なブロモラクトン **12** を用いても、同様にアミノアルコール **4** への変換が可能であることが分かったため、併せて **12** を原料として採用した。

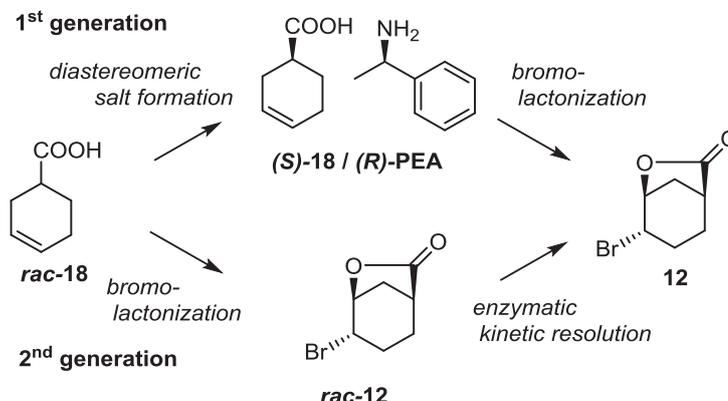


Scheme 3

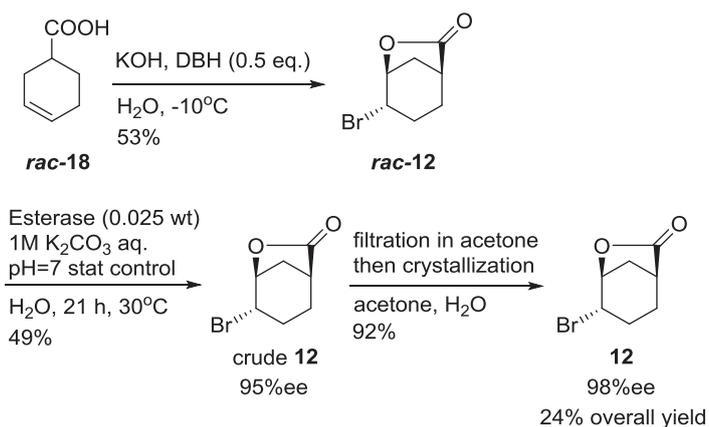
酵素反応の適用

ブロモラクトン **12** は、依然としてコスト寄与率が最も高い原材料であったため、**12** をターゲットとした更なる検討を行った。製造コスト削減に有効な別の手段として、酵素反応に着目した (Fig.2)。すなわち、前半にラセミ体の **12** を合成し、後半に酵素による速度論的分割によって光学活性体を得るアプローチである。

Fig.2 Approaches for optically pure **12**



Scheme 4 に示すように、エステラーゼを使用した際に高い選択性が観察され、これをもとに効率的な製法を確立した。本製法により、化学量論量の (*R*)-PEA が不要になり、操作が大幅に簡略化された。この製法により数百 kg スケールでの製造を達成している。

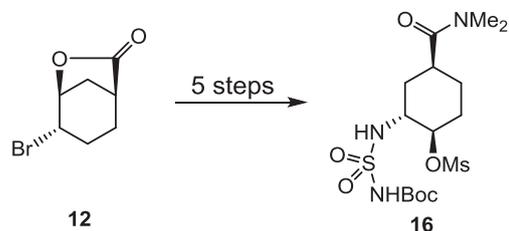


Scheme 4

フローリアクターの活用

第二世代合成法では、ラボスケール (10g) では、**12**→**16** が 70% の収率で得られたが、スケールアップにつれて、**16** の収率が低下する傾向が見られた (Table 1)。検証の結果、収率低下の原因は、**4**→**15** の工程にて、Burgess 型試薬 **14** を調製する際の間体体の分解である事が判明した。この問題を解決するためフローリアクターの活用を検討することとした。

Table 1 Result of scale-up study

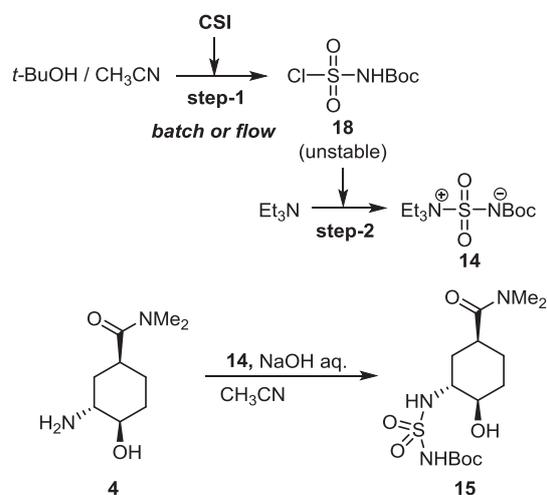


scale	yield of 16
10 g	70%
1 kg	65%
100 kg	63%

Table 2 に示すように、通常のバッチ式で調製した **14** とフローリアクターにて調製した **14** を用い、それぞれ **4** との反応を行ったところ、フロー法の場合、スケールアップ時の操作時間を考慮しても高い収率を維持した。

フローリアクターのスケールアップに向けた詳細条件検討は、当研究所のケミカルエンジニアを中心に、**18, 14** の反応熱、分解速度などの基礎データからプロセスの挙動を数式化し、工業化スケールでの製造を想定したシミュレーションから、流量、温度、溶媒量などの各パラメーターを決定した。実際に数百 kg のスケールアップ製造において、本フロー法の適用により **12** から **16** の通算収率がラボ実験と同等となり、フローリアクターの効果を確認することができた。

Table 2 Effect of plug-flow reactor



entry	mode	addition time		reaction yield
		step-1	step-2	
1	batch	1 h	1.5 h	91
2	batch	5 h	1.5 h	85
3	flow	17 sec.*	1 h	94
4	flow	17 sec.*	10 h	93

*Residence time of step-1

Reference

Michida, M.; Ishikawa, H.; Kaneda, T.; Tatekabe, S.; Nakamura, Y. *Org. Proc. Res. Dev.* **2019**, *23*, 524.

微生物生合成マシナリーを用いた中分子修飾ペプチドの創製

東京大学大学院農学生命科学研究科

○尾仲 宏康

Biosynthesis of midium-molecular-sized modified peptides using microbial biosynthetic machinery

Hiroyasu Onaka*

Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo,

1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan.

aonaka@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

Ribosomally synthesized and post-translationally modified peptides (RiPPs) are a group of natural products that are important pharmaceutical resources. Here, we describe two newly discovered compounds, lactazoles and goadvionins. The lactazole biosynthetic gene cluster consists of only six genes. With a combination of post-translational modification enzymes and a cell-free ribosome translation system, we established a system for the synthesis of lactazole and its derivatives by feeding template DNA into the system. Goadvionins are lipopeptides generated by fusion of a lipid and a peptide. Analysis of their biosynthetic pathway revealed a novel enzyme that fuses lipid and peptide chains.

微生物が生産する天然物は医薬品に利用される重要な化合物群である。人類はこれまでペスト、結核など、さまざまな感染症に長い間悩まされ続け、ようやく 20 世紀に入り、青カビの生産する抗生物質であるペニシリン、結核の特効薬ストレプトマイシンなどの、天然物由来抗生物質の発見を契機に、感染症を制圧できるようになった。しかしながら、現在でもコロナウイルスを始め、新たな感染症が続々と発生しており、それらに対する薬剤の開発が急務となっている。薬剤開発において重要な点の一つは、新たな薬剤となり得る候補化合物を多数取りそろえることである。これまで天然物はその構造多様性と活性多様性において、最も優れた候補化合物供給源であった。しかしながら、天然物に頼るばかりでは、候補化合物の種類には自ずと限界がきてしまう。事実、人類はこれまでに膨大な天然物探索活動を行っており、その結果、近年では新規構造を持つ天然物の発見数が減少してきている。このことから、多くの研究者は主要な天然物は既に取り尽くされたのではないかと考えてさえいる。このような状況を打破し、多様な薬剤候補化合物を今後も供給するために、現在では深海や火山等の特殊な環境に生息する希少な微生物資源の探索までも進められているが、微生物資源へのアクセスや培養条件が難しいなどの問題を抱えてしまうために、現時点では必ずしも新規天然物を効率的に発見できているわけではない。

一方、化学合成法を用いて複雑な構造の化合物を多数合成することも行われているが、構造が複

雑になればなるほどコストと時間がかかり、天然物のような複雑な化学構造を容易に作る事が難しいという問題がある。そのため、依然として、天然物が医薬品候補化合物の重要な供給源となっている。

このような状況の中で、天然物生合成マシナリーを用いた新規天然物の創製は次世代のアプローチとして多くの研究者が注目をしている手法である。一般的に天然物は多段階の酵素反応により、一次代謝産物より生合成される。天然物は、この多段階で複雑な生合成経路を経た、なれの果てともいえる物質であるため、天然物生合成マシナリーに手を加えることにより、様々な酵素反応ステップを改変して、天然物を超える多様性を作り出すアプローチが有力な化合物供給手法の一つであるといえる。日本でも 10 年前より新学術研究領域において、生合成マシナリー、生合成リデザインの二つのプログラムが走っており、一大研究グループを構築して精力的に研究が続けられている。

本講演では、我々の発見した二つのペプチド系天然物、ラクタゾール、ゴードビオニンについて、それらの発見から、生合成マシナリーを用いた多様なアナログ創製手法の確立まで概説したい。

1. チオペプチドの試験管内合成法による多様なアナログ創製¹⁾

ラクタゾールは放線菌 *Streptomyces lactacystinaeus* が生産するチオペプチドである。チオペプチドは動物薬のチオストレプトンや家畜成長剤ノシヘプタイドなどの商業化した化合物の他、抗 *Clostridium difficile* 薬として第 3 相臨床試験で好成績を残しながら開発元のノバルティス社の天然物撤退の方針によってやむなく開発中止になった化合物 LFF571 等があり、生理活性物質としてのポテンシャルの高い天然物の一群である。特に最近では、チオストレプトンが MRSA だけでなく、結核菌やグラム陰性菌に対しても抗菌活性があり、さらには抗がん活性や抗マラリア活性も報告されており、まだまだチオペプチドの生理活性については未知な部分が多い。

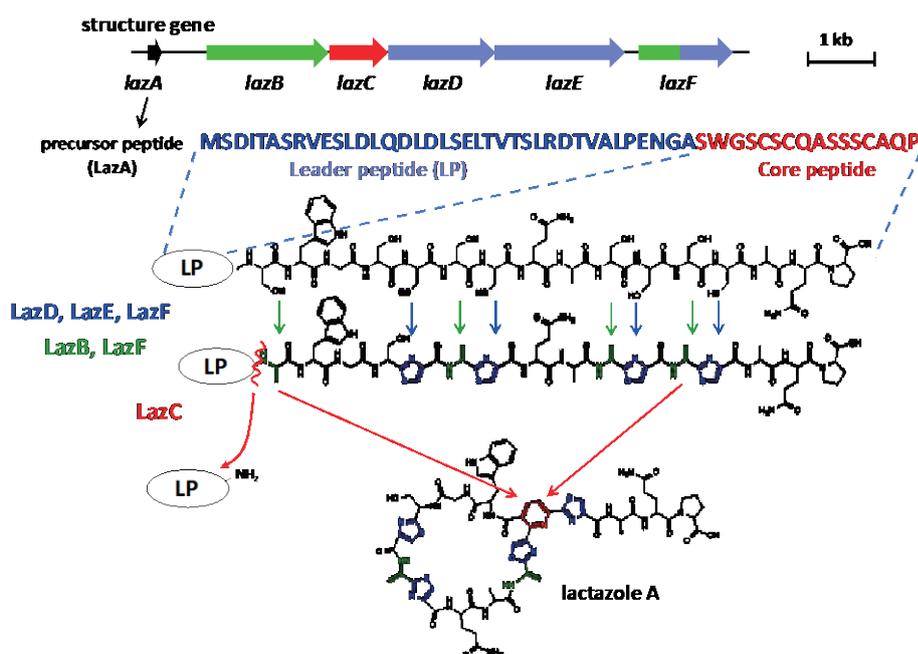


図1 ラクタゾール生合成遺伝子クラスターとラクタゾール生合成経路

ラクタゾールの生合成遺伝子群は 6 個の *lazABCDEF* 遺伝子からなる。構造遺伝子 *lazA* がリボゾームによって翻訳されることにより、ラクタゾール前駆体ペプチド・LazA となる。その後、LazBCDEF の 5 つの翻訳後修飾酵素によって、セリンのデヒドロアラニン化 (LazBF)、セリン、スレオニン、システ

インのアゾール環化 (LazDEF)、4+2 マクロ環化 (LazC) が触媒され、ラクタゾールとなる (図 1)。

ラクタゾールの生合成マシナリーを試験管内で再構成するために、T7 RNA polymerase と Ribosome から成る無細胞翻訳系と LazBCDEF の 5 つの酵素などを反応チューブ内に入れ、最後に LazA となる鋳型 DNA を投入することにより、室温で一昼夜の反応により、ラクタゾールを合成する反応システムの構築に成功した。本システムを用いて、様々な変異 *lazA* を鋳型 DNA として投入することにより、これまでに 92 種類のラクタゾールアナログの創製に成功した。

本反応システムには非タンパク質性アミノ酸を導入できる無細胞翻訳系である FIT システムを用いている。FIT システムはフレキシザイムというリボザイムによって、非タンパク質性アミノ酸を tRNA に結合することが出来る。その結果、ラクタゾール内のアミノ酸を非タンパク質性アミノ酸 8 種類に置換したアナログの創製にも成功した。また、LazC によるマクロ環化においては環サイズの許容性が高く、これまでに、14 員環から 62 員環までの様々なマクロ環サイズのラクタゾールアナログの創製にも成功した (図 2)。

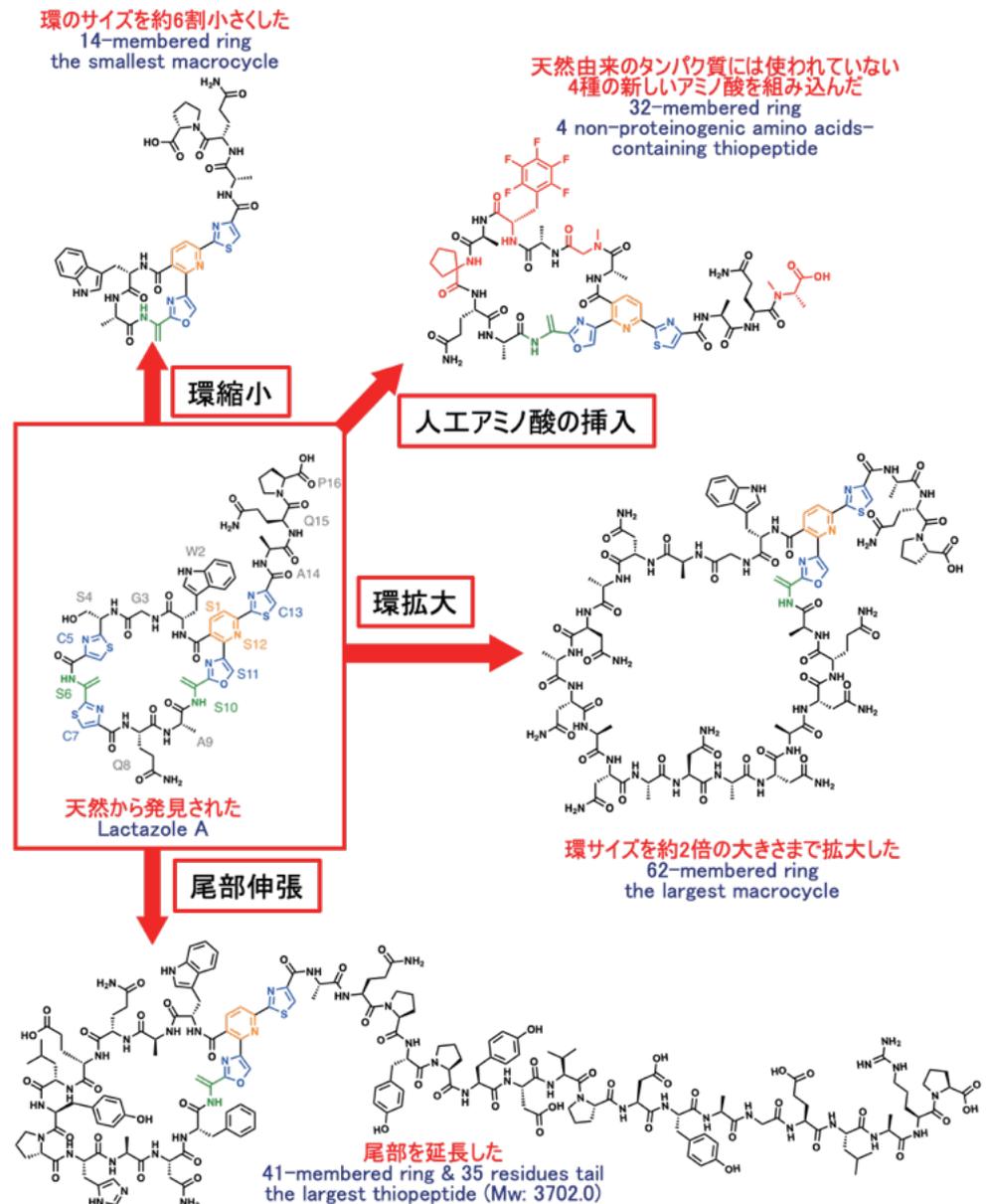


図2 ラクタゾールの生合成マシナリーを試験管内で再構成した系を用いて、様々なラクタゾールアナログを創製した

2. 新規経路によって生合成されるリポペプチド天然物群の発見²⁾

リポペプチドはその名の通り、脂肪酸とペプチド化合物がハイブリッドした構造を有する天然物群である。これまでに、ミカファンギン、サーファクチン、ダプトマイシン、ポリミキシンなど、抗生物質として商業生産されている化合物がいくつも存在する医薬品候補物質

として有力な化合物群である。脂肪酸とペプチドがハイブリッド化したりポペプチドの化学構造を容易に創製できるようになれば、両化合物のさまざまな組み合わせが可能となるため、天然物の化学構造と生理活性の多様性を広げることにつながる。今回、ゲノマイニングにより見出された新規リポペプチド・ゴードビオニン(goadvionin)は、従来のリポペプチドとは微生物内での生合成の過程が異なり、化合物の構造もリポペプチドとは大きく異なる一群の化合物群・PK/RiPP ハイブリッドリポペプチドが天然に存在している。

ゴードビオニンはグラム陽性菌の増殖を阻害する PK/RiPP ハイブリッドリポペプチドであり、放

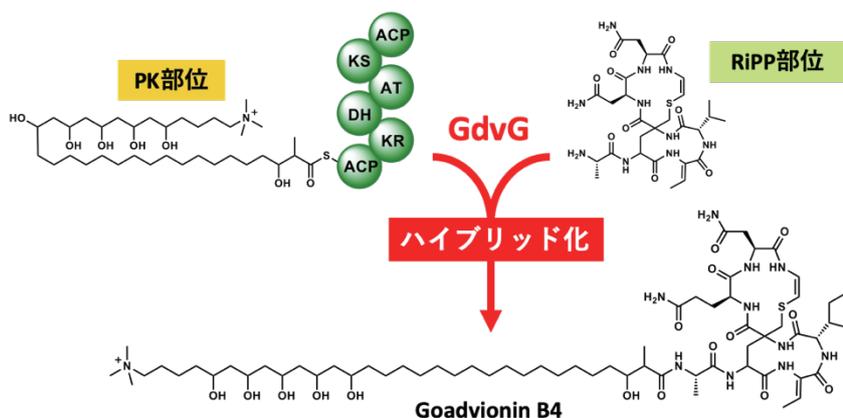


図4 GdvGによる、脂肪酸部位(PK)とペプチド部位(RiPP)との縮合の触媒反応によってゴードビオニンが生合成される

線菌 *Streptomyces* sp. TP-A0584 が生産する。ゴードビオニンは、極端に長いアシル鎖(トリメチルアミノ 32 炭素アシル鎖)と、複雑な修飾を受けたペプチド構造(アビオニン含有ランチペプチド)で構成されている(図 3)。極端に長いアシル鎖の 6 つのヒドロキシ基と 1 つの二重結合の位置は、従来の分析技術では構造解析が困難であったため、今回新たに島津製作所田中耕一記念質量分析研究所によって開発された、ラジカル原子/分子を照射することで C-C 結合切断フラグメントを生成する HiRID-MS / MS 装置によって決定した。

ゴードビオニンの生合成遺伝子を解析し、その生合成の過程を明らかにしたところ、アシル鎖とペプチド鎖が結合してハイブリッド化する反応は、GNAT スーパーファミリーに属するアシルトランスフェラーゼ・GdvG が触媒していた。この反応は従来のアシルトランスフェラーゼとは異なり、アシルキャリアプロテイン(ACP)につながれた非常に長いアシル鎖をペプチド部分の N 末端アミノ基に転移する反応であった(図 4)。

この特徴的な *gdvG* 遺伝子を指標にして、これまでに報告されている微生物ゲノムを探索したところ、放線菌を中心にさまざまな微生物が *gdvG* 相同遺伝子を有していることが明らかとなり、ゴ

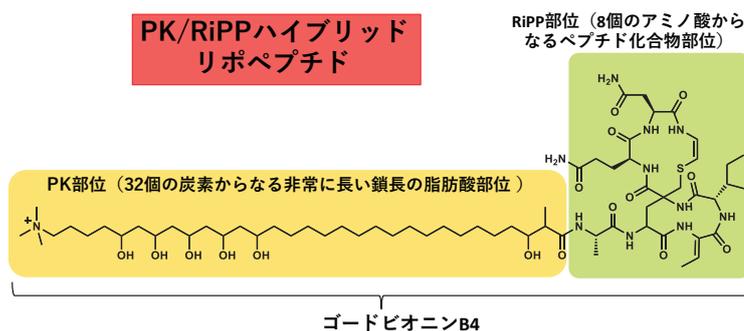


図3 ゴードビオニンの化学構造

ードビオニンに類する化合物は微生物二次代謝産物として大きなグループを形成していることを明らかにした (図5)。

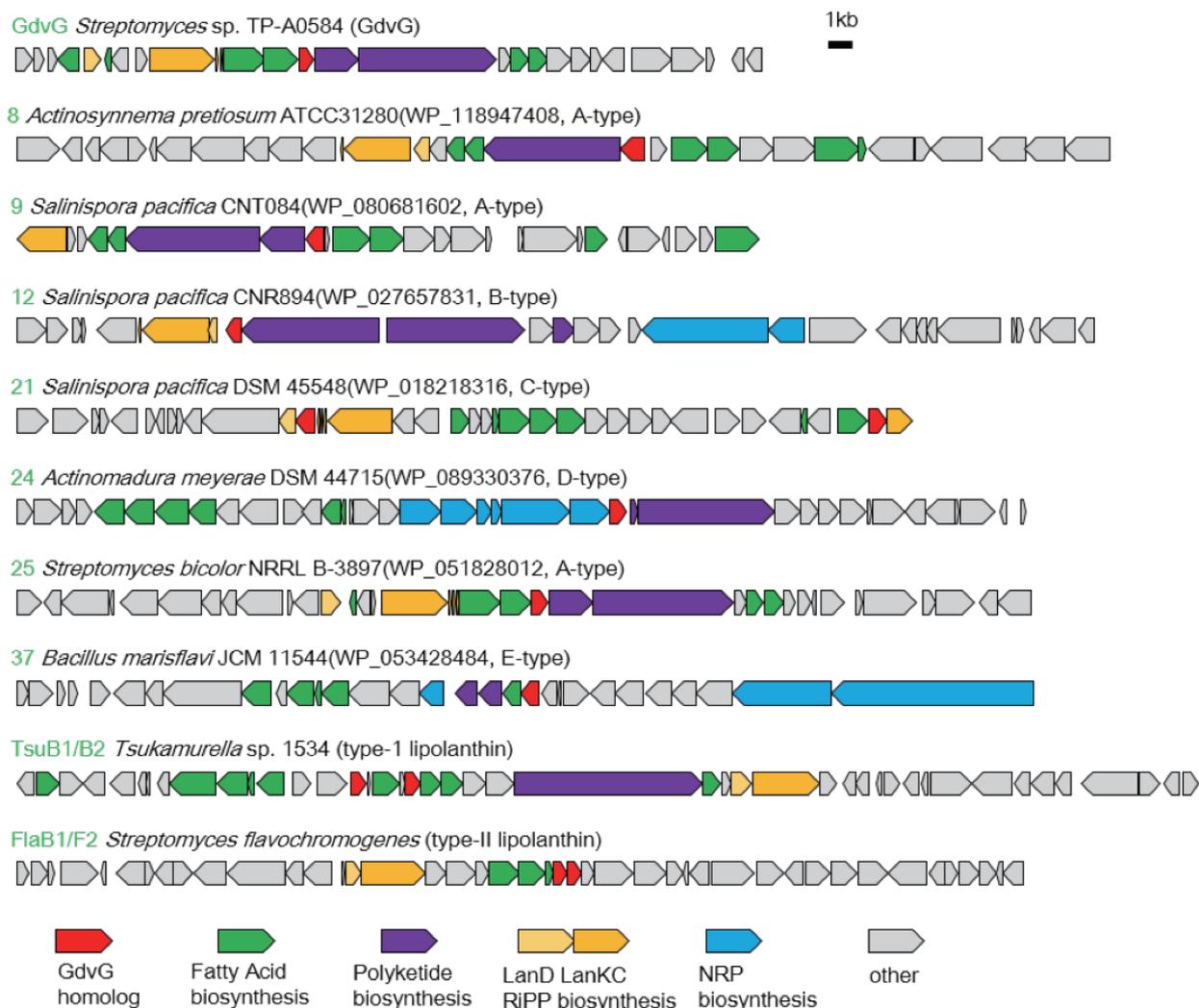


図5 様々な微生物ゲノムから見出されたGdvGによる縮合反応と同じ機構で生合成されると考えられるリポペプチド生合成遺伝子クラスター

1. A. A. Vinogradov, M. Shimomura, Y. Goto, T. Ozaki, S. Asamizu, Y. Sugai, H. Suga, H. Onaka. Minimal lactazole scaffold for in vitro thiopeptide bioengineering. *Nature Communications*, 11, 2272. (2020)
2. R. Kozakai, T. Ono, S. Hoshino, H. Takahashi, Y. Katsuyama, Y. Sugai, T. Ozaki, K. Teramoto, K. Teramoto, K. Tanaka, I. Abe, S. Asamizu, and H. Onaka. Acyltransferase that catalyses the condensation of polyketide and peptide moieties of goadvionin hybrid lipopeptides. *Nature Chemistry*, 12, 869–877 (2020)

貧溶媒晶析および冷却晶析における晶析速度解析と

原薬プロセス開発応用への課題

- 1) 中外製薬 (株) 製薬本部 製薬研究部, 2) 早稲田大学 先進理工学研究科 応用化学専攻
○小寺孝憲^{1,2}, 小針昌則², 平沢泉²

Crystallization Kinetic Analysis for Antisolvent and Cooling Crystallization, and Challenges in Application for API Process Development

Takanori Kodera^{1,2*}, Masanori Kobari², Izumi Hirasawa²

1) API Process Development Department, Pharmaceutical Technology Division,
Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

5-5-1 Ukima, Kita-ku, Tokyo, 115-8543, Japan

2) Major in Applied Chemistry, Graduate School of Advanced Science and Engineering,
Waseda University

3-4-1 Okubo, Shinjuku-ku, Tokyo, 169-8555, Japan

t2.kodera@gmail.com

Aiming for application to process development of API, antisolvent crystallization model and estimation method of crystallization kinetic parameters were developed. Especially for kinetic analysis for primary nucleation, an original interpretation of metastable zone width proposed by Kubota was applied. Our estimation method was applied to cooling crystallization and crystallization rate parameters were successfully determined. These determined crystallization rate parameters can simulate the concentration trend and number mean diameter of produced crystal indicating the possibility of application to development of API process. Finally, further applications and related challenges are considered.

原薬合成プロセスにおいて、晶析操作は重点的に研究されている単位操作の一つである。特に原薬化工程においては、晶析操作により最終原薬の粒子径や多形など重要な物性が決定されることが多い。さらに中間体工程においては、ろ過性に影響する操作でもあり、スケールアップ時にトラブルにつながることも多い操作でもある。一方、アカデミアにおいて、Kubota は晶析における準安定域幅の解釈に関して、従来の結晶質量による解釈とは違う、結晶個数に着目した解釈を提案した¹⁾。Kubota の解釈では冷却晶析における準安定域幅は、核化速度を式(1)で定義し、系内の結晶総個数が(未知ではあるが)ある個数に到達したときの温度幅であるとした(式(2))。

$$I_n = k_n(\Delta T)^n \quad (1)$$

$$\Delta T_m = \left[\left(\frac{N_m}{k_n M} \right) (n+1) \right]^{1/n+1} R^{1/n+1} \quad (2)$$

Kubota らはこの解釈と個数収支・物質収支を組み合わせることで晶析現象をモデリングし、数値計算を用いて準安定域幅や待ち時間測定における検出感度の重要性を考察し、この解釈を用いた晶析現象のシミュレーションの可能性を提示した²⁾。筆者らは、原薬プロセス開発への晶析シミュレーションの応用による開発スピード・開発効率の向上を目指し、モデル物質であるパラセタモールを用いて検討を実施した。具体的には、貧溶媒晶析を対象とし、晶析モデリングを行い、実験的な晶析速度解析によって粒子径予測の可能性を検討した。晶析シミュレーションの産業適用という観点では近年、欧米の企業から実際にスケールアップ研究へ適用した事例も報告されている³⁾。本発表では、貧溶媒晶析における手法を冷却晶析さらには冷却晶析と貧溶媒晶析を組み合わせた系にも展開した結果を紹介する。さらに原薬プロセス研究へ適応する際に課題となる点を考察する。

貧溶媒晶析現象を式(3)に示すように、個数収支と物質収支を用いてモデリングを実施した⁴⁾。

$$\begin{aligned} \frac{\partial n(L, t)}{\partial t} + \frac{\partial (n(L, t)G)}{\partial L} &= 0 \\ \frac{dC_s}{dt} &= -3\rho_c k_v G \mu_2 - \rho_c k_v (B_1 + B_2) L_0^3 \\ \frac{dC_{sol}}{dt} &= -C_{sol} \frac{F_a}{M_{tot}} \\ \frac{dM_{tot}}{dt} &= F_a \end{aligned} \quad (3)$$

晶析速度としては、一次核化と二次核化を明確に区別した核化速度と成長速度を考慮した。速度式は Kubota の解釈を参考に過飽和のべき乗の形を採用した⁴⁾ (式(4))。

$$\begin{aligned} B_1 &= k_{b1}(\Delta C)^{b1} \\ B_2 &= k_{b2}(\Delta C)^{b2} \mu_3 \\ G &= k_g(\Delta C)^g \end{aligned} \quad (4)$$

各速度式中の速度定数および速度次数(速度パラメータと表す)を決定することで晶析シミュレーションが可能となる。これら速度パラメータの実験的推定法について検討した結果を示す。一次核化速度パラメータは Kubota の解釈を貧溶媒晶析に応用し、修正待ち時間⁵⁾ (Fig. 1) を測定することで推定した。

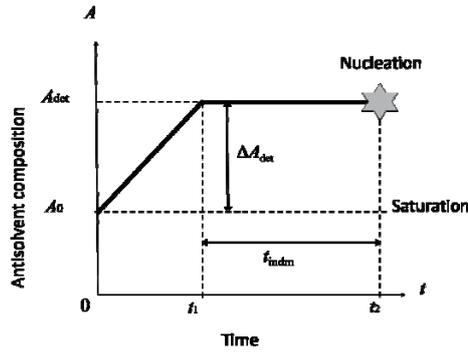


Fig. 1 Schematic diagram showing the modified induction time, t_{indm} ⁶⁾

修正待ち時間を用いて推定するための理論式は式(5)に示すように過飽和の違う2式を導出した⁶⁾。

$$\begin{aligned} \left(\frac{N}{M}\right)_{det} &= \int_0^{t_2} B_1 dt = \int_0^{t_1} B_1 dt + \int_{t_1}^{t_2} B_1 dt \\ t_{indm} &= \frac{(N/M)_{det}}{k_{b1} \alpha_c^{b1}} (\Delta A_{det})^{-b1} - \frac{(\Delta A_{det})}{R_A (b1 + 1)} \\ t_{indm} &= \frac{(N/M)_{det}}{k_{b1}} (\Delta C_{det})^{-b1} - \frac{(\Delta C_{det})}{R_C (b1 + 1)} \end{aligned} \quad (5)$$

速度パラメータ推定実験では大きく2種類の実験を実施した。1つは成長速度パラメータ推定の実験、そしてもう1方は核化速度パラメータ推定の実験である。成長速度パラメータ推定においては、大量の微小な種結晶を利用し理想成長と解釈できる実験結果と、核化が起きないと仮定した数値計算結果を用いて成長速度パラメータを最適化により求めた。ここでは、レーザー回折・散乱法により測定した結晶粒子径の粒子径分布と計算に用いる粒子径分布の変換が課題となったが、光学特性や形状を考慮する係数を導入することで解決した。一次核化速度パラメータについては、理論式(5)に基づいて過飽和を変化させ待ち時間を測定し、パラメータを推定した (Fig. 2)。

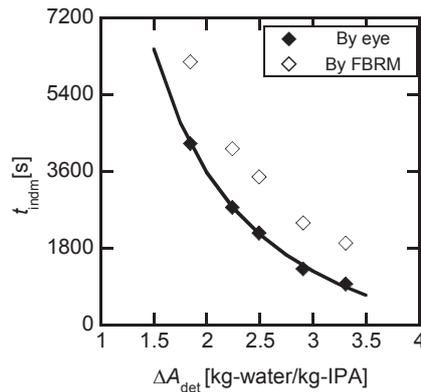


Fig. 2 Relationship between the supersaturation, ΔA_{det} , and the modified induction time, t_{indm} ⁶⁾

式(5)を用いてパラメータ推定するにあたり、核化判定時の個数密度 $(N/M)_{det}$ が確定することで一次核化パラメータは確定できるが、この数値は未知の数値であり実験的な推定が難しい。しかし、言い換えると個数密度を仮定することで一次核化速度パラメータは確定できるため、仮定した値により一次核化速度パラメータを確定させ、二次核化速度パラメータを最適化により確定させることができるので、この方法を繰り返し、個数密度の変動によるパラメータおよび濃度トレンドの変動

を考察した。個数密度の変動に伴う濃度トレンドの変化をFig. 3に示す。

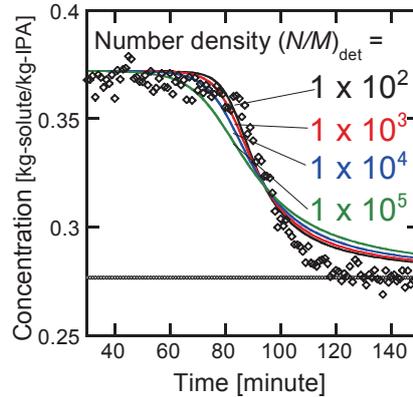


Fig. 3 Effect of the value of $(N/M)_{det}$ on the concentration trend⁶⁾

個数密度が大きくなるにしたがってトレンドの変化は緩やかになり、実験データからの乖離が大きくなる傾向が確認された。個数密度の変動による各速度パラメータの変動をFig. 4に示す。検出時の個数密度と一次核化速度定数との線形関係は当然であるが、二次核化速度パラメータとの間にも線形関係が認められた。この関係を用いることで速度パラメータと同様に検出時の個数密度を最適化により求めることが可能となった。

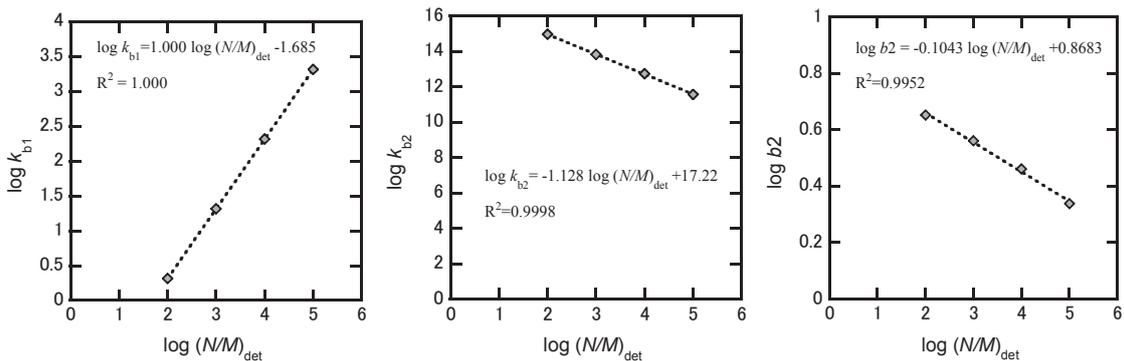


Fig. 4 Effect of $(N/M)_{det}$ on the rate parameters⁶⁾

最適化された個数密度は 2.11×10^2 #/kg-solvent であり、他報告⁷⁾と比べて小さい数値であるが、原因は検出感度の高さによるものと考察された。以上の手法により決定した一次核化、二次核化および成長の各速度パラメータは、濃度トレンドおよび個数平均径のトレンドを許容できる精度において予測でき、筆者らの方法により実験的に求めた速度パラメータによって晶析現象のシミュレーションが可能であることが示唆された。

貧溶媒晶析において開発した手法を冷却晶析へと展開した。一次核化速度の推定結果を示す。貧溶媒晶析と同様に修正待ち時間を利用し、理論式(5)を用いて求めた。修正待ち時間と過飽和の関係をFig. 5に示す。

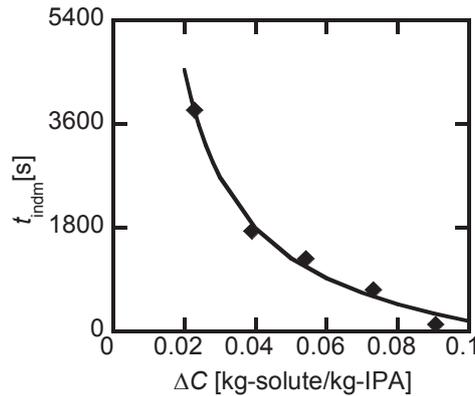


Fig. 5 Modified induction time and supersaturation in cooling crystallization⁸⁾

貧溶媒の場合と同様に理論式を用いて一次核化速度パラメータが推定でき、成長および二次核化の速度パラメータも同様の手法により決定できた。決定した速度パラメータによって、溶液濃度および個数平均径が予測できており、冷却晶析においても晶析現象のシミュレーションの可能性が示唆された。

貧溶媒晶析および冷却晶析で決定したパラメータを用いて、これら晶析を組み合わせた晶析に関して実験の結果とシミュレーション結果を比較した。未知の条件であるにも関わらず、Fig. 6に示すように許容できる精度で濃度トレンドおよび個数平均径が予測できることが示唆された。

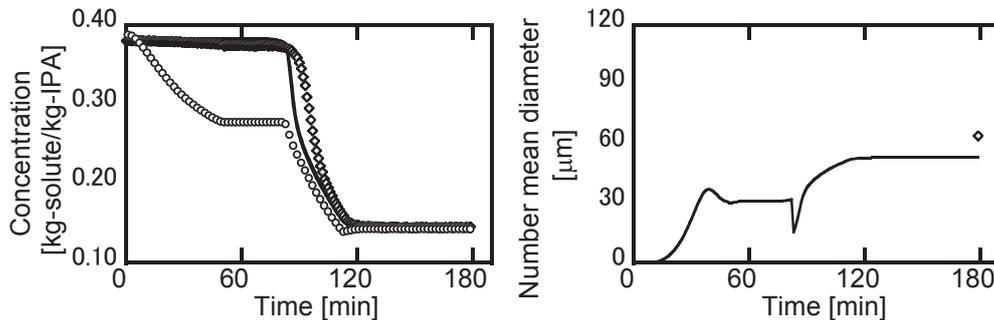


Fig. 6 Simulation accuracy of the combined crystallization using determined kinetic parameters⁸⁾

しかし、更に適用を広げるにあたり課題も挙げられる。モデリングの観点では、成長速度の温度依存性や溶媒の組成比率依存性の表現に関する点、二次核化速度におけるスケールおよび装置・晶析方法との関係に関する点等があげられる。実際に二次核化速度パラメータについては晶析方法の違いにより大きく数値が違う結果であり、実験誤差を含んでいることは考察されるものの、今後さらなる検討が必要と考える。

シミュレーションの精度が許容範囲であることが確認できたので、原薬プロセス開発研究への応用例として、決定した速度パラメータを用いて各操作因子（貧溶媒滴下速度および冷却速度）による個数平均径の変動を考察した（Fig. 7）。

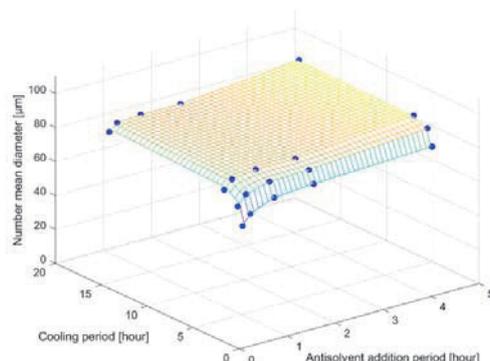


Fig. 7 Effect of operational parameters on number mean diameter⁸⁾

この例のように晶析速度解析により求めた速度パラメータを使えば、数値計算により晶析現象がシミュレーションでき粒子径（個数平均径）の変動が求められる。速度解析の応用により、原薬プロセス開発研究における製法決定に必要な実験数の削減、スケールアップ予測、さらにはCPPの特定（感度分析）やPAR設定へのシミュレーションの利用など承認申請に関連する業務への適用も可能性としては考えられる。技術的にシミュレーションの精度を上げるだけでなく、シミュレーション技術を産業応用し開発に利用していく考え方の整理などの課題も解決することで、これらの技術は原薬プロセス開発力の向上に貢献できると考える。

- (1) Kubota, N. A New Interpretation of Metastable Zone Widths Measured for Unseeded Solutions. *J. Cryst. Growth* **2008**, *310* (3), 629–634.
- (2) Kubota, N.; Kobari, M.; Hirasawa, I. Analytical and Numerical Study of Detector Sensitivity and Resolution Effects on Metastable Zone Width. *CrystEngComm* **2013**, *15* (11), 2091–2098.
- (3) Rosenbaum, T.; Tan, L.; Dummeldinger, M.; Mitchell, N.; Engstrom, J. Population Balance Modeling to Predict Particle Size Distribution upon Scale-Up of a Combined Antisolvent and Cooling Crystallization of an Active Pharmaceutical Ingredient. *Org. Process Res. Dev.* **2019**, *23*, 2666–2677.
- (4) Koderá, T.; Kobari, M.; Hirasawa, I. Modeling and Growth Kinetics of Antisolvent Crystallization Applied to the Pharmaceutical Industry. *Chem. Eng. Technol.* **2019**, *42* (7), 1458–1465.
- (5) Kubota, N. A Unified Interpretation of Metastable Zone Widths and Induction Times Measured for Seeded Solutions. *J. Cryst. Growth* **2010**, *312* (4), 548–554.
- (6) Koderá, T.; Kobari, M.; Hirasawa, I. Experimental Estimation of Primary and Secondary Nucleation Kinetics of Antisolvent Crystallization As Measured by Induction Time. *Org. Process Res. Dev.* **2019**, *23*, 2724–2732.
- (7) Ó'Ciardhá, C. T.; Frawley, P. J.; Mitchell, N. A. Estimation of the Nucleation Kinetics for the Anti-Solvent Crystallisation of Paracetamol in Methanol/Water Solutions. *J. Cryst. Growth* **2011**, *328* (1), 50–57.
- (8) Koderá, T.; Kobari, M.; Hirasawa, Nucleation Kinetics Estimated by Using the Modified Induction Time in Cooling Crystallization and the Applicability to the Combined Process of Antisolvent and Cooling Crystallization. *J. Chem. Eng. Jpn.* In press.

in situ ReactIR・自動合成装置(極低温)

メトラー・トレド

in situ ReactIR

- サンプルング不要、リアルタイム反応追跡
- 長時間反応でも安定したモニタリング
- 不安定中間体をモニタリング
- 最適な終点の決定
- キネティクス解析
- 反応条件の最適化

詳細はこちら ▶ www.mt.com/ReactIR



自動合成装置(極低温タイプ)

- -90℃まで冷却可能
- 低温を高精度に制御可能
- 反応熱も低温で測定可能
- リアクタに氷の不着がなく、安定して操作可能
- 大型の恒温槽が無くても低温を維持することが可能

詳細はこちら ▶ www.mt.com/EasyMax

メトラー・トレド株式会社 ラボインストルメンツ事業部
オートケムチーム

TEL:03-5815-5515 FAX:03-5815-5525

お問い合わせ先: www.mt.com/contacts

METTLER TOLEDO

生合成を拡張したアセンブリーライン合成プロセスの開発を目指して

東京大学大学院 理学系研究科 化学専攻

○大栗 博毅

Toward Development of Biogenetically Inspired Assembly-Line Synthetic Processes

Hiroki Oguri*

Department of Chemistry, School of Science, The University of Tokyo

7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan.

hirokioguri@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

Our research group aims to develop concise and flexible synthetic approaches to generate functional molecules based on the structure, biosynthesis, and biological roles of natural products. With integration of the biosynthetic logics and modern strategies of organic synthesis, biomimetic modular assembly lines were devised to gain rapid access to natural product-like chemical space. In this symposium, I will introduce a chemoenzymatic hybrid process that allowed very rapid and operationally simple access to the densely functionalized pentacyclic alkaloidal skeleton *within a single day* from two simple synthetic substrates. A catalytic asymmetric *de novo* synthetic process of 6-aza-artemisinins as well as divergent synthetic processes of indole alkaloidal scaffolds will also be presented.

1. はじめに

植物や菌類は環境変化に適応して生き残るため、骨格のバリエーションに富んだ生体機能性分子群を産生するプロセスを進化させてきた。天然物の生合成では、代謝経路に存在するシンプルで普遍的な化合物から多段階の酵素変換を経て複雑な骨格が構築される。多彩な化学反応性を秘めた生合成中間体が形成され、様々な酵素がそれぞれに特徴的な環化／環開裂反応・官能基変換を触媒する。演者らは、天然物の生合成プロセスや構造と機能の相関を踏まえつつ、骨格レベルでの構造改変を施した天然物アナログ群を設計し、短段階合成する“骨格多様化合成”を提案している¹⁾。天然物やその生合成に学び、構造多様性と生体機能性を兼ね備えた化合物群を現実的なコストで創製する手法を開発している²⁾。本シンポジウムでは、①化学—酵素ハイブリッド迅速合成³⁾、②元素置換戦略による天然物アナログの設計とモジュラー式短段階合成^{4,5)}、③インドールアルカロイド類似化合物群の骨格多様化合成⁶⁾を中心に、天然物の骨格を迅速・簡便に組み上げつつ、自在に構造多様化する短段階合成プロセスの開発について紹介する。

2. テトラヒドロイソキノリンアルカロイドの化学・酵素ハイブリッド合成プロセス

サフラマイシン類 (**1**, **2**) に代表される抗腫瘍性アルカロイド群は、テトラヒドロイソキノリン (THIQ) 環が複数連結した複雑な五環性骨格を持つ (図1)。ほぼ同一の五環性母骨格を共有する天然物群として、ジオルナマイシン **A** (**3**)、レニエラマイシン **M** (**4**)、エクテナサイジン **743** (**5**) 等の類縁体が報告されている。二つの THIQ 環で構成される天然物 (**1-4**, **6**) はアミノニトリルから生じるイミニウムカチオンで DNA のグアニン塩基をアルキル化する。核酸アルキル化部位とタンパク質相互作用部位を併せ持つ **5** は制ガン薬 (トラベクテジン/ヨンドリス) として臨床応用されている。特異な構造を持ち、強力な制ガン作用を発現する THIQ アルカロイド群については、優れた全合成研究が活発に展開されてきた。極めて複雑な多環性構造を持つ制ガン薬 **5** は、培養で得られるシアノサフラシン **B** (**6**) からの多段階半合成 (21 工程) で供給されている。最近筆者らは、サフラマイシン **A** 生合成酵素 *SfmC* に非天然型基質群を適用して、**1-6** に共通する五環性母骨格を迅速に合成した。不安定な中間体を単離せずに官能基の化学変換を施し、サフラマイシン **A** (**1**)、ジオルナマイシン **A** (**3**)、*N*-Fmoc サフラマイシン **Y3** (**7**) の系統的な全合成に成功した³⁾。この化学-酵素ハイブリッド合成法を展開し、**A**, **E** 環と 1 位側鎖を改変した非天然型アナログ群を簡便に合成した。構造活性相関の知見を蓄積し、実際に天然物 **6** よりも優れた DNA アルキル化能を発揮する **8** (5 位デオキシアナログ) を創製することができた⁷⁾。

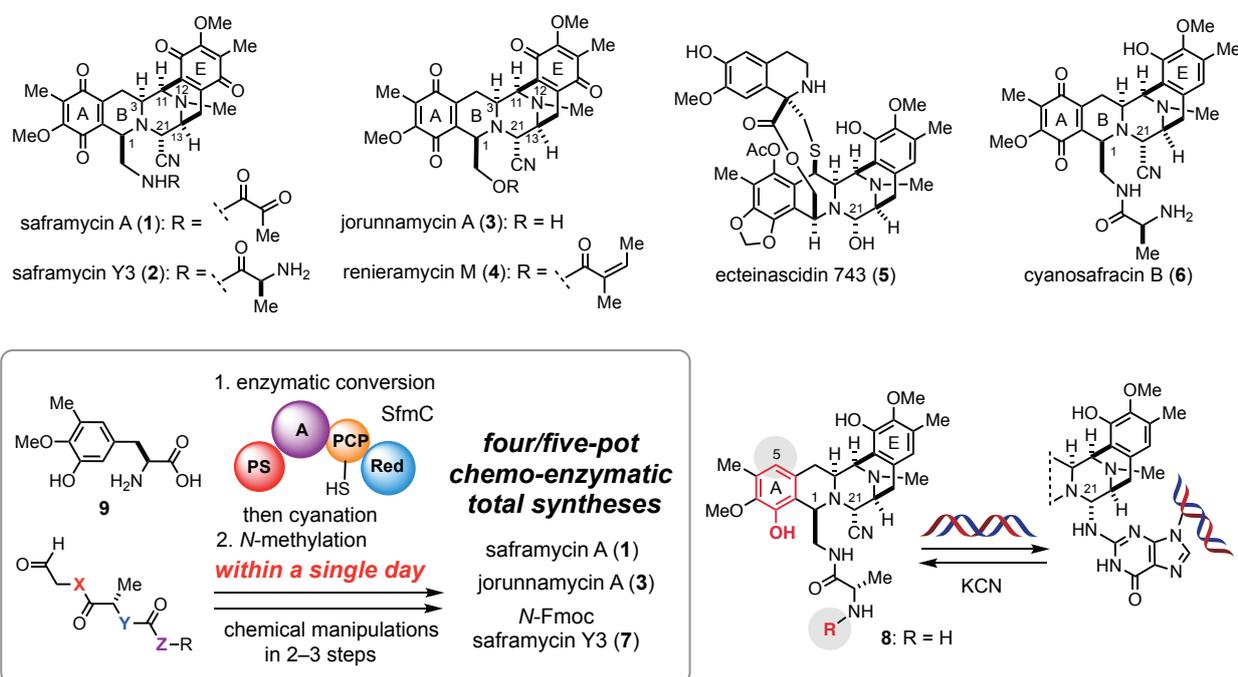


図1 テトラヒドロイソキノリンアルカロイド類 (**1-6**) と合成アナログ (**7, 8**)。

北海道大学及川研究室において、非リボソーム依存型ペプチド合成酵素 (NRPS) が THIQ アルカロイド類の多環性骨格を生合成する機構を提案し、実験的に検証した⁸⁾。サフラマイシン **A** 生合成酵素 *SfmC* は、NRPS 元来の機能であるペプチドの形成を触媒せず、代わりにチオエステルを還元し、生じたアルデヒドとチロシン誘導体 **9** との Pictet-Spengler 反応を触媒する。sp³ 炭素

を立体選択的に構築しながら五環性骨格を組み上げる非常にユニークな酵素モジュールである。

本研究では、酵素 SfmC による多環性骨格構築と官能基を変換する化学合成を融合させたハイブリッドプロセスを開発した (図2)。①ホロ型酵素 SfmC の簡便な調製法を確立し、②酵素に受容される非天然型基質群を設計・化学合成し⁹⁾、基質の構造と酵素活性との相関を明らかにした。天然型アルデヒド基質 **10** では、酵素反応に不可欠な長鎖脂肪酸がアミド結合で連結しており、骨格形成後に所望のアミド結合を位置選択的に切断することは極めて困難であった (**11**→**1**)。脂肪酸部位を確実に切断し、1位側鎖の官能基が異なる三系統のアルカロイドを自在に迅速合成するため、アミドの代わりにエステルやアシルカルバメートを導入した基質群 (**12**–**14**) を設計した。簡便に化学合成した設計基質群 (**9**, **12**–**14**) に酵素 SfmC を作用させ7連続反応を進行させた後、同じ反応容器内でシアノ化した。③不安定な中間体を単離せずにそのまま N-メチル化する手法を開発した。これにより、適切に官能化された五環性骨格 (**15**–**17**) を僅か一日で合成することに成功した。更に、④非天然型基質群に組み込んだエステルやアシルカルバメートを活用して脂肪酸側鎖を除去した後、キノンへの酸化を含む1~2段階の化学変換を施し、制ガン活性を有するアルカロイド群 (**1**, **3**, **7**) を系統的に迅速合成できることを実証した。今回開発した化学-酵素ハイブリッドプロセスにより、シンプルな合成基質群 (**9**, **12**–**14**) から僅か4~5ポットの変換で、高度に官能化された多環性アルカロイド群を柔軟に作り分けられるようになった³⁾。

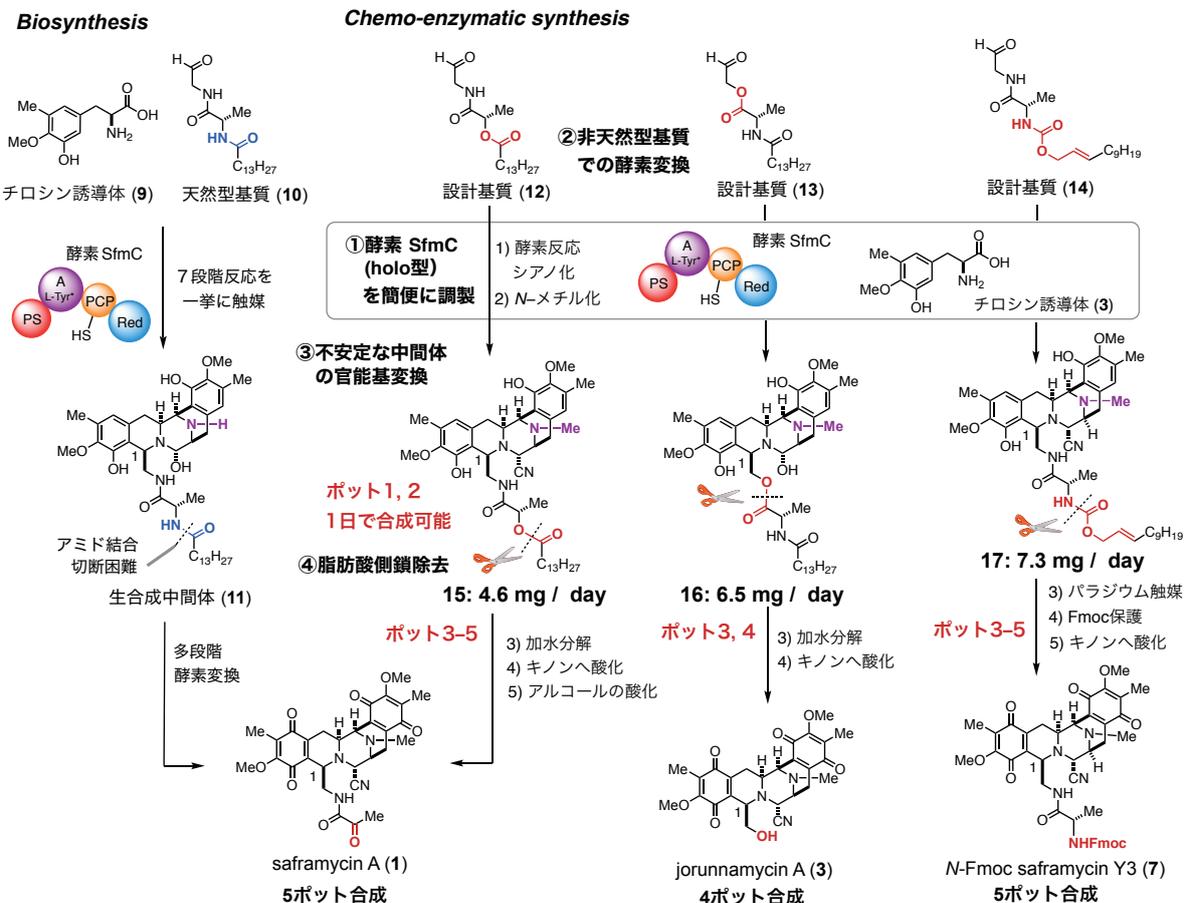


図2 THIQ アルカロイド群 (**1**, **3**, **7**) の化学-酵素ハイブリッド迅速合成プロセス

3 元素置換戦略によるアザ-アルテミシニン群の迅速合成プロセス開発と抗感染症リード創製

アルテミシニン **19** は、赤血球内に侵入したマラリア原虫を速やかにほぼ一掃する薬効を示し、副作用が少ない。**19** の水溶性を改善した半合成誘導体アルテスネート **20** は、マラリアの第一選択薬となっている。最近では、アルテミシニン類をがんや他の感染症へ適用する研究も活発になっている。全合成研究も多数報告されてきたが、近年、合成生物学的な手法で **19** を供給できるようになった。Keasling らは生合成前駆体 **18** を遺伝子改変酵母で生産した後、四工程の化学変換を経て **19** を半合成している。一方本研究では、次世代の抗感染症薬・制がん薬を創出するプロセスを開発すべく、**19** の構成要素を可能な限り簡略化せずに窒素官能基や非天然型置換基を導入した6-アザ-アルテミシニン群を設計した (図3)。6位不斉炭素を窒素に置き換える“元素置換戦略”により、①モジュラー式触媒的不斉合成、②置換基の自在導入、③母骨格の水溶性改善を目論んだ。

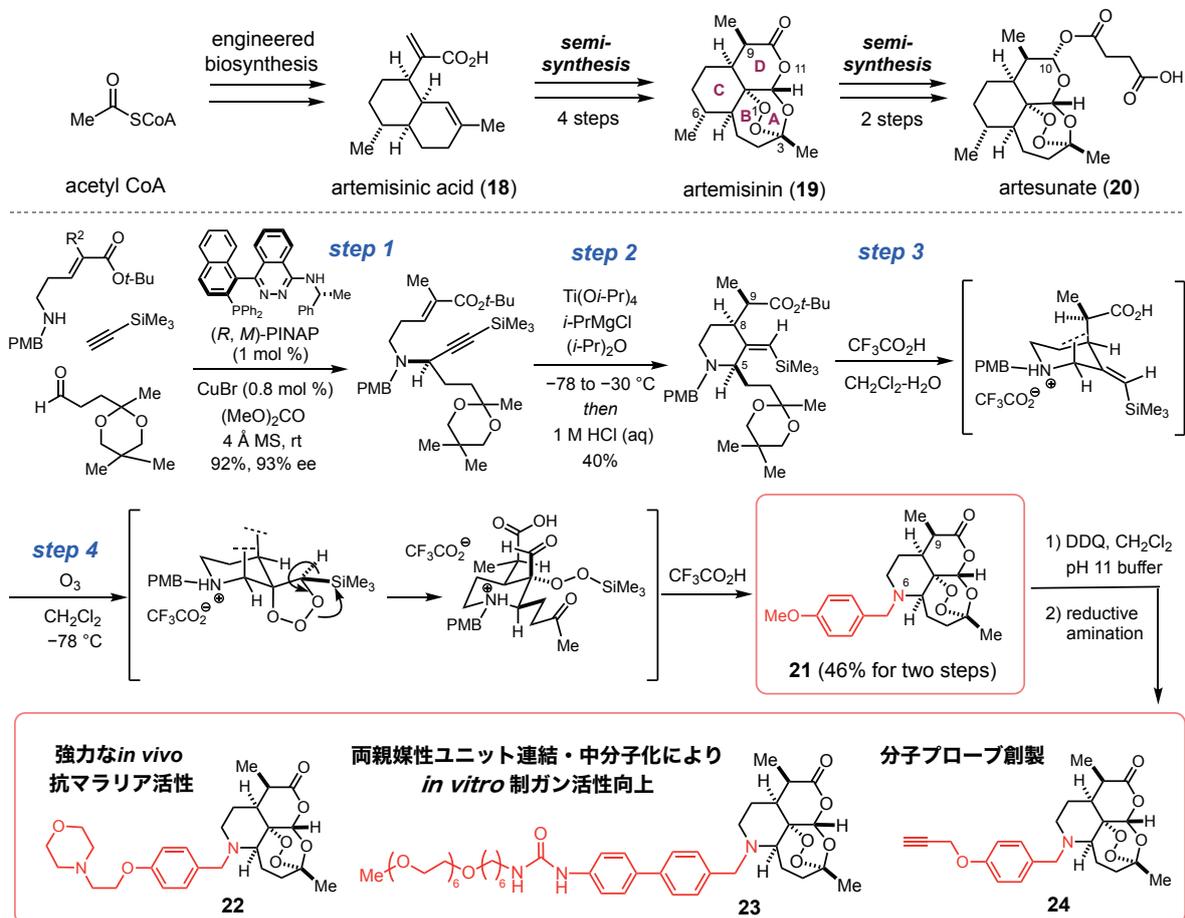


図3 アルテミシニン類の半合成, アザ-アルテミシニンの触媒的不斉合成プロセス

実際、シンプルな三つの構築ブロックから僅か四工程で6-アザ-アルテミシニン **21** を構築する触媒的不斉合成プロセスを開発した (図3)。官能基が少ないアルテミシニン類において、天然物 **19** の誘導化はラクトン部位の化学変換にほぼ限定されていた。本研究では、シクロヘキサン部位6位へ窒素を導入し、これまでほとんど手付かずとなっていたC環部へ様々な置換基を導入した。*de novo* 化学合成した化合物群の中から天然物 **19** や第一選択薬 **20** よりも優れた抗マラリア治

療効果を発現するリード化合物 **22** の創製に成功した。また、両親媒性ユニットを導入した中分子型 **23** では、低分子型と比較して *in vitro* 制ガン活性が向上した¹⁰⁾。自己集合性部位を連結して細胞内安定性を向上させつつ、温度応答性を付与するアプローチにより中分子薬剤開発の可能性を示した。四環性骨格の三方位へ置換基を自在導入できるモジュラー式合成プロセスを開発し、天然物アナログ群の構造活性相関を系統的に検討した⁵⁾。母骨格に組み込まれた不斉炭素を他の元素に改変する“元素置換戦略”により、複雑な縮環骨格を迅速合成し、薬理機能を合理的に改善できることを実証した。多環性母骨格の不斉炭素を“point mutation”する分子設計により、短段階合成プロセスを開発するアプローチは、他の天然物にも一般性をもって適用できるはずである。

4 インドールアルカロイド類似化合物群の骨格多様化合成プロセス：亜鉛によるアルキン活性化

インドール環とアルキンを有する **25** を共通の基質として設計した (図4)。亜鉛トリフラート $Zn(OTf)_2$ でアルキンを活性化して鍵中間体を発生させ、多様な分子内環化反応を検討している。北海道大学前田教授らと共同で、人工力誘起反応法を適応して反応経路を探索し、溶媒のアルコールがプロト脱亜鉛化の過程に関与する意外な遷移状態を提案した。実際、本系は酸の添加が不要であり、ほぼ中性条件で環化が進行する。ジメチル基を持つ基質 ($R^1, R^2 = Me$) に対して $Zn(OTf)_2$ を *t*-ブタノール中で作用させると、アルキン内部炭素とインドール2位、3位でそれぞれ環化した化合物 **26, 27** が生成した。本系では速度論的支配の生成物 **27** が得られ、これを加熱するとイミン活性化によるアルケニル基の3位から2位への転位、逆マンニッヒ型反応、加水分解が進行して、熱力学的支配の **26** が生成する。基質の置換基 R^1, R^2 を改変し、**26** と **27** を作り分けに成功した。一方、アルキン末端にメチル基を連結した基質 ($R^3 = Me$) では、アルキン外側炭素でインドール3位との環化が位置選択的に進行し、8員環を形成した **28** を高い収率で構築できた。更に、置換基の改変 ($R^2 = H$) により、カルボニル α 位でのアルケニル化を実現し、実際に **29** を合成した。基質の置換基 (R^1, R^2, R^3) の改変や反応条件 (溶媒・温度) の最適化によって環化様式を制御し、4系統のアルカロイド骨格群の作り分けが可能な分岐型合成プロセスの開発に成功した⁶⁾。

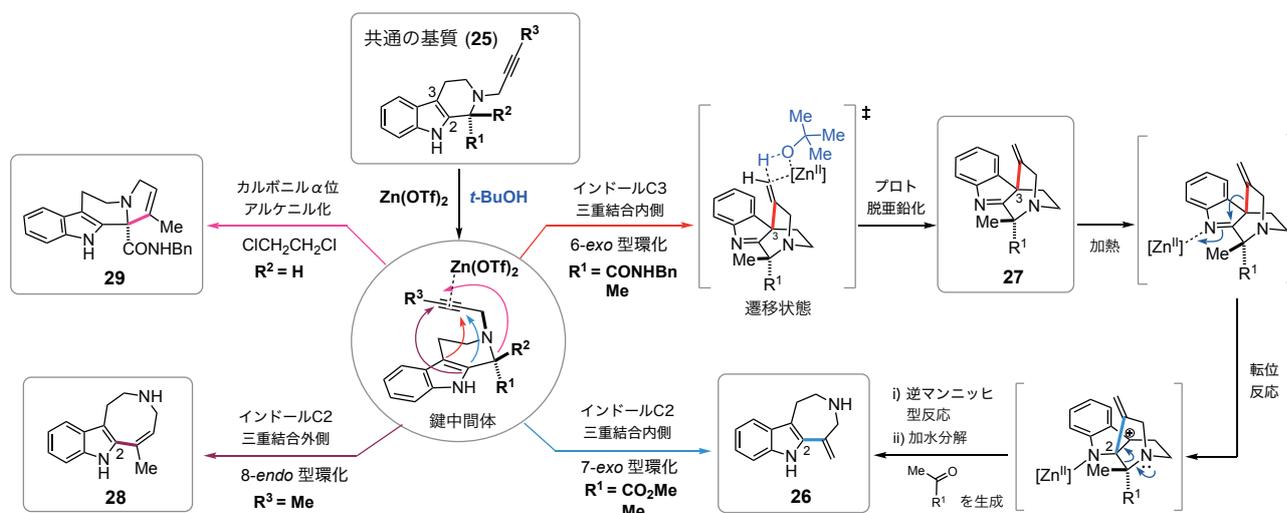


図4 四系統のインドールアルカロイド類似分子群の骨格多様化合成プロセス

【謝辞】 化学-酵素ハイブリッド合成プロセス開発は、北海道大学及川研究室で着手する機会を頂き、谷藤 涼博士（東大院理助教）や小松玲子修士らが東京農工大で大きく進展させました、アザールテミシニン類については、主に比留間貴久博士、Karunakar Reddy Bonepally 博士、高橋紀人修士（現在 D3）らが開発し、松岡直弥修士、小井ひかり修士らが発展させました。抗マalaria 活性については、北里大学の岩月正人先生、石山亜紀博士、穂苺玲博士、大村智先生、米国 Broad 研究所の加藤信高先生との共同研究の賜物です。アルカロイド群の骨格多様化合成は、溝口玄樹博士（岡山大学坂倉研究室助教、Reaxys Ph.D. Prize 2014 finalists）が開拓し、東京農工大で頼元貞巖修士、坪内彰助教、新井雄太修士、久保田大貴修士らの創意工夫で新展開を拓きました。この場をお借りして、共同研究者各位とお力添えを頂いた皆様に深謝いたします。

【参考文献】

1. (a) Oguri, H. *Chem. Rec.* **2016**, *16*, 652; (b) 溝口玄樹, 大栗博毅 *有機合成化学協会誌* **2016**, *74*, 854; (c) 大栗博毅 *MEDCHEM NEWS* **2019**, *29*, 188.
2. (a) Mizoguchi, H.; Oikawa, H.; Oguri, H. *Nat. Chem.* **2014**, *6*, 57; (b) Wada, M.; Murata, T.; Oikawa, H.; Oguri, H. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 298; (c) Mizoguchi, H.; Watanabe, R.; Minami, S.; Oikawa, H.; Oguri, H. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 5955; (d) Taniguchi, T.; Tsubouchi, A.; Imai, Y.; Yuasa, J.; Oguri, H. *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 15284; (e) Tsuchiya, N.; Ryu, Y.; Muraoka, T.; Oguri, H. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 9305; (f) Wada, M.; Suzuki, H.; Kato, M.; Oikawa, H.; Tsubouchi, A.; Oguri, H. *ChemBioChem* **2019**, *20*, 1273; (g) Tanifuji, R.; Minami, A.; Oguri, H.; Oikawa, H. *Nat. Prod. Rep.* **2020**, *37*, 1098.
3. Tanifuji, R.; Koketsu, K.; Takakura, M.; Asano, R.; Minami, A.; Oikawa, H.; Oguri, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 10705.
4. Bonepally, K. R.; Hiruma, T.; Mizoguchi, H.; Ochiai, K.; Suzuki, S.; Oikawa, H.; Ishiyama, A.; Hokari, R.; Iwatsuki, M.; Otoguro, K.; Omura, S.; Oguri, H. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 4667.
5. Bonepally, K. R.; Takahashi, N.; Matsuoka, N.; Koi, H.; Mizoguchi, H.; Hiruma, T.; Ochiai, K.; Suzuki, S.; Yamagishi, Y.; Oikawa, H.; Ishiyama, A.; Hokari, R.; Iwatsuki, M.; Otoguro, K.; Omura, S.; Kato, N.; Oguri, H. *J. Org. Chem.* **2020**, *85*, 9694.
6. Yorimoto, S.; Tsubouchi, A.; Mizoguchi, H.; Oikawa, H.; Tsunekawa, Y.; Ichino, T.; Maeda, S.; Oguri, H. *Chem. Sci.* **2019**, *10*, 5686.
7. Tanifuji, R.; Tsukakoshi, K.; Ikebukuro, K.; Oikawa, H.; Oguri, H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2019**, *29*, 1807.
8. (a) Koketsu, K.; Watanabe, K.; Suda, H.; Oguri, H.; Oikawa, H. *Nat. Chem. Biol.* **2010**, *6*, 408; (b) Koketsu, K.; Minami, A.; Watanabe, K.; Oguri, H.; Oikawa, H. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2012**, *16*, 142.
9. Tanifuji, R.; Oguri, H.; Koketsu, K.; Yoshinaga, Y.; Minami, A.; Oikawa, H. *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 623.
10. Koi, H.; Takahashi, N.; Fuchi, Y.; Umeno, T.; Muramatsu, Y.; Seimiya, H.; Karasawa, S.; Oguri, H. *Org. Biomol. Chem.* **2020**, *18*, 5339.

医薬品原薬のGMP受託製造サービス

Contract Manufacturing Service of APIs

岩手工場の40年に及ぶ豊富な実績

- 数々の査察経験に基づく最新GMP体制の構築（FDA査察件数：12回）
- 開発初期から商用生産まで、各段階での製造に対応（グラム～トン）
- シアン化反応、接触還元、不斉合成の基礎技術



New

中間体製造棟新設

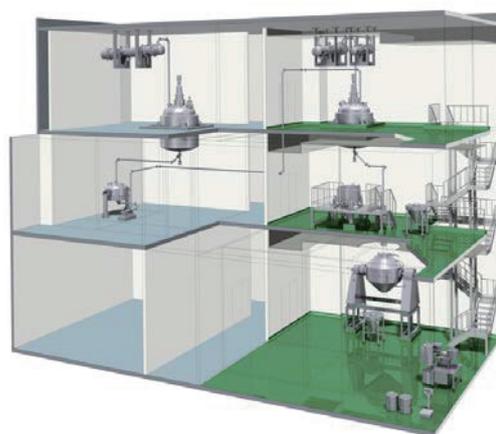
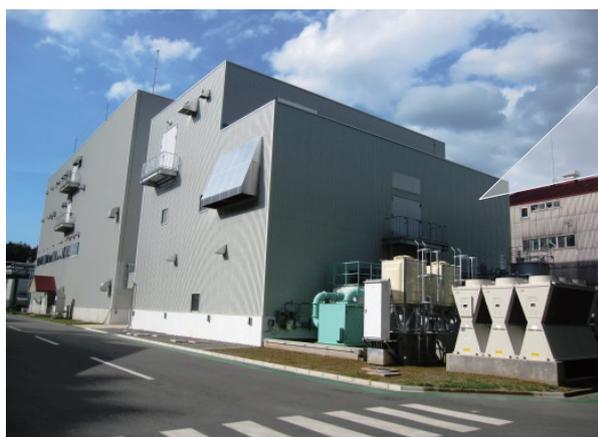
2023年稼働予定

新棟説明会を実施します。
詳しくは担当者または下記まで
お問い合わせください。

[詳しくはこちら](#)

<新製造棟イメージ図>

原薬製造棟（2018年増設）



【建屋規模】鉄筋3階建て 延べ床面積1,230㎡

cGMP に準拠

クリーンルーム清浄度
ISO 8 (クラス 100,000)

交叉汚染防止
単位操作毎に作業室を独立

SEKISUI
SEKISUI MEDICAL CO.,LTD.

積水メディカル株式会社 医薬営業所
〒103-0027 東京都中央区日本橋2-1-3
TEL : 03-3272-0691
Email : toiwaseiyaku@sekisui.com

■ 広告掲載企業

高砂香料工業株式会社	表2 広告（2 頁目）
株式会社ワイエムシィ	表3 広告（10 頁目）
メトラー・トレド株式会社	表4 広告（34 頁目）
積水メディカル株式会社	後付広告1（41 頁目）

次回のお知らせ

日本プロセス化学会
2021 サマーシンポジウム

日 時：2021年6月24日(木)～25日(金)の2日間

会 場：富山県民会館

世話人：中島範行（富山県立大学）

清都太郎（富士フィルム富山化学）



日本プロセス化学会 2020 ウィンターシンポジウム(オンライン)

世話人

長澤 和夫
東京農工大学大学院工学研究院

〒184-8588
東京都小金井市中町2-24-16
TEL&FAX：042-388-7295
E-mail：knaga@cc.tuat.ac.jp

田上 克也
エーザイ株式会社

〒300-2635
茨城県つくば市東光台 5-1-3
TEL：029-847-5867
FAX：029-847-5816
E-mail：k-tagami@hhc.eisai.co.jp