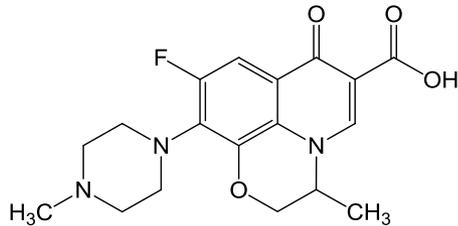


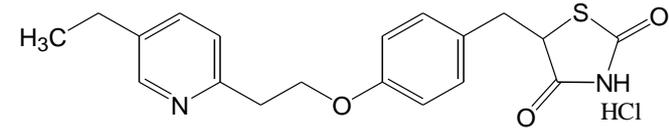
# 醜酵産物の医薬品資源としての価値 とプロセス研究による価値創造

2013.06.06  
アステラス製薬(株)  
日野資弘

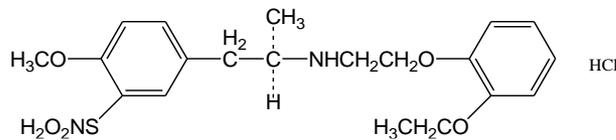
# 合成化合物由来の医薬品



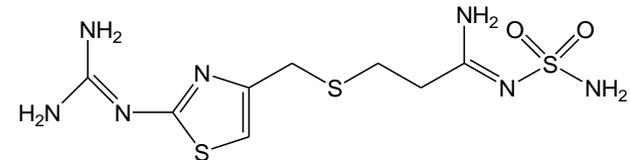
**Levofloxacin**  
抗生剤



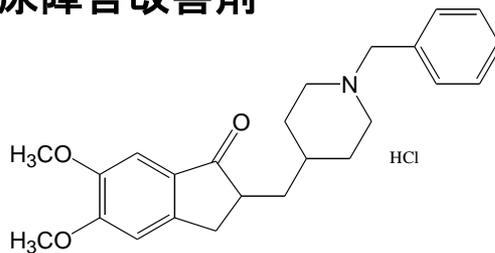
**Pioglitazone hydrochloride**  
血糖降下剤



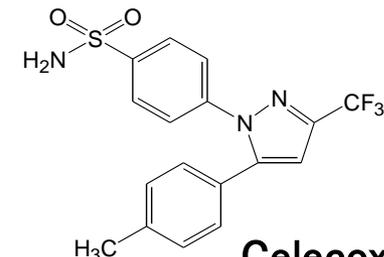
**Tamusulosin**  
前立腺肥大症の  
排尿障害改善剤



**Famotidine**  
H2 拮抗剤

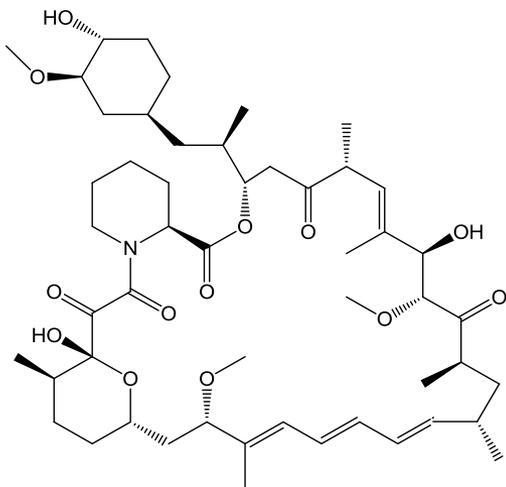


**Donepezil hydrochloride**  
アルツハイマー治療剤

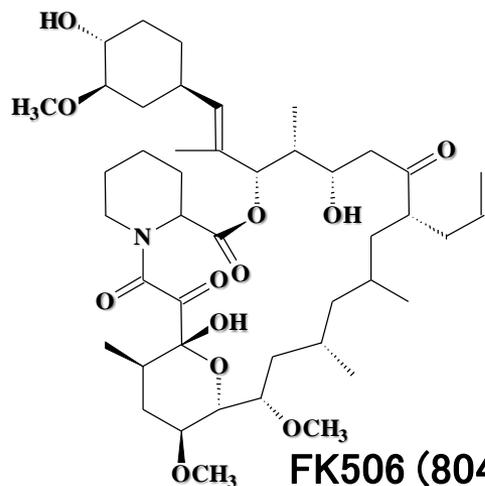


**Celecoxib**  
抗炎症剤

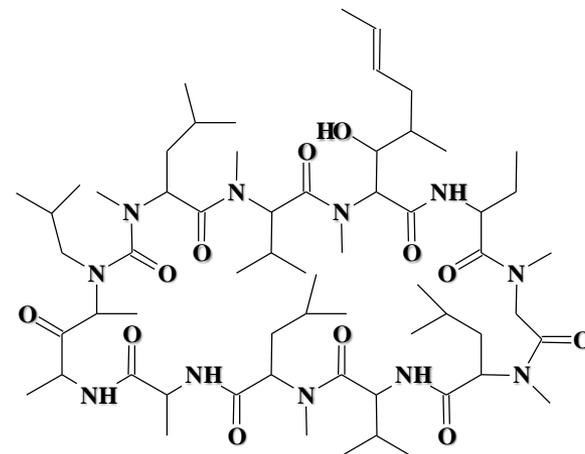
# 醜酵産物の化学的多様性



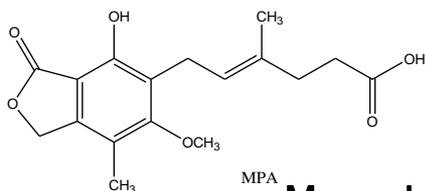
Rapamycin (914)  
免疫抑制剤



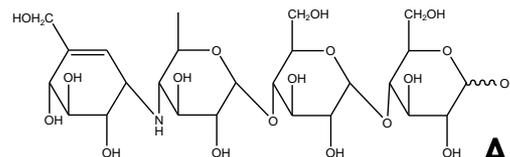
FK506 (804)  
免疫抑制剤



Cyclosporin A (1202)  
免疫抑制剤



Mycophenolic acid (320)  
免疫抑制剤

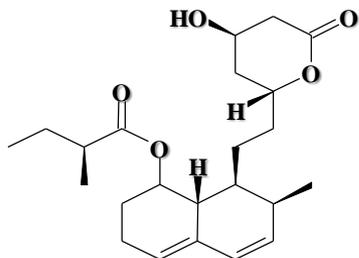


Acarbose (645)  
血糖降下剤

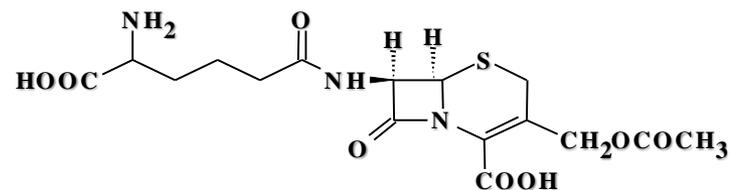
## LipinskiのRule of 5

- 分子量 (<500)
  - 水素結合受容体(NとO) (<10)
  - 水素結合供与体(OH, NH) (<5)
- に該当しない多様な構造を有した経口剤

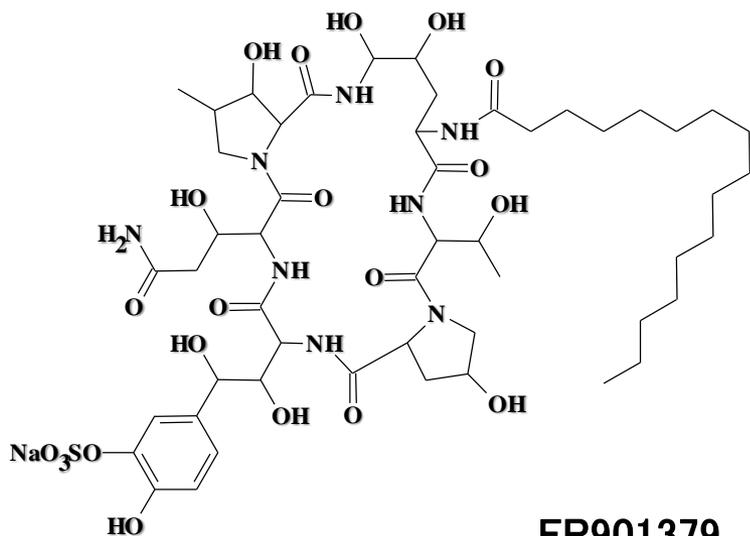
# 醜酵産物の化学的多様性



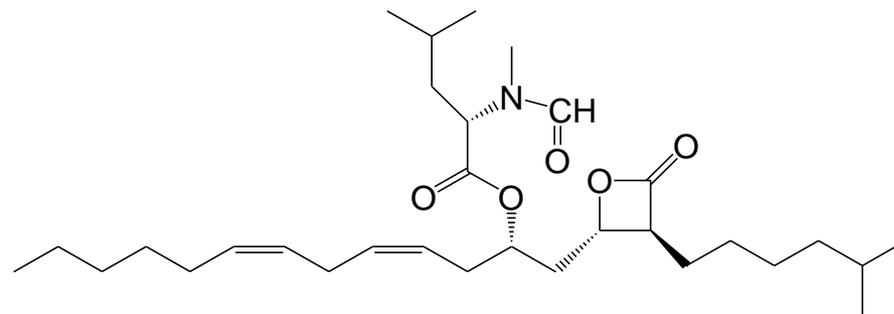
ML236B  
脂質低下剤



CCNa  
抗細菌剤



FR901379  
抗真菌剤(注射)



Lipstatin  
抗肥満剤

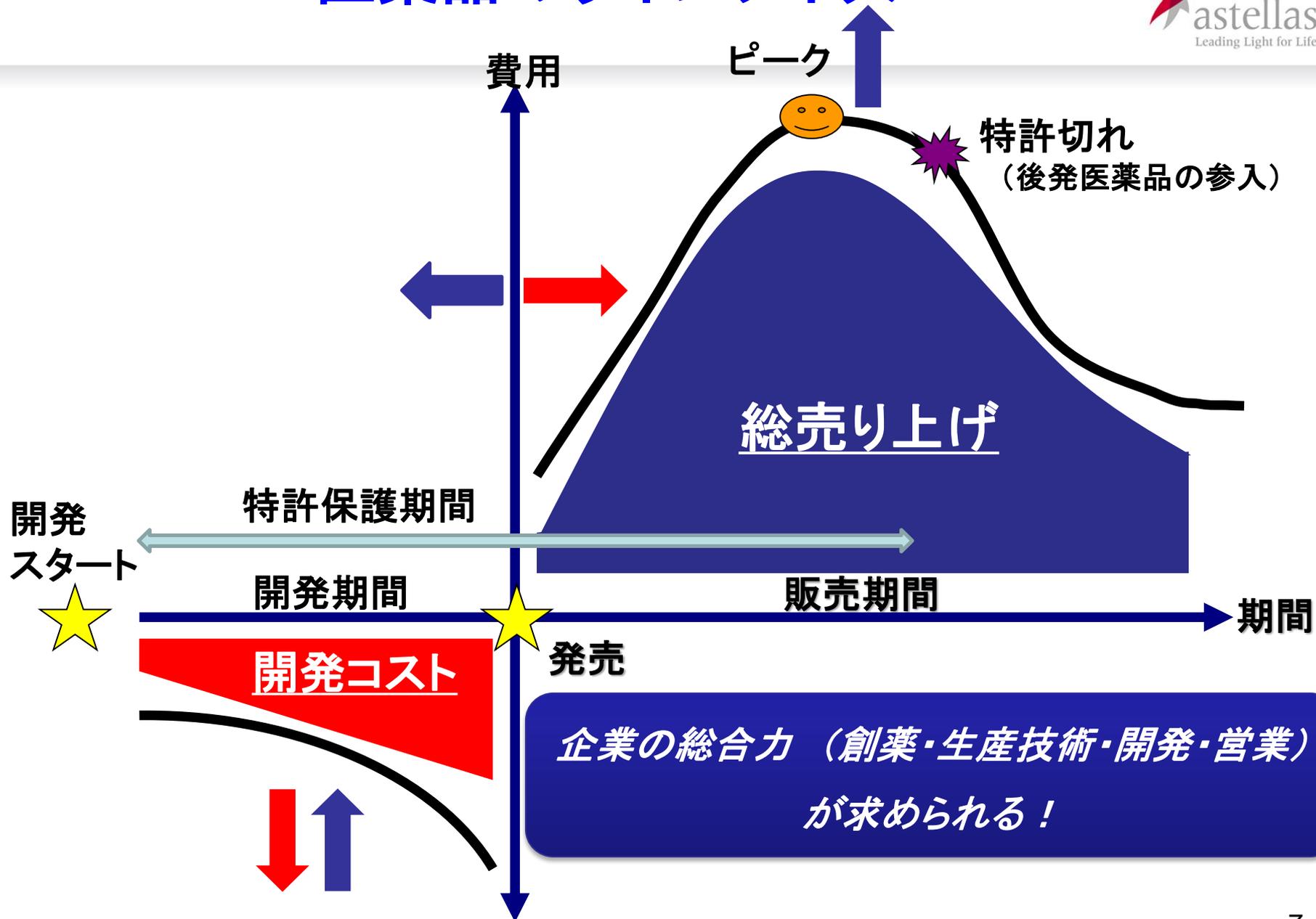
# 醜酵産物由来医薬品の抗微生物活性

薬剤	薬理作用	抗微生物活性
Penicillin	抗細菌	細胞壁合成阻害
Cephalosporin	抗細菌	細胞壁合成阻害
Erythromycin	抗細菌	蛋白合成阻害
Pneumocandin B0	抗真菌	細胞壁合成阻害
Amphotericin B	抗真菌	細胞膜障害
.....		
FK506	免疫抑制	菌糸伸長阻害
Cyclosporin	免疫抑制	菌糸伸長阻害
Rapamycin	免疫抑制	酵母増殖阻害
Bredinin	免疫抑制	酵母増殖阻害
Mycophenolic acid	免疫抑制	酵母増殖阻害
Sperugualin	免疫抑制	細菌増殖阻害
ML236B	脂質低下	真菌増殖阻害
Acarbose	血糖降下	糖代謝阻害

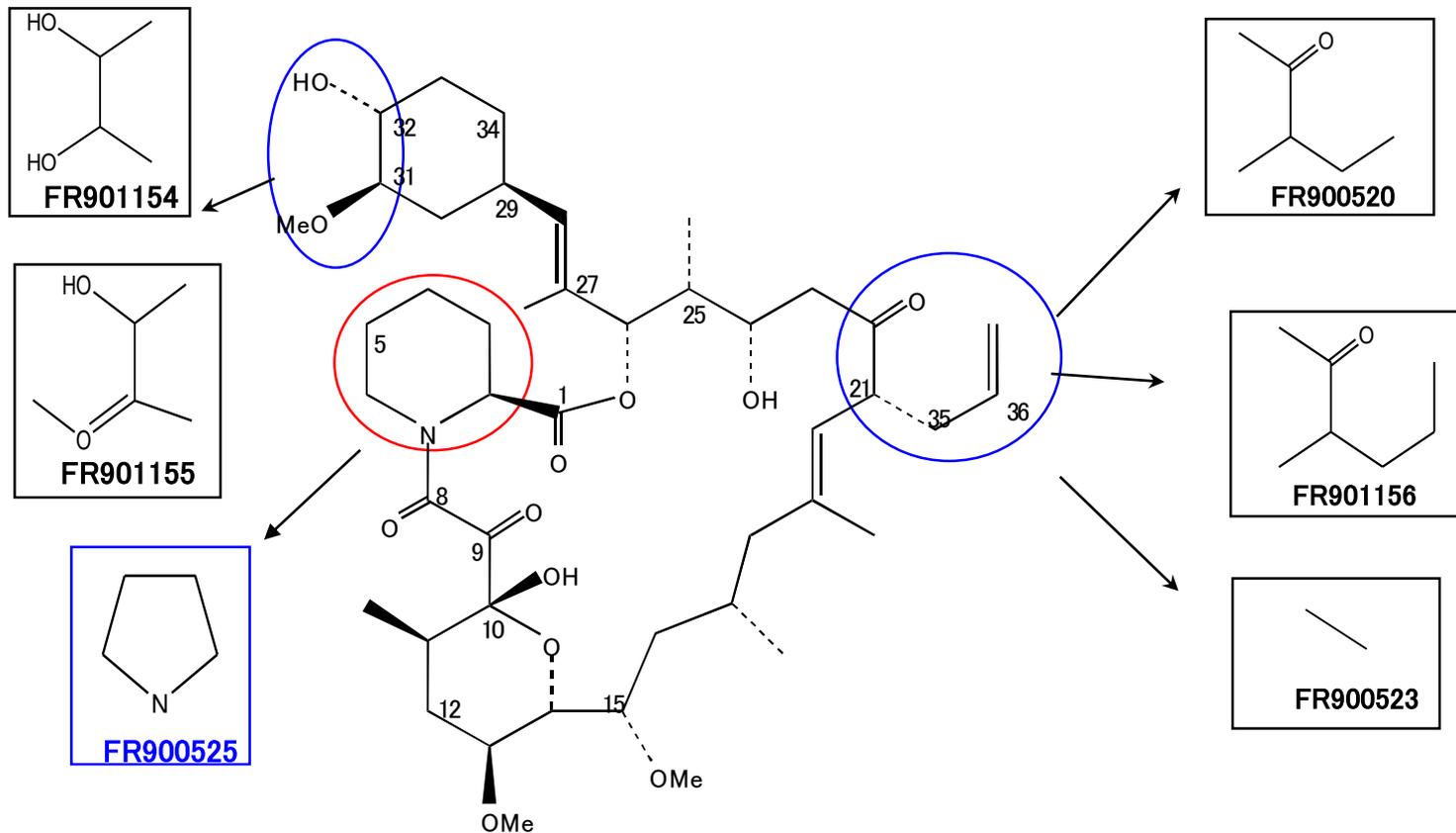
# 醗酵産物の有用性

	醗酵産物	抗体	化学合成低分子
特異性	○	◎	○
細胞表層・外単一標的への作用	△	◎	○
細胞内単一標的への作用	○	×	◎
細胞内蛋白複合標的への作用 (蛋白・蛋白相互作用)	◎	×	△
細胞内移行性	○	×	○
経口吸収性	△	×	○
特許性	○(生産菌)	◎	△
製造コスト	○	△	○
量産化	○	○	◎
分子量	300-1500	150000	-500

# 医薬品のライフサイクル



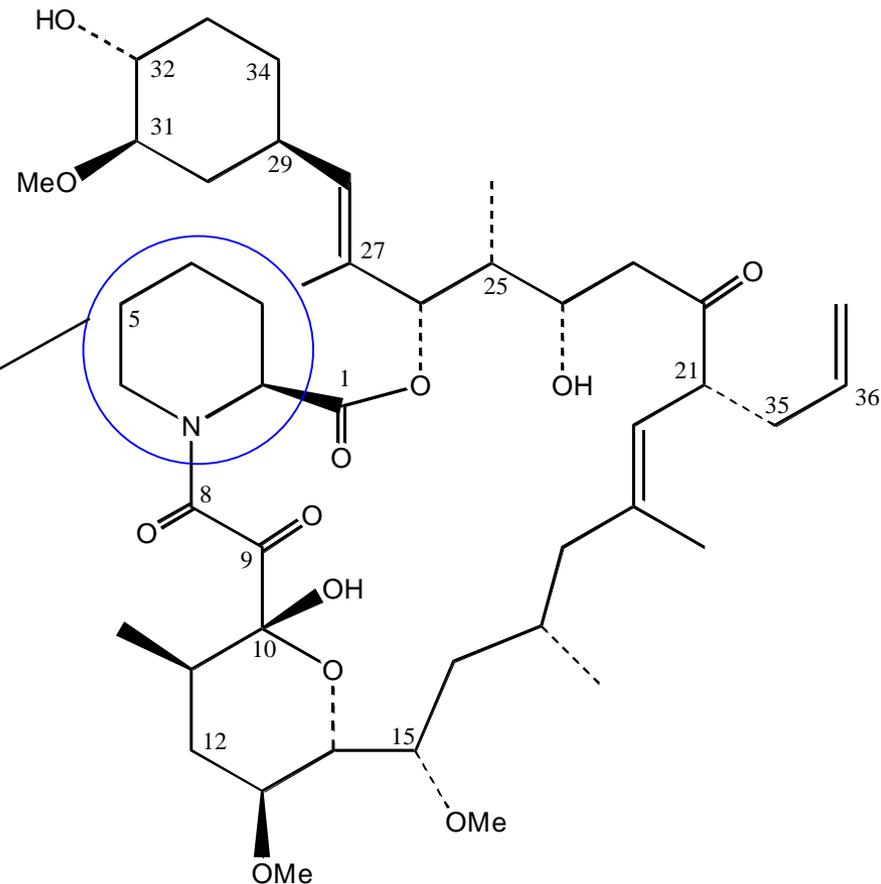
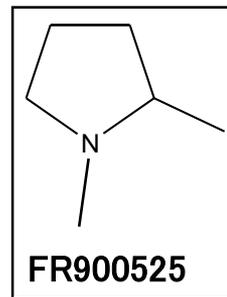
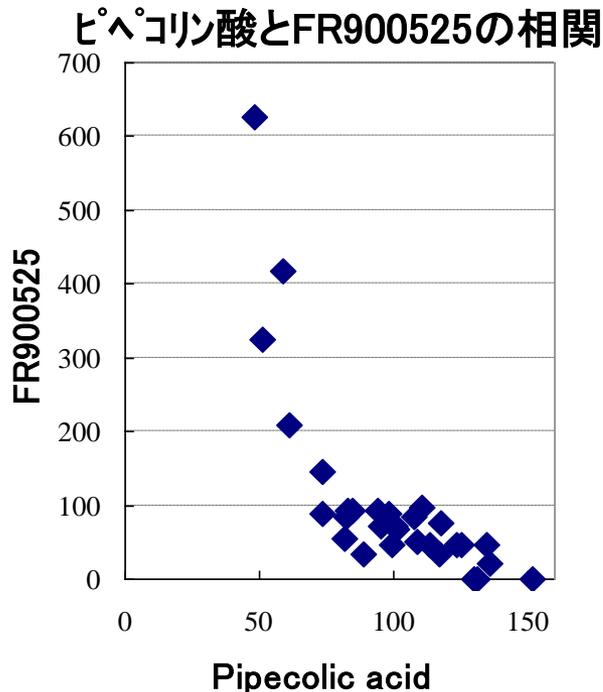
# FK506 類縁体



# 前駆体添加によるFR900525の抑制

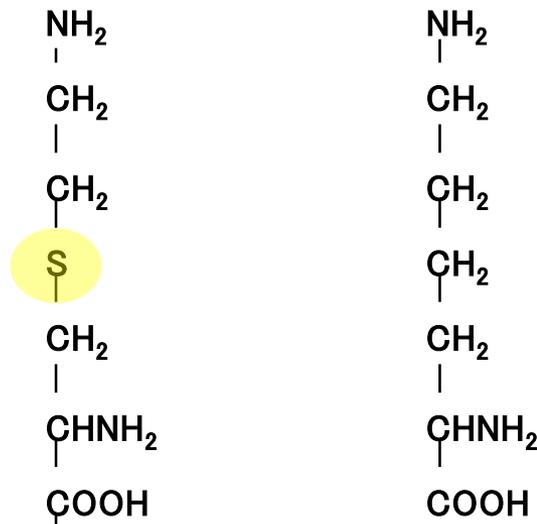
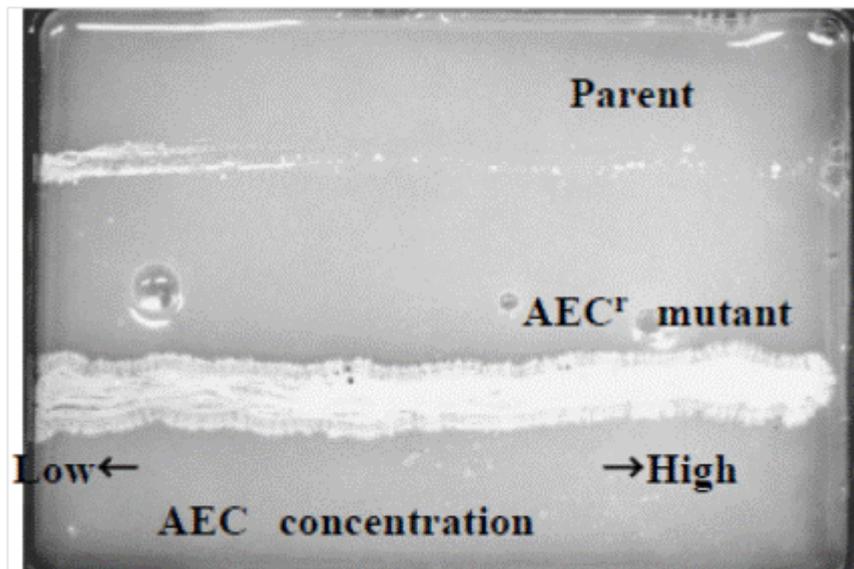
添加物	FR900525 (%)
None	100
Pipecolic acid	16
Lysine	23
AEC	300

\* AEC; *S*-aminoethyl *L*-cysteine  
(リジンアナログ)



FK506前駆体であるピペコリン酸が不足すると、  
FR900525の前駆体であるプロリンが取り込まれ、  
FR900525が生成。

# AEC耐性株による類縁体FR900525の抑制



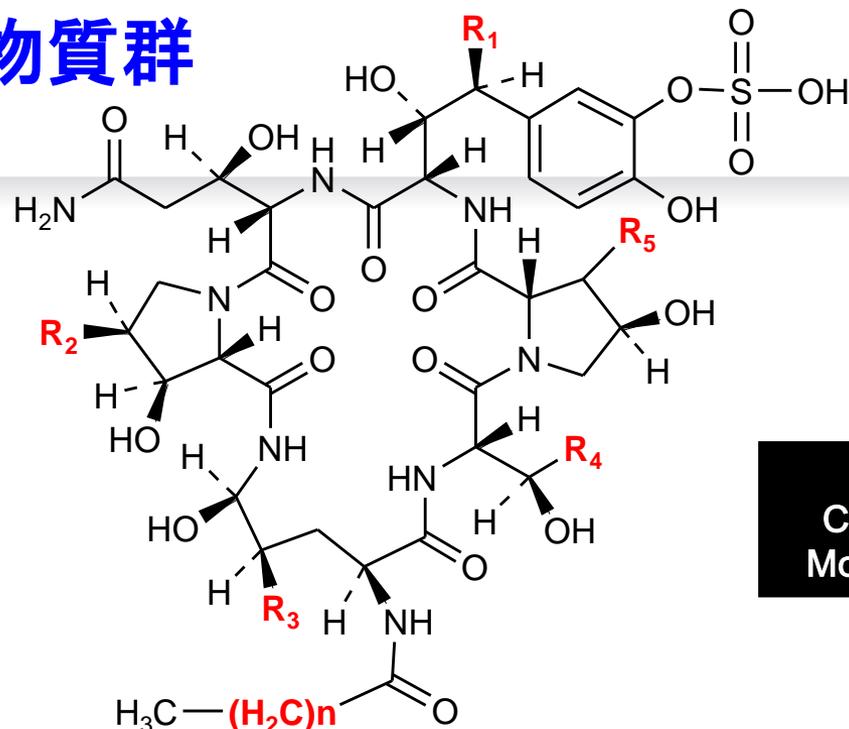
*S*-aminoethyl *L*-cysteine (AEC)

Lys

Strain	FK506生産性 (%) *	R900525生産性 (%) *	ピペコリン酸 (%) *
Parent	100	100	100
AEC <sup>r</sup> mutant	111	11	315

\* 親株に対する相対値で表示

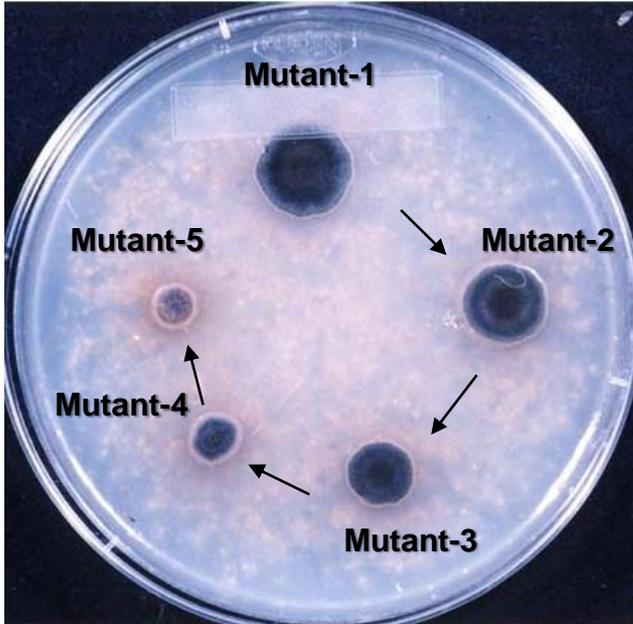
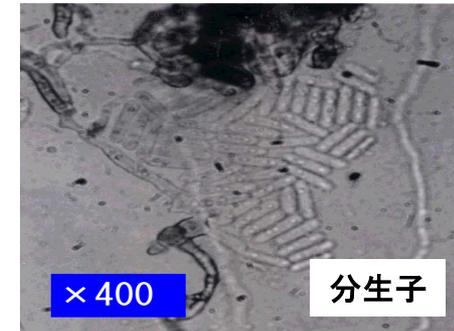
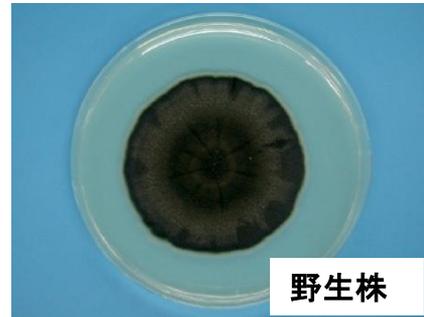
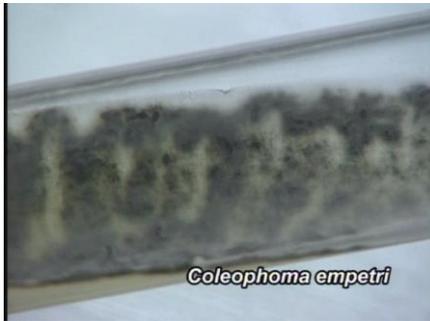
# FR901379類縁物質群



**FR901379**  
 $C_{51}H_{81}N_8NaO_{21}S$   
 Mol. Wt: 1197.2846

	R1	R2	R3	R4	R5	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> CO- (Side chain)
<b>FR901379 (WF11899A)</b>	<b>OH</b>	<b>CH<sub>3</sub></b>	<b>OH</b>	<b>CH<sub>3</sub></b>	<b>H</b>	<b>n=14</b>
FR901381 (WF11899B)	H	CH <sub>3</sub>	OH	CH <sub>3</sub>	H	14
FR901382 (WF11899C)	H	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	H	14
WF11899α	OH	CH <sub>3</sub>	OH	CH <sub>3</sub>	H	12
WF11899β	OH	CH <sub>3</sub>	OH	CH <sub>3</sub>	H	13
FR209523 (WF11899γ)	OH	H	OH	CH <sub>3</sub>	H	14
Epi-FR901379	OH	CH <sub>3</sub>	OH	CH <sub>3</sub>	H	14
FR240727	OH	CH <sub>2</sub> OH	OH	CH <sub>3</sub>	H	14
FR240728	OH	CH <sub>3</sub>	OH	CH <sub>3</sub>	OH	14
FR238230	OH	CH <sub>3</sub>	OH	H	OH	14
FR248810	H	CH <sub>3</sub>	OH	CH <sub>3</sub>	OH	14
FR209602	H	CH <sub>3</sub>	OH	H	H	14
FR209604	H	CH <sub>3</sub>	H	H	H	14

# 菌株育種によるFR901379生産性向上



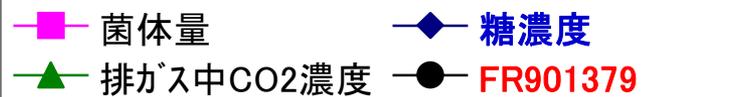
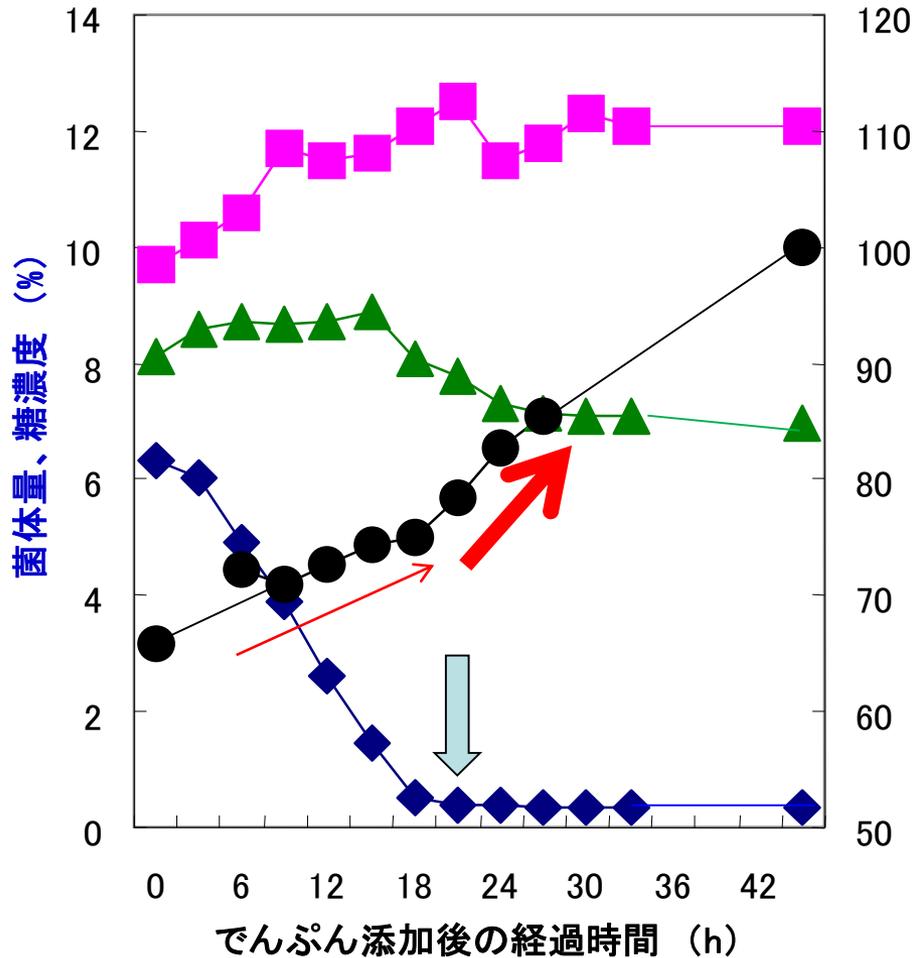
野生株より8世代にわたり育種改良を実施  
分生子、プロトプラストにUV照射し変異株を取得

## 生産性向上と形態変化

- 1) コロニーサイズが小さくなる
- 2) 黒色色素生産性が弱くなる

**生産性： 菌株育種で50倍向上**  
醗酵条件検討と合わせて100倍向上

# 糖消費と物質生産



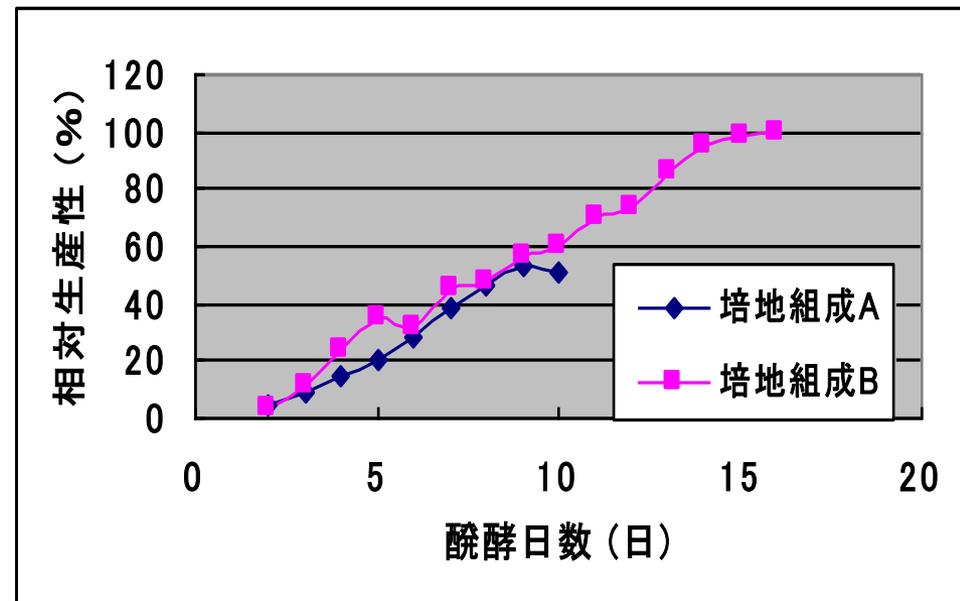
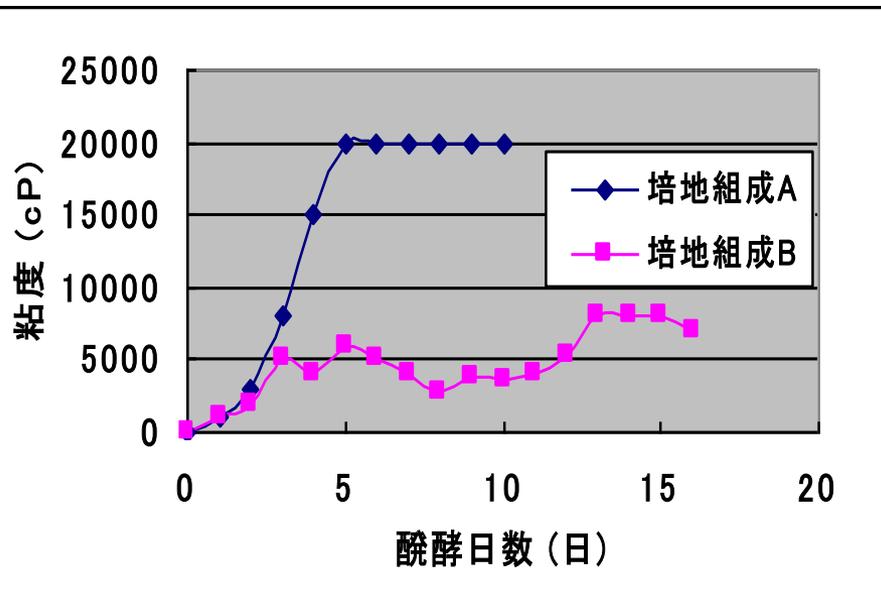
でんぷん添加  
呼吸活性向上  
菌体量増加  
＜一次代謝＞



糖の枯渇  
菌体増殖停止  
生産速度向上  
＜二次代謝＞

でんぷんの間欠添加によって  
一次代謝と二次代謝を連続的に  
制御する高生産培養方法構築

# フェドバッチによる生産性向上



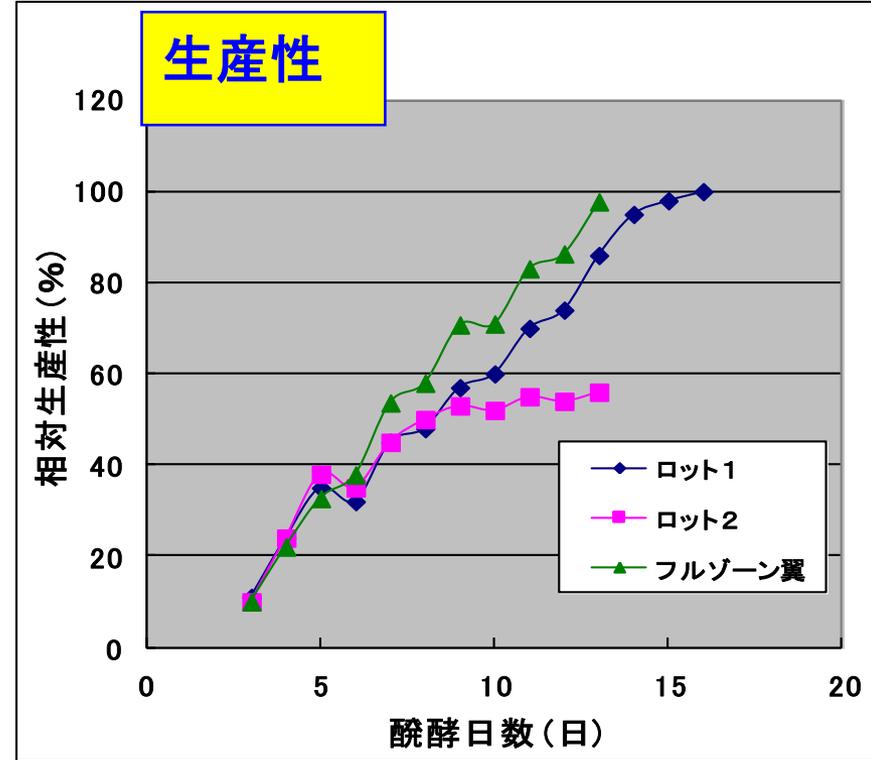
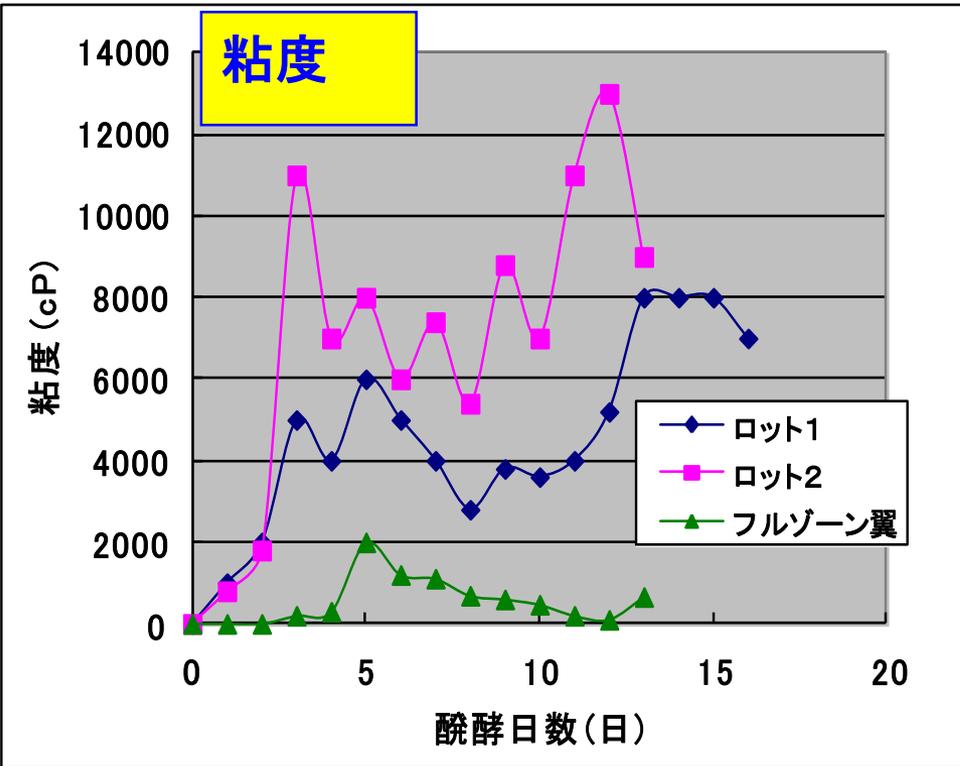
①希アンモニア水連続添加 (pH制御)

②有機窒素源変更

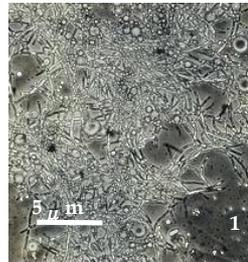
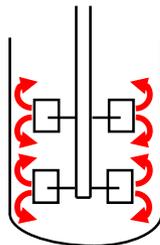
③フェドバッチによる糖添加

→ 低粘性・高生産性

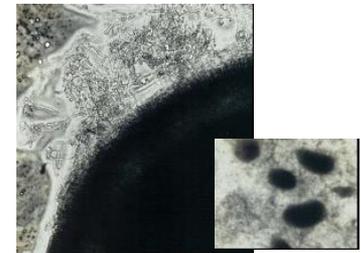
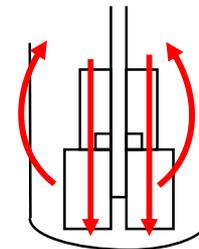
# フルゾーン翼導入の効果



タービン翼

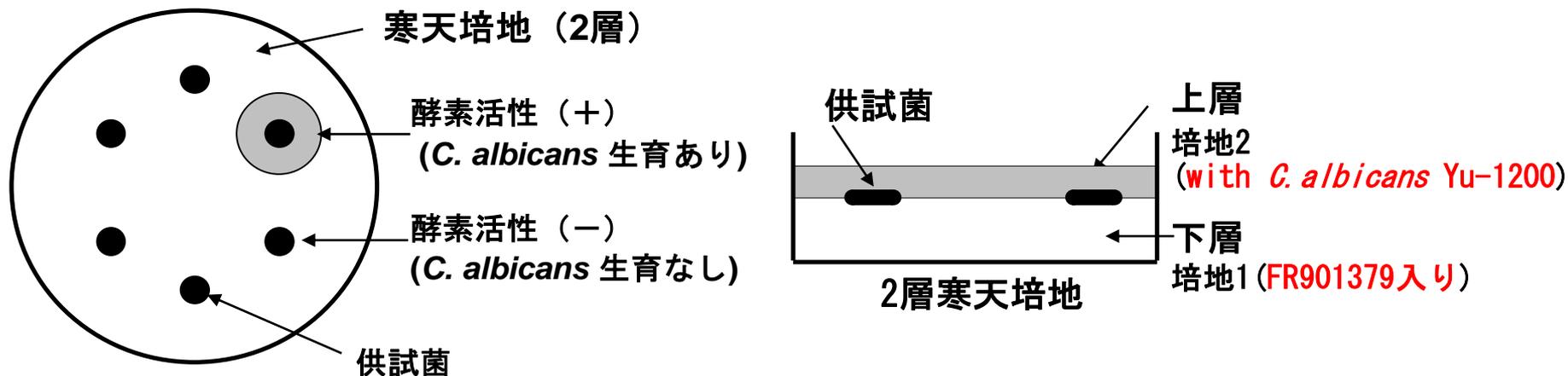


フルゾーン翼



# 「FR901379 アシラーゼ」のスクリーニング

## 1次スクリーニング



*Candida albicans* Yu-1200 に対するIC50

FR901379            0.38  $\mu\text{g}/\text{mL}$

FR179642           >100  $\mu\text{g}/\text{mL}$

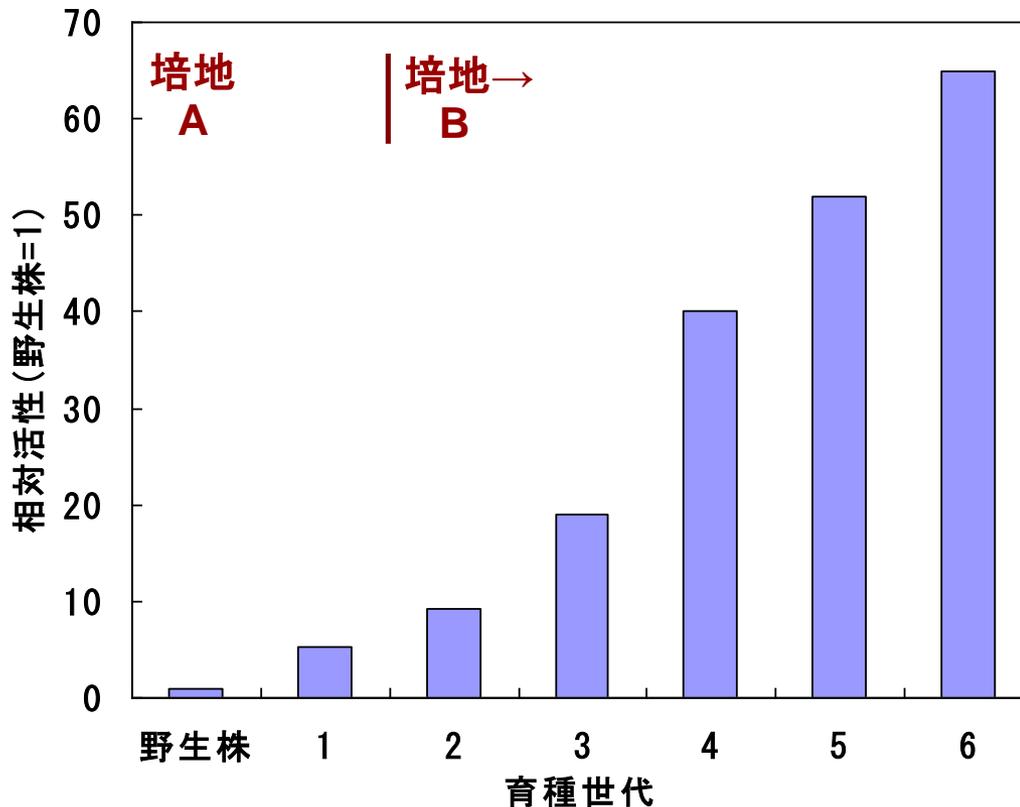
## 抗菌活性を利用した1次スクリーニング法

### FR901379アシラーゼ生産菌の1次スクリーニング

- 1) FR901379を含む寒天培地に供試菌を植菌 (培地1:下層)
- 2) *C. albicans* Yu-1200を植菌した培地2を培地1の上に注ぐ
- 3) *C. albicans* の生育を観察



# アシラーゼ生産性の向上



	培地 A	培地 B
グルコース	4	-
マルトース	-	8
酵母エキス	1	-
ポテトプロテイン	-	2
脱脂大豆粉	-	2
小麦胚芽	-	2

**菌株育種と培地改良により65倍の活性向上**

酵素活性向上により、反応を2時間に短縮

短時間反応にし、生成物の分解、不純物生成を抑制

# 精製方法の最適化(品質の安定化)

