

Title	ヒスチジルペプチドの合成研究
Author(s)	崎山, 文夫
Citation	大阪大学, 1962, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28553
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	崎 山 文 夫 さき やま ふみ お
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 337 号
学位授与の日付	昭 和 37 年 9 月 18 日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	ヒスチジルペプチドの合成研究
	(主 査) (副 査)
論文審査委員	教授 成田 耕造 教授 金子 武夫 教授 松島 祥夫 教授 赤堀 四郎

論 文 内 容 の 要 旨

天然に存在する数多くの蛋白質，酵素，ペプチド性ホルモンなどの中に，それらの組成アミノ酸の一つとしてヒスチジンを含有するものが多い。特に生物活性を持った蛋白質（たとえばヘモグロビン）や酵素蛋白質に含まれているヒスチジン残基が，それらの生物活性と密接に関連している場合が多い。このようなヒスチジンペプチドの重要性にもかかわらず，ヒスチジンを含むペプチドの合成法は，他のアミノ酸を含むペプチドが比較的容易に合成されるようになっている反面，まだ確立されるに至っていなかった。この論文では，ヒスチジンの $N-\alpha-N$ -Im-ジカルボベンゾキシ誘導体を出発物質としてヒスチジン含有ペプチドの合成について記述し，その応用としてウシのチトクロームc のヘム周辺ペプチドの合成について研究した結果を報告する。本論文は，Ⅰ，Ⅱ，Ⅲの3部よりなり，それぞれの内容要旨は，次の通りである。

Ⅰ. Preparation of $N-\alpha-N$ -Im-Dicarbobenzyloxy Histidine and Its Availability for Synthesis of Histidyl Peptides. ($N-\alpha-N$ -Im-ジカルボベンゾキシヒスチジンの合成とそのヒスチジルペプチド合成への利用について)。

1937年，M. Bergmann によって見出されたペプチド合成法，すなわちアミノ酸の α -アミノ基をカルボベンゾキシ基で保護し，ペプチド結合生成後に温和な条件でこの保護基を除く方法は，ペプチド合成の際には広く用いられてきた。ヒスチジンの $N-\alpha$ -カルボベンゾキシ誘導体も M. Bergmann によって合成された旨報告されたが，収率も悪く余り利用されなかった。そこで，ヒスチジンのカルボベンゾキシ化について研究した結果，適当な条件のもとでは α -アミノ基と同時に Im (イミダゾール) のイミノ基にもカルボベンゾキシ基を導入することができ， $N-\alpha-N$ -Im-ジカルボベンゾキシヒスチジンを合成することができた。そしてこの物質の化学的性質について検討した結果，ヒスチジルペプチドの合成原料として利用できることを知り，ジシクロヘキシルカルボジイミドを縮合試薬とするペプチド合成法により，各種のジカルボベンゾキシヒスチジルペプチドエステルを好収量に合成した。

II. Synthesis and Properties of Dicarbonyloxy Histidyl Amino Acid Esters. (ジカルボベンゾキシヒスチジルアミノ酸エステル合成とその性質について)

Iにおいてジカルボベンゾキシヒスチジンを出発原料としてジシクロヘキシルカルボジイミド法によってヒスチジルペプチド誘導体が収率よく合成されることが判ったが、さらに他のペプチド合成法、混合酸無水物法、p-ニトロフェニルエステル法について種々の点について比較検討した。その結果、Iにおいて用いたジシクロヘキシルカルボジイミド法が最も適していることが知られた。次にジカルボベンゾキシヒスチジルアミノ酸エステルアルカリ加水分解反応(エステル→酸)について研究した。この場合、通常のカルボベンゾキシペプチドエステルアルカリ加水分解の場合のように、当モルのアルカリによってエステルは全部加水分解されず、3倍モルのアルカリを必要とする。しかも、アルカリ加水分解によって生成した物質は、N- α -N-Im-ジカルボベンゾキシペプチドではなく、N-Im-に保護基を持たないN- α -カルボベンゾキシヒスチジルペプチドであった。このことから、N-Im-カルボベンゾキシ基はアルカリ加水分解によって脱離し、しかもカルボベンゾキシ基がベンジルアルコールと二酸化炭素に分解することを見出した。

III. Synthesis of the Protected Derivative of Cysteiny-lalanyl-glutaminy-cysteinyl-histidyl-threonine which Appeared around Hemin in Beef Cytochrome c.

(ウシ、チトクロームcのヘム周辺ペプチド、システイニル-アラニル-グルタミニル-システイニル-ヒスチジル-スレオニン誘導体の合成)

ウシのチトクロームcのペプシン分解によって得られるヘムペプチドは、1955年 Tuppy らによってその構造が明らかにされたが、ヘミンの結合するヘム周辺ペプチドの合成を、前記ジカルボベンゾキシヒスチジンを出発物質として行なった。種々の合成法について検討した結果、次のような経路で標記ペプチド誘導体を合成した。ジカルボベンゾキシヒスチジル-スレオニンベンジルエステルをIに示した方法で合成し、これをジオキサン中臭化水素酸で処理すると、N- α -カルボベンゾキシ基が急速に脱離し、N-Im-カルボベンゾキシヒスチジルスレオニンベンジルエステルを得る。すなわちこの方法によれば、ペプチド合成反応中にヒスチジンの側鎖を保護したままにしておくことができ、有用であることが判った。このジペプチド誘導体にN-カルボベンゾキシ-S-ベンジルシステイニルをカルボジイミド法で縮合させ、前記試薬でN- α -カルボベンゾキシ基のみを除き、カルボベンゾキシグルタミン-p-ニトロフェニルエステルと反応させ、グルタミニル-S-ベンジル-システイニル-ヒスチジル-スレオニンベンジルエステルのN- α -N-Imジカルボベンゾキシ誘導体を合成した。さらに臭化水素酸で、N- α -カルボベンゾキシ基を選択的に除き、カルボベンゾキシ-S-ベンジルシステイニル-アラニンとp-ニトロフェニルエステル法で結合させ、ヘキサペプチド誘導体、N- α -カルボベンゾキシ-S-ベンジル-システイニル-アラニル-グルタミニル-S-ベンジルシステイニル-Im-カルボベンゾキシヒスチジル-スレオニンベンジルエステルを合成した。

以上のI, II, IIIの結論として、N- α -N-Im-ジカルボベンゾキシヒスチジンは、ヒスチジルペプチドの合成だけでなく、ヒスチジン含有ペプチドを合成する際の出発物質として有用であるといえる。

論文の審査結果の要旨

〆ヒスチジルペプチドの合成

ヒスチジン残基は数多くの生理活性蛋白質の活性に重要な関係を持っていることが知られている。従っ

てヒスチジンを含んだペプチドを合成し、その生物活性を研究することは、蛋白質の活性部分の構造を知る上に重要である。

しかしヒスチジンを含むペプチドの合成法は、他のアミノ酸含有ペプチドの合成法に比して発展が遅れている。その主な理由は、ヒスチジン側鎖に反応性に富んだイミダゾール基が存在するからであり、この反応性はとりもなおさず生理活性に重要な役割を演じている。

崎山君はヒスチジンペプチド合成の出発原料として、従来ほとんど着目されていなかった *N- α ,N-Im-ジカルボベンゾキシヒスチジン* が有用であることを見出した。この化合物では、イミダゾール基は保護されており、諸種の反応を行うのに好都合である。このものを出発原料として他のアミノ酸エステルと縮合させるヒスチジルペプチド合成の諸条件を検討し、縮合方法としては混合酸無水物法や *p*-ニトロフェニルエステル法よりも、ジシクロヘキシルカルボジイミド法がすぐれていることを見出した。次の段階のエステル加水分解の際には、通常の場合と違って 3 モルのアルカリが必要であることを観察した。これら最適の諸条件を用いて十数種のヒスチジルペプチド誘導体を好収率で合成した。

このような知見をもとにして、牛のチトクローム *c* の活性部分と考えられるヘムペプチド部分の合成に着手し、

N-Carbobenzoxy-S-benzyl-L-cysteinyl-L-alanyl-L-glutaminy-L-S-benzyl-L-cysteinyl-imidazole-carbobenzoxy-L-histidyl-L-threonine benzylester を合成した。

上述の諸結果を総合して、*N- α ,N-Im-ジカルボベンゾキシヒスチジン* は、ヒスチジルペプチドの合成原料として極めて有用であることを示し、またイミダゾール基の保護のためには、カルボベンゾキシ基が有用であることを示した。

以上崎山君の研究はヒスチジン含有ペプチド合成に新径路を開発したということができ、理学博士の学位論文として十分の価値があるものと認める。