

Title	ACTH 関連ペプチドの合成
Author(s)	井上, 健
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29051
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

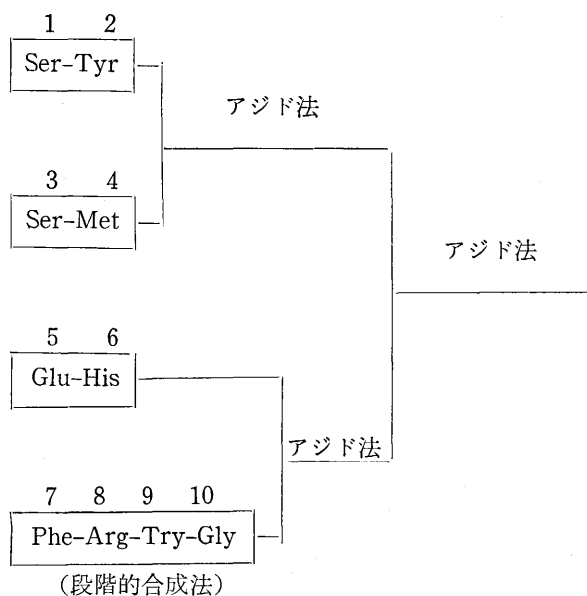
Osaka University

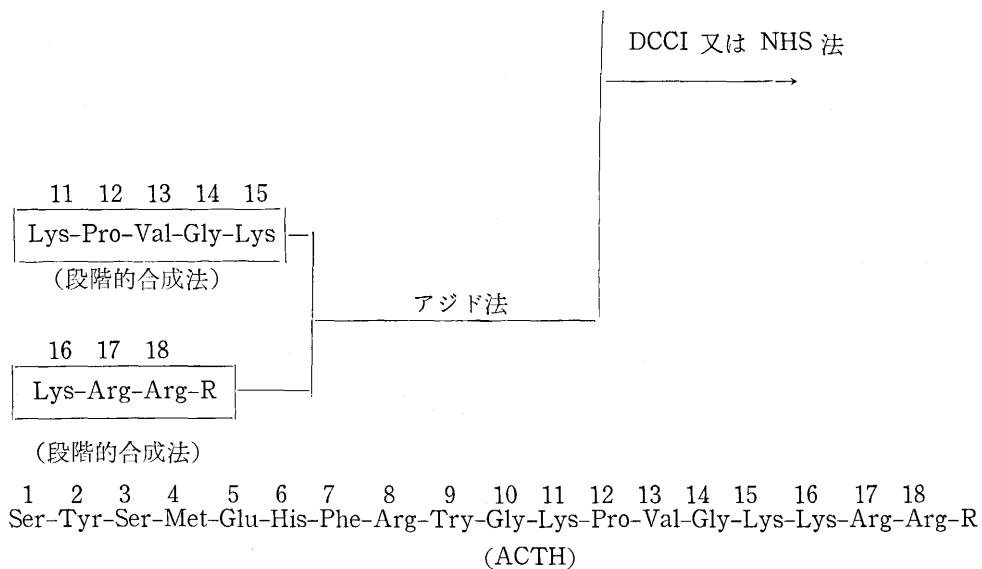
氏名・(本籍)	井 上 健 <small>いの うえ けん</small>
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 7 8 3 号
学位授与の日付	昭 和 40 年 9 月 21 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	ACTH 関連ペプチドの合成
論文審査委員	(主査) 教 授 金子 武夫
	(副査) 教 授 松島 祥夫 教 授 中川 正澄 教 授 成田 耕造 教 授 村橋 俊介

論 文 内 容 の 要 旨

ペプチド・ホルモンの生化学的研究の一環として副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) における生理活性と構造の問題をとりあげ、その問題に対する合成面からのアプローチを試みるべく、ACTH に関連するペプチドの合成を行ってきた。本論文は、これまでに行なった研究のほとんどすべてを総括し、特にヘプタデカペプチド・アミド ($\alpha^{1-14, 16-18}$ -Gly¹-ACTH-18-amide) を中心に主として合成に関して述べたものである。

1) 合成に際してはとくにラセミ化の危険を避けることに留意したが、基本的な合成経路は次の通りである。





この経路図に従ってわれわれは、 α^{6-9} -ACTH (L-ヒスチジル-L-フェニルアラニル-L-アルギニル-L-トリプトファン), α^{6-10} -ACTH (L-ヒスチジル-L-フェニルアラニル-L-アルギニル-L-トリプトフィルグリシン), α^{5-10} -ACTH (L-グルタミル-L-ヒスチジル-L-フェニルアラニル-L-アルギニル-L-トリプトフィルグリシン), α^{1-10} -Gly¹-ACTH (グリシル-L-チロジル-L-セリル-L-メチオニル-L-グルタミル-L-ヒスチジル-L-フェニルアラニル-L-アルギニル-L-トリプトフィルグリシン), $\alpha^{1-14, 17-18}$ -Gly¹-ACTH (グリシル-L-チロジル-L-セリル-L-メチオニル-L-グルタミル-L-ヒスチジル-L-フェニルアラニル-L-アルギニル-L-トリプトフィルグリシル-L-リジル-L-プロリル-L-バリルグリシル-L-アルギニル-L-アルギニン), および $\alpha^{1-14, 16-18}$ -Gly¹-ACTH-18-amide (グリシル-L-チロジル-L-セリル-L-メチオニル-L-グルタミル-L-ヒスチジル-L-フェニルアラニル-L-アルギニル-L-トリプトフィルグリシル-L-リジル-L-プロリル-L-バリルグリシル-L-リジル-L-アルギニル-L-アルギニンアミド) を合成した。

これらの合成を通じて、グルタミン酸、ヒスチジン、リジンおよびアルギニンのペプチド中への導入には、それぞれ、 γ -*t*-ブチル-L-グルタミン酸、N^{tr}-カルボベンゾキシ-L-ヒスチジン、N^e-*t*-ブチルオキシカルボニル-L-リジン、およびニトロ-L-アルギニン、並びにそれらの誘導体を使用した。 α -アミノ基の保護には原則としてカルボベンゾキシ (Cbz) 基を用い、メチオニンおよびトリプトファンに対する配慮を必要とする箇所 (Gly¹, Ser³, Phe⁷, Arg⁸) には *t*-ブチルオキシカルボニル (BOC) 基を用いた。ペプチド結合の形成には、カルボジイミド (DCCI) 法、アジド法、混合酸無水物 (M. A.) 法並びに N-ヒドロキシサクシニミド (NHS) 法を適所に用いたが、その使用頻度は、たとえば、 $\alpha^{1-14, 16-18}$ -Gly¹-ACTH-amide では、それぞれ 10, 4, 2, 1 である。このほか、 α^{6-9} 並びに α^{6-10} -ACTH の合成においては、ヒスチジンの導入に *p*-ニトロフェニルエステル (ONP) 法を用い、極めて有効であることを認めた。

2) α^{1-18} -ACTH-18-amide を合成する上のフラグメント-ペプチド誘導体として、N-BOC-L-セリル-L-チロジル-L-セリル-L-メチオニンヒドラジド (1~4 位), 並びに N^e-BOC-L-リジル-L-プ

ロリル-L-バリングリシル-N^ε-BOC-L-リジン-N^ε-BOC-L-リジン-L-アルギニル-L-アルギニンアミド (11~18位) を合成した。

3) テトラペプチド α⁶⁻⁹-ACTH が, MSH 作用並びに Lipolytic 作用を示す最小のペプチドであることを認めた。なお, このペプチドの合成は2通りの方法で行なったが, その一方においてアルギニン導入に N^ε-トシル-L-アルギニンを用い, その場合アルギニルペプチドがアジド法で合成できることを示した。

4) ヘキサデカペプチド α^{1-14, 17-18}-Gly¹-ACTH およびヘプタデカペプチド α^{1-14, 16-18}-Gly¹-ACTH-18-amide は何れも ACTH 活性を示した。このことは, ACTH の N 端セリンの側鎖が活性の発現に必ずしも必須でないことを示していて, Lebovitz および Engel がブタ ACTH から誘導した Gly¹-ACTH について認めていたこの事実を合成的に証明したものである。

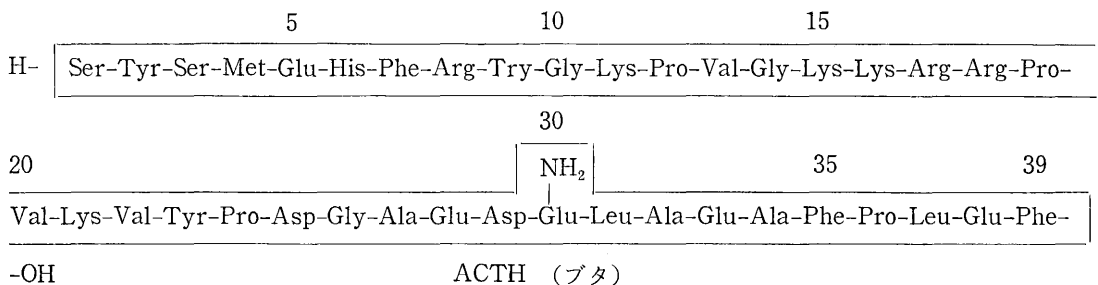
なお, 上記ペプチドの合成の最終段階, すなわちデカペプチド-フラグメントとヘキサ (或はヘプタ) ペプチド-フラグメントとの縮合に NHS 法を採用した。その収率は従来行なわれてきた他の方法に較べて決して劣らないが, この際メチオニンからメチオニンスルホキシドへの酸化がおこることを認めた。

5) ヒスチジンのイミダゾール核に結合した Cbz-基が, 臭化水素/酢酸 (又はジオキサン) によって容易には切断されないことを見出し, この性質を利用したところの, ヒスチジンペプチドの新しい合成法を発表した。

6) O-ベンジルセリンをセリンに代えてペプチド合成に用いる際の有用性を検討した。O-ベンジルセリンを用いることによって, セリン・ペプチドの合成は極めて容易になるが, メチオニンが共存する場合の問題として, ベンジル基の除去に液安 / ナトリウム処理を行なう際セリンの一部がグリシンに変換することを認めた。

論文の審査結果の要旨

副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) の構造が39個のアミノ酸よりなる鎖状ペプチドであることは合成によっても確かめられ, 構造と活性 (主ホルモン作用の他に lipolytic 作用, MSH 作用) の関係についてすでにいくつかの重要な事実が明らかにされているが, これをさらに深く理解するためには関連ペプチドの合成という手段が最も有力なものの一つである。井上君の論文は主として以下に述べる3点に目標をおいて行なった ACTH 関連ペプチドの合成研究をまとめたものである。



ACTH はその分子を構成する39個のアミノ酸残基のうち N 末端寄りの前半分を備えることによって全活性を保持し得るが、前半部の後部すなわち、15~18位に塩基性アミノ酸の局在する特異的配列が存在し、活性の強さはこの部分の塩基性側鎖に由来する正電荷の数に関連することが認められるので、この点を確認し、かつ、全活性を有する最小ペプチドを得ること、さらに ACTH の N 末端のセリン残基をグリシン残基で置換しても生理活性には影響しないとする Lebovitz らの説を確認することを目標として $\alpha^{1-14, 17-18}$ Gly¹-ACTH, $\alpha^{1-14, 16-18}$ Gly¹-ACTH アミドおよび α^{1-18} -ACTH アミドの合成を試み現在前二者の確実な標品を得ることに成功した。活性の検定は完了していないが定性的には上記の諸点を確認する結果を得た。

また ACTH の 1~13位までのアミノ酸の配列は α -MSH の全配列と同一であって、ACTH の持つ MSH 作用の活性中心は 6~10位の配列にあるとされているが、10位のグリシン残基の活性への寄与を検討する目的で 6~9 位配列のペプチドを合成した結果グリシン残基は MSH の活性に必須でないのみならず活性を高める上にも寄与しないことが明らかとなった。

なお、ペプチド合成の研究に当って、水酸基をベンジル基で保護した O-ベンジルセリンを用いるセリンペプチドの合成法を検討し、また Ntm-カルボベンゾキシ-ヒスチジンエステルを容易に得る方法を見出し、これを用いてジシクロヘキシルカルボジイミド法で高純度のヒスチジンペプチドを収率よく合成する優れた方法を開発したほか、N^q-トシルアルギニンにアジド法が適用できることを示しアルギニンペプチドの合成法を発展せしめた。

以上井上君の研究は数種の ACTH 関連ペプチドの合成に成功すると共に、ペプチド合成化学並びに ACTH の構造と生理活性との関係について多くの新しい知見を得たものであって、同君の論文は理学博士の学位論文として十分価値あるものと認められる。