



Title	エンケファリン及びその誘導体に関する構造化学的研究
Author(s)	土井, 光暢
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35639">https://hdl.handle.net/11094/35639</a>
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。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	土 井 光 暢
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	第 7987 号
学位授与の日付	昭和 63 年 2 月 19 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	エンケファリン及びその誘導体に関する構造化学的研究
論文審査委員	(主査) 教 授 冨田 研一 (副査) 教 授 佐々木喜男 教 授 北川 勲 教 授 栢井雅一郎

### 論 文 内 容 の 要 旨

エンケファリンは内因性モルヒネ様物質として発見されたペプチドで、ロイシン-エンケファリン (LENK: Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu) 及びメチオニン-エンケファリン (MENK: Try-Gly-Gly-Phe-Met) の 2 種類が存在する。また、エンケファリンが結合するオピオイドレセプターには、 $\mu$ ,  $\delta$  及び  $\kappa$  と呼ばれる少なくとも 3 つ以上のサブクラスが存在し、これらの構造活性相関の解明を極めて困難にしている。筆者は、エンケファリンの各レセプターに対する選択特異性を明らかにし、より強力な鎮痛物質の開発を行うために、合成した種々の誘導体の立体構造と選択性との相関関係について、X線結晶構造解析及びNMR測定の結果を基に検討した。

エンケファリン及びその誘導体は液相法に基づいて合成し、最終的に高速液体クロマトグラフィーによって単離精製を行った。ブロム原子を導入したエンケファリン重原子誘導体 (MBENK: Try-Gly-Gly-(4-bromo) Phe-Met) も同様に合成し、intactなエンケファリンに比べ、モルモット回腸及びマウス輸精管においてほとんど同レベルの活性を有していた。このことはエンケファリンの活性型コンホメーションが、ブロム原子の導入によってほとんど影響されないことを意味する。またこの部位の修飾が可能であることは、単に重原子誘導体の合成が可能であるばかりでなく、これを出発物質としてその他の誘導体の合成が可能であることを示している。

MBENK, MENK及びこれらのアニオン型誘導体 (BOCENK: Boc-Try-Gly-Gly-(4-bromo) Phe-Met) のX線結晶構造解析の結果、立体構造が全て伸長型のコンホメーションに属していることが明らかになった。しかもこれらのペプチドが結晶中において、いずれも  $\beta$ -sheet 構造を形成していることも示された。この伸長型の立体構造はそのペプチド 1 分子が単独で存在しうることとはな

く、結晶中で隣接する分子と水素結合によって会合し、初めて安定に存在すると考えられる。従って、エンケファリンが $\beta$ -sheet構造（伸長構造）をとるとき、その基本的なコンホメーションは伸長型2量体であると考えられる。

また、現在までに構造解析されたLENKの構造を考慮すると、エンケファリンの安定構造は $\beta$ -turn構造と伸長型2量体構造の2つに分けることができる。さらに、天然のエンケファリン自体が $\mu$ -レセプターと $\delta$ -レセプターの両方に結合すること、そして $\beta$ -turn構造のエンケファリンが $\mu$ -レセプターに対する特異性を持つこととを考え合わせると、伸長型2量体構造が $\delta$ -レセプターに対する特異性を持つ可能性が示唆される。このことを検討するためコンピューターシミュレーションを行った結果、エンケファリンの $\beta$ -turn構造と伸長型2量体構造とは立体的な類似性が見いだされた。すなわち、伸長型2量体のチロシンとフェニルアラニンの側鎖にある程度の自由度を想定すると、この構造の半分の部分と $\beta$ -turn構造との間には極めて類似した空間配置をとる原子団が存在しうることが明らかになった。このことから、エンケファリンの $\beta$ -turn構造が $\mu$ -レセプターに特異的であるという通説に加え、新たに伸長型2量体構造も $\mu$ -レセプターに結合できることが示された。さらに、両構造の類似性から、伸長型2量体構造が $\delta$ -レセプターに結合するなら、逆に $\beta$ -turn構造も $\delta$ -レセプターに対して親和性を持つ可能性が示唆される。これらの結果は、エンケファリンが $\mu$ -及び $\delta$ -レセプターの両方に同程度の親和性を持つことを説明することができる。

次に選択性とエンケファリンの立体構造との相関関係を調べるために、CDスペクトルを測定したところ、そのスペクトルパターンから、 $\mu$ -レセプター選択性ペプチドと $\delta$ -レセプター選択性ペプチドがそれぞれ全く異なる構造に分類できることが示された。しかも選択性が同じペプチド同志は、互いに主鎖のコンホメーションが似ていることも示唆された。

さらに $\mu$ -レセプター選択性誘導体Tyr-Pro-Phe-Val-NH<sub>2</sub>（VMC）及び $\delta$ -レセプター選択性Tyr-D-Thr-Gly-Phe-Leu-Thr（DTLET）を用いてNMR測定を行った結果、溶液中においてVMCとDTLETとが全く異なるコンホメーションを取っていることが判明した。従って、コンホメーションと選択性とは直接的な相関があると思われる。VMCは1位チロシンのカルボニル基とC-末端アミド基（-CONH<sub>2</sub>）とが分子内水素結合したturn構造をしていると考えられるが、一方DTLETは、1位チロシンのカルボニル基と6位スレオニンのアミド基とが分子間で水素結合をした分子会合体であると考えられる。さらに、DTLETが直鎖ペプチドであることと、その分子間水素結合の様式とを考え合わせると伸長型のコンホメーションを取り、しかもX線結晶構造解析から明らかになった伸長型2量体構造にかなり類似した分子構造を取っていると推察される。

以上NMR測定から得られる立体構造に関する情報を基に、VMC及びDTLETの分子モデルを組み、エネルギー計算による精密化を行った結果、NMRに現れるプロトンの挙動を十分説明できる立体構造を得ることができた。すなわち、VMCは分子内水素結合を持つゆるやかな5 $\rightarrow$ 1 turn構造をしており、DTLETはX線構造解析で見つかった分子間水素結合を持つ伸長型2量体構造がねじれた様な構造をとっていた。

以上のことは、X線結晶構造解析によって明らかにされた2つのエンケファリンの安定構造（ $\beta$ -

turn構造と伸長型2量体)が、溶液状態においても存在し、それぞれ $\beta$ -turn構造が $\mu$ -レセプター選択的であり、伸長型2量体構造が $\delta$ -レセプター選択的であることが明らかになった。

### 論文の審査結果の要旨

内因性モルヒネ様物質であるエンケファリンの分子構造ならびにレセプター特異性についての構造化学的研究は極めて重要かつ興味あるテーマである。

本論文では、エンケファリンおよびその数種の誘導体を化学的に合成し、X線解析法、NMR法およびCD法によって結晶状態ならびに溶液状態での分子構造を明らかにするとともに $\mu$ -および $\delta$ -レセプターへの特異的結合と分子構造との関連性についての考察を加えた。

以上の業績は、構造化学の面から極めて意義あるもので博士論文として価値あるものと認める。