The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	エンケファリン類似体の合成研究
Author(s)	前田, 光子
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39554
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【 18 】

氏　　名	前　田　光　子（まえだ みつこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬学）
学位記番号	第　12241　号
学位授与年月日	平成8年2月7日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	エンケファリン類似体の合成研究
論文審査委員	(主査) 教授 真弓 忠範 (副査) 教授 馬場 明道　教授 今西 武　教授 北 泰行

論文内容の要旨

内因性のオピオイトペプチドであるエンケファリンは，1975年にその存在が報告されて以来，多くの合成研究が成されてきた。即ち，構成アミノ酸のD体による置換，ペプチド結合様式の変換（ペプチドミメティック）などによって，より強力な，またより受容体特異性のあるペプチドの合成研究が行われている。著者は，エンケファリンの構造活性相関の研究をさらに進めるために以下の研究を行った。1）ウレイレン結合を持つペプチドミメティックスの合成，2）フッ素を導入したエンケファリン類似体の合成，3）ペプチドのドラッグデリバリーシステムを考慮に入れたポリエチレングリコールとのハイブリッドエンケファリンの合成。

1. ウレイレン結合を導入したエンケファリン類似体の合成

エンケファリンは生体内では分解酵素により失活する。現在この酵素としてはN端より1位チロシンを遊離するアミノペプチダーゼ，N端より2位グリシン－3位グリシン間を分解するエンケファリナーゼB，3位グリシン－4位フェニルアラニン間を分解するエンケファリナーゼ，C端よりロイシンまたはメチオニンを遊離するカルボキシペプチダーゼの存在が知られている。そこでロイシンエンケファリン（Tyr－Gly－Gly－Phe－Leu）中の酵素分解を受けるアミド結合部をウレイレン結合に変換した類似体を合成した。ウレイレン結合への変換は，アミド結合形成の際に良く用いられるアジド法の副反応であるクルチウス転位を応用して簡便に行った。オピオイド活性の測定はモルモット回腸収縮抑制試験（GPI法）とマウス輸精管収縮抑制試験（MVD法）で行った。両活性試験の結果を比較すると，ウレイレン結合を導入した類似体はδ－レセプター選択性の増加を示した。

2. フッ素導入エンケファリン類似体の合成

フッ素原子のファンデルワールス半径は1.35 Åで，水素原子の1.1 Åと大きな差はなく，またハロゲン中でも最も強い電気陰性度を示し，疎水性を有する。これまでに，ステロイド性抗炎症剤にフッ素を導入することにより作用の増強性・持続性が認められている。また5－フルオロウラシルを代表とする核酸系制癌剤の開発などにより，その他の医薬品についてもフッ素導入の効果が期待される。そこで，フッ素化アミノ酸を合成原料として，目的とするフッ素導入ロイシンエンケファリン類似体を合成し，オピオイド活性を測定した。芳香環フッ素導入類似体では4位フェニルアラニ

ンのパラ位にフッ素を導入すると MVD－GPI 法とも約10倍活性が上昇した。1位チロシン芳香環上フッ素導入ではオルト位よりメタ位の方が活性は低下し，また水酸基OHをアイソステアーであるフッ素Fに置換すると1／100 に活性は低下し，チロシンの水酸基の重要性が確認できた。2位グリシンをフッ素化バリンに置換したり，4位フェニルアラニンをフッ素化フェニルグリシンに置換すると活性は顕著に低下した。5位ロイシンのフッ素化ロイシン置換類似体の活性測定結果から，ロイシンの側鎖末端の立体配座と活性発現との間に大きな相関関係はないことが示唆された。また，フッ素化アミノ酸は酵素分解に対する抵抗性は示さなかった。

3. ポリエチレングリコールとのハイブリッド体の合成

ポリエチレングリコール自体は，免疫原性や細胞毒性がなく，両親媒性で生体に対する作用が緩和なことから，生物活性を有する薬物の高分子性担体として注目を集めている。著者は平均分子量3000～3700のポリエチレングリコールをアミノ化したアミノポリエチレングリコールに，エンケファリンを導入してそのオピオイド活性を測定した。ペプチドのみの場合と比較すると，アミノポリエチレングリコールハイブリッド体はモルヒネに匹敵するほどの強い抗侵害受容効果を示した。2位がD体アラニンのロイシンエンケファリン類似体はポリエチレングリコールとのハイブリッド化によって，MVD法で120倍の活性上昇を示した。さらに，4位フェニルアラニンをN－メチル化したエンケファリン類似体のハイブリッド体をも合成し，その活性について検討した。中でも2位D体アラニン，4位N－メチルフェニルアラニン，5位D体ロイシンのエンケファリン類似体のポリエチレングリコールハイブリッド体は，活性の増強とともに作用持続性傾向を示した。このような高活性発現の理由のひとつとして，ハイブリッド化により酵素に対する抵抗性が増す事が考えられる。

以上のように，ウレイレン結合を持つエンケファリン類似体，フッ素導入エンケファリン類似体，高分子とのハイブリッドペプチドの研究は，今後のペプチド合成の研究に寄与するものと考える。特に低分子ペプチドと高分子担体であるポリエチレングリコールとのハイブリッド体の研究では，活性の増強とともに作用持続性を発現し，ドラッグテリバリーシステムという面からも非常に興味ある成果が得られた。

論文審査の結果の要旨

モルヒネ様鎮痛作用を有するエンケファリン（オピオイド・ペプチド）が発見されて以来，その医薬品化に関する多くの研究がなされてきた。特に，エンケファリンがペプチドであるが故に，生体内では酵素分解を受け，失活すること等から，化学的に多様な修飾体が合成され，構造－活性相関に関する数多くの試みがなされてきている。しかしながら，いまだ顕著な有効性と安全性を有する良好な医薬品としての成功例はない。

そこで著者は，エンケファリンの構造―活性相関の研究をさらに進めるためにも，1）酵素分解に抵抗性が期待されるウレイレン結合を持つペプチド・ミメティックスの合成，2）強い電気陰性度を示すと同時に脂溶性を高めるフッ素原子を導入したエンケファリン類似体の合成，3）ペプチドのドラッグ・デリバリー・システムを考慮にいれたポリエチレングリコールとのハイブリッド・エンケファリンの合成，など合計35種の類似体合成研究を行った。

その結果，クルチウス転位を利用して，ウレイレン結合を含むエンケファリン類似体の簡便な合成法を確立した。さらに本結合が酵素反応に対して抵抗性を示すことを確認した。ウレイレン結合への変換は，エンケファリンにおいては作用の低下を示したが，δ－レセプター選択性は増加した。本結合は分解酵素抵抗性を有すると共に，比較的容易に導入出来ることから，今後他の生理活性ペプチドへの応用が期待される。フッ素導入エンケファリン類似体の合成はペプチド合成の常法により行うことが出来たが，期待したほどの活性はみられなかった。ポリエチレングリコールとのハイブリッド化エンケファリンの合成は，N末端保護ペプチドと，アミノ化したポリエチレングリコールとの DCC／HOBt 法による縮合を行い，比較的安定したペプチド含量のハイブリッド体を得ること出来た。その活性は強く，in vivo, in vitro において，10～240倍の作用増強を示し，さらに著しい持続性をも有していることが判明した。

以上の成果は，ペプチド・ミメティックスあるいは今後のペプチド性医薬品のドラッグ・デリバリー・システム研究

に重要な指針を与えるものであり，博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいものと考える。