

氏名	岩井潤 いわいじゅん
学位の種類	薬学博士
学位記番号	論薬博第201号
学位授与の日付	昭和53年9月25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	サメ脳下垂体中葉 $\beta$ 型メラニン細胞刺激ホルモンの合成研究

(主査)  
論文調査委員 教授 矢島治明 教授 山科郁男 教授 井上博之

### 論文内容の要旨

1974年 Lowry らはサメ (*Squalus acanthias*) の脳下垂体中葉の  $\alpha$ -および  $\beta$ -メラニン細胞刺激ホルモン (MSH) の構造を解明し、ついで Pickering らは別のサメ (*Scyliorhinus canicula*) の  $\beta$ -MSH の構造を決定した。これらの研究によって、非哺乳動物の中葉にも哺乳動物と同様に2種の MSH が存在することがはじめて明らかになり、動物のホルモンの進化の過程を知るうえに貴重な知見がもたらされた。

以上のサメ中葉ホルモンのうち、*acanthias*  $\alpha$ -MSH は哺乳動物の  $\alpha$ -MSH とほぼ類似の構造を有し、既に合成も行なわれた。しかしここに解明された2種の  $\beta$ -MSH は、His-Phe-Arg-Trp の tetrapeptide core を有する点で哺乳動物の  $\beta$ -MSH と構造上の共通点を有しているが、アミノ酸組成はかなり異なったものである。またペプチド鎖長においても、*canicula*  $\beta$ -MSH (I) は、既知の  $\beta$ -MSH と同様に octadecapeptide であるが、*acanthias*  $\beta$ -MSH (II) は hexadecapeptide であって、相互に構造上の差異が認められる。今回著者は上記新しく構造解明された2種のサメ  $\beta$ -MSH (I)、ついで (II) の全合成を行なった。

サメ  $\beta$ -MSH の構造

*Scyliorhinus canicula*  $\beta$ -MSH (I)

H-Asp-Gly-Ile-Asp-Tyr-Lys-Met-Gly-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Ala-Pro-Met-Asp-Lys-OH

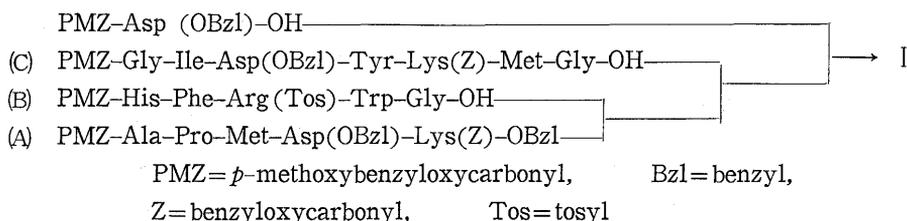
*Squalus acanthias*  $\beta$ -MSH (II)

H-Asp-Gly-Asp-Asp-Tyr-Lys-Phe-Gly-His-Phe-Arg-Trp-Ser-Val-Pro-Leu-OH

I. *canicula*  $\beta$ -MSH (I) の合成

*canicula*  $\beta$ -MSH の構造上の特徴はC末端近くに Met 残基を持つことである。このため接触還元で  $\alpha$ -アミノ保護基を除去する方法を避け、トリフルオロ酢酸 (TFA) で脱保護しつつペプチド鎖を延長し、最終段階の脱保護には弗化水素を用いることにした。この方針に従って  $\alpha$ -位のアミノ基保護には PMZ を、また側鎖官能基の保護を必要とするアミノ酸誘導体としてはこれに適した Asp (OBzl), Arg (Tos), Lys (Z) を採用した。合成ルートは図に示すように8位と13位の Gly 残基に不整炭素がないことに着目し、

3 個の区分ペプチド A (14-18), B (9-13), C (2-8) を選び, 縮合に際するラセミ化を避けた。なお Asp-Gly (1-2) を 1 区分ペプチドとして縮合させる方法も考えられるが, この結合は特に塩基の存在下に N-succinimide 型の間体を経て, 転位反応を起こしやすいことが知られているので, 本合成では Asp 残基は単独で導入することにした。



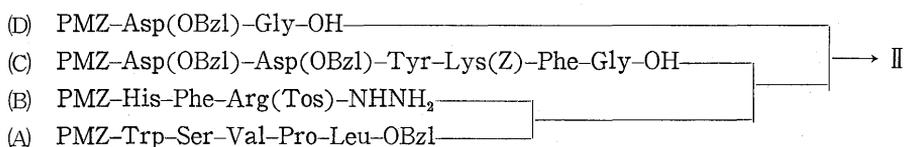
まず C 末端の pentapeptide A (14-18) を, H-Lys(Z)-OBzl から段階的活性エステル法で導いた PMZ-Met-Asp(OBzl)-Lys(Z)-OBzl を脱 PMZ し, これと PMZ-Ala-Pro-OH から導いた 5-chloro-8-quinoly-lester とを反応させて合成した。なお Met 残基の酸化を防止するため, 以下の反応も窒素ガスで置換させた容器中で行ない, 脱保護の際にもエーテルによる処理を避けた。

つぎに PMZ-His-NHNH<sub>2</sub> と既知物質 H-Phe-Arg(Tos)-Trp-Gly-OH とをアチド法で縮合させて B (9-13) を, さらに段階的活性エステル法によって C (2-8) を, それぞれ合成した。

区分ペプチド A, B, C を図に示したように N, N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) および N-hydroxybenzotriazole (HOBT) を用いて C 末端から順次結合したのであるが, その際 Trp 含有ペプチドの脱 PMZ 基のための TFA 処理は, メルカプトエタノール含有のアニソール存在下に行ない, その分解を避けた。ここに得た保護 heptadecapeptide を脱保護して, 反応液を中性に保ちつつ, DCC を用いて PMZ-Asp(OBzl)-OH と縮合させ, 最終の保護ペプチドへと導いた。保護ペプチドからすべての保護基を除去するに際しては, Trp, Met 残基へのアルキル化副反応を避けるため, 弗化水素処理を, アニソール, skatole, dithiothreitol 共存下に行なった。ついで生成物を Amberlite CG-4B を用いて酢酸塩にしたあと, Sephadex G-15 と CM-Sephadex のカラムクロマトグラフィーで精製し, ついで Sephadex G-25 で脱塩して純度の高い目的物を得ることができた。

## II. *acanthias* β-MSH (II) の合成

*acanthias* β-MSH (II) の合成ルートは図に示す通りである。保護基の選択, 除去法とも *canicula* β-MSH の合成に準じた。結合様式としては, Gly が 2 位と 8 位とに位置するため, 2 区分ペプチド D (1-2), C (3-8) とし, 以下の 2 区分ペプチド B (9-11) と A (12-16) はラセミ化の少ないアチド法で結合することにした。また N 末端の Asp-Gly は, さきの *canicula* β-MSH 合成の経験から, 特に強い塩基の存在を避けて合成すれば転位反応はほぼ避けうるものと判断したので, 一つの区分ペプチドとして用いることにした。



まず区分ペプチドAを、PMZ-Ser-Val-NHNH<sub>2</sub>とH-Pro-Leu-OBzlとをアチド法で結合後、PMZ-Trpを活性エステル法で導入して合成した。つぎに区分ペプチドBおよびCを、既知の方法にならない、活性エステル法、アチド法で段階的にペプチド鎖を延長して合成した。

以上合成した区分ペプチドを順次図に従って結合したが、ただTFA処理に際して、Trpの分解防止には、前に使用したメルカプトエタノール含有アニソール存在下よりも、2%エタンジチオール含有アニソール存在下の方が良好であることを認めた。

ここに得られた保護hexadecapeptideを*canicula*  $\beta$ -MSHと同様弗化水素処理し、生成物をAmberlite CG-4Bで酢酸塩にした後、Sephadex G-25のブタノール-酢酸-水(4:1:5)系による分配クロマトグラフィーにより精製した。これは*acanthias*  $\beta$ -MSHが*canicula*  $\beta$ -MSHに比して多少水に溶けにくかったからである。

以上合成した*canicula*  $\beta$ -MSH、および*acanthias*  $\beta$ -MSHは構造にかなりの差異があるにもかかわらず、*Rana pipiens*を用いる*in vitro*の活性試験で、ともに $1.8 \times 10^9$  MSH U/gの活性を示し、これらはほぼ文献記載の天然品の活性に相当するものであった。

以上著者は2種のサメ $\beta$ -MSHの合成を完成することができたが、これは哺乳動物以外の脳下垂体 $\beta$ 型中葉ホルモンの最初の合成である。

#### 論文審査の結果の要旨

本論文はサメ脳下垂体中葉より分離された2種の $\beta$ 型メラニン細胞刺激ホルモンの全合成に関するものである。

従来各種哺乳動物の脳下垂体中葉ホルモン(MSH)に関しては、動物に共通な $\alpha$ 型と、動物によって種差のある $\beta$ 型の2種類の存在することが知られ、これらはそれぞれ全合成されるに至っている。しかし非哺乳動物の中葉ホルモンに関しては、1974年、Lowryら、Pickeringらが、それぞれサメ(*Squalus acanthias*)の $\alpha$ 、 $\beta$ 型MSH、および別種のサメ(*Scyliorhinus canicula*)の $\beta$ 型MSHの構造を解明したのが最初である。すなわち進化の非常におくれていると考えられているサメもまた哺乳動物と同様の2種のMSHを有することがはじめて明らかにされた。このうち $\alpha$ -MSHは哺乳動物とほぼ同様の構造であるが、 $\beta$ -MSHは哺乳動物に比して構成アミノ酸組成がかなり異っている。またペプチド鎖に於ても*canicula*  $\beta$ -MSHは哺乳動物の $\beta$ -MSHと同様にoctadecapeptideであるが、*acanthias*  $\beta$ -MSHはhexadecapeptideである。

著者のこれら2種の $\beta$ -MSHの全合成はいずれも最終段階に於て、弗化水素で脱保護する方針のもとに行われたが、特に合成上に注意された点は、N末端部に位置するAsp-Gly残基の導入である。従来より本基は塩基によりコハク酸型中間体をへて $\alpha \rightarrow \beta$ 転位しやすいことが知られている。このためstepwise導入法以外に、モデル実験を通じて、塩基を使用しなければ、この転移を考慮することなしに、このdipeptide区分を導入出来ることを検討後本合成が行われた。またペプチド鎖の延長に際してトリフルオロ酢酸によって $\alpha$ -アミノ保護基を除去する際に、トリプトファン残基に生ずる副反応の抑制には、従来のメルカプトエタノールの添加よりもエタンジチオールの添加が有効であることを知り、本合成に応用し

た。

以上の合成は非哺乳動物の  $\beta$ -MSH の全合成として最初のものであり、脳下垂体中葉ホルモンに関する比較内分泌学的研究に貢献するものと考えらる。

よって、本論文は薬学博士の学位論文として価値あるものと認める。