

氏 名	山 中 勇 人
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	工 博 第 1805 号
学位授与の日付	平成 11 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	工学研究科合成・生物化学専攻
学位論文題目	BIOCHEMICAL STUDIES ON SILICON-CONTAINING AMINO ACIDS AND THEIR DERIVATIVES (含ケイ素アミノ酸およびその誘導体に関する生化学的研究) (主査)
論文調査委員	教授 田中渥夫 教授 伊藤嘉彦 教授 今中忠行

論 文 内 容 の 要 旨

近年、光学活性有機ケイ素化合物の持つ、医薬や機能性物質およびそれらの前駆体としての可能性に注目が集まっているが、光学活性含ケイ素アミノ酸およびその誘導体に関しては合成例はごくわずかであり、とくにその調製に生体触媒を利用した例はこれまで全く報告されていない。また、光学活性含ケイ素アミノ酸およびその誘導体が生体や生体分子に及ぼす影響についてもほとんど明らかとなっていない。本論文は、生体触媒を用いて光学活性含ケイ素アミノ酸およびその誘導体を効率よく調製する系を確立すると共に、含ケイ素アミノ酸を導入した生理活性物質アナログについてその活性を評価したものであり、緒論、結論、および本論 2 編 6 章よりなっている。

第 1 編では、生体触媒を測いて光学活性含ケイ素アミノ酸を効率よく調製する系を構築することを目的としている。第 1 章では、leucine (Leu) のアナログとして有用と考えられる光学活性 3-trimethylsilylalanine (TMS-Ala) の取得を目指し、*N*-acetyl-DL-TMS-Ala のアシラーゼ I によるエナンチオ選択的脱アセチル化について検討したところ、ブタ腎臓アシラーゼ I がこの反応を効率よく触媒することを見だし、これを用いて 99%ee の L-TMS-Ala を取得することに成功した。また、反応後残った基質を酸性条件下で加水分解することにより、96%ee の D-TMS-Ala を得ることができるとも明らかにした。第 2 章では、D-*p*-trimethylsilylphenylalanine (D-TMS-Phe) の調製について検討を行った。まず、DL-5-(*p*-trimethylsilylphenylmethyl)-hydantoin (DL-TMS-Phe-Hyd) の加水分解能を持つ菌株のスクリーニングを行ったが、十分な活性を示す菌株が見いだされなかったため、DL-TMS-Phe-Hyd を化学的に加水分解して得られる *N*-carbamoyl-DL-*p*-trimethylsilylphenylalanine (C-DL-TMS-Phe) の *N*-カルバモイルアミノ酸加水分解酵素 (Case) 生産菌によるエナンチオ選択的脱カルバモイル化を試みたところ、*Blastobacter* sp. A17p-4 が C-DL-TMS-Phe に対して高い脱カルバモイル化活性を示すことが明らかとなった。この株が生産する D-特異的 Case (DCase) と L-特異的 Case (LCase) を DEAE-Sephacel カラムクロマトグラフィーにより分離し、DCase 画分を用いて 98%ee の D-TMS-Phe を取得することに成功した。第 3 章では、光学活性 TMS-Phe を効率よく調製する系の構築を目指し、*Blastobacter* sp. A17p-4 の無細胞抽出液を pH7.0 において 50°C、40 分処理を行ったところ、DCase 活性を保持したまま LCase を完全に失活させることが可能であることを見だし、これを用いて非常に簡便に 99%ee の D-TMS-Phe を得ることができるとを明らかにした。また、未反応の基質に *Blastobacter* sp. A17p-4 の無細胞抽出液を熱処理せずに作用させることにより、99%ee の L-TMS-Phe を得ることができるとも示した。

第 2 編では、含ケイ素アミノ酸の誘導体を合成し、またそれらの生理活性について知見を得ることを目的としている。第 1 章では、酢酸エチル中でサーモリシンを用いた TMS-Ala 含有ジペプチド誘導体の合成を試みたところ、Z-L-TMS-Ala は Z-L-Leu よりも良い基質となった一方で、サーモリシンは L-TMS-Ala-OMe を基質として認識しなかった。この反応のエナンチオ選択性は非常に高く、サーモリシンが種々の L-TMS-Ala 含有ジペプチドの合成に有用であることを明らかにした。第 2 章では、TMS-Ala およびその誘導体のサーモリシン阻害活性について検討したところ、種々の L-TMS-Ala 誘導体が顕

著な阻害活性を示し、特にZ-L-TMS-AlaとLeu-(TMS-Ala)はそれぞれZ-L-Leu, Leu-Leuより高い活性を示すことを見いだした。ジペプチドの阻害様式について検討を加えた結果、ジペプチドはサーモリシンのS1-S1'部位ではなく、S1'-S2'部位に結合すると推測された。またこれらの結果から、これまでにサーモリシンの阻害剤として報告されているLeu誘導体のLeuをTMS-Alaに置換することがサーモリシンや類縁の金属プロテアーゼの新規阻害剤の設計に有効である可能性が示された。第3章では、DL-TMS-Pheを7-aminocephalosporanic acid (7-ACA)の側鎖に導入したセファロsporin (DL-TMS-Phe-7-ACA)を合成し、その抗菌活性を評価したところ、DL-TMS-Phe-7-ACAはグラム陽性菌を中心とした広い抗菌スペクトルを示すことが明らかとなった。DL-TMS-Phe-7-ACAの抗菌活性はcephaloglycinのそれよりは弱かったものの、7-ACAより強い活性を示し、側鎖にDL-TMS-Pheを導入した効果は顕著であった。この結果は含ケイ素アミノ酸が新規β-ラクタム抗生物質の合成原料として有用である可能性を示唆するものである。

論文審査の結果の要旨

本論文は、生体触媒を用いた光学活性含ケイ素アミノ酸およびその誘導体の調製と、それらの新規生理活性物質としての応用に関する研究をまとめたものであり、得られた主な成果は以下の通りである。

1. アシラーゼIがN-acetyl-DL-3-trimethylsilylalanine (N-acetyl-DL-TMS-Ala)のエナンチオ選択的脱アセチル化を触媒することを見だし、これを利用して光学活性TMS-Alaを調製する系を確立した。

2. *Blastobater* sp. A17p-4が生産するN-カルバモイル-D-アミノ酸加水分解酵素を用いたエナンチオ選択的脱カルバモイル化によりD-p-trimethylsilylpheylalanine (D-TMS-Phe)を調製できることを明らかにした。さらに、*Blastobater* sp. A17p-4の無細胞抽出液を用いて効率よく光学活性TMS-Pheを調製する系を構築することに成功した。

3. 酢酸エチル中でサーモリシンを用いたペプチド合成においてZ-L-TMS-Alaが良い基質となることを明らかにし、種々のL-TMS-Ala含有ジペプチドの合成に成功するとともに、いくつかのL-TMS-Ala誘導体が顕著なサーモリシン阻害活性を示すことを見いだした。

4. DL-TMS-Pheを7-aminocephalosporanic acidの側鎖に導入した新規セファロsporinが広い抗菌スペクトルを持つことを見だし、含ケイ素アミノ酸が新規β-ラクタム抗生物質の合成原料として有用である可能性を示唆した。

以上のように、本論文は新規光学活性含ケイ素アミノ酸の生化学的調製とその応用について重要な成果を挙げたものであり、学術上、実際に寄与するところが少なくない。よって本論文は博士(工学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成11年1月25日、論文内容とそれに関連する事項について試問を行った結果、合格と認めた。