

氏 名	伊 藤 章 いとう あきら
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	論 薬 博 第 169 号
学位授与の日付	昭 和 52 年 1 月 24 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	α -アミノアルデヒド含有ペプチドの合成研究

論文調査委員 (主 査) 教 授 矢 島 治 明 教 授 犬 伏 康 夫 教 授 冨 田 謙 吉

論 文 内 容 の 要 旨

最近、梅沢らは微生物の代謝産物中より、蛋白分解酵素阻害作用を示すペプチド性物質、ロイペプチン、アンチパイン、キモスタチン、エラストチナール等を単離し、これらのカルボキシル末端がいずれも α -アミノアルデヒド（以下 A-aldehyde と略す）であり、これが阻害作用に重要な役割を果していることを明らかにした。これは自然界に於けるペプチドアルデヒド（以下 P-aldehyde と略す）の存在を初めて明らかにしたものである。著者はこれら P-aldehyde 関連物質の合成を企画し、まず従来有効な合成法のなかった A-aldehyde の簡易合成法を確立し、ついでこれらのラセミ化を抑制するにはセミカルバゾン誘導体に導くことが有効であることを見出し、これを出発物質としてトリプシンに阻害作用を示すロイペプチン以外にキモトリプシンに阻害作用を示す数種の P-aldehyde を合成することができた。

(I) ベンジルオキシカルボニル-A-aldehyde の合成

従来の A-aldehyde の合成研究は、これをペプチドに導入することを目的としたものではなかった。そのためそこに使用されたフタルル、トシル、アセチル、ベンゾイル等の α -アミノ保護基はその脱離法という点から考えると P-aldehyde の合成には不適當である。従って著者は臭化水素酸処理、あるいはパラジウム上接触還元で緩和に除去できるベンジルオキシカルボニル基(以下 Z 基と略す)を α -アミノ基の保護基として採用し、各種の Z-アミノ酸を原料として次の 2 方法で P-aldehyde の合成に適した A-aldehyde の合成を行なうことができた。

i) エステルのジイソブチルアルミニウムヒドリド還元法: Zakharkin らはエステルを -70° でジイソブチルアルミニウムヒドリドで還元してアルデヒドを合成しているが、アミノ酸に適用した報告はみられない。著者は本法を Z-アミノ酸のメチル、またはエチルエステルに応用したところ、Z 基を保持した対応の A-aldehyde を好収率で得ることができた。

本還元剤は高価であるが、反応操作が容易なため、本研究に用いた A-aldehyde は主に本法によって合成したものである。

ii) 酸イミダゾリドのリチウムアルミニウムヒドリド還元法：カルボキシル基をアルデヒドに導くにはカルボン酸とカルボニルジイミダゾールから導かれる酸イミダゾリドをリチウムアルミニウムヒドリドで還元する Staab らの報告がある。本反応は厳密な無水の条件が必要であるが Z-Arg(NO₂)-OH に適用したところ、Z 基およびニトロ基ともに脱離することなく、収率よく対応する Z-N(G)-ニトロアルギニナルを得ることができた。

(II) Z-A-aldehyde セミカルバゾンの合成

Z-A-aldehyde は結晶性が悪く、再結晶による精製が困難であるため、はじめ上記還元途上に副成するアルコールをシリカゲルのカラムクロマトグラフィーで除去精製することを試みた。精製品の光学的純度を検定するため、これらをナトリウムボロンヒドリドで対応の Z-アミノアルコールに導き、標準品の比旋光度と比較したところ、Z-N(G)-ニトロアルギニナルを除き、他の Z-A-aldehyde には顕著なラセミ化が見られた。これは前者が環状カルビノールアミン構造をとるためエノール化し難く、他の Z-A-aldehyde は精製中にケト-エノール平衡を経由してラセミ化したものと考えられる。従って光学活性な Z-A-aldehyde を単離するためには、このケト-エノール化の可能性を消去する必要がある。そこで著者は還元直後の Z-A-aldehyde を直ちに対応のセミカルバゾンに導いた。これらは塩酸ホルマリン処理で定量的にもとの Z-A-aldehyde に戻り、しかもその間にラセミ化は殆んど進行しないことを確めた。またアミノ基側にペプチド鎖を延長して P-aldehyde を合成するための予試験として、Z 基を接触還元、または臭化水素酸によって除去したが、その際セミカルバゾン部分には何らの変化を認めなかった。以上の実験から Z-A-aldehyde をセミカルバゾンに導くことは、ラセミ化の防止だけでなく、アルデヒドの保護基として P-aldehyde の合成上有効な方法であることが明らかになった。換言すれば Z-A-aldehyde セミカルバゾンは P-aldehyde の合成に非常によい性質を備えた出発原料であると判断される。

(III) 蛋白分解酵素阻害作用を示す P-aldehyde の合成

i) ロイペプチン (アセチル-L-ロイシル-L-ロイシル-アルギニナル) の合成

梅沢ら是对応するペプチドアルコールを酸化して本品を合成したが、反応後の精製に難点がある。そこで前記、酸イミダゾリド法で合成した Z-N(G)-ニトロアルギニナルセミカルバゾンの Z 基を臭化水素酸で除去し、ついでこれにアセチル-L-ロイシル-L-ロイシンを活性エステル法で縮合後、保護基、すなわちニトロ基、セミカルバチドを除去して目的物を収率よく得ることができた。本合成品のトリプシンに対する阻害活性は天然品と同等またはそれ以上であった。この合成を通じて、後記するようにアルギニナル部分のラセミ化は十分抑制されていることを確めた。

ii) キモトリプシン阻害剤の合成

キモトリプシンとトリプシンとは構造上類似したセリン酵素であるが、基質特異性に於て大きな差異がある。すなわち前者は主として芳香族アミノ酸 (Phe, Tyr, Trp) のカルボキシル基側のペプチド結合を選択的に加水分解するのに対し、後者は塩基性アミノ酸 (Lys, Arg) のカルボキシル基側のペプチド結合を加水分解する。この両蛋白分解酵素の基質特異性と、トリプシンを阻害しキモトリプシンを阻害しないロイペプチンの構造を考え、そのアルギニナル部分を芳香族アミノアルデヒドで置換した誘導体にキモトリプシンに対する阻害作用を期待した。そこでフェニアラニナル、チロジナル、トリプトファナ

ールの3種のセミカルバゾンにアジド法でアセチル-L-ロイシル-L-ロイシンをそれぞれ縮合し、得られた対応の P-aldehyde セミカルバゾンからホルマリノと酸によりセミカルバチドを脱離した後、セファデックス LH-20 クロマトグラフィーで精製することにより目的の3種の P-aldehyde を得た。これらの誘導体は後記するラセミ化テストで殆んどラセミ化がみられず、また予期した通りキモトリプシンを阻害したが、なかでもアセチル-L-ロイシル-L-ロイシルトリプトファンが最も強い阻害活性を有していた。

(Ⅳ) P-aldehyde 中の A-aldehyde 部分のラセミ化とその検定法

P-aldehyde の合成に際し、最終段階でセミカルバチドを除去すると、この A-aldehyde 部分は Z-A-aldehyde と同じくケト-エノール平衡によるラセミ化の可能性を有する。従って合成品の光学的純度を決定する方法が必要である。そのため前記の合成ロイペプチンを過マンガン酸カリウムで酸化後、酸加水分解してアルギニナル由来の全アルギニン量を坂口法で、L-アルギニン量を生物学的定量法でそれぞれ決定した結果、ラセミ化率が非常に低いことが判明した。これは、このアルギニナル部分が Z-N(G)-ニトロアルギニナルの場合と同様、環状構造をとるためラセミ化が抑制されたものと考えられる。しかしこの方法はかなりの検体量を必要とするので、より微量(約5マイクロモル)の検体で、より正確な値の得られる以下の方法を考案し、これを先述の合成キモトリプシン阻害 P-aldehyde に適用した。まず検体をナトリウムボロンヒドリドで還元後、塩酸加水分解によって得られた A-aldehyde 由来のアミノアルコールのアミノ基に L-アスパルチル基を導入した。ついでこの一連の操作により得られた L-アスパルチル-アミノアルコールのジアステレオマーをアミノ酸分析計を用いて定量した。このジアステレオマーの割合は P-aldehyde 中の A-aldehyde のラセミおよび非ラセミ部分の相互比を反映することになる。その結果、上記合成キモトリプシン阻害剤中の A-aldehyde 部分のラセミ化がいずれの場合も殆んど起っていないことが判明した。

以上、著者は P-aldehyde の合成に Z-A-aldehyde セミカルバゾンが非常に優れた出発原料であることを見出し、これを用いて蛋白分解酵素阻害作用を有する数種の P-aldehyde を合成することができた。ここに著者の考案したラセミ化抑制法とその検出法は光学的純度の確定した P-aldehyde を合成する上に有意義な資料を供与するものと考ええる。

論文審査の結果の要旨

最近、梅沢らは微生物の代謝産物中より蛋白分解酵素阻害作用を示す物質、ロイペプチン、アンチパイソ等を分離し、はじめて天然界に於けるペプチドアルデヒドの存在を明らかにしたが、一般のペプチド合成化学の進歩にもかかわらず、これを合成する適切な方法がなかった。

本論文は合成原料となる α -アミノアルデヒドの簡易合成法、およびラセミ化抑制法を見出し、これらの知見をもとに光学純度の確定したペプチドアルデヒドの合成法を研究したものである。

従来の α -アミノアルデヒドの合成はペプチドの合成を目的としたものでなかった。著者はまず α -カルボベンゾオキシ (Z)-アミノ酸を出発物質に選び、このイミダゾリドのリチウムアルミニウムヒドリド還元、または対応のエステル類のジイソブチルアルミニウムヒドリド還元による Z 基を保持した α -アミノアルデヒドの簡易合成法を見出した。つぎに著者はラセミ化防止のため、これらを再びもとのアルデヒド

ドに戻しうる誘導体，セミカルバゾンに導いた。ついでこの Z- α -アミノアルデヒドセミカルバゾンが実際のペプチドアルデヒドの合成の出発物質として適当な性質を備えたものであることを，トリプシン阻害活性を示すロイペプチン，アセチル-L-ロイシル-L-ロイシル-L-アルギニナールの合成のみならず，キモトリプシン阻害活性を示す対応の L-トリプトファンール，チロジナール，フェニルアラニナールを含むペプチドアルデヒドを合成することによって明らかにした。

この際，アルデヒド部の光学純度はナトリウムボロンヒドリドで還元後，酸分解し，これに L-アスパルチル基を導入し，生成するジアステレオマーをアミノ酸分析計で定量出来ることを示し，上記のペプチドアルデヒドの活性がアルデヒド部の光学純度に左右されることを明らかにした。

以上の研究は光学純度の確定したペプチドアルデヒドの一般合成に有意義な基礎資料を提供するとともに従来のペプチド合成化学に新しい分野を開いたものである。

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。