

氏 名	田 村 房 子
	た むら ふさ こ
学 位 の 種 類	薬 学 博 士
学 位 記 番 号	論 薬 博 第 188 号
学位授与の日付	昭 和 52 年 11 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	ウマ及びラクダ β -メラニン細胞刺激ホルモンの合成研究

論文調査委員 (主査) 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

哺乳動物の脳下垂体中葉ホルモンとして、1956年、ブタ β -メラニン細胞刺激ホルモン (MSH) が Harris ら、また、ほぼ同時に Geschwind らによって構造決定されて以来、ウシ、ヒツジ、ウマ、サル、ヒトの β -MSH が次々に構造決定され、それらの合成研究が発展した。しかしながら、1961年、Dixon Li によって単離、構造決定されたウマ β -MSH だけは未だ合成されぬまま現在に到っている。その構造はブタ β -MSH に類似しているが16位が Arg に置換されている点、他の β -MSH には見られない特徴を有している。

また最近ラクダより2種の β -MSH が単離、構造決定された。いずれもブタ β -MSH に類似であるが、2位が Gly に、そのうち (C₁) は8位も Gln に置換された構造を有している事が明らかになり、これらは Li らにより固相法で合成された。このような動物による β -MSH の構造上の種差は、これら動物の発生学的に興味ある問題を提示するものである。

以上の様な β -MSH に関する研究経過を考慮し、著者はここにウマ β -MSH の全合成を行うと共に、ラクダ β -MSH についても Li らと別箇に液相法による全合成研究を実施した。なお本合成に先立ち、アミノ保護基の導入試薬として各種の p-methoxybenzyl mixed carbonate の開発を行って、ペプチド合成化学に新たな知見を加えた。

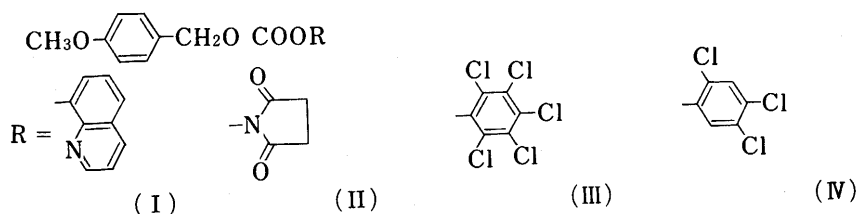
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Asp	○	Gly	Pro	Tyr	Lys	Met	○	His	Phe	Arg	Trp	Gly	Ser	Pro	○	Lys	Asp
							②			⑧					⑩		
ブタ							β -MSH		Glu		Glu				Pro		
ウマ							β -MSH		Glu		Glu				Arg		
ラクダ							β -MSH (C ₁)		Gly		Gln				Pro		
							" (C ₂)		Gly		Glu				Pro		

〈I. p-mthoxybenzyl mixed carbonate の開発〉

近年、含硫アミノ酸 (Met, Cys) を含むペプチドの合成には稀酸で除去されるウレタン型アミノ保護基, 例えば Boc (tert-butoxycarbonyl) 基または Z (OMe) (p-methoxybenzyloxycarbonyl) 基が不可欠である。それは従来, 多用されて来た Z (benzyloxy carbonyl) 基の接触還元による除去が, これらのアミノ酸の存在で妨げられるからである。これらの保護基は主として対応するアジドにアミノ酸を作用させて導入される。しかし, これらの試薬は低温でのみ保存可能であるので, より安定な (室温で), 反応性の高い, しかも合成容易な試薬の開発が望まれる。この要求の為に多くの研究がなされたが, 著者はここに Boc 基よりも合成容易な数種の p-methoxybenzyl mixed carbonate を合成した。

すなわち, 冷却下アニスアルコールにホスゲンを反応させ, 生じた p-methoxybenzyl chloroformate に直接 Et₃N の存在下, フェノール類を加えると, 高収率で p-methoxybenzyl mixed carbonate (I), (II) および (III) が得られた。

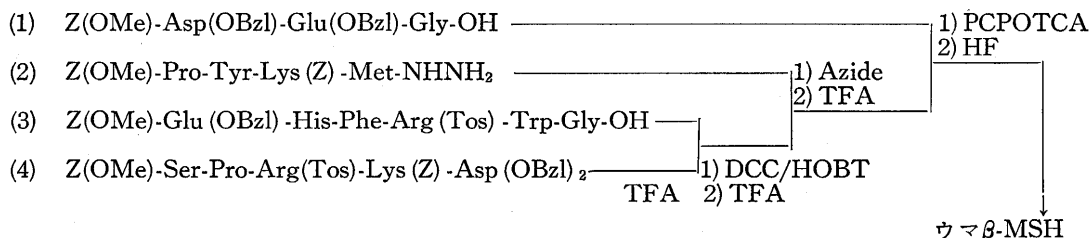
また同様の原理で (IV) を合成した。これらは長時間, 室温での保存が可能である。



ついで, ここに得た各 carbonate のアミノリシスの効率を, アラニンを標準物質として Et₃N または MgO の存在下, 室温48時間反応させる事により比較検討した処, quinolyl carbonate (I) が最も優れた性質を示した。そこで (I) を用いて種々の新しい Z (OMe)-アミノ酸を合成すると共に, 本保護基を主体としたウマおよびラクダ β-MSH の合成を行った。

〈II. ウマ β-MSH の合成〉

合成方針は矢島らのブタ β-MSH とほぼ同じ原理に基づいている。図の如く全体を4ケのフラグメントに分け, 各フラグメントのC端には出来るだけラセミ化の怖れのない Gly または Pro を選び, 各段階で最適な縮合法をあてた。また, Gly, Pro が適当な位置に見当たらない場合は, ラセミ化が最も少いとされるアジド法を利用した。側鎖保護基は最終段階の HF 処理により1度で脱離しうるもの, すなわち Lys に Z基, Asp, Glu には Benzyl (OBzl) 基, Arg に Tosyl (Tos) 基を選んだ。



まず各フラグメントの合成について述べると, (1)および(3)は既知の方法によった。(2)の合成には活性

CG-4B で酢酸塩に変え, Sephadex G-10 で脱塩, CM-Cellulose で精製した。

一方 β_{C2} -MSH はブタ β -MSH の C 端 pentadecapeptide H-Pro-Tyr-Lys(Z)-Met-Glu(OBzl)-His-Phe-Arg(Tos)-Trp-Gly-Ser-Pro-Pro-Lys(Z)-Asp(OBzl)₂ に β_{C1} -MSH で得た tripeptide Z(OMe)-Asp(OBzl)-Gly-Gly-NHNH₂ をアジド法で縮合し, 保護 octadecapeptide を合成した後, β_{C1} -MSH と同様の脱保護, 精製を行った。ラクダ β -MSH 2 種共, TLC, ディスク電気泳動, 濾紙電気泳動, 酸分解およびアミノペプチダーゼ消化後のアミノ酸分析, 元素分析によって各々純度を確認した。

生物活性は C₁, C₂, 各々 in vitro で合成 α -MSH (2×10^{10} MSH U/g) を指標として, その 0.256 倍 (5.13×10^9), 0.056 倍 (1.14×10^9) であった。

以上, 著者はペプチド合成化学上, 重要なウレタン型アミノ保護基の導入試薬 p-methoxybenzyl quinolyl carbonate を開発し, 合成出発原料の安全かつ多量の合成への道を拓いた。さらにこれを利用して, ウマおよびラクダ β -MSH の全合成に成功した。ここに現在構造の知られている哺乳動物の脳下垂体中葉ホルモン β -MSH の全てが合成された事になる。以上は, ペプチド合成化学に基礎的な貢献をなすと共に, 現在 β -リポトロピンと β -MSH との生合成機構が論ぜられている時, 内分泌化学上, 資する処大と考えるものである。

論文審査の結果の要旨

本論文は, ウマ, およびラクダの脳下垂体中葉ホルモンである β 型メラニン細胞刺激ホルモン (β -MSH) の全合成に関するものである。

哺乳動物の脳下垂体中葉には構造を同じくする α -MSH 以外に, 動物によって多少構造を異にする β -MSH が存在し, このうちブタ, ウシ, サル, ヒトの β -MSH はそれぞれ合成された。しかし, 1961 年, Dixon, Li によって構造決定されたウマ β -MSH は未合成のまま今日に到っていた。またラクダ脳下垂体中葉よりの 2 種の β -MSH は 1975 年, Li らによって固相法で合成されたものであるが, 著者は液相法により別途合成した。

以上 3 種の β -MSH を液相法で合成するにあたって, 著者の開発した p-methoxybenzyloxycarbonyl (PMZ) 基の導入試薬が重要な役割を果たした。現在のペプチド合成法において, 含硫アミノ酸を含むペプチドの合成には上記の PMZ 基の様に稀酸で除去出来る α -アミノ保護基が必要であり, 著者は 3 種の新しい p-methoxybenzyl mixed carbonate 試薬を開発したのであるが, このうち p-methoxybenzyl-8-quinolyl carbonate は合成容易な, また室温で保存可能な実用性の高い試薬であることが確められた。

ウマ β -MSH の合成は上記の PMZ 基導入試薬により調製された PMZ-アミノ酸を出発原料とし, これをトリフルオロ酢酸で除去しつつペプチド鎖を延長する方式をとり, 最終的に側鎖官能基の保護基を弗化水素で除去する方法で完成された。またラクダの 2 種の β -MSH はブタ β -MSH に類似した 8 位が Glu と Gln になったオクタデカペプチドであるが, 合成上問題となるのは N 末端部に位置する $\alpha \rightarrow \beta$ 転位しやすい Asp-Gly 残基を確実に導入することである。前記の Li らは此の点に十分の注意をはらっていないが, 著者は亜鉛で除去出来る保護基を持った置換ヒドラジンを利用することによって此の問題点を解決し, 本合成を達成した。

以上の研究は脳下垂体中葉ペプチドホルモンの内分泌化学的研究に貢献するとともに，また著者が新しく開発した α -アミノ保護基の導入試薬は一般のペプチド合成化学に資するところ大なるものがある
と考える。

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。