

氏 名	川 崎 紘 一
	かわ さき こう いち
学 位 の 種 類	薬 学 博 士
学 位 記 番 号	薬 博 第 71 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 45 年 5 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	薬 学 研 究 科 薬 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	ヒトの脳下垂体のメラニン細胞刺激ホルモン (MSH) ならびに関連ペプチドの合成研究

論文調査委員 (主 査)
教 授 上尾庄次郎 教 授 山科郁男 教 授 富田謙吉

論 文 内 容 の 要 旨

動物の脳下垂体中には、メラニン細胞を刺激して皮膚を黒くする作用を持つ2種類のホルモン、すなわち α -および β -メラニン細胞刺激ホルモン (Melanocyte Stimulating Hormone, MSH) が存在する。

このうち α -MSH(I)は動物の種類にかかわらず共通の構造を有しているが、 β -MSHの構造は動物によって多少異り、ヒトのそれは (II) の構造を有している。

α -MSH(I) : Ac-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH₂

β -MSH(II) : H-Ala--Glu-Lys-Lys-Asp-Glu-Gly-Pro-Tyr-Arg-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Ser
-Pro-Pro-Lys-Asp-OH

しかし、なぜこのように同じ作用を持つ2種のホルモンが、同一動物内に存在するのかは明らかでなく、したがって最近これらホルモンの示す種々のMSH外作用が注目されてきた。このような観点から今回著者は、ヒトの脳下垂体中の2つのホルモン、 α -および β -MSHの全合成を実施した。またその間、MSHの拮抗体を検索する見他から、数種の関連ペプチドの合成を行なった。

1. α -MSHの合成

α -MSHは、11位にLysを有するので、この ϵ -アミノ基に対する保護基の選択とその除去法が合成の鍵となる。すでに Boissonnas らはベンジルオキシカルボニル(Z)基を、Schwyzer らは、tert.-ブトキシカルボニル(Boc)基およびフタリル基を利用した本ホルモンの合成を報告した。しかし1960年 Hofmann, 矢島らはホルミル(For)基を採用し α -MSHの合成を試みたが、最終段階で稀塩酸によって本保護基を除去しようとした際、N末端のアセチル(Ac)基の脱離が同時に起り、本保護基を選択的に除去することができなかった。今回著者は N^t-For-Lys のFor基が、ヒドラジン—酢酸以外にピリジン中ヒドロキシルアミン塩酸塩で緩和に除去されることを見出し、この条件を採用して、N^t-For-Lys を利用する α -MSHの合成に成功した。本合成品は、天然ブタ α -MSHとクロマトグラフィーおよび赤外スペクトルによって比較同定された。また本法によって得られた α -MSHは、従来の合成品の文献値にくらべ、非常に高い活性

値 ($2.3-5.4 \times 10^{12}$ MSH U/g) を示した。

2. MSH 関連ペプチドの合成

(i) メラトニン誘導体の合成

松果体に存在するメラトニン (N-アセチル-5-メトキシトリプタミン) は、MSH に対し拮抗作用を示し、蛙の皮膚メラノサイトに対し最も強力な淡色化作用を示すが、その作用はMSH に特異的でなく、カフェインによる黒化にも拮抗する。一方 α -および β -MSH に共通な活性区分、H-His-Phe-Arg-Trp-Gly-OH に含まれる Trp は、生物活性発現上、必要であっても立体特異性に乏しいことが知られており、その役割は興味深い。著者はメラトニンおよび Trp が共にインドール核を持つことに注目し、メラトニンの Ac 基の代りに His-phe-Arg 基を導入した H-His-Phe-Arg-5-メトキシトリプタミンを合成したところ、本品は前記ペンタペプチドに対し1:1の割合で拮抗するが、カフェインによる黒化には拮抗せず、メラトニンとは異った作用を示した。つぎに α -MSH の N端をつけた Ac-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-5-メトキシトリプタミンを合成したが、本品はもはや拮抗作用を示さず、弱いMSH 活性を示した。

(ii) α -MSH立体異性体の合成

矢島、久保はMSHの活性中心の立体異性体、H-D-His-D-Phe-D-Arg-D-Trp-Gly-OHが、対応のL体に対し1:1の割合で拮抗作用を示すことを明らかにした。著者はさらに強い拮抗力を期待して、 α -MSHの合成と同様の方法で Ac-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-D-His-D-Phe-D-Arg-D-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH₂を合成した。しかしこの合成中間体、C端オクタペプチド、H-D-His-D-Phe-D-Arg-D-Trp-Gly-Lys (For)-Pro-Val-NH₂にはなお弱い拮抗作用が見られたが、これ以上N端側にペプチド鎖を延長するともはや拮抗作用はなくなり、本 α -MSH立体異性体は弱いMSH活性 (3×10^5 U/g) を示した。

3. ヒトの β -MSH の合成

ヒトの β -MSH (II) は、サル β -MSH のN端にさらにテトラペプチド、Ala-Glu-Lys-Lys のついたドコサペプチドである。サルの β -MSHはすでに矢島、岡田らによって全合成されたが、著者はその合成中間体のC端ペンタデカペプチド、H-Pro-Tyr-Arg-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Ser-Pro-Pro-Lys(For)-Asp-OH を利用し、これにN端ヘプタペプチド区分、Ala-Glu-Lys-Lys-Asp-Glu-Glyを結合させてドコサペプチドを得る方法を採用した。まずC端ペンタデカペプチドの合成について、一部結合区分および結合方法に検討を加えた。つぎにN端ヘプタペプチドは、Lys の ϵ -アミノ基を Boc 基、Asp, Glu の β -および γ -カルボキシル基を tert.-ブチルエステル (-OBu^t) で保護して合成を進めた。まず H-Lys(Boc)-Lys(Boc)-OMe に Z-Glu(-OBu^t)-OH を p-ニトロフェニルエステル法で導入し、生成品を接触還元後、さらに Boc-Ala-OH を同様の方法で導入して、Boc-Ala-Glu(OBu^t)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-OMe を得た。これに対応のヒドラサイドに導いた後、H-Asp(OBu^t)-Glu(OBu^t)-Gly-OH とアジド法で結合し、ヘプタペプチド Boc-Ala-Glu(OBu^t)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Asp(OBu^t)-Glu(OBu^t)-Gly-OH を得た。本ヘプタペプチドとC端ペンタデカペプチドとをペンタクロロフェニルエステル法で結合させ、Boc および -OBu^t 基をトリフルオロ酢酸で除き、ついで For 基を10%ヒドラジン酢酸で除去した後、目的とするドコサペプチド (II) をカルボキシメチルセルローズのカラムで精製した。合成品は濾紙電気泳動、シンレイヤークロマトで単一の挙動を示し、酸分解によるアミノ酸比は理論値と一致した。本合成品のMSH活

性は $6.2 \times 10^9 \text{U/g}$ であり、これは天然品の活性に匹敵するものである。

以上著者はヒトの脳下垂体中の2種類のMSH、すなわち α -MSHのみならず β -MSHの合成に成功した。特に前者の合成は、 $\text{N}^t\text{-For-Lys}$ を利用し、このFor基をヒドラジン酢酸以外にヒドロキシルアミン塩酸塩によって除去するという新しい方法によったものであり、またヒトの β -MSHは動物中もっとも複雑な構造をもつのである。ここに動物の脳下垂体中に共存する2種のホルモン、特にヒトの β -MSHを合成する道を開いたことは、これらホルモンの内分泌学的意義を解明するのに役立つものと考ええる。

また上記研究途上、著者の行なったMSH拮抗体の検索は、将来強力なペプチドホルモンの拮抗体を合成する上に、資するところ大なるものと考ええる。

論文審査の結果の要旨

本論文はヒト脳下垂体中に含まれる二種のメラニン細胞刺激ホルモン、すなわち α -および β -MSHの全合成に関するものである。

このうち α -MSHはアセチルトリデカペプチドアミドであり、すでに先人によって合成されているが、著者はこの合成法中のアミド結合形成方法に改良を加え、また11位のリジンの側鎖アミノ基の保護にホルミル基を用い、その脱離にヒドラジンアセテートまたはヒドロキシルアミンを用いて高活性度を示すホルモンを全合成した。

またヒトの β -MSHはドコサペプチドであり、現在知られているかぎり、動物中で最も複雑な構造を有する β -MSHであるが、今回著者は構造上関連のあるサル β -MSHの合成中間体を利用し、はじめてヒトのその全合成に成功したもので、これはペプチド合成化学の進歩に貢献するところ大なるものがある。

また著者は、 α -MSH立体異性体、およびメラトニン誘導体の合成を行ない、MSH拮抗体の検索を行なった。現在ペプチドホルモン拮抗体に関する研究がきわめて稀なことを考慮する時、著者の研究は内分泌化学上有意義と認められる。

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。