

從 Hormone 談到 ACTH 的合成

董 一 致

Hormone (激素, 荷爾蒙) 一詞首先由 Bayliss 和 Startling 所介紹, 他們將 hormone 定義為「產生於生體 (body) 某部分細胞, 由血流送至遠離之不同臟器, 而對生物體 (organism) 發揮良好功能的質素 (substance)」。生體中分泌 hormone 的器官 (organ) 叫做無管腺體 (ductless gland) [內分泌腺 (endocrine gland) 或內分泌的腺體 (gland of internal secretion)]。在一世紀前 Addison 描述了腎上腺質激素缺乏症的症狀 (syndrome of adrenal cortical insufficiency) 後, 此等器官的重要性即引起注意。最近數年來化學家們曾由其中提得純粹或高濃度活素 (active principle) 的內分泌腺體計有: 腎上腺皮質 (adrenal cortex), 腎上腺髓質 (adrenal medulla), 腦下垂體前葉 (anterior pituitary), 黃體 (corpus luteum), 十二指腸黏膜 (duodenal mucosa), 胰腺 (pancrea), 甲狀腺 (thyroid), 腦下垂體後葉 (posterior pituitary), 睪丸 (testis) 和卵巢 (ovary)。

Hormone 只要很微量即有效, 它被假設如酵素為生催化劑 (biocatalyst)。hormone 注入生體內即由血液中很快地消失, 同時由尿中僅能收回甚少量。此即表示它們在生物體中被組織 (tissues) 繼續地破壞。

Hormone 由它們的化學組成可分為四類:

(1) 蛋白質 (proteins): 例如胰島素 (insulin), 腦下垂體前葉 hormones, 人類絨毛膜生殖腺刺激素 (human chorionic gonadotropin), 分泌激素 (secretin), 懷孕牝馬血清生殖腺刺激素 (pregnant mare serum gonadotropin, PMSG), 甲狀腺球蛋白 (thyroglobulin)。

(2) 胜 (peptides): 例如腎上腺皮質刺激素 (Corticotropin, ACTH), 血壓激素 (vasopressin), 催產激素 (oxytocin)。

(3) 酚誘導體 (phenol derivatives)：例如腎上腺素 (adrenaline)，正腎上腺素 (noradrenaline) 和甲狀腺素 (thyroxine)。

(4) 固酯 (steroids)：例如求偶素 (estrogens) 男性激素 (androgens)，黃體固酮 (progesterone) 和皮質固酯 (corticoids)。

表一 Hormones 的化學組成，來源和主要作用。

化學組成	Hormones	來源	主要作用
酚誘導體	腎上腺素	腎上腺髓質	刺激自主神經
	正腎上腺素	〃	〃
	甲狀腺素	甲狀腺	加速代謝速率
蛋白質	生長激素 (GH)	腦下垂體前葉	促進生長
	腎上腺皮質刺激素 (ACTH)	〃	刺激腎上腺皮質
	卵泡刺激素 (FSH)	〃	刺激生殖腺
	間質細胞刺激素 (ICSH)	〃	〃
	生乳激素 (LH)	〃	刺激乳腺和維持黃體機能
	甲狀腺刺激素 (TSH)	〃	刺激甲狀腺
	胰島素	胰島	控制醣類的利用
	分泌激素	十二指腸黏膜	刺激胰液流出
	人絨毛膜生殖刺激素	人類胎盤	刺激生殖腺
	懷孕牝馬血清生殖腺刺激素 (PMSG)	懷孕牝馬血清	〃
甲狀腺球蛋白	甲狀腺	加速代謝速率	
胜	腎上腺皮質刺激素 (ACTH)	腦下垂體前葉	刺激腎上腺皮質
	血壓激素	腦下垂體後葉	增高血壓
	催產激素	〃	刺激子宮肌肉
固酯	腎上腺皮質固酯	腎上腺皮質	調節鹽類、蛋白質、醣類、脂肪的代謝
	求偶素	卵巢	發展並維持女性性徵
	男性激素	睪丸	發展並維持男性性徵
	黃體固酮	黃體	繼求偶素增厚子宮內膜後，使此種增生內膜血管分佈增加，黏膜分泌作用旺盛，以便於受精卵子之營養作用 (nidation)

內分泌素有調節各代謝 (metabolism) 的功能。彼此之間，更互相維持均衡，這種事實，以腦下垂體激素和它管制的其他內分泌素間的關係最為明顯。腦下垂體前葉在內分泌系統中最為重要，因為受它管制的內分泌腺體計有：腎上腺皮質，甲狀腺和生殖

腺。腦下垂體分泌的 hormone 叫做刺激素 (tropic hormone, tropin)。這些刺激素的作用是刺激一個特別的靶器官 (target organ)，這種 target organ 通常為內分泌腺體，使其活性 (activity) 因此被加強或觸發。

現知的腦下垂體前葉 hormones 共有六種。這六種 hormones 可分為兩大類，代謝的 (metabolic) 和生殖刺激的 (gonadotropic) hormone。代謝的 hormones 有控制和調節生體代謝的功能。計有：甲狀腺刺激素 (thyrotropic hormone, TSH) 腎上腺皮質刺激素 (adrenocorticotropic hormone, corticotropin, ACTH) 和生長激素 (growth hormone GH)。生殖的刺激素有生乳激素 (lactogenic hormone, prolactin LH)，間質細胞刺激素 (interstitial cell-stimulating hormone, ICSH)。

TSH 刺激甲狀腺 (thyroid) 分泌它的 hormone，甲狀腺素 (thyroxine)；ACTH 刺激腎上腺皮質產生氫化皮質酮 (hydrocortisone) 和其他腎上腺皮質 hormone。

1930 年 Smith 曾對腦下垂體控制腎上腺皮質機能作綜合說明，他在那時候提出在腦下垂體中有腎上腺皮質刺激活性 (adrenocorticotropic activity, ACTH 活性) 的存在。很多研究者，主要的有 Collip, Anselmins, Morris, Bates 和其他都想用分離和純化這種 hormone 以證明這個發現，但都沒有成功。一直到 1942~1943 兩組研究者 (Li, Simpson 和 Evans; Sayens, White 和 Long) 單獨發表由羊和豬的腦下垂體製得高純度的 proteins (蛋白質)。這些 proteins，不雜有其他腦下垂體前葉 hormone，僅能刺激垂體割除的老鼠 (hypophysectomized rat) 的腎上腺皮質，而使腎上腺體的重量增加和組織恢復。由這些報告，則 ACTH 便完全確定。

用較精確的分析技術，在過去數年中化學家們證明 ACTH 為 protein，而且用電泳法 (electrophoresis)，沉澱法 (sedimentation)，擴散法 (diffusion) 和溶解度試驗 (solubility tests) 發現係均勻的。但當用逆流分佈法 (countercurrent distribution) 和色析法 (chromatography) 不能證明為單一的質素。雖然早期研究者用超濾法 (ultrafiltration) 表示 ACTH 活性可能和低分子量的質素有關。但現在已經證明 ACTH 為多肽 (polypeptide)，而且這多肽具有代謝活性。由於 ACTH 製品 (ACTH preparations) 經胃蛋白酶 (pepsin) 消化後並不破壞其激素活性，和用其他蛋白分解酵素 (proteolytic enzyme) 消化後並不消失其腎上腺刺激的功效的事實，即可證明有腎上腺刺激活性腺的存在。

計算腎上腺刺激活性的方法都顯然地得自 ACTH 對正常的或垂體割除的動物直接或間接的效應。直接的效應是主要的。這些效應在還未受到腎上腺皮質固酯的干擾，緊接施以 hormone 而發生的。試驗方法所依據的主要直接效應有：抗血斑酸 (ascorbic acid) 和膽固醇 (cholesterol) 的減少，腎上腺重量的維持，腎上腺營養不良和組織學上的恢復。間接的效應是測定 ACTH 給與之後腎上腺皮質固酯的形成和釋出的結果，這些效應包括，嗜伊紅血球缺乏 (eosinopenia)，淋巴球減少 (lymphopenia)，胸腺 (thymus) 和淋巴結 (lympho nodes) 的退化 (involution) 等等。

ACTH 不但加強腎上腺對於腎上腺皮質固酯的合成，而且刺激腎上腺皮質固酯由腺體消失。它同時加強 C^{14} 標示的醋酸鹽 (酯) 組合 (incorporate) 至腎上腺組織蛋白質，ACTH 於腎上腺對 aldosterone 的釋出沒有有意義的增加。

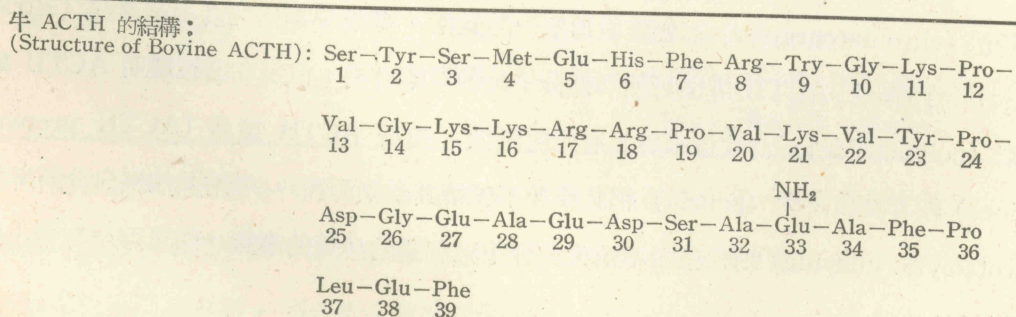
對正常人類給以 ACTH 有下列的效應：

- (1) 氮、磷、鉀三者排出量增加。
- (2) 保留體內 NaCl，間接保留體內水分。
- (3) 增高血糖濃度及耐糖量。
- (4) 使血液內之嗜伊紅血球及淋巴球數目減少，多形核白血球 (polymorphonuclear leukocytes) 增加。

ACTH 和腎上腺皮質固酯間有交互關係，所以外來的皮質固酮 (cortisone) 能抑制 ACTH 的活性。

高純度的 ACTH 和已由豬、羊和牛的腦下垂體分離而得。豬、羊和牛 hormones 的複雜結構式為含有39氨基酸 (amino acid) 的直鏈多肽，這些結構式已經被確認。

表二 (由豬、羊和牛腦下垂體分離之 ACTH 間結構的不同)



種類 (Species)	實驗室 (Laboratory)	氨基酸的位置 (Amino acid Residue in Position)										
		25	26	27	28	29	30	31	32	33		
豬 (Pig)	美國氰胺公司 (American Cyanamid Co.)	Asp	Gly	Ala	Glu	Asp	Glu	Leu	Ala	Glu		
羊 (Sheep)	加州大學 (University of California)	Ala	Gly	Glu	Asp	Asp	Glu	Ala	Ser	Glu	NH ₂	
牛 (Beef)	加州大學 (University of California)	Asp	Gly	Glu	Ala	Glu	Asp	Ser	Ala	Glu	NH ₂	

由三種動物得到的 ACTH 組成上的不同為在 25~33 位置的不同。

從這些實驗記錄 (data) 可以看出 ACTH COOH 一端 25~39 位置的連系 (sequence) 可能和 ACTH 無關。在最近 1940~1950 十年間，大家都提議 ACTH 活性部分為較小的胜 (peptide)，由於 ACTH 用胃蛋白酶消化後沒有破壞其活性，並經一些實驗事實表示 ACTH 的生物功效是全胜分子的最先24氨基酸的部分。因此大家認為對 ACTH 活性有關的最小結構，可由用化學方法合成含有 ACTH 活性的胜來加以確定。

最近有三單位曾提出合成腎上腺皮質刺激活性的多胜的報告。第一單位為在加州大學 (UC) 李卓皓博士 (Cho Hao Li 中國人) 領導的一羣研究者。李卓皓博士對天然 ACTH 的研究有很大的貢獻。他們合成一種生物活性的十九胜(nonadecapeptide)L-ser-L-tyr-L-ser-L-met-L-glu-L-his-L-phe-L-arg-L-try-gly-L-lys-L-pro-L-val-gly-L-lys-L-arg-L-arg-L-proline，此為 ACTH 前19氨基酸相同的氨基酸連系。這種產物含有 ACTH 活性 29~31 i. u./mg 約為天然產物的三分之一至五分之一的功效。同時對青蛙的黑蛋白刺激活性 (melanotropic activity) 和天然 hormone 可相比照。

九胜 (nonapeptide) (I) (請參閱圖 1) 被催化加氫然後用氯甲酸異丁酯 (isobutyl chloroformate) 的混合酞過程 (mixed anhydride procedure) 和六胜 (hexapeptide) (II) 作用產生保護的十五胜 (protected pentadecapeptide) (III)。這產物經 242 次更換於甲苯-氯仿-一甲醇-水 (5:5:8:2 依體積) 體系 (system) 的逆流分佈法純化。從分佈係數 0.34 的主要最高點 (main peak) 分離得保護的十五胜 (III)，經元素分析，證明其為分佈純粹的質素。此保護的十五胜 (III) 經加氫再和 (IV) 的疊氮化物 (azide) 作用，則產生保護的十九胜 (protected nonadecapeptide)，經過用由甲酸-乙酸乙酯沉澱法純化，最後再用鈉-液氫處理以除去保護基，此粗製十九胜經去鹽 (desalted) 然

後再於二種溶劑體系 (solvent system) 用逆流分佈法純化，圖 1 中表示十九勝製造過程的摘要。

圖 1. 十九勝製造過程摘要

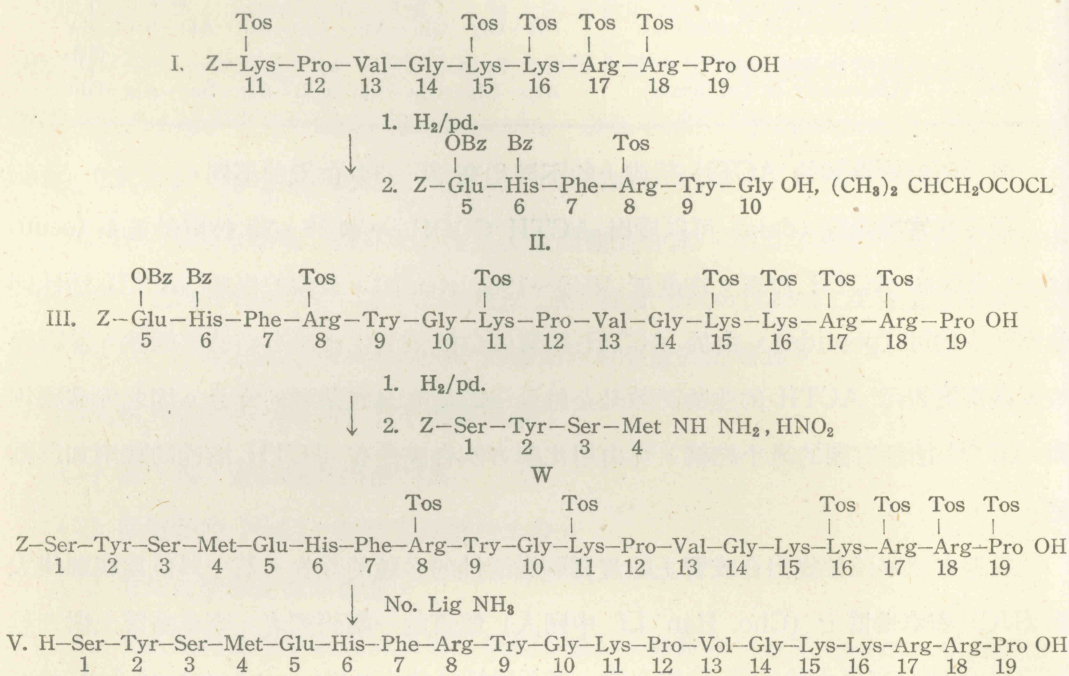


Fig 1- Outline of the synthesis of L-seryl-L-tyrosyl-L-seryl-L-methionyl-L-glutamyl-L-histidyl-L-phenylalanyl-L-arginyl-L-tryptophyl-glycyl-L-lysyl-L-prolyl-L-Valyl-glycyl-L-lysyl-L-lysyl-L-arginyl-L-arginyl-L-proline. Z, Carbobenzyloxy; Bz, benzyl; Tos, p-toluene-sulphonyl.

用麩氨酸胺 (glutamine) 代替第五部位的麩氨酸 (glutamic acid) 以合成十九勝，已由 Basel 的 Ciba 實驗室研究者們提出報告，他們報告稱 β^{1-19} -corticotropin-glu 5-*r*-amide 有 ACTH 活性達 20~30 i. u./mg.

匹茨堡大學 (University of Pittsburgh) 的 Dr. Klaus Hofmann 領導下的生物化學家們發表，他們曾聯結 23 天然氨基酸製成二十三勝醯胺 (tricosapeptide amide) (VI) (圖 2) 同時發現這種化合物在體內有 ACTH 活性。最高度純粹合成 hormone 誘導體對抗血斑酸減少和血漿腎上腺皮質固酮 (plasma corticosterone) 增高的活性都有 103 ± 10.4 i. u./mg. 此產物生物活性大約和天然來源製得的均勻 ACTH 有同次的大小。這種結果表示含有和 ACTH 連系氨基端的 23 氨基酸連系相同的合成勝有全部 ACTH 活性。

