

機関番号 : 23201

研究種目 : 基盤研究 (C)

研究期間 : 2008~2010

課題番号 : 20590106

研究課題名 (和文) DNA ポリメラーゼ阻害活性を有するカテキン類の合成と構造活性相関

研究課題名 (英文) Synthesis and structure-activity relationship of catechin derivatives having DNA polymerase inhibitory activity

研究代表者

中島 範行 (NAKAJIMA NORIYUKI)

富山県立大学・工学部・教授

研究者番号 : 40188959

研究成果の概要 (和文) : DNA ポリメラーゼ阻害活性を有するカテキン類として、3-アシルカテキンおよび 3-アシルエピカテキン誘導体とプロシアニジンオリゴマーの純粋品を化学合成し、種々の生理活性を探索するとともに、その DNA ポリメラーゼ阻害活性と構造-活性相関を検討した。化学合成においては、従来カテキン誘導体の合成に使用されていたベンジル保護基ではなく、シリル型保護基を用いることによって、実験室においても数十グラムスケールでの大量合成を可能とした。3-アシルカテキン類においては、3-アシルエピカテキン類よりも 3-アシルカテキン類の活性が高く、脂肪酸鎖長が長くなるにつれて DNA ポリメラーゼ阻害活性が向上する傾向が見られた。また、同一鎖長においては、飽和よりも不飽和度の高い不飽和脂肪酸に高い活性が見られた。次に、カテキンとエピカテキンの組み合わせからなる 4 量体と 5 量体のオリゴマーを合成し、DNA ポリメラーゼ阻害活性を行った。単量体や二量体に比べ、オリゴマーが長い四量体や五量体になるにつれて DNA ポリメラーゼ阻害活性が向上することを確認した。さらにカテキンの代謝産物に興味を抱き、腸内細菌の代謝産物の一つである γ -ブチロラクトン類の合成を行なった。現在、その DNA ポリメラーゼ阻害活性をカテキン類と比較検討中である。

研究成果の概要 (英文) : 3-Acylcatechins and 3-acylepicatechins having TBS-protecting group were chemically synthesized and their DNA polymerase inhibitory activity and the structure-activity relationship was studied. We also developed a simple and versatile method of synthesizing procyanidin oligomers. This method is applicable to the synthesis of [4-8]-condensed (-)-epicatechin series procyanidin tetramers and pentamers. Catechin and epi-catechin conjugated with longer fatty acid (acyl-catechin) strongly inhibited DNA polymerase activity. Procyanidin tetramers and pentamers also inhibited the DNA polymerase much higher than monomeric and dimeric oligomers. Catechins and epicatechins afford many metabolites including through metabolic pathways in the human body. We interested in the activity of catechin metabolites and synthesized these γ -butyrolactones metabolites as the optically pure authentic standards. The study of DNA polymerase inhibitory activity of γ -butyrolactones is on going project.

交付決定額

(金額単位 : 円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2009 年度	600,000	180,000	780,000
2010 年度	600,000	180,000	780,000
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野 : 医歯薬学

科研費の分科・細目 : 薬学・化学系薬学

キーワード：カテキン類、プロシアニジン類、3-アシルカテキン、3-アシルエピカテキン、 γ -butyrolactone

1. 研究開始当初の背景

(1)カテキン、エピカテキンなどのフラバン-3-オールやそのガロイル基をはじめとするエステル体は、多くの食品（ワインやカカオ、穀物、ぶどうやりんごなどの果物類等）に含まれ、日常的に我々は摂取している。これらは、強力な抗酸化活性を有するポリフェノール化合物であるが、その機能性については不明な点が多かった。近年の精力的な研究により、強力な抗酸化活性、抗変異原性、抗がん性、血圧上昇抑制作用、抗菌・抗ウイルス作用、消臭作用、動脈硬化抑制活性等、さまざまな有用な生物活性を有することが明らかとされ、生理活性に興味を持たれてきた。

(2)カテキン類は、重合によりその有用生理活性が向上し、さらに単量体にはない新しい有用生理活性が生じることも知られてはいるが、重合体であるプロシアニジン類は様々な異性体や修飾化合物の混合物として存在し、植物種によってその種類や重合度、含有率が異なるため、天然資源からの粗抽出物あるいは混合物を用いて活性評価が行われており、純粋品での系統的な評価が待たれていた。

2. 研究の目的

本研究では、化学合成によって純粋な評品を合成・供給し、活性の探索を行うことを目的にした。特に、DNA ポリメラーゼ阻害活性を指標にした評価と最適化を行うことにより、さらなる高機能化を図り、未知の部分が多いDNA ポリメラーゼの機能解明につなげ、さらにながんに対する薬剤としての応用を目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

現在までの研究からDNA ポリメラーゼ活性を有するカテキン化合物として、(1)3-アシルカテキン誘導体、(2)プロシアニジン類、(3)カテキン代謝物の3種の誘導体をターゲットとして設定し、これらの純粋な評品を化学合成により供給することにより活性を評価するとともに、その構造活性相関を検討した。なお、活性評価は神戸学院大学水品善之准教授と共同研究の一環として行った。

4. 研究成果

本研究においては、以下(1)から(3)の研究成果を得ており、研究成果1については論文2、6に、研究成果2は、論文3と4に、研究成果3は、論文1と5にまとめた。

(1)3-アシルカテキン誘導体の合成と活性評価

t-butyldimethylsilyl (TBS) 基を保護基として用いたカテキン誘導体の合成を検討し、3位に飽和ならびに不飽和脂肪酸を有する3-アシルカテキンおよびエピカテキン誘導体(24種)をグラムスケールで合成することに成功した。これらのアポトーシス誘導活性やDNAポリメラーゼ阻害活性を評価した。3-アシルカテキン類においては、脂肪酸鎖長が長くなるにつれてDNAポリメラーゼ阻害活性が向上する傾向が見られ、C18の同一鎖長においては、飽和よりも不飽和度の高い不飽和脂肪酸に高い活性が見られた。また、3-アシルカテキンに比べ、対応する3-アシルカテキンのDNAポリメラーゼ阻害活性が高い傾向が見られた。現在、活性の強かった「カテキン+ステアリン酸(C-C18:0)」および「カテキン+ α -リノレン酸(C-C18:3)」を用いたDNAポリメラーゼ阻害剤の抗ガン作用について放射線との併用効果の検討を始めている。

(2) プロシアニジン類の化学合成と活性評価

①カテキンとエピカテキンの組み合わせからなるオリゴマーのうち、4量体と5量体の合成を行い、そのDNAポリメラーゼ阻害活性の検討を行った。合わせて、カテキンとエピカテキンの組み合わせからなるオリゴマーのラジカル消去能ならびにメイラード反応阻害活性評価を行った。

②現在の合成では、ベンジル基をフェノール性水酸基の保護基として用いる場合が一般的であるが、大量にプロシアニジン類の化学合成を行う場合、保護や脱保護に問題点を残していた。そこで本研究では、3-アシルカテキン誘導体の合成と同様に、TBS基を保護基として用いる合成法の開発を検討した。実験室においてもカテキンとエピカテキンの組み合わせからなる4種の二量体合成に数十グラムスケールで成功し、プロシアニジン類の化学合成による大量供給への可能性を示すことができた。

(3) カテキン代謝物の合成

カテキン類は、腸内細菌等で代謝されることにより γ -butyrolactone類が生成することが報告されている。そこで、鏡像体を含めたカテキン代謝物の合成を計画し、光学活性benzyl glycidyl etherを出発物質として、ラクトン代謝物(8種)をそれぞれ合成した。合成品と代謝品との比旋光度を比較した

結果、エピカテキン類から代謝されたラクトン化合物は R 体であると決定した。このことは、エピカテキン類の A 環および B 環部分が加水分解や脂肪酸と同様な代謝を受けてラクトン代謝物へと変換される経路を示唆するものであった。しかし、代謝品が合成品の約半分程度の比旋光度しか有さないことは、代謝経路中に何らかのラセミ化経路の存在することを示すものとして注目される。現在、合成した γ -butyrolactone 類の種々の生理活性を代謝される以前のカテキン類と比較しながら検討中である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

- ①. Ahmed, K.; Wei, Z.-L.; Nakajima, N.; Matsunaga T.; Ogasawara, M.; Kondo, T. Role of fatty acid chain length on the induction of apoptosis by newly synthesized catechin derivatives, *Chemico-Biological Interactions*, 査読有, **2010**, 185, 182-188.
 - ②. Hamada, M.; Furuno, A.; Nakano, S.; Kishimoto, T.; Nakajima, N. Synthesis of Optically Pure Lactone-Metabolites Derived from Tea Catechins, *Synthesis*, 査読有, **2010**, 1512-1520.
 - ③. Saito, A. and Nakajima, N. Structure-Activity Relationships of Synthesized Procyanidin, Oligomers: DPPH Radical Scavenging Activity and Maillard Reaction Inhibitory Activity, *Heterocycles*, 査読有, **2010**, 80, 1081-1090.
 - ④. Saito, A.; Tanaka, A.; Mizushima, Y.; Nakajima, N. Versatile synthesis of epicatechin series procyanidin oligomers, and their antioxidant and DNA polymerase inhibitory activity, *Tetrahedron*, 査読有, **2009**, 65, 7422-7428.
 - ⑤. Mitsuhashi, S.; Saito, A.; Nakajima, N.; Shima, H.; Ubukata, M. Pyrogallol structure in polyphenol is involved in apoptosis-induction on HEK293T and K562 cells, *Molecules*, 査読有, **2008**, 13, 2998-3006.
 - ⑥. Nakano, S.; Hamada, M.; Kishimoto, T.; Nakajima, N. Synthetic of γ -valerolactones as the tea catechin metabolites, *Heterocycles*, 査読有, **2008**, 76, 1001-1005.
- [学会発表] (計 16 件)
- ①. Keiko Horikawa, Noriyuki Nakajima, An efficient synthesis of procyanidin dimers using silyl-protecting group, *Pacificchem 2010*, 2010.12 (Hawaii).
 - ②. 中島範行、シリル型保護基を用いたカテキン化合物の合成、第 8 回北陸若手化学者談話会、2010.8 (加賀)。
 - ③. 濱田昌弘、古野愛、岸本崇生、中島範行、茶ポリフェノール代謝物の立体選択的合成と光学純度の決定、日本農芸化学会 2010 年度大会、2010.3 (東京)。
 - ④. 中島範行、シリル型保護基を用いたカテキン化合物の合成、第 8 回北陸若手化学者談話会、2010.8 (加賀)。
 - ⑤. Masahiro Hamada, Ai Furuno, Takao Kishimoto, Noriyuki Nakajima, Synthesis and analysis of γ -valerolactones as the tea catechin metabolites, *The Twenty First French-Japanese Symposium on Medicinal and Fine Chemistry (FJS2010)*, 2010.5 (Kyoto).
 - ⑥. 濱田昌弘、岸本崇生、中島範行、茶カテキン光学活性ラクトン代謝物の立体的合成と光学純度の決定、石川・富山県立大学合同シンポ in 芦原、2009.12 (福井)。
 - ⑦. 中島範行、カテキンオリゴマーや誘導体の合成と活性、石川・富山県立大学合同シンポ in 芦原、2009.12 (福井)。
 - ⑧. 濱田昌弘、古野愛、中野荘介、岸本崇生、中島範行、茶カテキン光学活性ラクトン代謝物の効率的合成、日本複素環化学討論会、2009.10 (柏)。
 - ⑨. 古野愛、中野荘介、濱田昌弘、岸本崇生、中島範行、茶カテキンの光学活性ラクトン代謝物の立体選択的合成の効率化、有機合成北陸セミナー、2009.10 (富山)。
 - ⑩. 堀川桂子、濱田昌弘、岸本崇生、中島範行、シリル基を保護基として用いたカテ

キン誘導体の合成 2、有機合成北陸セミナー、2009.10（富山）。

- ⑪. 中島範行、シリル保護基を利用したカテキン誘導体の合成、第6回日本カテキン学会、2009.9（名古屋）。
- ⑫. 中島範行、茶カテキン代謝物としてのγ-バレノラク톤の合成、北陸化学者談話会 2009、2009.8（福井）。
- ⑬. 濱田昌弘、中野荘介、古野愛、岸本崇生、中島範行、光学活性茶ポリフェノール代謝物の立体選択的合成、日本薬学会大会、2009.3（京都）。
- ⑭. 堀川桂子、竹川政範、濱田昌弘、岸本崇生、中島範行、*t*-Butyldimethylsilyl（TBS）基を保護基として用いたカテキン誘導体の合成、日本農芸化学会 2009 年度大会、2009.3（福岡）。
- ⑮. 中島範行、柿や茶などのポリフェノールとその活用、射水ネットカフェコンソーシアム、2009.1.31（富山県立大学）。
- ⑯. 濱田昌弘、中野荘介、岸本崇生、中島範行、茶カテキン類ラク톤代謝物の立体選択的合成、創薬懇話会 2008、2008.12（徳島）。

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

- 出願状況（計 0 件）
- 取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

http://www.pu-toyama.ac.jp/BR/nakajima/bfc/bfc_index.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中島 範行 (NAKAJIMA NORIYUKI)

富山県立大学・工学部・教授

研究者番号：40188959