

令和 3 年 5 月 13 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06588

研究課題名(和文) カテキン三量体を創薬シードとした新規アルツハイマー病治療薬の開発

研究課題名(英文) Catechin derivatives useful for the treatment of Alzheimer's disease

研究代表者

福原 潔 (Fukuhara, Kiyoshi)

昭和大学・薬学部・教授

研究者番号：70189968

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：天然カテキンとその重合体はアルツハイマー病の発症原因となるアミロイドの凝集と酸化ストレスを抑制する。そこで、本研究ではさらに強力な活性を有する化合物の開発を目的としてこれらの化合物の構造修飾を行なった。カテキンおよびフィセチンにメチル基を導入したところ抗酸化活性が飛躍的に増加した。また、カテキン二量体の立体構造を平面に固定化したところ、抗酸化活性とアミロイドの凝集阻害作用が増加し、神経細胞毒性を強力に抑制した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

認知症の原因の約7割を占め、40代から60代の若年性の患者も急増しているアルツハイマー病は、未だ有効な治療法が確立されていない。市販されている医薬品はダメージを受けた神経を賦活化させる作用はあるが、発症を抑えることはできない。研究で設計・合成した化合物は安全性の高い天然カテキンの誘導体であり、アルツハイマー病発症の初期の段階に作用して神経毒性を抑制することから、根本的な予防・治療薬の開発につながる。

研究成果の概要(英文)：Natural catechins and their polymeric compounds inhibit amyloid-aggregation and oxidative stress, which are the causes of Alzheimer's disease. In this study, we modified the structures of these compounds in order to develop more potent compounds. When methyl groups were introduced into catechin and fisetin, the antioxidant activity increased dramatically. When the geometry of one or both catechin molecules in catechin dimer were constrained to be planar, potent neuroprotective effects against amyloid-induced cytotoxicity as well as strong antioxidative activities were observed.

研究分野：創薬化学

キーワード：アルツハイマー病 アミロイド カテキン プロシアニジン

1. 研究開始当初の背景

認知症の原因の約7割を占め、40代から60代の若年性の患者も急増しているアルツハイマー病は、未だ有効な治療法が確立されておらず、根本的な治療薬と予防薬の開発は喫緊の課題である。治療薬の開発を困難にしていたのは、発症メカニズムの解明が遅れていたことによる。しかし、2002年にアミロイド(A β)のオリゴマーへの凝集が神経細胞の死や脳の萎縮をもたらす「A β オリゴマー仮説」が提唱されて以来、A β を創薬標的とした研究が積極的に展開されるようになった。2003年にはカテキンなどの天然ポリフェノールがA β のオリゴマーへの凝集を阻害することが明らかとなった。その後、アルツハイマー病治療薬を目指して様々な天然ポリフェノールとその誘導体に関する研究が報告されたが、臨床で有効な根本的治療薬は未だ開発されていない。

2. 研究の目的

A β の凝集を伴う神経細胞毒性を創薬標的とした新規アルツハイマー病の予防・治療薬の開発を目的として、A β からのアミロイド繊維の生成抑制作用と活性酸素消去作用を有する化合物の開発を行う。本研究では天然ポリフェノールがA β のオリゴマーへの凝集阻害作用を有することに着目し、活性増強を目的とした天然カテキンの構造修飾を行う。また、カテキンは重合化することで抗酸化活性とA β 凝集阻害活性が増強することから、構造修飾を行ったカテキンを構成単位とした重合体を合成し、A β による神経細胞毒性作用に対するこれらの化合物の抑制作用を明らかにする。

3. 研究の方法

(1)化合物の合成：カテキンおよびフィセチンのメチル誘導体、立体構造を固定化したカテキンの二量体を合成した。

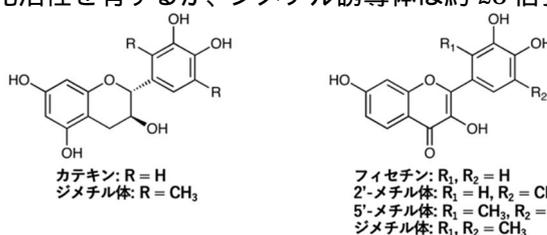
(2)抗酸化活性：活性酸素のモデルラジカルであるガルビノキシルラジカルを用いてラジカル消去反応の速度論的解析を行ない、化合物の抗酸化活性を明らかにした。

(3)A β 凝集阻害作用：チオフラビンT法を用いて、A β ₁₋₄₂の凝集反応に対する化合物の阻害効果を明らかにした。

(4)神経細胞毒性抑制作用：ヒト神経芽腫細胞SHSY-5YへのA β ₁₋₄₂の毒性に対する化合物の抑制作用を明らかにした。

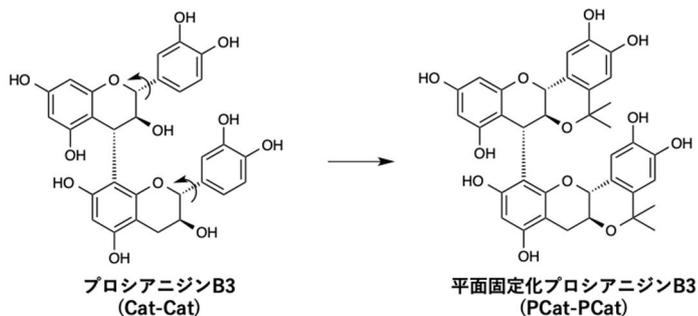
4. 研究成果

(1)A β からのアミロイド繊維への凝集過程で発生する活性酸素が神経細胞毒性を引き起こす。そこでA β 凝集阻害作用を有するカテキンやフィセチンの抗酸化活性の増強を目的として、メチル基を導入した化合物の設計・合成を行なった。カテキンのジメチル誘導体はカテコールにBetti反応によりメチル基を導入し、さらにホルミル化を経て桂皮酸誘導体を合成した。フロログルシノール誘導体とアルドール縮合反応を行ってカルコン構造に変換後、酸化的環化反応によってカテキン骨格へと導き、さらに脱保護によってジメチルカテキンを合成した。フィセチンのジメチル誘導体も同様の方法でカテコールのジメチル誘導体から、カルコン誘導体へと導いた後、Alger-Flynn-Oyamada反応によって環化し、脱保護によって合成した。モノメチルフィセチンはメチルカテコールから同様の方法で合成を行なった。これらの化合物の抗酸化活性は、ガルビノキシルラジカルに対するラジカル消去反応の速度論的解析を行うことで検討した。その結果、平面型カテキンはカテキンの約5倍の抗酸化活性を有するが、ジメチル誘導体は約28倍強力な活性を示した。さらにフィセチンはジメチル化によって約21倍、モノメチル化によって約220倍の非常に強力な抗酸化活性を示すことがわかった。モノメチルフィセチンの抗酸化活性が飛躍的に増強したのは、分子の平面性がメチル基の導入によっても影響を受けないためと考えられる。



(2)近年、カテキン(Cat)の重合体であるプロシアニジンにA β 凝集阻害があることが報告された。そこでカテキンの立体構造を平面に固定化するとラジカル消去活性が増強することから、低分子プロシアニジンであるカテキン二量体(プロシアニジンB3)の一方または両方のカテキン構造を平面に固定化した化合物(PCat)を設計・合成した。一方のカテキンを平面に固定化した誘導体(Cat-PCat)は4位に脱離基を導入したカテキンに平面型カテキンを縮合させて合成した。また、両方のカテキンを平面に固定化した誘導体(PCat-PCat)はフェノール性水酸基を保護したプロシアニジンB3(Cat-Cat)にルイス酸存在下、アセトンを反応させて合成した。抗酸化作用を解析したところ、カテキンと比べてプロシアニジンB3(Cat-Cat)は約3.8倍の抗酸化活性を示したが、Cat-PCatは、さらにCat-Catの1.9倍強力な抗酸化活性を示した。また、PCat-PCatはCat-PCatと比べて1.5倍、カテキンと比べて約11倍の強力な抗酸化活性を示した。抗

酸化活性の強さは、化合物のイオン化ポテンシャルと相関したことから、Cat-Cat の立体構造を平面に固定化することで還元力が増強し、強力な抗酸化作用を示したと考えられる。次に A の凝集阻害作用と神経細胞毒性に対する抑制効果を検討した。アミロイド前駆体タンパク質からセクレターゼによって切り出された A は容易に凝集し、多量体を経てアミロイド繊維を形成するが、凝集過程で生成するオリゴマーが主に神経毒性を示すと考えられている。そこで A の凝集に対する各化合物の阻害作用を検討したところ、全ての二量体はカテキンと比べて A の凝集を強力に阻害した。二量体は立体を平面に固定化すると凝集阻害作用がさらに増強し、PCat-PCat が最も強力に A の凝集を阻害した。また、これらの化合物は A による神経細胞毒性を有意に抑制し、特に PCat-PCat は強力な抑制作用を示した。以上の結果より、カテキン二量体であるプロシアニジン B3 の立体構造を平面に固定化すると、A の凝集を阻害して神経細胞毒性を抑制することが明らかとなった。これらの化合物は抗酸化作用も大きく増強していることから、アルツハイマー病患者の脳内で発生する A 由来の酸化ストレスを強く抑制することが期待される。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 I. Nakanishi, Y. Shoji, K. Ohkubo, K. Fukuhara, T. Ozawa, K. Matsumoto, S. Fukuzumi	4. 巻 68
2. 論文標題 Effects of reaction environments on radical-scavenging mechanisms of ascorbic acid	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Clin. Biochem. Nutr.	6. 最初と最後の頁 116-122
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3164/jcbrn.20-147	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 N. Sawada, T. Obama, M. Mizuno, K. Fukuhara, S. Iwamoto, T. Aiuchi, T. Makiyama, H. Itabe	4. 巻 9
2. 論文標題 Transfer and enzyme-mediated metabolism of oxidized phosphatidylcholine and lysophosphatidylcholine between low- and high-density lipoproteins	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Antioxidants	6. 最初と最後の頁 1045-1052
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/antiox9111045	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 M. Mizuno, M. K. Mori, K. Tsuchiya, T. Takaki, T. Misawa, Y. Demizu, M. Shibamura, K. Fukuhara	4. 巻 5
2. 論文標題 Design, synthesis, and biological activity of conformationally restricted analogues of silibinin	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 23164-23174
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsomega.0c02936	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 I. Nakanishi, K. Ohkubo, Y. Shoji, Y. Fujita, K. Shimoda, K. Matsumoto, K. Fukuhara, H. Hamda	4. 巻 54
2. 論文標題 Relationship between the radical-scavenging activity of flavonols and thermodynamic parameters calculated by density functional theory	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Free Rad. Res.	6. 最初と最後の頁 535-539
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/10715762.2020.1813887	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 M. Mizuno, K. Mori, T. Misawa, T. Takaki, Y. Demizu, M. Shibamura, K. Fukuhara	4. 巻 29
2. 論文標題 Inhibition of β -amyloid induced neurotoxicity by planar analogues of procyanidin B3	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioorg. Med. Chem. Lett.	6. 最初と最後の頁 30494-30499
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2019.07.038	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 K. Tsuchiya, T. Umeno, G. Tsuji, H. Yokoo, M. Tanaka, K. Fukuhara, Y. Demizu, T. Misawa	4. 巻 68
2. 論文標題 Development of photoswitchable estrogen receptor ligands	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chem. Pharm. Bull.	6. 最初と最後の頁 398-402
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/cpb.c19-01108	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 1.K. Imai, I. Nakanishi, K. Ohkubo, A. Ohno, M. Mizuno, S. Fukuzumi, K. Matsumoto, K. Fukuhara	4. 巻 27
2. 論文標題 Synthesis and radical-scavenging activity of C-methylated fisetin analogues	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioorg. Med. Chem.	6. 最初と最後の頁 1720-1727
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2019.02.033	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 2.E. Nakano, D. Kamei, R. Murase, I. Taki, K. Karasawa, K. Fukuhara, S. Iwai	4. 巻 845
2. 論文標題 Anti-inflammatory effects of new catechin derivatives in a hapten-induced mouse contact dermatitis model	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Journal of Pharmacology	6. 最初と最後の頁 40-47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejphar.2018.12.036	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 3.E. Sekine-Suzuki, I. Nakanishi, K. Imai, M. Ueno, T. Shimokawa, K. Matsumoto, K. Fukuhara	4. 巻 8
2. 論文標題 Efficient protective activity of a planar catechin analogue against radiation-induced apoptosis in rat thymocytes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 RSC Adv.	6. 最初と最後の頁 10158-10162
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c7ra13111a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 福原潔, 中西郁夫, 大久保敬, 今井耕平, 水野美麗, 松本健一郎, 大野彰子
2. 発表標題 C-メチルフィセチンのラジカル消去作用
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水野美麗, 森一憲, 土屋主輔, 高木孝士, 三澤隆史, 出水庸介, 柴沼質子, 福原潔
2. 発表標題 シリビニンの高機能化を目指した創薬研究
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水野美麗, 森一憲, 柴沼質子, 福原潔
2. 発表標題 分子内環固定によるシリビニンの高機能化
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 福原 潔, 今井耕平, 中西郁夫, 大久保敬, 大野彰子, 水野美麗, 福住俊一, 松本謙一郎
2. 発表標題 C-メチルフィセチンのラジカル消去活性
3. 学会等名 第72回日本酸化ストレス学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 M. Mizuno, K. Mori, M. Shibamura, K. Fukuhara
2. 発表標題 Synthesis of silibinin analogues targeting amyloid
3. 学会等名 258th ACS National Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 K. Fukuhara, K. Imai, I. Nakanishi, K. Matsumoto, A. Ohno
2. 発表標題 Planar catechin conjugated with DTPA as a promising antioxidant triggered by Fe ³⁺ coordination
3. 学会等名 258th ACS National Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福原 潔, 今井耕平, 中西郁夫, 松本謙一郎, 大野彰子
2. 発表標題 鉄錯体形成をトリガーとした新規抗酸化物質の開発
3. 学会等名 第43回鉄バイオサイエンス学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水野美麗, 森一憲, 三澤隆史, 高木孝士, 出水庸介, 柴沼質子, 福原潔
2. 発表標題 アミロイド を創薬標的としたシリピニン誘導体の開発
3. 学会等名 第37回メディシナルケミストリーシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 M. Mizuno, K. Mori, I. Nakanishi, K. Matsumoto, M. Shibamura, K. Fukuhara
2. 発表標題 Design and synthesis of proanthocyanidin derivatives as an inhibitor of amyloid aggregation
3. 学会等名 256th ACS National Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 K. Fukuhara, T. Arai, A. Ohno, K. Mori, M. Shibamura, N. Miyata, H. Nakagawa
2. 発表標題 Potential lead compounds for the treatment of Alzheimer's disease: a peptide that blocks amyloid beta induced neurotoxicity
3. 学会等名 256th ACS National Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 水野美麗, 森一憲, 柴沼質子, 福原 潔
2. 発表標題 アミロイド を創薬標的としたプロアントシアニジン誘導体の開発
3. 学会等名 第36回メディシナルケミストリーシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 福原 潔, 今井耕平, 中西郁夫, 松本謙一郎, 大野彰子
2. 発表標題 金属錯体形成をトリガーとした新規抗酸化物質の開発
3. 学会等名 第36回メディシナルケミストリーシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 福原 潔, 荒井卓也, 大野彰子, 森一憲, 柴沼質子, 宮田直樹, 中川秀彦
2. 発表標題 アミロイド のC末端モチーフを有するアルツハイマー病予防・治療薬の開発
3. 学会等名 第37回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 水野美麗, 森 一憲, 柴沼質子, 福原 潔
2. 発表標題 アミロイド 凝集と神経細胞毒性を抑制するプロアントシアニジン誘導体の開発
3. 学会等名 第37回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	水野 美麗 (Mizuno Mirei) (60766195)	昭和大学・薬学部・助教 (32622)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	大野 彰子 (Ohno Akiko) (70356236)	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・主任研究官 (82601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関