

## プロアントシアニジン類の化学合成と生理活性

(富山県立大・生物工学研究センター) 中島範行

プロアントシアニジン類は、お茶やカカオ、大豆や小麦などの穀物、ぶどうやりんご、柿などの果物類、さらには、杉などの樹木の樹皮などにも含まれ、一般にはポリフェノール化合物として良く知られている。名前の由来は、その炭素-炭素結合の開裂により、赤色系の色素・アントシアニジンを生じる化合物であると定義されており、構造は、カテキン (1) やエピカテキン (2) に代表されるフラバン-3-オールが重合した構造を基本骨格とし、様々な修飾や変換を受けて多岐にわたっている。

プロアントシアニジン類の抗酸化活性は特に有名であるが、それ意外にも、抗腫瘍活性、動脈硬化抑制活性、発ガン抑制作用、さらには育毛活性や美白効果など様々な生物活性を持つことが確認されてきた<sup>1)</sup>。現在までに様々なプロアントシアニジン類が単離され、その構造が明かにされてきている。植物体内では、異性体やガロイル基・糖などによる修飾を受けた多数の化合物からなる混合物として存在し、オリゴマーの構成単位やそれぞれの含有率は植物種によって異なっている。このため、植物からの分離・精製あるいは化学合成によっても、多くのサンプルを同時に入手する事は極めて難しい。そこで我々は、Fig. 1 に示す 4-8 結合型プロシアニジンオリゴマーを取り上げ、系統的な構造-活性相関研究を行う事を目的として、立体選択的なオリゴマーや修飾化合物の効率的な合成法の開発を進めてきた。本講演では、4-8 結合型プロシアニジンオリゴマーの合成研究と生物活性試験の結果について紹介する。

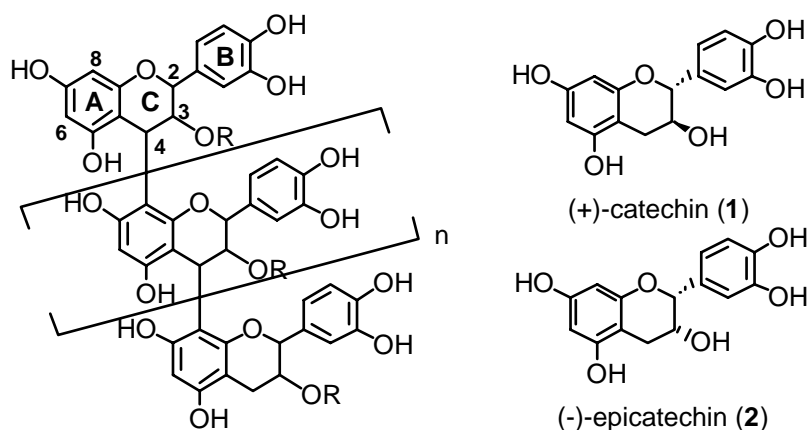


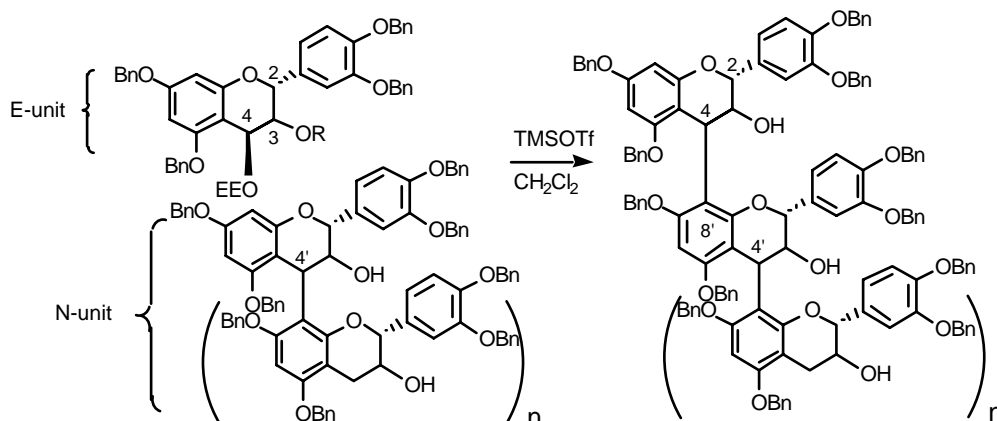
Fig. 1 Structure of procyanidin, (+)-catechin (1) and (-)-epicatechin (2)

### 1. 分子間縮合反応によるプロシアニジンオリゴマーの合成研究

我々は、Table 1 に示した electrophile (E-unit) と nucleophile (N-unit) を分子間で縮合させる分子間縮合反応による合成研究を進めている。様々な条件検討の結果、E-unit の 4 位の脱離基は ethoxyethyloxy (EEO) 基が適しており、TMSOTf を触媒として用いたとき、選択性・収率ともに良い結果を与えた。分子間縮合反応で得られるオリゴマーの立体は、すべて 3, 4-*trans* 型が主生成物となった。この手法は、様々な重合度のオリゴマー合

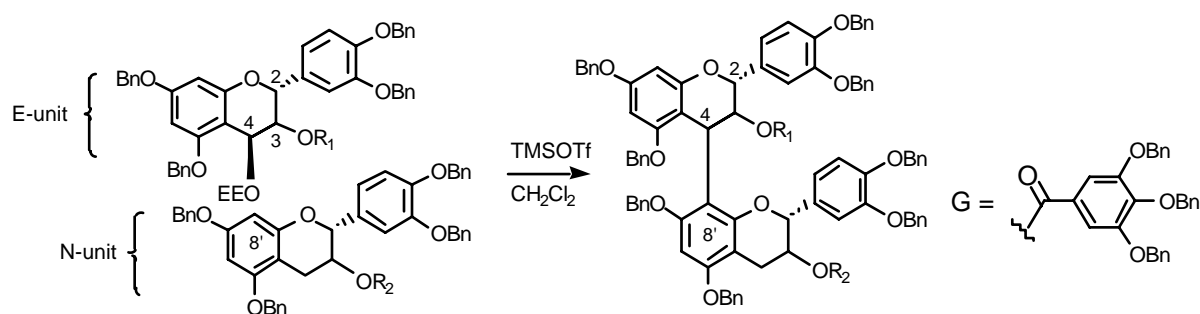
成に適用可能であり、現在までに 4 種類の 2 量体をはじめ<sup>2), 3), 4)</sup>、8 種類の 3 量体<sup>5), 6)</sup>、3 種類の 4 量体(catechin-catechin-catechin-catechin、epicatechin-epicatechin-epicatechin-epicatechin、epicatechin-epicatechin-epicatechin-catechin)、およびエピカテキン 5 量体の縮合を高収率で達成し (Table 1)、脱保護を経てプロシアニジンオリゴマーの合成を達成している。

**Table 1** Intermolecular condensation of N-units with E-units.



Entry	E-unit	R	N-unit	Temp. (°C)	Yield (%)
1	epicatechin	OH	catechin	-40	84
2	epicatechin	OH	epicatechin	-78	93
3	catechin	OAc	catechin	-78	97
4	catechin	OAc	epicatechin	-78	90
5	epicatechin	OH	epicatechin dimer	-40	91
6	epicatechin	OH	epicatechin trimer	-40	88
7	epicatechin	OH	epicatechin tetramer	-40	84

**Table 2** Synthesis of galloyl-substituted Procyanidin dimers



Entry	E-unit	R <sub>1</sub>	N-unit	R <sub>2</sub>	Temp. (°C)	Yield (%)
1	epicatechin	G	catechin	H	-10	83
2	epicatechin	H	catechin	G	-10	87
3	epicatechin	G	catechin	G	-10	98
4	epicatechin	G	epicatechin	H	-30	85
5	epicatechin	H	epicatechin	G	-20	46
6	epicatechin	G	epicatechin	G	-20	99
7	catechin	G	catechin	H	-20	71
8	catechin	G	catechin	G	-20	71
9	catechin	G	epicatechin	H	-20	89

10	catechin	G	epicatechin	G	-20	93
----	----------	---	-------------	---	-----	----

## 2. 3位をガロイル基で修飾した2量体の合成

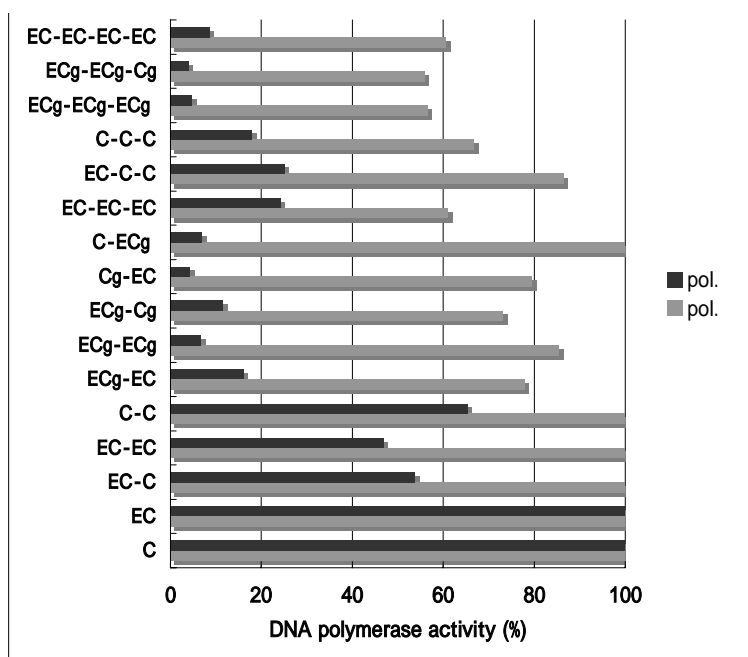
分子間縮合反応条件を用いて、3位の水酸基を様々な官能基で修飾したオリゴマーの合成が可能であることを利用し、ガロイル修飾2量体の合成を行った。その縮合反応の結果を **Table 2** に示した<sup>7), 8)</sup>。これらのガロイル修飾体のうち数種類は天然物であり、強力な生物活性を有することが報告されているが、植物体から同時にこれらの化合物を入手することは不可能であり、我々の合成研究が、さらなる構造-活性相関の解明に大いに貢献できると考えている。

## 3. 生物活性試験<sup>7), 8)</sup>

合成したオリゴマー及びガロイル修飾体を用いて、DNA polymerase  $\alpha$  と  $\beta$  に対する阻害活性評価を行った。その結果を **Fig. 2** に示す。(化合物の構造は、Cはカテキン(1)、ECはエピカテキン(2)を表し、gは、ガロイル修飾体であることを示す。また、EC-Cは左から順に upper unit、bottom unitが4-8位で縮合した構造であることを示している)。

単量体にはほとんど阻害活性が見られないが、オリゴマーが長くなるに従い、活性が強くなった。 $\beta$ と比較して $\alpha$ に対する阻害活性が著しく高く、ガロイル基による修飾が効果的であることが確認された。4種のジガレート体の  $IC_{50}$  値は  $0.09 \cdot M$  から  $0.24 \cdot M$  を示し、ガロイル基の導入によって活性が大幅に向上した。この結果をもとに、さらに強力な活性を有するプロシアニジンオリゴマーの合成を進めている。

**Fig. 2.** Inhibition of mammalian DNA polymerase  $\alpha$  and  $\beta$  by synthesized procyanidin oligomers (10  $\mu M$ ).



## 参考文献

- 1) (a) 片岡 茂博、有賀 敏明：ファルマシア, **34**, 998 (1998); (b) 有賀 敏明、細山 浩、徳武 昌一、山越 純：日本農芸化学会誌, **74**, 3 (2000).
- 2) Saito A.; Nakajima, N.; Tanaka, A.; Ubukata, M. *Biosci. Bitotech. Biochem.*, **2002**, *66*, 1764.
- 3) Saito, A.; Nakajima, N.; Tanaka, A.; Ubukata, M. *Tetrahedron Lett.*, **2002**, *44*, 5449.
- 4) Saito, A.; Nakajima, N.; Matsuura, N.; Tanaka, A.; Ubukata, M. *Heterocycles*, **2004**, *62*, 479.
- 5) Saito, A.; Tanaka, A.; Ubukata, M.; Nakajima, N. *Synlett*, **2004**, 2040.
- 6) Saito, A.; Doi, Y.; Tanaka, A.; Matsuura, N.; Ubukata, M.; Nakajima, N. *Bioorganic Med. Chem.*, **2004**, *12*, 4783.
- 7) Saito, A.; Emoto, M.; Tanaka, A.; Doi, Y.; Shoji, K.; Mizushina, Y.; Ikawa, H.; Yoshida, H.; Matsuura, N.; Nakajima, N. *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 12043.
- 8) Saito, A.; Mizushina, Y.; Ikawa, H.; Yoshida, H.; Doi, Y.; Tanaka, A.; Nakajima, N. *Bioorganic Med. Chem.*, **2005**, *13*, 2759.