

研究領域2

有機合成を基盤とする食品有効成分のケミカルバイオロジー研究

Chemical biology investigation of functional food by means of organic synthesis

菅 敏幸 Toshiyuki KAN

薬学研究科薬学専攻医薬品製造化学教室 教授

Professor, Laboratory of Synthetic Organic and Medicinal Chemistry, Division of Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka



Profile		Contact	
2005年	静岡県立大学薬学部教授	2005	Professor, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka
2004年	東京大学大学院薬学系研究科助教授	2004	Associate Professor, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo
1996年	東京大学薬学部助手	1996	Assistant Professor, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo
1993年	財団法人サントリー生物有機科学研究所研究員	1993	Researcher, Suntory Institute for Bioorganic Research
1993年	北海道大学大学院理学研究科博士課程修了	1993	Ph.D., Graduate School of Department of Chemistry, Faculty of Sciences Hokkaido University
1986年	北海道大学理学部化学科卒業	1986	Graduate from Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Hokkaido University

T E L 054-264-5746
+81-54-264-5746

e-mail kant@u-shizuoka-ken.ac.jp

U R L http://w3pharm.u-shizuoka-ken.ac.jp/~yakuzo/english/english.html

序論

食品は古くから食に供されてきたことから安全性に対する信頼は大きく、その有効成分は医薬品のリードとしても期待されている。しかし、医薬品開発に必須となる詳細な構造活性相関や、活性発現の標的タンパク質解明などの研究例は僅かである。我々は、有効成分の柔軟かつ効率的な合成供給が、ケミカルバイオロジー研究を可能にすると考え、合成研究を行っている。これまでに、緑茶のカテキンやミカンのフラボノイドの新規合成法の開発に成功してきた。特に、エビガラカテキンガレート(1: EGCg)の特徴的な構造のC環 2, 3位の *cis* の相対配置を完全に制御する合成法を開発し、A環部に水酸基を持たない誘導体DOEGCGの合成に成功した。さらに、DOEGCG(2)がEGCG(1)を上回る抗インフルエンザウイルス感染阻害活性を有することも見出した。この結果を基に、A環部の水酸基は活性発現に関与しないと作業仮説を立て、A環部にプローブユニットを導入可能なアミノベンチル基を有するAPDOEGCG(3)の合成を行った。

成果

APDOEGCG(3)のA環部分に、鈴木-宮浦反応による側鎖の導入後、我々の開発したNs-NH₂との光延反応を利用して末端に窒素原子を導入した。さらにAD-mix-βにて合成した光学活性なジオールヘガロイル基を位置選択的に導入後、エステル基の隣接基関与効果を利用したヒドリドの攻撃によりジヒドロピラン環を*cis*体選択的に構築した。また、ベンジルアルコールへの酸性条件の直接環化によりtrans体も選択的に合成可能となった。保護基の除去により得られる3は、フェノール性水酸基を保護することなく、様々なプローブユニットの導入が可能であった。すなわち、蛍光発色団(Tokyo Green)やビオチンを有する4と5の合成に成功し、さらにキャリアータンパク質(HSA)と結合させた6を抗原として用いEGCGを特異的に認識するモノクローナル抗体の獲得にも成功した。

また、みかんの陳皮より単離されたノビレチン(7)は、アルツハイマー病の予防効果が認められ注目を集めている。我々は、当研究室で開発したフラボン骨格構築法により、11段階、総収率53%にて全合成を達成した。さらに、本合成を基盤とする大量供給により、PETプローブの迅速合成の条件の最適化が可能となった。浜松ホトニクスにて十分な放射活性を有するプローブを合成し、ラットの尾静脈内投与5分後の脳移行を確認した。(Scheme 2)

展望

Scheme 3に、蛍光プローブ4とHUVECsの蛍光顕微鏡写真と、6を抗原として獲得した抗体のEGCGとの親和性のグラフを示した。このように、蛍光プローブ4は生細胞でのEGCGの動態を明らかにした。また、モノクローナル抗体はELISA法による超高感度な分析を可能にするため、微量成分の検出への展開も期待できる。

Introduction

The effective components of functional foods are expected to constitute lead compounds for drug development. Furthermore, these natural products are considered safety as they have long been consumed as dietary food products. Additionally, the imaging and/or analysis of the dynamics of these compounds by probe molecules will be essential for future drug development. Since efficient and flexible synthesis could provide probe molecules, we carried out synthetic investigations of (–)-epigallocatechin gallate (1: EGCG) and nobiletin (7).

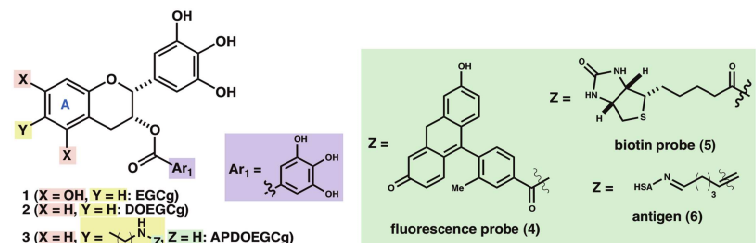
Results

(–)-Epigallocatechin gallate (EGCG) (1) is a major constituent of green tea extract, which has various bioactivities. During the course of our synthetic investigation of EGCG, we found that synthetic 5,7-dideoxy-epigallocatechin gallate (DO-EGCG) (2) possesses more potent anti-influenza activities than natural EGCG (1). Inspired by this finding, we launched an investigation into the synthesis of EGCg probe precursor 3. Reactive amine possessed an advantage for the incorporation of a probe unit furnished without protection of the phenolic hydroxy groups. Thus, synthetic 3 could be easily and efficiently converted to fluorescein probe 4 and immunogen probe 6.

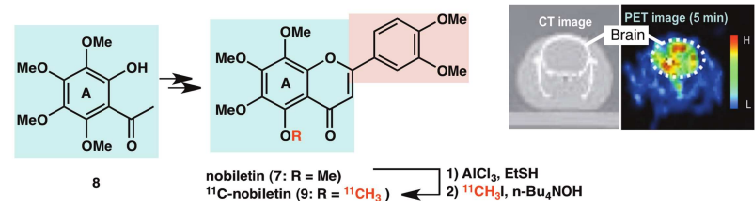
A practical synthesis of nobiletin (7), a polymethoxylated citrus flavone, was accomplished by utilizing our novel flavone synthesis. Synthetic nobiletin was labelled by selective demethylation and rapid incorporation of a ¹¹C atom to give 9. Positron emission tomography images of 9 successfully visualized the distribution of nobiletin in the brain. These results may provide therapeutic benefits in the treatment of Alzheimer's disease.

Perspectives

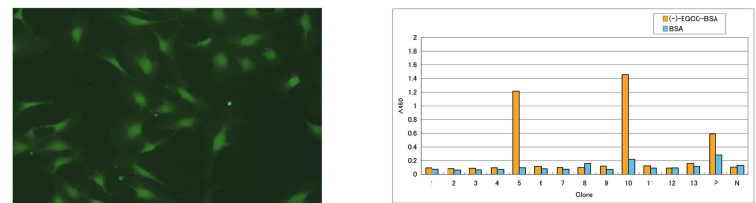
After incubation of 4 with HUVECs for 3 h, strong fluorescence was observed in the cells (Scheme 3 left). Utilizing immunogen 6, two high-affinity antibodies with EGCG were obtained (Scheme 3 right). These highly specific antibodies will be useful for immunological detection. Furthermore, application for enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) will be useful for quantitating trace amounts of EGCG in serum.



[図1]
APDOEGCG(3) の構造とEGCGプローブ分子 (4–6)
[Figure 1]
Structure of APDOEGCG (3) and EGCG probe molecules (4–6)



[図2]
効率的な合成を基盤とするノビレチンのPETイメージング
[Figure 2]
PET imaging of nobiletin based on practical synthesis



[図3]
蛍光顕微鏡分析とEGCGと高い親和性を有する抗体
[Figure 3]
Fluorescence microscopy image and high affinity antibodies with EGCG

代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. T. Wakimoto, H. Kondo, H. Nii, K. Kimura, Y. Egami, Y. Oka, M. Yoshida, E. Kida, Y. Ye, S. Akahoshi, T. Asakawa, K. Matsumura, H. Ishida, H. Nukaya, K. Tsuji, T. Kan, I. Abe: Furan fatty acid as an anti-inflammatory component from green-lipped mussel, *Perna canaliculus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108, 17533-17537 (2011).
2. T. Asakawa, A. Hiza, M. Nakayama, M. Inai, D. Oyama, H. Koide, K. Shimizu, T. Wakimoto, N. Harada, H. Tsukada, N. Oku, T. Kan: PET Imaging of Nobiletin Based on a Practical Total Synthesis. *Chem. Commun.*, 47, 2868–2870 (2011).
3. A. Yoshida, Y. Hirooka, Y. Sugata, M. Nitta, T. Manabe, S. Ido, K. Murakami, R. K. Saha, T. Suzuki, M. Ohshima, A. Yoshida, K. Itoh, K. Shimizu, N. Oku, T. Furuta, T. Asakawa, T. Wakimoto, T. Kan: Concise synthesis of catechin probes enabling analysis and imaging of EGCG. *Chem. Commun.*, 47, 1794-1796 (2011).
4. T. Wakimoto, T. Asakawa, S. Akahoshi, T. Suzuki, K. Nagai, H. Kawagishi, T. Kan: Proof the existence of an unstable amino acid, pleurocybellaziridine, in *Pleurocybella porrigens* (angel's wing mushroom). *Angew. Chem. Int. Ed.*, 50, 1168-1170 (2011).
5. Y. Koizumi, H. Kobayashi, T. Wakimoto, T. Furuta, T. Fukuyama, T. Kan: Total Synthesis of (–)-Serotobennine. *J. Am. Chem. Soc.*, 130, 16854-16855 (2008).