

フラボノイド, タンニン化合物のレトロウイルス逆転写酵素 阻害活性

誌名	日本大学農獣医学部学術研究報告
ISSN	00780839
著者名	速水, 耕介 小川, 良二 下郷, 晶子
発行元	日本大学農獣医学会
巻/号	49号
掲載ページ	p. 35-41
発行年月	1992年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



Retroviral Reverse Transcriptase-Inhibitory Activity of Flavonoid and Tannin Compounds

Kosuke HAYAMIZU, Ryoji OGAWA, Akiko SHIMOSATO, Jun KATO and Kunio OISHI

Lab. microbiological Chemistry, Coll. Agr. & Vet. Med., Nihon Univ., 34-1 Shimouma 3 chome, Setagaya-ku, Tokyo 154

(Accepted Oct. 24, 1991)

Abstract: Flavonoid and tannin were known to be the active ingredients in clove extract for the inhibition of retroviral reverse transcriptase. Various commercial flavonoid and tannin compounds were tested on their inhibitory activity. Free flavonoids except cyanidin were not or hardly inhibitory under the condition employed, while glycosylated ones were effective though not so potent. Constituents of condensed tannins were not inhibitory, whereas ellagic acid and chinese gallotannin, elements of hydrolyzable tannins, potently inhibited the enzyme. Effectiveness of hydrolyzable tannins was also suggested by the acetone extracts of various tannin plants.

Key words: Reverse transcriptase, Retrovirus, Inhibition, Flavonoid, Tannin

フラボノイド、タンニン化合物のレトロウイルス 逆転写酵素阻害活性

速水耕介・小川良二・下郷晶子
加藤順・大石邦夫

日本大学農獣医学部 農芸化学科微生物化学研究室

(1991年10月24日受理)

AIDSの原因となっている HIV (human immunodeficiency virus) を始め、レトロウイルスは RNA をゲノムとしているので、自己増殖のために感染細胞中で DNA を作る逆転写酵素の働きが必須である [1]。この酵素の働きはヒトには必須ではない。従って、これらレトロウイルスに対する抗ウイルス剤として、逆転写酵素阻害物質は最も有効かつ副作用の少ない手段であろう [2]。逆転写酵素をターゲットとした治療の場合、感染者に対して治療薬の長期投与の必要性が予想される。しかし既存のヌクレオシド誘導体治療薬 [3] の長期投与は、正常な細胞活動にも影響が出やすい。

ハーブやスパイスには、1 ml あたり原材料 2 μg という低濃度の熱水抽出液が、強い逆転写酵素阻害を示す例

がある [4]。これらの中には、明らかにフラボノイドやタンニンを大量に含むものがあり、クローブ中の有効成分としてケルセチン誘導体やタンニンが確認されている [5]。

本報では、まずフラボノイド化合物について、次にタンニン化合物について、レトロウイルスの逆転写酵素に対する作用を検討した。

実験材料および方法

1. フラボノイド化合物

植物フラボノイド合成経路 [6, 7] (Fig. 1) 中の中間代謝物およびケルセチンの配糖体は、フナコシ薬品 (東京) から購入した (純度 98% 以上)。各標品は、

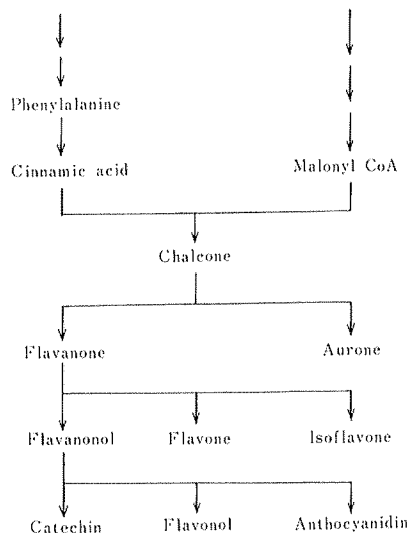


Fig. 1 Biosynthetic pathway of flavonoids

0.1mg/mlの濃度となるようジメチルスルホキシド (DMSO), メタノールまたは水に溶解し, 逆転写酵素阻害実験のための供試サンプルとした。

2. タンニン化合物

縮合型タンニンの構成成分であるカテキン類, 加水分解タンニンの分解産物である没食子酸, エラグ酸はフナコシ薬品(東京)から, カテコール, ピロガールおよびタンニン酸は和光純薬(大阪)より購入した(カテキン類からピロガロールまでは純度95~98%)。各標品は0.1mg/mlの濃度となるよう水に溶解した。

3. タンニン植物

用いたタンニン植物の名前, 採集場所および採集年月をTable 1に示す。各植物の葉を細く切り, 1gに対して10mlのアセトンを加え一晩抽出後メタノールに置換, その後50倍に希釈して供試サンプルとした。

4. タンナーゼ

タンナーゼ (*Aspergillus oryzae* 由来) は栗田工業(東京)より購入した。

5. タンナーゼ処理

供試サンプル水溶液に上記のタンナーゼを1mg/mlになるように加え, 40°C 2時間処理した。

6. 逆転写酵素

マウス白血病ウイルス (M-MuLV) 由来の酵素は Bethesda Research Laboratories (U.S.A) の製品を用いた。

7. 鋳型およびプライマー

ポリ(A)(dT)₁₅ はベーリンガーマンハイム・山之内(東京)から入手した。

Table 1 List of tannin plants

Scientific name	Sampling place	Date
<i>Camellia japonica</i>	Midori, Yokohama	Jun. '90
<i>Camellia sasanqua</i>	Setagaya, Tokyo	"
<i>Camellia sinensis</i>	"	"
<i>Paeonia lactiflora</i>	Midori, Yokohama	"
<i>Rhodomyrtus tomentosa</i>	Fac. Sci., U. Tokyo	Jul. '90
<i>Psidium guajava</i>	"	"
<i>Chamaenerion angustifolium</i>	"	"
<i>Lythrum salicaria</i>	"	"
<i>Punica granatum</i>	"	"
<i>Rosa laevigata</i>	"	"
<i>Sanguisorba officinalis</i>	"	"
<i>Gleditsia japonica</i>	"	"
<i>Polygonum bistorta</i>	"	"
<i>Rumex montanus</i>	"	"
<i>Rhus chinensis</i>	"	"
<i>Kalopanax pictus</i>	"	"
<i>Diospyros kaki</i>	Setagaya, Tokyo	Oct., '90
<i>Juglans regia</i>	"	"
<i>Punica granatum</i>	"	"
<i>Trachycarpus wagnerianu</i>	Fac. Sci., U. Tokyo	Jul. '90
<i>Sambucus sieboldiana</i>	"	"
<i>Rumex arifolius</i>	"	"

8. 逆転写酵素反応とその阻害[8]

エッペンドルフチューブに0.5M Tris-HClバッファー pH 8.0 10 μ l, 0.5M KCl 10 μ l, 0.05M Mg(OAc)₂ 10 μ l, 0.03M ジチオスレイトール 10 μ l, 1% ノニデット P-40 10 μ l, 10mg/ml ウシ血清アルブミン 2 μ l, 5mM dTTP 10 μ l, 50 μ Ci/ml [³H]-dTTP 5 μ l, 0.8mg/ml ポリ(A)•(dT)₁₅ 10 μ l, 1U/ μ l 逆転写酵素 1 μ l, 供試サンプル 10 μ l, これに水を加えて100 μ lとする。37°C, 30分間保温した後, 5% TCA 1mlを加え, ニトロセルロースフィルターで濾過し, 赤外線ランプで十分乾燥させた後, フィルター上の酸不溶物中の放射活性を液体シンチレーションカウンターで測定する。

実験結果

1. 市販フラボノイド類による逆転写酵素の阻害

クローブ *Eugenia caryophyllata* 熱水抽出液の示す M-MuLV 逆転写酵素阻害活性の少なくとも一部は, 抽出液に含まれるフラボノール化合物, クェルセチン- β -グルクロニド (クェルシチン, quercitrone) によるものであった[5]。フラボノイド化合物合成の初発物質であるフェニルアラニンや桂皮酸は, 100

Table 2 Retroviral reverse transcriptase-inhibitory activity in flavonoids

Flavonoid	Inhibition (%)*		
	Aglycon	Glycoside	
Chalcone	Butein	<0>	
Aurone	Sulphuretin	<0>	
Flavanone	Eriodictyol	<0> (0)	
	Naringenin	<7>	
Flavone	Apigenin	<2>	
	Luteolin	<5>	
Isoflavone	Daidzein	<7>	
Flavanonol	Taxifolin	<7>	
Flavonol	Quercetin	<0>	Quercitrin <31>
			Isoquercitrin <13>
			Rutin <22>
			Hyperin <16>
			Robinin <20>
	Kaempferol	<0>	
	Myricetin	<0>	
Anthocyanidin	Cyanidin	[35]	
Catechin	Catechin	[3]	

* Inhibition at a concentration of 10 μg/ml of samples dissolved in < >: DMSO; (): MeOH; []: water.

μg/ml の高濃度でも逆転写酵素阻害活性を示さない (データ省略)。そこでカルコン以降のどの段階でフラボノイド化合物が阻害活性を持つようになるか調べた。

アグリコンの大部分は水に溶けないので、阻害活性に影響を与えない程度の DMSO やメタノール (<10%) に溶かし、阻害活性を測定した。Table 2 に示すとおり、遊離のフラボノイドには、シアニジンを除き阻害活性はほとんどみられなかった。ケルセチン、ケンフェロールの場合、糖結合型になると阻害活性が出現するがその阻害度は低く、天然の植物材料の抽出液に見られるような強い阻害活性、2 μg/ml で50%以上阻害はみられなかった。

なお、水に溶けないサンプルを水に懸濁物として用いると、いずれの場合も見かけ上30%程度の阻害活性が観察された (データ省略)。

2. タンニン植物のアセトン抽出液による逆転写酵素阻害

逆転写酵素阻害活性を示すクローブ熱水抽出液中のうち1つの成分はタンニン化合物と推定される [5]。

いわゆるタンニン植物 [9] といわれる植物の葉のアセトン抽出液が持つ逆転写酵素阻害活性について検討を行った。Table 3 に示すとおり、最も高い阻害活性を示したのはザクロ (*Punica granatum*)、ついでツバキ (*Camellia japonica*) などが、1 ml 中に 20 μg の生葉からの抽出物を含む濃度で、60% 以上の阻害を示した。一方、サイカチ (*Gleditsia japonica*) はほとんど阻害がなかった。本表で、タンニン含量は文献

Table 3 Retroviral reverse transcriptase-inhibitory activity in tannin plant leaves

Tannin plant	Inhibition* (%)	Tannin (%)	Reference
<i>Camellia japonica</i>	60	#	[10]
<i>Paeonia lactiflora</i>	50	#	[9]
<i>Rhodomyrtus tomentosa</i>	63	20	[10]
<i>Psidium guajava</i>	56	18	[10]
<i>Chamaenerion angustifolium</i>	47	10	[9]
<i>Lythrum salicaria</i>	56	10	[9]
<i>Punica granatum</i>	87	10-20	[9]
<i>Rosa laevigata</i>	44	#	[9]
<i>Sanguisorba officinalis</i>	22	17**	[9]
<i>Gleditsia japonica</i>	7	#	[10]
<i>Polygonum bistorta</i>	32	9-25	[9]
<i>Rumex montanus</i>	27	#	[10]
<i>Rhus chinensis</i>	29	50-70**	[9]
<i>Kalopanax pictus</i>	15	13-30	[9]
<i>Diospyros kaki</i>	39	#	[10]
<i>Juglans regia</i>	28	28	[10]

* By extracts prepared from 20 μg raw material per ml.
** Root or fruit.

値 [9, 10] であり実測値ではない。しかしタンニン含量と阻害活性の間に正の相関があるような推測はできなかった。

さらに我々の日常生活に馴染みの深いツバキ、チャ (*Camellia sinensis*)、カキ (*Diospyros kaki*) 等

Table 4 Retroviral reverse transcriptase-inhibitory activity in *Camellia* and Kaki

		Inhibition (%)
<i>Camellia japonica</i>	Leaf	62*
	Branch	36*
	Flower	50*
	Stamen	85*
<i>Camellia sasanqua</i>	Leaf	30*
<i>Camellia sinensis</i>	Leaf	48*
Japanese tea (Sencha)		32**
(Maccha)		34**
Black tea		30**
Oolong tea		38**
<i>Diospyros kaki</i>	Leaf	40**
	Branch	24*
	Fruit	8*
	Calyx	20*

Inhibition by extracts prepared from 20 μg raw material (*) and 17 μg dry material (**) per ml, respectively

について、逆転写酵素阻害活性を調べてみた。Table 4 に示すとおり、ツバキの葉、花にはかなりの強い阻害活性が見られ、オシベには非常に強い活性があった。チャの葉にもかなり強い活性があり、市販の加工された飲料茶にも活性は残っていた。本研究で用いたカキノキからはツバキやチャに匹敵する活性は得られなかった。

3. 市販タンニン化合物による逆転写酵素の阻害

構造既知のタンニンおよびその構成成分[11, 12]の持つ逆転写酵素阻害活性について検討した。エラグ酸は水、メタノールいずれにも難溶なので、懸濁状態で活性測定を行った。Table 5 に示すように、エラグ酸とゴバイシタンニン以外では、阻害活性は観察されなかった。

4. ゴバイシタンニンとタンニン植物抽出物の TLC

タンニン植物中阻害活性が、比較的高かったものと低かったものに分け、その成分を TLC によって比較した。Merck のセルロース薄層板 5577 を用い、展開は 3% 酢酸[11]で行った。展開後 UV 254nm で吸収を示すバンドの有無を観察、さらに 0.1% FeCl_3 溶液[11, 12]を噴霧し、発色を観察した。Fig. 2 に示すとおり、比較的阻害活性の高かったサンプルには共通して強い UV 吸収がみられ、このバンドは FeCl_3 によって発色することが観察された。

5. タンニン植物抽出液のタンナーゼ処理

M-MuLV 逆転写酵素阻害活性の強かったタンニン植物のうち、シャクヤク (*Paeonia lactiflora*) とツバキの抽出物を選び、*Aspergillus oryzae* 由来のタンナー

Table 5 Retroviral reverse transcriptase-inhibitory activity in tannin compounds

	Inhibition* (%)
(+) Catechin	0
(-) Epicatechin	0
(-) Epigallocatechin	0
(-) Epicatechin gallate	0
(-) Epigallocatechin gallate	10
Catechol	20
Pyrogallol	6
Gallic acid	10
Ellagic acid	72
Chinese gallotannin	76

* At a concentration of 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$

ゼで 40°C 2 時間処理し、阻害活性の変化を観察した。Fig. 3 に示すとおりゴバイシタンニンはタンナーゼによって完全に分解され新しい別のバンドが生じ、それに伴って活性も急激に低下した。シャクヤクはこれとよく似たバンドパターンの変化を示し、活性が下がっているのが分かる。ツバキの場合はむしろ逆に活性が上がるといった結果になった。タンナーゼ自体には用いた範囲内で逆転写酵素の阻害、および促進活性は全く認められなかった(データ省略)。

次にツバキの有効成分が、タンナーゼ分解処理により、阻害活性にどのような影響を与えるかを、TLC のバンドごとに調べた。Fig. 4 に示すとおり Rf 値 0.75 付近のバンドには阻害活性がなく、Rf 値 0.6 付近のバンドに活性があり、タンナーゼ処理を行うと Rf 値 0.6 のバンドは活性が低下し、Rf 値 0.7 付近に新しく生じるバンドに比較的強い活性がみられた。

考 察

逆転写酵素阻害物質は、抗レトロウイルス特異性の高い、副作用の少ない薬剤として考えられる。

我々は、クローブ中の逆転写酵素阻害成分としてケルセチン誘導体とタンニン化合物を確認した[5]。化学構造を決定し得たケルシチュロンの阻害活性は 2.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で M-MuLV 逆転写酵素を 50% 阻害するという強いものであった。一方、我々はフラボノイド生合成の出発物質であるフェニルアラニンや桂皮酸にはまったく阻害活性がないことを認めている(未発表)。本研究では、まず、植物体内におけるフラボノイド生合成系のどの段階で、阻害活性が現れるかを検討した。また、タンニン化合物についても、その構成成分ないし単量体について、阻害活性の強さを検討した。

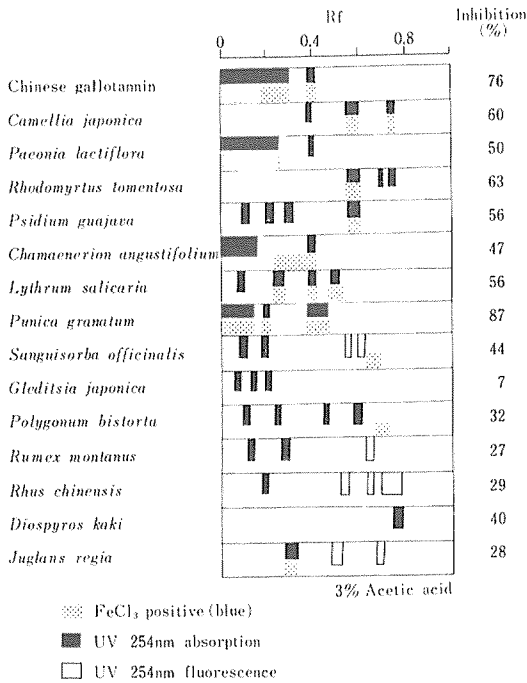


Fig. 2 TLC chromatographic pattern of acetone extracts of tannin plants.

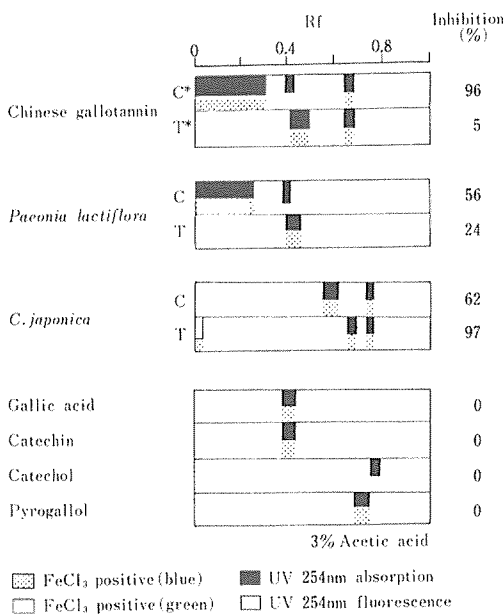


Fig. 3 Effect of tannase treatment on inhibitory activity and TLC pattern.
* Control (C) and tannase-treated (T), respectively

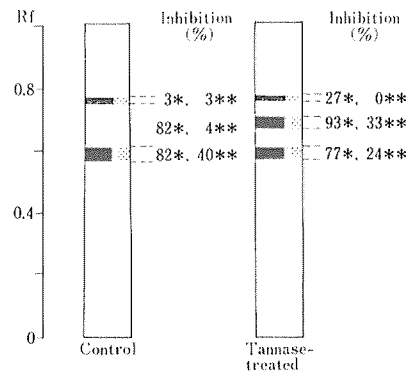


Fig. 4 Fractionation of reverse transcriptase-inhibitory activity in the extract of *Camellia japonica*.
800 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (*) and 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (**) of acetone extract, respectively

本研究で用いたフラボノイド類は、シアニジンを除く例外として 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度でもほとんど阻害活性を示さなかった。ケルセチン、ケンフェロールは、配糖体になると弱い活性を示すようになったが、クロブ熱水抽出液の阻害の強さを説明するには極めて不十分であった。総じて、フラボノイド類は強い逆転写酵素阻害物質とはいえない。

この結論は ONO *et al.* の報告[13, 14] と異なる。彼らは 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のバイカレインが M-MuLV, RLV (Rauscher murine leukemia virus), HIV の酵素を[13], 同じく 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のケルセチン, ケルセタゲチン, ミリセチンが RLV と HIV 由来の酵素を[14], 100% 近く阻害すると述べている。このような違いはあるいは用いた酵素反応液の組成の違いによるものかも知れない。我々は強い阻害物質のみを求めるために、使用酵素標品の説明書[15] に準じて高濃度の酵素 (10U/ml) とポリ(A)(dT)₁₅ (80 $\mu\text{g}/\text{ml}$), 二価カチオン (5mM Mg(OAc)₂), 酵素安定剤のためのウシ血清アルブミンを用い、かつこの条件下でも 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の濃度で強い阻害を示す試料を多数得てきた[4, 5]。ONO *et al.* の用いた酵素の濃度は不明であるが、2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のポリ(A)(dT)₁₂₋₁₈, 0.2mM の MnCl₂, ウシ血清アルブミン非存在下で反応を行っている[14]。これらの要素のいずれかが、我々と彼らの結論の差をもたらしたのであろう。彼らは、フラボノイド類はポリ(A)(dT)₁₂₋₁₈ と拮抗的に作用すると述べている。

市販ハーブやスパイス標品の中から、強い逆転写酵素阻害活性を示すものとして我々はクローブを選抜したが、その有効成分の1つがタンニン化合物と判断された[5]ことから、本研究では「タンニン植物」としてよく知られている植物抽出液について検討した。最も強い活性を示したザクロでは、1 ml 中に 20 μg の生薬からの抽出物を含む試料が 60% 以上の酵素阻害を示したが、この中の有効成分の量は 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下と推定されるから、この成分は当然上記のフラボノイド類とは考えられない。もともとタンニン類にはタンパクと強く結合し、これを凝集させる働きのあることが知られている[12] ので、酵素阻害活性があることは十分予想される。しかし、本研究の結果は、タンニン含量が酵素阻害活性と正の相関にあることを強く支持するものではなかった。そこで、我々はタンニン類の構造上の違いが活性に大きな影響を与えるものと仮定して、まず市販タンニンおよびその構成成分の酵素阻害活性を調べた。

縮合型タンニンの構成成分である没食子酸、カテキン類およびガロイル化カテキン類には、逆転写酵素阻害活性はほとんど認められなかった。一方、加水分解型タンニンの構成成分であるピロガロールは活性を示さないが、エラグ酸やゴバイシタンニンには強い活性が認められた。チャ、カキノキの主タンニンには縮合型タンニンであるが[12]、シャクヤクの主タンニンであるゴバイシタンニン[12]、ツバキに含まれる主タンニン、ベデュンキュラギン[16, 17] はいずれも加水分解型タンニンである。これらの結果から、タンニン植物中に存在し逆転写酵素を阻害する主要成分は、加水分解型タンニンである可能性が強いと考えられる。また、シャクヤクの抽出液をタンナーゼ処理すると阻害活性が低下し、TLC プレート上で 3% 酢酸によってより移動しやすい生産物に転換する。すなわち、タンニンが阻害を示すためにはある程度以上大きな分子量が必要であると思われる。KAKIUCHI *et al.* は、AMV 由来の酵素が加水分解タンニンによって強く阻害されるが、縮合型タンニンではあまり阻害されないと報告している[18]。これは、我々の得た結果とよく一致する。

ツバキ抽出液のタンナーゼ処理は、逆転写酵素阻害活性を低下させず、逆に増加させるが、この場合の生成物の構造に関してはさらに検討を加えたい。なお HIV 由来の酵素をカテキン類が阻害するという報告もあるが[19]、これはフラボノイド類で見られた現象と同様の理由によるものであろう。

逆転写酵素阻害物質を抗ウイルス剤として開発するためには、その物質の持つ細胞毒性についても検討しなければならない。しかし、本研究では強力な阻害物質の探

索とその構造の推定をするに止めた。

植物材料の採集、同定にあたり御指導、御助言を賜った東京大学理学部 邑田 仁講師に感謝致します。

文 献

- GALLO, R. C. 1986: The first human retrovirus. *Scientific American*, 225, 78-88.
- CHERMANN, J. C., BARRÉ-SINOUSSE, F., (訳 間 陽子, 野田 亮) 1986: AIDS 発症における AIDS ウイルスの役割と予防・治療の可能性について, 「AIDS ウイルス最新の知見」(秀潤社, 東京), 1146-1151.
- 溝屋裕明, BRODER, S. 1987: AIDS 抗ウイルス剤研究・開発の動向, アジドチミジンおよび関連ヌクレオシド, 「AIDS 最新の動向, 遠藤武男編」(日本臨牀社, 大阪), 223-267.
- 加藤 順, 砂益吉孝, 小川政博, 葉田秀雄, 大石邦夫 1989: 食品によるレトロウイルス逆転写酵素の阻害. *日本食品工業学会第36回大会講演集*, 100.
- 加藤 順, 市原隆光, 井上久子, 大塚眞史, 坂本敏文, 宮崎 修, 世取山礼子, 大石邦夫 1990: クローブ中のレトロウイルス逆転写酵素阻害物質. 平成2年度日本醸酵工学会大会講演要旨集, 100.
- 下郡山正巳 1988: フラボノイドの生合成, 「増訂植物色素, 林 孝三編」(養賢堂, 東京), 19-22.
- 奥田拓男 1989: フラボノイド, 「天然物化学 改訂第2版 三橋 博 他編」(南江堂, 東京), 219-228.
- 加藤 順, 砂益吉孝, 葉田秀雄, 小川政博, 大石邦夫, 八巻 寛 1990: 市販多糖標品によるレトロウイルス逆転写酵素の阻害. *本誌*, 47, 81-83.
- 上海科学技術出版社, 小学館 1985: 「中薬大辞典 1~4, 別巻」(小学館, 東京).
- 平尾子之吉 1949: 「日本植物成分総覧 1」(佐々木図書出版, 東京).
- 西岡五夫 1986: タンニン, 「生物活性物質の単離, 日本薬学会編」(日本薬学会, 東京), 21, 27-43.
- 奥田拓男 1989: タンニン, 「天然物化学 改訂第2版 三橋 博 他編」(南江堂, 東京), 229-237.
- ONO, K., NAKANE, H., FUKUSHIMA, M., CHERMANN, J. C. and BARRÉ-SINOUSSE, F. 1989: Inhibition of reverse transcriptase activity by a flavonoid compound, 5, 6, 7-trihydroxy flavone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 160, 982-987.
- ONO, K., NAKANE, H., FUKUSHIMA, M., CHERMAN, J. C. and BARRÉ-SINOUSSE, F. 1990: Differential inhibitory effects of various

- flavonoids on the activities of reverse transcriptase and cellular DNA and RNA polymerases. *Eur. J. Biochem.*, 190, 469-476.
- 15 Bethesda Research Laboratories: User's manual; M-MLV Reverse transcriptase, (Bethesda Research Laboratories, U.S.A).
- 16 YOSHIDA, T., MARUYAMA, Y., MEMON, M. U., SHINGU, T. and OKUDA, T. 1985: Gemin D. E and F, ellagitannins from *Geum japonica*. *Phytochem.*, 24, 1041-1046.
- 17 OKUDA, K., YOSHIDA, T., ASHIDA, M. and YAZAKI, K. 1983: Tannins of *Casuarina* and *Stachyurus* species. Part 1. Structures of pedunculagin, casuarietin, strictinin, casuarinin, casuariin, and stachyurin. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1765-1772.
- 18 KAKIUCHI, N., HATTORI, M., NAMBA, T., NISHIZAWA, M., YAMAGISHI, T. and OKUDA, T. 1985: Inhibitory effect of tannin on reverse transcriptase from RNA tumor virus. *J. Nat. Prod.*, 48, 614-621.
- 19 NAKANE, H. and ONO, K. 1990: Differential inhibition effects of some catechin derivatives on the activities of human immunodeficiency virus reverse transcriptase and cellular deoxyribonucleic and ribonucleic acid polymerases. *Biochemistry*, 29, 2841-2845.