

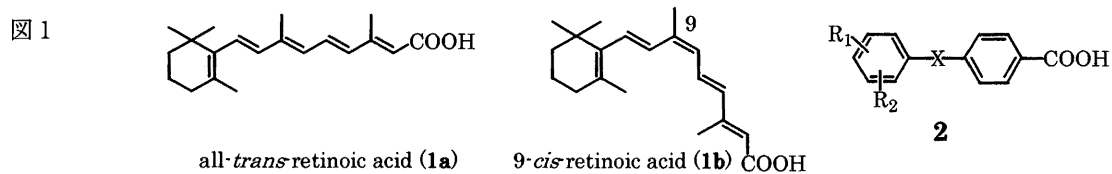
## 論文内容の要旨

### カルボン酸等価性基を持つ新規レチノイド

海老澤正幸

レチノイドは、ビタミン A の活性本体であるレチノイン酸 (*all-trans*, **1a**, 図 1) の同効物質の総称であり、細胞の分化・増殖、形態形成など、生体において重要な作用を担っている。レチノイド作用は、特異的核内レセプターであるレチノイン酸レセプター (RAR) を介した特異的遺伝子発現の直接的な制御により発揮される。このとき RAR は、レチノイドのもう一つの核内レセプターであるレチノイド X レセプター (RXR) とヘテロダイマーを形成し、応答遺伝子に結合する。RXR の生体内リガンドとして *9-cis*-レチノイン酸 (**1b**) が同定され、また、RXR は RAR ばかりでなく、ビタミン D<sub>3</sub> レセプター (VDR)、チロイドホルモンレセプター (TR)、ペルオキシソーム増殖性応答因子レセプター (PPAR) などの多くの核内レセプターとヘテロダイマーを形成することが示され、それらのレセプターの機能調節を担っていると考えられる。例えば、RXR アゴニストはそれ自身ではレチノイド作用を示さないが、レチノイド作用増強活性を示す。本研究室では一般式 **2** (図 1) に示される RAR もしくは RXR 特異的な合成リガンドの創製を行ってきた。これまで、疎水性アルキル部位 (R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>) 及びリンカー部 (X) においては様々なもので置き換え

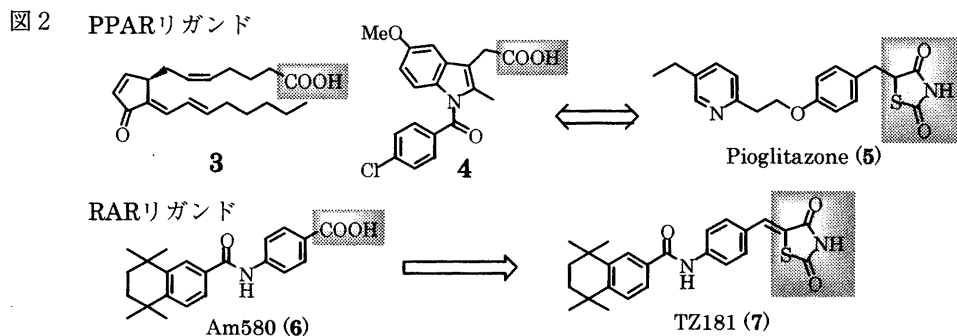
うることを示してきたが、末端のカルボキシル基については、スルホンアミドやテトラゾールなどのいわゆるバイオアイソスターでは代替できないとされてきた。このカルボキシル基はレセプターとの結合に最も重要であり、他の極性基で代替することが出来れば、その結合様式に変化をもたらし、結果として多様な生理作用を示す従来のレチノイドとは異なった生物的特異性が得られると考え、カルボキシル基と等価性を有する極性基の探索と、その導入による核内レセプター RAR、RXR の新たなリガンドの創製を試みた。



#### カルボン酸等価性基としてのチアゾリジン環

一連の核内レセプターは一つの遺伝子から進化したと考えられ、構造的にも相同性が高い。そこでレチノイドレセプターリガンド創製において、他の核内レセプターリガンドの構造活性相関を応用してみた。脂質代謝に重要な働きをする PPAR $\gamma$  のリガンドには、生体内リガンド候補として 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J<sub>2</sub> (3, 図2) が、合成リガンドとしてインドメタシン(4)などの抗炎症剤が同定されている。一方、PPAR $\gamma$

は II 型糖尿病治療薬であるピオグリタゾン(5)などのチアゾリジン誘導体の

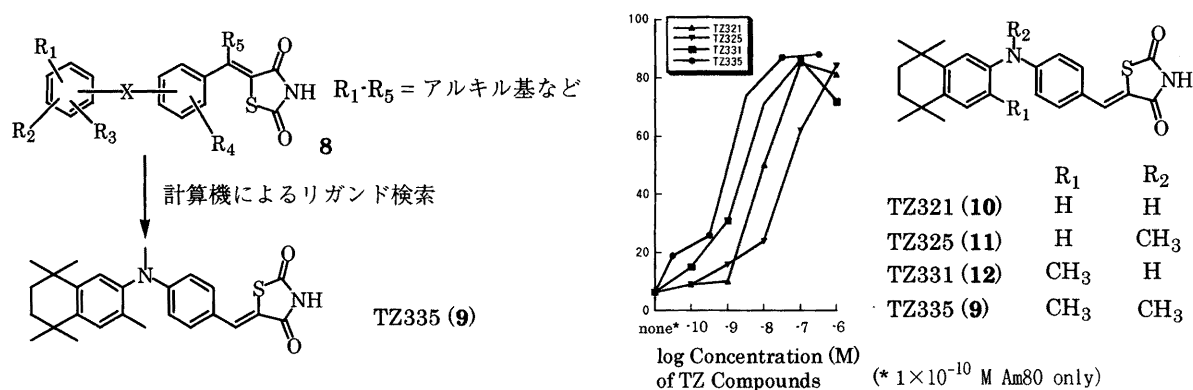


標的分子でもある。PPAR リガンドのカルボキシル基とチアゾリジン環がリガンド結合領域の同一の部位を認識していると考え、私は、レチノイド (RAR アゴニスト) のカルボキシル基をチアゾリジン環で代替した化合物をデザイン・合成した。その結果、強力なレチノイドである Am580 (6) と同じ骨格を持つ TZ181 (7, 図2) 等がヒト急性前骨髄球性白血病

細胞 HL-60 の分化誘導活性を示し、この作用が RAR を介していることがわかった。

次いで、RXR を標的レセプターとしてチアゾリジン誘導体をデザインした。リガンド候補化合物を設定するに当たり、まず、図 3 に示す部分構造からなるチアゾリジン化合物の仮想ライブラリー(8)を計算機上で作成し、三次元構造の構築の後、hRXR $\alpha$ の三次元蛋白モデル構造に対する結合性を計算化学的に吟味した。その結果、ジフェニルアミン誘導体 TZ335 (9)などが RXR のリガンド結合領域に安定に結合することが示唆された。この骨格を持つ一連の誘導体を合成し、RXR 活性として「HL-60 細胞分化誘導検定における共存する RAR リガンド(Am80)の作用増強活性」を調べたところ、TZ335 (9)は既存の RXR リガンドと同様のレチノイド作用増強活性をより強力に発揮した(図 3)。これらの化合物はレセプター転写活性化試験からも RXR を介してその作用を発現していることが判明した。

図 3 仮想ライブラリー検索によるRXRリガンドのデザインと活性

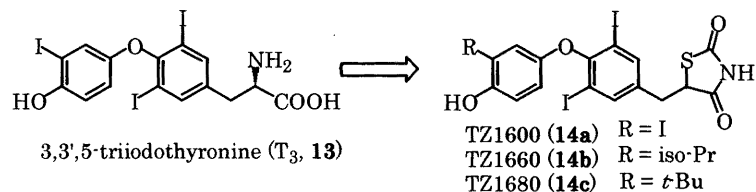


レチノイドレセプター RAR、RXR においてリガンドのカルボキシル基がチアゾリジン環によって代替可能であることがわかったので、この性質を応用する目的で核内レセプター TR を標的とするチロイドホルモン 3,3',5-triiodothyronine (T<sub>3</sub>, 13)の骨格にチアゾリジン環を導入した化合物(14)を合成した

(図 4)。合成した化合物をチロイドホルモンレセプター TR $\alpha$  に対する転写活性化試験でその

活性を判定したところ、TZ1660 (14b)に T<sub>3</sub> とほぼ同等の活性を見い

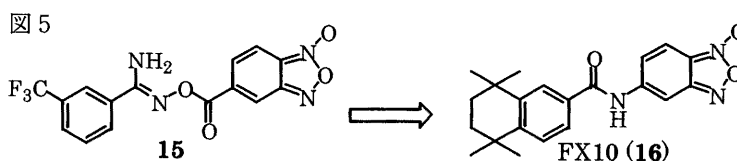
図 4 チアゾリジン環を有するチロイドホルモン誘導体



だし、チロイドホルモンにおいてもその極性基がチアゾリジン環で代替できることが確認された。

### 他のカルボン酸等価性基の探索

チアゾリジン誘導体のレセプター結合には環内イミド結合が関与していると考えられる。しかし、類似のイミド構造を含む種々の複素5,6員環の導入を試みたが、いずれも高い活性を得るにはいたらず、チアゾリジン環だけが有効であった。そこで、チアゾリジン環以外のカルボン酸代替極性基を探索する目的で、市販データベースを用いて計算化学的にリガンド候補化合物を検索した。即ち、約6万個の市販化合物の構造を三次元化し、hRAR $\alpha$ モデル構造のリガンド結合領域に安定に結合しうる化合物を検索したところ、図5に示したようなベンゾフロキサンの誘導体

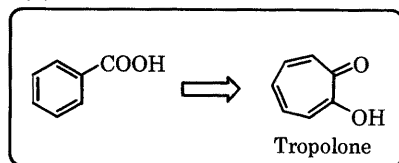


がリガンド候補化合物として得られた。化合物15は、HL-60細胞を用いた検定試験ではレチノ

イド作用を抑制するアンタゴニストであることがわかったが、ベンゾフロキサンをRARアゴニストであるAm580(6, 図2)の構造とハイブリッドさせたFX10(16)は弱いながらも分化誘導作用を示した。活性向上のための構造最適化が必要ではあるが、カルボン酸等価性基としてベンゾフロキサン環が代替しうるということがわかった。

### 安息香酸等価性基としてのトロポロン環

図6



トロポロン(2-ヒドロキシ-2,4,6-シクロヘプタトリエン-1-オン、図6)は、安息香酸の異性体であり、平面7員環構造を持つ安定な非ベンゼン系芳香族化合物の一種である。ト

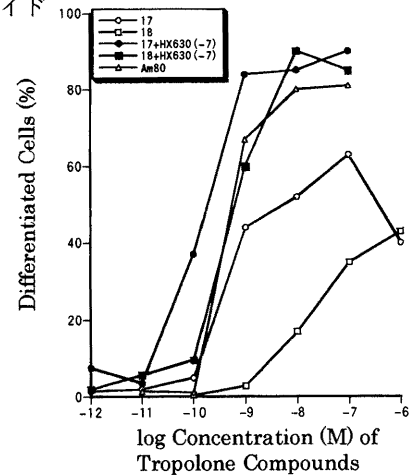
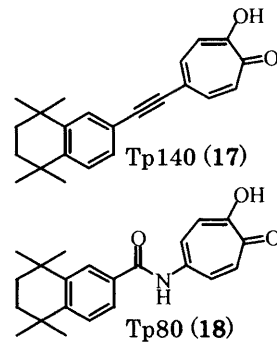
ロポロンはカルボン酸のビニログに相当するイオン構造の寄与により酸性を示すことから、トロポロン環が安息香酸の等価体として働くと考え、レチノイド(RARアゴニスト)の安息香酸部分をトロポロンで置き換えたTp140(17), Tp80(18)(図7)などをデザイン・合成し、その活性を検討した。その結果、Tp140(17), Tp80(18)のようなトロポロン誘導体

に単独での分化誘導活性がみられたが、有効濃度が高く、かつ最大応答数が50%程度で飽和した。しかしながら、この化合物の活性はRXRリガンド(レチノイド作用増強剤)を共存させると通常のRARアゴニストに対するシナジスト効果よりも著しく上昇することがわかった。その作用特性をRAR、RXR

を用いた転写活性化試験により検討したところ、これらトロポロン誘導体は、低濃度ではRARに結合・活性化することにより分化誘導活性を引き起こし、高濃度ではヘテロダイマ

ーのパートナーであるRXRに結合・活性化することでそれ自身の作用を抑制していることが考えられる。このようにRARアゴニスト、RXRアンタゴニストの作用を併せ持つ化合物はこれまで例がなく、その作用特性に興味を持たれる。

図7 トロポロン環を有するレチノイド



【総括】レチノイドレセプターRAR及びRXRのリガンドにおいて活性に必須とされるカルボキシル基をチアゾリジン環で代替することに成功した。特にRXRに特異的なリガンドとして既存の化合物よりも高い活性を示す化合物を見いだした。チアゾリジン環のカルボキシル基等価性は、チロイドホルモンレセプターリガンドにも応用でき、T<sub>3</sub>に匹敵するほどの活性が得られた。またフロキササンやトロポロンなどのユニークな構造を持つ化合物にレチノイド活性を見出したが、これが通常のレチノイドとは異なる生物学的特性を持つことが示唆された。以上の結果は、チアゾリジン環、ベンゾフロキササン環、トロポロン環がカルボキシル基(安息香酸)の生物学的等価体として分子設計に用いることを示したと共に、得られた核内レセプターリガンドは、カルボン酸誘導体とは異なるレセプター特異性、体内動態が期待され、レチノイドによる複雑な核内情報伝達系の制御の解明もしくは医薬への応用に一役を担うであろう。