

平成22年 4月 7日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20790105

研究課題名 (和文) レチノイン酸を母核とする核内受容体アゴニストの探索

研究課題名 (英文) Research of retinoic acid-modified nuclear receptor agonist

研究代表者

沖津 貴志 (OKITSU TAKASHI)

神戸薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：50441209

研究成果の概要 (和文)：

レチノイド X レセプター (RXR) のリガンド分子は癌のみならずメタボリック症候群の原因である高脂血症や糖尿病の治療薬としての可能性を秘めている。私は RXR リガンドである 9Z-レチノイン酸の短工程合成法を独自に開発し、また共通の合成中間体を用いた 9Z-レチノイン酸誘導体の効率的合成法を確立した。合成した誘導体のうち、(-)-メントール由来の誘導体において強い RXR $\alpha$ アゴニスト活性が、インドールを有する化合物に RXR $\alpha$ > $\gamma$ 選択性が発現することを見出した。また本研究過程において、ヨード環化反応を利用したベンゾフランやスピロ環の新規合成法を発見し、その一般性を確立することにも成功した。

研究成果の概要 (英文)：

The ligand molecules of retinoid X receptors (RXRs) are candidates for therapeutic agents of metabolic syndrome such as dyslipidemia and type II diabete. The natural ligand of RXR is 9Z-retinoic acid so that I have developed an efficient synthesis of 9Z-retinoic acid and its analogs. Among them, (-)-menthol congener had strong RXR $\alpha$  agonist activity. It is noteworthy that an analog having indole showed isotype selectivity (RXR $\alpha$ > $\gamma$ ). In the process of my project, I also discovered novel iodocyclizations leading to benzofurans and spiro compounds.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,300,000	390,000	1,695,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：医薬分子設計、核内受容体、レチノイド、RXR、RAR

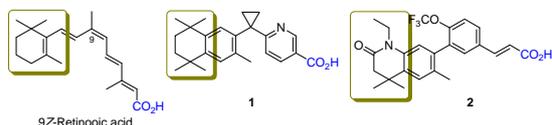
## 1. 研究開始当初の背景

レチノイド X レセプター(RXR)は核内受容体スーパーファミリーに属し、9Z-レチノイン

酸をシグナル分子とするレチノイドタンパク質である。RXR は  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  の三種のサブタイプを持ち特異的に遺伝子の制御に関わ

り、動物の発育、成長、生殖、免疫、上皮細胞の分化など非常に重要な役割を担っている。RXR はリガンドにより活性化され、転写因子として機能する。RXR はホモダイマー (RXR-RXR) またはヘテロダイマー (RXR-RAR (レチノイン酸レセプター)、RXR-LXR (肝 X レセプター)、RXR-PPAR (ペルオキシソーム増殖活性レセプター)、RXR-FXR (ファルネソイド X レセプター)、RXR-TR (甲状腺レセプター)、RXR-VDR (ビタミン D レセプター) など) を通して遺伝子転写を制御する。これらのレセプターは多くの代謝経路に影響を与え、そのリガンド分子は白血球治療や、メタボリック症候群の原因である脂質代謝異常症、糖尿病などの代謝異常の改善に効果を示すことが知られている。このことから、RXR をターゲットとした医薬品の創出が世界中で活発に行われている。

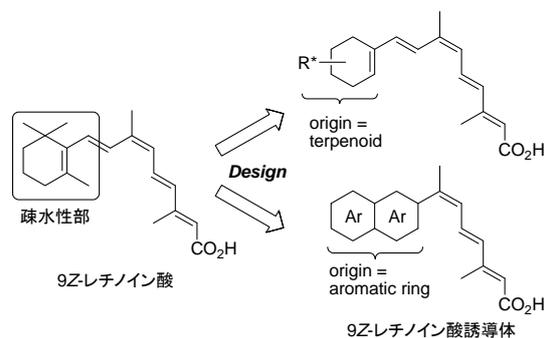
これまでに報告されている RXR アゴニストは、いずれも立体的にある程度かさ高い疎水性ユニット、共役系ユニット、及び親水性ユニットから成り、9Z-レチノイン酸のシクロヘキセン環に相当する部位にはある程度の立体的なかさ高さが RXR に対するアゴニスト活性の向上に必須であると考えられる。また RAR よりも RXR に対する選択性を向上させるためには L 字型のコンフォメーションを形成することが重要であることが知られており、特に疎水性ユニットにおいてはその配座を保持する目的で、シクロプロピル基で構造を固定した例 (化合物 1) や  $\alpha$ -メチル効果を利用した例 (化合物 2) も報告されている。



## 2. 研究の目的

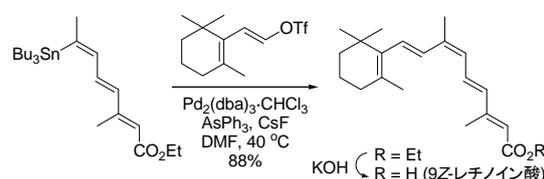
私は上記の背景のもと、9Z-レチノイン酸のシクロヘキセン環部位を、立体要求のある脂肪環にすれば、対応する誘導体のコンフォメーションが L 字型をとることができ、RXR に対するアゴニスト活性が増強されるものと考えた。さらに 9Z-レチノイン酸はテルペノイドの一種であることをヒントにし、立体要求のある脂肪環はテルペノイド由来の天然物をモチーフにすることを思いついた。すなわち、容易に入手可能な脂肪環化合物としてテルペノイド (例えばメントール、カンファーなど) を出発原料とした 9Z-レチノイン酸誘導体を創出することを計画した。なおテルペノイドを疎水性ユニットに組み込んだ RXR アゴニストについてはこれまでに報告例がないことから、ターゲット化合物としてのオリジナリティーは極めて高く、その生物活性が期待される。また、芳香環を疎水性ユ

ニットとして組み込んだ誘導体についても、共役側鎖との平面性の解消に伴う L 字型コンフォメーションを期待できるものと考え、併せて合成並びにアゴニスト活性を検討することにした。



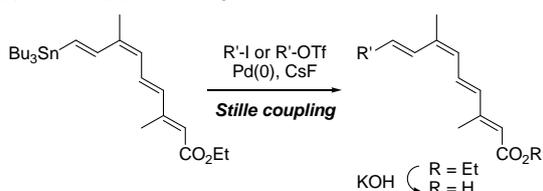
## 3. 研究の方法

当研究室では 9Z-レチノイン酸及びその母核を有する誘導体の合成を行い、その RXR に対する生物活性を評価してきた。しかしこれまでの誘導体の合成法では工程数の長さに課題があり、より短工程かつ一般性の高い合成ルートが望まれていた。そこで私は本研究の第一段階として、誘導体の網羅的合成をも可能とする 9Z-レチノイン酸の収束型合成法を確立した (*Chem. Commun.* **2008**, 6330-6332.)。本合成ルートのポイントは、CsF を用いる Stille カップリングを鍵反応とした点である。その特徴としては、①汎用性ユニットであるスズ化合物が市販品から短工程で大量に合成が可能であること、②通常反応が進行しにくいとされる電子吸引性基を有するスズ化合物でも Stille カップリングが首尾良く進行すること、③緩和な条件下での反応 (40-45 °C) であること、④反応において E/Z の異性化を伴わないこと、⑤カップリングパートナーであるヨウ素体もしくはトリフラート体が入手できれば、9Z-レチノイン酸誘導体の合成が可能であること、⑥反応混合物を KF-silica を固定相に用いたカラムで精製することから、スズ化合物の残留が見られないことなどが挙げられる。



また、Stille カップリングの相手となるヨウ素体もしくはトリフラート体は市販品より入手するか、もしくはカルボニル化合物から容易に調製可能である。更に、上記で用いたスズエステルよりも 2 炭素共役系を伸長したスズ化合物についても合成し、本カップリング反応が適用可能であることも確認した。従って、双方のスズエステルを使い分けること

によって様々な 9Z-レチノイン酸誘導体の合成が可能となった。

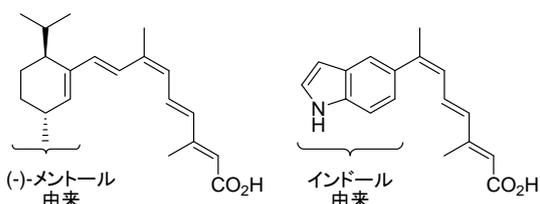


合成した誘導体の RXR 及び RAR アゴニスト活性評価法として、ルシフェラーゼをトランスフェクトしたベクターを用いて転写活性を測定することとした。更に、RXR のアイソタイプ選択性についても検討した。

#### 4. 研究成果

上記合成法により、テルペノイドや芳香環を組み込んだ 9Z-レチノイン酸誘導体(計 24 種)の網羅的合成に成功した。

次いで得られた誘導体について RXR 及び RAR 転写活性を評価した結果、(-)-メントール由来の誘導体において強い RXR $\alpha$  アゴニスト活性を示すことが判明した。更に、インドールの 5 位に共役側鎖を有する化合物に RXR $\alpha$ > $\gamma$  選択性が発現することを見出した。本知見は、従来の RXR アゴニストで必須とされていた脂溶性部位に水素結合可能なインドールを配することでアイソタイプ選択性が発現した点で大変興味深い。

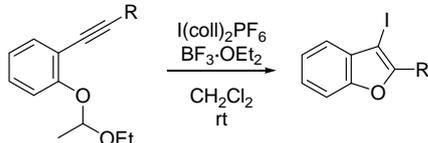


●RXR>RAR selective  
●high RAR $\alpha$  agonist

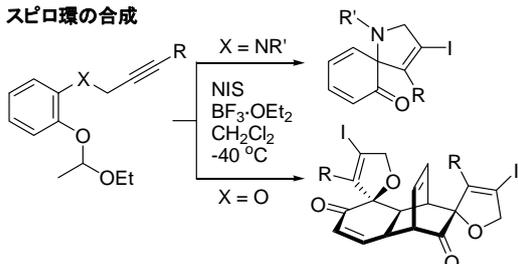
●RXR $\alpha$ > $\gamma$  selective

また本研究過程において、ヨード環化反応を利用したベンゾフランやスピロ環の新規合成法を発見し、その一般性を確立することにも成功した (*Org. Lett.* **2008**, *10*, 4967-4970; *Synlett* **2010**, 203-206.)。なお、スピロ環合成法

#### ベンゾ[b]フランの合成



#### スピロ環の合成



については、Thieme 社のハイライト雑誌である *Synfacts* に取り上げられ、国際的に高い評価を受けた (*Synfacts* **2010**, 407.)。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

- ① Okitsu, T.; Nakazawa, D.; Nakagawa, K.; Okano, T.; Wada, A. Synthesis and biological evaluation of 9Z-retinoic acid analogs having 2-substituted benzo[b]furan; *Chem. Pharm. Bull.* **2010**, *58*, 418-422. (査読有)
- ② Okitsu, T.; Nakazawa, D.; Kobayashi, A.; Mizohata, M.; In, Y.; Ishida, T.; Wada, A. *ipso*-Iodocyclization of ethoxyethyl ethers to alkynes at the *ortho*-position: an efficient synthesis of functionalized spiro compounds; *Synlett* **2010**, 203-206. (査読有)
- ③ Fujioka, H.; Kubo, O.; Senami, K.; Okamoto, K.; Okitsu, T.; Kita, Y. Organic chemistry using weakly electrophilic salts: the reaction with nitrogen nucleophiles; *Heterocycles* **2009**, *79*, 1113-1120. (査読有)
- ④ Fujioka, H.; Kubo, O.; Okamoto, K.; Senami, K.; Okitsu, T.; Ohnaka, T.; Sawama, Y.; Kita, Y. Mild and efficient deprotection of acetal-type protecting groups of hydroxyl functions by triethylsilyl triflate-2,4,6-collidine combination; *Heterocycles* **2009**, *77*, 1089-1103. (査読有)
- ⑤ Ito, M.; Sudo, Y.; Furutani, Y.; Okitsu, T.; Wada, A.; Homma, M.; Spudich, J. L.; Kandori, H. Steric constraint in the primary photoproduct of sensory rhodopsin II is a prerequisite for light-signal transfer to HtrII; *Biochemistry* **2008**, *47*, 6208-6215. (査読有)
- ⑥ Okitsu, T.; Iwatsuka, K.; Wada, A. Caesium fluoride-promoted Stille coupling reaction: An efficient synthesis of 9Z-retinoic acid and its analogues using a practical building block; *Chem. Commun.* **2008**, 6330-6332. (査読有)
- ⑦ Okitsu, T.; Nakazawa, D.; Taniguchi, R.; Wada, A. Iodocyclization of ethoxyethyl ethers to alkynes: A broadly applicable synthesis of 3-iodobenzo[b]furans; *Org. Lett.* **2008**, *10*, 4967-4970. (査読有)

[学会発表] (計 25 件)

- ① 沖津貴志, 佐藤可奈, 和田昭盛 ヒドラジドを求核種とするヨード環化反応の開発; 日本薬学会第 130 年会, 2010 年 3 月 28 日(岡山)
- ② 沖津貴志, Potewar, T. M., 佐藤可奈, 和田昭盛 アルコキシアミン類を求核種とす

- るヨード環化反応の開発; 日本薬学会第130年会, 2010年3月28日(岡山)
- ③ 沖津貴志, 岩塚欣也, 澤田夏美, 中川公恵, 岡野登志夫, 和田昭盛 9Z-レチノイン酸及び誘導体の高効率的合成と転写活性; 第28回メディシナルケミストリーシンポジウム, 2009年11月25日(東京)
  - ④ 沖津貴志, 佐藤可奈, 澤田夏美, 中川公恵, 岡野登志夫, 和田昭盛 テルペノイド由来疎水性ユニットを組み込んだ 9Z-レチノイン酸の合成と転写活性; 第28回メディシナルケミストリーシンポジウム, 2009年11月25日(東京)
  - ⑤ 沖津貴志, 佐藤可奈, 和田昭盛 ヨード環化反応を利用したジドロピラゾール及びピラゾールの選択的合成; 第29回有機合成若手セミナー, 2009年11月24日(神戸)
  - ⑥ 沖津貴志, 岩塚欣也, 和田昭盛, 中川公恵, 岡野登志夫 9Z-レチノイン酸の効率的合成とその応用; 第20回日本レチノイド研究会, 2009年11月21日(東京)
  - ⑦ 沖津貴志, 中澤大祐, 小林亮広, 溝畑雅裕, 和田昭盛 ヨウ素環化反応を機軸とするスピロ環の合成; 第35回反応と合成の進歩シンポジウム, 2009年11月16日(金沢)
  - ⑧ Okitsu, T.; Nakazawa, D.; Wada, A. Concise Construction of 3-Iodobenzo[b]furans by Iodocyclization; *The Eleventh International Kyoto Conference on New Aspects of Organic Chemistry*, 2009年11月10日(京都)
  - ⑨ 和田昭盛, 須原義智, 山野由美子, 沖津貴志 重水素標識したゲラニルゲラニオールおよびビタミンKの合成; 第53回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会, 2009年11月7日(生駒)
  - ⑩ 沖津貴志, 中澤大祐, 和田昭盛 ヨウ素環化反応を用いるベンゾフラン類の網羅的合成; 第59回日本薬学会近畿支部総会・大会, 2009年10月24日(東大阪)
  - ⑪ 沖津貴志, 佐藤可奈, 和田昭盛 ヒドラジン誘導体を求核種とするヨウ素環化反応の開発; 第59回日本薬学会近畿支部総会・大会, 2009年10月24日(東大阪)
  - ⑫ 沖津貴志, 中澤大祐, 小林亮広, 溝畑雅裕, 尹康子, 石田寿昌, 和田昭盛 ヨウ素環化反応を活用する多官能性スピロ複素環の合成; 第59回日本薬学会近畿支部総会・大会, 2009年10月24日(東大阪)
  - ⑬ Okitsu, T.; Nakazawa, D.; Wada, A. Domino process of iodocyclization and Diels-Alder reaction for the construction of bridgehead-spiro heterocycles; *22nd International Congress on Heterocyclic Chemistry*, 2009年8月4日(St. John's)
  - ⑭ 沖津貴志, 中澤大祐, 小林亮広, 溝畑雅裕, 和田昭盛 ヨウ素環化反応を利用する複素環合成; 第7回次世代を担う有機化学シンポジウム, 2009年7月23日(吹田)
  - ⑮ 沖津貴志, 岩塚欣也, 中澤大祐, 和田昭盛, 中川公恵, 岡野登志夫環修飾レチノイン酸アナログの生物活性における置換基効果; 第324回脂溶性ビタミン総合研究委員会, 2009年7月10日(神戸)
  - ⑯ 沖津貴志, 岩塚欣也, 中川公恵, 岡野登志夫, 和田昭盛 9Z-レチノイン酸及び誘導体の高効率的合成と生物活性; 日本ビタミン学会第61回大会, 2009年5月31日(亀岡)
  - ⑰ 和田昭盛, 沖津貴志, 岩塚欣也, 中川公恵, 岡野登志夫 4-置換-2H-クロメン環を有するレチノイン酸類の合成と生物活性; 日本ビタミン学会第61回大会, 2009年5月31日(亀岡)
  - ⑱ 沖津貴志, 中澤大祐, 小林亮広, 溝畑雅裕, 尹康子, 石田寿昌, 和田昭盛 ヨウ素環化反応による多官能性スピロ化合物の合成; 日本薬学会第129年会, 2009年3月28日(京都)
  - ⑲ 中澤大祐, 沖津貴志, 松岡るみ, 和田昭盛 ヨウ素環化反応を用いた 3-iodobenzob[b]furanの簡便構築法における置換基の効果; 日本薬学会第129年会, 2009年3月28日(京都)
  - ⑳ 和田昭盛, 沖津貴志, 岩塚欣也, 中川公恵, 岡野登志夫 4-置換-2H-クロメン環を有するレチノイン酸類の合成と生物活性について; 日本レチノイド研究会第19回学術集会, 2008年11月22日(東京)
  - 21 沖津貴志, 中澤大祐, 谷口理恵, 和田昭盛 ヨウ素環化反応を利用するベンゾフラン環の簡便構築法; 第34回反応と合成の進歩シンポジウム, 2008年11月4日(京都)
  - 22 沖津貴志, 中澤大祐, 谷口理恵, 和田昭盛 3-ヨードベンゾフランの新規合成法; 第58回日本薬学会近畿支部総会・大会, 2008年10月25日(神戸)
  - 23 岩塚欣也, 沖津貴志, 和田昭盛 9Z-レチノイン酸の効率的合成とアナログ合成への応用; 第50回天然有機化合物討論会, 2008年10月1日(博多)
  - 24 岩塚欣也, 沖津貴志, 和田昭盛 9Z-レチノイン酸とその誘導体の効率的合成法; 第22回カロテノイド研究談話会, 2008年6月28日(沖縄)
  - 25 Okitsu, T.; Iwatsuka, K.; Wada, A. AN EFFICIENT SYNTHESIS OF 9Z-RETINOIC ACID AND ITS ANALOGUES USING A PRACTICAL BUILDING BLOCK; THE 15<sup>th</sup> INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON

- CAROTENOIDS, 2008年6月25日(沖縄)  
26 岩塚欣也、沖津貴志、和田昭盛 9Z-レチ  
ノイン酸とその誘導体の効率的合成法;  
第22回カロテノイド研究談話会, 2008年  
6月28日(沖縄)

[その他]

ホームページ

<http://www.kobepharma-u.ac.jp/~ocls/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

沖津 貴志 (OKITSU TAKASHI)

神戸薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：50441209