

## レチノイド X 受容体を標的に単剤 1 型・2 型糖尿病治療薬候補化合物創製に挑む

加来田博貴

**Challenge of Creating Single-agents for the Treatment of Type 1 and 2 Diabetes by Targeting Retinoid X Receptor**

Hiroki KAKUTA

*Okayama University, Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences,  
1-1-1 Tsushima-Naka, Kita-ku, Okayama 700-8530, Japan*

(Received September 22, 2010)

It might be seen as reckless to challenge to create single-agents for the treatment of both type 1 diabetes caused by the destruction of the Langerhans  $\beta$  cells in pancreas by excessive autoimmunity, and type 2 diabetes caused by the obesity. However, we hypothesized that retinoid X receptor (RXR) agonists, which are researched for the treatment of type 2 diabetes, will also be useful like metformin, which shows insulin-sparing effect in type 1 diabetes. This is because PPAR $\gamma$ /RXR is known to be a target of thiazolidinediones (TZDs), which are used for the treatment of insulin resistance, LXR/RXR is reported to be involved in glucose/lipid metabolism, and these heterodimers can be activated by RXR agonists alone (permissive mechanism). However, repeated administration of RXR agonists can elevate blood triglyceride and induce hypothyroidism. In this study, we performed systematic conversion of the alkoxy side chain of **5a** (6-[ethyl-(3-isopropoxy-4-isopropylphenyl)amino] nicotinic acid: NEt-3IP) and evaluated the RXR-, PPAR/RXR- and LXR/RXR-agonist activities of the products. The cyclopropylmethoxy analog (**5c**) showed similar RXR- and LXR/RXR-agonistic activities to the benzyloxy analog (**5i**) and n-propoxy analog (**5k**), but exhibited more potent PPAR/RXR-agonistic activity than **5i** or **5k**. Differential modulation of RXR heterodimer-activating ability by conversion of the alkoxy group located in the lipophilic domain of the RXR-agonist common structure is expected to be a useful approach in the design of new RXR agonists for the treatment of hyperlipidemia.

**Key words**—diabetes mellitus; retinoid X receptor (RXR); RXR-permissive heterodimer; type 1 diabetes; type 2 diabetes

**1. はじめに**

2 型糖尿病にはインスリン分泌を促すインスリン分泌促進薬 (例えば SU 剤, インクレチン製剤, DPP-IV 阻害剤) やインスリン抵抗性改善薬 (PPAR $\gamma$  アゴニスト, ビグアナイド剤), またグルコースの吸収を遅延させる  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害薬などが開発され臨床応用されている。しかし, インスリン分泌促進薬は, インスリン分泌能の低下した膵臓に鞭打つようなもので, 膵臓の機能低下を起こしかねない。一方, 1 型糖尿病にはインスリンが用いられるが, 思春期の 1 型糖尿病患者はインスリ

ン抵抗性物質である成長ホルモンが多く分泌されるため, メトホルミンなどを適応する研究等が進められている。<sup>1)</sup>このような状況から, 筆者らはインスリン分泌促進によらない経口性血糖降下剤は 1 型 2 型糖尿病を問わず有用であると考え, そのような要求に応えられる化合物創出を目的に研究を開始した。

筆者らが注目したのは, レチノイド X 受容体 (RXR) である。RXR は, 自身のホモダイマー, 若しくは Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR), Liver X receptor (LXR), Farnesoid X receptor (FXR), Retinoic acid receptor (RAR) などとヘテロダイマーを形成し機能する, リガンド結合依存的な転写因子である核内受容体の 1 つである。<sup>2-4)</sup> RXR ヘテロダイマーの中でも, PPAR $\gamma$ /RXR の PPAR $\gamma$  はインスリン抵抗性改善薬であるチアゾリジンジオン (TZD) の分子標的として,<sup>5)</sup>

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 (〒700-8530 岡山市北区津島中 1-1-1)

e-mail: kaktua@pharm.okayama-u.ac.jp

本総説は, 日本薬学会第 130 年会シンポジウム S15 で発表したものを中心に記述したものである。

LXR/RXR は糖代謝や脂質代謝に係わることが知られ、その活性化により血糖降下作用が報告されている。<sup>6,7)</sup> これらのヘテロダイマーは、それぞれ PPAR アゴニスト、また LXR アゴニストで活性化されるが、RXR アゴニスト共存によるシナジー作用や、<sup>8)</sup> RXR アゴニスト単独でのヘテロダイマー活性化能も知られている。<sup>9)</sup> 後者の機能がみられる RXR ヘテロダイマーパートナーは RXR パーミッシブパートナーと言われ、<sup>9)</sup> PPAR, LXR, FXR などが RXR パーミッシブパートナーとして知られている。RXR のパーミッシブ機構に注目すると、RXR アゴニストは、単独で複数のパーミッシブヘテロダイマーの転写活性化能を調整できると考えられ、糖・脂質代謝に関する総合的な治療効果が期待できるため、大変興味深く思われた。2型糖尿病のようなインスリン抵抗性、1型糖尿病などの自己免疫疾患は、PPAR $\gamma$ , LXR $\alpha$  の関与が示唆されており、<sup>10-12)</sup> RXR ヘテロダイマーの同時的な調節を行うことができれば、RXR による複合因子のトータルの調節という観点で相乗的な薬理作用が考えられる。

RXR アゴニストは、アメリカにおいて LGD1069 (**1**) (Targretin<sup>®</sup>) (Fig. 1) が皮膚浸潤性 T 細胞リンパ腫治療薬に利用されている。<sup>13-15)</sup> さらに、前述した RXR の特徴から、本化合物また、種々の RXR アゴニストについてメタボリックシンドロームなどに対する治療薬への応用が研究されてき

た。<sup>16)</sup> しかし、多くの RXR アゴニストはその連続投与による血中トリグリセリド (TG) の上昇や甲状腺機能低下症などが問題視されている。<sup>17-19)</sup> そのため、RXR アゴニストのメタボリックシンドローム治療に関する研究は下火にある。そのような中、RXR アゴニストである PA024 (**2**) 及び HX630 (**3**) (Fig. 1) は、その分子構造の違いにより PPAR/RXR と LXR/RXR の活性化能に差が生じ得ることが報告され、<sup>20)</sup> RXR アゴニストの分子構造によっては、上述する副作用回避の可能性が考えられた。

RXR アゴニストの分子構造は、概して 1,1,4,4-テトラメチルテトラリン構造を主体とする脂溶性部位、安息香酸やニコチン酸からなる酸性部位、及びそれらを連結するリンカー部位から構成される。これまでにわれわれは、上述する副作用回避を目的に、酸性部位のカルボキシル基を 5-テトラゾリル基や、ヒドロキサム酸などのカルボン酸等価体へ変換した化合物を合成し、それらの RXR 活性化能、さらに PPAR/RXR 及び LXR/RXR に対する活性化能を比較した。<sup>21)</sup> その結果、酸性部位のカルボキシル基の構造変換において、RXR アゴニスト活性化能と RXR ヘテロダイマー活性化能はパラレルの関係にあるという知見を得ている。<sup>21)</sup> またわれわれは、既知の RXR アゴニストの脂溶性低減を目的に、脂溶性部位にアルコキシ基を導入した NEt-3IP (**5a**) や NEt-3IB (**5b**) など (Fig. 1) を報告している。<sup>22)</sup> 既存の RXR リガンドの脂溶性部位は、その

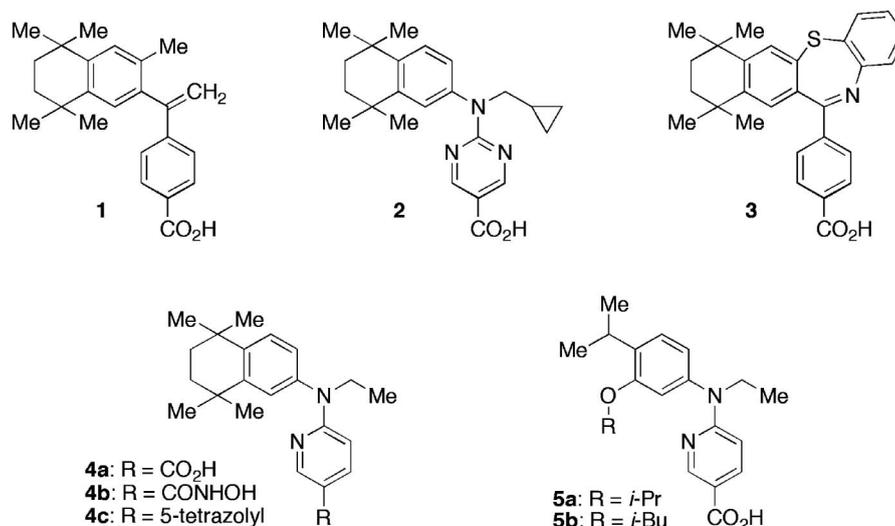


Fig. 1. Chemical Structures of RXR Agonists

ほとんどが1,1,4,4-テトラメチルテトラリン構造を有することから、この部位の構造変換によるRXRアゴニスト活性はもちろんのこと、RXRヘテロダイマー活性化能にも興味を持たれた。化合物**5a**の有するイソプロポキシ基は塩化アルミニウムで容易に脱イソプロピル化が可能であることから、生じる水酸基を種々アルキル化した化合物を合成し、そのRXR活性化能、さらにPPAR/RXR及びLXR/RXRに対する活性化能を比較した。その結果、**1**と**4a**, **5b**は、ほぼ同程度のRXR活性化能を示すのに対し、PPAR/RXR及びLXR/RXRにおいて全く異なる挙動を示すこと、さらに**4a**と**5b**におい

ては脂溶性部位の構造展開により、RXR活性化能とヘテロダイマー活性化能との序列が変わることを見出した。またcyclopropylmethyl structureを有する**5c** (Table 1)が、同程度のRXR $\alpha$ アゴニスト活性を示す*n*-pentylやbenzylを有する**5i**, **5k** (Table 1)と比較して、ほぼ同程度のLXR/RXR活性化能であったのに対し、PPAR/RXRを顕著に活性化することを見出した。<sup>23)</sup> 本稿では、各種アルコキシ基を有するRXRアゴニストのRXR活性化能さらに同程度のRXR活性を有する化合物のPPAR/RXR及びLXR/RXR活性について紹介する。

Table 1. Co-transfection Data for **1**, **4a** and **5a–5m**

Compound	Skeleton	R	n	RXR $\alpha$	
				EC <sub>50</sub> (nM)	E <sub>max</sub> (%)
<b>1</b>		—	—	20±3	100
<b>4a</b>		—	—	5.3±1.0	94±1
<b>5a</b>		<i>i</i> -Pr	—	66±9	97±6
<b>5b</b>		<i>i</i> -Bu	—	19±6	114±0
<b>5c</b>		CH <sub>2</sub> c-Pr	—	290±40	95±4
<b>5d</b>			—	110±20	110±0
<b>5e</b>			—	160±80	91±3
<b>5f</b>		CH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	—	160±30	100±0
<b>5g</b>		—	1	450±80	120±0
<b>5h</b>		—	2	180±30	100±10
<b>5i</b>		—	3	160±20	96±7
<b>5j</b>		—	4	280±150	77±4
<b>5k</b>		—	1	160±60	98±2
<b>5l</b>		—	2	330±120	99±4
<b>5m</b>		—	3	820±110	78±6

The assay was performed using COS-1 cells. All values represent the standard error of the mean value of at least three separate experiments with triplicate determinations. EC<sub>50</sub> values were determined from full dose-response curves ranging from 10<sup>-8</sup> to 10<sup>-5</sup> M in COS-1 cells. Luciferase activity of **1** at 1  $\mu$ M was defined as 100%.

## 2. 合成及び活性評価

3-イソプロポキシ基を種々のアルコキシ基に変換した化合物の合成を行い、COS-1細胞を用いたルシフェラーゼレポーター遺伝子アッセイにより活性評価を行った。RXRに対する活性化能をTable 1に示す。化合物**5b**に顕著なRXR活性がみられることから、この化合物の末端イソプロピル部位を閉環化した化合物**5c**や、二重結合を有する化合物**5d**、**5e**について評価したところ、活性値は減弱したものの、100 nM付近のEC<sub>50</sub>を与えた。また、CF<sub>3</sub>基を有する化合物**5e**においても二重結合を有する化合物群と同程度の活性を示したことから、直鎖アルキル鎖を有する化合物について興味を持たれた。

面白いことに、アルキル鎖を*n*-プロピル基から*n*-ブチル基、さらに*n*-ペンチル基へと伸張すると、活性の向上がみられた。*n*-ヘキシル基でも200 nM程度のEC<sub>50</sub>を与えたことから、これらの結合するRXR部位においてキャビティーの存在が示唆された。そこで、フェニル基を有する化合物について評価したところ、フェニル基と酸素を連結するスペーサーが長くなるにつれ活性の低下がみられたものの、評価した化合物はいずれも数100 nMのEC<sub>50</sub>を与えることがわかった。これより、アルコキシ基を有するRXRアゴニストの3位アルコキシ基が接触するRXRの空間領域が大きいことが示唆された。

このように、各種アルコキシ基を有する化合物群**5**にRXR活性化能が示されたことから、これらの中で、RXR活性化能がほぼ同程度でかつ構造的に特徴がある化合物について、RXRパーミッシブ/シナジー作用が期待される核内受容体であるPPAR、LXR及びRXRとのヘテロダイマーでの活性評価を行った。Figure 2には選択した化合物のRXRに対する濃度依存活性化曲線を示すが、概して化合物**1**、**4a**、**5b**、また化合物**5c**、**5i**、**5k**が、それぞれほぼ同様な活性化曲線を与える。

前者の群である化合物**1**、**4a**、**5b**について、PPAR $\gamma$ 、LXR $\alpha$ 及びPPAR/RXR、LXR/RXRに対するアゴニスト活性を比較した(Fig. 3)。RXRヘテロダイマーパートナーの中からPPAR $\gamma$ 及びLXR $\alpha$ を対象にしたのは、これらの受容体がインスリン抵抗性や血糖調節、また炎症や免疫機能に関与することが広く研究されているからである。<sup>6,9,11,24-27</sup> いずれの化合物ともにPPARに対する活性化能はほとん

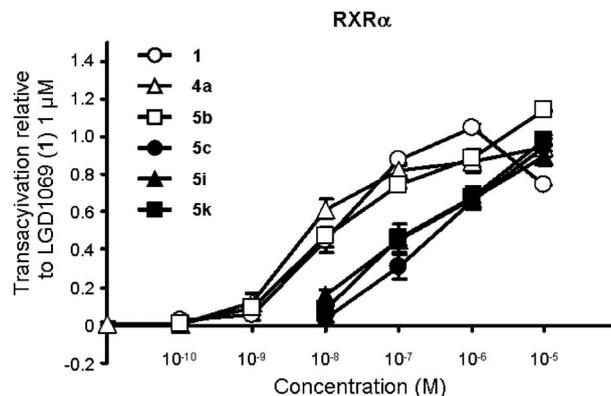


Fig. 2 RXR $\alpha$  Reporter-gene Assay

**1** (open circle), **4a** (open triangle), **5b** (open square), **5c** (closed circle), **5i** (closed triangle) and **5k** (closed square) in COS 1 cells.

どない一方で、LXRに対しては**1**と**4a**が、**5b**に比べ活性化する傾向がみられた。いずれの化合物ともヘテロダイマーを活性化するものの、興味深いことに、**1**は**4a**及び**5b**と異なり、低濃度での活性化がみられなかった。Nishimaki-Mogamiらの、構造によりヘテロダイマー活性化能が異なるとの報告<sup>20</sup>と同様に、化合物**1**は**4a**及び**5b**とは異なり、*N*-phenyl-aminonicotinic acid構造ではないことから、ヘテロダイマーに対する活性化能が**1**と**4a**とで異なる結果を与えたものと思われる。化合物**4a**と**5b**とを比較すると、RXRアゴニスト活性は、化合物濃度10<sup>-7</sup>から10<sup>-6</sup>にかけては同程度にもかかわらず、PPAR/RXR活性化能においては**5b**のほうがわずかに弱い傾向がみられ、脂溶性部位の構造変換によりRXRヘテロダイマー活性化能を調節することが可能であることが示唆された。

次に、後者の群である化合物**5c**、**5i**、**5k**について、同様な比較を行った(Fig. 4)。LXR/RXRヘテロダイマー活性化能はいずれの化合物も同程度であったが、PPAR/RXRヘテロダイマー活性化能については**5c**が他の2つの化合物と比較して強い活性化を示した。これらの化合物は酸性部位、リンカー部位は同一の構造であることから、脂溶性部位のアルコキシ基を変換することで、ヘテロダイマーの活性化能に差異を生じさせられることが示唆された。

LXRの活性化は糖代謝に関与し、2型糖尿病などの糖代謝異常症の改善に寄与できると考えられているが、<sup>6</sup> 過剰なLXR/RXRの過剰な活性化は

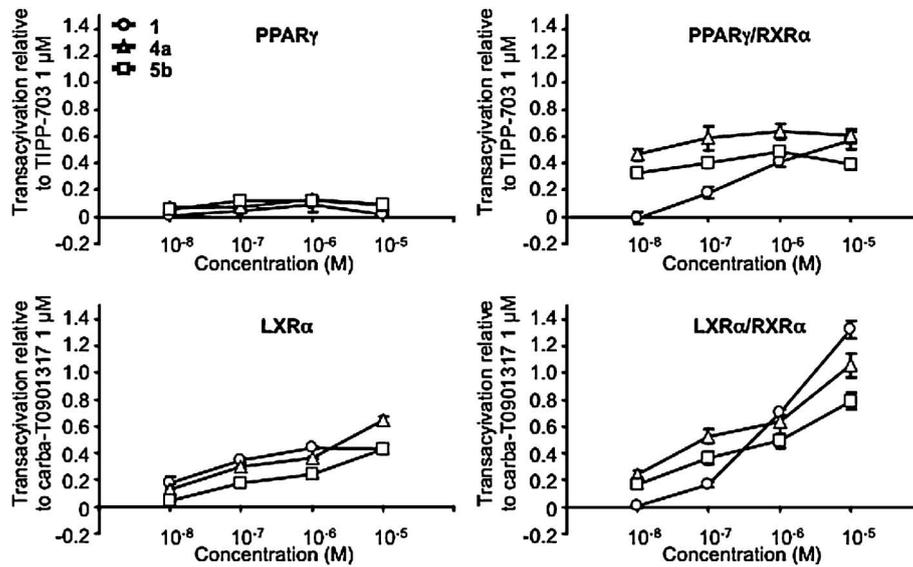


Fig. 3 Relative Transactivation Data

1 (open circle), 4a (open triangle) and 5b (open square) towards PPAR $\gamma$ , PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$ , LXR $\alpha$ , LXR $\alpha$ /RXR $\alpha$  in COS-1 cells.

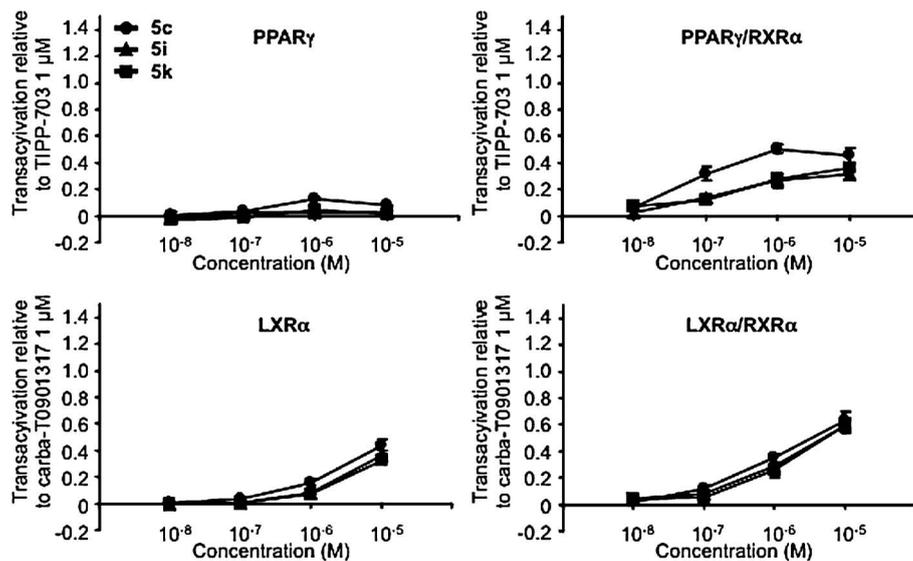


Fig. 4 Relative Transactivation Data

5c (closed circle), 5i (closed triangle) and 5k (closed square) towards PPAR $\gamma$ , PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$ , LXR $\alpha$ , LXR $\alpha$ /RXR $\alpha$  in COS-1 cells.

SREBP1-c の転写を促進し<sup>28)</sup> 血中 TG 値を上昇させる。RXR アゴニストの副作用である血中 TG 値の上昇を回避しつつ上記の治療効果には適度な LXR/RXR 活性化が有効と考えられる。PPAR $\gamma$  に関しては、その活性化により本研究で対象としたアレルギーやかゆみ、抗炎症作用、抗リウマチ作用、インスリン抵抗性改善作用などが知られるが、<sup>5,10-12,24-29)</sup> 過剰な PPAR $\gamma$  活性化は浮腫、肥満という副作用につながる。<sup>29)</sup> したがって、RXR ヘテロダイマーの efficacy を、薬効発現に必要な強度にしつつ、副作

用を示すような efficacy を回避できる RXR アゴニストが創出できれば、RXR の医薬応用の幅を広げられるであろう。

本研究では、脂溶性部位の構造展開により RXR アゴニスト活性として同程度であっても、ヘテロダイマー活性化能が変わり得ることを見出した。この知見は、RXR ヘテロダイマー活性化能を異にする RXR アゴニストを創出する上で有用な情報となるであろう。なお、創出した化合物の血糖降下作用については論文未発表であるため、詳細については

割愛させて頂く。

### 3. 結論

本研究では、一般的な RXR アゴニストが有する 1,1,4,4-テトラメチルテトラリン構造からなる脂溶性部位についてアルコキシ基を有する化合物へと構造展開し、それらの RXR 活性、並びに同程度の RXR アゴニスト活性を有する化合物に関する RXR ヘテロダイマー活性化能について評価した。その結果、脂溶性部位の構造展開により RXR アゴニスト活性として同程度であっても、ヘテロダイマー活性化能が変わり得ることを見出した。今回の知見は、新規血糖降下薬創出のための創薬ターゲットとして、RXR アゴニストの分子設計に有用な情報となるであろう。

**謝辞** 本研究を遂行するに当たり、多くの方々に協力を頂いた。特に、岡山大学大学院医歯薬学総合研究科合成薬品製造学研究分野の学生諸氏（森下健一修士、大澤史宜修士、山田翔也学士並びに篠崎亮介学士には本研究において特に多くの協力を頂いた）には多大なる貢献をして頂いた。ここに、心から深く感謝申し上げる。

### REFERENCES

- 1) Meyer L., Guerci B., *Diabetes Care*, **26**, 1655–1656 (2003).
- 2) Svensson S., Ostberg T., Jacobsson M., Norström C., Stefansson K., Hallén D., Johansson I. C., Zachrisson K., Ogg D., Jendberg L., *EMBO J.*, **22**, 4625–4633 (2003).
- 3) de Lera A. R., Bourguet W., Altucci L., Gronemeyer H., *Nat. Rev. Drug Discov.*, **6**, 811–820 (2007).
- 4) Mangelsdorf D. J., Evans R. M., *Cell*, **83**, 841–850 (1995).
- 5) Kanda S., Nakashima R., Takahashi K., Tanaka J., Ogawa J., Ogata T., Yachi M., Araki K., Ohsumi J., *J. Pharmacol. Sci.*, **111**, 155–166 (2009).
- 6) Mitro N., Mak P. A., Vargas L., Godio C., Hampton E., Molteni V., Kreuzsch A., Saez E., *Nature*, **445**, 219–223 (2007).
- 7) Schultz J. R., Tu H., Luk A., Repa J. J., Medina J. C., Li L., Schwendner S., Wang S., Thoolen M., Mangelsdorf D. J., Lustig K. D.,

- Shan B., *Genes Dev.*, **14**, 2831–2838 (2000).
- 8) Ohta K., Kawachi E., Inoue N., Fukasawa H., Hashimoto Y., Itai A., Kagechika H., *Chem. Pharm. Bull.*, **48**, 1504–1513 (2000).
- 9) Shulman A. I., Larson C., Mangelsdorf D. J., Ranganathan R., *Cell*, **116**, 417–429 (2004).
- 10) Jiang C., Ting A. T., Seed B., *Nature*, **391**, 82–86 (1998).
- 11) Su C. G., Wen X., Bailey S. T., Jiang W., Rangwala S. M., Keilbaugh S. A., Flanigan A., Murthy S., Lazar M. A., Wu G. D., *J. Clin. Invest.*, **104**, 383–389 (1999).
- 12) A-Gonzalez N., Bensinger S. J., Hong C., Beceiro S., Bradley M. N., Zelcer N., Deniz J., Ramirez C., Diaz M., Gallardo G., de Galarreta C. R., Salazar J., Lopez F., Edwards P., Parks J., Andujar M., Tontonoz P., Castrillo A., *Immunity*, **31**, 245–258 (2009).
- 13) Gottardis M. M., Bischoff E. D., Shirley M. A., Wagoner M. A., Lamph W. W., Heyman R. A., *Cancer Res.*, **56**, 5566–5570 (1996).
- 14) Rizvi N. A., Marshall J. L., Dahut W., Ness E., Truglia J. A., Loewen G., Gill G. M., Ulm E. H., Geiser R., Jaunakais D., Hawkins M. J., *Clin. Cancer Res.*, **5**, 1658–1664 (1999).
- 15) Cohen M. H., Hirschfeld S., Flamm Honig S., Ibrahim A., Johnson J. R., O’Leary J. J., White R. M., Williams G. A., Pazdur R., *Oncologist.*, **6**, 4–11 (2001).
- 16) Pinaire J. A., Reifel-Miller A., *PPAR Res.*, 94156 (2007).
- 17) Davies P. J., Berry S. A., Shipley G. L., Eckel R. H., Hennuyer N., Crombie D. L., Ogilvie K. M., Peinado-Onsurbe J., Fievet C., Leibowitz M. D., Heyman R. A., Auwerx J., *Mol. Pharmacol.*, **59**, 170–176 (2001).
- 18) Li X., Hansen P. A., Xi L., Chandraratna R. A., Burant C. F., *J. Biol. Chem.*, **280**, 38317–38327 (2005).
- 19) Liu S., Ogilvie K. M., Klausning K., Lawson M. A., Jolley D., Li D., Bilakovics J., Pascual B., Hein N., Urcan M., Leibowitz M. D., *Endocrinology*, **143**, 2880–2885 (2002).
- 20) Nishimaki-Mogami T., Tamehiro N., Sato Y., Okuhira K., Sai K., Kagechika H., Shudo K., Abe-Dohmae S., Yokoyama S., Ohno Y., Inoue K., Sawada J., *Biochem. Pharmacol.*, **76**, 1006–1013 (2008).
- 21) Fujii S., Ohsawa F., Yamada S., Shinozaki

- R., Fukai R., Makishima M., Enomoto S., Tai A., Kakuta H., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **20**, 5139–5142 (2010).
- 22) Takamatsu K., Takano A., Yakushiji N., Morohashi K., Morishita K., Matsuura N., Makishima M., Tai A., Sasaki K., Kakuta H., *ChemMedChem*, **3**, 780–787 (2008).
- 23) Ohsawa F., Morishita K., Yamada S., Makishima M., Kakuta H., *ACS Med. Chem. Lett.*, **1**, 521–525 (2010).
- 24) Joseph S. B., Castrillo A., Laffitte B. A., Mangelsdorf D. J., Tontonoz P., *Nat. Med.*, **9**, 213–219 (2003).
- 25) Chao E. Y., Caravella J. A., Watson M. A., Campobasso N., Ghisletti S., Billin A. N., Galardi C., Wang P., Laffitte B. A., Iannone M. A., Goodwin B. J., Nichols J. A., Parks D. J., Stewart E., Wiethe R. W., Williams S. P., Smallwood A., Pearce K. H., Glass C. K., Willson T. M., Zuercher W. J., Collins J. L., *J. Med. Chem.*, **51**, 5758–5765 (2008).
- 26) Fowler A. J., Sheu M. Y., Schmutz M., Kao J., Fluhr J. W., Rhein L., Collins J. L., Willson T. M., Mangelsdorf D. J., Elias P. M., Feingold K. R., *J. Invest. Dermatol.*, **120**, 246–255 (2003).
- 27) Pascual G., Fong A. L., Ogawa S., Gamliel A., Li A. C., Perissi V., Rose D. W., Willson T. M., Rosenfeld M. G., Glass C. K., *Nature* **437**, 759–763 (2005).
- 28) Yoshikawa T., Shimano H., Amemiya-Kudo M., Yahagi N., Hasty A. H., Matsuzaka T., Okazaki H., Tamura Y., Iizuka Y., Ohashi K., Osuga J., Harada K., Gotoda T., Kimura S., Ishibashi S., Yamada N., *Mol. Cell. Biol.*, **21**, 2991–3000 (2001).
- 29) Yki-Järvinen H., *N. Engl. J. Med.*, **351**, 1106–1118 (2004).