

RXR α/β 選択的アゴニスト NEt-3IP の開発と生理活性

加来田博貴¹、高松佳代¹、高野敦史¹、薬師寺信匡¹、森下健一¹、師橋一徳¹、大澤史宜¹、
原田隼¹、藤井周司¹、鄭曉霞¹、松浦信康²、槇島誠³、Hamed Ismail Ali⁴、
赤穂榮一⁴、永澤秀子⁵、杉本幸雄¹、田井章博¹、佐々木健二¹

(岡山大院・医歯薬¹、岡山理科大・理²、日本大・医³、神戸学院大・薬⁴、岐阜薬科大・薬⁵)

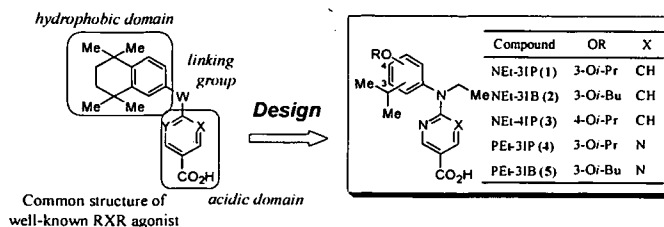
Development and biological activities of RXR α/β -selective agonist, NEt-3IP

Hiroki Kakuta¹, Kayo Takamatsu¹, Atsushi Takano¹, Nobumasa Yakushiji¹, Ken-ichi Morishita¹,
Kazunori Morohashi¹, Fuminori Ohsawa¹, Shun Harada¹, Zheng Xiaoxia¹, Shuji Fujii¹,
Nobuyasu Matsuura², Makoto Makishima³, Hamed Ismail Ali⁴, Eiichi Akaho⁴,
Hideko Nagasawa⁵, Yukio Sugimoto¹, Akihiro Tai¹, and Kenji Sasaki¹

(¹Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry, and Pharmaceutical Sciences, ²Okayama University of Science Faculty of Science, ³Nihon University School of Medicine Division of Biochemistry, Department of Biomedical Sciences, ⁴Kobe Gakuin University Faculty of Pharmaceutical Sciences, High Technology Research Center (Life Science Center), ⁵Gifu Pharmaceutical University, Pharmaceutical Science⁵)

【目的】

近年、RXR はタモキシフェン耐性乳がん、タキソール耐性肺がんに有用な分子標的として注目されている。RXR には α 、 β 、 γ の三つのサブタイプが知られているが、サブタイプ選択的アゴニストは未だ開発されていない。RXR の制御する生理機能は多岐にわたるため、サブタイプ非選択的な RXR アゴニストは目的としない作用発現の可能性がある。そこで我々はサブタイプ選択性を有することで作用スペクトルを適度に限定した RXR アゴニストの開発を目的に、本研究を行った。分子の脂溶性の低減によりサブタイプ選択性が得られるのではないかとする仮説のもと、RXR アゴニストの脂溶性部位に共通して見られるテトラメチルシクロヘキシル環構造を極性基であるアルコキシ基へと変換した化合物をデザインし、合成した。



【In vitro 活性評価】

各化合物について、NBT還元法による一次スクリーニングを行った後、ルシフェラーゼレポータージーンアッセイによってそれぞれのサブタイプ活性化能を評価した。その結果、いずれの化合物にもRXRアゴニスト活性があることが示された。中でも、3位にイソプロポキシ基を持つNEt-3IP (1)は既存のRXRアゴニストに匹敵する活性であり、かつRXR α/β 選択性が示唆された (RXR α : EC₅₀ = 27 nM, RXR β : EC₅₀ = 35 nM, RXR γ : EC₅₀ > 380 nM)。

【In vivo 活性評価】

NEt-3IP (1)は毒性試験及び経口吸収試験において良好な結果を示した。RXR α/β 選択性を有する本化合物は既存のRXRアゴニストとは異なる生理活性を示すことが期待されたため、これを検討するべく種々のin vivo試験を行った。まず、RXRアゴニストの主な副作用である血中トリグセリド(TG)濃度の上昇が、既存のRXRアゴニストであるLGD1069と比べてNEt-3IP (1)では弱いことが分かった。さらに、本化合物は単独にて抗炎症作用を発揮し、また血管新生抑制作用も見られたことから抗がん活性を有することが示唆された。

【まとめ・展望】

我々はRXR α/β 選択的アゴニストNEt-3IP (1)の開発に成功した。本化合物はLGD1069に比べ、RXRアゴニストの主な副作用である血中TG濃度の上昇作用が比較的弱かった。さらに単独にて抗炎症作用を発揮し、血管新生抑制作用も見られたことから、NEt-3IP (1)は新たな抗炎症薬もしくは抗がん薬としてその展開が期待できるものと思われる。

RXR アゴニスト脂溶性部位の脂溶性低減による RXR サブタイプ指向性の創出 —リンカー部位にスルホンアミド基を有する—

(岡山大院・医歯薬¹、岡山理科大・理²、日本大・医³、神戸学院大・薬⁴)

高松佳代¹、高野敦史¹、○薬師寺信匡¹、森下健一¹、大澤史宜¹、藤井周司¹、松浦信康²、
横島誠³、Hamed Ismail Ali⁴、赤穂榮一⁴、田井章博¹、佐々木健二¹、加来田博貴¹

【はじめに】

RXR(Retinoid X Receptor)とは、核内受容体スーパーファミリーに属するリガンド依存性の転写調節因子の一つであり、RXR α , β , γ の三つのサブタイプが知られている^{1,2}。RXR アゴニストは、既存薬との併用によりタモキシフェン耐性乳がんやタキソール耐性肺がんに有用であるとして注目されている^{3,4}。しかし、代表的な RXR アゴニスト(Figure 1)は、RXR サブタイプ選択性を示さない^{5,6}。そのため作用スペクトルが広く、目的としない作用まで発現してしまうことが予想される。そこで我々は、サブタイプ選択性のある RXR アゴニスト開発を目指し本研究を行った。これまでサブタイプ選択的 RXR アゴニストが見出されていない理由として、RXR サブタイプ間でのリガンド結合部位のアミノ酸配列の相同性が極めて高いことが挙げられる。そのような中、我々は既存の RXR アゴニストの中でも、脂溶性の指標である CLogP の値が他のアゴニストよりも低い PA024 (3)⁷において各サブタイプ間の EC₅₀ 値に差が見られることに着目し、脂溶性の低減によりサブタイプ選択性が得られるのではないかという仮説を立て、本研究を行った。

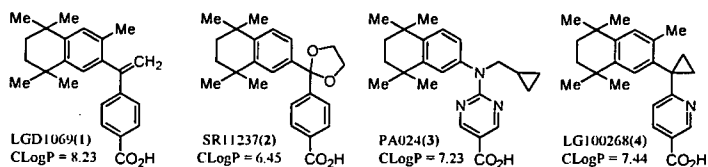


Figure 1. Chemical structures of known RXR agonists.

【分子設計】

脂溶性を低減させた RXR アゴニストの開発のために、極性基であり多くの医薬品の構造に利用されているスルホンアミド基を導入した分子を設計した(Figure 2)。また、より脂溶性を低下させるため、RXR アゴニストに共通するいわゆる酸性部位 (acidic domain)について、安息香酸以外にニコチン酸、ピリミジンカルボン酸に変換した分子を設計した。

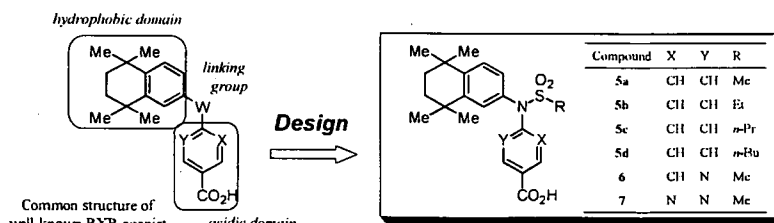


Figure 2. Strategy for the molecular design of low lipophilic RXR agonists possessing sulfonamide moieties.

【活性評価】

RXR アゴニスト活性のみを有する化合物は、単独では分化誘導を示さないが、ごく低用量の RAR アゴニスト (レチノイド) と共存させるとその分化誘導能を相乗的に高める (レチノイドシナジスト作用)^{8,9}。この作用はヒト前骨髄球系白血病細胞株 HL-60 を用いた NBT 還元試験^{10,11,12}にて、容易に評価出来る。そこで、合成した化合物の一次評価として NBT 還元試験によるレチノイド作用及びレチノイドシナジスト作用を評価した⁷。その結果、化合物 5a, 6 及び 7 にレチノイドシナジスト作用が見られ、RXR アゴニスト作用が示唆された。そこで、これらの活性が RXR を介した作用であるのかを評価し、さらに各 RXR サブタイプごとの EC₅₀ を算出するために、ルシフェラーゼレポータージーンアッセイを行った^{7,13,14}。その結果、これらのレチノイドシナジスト作用は RXR を介した作用であることが示された。さらに RXR α , β , γ 各サブタイプに対する EC₅₀ がそれぞれ 230 nM, 2800 nM, 630 nM である化合物 5a が見出された(Table 1)。化合物 5a は既存の RXR アゴニストよりも低活性であるものの、RXR α 指向性が見られた。加えて、既存の RXR アゴニストの中でも特に脂溶性の低い SR11237 (2)にもサブタイプ指向性が見られることを見出した。一方、化合物 5a に比べ低い CLogP 値を示す化合物 6, 7 は、サブタイプ間での EC₅₀ 値の差が小さくなったことから、分子全体の脂溶

性を低減させることがサブタイプ選択性につながる訳ではなく、リンカー部位を含む脂溶性部位の脂溶性低減によってサブタイプ選択性を得るという傾向が示された。

スルホンアミド基を導入したものが既存のRXRアゴニストに比べ低活性であった点について、RXR α と化合物5aとで、AutoDock 3.05¹⁵を用いたdocking simulationにより検討したところ、メタンスルホンアミド基がLeu³⁰⁹、Ile³¹⁰、Cys⁴³²を含むRXRの疎水性残基と近接し、不安定な疎水性結合を形成することが化合物5aのRXR活性低下の理由であると示唆された。

【総括】

本研究により、我々は低活性であるもののサブタイプ指向性が見られるRXRアゴニスト5aを見出し

た。さらにRXRサブタイプ指向性を生じるには、分子の脂溶性を低減させる手段として、脂溶性部位の脂溶性を低減させることが重要であることを見出した。この結果を受け、RXRアゴニストに共通して見られるテトラメチルシクロヘキシル環構造の構造変換を次なる戦略として展開している。

Table 1. Cotransfection data for compounds 5, 6, 7 and known RXR agonists

Compounds	RXR α		RXR β		RXR γ		CLogP
	EC ₅₀ (nM)	E _{max} (%)	EC ₅₀ (nM)	E _{max} (%)	EC ₅₀ (nM)	E _{max} (%)	
5a	230	112	2800	58	630	59	6.55
5b	300	79	2000	102	1200	112	7.08
5c	1900	71	2400	24	2500	73	7.61
5d	2600	33	3000	28	2000	17	8.14
6	110	98	530	90	380	81	6.17
7	2100	156	260	81	1300	42	5.46
LGDI069(1)	3	105	4	114	3	103	8.23
SR11237(2)	22	95	86	98	430	122	6.45
PA024(3)	3	100	24	100	11	100	7.23

Reduction of lipophilicity at the lipophilic domain of RXR agonists enables production of subtype-preference:RXR α -preferential agonist possessing a sulfonamide moiety

Kayo Takamatsu¹, Atsushi Takano¹, Nobumasa Yakushiji¹, Ken-ichi Morishita¹,
Fuminori Ohsawa¹, Shuji Fujii¹, Nobuyasu Matsuura², Makoto Makishima³,
Hamed Ismail Ali⁴, Eiichi Akaho⁴, Akihiro Tai¹, Kenji Sasaki¹, and Hiroki Kakuta¹

¹Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry, and Pharmaceutical Sciences,

²Okayama University of Science Faculty of Science,

³Nihon University School of Medicine Division of Biochemistry, Department of Biomedical Sciences,

⁴Kobe Gakuin University Faculty of Pharmaceutical Sciences, High Technology Research Center (Life Science Center)

Retinoid X receptor agonists (RXR agonists, rexinoids) are interesting candidates for the treatment of cancers such as tamoxifen-resistant breast cancers and taxol-resistant cancers. However, well-known RXR agonists are likely to produce undesirable side effects caused by their strong lipophilic character and/or multiple working points due to RXRs, which exist ubiquitously in the body and act as heterodimeric partners with various nuclear receptors. In order to create less-lipophilic and action spectrum-diminished RXR agonists, sulfonamidetype RXR agonists were designed to generate 4-[N-methanesulfonyl-N-(5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydro-2-naphthyl)amino]benzoic acid (5a) as an RXR α -preferential agonist, although the potency is less than those of well-known RXR pan-agonists. Our finding that the reduction of lipophilicity at the lipophilic domain of the common structure of RXR agonists enables production of subtype-selective RXR agonists will be useful for the creation of more potent and less-lipophilic subtype-selective RXR agonists aimed at the reduction of undesirable side effects.

References 1) *Endocr. Rev.* **1999**, *20*, 689-725. 2) *Cell* **1995**, *83*, 835-839. 3) *Cancer Lett.* **2003**, *201*, 17-24. 4) *Clin. Cancer Res.* **2004**, *10*, 8656-8664. 5) *J. Nutr.* **2000**, *130*, 479-482. 6) *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5875-5883. 7) *Chem. Pharm. Bull.* **2000**, *48*, 1504-1513. 8) *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 2182-2192. 9) *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1508-1517. 10) *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5875-5883. 11) *J. Exp. Med.* **1979**, *149*, 969-974. 12) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1987**, *145*, 514-521. 13) *Cell* **1991**, *65*, 1255-1266. 14) *Methods Mol. Biol.* **1997**, *63*, 49-60. 15) *J. Comput. Chem.* **1998**, *19*, 1693-1662.

高活性 RXR α/β 選択的アゴニスト NEt-3IP の開発 — 脂溶性部位にアルコキシ基を有する —

(岡山大院・医歯薬¹、岡山理科大・理²、日本大・医³)

高松佳代¹、高野敦史¹、薬師寺信匡¹、○森下健一¹、師橋一徳¹、大澤史宜¹、藤井周司¹、
松浦信康²、横島誠³、田井章博¹、佐々木健二¹、加来田博貴¹

【はじめに】

近年、RXR アゴニストはタモキシフェン耐性乳がん、タキソール耐性肺がんに有用な医薬分子として注目されている^{1,2}。RXR アゴニストの開発はいくつか行われているが、それらはサブタイプに対する選択性を持っていない。RXR の制御する生理機能は多岐にわたるため、サブタイプ選択性を持たない RXR アゴニストは目的としない作用発現の可能性がある。そこで我々は、サブタイプ選択性を有することで作用スペクトルを限定した RXR アゴニストの開発に興味を持ち研究を行ってきた。

我々はこれまでに、リンカー部位にスルホンアミド基を有するサブタイプ指向性のある RXR アゴニスト **1** を見出している (Figure 1)³。しかし、本化合物は既存の RXR アゴニストに比べて活性が低いことが問題となった。さらにサブタイプ指向性を得るには、分子全体の脂溶性を低減させることより、いわゆる脂溶性部位の脂溶性を低減させることが重要であることも見出している³。この結果を受け、本研究では RXR アゴニストの脂溶性部位に共通して見られるテトラメチルシクロヘキシル環構造の構造変換を次なる戦略として展開した。

【分子設計】

既存の RXR リガンドの脂溶性の高さは脂溶性部位に共通して見られるテトラメチルシクロヘキシル環構造による寄与が大きいと考えられる。そこで我々は、テトラメチルシクロヘキシル環構造を、アルコキシ基とイソプロピル基を含んだ構造に変換した (Figure 2)。また、酸性部位の極性を上げることで活性が増加する傾向にあることから、本化合物の酸性部位にはニコチン酸及び、ピリミジンカルボン酸を導入した。デザインした各化合物について脂溶性の指標である CLogP の値を計算したところ、既存の RXR アゴニストに比べて大幅に脂溶性が低減されることが示唆された。

【活性評価】

各化合物について、1 次スクリーニングとして HL-60 細胞を用いた NBT 還元試験^{4,5,6}を行った。化合物単独では HL-60 細胞が分化誘導を示さないことから、これらの化合物にはレチノイド活性がないことが示された。各化合物とごく低用量の RAR (Retinoic Acid Receptor)

アゴニストである Am80⁴ を併用することで分化誘導作用を示したことから、これらの化合物にはレチノイドシナジスト活性があり、RXR アゴニスト活性を持つことが示唆された。そこで、このレチノイドシナジスト作用が RXR を介した作用であることを示すために、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^{7,8}を行ったところ、いずれの化合物にも RXR アゴニスト活性があることが示された (Table 1)。

ピリミジンカルボン酸を有する化合物は、ニコチン酸を有する化合物に比べ活性が増加する傾向にあるが、サブタイプに対する選択性が減少した。このことより、分子全体の脂溶性を低減させるとサブタイプ選択性が生じるわけではなく、脂溶性部位の脂溶性を低減することでサブタイプ選択性が生じるという我々の考えが支持された。また、アルコキシ基を 4 位に有する NEt-4IP (4) が、アルコキシ基を 3 位に有する化合物に比べて活性が低いことから、アルコキシ基の導入は 3 位が適していることが示唆された。3 位にイソプロピル基を持つ NEt-3IB (3) はそれぞれのサブタイプに対する EC₅₀ が、0.77 nM、18 nM、3 nM であり、既存の RXR アゴニストに勝る高活性な RXR アゴニストであった。この化合物は高活性ではあるものの、サブタイプ選択性は低かった。一方、3 位にイソプロ

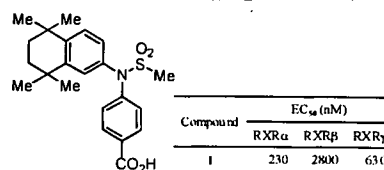


Figure 1. RXR subtype-preferential agonist (**1**) possessing a sulfonamide group.

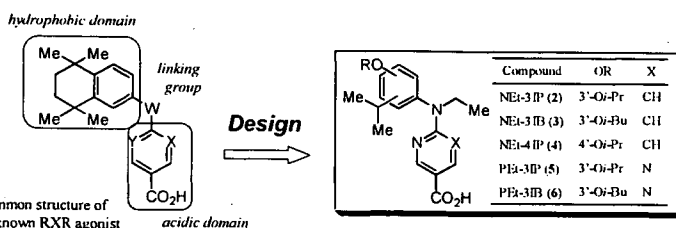


Figure 2. Strategy for the molecular design of subtype-selective RXR agonists possessing alkoxy and isopropyl groups.

ポキシ基を持つ NEt-3IP (2) はそれぞれのサブタイプに対する EC₅₀ が、27 nM、35 nM、>380 nM であり、既存の RXR アゴニストに匹敵する活性であると同時に、RXR α/β に対する選択性が見られた。本化合物は初の高活性かつサブタイプ選択性を持った RXR アゴニストであると言える。

【総括】

本研究において、我々は高活性かつサブタイプ選択性を持つ RXR アゴニスト NEt-3IP(2) を見出した。本化合物は RXR α/β サブタイプ選択的 (RXR α/β デュアル) アゴニストであることから、作用スペクトルを限定した RXR アゴニストとして、その機能に大変興味を持たれる。RXR は RAR(Retinoic Acid Receptor)、VDR(Vitamin D Receptor)、PPAR(Peroxisome Proliferator-Activated Receptor)、TR(Thyroid hormone Receptor) などの他の核内受容体とヘテロダイマーを形成し、相乗的に働く^{9,10,11}。したがって、これらの核内受容体に対し作用する薬物の副作用軽減を目的とした dose reducer として、NEt-3IP (2) は応用可能ではないかと考えている。本化合物の特徴を解析するために、*in vivo* における活性評価を行っている。なお本化合物の構造・用途などに関しては特許出願済みである。(特願:2007-048059)

Table 1. Cotransfection data for synthetic compounds and known RXR agonists in COS-1 cells

Compound	RXR α		RXR β		RXR γ		CLogP
	EC ₅₀ (nM)	E _{max} (%)	EC ₅₀ (nM)	E _{max} (%)	EC ₅₀ (nM)	E _{max} (%)	
NEt-3IP(2)	27	130	35	110	>380	>88	5.61
NEt-3IB(3)	0.77	110	18	140	3.0	100	6.23
NEt-4IP(4)	>660	>110	>1300	>80	>350	>81	5.61
PEt-3IP(5)	6.0	110	18	100	>58	105	4.89
PEt-3IB(6)	2.9	110	7.3	140	4.9	105	5.50
LGD1069	3.3	105	4.3	114	2.8	103	8.23
PA024	3.0	100	24	100	11	100	7.23

The first potent subtype-selective RXR agonist possessing a 3-isopropoxy-4-isopropylphenylamino moiety, NEt-3IP (RXR α/β -selective agonist)

Kayo Takamatsu¹, Atsushi Takano¹, Nobumasa Yakushiji¹, ○Ken-ichi Morishita¹,
Kazunori Morohashi¹, Fuminori Ohsawa¹, Shuji Fujii¹, Nobuyasu Matsuura²,
Makoto Makishima³, Akihiro Tai¹, Kenji Sasaki¹, Hiroki Kakuta¹

Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry, and Pharmaceutical Sciences¹,

Okayama University of Science Faculty of Science²,

Nihon University School of Medicine Division of Biochemistry, Department of Biomedical Sciences³

Retinoid X Receptor (RXR) agonists (rexinoids) are attracting much attention recently for their use in treatment of cancers, including tamoxifen-resistant breast cancer and taxol-resistant lung cancer. However, known RXR agonists are likely to have undesirable side effects caused by their highly lipophilic character and/or broad working spectra due to their RXR pan-agonists, we created new RXR agonists possessing alkoxy and isopropyl groups as a lipophilic domain of the common structure of well-known RXR agonists. As a result, compounds possessing branched alkoxy groups, 6-[N-ethyl-N-(3-isopropoxy-4-isopropylphenyl)amino]nicotinic acid (NEt-3IP) and 6-[N-ethyl-N-(3-isobutoxy-4-isopropylphenyl)amino]nicotinic acid (NEt-3IB) showed RXR agonistic activity as potent as or more potent than the activities of representative RXR agonists. Moreover, NEt-3IP was found to be the first RXR α/β -selective (or RXR α/β -dual) agonist. Being potent and less-lipophilic and having RXR subtype selective activity, NEt-3IP is expected to become a new medicinal product with less adverse effects and to be a useful biological tool for clarifying each RXR subtype function.

References 1. *Cancer Lett.* **2003**, *201*, 17-24. 2. *Clin. Cancer Res.* **2004**, *10*, 8656-8664. 3. *ChemMedChem*, Submitted. 4. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5875-5883. 5. *Mol. Cell. Biol.* **1995**, *15*, 3540-3551. 6. *J. Exp. Med.* **1979**, *149*, 969-974. 7. *Cell* **1991**, *65*, 1255-1266. 8. *Methods Mol. Biol.* **1997**, *63*, 49-60. 9. *Endocr. Rev.* **1999**, *20*, 689-725. 10. *Cell* **1995**, *83*, 835-839. 11. *Cell* **1995**, *83*, 841-850.

RXR α/β デュアルアゴニスト NEt-3IP の抗炎症及び抗がん作用の検証 (岡山大院・医歯薬¹、日本大・医²、岐阜薬科大・薬³)

○高野敦史¹、原田隼¹、鄭曉霞¹、薬師寺信匡¹、森下健一¹、大澤史宜¹、藤井周司¹、
杉本幸雄¹、田井章博¹、横島誠²、永澤秀子³、佐々木健二¹、加来田博貴¹

【はじめに】

我々はこれまでに、世界初のレチノイドX受容体 (retinoid X receptor, RXR) α/β デュアルアゴニストであるNEt-3IP (1)の開発に成功している (Figure 1)。本化合物は、市販の安価な原料を用いて合成可能である。RXRには α 、 β 、 γ の3つのサブタイプが存在する¹が、既存のRXRアゴニストはいずれのサブタイプにも同等の活性があるRXR β アゴニストであるのに対し、本化合物は高活性でRXR α/β サブタイプ選択性を有する (RXR α : EC₅₀ = 27 nM, RXR β : EC₅₀ = 35 nM, RXR γ : EC₅₀ > 380 nM)。そのため、本化合物は既存のRXRアゴニストとは異なる生理活性を示すことが期待された。本研究においては、本化合物の生理活性を検討するために*in vivo*試験を行った。

【経口吸収試験、急性毒性試験】

開発化合物の経口吸収を、ラットを用いて調べた。その結果、NEt-3IP (1)は30 mg/kg投与で投与後30分において最大血中濃度を与えた (Figure 2)。一方でNEt-3IB (2)は、*in vitro*試験においてサブタイプ選択性は乏しいもののNEt-3IP (1)や既存のRXRアゴニストで有名なLGD1069 (3)をしのぐ高活性を示すが、十分な血中濃度が確認出来なかった。NEt-3IP (1)について、マウスを用いた急性毒性試験を行ったところ、300 mg/kgの腹腔内投与においても顕著な毒性が認められなかった。

【体重変化、血中トリグリセリド濃度測定】

既存のRXRアゴニスト投与による問題点として、血中トリグリセリド (TG)濃度の上昇が挙げられる²。そこで、SDラットに対しNEt-3IP (1)もしくはLGD1069 (3)をそれぞれ10 mg/kg/dで7日間経口投与し、被験化合物投与直前の体重測定および1、3、5、7日目の化合物投与2時間後に得た血漿中のTG濃度測定を行った (Figure 3)。その結果、LGD1069 (3)ではcontrolに比べ顕著な体重増加が見られたが、NEt-3IP (1)ではその現象は見られなかった。一方、血中TG濃度については、NEt-3IP (1)はLGD1069 (3)よりも影響が少なかった。血中TG濃度上昇の原因の一つに、RXRによる甲状腺刺激ホルモン (TSH) の発現抑制が知られている²³。この作用は特にRXR γ の寄与が大きいという報告⁴もある。したがって、NEt-3IP (1)において血中TG上昇がLGD1069 (3)に比べて抑制されたのはRXR γ に対する作用が弱いからだと考えられる。

【抗炎症試験】

RXRアゴニストには、抗炎症効果が知られているPPAR γ アゴニストとヘテロダイマーを形成し、その効果を増強するシナジスト効果が知られている⁵。そこで弱いPPAR γ アゴニストである5-aminosalicylic acid (5-ASA)との併用によるNEt-3IP (1)の抗炎症効果

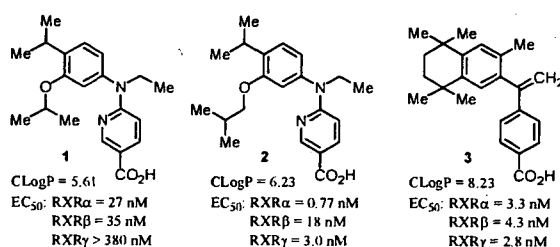


Figure 1. Chemical structures, CLogP and EC₅₀ values of NEt-3IP (1), NEt-3IB (2) and LGD1069 (3).

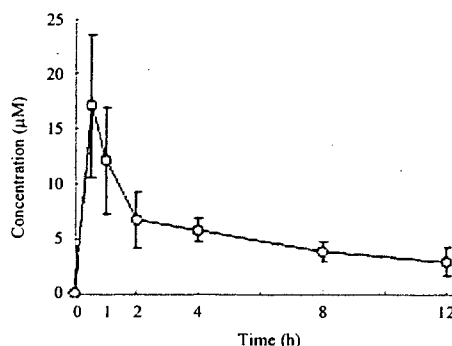


Figure 2. Plasma concentration of NEt-3IP (1) (30 mg/kg p.o.).

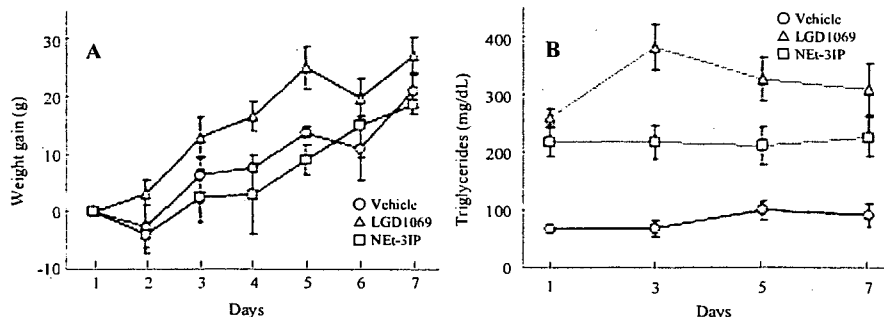


Figure 3. Effects of RXR agonists on body weight gain (A) and plasma triglyceride levels (B) in Sprague Dawley (SD) rats. SD rats (each group: n = 5-6) were treated with vehicle (1% ethanol/99% carboxymethyl cellulose), LGD1069 (3) (10 mg/kg) or NEt-3IP (1) (10 mg/kg) by oral gavage for 7 days. A, Body weights were measured at 0.5 h before drug administration. B, Plasma triglyceride levels were measured at 2 h after administration on day 1, 3, 5 and 7.

を、カラゲニン浮腫試験⁶を用いて評価した (Table 1)。その結果、5-ASA 100 mg/kgではほとんど抗炎症作用が見られなかったのに対し、NEt-3IP (1) 10 mg/kg併用では効果が見られた。しかし、NEt-3IP (1) 10 mg/kg単独投与における抗炎症効果と比較したところ、併用時との差が認められなかった。この結果はNEt-3IP (1)にPPAR γ アゴニスト作用があり、自身のPPAR γ 活性がNEt-3IP (1)自身のシナジスト作用により増強されたためではないかと考えている。現在、NEt-3IP (1)のPPAR γ に対するルシフェラーゼレポータージーンアッセイを行っている。

【抗がん活性評価】

既知の RXR アゴニストは血管新生抑制作用、抗タモキシフェン耐性乳がん作用などの抗がん作用が報告されている⁷。そこでNEt-3IP (1)についてもこれらの活性を検討した。有精卵を用いた chorioallantoic membranes (CAM)法⁸による NEt-3IP (1)の血管新生抑制作用を調べたところ、100 ng/CAMにおいて有効であることが示唆された。各種がん細胞を用いた MTT 法による抗がん活性評価も検討中である。LGD1069 (3)との比較結果も併せて発表する。

【総括・展望】

我々が開発した RXR α/β デュアルアゴニスト NEt-3IP (1)は、既存の RXR アゴニストである LGD1069 (3)に見られる急激な体重上昇が見られず、また主な副作用である顕著な血中 TG 濃度の上昇作用が比較的弱かった。また NEt-3IP (1)は単独にて抗炎症作用を発揮した。さらに、血管新生抑制作用も見られたことから、NEt-3IP (1)は抗がん活性を有することが示唆された。これらの結果から、NEt-3IP (1)は、新たな抗炎症薬もしくは抗がん薬としてその展開が期待できるものと思われる。

Table 1. Effects of 5-ASA, NEt-3IP (1) and 5-ASA + NEt-3IP on carrageenin-induced paw edema in rats

Compound	Swelling (%)	Inhibition ^a (%)
Control	43.9±0.1	-
5-ASA (100 mg/kg)	43.6±4.5	0.6
NEt-3IP (1) (10 mg/kg)	36.9±3.8	15.9
5-ASA (100 mg/kg) + NEt-3IP (1) (10 mg/kg)	37.5±4.0	14.5

a) Inhibition (%) was calculated as follows: Inhibition (%) = (1 - swelling (%) in treated group / swelling (%) in control group) × 100.

Anti-inflammatory and antitumor activities of RXR α/β dual agonist, NEt-3IP

○Atsushi Takano¹, Shun Harada¹, Zheng Xiaoxia¹, Nobumasa Yakushiji¹, Ken-ichi Morishita¹, Fuminori Ohsawa¹, Shuji Fujii¹, Yukio Sugimoto¹, Akihiro Tai¹, Makoto Makishima², Hideko Nagasawa³, Kenji Sasaki¹, Hiroki Kakuta¹

(Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry, and Pharmaceutical Sciences¹, Nihon University School of Medicine Division of Biochemistry, Department of Biomedical Sciences², Gifu Pharmaceutical University, Pharmaceutical Science³)

NEt-3IP (1), the first potent RXR α/β dual agonist, is expected to become new drug candidates and to show different biological activities from known RXR agonists. In this study, *in vivo* activities of NEt-3IP (1) were evaluated. As a result, NEt-3IP (1) was absorbed satisfactorily in rats (30 mg/kg, *p.o.*) and showed no acute toxicity in mice (300 mg/kg, *i.a.*). Although LGD1069 (3) increased body weight gain compared with control, NEt-3IP (1), interestingly, showed no effects on body weight gain. In addition, TG increase by NEt-3IP (1) was less than by LGD1069 (3). In order to evaluate for PPAR γ synergistic activity of NEt-3IP (1), carrageenin-induced paw edema test was performed with combination of NEt-3IP (1) and 5-aminosalicylic acid, a quite weak PPAR γ agonist. NEt-3IP (1) (10 mg/kg) alone showed anti-inflammatory activity. For antitumor activity of NEt-3IP (1), anti-angiogenic activity assay using chorioallantoic membranes (CAM) of growing chick embryos was performed. As a result, NEt-3IP (1) was suggested to possess anti-angiogenic activity. These results suggest that NEt-3IP (1) might be a new RXR agonist for anti-inflammatory and/or antitumor agents.

References 1) *Endocr. Rev.* **1999**, *20*, 689-725. 2) *Clin. Cancer Res.* **1999**, *5*, 1658-1644. 3) *Endocrinology* **2002**, *143*, 2880-2885. 4) *Endocrinology* **2006**, *147*, 1438-1451. 5) *Cell* **1995**, *83*, 841-850. 6) *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1998**, *95*, 13313-13318. 7) *Cancer Lett.* **2003**, *201*, 17-24. 8) *Eur. J. Pharmacol.* **1993**, *249*, 113-116.

末端にビニル基を導入した縮合系マクロモノマーの合成と微粒子調製への応用

(岡山大院環) ○(学)富田恵介・(正)小野 努*

1. 緒言

反応性分散安定剤であるマクロモノマーを用いた分散重合や乳化重合は、表面に高分子鎖を持つ機能性微粒子の調製が可能なワンポットプロセスとして知られている。分散重合や乳化重合において、主にポリエチレンオキシド(PEO)系のマクロモノマーが使用されており、多くの報告がなされている。しかしながら PEO 鎖の化学修飾、すなわち機能性官能基の導入は困難である。そこで我々は機能性官能基の導入が容易なポリアスパラギン酸ナトリウム(PAspNa)を主鎖に持つマクロモノマーの設計を検討した。このマクロモノマーを微粒子調製に用いることで、様々な機能性を微粒子表面に付与することが期待できる。本報告では PAspNa の主鎖末端にビニル基を導入した PAspNa マクロモノマーを合成し、スチレンとの分散共重合に適用することで機能性微粒子の調製を試みた。

2. 実験

2. 1. PAspNa マクロモノマーの合成

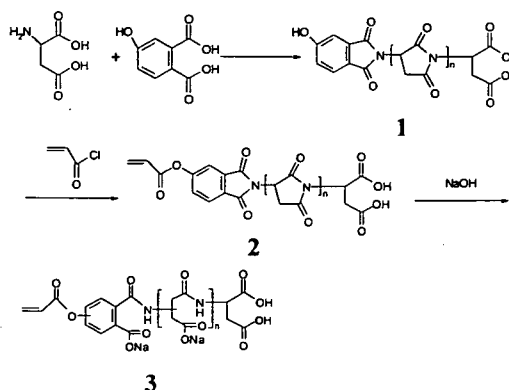
リン酸存在下、4-ヒドロキシフタル酸(HPA)を加えた L-アスパラギン酸の重縮合により 1 を得た。さらに 1 とアクリロイルクロライドの反応により 2 を合成し、水酸化ナトリウムで主鎖のイミド環を加水分解させることで PAspNa マクロモノマー 3 を合成した。また比較として、1 を加水分解することでビニル基を持たない PAspNa 誘導体 3' を合成した。

2. 2. マクロモノマー分散共重合による微粒子調製

開始剤(2,2'-アゾビスイソブチロニトリル)、モノマー(スチレン)、PAspNa マクロモノマーをエタノール-水の混合溶媒(エタノール/水=3/2)に溶解させた。この溶液を反応器内に入れ、窒素置換後、343 K で6時間反応させた。得られた高分子微粒子は SEM により観察し、粒径を測定した。

3. 結果・考察

HPA を添加した L-アスパラギン酸の重縮合プロセスにより 1 が得られた。¹H-NMR 測定により 1 の末端にはヒドロキシフタルイミド基が定量的に導入されていることが確認された。また全モノマー中の HPA 割合を 0.6~6.9 mol%と変化させることで重量平均分子量



Scheme 1 Synthesis of PAspNa macromonomer

(M_w)を 5,200~32,000 と制御することができた。

$M_w=7,688$ の 1 を用いて、ビニル基を持つ PAspNa マクロモノマーとビニル基を持たない PAspNa 誘導体とをそれぞれを分散安定剤として用いたスチレンの分散(共)重合を試みた。得られた高分子微粒子の SEM 画像を Fig. 1 に示す。図から明らかのように、ビニル基を持つ PAspNa マクロモノマーを用いた重合では、ビニル基を持たない PAspNa 誘導体を用いた重合に比べて 1 オーダー小さい粒径の微粒子が得られた。このことから末端にビニル基を導入した PAspNa マクロモノマーは微粒子調製のための反応性分散安定剤として有効であることがわかった。

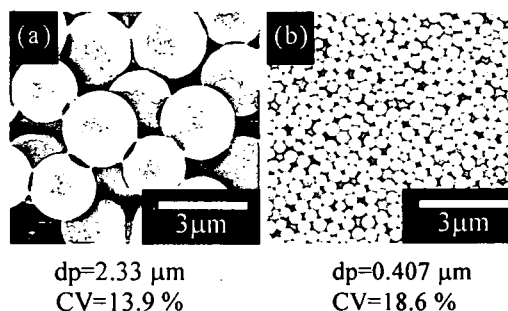


Fig. 1 SEM images of the particles prepared by dispersion copolymerization of styrene with PAspNa derivatives: (a) PAspNa derivative without vinyl terminal group (3'); (b) PAspNa macromonomer (3). $[3 \text{ or } 3'] = 2.22 \times 10^{-3} \text{ g/ml}$

* Tel&Fax: 086-251-8908
tono@cc.okayama-u.ac.jp

単分散ポリ乳酸ミクロスフェアの調製における高分子分散剤の分子設計

(岡山大学院環) O(学) 村中 誠, (正) 小野 努*

1. 緒言

近年、バイオマス由来の環境調和型高分子材料であるポリ乳酸 (PLA) は合成や成形から分解に至るまで幅広く研究されている。しかしながら、PLA の微粒化技術の研究は十分に行われていない。そこで本研究では、モノマーからの一段階反応で高分子ミクロスフェアが調製できる分散重合を用いて高機能性 PLA ミクロスフェアの調製を目指している。この際、粒径の単分散化は機能性微粒子を調製するための重要な要素技術であることから、ポリ(D,L-乳酸) (PDLLA) をグラフト鎖に持つ PDMA-co-P(MA-PDLLA)、および重合開始基でもある水酸基を有する PDMA-co-PHEMA を分散剤に用いて単分散 PDLLA ミクロスフェアの調製を試みた (Fig. 1)。本講演では、合成した高分子分散剤の分子構造が得られる PDLLA ミクロスフェアの粒径や粒径分散度に与える影響について報告する。

2. 実験

PDMA-co-P(MA-PDLLA)の合成は、末端に重合基を有するマクロモノマーMA-PDLLA とメタクリル酸ドデシル (DMA) の共重合によって行った。また、PDMA-co-PHEMA は、メタクリル酸 2-ヒドロキシエチル (HEMA) と DMA を共重合することで合成した。

D,L-ラクチドの分散重合は、合成した高分子分散剤とモノマーである D,L-ラクチドを溶解させたキシレン/ヘプタン = 1/2 (v/v)の混合溶液中で行った。その際、2-エチルヘキサン酸スズ(II)を触媒として用いて重合した。

3. 結果及び考察

Fig. 2 に 2 種類の高分子分散剤を用いて得られた PDLLA ミクロスフェアの SEM 写真を示す。Fig. 2 より、PDMA-co-P(MA-PDLLA)を用いた場合は、比較的単分散なサブミクロンオーダーの PDLLA ミクロスフェアが得られた。また、PDMA-co-P(MA-PDLLA)濃度とグラフト鎖導入率を変化させることで、200 nm から 5 μm までの広範囲において粒径を制御できた。一方、PDMA-co-PHEMA を用いた場合は、ミクロンオーダーの単分散 PDLLA ミクロスフェアが得られた。Fig. 3 は PDMA-co-PHEMA を用いて得られた単分散 PDLLA ミクロスフェアの ¹H NMR スペクトルを示す。Fig. 3 より、この粒子は PDLLA であることを同定し、溶媒中に含まれる微量の水分から重合は開始されることが分かった。また、スペクトル中に PDMA-co-PHEMA に由来するピークが存在しないため、PDMA-co-

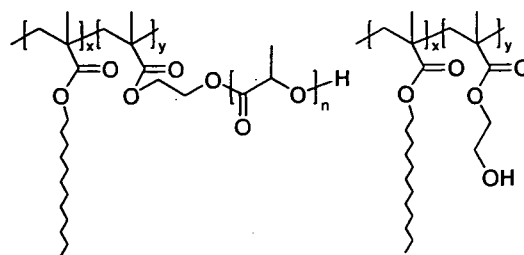


Fig. 1 Chemical structures of polymeric stabilizers; left: PDMA-co-P(MA-PDLLA) ($x = 94, y = 3, n = 49$), right: PDMA-co-PHEMA ($x = 159, y = 2$).

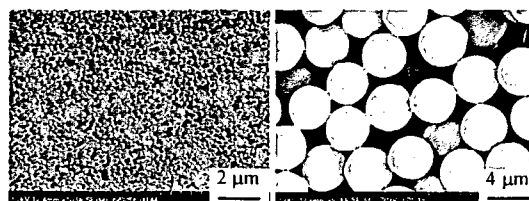


Fig. 2 SEM images of PDLLA microspheres prepared with a polymeric stabilizer; left: PDMA-co-P(MA-PDLLA), right: PDMA-co-PHEMA.

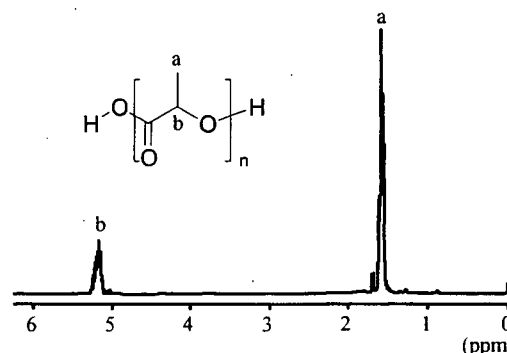


Fig. 3 ¹H NMR spectrum of PDLLA microspheres prepared with PDMA-co-PHEMA as a polymeric stabilizer.

PHEMA は粒子表面へ固定化されていないことが分かった。一方、PDMA-co-P(MA-PDLLA)の場合は、粒子の ¹H NMR スペクトル中に PDMA-co-P(MA-PDLLA)に由来するピークが存在することを確認した。

これらの結果から、PDMA-co-P(MA-PDLLA)は、形成した 1 次粒子に吸着するセグメントを重合前から有しており、粒子表面に対して不可逆的に吸着する。対照的に、PDMA-co-PHEMA は、重合途中に粒子表面に強く吸着するセグメントを形成し、粒子表面に対して可逆的に吸着する。このように、単分散 PDLLA ミクロスフェアの調製においては、高分子分散剤の粒子表面への固定化は必ずしも必要でなく、吸脱着特性を制御することが重要であることが分かった。

*Tel&Fax: 086-251-8908

e-mail: tono@cc.okayama-u.ac.jp

無乳化共重合による単分散機能性微粒子の調製

(岡山大環境理工) ○宇留嶋 創・(岡山大院環) (正)小野 努*

1. 緒言

近年、高分子微粒子は化粧品・生理用品といった身近なものから、顔料・液晶用スプレーといった産業材料にまで幅広く用いられている。さらに表面に反応性官能基を備えた粒子は機能性微粒子とも言われ、生体分子などの分離材料やバイオマテリアルなどへの応用に用いられており、その発展が期待されている材料の一つである。

本研究では、新規タンパク質分離法のための微粒子の開発を目的とし、タンパク質認識部位を導入するための反応性官能基(エポキシ基, カルボキシル基)を表面に持つ微粒子の調製を行った。

2. 実験方法

[無乳化共重合による微粒子調製]

2-1 表面にエポキシ基を持つ微粒子の調製

開始剤として 2,2'-azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride (V-50)、モノマーとして styrene (St), glycidyl methacrylate (GMA), 架橋剤として divinylbenzene (DVB)を用いた。開始剤、モノマー、架橋剤、超純水を混合し、ホモジナイザーを用いて 15,000 rpm で攪拌させた後に反応容器に移し、窒素置換を行い 343 K で反応を開始させた。2 時間後、GMA を添加し、さらに 22 時間反応させた。

2-2 表面にカルボキシル基を持つ微粒子の調製

開始剤として potassium persulfate (KPS)もしくは V-50, モノマーとして St, *p*-vinylbenzoic acid (VBA)を用いた。開始剤、モノマー、水酸化カリウム水溶液を混合し、ホモジナイザーを用いて 15,000 rpm で攪拌した後、反応容器に移し、窒素置換後、333 K, 24 時間反応させた。

3. 結果と考察

St/GMA/DVB 無乳化共重合により得られた粒子の SEM 画像を Fig. 1 に示す。図から明らかなように、サブミクロンサイズの非常に単分散(平均粒径 236 nm, 変動係数(CV) 2.39%)な粒子が得られた。また Fig. 2 に示す IR 測定結果から、 1250 cm^{-1} にエポキシ基由来のピークが確認された。このことから表面官能基滴定の結果とあわせて GMA 由来のエポキシ基が粒子表面に固定されていることが確認された。

St/VBA 無乳化共重合により得られた粒子の SEM 画像を Fig. 3 (a), (b) に示す。開始剤に KPS を用いた場合、多分散ではあるが非常に小さな粒子(平均粒径 45 nm, CV 19.84%)が得られた。この場合、重合開始剤および VBA も負電荷を有するため、析出した粒子には高い分

散安定性が付与される。その結果、粒子核同士の凝集は抑制され、小さな粒子が得られたと推察される。一方、開始剤に V-50 を用いた場合、KPS を用いて得られた粒子に比べて大きな粒子(平均粒径 147 nm, CV 10.21%)が得られた。これはカチオン性開始剤である V-50 とアニオン性モノマーである VBA の電荷の中和によって、粒子核の分散安定性が低下したためと推察される。また、どちらの粒子も電気伝導率計を用いた中和滴定により、表面にカルボキシル基が固定されていることを確認した。

これら機能性微粒子表面へのタンパク質認識部位の導入については、紙面の都合上、本発表にて報告する。

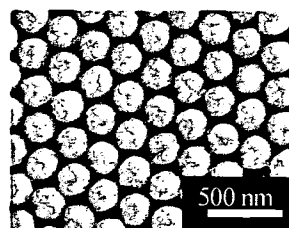


Fig. 1 St/GMA/DVB 無乳化共重合により得られた微粒子の SEM 画像

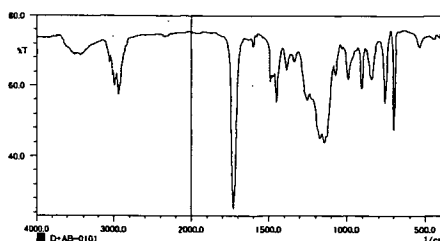


Fig. 2 St/GMA/DVB 無乳化共重合により得られた微粒子の IR スペクトル

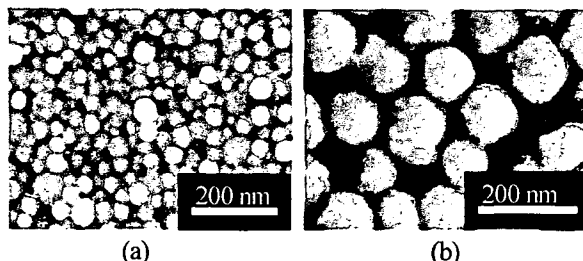


Fig. 3 St/VBA 無乳化共重合により得られた微粒子の SEM 画像. 開始剤: (a) KPS (b) V-50

* Tel&Fax: 086-251-8908
E-mail: tono@cc.okayama-u.ac.jp

界面活性を有する TEMPO 誘導体の合成及び不均相重合への応用

(岡山大院環)O(学)大浦浩平・(正)久保田潤・(正)小野努*・(岡山大院自)田中秀雄

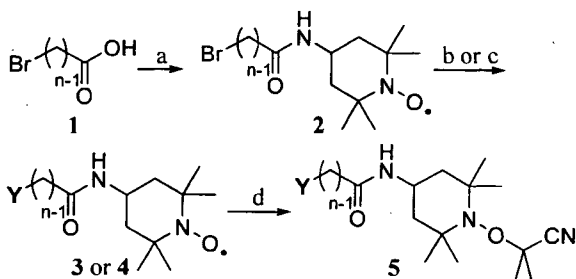
1. 緒言

不均相重合 [1, 2] により得られる高分子微粒子は、その表面に高分子鎖をグラフトすることで物理的及び化学的特性の付与が可能である。その方法として、表面にニトロキッド誘導体のひとつである TEMPO を有する粒子を調製後、表面修飾する方法が考えられる。粒子表面に TEMPO を存在させるには、微粒子調製時に TEMPO が油水界面に吸着し、界面で重合が進行する必要がある。本研究では、不均相重合を目的とした界面活性を有する TEMPO 誘導体の合成と油水界面での制御ラジカル重合システムの構築、得られた高分子微粒子の表面機能化を目指す。本発表では、界面活性を有する各種 TEMPO 誘導体の合成とそれらを不均相重合に応用した結果を報告する。

2. 実験

2.1 界面活性を有する TEMPO 誘導体の合成 (Scheme 1)

化合物 1 を DCC・DMAP 存在下、4-Amino-TEMPO と反応させて 2 を合成した。カチオン性及びアニオン性 TEMPO 誘導体 3、4 は、化合物 2 を Et₃N、Na₂SO₃ とそれぞれ反応させることにより合成した [3]。続いて化合物 4 に AIBN を反応させてアルコキシアミン 5 を合成した。



Scheme 1. Synthesis of interfacial active TEMPO derivatives ($n = 11, 16$) [a] 4-Amino-TEMPO, DCC, DMAP, CHCl₃, rt., 18 h; 2a ($n = 11$: 79%), 2b ($n = 16$: 78%); b) Et₃N, EtOH, reflux, 24h, Y = Br⁺Et₃N⁻; 3a ($n = 11$: 97%), 3b ($n = 16$: 96%); c) Na₂SO₃, EtOH/H₂O = 3/1, reflux, 20 h, Y = Na⁺SO₃⁻; 4a ($n = 11$: 34%), 4b ($n = 16$: 30%); d) AIBN, EtOH, 70 °C, 6h, Y = Na⁺SO₃⁻; 5b ($n = 16$: quant.)]

2-2 界面張力測定 合成した 3、4 及び 5 の水溶液を用いてトルエンに対する界面張力を懸滴法により室温下測定し、臨界ミセル濃度 (CMC) を決定した。

2-3 不均相重合 最も強い界面活性を示した 5b を用いて不均相重合を行った。5b (0.054 mmol)、超純水 (5 ml)、スチレン (2.40 mmol) を耐圧反応器に秤量し、ホモジナイザー (10,000 rpm, 1.5 min.) により O/W エマルジョンを調製した。これらを 0.4 MPa 窒素雰囲気下 125 °C で重合した。

3. 結果と考察

3-1. 界面張力測定 Fig. 1 より、全ての合成した TEMPO 誘導体について CMC [3a (55.8 mol/m³), 3b (10.3 mol/m³), 4a (15.6 mol/m³), 4b (0.469 mol/m³) 及び 5b (0.371 mol/m³)] が確認された。特に 4b 及び 5b では、代表的なアニオン性界面活性剤であるドデシル硫酸ナトリウム (SDS) よりも低い界面張力と CMC (6.6 mol/m³) を示したことから、SDS よりも高い界面活性を有する TEMPO 誘導体を合成できた。

3-2. 不均相重合 Fig. 2 より、重合時間によりカプセル (a) あるいは粒子 (b) が調製できたことを確認した。Fig. 2-b については、内部構造を確認するため、超薄切片を作成し、透過型電子顕微鏡観察を行ったが、中空の粒子は確認されなかった。また動的光散乱法により粒径測定した結果、重合前後でほぼ一致した。これはモノマー液滴界面に吸着した TEMPO 誘導体が界面で重合を行い、液滴内部へと重合が進行したためであると推察される。

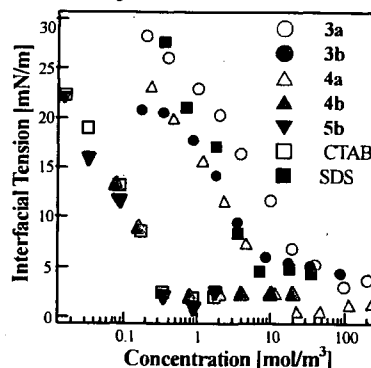


Fig. 1. Interfacial tension between toluene and water containing TEMPO derivatives

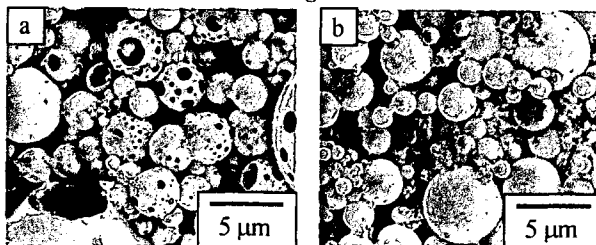


Fig. 2. Scanning electron microscope images of polystyrene microcapsules (24h, a) and microspheres (36h, b)

<参考文献>

- [1] Marestin, C., et al. *Macromolecules* **1998**, *31*, 4041. [2] Zetterlund, P. B., et al. *Macromol. Rapid Commun.* **2005**, *26*, 955. [3] Kubota, J., et al. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 8975.

*TEL/FAX: 086-251-8908

E-mail: tono@cc.okayama-u.ac.jp

転相温度乳化法を適用したミニエマルジョン重合による 高分子ナノ粒子の調製

(岡山大院環)○(学)久野優子・(正)久保田潤・(正)小野 努*

1 緒言

ミニエマルジョン重合はナノサイズの高分子複合微粒子調製に有利な手法として期待されている。しかし、重合反応場となるナノエマルジョンの調製には高压ホモジナイザーや超音波発生器などの高エネルギー出力装置が用いられており、過剰な剪断力によるエマルジョンの不安定性といった問題が懸念される。そこで我々は激しい攪拌を必要としないナノエマルジョン調製法として転相温度乳化法に着目した。ポリオキシエチレン型非イオン性界面活性剤を含むエマルジョンは、転相温度(PIT)を境に乳化型が O/W から W/O に変化する。転相温度乳化法では PIT 付近での油-水界面張力低下を利用して乳化を行う。本発表では、転相温度乳化法による各種モノマーを用いたナノエマルジョン調製とミニエマルジョン重合への応用について検討した結果を報告する。

2 実験方法

2.1 転相温度測定 界面活性剤としてポリオキシエチレン(4)ラウリルエーテル(POE(4)LE)を含む油相(ヘキサデカン(HD)+モノマー)と水相を混合した後、各温度における電気伝導率を測定し、PIT を決定した。モノマーにはスチレン(St)および鎖長の異なるメタクリル酸アルキルエステル(RMA, R = C₁(M), C₂(E), C₄(B), C₁₂(D))を用いた。

2.2 ナノエマルジョン調製 界面活性剤および油相、水相を混合し、昇温して転相させることで W/O エマルジョンを調製した。その後、再び氷冷しながら 2~3 分振とうし、O/W エマルジョンを調製した。調製したエマルジョンの液滴径は濃厚系粒径アナライザー(FPAR)により測定した。

2.3 ミニエマルジョン重合 重合開始剤として 2,2'-アゾビス(2,4ジメチルバレロニトリル) (ADVN)をあらかじめ油相に加え、2.2 と同様の手順で O/W エマルジョンを調製した。その後ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)水溶液を加え、窒素雰囲気下 50 °C で重合した。重合後の粒子径を FPAR により測定し、SEM によりその形状を観察した。

3 結果と考察

3.1 転相温度測定 Figure 1 に油相中のモノマー濃度および種類が PIT へ与える影響を示す。いずれの系でも、モノマー量の増加に伴って PIT は下降した。また、モノマー単独の系で PIT を確認することはできず、本系で転相温度乳化を行うためには少量の HD 添加が不可欠であることが分かった。さらに、メタクリル酸アルキルエステルにおいてはアルキル鎖長が長くなるほど PIT は上昇した。また、スチレンは全てのモノマーの中で最も低い PIT を示した。一般に、同じ官能基を有する油相成分では分

子量が大きいほど PIT は高くなり、芳香族化合物は PIT が低いことが知られている[1]。今回用いたモノマーの実験結果からも、同様の傾向が確認された。

3.2 ミニエマルジョン重合による粒子調製 Table 1 に重合前後での FPAR による粒径測定結果を示す。この結果、重合前後で粒径はほとんど変化していないことから、重合中もナノエマルジョンが安定に存在していたことが示唆された。また、Figure 2 には重合により得られた粒子の SEM 観察結果を示す。図より 200 nm 以下のナノ粒子が得られたことが確認された。以上の結果から、転相温度乳化法により調製したナノエマルジョンをミニエマルジョン重合に適用し、高分子ナノ粒子を得ることができた。また、本手法の応用例としてマイクロリアクターによる高分子ナノ粒子調製が可能であることも確認した。

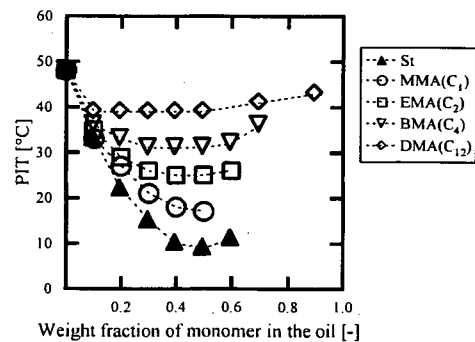


Figure 1 PIT as a function of monomer/total oil ratio in POE(4)LE/HD/monomer/water system with various monomers. POE(4)LE = 5 wt%, oil (HD + monomer) = 20 wt%.

Table 1 Average diameter and particle distribution index (p.d.i.) before or after polymerization of O/W nanoemulsions. POE(4)LE = 5 wt%, HD = 10 wt%, monomer = 10 wt%.

Monomer	Before polymerization		After Polymerization	
	Diameter [nm]	p.d.i. [%]	Diameter [nm]	p.d.i. [%]
St	152	19.6	125	17.7
MMA	258	11.2	277	16.5

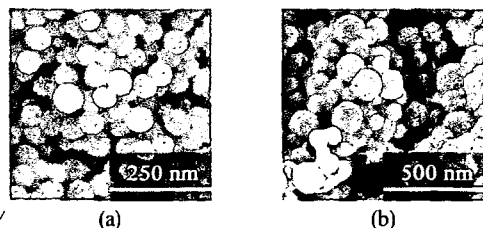


Figure 2 SEM images of polymer nanospheres. Monomer: (a) St; (b) MMA.

参考文献

[1] K. Shinoda, H. Arai, *J. Phys. Chem.* **68**, 3485-3490 (1964)

*Tel&Fax: 086-251-8908

E-mail: tonoo@cc.okayama-u.ac.jp

主鎖末端に疎水基を導入した温度応答性ポリアスパラギン酸誘導体の会合特性

(岡山大学院) ○(学)杉田直輝, (正)谷元史明, (正)小野努*

1. 緒言

ポリコハク酸イミド(PSI)の側鎖にイソプロピルアミン(IPA)を導入したイソプロピルアミン側鎖導入ポリコハク酸イミド(IPA-PSI)は、生分解性、加水分解性、温度応答性を有し、側鎖導入率により相転移挙動を制御可能な機能性高分子である。また主鎖にイミド環を残していることから更なる官能基の導入により、高次の機能化が期待できる。

本研究では、このような性質を有する IPA-PSI の主鎖末端にドデシル基を導入した IPA-PSI 誘導体(t-DA-IPA-PSI)を合成し(Fig. 1)、水溶液中での会合挙動について検討した。

2. 実験

りん酸を触媒とした L-アスパラギン酸とドデシルアミンの重縮合により、ドデシル基末端導入 PSI (t-DA-PSI)を合成した。得られた t-DA-PSI を DMF に溶解させ、イソプロピルアミンと 303 K, 24 h で反応させることにより t-DA-IPA-PSI を得た。また、比較として末端にドデシル基を導入していない PSI を用いて IPA-PSI を合成した。化学構造は ¹H-NMR により同定し、側鎖導入率を算出した。分子量はゲル浸透クロマトグラフィー(GPC) (溶離液: DMF, 標準物質: ポリスチレン)により測定した。得られたポリマーの会合特性は、表面張力測定及びピレンを蛍光プローブとした蛍光測定により求めた。

3. 実験結果・考察

Fig. 2 に、ペンダントドロップ法を用いたポリマー水溶液の表面張力測定結果について示す。なお、本実験には側鎖導入率≒80%、主鎖の重量平均分子量 $M_w \approx 8000-9000$ の IPA-PSI と t-DA-IPA-PSI を用いた。Fig. 2 からわかるように、合成した IPA-PSI, t-DA-IPA-PSI は共に界面活性性能を有しており、それぞれの臨界ミセル濃度 (CMC) は 0.2, 0.05 wt%であった。このことから、末端にドデシル基を導入した t-DA-IPA-PSI は、より強い界面活性性能を示すことがわかった。

Fig. 3 には、蛍光プローブとしてピレンを用いたポリマー水溶液の蛍光測定結果を示す。IPA-PSI を用いた場合、ポリマー濃度の増加とともに I_1/I_3 が緩やかに減少した。それに対して、t-DA-IPA-PSI を用いた場合、ポリマー濃度の増加にともない、急激な I_1/I_3 の減少が確認された。 I_1/I_3 の減少は、疎水的な環境中へ蛍光プローブであるピレンが取り込まれたことを示唆するものであり、t-DA-IPA-PSI は疎水ドメインを有する会合体を形成していることが明らかとなった。また、蛍光測定により求めた t-DA-IPA-PSI の CMC も 0.05 wt%であり、表面張力測定によって得られた CMC と一致した。

以上のように、主鎖末端に疎水基を導入した IPA-PSI 誘導体は、水中で疎水ドメインを有する会合体を形成することが分かった。この結果から、疎水性物質内包などへの応用が期待される。

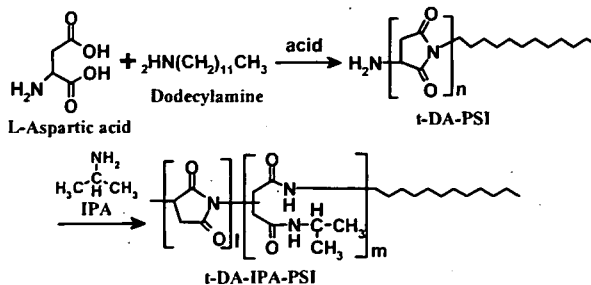


Fig. 1 Synthetic scheme of t-DA-IPA-PSI

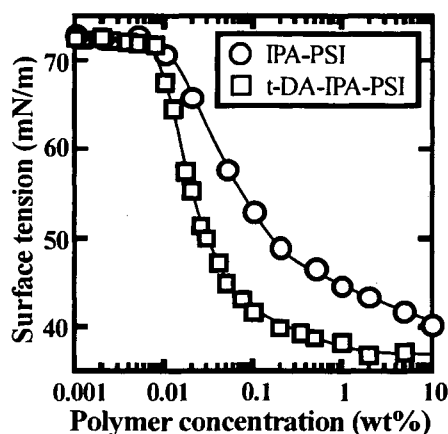


Fig. 2 Surface tension of the polymer solution as a function of polymer concentration.

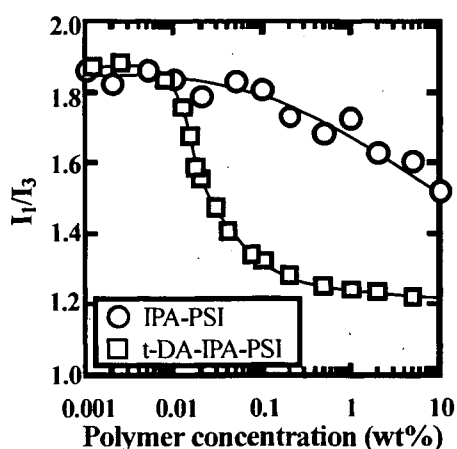


Fig. 3 The ratio of fluorescence intensity of pyrene, I_1/I_3 , as a function of polymer concentration.

*Tel&Fax: 086-251-8908
e-mail: tonoo@cc.okayama-u.ac.jp

270-am13

RXR α / β デュアルアゴニストNEt-3IPの開発と生理活性評価師
高松 佳代, 高野 敦史, 薬師寺 信匡, 師橋 一徳, 〇森下 健一, 幸雄,
大澤 史実, 藤井 周司, 松浦 誠, 永澤 秀子, 杉本 孝雄,
田井 章博, 佐々木 健二, 加藤田 博貴(岡山大学, 岡山理大理, 日本大医, 岐
阜薬大)

【背景および目的】核内受容体の一つであるレチノイド X 受容体 (RXR) はタモキシフェン耐性乳がん、タキソール耐性肺がんに有用な分子標的として注目されている。RXRには α , β , γ の3つのサブタイプが知られているが、サブタイプ選択的なアゴニストは未だ開発されていない。各々のサブタイプに特異性のあるアゴニストは、特有の生理活性を生じさせられると考え、本研究ではサブタイプ選択性のあるRXRアゴニストの開発を行った。

【結果】既存のRXRアゴニストの構造及びその活性を精査し、分子の脂溶性を低減することでサブタイプ選択性が得られるのではないかの仮説を立てた。脂溶性低減のために、RXRアゴニストに共通して見られるテトラメチルシクロヘキシル環構造を極性基であるアルコキシ基へ変換することを考え、テザイン及び合成よりそれぞれのサブタイプに対する活性可能を評価したところ、既存のRXRアゴニストに匹敵する活性を有し、かつ α / β デュアルアゴニストであるNEt-3IPを見出した。NEt-3IPの有用性を検証するため、種々の*in vivo*試験を行ったところ、経口投与において良好な吸収が見られ、かつ顕著な毒性は見られなかった。RXRアゴニストに共通する副作用に血中トリグリセリド (TG) 上昇があり、特にRXR γ の寄与が大きいことが知られている。NEt-3IPはRXR α に選択性を有することから、血中TG適度上昇の副作用が軽減されている可能性が考えられ、連続投与時のTG濃度上昇を調査したところ、既存RXRアゴニストであるLGD1069に比べ弱いことが示唆された。