

201109014A

厚生労働科学研究費補助金
創薬基盤推進研究事業

免疫疾患治療に資する小分子医薬創出を指向した核内受容体
モデュレーターの新規創出と評価に関する研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 加来田 博貴

平成 24 (2012) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金
創薬基盤推進研究事業

免疫疾患治療に資する小分子医薬創出を指向した核内受容体
モデュレーターの新規創出と評価に関する研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 加来田 博貴

平成 24 (2012) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告	3
免疫疾患治療に資する小分子医薬創出を指向した核内受容体 モデュレーターの新出と評価 (代表 加来田博貴)	4
II. 分担研究報告	29
リウマチモデルの新成と薬効評価系の確立 (分担者 大橋俊孝)	30
薬効メカニズム解明を目的とする遺伝子等発現解析 (分担者 大塚正人)	33
III. 研究成果を含む刊行物	35
研究成果の刊行に関する一覧表	36

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

総括研究報告

免疫疾患治療に資する小分子医薬創出を指向した核内受容体
モデュレーターの新創出と評価

研究代表者 加来田博貴

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 合成薬品開発学 准教授

研究要旨

リウマチ、クローン病のような免疫疾患に対して抗体医薬が臨床適用され始めている。しかしながら、抗体医薬は高額であることに加え、抗体医薬に対する抗体の発現、投与形式の制限などもあり依然課題が残る。一方で、有機合成的に創出される小分子医薬については、所望の標的分子探索の行き詰まりなどもあり停滞状態にもある。本研究では、これらの課題解決を指向した免疫疾患治療に資する小分子型治療薬候補創出、またその手法提示を目的とした創薬研究を展開した。

低分子医薬の新創出には、所望の薬効に通ずる分子標的が要求されるが、新たな分子標的が提示されにくい今日において画期的な新薬を創出するには、発想の転換が必要と思われる。そのような観点から、申請者は副作用発現などを理由に見捨てられていた過去の創薬ターゲットに着目し、有機化学先導的に副作用発現を軽減しつつ所望の薬効を発揮しうる医薬候補物質創出に興味をもった。これを申請者は「リバイバル創薬」と称している。本申請課題では、その一環として行ってきた核内受容体研究、中でもレチノイド X 受容体 (RXR) を分子標的に、そのモデュレーター創出から薬効評価、副作用評価について一貫して実施した。

RXR を標的とすると血中トリグリセリドなどの副作用がみられるが、この回避法として RXR を適度に活性化する RXR パーシャルアゴニストに注目した。これまでに RXR パーシャルアゴニスト CBt-PMN を創出し、上述する副作用を回避しつつ 2 型糖尿病マウスにて有意な血糖降下作用を示すことを世界で初めて見出している。また、本化合物による制御性 T 細胞誘導能も見出している。しかし、本化合物の長期的な投与による副作用発現、またクローン病モデル等での薬効については未確認である。本年度は、CBt-PMN の長期投与、クローン病モデル等での薬効評価のほか、本化合物の作用発現解明を通じた新規 RXR パーシャルアゴニストの新創出に成功し、特許出願に至った。

研究分担者

大橋俊孝（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・分子医化学，准教授），大塚 正人（岡山大学自然生命科学研究支援センター，准教授）；リウマチモデルの作成ならびに PCR を用いた作用メカニズム解明

A. 研究目的

本研究は，抗体医薬で課題とされる投与形式の限定や抗体の出現，費用的課題を回避した，クローン病やリウマチなどの免疫疾患治療に資する新たな小分子型医薬候補物質の創出を目指すものである。

核内受容体 PPAR や LXR のアゴニストによる抗炎症・抗アレルギー作用が報告されているが，これらは PPAR/RXR また LXR/RXR を介して発揮される．興味深いことに，これらのヘテロダイマーが RXR アゴニスト単独でも活性化されること（RXR パーミッシブヘテロダイマー）¹，また外因性のみならず内因性の PPAR² や LXR³ 活性を RXR アゴニストが増強しうるシナジー効果を有することから，RXR アゴニストであれば，これらの総合的な効果による抗炎症・抗アレルギー作用が期待されると考えた．これまでに申請者は，独自に創出した RXR アゴニスト NEt-3IP⁴ によるリウマチモデルでの薬効，また顕著な Th17 発現抑制能を見出している．また，上述するような免疫疾患に対する治療薬候補物質として関心を集め

ている制御性 T 細胞（Treg）誘導能が本化合物にも見られることを発見している（投稿準備中）．

しかし，NEt-3IP をはじめ既存の RXR アゴニストは，血中トリグリセリド上昇などの副作用発現が認められる⁵．これらの RXR アゴニストは RXR フルアゴニストであるため，RXR の活性過多に基づき副作用発現を生じうるのでないかと考えられた．そこで申請者は，フルアゴニストに比べて efficacy (E_{max}) が 60% 前後である RXR モデュレーターに興味を抱いた．

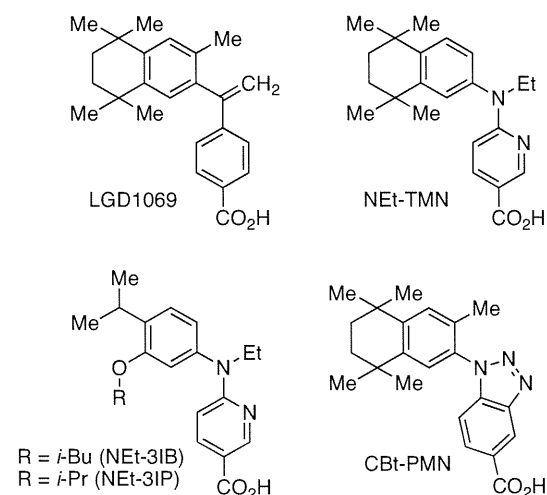


Figure 1. 各種RXRリガンドの分子構造.

RXR パーシャルアゴニストの合理的分子設計は報告されているが⁶数も少なく，*in vivo* での有効性に関する報告はない．そのような中，CBt-PMN と命名した化合物に E_{max} が 75%， EC_{50} 値が 150 nM 程度の活性を見出し（特願 2008-282792），かつ上述する副作用を回避しつつ 1 型 2 型

糖尿病モデルにおいて有意な血糖降下作用を示すことを見出している^{7,8} (日本薬学会医薬化学部会 MCS 優秀発表賞を受賞)。

しかし、本化合物によるクローン病などに対する薬効評価は未実施である。そこで、本研究ではその薬効評価、また、各種 RXR パーシャルアゴニストを創出し、製薬企業との共同研究に発展しうる小分子型免疫疾患治療薬の医薬候補もしくはリード化合物を提供する。

【参考文献】

1. a) *Science* 2001, 294, 1866–70. b) *Cell* 1995, 83, 841–50. c) *Nature* 1997, 386, 407–10.
2. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1995, 132, 317–24.
3. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004, 101, 17813–8.
4. *ChemMedChem.* 2008, 3, 780–7.
5. *Biochem. Pharmacol.* 2001, 62, 1501–9.
6. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007, 104, 17323–8.
7. *MedChem News* 2011, 21, 21–25.
8. *ACS Med. Chem. Lett.*, 2012, 3, 427–432.

B. 研究方法

1. RXR パーシャルアゴニスト

CBt-PMN の長期投与における副作用発現に関して

1-1) SD ラットを用いた 28 日間連続経口投与による体重、器官重量並びに血液生化学測定

チャールスリバーより 5 週齢の雄性および雌性 SD ラットを購入して用いた。動物搬入後、実験実施日まで 1 ケージあたり 3 匹で飼育した。1 群の例数は 6 匹とし、動物はすべて温度 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 50

$\pm 20\%$ 、午前 8 時点灯、午後 8 時消灯の条件下で単独飼育とした。また、飼育中は飼料及び水を自由摂取させた。実験開始初日に、平均体重が揃うように群分けしたのち、経口ゾンデを用いて投薬した。なお、経口薬物はエタノールで溶解させた後、エタノール最終濃度が 1% になるよう 0.5% (カルボキシメチルセルロース) CMC 水溶液にて 5 mL/kg (ラット) で経口投与できるよう調整した。毎朝 10 時に体重測定後、30 mg/kg/day での投与を 28 日間施し、投薬最終日の 17 時より絶食、自由飲水させた。翌朝 10 時よりジエチルエーテルにて前麻酔した後、イソフルラン麻酔機を用いた麻酔下採血、深麻酔殺した後、各臓器をサンプリングし、重さを測定した。得られた血液は、2,000g、 4°C で 10 分間遠心し血清サンプルとしたもの、血球数測定用にヘパリン処理したものを作成した。

1-2) 雄性 ICR マウスを用いた 7 日間連続経口投与による体重並びに肝肥大試験

チャールスリバーより 6 週齢の雄性 ICR マウスを購入して用いた。動物搬入後、実験実施日まで 1 ケージあたり 5 匹以下で飼育した。1 群の例数は 7 匹で、動物はすべて温度 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 20\%$ 、午前 8 時点灯、午後 8 時消灯の条件下で単独飼育とした。また、飼育中は飼料及び水を自由摂取させた。実験開始初日に、平均体重が揃うように群分けし

たのち、経口ゾンデを用いて投薬した。なお、経口薬物はエタノールで溶解させた後、エタノール最終濃度が1%になるよう0.5%（カルボキシメチルセルロース）CMC水溶液にて1 mL/kg（マウス）で経口投与できるように調整した。毎朝10時に体重測定後、30 mg/kg/dayでの投与を7日間施し、投薬最終日の17時より絶食、自由飲水させた。翌朝10時よりジエチルエーテルにて深麻酔殺した後、肝臓をサンプリングし、重さを測定した。

1-3) 血液生化学検査ならびに血球測定

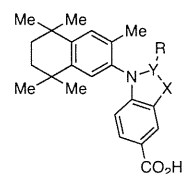
白血球数 (WBC), 赤血球数 (RBC), ヘモグロビン (HGB), ヘマトクリット値 (HCT), 平均赤血球容積 (MCV), 平均赤血球血色素量 (MCH), 平均赤血球血色素濃度 (MCHC) および血小板数 (PLT)については、pocH-100i (Sysmex)を用いて測定した。

また、aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), γ -glutamyl transpeptidase (γ -GTP), alkaline phosphatase (ALP), creatinine (CRE), blood urea nitrogen (BUN), triglyceride (TG), total cholesterol (TCHO)および glucose (GLU) については、Fuji Dry Chem system (Dry Chem 4000V, Fuji Medical Co., Tokyo, Japan)を用いて測定した。

2. RXRパーシャルアゴニスト

CBt-PMNのRXRパーシャルアゴニスト活性発現メカニズムの解明

CBt-PMN が RXR パーシャルアゴニスト活性を示す要因について不明である。そこで、CBt-PMN の構造的特徴であるトリアゾール部位について種々構造展開を行い、本化合物がパーシャルアゴニスト活性を示した要因解明を目指した。



Compound	X	Y-R
CBt-PMN	N	N
1a	N	C-CH ₃
1b	N	C-H
1c	N	C-NH ₂
1d	N	C-CF ₃
1e	NH	C=O
1f	NH	C=S
2	CH	C-H

Figure 2. 本研究で創出したRXRリガンド。

CBt-PMN の閉環構造部位の構造展開は Figure 2 にしたがって行った。創出した化合物については、レポーター遺伝子アッセイを用いてRXRアゴニスト活性を評価した。さらに、パーシャルアゴニスト活性を示した化合物の共通要因を、極性、疎水性、立体因子、さらに静電ポテンシャルに注目し、議論した。なお、静電ポテ

ンシャルについては、分子軌道計算ソフト Spartan10 を用いて計算した。また、化合物と RXR とのドッキングシミュレーションには、タンパク質構造として Protein Data Bank より RXR アゴニスト LGD1069 の結合した X 線構造データ (3H0A) を web

(<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>) より入手し、さらに化合物の立体構造を Spartan10 で構築後、AutoDock 4.2 を用いて行った。なお、画像化は MolFeat v4.5 を用いた。

3. TPA 誘発皮膚炎 (乾癬様) モデルにおける薬効評価

3-1) 本実験の意義

乾癬は、赤い発疹と皮膚上皮の角質細胞が剥がれ落ちる皮屑を伴う皮膚疾患であり、ヘルパーT細胞の増加や Th1, Th17 などの亢進が原因と考えられる皮膚疾患である。その治療には、副腎皮質ホルモンなどのステロイド系抗炎症薬やビタミン D 製剤の利用があるが、新薬の希求されている疾患の一つでもある。本疾患が Th1, Th17 の関与が報告されていることから、免疫系に影響を及ぼしうる RXR モデュレーターの効果に興味を持たれた。

本モデルは、後述するように phorbol 12-myristate 13-acetate(TPA)をマウスの耳に塗布することで作成出来ること、また

薬効を評価する上で、用いる薬物のアセトン溶液を耳に塗布することで行え、少量のサンプルによる評価が可能であることから、クローン病モデル動物による評価に先立ち実施した。

3-2) モデルの作成方法

1) 7週齢の雄性 ICR マウスを購入し、1化合物につき、1群5匹用いた。

2) Phorbol 12-myristate 13-acetate(TPA)の 0.03%アセトン溶液を作成した。マウスの左耳を炎症誘発群、右耳を未感作部として利用した。

3) 試験化合物は、アセトンにて 5 mM 溶液を作成した。

4) TPA 処置前に、シックネスゲージ (ダイヤルシックネスゲージ 0.01 mm タイプ - PEACOCK 株式会社 尾崎製作所 : G-1A) を用いて、両耳の厚さを測った。

5) 両耳の厚さ測定の後、TPA もしくはアセトンを所定の耳に片面 10 μ L ずつ塗布した。

6) 4 の処置 1 時間後に、3 で作成した試験化合物のアセトン溶液を、各耳、片面 10 μ L ずつ塗布した。

7) 5 および 6 を 4 日間繰返した。

8) 7 の作業の翌日、シックネスゲージを用いて、両耳の厚さを測った後、エーテルにて安楽死させた後、耳を切断し、6 mm

トレパン（アズワン製）を用いてサンプリングし、得られたサンプルの質量を測定した。また、切断した耳を PCR 測定、組織切片作成用に保存した。

3-3) 評価方法

薬効の評価は、耳の肥厚の厚さ、また 4 日間処置後にサンプリングした耳の質量測定で行った。

3-4) 統計学的処理

有意差検定は vehicle 群と薬物投与群との間には、t 検定法 (F 検定を含む) により行った。

4. 2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸 (TNBS) 誘発腸炎モデルでの薬効評価

4-1) モデルの作成方法

Nature Protocol. 2007, 2, 541.を参考に実施した。

1) 7 週齢(体重 18-20 g)の雌性 BALB/c マウスを購入し、1 化合物につき、1 群 5 匹用いた。

2) アセトンで 5% TNBS 水溶液(Sigma)を 5 倍希釈して、前処理用の TNBS 溶液を作成した。

3) ジエチルエーテル麻酔下、バリカンを用いて、マウスの背中を $1.5 \times 1.5 \text{ cm}^2$ 毛ぞりした。毛ぞり後、体重別に群わけし、

200 μL ピペットマンを用いて、2 で作製した前処理用の TNBS 溶液を 1 匹あたり 150 μL 、毛ぞりした箇所に塗布した。なお、ノーマル群については、アセトン-水溶液を塗布した。

4) TNBS 前感作 5 日後に、改めて体重別に群分け (1 群 5 匹) を行った。

5) この日より 7 日間、毎日体重測定した後、胃ゾンデを用いて化合物の CMC 溶液を経口投与した。なお、化合物投与は、1 匹あたり 30 mg/kg で行った。投与する化合物は、終濃度 1%となる量のエタノールで溶かし、0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) 溶液で懸濁することにより調整した。化合物調製は 10 mL/kg の容量で行った。

6) 経口投与開始 2 日目に腸注用の TNBS 溶液を作成した。これは、5% TNBS 水溶液(Sigma)を精製水及びエタノールにて希釈し、2%TNBS 溶液とした。この時エタノールは全体量の 50%となるようにした。

7) 経口投与開始 3 日目に、経口投与を施した後、イソフルラン麻酔下、TNBS 前感作処理群について、6 で作成した TNBS 溶液をカテーテルにより 100 μL 直腸投与を行った。TNBS 前感作未処理群については、50%エタノールを腸注した。

8) TNBS 直腸投与から 4 日後に、体重測定した後、マウスをジエチルエーテルにより安楽死させ、解剖した。なお、前日

の絶食は行わなかった。大腸を摘出し、大腸長の測定の後、一部を PCR 測定、組織切片作成用に保存した。

4-2) 評価方法

薬効の評価は、TNBS 腸注開始日からの体重減少の抑制、また解剖によりサンプリングされた大腸の長さにより行った。

4-3) 統計学的処理

有意差検定は vehicle 群と薬物投与群との間は、t 検定法 (F 検定を含む) により行った。

(倫理面への配慮)

いずれの動物実験とも、岡山大学動物実験委員会の承認を得て実施した。

C. 研究結果

1. RXRパーシャルアゴニスト

CBt-PMNの長期投与における副作用発現に関して

結果を、Figure 3およびTable 2, 3に示す。CBt-PMNは、RXRアゴニストに報告されている体重増加は顕著でなく、肝肥大、トリグリセリド上昇についても、薬物非投与群に比べ有意な差は認められなかった。なお、臓器重量において精巣の重量が有意に増加しており、この点については、今後の検討課題である。また、血液成分に関する生化学検査の結果、薬物非投与群に比べ有意な差が見られるものもあったが、ラット購入元であるCharles River社から提供さ

れている平均データと比較すると、正常範囲であると判断出来る。

2. RXRパーシャルアゴニスト

CBt-PMNのRXRパーシャルアゴニスト活性発現メカニズムの解明

2-1) 化合物の合成

合成は、Scheme 1 および 2 にしたがって行った。

文献既知の方法を用いてペンタメチルテトラリン **3** を合成し、その後のニトロ化と接触還元によりアミノ体 **5** を得た。一方、酸性部位に相当する部分を、市販の 4-iodobenzoic acid (**6**)を出発原料にニトロ化とエステル化により **8** とした。化合物 **5** と **8** を Buchwald のカップリング反応により **9** とし、その後接触還元を行うことで **10** を得た。化合物 **10** を共通中間体として、酢酸を用いた環化により **11a** を、ギ酸を用いた環化により **11b** を、ブロモシアンを用いることで **11c** を、トリフルオロ酢酸無水物を用いることで **11d** とした。さらに、**10** からトリホスゲン、二硫化炭素を用いた閉環により、カルボニル基を有する **11e** および **11f** を得た。エステル体である化合物 **10** ならびに **11** に対しエステル基の脱保護を行うことで、目的化合物 **1a-f** を得た (Scheme 1)。

また、インドール構造を有する **2** を、Scheme 2 により得た。

General methods.

Melting points were determined with a Yanagimoto hot-stage melting point apparatus and are uncorrected. ¹H NMR spectra were recorded on a VarianVXR-300 (300 MHz), JEOL JMN-AL-300 (300 MHz) or VarianVXR-500 (500 MHz) spectrometer. Elemental analysis was carried out with a Yanagimoto MT-5 CHN recorder elemental analyzer and results were within ±0.4% of the theoretical. FAB-MS was carried out with a VG70-SE.

HPLC conditions

The HPLC system used in this study was a Shimadzu liquid chromatographic system (Kyoto, Japan) consisting of an LC-10AD pump, SPD-10AV UV-Vis spectrophotometric detector, CTO-10AS column oven and C-R5A Chromatopac. The samples (each 20 µL) were injected. The chromatographic analyses were carried out on an Inertsil ODS-3 (4.6 i.d. x 250 mm, 5 µm, GL Sciences, Tokyo, Japan) with a guard column of Inertsil ODS-3 (4.0 i.d. x 10 mm, 5 µm, GL Sciences) kept at 40°C, using methanol : 25 mM ammonium acetate (adjusted with acetic acid to pH 5.0) (80:20 or 70:30, v/v) as a mobile phase. The flow rate was 0.7 mL/min and the absorbance at 278 nm was monitored.

1,1,4,4,6-Pentamethyl-7-nitro-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene (4).

To an ice cooled solution of **3** (2.0 g, 9.9 mmol) in Ac₂O (10 mL) was added *conc.*HNO₃ (0.75 mL) dropwise. The reaction mixture was poured into ice, extracted with EtOAc (50 mL × 2). The organic layer was washed with H₂O (50 mL × 2) and brine (50 mL), then dried over MgSO₄. The solution was evaporated under reduced pressure. The residue was re-crystallized from EtOAc/hexane to yield 4.5 g of **4** as pale yellow powder (72%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.96 (1H, s), 7.21 (1H, s), 2.56 (3H, s), 1.70 (4H, s), 1.30 (6H, s), 1.29 (6H, s).

3,5,5,8,8-Pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-ylamine (5).

To a solution of **4** (2.5 g, 10 mmol) in EtOAc (20 mL) was added Pd/C (catalyst amount). The mixture was stirred at r.t. under H₂ atmosphere for 7.0 hr. The reaction mixture was filtrated through Celite. The solution was evaporated under reduced pressure to yield 2.2 g of **5** as pale yellow solid (q.y.).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 6.97 (1H, s), 6.61 (1H, s), 3.45 (2H, br s), 2.14 (3H, s), 1.64 (4H, s), 1.24 (6H, s), 1.24 (6H, s).

4-Iodo-3-nitrobenzoic acid (7).

To a solution of **6** (2.5 g, 10 mmol) in *conc.*H₂SO₄ (14 mL) were added a solution of *conc.*HNO₃ (4.9 mL) and *conc.*H₂SO₄ (4.3 mL) dropwise. The mixture was stirred at r.t.

over night. The reaction mixture was poured into ice (50 mL). The mixture was filtered, then the residue was dried to yield 2.6 g of **7** as pale yellow powder (90%).

¹H NMR(500 MHz, CDCl₃) δ: 8.49 (1H, s), 8.19 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.92 (2H, d, *J* = 8.0 Hz).

4-Iodo-3-nitrobenzoic acid methyl ester (8).

To a solution of **7** (2.6 g, 9.0 mmol) in dry MeOH (10 mL) was added a *conc.*H₂SO₄ (1.9 mL) dropwise. The mixture was stirred at r.t. over night. The reaction mixture was neutralized with *sat.*NaHCO₃ (10 mL), extracted with EtOAc (40 mL × 3). The organic layer was washed with H₂O (40 mL) and brine (50 mL), then dried over MgSO₄. The solution was evaporated under reduced pressure. The residue was re-crystallized from MeOH to yield 2.8 g of **8** as yellow needles (q.y.).

¹H NMR(500 MHz, CDCl₃) δ: 8.45 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 8.15 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.88 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz), 3.97 (3H, s).

3-Nitro-4-(3,5,5,8,8-pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalen-2-ylamino)-benzoic acid methyl ester (9).

To a solution of **5** (0.83 g, 3.8 mmol) and **8** (1.2 g, 3.8 mmol) in dry toluene (4.0 mL) were added Pd₂(dba)₃ (170 mg, 0.19 mmol), (±)-BINAP (180 mg, 0.28 mmol) and Cs₂CO₃ (3.1 g, 9.5 mmol). The mixture was

refluxed at 110°C under Ar atmosphere over night. The reaction mixture was filtrated through Celite. The filtrate was evaporated under reduced pressure. The residue was purified by flash column chromatography (EtOAc : *n*-hexane = 1 : 15) to yield 1.3 g of **9** as yellow foam (q.y.).

¹H NMR(300 MHz, CDCl₃) δ: 9.63 (1H, br s), 8.93 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 7.93 (1H, dd, *J* = 9.0, 2.0 Hz), 7.24 (1H, s), 7.17 (1H, s), 6.82 (1H, d, *J* = 9.0 Hz), 3.91 (3H, s), 2.19 (3H, s), 1.70 (4H, s), 1.31 (6H, s), 1.25 (6H, s).

3-Amino-4-(3,5,5,8,8-pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalen-2-ylamino)-benzoic acid methyl ester (10).

To a solution of **9** (0.50 g, 1.3 mmol) in EtOAc (2.0 mL) was added Pd/C (catalyst amount). The mixture was stirred at r.t. under H₂ atmosphere over night. The reaction mixture was filtrated through Celite. The filtrate was evaporated under reduced pressure to yield 0.39 g of **10** as white solid (84%).

¹H NMR(300 MHz, CDCl₃) δ: 7.49 (1H, s), 7.48 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.13 (1H, s), 6.96 (1H, s), 6.83 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 5.39(1H, br s), 3.87 (3H, s), 3.55(2H, br s), 2.19 (3H, s), 1.67 (4H, s), 1.28 (6H, s), 1.21 (6H, s).

2-Methyl-1-(3,5,5,8,8-pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydro-2-naphthyl)-1H-benzimidazole-5-carboxylic acid methyl ester (11a).

To a solution of **10** (150 mg, 0.40 mmol)

in AcOH (5.0 mL) was added Ac₂O (0.50 mL). The mixture was stirred at r.t. for 15 min. The reaction mixture was poured into ice-cooled *sat.*NaHCO₃ (70 mL), extracted with EtOAc (50 mL × 2). The organic layer was washed with *sat.*NaHCO₃ (70 mL), then dried over MgSO₄. The solution was evaporated under reduced pressure.

The residue (170 mg) and TsOH·H₂O (190 mg, 1.0 mmol) were solved into dioxane (5.0 mL). The solution was refluxed at 120°C overnight. The reaction mixture was poured into H₂O (40 mL), extracted with EtOAc (30 mL × 2). The organic layer was washed with H₂O (50 mL) and brine (30 mL), then dried over MgSO₄. The solution was evaporated under reduced pressure to yield 150 mg of **11a** as brown solid (98%).

¹H NMR(500 MHz, CDCl₃) δ: 8.46 (1H, d, *J* = 1.5 Hz), 7.92 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.5 Hz), 7.30 (1H, s), 7.12 (1H, s), 6.98 (1H, s), 3.95 (3H, s), 2.42 (3H, s), 1.90 (3H, s), 1.74 (4H, s), 1.36 (6H, s), 1.26 (6H, s).

1-(3,5,5,8,8-Pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)-1H-benzimidazole-5-carboxylic acid methyl ester (11b).

Compound **10** (150 mg, 0.40 mmol) was added formic acid (1.0 mL). The mixture was refluxed at 100°C for 4.0 hr. The reaction mixture was poured into 2N NaOH (10 mL), extracted with EtOAc (40 mL × 3). The organic layer was collected, washed with

brine (10 mL), then dried over MgSO₄. The solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was purified by flash column chromatography (EtOAc : *n*-hexane = 1 : 4) to yield 140 mg of **11b** as colorless powder (93%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.61 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 8.06 (1H, s), 8.03 (1H, dd, *J* = 9.0, 2.0 Hz), 7.33 (1H, s), 7.22 (1H, s), 7.21 (1H, d, *J* = 9.0 Hz), 3.98 (3H, s), 2.05 (3H, s), 1.75 (4H, s), 1.36 (6H, s), 1.29 (6H, s).

2-Amino-1-(3,5,5,8,8-pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalen-2-yl)-1H-benzimidazole-5-carboxylic acid methyl ester (11c)

To a solution of BrCN (48 mg, 0.45 mmol) in THF (5.0 mL) was added **10** (110 mg, 0.30 mmol). The mixture was stirred at r.t. under Ar atmosphere for 12 hr. The reaction mixture was poured into 2N NaOH (10 mL), extracted with EtOAc (60 mL × 3). The organic layer was washed with brine (20 mL) and H₂O (40 mL), then dried over MgSO₄. The solution was evaporated under reduced pressure. The residue was purified by flash column chromatography (CH₂Cl₂ : MeOH = 50 : 1) to yield 30 mg of **11d** as white powder (26%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.14 (1H, d, *J* = 1.5 Hz), 7.77 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.5 Hz), 7.34 (1H, s), 7.23 (1H, s), 6.81 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 3.92 (3H, s), 2.03 (3H, s), 1.74 (4H, s), 1.36 (3H, s), 1.34 (3H, s), 1.28 (3H, s),

1.27 (3H, s).

1-(3,5,5,8,8-Pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)-2-trifluoromethyl-1H-benzimidazole-5-carboxylic acid methyl ester (11d)

To a solution of **10** (520 mg, 1.4 mmol) in TFA (8.0 mL) was added TFAA (1.0 mL, 7.0 mmol). The mixture was stirred at r.t. for 1.0 hr. The reaction mixture was poured into *sat.*NaHCO₃ (30 mL), extracted with EtOAc (50 mL × 3). The organic layer was washed with H₂O (50 mL) and brine (10 mL), then dried over MgSO₄. The solution was evaporated under reduced pressure. The residue was purified by flash column chromatography (EtOAc : *n*-hexane = 1 : 20) to yield 590 mg of **11d** as white solid (95%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.68 (1H, d, *J* = 1.5 Hz), 8.10 (1H, dd, *J* = 9.0, 1.5 Hz), 7.28 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.20 (1H, s), 7.12 (1H, dd, *J* = 9.0, 0.5 Hz), 3.97 (3H, s), 1.89 (3H, s), 1.73 (4H, s), 1.35 (6H, s), 1.25 (6H, s).

2-Oxo-1-(3,5,5,8,8-pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydro-2-naphthyl)-2,3-dihydro-1H-benzimidazole-5-carboxylic acid methyl ester (11e).

To a solution of **10** (110 mg, 0.30 mmol) in 1,2-dichloroethane (6.0 mL) were added Et₃N (70 μL, 0.50 mmol) and triphosgene (59 mg, 0.20 mmol). The mixture was refluxed at 110°C overnight. The reaction mixture was

poured into H₂O (40 mL), extracted with EtOAc (30 mL × 2). The organic layer was washed with H₂O (60 mL), then dried over MgSO₄. The solvent was evaporated under reduced pressure to yield 120 mg of **11e** as pale yellow solid (q.y.).

¹H NMR(500 MHz, CDCl₃) δ: 11.35 (1H, s), 7.67 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz), 7.60 (1H, d, *J* = 1.5 Hz), 7.39 (1H, s), 7.27 (1H, s), 6.66 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 3.84 (3H, s), 2.00 (3H, s), 1.68 (4H, s), 1.31 (3H, s), 1.30 (3H, s), 1.23 (3H, s), 1.23 (3H, s).

1-(3,5,5,8,8-Pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydro-2-naphthyl)-2-thioxo-2,3-dihydro-1H-benzimidazole-5-carboxylic acid methyl ester (11f).

To a solution of **10** (110 mg, 0.30 mmol) in CCl₄ (5.0 mL) were added CS₂ (180 μL, 3.0 mmol) and DBU (45 μL, 0.30 mmol). The mixture was refluxed at 70°C for 2.5 hr. The reaction mixture was poured into H₂O (50 mL), extracted with EtOAc (30 mL × 2). The organic layer was washed with H₂O (50 mL) and brine (30 mL), then dried over MgSO₄. The solvent was evaporated under reduced pressure to yield 120 mg of **11f** as pale yellow foam (q.y.).

¹H NMR(300 MHz, CDCl₃) δ: 10.41 (1H, br s), 7.95 (1H, d, *J* = 1.5 Hz), 7.88 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.5 Hz), 7.32 (1H, s), 7.19 (1H, s), 6.78 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 3.94 (3H, s), 2.06 (3H, s), 1.73 (4H, s), 1.36 (3H, s), 1.34 (3H,

s), 1.30 (3H, s), 1.26 (3H, s).

2-Methyl-1-(3,5,5,8,8-pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydro-2-naphthyl)-1H-benzimidazole-5-carboxylic acid (1a).

To a solution of **11a** (150 mg, 0.40 mmol) in MeOH (10 mL) was added 2N NaOH (10 mL). The mixture was stirred at 60°C for 20 min. The reaction mixture was poured into 1N HCl (20 mL), extracted with EtOAc (30 mL × 2). The organic layer was washed with H₂O (40 mL) and brine (30 mL), dried over MgSO₄. The solvent was evaporated under reduced pressure to yield 140 mg of **1a** as brown solid (93%). The residue was re-crystallized from MeOH to yield 84 mg of colorless powder.

Mp 295.0°C; ¹H NMR(300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.71 (1H, br s), 8.20 (1H, s), 7.81 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.47 (1H, s), 7.36 (1H, s), 6.94 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 2.32 (3H, s), 1.85 (3H, s), 1.69 (4H, s), 1.33 (6H, s), 1.25 (3H, s), 1.24 (3H, s); IR (KBr): 2957-2925 (OH), 1701 (CO) cm⁻¹; FAB-MS *m/e*: 377 [M+H]⁺; *Anal.* Calcd for C₂₄H₂₈N₂O₂·1/4H₂O : C, 75.66; H, 7.54; N, 7.35. Found: C, 75.70; H, 7.42; N, 7.36.

1-(3,5,5,8,8-Pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)-1H-benzimidazole-5-carboxylic acid (1b).

To a solution of **11b** (140 mg, 0.40 mmol) in MeOH (3.0 mL) and THF (1.0 mL) was

added 2N NaOH (2.0 mL). The mixture was stirred at 60 °C for 2.0 hr. The solution was poured into 2N HCl (2,0 mL) and extracted with EtOAc (40× 3 mL). The organic layer was collected, washed with brine (20 mL), then dried over MgSO₄. The mixture was evaporated under reduced pressure to yield 180 mg of **1b** (q.y.). The residue was re-crystallized from EtOAc/*n*-hexane to yield 110 mg of colorless powder.

Mp: 255.0-257.0°C; HPLC: 13 min. 99% purity (MeOH:AcONH₄ = 70:30); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.76 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 8.17 (1H, s), 8.11 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz), 7.33 (1H, s), 7.27 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.26 (1H, s), 7.23 (1H, s), 2.06 (3H, s), 1.74 (4H, s), 1.36 (6H, s), 1.29 (6H, s); FAB-MS *m/z*: 363 [M + H]⁺; *Anal.* Calcd for C₂₃H₂₆N₂O₂·1/4EtOAc: C, 74.97; H, 7.34; N, 7.29. Found: C, 75.06; H, 7.74; N, 7.74.

2-Amino-1-(3,5,5,8,8-pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalen-2-yl)-1H-benzimidazole-5-carboxylic acid (1c)

To a solution of **11c** (95 mg, 0.24 mmol) in MeOH (2.0 mL) and THF (2.0 mL) was added 2N NaOH (2.0 mL). The mixture was stirred at 60 °C for 0.5 hr. The solution was poured into 2N HCl (4.0 mL) and extracted with EtOAc (70× 3 mL). The organic layer was collected, washed with brine (30 mL) and H₂O (30 mL), then dried over MgSO₄. The mixture was evaporated under reduced

pressure. The residue was purified by flash column chromatography (CH₂Cl₂ : MeOH = 10 : 1) to yield 110 mg of **1c** as white crystal (q.y.).

Mp: 265.3-266.0°C decomp.; HPLC: 25 min. 95% purity (MeOH:AcONH₄ = 70:30); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.95 (1H, br s), 8.36 (2H, br s), 7.98 (1H, s), 7.79 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.0 Hz), 7.53 (1H, s), 7.50 (1H, s), 6.79 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 2.01 (3H, s), 1.69 (4H, s), 1.33 (6H, s), 1.25 (3H, s), 1.23 (3H, s); FAB-MS *m/z*: 378 [M + H]⁺.

1-(3,5,5,8,8-Pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydro-naphthalen-2-yl)-2-trifluoromethyl-1H-benzimidazole-5-carboxylic acid (1d)

To a solution of **11d** (50 mg, 0.11 mmol) in MeOH (1.0 mL) and THF (2.0 mL) was added 2N NaOH (1.0 mL). The mixture was stirred at 60 °C for 1.0 hr. The solution was poured into 2N HCl (2.0 mL) and extracted with EtOAc (40× 3 mL). The organic layer was collected, washed with brine (10 mL) and H₂O (10 mL), then dried over MgSO₄. The mixture was evaporated under reduced pressure. The residue was re-crystallized from EtOAc/*n*-hexane to yield 21 mg of colorless powder (43%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.75 (1H, d, *J* = 1.5 Hz), 8.15 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.5 Hz), 7.30 (1H, s), 7.21 (1H, s), 7.15 (1H, d, *J* = 9.5 Hz), 1.91 (3H, s), 1.74 (4H, s), 1.36 (6H, s), 1.25 (6H, s); FAB-MS *m/e*: 431 [M+H]⁺;

Anal. Calcd for C₂₄H₂₅F₃N₂O₂ : C, 66.96; H, 5.85; N, 6.51. Found: C, 6.93; H, 6.11; N, 6.41.

2-Oxo-1-(3,5,5,8,8-pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydro-2-naphthyl)-2,3-dihydro-1H-benzimidazole-5-carboxylic acid (1e)

To a solution of **11d** (120 mg, 0.30 mmol) in MeOH (10 mL) was added 2N NaOH (10 mL). The mixture was stirred at 60°C for 30 min. The reaction mixture was poured into 1N HCl (20 mL), extracted with EtOAc (30 mL × 2). The organic layer was washed with H₂O (40 mL) and brine (30 mL), then dried over MgSO₄. The mixture was evaporated under reduced pressure to yield 110 mg of **1e** as pale yellow solid (q.y.). The residue was re-crystallized from EtOAc/*n*-hexane to yield 45 mg of colorless powder.

Mp >300°C; ¹H NMR(300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.69 (1H, br s), 11.29 (1H, s), 7.64 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz), 7.59 (1H, d, *J* = 1.5 Hz), 7.39 (1H, s), 7.26 (1H, s), 6.63 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 2.01 (3H, s), 1.68 (4H, s), 1.31 (3H, s), 1.30 (3H, s), 1.24 (3H, s), 1.23 (3H, s); IR (KBr): 2959-2926 (OH), 1712 (CO), 1685 (CO) cm⁻¹; FAB-MS *m/e*: 379 [M+H]⁺; Anal. Calcd for C₂₃H₂₆N₂O₃·1/4H₂O : C, 72.13; H, 6.97; N, 7.31. Found: C, 72.40; H, 7.05; N, 7.18.

1-(3,5,5,8,8-Pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydro-2-naphthyl)-2-thioxo-2,3-dihydro-1H-benzimidazole-5-carboxylic acid (1f)

To a solution of **11f** (120 mg, 0.30 mmol) in MeOH (3.0 mL), was added 2N NaOH (3.0 mL). The mixture was stirred at 60°C for 15 min. The reaction mixture was poured into 2N HCl (30 mL), extracted with EtOAc (20 mL × 2). The organic layer was washed with H₂O (30 mL × 2) and brine (30 mL), then dried over MgSO₄. The mixture was evaporated under reduced pressure to yield 100 mg of **1f** as pale yellow solid (86%). The residue was re-crystallized from EtOAc/*n*-hexane to yield 90 mg of pale yellow needles.

Mp >300°C; ¹H NMR(300 MHz, DMSO-*d*₆) : 13.20 (1H, br s), 12.91 (1H, br s), 7.76 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.5 Hz), 7.75 (1H, d, *J* = 1.5 Hz), 7.41 (1H, s), 7.24 (1H, s), 6.68 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 1.95 (3H, s), 1.68 (4H, s), 1.33 (3H, s), 1.32 (3H, s), 1.23 (3H, s), 1.23 (3H, s); IR (KBr): 3056 (NH), 2962-2923 (OH), 1693 (CO) cm⁻¹; FAB-MS *m/e*: 395 [M+H]⁺; *Anal.* Calcd for C₂₃H₂₆N₂O₂S·1/2H₂O : C, 68.48; H, 6.74; N, 6.94. Found: C, 68.39; H, 6.63; N, 6.82.

1-(3,5,5,8,8-Pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid methyl ester (14).

To a solution of **12** (1.0 g, 3.6 mmol) and **13** (530 mg, 3.0 mmol) in dry toluene (4.0 mL) were added CuI (28 mg, 0.15 mmol), K₃PO₄ (1.3 g, 6.3 mmol), KI (600 mg, 3.6 mmol) and *N,N'*-dimethylethylenediamine

(65 μL, 0.60 mmol). The mixture was refluxed at 160°C for 2.5 hr under microwave irradiation. The reaction mixture was filtrated through Celite. The filtrate was evaporated under reduced pressure. The residue was purified by flash column chromatography (EtOAc : *n*-hexane = 1 : 40) to yield 89 mg of **14** as yellow crystal (7.9%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.47 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 7.88 (1H, dd, *J* = 9.0, 2.0 Hz), 7.28 (1H, s), 7.25 (1H, d, *J* = 3.0 Hz), 7.23 (1H, s), 7.09 (1H, d, *J* = 9.0 Hz), 6.75 (1H, d, *J* = 3.0 Hz), 3.95 (3H, s), 2.00 (3H, s), 1.74 (1H, s), 1.36 (6H, s), 1.28 (6H, s).

1-(3,5,5,8,8-Pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid (2).

To a solution of **14** (66 mg, 0.18 mmol) in MeOH (2.0 mL) and THF (1.0 mL) was added 2N NaOH (2.0 mL). The mixture was stirred at 60°C for 1.5 hr. The solution was poured into 2N HCl (2.0 mL) and extracted with EtOAc (40× 3 mL). The organic layer was collected, washed with brine (20 mL), then dried over MgSO₄. The mixture was evaporated under reduced pressure to yield 58 mg of **2** (92%). The residue was re-crystallized from EtOAc/*n*-hexane to yield 10 mg of colorless powder.

Mp: 244.0-245.0°C; HPLC: 33 min. 95% purity (MeOH:AcONH₄ = 80:20); ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ: 12.5 (1H, s), 8.47 (1H,

d, $J = 2.0$ Hz), 7.74 (1H, dd, $J = 9.0, 2.0$ Hz), 7.58 (1H, d, $J = 3.0$ Hz), 7.41 (1H, s), 7.26 (1H, s), 7.09 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 6.79 (1H, d, $J = 3.0$ Hz), 1.94 (3H, s), 1.68 (4H, s), 1.31 (6H, s), 1.24 (6H, s); FAB-MS m/z : 362 [M + H]⁺; Anal. Calcd for C₂₄H₂₇NO₂·1/4H₂O: C, 78.76; H, 7.57; N, 3.83. Found: C, 78.60; H, 7.36; N, 3.93.

2-2) RXR 活性

レポータージーンアッセイの結果を, Table 3 に掲載した. なお, 記載データは既知の RXR フルアゴニスト LGD10691 μ M での転写活性化能を 100 とした相対値で掲載している.

ウレア体 **1e** およびチオウレア体 **1f** には RXR 活性化能が見られなかったものの, **1a** や閉環構造 2 位にアミノ基を有する **1c** に RXR フルアゴニスト活性が認められた.

一方, 無置換体 **1b** およびトリフルオロ体 **1d** (CBTF-PMN) に RXR パーシャルアゴニスト活性が見られた. なかでも **1d** の EC₅₀ は CBt-PMN よりも一桁高活性な値を示した.

2-3) 構造活性相関

Table 4 には, 得られた RXR 転写活性化データと, 電子効果であるシグマ値, 立体因子を表す Es 値, 置換基の脂溶性の指標である π 値を示している. いずれの指標を用いても, RXR フルアゴニスト活性と RXR パーシャルアゴニスト活性の間に相

関を得ることが出来ず, CBt-PMN, **1b**, **1d** が RXR パーシャルアゴニスト活性を示す要因はこれら以外によるところが大きいと考えられた.

そこで, 我々は RXR フルアゴニスト, パーシャルアゴニスト表面の静電ポテンシャルに着目した (Figure 4). RXR フルアゴニスト活性を示した化合物 **1a** や **1c** は閉環構造 2 位付近が正の静電ポテンシャルを示す一方, RXR パーシャルアゴニスト活性を示した CBt-PMN や **1b**, **1d** における当該の位置においては, 弱い負の静電ポテンシャルを有することが分かった. さらに, RXR アゴニスト活性を示さなかった **1e** や **1f** はこの部位が強く負電荷に偏っていることから, RXR アゴニスト活性と閉環構造 2 位の静電ポテンシャルとの間の相関が示唆された.

更なる考察を行うべく, RXR パーシャルアゴニストと RXR との Docking study を行った (Figure 5). その結果, RXR パーシャルアゴニストの閉環構造 2 位と, RXR 中のヘリックス 5 のアスパラギン 306 の酸素原子との近接が示唆され, この酸素原子と CBt-PMN や **1d** の負の静電ポテンシャルとの弱い静電的反発が, これらの化合物が RXR パーシャルアゴニスト活性を示す要因であると推測された.

なお, インドール骨格を有する **2** が RXR パーシャルアゴニスト活性を示したのは, 上述した負の静電ポテンシャルで

はなく、**1a** や **1c** が RXR フルアゴニスト活性を示していることに鑑み、閉環構造2位の正の静電ポテンシャルに加えて立体構造的に小さいことに起因するものと思われる。これは、**1b** についても言えることである。

本研究でCBt-PMNより低濃度でRXR活性化能を示すパーシャルアゴニスト**1d**を見出したことから、本化合物を雄性マウスに30 mg/kg/dayでの経口投与を施し、体重変化、肝肥大、血中トリグリセリド上昇を比較した。その結果、Figure 2に示すように、CBTFの体重増加はNEt-TMNに比べ小さく、薬物非投与群に相当し、本化合物についても副作用発現がRXRフルアゴニストに比べ弱いことが示された。なお、ラットを用いた28日間連続経口投与試験は行っていないことから、平成24年度の実施を予定している。

3. TPA 誘発皮膚炎（乾癬様）モデルにおける薬効評価

本実験は、*J.Invest.Dermatol.*2002,119,94-101を参考に、TPAの塗布を1日行った後、耳の厚さを測定する方法にて行ったところ、ばらつきが多いことから、TPA の塗布ならびに薬物塗布を4日間繰返す方法に変え実施した。なお、薬効評価は耳の厚さならびにトレパンと呼ばれるサンプリング用小刀を用いて得られた、直径6 mm円状の耳サンプルの重量により比較した。

Figure 7に示すように、耳の厚さおよび直径6 mm円状の耳サンプルの重量ともに、CBt-PMNは炎症を減少させる傾向は見られたものの、有意差は見られなかった。一方で、より低濃度でRXR活性化能を示すRXRパーシャルアゴニスト**1d**では、有意な炎症の抑制が認められた。

4. 2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸（TNBS）誘発腸炎モデルでの薬効評価

クローン病モデルの作成方法としては、TNBSやNBD-Clを用いた方法が知られる。本研究でも、いずれのモデル作成を実施したところ、TNBSモデルが再現よく作成出来たことから、こちらのモデルを用いた薬効評価を行った。その結果、CBt-PMNは、30 mg/kg/dayでの経口投与では、顕著な薬効が認められなかった（Figure 8）。一方で、より低濃度でRXR活性化能を示すRXRパーシャルアゴニスト**1d**は、有意な抗炎症作用を示した。