

【博士論文名】

Design and synthesis of prostate cancer antigen-1 (PCA-1/ALKBH3) inhibitors as anti-prostate cancer drugs (前立腺がん治療薬を目指した新規PCA-1阻害剤の探索合成)

【博士論文の基盤となる論文及び雑誌名】

Design and synthesis of prostate cancer antigen-1 (PCA-1/ALKBH3) inhibitors as anti-prostate cancer drugs

Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, **24**, 1071-1074 (2014)

【氏名】

兵庫医療大学大学院薬学研究科 医療薬学専攻
中尾 周平

【指導教官氏名】

田中 明人(創薬化学)

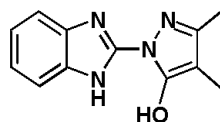
【背景】

前立腺がんは、近年増加傾向にあり男性の死亡率の主たる要因のひとつになりつつある。前立腺がんは、初期段階においてはホルモン治療が有効な場合が多く寛解状態を獲得することも多いが、一定期間経過後、悪性度が高いホルモン抵抗性がんが再発することがある。このホルモン非依存性前立腺がんは、一般に難治性で放射線治療および抗がん剤治療が中心となる。現在、ホルモン非依存性前立腺がんの臨床現場において、微小管脱重合阻害剤であるドセタキセルが一定の効果を示しているが、より有効性が高い新規薬剤の創製が求められる状況にある。

大阪大学・辻川教授らは、前立腺肥大患者および前立腺がん患者に関する臨床研究から、前立腺肥大患者では低発現なのに対し、前立腺がん患者の細胞においては高発現する prostate cancer antigen (PCA)-1 を当該がんの予後因子として見出している。PCA-1 は DNA/RNA 塩基の脱メチル化酵素の一つであり¹⁾、siRNA による PCA-1 発現抑制によって、前立腺がん由来細胞 DU145 の増殖を有意に抑制することを明らかにしている^{2), 3)}。また、PCA-1 ノックアウトマウスにおいて、明らかな phenotype 変化が認められないことから⁴⁾、本酵素阻害薬に関するメカニズム由来の副作用や毒性の懸念が少ないことが示唆され、選択的 PCA-1 阻害薬が毒性等・副作用が少ない新たな前立腺がん治療薬となりうることを期待され注目を集めている。

辻川らは更に PCA-1 の脱メチル化酵素活性に関する評価系構築に成功し、約 17,000 個の化合物ライブラリーを用いたスクリーニング評価を行った。その結果、新規なベンゾイ

ミダゾールピラゾール構造を有する誘導体を含む、いくつかの誘導体に PCA-1 酵素阻害活性を見出すことに成功した(図 1)。しかし、当該化合物は PCA-1 活性を 10 μ M で 88%抑制するが、前立腺がん細胞 DU145 増殖抑制活性が低いものであったため、細胞レベルでの活性増強を目指した創薬研究が研究指導者・田中教授を中心に開始された。



化合物 1

IC₅₀ (PCA-1 inh.) = 4.0 μ M, 88% inhibition at 10 μ M
IC₅₀ (DU145) > 10 μ M

図 1 ヒット化合物の構造

【方法】

本研究の合成実験で使用した薄層クロマトグラフィーには Silica gel 60G F₂₅₄ Glass plate (Merck Millipore)を用いた。カラムクロマトグラフィーにはシリカゲル 60 N(球状、中性、関東化学)を用いた。また、化合物の構造決定には 400 MHz NMR (JEOL, ECX-400PKS)、LC-MS (Bruker, micrOTOF-Q)、および FT-IR (JASCO, FT/IR-4100)を用いた。NMR 解析における化学シフト値は、テトラメチルシランを基準とした百万分率であらわした。

本研究で行った *in vivo* 実験で用いた動物は、すべて一定の温度、湿度の下、自由飲水、自由摂食できる状態で飼育した。動物を用いた全ての実験は、兵庫医療大学動物実験委員会の承認を得て実施した。

経口投与における薬物吸収性実験には雄性 SD ラット (Japan SLC, Inc.)を用いた。

1, 3-Dihydro-5-methyl-1H-benzimidazol-2-one (**3**)の合成

1,1-Carbonyldiimidazole (36.5 g, 0.225 mol)の dichloromethane (375 mL)溶液に、4-methyl-1,2-phenylenediamine (**2**, 25 g, 0.215 mol)の tetrahydrofuran (375 mL)溶液を滴下した。室温で 6.5 時間攪拌した後、反応溶液に diisopropyl ether (375 mL)を加えた。生じた固体を濾取し、diisopropyl ether で洗浄した後、減圧乾燥を行い、目的物 **3** を得た (24.6 g, 70.1%)。ESI-HRMS calcd. for C₈H₈N₂ONa ([M+Na]⁺) 171.0529; found m/z 171.0529. NMR (DMSO-d₆, δ): 2.27 (3 H, s), 6.70-6.81 (3 H, m), 10.46 (2 H, br. s).

2-Chloro-5-methyl-1H-benzimidazole (**4**)の合成

1, 3-Dihydro-5-methyl-1H-benzimidazol-2-one (**3**, 1.00 g, 6.84 mmol)を phosphorus oxychloride (9.54 mL, 103 mmol)に溶かし、95°Cで 1.5 時間攪拌した。反応液を空冷し、飽和重曹水中(60 mL)に注意深く加えた。さらに酢酸エチルで抽出後、有機層を純水及び飽

和食塩水で洗浄し、 MgSO_4 を加えた。ろ過後、ろ液を減圧蒸留し、残渣を diisopropyl ether で洗浄して目的物 **4**を得た(1.74 g, 58.9%)。ESI-HRMS calcd. for $\text{C}_8\text{H}_8\text{ClN}_2$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 167.0371; found m/z 167.0390. NMR (DMSO-d_6 , δ): 2.40 (3 H, s), 7.00-7.06 (1H,m), 7.29 (1 H, s), 7.39 (1H, d, $J=8.2$ Hz)

2-Hydrazino-5-methyl-1H-benzimidazole (化合物 **5**)の合成

2-Chloro-5-methyl-1H-benzimidazole (**4**, 10.2 g, 61.2 mmol)に hydrazine monohydrate (59 mL, 1.22 mol)を加え、100℃で終夜撹拌した。空冷後、反応液に純水を加え、氷冷下撹拌した。生じた固体を濾取し、水洗後、減圧乾燥して目的物 **5**を得た(8.4 g, 84.6%)。ESI-HRMS calcd. for $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}_4$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 163.0978; found m/z 163.0985. NMR (DMSO-d_6 , δ): 2.30 (3 H, s), 4.39 (2 H, br, s), 6.63-6.70 (1 H, m), 6.91-6.94 (1 H, m), 6.97-7.01 (1 H, m), 7.69 (1 H, br, s), 10.87 (1 H, br, s).

1-(5-Methyl-1H-benzimidazol-2-yl)-4-benzyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-ol (**6**, HUHS015)の合成

2-Hydrazino-5-methyl-1H-benzimidazole (**5**, 1.00 g, 6.17 mmol)、Ethyl-2-acetyl-3-phenyl propanoate (1.4 mL, 6.59 mmol)を酢酸(20 mL)中に加え、室温で2時間撹拌した。反応液に水とアセトニトリル(100 mL ずつ)を加え、室温で撹拌して生じた固体を濾取し、水/アセトニトリルの混合溶液(1:1)で洗浄した。得られた固体をエタノール中で再結晶し、目的物 **6**を得た(0.64 g, 32.6%)。ESI-HRMS calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 319.1559; found m/z 319.1588. IR (KBr): 3312, 3024, 2936, 2915, 1653, 1553 cm^{-1} . NMR (DMSO-d_6 , δ): 2.15 (3 H, s), 2.39 (3 H, s), 3.59 (2 H, s), 6.96-7.00 (1 H, m), 7.13-7.20 (1 H, m), 7.23-7.29 (4 H, m), 7.31 (1 H, br, s), 7.39 (1 H, d, $J=8.2\text{Hz}$)

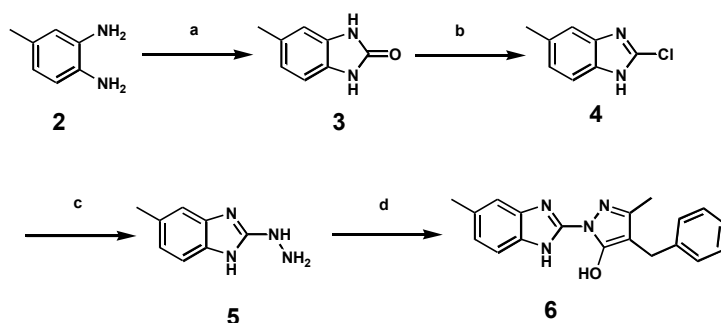


図2 HUHS015 (**6**)合成ルート

反応条件 : a) 1,1-carbonyldiimidazole, rt; b) POCl_3 , 95 °C; c) hydrazine

hydrate, 100 °C; d) Ethyl-2-acetyl-3-phenyl-propanoate

化合物 **1** 及び **7~52** は化合物 **6** と同様に合成した。本研究で合成した化合物の物性値を表1に示す。

表1 本研究で評価した化合物の NMR、IR、および質量分析結果

化合物 番号	¹ H-NMR	IR	ESI-HRMS
1	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 1.77 (3H, s), 2.17 (3H, s), 7.12-7.18 (2H, m), 7.50-7.55 (2H, m)	IR (KBr): 3296, 3049, 2921, 2862, 1626, 1547 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₂ H ₁₃ N ₃ O ([M+H] ⁺) 229.1084 ; found 229.1091
7	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 1.76 (3H, s), 2.09 (3H, s), 7.14-7.20 (1H, m), 7.38-7.44 (2H, m), 7.71 (2H, d, J = 7.8Hz)	IR (KBr): 3431, 3046, 2859, 2796, 1591 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₁ H ₁₃ N ₂ O ([M+H] ⁺) 189.1022 ; found 189.1035
8	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 1.76 (3H, s), 2.20 (3H, s), 7.33-7.38 (1H, m), 7.46-7.51 (1H, m), 7.80-7.84 (1H, m), 8.03-8.07 (1H, m)	IR (KBr): 3067, 2924, 1644, 1596, 1528 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₂ ([M+H] ⁺) 246.0696 ; found 246.0710
9	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 1.77 (3H, s), 2.15 (3H, s), 7.32-7.41 (2H, m), 7.65-7.75 (2H, m)	IR (KBr): 3082, 2919, 1633, 1609, 1561 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₂ H ₁₂ N ₃ O ₂ ([M+H] ⁺) 230.0924 ; found 230.0930
10	NMR (CDCl ₃ , δ): 1.93 (3H, s), 2.22 (3H, s), 4.24 (3H, s), 7.26-7.36 (3H, m), 7.56-7.61 (1H, m)	IR (KBr): 3431, 3058, 2922, 2861, 1665, 1561, 1511 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₃ H ₁₃ N ₄ O ([M+H] ⁺) 243.1240 ; found 243.1248
11	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 1.73 (3H, s), 2.11 (3H, s), 7.31 (1H, t, J = 4.8Hz), 8.77 (2H, d, J = 4.8Hz)	IR (KBr): 3476, 3056, 2927, 1639, 1568 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₉ H ₁₁ N ₄ O ([M+H] ⁺) 191.0927 ; found 191.0934
12	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 1.72 (3H, s), 2.12 (3H, s), 7.17-7.22 (1H, m), 7.86-7.92 (1H, m), 8.28 (1H, br s), 8.37-8.40 (1H, m)	IR (KBr): 3419, 3062, 2919, 1633, 1594 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₀ H ₁₂ N ₃ O ([M+H] ⁺) 190.0975 ; found 190.0979
13	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 1.77 (3H, s), 2.16 (3H, s), 2.39 (3H, s), 6.98 (1H, dd, J = 0.9 and 8.2Hz), 7.32 (1H, br s), 7.40 (1H, d, J = 8.2Hz)	IR (KBr): 3308, 3018, 2920, 2861, 1635, 1573 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₃ H ₁₃ N ₄ O ([M+H] ⁺) 243.1240 ; found 243.1259
14	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 1.78 (3H, s), 2.18 (3H, s), 2.52 (3H, s), 6.94-6.98 (1H, m), 7.05 (1H, t, J = 7.8Hz), 7.35 (1H, d, J = 7.8Hz)	IR (KBr): 3243, 2912, 1672, 1606, 1497 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₃ H ₁₄ N ₄ ONa ([M+Na] ⁺) 265.1060; found 265.1062
15	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.20 (3H, s), 5.24 (1H, s), 7.14-7.20 (2H, m), 7.49-7.55 (2H, m)	IR (KBr): 3310, 3043, 2905, 1626, 1559 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₁ H ₁₁ N ₄ O ([M+H] ⁺) 215.0927 ; found 215.0933
16	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.17 (3H, s), 3.60 (2H, s), 7.13-7.19 (3H, m), 7.24-7.30 (4H, m), 7.49-7.55 (2H, m)	IR (KBr): 3269, 3026, 1627, 1542 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₈ H ₁₉ N ₄ O ([M+H] ⁺) 305.1397 ; found 305.1396
17	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.19 (3H, s), 3.77 (2H, s), 7.13-7.18 (2H, m), 7.40-7.55 (5H, m), 7.73 (1H, br s), 7.80-7.86 (3H, m)	IR (KBr): 3068, 2923, 1643, 1596, 1528 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₂₂ H ₁₉ N ₄ O ([M+H] ⁺) 355.1553 ; found 355.1577
18	NMR (MeOH-d ₄ , δ): 2.23 (3H, s), 3.39 (2H, s), 3.70 (3H, s), 7.23-7.29 (2H, m), 7.51-7.58 (2H, m)	IR (KBr): 2997, 2950, 1734, 1690, 1606, 1500 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₄ H ₁₃ N ₄ O ₂ ([M+H] ⁺) 287.1139 ; found 287.1145
19	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.15 (3H, s), 3.22 (2H, m), 7.13-7.18 (2H, m), 7.49-7.55 (2H, m)	IR (KBr): 3433, 2993, 1690, 1609, 1525 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₃ H ₁₃ N ₄ O ₃ ([M+H] ⁺) 273.0982 ; found 273.0967
20	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 5.94 (1H, s), 7.22-7.28 (2H, m), 7.39-7.51 (3H, m), 7.55-7.61 (2H, m), 7.88-7.92 (2H, m)	IR (KBr): 3334, 3068, 1678, 1631, 1600, 1555 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₆ H ₁₃ N ₄ O ([M+H] ⁺) 277.1084 ; found 277.1093
21	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.06 (3H, s), 7.18-7.24 (2H, m), 7.46-7.60 (5H, m), 7.73-7.78 (2H, m)	IR (KBr): 3173, 1665, 1640, 1562 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₇ H ₁₃ N ₄ O ([M+H] ⁺) 291.1240 ; found 291.1236
22	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 3.84 (2H, s), 7.13-7.29 (7H, m), 7.41-7.49 (3H, m), 7.55-7.66 (4H, m)	IR (KBr): 3186, 3061, 1665, 1633, 1591, 1559 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₂₃ H ₁₉ N ₄ O ([M+H] ⁺) 367.1553 ; found 367.1567
23	NMR (CDCl ₃ , δ): 2.00 (3H, s), 2.44 (3H, br s), 7.06 (1H, br s), 7.15-7.50 (7H, m), 8.43 (2H, br s)	IR (KBr): 3173, 3026, 2923, 1662, 1652, 1634, 1617, 1558, 1508, 1473 cm ⁻¹	ESI-HRMS (negative ion, sodium formate) calcd for C ₁₈ H ₁₃ N ₄ O ([M-H] ⁻) 303.1246 ; found 303.1269
24	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 7.14 (1H, t, J = 7.3 Hz), 7.20-7.30 (3H, m), 7.33 (2H, d, J = 7.3 Hz), 7.37-7.45 (3H, m), 7.45-7.55 (2H, m), 7.58 (1H, d, J = 8.7 Hz), 7.62 (1H, br, s)	IR (KBr): 3101, 3073, 3059, 1651, 1596, 1572, 1555, 1510, 1466 cm ⁻¹	ESI-HRMS (negative ion, sodium formate) calcd for C ₂₂ H ₁₄ ClN ₄ O ([M-H] ⁻) 385.0856 ; found 385.0870
25	NMR (CDCl ₃ , δ): 2.39 (3H, s), 7.04 (2H, d, J = 7.8Hz), 7.05-7.50 (12H, m)	IR (KBr): 3419, 3059, 2974, 1641, 1615, 1600, 1565, 1513, 1469 cm ⁻¹	ESI-HRMS (negative ion, sodium formate) calcd for C ₂₃ H ₁₇ N ₄ O ([M-H] ⁻) 365.1402 ; found 365.1416
26	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.16 (3H, s), 3.69 (2H, s), 7.13-7.19 (2H, m), 7.20-7.29 (2H, m), 7.32-7.36 (1H, m), 7.41-7.44 (1H, m), 7.50-7.55 (2H, m)	IR (KBr): 3280, 2900, 1666, 1619, 1573 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₈ H ₁₆ ClN ₄ O ([M+H] ⁺) 339.1007 ; found 339.1022
27	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.19 (3H, s), 3.61 (2H, s), 7.13-7.19 (2H, m), 7.21-7.37 (4H, m), 7.50-7.55 (2H, m)	IR (KBr): 3350, 3068, 2919, 1629, 1553 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₈ H ₁₆ ClN ₄ O ([M+H] ⁺) 339.1007 ; found 339.1006
28	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.17 (3H, s), 3.59 (2H, s), 7.13-7.19 (2H, m), 7.28-7.35 (4H, m), 7.49-7.55 (2H, m)	IR (KBr): 3259, 3027, 2935, 2909, 1556 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₈ H ₁₆ ClN ₄ O ([M+H] ⁺) 339.1007 ; found 339.1010

表 1 (続き)

化合物 番号	¹ H-NMR	IR	ESI-HRMS
29	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.16 (3H, s), 3.66 (2H, s), 7.14-7.19 (2H, m), 7.34-7.37 (2H, m), 7.50-7.55 (2H, m), 7.57-7.59 (1H, m)	IR (KBr): 3208, 3067, 2916, 2897, 1628, 1552 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₈ H ₁₅ Cl ₂ N ₄ O ([M+H] ⁺) 373.0617 ; found 373.0630
30	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.19 (3H, s), 3.61 (2H, s), 7.14-7.19 (2H, m), 7.28 (1H, dd, J = 1.8 and 8.2Hz), 7.50-7.57 (4H, m)	IR (KBr): 3183, 2890, 1626, 1606 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₈ H ₁₅ Cl ₂ N ₄ O ([M+H] ⁺) 373.0617 ; found 373.0621
31	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.18 (3H, s), 3.69 (2H, s), 7.12-7.18 (2H, m), 7.47-7.54 (4H, m), 7.63 (2H, d, J=8.2Hz)	IR (KBr): 3263, 2917, 1667, 1620, 1548 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₉ H ₁₆ F ₃ N ₄ O ([M+H] ⁺) 373.1270 ; found 373.1287
32	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.17 (3H, s), 3.59 (2H, s), 7.06-7.11 (2H, m), 7.14-7.18 (2H, m), 7.29-7.33 (2H, m), 7.51-7.54 (2H, m)	IR (KBr): 3246, 3069, 2910, 1657, 1605, 1507 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₈ H ₁₅ FN ₄ ONa ([M+Na] ⁺) 345.1122 ; found 345.1114
33	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.15 (3H, s), 3.53 (2H, s), 3.70 (3H, s), 6.80-6.86 (2H, m), 7.13-7.21 (4H, m), 7.50-7.55 (2H, m)	IR (KBr): 3259, 3040, 2903, 2834, 1627, 1547 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₈ H ₁₅ ClN ₄ O ₂ ([M+H] ⁺) 335.1503 ; found 335.1493
34	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.20 (3H, s), 3.64 (2H, s), 7.12-7.19 (2H, m), 7.30-7.40 (3H, m), 7.41-7.47 (2H, m), 7.50-7.64 (6H, m)	IR (KBr): 3267, 3028, 1657, 1555 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₂₄ H ₂₂ N ₄ O ([M+H] ⁺) 381.1710 ; found 381.1712
35	NMR (DMSO-d ₆ , δ) 1.24 (9H, s), 2.17 (3H, s), 3.55 (2H, s), 7.14-7.17 (2H, m), 7.18-7.21 (2H, m), 7.27-7.29 (2H, m), 7.51-7.53 (2H, m)	IR (KBr): 3306, 3058, 2961, 1643, 1552 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₂₂ H ₂₃ N ₄ O ([M+H] ⁺) 361.2023 ; found 361.2022
36	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.17 (3H, s), 3.59 (2H, s), 7.13-7.21(2H,m), 7.24-7.30 (4H,m), 7.52 (1H, d, J = 8.7Hz), 7.55 (1H, d, J = 2.3Hz)	IR (KBr): 3263, 3031, 2914, 2842, 1654, 1623, 1556 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₈ H ₁₅ ClN ₄ O ([M+H] ⁺) 339.1007 ; found 339.0978
37	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.17 (3H, s), 3.61 (2H, s), 7.13-7.22 (1H, m), 7.23-7.30 (4H, m), 7.32 (1H, dd, J = 8.2 and 1.8 Hz), 7.49 (1H, d, J = 8.2 Hz), 7.70 (1H, d, J = 1.8 Hz)	IR (KBr): 3030, 2923, 2850, 1706, 1637, 1592, 1576, 1545, 1509 cm ⁻¹	ESI-HRMS (negative ion, sodium formate) calcd for C ₁₉ H ₁₄ BrN ₄ O ([M-H] ⁻) 381.0345; found 381.0348
38	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.19 (3H, s), 3.60 (2H, s), 7.14-7.21 (1H, m), 7.24-7.31 (4H, m), 7.46-7.52 (1H,m), 7.70 (1H, d, J = 8.2 Hz), 7.84 (1H, s)	IR (KBr): 3033, 2935, 2901, 1637, 1551 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₉ H ₁₆ F ₃ N ₄ O ([M+H] ⁺) 373.1271 ; found 373.1259
39	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 1.33 (9H, s), 2.15 (3H, s), 3.59 (2H, s), 7.13-7.20 (1H, m), 7.22-7.30 (5H, m), 7.43 (1H, d, J = 8.2 Hz), 7.51 (1H, br, s)	IR (KBr): 3026, 2961, 2903, 1655, 1558 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₂₂ H ₂₃ N ₄ O ([M+H] ⁺) 361.2023 ; found 361.2029
40	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.18 (3H, s), 3.61 (2H, s), 7.14-7.20 (1H, m), 7.24-7.36 (5H, m), 7.43-7.50 (3H, m), 7.59 (1H, d, J = 8.2Hz), 7.64-7.68 (2H, m), 7.76 (1H, br s)	IR (KBr): 3338, 3025, 2897, 1623, 1577, 1541 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₂₄ H ₂₃ N ₄ O ([M+H] ⁺) 381.1710 ; found 381.1716
41	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.18 (3H, s), 3.60 (2H, s), 7.14-7.20 (1H, m), 7.24-7.31 (4H, m), 7.46 (1H, dd, J = 1.4 and 8.2 Hz), 7.51 (2H, d, J = 8.4 Hz), 7.59 (1H, d, J = 8.2 Hz), 7.69 (2H, d, J = 8.4 Hz), 7.76 (1H, br, s)	IR (KBr): 3308, 3028, 2915, 1655, 1555 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₂₄ H ₂₃ ClN ₄ O ([M+H] ⁺) 415.1302 ; found 415.1327
42	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.17 (3H, s), 2.35 (3H, s), 3.60 (2H, s), 7.13-7.21 (1H, m), 7.23-7.31 (6H, m), 7.43 (1H, dd, J = 8.2 and 1.8 Hz), 7.51-7.59 (3H, m), 7.72 (1H, br s)	IR (KBr): 3446, 3027, 2962, 2873, 1632, 1556 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₂₅ H ₂₃ N ₄ O ([M+H] ⁺) 395.1866 ; found 395.1852
43	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.18 (3H, s), 2.52 (3H, s), 3.61 (2H, s), 6.95-6.99 (1H, m), 7.05 (1H, t, J = 7.8 Hz), 7.13-7.21 (1H, m), 7.22-7.30 (4H, m), 7.35 (1H, d, J = 7.8 Hz)	IR (KBr): 3272, 3027, 1667, 1628, 1575 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₉ H ₁₉ N ₄ O ([M+H] ⁺) 319.1559 ; found 319.1562
44	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.17 (3H, s), 2.31 (3H, s), 2.44 (3H, s), 3.61 (2H, s), 6.96 (1H, d, J = 7.8 Hz), 7.12-7.30 (6H, m)	IR (KBr): 3026, 2920, 2866, 1677, 1600 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₂₀ H ₂₃ N ₄ O ([M+H] ⁺) 333.1710 ; found 333.1726
45	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.17 (3H, s), 2.39 (3H, s), 3.69 (2H, s), 6.99 (1H, dd, J=0.9 and 8.2Hz), 7.32 (1H, br s), 7.39 (1H, d, J = 8.2 Hz), 7.50 (2H, d, J = 8.2 Hz), 7.64 (2H, d, J = 8.2 Hz)	IR (KBr): 3268, 2923, 2865, 1666, 1552 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₂₀ H ₁₈ F ₃ N ₄ O ([M+H] ⁺) 387.1433 ; found 387.1414
46	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.14 (3H, s), 2.39 (3H, s), 3.51 (2H, s), 3.70 (3H, s), 6.81-6.85 (2H, m), 6.96-7.00 (1H, m), 7.16-7.21 (2H, m), 7.31 (1H, br s), 7.39 (1H, d, J = 8.2 Hz)	IR (KBr): 2921, 2833, 1673, 1651, 1583 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₂₀ H ₂₁ N ₄ O ₂ ([M+H] ⁺) 349.1659 ; found 349.1659
47	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.17 (3H, s), 2.39 (3H, s), 3.60 (2H, s), 6.98 (1H, dd, J=0.9 and 8.2Hz), 7.27 (1H, dd, J = 1.8 and 8.2Hz), 7.32 (1H, br s), 7.39 (1H, d, J = 8.2 Hz), 7.52 (1H, d, J = 8.2 Hz), 7.55 (1H, d, J = 1.8 Hz)	IR (KBr): 3050, 2922, 2865, 1665, 1561 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₉ H ₁₇ Cl ₂ N ₄ O ([M+H] ⁺) 387.0779 ; found 387.0748
48	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.14 (3H, s), 2.40 (3H, s), 3.68 (2H, s), 6.99 (1H, d, J = 8.2 Hz), 7.19-7.36 (4H, m), 7.36-7.45 (2H, m)	IR (KBr): 3191, 2924, 2893, 1674, 1626, 1604cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₉ H ₁₉ ClN ₄ O ([M+H] ⁺) 353.1163 ; found 353.1175
49	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.15 (3H, s), 2.39 (3H, s), 3.58 (2H, s), 6.98 (1H, dd, J = 0.9 and 8.2Hz), 7.27-7.35 (5H, m), 7.39 (1H, d, J = 8.2Hz)	IR (KBr): 3032, 2921, 2864, 1665, 1552 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₉ H ₁₉ ClN ₄ O ([M+H] ⁺) 353.1163 ; found 353.1151
50	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.16 (3H, s), 2.39 (3H, s), 3.58 (2H, s), 6.98 (1H, dd, J = 0.9 and 8.2 Hz), 7.04-7.12 (2H, m), 7.26-7.34 (3H, m), 7.39 (1H, d, J = 8.2Hz)	IR (KBr): 3177, 3040, 2920, 1667, 1601 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₁₉ H ₁₉ FN ₄ O ([M+H] ⁺) 337.1459 ; found 337.1443
51	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 1.24 (9H, s), 2.16 (3H, s), 2.39 (3H, s), 3.54 (2H, s), 6.98 (1H, dd, J = 0.9 and 8.2Hz), 7.17-7.21 (2H, m), 7.25-7.29 (2H, m), 7.31 (1H, br s), 7.39 (1H, d, J = 8.2 Hz)	IR (KBr): 3233, 3024, 2961, 2865, 1658, 1558 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₂₃ H ₂₇ N ₄ O ([M+H] ⁺) 375.2179 ; found 375.2184
52	NMR (DMSO-d ₆ , δ): 2.19 (3H, s), 2.39 (3H, s), 3.63 (2H, s), 6.96-7.00 (1H, m), 7.30-7.47 (7H, m), 7.54-7.64 (4H, m)	IR (KBr): 3246, 3031, 2922, 2864, 1656, 1557, 1541 cm ⁻¹	ESI-HRMS (positive ion, sodium formate) calcd for C ₂₅ H ₂₃ N ₄ O ([M+H] ⁺) 395.1866 ; found 395.1834

PCA-1 酵素阻害活性の評価

本研究で合成した誘導体に関する PCA-1 酵素阻害活性の評価は、共同研究者である大阪大学・辻川教授らのグループに依頼し測定を行った。なお、測定方法詳細は参考論文 5) 参照。

前立腺がん由来細胞 DU145 の増殖阻害活性の評価

本研究で合成した誘導体に関する DU145 細胞の増殖阻害活性の評価は、共同研究者である大阪大学・辻川教授らのグループに依頼し測定を行った。なお、測定方法詳細は参考論文 5) 参照。

経口吸収性の測定

本研究で合成した誘導体の経口吸収性は以下の方法で実施した。事前に、雄性 SD ラット (Japan SLC, Inc.) を自由飲水下で 18 時間絶食をした。化合物をそれぞれ 0.5% methylcellulose (MC) にて 32 mg / 5 mL になるよう調製し(主に懸濁状態)、経口投与した(薬物量 32 mg/kg)。投与 1 時間後、麻酔下にて、抗凝固剤としてヘパリンを用いて、腹部大静脈より採血を行った。採血後、直ちに氷上に静置保存し、遠心分離(3000 rpm、10 min、4 °C)により、血漿を分離しサンプルとした。なお、測定時まで -30 °C にて保存した。

血漿(500 µL)をエッペンチューブにとり、*n*-hexane 150 µL で 3 回洗浄し脂質等の不純物を除去後、酢酸エチル 250 µL で 3 回抽出した。抽出した酢酸エチル層をひとつにまとめ、遠心エバポレーターで濃縮した。このとき、完全乾固しないよう 15~20 µL 程度以下の容量になるよう注意した。得られた残渣に 0.1% TFA, 50 % MeOH 水溶液 120 µL を加え、溶解した後、逆相 HPLC に 100 µL インジェクトし分析した。図 3 に HUHS015 の解析例を示すが、本方法にて検討化合物の濃度は図 3 同様ベースライン分離し、十分測定可能であった。各化合物量は、あらかじめ作成した検量線を用い、得られたピーク面積から算出した。検量線については、無処置の SD ラット血漿に各化合物濃度がそれぞれ 0.01, 0.05, 0.075, 0.10, 0.25, 0.50 µg/mL になるように調製し、同様の測定法によって作成した(図 4)。

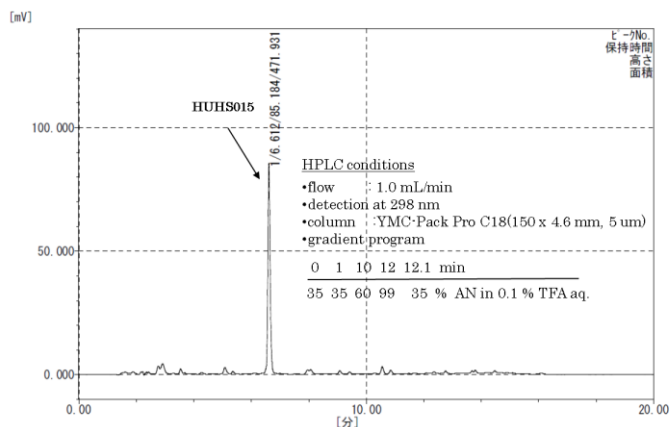


図3 血中濃度測定で行った化合物6(HUHS015)のHPLC結果図

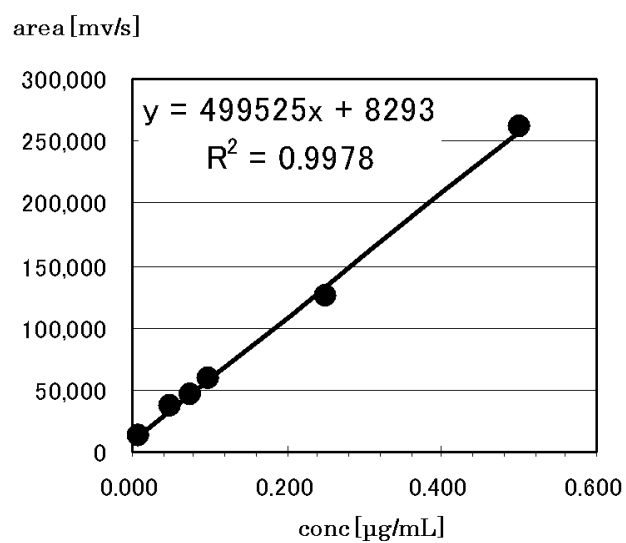


図4 化合物**6**(HUHS015)のHPLC検量線結果図

Xenograft モデル

本研究で合成した誘導体に関する *xenograft* モデルの評価は、共同研究者である大阪大学・辻川教授らのグループに依頼し測定を行った。なお、測定方法詳細は参考論文 5) 参照。

【結果】

(1) PCA-1 酵素阻害作用

ヒット化合物**1**のピラゾール骨格を固定し、ピラゾール環の1, 3, 4位置換基を変換した誘導体構造を合成し(R¹~R³)、構造活性相関を見た(表2)。薬理評価は共同研究者の辻川教授に依頼し測定した(表2)。評価はPCA-1酵素阻害活性と前立腺がん由来の細胞DU145の増殖阻害活性で行った。

結果の詳細は考察項に記すが、PCA-1酵素阻害活性についてIC₅₀値で0.48 μM(**16**)から、無活性を示す化合物まで幅広いPCA-1酵素阻害活性の変化が観測された。また、ヒット化合物**1**は、酵素阻害活性はIC₅₀=4.0 μMと比較的強い阻害活性を示したが、細胞評価において10 μMの濃度においても50%阻害活性を示さず、細胞系に効果が弱い問題があることが明らかとなった。

表2 1, 3, 4-Substituted-pyrazol-5-olのPCA-1酵素およびDU145増殖阻害活性

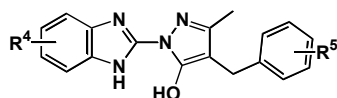


compound	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀ (PCA-1, uM)	IC ₅₀ (DU145, uM)	compound	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀ (PCA-1, uM)	IC ₅₀ (DU145, uM)
1	Benzimidazol-2-yl	Me	Me	4.0	>10	16	Benzimidazol-2-yl	Benzyl	Me	0.48	28
7	Phenyl	Me	Me	>10	>10	17	Benzimidazol-2-yl	2-Naphtylmethyl	Me	0.75	>10
8	Benzthiazol-2-yl	Me	Me	>10	>10	18	Benzimidazol-2-yl	CH ₂ COOMe	Me	4.3	>10
9	Benzoxazol-2-yl	Me	Me	>10	>10	19	Benzimidazol-2-yl	CH ₂ COOH	Me	15.0	<1
10	1-Me-benzimidazol-2-yl	Me	Me	>10	>10	20	Benzimidazol-2-yl	H	Phenyl	7.2	>10
11	2-Pyrimidyl	Me	Me	>10	>10	21	Benzimidazol-2-yl	Me	Phenyl	>10	>10
12	2-Pyridyl	Me	Me	>10	>10	22	Benzimidazol-2-yl	Benzyl	Phenyl	>10	>10
13	5-Me-benzimidazol-2-yl	Me	Me	2.6	>10	23	5-Me-benzimidazol-2-yl	Me	Phenyl	3.3	>10
14	4-Me-benzimidazol-2-yl	Me	Me	>10	>10	24	5-Cl-benzimidazol-2-yl	Phenyl	Phenyl	2.0	>10
15	Benzimidazol-2-yl	H	Me	3.6	>10	25	5-Me-benzimidazol-2-yl	Phenyl	Phenyl	5.8	>10

表2の結果から、化合物**16**を新たなリード化合物に選定し、化合物**16**のベンゾイミダゾール上の置換基(R⁴)フェニル上の置換基(R⁵)の変換を行い、さらなる構造最適化を行った(表3)。

その結果、1-(5-methyl-1*H*-benzimidazol-2-yl)-4-benzyl-3-methyl-1*H*-pyrazol-5-ol (**6**, HUHS015)が強いPCA-1酵素阻害活性とDU145細胞増殖抑制活性をバランスよく有する化合物として見出された。

表 3 Substituted-1-(1*H*-benzimidazol-2-yl)-4-benzyl-3-methyl-1*H*-pyrazol-5-ol の PCA-1 酵 素 お よ び DU145増殖阻害活性



compound	R ⁴	R ⁵	IC ₅₀ (PCA-1, uM)	IC ₅₀ (DU145, uM)	compound	R ⁴	R ⁵	IC ₅₀ (PCA-1, uM)	IC ₅₀ (DU145, uM)
6	5-Me	H	0.67	6.2	39	5-tBu	H	0.64	>10
26	H	2-Cl	>10	>10	40	5-Phenyl	H	0.81	<1
27	H	3-Cl	0.54	>10	41	5-(4-Cl-phenyl)	H	1.5	1.6
28	H	4-Cl	>10	>10	42	5-(4-Me-phenyl)	H	2.1	6.5
29	H	2,4-diCl	>10	>10	43	4-Me	H	5.9	>10
30	H	3,4-diCl	3.1	84	44	4,5-diMe	H	>10	>10
31	H	4-CF ₃	0.55	>10	45	5-Me	4-CF ₃	0.57	>10
32	H	4-F	0.60	<1	46	5-Me	4-MeO	0.68	>10
33	H	4-MeO	0.63	<1	47	5-Me	3,4-diCl	0.72	>10
34	H	4-phenyl	0.72	<1	48	5-Me	2-Cl	0.91	>10
35	H	4-tBu	4.1	>10	49	5-Me	4-Cl	0.75	
36	5-Cl	H	4.5	>10	50	5-Me	4-F	0.78	>10
37	5-Br	H	0.49	>10	51	5-Me	4-tBu	3.7	>10
38	5-CF ₃	H	0.61	>10	52	5-Me	4-phenyl	5.3	>10

2) 経口吸収性評価

前項までの検討から、*in vitro*評価系においては化合物**6**が良好な結果を示したが、*in vivo*評価においても有効である化合物を選択する目的で、簡易的な薬物動態検討を行うこととした。具体的には5化合物(**6**, **13**, **36**, **38**, および**41**)を選択し、32 mg/kgを経口投与し、1時間後に腹部大静脈から採血し、遠心分離によって得られた血漿中の化合物濃度から評価した(表4)。

表4 経口吸収性(32 mg/kg, 経口投与, 1 h 値)

compound	serum concentration at 1 h (ug/mL)
6	81
13	1080
36	154
38	20
41	7

3) Xenograft モデル結果

PCA-1酵素阻害活性、DU145細胞増殖阻害活性、および経口吸収性評価の結果を受け、化合物**6** (HUHS015)を選択し、xenograftモデルを用いて皮下投与による*in vivo*評価を行った。なお、使用した細胞は*in vitro*細胞評価と同じDU145細胞を用いた。その結果、図5に示すように化合物**6**は明らかな腫瘍増殖抑制活性を示した。また、体重変化は図6に示すように、薬物投与群とコントロール群で差は認められなかった。加えて、実験中の個体観測において、顕著な副作用は観測されなかった。

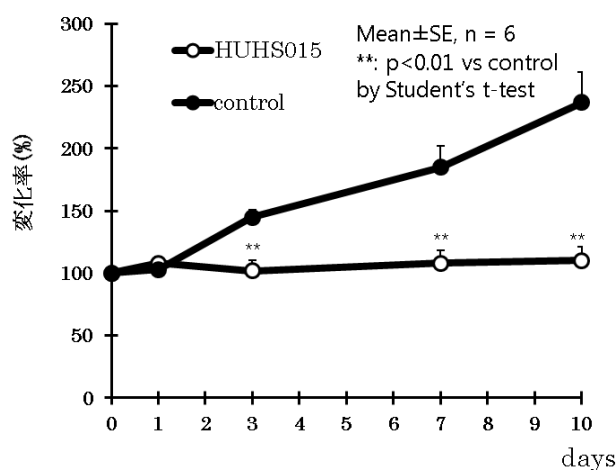


図5 化合物**6**(HUHS015)の xenograft モデルにおける腫瘍体積変化

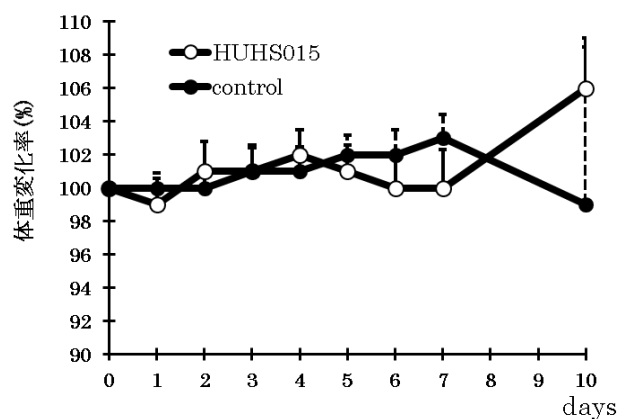


図6 化合物**6**(HUHS015)の xenograft モデルにおける体重変化

【考察】

1) ヒット化合物**1**に関する構造活性検討(PCA-1 酵素阻害活性)

ヒット化合物**1**に関する構造活性相関(表2)から、以下のことが示された。なお、括弧内の化合物番号は根拠となった化合物番号を示す。

- ・ヒット化合物のベンゾイミダゾール環(R¹部位)はPCA-1阻害活性に必須構造である(化合物**1**, **7-12**)。

- ・ベンゾイミダゾール環への置換基導入は4位導入では活性低下が認められるが(化合物 **14**)、5位導入では活性の向上が認められ(化合物 **13**)、ベンゾイミダゾール環構造は PCA-1 の結合ポケットにおいて厳しく認識を受ける。
- ・ピラゾール環 4 位の置換(R^2 部位)は大きな活性の変動がなく、この部位への酵素の認識は厳密ではないことが示唆された(化合物 **15-18**)。
- ・新たにリード化合物に選出した化合物 **16** の構造中ピラゾール環 3 位の置換(R^3 部位)にフェニル基を導入した化合物 **22** は活性が減弱したが、この化合物のベンジル基をより小さな置換基に変換した化合物(**20, 23-25**)などにおいては活性の減弱が軽減されていたことから、ピラゾール環の 3, 4 位全体の置換基の大きさには一定の制限があることが示唆された。

2) ヒット化合物 **1** に関する構造活性相関検討(DU145 細胞増殖抑制活性)

ヒット化合物 **1** に関する構造活性相関から(表 2)、以下のことが示された。

- ・ヒット化合物 **1** を含め、多くの化合物(**7-15, 17,18, 20-25**)では DU145 細胞への増殖抑制活性が弱かった。
- ・化合物 **19** に強い DU145 細胞抑制活性が認められたが、本化合物の PCA-1 阻害活性は強くないことから他のメカニズム由来の毒性作用が示唆されたため、当該化合物の検討を中止した。なお、一般にカルボン酸を有する化合物の経口吸収性を含めた体内動態は良くない場合が多いことも本判断の一つの理由である。
- ・化合物 **16** はこれらの誘導体で唯一 PCA-1 阻害活性と DU145 細胞増殖抑制活性を示したため、さらなる最適化研究のリード化合物とした。

3) 化合物 **16** に関する構造活性相関検討

- ・ R^4 を水素原子に固定し、ベンジル基のフェニル環上の置換基 R^5 の変換を行ったが(化合物 **26-35**)、2 位への置換基導入(化合物 **26, 29**)は大きな酵素阻害活性の減弱が観測された。一方、他の置換基導入によって、酵素阻害活性に大きな変化は認められず、当該部位が酵素認識部位として重要でないことが示唆された。なお、化合物(**32-34**)では細胞活性が強くなっているが、この原因は不明である。
- ・ R^5 を水素原子に固定し、ベンゾイミダゾール環上の置換基 R^4 の変換を行った(**6, 36-44**)。多くの化合物は、PCA-1 酵素阻害活性が維持されていた。
- ・最後に R^4 を 5 位メチル基に固定し、 R^5 の変換を行い最終的な構造最適化を行った(化合物 **45-52**)。その結果、細胞活性の向上が観測されなかったため、本検討を中断し、化合物 **6** を PCA-1 阻害活性と細胞 DU145 増殖抑制活性の良い化合物として選択した。

4) 経口吸収に関する構造活性相関検討

・検討した 5 化合物の中では、ピラゾール環の 3, 4 位に最も小さいメチル基を有する化合物 **13** の経口投与後 1 時間に 1 mg/mL を超える血中濃度を示し、最も優れた結果であった。一般に、類似の誘導体に関し比較的小さな分子の場合、良好な結果を示す場合が多いが本結果もその一例のように思われた。しかし、化合物 **13** の DU145 細胞への活性が弱いことからさらなる評価を中止した。また、化合物 **6** および **36** も 100 µg/mL 前後の良好な結果を示した。しかし、化合物 **36** の DU145 細胞増殖抑制活性は $IC_{50} > 10 \mu M$ と弱いため(表 3)本化合物の検討を中止した。一方、化合物 **41** は 7 µg/mL と低い血中濃度であったため本化合物の検討も中断した。以上の検討から、化合物 **6** を最終的な候補化合物として選択し、DU145 細胞を用いた xenograft モデル実験を行うこととした。

5) DU145 細胞を用いた xenograft モデル実験(化合物 **6**, 32 mg/kg, 皮下投与、uid)

DU145 細胞を皮下移植した後、約 100 mm³ に達した時点から、化合物 **6** を、毎日皮下投与を行った結果を図 5 に示す。化合物 **6** は 1 週間程度の期間であるが、腫瘍増殖を良く抑制した。また、その時体重変化も併せて計測したが、化合物投与群とコントロール群との間に差異は観測されず、本実験において化合物投与による副作用・毒性は認められなかった。

なお、その後の検討の結果、化合物 **6** による抑制効果は持続せず、2 週間目以降コントロール並みに腫瘍体積が増加することが明らかとなり、更なる活性増強が求められている。

【結論】

前立腺肥大~前立腺がん患者の比較から見出された PCA-1 は、当該がんマーカーとなりうることを示唆されている。我々は共同研究者・辻川らによって見出されたヒット化合物 **1** をシードとし、構造変換を行った(表 2)。その結果、ヒット化合物のベンゾイミダゾール環が活性に必須であることなどの構造活性相関の結果を得ることが出来た。そして、新たに化合物 **16** をリード化合物として、詳細な置換基効果を検討した結果(表 3)、化合物 **6** を含むいくつかの化合物を有望な化合物として同定することに成功した。次に、創薬の観点から簡易的な経口吸収性の評価を行った結果(表 4)、化合物 **6** を最終化合物として選択した。化合物 **6** は xenograft モデルにおいて、有意な腫瘍増殖抑制活性を示しながら、明らかな毒性・副作用が認められなかった。

現在、ホルモン非依存性の難治性前立腺がん治療薬に対する研究は世界中で行われているが、今回の標的 PCA-1 は DNA/RNA 塩基の脱メチル化酵素であり、従来アプローチと異なる新規メカニズムに基づくプロジェクトである。これまでの検討から PCA-1 ノックアウトマウスは明確な表現系の変化が認められないことからメカニズム由来の毒性の懸念が少なく、従来の治療薬とは全く異なる新しい治療薬となることが示唆されており、PCA-1 阻害薬の探索は世界的に進められている。今回の我々の成果は、世界初の低分子 PCA-1 阻害薬として注目を集めており、日本医療研究開発機構(AMED)から研究援助を受けている。

【引用文献】

- 1) Noboru Konishi, Mitsutoshi Nakamura, Eiwa Ishida, *et al.* High Expression of a New Marker PCA-1 in Human Prostate Carcinoma, *Clin. Cancer Res.*, **2005**, *11*, 5090-5097.
- 2) Keiji Shimada, Mitsutoshi Nakamura, Eiwa Ishida, *et al.*, Prostate cancer antigen-1 contributes to cell survival and invasion through discoidin receptor 1 in human prostate cancer, *Cancer Sci.*, **2008**, *99*, 39-45.
- 3) Ichiro Yamato, Masayuki Sho, Keiji Shimada, *et al.*, PCA-1/ALKBH3 Contributes to Pancreatic Cancer by Supporting Apoptotic Resistance and Angiogenesis, *Cancer Res.*, **2012**, *72*, 4829-4839.
- 4) Jeanette Ringvoll, Line M Nordstrand, Cathrine B Vagbo, *et al.*, Repair deficient mice reveal mABH2 as the primary oxidative demethylase for repairing 1meA and 3meC lesions in DNA. *EMBO J.*, **2006**, *25*, 2189-2198.
- 5) Syuhei Nakao, Miyuki Mabuchi, Tadashi Shimizu, *et al.* Design and synthesis of prostate cancer antigen-1 (PCA-1/ALKBH3) inhibitors as anti-prostate cancer drugs, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2014**, *24*, 1071-1074

【謝辞】

本研究では、全体を通して、指導教員である田中明人教授^aをはじめ、辻川和丈教授^b、古川龍彦教授^c、青木俊二教授^aにご指導いただきました。化合物の合成においては、清水忠先生^a、水野裕章先生^a、伊藤嘉洋氏^a、竹内由生子氏^a、上田昌宏氏^aにお世話になりました。薬理評価については、馬淵美雪先生^a、信貴奈緒子先生^b、大塩郁幹先生^b、神宮司健太郎先生^b、上田裕子先生^b、山本雅達先生^cにお世話になりました。この場を借りて、改めて厚く御礼申し上げます。

^a 兵庫医療大学薬学部

^b 大阪大学大学院薬学研究科

^c 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科