

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5865347号  
(P5865347)

(45) 発行日 平成28年2月17日(2016.2.17)

(24) 登録日 平成28年1月8日(2016.1.8)

(51) Int.Cl.		F I	
<b>C 0 7 D 4 0 3 / 1 4</b>	<b>(2006.01)</b>	C 0 7 D 4 0 3 / 1 4	
<b>C 1 2 N 1 5 / 0 9</b>	<b>(2006.01)</b>	C 1 2 N 1 5 / 0 0	Z N A A
<b>A 6 1 K 3 1 / 7 8 7</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K 3 1 / 7 8 7	
<b>A 6 1 P 4 3 / 0 0</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 P 4 3 / 0 0	1 0 5
<b>A 6 1 P 2 7 / 0 2</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 P 2 7 / 0 2	

請求項の数 17 (全 50 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2013-507841 (P2013-507841)	(73) 特許権者	511083145 矢野 隆光 茨城県稲敷郡阿見町阿見4733 茨城県立医療大学内
(86) (22) 出願日	平成24年4月2日(2012.4.2)	(73) 特許権者	598041795 神戸天然物化学株式会社 兵庫県神戸市西区高塚台3丁目2番地の34
(86) 国際出願番号	PCT/JP2012/058957	(74) 代理人	100090251 弁理士 森田 憲一
(87) 国際公開番号	W02012/133896	(74) 代理人	100139594 弁理士 山口 健次郎
(87) 国際公開日	平成24年10月4日(2012.10.4)	(72) 発明者	矢野 隆光 茨城県稲敷郡阿見町阿見4733 茨城県立医療大学内
審査請求日	平成27年2月18日(2015.2.18)		
(31) 優先権主張番号	特願2011-80804 (P2011-80804)		
(32) 優先日	平成23年3月31日(2011.3.31)		
(33) 優先権主張国	日本国(JP)		
早期審査対象出願			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ポリアミド化合物及びミトコンドリア遺伝子疾患治療用医薬組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

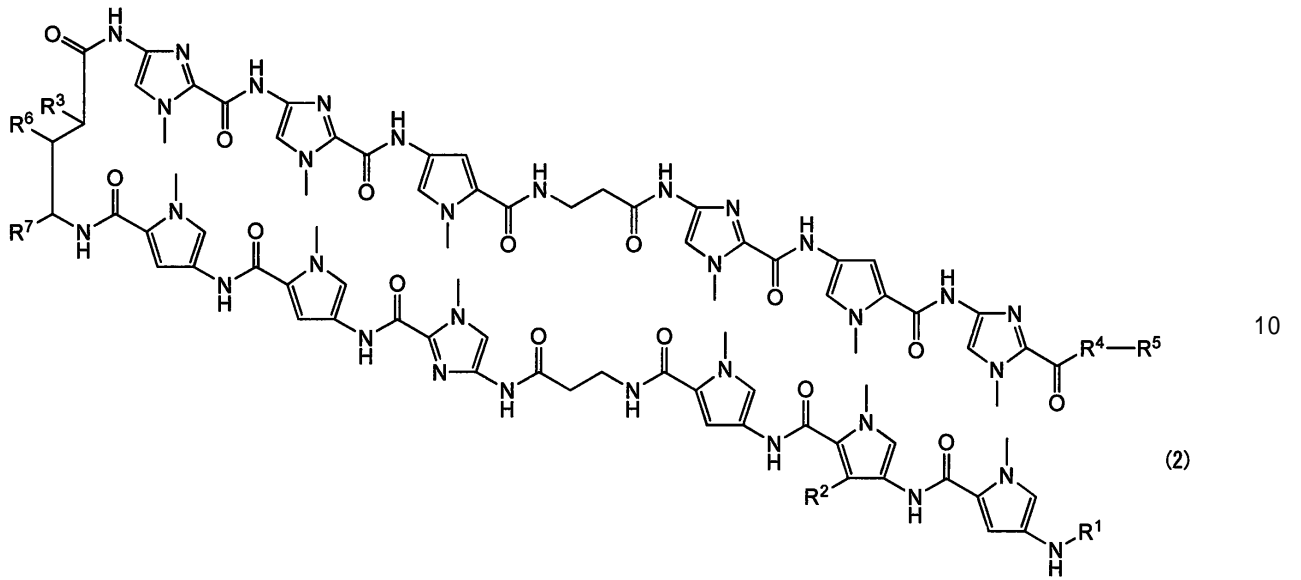
5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' で表される塩基配列からなるセンス鎖DNA及び5' - T T A T G C G A T T A C C G G G C T C T G C C A T - 3' で表される塩基配列からなるアンチセンス鎖DNAからなる式(1)

【化1】

5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3'  
3' - T A C C G T C T C G G G C C A T T A G C G T A T T - 5' (1)

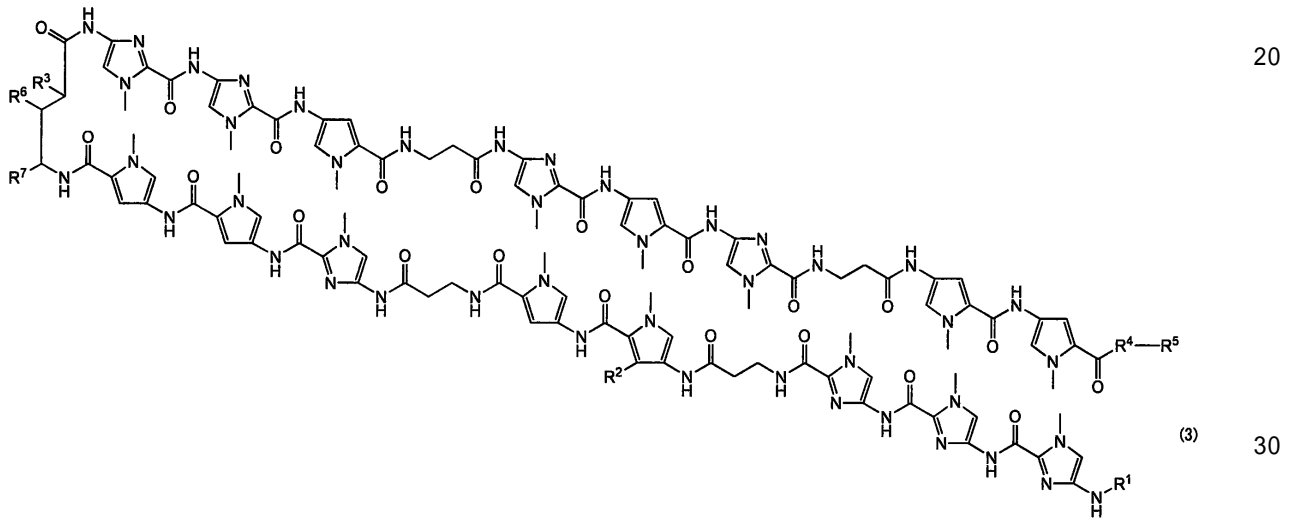
で表される2本鎖DNAにおける、センス鎖DNAの1番目のA及びそれと対のTからなるA/T対、8番目のA及びそれと対のTからなるA/T対、9番目のG及びそれと対のCからなるG/C対、14番目のG及びそれと対のCからなるG/C対、15番目のT及びそれと対のAからなるT/A対、16番目のA及びそれと対のTからなるA/T対、17番目のA及びそれと対のTからなるA/T対、19番目のC及びそれと対のGからなるC/G対、20番目のG及びそれと対のCからなるG/C対、21番目のC及びそれと対のGからなるC/G対、23番目のT及びそれと対のAからなるT/A対、又は25番目のA及びそれと対のTからなるA/T対の少なくとも1つを含み、少なくとも一方の端がA/T対又はT/A対である標的2本鎖DNAに結合するポリアミド化合物であって、式(2)：

【化 2】



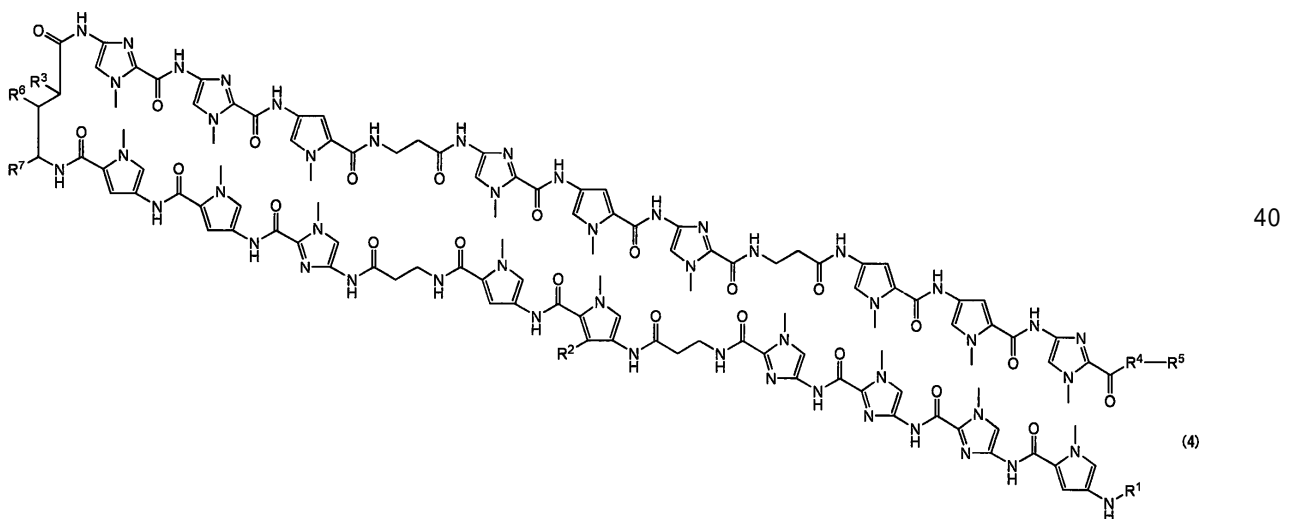
式 ( 3 ) :

【化 3】



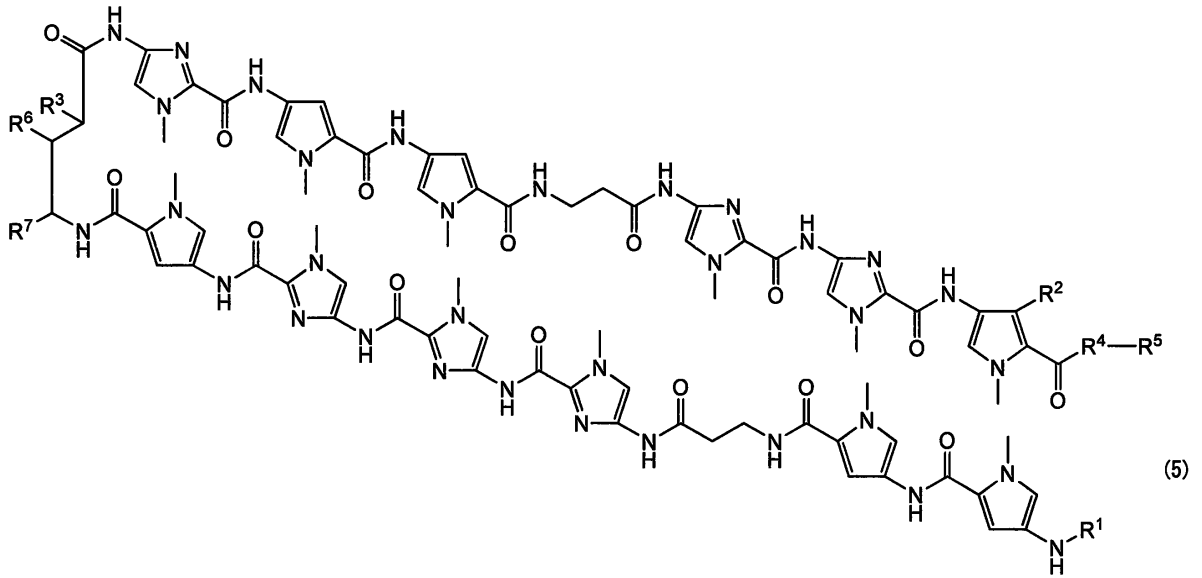
式 ( 4 ) :

【化 4】



式 ( 5 ) :

【化5】

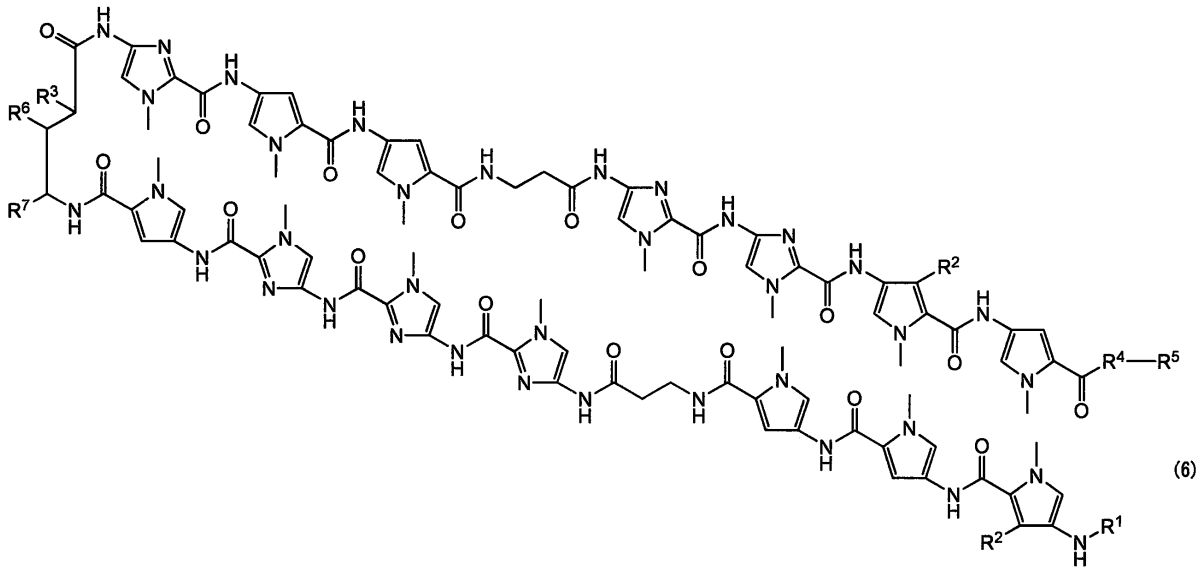


10

(5)

式(6) :

【化6】



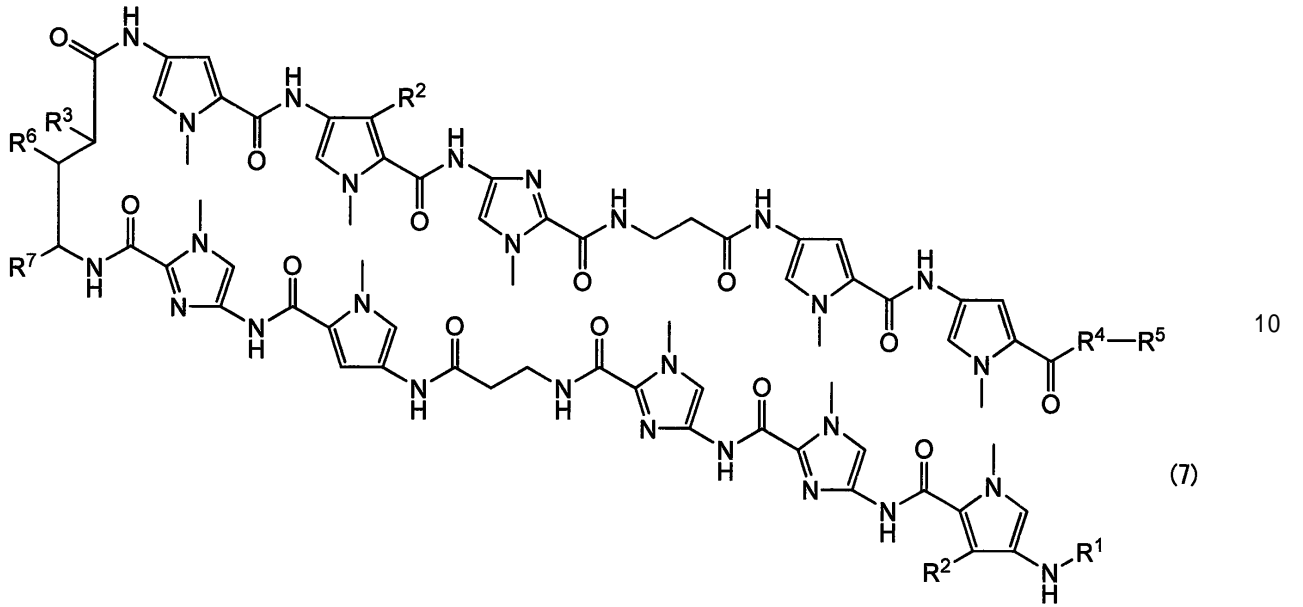
20

30

(6)

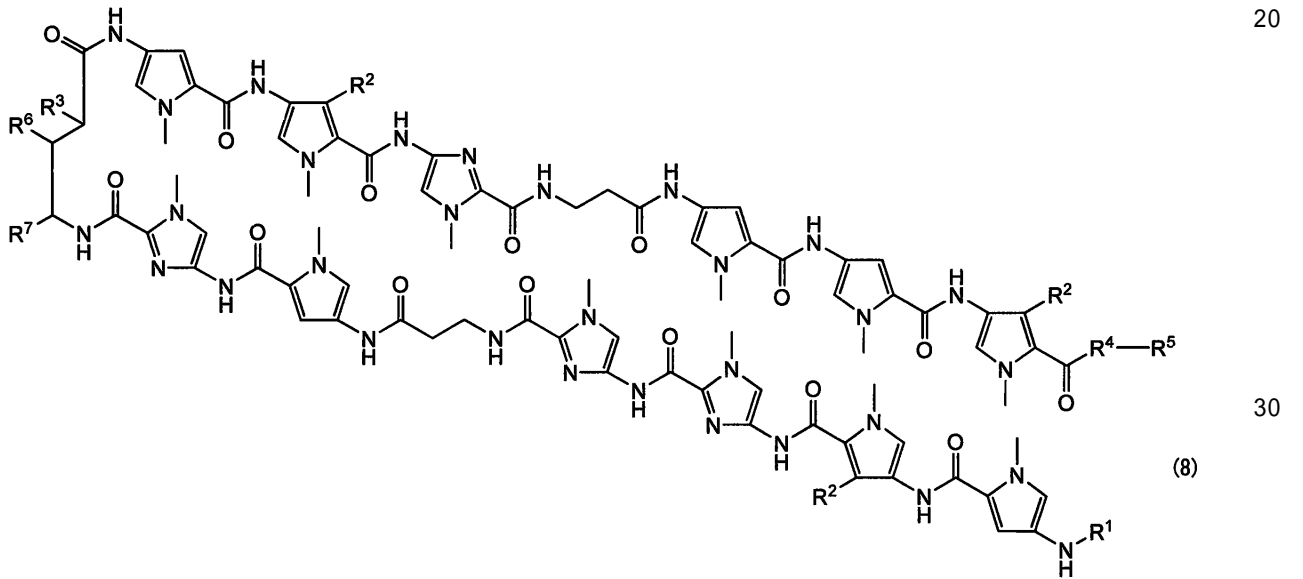
式(7) :

【化7】



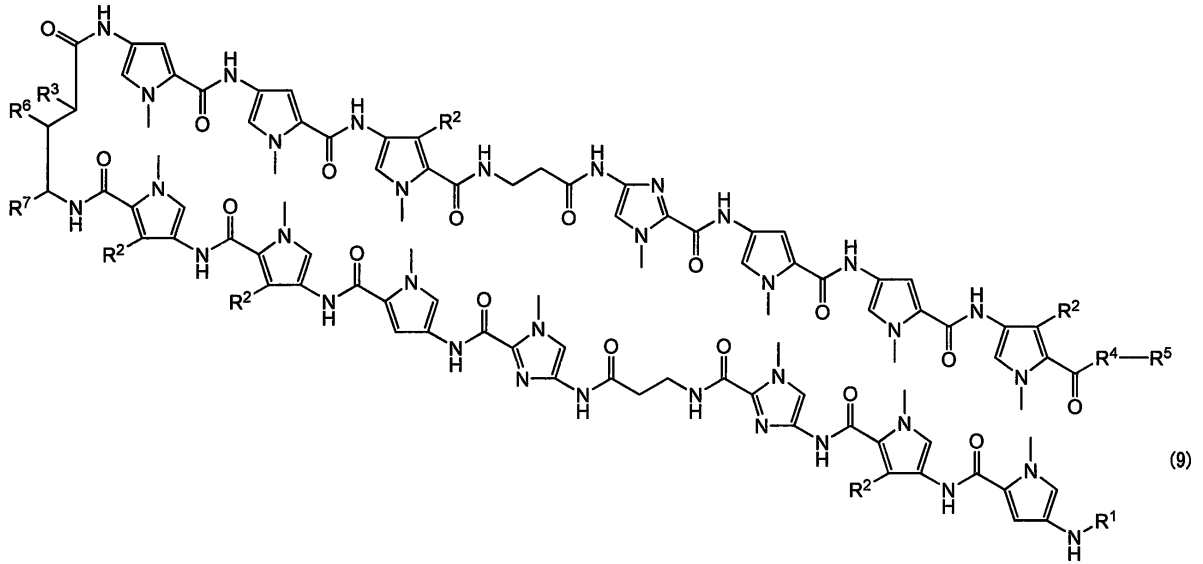
式(8) :

【化8】



式(9) :

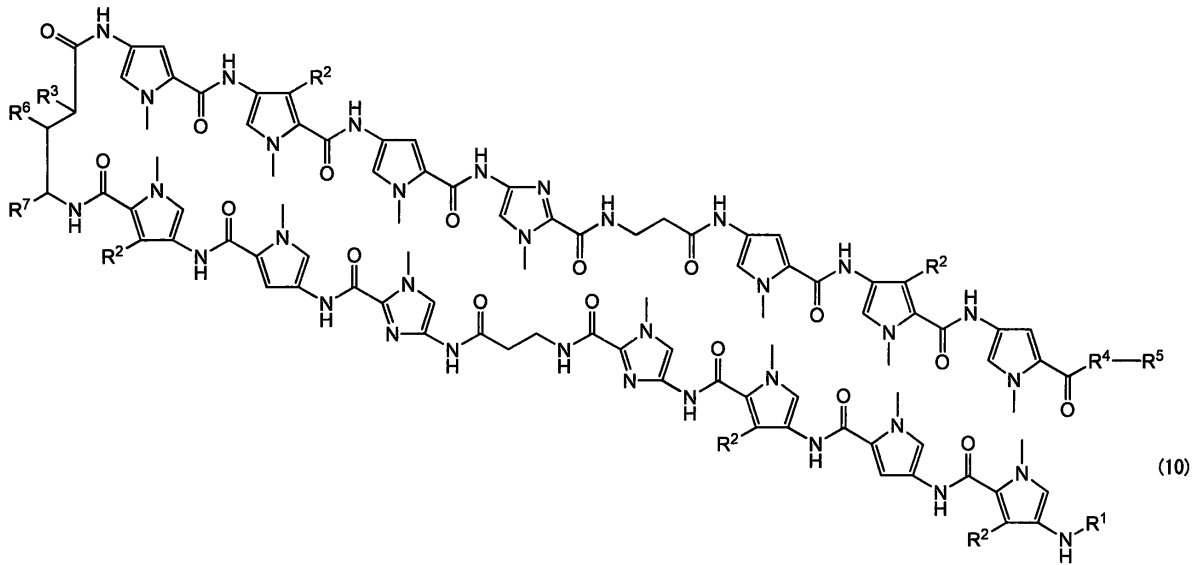
【化 9】



10

式 ( 10 ) :

【化 10】



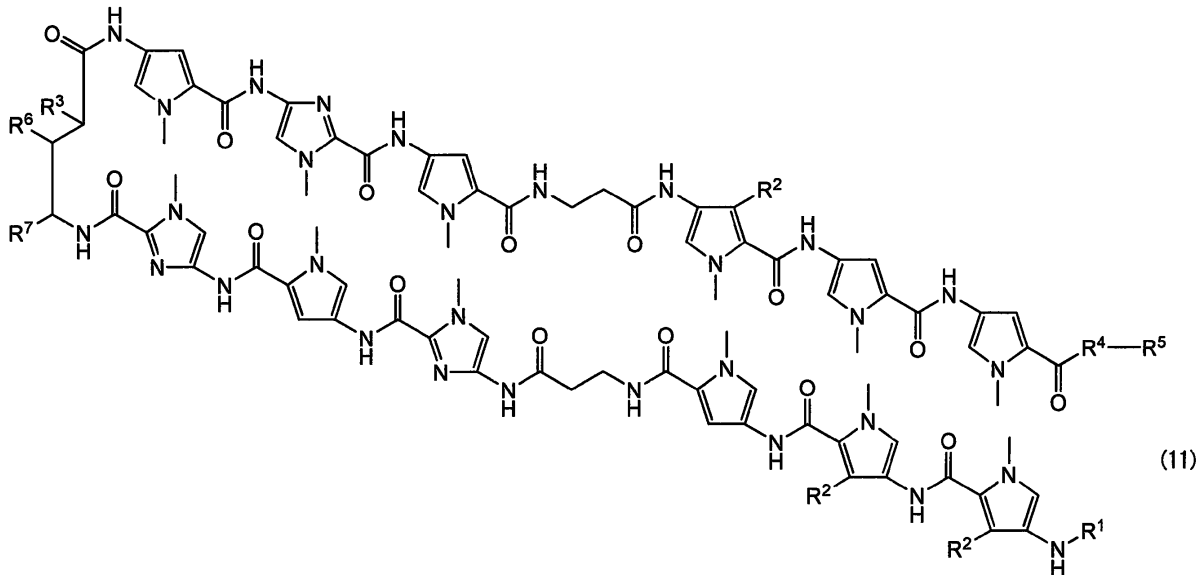
20

30

及び

式 ( 11 ) :

## 【化11】



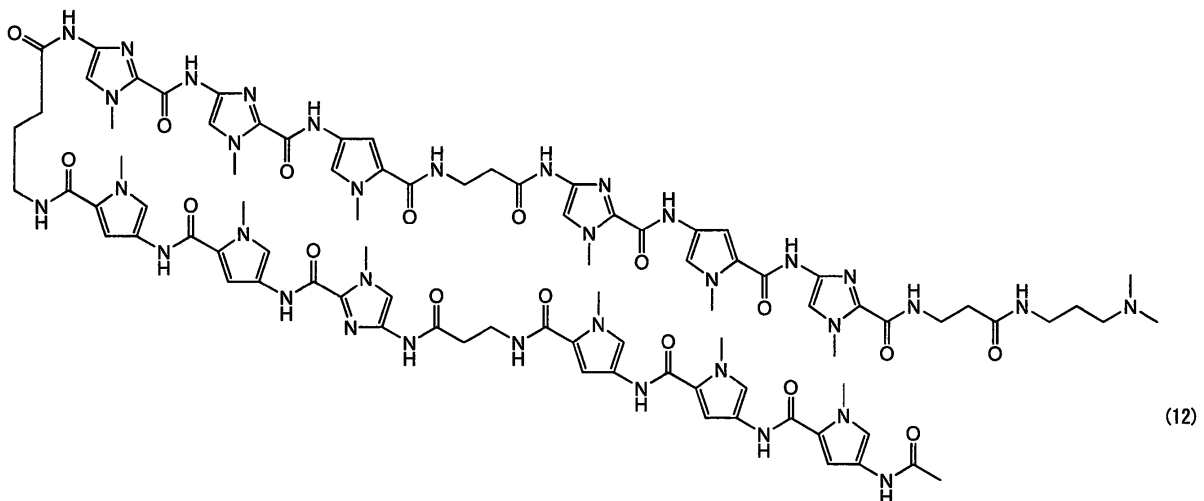
[ 式中、 $R^1$  は水素原子、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、ヒドロキシル基、アミノ基、カルボキシル基、又は炭素数 1 ~ 4 のアシル基であり、 $R^2$  はそれぞれ独立して水素原子又はヒドロキシル基であり、 $R^3$ 、 $R^6$ 、及び  $R^7$  はそれぞれ独立して、水素原子、アミノ基、又は  $-NH_3$  であり、 $R^4$  は存在しないか、又は  $-$ アラニン残基であり、 $R^5$  はヒドロキシル基又は N, Nジメチルアミノプロピル残基であり、そして Im 残基、Py 残基、Hp 残基、残基、 $-$ アミノ酪酸残基、又は (R) 2, 4ジアミノ酪酸残基の水素原子は、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、アミノ基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基に置換されてもよい]

からなる群から選択される式で表されるポリアミド化合物。

## 【請求項2】

式(12)：

## 【化12】



で表される、請求項1に記載のポリアミド化合物。

## 【請求項3】

請求項1又は2に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする正常型ミトコンドリアDNAの複製促進剤。

## 【請求項4】

請求項1又は2に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする医薬組成物。

## 【請求項5】

前記センス鎖DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の1番目のA及びそれと対のTからなるA/T対に対応する残基を含む、請求項1に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、A3236G変異を有する孤発性両側性視神経症の治療又は予防用医薬組成物。

【請求項6】

前記センス鎖DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の8番目のA及びそれと対のTからなるA/T対に対応する残基を含む、請求項1又は2に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、A3243G変異を有するミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群、糖尿病+難聴、ミトコンドリア筋症、リー症候群、感音性難聴、慢性進行性外眼筋麻痺、母系遺伝する難聴を伴う糖尿病、又は巣状分節性糸球体硬化症の治療又は予防用医薬組成物。

10

【請求項7】

前記センス鎖DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の8番目のA及びそれと対のTからなるA/T対に対応する残基を含み、前記A/T対のTに対応する残基がHp残基である、請求項1又は2に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、A3243T変異を有するミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群、ミトコンドリア筋症、感音性難聴、又は慢性進行性外眼筋麻痺の治療又は予防用医薬組成物。

20

【請求項8】

前記センス鎖DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の9番目のG及びそれと対のCからなるG/C対に対応する残基を含む、請求項1又は2に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、G3244A変異を有するミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群の治療又は予防用医薬組成物。

【請求項9】

前記センス鎖DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の14番目のG及びそれと対のCからなるG/C対に対応する残基を含む、請求項1に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、G3249A変異を有するカーンズ・セイヤー症候群の治療又は予防用医薬組成物。

30

【請求項10】

前記センス鎖DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の15番目のT及びそれと対のAからなるT/A対に対応する残基を含む請求項1に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、T3250C変異を有するミトコンドリア筋症又は慢性進行性外眼筋麻痺の治療又は予防用医薬組成物。

【請求項11】

前記センス鎖DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の16番目のA及びそれと対のTからなるA/T対に対応する残基を含む請求項1に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、A3251G変異を有するミトコンドリア筋症の治療又は予防用医薬組成物。

40

【請求項12】

前記センス鎖DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の17番目のA及びそれと対のTからなるA/T対に対応する残基を含む請求項1に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、A3252G変異を有するミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群の治療又は予防用医薬組成物。

50

## 【請求項 13】

前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 19 番目の C 及びそれと対の G からなる C / G 対に対応する残基を含む請求項 1 に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、C 3 2 5 4 A 変異を有する妊娠糖尿病、又は C 3 2 5 4 G 変異を有するミトコンドリア筋症の治療又は予防用医薬組成物。

## 【請求項 14】

前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 20 番目の G 及びそれと対の C からなる G / C 対に対応する残基を含む請求項 1 に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、G 3 2 5 5 A 変異を有する M E R R F / K S S オーバーラップ症候群の治療又は予防用医薬組成物。

10

## 【請求項 15】

前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 21 番目の C 及びそれと対の G からなる C / G 対に対応する残基を含む請求項 1 に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、C 3 2 5 6 T 変異を有するミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群 / 赤色ぼろ線維・ミオクロームステんかん症候群の治療又は予防用医薬組成物。

## 【請求項 16】

前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 23 番目の T 及びそれと対の A からなる T / A 対に対応する残基を含む請求項 1 に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、T 3 2 5 8 C 変異を有するミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群 / ミオパチーの治療又は予防用医薬組成物。

20

## 【請求項 17】

前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 25 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対に対応する残基を含む請求項 1 に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、A 3 2 6 0 G 変異を有する成人母系遺伝性ミオパチー及び心筋症の治療又は予防用医薬組成物。

30

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、ポリアミド化合物、並びにそれを含むミトコンドリア DNA 複製促進剤、及びミトコンドリア遺伝子疾患治療用医薬組成物に関する。本発明によれば、ミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群などのミトコンドリア遺伝子疾患を治療又は予防することができる。

## 【背景技術】

## 【0002】

ミトコンドリアは真核細胞のエネルギー産生を担っている細胞小器官であり、酸化リン酸化 (oxidative phosphorylation; OXPHOS) により、化学的エネルギー (ATP) を細胞に供給している。ミトコンドリア DNA (以下、mtDNA と称することがある) は、マルチコピー性の 16.5 kbp の環状二重鎖 DNA であり、OXPHOS に必須な 4 つの呼吸鎖複合体のサブユニットタンパク質である 13 種類のポリペプチド、ミトコンドリア・タンパク質合成に必要な 2 種類のリボソーム RNA (12S rRNA, 16S rRNA)、及び 22 種類のトランスファー RNA (tRNA) をコードしている。

40

## 【0003】

ミトコンドリアは、OXPHOS によって個体が必要なエネルギーの 90% を ATP と

50



して供給している。従って、ミトコンドリア機能異常が起きると、エネルギー需要の高い中枢神経、骨格筋、及び心筋において障害が発生する。特に、中枢神経又は筋に症状が現れるミトコンドリア疾患はミトコンドリア脳筋症と呼ばれ、臨床症状に応じて3つの病型、すなわちミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群 (mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes; 以下、MELASと称する)、赤色ぼろ線維・ミオクローヌスてんかん症候群 (myoclonic epilepsy associated with ragged-red fibers; 以下、MERRFと称する)、慢性進行性外眼筋麻痺 (chronic progressive external ophthalmoplegia; 以下、CPEOと称する) に分類されている。

#### 【0004】

前記3つの病型のうち、MELASは、脳卒中様発作、高乳酸血症などを特徴とするミトコンドリア病の中でも頻度の高い、致死性ミトコンドリア遺伝子疾患である。MELASを惹起する病原性点変異は、ミトコンドリアtRNA<sup>Leu</sup>(UUR)遺伝子に集中して存在するが、MELAS患者の80%は、mtDNAのミトコンドリアtRNA<sup>Leu</sup>(UUR)遺伝子上のミトコンドリア塩基番号3243番におけるアデニン(A)からグアニン(G)への一塩基置換(以下、A3243G変異と称する)を有している(図1)。A3243G変異はMELASをはじめとするミトコンドリア糖尿病、難聴、心筋症、又はCPEOなどの多彩な臨床症状を引き起こすことが知られており、分子病理の研究が最も進んでいる点変異である。MELASにおいては、同一の細胞にA3243G変異型mtDNAと、正常型(野生型)mtDNAとが共存しており、この状態をヘテロプラスミー(heteroplasmy)という。そして、細胞内においてA3243G変異型mtDNAが一定の割合(60-95%)を超えた時に、MELASは発症し、これを閾値効果(threshold effect)という。

#### 【0005】

前記MELASを含むミトコンドリア遺伝子疾患の治療薬として、ピリミジンヌクレオチド前駆体およびクレアチンを有効成分として含む医薬組成物(特許文献1)、4-(p-キノリル)-2-ヒドロキシブタンアミド誘導体を有効成分として含む医薬組成物(特許文献2)、又はアラニンを含む医薬組成物(特許文献3)などが知られている。しかしながら、これらの医薬組成物は、MELASの根本的な原因である遺伝子変異をターゲットとするものではなく、中枢神経や筋における症状に対する対症療法にとどまるものであり、その効果は限定的である。

#### 【0006】

一方、ミトコンドリア遺伝子疾患の原因である遺伝子変異をターゲットとする治療として、MERRFの変異であるA8344G変異にペプチド核酸(peptide nucleic acids; 以下、PNAと称する)を結合させ、MERRF変異型mtDNAの複製を選択的に阻害する試みが行われている(非特許文献1)。具体的には、複製中のMERRF A8344G変異型mtDNAに出現する、一本鎖H鎖の配列に結合するPNAを用いて、mtDNA複製run-offアッセイ系において、PNAによるin vitroでのMERRFのA8344G変異mtDNAの複製阻害効果が解析された(非特許文献1)。この実験において、合成伸長を阻害されたtruncated mtDNAが検出され、PNAによる変異型mtDNAの複製阻害効果が認められた。しかしながら、このPNAを添加した培地で、MERRFサイブリッド細胞を培養したが、ヘテロプラスミーの正常型(野生型)mtDNAへのシフトは認められず、生細胞におけるPNAによるA8344G変異型mtDNAの複製阻害効果は確認されなかった(非特許文献2)。

#### 【先行技術文献】

#### 【特許文献】

#### 【0007】

【特許文献1】特表2004-538326号公報

【特許文献2】特表2011-503005号公報

10

20

30

40

50

【特許文献3】国際公開WO2003/068215号パンフレット

【非特許文献】

【0008】

【非特許文献1】「ネイチャー・ジェネティクス(Nature Genetics)」、(英国)、1997年、第15巻、p.212-215

【非特許文献2】「アドバンスド・ドラッグ・デリバリー・レビューズ(Advanced Drug Delivery Reviews)」、(オランダ)、2001年、第49巻、p.121-125

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

10

【0009】

前記のように、従来のミトコンドリア遺伝子疾患における治療は、対症療法が主要なものであり、根本的な治療法は確立されていなかった。また、MERRFのA8344G変異において、PNAを用い、MERRF変異型mtDNAの複製を選択的に阻害する試みが行われている。しかしながらこの実験は、細胞分画を利用した*in vitro*ミトコンドリアDNA複製再構成系を用いたものであり、細胞を用いた実験系においては、PNAの治療効果が確認されていない。ミトコンドリアは、脂質2重膜を有しており、ターゲットであるミトコンドリアのA8344G変異にPNAを輸送する為には、細胞膜を通過し、更にミトコンドリアの脂質2重膜も通過する必要がある。ドラッグデリバリーの観点からも、ミトコンドリア遺伝子疾患の遺伝子変異をターゲットとする治療は困難である。更に付言すると、ミトコンドリア遺伝子疾患の中でも致死性の疾患であるMELAS患者のA3243G変異においては、その遺伝子変異をターゲットとする治療法は、全く試みられていなかった。

20

【0010】

本発明の目的は、前記ミトコンドリアDNAのA3243G変異を原因とするMELASの根本的な治療法、及びそれに用いる医薬組成物を提供することである。更には、ミトコンドリアDNAのA3236G変異を原因とするミトコンドリア遺伝子疾患、A3243T変異を原因とするミトコンドリア遺伝子疾患、G3244A変異を原因とするミトコンドリア遺伝子疾患、G3249A変異を原因とするミトコンドリア遺伝子疾患、T3250C変異を原因とするミトコンドリア遺伝子疾患、A3251G変異を原因とするミトコンドリア遺伝子疾患、A3252G変異を原因とするミトコンドリア遺伝子疾患、C3254A変異を原因とするミトコンドリア遺伝子疾患、C3254G変異を原因とするミトコンドリア遺伝子疾患、G3255A変異を原因とするミトコンドリア遺伝子疾患、C3256T変異を原因とするミトコンドリア遺伝子疾患、T3258C変異を原因とするミトコンドリア遺伝子疾患、又はA3260G変異を原因とするミトコンドリア遺伝子疾患の根本的な治療法及びそれに用いる医薬組成物を提供することである。

30

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明者は、A3243G変異を原因とするMELASの治療について、鋭意研究した結果、驚くべきことに、正常型mtDNAに結合するポリアミド化合物によって、正常型mtDNAの複製を増加させ、正常型mtDNAとA3243G変異型mtDNAとの間のヘテロプラスミーを正常型mtDNAにシフトさせることによって、MELASを治療可能であることを見出した。従来、ポリアミド化合物はDNAに結合し、遺伝子の発現を抑制することが知られていたが、ポリアミド化合物が正常型mtDNA複製を選択的に促進することは、驚くべきことである。

40

更に、本発明のポリアミド化合物は、A3236G変異、A3243T変異、G3244A変異、G3249A変異、T3250C変異、A3251G変異、A3252G変異、C3254A変異、C3254G変異、G3255A変異、C3256T変異、T3258C変異、又はA3260Gを原因とするミトコンドリア遺伝子疾患においても、有効であることを見出した。

50

更に、前記 PNA による治療は、生細胞内における効果が確認できていなかった。しかしながら本発明のポリアミド化合物を用いた医薬組成物によれば、生細胞内における効果が確認されており、細胞膜、及びミトコンドリア二重膜を通過してミトコンドリア DNA に、到達できるものと考えられる。

本発明は、こうした知見に基づくものである。

すなわち、本発明は、

[ 1 ] 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' で表される塩基配列からなるセンス鎖 DNA 及び 5' - T T A T G C G A T T A C C G G G C T C T G C C A T - 3' で表される塩基配列からなるアンチセンス鎖 DNA からなる式 ( 1 ) :

【化 1】



で表される 2 本鎖 DNA における、センス鎖 DNA の 1 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対、8 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対、9 番目の G 及びそれと対の C からなる G / C 対、14 番目の G 及びそれと対の C からなる G / C 対、15 番目の T 及びそれと対の A からなる T / A 対、16 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対、17 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対、19 番目の C 及びそれと対の G からなる C / G 対、20 番目の G 及びそれと対の C からなる G / C 対、21 番目の C 及びそれと対の G からなる C / G 対、23 番目の T 及びそれと対の A からなる T / A 対、又は 25 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対の少なくとも 1 つを含み、少なくとも一方の端が A / T 対又は T / A 対である標的 2 本鎖 DNA に結合するポリアミド化合物であって、

( 1 ) 標的 2 本鎖 DNA の一方の端の A / T 対又は T / A 対に対応するポリアミド化合物は、 - アミノ酪酸残基、( R ) 2 , 4 ジアミノ酪酸残基、及び 5 - アミノ吉草酸残基からなる群から選択されるターン構造であり、それらの残基の水素原子は、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、アミノ基、ヒドロキシル基、カルボキシル基、又は - N H <sub>3</sub> に置換されてもよく、

( 2 ) 前記一方の端の A / T 対又は T / A 対を除く標的 2 本鎖 DNA に対するポリアミド化合物の結合領域は、

- ( a ) G / C 対に対応する I m 残基 / P y 残基、又は I m 残基 / 残基、
- ( b ) C / G 対に対応する P y 残基 / I m 残基、又は 残基 / I m 残基、
- ( c ) A / T 対に対応する P y 残基 / P y 残基、P y 残基 / H p 残基、P y 残基 / 残基、残基 / P y 残基、又は 残基 / 残基、及び
- ( d ) T / A 対に対応する P y 残基 / P y 残基、H p 残基 / P y 残基、P y 残基 / 残基、残基 / P y 残基、又は 残基 / 残基

(ここで、I m は N - メチルイミダゾール、P y は N - メチルピロール、H p は 3 - ヒドロキシ N - メチルピロール、及び は - アラニンであり；

G / C が I m 残基 / 残基に、及び C / G が 残基 / I m 残基に対応できる場合は、G C / G C 対に対応する I m 残基・残基 / I m 残基・残基の場合、又は C G / C G 対に対応する 残基・I m 残基 / 残基・I m 残基の場合であり；

そして I m 残基、P y 残基、H p 残基、残基の水素原子は、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、アミノ基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基に置換されてもよい)

からなり、

( 3 ) 標的 2 本鎖 DNA の他方の端の 5' 端に対応するポリアミド化合物の末端は、I m、P y、H p、若しくは - アラニンのアミノ基、又は水素原子、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、ヒドロキシル基、カルボキシル基、若しくは炭素数 1 ~ 4 のアシル基であり、そして

3' 末端に対応するポリアミド化合物の末端は、I m、P y、H p、若しくは - アラニンのカルボキシル基、N , N ジメチルアミノプロピル、又は - アラニン・N , N ジメチルアミノプロピルである、

10

20

30

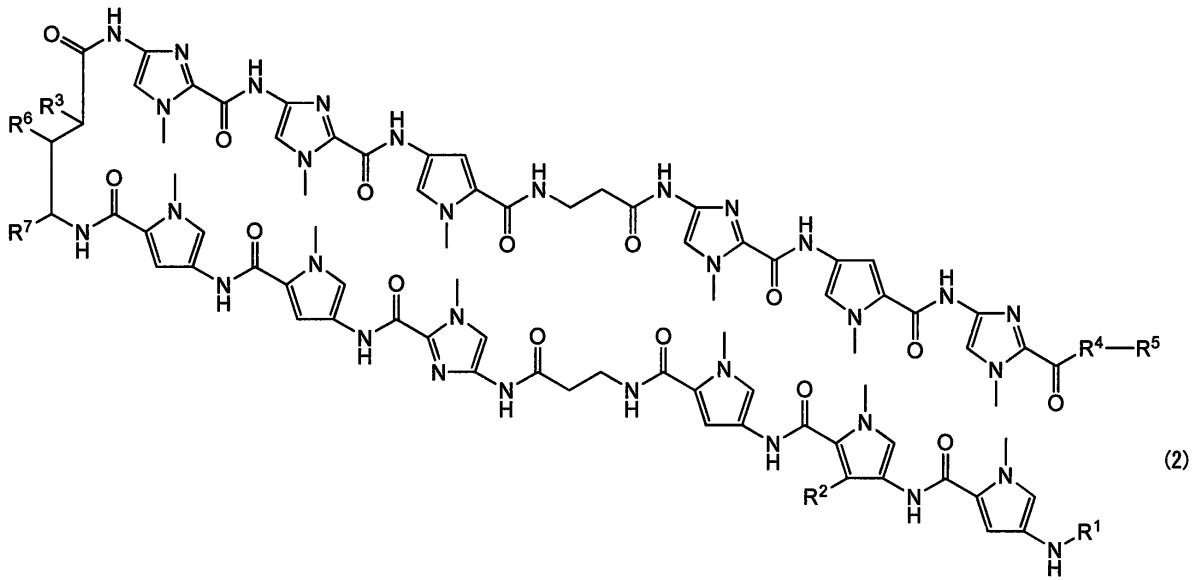
40

50

前記ポリアミド化合物、

[ 2 ] 式 ( 2 ) :

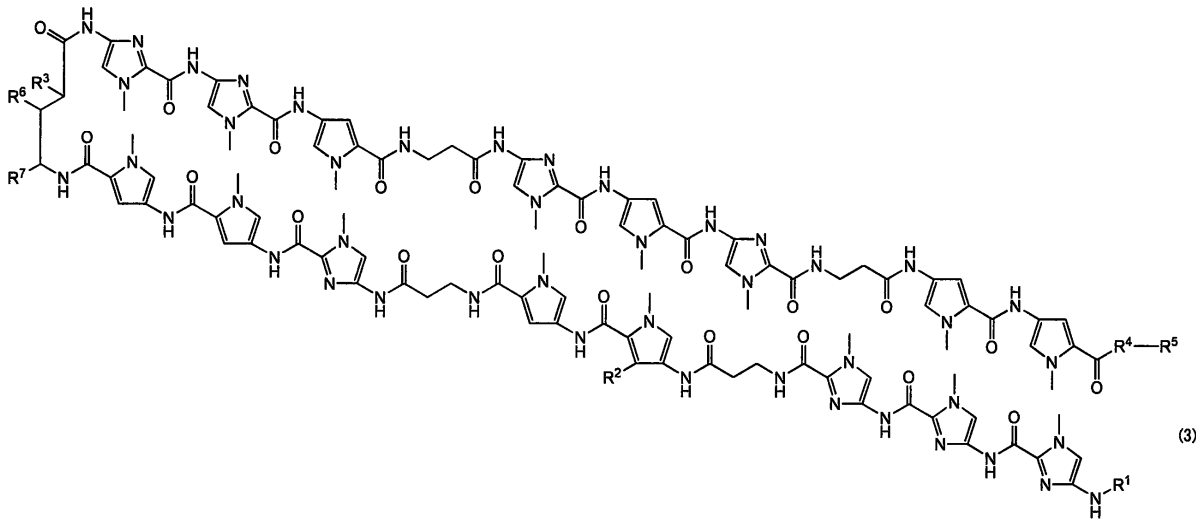
【化 2】



10

式 ( 3 ) :

【化 3】

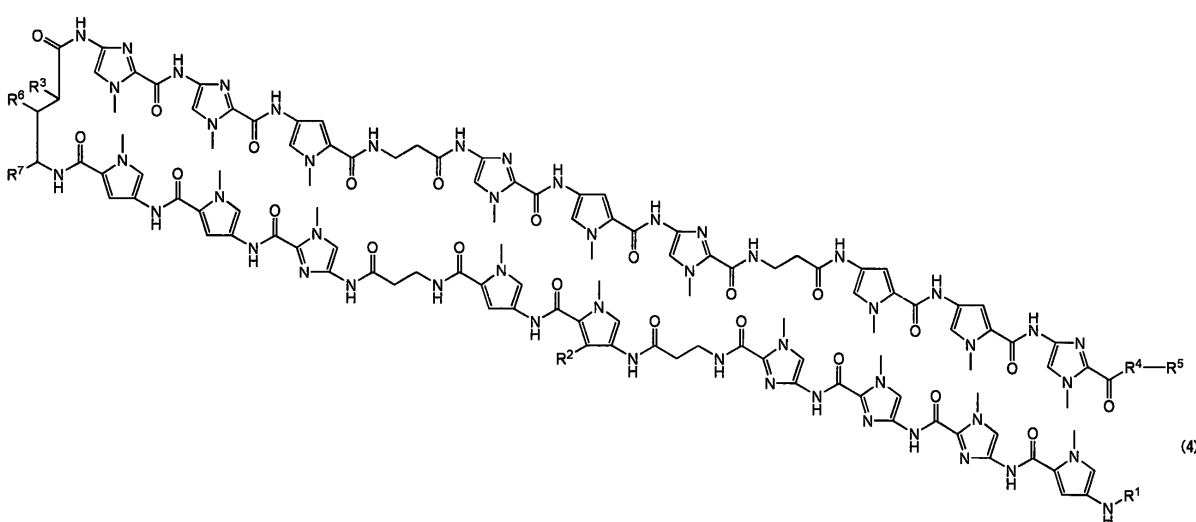


20

30

式 ( 4 ) :

【化 4】

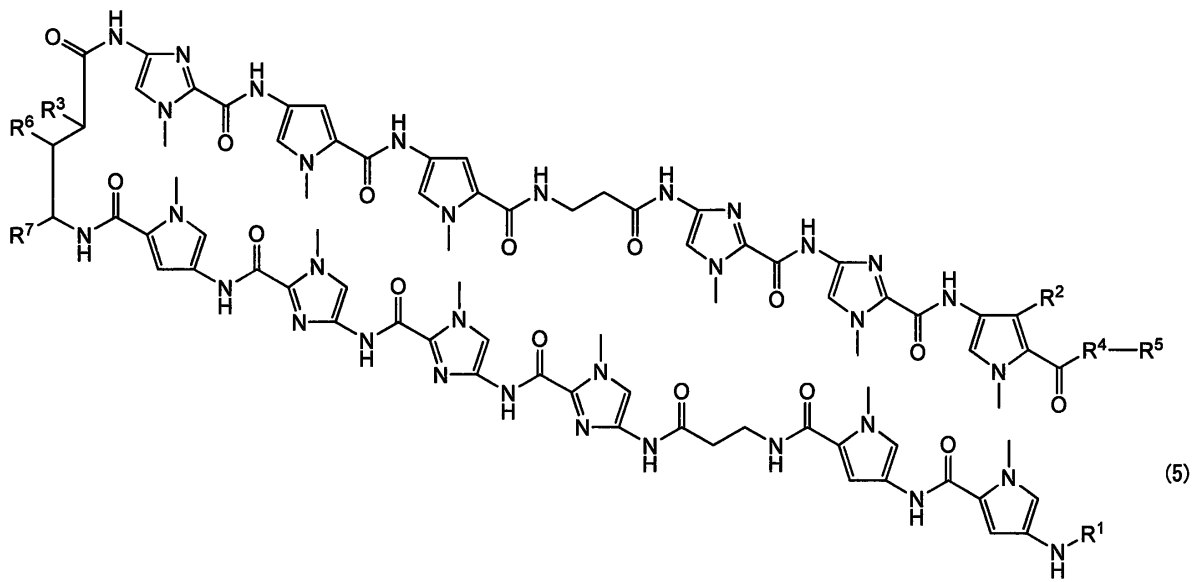


40

50

式 ( 5 ) :

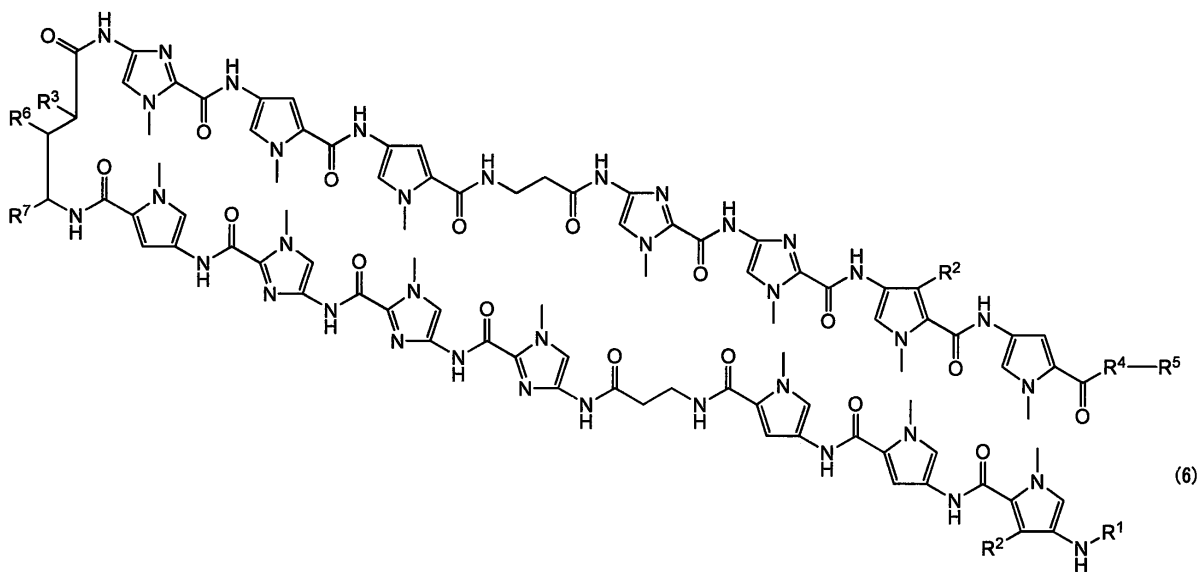
【化 5】



10

式 ( 6 ) :

【化 6】

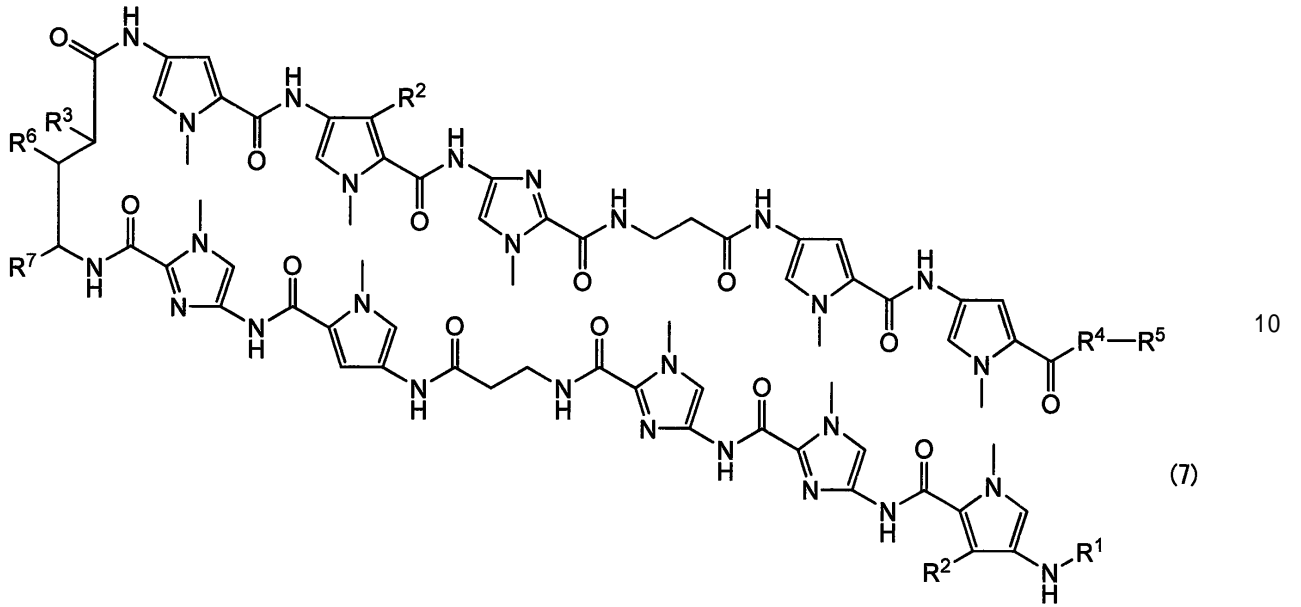


20

30

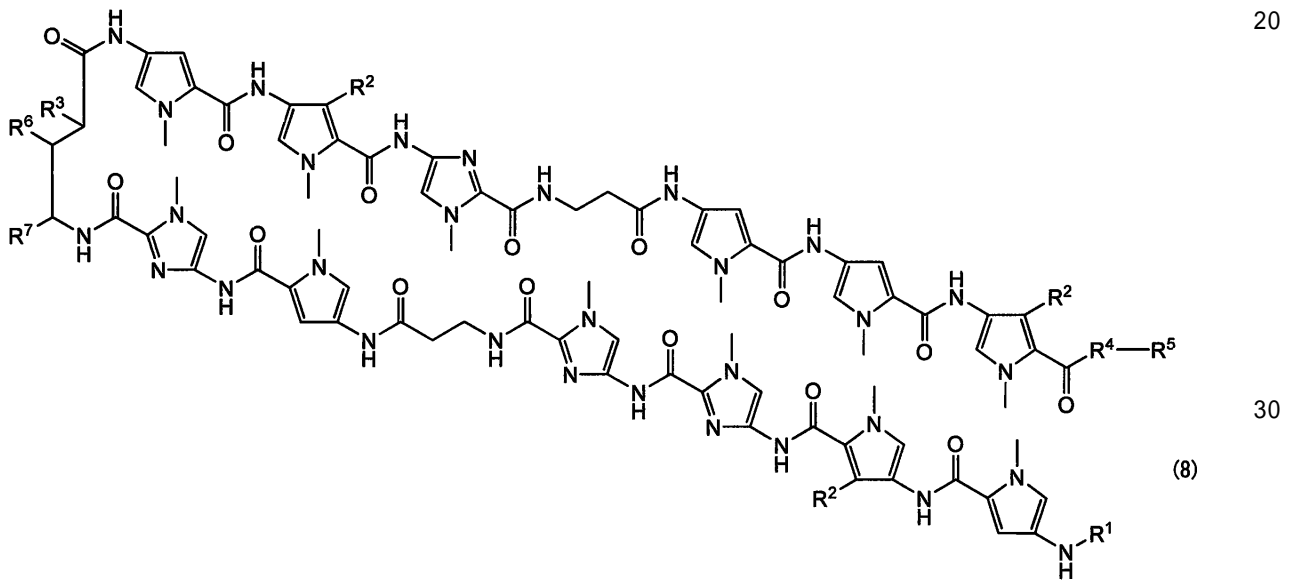
式 ( 7 ) :

【化 7】



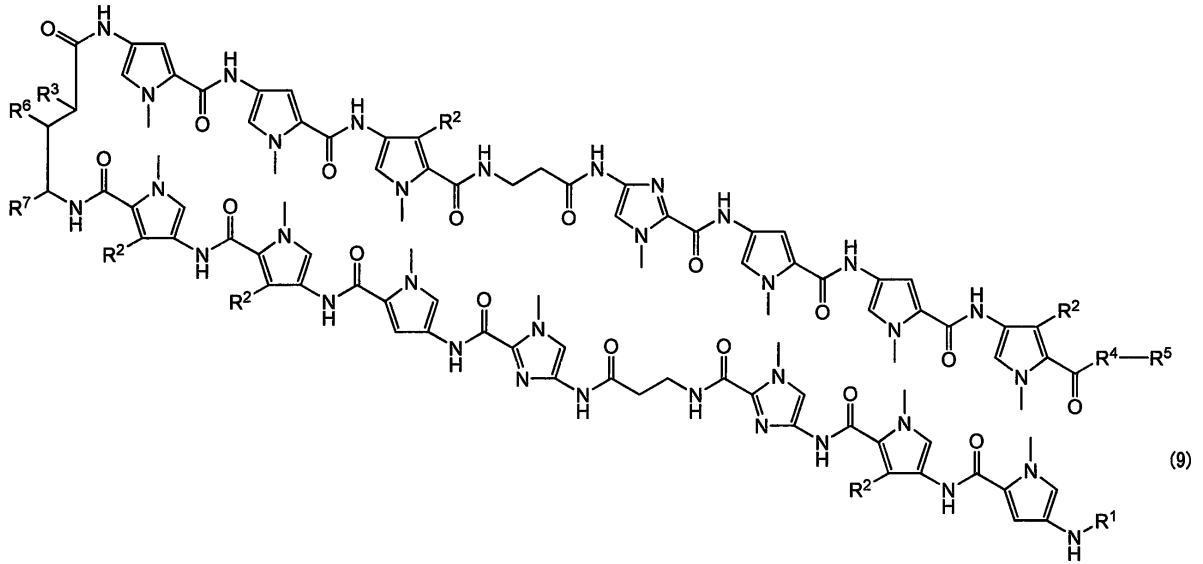
式 ( 8 ) :

【化 8】



式 ( 9 ) :

【化 9】

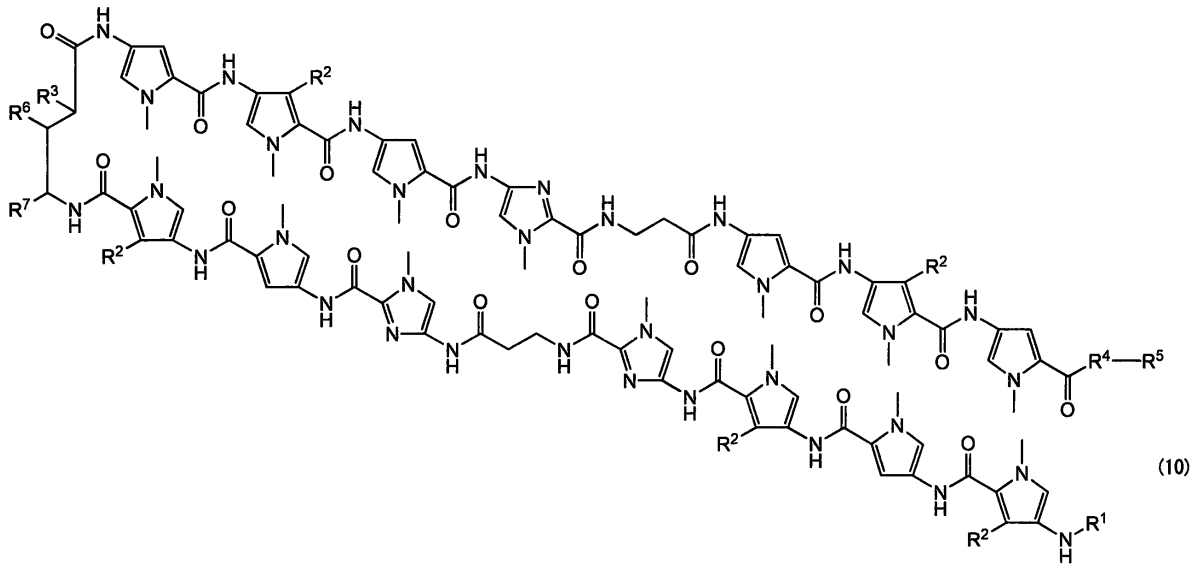


10

(9)

式 ( 10 ) :

【化 10】



20

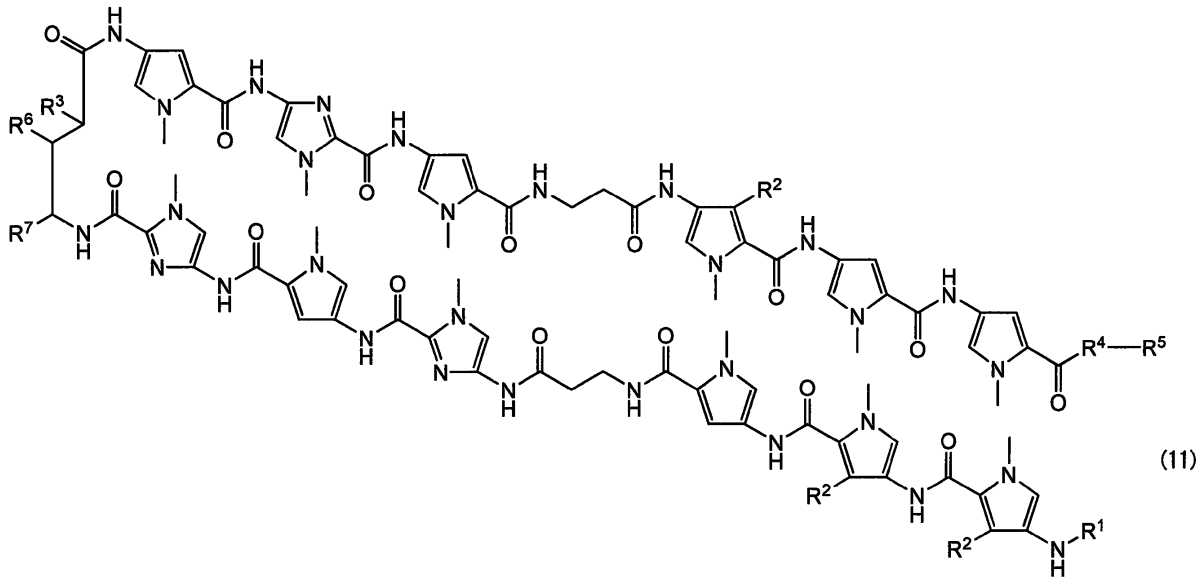
30

(10)

及び

式 ( 11 ) :

## 【化 1 1】

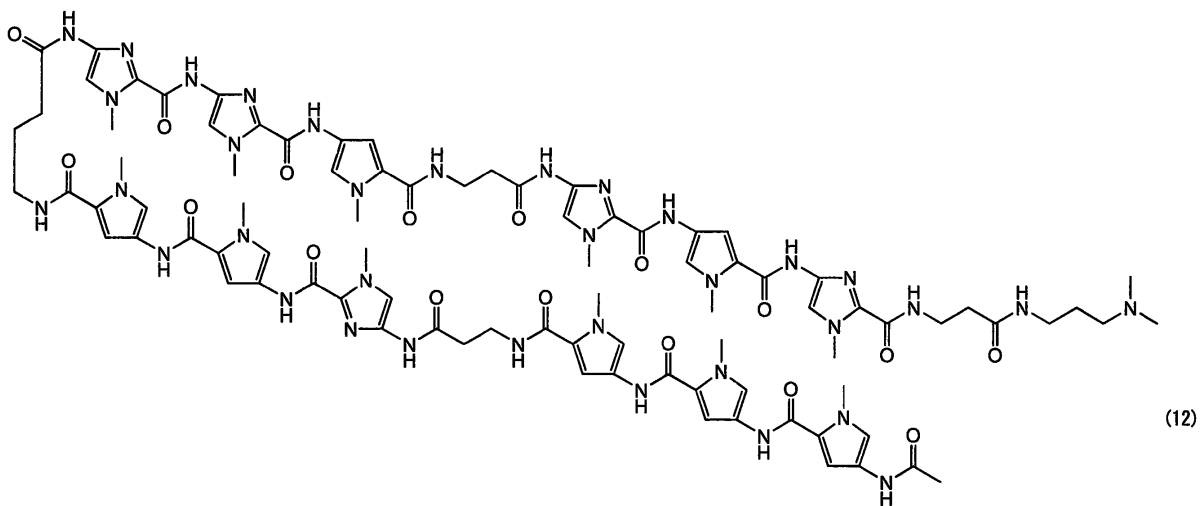


[ 式中、 $R^1$  は水素原子、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、ヒドロキシル基、アミノ基、カルボキシル基、又は炭素数 1 ~ 4 のアシル基であり、 $R^2$  はそれぞれ独立して水素原子又はヒドロキシル基であり、 $R^3$ 、 $R^6$ 、及び  $R^7$  はそれぞれ独立して、水素原子、アミノ基、又は  $-NH_3$  であり、 $R^4$  は存在しないか、又は  $-$ アラニン残基であり、 $R^5$  はヒドロキシル基又は N, Nジメチルアミノプロピル残基であり、そして Im 残基、Py 残基、Hp 残基、残基、 $-$ アミノ酪酸残基、又は (R) 2, 4ジアミノ酪酸残基の水素原子は、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、アミノ基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基に置換されてもよい]

からなる群から選択される式で表される、[ 1 ] に記載のポリアミド化合物、

[ 3 ] 式 ( 1 2 ) :

## 【化 1 2】



で表される、[ 2 ] に記載のポリアミド化合物、

[ 4 ] [ 1 ] ~ [ 3 ] に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする正常型ミトコンドリア DNA の複製促進剤、

[ 5 ] [ 1 ] ~ [ 3 ] に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする医薬組成物、

[ 6 ] 前記センス鎖 DNA 5' - ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA - 3' の 1 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対に対応する残基を含む、[ 1 ] 又は [ 2 ] に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、A 3 2 3 6 G 変異を有する孤発性両側性視神経症の治療又は予

10

20

30

40

50



防用医薬組成物、

[ 7 ] 前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 8 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対に対応する残基を含む、[ 1 ] ~ [ 3 ] に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、A 3 2 4 3 G 変異を有するミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群、糖尿病 + 難聴、ミトコンドリア筋症、リー症候群、感音性難聴、慢性進行性外眼筋麻痺、母系遺伝する難聴を伴う糖尿病、又は巣状分節性糸球体硬化症の治療又は予防用医薬組成物、

[ 8 ] 前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 8 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対に対応する残基を含み、前記 A / T 対の T に対応する残基が H p 残基である、[ 1 ] ~ [ 3 ] に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、A 3 2 4 3 T 変異を有するミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群、ミトコンドリア筋症、感音性難聴、又は慢性進行性外眼筋麻痺の治療又は予防用医薬組成物、

[ 9 ] 前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 9 番目の G 及びそれと対の C からなる G / C 対に対応する残基を含む、[ 1 ] ~ [ 3 ] に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、G 3 2 4 4 A 変異を有するミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群の治療又は予防用医薬組成物、

[ 1 0 ] 前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 1 4 番目の G 及びそれと対の C からなる G / C 対に対応する残基を含む、[ 1 ] 又は [ 2 ] に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、G 3 2 4 9 A 変異を有するカーンズ・セイヤー症候群の治療又は予防用医薬組成物、

[ 1 1 ] 前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 1 5 番目の T 及びそれと対の A からなる T / A 対に対応する残基を含む [ 1 ] 又は [ 2 ] に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、T 3 2 5 0 C 変異を有するミトコンドリア筋症又は慢性進行性外眼筋麻痺の治療又は予防用医薬組成物、

[ 1 2 ] 前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 1 6 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対に対応する残基を含む [ 1 ] 又は [ 2 ] に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、A 3 2 5 1 G 変異を有するミトコンドリア筋症の治療又は予防用医薬組成物、

[ 1 3 ] 前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 1 7 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対に対応する残基を含む [ 1 ] 又は [ 2 ] に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、A 3 2 5 2 G 変異を有するミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群の治療又は予防用医薬組成物、

[ 1 4 ] 前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 1 9 番目の C 及びそれと対の G からなる C / G 対に対応する残基を含む [ 1 ] 又は [ 2 ] に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、C 3 2 5 4 A 変異を有する妊娠糖尿病、又は C 3 2 5 4 G 変異を有するミトコンドリア筋症の治療又は予防用医薬組成物、

[ 1 5 ] 前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 2 0 番目の G 及びそれと対の C からなる G / C 対に対応する残基を含む [ 1 ] 又は [ 2 ] に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有することを特徴とする、G 3 2 5 5 A 変異を有する M E R R F / K S S オーバーラップ症候群の治療又は予防用医薬組成物、

[ 1 6 ] 前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A

10

20

30

40

50

A - 3' の 21 番目の C 及びそれと対の G からなる C / G 対に対応する残基を含む [ 1 ]  
又は [ 2 ] に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として  
含有することを特徴とする、C 3 2 5 6 T 変異を有するミトコンドリア脳筋症・乳酸アシ  
ドーシス・脳卒中様症候群 / 赤色ぼろ線維・ミオクローヌステんかん症候群の治療又は予  
防用医薬組成物、

[ 1 7 ] 前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A  
A - 3' の 23 番目の T 及びそれと対の A からなる T / A 対に対応する残基を含む [ 1 ]  
又は [ 2 ] に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として  
含有することを特徴とする、T 3 2 5 8 C 変異を有するミトコンドリア脳筋症・乳酸アシ  
ドーシス・脳卒中様症候群 / ミオパチーの治療又は予防用医薬組成物、

10

[ 1 8 ] 前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A  
A - 3' の 25 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対に対応する残基を含む [ 1 ]  
又は [ 2 ] に記載のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として  
含有することを特徴とする、A 3 2 6 0 G 変異を有する成人母系遺伝性ミオパチー及び心  
筋症の治療又は予防用医薬組成物  
に関する。

#### 【発明の効果】

#### 【 0 0 1 2 】

本発明のポリアミド化合物によれば、正常型 m t DNA の複製を選択的に促進すること  
ができる。また、本発明のポリアミド化合物によれば、ミトコンドリア遺伝子疾患の治療  
用医薬組成物を製造することができる。更に、本発明の医薬組成物によれば、A 3 2 3 6  
G 変異、A 3 2 4 3 G 変異、A 3 2 4 3 T 変異、G 3 2 4 4 A 変異、G 3 2 4 9 A 変異、  
T 3 2 5 0 C 変異、A 3 2 5 1 G 変異、A 3 2 5 2 G 変異、C 3 2 5 4 A 変異、C 3 2 5  
4 G 変異、G 3 2 5 5 A 変異、C 3 2 5 6 T 変異、T 3 2 5 8 C 変異、及び A 3 2 6 0 G  
変異からなる群から選択される少なくとも 1 つの変異を原因とするミトコンドリア遺伝子  
疾患を治療、又は予防することができる。

20

前記 P N A を用いた変異型 m t DNA の複製抑制による治療は、基本的に 1 つの変異に  
対して 1 つの P N A を作製する必要があるが、本発明のポリアミド化合物を用いた医薬組  
成物による治療は、正常型 m t DNA ターゲットとしているため、1 つのポリアミドによ  
り、複数のミトコンドリア DNA の変異を原因とするミトコンドリア遺伝子疾患を治療す  
ることができる。

30

また、前記 P N A を用いた変異型 m t DNA の複製抑制による治療は、変異型 m t D N  
A を減少させることを目的としており、直接的に正常型 m t D N A を増加させることが  
できない。従って、ミトコンドリア遺伝子疾患によって減少している細胞のエネルギー産生  
を回復させることができない。しかしながら、本発明の医薬組成物による治療は、正常型  
m t D N A を増加させることができるため、ミトコンドリア遺伝子疾患の原因を根本的に  
改善することができる。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【 0 0 1 3 】

【図 1】ミトコンドリア t R N A <sup>L e u</sup> ( U U R ) 遺伝子上の病原性点変異を示した図で  
ある。

40

【図 2】本発明のポリアミドが結合する正常型 2 本鎖 DNA の配列、並びに態様 a 1、態  
様 a 2、態様 a 3、態様 b 1、態様 b 2、態様 c 1、態様 c 2、態様 c 3、態様 d 1、態  
様 e 1、及び態様 f 1 のポリアミドを模式的に示した図である。ドット ( · ) は、ミトコ  
ンドリア遺伝子疾患の変異が存在する塩基を示す。

【図 3】E M S A による M L 1 ポリアミドとターゲット配列との塩基配列特異的結合を解  
析した図である。正常型 m t DNA の配列において、d s DNA で顕著なバンドのシフト  
が見られる。一方、一塩基置換を持つ A 3 2 4 3 G 変異型 d s DNA では顕著なシフトが  
見られない。このことは、正常型 m t DNA に対する M L 1 ポリアミドの塩基配列特異的  
結合が i n v i t r o で起こっていることを示している。

50

【図4】PCR-RFLPで分離したDay 14のサイブリッド細胞の野生型DNA量を泳動定量装置で解析した(mean ± S.E.M. n = 3)グラフである。生細胞におけるML1ポリアミドによる野生型mtDNAの増加が1 μM、及び5 μMの培地濃度で観察された。

【図5】ML1ポリアミド処理15日後のサイブリッド細胞での野生型mtDNAの増加を示した写真である。500 nMの培地濃度のML1ポリアミドで処理した細胞で、野生型mtDNAの増加が顕著である。

【図6】ML1ポリアミド処理35日間後の2SDサイブリッド細胞内のmtDNA構成を示した写真である。野生型mtDNAが殆ど存在しないコントロールに対し、細胞内での継続的な野生型mtDNAの増加に伴う増幅バンドが確認出来る。

【図7】呼吸鎖欠損細胞が生存出来ないDMEM培地(ピルビン酸ナトリウム不含、ウリジン不含)で、1 μM処理の143B細胞(図4A)、500 nM又は100 nM処理の143B細胞(図4B)、及び1 μM処理のHeLa細胞(図4C)を30時間培養した後のそれぞれの細胞の形態を示す写真である。

【発明を実施するための形態】

【0014】

[1] ポリアミド化合物

本発明のポリアミド化合物は、5' - ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA - 3' (配列番号1) で表される塩基配列からなるセンス鎖DNA及び5' - TTATGCGATTACCGGGCTCTGCCAT - 3' (配列番号2) で表される塩基配列からなるアンチセンス鎖DNAからなる式(1) :

【化13】



で表される2本鎖DNAにおける、センス鎖DNAの1番目のA及びそれと対のTからなるA/T対、8番目のA及びそれと対のTからなるA/T対、9番目のG及びそれと対のCからなるG/C対、14番目のG及びそれと対のCからなるG/C対、15番目のT及びそれと対のAからなるT/A対、16番目のA及びそれと対のTからなるA/T対、17番目のA及びそれと対のTからなるA/T対、19番目のC及びそれと対のGからなるC/G対、20番目のG及びそれと対のCからなるG/C対、21番目のC及びそれと対のGからなるC/G対、23番目のT及びそれと対のAからなるT/A対、又は25番目のA及びそれと対のTからなるA/T対の少なくとも1つを含み、少なくとも一方の端がA/T対又はT/A対である標的2本鎖DNAに結合するポリアミド化合物である。

【0015】

(2本鎖DNA)

前記式(1)で表される2本鎖DNAは、ミトコンドリアDNAの塩基番号3236~3260に相当する2本鎖DNAであり、ミトコンドリアtRNA<sup>Leu</sup>(UUR)遺伝子上に存在している。本明細書においては、前記2本鎖DNAのうち、5' - ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA - 3' をセンス鎖DNAと称し、そして5' - TTATGCGATTACCGGGCTCTGCCAT - 3' をアンチセンス鎖DNAと称する。

前記2本鎖DNAは、ミトコンドリア遺伝子疾患の変異が存在する領域であり、ミトコンドリア遺伝子疾患の原因となる変異としては、ミトコンドリア塩基番号3236番におけるアデニン(A)からグアニン(G)への一塩基置換であるA3236G変異、ミトコンドリア塩基番号3243番におけるアデニン(A)からグアニン(G)への一塩基置換であるA3243G変異、ミトコンドリア塩基番号3243番におけるアデニン(A)からチミン(T)への一塩基置換であるA3243T変異、ミトコンドリア塩基番号3244番におけるグアニン(G)からアデニン(A)への一塩基置換であるG3244A変異、ミトコンドリア塩基番号3249番におけるグアニン(G)からアデニン(A)への一

10

20

30

40

50

塩基置換である G 3 2 4 9 A 変異、ミトコンドリア塩基番号 3 2 5 0 番におけるチミン ( T ) からシトシン ( C ) への一塩基置換である T 3 2 5 0 C 変異、ミトコンドリア塩基番号 3 2 5 1 番におけるアデニン ( A ) からグアニン ( G ) への一塩基置換である A 3 2 5 1 G 変異、ミトコンドリア塩基番号 3 2 5 2 番におけるアデニン ( A ) からグアニン ( G ) への一塩基置換である A 3 2 5 2 G 変異、ミトコンドリア塩基番号 3 2 5 4 番におけるシトシン ( C ) からアデニン ( A ) への一塩基置換である C 3 2 5 4 A 変異、ミトコンドリア塩基番号 3 2 5 4 番におけるシトシン ( C ) からグアニン ( G ) への一塩基置換である C 3 2 5 4 G 変異、ミトコンドリア塩基番号 3 2 5 5 番におけるグアニン ( G ) からアデニン ( A ) への一塩基置換である G 3 2 5 5 A 変異、ミトコンドリア塩基番号 3 2 5 6 番におけるシトシン ( C ) からチミン ( T ) への一塩基置換である C 3 2 5 6 T 変異、ミトコンドリア塩基番号 3 2 5 8 番におけるチミン ( T ) からシトシン ( C ) への一塩基置換である T 3 2 5 8 C 変異、ミトコンドリア塩基番号 3 2 6 0 番におけるアデニン ( A ) からグアニン ( G ) への一塩基置換である A 3 2 6 0 G 変異を挙げることができる。

10

## 【 0 0 1 6 】

( 標的 2 本鎖 DNA )

前記 2 本鎖 DNA は、本発明のポリアミド化合物が結合する標的 2 本鎖 DNA を含む。標的 2 本鎖 DNA は、前記 A 3 2 3 6 G 変異、A 3 2 4 3 G 変異、A 3 2 4 3 T 変異、G 3 2 4 4 A 変異、G 3 2 4 9 A 変異、T 3 2 5 0 C 変異、A 3 2 5 1 G 変異、A 3 2 5 2 G 変異、C 3 2 5 4 A 変異、C 3 2 5 4 G 変異、G 3 2 5 5 A 変異、C 3 2 5 6 T 変異、T 3 2 5 8 C 変異、又は A 3 2 6 0 G 変異に対応する正常型 m t DNA の塩基対を含む。具体的には、センス鎖 DNA の 1 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対、8 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対、センス鎖 DNA の 9 番目の G 及びそれと対の C からなる G / C 対、センス鎖 DNA の 1 4 番目の G 及びそれと対の C からなる G / C 対、センス鎖 DNA の 1 5 番目の T 及びそれと対の A からなる T / A 対、及びセンス鎖 DNA の 1 6 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対、1 7 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対、1 9 番目の C 及びそれと対の G からなる C / G 対、2 0 番目の G 及びそれと対の C からなる G / C 対、2 1 番目の C 及びそれと対の G からなる C / G 対、2 3 番目の T 及びそれと対の A からなる T / A 対、又は 2 5 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対からなる群から選択される少なくとも 1 つの対を含む。本発明のポリアミド化合物は、正常型 m t DNA に優先的に結合し、変異型 m t DNA に結合しないか、又は結合しにくいものである。

20

30

## 【 0 0 1 7 】

前記標的 2 本鎖 DNA は、T / A 対又は A / T 対を一方の末端に含む。この T / A 対又は A / T 対はポリアミドのターン構造に対応する部分である。一方、標的 2 本鎖 DNA の他方の末端の塩基対は、特に限定されるものではなく、T / A 対、A / T 対、G / C 対、又は C / G 対のいずれでもよい。

## 【 0 0 1 8 】

前記一方の末端の T / A 対又は A / T 対としては、下記式 ( 1 ) :

## 【 化 1 4 】



40

で表される 2 本鎖 DNA における、センス鎖 DNA の 1 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対を挙げることができる。この A / T 対を含む標的 2 本鎖 DNA は、前記 A / T 対を含む 8 b p ~ 1 6 b p の標的 2 本鎖 DNA である。

## 【 0 0 1 9 】

別の方の末端の T / A 対又は A / T 対としては、前記式 ( 1 ) で表される 2 本鎖 DNA における、センス鎖 DNA の 2 番目の T 及びそれと対の A からなる T / A 対を挙げることができる。この T / A 対を含む標的 2 本鎖 DNA は、前記 T / A 対を含む 7 b p ~ 1 6 b p の標的 2 本鎖 DNA であり、例えば下記式 ( 1 3 ) :

50

【化 15】



(配列番号 3 及び 13)

で表される 8 bp の標的 2 本鎖 DNA、  
下記式 (14) :

【化 16】



10

(配列番号 4 及び 14)

で表される 11 bp の標的 2 本鎖 DNA、又は  
下記式 (15) :

【化 17】



(配列番号 5 及び 15)

で表される 12 bp の標的 2 本鎖 DNA、を挙げることができる。

20

【0020】

別の一方の末端の T / A 対又は A / T 対としては、前記式 (1) で表される 2 本鎖 DNA における、センス鎖 DNA の 6 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対を挙げることができる。この A / T 対を含む標的 2 本鎖 DNA は、前記 A / T 対を含む 3 bp ~ 16 bp の標的 2 本鎖 DNA である。

【0021】

別の一方の末端の T / A 対又は A / T 対としては、前記式 (1) で表される 2 本鎖 DNA における、センス鎖 DNA の 8 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対を挙げることができる。この A / T 対を含む標的 2 本鎖 DNA は、前記 A / T 対を含む 3 bp ~ 16 bp の標的 2 本鎖 DNA であり、例えば下記式 (16) :

30

【化 18】



(配列番号 6 及び 16)

で表される 8 bp の標的 2 本鎖 DNA、又は  
下記式 (17) :

【化 19】



40

(配列番号 7 及び 17)

で表される 9 bp の標的 2 本鎖 DNA を挙げることができる。

【0022】

別の一方の末端の T / A 対又は A / T 対としては、前記式 (1) で表される 2 本鎖 DNA における、アンチセンス鎖 DNA の 10 番目の T 及びそれと対の A からなる T / A 対を挙げることができる。この T / A 対を含む標的 2 本鎖 DNA は、前記 T / A 対を含む 3 bp ~ 16 bp の標的 2 本鎖 DNA である。

【0023】

別の末端の T / A 対又は A / T 対としては、前記式 (1) で表される 2 本鎖 DNA にお

50

ける、アンチセンス鎖DNAの11番目のA及びそれと対のTからなるA/T対を挙げることができる。このA/T対を含む標的2本鎖DNAは、前記A/T対を含む3bp~15bpの標的2本鎖DNAである。

【0024】

他の末端のT/A対又はA/T対としては、前記式(1)で表される2本鎖DNAにおける、アンチセンス鎖DNAの18番目のT及びそれと対のAからなるT/A対を挙げることができる。このT/A対を含む標的2本鎖DNAは、T/A対を含む3bp~8bpの標的2本鎖DNAであり、例えば下記式(18)：

【化20】



10

(配列番号8及び18)

で表される7bpの標的2本鎖DNA、又は下記式(19)：

【化21】



(配列番号9及び19)

で表される8bpの標的2本鎖DNAを挙げることができる。

【0025】

別の一方の末端のT/A対又はA/T対としては、前記式(1)で表される2本鎖DNAにおける、センス鎖DNAの15番目のT及びそれと対のAからなるT/A対を挙げることができる。このT/A対を含む標的2本鎖DNAは、前記T/A対を含む3bp~12bpの標的2本鎖DNAであり、例えば下記式(20)：

【化22】



30

(配列番号10及び20)

で表される9bpの標的2本鎖DNAを挙げることができる。

【0026】

別の一方の末端のT/A対又はA/T対としては、前記式(1)で表される2本鎖DNAにおける、センス鎖DNAの16番目のA及びそれと対のTからなるA/T対を挙げることができる。このA/T対を含む標的2本鎖DNAは、前記A/T対を含む3bp~110bpの標的2本鎖DNAであり、例えば下記式(21)：

【化23】



40

(配列番号11及び21)

で表される8bpの標的2本鎖DNAを挙げることができる。

【0027】

別の一方の末端のT/A対又はA/T対としては、前記式(1)で表される2本鎖DNAにおける、センス鎖DNAの17番目のA及びそれと対のTからなるA/T対を挙げることができる。このA/T対を含む標的2本鎖DNAは、前記A/T対を含む3bp~10bpの標的2本鎖DNAである。

【0028】

別の一方の末端のT/A対又はA/T対としては、前記式(1)で表される2本鎖DN

50

Aにおける、センス鎖DNAの18番目のT及びそれと対のAからなるT/A対を挙げることができる。このT/A対を含む標的2本鎖DNAは、前記T/A対を含む3bp~8bpの標的2本鎖DNAであり、例えば下記式(22)：

【化24】



(配列番号12及び22)

で表される8bpの標的2本鎖DNAを挙げることができる。

【0029】

別の一方の末端のT/A対又はA/T対としては、前記式(1)で表される2本鎖DNAにおける、アンチセンス鎖DNAの1番目のT及びそれと対のAからなるT/A対、2番目のT及びそれと対のAからなるT/A対、3番目のA及びそれと対のTからなるA/T対、4番目のT及びそれと対のAからなるT/A対、8番目のA及びそれと対のTからなるA/T対、9番目のT及びそれと対のAからなるT/A対を挙げることができる。これらのT/A対、又はA/T対を含む標的2本鎖DNAは、T/A対又はA/T対を含む3bp~16bpの標的2本鎖DNAである。

【0030】

標的2本鎖DNAの長さは特に限定されるものではないが、下限は3bp以上が好ましく、5bp以上がより好ましく、7bp以上が最も好ましい。3bp未満の場合、本発明のポリアミド化合物の結合が弱く、ミトコンドリアDNAの複製を改善することができないことがある。また、上限は16bp以下が好ましく、14bp以下がより好ましく、12bp以下が最も好ましい。16bpを超えると、ポリアミドの柔軟性が失われB型DNAのマイナーグループ(副溝)への結合が悪くなることがある。

【0031】

(ポリアミド化合物の標的2本鎖DNAとの結合領域)

ポリアミド化合物の標的2本鎖DNAとの結合領域は、前記標的2本鎖DNAに対応するポリアミド化合物の芳香族アミノ酸残基からなる領域である。

ポリアミド化合物に用いるN-メチルピロール残基(以下、Py残基と称することができる)はT、A、C塩基と選択的に結合することができる。また、N-メチルイミダゾール残基(以下、Im残基と称することができる)は、G塩基に選択的に結合することができる。3-ヒドロキシル-N-メチルピロール残基(以下、Hp残基と称することができる)はチミン塩基に選択的に結合することができる。更に、-アラニン残基(以下、残基と称することができる)は、T、A、C塩基を認識することができる。残基は、柔軟性があり、ポリアミドの配向構造をB-DNAの曲率に合わせるすることができる。

ポリアミドは、残基数が5つ以下であれば、B型DNAヘリックスのピッチとほぼ合致し、B型DNAのマイナーグループ(副溝)と結合することができる。しかしながら、ポリアミドが5つより大きくなると結合が困難となることがある。このような場合、ポリアミドの中に柔軟性がある残基を挿入することにより、ポリアミドの配向構造をB型DNAの曲率に合わせるすることができる。

【0032】

従って、前記標的2本鎖DNAのG/C対には、Im残基/Py残基、又はIm残基/残基が対応する。また、C/G対には、Py残基/Im残基、又は残基/Im残基が対応する。但し、G/CがIm残基/残基に、及びC/Gが残基/Im残基に対応できる場合は、GC/GC対に対応するIm残基・残基/Im残基・残基の場合、又はCG/CG対に対応する残基・Im残基/残基・Im残基の場合である。すなわち、G塩基及びC塩基が連続する場合において、クロスの位置にある2つのC塩基に対応する芳香族アミノ酸残基を一緒に残基にすることにより、ポリアミドの柔軟性を確保することができる。従って、GC/GC対又はCG/CG対の1つのC塩基に対応する芳香族アミノ酸残基のみを残基にし、もう1つのC塩基に対応する芳香族アミノ酸残基をPy残

10

20

30

40

50

基にすること、又はGG/CC対又はCC/GG対の1つ又は2つのC塩基に対応する芳香族アミノ酸残基を 残基にすることは、好ましくない。

【0033】

前記標的2本鎖DNAのA/T対には、Py残基/Py残基、Py残基/Hp残基、Py残基/ 残基、 残基/Py残基、 残基/ 残基が対応する。また、標的2本鎖DNAの末端のA/T対には、 -アミノ酪酸残基、(R)2,4ジアミノ酪酸残基、又は5-アミノ吉草酸残基を対応させることができる。但し、 -アミノ酪酸残基、(R)2,4ジアミノ酪酸残基、又は5-アミノ吉草酸残基を用いた場合、標的2本鎖DNAのもう一方の末端が、A/T対、又はT/A対であっても -アミノ酪酸残基、(R)2,4ジアミノ酪酸残基、又は5-アミノ吉草酸残基を対応させることはできない。

10

【0034】

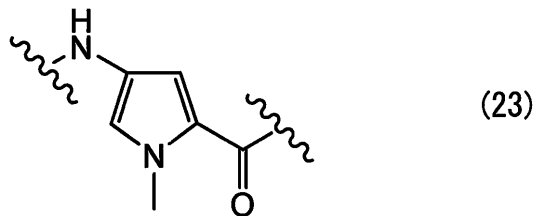
前記標的2本鎖DNAのT/A対には、Py残基/Py残基、Hp残基/Py残基、Py残基/ 残基、 残基/Py残基、 残基/ 残基が対応する。また、標的2本鎖DNAの末端のT/A対には、 -アミノ酪酸残基、(R)2,4ジアミノ酪酸残基、又は5-アミノ吉草酸残基を対応させることができる。但し、 -アミノ酪酸残基、(R)2,4ジアミノ酪酸残基、又は5-アミノ吉草酸残基を用いた場合、標的2本鎖DNAのもう一方の末端が、A/T対又はT/A対であっても -アミノ酪酸残基、(R)2,4ジアミノ酪酸残基、又は5-アミノ吉草酸残基を対応させることはできない。

【0035】

本明細書において、N-メチルピロール残基(Py残基)とは、式(23)：

20

【化25】

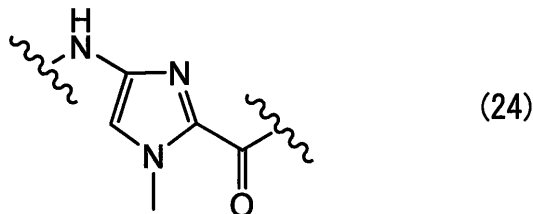


で表される残基を意味する。

本明細書において、N-メチルイミダゾール残基(Im残基)とは、式(24)：

【化26】

30

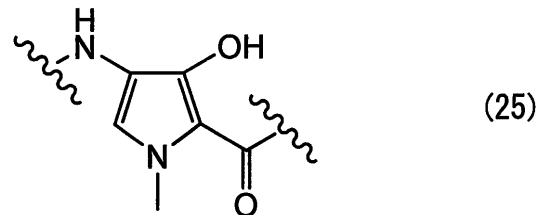


で表される残基を意味する。

本明細書において、3-ヒドロキシル-N-メチルピロール残基(Hp残基)とは、式(25)：

【化27】

40

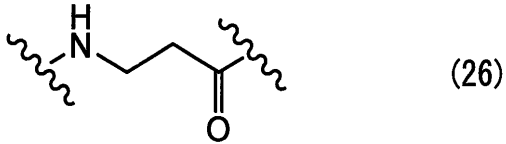


で表される残基を意味する。

本明細書において、 -アラニン残基( 残基)とは、式(26)：



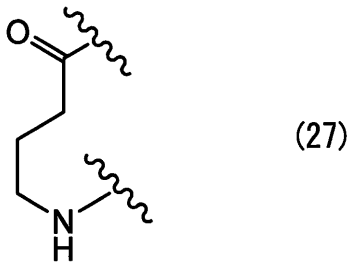
【化 2 8】



で表される残基を意味する。

本明細書において、 $\alpha$ -アミノ酪酸残基とは、式(27)：

【化 2 9】

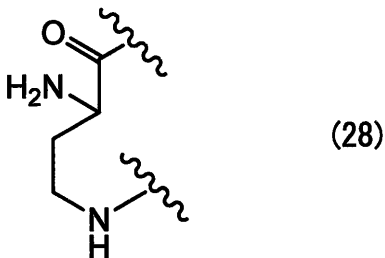


10

で表される残基を意味する。

本明細書において、(R)2,4ジアミノ酪酸残基とは、式(28)：

【化 3 0】

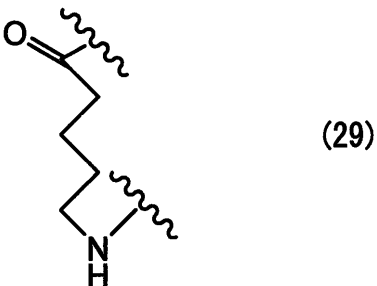


20

で表される残基を意味する。

本明細書において、5-アミノ吉草酸残基とは、式(29)：

【化 3 1】



30

で表される残基を意味する。

【0036】

本発明のポリアミド化合物において、Im残基、Py残基、Hp残基、 $\alpha$ 残基の水素原子は、炭素数1~4のアルキル基、アミノ基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基に置換することができるが、好ましくは水素原子である。また、 $\alpha$ -アミノ酪酸残基、(R)2,4ジアミノ酪酸残基、又は5-アミノ吉草酸残基の水素原子は、炭素数1~4のアルキル基、アミノ基、ヒドロキシル基、カルボキシル基、又は-NH<sub>3</sub>に置換することができるが、好ましくは水素原子又は-NH<sub>3</sub>である。

【0037】

(ターン構造)

前記のように、標的2本鎖DNAの一方の端はA/T対又はT/A対であり、それらの

50

塩基対に対応するポリアミド化合物の残基は、 $\alpha$ -アミノ酪酸残基、(R)2,4ジアミノ酪酸残基、及び5-アミノ吉草酸残基からなる群から選択される残基であり、ポリアミド化合物のターン構造を形成する。すなわち、本発明のポリアミド化合物は、 $\alpha$ -アミノ酪酸残基、(R)2,4ジアミノ酪酸残基、又は5-アミノ吉草酸残基により折りたたまれ、ポリアミド全体としてU字型の構造をとる。このU字型の構造により、ポリアミド化合物のそれぞれの残基とDNA塩基とが対応するように結合することができる。

【0038】

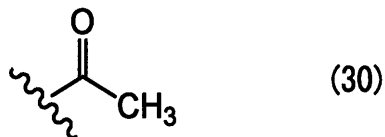
(ポリアミド化合物の末端構造)

一方、標的2本鎖DNAの他方の端の塩基対は、前記のように、特に限定されるものではなく、T/A対、A/T対、G/C対、又はC/G対のいずれでもよい。従って、ポリアミド化合物の末端構造は、それらの塩基対に対応する残基、すなわち、Im残基、Py残基、Hp残基、又は残基のアミノ基、又はカルボキシル基でもよく、更に、標的2本鎖DNAと、ポリアミドとの結合を阻害しない限り、他の残基を有していてもよい。

10

具体的には、標的2本鎖DNAの他方の端の5'端に対応するポリアミド化合物の末端は、特に限定されるものではないが、Im、Py、Hp、若しくは $\alpha$ -アラニンのアミノ基、炭素数1~4のアルキル基、ヒドロキシル基、アミノ基、カルボキシル基、又は炭素数1~4のアシル基であり、好ましくは、炭素数1~4のアシル基であり、より好ましくは、下記式(30)：

【化32】

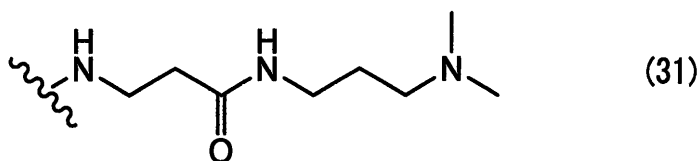


20

で表されるアセチル基である。

また、標的2本鎖DNAの他方の端の3'端に対応するポリアミド化合物の末端は、Im、Py、Hp、若しくは $\alpha$ -アラニンのカルボキシル基、N,Nジメチルアミノプロピル残基、又は $\alpha$ -アラニン・N,Nジメチルアミノプロピル残基であり、好ましくは下記式(31)：

【化33】



30

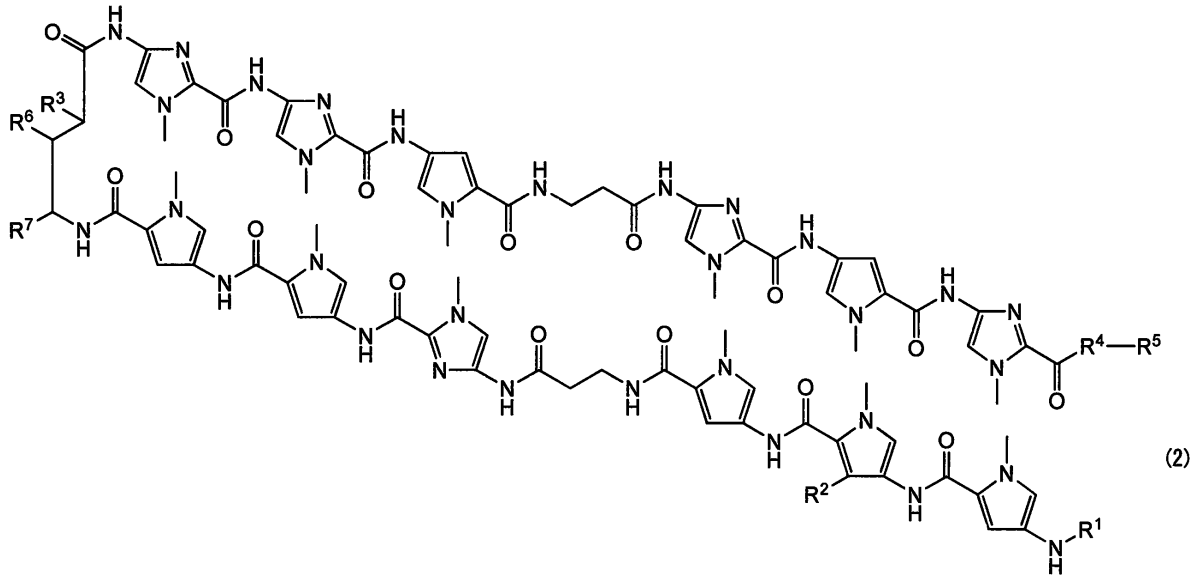
で表される $\alpha$ -アラニン・N,Nジメチルアミノプロピル残基である。ミトコンドリア膜は、負の電位(-150~-180mV)を有しているため、正に荷電しているN,Nジメチルアミノプロピル残基を有することにより、ポリアミド化合物がミトコンドリアマトリックスに積極的に取り込まれるからである。また、 $\alpha$ -アラニン残基を有することにより、N,Nジメチルアミノプロピル残基と、ポリアミド化合物の標的2本鎖DNAの結合領域との自由度が確保され、ポリアミド化合物の標的2本鎖DNAとの結合に有利である。

40

【0039】

前記式(13)で表される標的2本鎖DNAをターゲットとするポリアミド化合物の1つの態様として、式(2)：

## 【化 3 4】



[ 式中、 $R^1$  は水素原子、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、ヒドロキシル基、アミノ基、カルボキシル基、又は炭素数 1 ~ 4 のアシル基であり、 $R^2$  はそれぞれ独立して水素原子又はヒドロキシル基であり、 $R^3$ 、 $R^6$ 、及び  $R^7$  はそれぞれ独立して、水素原子、アミノ基、又は  $-NH_3$  であり、 $R^4$  は存在しないか、又は  $-$ アラニン残基であり、 $R^5$  はヒドロキシル基又は N, Nジメチルアミノプロピル残基であり、そして Im 残基、Py 残基、Hp 残基、残基、 $-$ アミノ酪酸残基、又は (R) 2, 4ジアミノ酪酸残基の水素原子は、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、アミノ基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基に置換されてもよい]

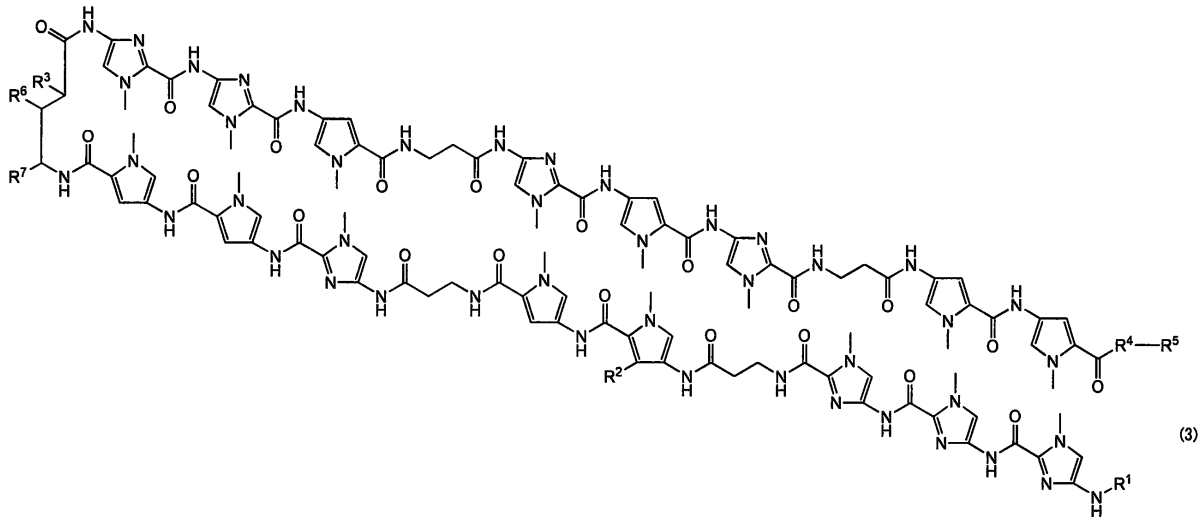
で表されるポリアミド化合物 (以下、態様 A 1 と称することがある) を挙げることができる。態様 A 1 の更に好ましい態様として、図 2 の (a 1) に示した Ac - Py - Py - Py - Im - Py - Py - Im - Im - Py - Im - Py - Im - Dp (式中、 $-$  は  $-$ アミノ酪酸残基を意味し、Dp は N, Nジメチルアミノプロピル残基を意味し、便宜的に「残基」を省略している; 以下、「態様 a 1」と称することがある) を挙げることができる。

更に、態様 A 1 のうち、 $R^2$  がヒドロキシル基であるポリアミドを、特に態様 A 1 - A 3 2 4 3 T と称し、好ましい態様として、Ac - Py - Hp - Py - Im - Py - Py - Im - Im - Py - Im - Py - Im - Dp (式中、 $-$  は  $-$ アミノ酪酸残基を意味し、Dp は N, Nジメチルアミノプロピル残基を意味し、便宜的に「残基」を省略している; 以下、「態様 a 1 - A 3 2 4 3 T」と称することがある) を挙げることができる。

## 【0040】

前記式 (14) で表される標的 2 本鎖 DNA をターゲットとするポリアミド化合物の 1 つの態様として、式 (3) :

## 【化 3 5】



10

(3)

[ 式中、 $R^1$  は水素原子、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、ヒドロキシル基、アミノ基、カルボキシル基、又は炭素数 1 ~ 4 のアシル基であり、 $R^2$  はそれぞれ独立して水素原子又はヒドロキシル基であり、 $R^3$ 、 $R^6$ 、及び  $R^7$  はそれぞれ独立して、水素原子、アミノ基、又は  $-NH_3$  であり、 $R^4$  は存在しないか、又は  $-$ アラニン残基であり、 $R^5$  はヒドロキシル基又は  $N,N$ ジメチルアミノプロピル残基であり、そして  $Im$  残基、 $Py$  残基、 $Hp$  残基、残基、 $-$ アミノ酪酸残基、又は  $(R)^2, 4$ ジアミノ酪酸残基の水素原子は、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、アミノ基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基に置換されてもよい]

20

で表されるポリアミド化合物（以下、態様 A 2 と称することがある）を挙げることができる。態様 A 2 の更に好ましい態様として、図 2 の (a 2) に示した  $Ac - Im - Im - Im - Py - Py - Im - Py - Py - Im - Im - Py - Im - Py - Im - Py - Py - Dp$ （式中  $-$  は  $-$ アミノ酪酸残基を意味し、 $Dp$  は  $N,N$ ジメチルアミノプロピル残基を意味し、便宜的に「残基」を省略している；以下、「態様 a 2」と称することがある）を挙げることができる。

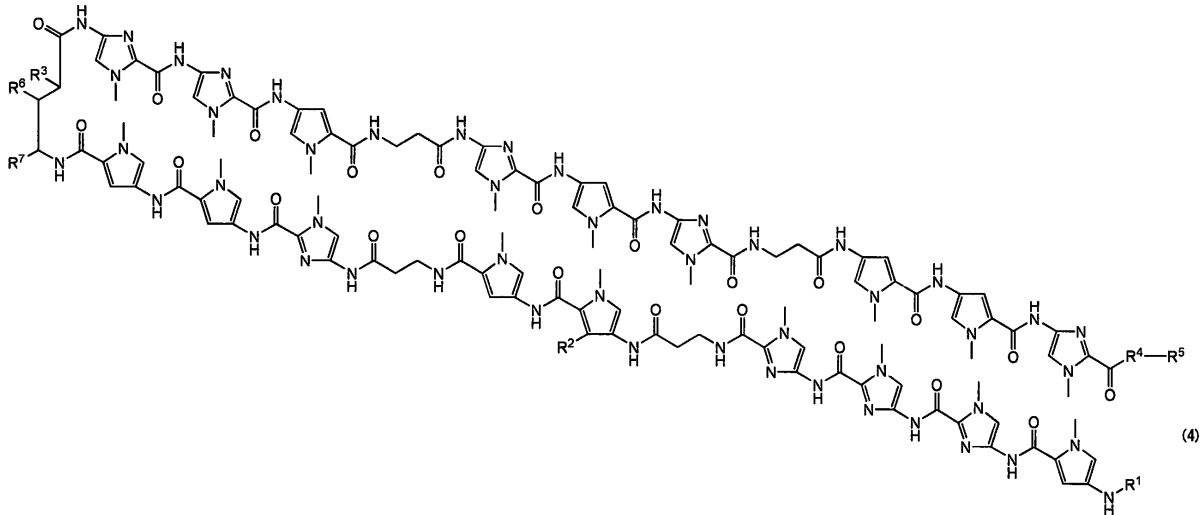
更に、態様 A 2 のうち、 $R^2$  がヒドロキシル基であるポリアミドを、特に態様 A 2 - A 3 2 4 3 T と称し、好ましい態様として、 $Ac - Im - Im - Im - Hp - Py - Im - Py - Py - Im - Im - Py - Im - Py - Im - Py - Py - Dp$ （式中  $-$  は  $-$ アミノ酪酸残基を意味し、 $Dp$  は  $N,N$ ジメチルアミノプロピル残基を意味し、便宜的に「残基」を省略している；以下、「態様 a 2 - A 3 2 4 3 T」と称することがある）を挙げることができる。

30

## 【0041】

前記式 (15) で表される標的 2 本鎖 DNA をターゲットとするポリアミド化合物の 1 つの態様として、式 (4) :

## 【化 3 6】



10

[ 式中、 $R^1$  は水素原子、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、ヒドロキシル基、アミノ基、カルボキシル基、又は炭素数 1 ~ 4 のアシル基であり、 $R^2$  はそれぞれ独立して水素原子又はヒドロキシル基であり、 $R^3$ 、 $R^6$ 、及び  $R^7$  はそれぞれ独立して、水素原子、アミノ基、又は  $-NH_3$  であり、 $R^4$  は存在しないか、又は  $-$ アラニン残基であり、 $R^5$  はヒドロキシル基又は N, Nジメチルアミノプロピル残基であり、そして Im 残基、Py 残基、Hp 残基、残基、 $-$ アミノ酪酸残基、又は (R) 2, 4ジアミノ酪酸残基の水素原子は、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、アミノ基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基に置換されてもよい]

20

で表されるポリアミド化合物(以下、態様 A 3 と称することがある)を挙げることができる。態様 A 3 の更に好ましい態様としては、図 2 の (a 3) に示した Ac - Py - Im - Im - Py - Py - Im - Py - Py - Im - Im - Py - Im - Py - Im - Py - Py - Im - Dp (式中  $-$  は  $-$ アミノ酪酸残基を意味し、Dp は N, Nジメチルアミノプロピル残基を意味し、便宜的に「残基」を省略している; 以下、態様「a 3」と称することがある)を挙げることができる。

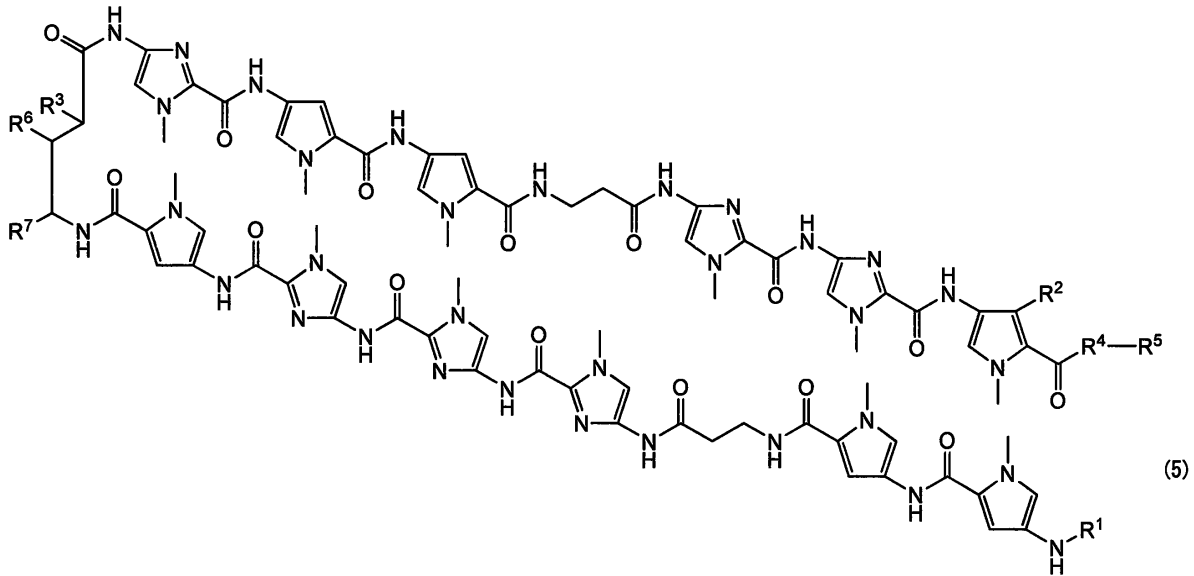
更に、態様 A 3 のうち、 $R^2$  がヒドロキシル基であるポリアミドを、特に態様 A 3 - A 3 2 4 3 T と称し、好ましい態様として、Ac - Py - Im - Im - Im - Hp - Py - Im - Py - Py - Im - Im - Py - Im - Py - Im - Py - Py - Im - Dp (式中  $-$  は  $-$ アミノ酪酸残基を意味し、Dp は N, Nジメチルアミノプロピル残基を意味し、便宜的に「残基」を省略している; 以下、態様「a 3 - A 3 2 4 3 T」と称することがある)を挙げることができる。

30

## 【0 0 4 2】

前記式(16)で表される標的 2 本鎖 DNA をターゲットとするポリアミド化合物の 1 つの態様として、式(5) :

## 【化37】



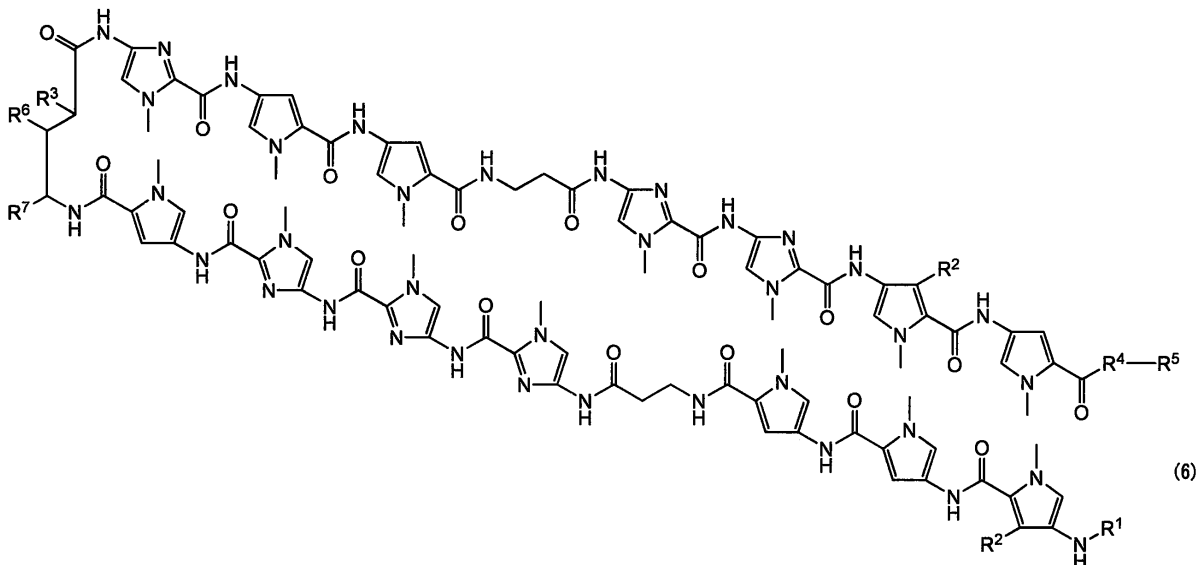
[式中、 $R^1$ は水素原子、炭素数1～4のアルキル基、ヒドロキシル基、アミノ基、カルボキシル基、又は炭素数1～4のアシル基であり、 $R^2$ はそれぞれ独立して水素原子又はヒドロキシル基であり、 $R^3$ 、 $R^6$ 、及び $R^7$ はそれぞれ独立して、水素原子、アミノ基、又は $-NH_3$ であり、 $R^4$ は存在しないか、又は $-$ アラニン残基であり、 $R^5$ はヒドロキシル基又はN,Nジメチルアミノプロピル残基であり、そしてIm残基、Py残基、Hp残基、残基、 $-$ アミノ酪酸残基、又は(R)2,4ジアミノ酪酸残基の水素原子は、炭素数1～4のアルキル基、アミノ基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基に置換されてもよい]

で表されるポリアミド(以下、「態様B1」と称することがある)を挙げることができ、より好ましくは、Ac-Py-Py-Im-Im-Im-Py-Im-Py-Py-Im-Im-Py-Dp(式中は $-$ アミノ酪酸残基を意味し、DpはN,Nジメチルアミノプロピル残基を意味し、便宜的に「残基」を省略している;以下、「態様b1」と称することがある)を挙げることができる(図2(b1))。

## 【0043】

前記式(17)で表される標的2本鎖DNAをターゲットとするポリアミド化合物の1つの態様として、式(6)：

## 【化38】



[式中、 $R^1$ は水素原子、炭素数1～4のアルキル基、ヒドロキシル基、アミノ基、カルボキシル基、又は炭素数1～4のアシル基であり、 $R^2$ はそれぞれ独立して水素原子又は

ヒドロキシル基であり、 $R^3$ 、 $R^6$ 、及び $R^7$ はそれぞれ独立して、水素原子、アミノ基、又は $-NH_3$ であり、 $R^4$ は存在しないか、又は $-$ アラニン残基であり、 $R^5$ はヒドロキシル基又は $N$ 、 $N$ ジメチルアミノプロピル残基であり、そして $Im$ 残基、 $Py$ 残基、 $Hp$ 残基、残基、 $-$ アミノ酪酸残基、又は $(R)^2$ 、 $4$ ジアミノ酪酸残基の水素原子は、炭素数 $1 \sim 4$ のアルキル基、アミノ基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基に置換されてもよい]

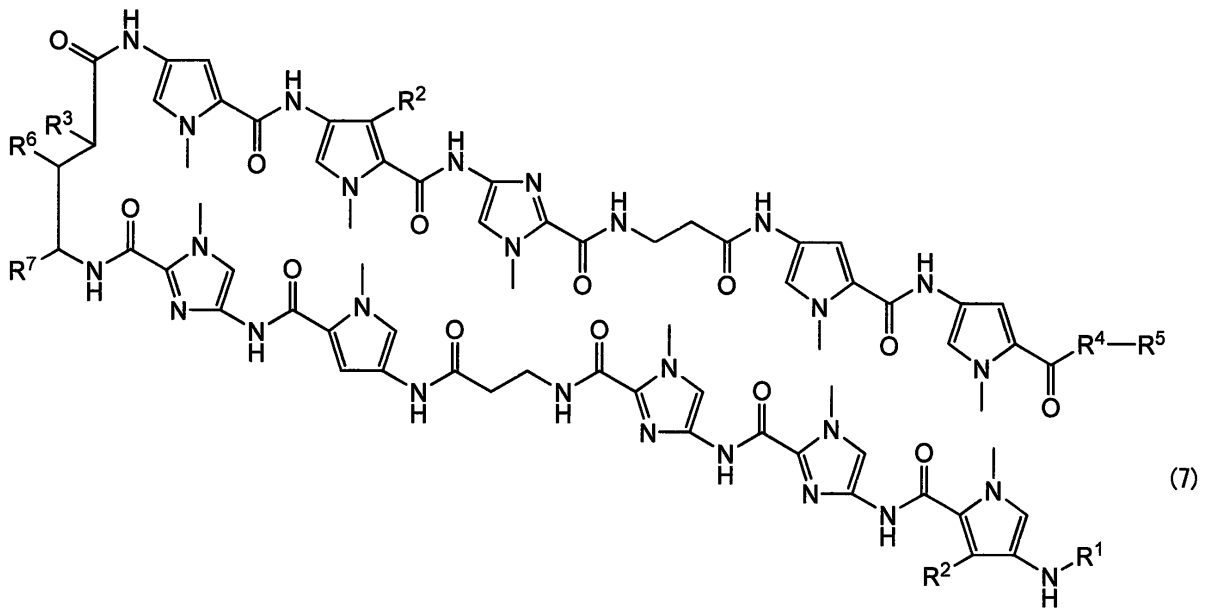
で表されるポリアミド(以下、「態様B2」と称することがある)を挙げることができ、より好ましくは、 $Ac - Py - Py - Py - - Im - Im - Im - Py - - Im - Py - Py - - Im - Im - Py - Py - - Dp$ (式中は $-$ アミノ酪酸残基を意味し、 $Dp$ は $N$ 、 $N$ ジメチルアミノプロピル残基を意味し、便宜的に「残基」を省略している；以下、「態様b2」と称することがある)を挙げることができる(図2(b2))。

10

## 【0044】

前記式(18)で表される標的2本鎖DNAをターゲットとするポリアミド化合物の1つの態様として、式(7)：

## 【化39】



20

(7)

30

[式中、 $R^1$ は水素原子、炭素数 $1 \sim 4$ のアルキル基、ヒドロキシル基、アミノ基、カルボキシル基、又は炭素数 $1 \sim 4$ のアシル基であり、 $R^2$ はそれぞれ独立して水素原子又はヒドロキシル基であり、 $R^3$ 、 $R^6$ 、及び $R^7$ はそれぞれ独立して、水素原子、アミノ基、又は $-NH_3$ であり、 $R^4$ は存在しないか、又は $-$ アラニン残基であり、 $R^5$ はヒドロキシル基又は $N$ 、 $N$ ジメチルアミノプロピル残基であり、そして $Im$ 残基、 $Py$ 残基、 $Hp$ 残基、残基、 $-$ アミノ酪酸残基、又は $(R)^2$ 、 $4$ ジアミノ酪酸残基の水素原子は、炭素数 $1 \sim 4$ のアルキル基、アミノ基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基に置換されてもよい]

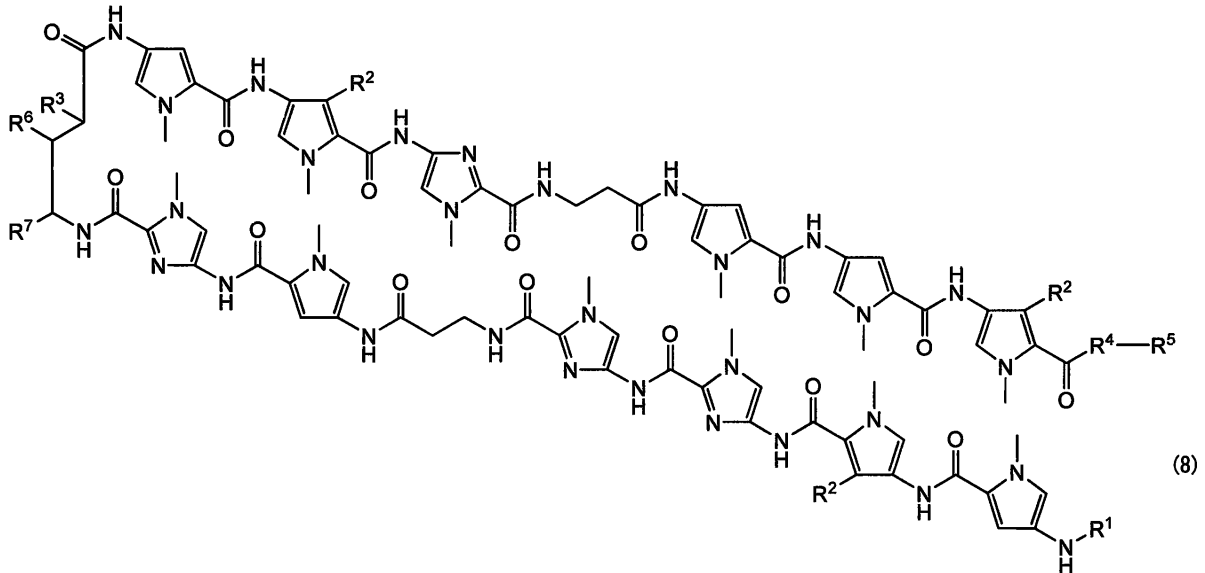
で表されるポリアミド(以下、「態様C1」と称することがある)を挙げることができ、より好ましくは、 $Ac - Py - Im - Im - - Py - Im - - Py - Py - Im - - Py - Py - - Dp$ (式中は $-$ アミノ酪酸残基を意味し、 $Dp$ は $N$ 、 $N$ ジメチルアミノプロピル残基を意味し、便宜的に「残基」を省略している；以下、「態様c1」と称することがある)を挙げることができる(図2(c1))。

40

## 【0045】

前記式(19)で表される標的2本鎖DNAをターゲットとするポリアミド化合物の1つの態様として、式(8)：

## 【化40】



10

(8)

[式中、 $R^1$ は水素原子、炭素数1～4のアルキル基、ヒドロキシル基、アミノ基、カルボキシル基、又は炭素数1～4のアシル基であり、 $R^2$ はそれぞれ独立して水素原子又はヒドロキシル基であり、 $R^3$ 、 $R^6$ 、及び $R^7$ はそれぞれ独立して、水素原子、アミノ基、又は $-NH_3$ であり、 $R^4$ は存在しないか、又は $-$ アラニン残基であり、 $R^5$ はヒドロキシル基又はN,Nジメチルアミノプロピル残基であり、そしてIm残基、Py残基、Hp残基、残基、 $-$ アミノ酪酸残基、又は(R)2,4ジアミノ酪酸残基の水素原子は、炭素数1～4のアルキル基、アミノ基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基に置換されてもよい]で表されるポリアミド(以下、「態様C2」と称することがある)を挙げることができ、より好ましくは、Ac-Py-Py-Im-Im- $-$ Py-Im- $-$ Py-Py-Im- $-$ Py-Py-Py- $-$ Dp(式中 $-$ は $-$ アミノ酪酸残基を意味し、DpはN,Nジメチルアミノプロピル残基を意味し、便宜的に「残基」を省略している;以下、「態様c2」と称することがある)を挙げることができる(図2(c2))

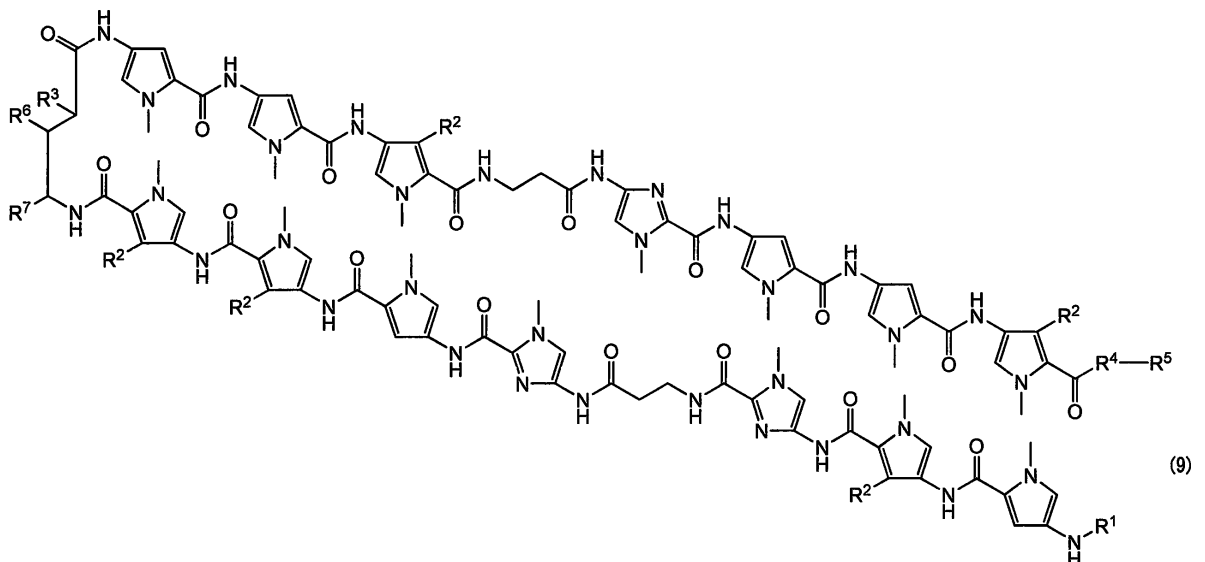
20

。

## 【0046】

前記式(20)で表される標的2本鎖DNAをターゲットとするポリアミド化合物の1つの態様として、式(9):

## 【化41】



40

(9)

[式中、 $R^1$ は水素原子、炭素数1～4のアルキル基、ヒドロキシル基、アミノ基、カルボキシル基、又は炭素数1～4のアシル基であり、 $R^2$ はそれぞれ独立して水素原子又は

50



ヒドロキシル基であり、 $R^3$ 、 $R^6$ 、及び $R^7$ はそれぞれ独立して、水素原子、アミノ基、又は $-NH_3$ であり、 $R^4$ は存在しないか、又は $-$ アラニン残基であり、 $R^5$ はヒドロキシル基又は $N$ 、 $N$ ジメチルアミノプロピル残基であり、そして $Im$ 残基、 $Py$ 残基、 $Hp$ 残基、残基、 $-$ アミノ酪酸残基、又は $(R)^2$ 、 $4$ ジアミノ酪酸残基の水素原子は、炭素数 $1 \sim 4$ のアルキル基、アミノ基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基に置換されてもよい]で表されるポリアミド(以下、「態様 $D1$ 」と称することがある)を挙げることができるが、式(20)で表される標的2本鎖DNAはATリッチであり、Tに対応する残基は $Hp$ 残基が好ましく、従って $R^2$ はヒドロキシル基が好ましい。具体的なポリアミド化合物としては、例えば $Ac - Py - Py - Im - - Im - Py - Py - Py - - Py - Py - Py - - Im - Py - Py - Py - - Dp$ (式中は $-$ アミノ酪酸残基を意味し、 $Dp$ は $N$ 、 $N$ ジメチルアミノプロピル残基を意味し、便宜的に「残基」を省略している;以下、「態様 $d1$ 」と称することがある:図2( $d1$ ))、及び $Ac - Py - Hp - Im - - Im - Py - Hp - Hp - - Py - Py - Hp - - Im - Py - Py - Hp - - Dp$ (式中は $-$ アミノ酪酸残基を意味し、 $Dp$ は $N$ 、 $N$ ジメチルアミノプロピル残基を意味し、便宜的に「残基」を省略している;以下、「態様 $d1 - Hp$ 」と称することがある)を挙げることができるが、態様 $d1 - Hp$ が好ましい。

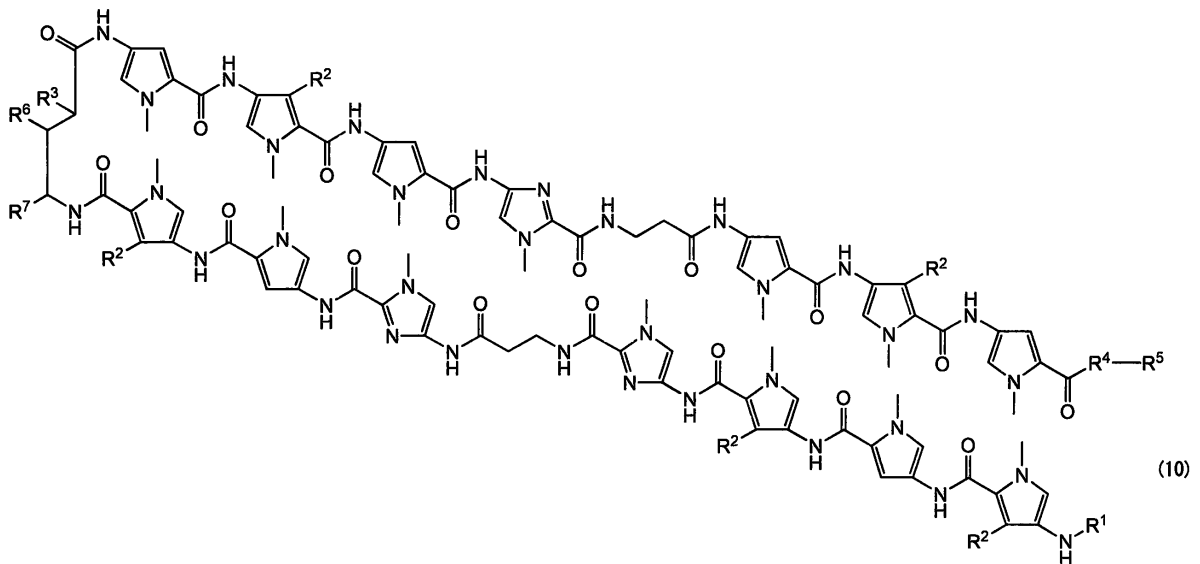
10

【0047】

前記式(21)で表される標的2本鎖DNAをターゲットとするポリアミド化合物の1つの態様として、式(10):

20

【化42】



30

(10)

[式中、 $R^1$ は水素原子、炭素数 $1 \sim 4$ のアルキル基、ヒドロキシル基、アミノ基、カルボキシル基、又は炭素数 $1 \sim 4$ のアシル基であり、 $R^2$ はそれぞれ独立して水素原子又はヒドロキシル基であり、 $R^3$ 、 $R^6$ 、及び $R^7$ はそれぞれ独立して、水素原子、アミノ基、又は $-NH_3$ であり、 $R^4$ は存在しないか、又は $-$ アラニン残基であり、 $R^5$ はヒドロキシル基又は $N$ 、 $N$ ジメチルアミノプロピル残基であり、そして $Im$ 残基、 $Py$ 残基、 $Hp$ 残基、残基、 $-$ アミノ酪酸残基、又は $(R)^2$ 、 $4$ ジアミノ酪酸残基の水素原子は、炭素数 $1 \sim 4$ のアルキル基、アミノ基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基に置換されてもよい]で表されるポリアミド(以下、「態様 $E1$ 」と称することがある)を挙げることができるが、式(21)で表される標的2本鎖DNAはATリッチであり、Tに対応する残基は $Hp$ 残基が好ましく、従って $R^2$ はヒドロキシル基が好ましい。具体的なポリアミド化合物としては、例えば、 $Ac - Py - Py - Py - Im - - Im - Py - Py - Py - Py - Im - - Py - Py - Py - - Dp$ (式中は $-$ アミノ酪酸残基を意味し、 $Dp$ は $N$ 、 $N$ ジメチルアミノプロピル残基を意味し、便宜的に「残基」を省略している;以下、「態様 $e1$ 」と称することがある:図2( $e1$ ))、及び $Ac - Hp - Py - Hp - Im - - Im - Py - Hp - - Py - Hp - Py - Im -$

40

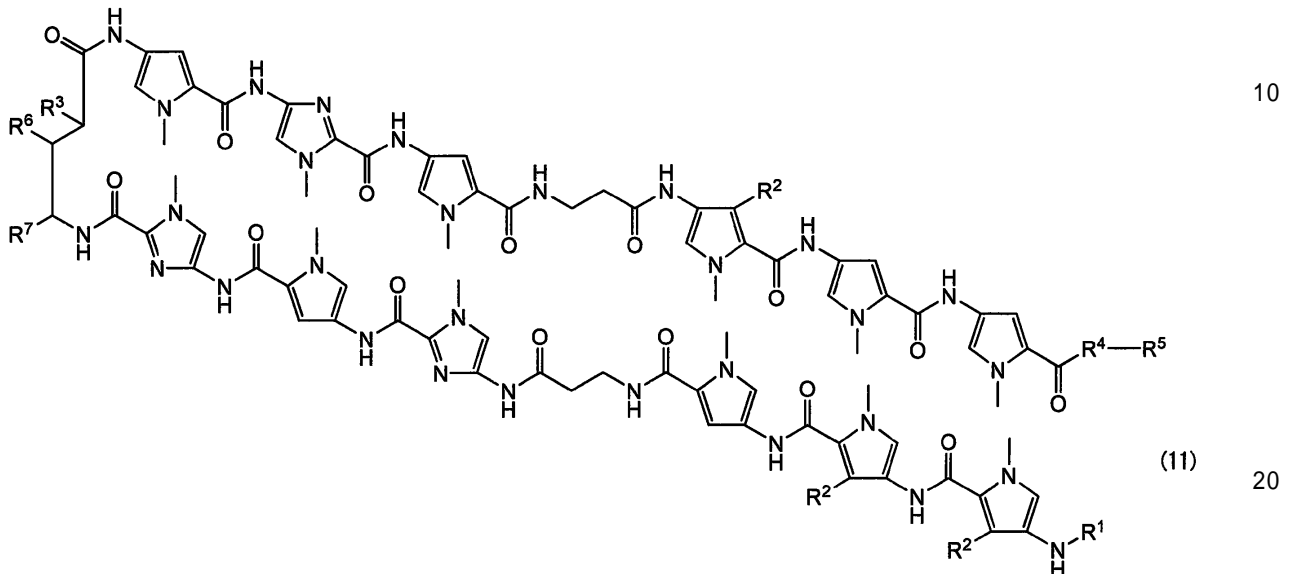
50

- P y - H p - P y - - D p (式中 は - アミノ酪酸残基を意味し、D p は N , Nジメチルアミノプロピル残基を意味し、便宜的に「残基」を省略している；以下、「態様 e 1 - H p」と称することがある)を挙げることができるが、態様 e 1 - H p が好ましい。

【 0 0 4 8 】

前記式 ( 2 2 ) で表される標的 2 本鎖 DNA をターゲットとするポリアミド化合物の 1 つの態様として、式 ( 1 1 ) :

【 化 4 3 】

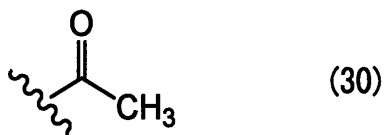


[ 式中、R<sup>1</sup> は水素原子、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、ヒドロキシル基、アミノ基、カルボキシル基、又は炭素数 1 ~ 4 のアシル基であり、R<sup>2</sup> はそれぞれ独立して水素原子又はヒドロキシル基であり、R<sup>3</sup>、R<sup>6</sup>、及び R<sup>7</sup> はそれぞれ独立して、水素原子、アミノ基、又は - NH<sub>3</sub> であり、R<sup>4</sup> は存在しないか、又は - アラニン残基であり、R<sup>5</sup> はヒドロキシル基又は N , Nジメチルアミノプロピル残基であり、そして Im 残基、P y 残基、H p 残基、残基、- アミノ酪酸残基、又は ( R )<sub>2</sub> , 4ジアミノ酪酸残基の水素原子は、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、アミノ基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基に置換されてもよい] で表されるポリアミド ( 以下、「態様 F 1」と称することがある) を挙げることができるが、式 ( 2 1 ) で表される標的 2 本鎖 DNA は A T リッチであり、T に対応する残基は H p 残基が好ましく、従って R<sup>2</sup> はヒドロキシル基が好ましい。具体的なポリアミド化合物としては、例えば、Ac - P y - P y - P y - - Im - P y - Im - P y - Im - P y - - P y - P y - P y - - D p ( 式中 は - アミノ酪酸残基を意味し、D p は N , Nジメチルアミノプロピル残基を意味し、便宜的に「残基」を省略している；以下、「態様 f 1」と称することがある：図 2 ( f 1 ) )、及び Ac - H p - H p - P y - - Im - P y - Im - - P y - Im - P y - - H p - P y - P y - - D p ( 式中 は - アミノ酪酸残基を意味し、D p は N , Nジメチルアミノプロピル残基を意味し、便宜的に「残基」を省略している；以下、「態様 f 1 - H p」と称することがある) を挙げることができるが、態様 f 1 - H p が好ましい。

【 0 0 4 9 】

R<sup>1</sup> は水素原子、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、ヒドロキシル基、アミノ基、カルボキシル基、又は炭素数 1 ~ 4 のアシル基であるが、好ましくは下記式 ( 3 0 ) :

【 化 4 4 】



で表されるアセチル基である。

【 0 0 5 0 】

10

20

30

40

50

$R^2$  はそれぞれ独立して水素原子又はヒドロキシル基であるが、 $R^2$  が水素原子の場合、 $R^2$  が結合している残基は P y 残基であり、 $R^2$  がヒドロキシル基の場合、 $R^2$  が結合している残基は H p 残基である。

【 0 0 5 1 】

$R^3$ 、 $R^6$ 、及び  $R^7$  はそれぞれ独立して、水素原子、アミノ基、又は  $-NH_3$  であり、 $R^3$ 、 $R^6$ 、及び  $R^7$  が水素原子の場合、 $R^3$ 、 $R^6$ 、及び  $R^7$  が結合している残基は - アミノ酪酸残基であり、 $R^3$  がアミノ基であり、 $R^6$ 、及び  $R^7$  が水素原子の場合、 $R^3$ 、 $R^6$ 、及び  $R^7$  が結合している残基は ( R ) 2 , 4 ジアミノ酪酸残基である。 $R^3$ 、 $R^6$ 、及び  $R^7$  は、それぞれ独立して、式 ( 3 2 ) :

【化 4 5】

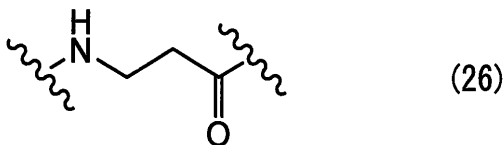


で表される  $-NH_3$  であることができ、ポリアミドが正に荷電するために DNA と結合しやすくなり好ましい。

【 0 0 5 2 】

$R^4$  は存在しないか、又は式 ( 2 6 ) :

【化 4 6】

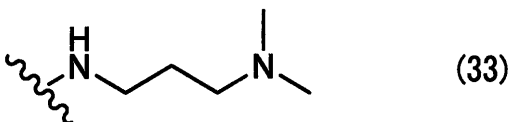


で表される - アラニン残基である。

【 0 0 5 3 】

$R^5$  はヒドロキシル基又は式 ( 3 3 ) :

【化 4 7】



で表される N , N ジメチルアミノプロピル残基である。

【 0 0 5 4 】

前記 Im 残基、P y 残基、H p 残基、残基の水素原子は、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、アミノ基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基に置換することができるが、好ましくは水素原子である。また、- アミノ酪酸残基、( R ) 2 , 4 ジアミノ酪酸残基、又は 5 - アミノ吉草酸残基の水素原子は、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、アミノ基、ヒドロキシル基、カルボキシル基、又は  $-NH_3$  に置換することができるが、好ましくは水素原子又は  $-NH_3$  である。

【 0 0 5 5 】

( M L 1 ポリアミド )

前記態様 A 1 の好ましい態様である「態様 a 1」は、下記式 ( 1 2 ) :

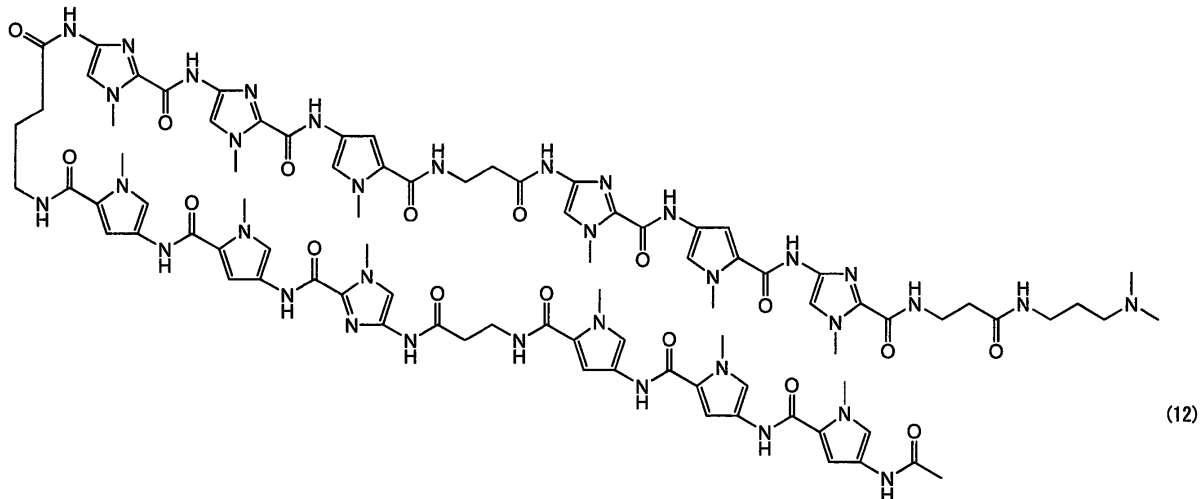
10

20

30

40

## 【化 48】



10

(12)

で表されるML1ポリアミドである。

## 【0056】

(ポリアミドの合成方法)

本発明のポリアミド化合物は、Fmoc法により合成することが可能である。Fmoc法は、Fmoc(9-フルオレニルメトキシカルボニル)を用いた固相法であり、市販のペプチド合成機を用いて合成することができる。

20

例えば、NovaPEG Wang Resinを固相として用い、脱水縮合(アミド結合)によってPy、Im、又は-Lアラニン等を付加し、順次伸長させていく。目的とするポリアミドの合成が終わったら、N,N-ジメチル-1,3-プロパンジアミンを加え、60前後の条件下で固相表面から切り出してポリアミドを回収する。

## 【0057】

[2]正常型ミトコンドリアDNAの複製促進剤

本発明の正常型ミトコンドリアDNAの複製促進剤は、本発明のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有するものである。

本発明の正常型ミトコンドリアDNAの複製促進剤に含まれるポリアミド化合物は、前項の「[1]ポリアミド化合物」に記載のポリアミドであれば、特に限定されるものではなく、すべてのポリアミド化合物を用いることができる。

30

## 【0058】

本発明の正常型ミトコンドリアDNAの複製促進剤は、ミトコンドリア遺伝子疾患患者、又は正常の個体(動物、特にヒト)に投与することによってミトコンドリアDNAの複製を促進することができる。特に、ミトコンドリア遺伝子疾患患者においては、正常型ミトコンドリアDNAの複製を選択的に促進することによって、ミトコンドリア遺伝子疾患の予防、又は治療を行うことができる。

## 【0059】

本発明の正常型ミトコンドリアDNAの複製促進剤の投与剤型としては、特に限定がなく、例えば、散剤、細粒剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、懸濁液、エマルジョン剤、シロップ剤、エキス剤、若しくは丸剤等の経口剤、又は注射剤、外用液剤、軟膏剤、坐剤、局所投与のクリーム、若しくは点眼薬などの非経口剤を挙げることができる。

40

これらの経口剤は、例えば、ゼラチン、アルギン酸ナトリウム、澱粉、コーンスターチ、白糖、乳糖、ぶどう糖、マンニト、カルボキシメチルセルロース、デキストリン、ポリビニルピロリドン、結晶セルロース、大豆レシチン、ショ糖、脂肪酸エステル、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ポリエチレングリコール、ケイ酸マグネシウム、無水ケイ酸、又は合成ケイ酸アルミニウムなどの賦形剤、結合剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤、流動性促進剤、希釈剤、保存剤、着色剤、香料、矯味剤、安定化剤、保湿剤、防腐剤、又は酸化防止剤等を用いて、常法に従って製造することができる。

50

## 【 0 0 6 0 】

非経口投与方法としては、注射（皮下、静脈内等）、又は直腸投与等が例示される。これらのなかで、注射剤が最も好適に用いられる。

例えば、注射剤の調製においては、有効成分の他に、例えば、生理食塩水若しくはリンゲル液等の水溶性溶剤、植物油若しくは脂肪酸エステル等の非水溶性溶剤、ブドウ糖若しくは塩化ナトリウム等の等張化剤、溶解補助剤、安定化剤、防腐剤、懸濁化剤、又は乳化剤などを任意に用いることができる。

また、本発明の医薬は、徐放性ポリマーなどを用いた徐放性製剤の手法を用いて投与してもよい。例えば、本発明の医薬をエチレンビニル酢酸ポリマーのペレットに取り込ませて、このペレットを治療又は予防すべき組織中に外科的に移植することができる。

10

## 【 0 0 6 1 】

本発明の正常型ミトコンドリアDNAの複製促進剤は、これに限定されるものではないが、0.01～99重量%、好ましくは0.1～80重量%の量で、有効成分を含有することができる。

本発明の正常型ミトコンドリアDNAの複製促進剤を用いる場合の投与量は、例えば、使用する有効成分の種類、病気の種類、患者の年齢、性別、体重、症状の程度、又は投与方法などに応じて適宜決定することができ、経口的に又は非経口的に投与することが可能である。

また、投与形態も医薬品に限定されるものではなく、種々の形態、例えば、機能性食品や健康食品（飲料を含む）、又は飼料として飲食物の形で与えることも可能である。

20

## 【 0 0 6 2 】

## [ 3 ] 医薬組成物

本発明の医薬組成物は、本発明のポリアミド化合物又はその薬学的に許容される塩を、有効成分として含有するものである。本発明の医薬組成物に含まれるポリアミド化合物は、前記「[ 1 ] ポリアミド化合物」に記載のポリアミドであれば、特に限定されるものではなく、すべてのポリアミド化合物を用いることができる。

本発明の医薬組成物は、前記ポリアミド化合物を1種又は2種以上含むことができる。また、本発明の医薬組成物は、1剤形でも2剤形以上でもよい。例えば、ポリアミド化合物を2種以上含む場合、2種以上のポリアミドを1剤形で提供してもよく、2剤形以上で提供することもできる。

30

## 【 0 0 6 3 】

（ミトコンドリア遺伝子疾患治療又は予防用医薬組成物）

本発明の医薬組成物は、ミトコンドリア遺伝子疾患治療又は予防用の医薬組成物として用いることができる。MELASなどのミトコンドリア遺伝子疾患においては、同一の細胞に変異型mtDNAと、正常型（野生型）mtDNAとが共存しており、この状態をヘテロプラスミー（heteroplasmy）という。そして、細胞内において変異型mtDNAが一定の割合（60 - 95%）を超えた時に、MELAS等のミトコンドリア遺伝子疾患が発症する。本発明の医薬組成物は、正常型（野生型）mtDNAの複製を促進することによって、ヘテロプラスミーを正常型mtDNAに傾けることができる。そしてヘテロプラスミーが正常型mtDNAに傾くことによって、ミトコンドリア遺伝子疾患の発症を治療することができる。また、変異型mtDNAの割合が閾値を超えず、ミトコンドリア遺伝子疾患が発症していない段階において、本発明の医薬組成物を投与することによって、ヘテロプラスミーが変異型mtDNAに傾くことを抑制することができる。従って、本発明の医薬組成物は、ミトコンドリア遺伝子疾患の発症の予防に有効である。

40

## 【 0 0 6 4 】

（A3236G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患）

A3236G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患は、孤発性両側性視神経症（Sporadic bilateral optic neuropathy）の症状を呈する。

A3236G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患に対しては、前記センス鎖DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の1番目のA及びそれ

50

と対のTからなるA/T対に対応する残基を含むポリアミド組成物を含む医薬組成物を用いることによって、治療又は予防を行うことができる。例えば、前記態様C2のポリアミド化合物を含む医薬組成物によって、A3236G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患を治療又は予防することができる。

【0065】

(A3243G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患)

A3243G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患は、ミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群(MELAS)、糖尿病+難聴、ミトコンドリア筋症、リー症候群、感音性難聴、慢性進行性外眼筋麻痺、母系遺伝する難聴を伴う糖尿病、又は巣状分節性糸球体硬化症の症状を呈する。

A3243G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患に対しては、前記センス鎖DNA 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3'の8番目のA及びそれと対のTからなるA/T対に対応する残基を含むポリアミド組成物を含む医薬組成物を用いることによって、治療又は予防を行うことができる。例えば、前記態様A1、態様A2、態様A3、態様B1、態様B2、態様C1、又は態様C2のポリアミド化合物を含む医薬組成物によって、A3243G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患を治療又は予防することができる。

【0066】

(A3243T変異によるミトコンドリア遺伝子疾患)

A3243T変異によるミトコンドリア遺伝子疾患は、ミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群(MELAS)、ミトコンドリア筋症、感音性難聴、又は慢性進行性外眼筋麻痺の症状を呈する。

A3243T変異によるミトコンドリア遺伝子疾患に対しては、前記センス鎖DNA 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3'の8番目のA及びそれと対のTからなるA/T対に対応する残基を含み、前記前記A/T対のTに対応する残基がHp残基であるポリアミド組成物を含む医薬組成物を用いることによって、治療又は予防を行うことができる。例えば、前記態様A1-A3243T、態様A2-A3243T、又は態様A3-A3243Tのポリアミド化合物を含む医薬組成物によって、A3243T変異によるミトコンドリア遺伝子疾患を治療又は予防することができる。

【0067】

(G3244A変異によるミトコンドリア遺伝子疾患)

G3244A変異によるミトコンドリア遺伝子疾患は、ミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群(MELAS)の症状を呈する。

G3244A変異によるミトコンドリア遺伝子疾患に対しては、前記センス鎖DNA 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3'の9番目のG及びそれと対のCからなるG/C対に対応する残基を含むポリアミド組成物を含む医薬組成物を用いることによって、治療又は予防を行うことができる。例えば、前記態様A1、態様A2、態様A3、態様B1、又は態様B2のポリアミド化合物を含む医薬組成物によって、G3244A変異によるミトコンドリア遺伝子疾患を治療又は予防することができる。

【0068】

(G3249A変異によるミトコンドリア遺伝子疾患)

G3249A変異によるミトコンドリア遺伝子疾患は、カーンズ・セイヤー症候群の症状を呈する。

G3249A変異によるミトコンドリア遺伝子疾患に対しては、前記センス鎖DNA 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3'の14番目のG及びそれと対のCからなるG/C対に対応する残基を含むポリアミド組成物を含む医薬組成物を用いることによって、治療又は予防を行うことができる。例えば、前記態様B1、又は態様B2のポリアミド化合物を含む医薬組成物によって、G3249A変異によるミトコンドリア遺伝子疾患を治療又は予防することができる。

【0069】

10

20

30

40

50

( T 3 2 5 0 C 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患 )

T 3 2 5 0 C 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患は、ミトコンドリア筋症又は慢性進行性外眼筋麻痺の症状を呈する。

T 3 2 5 0 C 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患に対しては、前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 15 番目の T 及びそれと対の A からなる T / A 対に対応する残基を含むポリアミド組成物を含む医薬組成物を用いることによって、治療又は予防を行うことができる。例えば、前記態様 B 1、態様 B 2、又は態様 D 1 のポリアミド化合物を含む医薬組成物によって、T 3 2 5 0 C 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患を治療又は予防することができる。

【 0 0 7 0 】

10

( A 3 2 5 1 G 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患 )

A 3 2 5 1 G 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患は、ミトコンドリア筋症の症状を呈する。

A 3 2 5 1 G 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患に対しては、前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 16 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対に対応する残基を含むポリアミド組成物を含む医薬組成物を用いることによって、治療又は予防を行うことができる。例えば、前記態様 B 2、態様 D 1、又は態様 E 1 のポリアミド化合物を含む医薬組成物によって、A 3 2 5 1 G 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患を治療又は予防することができる。

【 0 0 7 1 】

20

( A 3 2 5 2 G 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患 )

A 3 2 5 2 G 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患は、ミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群 ( M E L A S ) の症状を呈する。

A 3 2 5 2 G 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患に対しては、前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 17 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対に対応する残基を含むポリアミド組成物を含む医薬組成物を用いることによって、治療又は予防を行うことができる。例えば、前記態様 D 1、又は態様 E 1 のポリアミド化合物を含む医薬組成物によって、A 3 2 5 2 G 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患を治療又は予防することができる。

【 0 0 7 2 】

30

( C 3 2 5 4 A 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患 )

C 3 2 5 4 A 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患は、妊娠糖尿病 ( GDM Gestational Diabetes ) の症状を呈する。

C 3 2 5 4 A 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患に対しては、前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 19 番目の C 及びそれと対の G からなる C / G 対に対応する残基を含むポリアミド組成物を含む医薬組成物を用いることによって、治療又は予防を行うことができる。例えば、前記態様 D 1、態様 E 1、又は態様 F 1 のポリアミド化合物を含む医薬組成物によって、C 3 2 5 4 A 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患を治療又は予防することができる。

【 0 0 7 3 】

40

( C 3 2 5 4 G 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患 )

C 3 2 5 4 G 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患は、ミトコンドリア筋症の症状を呈する。

C 3 2 5 4 G 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患に対しては、前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 19 番目の C 及びそれと対の G からなる C / G 対に対応する残基を含むポリアミド組成物を含む医薬組成物を用いることによって、治療又は予防を行うことができる。例えば、前記態様 D 1、態様 E 1、又は態様 F 1 のポリアミド化合物を含む医薬組成物によって、C 3 2 5 4 G 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患を治療又は予防することができる。

【 0 0 7 4 】

50

( G 3 2 5 5 A 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患 )

G 3 2 5 5 A 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患は、M E R R F / K S S オーバーラップ症候群の症状を呈する。

G 3 2 5 5 A 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患に対しては、前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 20 番目の G 及びそれと対の C からなる G / C 対に対応する残基を含むポリアミド組成物を含む医薬組成物を用いることによって、治療又は予防を行うことができる。例えば、前記態様 D 1、態様 E 1、又は態様 F 1 のポリアミド化合物を含む医薬組成物によって、G 3 2 5 5 A 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患を治療又は予防することができる。

【 0 0 7 5 】

10

( C 3 2 5 6 T 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患 )

C 3 2 5 6 T 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患は、脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群 / 赤色ぼろ線維・ミオクロオヌステんかん症候群の症状を呈する。

C 3 2 5 6 T 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患に対しては、前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 21 番目の C 及びそれと対の G からなる C / G 対に対応する残基を含むポリアミド組成物を含む医薬組成物を用いることによって、治療又は予防を行うことができる。例えば、前記態様 D 1、態様 E 1、又は態様 F 1 のポリアミド化合物を含む医薬組成物によって、C 3 2 5 6 T 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患を治療又は予防することができる。

【 0 0 7 6 】

20

( T 3 2 5 8 C 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患 )

T 3 2 5 8 C 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患は、ミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群 / ミオパチーの症状を呈する。

T 3 2 5 8 C 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患に対しては、前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 23 番目の T 及びそれと対の A からなる T / A 対に対応する残基を含むポリアミド組成物を含む医薬組成物を用いることによって、治療又は予防を行うことができる。例えば、前記態様 D 1、態様 E 1、又は態様 F 1 のポリアミド化合物を含む医薬組成物によって、T 3 2 5 8 C 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患を治療又は予防することができる。

【 0 0 7 7 】

30

( A 3 2 6 0 G 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患 )

A 3 2 6 0 G 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患は、成人母系遺伝性ミオパチー及び心筋症 (Adult MMC Maternal Myopathy and Cardiomyopathy) の症状を呈する。

T 3 2 5 8 C 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患に対しては、前記センス鎖 DNA 5' - A T G G C A G A G C C C G G T A A T C G C A T A A - 3' の 25 番目の A 及びそれと対の T からなる A / T 対に対応する残基を含むポリアミド組成物を含む医薬組成物を用いることによって、治療又は予防を行うことができる。例えば、前記態様 F 1 のポリアミド化合物を含む医薬組成物によって、A 3 2 6 0 G 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患を治療又は予防することができる。

【 0 0 7 8 】

40

本発明の医薬組成物の投与剤型としては、特に限定がなく、例えば、散剤、細粒剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、懸濁液、エマルジョン剤、シロップ剤、エキス剤、若しくは丸剤等の経口剤、又は注射剤、外用液剤、軟膏剤、坐剤、局所投与のクリーム、若しくは点眼薬などの非経口剤を挙げることができる。

これらの経口剤は、例えば、ゼラチン、アルギン酸ナトリウム、澱粉、コーンスターチ、白糖、乳糖、ぶどう糖、マンニット、カルボキシメチルセルロース、デキストリン、ポリビニルピロリドン、結晶セルロース、大豆レシチン、ショ糖、脂肪酸エステル、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ポリエチレングリコール、ケイ酸マグネシウム、無水ケイ酸、又は合成ケイ酸アルミニウムなどの賦形剤、結合剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤、流動性促進剤、希釈剤、保存剤、着色剤、香料、矯味剤、安定化剤、保湿剤、防腐剤、又

50



は酸化防止剤等を用いて、常法に従って製造することができる。

【0079】

非経口投与方法としては、注射（皮下、静脈内等）、又は直腸投与等が例示される。これらのなかで、注射剤が最も好適に用いられる。

例えば、注射剤の調製においては、有効成分の他に、例えば、生理食塩水若しくはリンゲル液等の水溶性溶剤、植物油若しくは脂肪酸エステル等の非水溶性溶剤、ブドウ糖若しくは塩化ナトリウム等の等張化剤、溶解補助剤、安定化剤、防腐剤、懸濁化剤、又は乳化剤などを任意に用いることができる。

また、本発明の医薬は、徐放性ポリマーなどを用いた徐放性製剤の手法を用いて投与してもよい。例えば、本発明の医薬をエチレンビニル酢酸ポリマーのペレットに取り込ませて、このペレットを治療又は予防すべき組織中に外科的に移植することができる。更に、マイクロインジェクション法、エレクトロポレーション法、パーティクルガン法、又はカチオン脂質法を用いて目的の組織、又は細胞内に導入することが可能である。

10

【0080】

本発明の医薬組成物は、これに限定されるものではないが、0.01～99重量%、好ましくは0.1～80重量%の量で、有効成分を含有することができる。

本発明の医薬組成物を用いる場合の投与量は、例えば、使用する有効成分の種類、病気の種類、患者の年齢、性別、体重、症状の程度、又は投与方法などに応じて適宜決定することができる。経口的に又は非経口的に投与することが可能である。

また、投与形態も医薬品に限定されるものではなく、種々の形態、例えば、機能性食品や健康食品（飲料を含む）、又は飼料として飲食物の形で与えることも可能である。

20

【0081】

本発明の医薬の投与剤型としては、特に限定がなく、例えば、散剤、細粒剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、懸濁液、エマルジョン剤、シロップ剤、エキス剤、若しくは丸剤等の経口剤、又は注射剤、外用液剤、軟膏剤、坐剤、局所投与のクリーム、若しくは点眼薬などの非経口剤を挙げることができる。

これらの経口剤は、例えば、ゼラチン、アルギン酸ナトリウム、澱粉、コーンスターチ、白糖、乳糖、ぶどう糖、マンニット、カルボキシメチルセルロース、デキストリン、ポリビニルピロリドン、結晶セルロース、大豆レシチン、ショ糖、脂肪酸エステル、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ポリエチレングリコール、ケイ酸マグネシウム、無水ケイ酸、又は合成ケイ酸アルミニウムなどの賦形剤、結合剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤、流動性促進剤、希釈剤、保存剤、着色剤、香料、矯味剤、安定化剤、保湿剤、防腐剤、又は酸化防止剤等を用いて、常法に従って製造することができる。

30

【0082】

非経口投与方法としては、注射（皮下、静脈内等）、又は直腸投与等が例示される。これらのなかで、注射剤が最も好適に用いられる。

例えば、注射剤の調製においては、有効成分の他に、例えば、生理食塩水若しくはリンゲル液等の水溶性溶剤、植物油若しくは脂肪酸エステル等の非水溶性溶剤、ブドウ糖若しくは塩化ナトリウム等の等張化剤、溶解補助剤、安定化剤、防腐剤、懸濁化剤、又は乳化剤などを任意に用いることができる。

40

また、本発明の医薬は、徐放性ポリマーなどを用いた徐放性製剤の手法を用いて投与してもよい。例えば、本発明の医薬をエチレンビニル酢酸ポリマーのペレットに取り込ませて、このペレットを治療又は予防すべき組織中に外科的に移植することができる。

【0083】

本発明の医薬は、これに限定されるものではないが、0.01～99重量%、好ましくは0.1～80重量%の量で、有効成分を含有することができる。

本発明の医薬を用いる場合の投与量は、例えば、使用する有効成分の種類、病気の種類、患者の年齢、性別、体重、症状の程度、又は投与方法などに応じて適宜決定することができる。経口的に又は非経口的に投与することが可能である。

また、投与形態も医薬品に限定されるものではなく、種々の形態、例えば、機能性食品

50

や健康食品（飲料を含む）、又は飼料として飲食物の形で与えることも可能である。

【0084】

[4] ミトコンドリア遺伝子疾患の治療又は予防方法

本発明のミトコンドリア遺伝子疾患の治療又は予防方法は、前記ポリアミド化合物をミトコンドリア遺伝子疾患の治療が必要な対象に有効量で投与することを含む。投与されるポリアミドは、前記「[1]ポリアミド化合物」に記載のポリアミドであれば、特に限定されるものではなく、すべてのポリアミド化合物を用いることができる。本発明の治療又は予防方法においては、前記ポリアミド化合物を1種又は2種以上投与することができる。

前記ミトコンドリア遺伝子疾患としては、A3236G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、A3243G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、A3243T変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、G3244A変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、G3249A変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、T3250C変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、A3251G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、A3252G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、C3254A変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、C3254G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、G3255A変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、C3256T変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、T3258C変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、又はA3260G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患を挙げることができ、それぞれの変異に応じて、前記「[3]医薬組成物」の欄に記載のポリアミド組成物を選択して用いることができる。

【0085】

[5] ミトコンドリア遺伝子疾患治療又は予防用ポリアミド化合物

本発明のミトコンドリア遺伝子疾患治療又は予防用ポリアミド化合物は、ミトコンドリア遺伝子疾患の治療に用途が限定されたポリアミド化合物である。本発明のミトコンドリア遺伝子疾患治療又は予防用ポリアミドは、前記「[1]ポリアミド化合物」に記載のポリアミドであれば、特に限定されるものではなく、すべてのポリアミド化合物を含む。本発明のミトコンドリア遺伝子疾患治療又は予防用ポリアミド化合物は、ミトコンドリア遺伝子疾患患者に、1種を単独で、又は2種以上混合して投与することができる。

前記ミトコンドリア遺伝子疾患としては、A3236G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、A3243G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、A3243T変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、G3244A変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、G3249A変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、T3250C変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、A3251G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、A3252G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、C3254A変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、C3254G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、G3255A変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、C3256T変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、T3258C変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、又はA3260G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患を挙げることができ、それぞれの変異に応じて、前記「[3]医薬組成物」の欄に記載のポリアミド組成物を選択して用いることができる。

【0086】

[5] ミトコンドリア遺伝子疾患治療又は予防用医薬の製造のためのポリアミド化合物の使用

本発明の使用は、ミトコンドリア遺伝子疾患治療又は予防用医薬の製造のためにポリアミド化合物を使用することである。試用されるポリアミドは、前記「[1]ポリアミド化合物」に記載のポリアミドであれば、特に限定されるものではなく、すべてのポリアミド化合物を使用することができる。本発明のミトコンドリア遺伝子疾患治療又は予防用医薬の製造においては、前記ポリアミド化合物を1種又は2種以上使用することができる。

前記ミトコンドリア遺伝子疾患としては、A3236G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、A3243G変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、A3243T変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、G3244A変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、G324

10

20

30

40

50

9 A 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、T 3 2 5 0 C 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、A 3 2 5 1 G 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、A 3 2 5 2 G 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、C 3 2 5 4 A 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、C 3 2 5 4 G 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、G 3 2 5 5 A 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、C 3 2 5 6 T 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、T 3 2 5 8 C 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患、又は A 3 2 6 0 G 変異によるミトコンドリア遺伝子疾患を挙げることができる。それぞれの変異に応じて、前記「[ 3 ] 医薬組成物」の欄に記載のポリアミド組成物を選択してミトコンドリア遺伝子疾患治療又は予防用医薬の製造に用いることができる。

#### 【 0 0 8 7 】

##### 《正常型 m t D N A の増加の機構》

前記標的 2 本鎖 D N A は、ミトコンドリア D N A の塩基番号 3 2 3 6 ~ 3 2 6 0 に相当する 2 本鎖 D N A であり、ミトコンドリア t R N A <sup>L e u ( U U R )</sup> 遺伝子上に存在している。本発明のポリアミド化合物は、正常型 m t D N A の配列に従ってデザインされている。従って、正常型 m t D N A 及び変異型 m t D N A が共存しているヘテロプラスミー (heteroplasmy) の状態において、正常型 m t D N A に選択的に結合すると考えられる。本発明のポリアミド化合物が、変異型 m t D N A と比較して、正常型 m t D N A に選択的に結合することによって、正常型 m t D N A の複製を促進しているものと考えられる。また、ミトコンドリア D N A の塩基番号 3 2 2 9 ~ 3 2 5 6 には、m T E R F (mitochondrial transcription termination factor) と呼ばれるタンパク質が結合する領域が存在している。本発明のポリアミドが正常型 m t D N A の複製を促進している機構は、限定されるものではないが、このミトコンドリア D N A と m T E R F との結合を阻害していることが考えられる。

従って、本発明のポリアミド化合物の代わりに、ミトコンドリア D N A の塩基番号 3 2 3 6 ~ 3 2 6 0 のヌクレオチドに結合する物質、又はミトコンドリア D N A の塩基番号 3 2 2 9 ~ 3 2 5 6 のヌクレオチドに結合する物質によっても、本発明の効果を得ることができる。ポリアミド化合物以外のヌクレオチド結合物質としては、例えば P N A、又は低分子化合物を挙げることができる。本発明のポリアミド化合物は、変異型 m t D N A に結合せず、正常型 m t D N A に結合する。前記 P N A 又は低分子化合物も変異型 m t D N A に結合せず正常型 m t D N A に結合することによって、本発明のポリアミド化合物と同じ効果を得ることができる。また、ヌクレオチド結合物質の結合する領域としては、塩基番号 3 2 3 0 ~ 3 2 6 0 の任意の 3 ヌクレオチド以上であれば限定されるものではなく、好ましくは 4 ヌクレオチド以上であり、より好ましくは 5 ヌクレオチド以上であり、更に好ましくは 6 ヌクレオチド以上である。

なお、本発明のポリアミド化合物の効果は、ミトコンドリア D N A の塩基番号 3 2 3 6 ~ 3 2 6 0、又は 3 2 2 9 ~ 3 2 5 6 に相当する 2 本鎖 D N A の変異型 m t D N A に対する正常型 m t D N A の複製においてみられる現象であり、他の領域の変異型 m t D N A に対する正常型 m t D N A に結合するポリアミド化合物では見られない現象であり、この塩基番号 3 2 3 6 ~ 3 2 6 0 の領域における正常型 m t D N A に本発明のポリアミド化合物が選択的に結合することにより、変異型 m t D N A と比較して正常型 m t D N A の複製効率を上昇させているものである。

#### 【 0 0 8 8 】

##### (ポリアミド化合物の細胞毒性)

化合物を疾患の治療に用いるためには、その化合物が投与される対象 (ヒト又はヒト以外の動物) に対して副作用を示さないことが重要である。本発明のポリアミド化合物は、後述の実施例 4 に示したように、1 4 3 B 細胞、及び H e L a 細胞に対して、細胞毒性を示さなかった。すなわち、本発明のポリアミド化合物を含む正常型ミトコンドリア D N A の複製促進剤、又は医薬組成物は、ヒトなどに対して副作用を示さないと考えられる。

本発明のポリアミド化合物が結合すると考えられる標的 2 本鎖 D N A の領域は、前記 m T E R F の結合配列 2 8 b p のヌクレオチド配列とオーバーラップしている。m T E R F

10

20

30

40

50

は、16SrRNAとtRNA<sup>Leu</sup>(UUR)との境界付近に存在する28bpの配列と結合し、転写終結に関連していると考えられる。mTERFの主要な機能はミトコンドリアrRNAの効率的な合成だと考えられ、本発明のポリアミド化合物の結合領域と、mTERFの結合領域とがオーバーラップするため、mTERFの機能(ミトコンドリアrRNAの合成)を阻害し細胞に悪影響を与える可能性が考えられた。しかしながら、本発明のポリアミド化合物は、細胞毒性を示さず、正常型ミトコンドリアDNAの複製促進剤、又は医薬組成物としても副作用を示さないと考えられる。

【実施例】

【0089】

以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。

【0090】

《実施例1》

本実施例では、ML1ポリアミドをFmoc法により固相合成した。ML1ポリアミドの配列は、Ac-Py-Py-Py-Im-Py-Py-Im-Im-Py-Im-Py-Im-Dpである。

合成は、NovaPEG Wang Resinを固相として用い、脱水縮合(アミド結合)によってPy(N-メチルピロール)、Im(N-メチルイミダゾール)、(アラニン)、又は(アミノ酪酸)を付加し、順次伸長させた。最後にN,N-ジメチル-1,3-プロパンジアミンを加え、60前後の条件下で固相表面から切り出してPIポリアミドを回収した。得られたML1ポリアミドの分子量は質量分析装置(島津製作所)で確認した。

【0091】

得られたML1ポリアミドは、逆相クロマトグラフィー(Prominence/LC solution、島津製作所)を用い、0.1%酢酸/アセトニトリル勾配により溶出し精製した。溶媒を除去するために、得られたPIポリアミドを、FDU-1200(東京理化器械EYELA)により真空凍結乾燥した。淡黄色または白色の粉末状の固体が得られた。

【0092】

ML1ポリアミドは、ddH<sub>2</sub>Oまたは50%DMSO溶液に溶解し、以降の実施例で使用した。ddH<sub>2</sub>Oまたは50%DMSO水溶液に粉末状のポリアミドを溶解させ、分光光度計(光路長1cm)でML1ポリアミド溶液の最大吸収波長における吸光度を測定した。吸光度よりML1ポリアミドの濃度(M)を求める計算式は以下のとおりである。

<溶媒がddH<sub>2</sub>Oの場合>

$$\text{濃度 (M)} = \text{吸光度} / [8600 \times 12]$$

<溶媒がDMSO、DMFの場合>

$$\text{濃度 (M)} = \text{吸光度} / [9800 \times 12]$$

【0093】

《実施例2》

本実施例では、ML1ポリアミドとターゲット配列とのin vitroでの塩基配列特異的結合を確認した。解析は、EMSA(electrophoretic mobility shift assay)により行った。A3243G変異の存在する3243番を含む21塩基の正常型オリゴDNA及びA3243G変異型オリゴDNAを合成した。5'末にFITCを結合させたセンス鎖DNAとアンチセンスDNAとをサーマルサイクラーにて熱変成させた後、徐冷、アニーリングを行い、以下の配列のdsDNAを作成した。

<正常型(野生型)mtDNA template>

5' - FITC - TGT TAA AGA TGG CAG AGC CCG - 3'

3' - ACA ATTTCT ATCCGTCTC GGGC - 5'

10

20

30

40

50

## (配列番号23及び24)

< A 3 2 4 3 G 変異型 m t D N A t e m p l a t e >  
 5' - F I T C - T G T T A A A G A T G G C A G G G C C C C G - 3'  
 3' - A C A A T T T C T A C C G T C C C G G G C - 5'

## (配列番号25及び26)

下線の配列はML1ポリアミドの認識領域を示している。

dsDNA (50 pmol / 10 µL) に ddH<sub>2</sub>O を 40 µL 加え、1 pmol / µL まで希釈した。この dsDNA の 4 pmol を、10<sup>-4</sup> M の濃度になるように ML1 ポリアミド溶液と混合し、37 °C、1 時間インキュベートした。その後サンプルを loading buffer と混合し、350 V、10 分プレランした 20% 非変性アクリルアミドゲル (0.5 X TBE) にアプライした。400 V で B P B がゲルの下端 3 / 4 に来るまで泳動し、バンドのシフトを LAS-3000 (FujiFilm) で検出した。

10

EMSA に使用した非変性アクリルアミドの組成を以下に示す。

## &lt; EMSA 用ゲルの組成 &gt;

30% アクリルアミド	16.5 mL
10 X TBE	2.5 mL
10% APS	188 µL
グリセロール	878 µL
ddH <sub>2</sub> O	14.0 mL
TEMED	11.3 µL
	25.0 mL

20

図3に示すように、ML1ポリアミド10<sup>-4</sup> M でML1ポリアミドと正常型 dsDNA との結合に伴うバンドの明確なシフトが見られた。この実験結果は、ML1ポリアミドは *in vitro* においてターゲット dsDNA と、速やかに且つ強固結合することを示している。また、このアッセイで、ターゲット配列 dsDNA との結合に伴うバンドのシフトが見られる濃度 (10<sup>-4</sup> M) において、変異型 dsDNA と ML1 ポリアミドとの結合に伴う顕著なバンドのシフトは確認出来なかったことから、ML1ポリアミドは一塩基の差異を認識して、実際に *in vitro* において塩基配列特異的に結合することを示した。

30

## 【0094】

## 《実施例3》

本実施例では、細胞内における ML1 ポリアミドの正常型 mtDNA の複製促進効果を確認した。

培養 MELAS サイブリッド細胞に ML1 ポリアミドを投与し、正常型 mtDNA の積極的な複製が、細胞内で起こるかを確認した。

10 cm ディッシュに 2SD サイブリッド細胞を播き、complete DMEM の培地中に 50% DMSO に溶解させた ML1 ポリアミドを、最終濃度 1 µM、5 µM、又は 10 µM となるように添加した。ML1 ポリアミドを添加した培地の交換は 3 日ごとに行った。コントロールには同じ希釈率の DMSO を培地に加えた。なお DMSO の培地中の濃度は 0.1% 以下 (最大 0.05%) になるように、50% DMSO 溶液に溶解させたポリアミド溶液を ddH<sub>2</sub>O で希釈した。

40

ML1 ポリアミドで処理したサイブリッド細胞から 14 日後にトータル DNA を抽出し、PCR-RFLP を行った後、マイクロチップ泳動装置 (MCE-202 MultiNA; 島津製作所) でバンドの定量を行い、サイブリッド細胞の変異率を解析した。

## 【0095】

その結果、14 日間の ML1 ポリアミド処理したサイブリッド細胞で濃度依存的な野生型 mtDNA の明らかな増加を認めた。すなわち、1 µM 又は 5 µM で、正常型 (野生型

50

) mtDNAの複製の増加に伴う、変異率の低下が観察された(図4)。

【0096】

更に、培地中のML1ポリアミドの濃度を1 $\mu$ M、500nM、又は100nMとし、長期の効果の解析を行った。7日後、15日後、又は35日後に、トータルDNAをサイブリッド細胞から抽出し、PCR-RFLPを行い、2%のアガロースゲル(1X TAE)で泳動し、野生型mtDNAの増加を調べた。

その結果、1 $\mu$ M、500nM、100nMの濃度で処理した全ての細胞で、PCR-RFLP後のagaroseゲル電気泳動で、コントロールに対し、肉眼で確認出来る程の野生型mtDNAの増加が認められた。図5は、15日後の野生型mtDNAの増加を示したものである。

10

更にML1ポリアミド濃度500nMでの2SDサイブリッド細胞の培養を35日間続けたが、継続的な野生型mtDNAの増加を認めた(図6)。

【0097】

《実施例4》

本実施例では、本発明の医薬組成物等の副作用の確認のために、ML1ポリアミドの細胞毒性の有無を検討した。呼吸鎖欠損細胞が生存出来ない、10%FBS添加DMEM培地(ピルビン酸ナトリウム不含、ウリジン不含)に、1 $\mu$ MのML1ポリアミドを添加し、143B細胞又はHeLa細胞を培養した。ミトコンドリア呼吸鎖タンパク質合成は細胞の生命維持に必須な為、僅かな機能不全でも細胞は死に至ることになる。

143B細胞、HeLa細胞をDMEM、complete DMEM(ピルビン酸ナトリウム0.1mg/mL、ウリジン50 $\mu$ g/mL)、complete DMEM with ML1ポリアミド、又はDMEM with ML1ポリアミドで一週間培養し、細胞の生死を観察した。

20

143B細胞では100nM、500nM、1 $\mu$ Mの濃度のML1ポリアミドを添加し、またHeLa細胞では1 $\mu$ Mの濃度のML1ポリアミドを添加した。図7に培養開始30時間後の、1 $\mu$ M処理の143B細胞(図7A)、500nM又は100nM処理の143B細胞(図7B)、及び1 $\mu$ M処理のHeLa細胞(図7C)を示す。ウリジン、ピルビン酸ナトリウムが含まれていないDMEMで培養した143B細胞、及びHeLa細胞は、30時間後、更に一週間の培養後でも、何ら形態学的な影響が無く、細胞毒性は見られなかった。

30

【産業上の利用可能性】

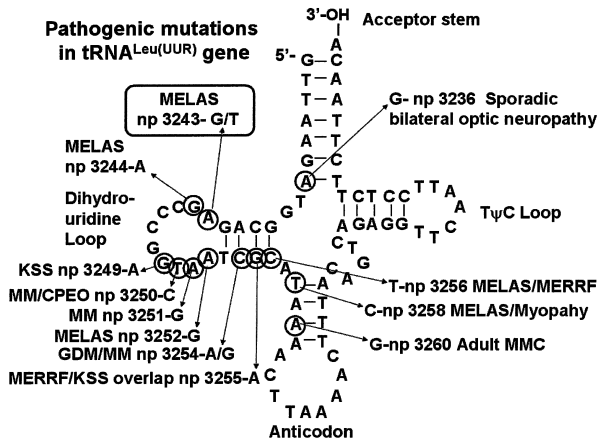
【0098】

本発明のポリアミド化合物は、正常型ミトコンドリアDNAの複製促進剤、又はミトコンドリア遺伝子疾患の治療用医薬組成物の有効成分として用いることができる。また、正常型ミトコンドリアDNAの複製促進剤又はミトコンドリア遺伝子疾患の治療用医薬組成物により、ミトコンドリア遺伝子疾患を治療又は予防することが可能である。特に、本発明の医薬組成物は、A3236G変異、A3243G変異、A3243T変異、G3244A変異、G3249A変異、T3250C変異、A3251G変異、A3252G変異、C3254A変異、C3254G変異、G3255A変異、C3256T変異、T3258C変異、及びA3260G変異からなる群から選択される少なくとも一つの変異を原因とするミトコンドリア遺伝子疾患を治療、又は予防することができる。

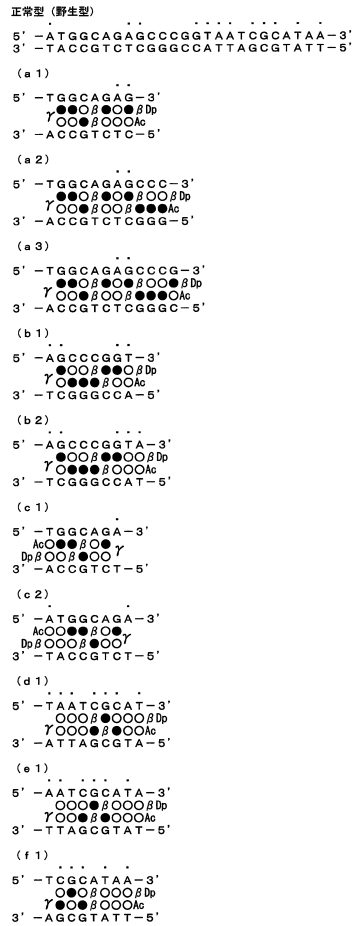
40

以上、本発明を特定の態様に沿って説明したが、当業者に自明の変形や改良は本発明の範囲に含まれる。

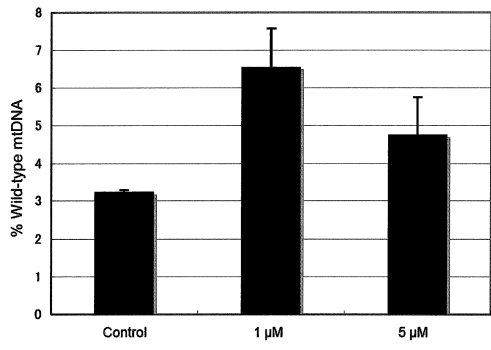
【 図 1 】



【 図 2 】

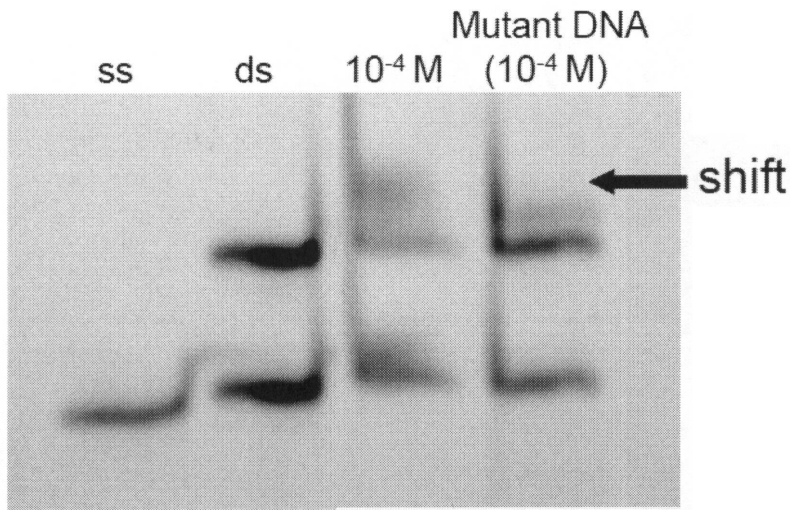


【 図 4 】

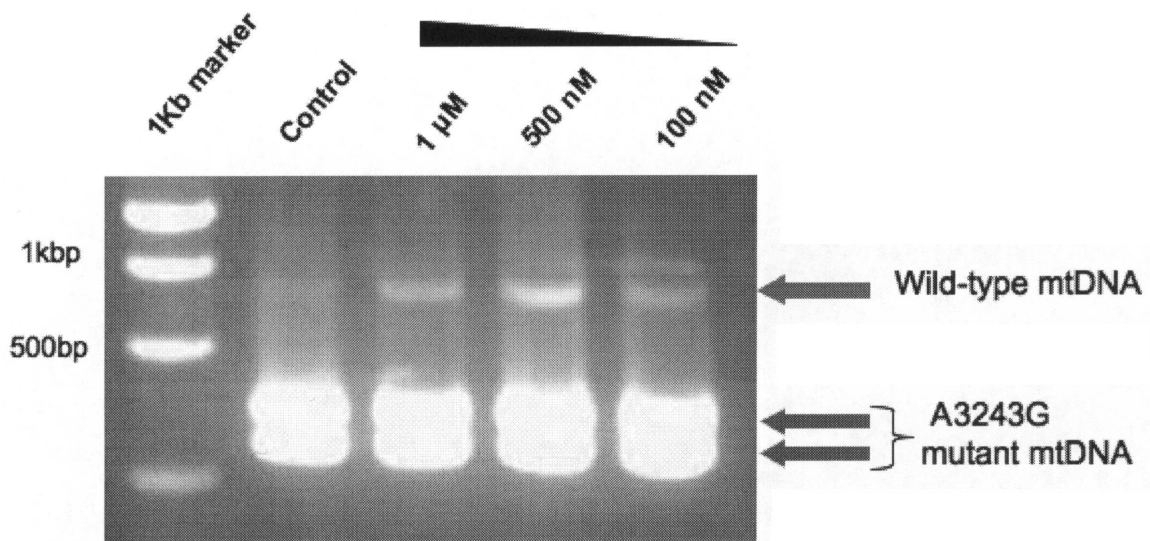


【 3 】

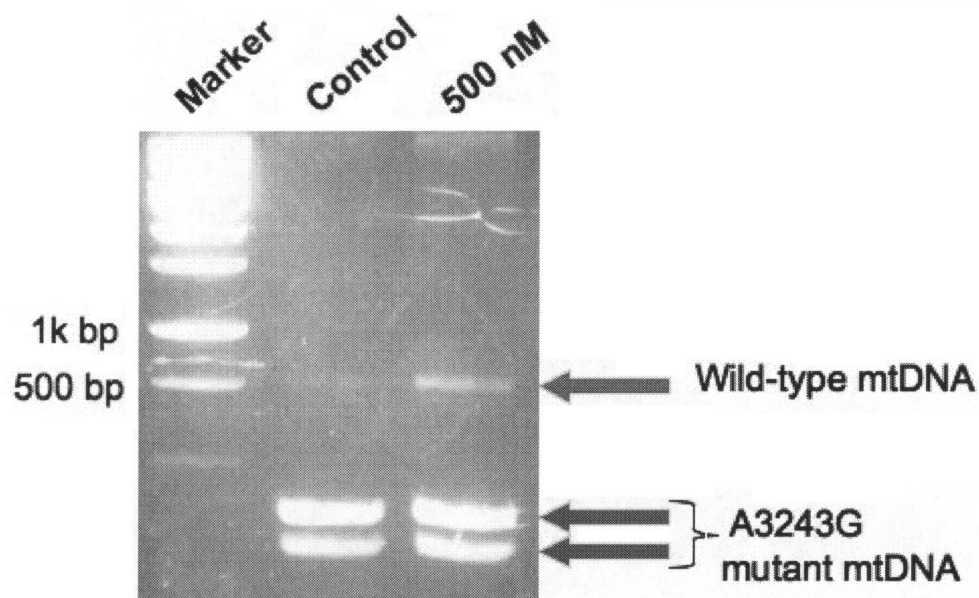
*Polyamide binding to the target DNA sequence*



【 5 】



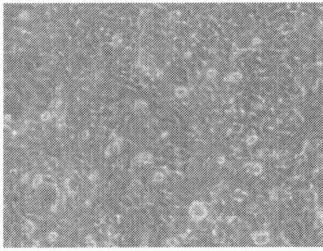
【 6 】



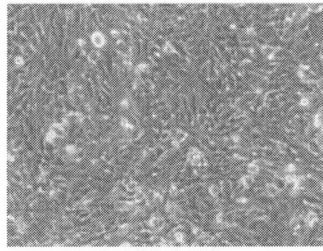


【 図 7 】

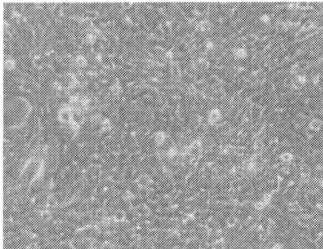
(A)



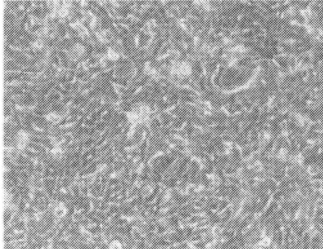
143B Complete DMEM



143B DMEM

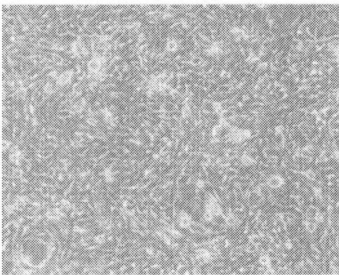


143B Complete DMEM  
with 1 μM ML1

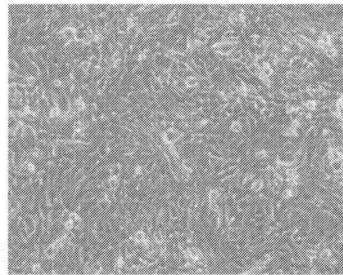


143B DMEM  
with 1 μM ML1

(B)

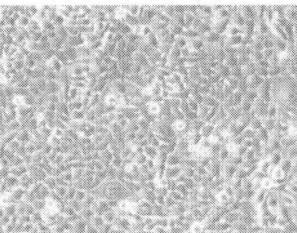


143B DMEM with 500 nM ML1

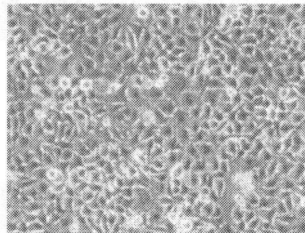


143B DMEM with 100 nM ML1

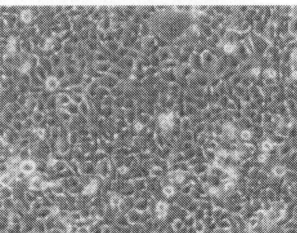
(C)



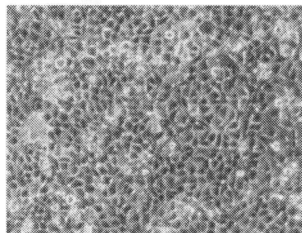
HeLa Complete DMEM



HeLa DMEM



HeLa Complete DMEM with 1 μM ML1



HeLa DMEM with 1 μM ML1

【 配列表 】

[0005865347000001.app](#)

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P	3/12 (2006.01)	A 6 1 P 3/12
A 6 1 P	9/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/10
A 6 1 P	3/10 (2006.01)	A 6 1 P 3/10
A 6 1 P	27/16 (2006.01)	A 6 1 P 27/16
A 6 1 P	21/00 (2006.01)	A 6 1 P 21/00
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00
A 6 1 P	13/12 (2006.01)	A 6 1 P 13/12
A 6 1 P	25/08 (2006.01)	A 6 1 P 25/08

審査官 福澤 洋光

- (56)参考文献 特開2009-120531(JP,A)  
 国際公開第2007/034784(WO,A1)  
 国際公開第2006/018967(WO,A1)  
 Biochemical and Biophysical Research Communications, 1997年, Vol.233, No.3, p.637-639  
 Archives of Neurology, 2001年, Vol.58, p.1113-1118  
 Investigative Ophthalmology and Visual Science, 2008年, Vol.49, No.12, p.5250-5256  
 Annals of Neurology, 1992年, Vol.31, No.6, p.672-675  
 Diabetes Research and Clinical Practice, 2000年, Vol.48, No.1, p.29-35  
 Neuromuscular Disorders, 2003年, Vol.13, No.4, p.334-340  
 Journal of Clinical Investigation, 1994年, Vol.93, No.3, p.1102-1107  
 Human Genetics, 1996年, Vol.97, No.3, p.269-273

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
 C12N 1/00 - 15/90  
 C07K 1/00 - 19/00  
 CA/MEDLINE/BIOSIS/WPIDS(STN)  
 JSTPlus/JMEDPlus(JDreamIII)  
 Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq  
 PubMed