(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2019年12月5日(05.12.2019)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2019/230669 A1

(51) 国際特許分類:
A61K 31/787 (2006.01)　*A61P 37/08* (2006.01)
A61K 45/00 (2006.01)　*A61P 43/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)　*C07D 403/14* (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)

(21) 国際出願番号：　PCT/JP2019/020961

(22) 国際出願日：　2019年5月27日(27.05.2019)

(25) 国際出願の言語：　日本語

(26) 国際公開の言語：　日本語

(30) 優先権データ：
特願 2018-101788　2018年5月28日(28.05.2018)　JP

(71) 出願人: 国立大学法人京都大学 (**KYOTO UNIVERSITY**) [JP/JP]; 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町３６番地１ Kyoto (JP).

(72) 発明者: 杉山　弘 (**SUGIYAMA, Hiroshi**); 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町３６番地１ 国立大学法人京都大学内 Kyoto (JP). 上久保 靖彦 (**KAMIKUBO, Yasuhiko**); 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町３６番地１ 国立大学法人京都大学内 Kyoto (JP).

(74) 代理人: 山尾　憲人, 外 (**YAMAO, Norihito** et al.); 〒5300017 大阪府大阪市北区角田町８番１号梅田阪急ビルオフィスタワー 青山特許事務所 Osaka (JP).

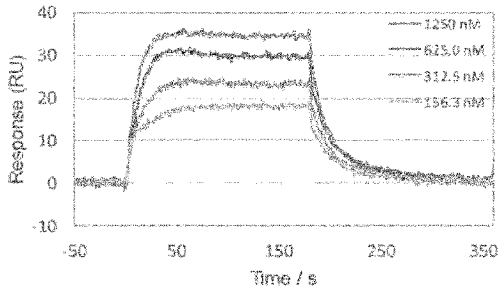
(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

WO 2019/230669 A1

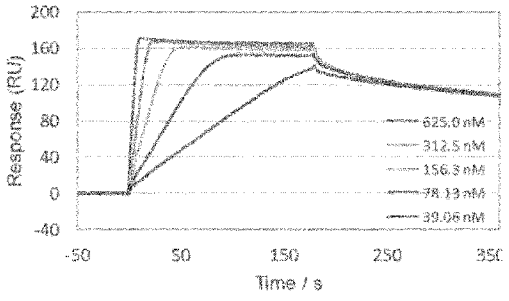
(54) **Title:** PHARMACEUTICAL COMPOSITION TARGETING RUNX BINDING SEQUENCE, AND RUNX INHIBITOR

(54) 発明の名称： ＲＵＮＸ結合配列を標的とする医薬組成物およびＲＵＮＸ阻害剤

[図1A]



[図1B]



(57) **Abstract:** The present invention provides: an antitumor composition and an antiallergy composition comprising a pyrrole-imidazole polyamide capable of binding to a RUNX binding sequence, one or more pyrrole units that constitute the pyrrole-imidazole polyamide being substituted by β-alanine; and a RUNX inhibitor.

(57) 要約：本発明は、ＲＵＮＸ結合配列に結合し得るピロールーイミダゾールポリアミドであって、該ピロールーイミダゾールポリアミドを構成するピロール単位の１以上がβアラニンによって置換されているピロールーイミダゾールポリアミドを含む抗腫瘍組成物および抗アレルギー組成物、ならびにＲＵＮＸ阻害剤を提供する。

［続葉有］

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第21条(3))

— 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則5.2(a))

明　細　書

発明の名称 ：

ＲＵＮＸ結合配列を標的とする医薬組成物およびＲＵＮＸ阻害剤

技術分野

[0001] 本開示は、ＲＵＮＸ結合配列を標的とするピロール－イミダゾールポリアミドを含む抗腫瘍組成物、ＲＵＮＸ阻害剤、および抗アレルギー組成物に関する。

背景技術

[0002] ラント関連転写因子（Runt-related transcription factor：以下、「ＲＵＮＸ」と略す）ファミリーは、血液関連遺伝子および造血幹細胞関連遺伝子の発現を制御する重要な転写因子である。ＲＵＮＸファミリーのメンバーには、ＲＵＮＸ１、ＲＵＮＸ２、およびＲＵＮＸ３があり、ＲＵＮＸ１は二次造血等、ＲＵＮＸ２は骨の発達等、ＲＵＮＸ３は神経発生、胸腺細胞増殖等に関与することが知られている。ＲＵＮＸファミリーの各メンバーは、コア結合因子βサブユニット（ＣＢＦβ）とヘテロ二量体複合体を形成する。ＲＵＮＸは、ラントドメインを介して、標的遺伝子の転写調節領域中にあるコンセンサス結合配列５’－ＴＧＴＧＧＴ－３’、および非常に稀には５’－ＴＧＣＧＧＴ－３’を認識し、結合することにより、標的遺伝子の発現を制御する。一方、ＣＢＦβは、非ＤＮＡ結合調節サブユニットである。ＣＢＦβは、アロステリックにＲＵＮＸのＤＮＡ結合能を増強する。

[0003] ＲＵＮＸ１は、急性骨髄性白血病１タンパク質（ＡＭＬ１）としても知られ、白血病発症における腫瘍抑制因子と考えられている。一方、近年の研究では、ＲＵＮＸ１が急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）の発症において腫瘍形成特性を有することが示唆され、白血病の治療を目的に、ＲＵＮＸ１とＣＢＦβ間の結合を阻害する低分子化合物の研究が報告されている（非特許文献１）。しかしながら、今までに、白血病をはじめ種々の癌治療のために、ゲノムＤＮＡ上のＲＵＮＸファミリー結合部位を標的とする試みは報告されていな

い。

[0004] 一方、ピロール－イミダゾールポリアミド（以下、「ＰＩポリアミド」と略す）は、合成オリゴマーであり、ヘアピン連結によって対面するピロール（Ｐ）およびイミダゾール（Ｉ）対により、ＤＮＡの副溝内に結合して特定の配列を認識することが知られている。ＰＩポリアミドは、Ｐ／Ｉ対がＣ・Ｇ塩基対を、Ｐ／Ｐ対がＡ・ＴまたはＴ・Ａ塩基対を、Ｉ／Ｐ対がＧ・Ｃ塩基対を認識し、これにより任意の二重鎖ＤＮＡ配列に特異的に結合することができる。したがって、様々な順序のＰ／Ｉ対を設計することにより、所望のゲノム上の標的部位へのＰＩポリアミドのインビボデリバリーが可能になる。

[0005] ＰＩポリアミドは、その比較的大きい分子量にもかかわらず、細胞膜透過性であり、細胞の核に局在し、ナノモルレベルで内在性遺伝子発現に影響を及ぼす。標的遺伝子に結合したＰＩポリアミドは、転写因子のＤＮＡへの結合を阻害し、特定の遺伝子発現を制御する遺伝子スイッチとして研究されている。さらに、近年の発明者らの研究により、ＲＵＮＸファミリーを標的としたＰＩポリアミド、該ＰＩポリアミドとアルキル化剤等の化合物とのコンジュゲート、および該コンジュゲートを利用した抗腫瘍剤について報告された（特許文献１）。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：国際公開第ＷＯ２０１８／０２１２００号

非特許文献

[0007] 非特許文献1：Cunningham, L et al., Proc Natl Acad Sci USA, 2012 Sep 4 ; 109(36), 14592-7

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 本開示は、ＲＵＮＸ結合配列を標的として、優れた効力を有する医薬組成

物、特に抗腫瘍組成物および抗アレルギー組成物、およびＲＵＮＸ阻害剤を開発することを目的とした。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは、鋭意研究の結果、驚くべきことに、ゲノム上のＲＵＮＸコンセンサス結合部位を標的とするＰＩポリアミドを合成する際に、ＰＩポリアミドを構成する少なくとも１つのピロール単位をβアラニンに置き換えることにより、標的配列に対する結合性が向上することを見出した。さらに、該ＰＩポリアミドとアルキル化剤との複合体が種々の器官に由来する腫瘍に対して抑制効果があることを見出した。

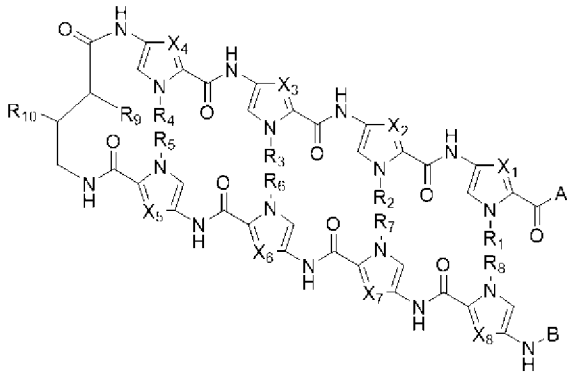
[0010] 本発明は、限定するものではないが、下記の態様を提供する。

［１］ＲＵＮＸ結合配列に結合し得るピロール－イミダゾールポリアミドを含み、かつ、該ピロール－イミダゾールポリアミドを構成するピロール単位の少なくとも１つがβアラニンによって置換されている、抗腫瘍組成物、

［２］前記ピロール－イミダゾールポリアミドと作用剤との複合体を含む、［１］記載の抗腫瘍組成物、

［３］前記複合体が、式Ｉ：

[化1]



［式Ｉ中、

X_1はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_2はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_3はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_4はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_5はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_6はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_7はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_8はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、

R_1はＨまたはアルキル基を示し、R_2はＨまたはアルキル基を示し、R_3はＨまたはアルキル基を示し、R_4はＨまたはアルキル基を示し、R_5はＨまたはアルキル基を示し、R_6はＨまたはアルキル基を示し、R_7はＨまたはアルキル基を示し、R_8はＨまたはアルキル基を示し、

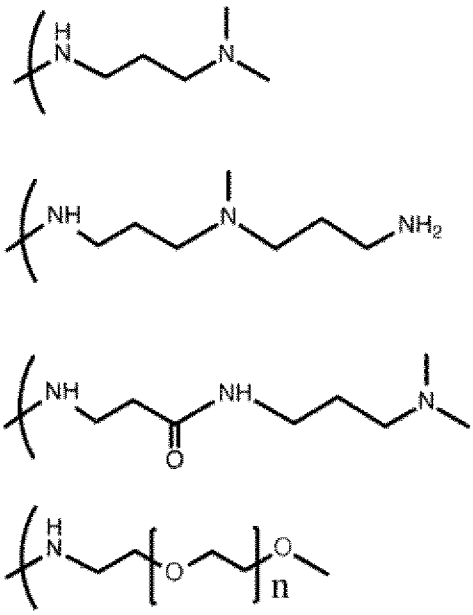
R_9は、Ｈ、－ＮＨR_{11}、または－Ｙｍ－Ｚを示し、

R_{10}は、Ｈ、－ＮＨR_{11}、または－Ｙｍ－Ｚを示し、

R_{11}は、Ｈ、ビオチン、または蛍光基を示し、

Ａは、

[化2]



から選択されるいずれかの基、または－Ｙｍ－Ｚを示し、

Ｂは、アセチル基、または－Ｙｍ－Ｚを示し、

Ｙｍは、アミド結合、ホスホジスルフィド結合、エステル結合、配位結合、またはエーテル結合を示すか、あるいはこれらの結合の１種類以上を形成する官能基を含む部分を示し、整数ｍは０～５の値のいずれかであり

Ｚは、作用剤を示し、

整数ｎは、０～５の値のいずれかであり、

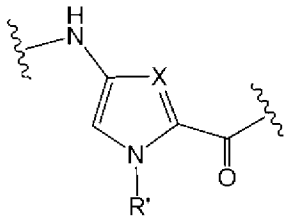
ここに、R_9、R_{10}、Ａ、およびＢの少なくとも１つは、－Ｙｍ－Ｚであり

、

式Ｉの複合体が、複数のＹｍ－Ｚで示される構造を含むとき、それらの複数のＹｍ－Ｚにおける、Ｙｍの各々は、他のＹｍと互いに同一であっても、異なっていてもよく、それぞれが独立して選択され得るものであり、かつ、それらの複数のＹｍ－Ｚにおける、Ｚの各々は、他のＺと互いに同一であっても、異なっていてもよく、それぞれが独立して選択され得るものであり、

さらに、式Ｉ中、下記式：

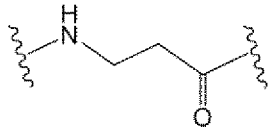
[化3]



（式中、ＸはＸ$_1$～Ｘ$_8$のいずれかであって、かつ、ＣＨまたはＣＯＨを示し、Ｒ’はＲ$_1$～Ｒ$_8$のいずれかであって、Ｈまたはアルキル基を示す。）

で示されるピロール単位の少なくとも１つは、下記式：

[化4]

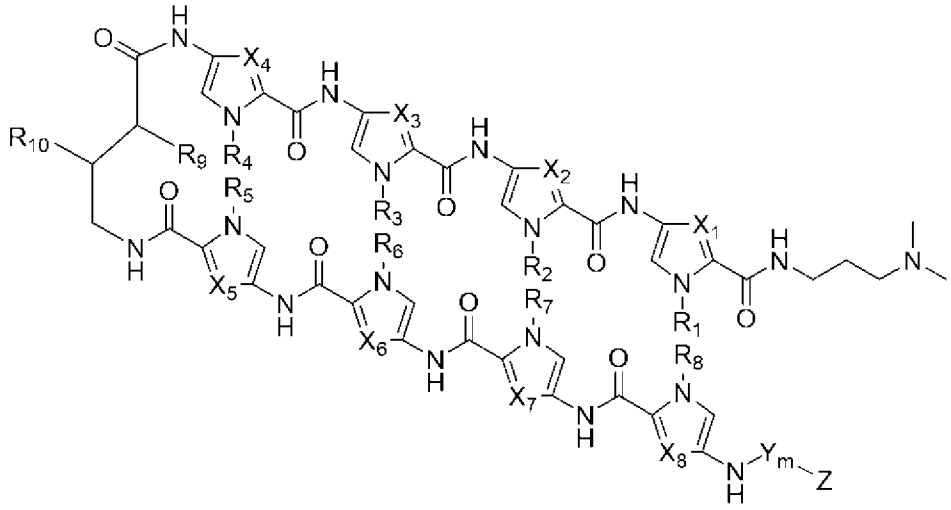


で示されるβアラニンによって置換されている。］

によって示される化合物からなる群から選ばれる、［２］記載の抗腫瘍組成物、

［４］前記複合体が式ＩＩ：

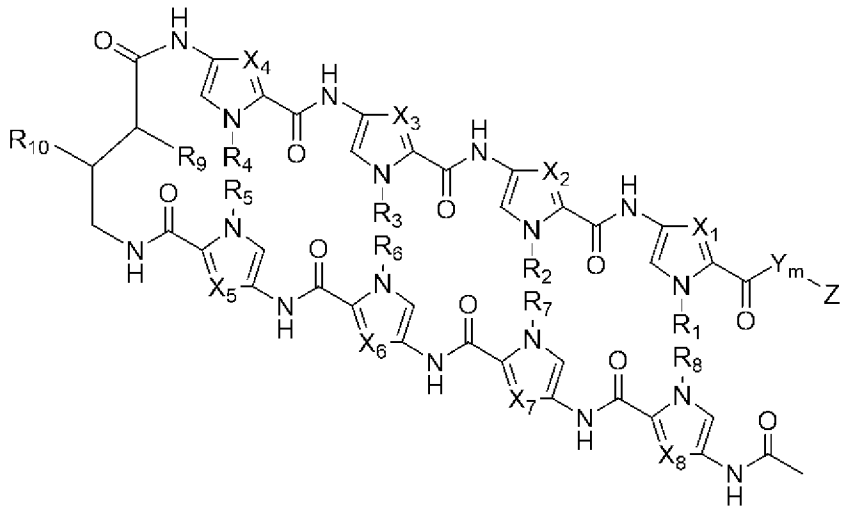
[化5]



および

式ＩＩＩ：

[化6]



[式IIおよび式III中、

X_1はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_2はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_3はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_4はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_5はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_6はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_7はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_8はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、

Ｙｍは、アミド結合、ホスホジスルフィド結合、エステル結合、配位結合、またはエーテル結合を示すか、あるいはこれらの結合の１種類以上を形成

する官能基を含む部分を示し、整数ｍは０～５の値のいずれかであり、

R_1はＨまたはアルキル基を示し、R_2はＨまたはアルキル基を示し、R_3はＨまたはアルキル基を示し、R_4はＨまたはアルキル基を示し、R_5はＨまたはアルキル基を示し、R_6はＨまたはアルキル基を示し、R_7はＨまたはアルキル基を示し、R_8はＨまたはアルキル基を示し、

R_9はＨまたは－ＮＨR_{11}を示し、

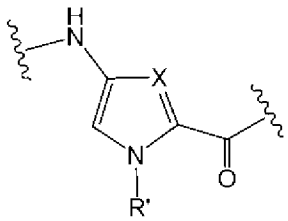
R_{10}はＨまたは－ＮＨR_{11}を示し、

R_{11}はＨ、ビオチン、または蛍光基を示し、

Ｚは作用剤を示し、

ここに、下記式：

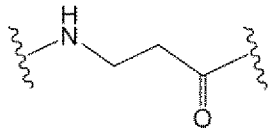
[化7]



（式中、ＸはX_1～X_8のいずれかであって、かつ、ＣＨまたはＣＯＨを示し、Ｒ’はR_1～R_8のいずれかであって、Ｈまたはアルキル基を示す。）

で示されるピロール単位の少なくとも１つは、下記式：

[化8]



で示されるβアラニンによって置換されている。]

によって示される化合物からなる群から選ばれる、［３］記載の抗腫瘍組成物、

［５］　作用剤Ｚのうち少なくとも１つが、アルキル化剤である、［２］～［４］のいずれか１項記載の抗腫瘍組成物、

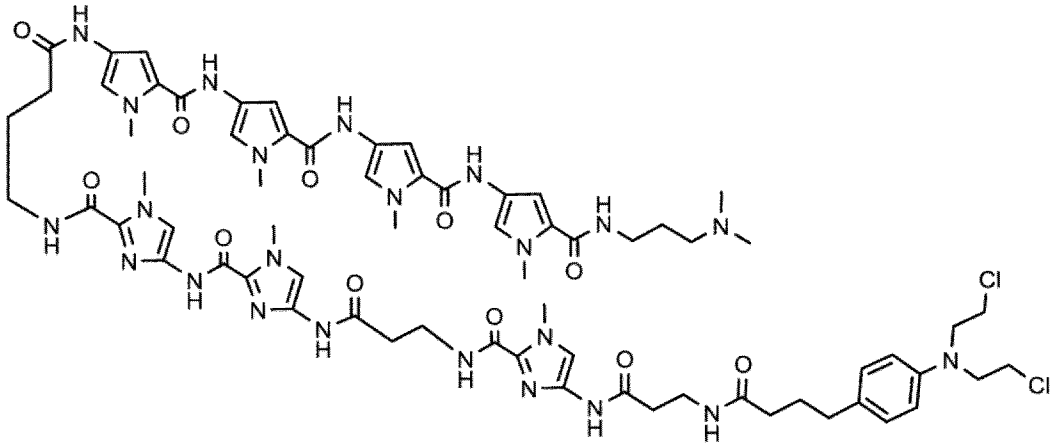
［６］　前記アルキル化剤が、クロラムブシル、デュオカルマイシン、ｓｅ

ｃｏ－ＣＢＩ、ＣＢＩ、ピロロベンゾジアゼピン、およびナイトロジェンマスタードからなる群から選択される、［５］記載の抗腫瘍組成物、

［７］　前記アルキル化剤が、クロラムブシルである、［６］記載の抗腫瘍組成物、

［８］　前記複合体が、式：

[化9]



によって示される、［７］記載の抗腫瘍組成物、

［９］　前記ピロール－イミダゾールポリアミドが、ＤＮＡ上のＲＵＮＸ結合配列に結合してＲＵＮＸファミリーメンバーの該結合配列への結合を阻害する、［１］～［８］のいずれか１項記載の抗腫瘍組成物、

［１０］　ＲＵＮＸファミリーの全てのメンバーのＲＵＮＸ結合配列への結合を阻害する、［９］記載の抗腫瘍組成物、

［１１］　他の抗腫瘍剤と組み合わせて使用される、［１］～［１０］のいずれか１項記載の抗腫瘍組成物、

［１２］　白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫、肺癌、食道癌、胃癌、大腸癌、腎細胞癌、神経芽細胞腫、皮膚癌、乳癌、前立腺癌、脳腫瘍、および骨肉腫からなる群から選択される１以上を予防または治療するための、［１］～［１１］のいずれか１項記載の抗腫瘍医薬組成物、

［１３］　ＲＵＮＸ結合配列に結合し得るピロール－イミダゾールポリアミドを含み、かつ、該ピロール－イミダゾールポリアミドを構成するピロール

単位の少なくとも１つがβアラニンによって置換されている、ＲＵＮＸ阻害剤、

［１４］　ＲＵＮＸ結合配列に結合し得るピロール－イミダゾールポリアミドを含み、かつ、該ピロール－イミダゾールポリアミドを構成するピロール単位の少なくとも１つがβアラニンによって置換されている、抗アレルギー組成物、

［１５］［１］～［１０］のいずれかに記載の抗腫瘍組成物を対象に投与することを特徴とする、癌の予防または治療方法、

［１６］［１］～［１０］のいずれかに記載の抗腫瘍組成物と他の抗腫瘍剤と組み合わせて対象に投与することを特徴とする、癌の予防または治療方法、

［１７］癌が白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫、肺癌、食道癌、胃癌、大腸癌、腎細胞癌、神経芽細胞腫、皮膚癌、乳癌、前立腺癌、脳腫瘍、および骨肉腫からなる群から選択される、［１５］または［１６］記載の予防または治療方法、

［１８］抗腫瘍剤を製造するための、［１３］に記載のＲＵＮＸ阻害剤の使用、

［１９］抗アレルギー剤を製造するための、［１３］に記載のＲＵＮＸ阻害剤の使用、

［２０］癌の予防または治療に使用するための、［１３］に記載のＲＵＮＸ阻害剤、

［２１］癌が白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫、肺癌、食道癌、胃癌、大腸癌、腎細胞癌、神経芽細胞腫、皮膚癌、乳癌、前立腺癌、脳腫瘍、および骨肉腫からなる群から選択される、［２０］記載のＲＵＮＸ阻害剤。

発明の効果

[0011]　本開示は、標的に対する優れた結合性を有するＰＩポリアミドを利用して、優れた効力を有する医薬組成物、特に、抗腫瘍組成物および抗アレルギー組成物、ならびにＲＵＮＸ阻害剤を提供する。本開示によれば、ＤＮＡ上の

ＲＵＮＸ結合配列を認識するように設計されたＰＩポリアミドであって、該ＰＩポリアミドを構成するピロール－イミダゾール対の少なくとも１つのピロール単位がβアラニンに置換されたＰＩポリアミドを用いることによって、優れた効力を有する抗腫瘍組成物およびＲＵＮＸ阻害剤が得られる。本開示における一態様において、抗腫瘍組成物は、白血病をはじめ、様々な種類の癌に対して抗腫瘍効果を有する。また、特定の実施態様においては、抗腫瘍組成物は、他の分子標的治療薬に対して耐性を示す腫瘍に対しても効果を示す。さらに、本開示において、そのＲＵＮＸ阻害剤は、抗アレルギー組成物としても使用できる。さらに、一態様において、ＰＩポリアミドを含む複合体は、Ｐがβアラニンによって置換されていないＰＩポリアミドを含む複合体よりも標的配列に対する結合親和性が顕著に高いことが示され、さらに、強い抗腫瘍効果を発揮することが示された。

図面の簡単な説明

[0012] [図1A]図１Ａは、実施例２のＣｈｂ－Ｍ’のヒドロキシ置換体のＳＰＲセンサーグラムを示す。上から、１２５０、６２５．０、３１２．５および１５６．３ｎＭの濃度のＣｈｂ－Ｍ’のヒドロキシ置換体のＳＰＲセンサーグラムを示す。

[図1B]図１Ｂは、実施例２のＣｈｂ－Ｍのヒドロキシ置換体のＳＰＲセンサーグラムを示す。上から、６２５．０、３１２．５、１５６．３、７８．１３および３９．０６ｎＭの濃度のＣｈｂ－Ｍのヒドロキシ置換体のＳＰＲセンサーグラムを示す。

[図2A]図２Ａは、実施例３で実施した上の鎖についてのＰＡＧＥ分析結果を示す。Ｃｈｂ－ＭおよびＣｈｂ－Ｍ’による５’－ＦＡＭ標識ＤＮＡフラグメント（３０ｂｐ）の鎖の切断が熱処理によって誘導された。レーン１：ＯＤＮ１、レーン２：アニールしたＤＮＡ、レーン３：ＤＮＡ対照、レーン４～７：５および１０μＭのＣｈｂ－Ｍ’（レーン４および５）およびＣｈｂ－Ｍ（レーン６および７）、レーン８：ＯＤＮ３、レーン９：ＯＤＮ４。

[図2B]図２Ｂは、実施例３で実施した下の鎖についてのＰＡＧＥ分析結果を

示す。Ｃｈｂ－ＭおよびＣｈｂ－Ｍ’による５’－ＦＡＭ標識ＤＮＡフラグメント（３０ｂｐ）の鎖の切断が熱処理によって誘導された。レーン１：ＯＤＮ５、レーン２：アニールしたＤＮＡ、レーン３：ＤＮＡ対照、レーン４～７：５および１０μＭのＣｈｂ－Ｍ’（レーン４および５）およびＣｈｂ－Ｍ（レーン６および７）、レーン８：ＯＤＮ７、レーン９：ＯＤＮ８。

[図2C]図２Ｃは、実施例３で用いた各化合物のアルキル化部位の概略図を示す。矢印は、図３ＡおよびＢに示される部位に対応するアルキル化部位を示す。

[図3]図３は、実施例５の髄芽腫細胞株Ｄａｏｙに対するＣｈｂ－Ｍの抗腫瘍効果を示すグラフである。横軸は、薬剤濃度（μＭ）を示し、縦軸は、細胞生存能力（％）を示す。

[図4A]図４Ａは、実施例５の悪性グリオーマ株Ａ１７２に対するＣｈｂ－Ｍの抗腫瘍効果を示すグラフである。横軸は、薬剤濃度（μＭ）を示し、縦軸は、細胞生存能力（％）を示す。

[図4B]図４Ｂは、実施例４の悪性グリオーマ株ＫＡＬＳ－１に対するＣｈｂ－Ｍの抗腫瘍効果を示すグラフである。横軸は、薬剤濃度（μＭ）を示し、縦軸は、細胞生存能力（％）を示す。

[図5]図５は、実施例５の悪性ラブドイド腫瘍株ＭＰ－ＭＲＴ－ＡＮおよびＫＰ－ＭＲＴ－ＮＳに対するＣｈｂ－Ｍの抗腫瘍効果を示すグラフである。

[図6]図６は、実施例６の前立腺癌株ＤＵ１４５に対するＣｈｂ－Ｍの抗腫瘍効果を示すグラフである。横軸は、薬剤濃度（μＭ）を示し、縦軸は、細胞生存能力（％）を示す。

[図7]図７は、実施例７の白血病株ＭＯＬＭ１３、ＭＶ４－１１（ｐ５３野生型）およびＭＶ４－１１ＮＲ（ｐ５３変異型）に対するＣｈｂ－Ｍの抗腫瘍効果を示すグラフおよびＩＣ$_{50}$値を示す表である。グラフの横軸は、薬剤濃度（μＭ）を示し、縦軸は、細胞生存能力（％）を示す。

[図8]図８は、実施例７の白血病株ＮＢに対するＣｈｂ－Ｍの抗腫瘍効果を示すグラフおよびＩＣ$_{50}$値を示す表である。

[図9]図９は、実施例８の骨肉腫株ＭＧ６３に対するＣｈｂ－Ｍの抗腫瘍効果を示すグラフである。横軸は、薬剤濃度（μＭ）を示し、縦軸は、細胞生存能力（％）を示す。

発明を実施するための形態

[0013] １．ＰＩポリアミド

ＰＩポリアミドは、一般に、Ｎ－メチルピロール単位（Ｐ）とＮ－メチルイミダゾール単位（Ｉ）と、γ－アミノ酪酸部分とを含むポリアミドであり、ＰとＩとγ－アミノ酪酸部分とは互いにアミド結合（－Ｃ（＝Ｏ）－ＮＨ－）で連結される（Trauger et al, Nature, 382, 559-61(1996); White et al, Chem.Biol., 4,569-78(1997);およびDervan, Bioorg. Med. Chem., 9, 2215-35(2001)）。ＰＩポリアミドは、γ－アミノ酪酸部分がリンカー（以下、「γ－リンカー」という）となって全体が折りたたまれてＵ字型のコンフォメーション（ヘアピン型）をとる。Ｕ字型のコンフォメーションにおいては、γ－リンカーを挟んでＰとＩとを含む２本の鎖が並列に並ぶ。この２本の鎖の向かい合うＰおよび／またはＩからなる対（以下、「ピロール－イミダゾール対」ともいう）が特定の組み合わせ（Ｐ／Ｉ対、Ｉ／Ｐ対、またはＰ／Ｐ対）のときに、ＰＩポリアミドは、ＤＮＡ中の特定の塩基対に高い親和性で結合する。例えば、Ｐ／Ｉ対はＣ・Ｇ塩基対に結合することができ、Ｉ／Ｐ対はＧ・Ｃ塩基対に結合することができる。また、Ｐ／Ｐ対はＡ・Ｔ塩基対およびＴ・Ａ塩基対の両方に結合することができる。また、ＰＩポリアミドには、ＰおよびＩの他に、３－ヒドロキシピロール（Ｈｐ）またはβアラニンが含まれていてもよく、ＰをＨｐまたはβアラニンに置き換えることができる。Ｈｐ／Ｐ対は、Ｔ・Ａ塩基対に結合することができる（White at al., Nature, 391, 468-71 (1998)）。βアラニン／βアラニン対は、Ｔ・Ａ塩基対もしくはＡ・Ｔ塩基対に結合することができる。βアラニン／Ｉ対はＣ・Ｇ塩基対に、Ｉ／βアラニン対はＧ・Ｃ塩基対に結合することができる。βアラニン／Ｐ対およびＰ／βアラニン対は、Ｔ・Ａ塩基対もしくはＡ・Ｔ塩基対に結合することができる。また、γ－リンカー部分や、ＰＩポリ

アミドのＮ末端に付加したβアラニン部分も、Ｔ・Ａ塩基対もしくはＡ・Ｔ塩基対に結合することができる。Ｐ、Ｉ、Ｈｐ、および／またはβアラニンによって形成される対の構成、順序、および組み合わせ等を適宜変更することにより、標的のＤＮＡ配列を認識し、結合するＰＩポリアミドを設計することができる。

[0014] 本開示において、ＰＩポリアミドを構成するＰおよびＩの１位の窒素上のメチル基は、水素またはメチル基以外のアルキル基で置き換わっていてもよい。メチル基以外のアルキル基の例としては、炭素数２～１０個の直鎖、分枝鎖または環状の飽和または不飽和アルキル基、好ましくは、炭素数２～５個の直鎖、分枝鎖直鎖、分枝鎖または環状の飽和または不飽和アルキル基が挙げられ、例えば、エチル、ｎ－プロピル、イソプロピル、ｎ－ブチル、ｓｅｃ－ブチル、イソブチル、ｔｅｒｔ－ブチル等が挙げられる。また、メチル基を含め、アルキル基は置換されていてもよく、例えば、アルキル基中のメチレンは、酸素等で置換されていてもよい。さらに、本開示において、ＰＩポリアミドを構成するＰの３位はヒドロキシ基で置換されていてもよい。本明細書で用いる場合、「Ｐ」または「ピロール単位」および「Ｉ」または「イミダゾール単位」なる語は、上記したようなＮ置換またはＮ非置換ピロール単位、３－ヒドロキシピロール単位、およびＮ置換またはＮ非置換イミダゾール単位を包含する。

[0015] 本発明において、ＰＩポリアミドを構成するγ－リンカーは、α位またはβ位に側鎖を有していてもよい。例えば、α位またはβ位がアミノ基で置換されたγ－リンカー、すなわち、Ｎ－α－Ｎ－γ－ジアミノ酪酸残基またはＮ－β－Ｎ－γ－ジアミノ酪酸残基からなるリンカーであってもよく、さらに該アミノ基が蛍光基やビオチン等の分子で修飾されていてもよい。

[0016] 本開示において、ＰＩポリアミドのＮ末端およびＣ末端には、種々の官能基が付加されていてもよい。ＰＩポリアミドのＮ末端およびＣ末端に付加する官能基または分子は、当業者が適宜決定することができる。例えば、アミド結合を介して様々な官能基を付加することができる。該官能基の例として

は、限定するものではないが、β－アラニン残基、γ－アミノ酪酸残基などのカルボキシル基、アセチル基、アミノ基等が挙げられる。例えば、限定するものではないが、Ｎ末端にはアセチル基が付加されていてもよい。例えば、限定するものではないが、Ｃ末端にはジメチルアミノプロピルアミノ基が付加されていてもよい。また、ＰＩポリアミドのＮ末端およびＣ末端は、蛍光基やビオチン、イソフタル酸等の分子で修飾されていてもよい。本願明細書において、蛍光基としては、限定するものではないが、例えば、フルオレセイン、ローダミン系色素、シアニン系色素、ＡＴＴＯ系色素、Ａｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ系色素、ＢＯＤＩＰＹが挙げられる。フルオレセインには、フルオレセイン誘導体（例えば、フルオレセインイソチオシアネート等）も含まれる。

[0017] ＰＩポリアミドの設計方法および製造方法は公知である（例えば、特許第３０４５７０６号、特開２００１－１３６９７４号、ＷＯ０３／０００６８３号、特開２０１３－２３４１３５号、特開２０１４－１７３０３２号参照）。例えば、Ｆｍｏｃ（９－フルオレニルメトキシカルボニル）を用いた固相合成法（Ｆｍｏｃ固相合成法）による自動合成法によって簡便に製造することができる。また、液相合成法によって製造することもできる。

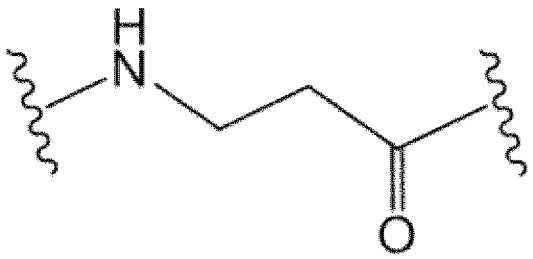
[0018] また、本開示における一態様において、ＰＩポリアミドは、ＤＮＡに対する結合能力を維持または向上するように修飾されたＰＩポリアミド修飾物であってもよい。該ＰＩポリアミド修飾物としては、例えば、ＰＩポリアミドのγ－リンカーのα位またはβ位にアミノ基を付加した修飾物、すなわち、Ｎ－α－Ｎ－γ－ジアミノ酪酸残基またはＮ－β－Ｎ－γ－ジアミノ酪酸残基からなるγ－リンカーを有する修飾物、該修飾物の上記アミノ基を蛍光基やビオチン等の分子で修飾した修飾物、ＰＩポリアミドのＮ末端を蛍光基やビオチン等の分子で修飾した修飾物、およびＰＩポリアミドのＣ末端をイソフタル酸等の分子で修飾した修飾物等が挙げられる。

[0019] 本開示において使用されるＰＩポリアミドは、ゲノム上のＲＵＮＸ結合部位のコンセンサス配列（「ＲＵＮＸコンセンサス結合配列」または「ＲＵＮ

Ｘ結合配列」ともいう）を認識するように設計されたＰＩポリアミドであり、故に、該ＲＵＮＸコンセンサス結合配列に結合し得るＰＩポリアミドである。該ＲＵＮＸコンセンサス配列は、５’－ＴＧＴＧＧＴ－３’または５’－ＴＧＣＧＧＴ－３’であることが知られている。したがって、該ＲＵＮＸコンセンサス結合配列に基づいて、ＰＩポリアミドを構成するピロール－イミダゾール対の組み合わせを決定すればよい。なお、本明細書において用いる場合、「ピロール－イミダゾール対」なる語は、Ｐ、Ｉ、Ｈｐ、およびβアラニンのいずれの組み合わせからなる対も包含する。

[0020] 本開示において使用されるＰＩポリアミドは、少なくとも１つのβアラニンを含むピロール－イミダゾール対を含む。すなわち、本開示において使用されるＰＩポリアミドは、ピロール単位の少なくとも１つがβアラニンによって置換されている。ここで、βアラニンは、下記式：

[化10]



によって表される。

[0021] 本開示において使用されるＰＩポリアミドに含まれるβアラニンの数は、１以上であればよく、特に限定されない。ＰＩポリアミドを構成するＰおよびＩの総数にもよるが、例えば、１～３個、好ましくは１または２個のβアラニンが含まれる。また、本発明において使用されるＰＩポリアミドに含まれるβアラニンの位置（すなわち、βアラニンに置換されるピロール単位の位置）は、γリンカー、Ｃ末端またはＮ末端に隣接する位置、あるいはγリンカー、Ｃ末端またはＮ末端付近の位置であってもよいし、あるいはそれ以外の位置、例えば、γリンカーとＣ末端またはＮ末端との間の中央付近または中央であってもよい。好ましくは、γリンカーとＣ末端またはＮ末端との

間の中央付近または中央の位置である。

[0022] 本開示における上記ＰＩポリアミドは、標的となるＲＵＮＸ結合配列に対する親和性が高い。特に驚くべきことに、該ＰＩポリアミドは、ピロール単位がβアラニンによって置換されていないＰＩポリアミドと比べて、標的となるＲＵＮＸ結合配列に対する親和性が高い。したがって、本開示における上記ＰＩポリアミドは、ＤＮＡ上のＲＵＮＸ結合配列への結合についてＲＵＮＸファミリーのメンバーと競合し、ゲノム上のＲＵＮＸ結合配列へのＲＵＮＸファミリーの結合を阻害することができる。

[0023] ２．ＰＩポリアミドコンジュゲート

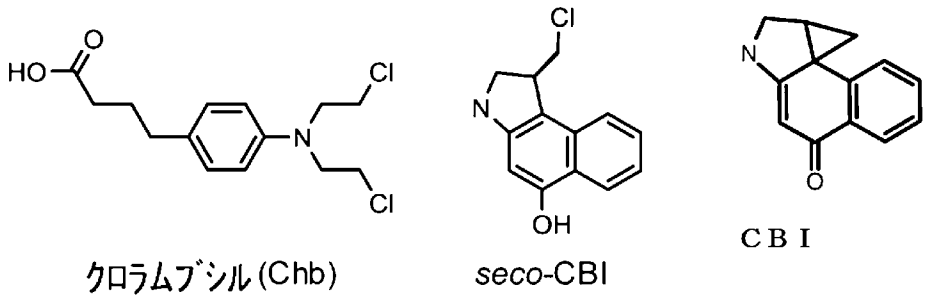
本開示において、ＲＵＮＸ結合配列を認識する上記ＰＩポリアミドは、作用剤と複合体を形成していてもよい。本明細書において、「作用剤」とは、ＤＮＡおよびその周囲のクロマチン状態に影響を与える物質であり、例えば、限定するものではないが、アルキル化剤、クロマチン修飾酵素制御剤等が挙げられる。クロマチン修飾酵素制御剤の例としては、限定するものではないが、ヒストンアセチル化酵素（ＨＡＴ）制御剤、例えば、ＨＡＴ阻害剤（例えば、Ｃ６４６等）、またはＨＡＴ活性化剤（例えば、Ｎ－（４－クロロ－３－（トリフルオロメチル）フェニル）－２－エトキシベンズアミド（ＣＴＢ）等）、ヒストン脱アセチル化酵素（ＨＤＡＣ）制御剤、例えば、ＨＤＡＣ阻害剤（例えば、スベロイルアニリドヒドロキサム酸等）、またはＨＤＡＣ活性化剤、ヒストンメチル化酵素制御剤、ヒストン脱メチル化酵素制御剤等が挙げられる。本開示において、好ましくは、上記ＰＩポリアミドとアルキル化剤との複合体が使用される。

[0024] アルキル化剤とは、ＤＮＡと共有結合を作る官能基を有する化合物である。本開示において使用されるアルキル化剤としては、特に限定されないが、後述する医薬組成物における使用を考慮して、細胞毒性が低いまたは無いものが好ましい。アルキル化剤の例としては、限定するものではないが、クロラムブシル（chlorambucil）、デュオカルマイシン（duocarmycin）、ｓｅｃｏ－ＣＢＩ（１－クロロメチル－５－ヒドロキシ－１，２－ジヒドロ－３Ｈ

－ベンゾ［ｅ］インドール）、ＣＢＩ（１，２，９，９ａ－テトラヒドロシクロプロパン［ｃ］ベンゾ［ｅ］インドール－４－オン）、ピロロベンゾジアゼピン、ナイトロジェンマスタード等が挙げられる。ｓｅｃｏ－ＣＢＩまたはＣＢＩをＰＩポリアミドにコンジュゲートする場合は、ＰＩポリアミドとｓｅｃｏ－ＣＢＩまたはＣＢＩとの間にインドールを挿入してもよい。

[0025] 上記アルキル化剤の例として挙げられたクロラムブシル、ｓｅｃｏ－ＣＢＩ、およびＣＢＩは、下記の化学式で表される。

[化11]



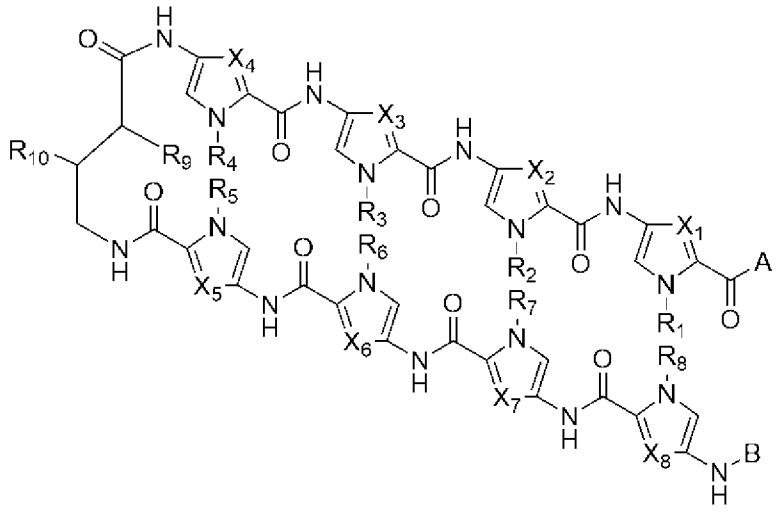
クロラムブシル(Chb) *seco*-CBI CBI

[0026] 上記作用剤と、上記ＰＩポリアミドとを結合（以下、「コンジュゲート」ともいう）すること等により複合体を合成する。本明細書においては、該複合体を「コンジュゲート」ともいう。合成方法は公知の方法によって行うことができる（例えば、J. Am. Chem. SOC. 1995, 117, 2479-2490参照）。作用剤は、ＰＩポリアミドのＮ末端、Ｃ末端、またはγリンカー部位のいずれか、またはそれらの組み合わせに結合される。例えば、作用剤は、ＰＩポリアミドのＮ末端またはＣ末端に結合される。作用剤がＰＩポリアミドのＮ末端、Ｃ末端およびγリンカー部位から選ばれる２以上の位置に結合する場合、各位置に結合する作用剤は同一であってもよく、または異なっていてもよい。ここで、ＰＩポリアミドと作用剤との「結合」様式は、直接結合してもよいし、リンカーを介して結合してもよい。リンカーとしては、作用剤の作用を妨げず、かつＲＵＮＸ結合部位の認識を妨げないものであれば特に限定されないが、例えば、アミド結合、ホスホジスルフィド結合、エステル結合、配位結合、またはエーテル結合等そのもの、あるいはこれらの結合の１種

類以上を形成する官能基を含む分子を例示することができる。「これらの結合の１種類以上を形成する官能基を含む分子」は、ＰＩポリアミドおよび／または作用剤の末端部分と共に、アミド結合、ホスホジスルフィド結合、エステル結合、配位結合、およびエーテル結合等からなる群から選択される１種類以上の結合を形成する官能基を含む分子である。「これらの結合の１種類以上を形成する官能基を含む分子」はまた、アミド結合、ホスホジスルフィド結合、エステル結合、配位結合、およびエーテル結合等からなる群から選択される１種類以上の結合を１個以上含む分子であってもよい。好ましいリンカーとしては、アミド結合、またはアミド結合を形成する官能基を含む分子が挙げられる。

[0027] 本開示における作用剤とＰＩポリアミドの複合体の例としては、式Ｉ：

[化12]



［式Ｉ中、

X_1はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_2はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_3はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_4はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_5はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_6はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_7はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_8はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、ここに、X_1～X_8は、ＰＩポリアミドがＲＵＮＸコンセンサス配列を認識可能になる組み合わせで選択される、

R_1はＨまたはアルキル基を示し、R_2はＨまたはアルキル基を示し、R_3は

ＨまたはアルキルＲ基を示し、R_4はＨまたはアルキル基を示し、R_5はＨまたはアルキル基を示し、R_6はＨまたはアルキル基を示し、R_7はＨまたはアルキル基を示し、R_8はＨまたはアルキル基を示し、

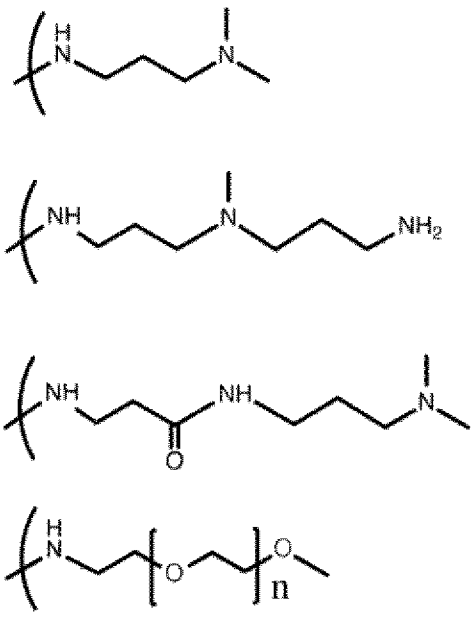
R_9はＨ、－ＮＨR_{11}、または－Ｙｍ－Ｚを示し、

R_{10}はＨ、－ＮＨR_{11}、または－Ｙｍ－Ｚを示し、

R_{11}はＨ、またはビオチン、蛍光基等の分子を示し、

Ａは、

[化13]



から選択されるいずれかの基、または－Ｙｍ－Ｚを示し、

Ｂは、アセチル基、または－Ｙｍ－Ｚを示し、

整数ｎは、０～５の値のいずれかであり、

Ｚは作用剤を示し、好ましくは、アルキル化剤、さらに好ましくは、クロラムブシル、デュオカルマイシン、ｓｅｃｏ－ＣＢＩ、ＣＢＩ、ピロロベンゾジアゼピン、およびナイトロジェンマスタードからなる群から選択されるアルキル化剤を示し、

Ｙｍは、リンカー部分を示し、

整数ｍは０～５の値のいずれかであり、好ましくは０～３、より好ましく

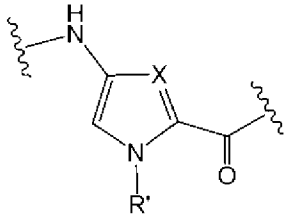
は０または１であり、

ここに、R_9、R_{10}、Ａ、およびＢの少なくとも１つは、－Ｙｍ－Ｚであり、

式Ｉの複合体が、複数のＹｍ－Ｚで示される構造を含むとき、それらの複数のＹｍ－Ｚにおける、Ｙｍの各々は、他のＹｍと互いに同一であっても、異なっていてもよく、それぞれが独立して選択され得るものであり、かつ、それらの複数のＹｍ－Ｚにおける、Ｚの各々は、他のＺと互いに同一であっても、異なっていてもよく、それぞれが独立して選択され得るものであり、

さらに、式Ｉ中、下記式：

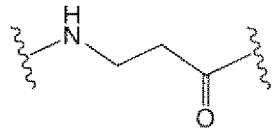
[化14]



（式中、ＸはX_1～X_8のいずれかであって、かつ、ＣＨまたはＣＯＨを示し、Ｒ’はR_1～R_8のいずれかであって、Ｈまたはアルキル基を示す。）

で示されるピロール単位の少なくとも１つは、下記式：

[化15]



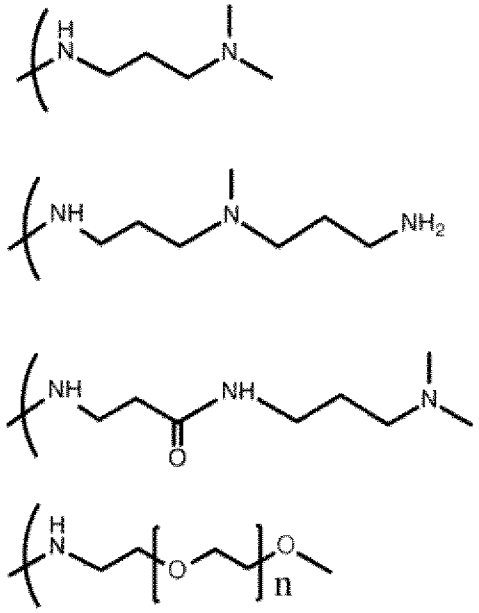
で示されるβアラニンによって置換されている。]

によって示される化合物、ならびにその修飾物が挙げられる。

[0028] 上記式Ｉで表される複合体の好ましい態様において、

Ａは、

[化16]

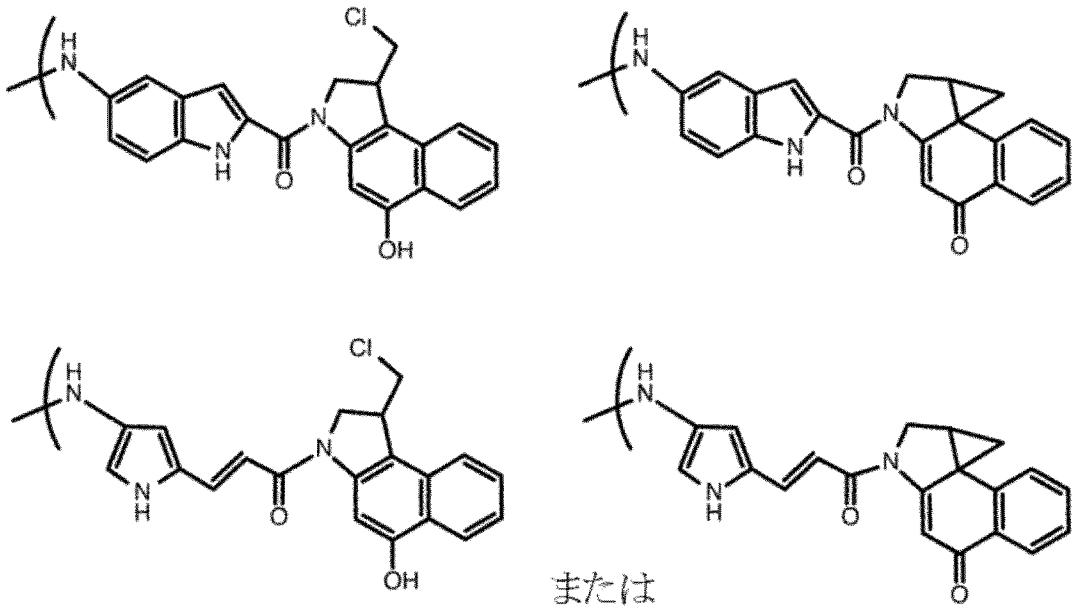


［式中、整数ｎは、０～５の値のいずれかである］

から選択されるいずれかの基を示すか、または－Ｙｍ－Ｚを示し、ここに、

－Ｙｍ－Ｚは下記の式：

[化17]

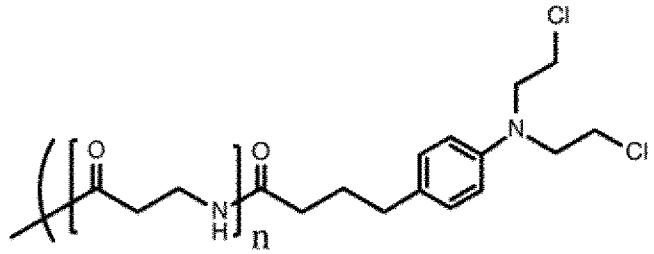


または

で表されるいずれかの基であり、

Ｂは、－Ｙｍ－Ｚを示し、ここに、－Ｙｍ－Ｚは下記の式：

[化18]

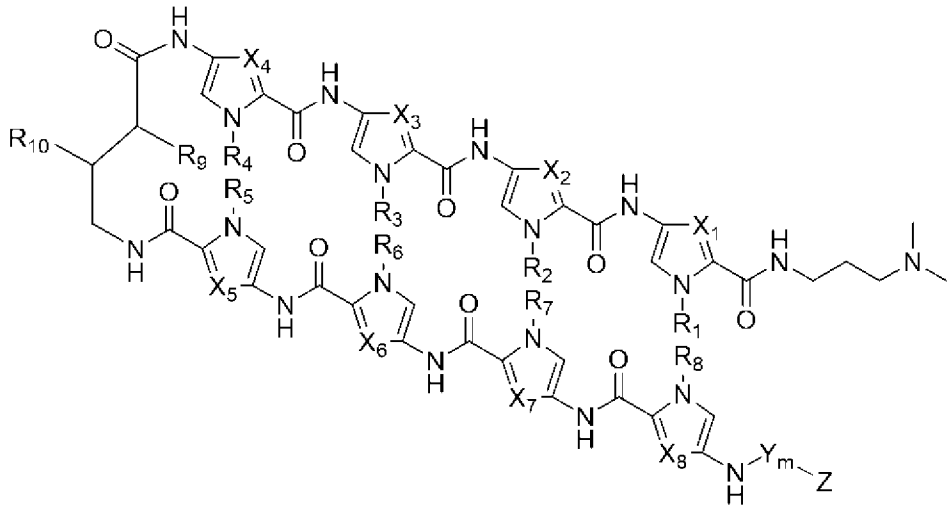


［式中、整数ｎは、０～５の値のいずれかであり、好ましくは０～２の値のいずれかである］

で表されるいずれかの基ある。

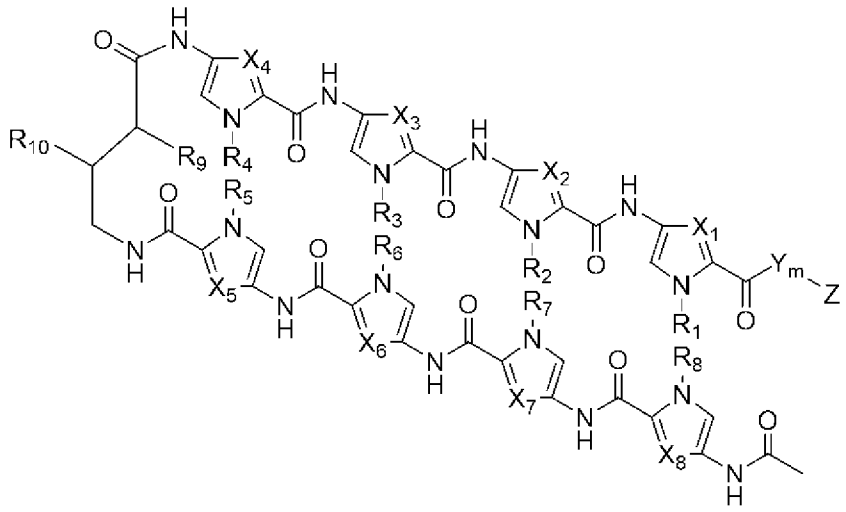
[0029] 本開示における作用剤とＰＩポリアミドの複合体のさらなる例としては、式ＩＩ：

[化19]



または式ＩＩＩ：

[化20]



[式ＩＩおよび式ＩＩＩ中、

X_1はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_2はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_3はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_4はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_5はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_6はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_7はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_8はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、ここに、X_1～X_8は、ＰＩポリアミドがＲＵＮＸコンセンサス配列を認識可能になる組み合わせで選択される、

R_1はＨまたはアルキル基を示し、R_2はＨまたはアルキル基を示し、R_3はＨまたはアルキル基を示し、R_4はＨまたはアルキル基を示し、R_5はＨまたはアルキル基を示し、R_6はＨまたはアルキル基を示し、R_7はＨまたはアルキル基を示し、R_8はＨまたはアルキル基を示し、

R_9はＨまたは－ＮＨR_{11}を示し、R_{10}はＨまたは－ＮＨR_{11}を示し、

R_{11}はＨ、またはビオチン、蛍光基等の分子を示し、

Ｚは作用剤を示し、好ましくは、アルキル化剤、さらに好ましくは、クロラムブシル、デュオカルマイシン、ｓｅｃｏ－ＣＢＩ、ＣＢＩ、ピロロベンゾジアゼピン、およびナイトロジェンマスタードからなる群から選択されるアルキル化剤を示し、

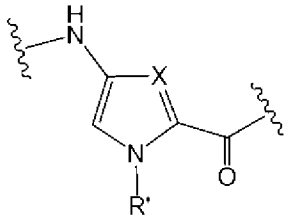
Ｙｍは、リンカー部分を示し、

整数ｍは０～５のいずれかの値であり、好ましくは０～３、より好ましく

は０または１であり、

ここに、下記式：

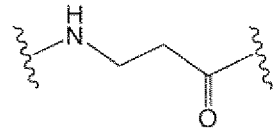
[化21]



（式中、ＸはＸ$_1$～Ｘ$_8$のいずれかであって、かつ、ＣＨまたはＣＯＨを示し、Ｒ’はＲ$_1$～Ｒ$_8$のいずれかであって、Ｈまたはアルキル基を示す。）

で示されるピロール単位の少なくとも１つは、下記式：

[化22]



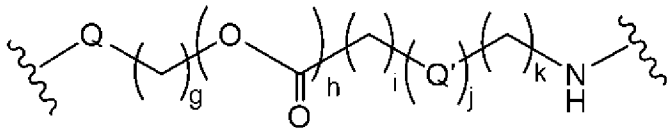
で示されるβアラニンによって置換されている。]

によって示される化合物、ならびにその修飾物が挙げられる。

[0030] 上記式Ｉ～ＩＩＩにおいて、Ｙｍは、例えば、アミド結合、ホスホジスルフィド結合、エステル結合、配位結合、エーテル結合等を示すか、あるいはこれらの結合の１種類以上を形成する官能基を含む部分を示す。ここで、「これらの結合の１種類以上を形成する官能基を含む部分」とは、ＰＩポリアミドおよび／または作用剤の末端部分と共に、アミド結合、ホスホジスルフィド結合、エステル結合、配位結合、およびエーテル結合等からなる群から選択される１種類以上の結合を形成する官能基を含む部分である。また、「これらの結合の１種類以上を形成する官能基を含む部分」は、アミド結合、ホスホジスルフィド結合、エステル結合、配位結合、およびエーテル結合等からなる群から選択される１種類以上の結合を１個以上含んでいてもよい。

[0031] 一実施態様において、上記式Ｉ～ＩＩＩにおいて、Ｙｍは「これらの結合の１種類以上を形成する官能基を含む部分」であり、その一例としては、下記式ＩＶ：

[化23]



［式中、

Ｑは、カルボニル［－Ｃ（＝Ｏ）－］またはイミノ（－ＮＨ－）であり、

Ｑ’は、エーテル結合（－Ｏ－）またはイミノ（－ＮＨ－）もしくはメチルイミノ［－Ｎ（－ＣＨ$_3$）－］であり、

整数ｇおよびｋは各々独立して、１～３の値のいずれかであり、

整数ｈおよびｊは各々独立して、０～５の値のいずれかであり、

整数ｉは、０～２の値のいずれかである］

で示される構造が挙げられる。例えば、整数ｈおよびｊは各々独立して、０～３の値のいずれかであることが好ましい。また、上記の式ＶＩ中、エステル結合の位置と、Ｑ’で表されるエーテル結合またはイミノ結合の位置は入れ替わっていてもよい。上記式ＩＶで示されるリンカー部分において、例えば、右端の位置は作用剤と連結し、左端の位置はＰＩポリアミドと連結するが、該連結位置は逆であってもよい。例えば、上記式ＶＩで示されるリンカー部分の左端の位置がＰＩポリアミドのＣ末端と連結する場合、Ｑはイミノであることが好ましい。

[0032] 式ＩＶで示されるＹの一例として、下記式Ｖ：

[化24]



で示される構造が挙げられる。

[0033] 式ＩＶで示されるＹの別の例として、下記式ＶＩ：

[化25]

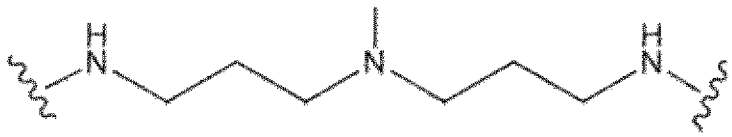


［式中、ｌは１～５の整数を示す］

で示される構造が挙げられる。例えば、ｌは１～３の整数であり、好ましくは、ｌは１である。

[0034] 式ＩＶで示されるＹの別の例として、下記式ＶＩＩ：

[化26]



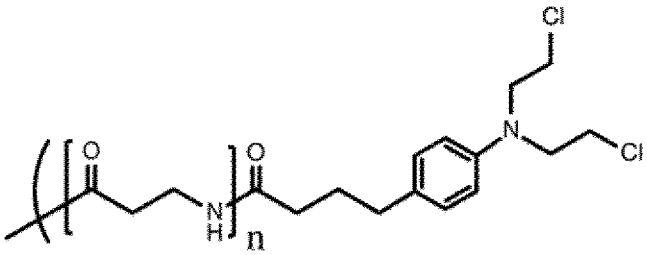
で示される構造が挙げられる。好ましくは、式ＶＩＩで表されるリンカー部分は、作用剤がＰＩポリアミドのＣ末端側に結合される場合に用いられる。

[0035] 上記式ＩＶ～式ＶＩＩで示されるリンカー部分において、例えば、右端の位置は作用剤と連結し、左端の位置はＰＩポリアミドと連結するが、該連結位置は逆であってもよい。

[0036] 上記式Ｉ～ＩＩＩにおいて、βアラニンによって置換されるピロール単位は、好ましくは、Ｎ末端またはＣ末端から２番目、３番目または４番目の位置にある。

[0037] 上記の式ＩＩ中、－Ｙｍ－Ｚは、好ましくは、

[化27]

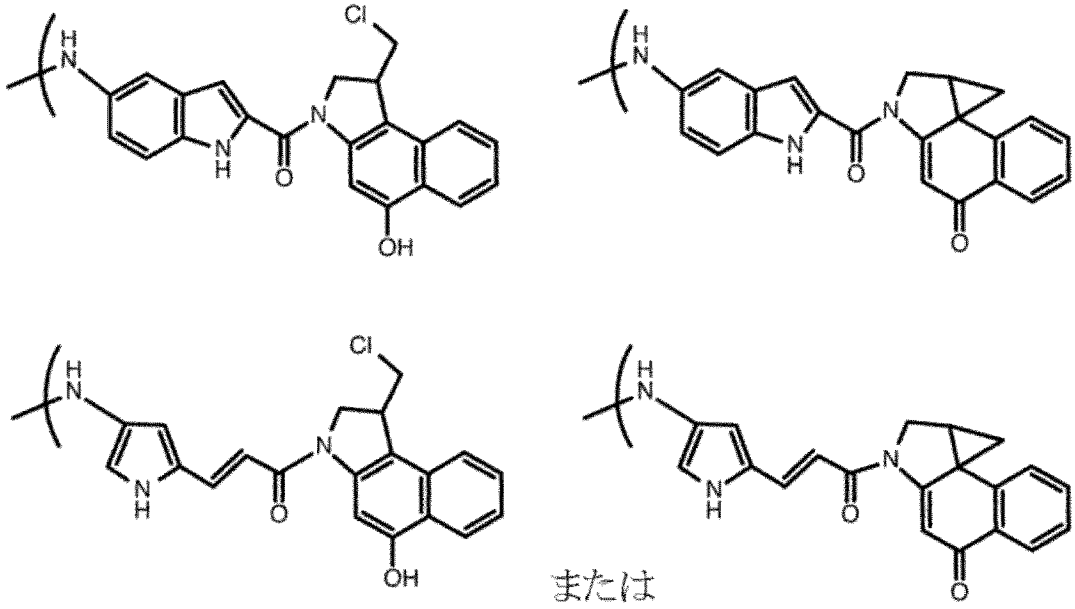


［式中、整数ｎは１～５のいずれかの値であり、好ましくは０～２のいずれかの値である］

で表される基である。

[0038] 上記の式ＩＩＩ中、－Ｙｍ－Ｚは、好ましくは、

[化28]

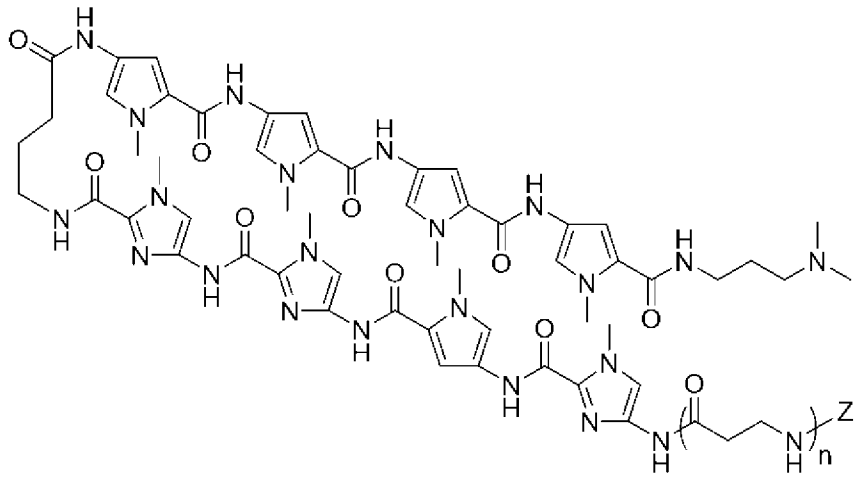


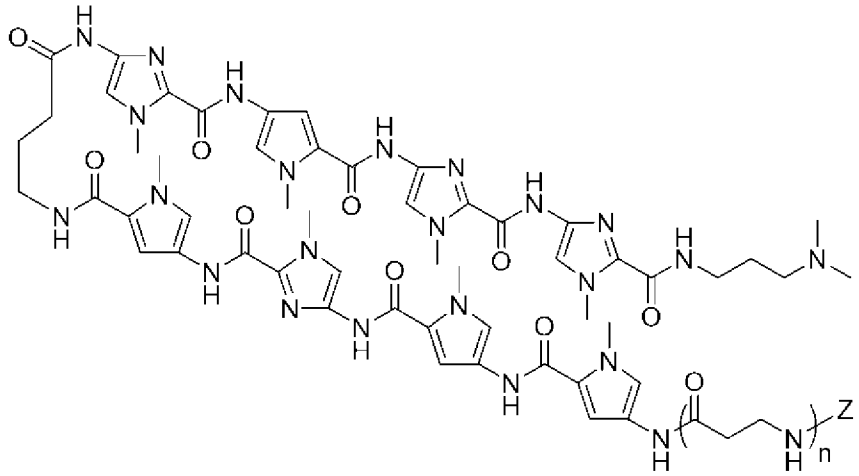
で表される基である。

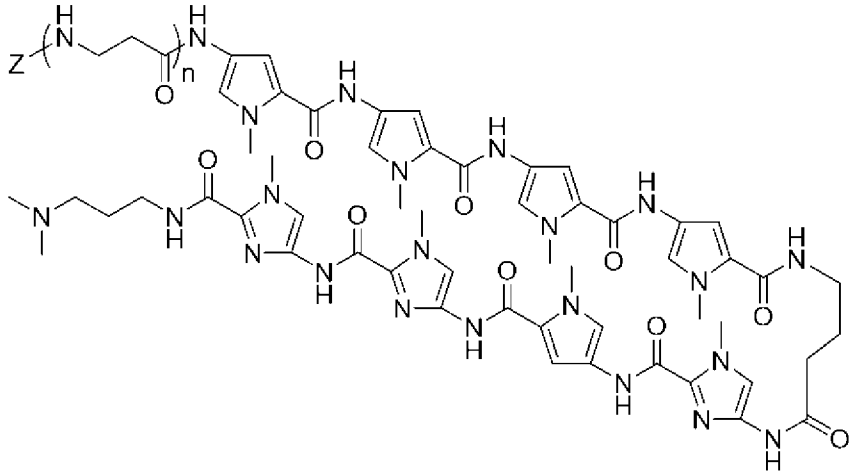
[0039] 本明細書において、アルキル基の例としては、炭素数１～１０個の直鎖、分枝鎖または環状の飽和または不飽和アルキル基、好ましくは、炭素数１～５個の直鎖、分枝鎖直鎖、分枝鎖または環状の飽和または不飽和アルキル基が挙げられ、例えば、メチル、エチル、ｎ－プロピル、イソプロピル、ｎ－ブチル、ｓｅｃ－ブチル、イソブチル、ｔｅｒｔ－ブチル等が挙げられる。また、アルキル基は置換されていてもよく、例えば、アルキル基中のメチレンは、酸素等で置換されていてもよい。

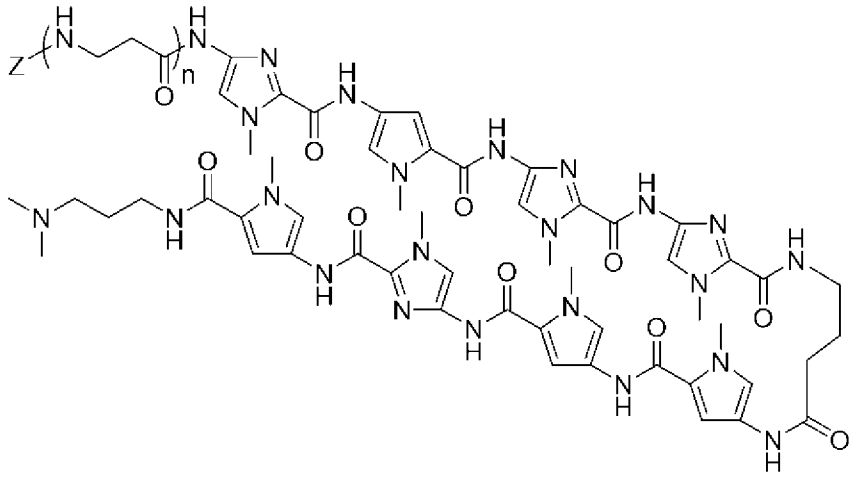
[0040] 本開示において、作用剤とＰＩポリアミドとの複合体の例示的な態様としては、さらに、下記式：

[化29]









［式中、

Ｚは作用剤を示し、好ましくは、アルキル化剤を示し、さらに好ましくは、クロラムブシル、デュオカルマイシン、ｓｅｃｏ－ＣＢＩ、ＣＢＩ、ピロロベンゾジアゼピン、およびナイトロジェンマスタードからなる群から選択されるアルキル化剤を示し、

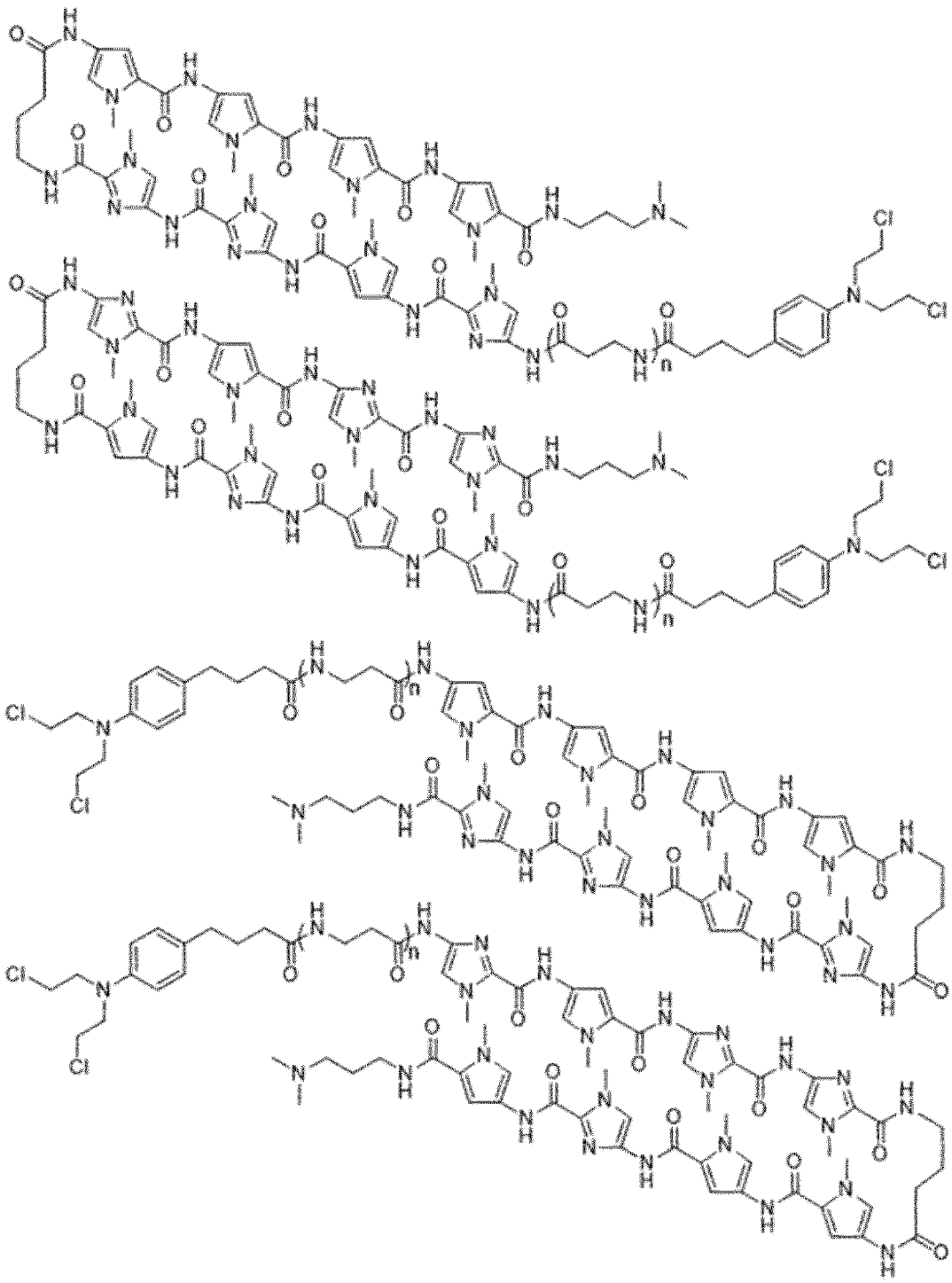
ｎは０、１、２、３、４、または５を示し、好ましくは１、２、または３を示し、さらに好ましくはｎは１を示し、かつ、

ピロール単位の少なくとも１つは、βアラニンによって置換されており、好ましくはＮ末端またはＣ末端から２番目、３番目または４番目のピロール単位、さらに好ましくはＮ末端またはＣ末端から２番目または３番目のピロール単位がβアラニンによって置換されている］

によって示される化合物、ならびにその修飾物が挙げられる。

[0041] さらに、本発明における上記複合体の別の好ましい例としては、下式によって示されるクロラムブシルとＰＩポリアミドとの複合体、ならびにその修飾物が挙げられる。

[化30]



[式中、

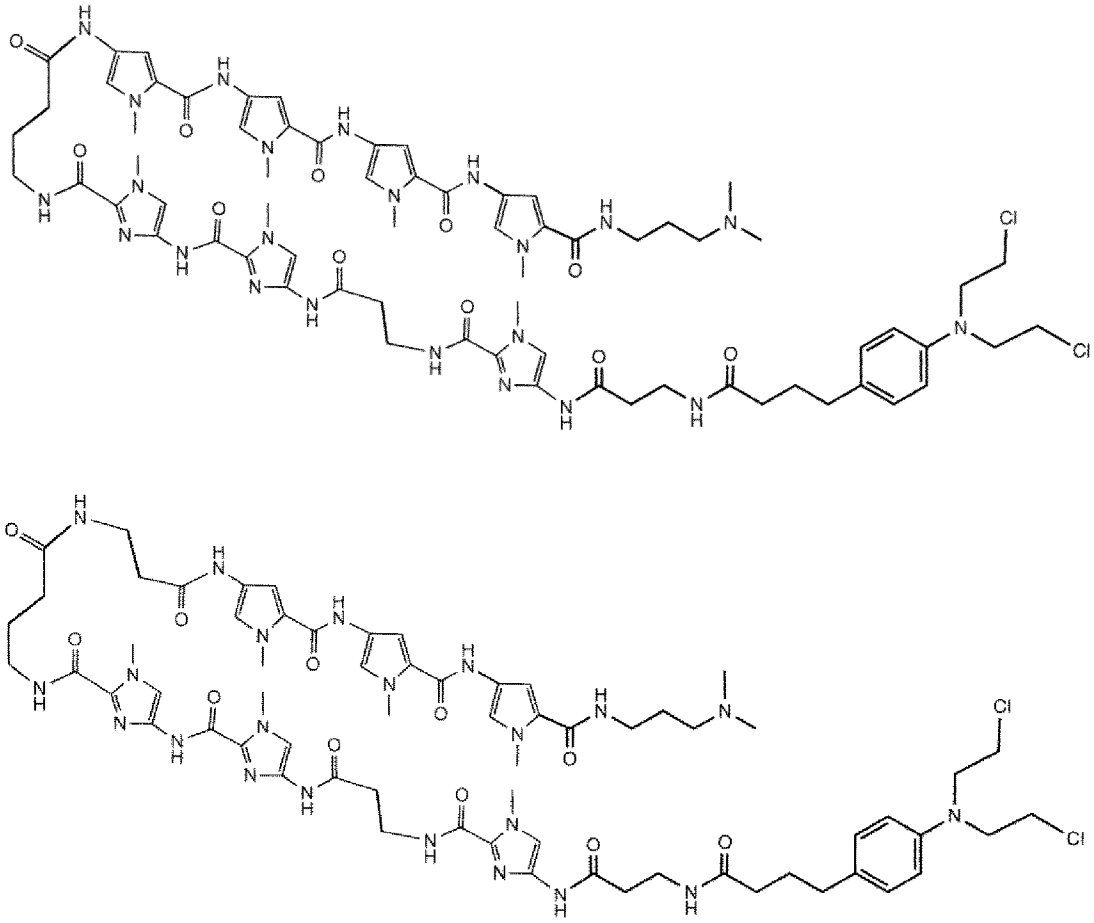
ｎは、０、１、２、３、４、または５を示し、好ましくは１、２、または３を示し、さらに好ましくはｎは１を示し、かつ、

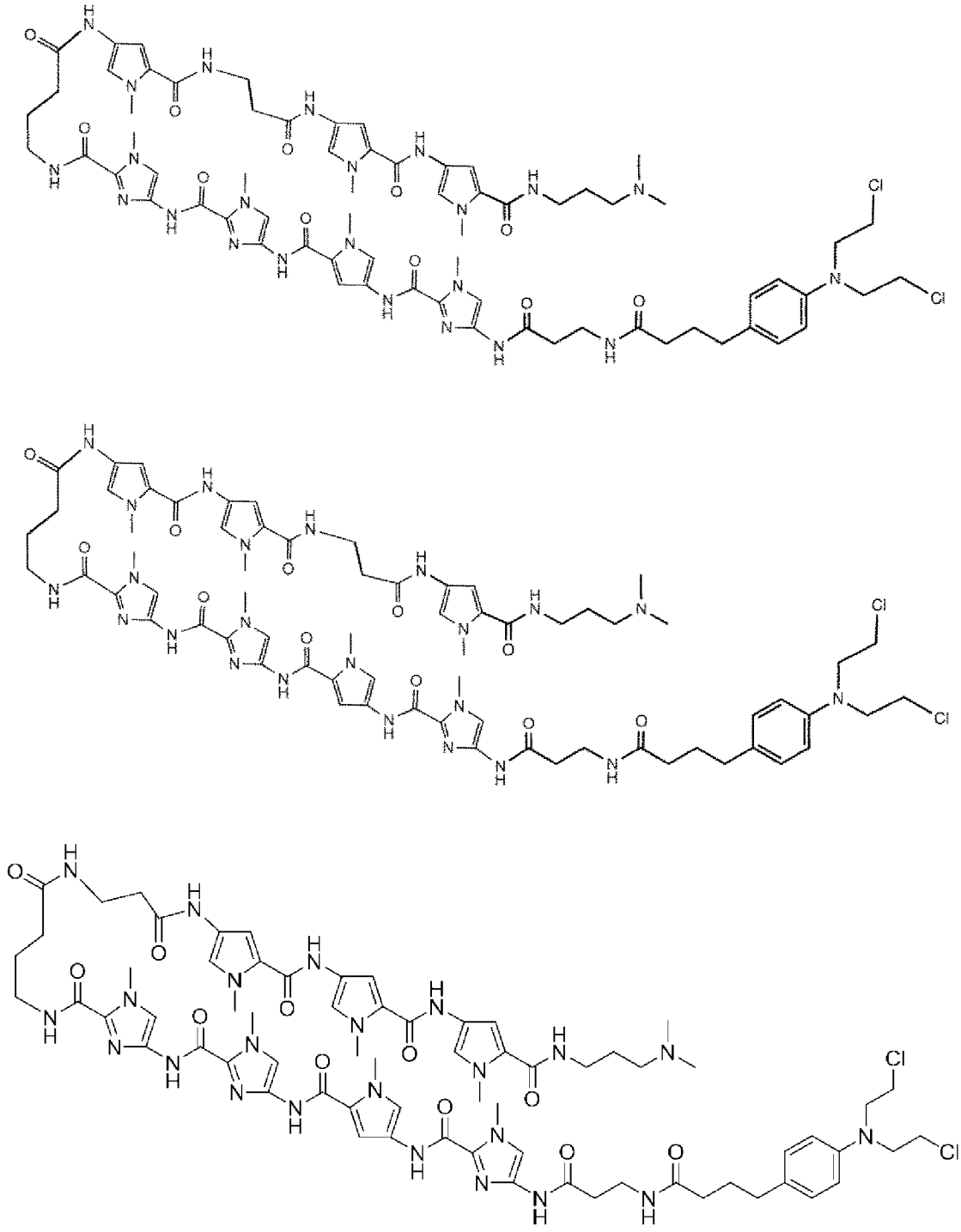
ピロール単位の少なくとも１つは、βアラニンによって置換されており、

好ましくはＮ末端またはＣ末端から２番目、３番目または４番目のピロール単位、さらに好ましくはＮ末端またはＣ末端から２番目または３番目のピロール単位がβアラニンによって置換されている。]

[0042] さらに、本開示の一態様において、クロラムブシルとＰＩポリアミドとの複合体の具体例としては、下記の化合物が挙げられる。

[化31]





[0043] ＰＩポリアミドと作用剤との複合体は、薬理学的に許容し得る塩の形態であってもよい。例えば、塩酸塩、硫酸塩、リン酸塩もしくは臭化水素酸塩等の無機酸塩、または酢酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、シュウ酸塩、クエン酸塩、メタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩もしくはトルエンスルホン酸塩等の有機酸塩が挙げられる。

[0044] 上記複合体は、ＰＩポリアミド、作用剤、および／またはＰＩポリアミドと作用剤とを連結するリンカー部分の少なくとも１つ以上の部分または分子が、エナンチオマーもしくはジアステレオマーの形態またはこれらの混合物で存在し得る。上記複合体は、立体異性体の混合物またはそれぞれ純粋なもしくは実質的に純粋な異性体を包含する。上記複合体がジアステレオマーまたはエナンチオマーの形態で得られる場合、これらを当該技術で周知の慣用方法、例えば、クロマトグラフィーまたは分別結晶法等で分離することができる。

[0045] また、上記複合体は、ＰＩポリアミド、作用剤、および／またはＰＩポリアミドと作用剤とを連結するリンカー部分の少なくとも１つ以上の部分または分子上で、同位元素（例えば、^{3}Ｈ、^{13}Ｃ、^{14}Ｃ、^{15}Ｎ、^{18}Ｆ、^{32}Ｐ、^{35}Ｓ、^{125}Ｉ等）等で標識されていてもよく、または重水素変換体であってもよい。

[0046] ３．ＲＵＮＸ阻害剤

本開示において、ＲＵＮＸ阻害剤は、上記ＰＩポリアミドを含む組成物である。本発明のＲＵＮＸ阻害剤は、好ましくは、上記ＰＩポリアミドと作用剤との複合体を含んでいてもよい。本開示におけるＲＵＮＸ阻害剤のさらに好ましい例は、上記ＰＩポリアミドとアルキル化剤との複合体を含んでいる。

[0047] ＲＵＮＸコンセンサス結合配列は、ＲＵＮＸファミリーの各メンバーで共通の結合配列である。したがって、本開示において、ＲＵＮＸ阻害剤は、ゲノム上のＲＵＮＸコンセンサス結合配列を認識するように設計された上記ＰＩポリアミドを含むため、ＤＮＡへのＲＵＮＸファミリーの各メンバーの結合によって引き起こされるあらゆる活性を阻害する。好ましくは、本開示におけるＲＵＮＸ阻害剤は、ゲノム上のＲＵＮＸコンセンサス結合配列に結合して、ＲＵＮＸファミリーメンバーの該結合配列への結合を阻害する。

[0048] ＲＵＮＸコンセンサス配列（ＲＵＮＸファミリー蛋白結合配列）は、様々な遺伝子の調節領域中に存在し、ＲＵＮＸファミリーメンバーは、調節領域

中にあるコンセンサス配列に結合することによって、様々な標的遺伝子の発現を制御する。したがって、ＲＵＮＸファミリーが関与する活性としては様々なものがあり、限定するものではないが、例えば、ｐ５３抑制因子（ＢＣＬ１１、ＴＲＩＭ２４など）を転写制御して活性化させる（すなわち癌では、ＲＵＮＸファミリーにより腫瘍抑制因子ｐ５３が恒常的に抑制されている）、フィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病（ＰｈＡＬＬ）の原因蛋白であるＢＣＲ－ＡＢＬを転写制御して増強させる、ＭＬＬ－ＡＦ４＋ＦＬＴ３－ＩＴＤ急性骨髄性白血病においてＭＬＬ－ＡＦ４を転写亢進させる、癌遺伝子ｃ－Ｍｙｃを転写制御して増強させる等が挙げられる。

[0049] 本開示において、ＲＵＮＸ阻害剤は、使用目的に応じ、上記ＰＩポリアミド、または上記ＰＩポリアミドと作用剤との複合体そのものであってもよく、あるいは上記ＰＩポリアミドまたは上記複合体に加えて、担体や添加物を含んでいてもよい。該担体および添加物としては、限定するものではないが、例えば、水、酢酸、有機溶剤、コラーゲン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシビニルポリマー、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム、アルギン酸ナトリウム、水溶性デキストラン、カルボキシメチルスターチナトリウム、ペクチン、メチルセルロース、エチルセルロース、キサンタンガム、アラビアゴム、カゼイン、寒天、ポリエチレングリコール、ジグリセリン、グリセリン、プロピレングリコール、ワセリン、パラフィン、ステアリルアルコール、ステアリン酸、ヒト血清アルブミン、マンニトール、ソルビトール、ラクトース、界面活性剤等が挙げられる。本発明のＲＵＮＸ阻害剤中における上記ＰＩポリアミドまたは複合体の含有量は、使用目的に応じて適宜調節することができる。

[0050] 本開示によれば、さらに、本発明のＲＵＮＸ阻害剤を用いることにより、ＲＵＮＸファミリーの活性を阻害する方法を提供する。本開示において、ＲＵＮＸファミリー阻害方法は、ＲＵＮＸ１、ＲＵＮＸ２、またはＲＵＮＸ３だけでなく、ＲＵＮＸファミリーの全てのメンバーが制御する遺伝子クラスター（標的遺伝子群）を一度に阻害することができる。

[0051] 本開示において、ＲＵＮＸ阻害剤の使用量は、使用目的によって適宜調節することができる。

[0052] 本開示によれば、また、本発明のＲＵＮＸ阻害剤を含むキットも提供される。該キットは、本開示におけるＲＵＮＸ阻害剤の他、医薬的に許容される担体や添加物、試薬類、補助剤、専用容器、その他の必要なアクセサリー、説明書等を含み得る。本発明のキットは、例えば、癌治療用キット、研究試薬キットとして使用することができる。

[0053] ４．医薬組成物

本開示において、医薬組成物は、上記ＰＩポリアミドを含む組成物である。本開示における医薬組成物は、好ましくは、上記ＰＩポリアミドと作用剤との複合体を含んでいてもよい。本開示における医薬組成物のさらに好ましい例は、上記ＰＩポリアミドとアルキル化剤との複合体を含んでいる。例えば、本開示における医薬組成物は、本明細書に開示されるＲＵＮＸ阻害剤を含んでいてもよい。

[0054] ＲＵＮＸコンセンサス配列（ＲＵＮＸファミリー蛋白結合配列）は、様々な遺伝子の調節領域中に存在する。ＲＵＮＸファミリーメンバーは、調節領域中にあるコンセンサス配列に結合することによって、様々な標的遺伝子の発現を制御する。このような標的遺伝子の例としては、限定するものではないが、ＣＢＦ白血病において高発現する遺伝子（例えば、ＩＬ３、ＣＳＦ２、ＣＳＦ２ＲＢ等）、ＲＵＮＸファミリー自身（ＲＵＮＸ１、ＲＵＮＸ２、ＲＵＮＸ３）、ｐ５３抑制因子（例えば、ＢＣＬ１１、ＴＲＩＭ２４等）、ｃ－ｋｉｔ遺伝子等が挙げられる。本発明の医薬組成物は、ゲノム上のＲＵＮＸコンセンサス結合配列を認識するように設計された上記ＰＩポリアミドを含むため、各ＲＵＮＸファミリーメンバーが標的とする様々な遺伝子の発現をダウンレギュレートする。好ましくは、本発明の医薬組成物は、ゲノム上のＲＵＮＸコンセンサス結合配列に結合して、ＲＵＮＸファミリーメンバーの該結合配列への結合を阻害する。

[0055] 本開示における医薬組成物を生体内に投与することにより、種々の疾患を

治療および予防をすることができる。本開示における医薬組成物は、二本鎖ＤＮＡを生体制御に利用するあらゆる生物、特に哺乳動物（例、ヒト、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サル等）に使用することができる。

[0056] 本開示おける医薬組成物の対象疾患は、ＲＵＮＸファミリーメンバーが関与するあらゆる疾患である。本開示における医薬組成物の対象疾患の例としては、腫瘍、特に癌が挙げられ、例えば、限定するものではないが、白血病（例えば、急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病）、骨髄異形成症候群由来白血病、リンパ腫、骨髄腫、多発性骨髄腫、肺癌、食道癌、胃癌、大腸癌、腎細胞癌、神経芽細胞腫、乳癌、皮膚癌（例えば、メラノーマ）、卵巣癌、肝芽腫、骨肉腫、ユーイング肉腫、前立腺癌、膵臓癌、肝臓癌、横紋筋肉腫、子宮癌、脳腫瘍等を挙げることができる。したがって、本開示における医薬組成物として、特に、上記ＰＩポリアミドまたは上記ＰＩポリアミドと作用剤との複合体を含む抗腫瘍組成物が提供される。好ましくは、本開示における抗腫瘍組成物は、上記ＰＩポリアミドとアルキル化剤との複合体を含んでいる。

[0057] 本開示における医薬組成物の対象疾患の例として、さらに、マスト細胞腫瘍、および肥満細胞症（Mastocytosis）（例えば、マスト細胞増加症、重症アレルギー疾患、アトピー性皮膚炎、アナフィラキシーショック、重症気管支喘息発作、重症薬剤性皮膚炎など）等のマスト細胞疾患、各種アレルギー、および免疫疾患が挙げられる。マスト細胞は、アレルギーと関係の深いＩｇＥ抗体に対する特異的な受容体ＦｃｅＲＩと、幹細胞因子（ＳＣＦ）というサイトカインの受容体であるｃ－ｋｉｔの両方を細胞表面に発現する細胞として定義される。マスト細胞は、機械的または化学的な刺激を受けたり、異種タンパクなどのアレルギー物質に触れたりすると、脱顆粒により顆粒内容物（ヒスタミン、ヘパリン等）を細胞外へ放出し、アレルギー反応を引き惹起することが知られている。本開示における医薬組成物は、マスト細胞の活性化によって引き起こされる全ての症状または疾患を抑制、治療、または

予防することができる。したがって、本開示における医薬組成物として、特に、上記ＰＩポリアミドまたは上記ＰＩポリアミドと作用剤との複合体を含む抗アレルギー組成物が提供される。好ましくは、本発明の抗アレルギー組成物は、上記ＰＩポリアミドとアルキル化剤との複合体を含んでいる。例えば、本開示における抗アレルギー組成物は、本明細書に開示されるＲＵＮＸ阻害剤を含んでいる。

[0058] なお、発明者らは、以前の研究において、ＲＵＮＸ結合配列を標的としたＰＩポリアミドとアルキル化剤との複合体がマスト細胞においてｃ－ｋｉｔ（幹細胞因子受容体チロシンキナーゼ）の発現を抑制することを見出した（特許文献１）。したがって、同じＲＵＮＸ結合配列を標的とする本開示における医薬組成物もまた、同様にｃ－ｋｉｔの発現を抑制する。したがって、本開示における医薬組成物は、マスト細胞の活性化によって引き起こされる全ての症状または疾患を抑制、治療、または予防することができる。

[0059] 本開示における医薬組成物は、経口投与および非経口投与のいずれの剤形でもよい。これらの剤形は常法にしたがって製剤化することができ、医薬的に許容される担体や添加物を含むものであってもよい。このような担体および添加物として、水、酢酸、医薬的に許容される有機溶剤、コラーゲン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシビニルポリマー、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム、アルギン酸ナトリウム、水溶性デキストラン、カルボキシメチルスターチナトリウム、ペクチン、メチルセルロース、エチルセルロース、キサンタンガム、アラビアゴム、カゼイン、寒天、ポリエチレングリコール、ジグリセリン、グリセリン、プロピレングリコール、ワセリン、パラフィン、ステアリルアルコール、ステアリン酸、ヒト血清アルブミン、マンニトール、ソルビトール、ラクトース、医薬添加物として許容される界面活性剤等が挙げられる。

[0060] 上記添加物は、本開示における医薬組成物の剤型に応じて上記の中から単独でまたは適宜組み合わせから選ばれる。剤形としては、経口投与の場合は、錠剤、カプセル剤、細粒剤、粉末剤、顆粒剤、液剤、シロップ剤、噴霧剤

、塗布剤、点眼剤、外用剤等として、または適当な剤型により投与が可能である。非経口投与の場合は、注射剤型等が挙げられる。注射剤型の場合は、例えば点滴等の静脈内注射、皮下注射、腹腔内注射、腫瘍内注射等により全身または局部的に投与することができる。

[0061] 例えば、注射用製剤として使用する場合、本開示における医薬組成物を溶剤（例えば、生理食塩水、緩衝液、ブドウ糖溶液、０．１％酢酸等）に溶解し、これに適当な添加剤（ヒト血清アルブミン、ＰＥＧ、マンノース修飾デンドリマー、シクロデキストリン結合体等）を加えたものを使用することができる。あるいは、使用前に溶解する剤形とするために凍結乾燥したものであってもよい。凍結乾燥用賦形剤としては、例えば、マンニトール、ブドウ糖等の糖アルコールや糖類を使用することができる。

[0062] 本開示における医薬組成物の投与量は、年齢、性別、症状、投与経路、投与回数、剤型によって異なる。投与量は、例えば成人（６０ｋｇ）の場合、１日当たり０．０１～１０００ｍｇ、好ましくは０．１～１００ｍｇ、より好ましくは１～３０ｍｇである。投与方法は、患者の年齢、症状により適宜選択する。投与は、例えば数日間隔に１回、１日当たり、１回または２～４回に分けてもよい。

[0063] 本開示における医薬組成物、特に抗腫瘍組成物は、他の抗腫瘍剤と併用することができる。他の抗腫瘍剤としては、特定の癌を治療するために使用されるいずれかの抗腫瘍剤、またはｐ５３誘導剤が挙げられる。他の抗腫瘍剤としては、既知のいずれの抗腫瘍剤を使用してもよく、例えば、シタラビン（Cytarabine）、イマチニブ（Imatinib）、ゲフィチニブ（Gefitinib）、ＰＲＩＭＡ－１、ＭＩＲＡ－１、Ｎｕｔｌｉｎ３等が挙げられる。本開示における医薬組成物と他の抗腫瘍剤との投与比率は、特に限定されず、所望の抗腫瘍効果が得られるように当業者が適宜決定すればよい。

[0064] 以下に実施例を挙げて本発明をさらに具体的に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

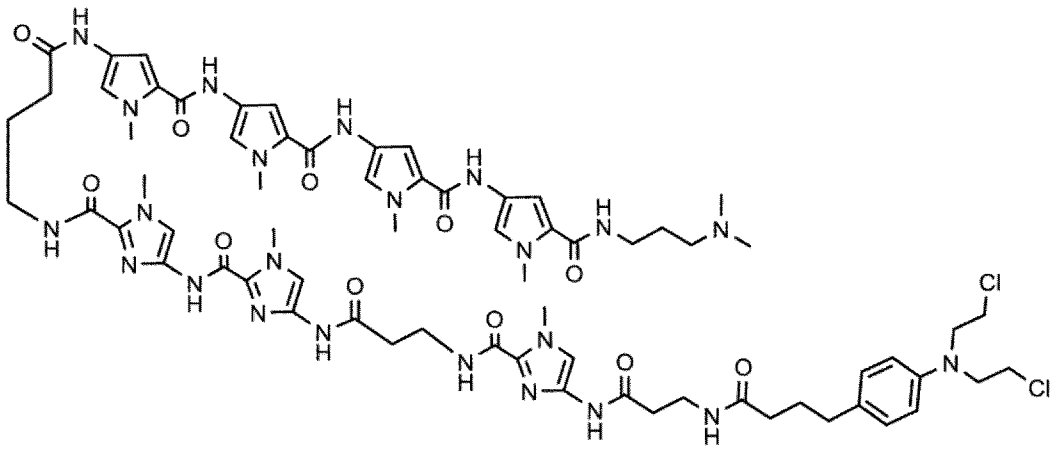
実施例

[0065] 実施例１：ＰＩポリアミドおよびコンジュゲートの合成

４つのピロール－イミダゾール対の連続的な結合により、５’－ＴＧＴＧＧＴ－３’のＲＵＮＸコンセンサス結合配列を特異的に認識するＰＩポリアミドであって、１つのピロール単位がβアラニンによって置換されたＰＩポリアミドを設計し、該ＰＩポリアミドはとクロラムブシルとのコンジュゲート（Ｃｈｂ－Ｍ）合成した。対照として、ピロール単位がβアラニンによって置換されていないＰＩポリアミドとクロラムブシルとのコンジュゲート（Ｃｈｂ－Ｍ’）を合成した。

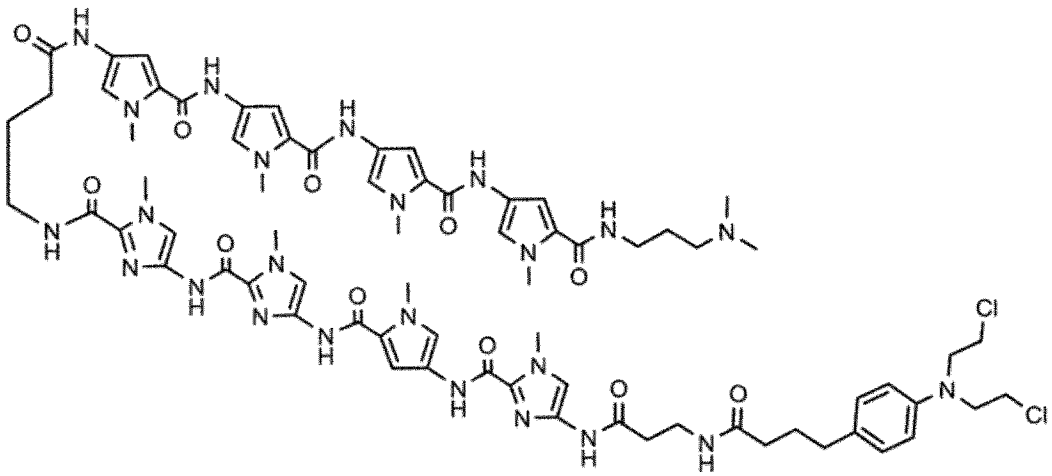
[0066] Ｃｈｂ－Ｍ

[化32]



[0067] Ｃｈｂ－Ｍ’

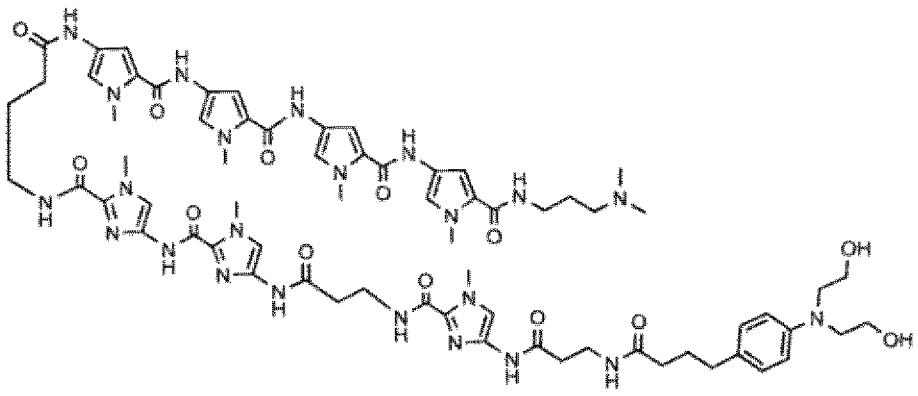
[化33]



[0068] さらに、上記ＰＩポリアミドの標的ＤＮＡに対する結合アフィニティー実験（実施例２）のために、Ｃｈｂ－ＭおよびＣｈｂ－Ｍ’のクロロ基をヒドロキシ基に置換したコンジュゲート（以下、各々、「Ｃｈｂ－Ｍのヒドロキシ置換体」および「Ｃｈｂ－Ｍ’のヒドロキシ置換体」という）を製造した。

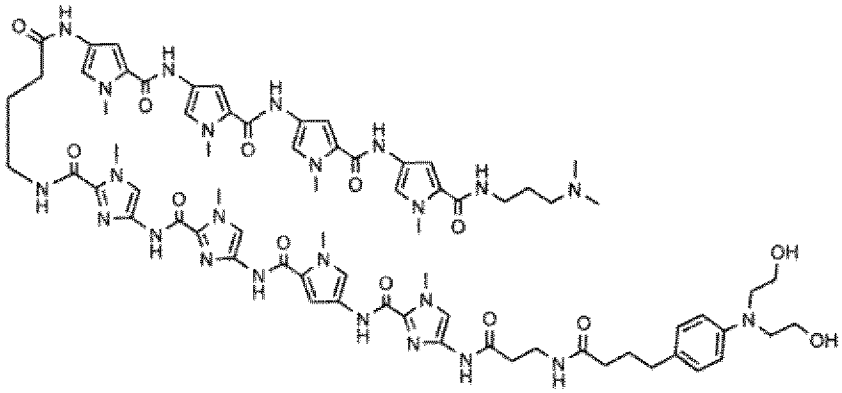
[0069] Ｃｈｂ－Ｍのヒドロキシ置換体

[化34]



[0070] Ｃｈｂ－Ｍ’のヒドロキシ置換体

[化35]



[0071] 一般的記載

試薬および溶媒は、標準的な供給元から入手し、さらに精製することなく使用した。ＰＳＳＭ－８システム（Shimadzu）を用いて自動ポリアミド合成を行った。高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）分析は、ＪＡＳＣＯ ＰＵ－２０８０ Ｐｌｕｓポンプ、ＪＳＣＯ ＵＶ－２０７５ Ｐｌｕｓ

ＵＶ／ｖｉｓ検出器、Ｃｈｅｍｃｏｂｏｎｄ５－ＯＤＳ－Ｈ４．６ｍｍ×１５０ｍｍカラム（Chemo Plus Scientific）で行った。移動相は、流速１．０ｍＬ／分のアセトニトリル－ＴＦＡ（水中０．１％、ｖ／ｖ）であった。マトリックス支援レーザー脱離／イオン化マススペクトロメトリー（MALDI-TOF MS）をＭｉｃｒｏｆｌｅｘ－ＫＳＩＩ（Bruker Daltonics）上で得た。ＴＡ３０（０．１％ＴＦＡ／ＭｅＣＮ＝７／３）中の飽和ＨＣＣＡ（α－シアノ－４－ヒドロキシ桂皮酸）をペプチド較正基準と共にマトリックスに用いた。

[0072] 合成

以前に報告されたＦｍｏｃ固相合成法によってＰＩポリアミドを合成した。全ての合成においてオキシム樹脂を用いた。

[0073] Ｃｈｂ－Ｍ

粗精製物をＨＰＬＣによって精製し、保持時間は１４．２分であった（流速１．０ｍＬ／分で２０分間の直線勾配による３３－４３％アセトニトリルを含有する０．１％ＴＦＡで、２５４ｎｍで検出された）。MALDI-TOFMSスペクトル： m/z $C_{68}H_{88}Cl_2N_{23}O_{11}^+$ $[M + H]^+$ の計算値1472.641、実測値1472.632

[0074] Ｃｈｂ－Ｍ’

粗精製物をＨＰＬＣによって精製し、保持時間は１３．４分であった（流速１．０ｍＬ／分で２０分間の直線勾配による３３－４３％アセトニトリルを含有する０．１％ＴＦＡで、２５４ｎｍで検出された）。MALDI-TOFMSスペクトル： m/z $C_{71}H_{89}Cl_2N_{24}O_{11}^+$ $[M + H]^+$ の計算値1523.651、実測値 1523.608

[0075] Ｃｈｂ－Ｍのヒドロキシ置換体

Ｃｈｂ－Ｍ（１．２ｍｇ、０．８３μｍｏｌ）をＭｅＣＮ／０．１％ＴＦＡ（２：５）の混合物中に溶解し、４５℃で２４時間攪拌した。該混合物をＨＰＬＣによって精製した、標的産物の最終重量は０．８４ｍｇであった（０．５８μｌ、７０％収率）。保持時間は８．９３分であった（流速１．０ｍＬ／分で２０分間の直線勾配による０－１００％アセトニトリルを含有する０．１％ＴＦＡで、２５４ｎｍで検出された）。MALDI-TOFMSスペクトル：

m/z $C_{68}H_{90}N_{23}O_{13}^{+}$ [M + H]$^{+}$ の計算値1436.708、実測値 1436.668

[0076] Ｃｈｂ－Ｍ’のヒドロキシ置換体

Ｃｈｂ－Ｍ’（１．８ｍｇ、１．２μｍｏｌ）をＭｅＣＮ／０．１％ＴＦＡ（２：５）の混合物中に溶解し、４０℃で２日間攪拌した。該混合物をＨＰＬＣによって精製した、標的産物の最終重量は１．１ｍｇであった（０．７５μｌ、６５％収率）。保持時間は９．９２分であった（流速１．０ｍＬ／分で２０分間の直線勾配による０－１００％アセトニトリルを含有する０．１％ＴＦＡで、２５４ｎｍで検出された）。MALDI-TOFMSスペクトル： m/z $C_{71}H_{91}N_{24}O_{13}^{+}$ [M + H]$^{+}$ の計算値1487.719、実測値 1487.715

[0077] 実施例２：Ｃｈｂ－Ｍの標的ＤＮＡに対する結合アフィニティー

Ｃｈｂ－ＭおよびＣｈｂ－Ｍ’の結合アフィニティーを、Ｃｈｂ－ＭおよびＣｈｂ－Ｍ’のヒドロキシ置換体を用いて比較した。標的配列（５’－ＴＧＴＧＧＴ－３’）を含むビオチン化したヘアピンＤＮＡを、ビオチンおよびストレプトアビジンの複合体を形成させることによってセンサーチップ上に固定化した。結合特性は、ＳＰＲ（表面プラズモン共鳴）によって評価した。

[0078] 本実施例および他の実施例において、ＰＩポリアミドコンジュゲートの濃度は、以下のように測定した。ＤＭＦ溶液中における約３０５ｎｍでのＰＩポリアミドのモル吸光度係数εを下記式：

ε＝９９００×（ピロールおよびイミダゾールの数）

にしたがって計算した。ＰＩポリアミドコンジュゲートの濃度は、ランベルト・ベールの法則によって決定した。

Ａｂｓ＝εｃｌ

［式中、Ａｂｓ、ｃおよびｌは各々、吸光度、モル濃度、および経路長を示す。］

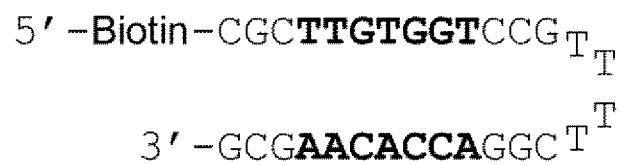
ＮａｎｏＤｒｏｐ １０００スペクトロフォトメーター（Thermo Fisher Scientific Inc.）を吸光度の測定に用いた。

[0079] ＳＰＲ実験は、Ｂｉａｃｏｒｅ Ｘ装置（GE Healthcare社製）上で実施し

た。ビオチン化したヘアピンＤＮＡ（５’－ビオチン－ＣＧＣＴＴＧＴＧＧＴＣＣＧＴＴＴＴＣＧＧＡＣＣＡＣＡＡＧＣＧ－３’）をSIGMA-Aldrichから購入した。ストレプトアビジン－官能化ＳＡセンサーチップはBiacoreから購入した。ビオチン化ＤＮＡをセンサーチップ上に固定化して、所望の固定レベルを得た（約９００ＲＵ上昇する）。ＳＰＲアッセイは、ＨＢＳ－ＥＰバッファー（１０ｍＭ　ＨＰＥＳ（ｐＨ７．４）、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、３ｍＭ　ＥＤＴＡ、および０．００５％Ｓｕｒｆａｃｔａｎｔ　Ｐ２０）を０．１％ＤＭＳＯと共に２５℃で用いて実施した。種々の濃度を有するＰＩポリアミドコンジュゲート溶液を、０．１％ＤＭＳＯを含有するバッファー中で調製し、流速２０μＬ／分でインジェクトした。結合速度（ｋａ）、解離速度（ｋｄ）、および解離定数（K_D）を計算するために、ＢＩＡｅｖａｌｕａｔｉｏｎ　４．１プログラムを用いて、物質移動を有する１：１結合モデル（1:1 binding model with mass transfer）を用いて、データプロセッシングを行った。得られたセンサーグラム、およびｋａ、ｋｄおよびK_Dの値を図１および表１に示す。

[0080] 標的配列を含むビオチン化したヘアピンＤＮＡ

[化36]



[0081] [表1]

表１．結合アフィニティー

ｺﾝｼﾞｭｹﾞｰﾄ	$k_a(M^{-1}s^{-1})$	$k_d(s^{-1})$	$K_D(M)$	x^2
Chb-M'のﾋﾄﾞﾛｷｼ置換体	4.85×10^{4}	3.64×10^{-2}	7.51×10^{-7}	0.828
Chb-Mのﾋﾄﾞﾛｷｼ置換体	4.13×10^{6}	7.36×10^{-3}	1.78×10^{-9}	2.69

＊物質移動を有する１：１結合モデルに適合させることによって決定した。

[0082] 表１および図１ＡおよびＢから明らかなように、Ｃｈｂ－ＭはＣｈｂ－Ｍ’よりも標的に対する結合アフィニティーが１００倍以上高かった。

[0083] 実施例３：Ｃｈｂ－ＭのＤＮＡアルキル化活性

Ｃｈｂ－ＭおよびＣｈｂ－Ｍ’のＤＮＡアルキル化活性をポリアクリルアミドゲル電気泳動（ＰＡＧＥ）分析によって試験した。Ｃｈｂ－ＭおよびＣｈｂ－Ｍ’を用いて、ＤＮＡフラグメントをアルキル化した。アルキル化は室温で１８時間行った。アルキル化部位を視覚化するために、サンプルを９５℃で１０分間加熱し、次いで、１Ｍピペリジン処理を９５℃で２５分間行った。アルキル化されたＤＮＡは熱処理によって切断された。ピペリジン処理は、修飾された糖末端を３’－リン酸末端に変換する。３’－リン酸末端を有するＤＮＡフラグメントをアルキル化バンドとしてゲル上で観察した。

[0084] 本実施例で使用した全てのオリゴヌクレオチド（Sigma-Aldrichから購入）を表２に示す。

[0085] [表2]

表２．本実施例で使用したオリゴヌクレオチド

オリゴ番号	配列（５’→３’）
ODN 1 (30 bp)	FAM-ATTACCACATTAACCACAATTACCACATAT
ODN 2 (30 bp)	ATATGTGGTAATTGTGGTTAATGTGGTAAT
ODN 3 (17 bp)	FAM-ATTACCACATTAACCAC
ODN 4 (18 bp)	FAM-ATTACCACATTAACCACA
ODN 5 (30 bp)	FAM-ATATGTGGTAATTGTGGTTAATGTGGTAAT
ODN 6 (30 bp)	ATTACCACATTAACCACAATTACCACATAT
ODN 7 (10 bp)	FAM-ATATGTGGTA
ODN 8 (13 bp)	FAM-ATATGTGGTAATT

[0086] ５’－ＦＡＭ標識ＤＮＡフラグメント（３０ｂｐ）の調製

ＤＮＡサンプルをＴＮＥバッファー（１０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ（ｐＨ７．５）、１００ｍＭ　ＮａＣｌ、１ｍＭ　ＥＤＴＡ）中で調製した。２つのＤＮＡフラグメント（３０ｂｐ）を、各鎖（ＯＤＮ１：５’－ＦＡＭ－ＡＴＴＡＣＣＡＣＡＴＴＡＡＣＣＡＣＡＡＴＴＡＣＣＡＣＡＴＡＴ－３’、およびＯＤＮ２：５’－ＡＴＡＴＧＴＧＧＴＡＡＴＴＧＴＧＧＴＴＡＡＴＧＴＧＧＴＡＡＴ－３’）１０μＭを含有する１００μＬ最終容量においてアニールした。アニーリングは６５℃で１０分間加熱し、次いで、徐々に室温に冷却することによって行った。相補的ＦＡＭ標識フラグメント（３０ｂｐ）

は、他のＤＮＡフラグメント（ＯＤＮ５：５’－ＦＡＭ－ＡＴＡＴＧＴＧＧＴＡＡＴＴＧＴＧＧＴＴＡＡＴＧＴＧＧＴＡＡＴ－３’、およびＯＤＮ６：５’－ＡＴＴＡＣＣＡＣＡＴＴＡＡＣＣＡＣＡＡＴＴＡＣＣＡＣＡＴＡＴ－３’）を用いて同じ手法によって調製した。ＯＤＮ３および４ならびにＯＤＮ７および８は、参照ＤＮＡとして用いた。ＯＤＮ２およびＯＤＮ６を除く全てのＯＤＮは、５’－末端ＦＡＭ標識された。

[0087] ポリアクリルアミドゲル電気泳動（ＰＡＧＥ）

５’－ＦＡＭ標識ＤＮＡフラグメント（１μＭ）を、１０％ＤＭＦを含有する５．０ｍＭリン酸ナトリウムバッファー（ｐＨ７．０）１０μＬ中、２３℃で１８時間、ＰＩポリアミドコンジュゲートによってアルキル化した。アルキル化されたＤＮＡフラグメントを９５℃で１０分間加熱した。１．０Ｍピペリジン１μＬを各サンプルに加え、９５℃で２５分間加熱した。該サンプルを真空遠心分離によって回収した。ペレットを５μＬのローディングバッファー（ニューフクシンを含有するホルムアミド）中に溶解し、９５℃で２５分間加熱した後、０℃に急冷した。サンプルを、７．０Ｍ尿素を含有する２０％ポリアクリルアミドゲル上にロードし、１×ＴＢＥバッファー中で電気泳動した（室温、２００Ｖ、２時間）。ＦＬＡ－３０００蛍光画像アナライザー（FujiFilm, Tokyo, Japan）上でゲルを画像化した。

[0088] 結果

図２Ａに、上の鎖についてのアルキル化活性の結果を示す。２つのバンドがＯＤＮ３およびＯＤＮ４と同じ位置で観察されたので、Ｃｈｂ－Ｍ’は、標的配列中の２つのアデニンをアルキル化した。一方、Ｃｈｂ－Ｍは、１つの部位のみをアルキル化した。ミスマッチ部位に弱いアルキル化バンドも観察されたが、Ｃｈｂ－Ｍは、Ｃｈｂ－Ｍ’よりも標的配列においてより高い配列特異性を有した。さらに、バンドの濃さから、Ｃｈｂ－Ｍのアルキル化活性がＣｈｂ－Ｍ’よりも優れていることが示された。したがって、βアラニンの導入により、ＰＩポリアミドの配列特異性およびアルキル化活性の両方が増加した。下の鎖についてのアルキル化活性の結果は、Ｃｈｂ－ＭとＣ

ｈｂ－Ｍ’との間に配列特異性の差異が無いことを示した（図２Ｂ）。

[0089] 実施例４：Ｃｈｂ－Ｍによる肺癌細胞系統に対する細胞毒性

肺癌細胞に対するＣｈｂ－Ｍの細胞毒性効果を評価するために、各種肺癌細胞株に対する５０％阻害濃度（IC_{50}）を求めた。肺癌細胞株として、ＥＧＦＲ変異型肺癌細胞株（ＰＣ３、ＰＣ９、ＬＵ９９Ａ）、ＥＧＦＲ野生型細胞株（Ａ５４９、ＡＢＣ１、ＲＥＲＦＬＣＭＳ）を用いた。対照として、分子標的薬であるゲフィチニブ（ｇｅｆｉｔｉｎｉｂ）（ＥＧＦＲ阻害剤）、分子標的薬ではない従来の肺癌に対する頻用薬剤シスプラチン（ｃｉｓｐｌａｔｉｎ）、およびＣｈｂ－Ｍ’を用いた。

[0090] 成長阻害アッセイのために、細胞を１×１０^{5}細胞／ｍＬ密度にした。種々の濃度のゲフィチニブ（ＥＧＦＲ阻害剤）、シスプラチン、Ｃｈｂ－Ｍ’、またはＣｈｂ－Ｍを培地に加え、７２時間インキュベートした。細胞生存能力を、Ｃｅｌｌ　Ｃｏｕｎｔ　Ｒｅａｇｅｎｔ　ＳＦ（nacalai tesque, Inc.）およびＩｎｆｉｎｉｔｅＲ　２００　ＰＲＯマルチモードリーダー（TECAN）を用いて、製造者の指示書にしたがって、生存細胞をカウントすることによって評価した。増殖を５０％阻害する用量は、半有効法（median-effect method)(Chou, T. C. & Talalay, P. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. Adv Enzyme Regul 22, 27-55 (1984)）によって分析した。結果を表３に示す。

[0091] [表3]

肺癌細胞株比較

IC50 value (μM)

72hrs		gefitinib	cisplatin	Chb-M'	Chb-M
EGFR変異型	PC3 (n=1)	0.034	>10	>10	>10
	PC9	0.007	0.154	0.395	0.270
	LU99A	3.340	1.970	8.970	1.580
EGFR野生型	A549	0.088	0.149	0.117	0.106
	ABC1	0.581	0.760	0.859	0.578
	RERFLCMS	0.360	0.465	0.123	0.032

[0092] 実施例５：Ｃｈｂ－Ｍによる脳腫瘍細胞系統に対する細胞毒性

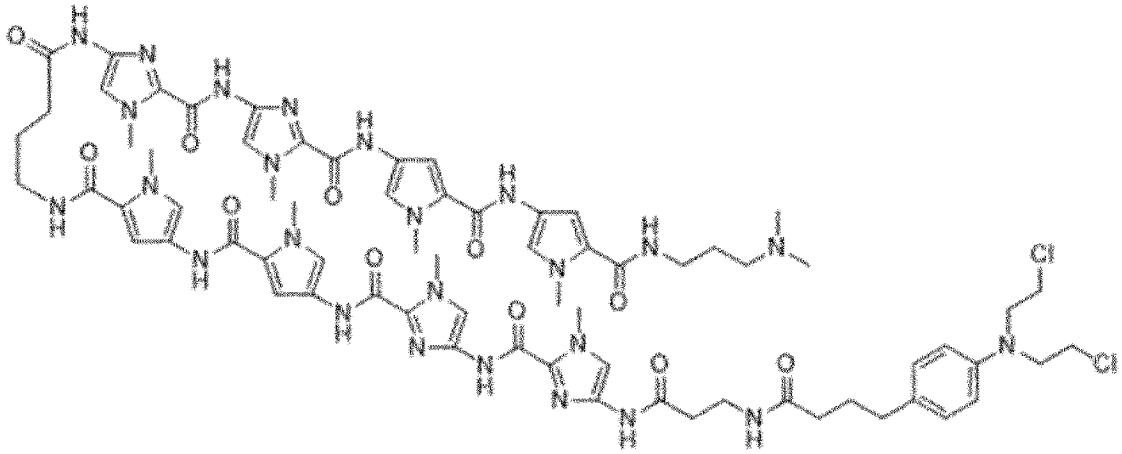
脳腫瘍細胞に対するＣｈｂ－Ｍの細胞毒性効果を評価するために、各種脳腫瘍細胞株に対する５０％阻害濃度（ＩＣ$_{50}$）を求めた。

[0093] （１）髄芽腫細胞株Ｄａｏｙに対する抗腫瘍効果

脳腫瘍細胞株として、髄芽腫細胞株Ｄａｏｙ（ＡＴＣＣ^{R} ＨＴＢ－１８６^{TM}）細胞（ＡＴＣＣより入手）を用いた。対照として、Ｃｈｂ－Ｍ’、Ｃｈｂ－Ｓ、およびクロラムブシルを用いた。なお、Ｃｈｂ－Ｓは、５’－ＷＧＧＣＣＷ－３’配列（ここで、ＷはＡもしくはＴのいずれかである）を標的とするＰＩポリアミドとクロラムブシルとのコンジュゲートであり、実施例１と同様の手法により合成した。Ｃｈｂ－Ｓの化学式を下記に示す。

[0094] Ｃｈｂ－Ｓ

[化37]



[0095] 成長阻害アッセイのために、髄芽腫細胞株Ｄａｏｙを１×１０^{5}細胞／ｍＬ密度にした。種々の濃度のＰＩポリアミド（Ｃｈｂ－Ｍ、Ｃｈｂ－Ｍ’、Ｃｈｂ－Ｓ）とＣｈｂ（クロラムブシル）を培地に加え、７２時間インキュベートした。細胞生存能力を、Ｃｅｌｌ Ｃｏｕｎｔ Ｒｅａｇｅｎｔ ＳＦ（nacalai tesque, Inc.）およびＩｎｆｉｎｉｔｅＲ ２００ ＰＲＯマルチモードリーダー（TECAN）を用いて、製造者の指示書にしたがって、生存細胞をカウントすることによって評価した。増殖を５０％阻害する用量は、半有効法によって分析した。

[0096] 結果を図３に示す。図３から明らかなように、Ｃｈｂ－ＭのＩＣ$_{50}$（０．７５４μＭ）は、対照と比べてはるかに低濃度であった。

[0097] （２）悪性グリオーマに対する抗腫瘍効果

最も予後が不良である組織型の脳腫瘍として知られる悪性グリオーマに対するＣｈｂ－Ｍの効果を評価するために、７２時間および９６時間のＩＣ$_{50}$を求めた。悪性グリオーマ細胞株２種類（Ａ１７２細胞、ＫＡＬＳ－１細胞）を１×１０^{5}細胞／ｍＬ密度にした。種々の濃度のＣｈｂ－Ｍ、Ｃｈｂ－Ｍ’、またはＣｈｂ（クロラムブシル）を培地に加え、７２時間インキュベートした。細胞生存能力を、Ｃｅｌｌ Ｃｏｕｎｔ Ｒｅａｇｅｎｔ ＳＦ（nacalai tesque, Inc.）およびＩｎｆｉｎｉｔｅＲ ２００ ＰＲＯマルチモードリーダー（TECAN）を用いて、製造者の指示書にしたがって、生存細胞をカウントすることによって評価した。増殖を５０％阻害する用量は、半有効法（median-effect method）によって分析した。

[0098] 結果を図４ＡおよびＢに示す。図４Ａから明らかなように、Ａ１７２細胞に対するＣｈｂ－ＭのＩＣ$_{50}$（７２時間０．５３１μＭおよび９６時間０．４２１μＭ）は、対照Ｃｈｂ－Ｍ’（７２時間２３．０６６μＭおよび９６時間６．６７７μＭ）と比べてはるかに低濃度であった。また、図４Ｂから明らかなように、ＫＡＬＳ－１細胞に対するＣｈｂ－ＭのＩＣ$_{50}$（７２時間０．２１４μＭおよび９６時間０．７３８μＭ）は、対照Ｃｈｂ－Ｍ’（９６時間４４．８２μＭ）と比べてはるかに低濃度であった。

[0099] （３）小児脳腫瘍（悪性ラブドイド腫瘍）に対する抗腫瘍効果

小児脳腫瘍（悪性ラブドイド腫瘍）に対するＣｈｂ－Ｍの効果を評価するために、７２時間のＩＣ$_{50}$を評価した。悪性ラブドイド腫瘍細胞株２種類（ＭＰ－ＭＲＴ－ＡＮ細胞、ＫＰ－ＭＲＴ－ＮＳ細胞）は、京都府立医科大学大学院医学研究科　桑原康通医師よりＭＴＡを締結し入手した。各々の細胞株を１×１０^{5}細胞／ｍＬ密度にした。種々の濃度のＣｈｂ－Ｍ、Ｃｈｂ－Ｍ’、Ｃｈｂ－Ｓ、またはＣｈｂを培地に加え、７２時間インキュベートした。細胞生存能力を、Ｃｅｌｌ Ｃｏｕｎｔ Ｒｅａｇｅｎｔ ＳＦ（nacalai

tesque, Inc.）およびＩｎｆｉｎｉｔｅＲ　２００　ＰＲＯマルチモードリーダー（TECAN）を用いて、製造者の指示書にしたがって、生存細胞をカウントすることによって評価した。増殖を５０％阻害する用量は、半有効法（median-effect method）によって分析した。

[0100] 結果を図５に示す。図５から明らかなように、ＭＰ－ＭＲＴ－ＡＮ細胞に対するＣｈｂ－ＭのＩＣ$_{50}$（１．１４μＭ）は、Ｃｈｂ－Ｍ’（１．２２μＭ）と同程度であったが、Ｃｈｂ－ＳおよびＣｈｂと比べてはるかに低濃度であった。また、ＫＰ－ＭＲＴ－ＮＳ細胞に対するＣｈｂ－ＭのＩＣ$_{50}$（１．０７μＭ）は、Ｃｈｂ－Ｍ’（２．１３μＭ）と比べて低濃度であった。

[0101] 実施例６：Ｃｈｂ－Ｍによる前立腺癌細胞系統に対する細胞毒性

ＣＲＰＣ－Ａｄｅｎｏ：外科切除不応性前立腺癌（腺癌）に対するＣｈｂ－Ｍの抗腫瘍効果を評価するために、７２時間のＩＣ$_{50}$を求めた。外科切除不応性前立腺癌（腺癌）細胞株：ＤＵ１４５細胞（ＤＵ　１４５（ＡＴＣＣ^{R} ＨＴＢ－８１™）：ＡＴＣＣより購入）を１×１０^{5}細胞／ｍＬ密度にした。種々の濃度のＣｈｂ－Ｍ、Ｃｈｂ－Ｍ’、Ｃｈｂ－Ｓ、またはＣｈｂを培地に加え、７２時間インキュベートした。細胞生存能力を、Ｃｅｌｌ　Ｃｏｕｎｔ　Ｒｅａｇｅｎｔ　ＳＦ（nacalai tesque, Inc.）およびＩｎｆｉｎｉｔｅＲ　２００　ＰＲＯマルチモードリーダー（TECAN）を用いて、製造者の指示書にしたがって、生存細胞をカウントすることによって評価した。増殖を５０％阻害する用量は、半有効法（median-effect method）によって分析した。

[0102] 結果を図６に示す。図６から明らかなように、ＤＵ１４５細胞に対するＣｈｂ－ＭのＩＣ$_{50}$（０．２９μＭ）は、Ｃｈｂ－Ｍ’（０．２８μＭ）と同程度であったが、Ｃｈｂ－ＳおよびＣｈｂと比べてはるかに低濃度であった。

[0103] 実施例７：Ｃｈｂ－Ｍによる白血病細胞系統に対する細胞毒性

（１）急性骨髄性白血病に対する抗腫瘍効果

ＭＬＬ白血病細胞株に対するＣｈｂ－Ｍの効果を評価するために、４８時

間のIC_{50}を求めた。ＭＬＬ白血病細胞株ＭＯＬＭ１３［ＪＣＲＢ（Japanese Collection of Research Bioresources、Japan）より入手した。さらに、ＴＰ５３野生型細胞株ＭＶ４－１１、および５３ＴＰ５３　Ｒ２４８Ｗ変異を有するＭＶ４－１１ＮＲ細胞のＡＭＬ細胞系統を、Ｔ．Ｉｋｅｚｏｅ博士（Department of Hematology and Respiratory Medicine, Kochi University, Kochi, Japan）から譲り受けた。これらの細胞を1×10^5細胞／ｍＬ密度にした。種々の濃度のＣｈｂ－ＭまたはＣｈｂ－Ｍ’を培地に加え、４８時間インキュベートした。細胞生存能力を、Ｃｅｌｌ　Ｃｏｕｎｔ　Ｒｅａｇｅｎｔ　ＳＦ（nacalai tesque, Inc.）およびＩｎｆｉｎｉｔｅＲ　２００　ＰＲＯマルチモードリーダー（TECAN）を用いて、製造者の指示書にしたがって、生存細胞をカウントすることによって評価した。増殖を５０％阻害する用量は、半有効法（median-effect method）によって分析した。

[0104] 結果を図７に示す。図７から明らかなように、ＭＯＬＭ１３細胞に対するＣｈｂ－ＭのIC_{50}（０．０７６μＭ）は、Ｃｈｂ－Ｍ’（０．１２１μＭ）と比べてはるかに低濃度であった。また、Ｃｈｂ－Ｍは、ｐ５３変異型白血病細胞にも効果があることが分かった（IC_{50}＝０．７６μＭ）。

[0105] （２）急性前骨髄球性白血病に対する抗腫瘍効果

急性前骨髄球性白血病（ＡＰＬ）細胞に対するＣｈｂ－Ｍの効果を評価するために、４８時間と７２時間のIC_{50}を求めた。ＮＢ４細胞株細胞系統は、慶應大学医学部血液腫瘍内科より入手した。ＮＢ４細胞を1×10^5細胞／ｍＬ密度にした。種々の濃度のＣｈｂ－ＭまたはＣｈｂ－Ｍ’を培地に加え、４８時間および７２時間インキュベートした。細胞生存能力を、Ｃｅｌｌ　Ｃｏｕｎｔ　Ｒｅａｇｅｎｔ　ＳＦ（nacalai tesque, Inc.）およびＩｎｆｉｎｉｔｅＲ　２００　ＰＲＯマルチモードリーダー（TECAN）を用いて、製造者の指示書にしたがって、生存細胞をカウントすることによって評価した。増殖を５０％阻害する用量は、半有効法（median-effect method）によって分析した。

[0106] 結果を図８に示す。図８から明らかなように、４８時間および７２時間の

いずれも、ＣｈｂーＭのＩＣ$_{50}$（４８時間０．９８μＭ、７２時間０．１５μＭ）はＣｈｂーＭ’と比べて低濃度であった。

[0107] 実施例８：ＣｈｂーＭによる骨肉腫系統に対する細胞毒性

骨肉腫に対するＣｈｂーＭの効果を評価するために、７２時間のＩＣ$_{50}$を求めた。骨肉腫細胞ＭＧ６３細胞株細胞系統は、京都大学小児科より入手した。ＭＧ６３細胞を１×１０^{5}細胞／ｍＬ密度にした。種々の濃度のＣｈｂーＭまたはＣｈｂーＭ’を培地に加え、７２時間インキュベートした。細胞生存能力を、Ｃｅｌｌ　Ｃｏｕｎｔ　Ｒｅａｇｅｎｔ　ＳＦ（nacalai tesque, Inc.）およびＩｎｆｉｎｉｔｅＲ　２００　ＰＲＯマルチモードリーダー（TECAN）を用いて、製造者の指示書にしたがって、生存細胞をカウントすることによって評価した。増殖を５０％阻害する用量は、半有効法（median-effect method）によって分析した。

[0108] 結果を図９に示す。図９から明らかなように、ＣｈｂーＭのＩＣ$_{50}$（０．４４９μＭ）はＣｈｂーＭ’と比べてはるかに低濃度であった。

産業上の利用可能性

[0109] 本発明の抗腫瘍組成物は、ＲＵＮＸファミリーのクラスター制御によって白血病をはじめ、様々な種類の癌を標的とすることができる。本発明の抗腫瘍組成物は、他の分子標的治療薬に対して耐性を示す腫瘍に対しても効果を示す。特に、本発明の抗腫瘍組成物は、現在臨床で使用されている分子標的治療薬では効果がない癌に対しても効果を示すため、難治療性と言われる癌にも効果がある万能抗癌剤としての利用が期待される。さらに、本発明のＲＵＮＸ阻害剤は、抗アレルギー組成物として使用することができる。

配列表フリーテキスト

[0110] SEQ ID NO:1: Sequence of ODN1

SEQ ID NO:2: Sequence of ODN2

SEQ ID NO:3: Sequence of ODN3

SEQ ID NO:4: Sequence of ODN4

SEQ ID NO:5: Sequence of ODN5

SEQ ID NO:6: Sequence of ODN6

SEQ ID NO:7: Sequence of ODN7

SEQ ID NO:8: Sequence of ODN8

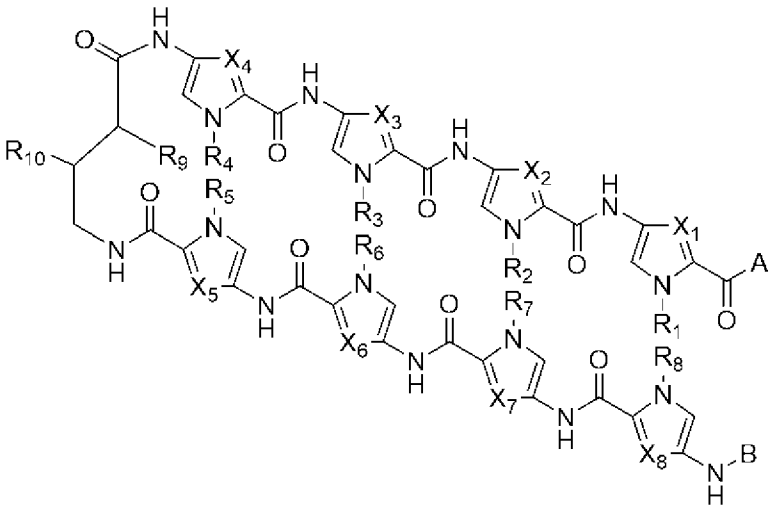
請求の範囲

[請求項1] ＲＵＮＸ結合配列に結合し得るピロール－イミダゾールポリアミドを含み、かつ、該ピロール－イミダゾールポリアミドを構成するピロール単位の少なくとも１つがβアラニンによって置換されている、抗腫瘍組成物。

[請求項2] 前記ピロール－イミダゾールポリアミドと作用剤との複合体を含む、請求項１記載の抗腫瘍組成物。

[請求項3] 前記複合体が、式Ｉ：

[化1]



[式Ｉ中、

X_1はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_2はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_3はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_4はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_5はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_6はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_7はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_8はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、

R_1はＨまたはアルキル基を示し、R_2はＨまたはアルキル基を示し、R_3はＨまたはアルキル基を示し、R_4はＨまたはアルキル基を示し、R_5はＨまたはアルキル基を示し、R_6はＨまたはアルキル基を示し、R_7はＨまたはアルキル基を示し、R_8はＨまたはアルキル

基を示し、

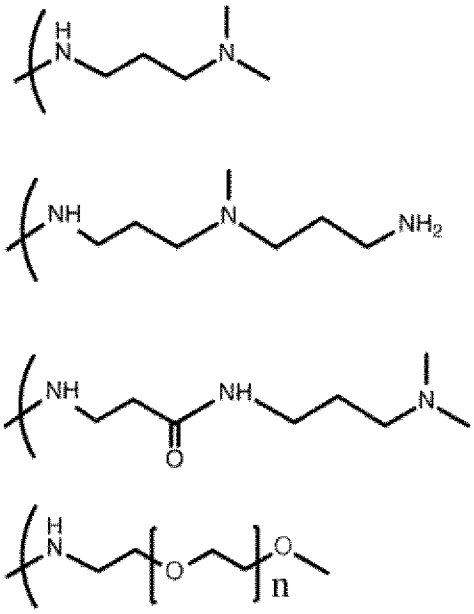
R_9は、H、－NHR_{11}、または－Ym－Zを示し、

R_{10}は、H、－NHR_{11}、または－Ym－Zを示し、

R_{11}は、H、ビオチン、または蛍光基を示し、

Aは、

[化2]



から選択されるいずれかの基、または－Ym－Zを示し、

Bは、アセチル基、または－Ym－Zを示し、

Ymは、アミド結合、ホスホジスルフィド結合、エステル結合、配位結合、またはエーテル結合を示すか、あるいはこれらの結合の１種類以上を形成する官能基を含む部分を示し、整数mは０～５の値のいずれかであり

Zは、作用剤を示し、

整数nは、０～５の値のいずれかであり、

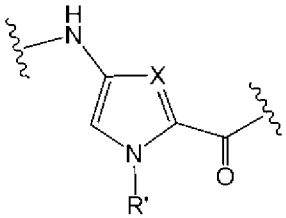
ここに、R_9、R_{10}、A、およびBの少なくとも１つは、－Ym－Zであり、

式Ｉの複合体が、複数のYm－Zで示される構造を含むとき、それ

らの複数のＹｍ－Ｚにおける、Ｙｍの各々は、他のＹｍと互いに同一であっても、異なっていてもよく、それぞれが独立して選択され得るものであり、かつ、それらの複数のＹｍ－Ｚにおける、Ｚの各々は、他のＺと互いに同一であっても、異なっていてもよく、それぞれが独立して選択され得るものであり、

さらに、式Ｉ中、下記式：

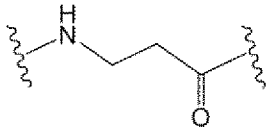
[化3]



（式中、ＸはＸ$_1$～Ｘ$_8$のいずれかであって、かつ、ＣＨまたはＣＯＨを示し、Ｒ’はＲ$_1$～Ｒ$_8$のいずれかであって、Ｈまたはアルキル基を示す。）

で示されるピロール単位の少なくとも１つは、下記式：

[化4]

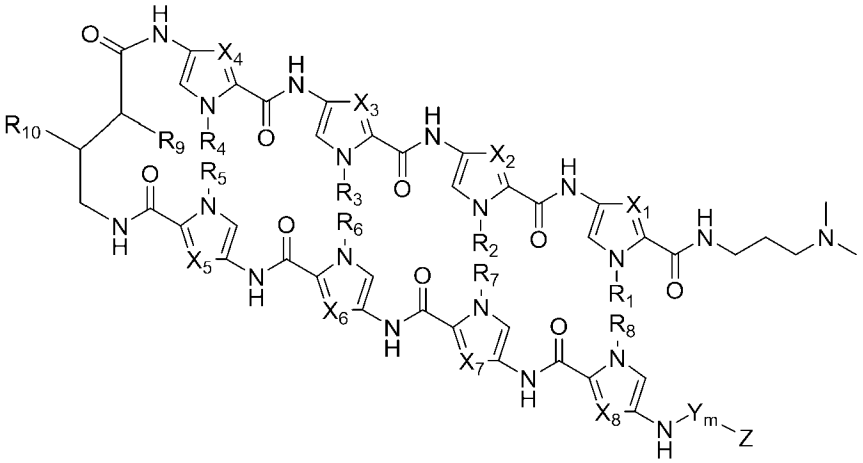


で示されるβアラニンによって置換されている。]

によって示される化合物からなる群から選ばれる、請求項２記載の抗腫瘍組成物。

[請求項4] 前記複合体が式ＩＩ：

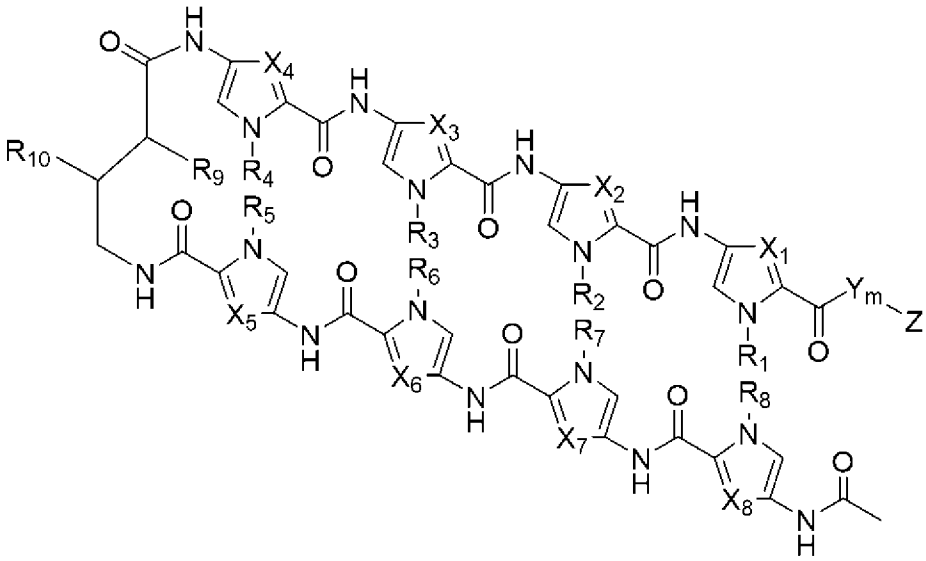
[化5]



および

式ＩＩＩ：

[化6]



［式ＩＩおよび式ＩＩＩ中、

X_1はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_2はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_3はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_4はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_5はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_6はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_7はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、X_8はＣＨ、ＣＯＨまたはＮを示し、

Ｙｍは、アミド結合、ホスホジスルフィド結合、エステル結合、配

位結合、またはエーテル結合を示すか、あるいはこれらの結合の１種類以上を形成する官能基を含む部分を示し、整数ｍは０～５の値のいずれかであり、

R_1はＨまたはアルキル基を示し、R_2はＨまたはアルキル基を示し、R_3はＨまたはアルキル基を示し、R_4はＨまたはアルキル基を示し、R_5はＨまたはアルキル基を示し、R_6はＨまたはアルキル基を示し、R_7はＨまたはアルキル基を示し、R_8はＨまたはアルキル基を示し、

R_9はＨまたは－ＮＨR_{11}を示し、

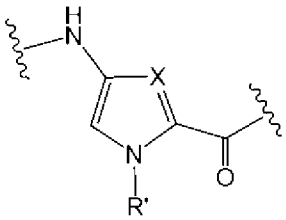
R_{10}はＨまたは－ＮＨR_{11}を示し、

R_{11}はＨ、ビオチン、または蛍光基を示し、

Ｚは作用剤を示し、

ここに、下記式：

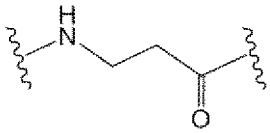
[化7]



（式中、ＸはＸ$_1$～Ｘ$_8$のいずれかであって、かつ、ＣＨまたはＣＯＨを示し、Ｒ’はＲ$_1$～Ｒ$_8$のいずれかであって、Ｈまたはアルキル基を示す。）

で示されるピロール単位の少なくとも１つは、下記式：

[化8]



で示されるβアラニンによって置換されている。]

によって示される化合物からなる群から選ばれる、請求項３記載の抗

腫瘍組成物。

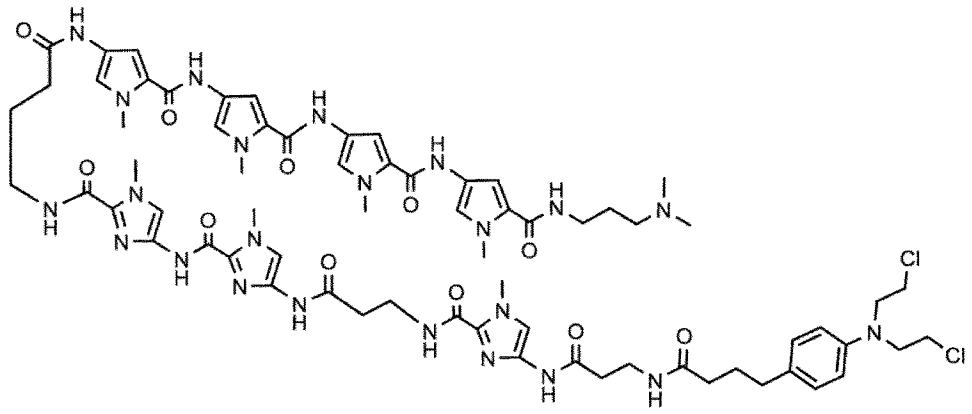
[請求項5] 作用剤Ｚのうち少なくとも１つが、アルキル化剤である、請求項２～４のいずれか１項記載の抗腫瘍組成物。

[請求項6] 前記アルキル化剤が、クロラムブシル、デュオカルマイシン、ｓｅｃｏ－ＣＢＩ、ＣＢＩ、ピロロベンゾジアゼピン、およびナイトロジェンマスタードからなる群から選択される、請求項５記載の抗腫瘍組成物。

[請求項7] 前記アルキル化剤が、クロラムブシルである、請求項６記載の抗腫瘍組成物。

[請求項8] 前記複合体が、式：

[化9]



によって示される、請求項７記載の抗腫瘍組成物。

[請求項9] 前記ピロール－イミダゾールポリアミドが、ＤＮＡ上のＲＵＮＸ結合配列に結合してＲＵＮＸファミリーメンバーの該結合配列への結合を阻害する、請求項１～８のいずれか１項記載の抗腫瘍組成物。

[請求項10] ＲＵＮＸファミリーの全てのメンバーのＲＵＮＸ結合配列への結合を阻害する、請求項９記載の抗腫瘍組成物。

[請求項11] 他の抗腫瘍剤と組み合わせて使用される、請求項１～１０のいずれか１項記載の抗腫瘍組成物。

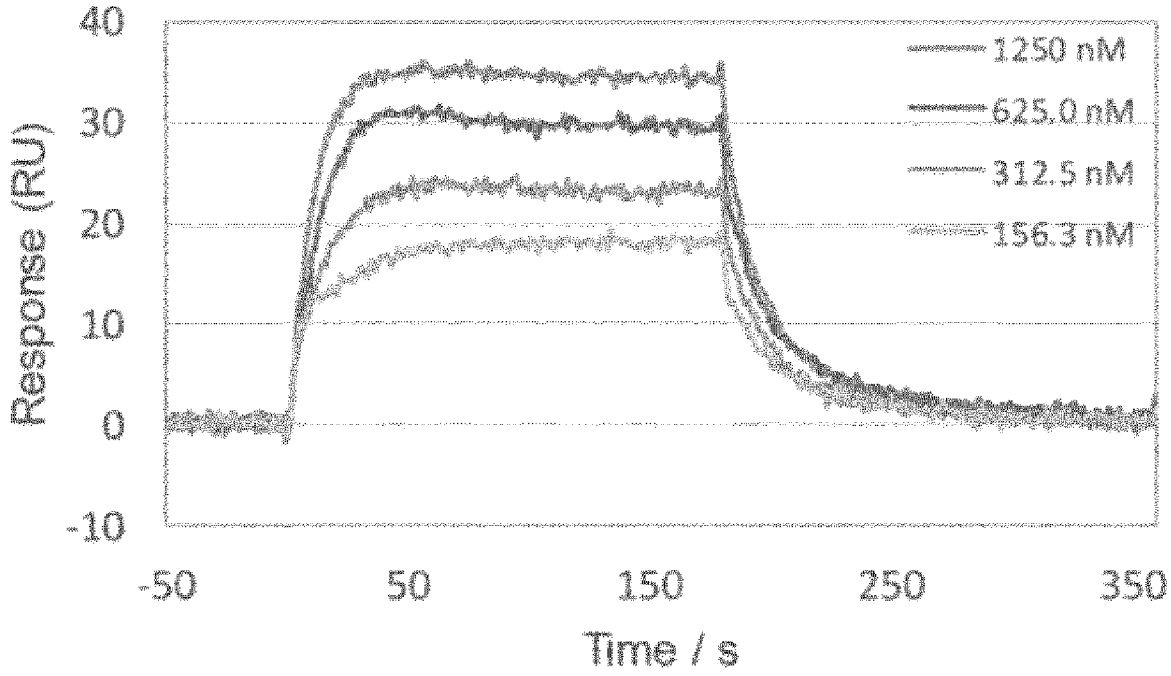
[請求項12] 白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫、肺癌、食道癌、胃癌、大腸癌、腎細胞癌、神経芽細胞腫、皮膚癌、乳癌、前立腺癌、脳腫瘍、および

骨肉腫からなる群から選択される１以上を予防または治療するための、請求項１～１１のいずれか１項記載の抗腫瘍医薬組成物。

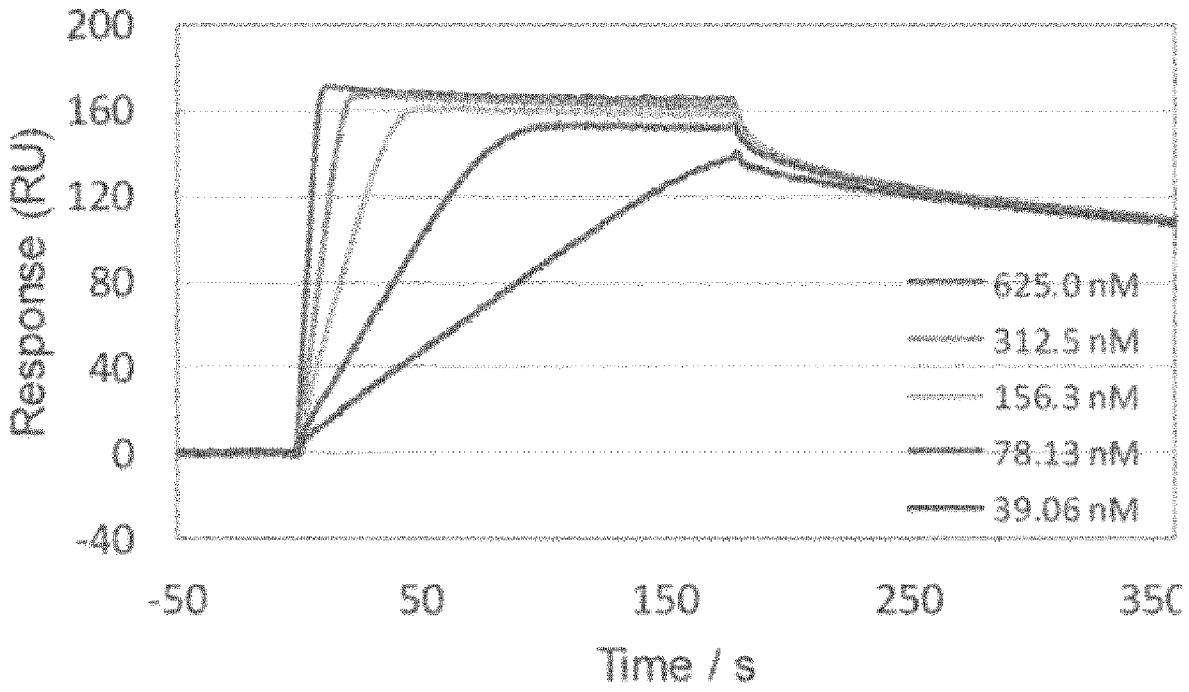
[請求項13] ＲＵＮＸ結合配列に結合し得るピロール－イミダゾールポリアミドを含み、かつ、該ピロール－イミダゾールポリアミドを構成するピロール単位の少なくとも１つがβアラニンによって置換されている、ＲＵＮＸ阻害剤。

[請求項14] ＲＵＮＸ結合配列に結合し得るピロール－イミダゾールポリアミドを含み、かつ、該ピロール－イミダゾールポリアミドを構成するピロール単位の少なくとも１つがβアラニンによって置換されている、抗アレルギー組成物。

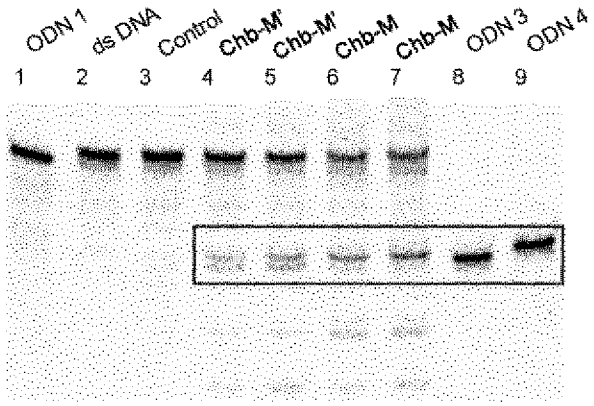
[図1A]


40
30
20
10
0
-10
Response (RU)
-50
50
150
250
350
Time / s
1250 nM
625.0 nM
312.5 nM
156.3 nM

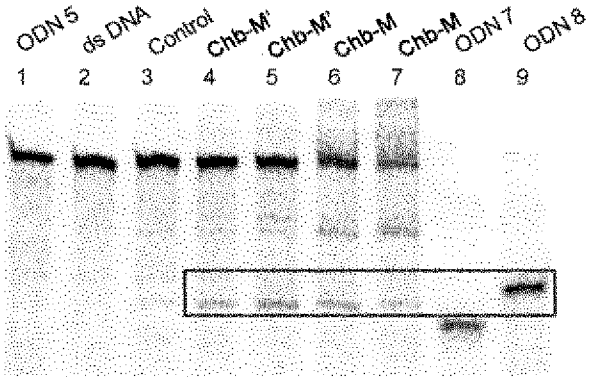
[図1B]


200
160
120
80
40
0
-40
Response (RU)
-50
50
150
250
350
Time / s
625.0 nM
312.5 nM
156.3 nM
78.13 nM
39.06 nM

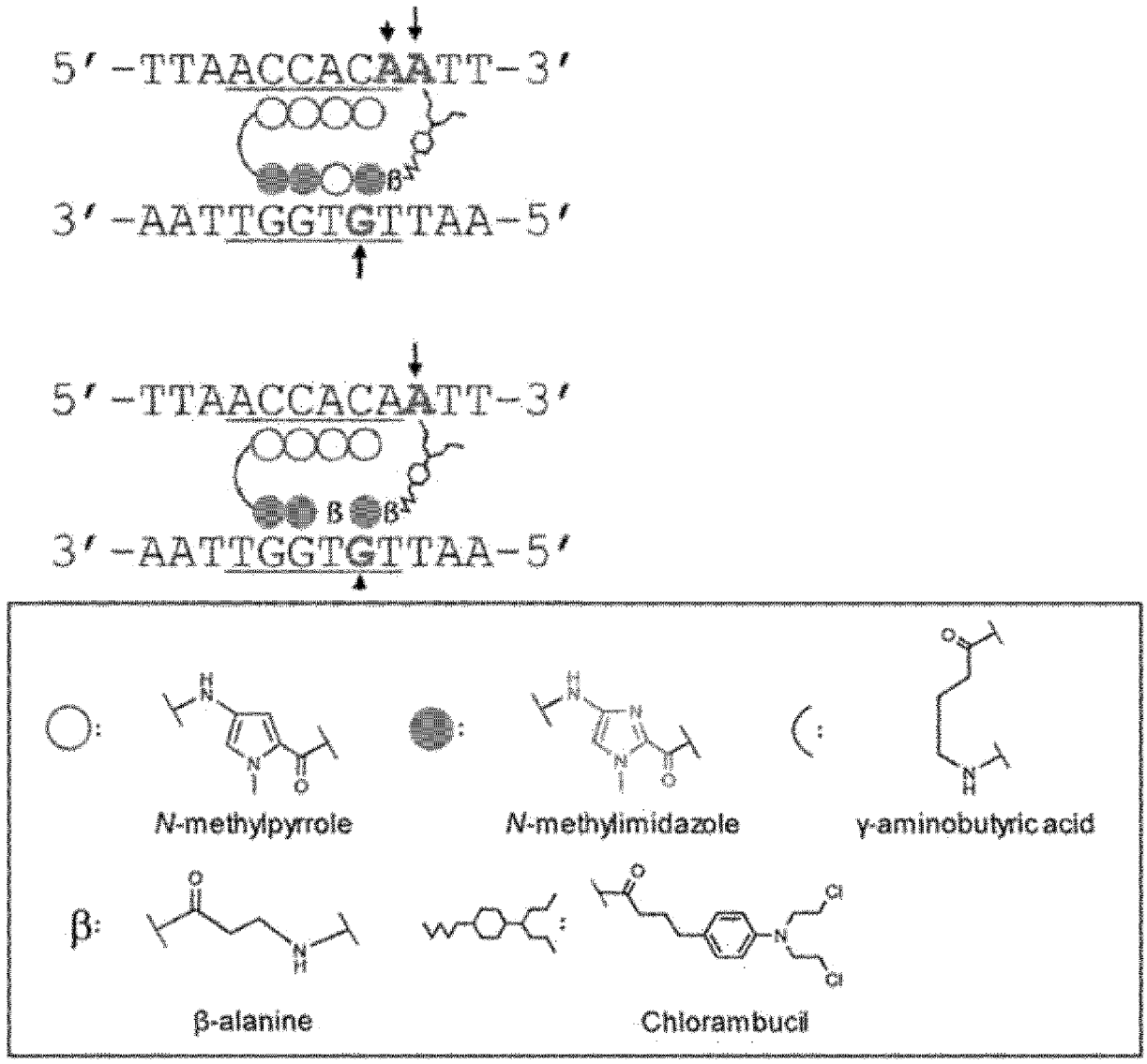
[図2A]


ODN 1
ds DNA
Control
Chb-M'
Chb-M'
Chb-M
Chb-M
ODN 3
ODN 4
1 2 3 4 5 6 7 8 9

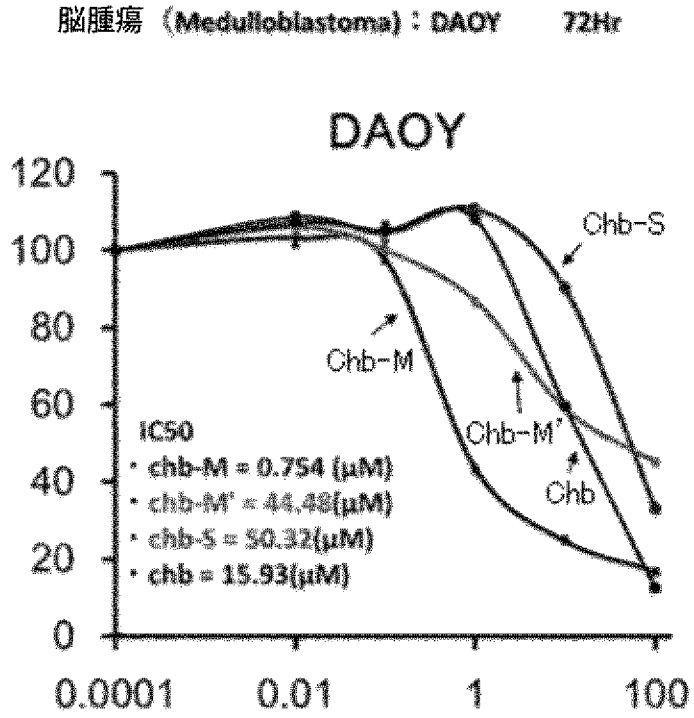
[図2B]


ODN 5
ds DNA
Control
Chb-M'
Chb-M'
Chb-M
Chb-M
ODN 7
ODN 8
1 2 3 4 5 6 7 8 9

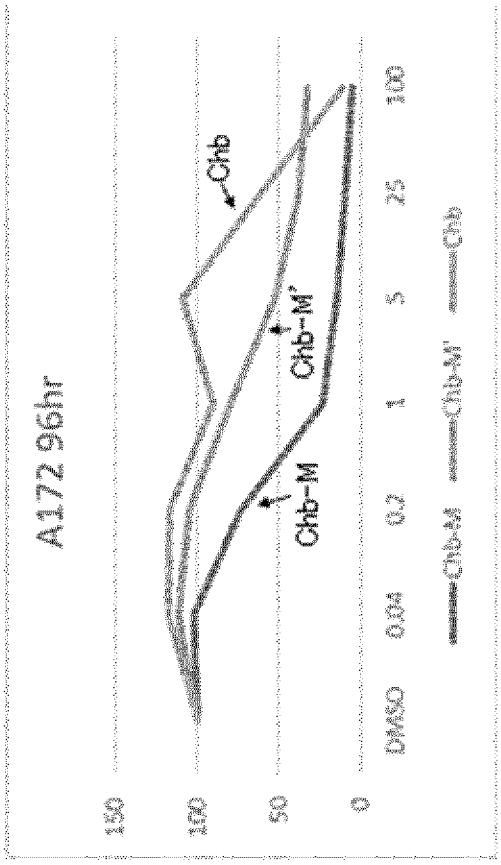
[図2C]


5′-TTAACCACAATT-3′
3′-AATTGGTGTTAA-5′
5′-TTAACCACAATT-3′
3′-AATTGGTGTTAA-5′
N-methylpyrrole
N-methylimidazole
γ-aminobutyric acid
β-alanine
Chlorambucil

[図3]


脳腫瘍（Medulloblastoma）：DAOY 72Hr
DAOY
120
100
80
60
40
20
0
0.0001
0.01
1
100
Chb-S
Chb-M
Chb-M'
Chb
IC50
• chb-M = 0.754 (μM)
• chb-M' = 44.48(μM)
• chb-S = 50.32(μM)
• chb = 15.93(μM)

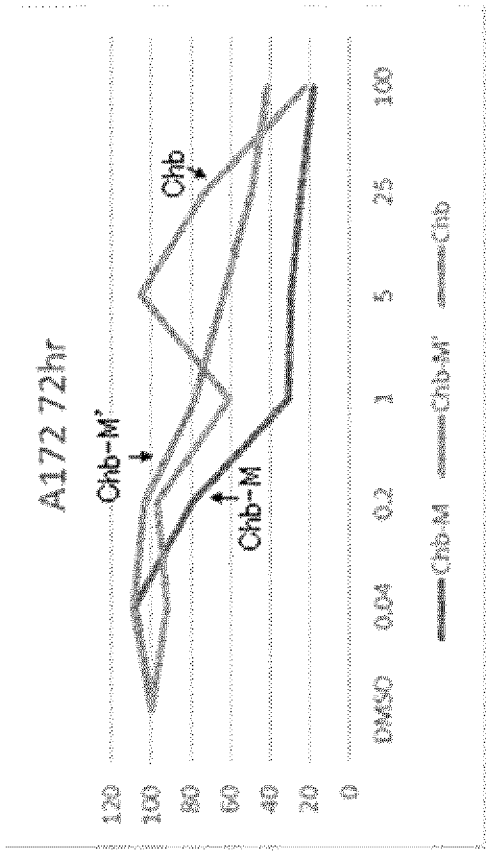
[図4A]



IC_{50}

Chb-M' 6.677 μM

Chb-M 0.421 μM

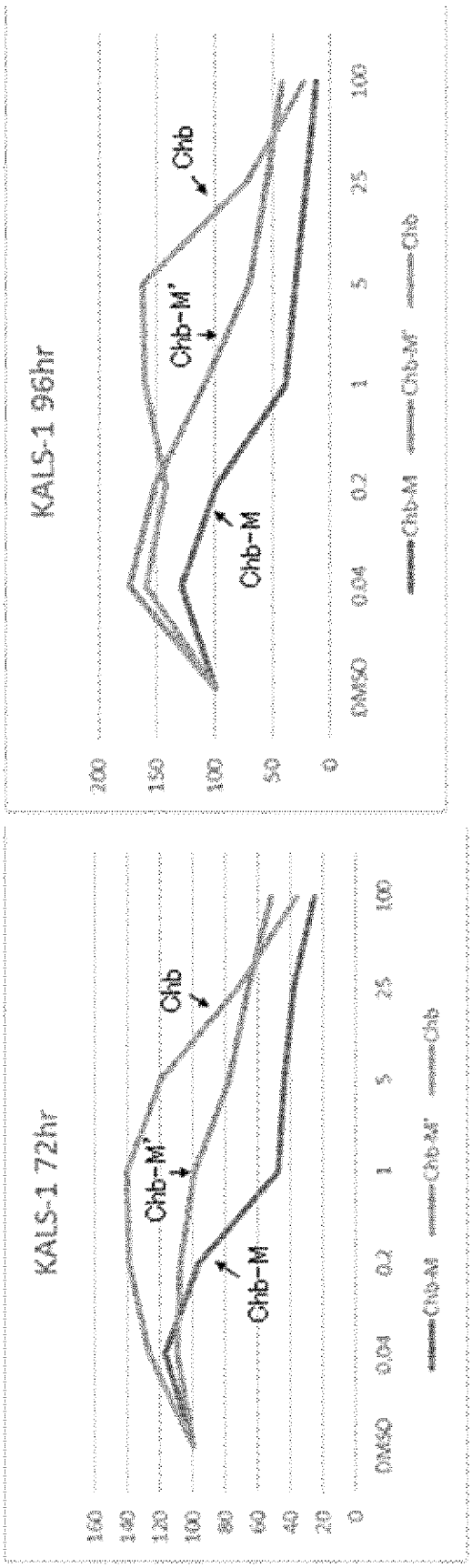


IC_{50}

Chb-M' 23.066 μM

Chb-M 0.531 μM

[図4B]

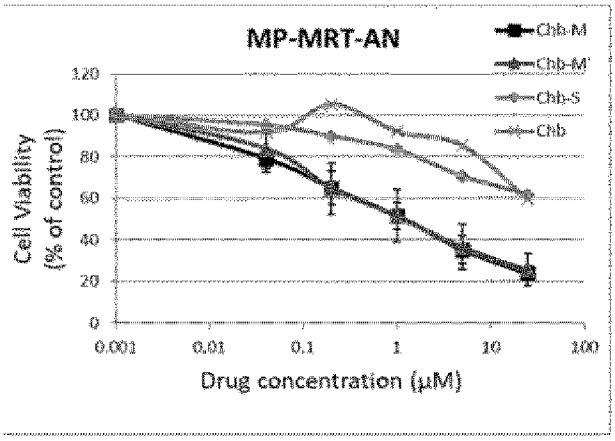


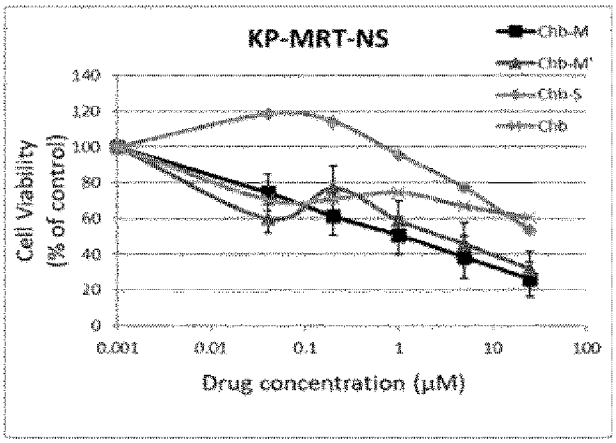
IC_{50}
Chb-M' とれず μM
Chb-M 0.214 μM

IC_{50}
Chb-M' 44.82 μM
Chb-M 0.738 μM

[図5]

悪性ラブドイド腫瘍（小児脳腫瘍）



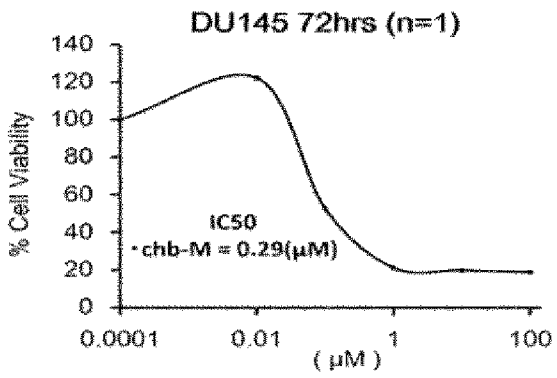


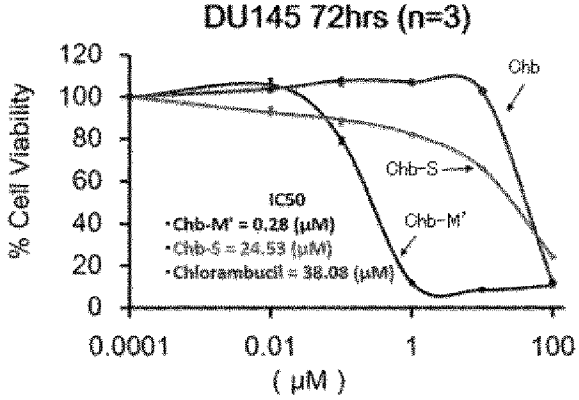
IC_{50}
Chb-M' 1.22 μM
Chb-M 1.14 μM

IC_{50}
Chb-M' 2.13 μM
Chb-M 1.07 μM

[図6]

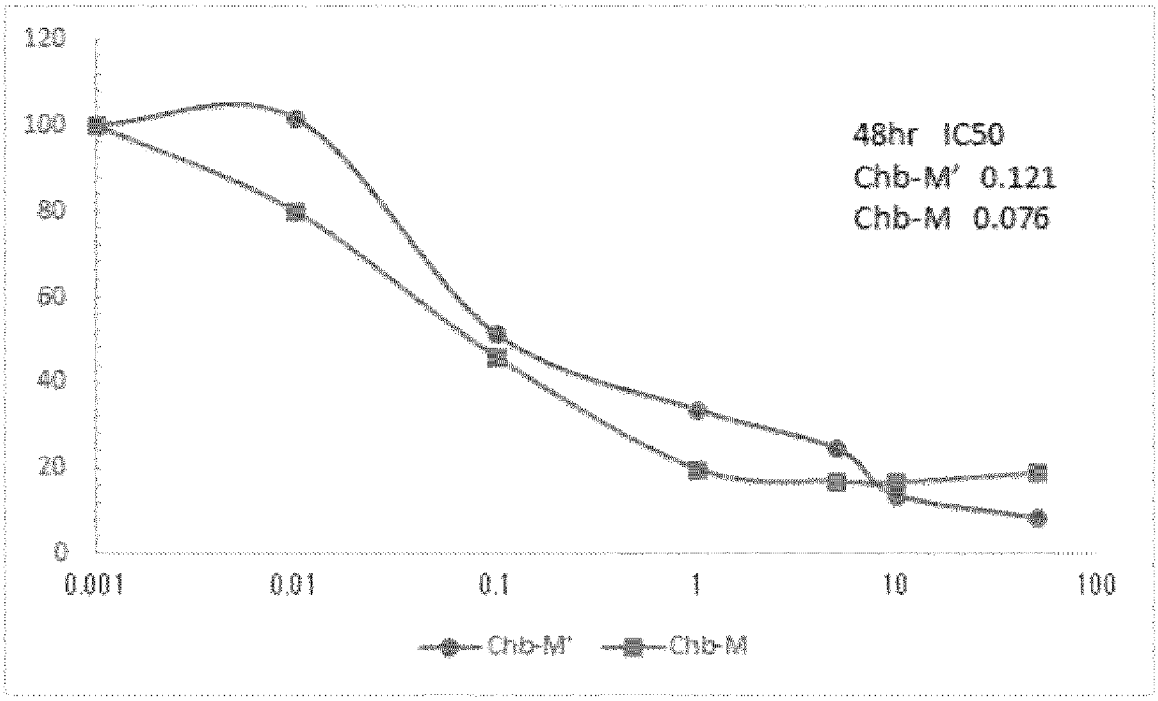
前立腺癌(CRPC-Adenocarcinoma）DU145





[図7]

MLL-AML-FLT3-ITD白血病：MOLM13



MLL-AML-FLT3-ITD白血病：MV4-11(p53野生型）

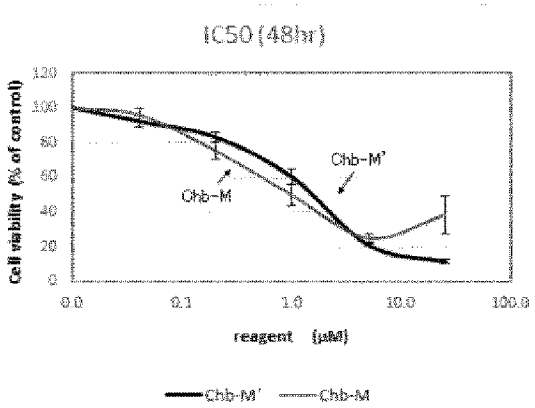
	IC50[μM]
Chb-M'	0.353
Chb-M	0.093

MLL-AML-FLT3-ITD白血病：MV4-11NR(p53変異型）

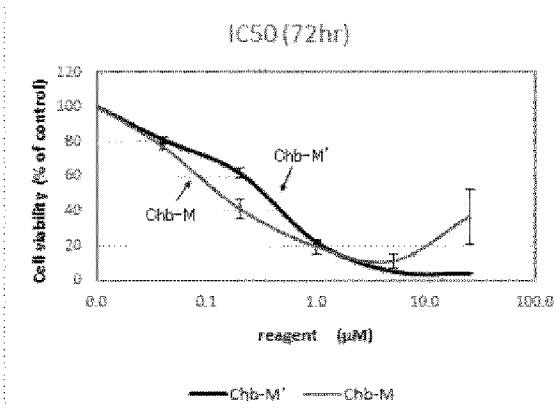
	IC50 [μM]
chb-M'	5.27
chb-M	0.76

[図8]

APL白血病：NB4



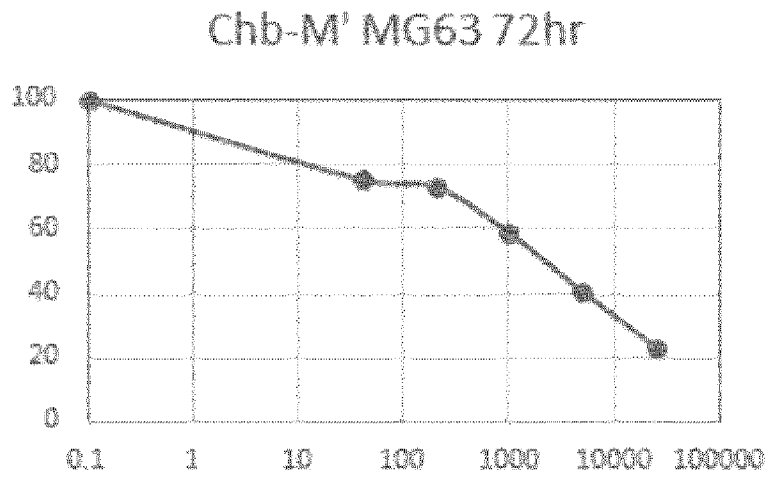
48hr	(μM)
Chb-M'	1.49
Chb-M	0.98



72hr	(μM)
Chb-M'	0.32
Chb-M	0.15

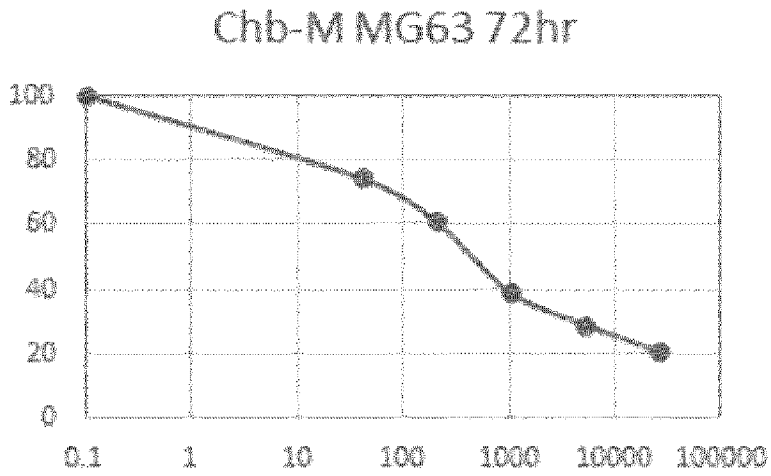
[図9]

骨肉腫：MG63



72hr IC50

Chb-M'：2.159



Chb-M：0.449

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2019/020961

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl. A61K31/787(2006.01)i, A61K45/00(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, A61P35/02(2006.01)i, A61P37/08(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i, C07D403/14(2006.01)n
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl. A61K31/787, A61K45/00, A61P35/00, A61P35/02, A61P37/08, A61P43/00, C07D403/14

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2019
Registered utility model specifications of Japan 1996-2019
Published registered utility model applications of Japan 1994-2019

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII), CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2018/021200 A1 (KYOTO UNIVERSITY) 01 February 2018, claims, paragraphs [0015], [0019], examples, etc. & CA 3035882 A, claims, paragraphs [0015], [0019], examples	1-14
Y	JP 2004-501620 A (UNIVERSITE DE GENEVE) 22 January 2004, examples, etc. & WO 2002/000262 A2, examples & EP 1294406 A2	1-14

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
07.06.2019	25.06.2019
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2019/020961

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2002-515057 A (CALIFORNIA INSTITUTE OF TECHNOLOGY) 21 May 2002, example 2, etc. & WO 1998/035702 A1, example 2 & US 6660255 B1 & EP 964703 A1	1-14
Y	HAN, Y. W. et al., Effect of single pyrrole replacement with β-alanine on DNA binding affinity and sequence specificity of hairpin pyrrole/imidazole polyamides targeting 5'-GCGC-3', Bioorg Med Chem, 2013, vol. 21, p. 5436-41, ISSN 0968-0896, abstract, p. 5437, left column, first paragraph, p. 5440, right column, last paragraph, etc.	1-14

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１９／０２０９６１

A.　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　A61K31/787(2006.01)i, A61K45/00(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, A61P35/02(2006.01)i, A61P37/08(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i, C07D403/14(2006.01)n

B.　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　A61K31/787, A61K45/00, A61P35/00, A61P35/02, A61P37/08, A61P43/00, C07D403/14

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報　１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報　１９７１－２０１９年
日本国実用新案登録公報　１９９６－２０１９年
日本国登録実用新案公報　１９９４－２０１９年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C.　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y	WO 2018/021200 A1 (国立大学法人京都大学) 2018.02.01, 特許請求の範囲、[0015]、[0019]、実施例、等 & CA 3035882 A, Claims、[0015]、[0019]、Examples	1-14
Y	JP 2004-501620 A (ユニヴェルシテ・ドゥ・ジュネーブ) 2004.01.22, 実施例、等 & WO 2002/000262 A2, Examples & EP 1294406 A2	1-14

☑　Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。　☐　パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊　引用文献のカテゴリー
「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
０７．０６．２０１９	２５．０６．２０１９

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ）
郵便番号１００－８９１５
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

特許庁審査官（権限のある職員）　４Ｕ　４１４６
伊藤　基章
電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４３９

C（続き）．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y	JP 2002-515057 A (カリフォルニア・インスティチュート・オブ・テクノロジー) 2002.05.21, 実施例２、等 & WO 1998/035702 A1, Example 2 & US 6660255 B1 & EP 964703 A1	1-14
Y	HAN, Y.W. et al., Effect of single pyrrole replacement with β-alanine on DNA binding affinity and sequence specificity of hairpin pyrrole/imidazole polyamides targeting 5'-GCGC-3', Bioorg Med Chem, 2013, Vol.21, p.5436-41, ISSN 0968-0896, Abstract、p.5437 左欄第１段落、p.5440 右欄最終段落、等	1-14