

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第6部門第1区分

【発行日】令和1年12月26日(2019.12.26)

【公表番号】特表2019-501382(P2019-501382A)

【公表日】平成31年1月17日(2019.1.17)

【年通号数】公開・登録公報2019-002

【出願番号】特願2018-529627(P2018-529627)

【国際特許分類】

G 01 N 27/62 (2006.01)

C 07 D 403/12 (2006.01)

A 61 K 49/00 (2006.01)

G 01 N 33/68 (2006.01)

【F I】

G 01 N 27/62 V

C 07 D 403/12 C S P

A 61 K 49/00

G 01 N 33/68

【手続補正書】

【提出日】令和1年11月15日(2019.11.15)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0104

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0104】

(実施例)

(質量標識の合成)

(実施例1：2-プロピル-ピロリジン-1-イル酢酸の合成)

図1はこの発明の2-プロピル-ピロリジン-1-イル酢酸レポーターの模式図を示す。ブロモエタンをエトキシエタン中のマグネシウムとの反応によりGrignard試薬に変換して生成物1を得る。並行して、プロリンをアミノ基でCBz保護基により保護して生成物2を得る。プロリンカルボン酸をその後、ワインレブアミンと反応させて対応するアミド(3)を得る。これを生成物1と反応させて、ケトン生成物4を得ることができる。CBz基を、メタノール中でパラジウム/木炭触媒を用いる水素による還元により除去して生成物5を得る。ケトンをその後、水素化アルミニウムリチウムで還元して2-プロピル-ピロリジン(生成物6)を得る。2-プロピル-ピロリジンをその後、ブロモ酢酸ベンジルエステルと反応させて生成物7を得る。ベンジル保護基を、メタノール中でパラジウム/木炭触媒を用いる水素による還元により除去して、所望の2-プロピル-ピロリジン-1-イル酢酸レポーターである、生成物8を得る。

本件出願は、以下の構成の発明を提供する。

(構成1)

2以上の質量標識のセットであって、各質量標識が下記式：

X-L-M-Re

を含み

式中：

Xは精密質量を有するレポーター部分であり、

Lは質量分析計における衝突によって開裂可能な結合であり、

Mは質量修飾因子であり、ならびに

R e は a ) 前記質量標識を分析物に付着させるための反応性官能基または b ) 前記分析物であり、

前記セット中の各質量標識は整数質量を有し、

前記セット中の各質量標識は同じ整数質量を有し、

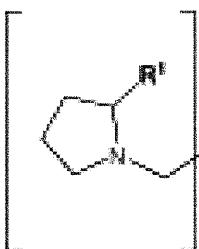
前記セットは質量標識の 2 以上のサブセットを含み、各サブセットは 1 つ、 2 つまたはそれより多くの質量標識を含み、

前記サブセットが 2 以上の質量標識を含む場合、前記サブセット中の各質量標識のレポーター部分 X の精密質量は同じサブセット中のおよび他の全てのサブセット中の質量標識のレポーター部分 X の精密質量と異なり、

各質量標識は質量分析によって区別可能であり、

各質量標識は下記一般式：

(化 1 )



を含むレポーター部分 X を有し

式中、 R<sup>1</sup> は H 、置換または非置換直鎖または分枝 C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub> アルキル基、あるいはメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、 sec - ブチル、 tert - ブチル、ペンチル、ネオペンチル、 tert - ペンチル、 iso - ペンチル、 sec - ペンチルおよび 3 - ペンチルから選択される構造である、 2 以上の質量標識のセット。

(構成 2 )

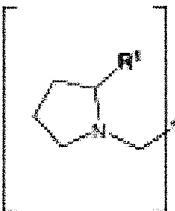
2 以上の質量標識のセットであって、各標識が下記式：

X - L - M - R e

を有し

式中、 X は精密質量を有するレポーター部分であり、 L は質量分析計における衝突によつて開裂可能な結合であり、 M は質量修飾因子であり、ならびに R e は前記質量標識を分析物に付着させるための反応性官能基または前記分析物であり、および X は下記一般式：

(化 2 )



を含み

式中、 R<sup>1</sup> は H 、置換または非置換直鎖または分枝 C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub> アルキル基、あるいはメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、 sec - ブチル、 tert - ブチル、ペンチル、ネオペンチル、 tert - ペンチル、 iso - ペンチル、 sec - ペンチルおよび 3 - ペンチルから選択される構造である、 2 以上の質量標識のセット。

(構成 3 )

R<sup>1</sup> はエチルである、構成 1 または 2 のいずれかに記載の、 2 以上の質量標識のセット

。

(構成 4 )

R<sup>2</sup> はプロピルである、構成 1 または 2 のいずれかに記載の、2 以上の質量標識のセット。

(構成 5 )

R<sup>1</sup> はイソプロピルである、構成 1 または 2 のいずれかに記載の、2 以上の質量標識のセット。

(構成 6 )

R<sup>2</sup> はブチルである、構成 1 または 2 のいずれかに記載の、2 以上の質量標識のセット。

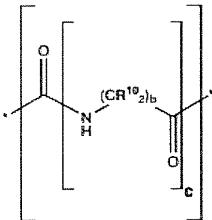
(構成 7 )

R<sup>1</sup> はイソブチルである、構成 1 または 2 のいずれかに記載の、2 以上の質量標識のセット。

(構成 8 )

前記質量修飾因子 M は下記構造：

(化 3 )



を有し、

式中： 各 R<sup>1</sup> は独立して H、置換または非置換直鎖または分枝 C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル基、置換または非置換脂肪族環状基、置換または非置換芳香族基あるいは置換または非置換複素環基あるいはアミノ酸側鎖であり、

a は 0 - 10 の整数であり、

b は少なくとも 1 であり、および

c は少なくとも 1 である

構成 1 ~ 7 のいずれかに記載の、2 以上の質量標識のセット。

(構成 9 )

各質量標識は少なくとも 1 つの質量系列修飾基をさらに含み、前記質量系列修飾基は前記レポーター部分 X の一部および / または前記質量修飾因子 M の一部である、構成 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の、2 以上の質量標識のセット。

(構成 10 )

前記少なくとも 1 つの質量系列修飾基は前記レポーター部分 X および前記質量修飾因子 M の一部である、構成 9 に記載の、2 以上の質量標識のセット。

(構成 11 )

前記少なくとも 1 つの質量系列修飾基は下記：

d ) 重同位体<sup>2</sup>H、<sup>13</sup>C、<sup>15</sup>N または<sup>18</sup>O；あるいは

e ) 任意で 1 つ以上の重同位体置換を含む置換または非置換直鎖または分枝 C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub> アルキル基；あるいは

f ) a ) および b ) の組み合わせ

から選択される、構成 9 または 10 に記載の、2 以上の質量標識のセット。

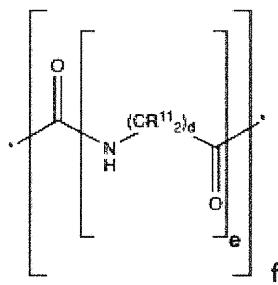
(構成 12 )

前記質量系列修飾基は -CH<sub>3</sub>、-<sup>13</sup>CH<sub>3</sub>、-CHD<sub>2</sub>、-<sup>13</sup>CHD<sub>2</sub>、-<sup>13</sup>CD<sub>3</sub> または -CD<sub>3</sub> である、構成 11 に記載の、2 以上の質量標識のセット。

(構成 13 )

前記少なくとも 1 つの質量標識の各々は下記構造：

(化 4 )



を有する質量系列修飾基を含み、

式中：

各  $\text{R}^{11}$  は独立して H、置換または非置換直鎖または分枝 C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル基、置換または非置換脂肪族環状基、置換または非置換芳香族基あるいは置換または非置換複素環基あるいはアミノ酸側鎖であり；

$d$  は 1 ~ 10 の整数であり；

$e$  は 1 ~ 10 であり；および

$f$  は 1 ~ 10 の整数である

構成 9 ~ 12 のいずれかに記載の、セット。

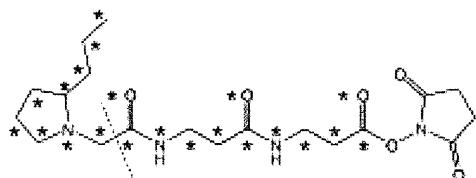
(構成 14)

$\text{R}^e$  が前記分析物であるとき、前記分析物はアミノ酸、ペプチド、ポリペプチド、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、炭水化物、脂質、リン脂質またはそれらの組み合わせの群から選択される 1 つ以上の分析物を含む、構成 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の、2 以上の質量標識のセット。

(構成 15)

各質量標識は下記構造：

(化 5)



の 1 つを有し、

式中、\* は酸素が  $^{18}\text{O}$  であり、炭素が  $^{13}\text{C}$  であり、窒素が  $^{15}\text{N}$  ありまたは水素が  $^{2}\text{H}$  あることを表し、かつ 1 つ以上の \* が存在してもよい

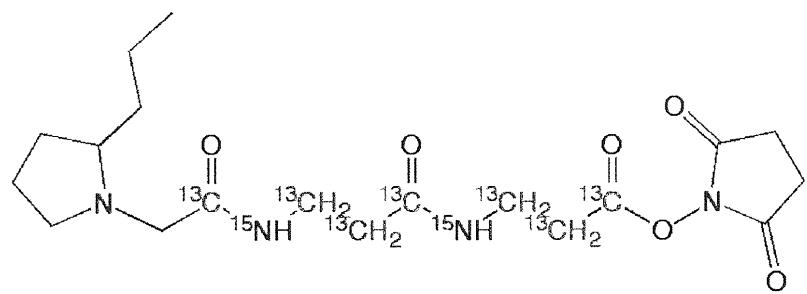
構成 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の、2 以上の質量標識のセット。

(構成 16)

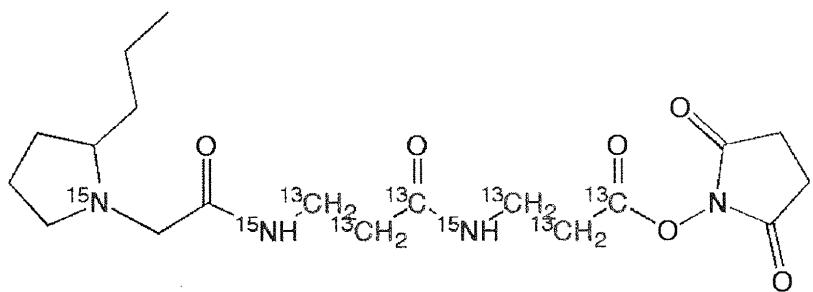
\* は  $^{13}\text{C}$  または  $^{15}\text{N}$  ありかつ前記セットは下記構造：

(化 6)

TMT-1-18-126.12773 (ナフセット 1)



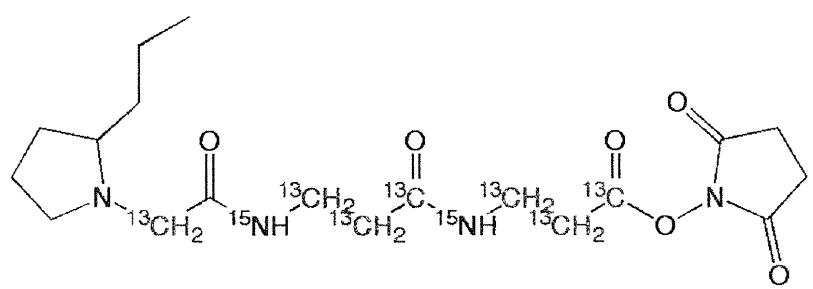
TMT-1-18-127.12476 (サブセット 2)



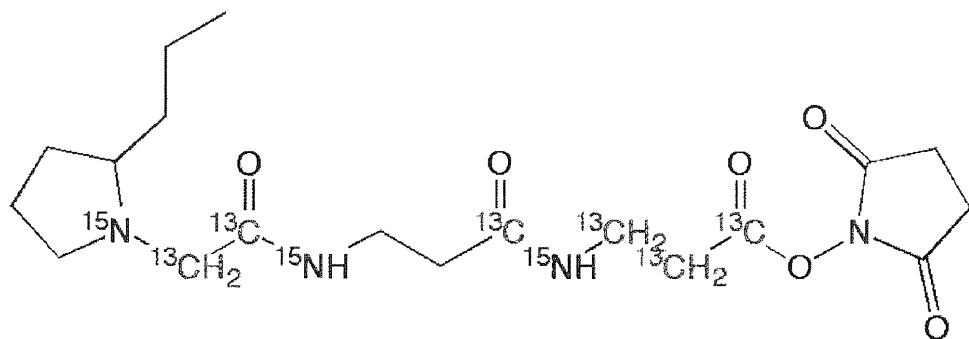
TMT-1-18-127.13053

### (サブ・セット)

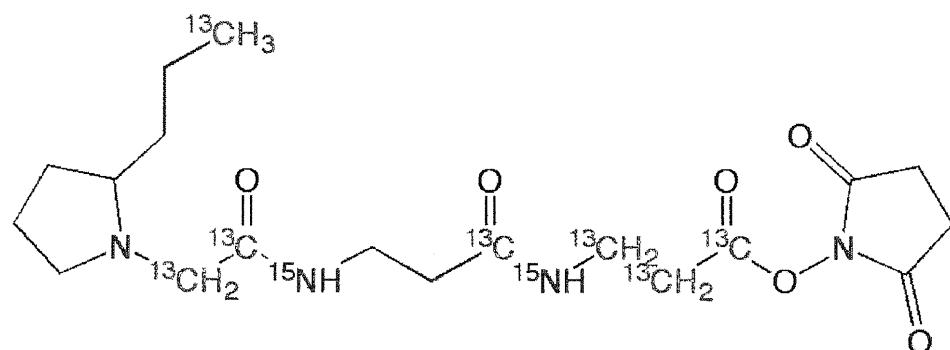
2)



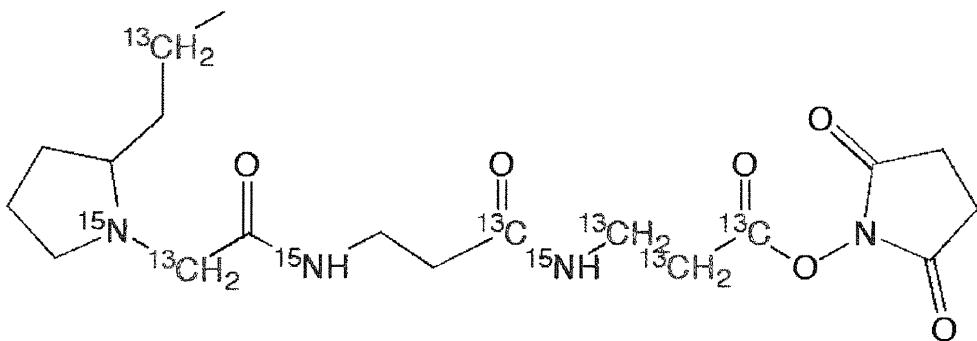
TMT-1-18-128.12812 (#<sup>アラビア数字</sup> セット 3)



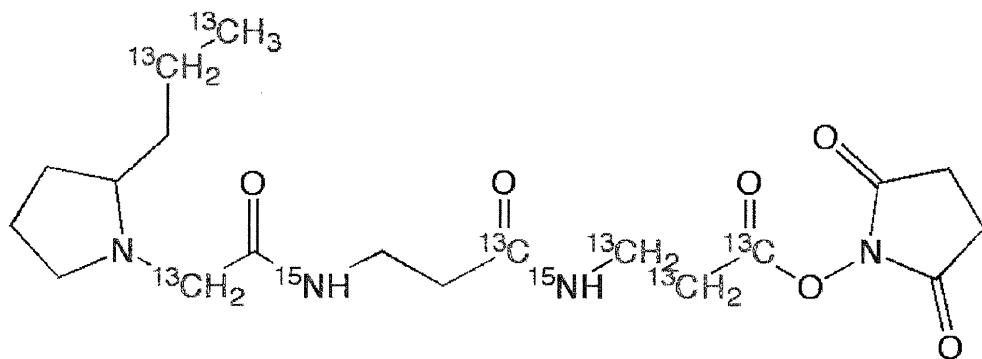
TMT-1-18-128.13389 (#<sup>アラビア数字</sup> セット 3)



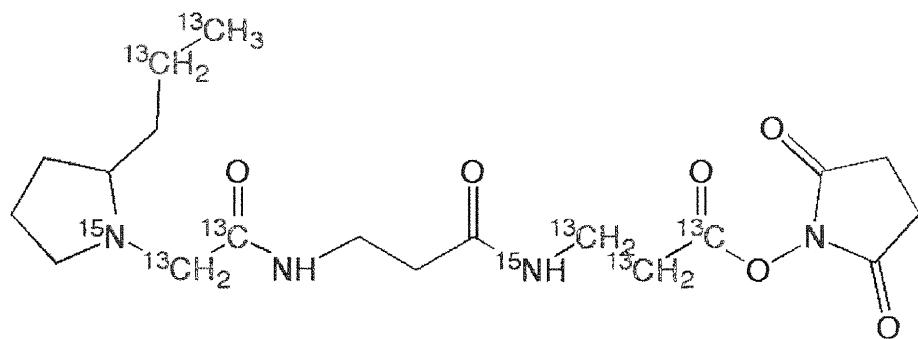
TMT-1-18-129.13147 (#<sup>アラビア数字</sup> セット 4)



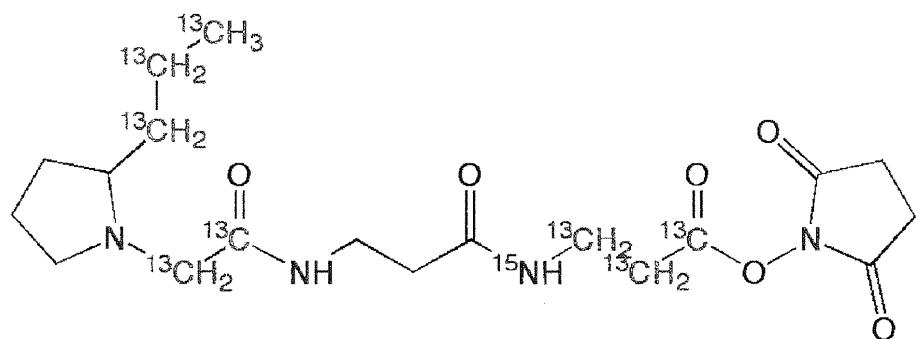
TMT-1-18-129.13724 (#<sup>アラビア数字</sup> セット 4)



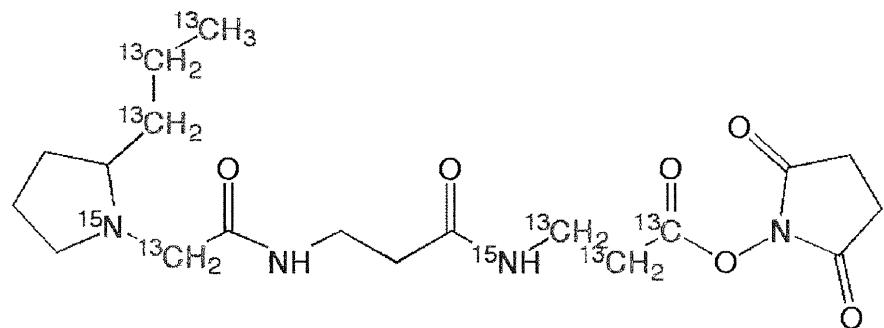
TMT-1-18-130.13483 (#ラベル 5)



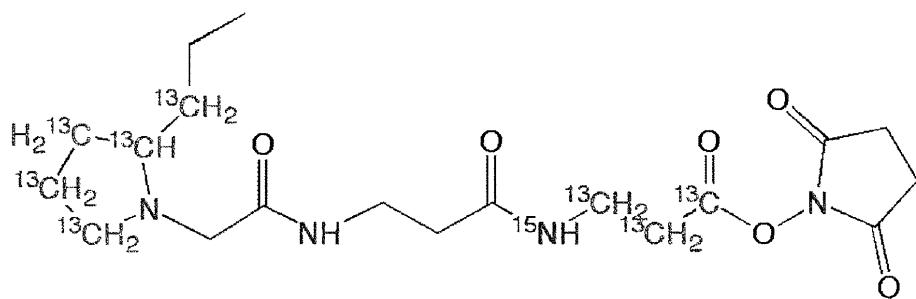
TMT-1-18-130.1406 (#ラベル 5)



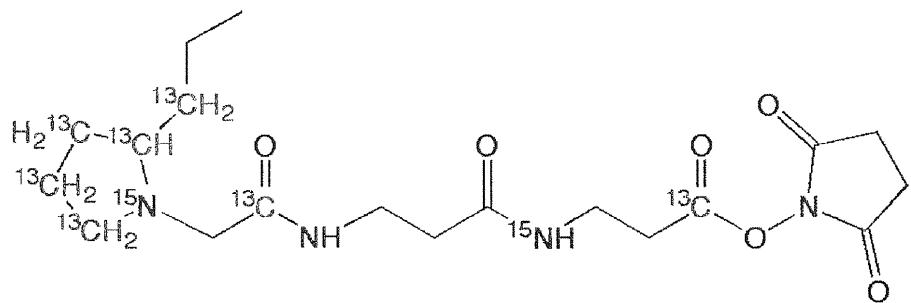
TMT-1-18-131.13818 (#ラベル 6)



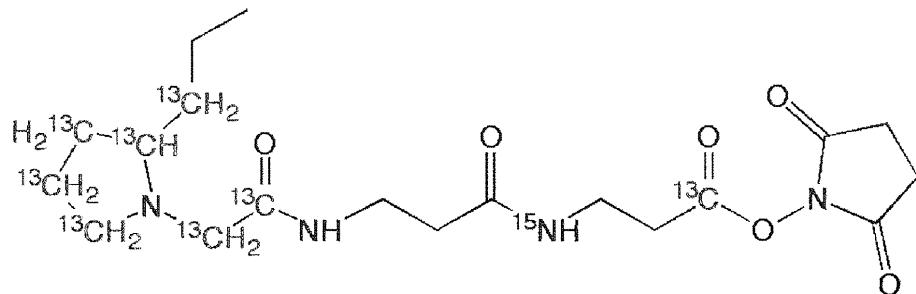
TMT-1-18-131.14395 (#ラベル 6)



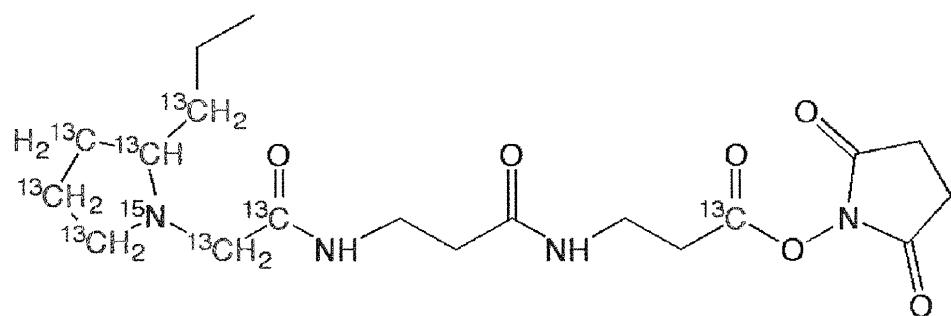
TMT-1-18-132.14154 (#7 セット 7)



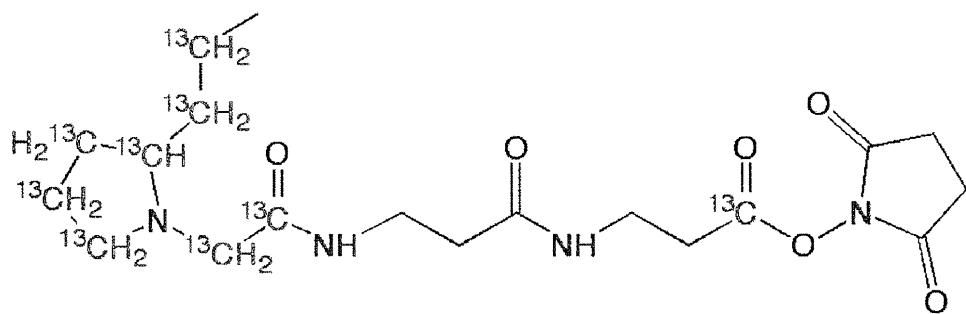
TMT-1-18-132.14731 (#7 セット 7)

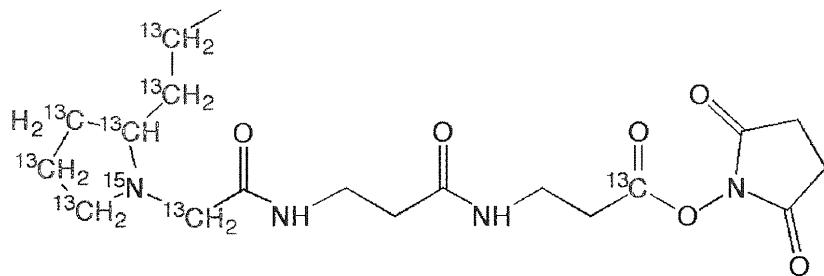
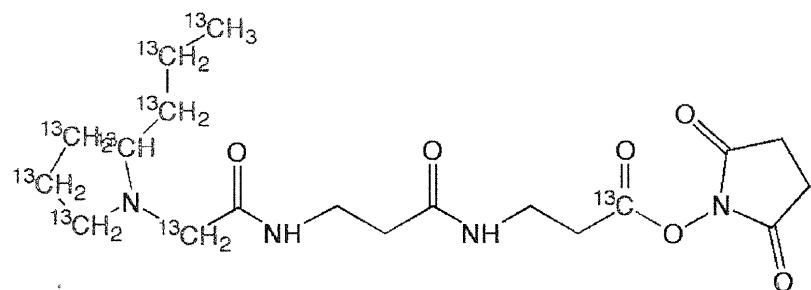
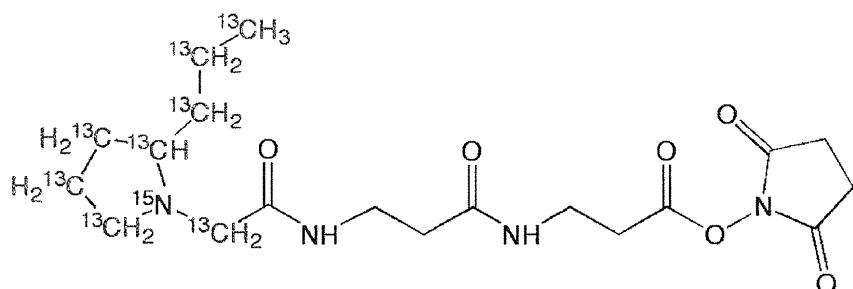


TMT-1-18-133.14489 (#7 セット 8)



TMT-1-18-133.15066 (#7 セット 8)

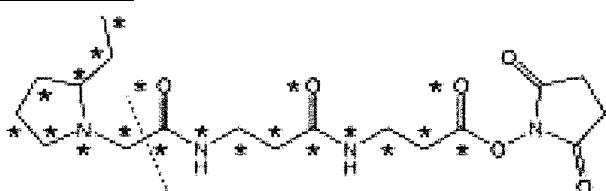


TMT-1-18-134.14824 (#<sup>アラビア数字</sup> セット 9)TMT-1-18-134.15402 (#<sup>アラビア数字</sup> セット 9)TMT-1-18-135.1516 (#<sup>アラビア数字</sup> セット 10)

を有する n = 1 8 の質量標識を含む、構成 1 5 に記載の、2 以上の質量標識のセット。  
(構成 1 7 )

各質量標識は下記構造：

(化 7 )



を有し、

式中、\* は酸素が  $^{18}\text{O}$  であり、炭素が  $^{13}\text{C}$  であり、窒素が  $^{15}\text{N}$  ありまたは水素が  $^2\text{H}$  であることを表し、かつ 1 つ以上の \* が存在してもよい

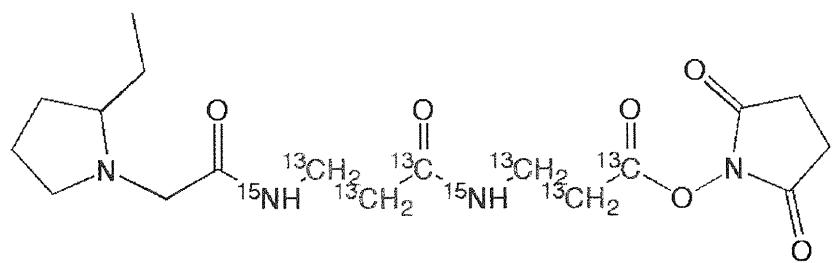
構成 1 ~ 1 4 のいずれかに記載の、2 以上の質量標識のセット。

(構成 1 8 )

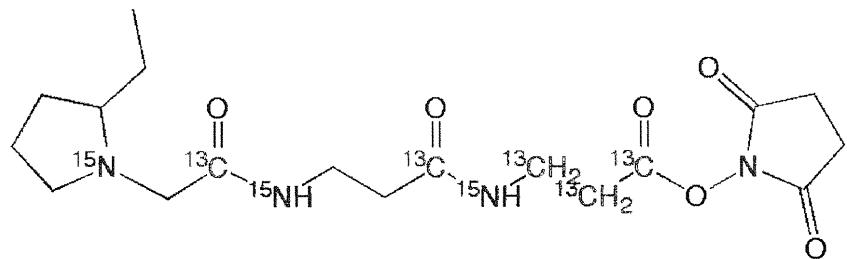
\* は  $^{13}\text{C}$  または  $^{15}\text{N}$  でありかつ前記セットは下記構造：

(化 8 )

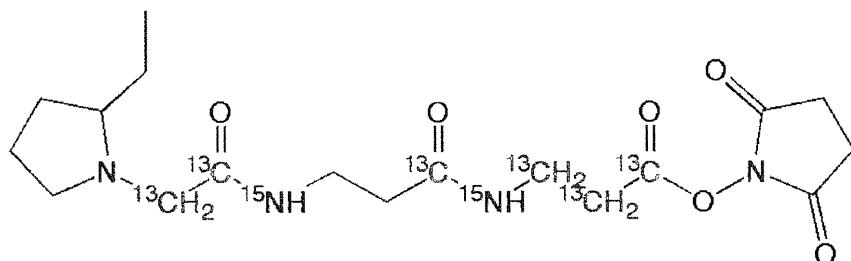
TMT-2-16-112.11208 (#<sup>フ</sup> セット 1)



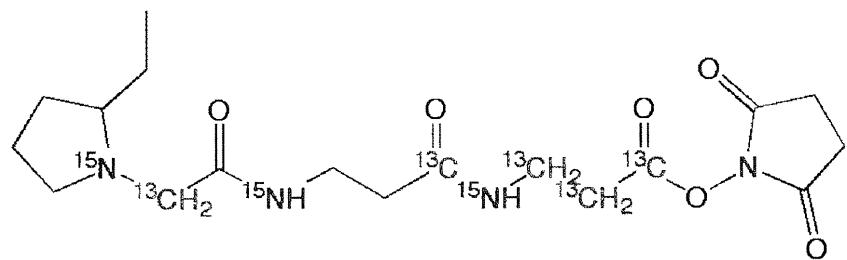
TMT-2-16-113.10911 (#<sup>フ</sup> セット 2)



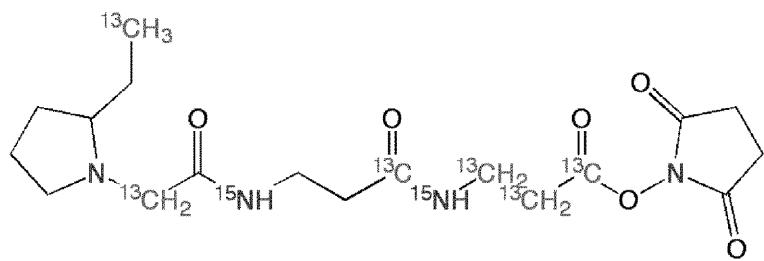
TMT-2-16-113.11543 (#<sup>フ</sup> セット 2)



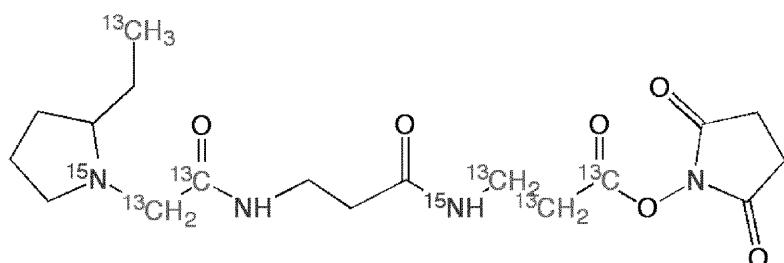
TMT-2-16-114.11247 (#<sup>フ</sup> セット 3)



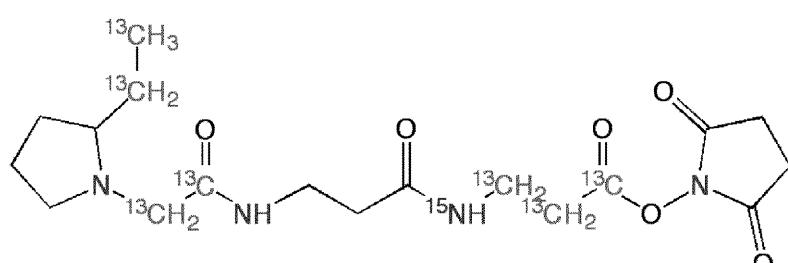
TMT-2-16-114.11879 (#<sup>アラビア数字</sup> セット 3)



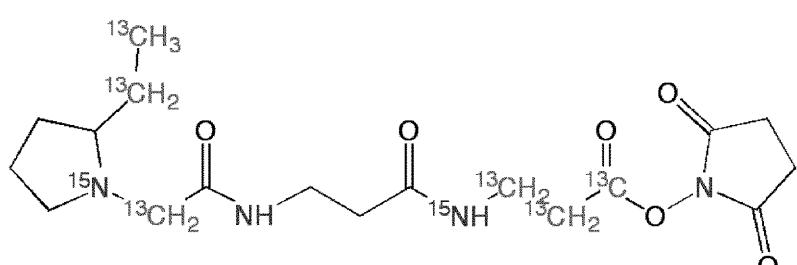
TMT-2-16-115.11582 (#<sup>アラビア数字</sup> セット 4)



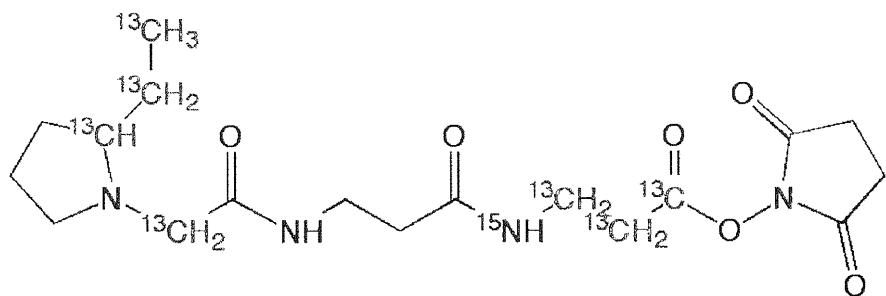
TMT-2-16-115.12214 (#<sup>アラビア数字</sup> セット 4)



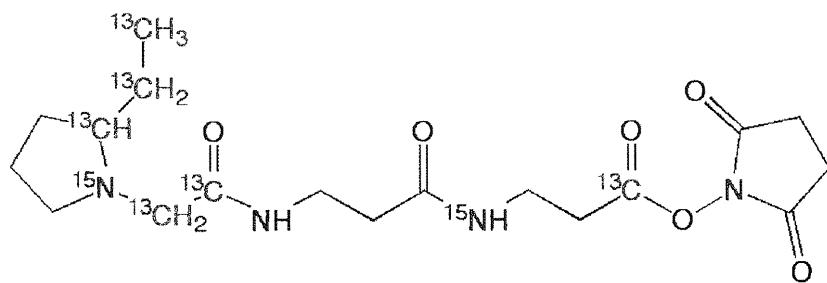
TMT-2-16-116.11918 (#<sup>アラビア数字</sup> セット 5)



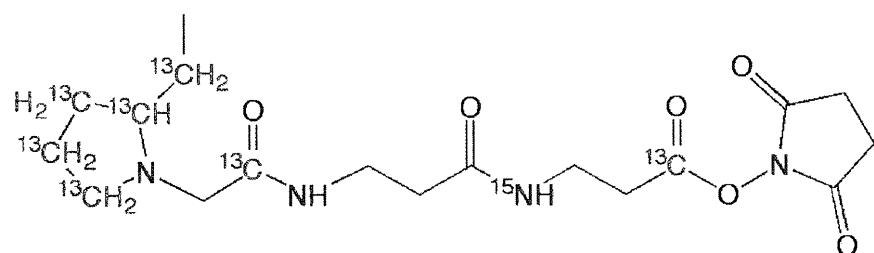
TMT-2-16-116.1255 (#<sup>15</sup>N セット 5)



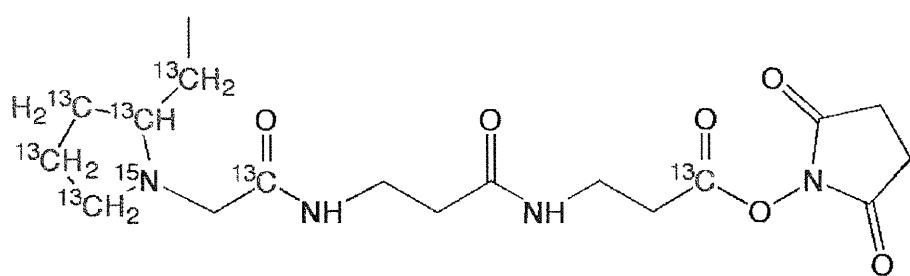
TMT-2-16-117.12253 (#<sup>15</sup>N セット 6)



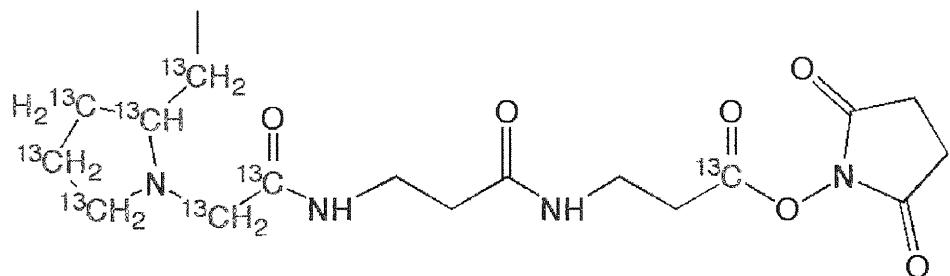
TMT-2-16-117.12885 (#<sup>15</sup>N セット 6)



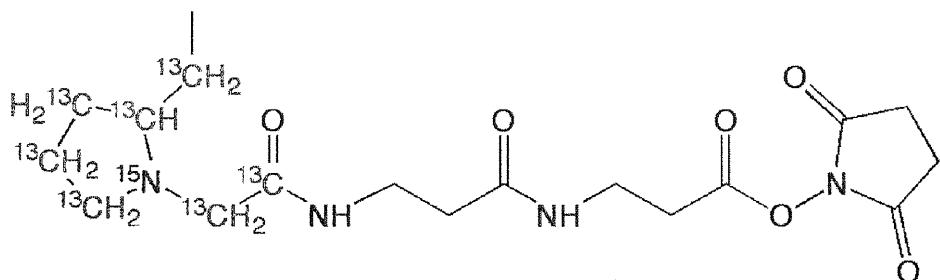
TMT-2-16-118.12588 (#<sup>15</sup>N セット 7)



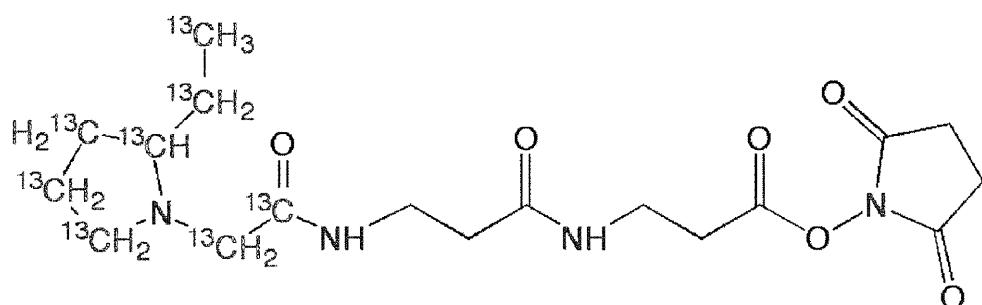
TMT-2-16-118.1322 ( # フラグメント : 7 )



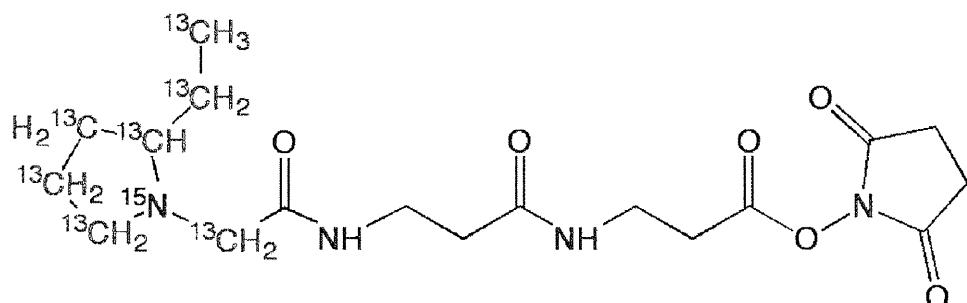
TMT-2-16-119.12924 ( # フラグメント : 8 )



TMT-2-16-119.13556 ( # フラグメント : 8 )



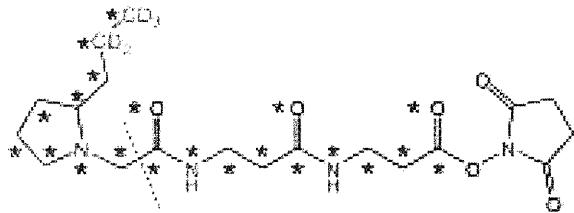
TMT-2-16-120.13259 ( # フラグメント : 9 )



を有する n = 1~6 の質量標識を含む、構成 1~7 に記載の、2 以上の質量標識のセット。

(構成 1~9 )

各質量標識は下記構造 :

(化 9 )

を有し、

式中、\*は酸素が<sup>18</sup>Oであり、炭素が<sup>13</sup>Cであり、窒素が<sup>15</sup>Nでありまたは水素が<sup>2</sup>Hであることを表し、かつ1つ以上の\*が存在してもよい

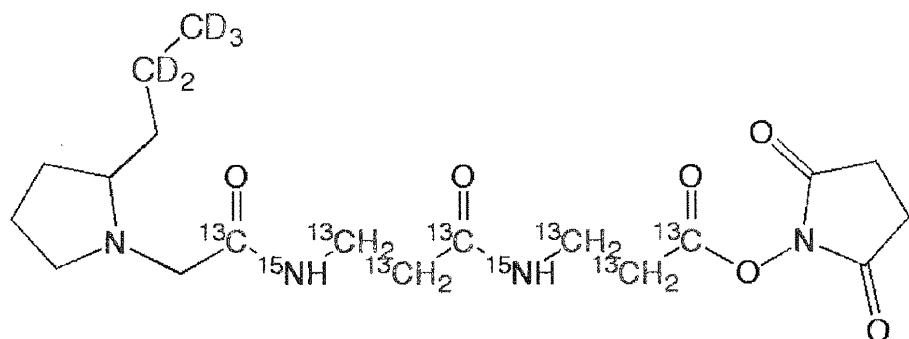
構成1～14のいずれかに記載の、2以上の質量標識のセット。

(構成20)

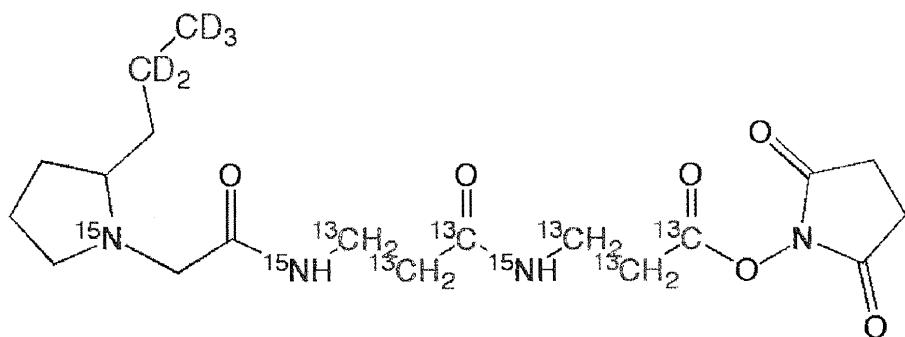
\*は<sup>13</sup>Cまたは<sup>15</sup>Nでありかつ前記セットは下記構造：

(化10)

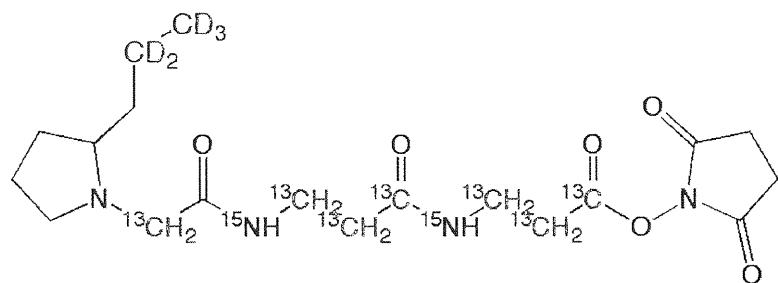
TMT-3-18-131.15911 (<sup>15</sup>Nラベル) 1)



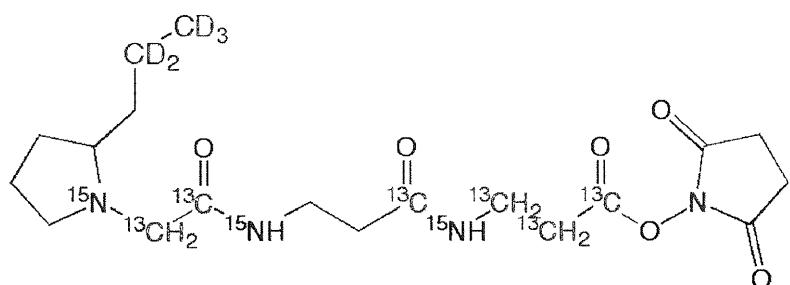
TMT-3-18-132.15614 (<sup>15</sup>Nラベル) 2)



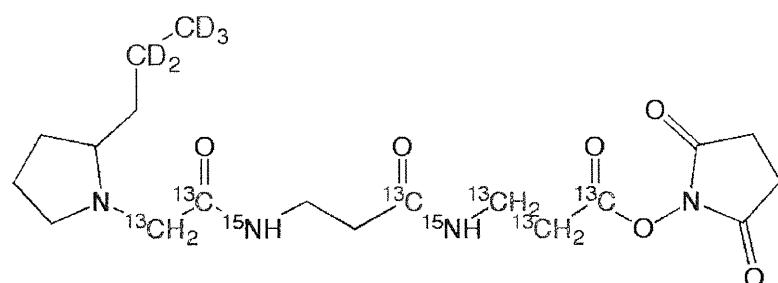
TMT-3-18-132.16246 (#7' セット 2)



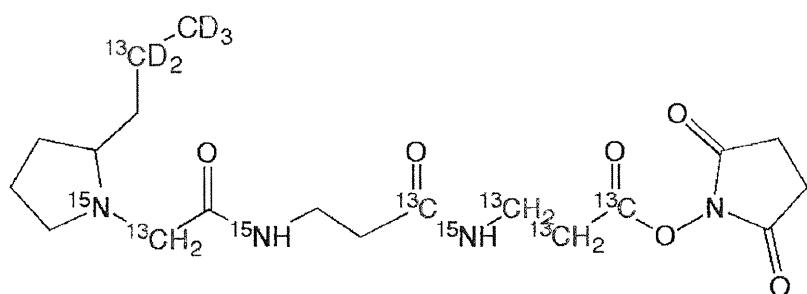
TMT-3-18-133.1595 (#7' セット 3)



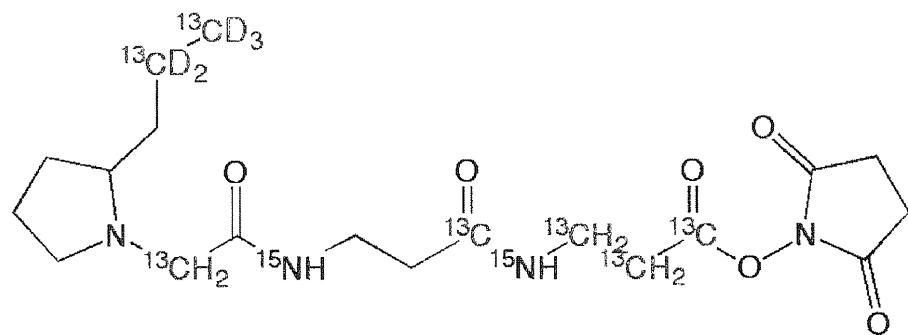
TMT-3-18-133.16582 (#7' セット 3)



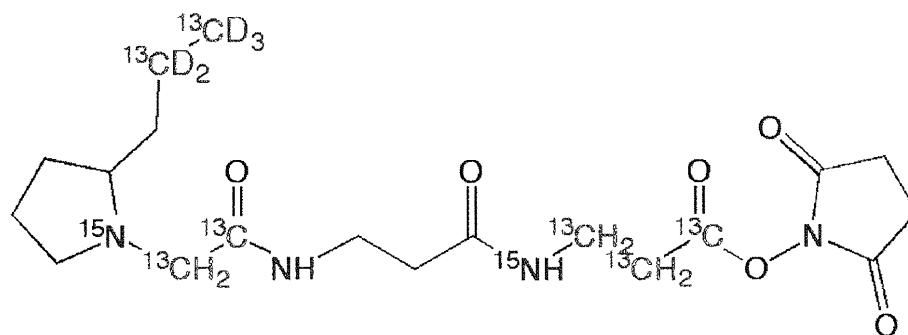
TMT-3-18-134.16285 (#7' セット 4)



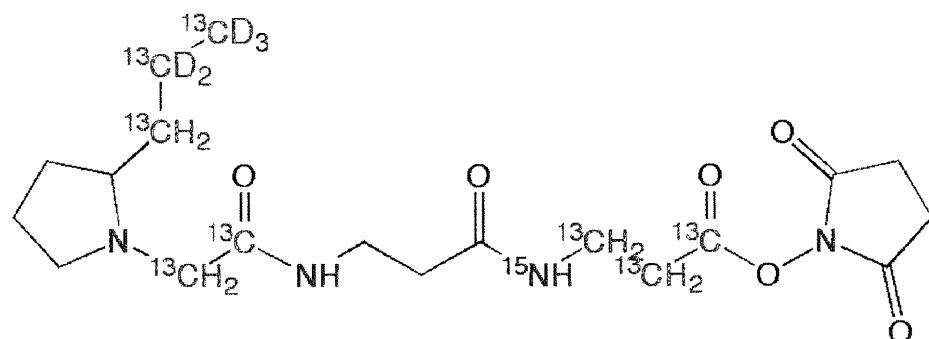
TMT-3-18-134.16917 (#7 セット 4)



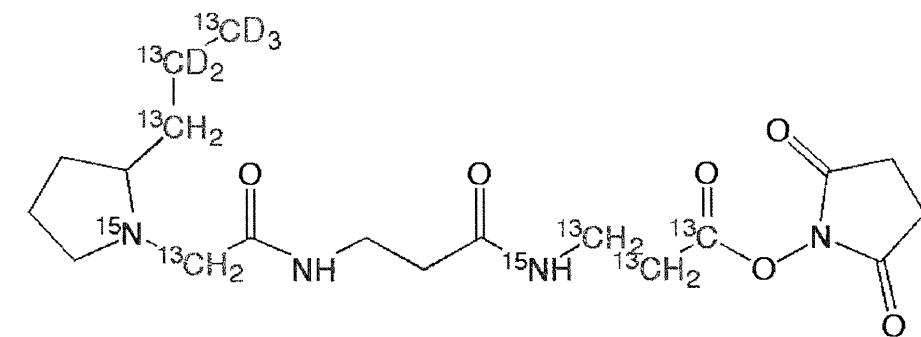
TMT-3-18-135.16621 (#7 セット 5)



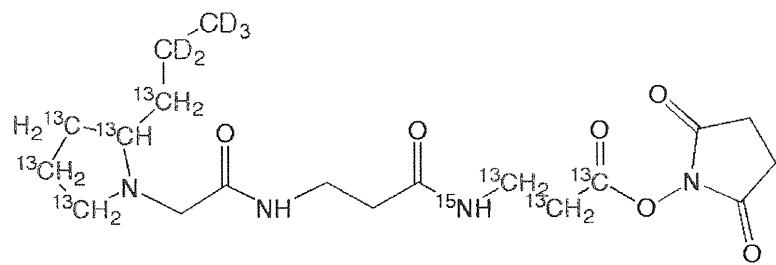
TMT-3-18-135.17253 (#7 セット 5)



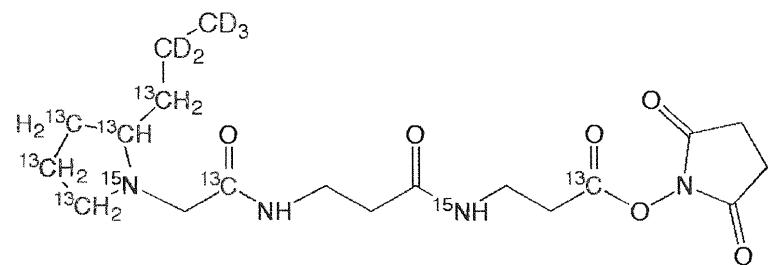
TMT-3-18-136.16956 (#7 セット 6)



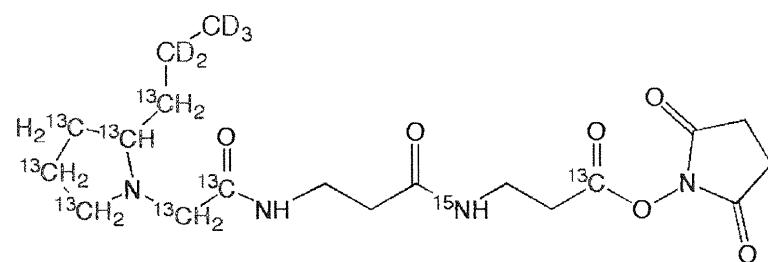
TMT-3-18-136.17588 (#ラベル 6)



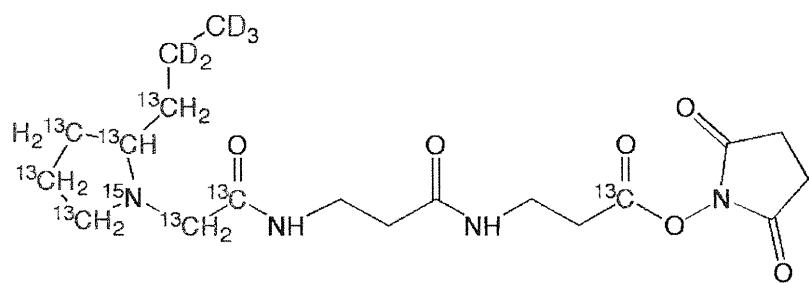
TMT-3-18-137.17292 (#ラベル 7)

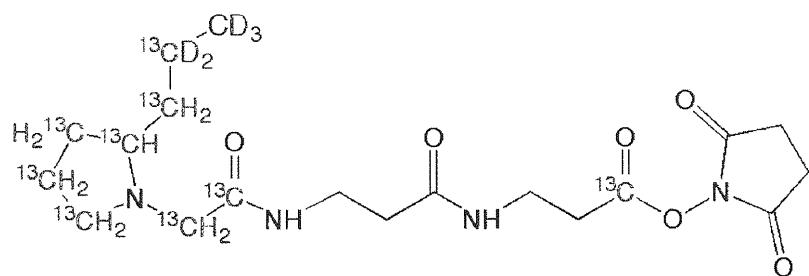
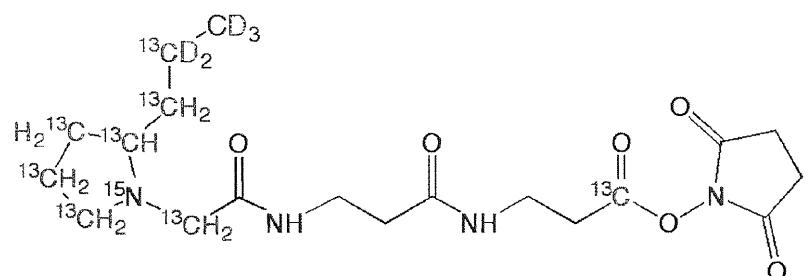
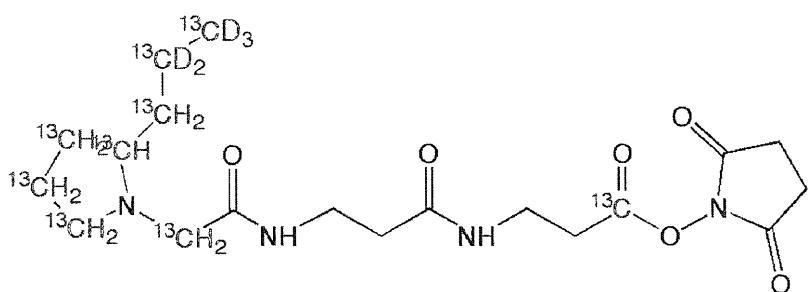
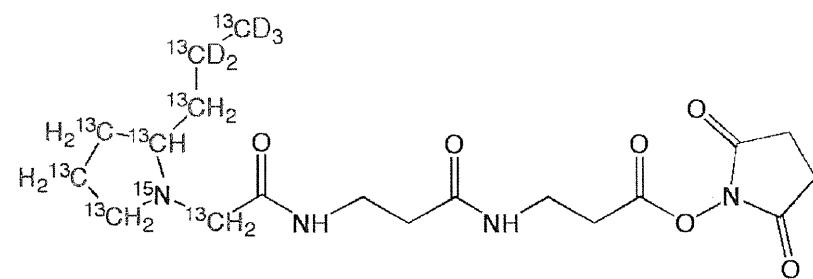


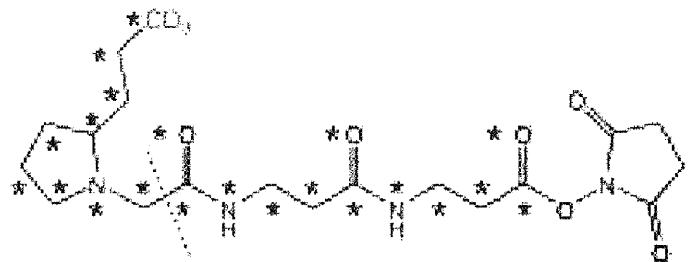
TMT-3-18-137.17924 (#ラベル 7)



TMT-3-18-138.17627 (#ラベル 8)



TMT-3-18-138.18259 (#<sup>アラビア数字</sup> セット 8)TMT-3-18-139.17963 (#<sup>アラビア数字</sup> セット 9)TMT-3-18-139.18595 (#<sup>アラビア数字</sup> セット 9)TMT-3-18-140.18298 (#<sup>アラビア数字</sup> セット 10)を有する n = 1~8 の質量標識を含む、構成 1~9 に記載の、2 以上の質量標識のセット。(構成 2~1 )各質量標識は下記構造 :(化 1~1 )



を有し、

式中、\*は酸素が<sup>18</sup>Oであり、炭素が<sup>13</sup>Cであり、窒素が<sup>15</sup>Nでありまたは水素が<sup>2</sup>Hであることを表し、かつ1つ以上の\*が存在してもよい

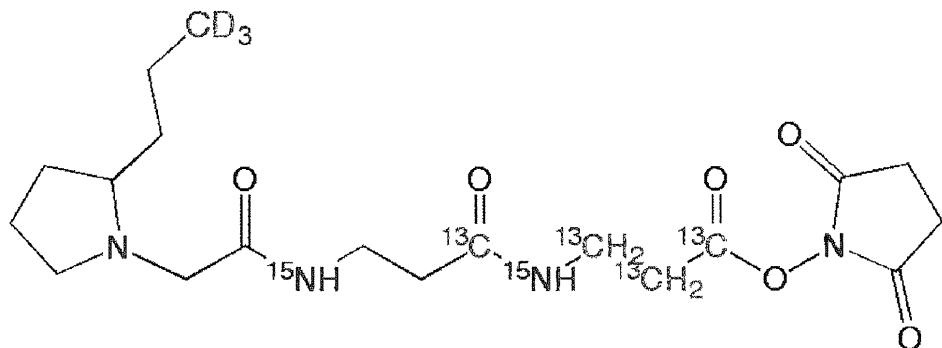
構成1～14のいずれかに記載の、2以上の質量標識のセット。

(構成22)

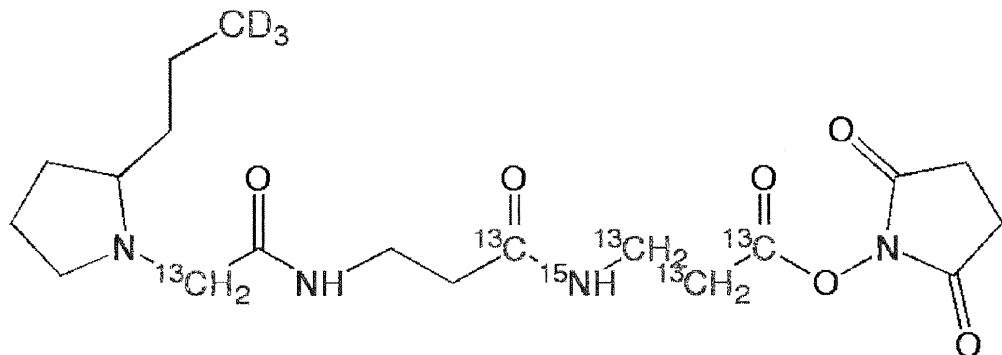
\*は<sup>13</sup>Cまたは<sup>15</sup>Nでありかつ前記セットは下記構造：

(化12)

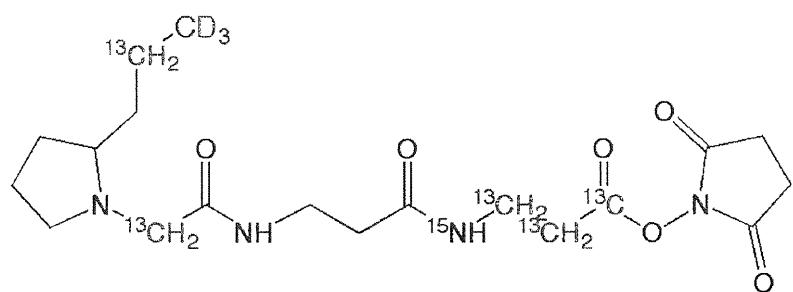
TMT-4-7-129.14656 (#<sup>2</sup>セット 1)



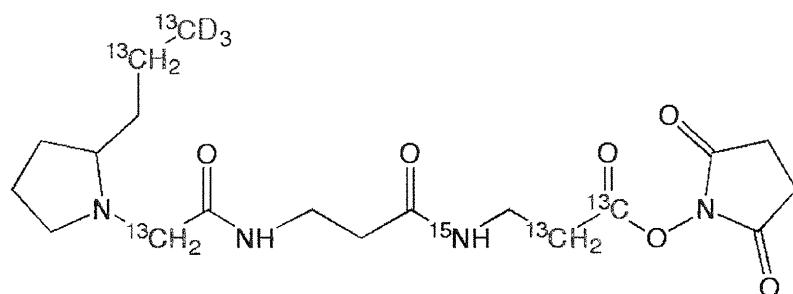
TMT-4-7-130.14991 (#<sup>2</sup>セット 2)



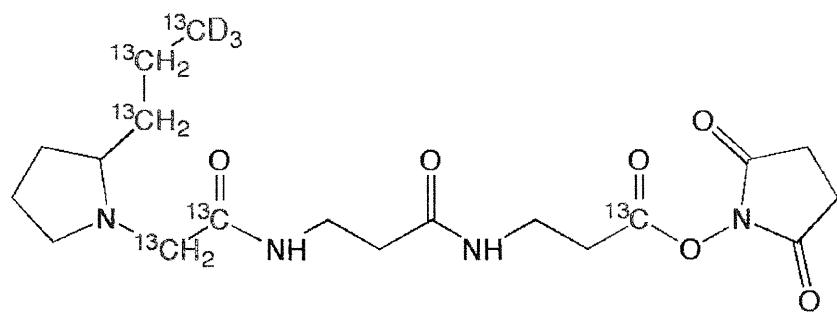
TMT-4-7-131.15327 (#ア' セット 2)



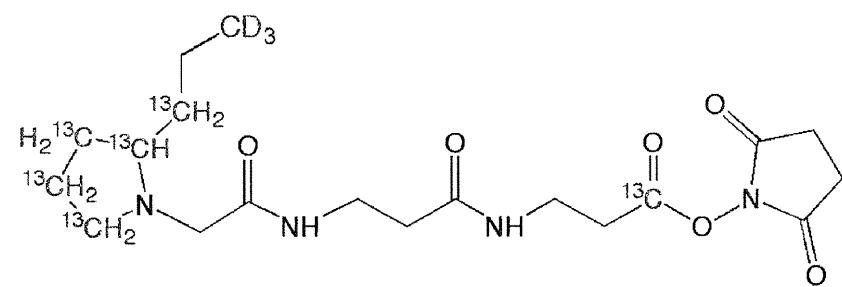
TMT-4-7-132.15662 (#ア' セット 3)



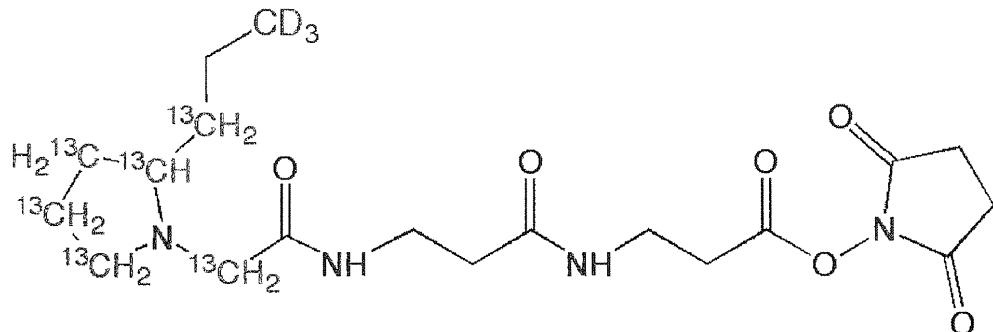
TMT-4-7-133.15998 (#ア' セット 3)



TMT-4-7-134.16333 (#ア' セット 4)



TMT-4-7-135.16669 ( サブセット : 4 )



を有する  $n = 7$  の質量標識を含む、構成 2 1 に記載の、2 以上の質量標識のセット。

(構成 2 3 )

構成 1 ~ 2 2 のいずれかに定義される質量標識の 2 以上のセットを含む、質量標識のアレイ。

(構成 2 4 )

前記アレイにおける任意の 1 つのセットの質量標識の各々の整数質量は前記アレイにおける全ての他のセットの質量標識の各々の整数質量とは異なる、構成 2 3 に記載の、質量標識のアレイ。

(構成 2 5 )

一セット中の各質量標識は下記 :

a ) 前記セット中の全ての他の質量標識と同じ整数質量を有する質量系列修飾基、および

b ) 前記アレイの全ての他のセットの質量標識と異なる整数質量

を含む、構成 2 3 または 2 4 に記載の、質量標識のアレイ。

(構成 2 6 )

一セット中の各質量標識は同じ質量系列修飾基を含む、構成 2 5 に記載のアレイ。

(構成 2 7 )

一セット中の各質量標識は前記アレイの全ての他の質量標識の質量系列修飾基のアイソトポログである質量系列修飾基を含む、構成 2 3 ~ 2 6 のいずれかに記載の、アレイ。

(構成 2 8 )

分析物と関連付けることができる質量標識または質量標識の組合せを質量分析によって同定することにより分析物を検出することを含む、質量分析の方法であって、前記質量標識は構成 1 ~ 2 7 のいずれかに定義される質量標識のセットまたはアレイ由来の質量標識である、質量分析の方法。

(構成 2 9 )

a ) 複数の試料を提供することであって、各試料は 1 つ以上の分析物を含み、各試料は 1 つの質量標識または質量標識の組み合わせで示差標識され、1 つ以上の標識分析物を得；前記質量標識（複数可）は構成 1 ~ 2 7 のいずれかに定義される質量標識のセットまたはアレイに由来する、こと；

b ) 前記複数の示差標識された試料を混合して標識分析物を含む分析混合物を形成すること；

c ) 任意で前記標識分析物を質量分析計で検出すること；

d ) 前記標識分析物を質量分析計で解離して質量標識および / または無傷の質量標識を含む分析物フラグメントを形成すること；

e ) 前記質量標識および / または無傷の質量標識を含む分析物フラグメントを検出すること；

f ) 任意で前記質量標識を前記質量分析計で解離して前記レポーター部分を放出すること

と、および前記レポーター部分を検出すること；

g) 任意で工程 f ) で形成された前記レポーター部分を解離してフラグメントを形成すること、および前記フラグメントを検出すること；

h) 前記標識分析物の質量スペクトル；および／または前記質量標識および／または無傷の質量標識を含む分析物フラグメントの質量スペクトル；および／または前記レポーター部分もしくはレポーター部分のフラグメントの質量スペクトルに基づいて分析物を同定すること

を含む、構成 2 8 に記載の、質量分析の方法。

(構成 3 0 )

前記分析物は前記標識分析物の質量スペクトルに基づいて同定される、構成 2 9 に記載の、質量分析の方法。

(構成 3 1 )

前記分析物は前記質量標識および／または無傷の質量標識を含む分析物フラグメントの質量スペクトルに基づいて同定される、構成 2 9 に記載の、質量分析の方法。

(構成 3 2 )

無傷の質量標識を含む前記分析物フラグメントは無傷の質量標識を含む b 系列イオン、好ましくは b 1 イオンである、構成 3 1 に記載の、質量分析の方法。

(構成 3 3 )

前記分析物は前記レポーター部分もしくはレポーター部分のフラグメントの質量スペクトルに基づいて同定される、構成 2 9 に記載の、質量分析の方法。

(構成 3 4 )

a) 複数の試料を提供することであって、各試料は 1 つ以上の分析物を含み、各試料は 1 つの質量標識または質量標識の組み合わせで示差標識され、1 つ以上の標識分析物を得；前記質量標識（複数可）は構成 1 ~ 3 4 のいずれかに定義される質量標識のセットまたはアレイに由来する、こと；

b) 前記複数の示差標識された試料を混合して標識分析物を含む分析混合物を形成すること；

c) 前記標識分析物を質量分析計で検出すること；

d) 前記標識分析物を質量分析計で解離して前記レポーター部分を放出すること、および前記分析物または前記分析物のフラグメントに付着した前記質量標識の残りを含む相補イオンを検出すること；

e) 任意で工程 d で形成された前記相補イオンを解離してフラグメントを形成する、および前記フラグメントを検出する 1 つ以上のさらなる工程；

f) 前記標識分析物の質量スペクトルおよび／または前記相補イオンおよび／またはそのフラグメントの質量スペクトルに基づいて前記分析物を同定すること

を含む、構成 2 8 に記載の、質量分析の方法。

(構成 3 5 )

前記解離は質量分析計における衝突誘起解離である、構成 2 9 ~ 3 4 のいずれかに記載の、方法。

(構成 3 6 )

4 0 0 の質量対電荷比で 6 0 , 0 0 0 を超える分解能、好ましくは 4 0 0 の質量対電荷比で 1 0 0 , 0 0 0 を超える、最も好ましくは 4 0 0 の質量対電荷比で 2 5 0 , 0 0 0 を超える分解能を有する質量分析計で実施される、構成 2 9 ~ 3 5 のいずれかに記載の、方法。

(構成 3 7 )

工程 d ) において前記相補イオンは結合しからの一酸化炭素のニュートラルロスによって形成される、構成 2 9 ~ 3 6 のいずれかに記載の、方法。