

【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 3 部門第 3 区分

【発行日】平成24年3月22日 (2012.3.22)

【公表番号】特表2010-518236(P2010-518236A)

【公表日】平成22年5月27日 (2010.5.27)

【年通号数】公開・登録公報2010-021

【出願番号】特願2009-549253(P2009-549253)

【国際特許分類】

C 0 9 B 23/00 (2006.01)

C 0 7 D 451/04 (2006.01)

C 0 7 D 209/14 (2006.01)

A 6 1 K 49/00 (2006.01)

G 0 1 N 33/483 (2006.01)

G 0 1 N 33/50 (2006.01)

G 0 1 N 33/68 (2006.01)

【 F I 】

C 0 9 B 23/00 C S P L

C 0 7 D 451/04

C 0 7 D 209/14

A 6 1 K 49/00 A

G 0 1 N 33/483 C

G 0 1 N 33/50 P

G 0 1 N 33/68

【手続補正書】

【提出日】平成23年2月7日 (2011.2.7)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

$Z^1 - PMB - Z^2$

(式中、

Z^1 および Z^2 はそれぞれ独立して、複素環部分を含んでなる多環基を表し、
PMB は架橋ポリシクロ部分を含んでなるポリメチン架橋を表す) で表される化合物およびそれらの塩類。

【請求項 2】

前記化合物が蛍光色素である、請求項 1 に記載の化合物。

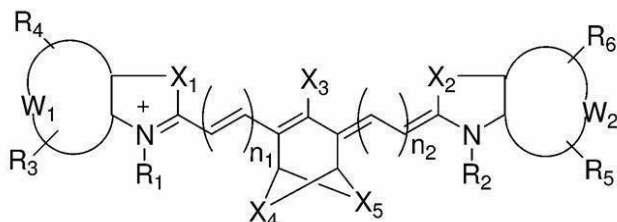
【請求項 3】

PMB が架橋ビシクロ部分を含んでなる、請求項 1 または 2 に記載の化合物。

【請求項 4】

前記化合物が、

【化 1】



(式中、

X_1 および X_2 はそれぞれ独立して、 $C(CH_2K_1)(CH_2K_2)$ (式中、 K_1 および K_2 はそれぞれ独立して、H および $C_1 \sim C_{20}$ アルキルからなる群から選択され、 K_1 および K_2 は場合により一緒になってサイクリック環の一部を形成できる)、O、S、および Se からなる群から選択され、

R_1 および R_2 はそれぞれ独立して、H、 $C_1 \sim C_{20}$ 、アルキル、アルキルアリール、および $-R_9T_1$ (式中、 R_9 は独立して $C_1 \sim C_{20}$ アルキル、アリール、アルキルアリール、および $-(CH_2-O-CH_2)_yCH_2$ (式中、 y は 1 ~ 100 の整数から選択される) からなる群から選択され、 T_1 は生体分子と共有結合を形成できるリンカー部分である) からなる群から選択され、

X_3 は H、ハロゲン、 $-T_2R_{10}$ (式中、 T_2 は S、O、および NR' からなる群から選択され、 R_{10} は H、 $C_1 \sim C_{20}$ アルキル、アリール、アリールアルキルからなる群から選択される)、 $-T_2R_9T_1$ 、および $-R_9T_1$ からなる群から選択され、

X_4 および X_5 はそれぞれ独立して、 $(CK_1K_2)_i$ (式中、 i は 1 ~ 7 の整数から選択される)、 NR' (式中、 R' は H および アルキルからなる群から選択される)、 $-NR'R_9T_1$ 、O、および S からなる群から選択され、

W_1 および W_2 はそれぞれアリール部分の一部としての非金属原子を表し、

n_1 、および n_2 はそれぞれ独立して、0 ~ 4 から選択され、

R_3 、 R_4 、 R_5 、および R_6 はそれぞれ独立して、H、ハロゲン、カルボキシレート、カルボン酸、カルボン酸エステル、アミン、アミド、スルホンアミド、ヒドロキシル、O-アルキル、S-アルキル、アルキル、スルホン酸、スルホン酸塩、ホスホリル、 $SO_2NR_7-Q-CHR_8-[(CH_2)_m-Y-(CH_2)_p-(O)_k]_h(CH_2)_dT_1$

(式中、

R_7 は独立して $C_1 \sim C_{20}$ アルキル、アリール、アルキルアリールからなる群から選択され、

R_8 は独立して H、 $C_1 \sim C_{20}$ アルキル、アリール、アルキルアリール、および アリールアルキルからなる群から選択され、

R_7 および R_8 は合わさるとき、場合により置換されていてもよい 4、5、6 または 7 員環の飽和または不飽和環を形成し、

Q は独立して結合、カルボニル、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、および $C_1 \sim C_6$ シクロアルキルからなる群から選択され

Y は独立して結合、 $-SO_2NR^1-$ 、 $-O-$ 、 $-COO-$ 、および $-CONR'-$ からなる群から選択され、

h は 0 ~ 70 から選択される整数であり、

k は 0 または 1 であり、

d は 0 ~ 12 の整数であり、

m は 0 ~ 12 の整数であり、

p は 0 ~ 12 の整数である)、

および $-R_9T_1$ からなる群から選択される) によって表される、請求項 3 に記載の化合物またはその塩。

【請求項 5】

前記分子が約 500 nm ~ 約 1100 nm の範囲の吸収および放射波長を有する、請求項 4 に記載の化合物。

【請求項 6】

前記分子が約 600 nm ~ 約 900 nm の範囲の吸収および放射波長を有する、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 7】

X_3 が、 $O - (CH_2)_j - T_1$ 、 $S - (CH_2)_j - T_1$ 、 $O - Ph - (CH_2)_j - T_1$ 、 $S - Ph - (CH_2)_j - T_1$

(式中、

j は 0 ~ 6 の整数であり、

Ph はフェニルである) からなる群から選択される、請求項 4 に記載の化合物。

【請求項 8】

T_1 が、 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、カルボキシル、 $-COCl$ 、 $-(CO)O(CO)R_{13}$ (式中、 R_{13} は H、アルキル、およびアリールからなる群から選択される)、 $-CONHNH_2$ 、置換および非置換 N - ヒドロキシスクシンイミドエステル、置換および非置換 N - ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル、ニトロ - またはフルオロ - フェノールエステル、アジド、 $-NCS$ 、 $-CHO$ 、アジド、 $-COCH_2I$ 、ホスホラミダイト、フタルアミド、およびマレイミドからなる群から選択される、請求項 4 または 7 に記載の化合物。

【請求項 9】

X_4 が $-CH_2 - CH_2 -$ であり、 X_5 が $-CH_2$ 、 $-NCH_3$ 、および $-C(CH_3)_2$ からなる群から選択される、請求項 4 に記載の化合物。

【請求項 10】

n_1 、および n_2 が 1 である、請求項 4 に記載の化合物。

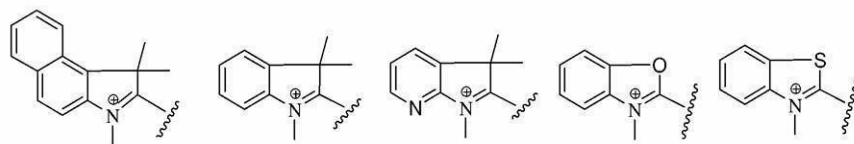
【請求項 11】

W_1 および W_2 が同一である、請求項 4 に記載の化合物。

【請求項 12】

W_1 および W_2 が、

【化 2】



からなる群から選択される、請求項 11 に記載の化合物。

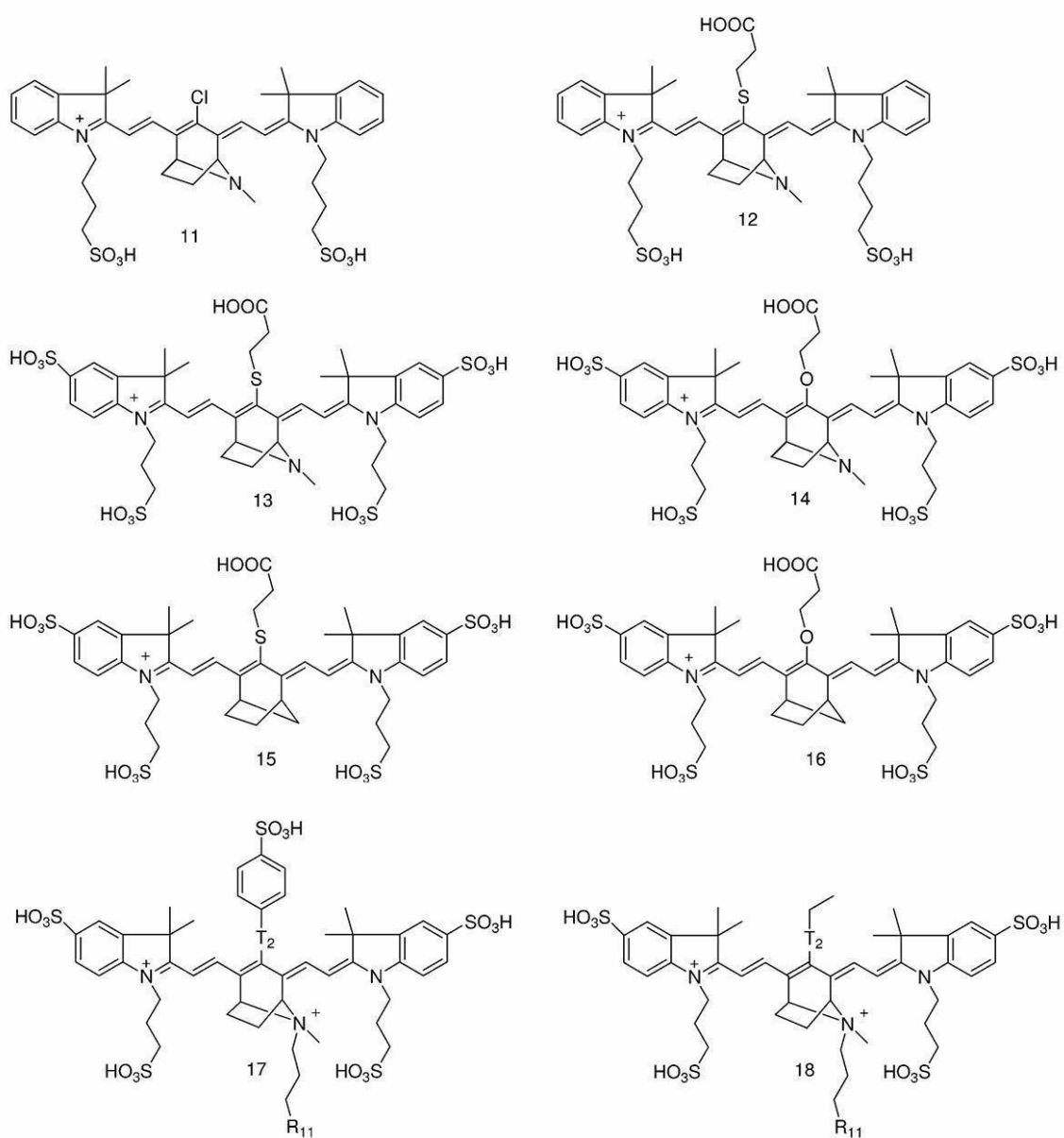
【請求項 13】

X_1 および X_2 が $C(CH_3)_2$ である、請求項 4 に記載の化合物。

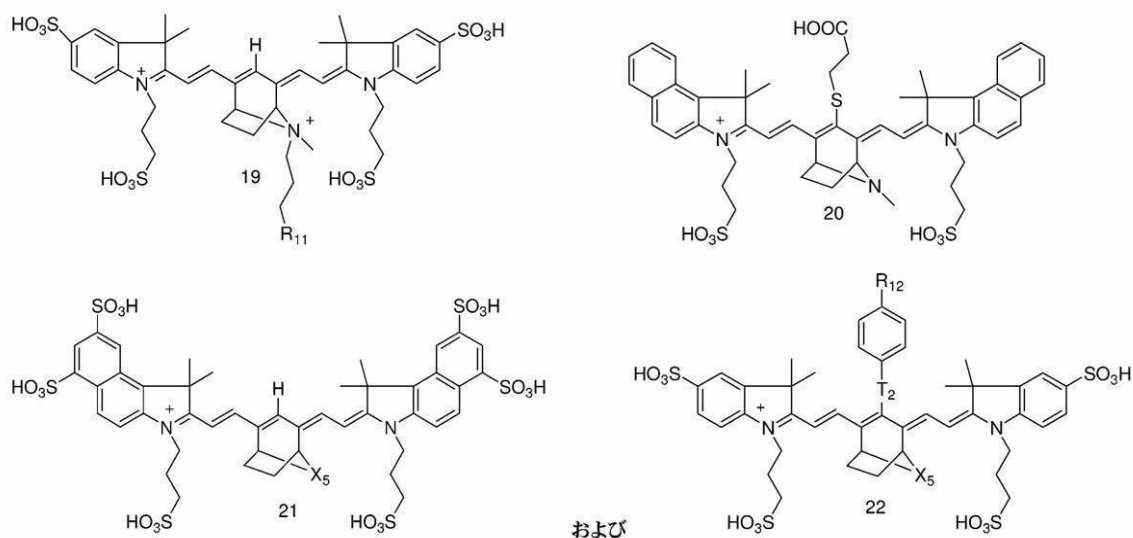
【請求項 14】

式 11 ~ 22、

【化 3】



【化 4】



(式中、

T_2 は O または S であり、

X_5 は N-Me または CH_2 であり、

R_{11} は SO_3H 、 $COOH$ 、 OH 、 SH 、および NH_2 からなる群から選択され、

R_{12} は H、 SO_3H 、 NCS 、 $(CH_2)_kCOOH$ (式中、 k は 0 ~ 6 の整数である) からなる群から選択される) のいずれか 1 つを有する、請求項 4 に記載の化合物、およびその塩。

【請求項 15】

Z^1 、 Z^2 または PMB が、生体分子と共有結合を形成できるリンカー部分をさらに含む、請求項 1 に記載の化合物。

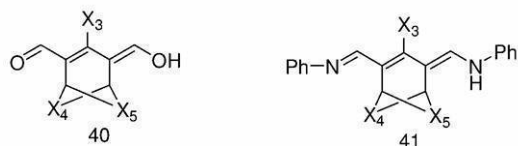
【請求項 16】

前記蛍光分子が生体適合性である、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 17】

一般構造式 40 および 41、

【化 5】



(式中、

X_3 、 X_4 、および X_5 については請求項 4 に定義されるとおりであり、Ph はフェニルである) で表される化合物。

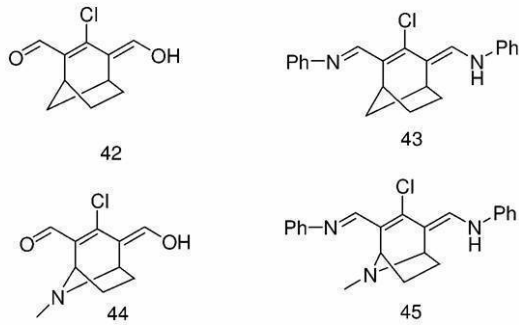
【請求項 18】

X_4 および X_5 がそれぞれ独立して、 CH_2-CH_2 、NMe、および CMe_2 からなる群から選択される、請求項 17 に記載の化合物。

【請求項 19】

式 42 ~ 45、

【化 6】



で表される構造のいずれかを有する、請求項 17 に記載の化合物。

【請求項 20】

請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の蛍光色素化合物と化学的に結合する生体分子を含んでなる、蛍光性生体分子。

【請求項 21】

前記生体分子が細胞、タンパク質または核酸である、請求項 20 に記載の蛍光性生体分子。

【請求項 22】

請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の蛍光色素化合物を含む、生体内での光学的イメージングのための組成物であって、

前記蛍光色素化合物は対象に投与され、および、前記対象中に分布され、または生物学的標的と接触されもしくは反応されること可能とし、

前記対象は、前記化合物が吸収できる波長の光に曝露され、そして、

前記蛍光色素化合物によって放出される光学信号が検出されることを特徴とする、組成物。

【請求項 23】

前記化合物によって放出される前記信号を使用して画像を構築する、請求項 22 に記載の組成物。

【請求項 24】

前記画像が断層画像である、請求項 23 に記載の組成物。

【請求項 25】

前記断層画像が、磁気共鳴または X 線コンピュータ断層撮影によって得られる画像と位置合わせされる、請求項 24 に記載の組成物。

【請求項 26】

前記投与、分布、曝露および検出を所定の間隔で反復して、経時的に前記対象における前記蛍光性化合物の放出信号を評価できるようにすることを特徴とする、請求項 22 に記載の組成物。

【請求項 27】

前記対象が動物またはヒトである、請求項 22 に記載の組成物。

【請求項 28】

信号特性が識別可能である 2 つ以上の化合物を前記対象に投与することを特徴とする、請求項 22 に記載の組成物。

【請求項 29】

前記曝露および検出が、内視鏡、カテーテル、断層撮影システム、平面イメージングシステム、ハンドヘルド光学イメージングシステム、または術中顕微鏡を使用して実施される、請求項 22 に記載の組成物。

【請求項 30】

前記蛍光色素化合物によって放出される信号の存在、不在、またはレベルが疾患状態を

示す、請求項 22 に記載の組成物。

【請求項 31】

前記光学信号が検出された後に、疾患が検出されることを特徴とする、請求項 22 に記載の組成物。

【請求項 32】

前記光学信号が検出された後に、疾患がモニターされることを特徴とする、請求項 22 に記載の組成物。

【請求項 33】

前記疾患が、骨疾患、癌、心血管疾患、皮膚疾患、公害病、免疫疾患、感染症、炎症、遺伝性疾患、代謝疾患、神経変性疾患、眼疾患、および呼吸器疾患からなる群から選択される、請求項 30、31 または 32 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 34】

前記疾患が炎症性疾患である、請求項 30 に記載の組成物。

【請求項 35】

前記疾患が癌である、請求項 30 に記載の組成物。

【請求項 36】

前記疾患が心血管疾患である、請求項 30 に記載の組成物。

【請求項 37】

前記蛍光色素化合物が細胞に化学的に結合される、請求項 22 に記載の組成物。

【請求項 38】

前記蛍光色素化合物によって放出される前記信号を使用して、細胞の輸送および局在化をモニターし、または細胞治療法の有効性を評価する、請求項 35 に記載の組成物。

【請求項 39】

a) サンプルを、請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の蛍光色素化合物に接触させるステップと、

b) 前記蛍光色素化合物を生物学的標的によって活性化させ、またはそれに結合させるステップと、

c) 場合により非結合蛍光色素化合物を除去するステップと、

d) 前記サンプルを、前記蛍光色素化合物が吸収できる波長の光に曝すステップと、

e) 前記蛍光色素化合物から放出される信号を検出し、それによって前記蛍光色素化合物が前記生物学的標的によって活性化され、またはそれに結合したかどうかを判定するステップと、

を含んでなる、生体外での光学的イメージング方法。

【請求項 40】

前記サンプルが生物学的サンプルである、請求項 39 に記載の方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0016

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0016】

別の態様では、本発明は、生体外での光学的イメージング方法を提供する。本方法は、(a) 例えば生物学的サンプルなどのサンプルを本発明の蛍光色素化合物に接触させるステップと、(b) 蛍光色素化合物を生物学的標的によって活性化させ、またはそれに結合させるステップと、(c) 場合により非結合蛍光色素化合物を除去するステップと、(d) サンプルを例えば蛍光色素化合物が吸収できる波長の光などの電磁放射に曝すステップと、(e) 蛍光色素化合物から放出される信号を検出し、それによって蛍光色素化合物が生物学的標的によって活性化され、またはそれに結合したかどうかを判定するステップとを含んでなる。

本発明は、例えば以下の項目を提供する。

(項目1)

$Z^1 - PMB - Z^2$

(式中、

Z^1 および Z^2 はそれぞれ独立して、複素環部分を含んでなる多環基を表し、
PMB は架橋ポリシクロ部分を含んでなるポリメチン架橋を表す) で表される化合物およびそれらの塩類。

(項目2)

前記化合物が蛍光色素である、項目1に記載の化合物。

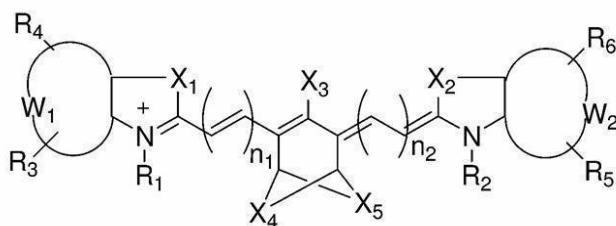
(項目3)

PMB が架橋ビシクロ部分を含んでなる、項目1または2に記載の化合物。

(項目4)

前記化合物が、

【化1】



(式中、

X_1 および X_2 はそれぞれ独立して、 $C(CH_2K_1)(CH_2K_2)$ (式中、 K_1 および K_2 はそれぞれ独立して、H および $C_1 \sim C_{20}$ アルキルからなる群から選択され、 K_1 および K_2 は場合により一緒になってサイクリック環の一部を形成できる)、O、S、および Se からなる群から選択され、

R_1 および R_2 はそれぞれ独立して、H、 $C_1 \sim C_{20}$ 、アルキル、アルキルアリール、および $-R_9T_1$ (式中、 R_9 は独立して $C_1 \sim C_{20}$ アルキル、アリール、アルキルアリール、および $-(CH_2-O-CH_2)_yCH_2$ (式中、 y は $1 \sim 100$ の整数から選択される) からなる群から選択され、 T_1 は生体分子と共有結合を形成できるリンカー部分である) からなる群から選択され、

X_3 は H、ハロゲン、 $-T_2R_{10}$ (式中、 T_2 は S、O、および NR' からなる群から選択され、 R_{10} は H、 $C_1 \sim C_{20}$ アルキル、アリール、アリールアルキルからなる群から選択される)、 $-T_2R_9T_1$ 、および $-R_9T_1$ からなる群から選択され、

X_4 および X_5 はそれぞれ独立して、 $(CK_1K_2)_i$ (式中、 i は $1 \sim 7$ の整数から選択される)、 NR' (式中、 R' は H および アルキルからなる群から選択される)、 $-NR'R_9T_1$ 、O、および S からなる群から選択され、

W_1 および W_2 はそれぞれアリール部分の一部としての非金属原子を表し、

n_1 、および n_2 はそれぞれ独立して、 $0 \sim 4$ から選択され、

R_3 、 R_4 、 R_5 、および R_6 はそれぞれ独立して、H、ハロゲン、カルボキシレート、カルボン酸、カルボン酸エステル、アミン、アミド、スルホンアミド、ヒドロキシル、O-アルキル、S-アルキル、アルキル、スルホン酸、スルホン酸塩、ホスホリル、 $SO_2NR_7-Q-CHR_8-[(CH_2)_m-Y-(CH_2)_p-(O)_k]_h(CH_2)_dT_1$

(式中、

R_7 は独立して $C_1 \sim C_{20}$ アルキル、アリール、アルキルアリールからなる群から選択され、

R_8 は独立して H、 $C_1 \sim C_{20}$ アルキル、アリール、アルキルアリール、およびアリー

ルアルキルからなる群から選択され、

R_7 および R_8 は合わさるとき、場合により置換されていてもよい 4、5、6 または 7 員環の飽和または不飽和環を形成し、

Q は独立して結合、カルボニル、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、および $C_1 \sim C_6$ シクロアルキルからなる群から選択され

Y は独立して結合、 $-SO_2NR^1-$ 、 $-O-$ 、 $-COO-$ 、および $-CONR'-$ からなる群から選択され、

h は 0 ~ 70 から選択される整数であり、

k は 0 または 1 であり、

d は 0 ~ 12 の整数であり、

m は 0 ~ 12 の整数であり、

p は 0 ~ 12 の整数である)、

および $-R_9T_1$ からなる群から選択される) によって表される、項目 3 に記載の化合物またはその塩。

(項目 5)

前記分子が約 500 nm ~ 約 1100 nm の範囲の吸収および放射波長を有する、項目 4 に記載の化合物。

(項目 6)

前記分子が約 600 nm ~ 約 900 nm の範囲の吸収および放射波長を有する、項目 5 に記載の化合物。

(項目 7)

X_3 が、 $O-(CH_2)_j-T_1$ 、 $S-(CH_2)_j-T_1$ 、 $O-Ph-(CH_2)_j-T_1$ 、 $S-Ph-(CH_2)_j-T_1$

(式中、

j は 0 ~ 6 の整数であり、

Ph はフェニルである) からなる群から選択される、項目 4 に記載の化合物。

(項目 8)

T_1 が、 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、カルボキシル、 $-COCl$ 、 $-(CO)O(CO)R_{13}$ (式中、 R_{13} は H、アルキル、およびアリアルからなる群から選択される)、 $-CONHNH_2$ 、置換および非置換 N - ヒドロキシスクシンイミドエステル、置換および非置換 N - ヒドロキシルホスクシンイミドエステル、ニトロ - またはフルオロ - フェノールエステル、アジド、 $-NCS$ 、 $-CHO$ 、アジド、 $-COCH_2I$ 、ホスホラミダイト、フタルアミド、およびマレイミドからなる群から選択される、項目 4 または 7 に記載の化合物。

(項目 9)

X_4 が $-CH_2-CH_2-$ であり、 X_5 が $-CH_2$ 、 $-NCH_3$ 、および $-C(CH_3)_2$ からなる群から選択される、項目 4 に記載の化合物。

(項目 10)

n_1 、および n_2 が 1 である、項目 4 に記載の化合物。

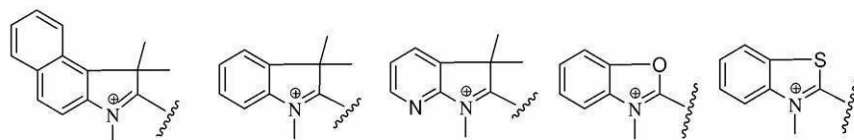
(項目 11)

W_1 および W_2 が同一である、項目 4 に記載の化合物。

(項目 12)

W_1 および W_2 が、

【化 2】



からなる群から選択される、項目 1 1 に記載の化合物。

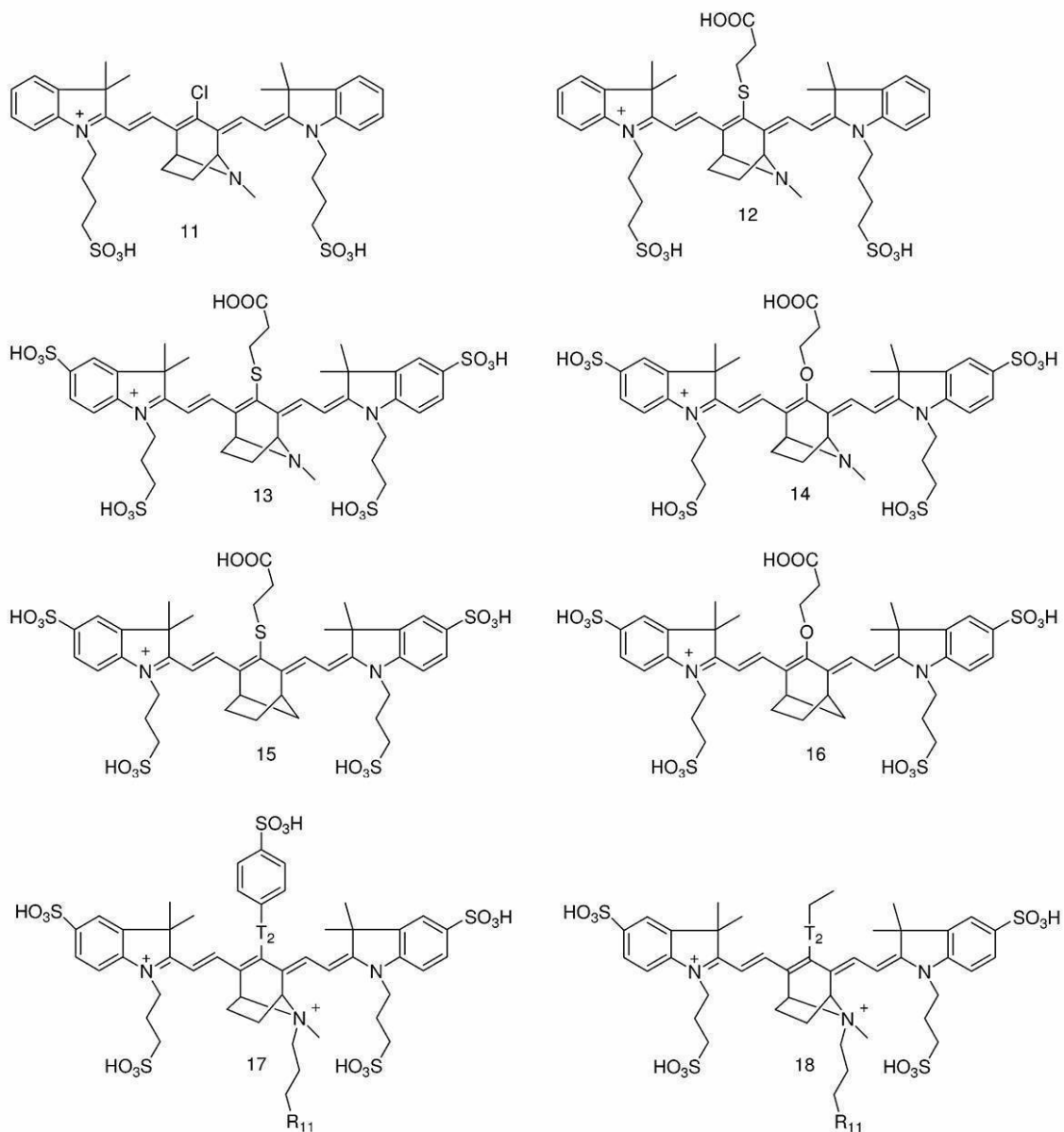
(項 目 1 3)

X_1 および X_2 が $C(CH_3)_2$ である、項目 4 に記載の化合物。

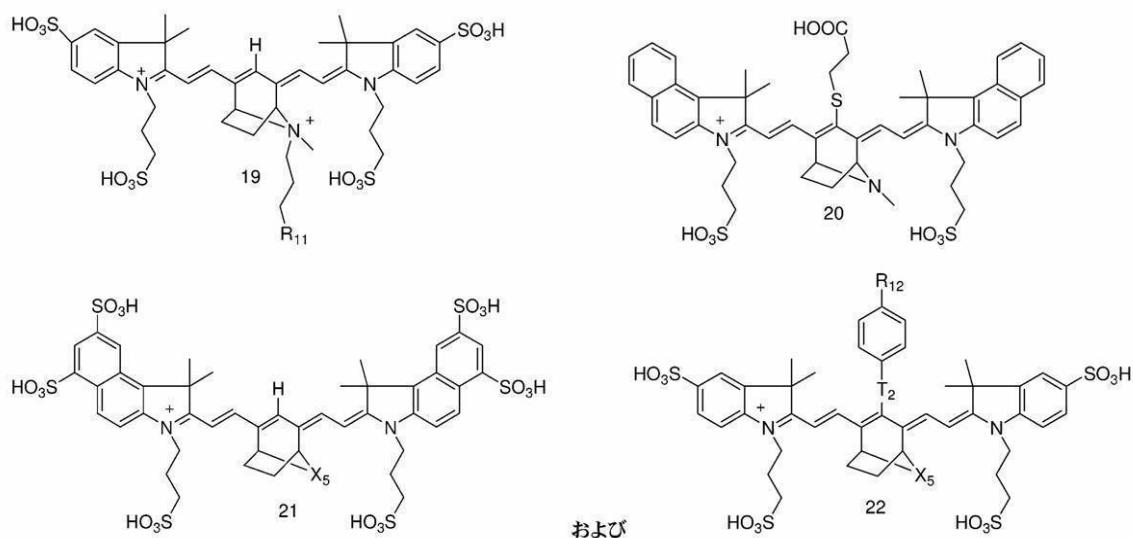
(項 目 1 4)

式 1 1 ~ 2 2、

【 化 3 】



【化 4】



(式中、

T_2 は O または S であり、

X_5 は N - Me または CH_2 であり、

R_{11} は SO_3H 、 $COOH$ 、 OH 、 SH 、および NH_2 からなる群から選択され、

R_{12} は H、 SO_3H 、 NCS 、 $(CH_2)_kCOOH$ (式中、 k は 0 ~ 6 の整数である) からなる群から選択される) のいずれか 1 つを有する、項目 4 に記載の化合物、およびその塩。

(項目 15)

Z^1 、 Z^2 または PMB が、生体分子と共有結合を形成できるリンカー部分をさらに含む、項目 1 に記載の化合物。

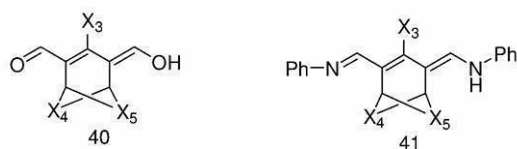
(項目 16)

前記蛍光分子が生体適合性である、項目 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の化合物。

(項目 17)

一般構造式 40 および 41、

【化 5】



(式中、

X_3 、 X_4 、および X_5 については項目 4 に定義されるとおりであり、Ph はフェニルである) で表される化合物。

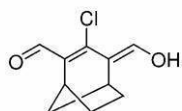
(項目 18)

X_4 および X_5 がそれぞれ独立して、 $CH_2 - CH_2$ 、NMe、および CMe_2 からなる群から選択される、項目 17 に記載の化合物。

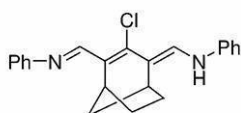
(項目 19)

式 42 ~ 45、

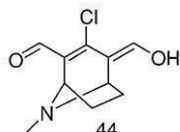
【化 6】



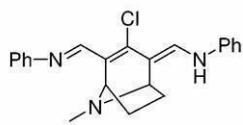
42



43



44



45

で表される構造のいずれかを有する、項目 17 に記載の化合物。

(項目 20)

項目 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の蛍光色素化合物と化学的に結合する生体分子を含んでなる、蛍光性生体分子。

(項目 21)

前記生体分子が細胞、タンパク質または核酸である、項目 20 に記載の蛍光性生体分子。

(項目 22)

a) 項目 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の蛍光色素化合物を対象に投与するステップと、

b) 前記蛍光色素化合物を前記対象中に分布させ、または生物学的標的と接触させもしくは反応させるステップと、

c) 前記対象を、前記化合物が吸収できる波長の光に曝すステップと、

d) 前記蛍光色素化合物によって放出される光学信号を検出するステップと、を含んでなる、生体内での光学的イメージング方法。

(項目 23)

前記化合物によって放出される前記信号を使用して画像を構築する、項目 22 に記載の方法。

(項目 24)

前記画像が断層画像である、項目 23 に記載の方法。

(項目 25)

前記断層画像が、磁気共鳴または X 線コンピュータ断層撮影によって得られる画像と位置合わせされる、項目 24 に記載の方法。

(項目 26)

ステップ (a) ~ (d) を所定の間隔で反復して、経時的に前記対象における前記蛍光性化合物の放出信号を評価できるようにする、項目 22 に記載の方法。

(項目 27)

前記対象が動物またはヒトである、項目 22 に記載の方法。

(項目 28)

ステップ (a) において、その信号特性が識別可能である 2 つ以上の化合物を前記対象に投与する、項目 22 に記載の方法。

(項目 29)

ステップ (c) および (d) が、内視鏡、カテーテル、断層撮影システム、平面イメージングシステム、ハンドヘルド光学イメージングシステム、または術中顕微鏡を使用して実施される、項目 22 に記載の方法。

(項目 30)

前記蛍光色素化合物によって放出される信号の存在、不在、またはレベルが疾患状態を

示す、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 3 1)

ステップ d の後に、疾患を検出するステップをさらに含んでなる、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 3 2)

ステップ d の後に、疾患をモニターするステップをさらに含んでなる、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 3 3)

前記疾患が、骨疾患、癌、心血管疾患、皮膚疾患、公害病、免疫疾患、感染症、炎症、遺伝性疾患、代謝疾患、神経変性疾患、眼疾患、および呼吸器疾患からなる群から選択される、項目 3 0、3 1 または 3 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 3 4)

前記疾患が炎症性疾患である、項目 3 0 に記載の方法。

(項目 3 5)

前記疾患が癌である、項目 3 0 に記載の方法。

(項目 3 6)

前記疾患が心血管疾患である、項目 3 0 に記載の方法。

(項目 3 7)

ステップ (a) において蛍光色素化合物で標識した前記細胞を前記対象に投与する、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 3 8)

前記蛍光色素化合物によって放出される信号を使用して、前記細胞の輸送および局在化をモニターし、または細胞治療法の有効性を評価する、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 3 9)

a) サンプルを、項目 1 ~ 1 9 のいずれか一項に記載の蛍光色素化合物に接触させるステップと、

b) 前記蛍光色素化合物を生物学的標的によって活性化させ、またはそれに結合させるステップと、

c) 場合により非結合蛍光色素化合物を除去するステップと、

d) 前記サンプルを、前記蛍光色素化合物が吸収できる波長の光に曝すステップと、

e) 前記蛍光色素化合物から放出される信号を検出し、それによって前記蛍光色素化合物が前記生物学的標的によって活性化され、またはそれに結合したかどうかを判定するステップと、

を含んでなる、生体外での光学的イメージング方法。

(項目 4 0)

前記サンプルが生物学的サンプルである、項目 3 8 に記載の方法。