(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
2021年5月27日(27.05.2021)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
**WO 2021/100814 A1**

(51) 国際特許分類:
*C07F 5/02* (2006.01) *A61K 47/68* (2017.01)
*C09K 11/06* (2006.01) *A61K 49/00* (2006.01)
*C07K 1/13* (2006.01) *C12N 15/10* (2006.01)
*A61K 47/54* (2017.01) *C09B 23/04* (2006.01)
*A61K 47/59* (2017.01) *C09B 23/14* (2006.01)
*A61K 47/61* (2017.01) *G01N 33/53* (2006.01)
*A61K 47/62* (2017.01) *G01N 21/64* (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2020/043224

(22) 国際出願日： 2020年11月19日(19.11.2020)

(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 2019-210701 2019年11月21日(21.11.2019) JP
特願 2020-110909 2020年6月26日(26.06.2020) JP

(71) 出願人: 富士フイルム株式会社 (**FUJIFILM CORPORATION**) [JP/JP]; 〒1068620 東京都港区西麻布２丁目２６番３０号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 中田 飛翼 (**NAKATA, Hiyoku**); 〒2588577 神奈川県足柄上郡開成町牛島５７７番地 富士フイルム株式会社内 Kanagawa (JP). 榊原 聖人(**SAKAKIBARA, Masato**); 〒2588577 神奈川県足柄上郡開成町牛島５７７番地 富士フイルム株式会社内 Kanagawa (JP). 朝倉 彰洋(**ASAKURA, Akihiro**); 〒2588577 神奈川県足柄上郡開成町牛島５７７番地 富士フイルム株式会社内 Kanagawa (JP). 牧田 慶子(**MAKITA, Keiko**); 〒2588577 神奈川県足柄上郡開成町牛島５７７番地 富士フイルム株式会社内 Kanagawa (JP).

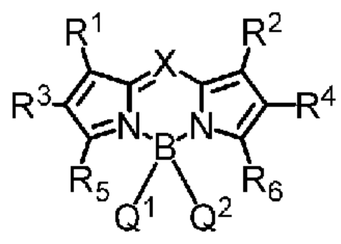
(74) 代理人: 特許業務法人イイダアンドパートナーズ，外(**IIDA & PARTNERS** et al.); 〒1050004 東京都港区新橋３丁目１番１０号 石井ビル３階 Tokyo (JP).

(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, IT, 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(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,

(54) **Title:** COMPOUND AND FLUORESCENTLY LABELED BIOMATERIAL USING SAME

(54) 発明の名称： 化合物及びこれを用いた蛍光標識生体物質



（１）

(57) **Abstract:** The following compound, and a fluorescently labeled biomaterial having the compound. (1) X represents $CR^7$ or N. $R^1$-$R^7$, $Q^1$, and $Q^2$ represent a hydrogen atom, a halogen atom, a cyano group, or a group represented by formula (A), and adjacent substituents may form a ring structure. However, at least one of $R^3$, $R^4$, $R^7$, $Q^1$, and $Q^2$ includes at least one of a carboxy group or a salt thereof, a sulfo group or a salt thereof, a phosphono group or a salt thereof, an onio group, and a polyamino acid residue as a hydrophilic group, and at least one of $Q^1$ and $Q^2$ represents an alkyl group.

(57) 要約：下記化合物、及びこの化合物を有する蛍光標識生体物質。 （１） ＸはＣＲ$^7$又はＮを示す。Ｒ$^1$～Ｒ$^7$、Ｑ$^1$及びＱ$^2$は水素原子、ハロゲン原子、シアノ基又は式（Ａ）で表される基を示し、隣接する置換基同士が環構造を形成してもよい。 ただし、Ｒ$^3$、Ｒ$^4$、Ｒ$^7$、Ｑ$^1$及びＱ$^2$の少なくとも１つは、親水性基として、カルボキシ基もしくはその塩、スルホ基もしくはその塩、ホスホノ基もしくはその塩、オニオ基及びポリアミノ酸残基の少なくとも１種を含み、Ｑ$^1$及びＱ$^2$の少なくとも１つはアルキル基を示す。



［続葉有］

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

## 発明の名称 ： 化合物及びこれを用いた蛍光標識生体物質

## 技術分野

[0001] 本発明は、化合物及びこれを用いた蛍光標識生体物質に関する。

## 背景技術

[0002] 病理検査、感染症の特定などでは、目的の検出対象物質に対して抗体等の結合性の生体分子を化合物（色素）で標識した蛍光標識生体物質が利用されている。

なかでも、生体中の生体分子、細胞及び組織等の動態及び機能等を解析するバイオイメージング技術が、種々の疾患の診断等に活用されている。近年、生体の特定の部位を蛍光色素により可視化して観察する生体蛍光イメージングが、生体観察の新しい技術として期待されている。

この生体蛍光イメージングでは、一般的には有機蛍光色素が用いられる。しかし、有機蛍光色素は耐光性が低く、励起光照射により劣化し、目的の生体観察を十分に行えない場合がある。

[0003] ジピロメテンホウ素錯体（ＢＯＤＩＰＹとも称される。）は、量子収率が高く、シャープな発光特性を示す蛍光色素として知られており、様々な分野で用いられている。

例えば、特許文献１には、アミロイド酸素化触媒として有用な化合物として、ホウ素原子にハロゲノアルキル基が結合したジピロメテンホウ素錯体が記載されている。また、非特許文献１には、光酸素化反応を行う光触媒に有用な化合物として、生体物質反応性基としてのカルボキシ基をｍｅｓｏ位に有し、ビピロメテン骨格の２位及び６位にスルホ基を有する、親水性を高めたジピロメテンホウ素錯体と、ナノセルロースとのハイブリッド化合物が記載されている。

## 先行技術文献

## 特許文献

[0004] 特許文献1：国際公開第２０１６／１４３６９９号

## 非特許文献

[0005] 非特許文献1：RSC Advances, 2016, vol.6, 38, p.32070-32073

## 発明の概要

## 発明が解決しようとする課題

[0006] ジピロメテンホウ素錯体は上記の様な利点を有する一方、一般に水溶性に劣り、耐光性も低い。そのため、生体蛍光イメージング等の生体観察ツールへのジピロメテンホウ素錯体の適用には、ジピロメテンホウ素錯体に水溶性と耐光性の両特性を高いレベルで付与する必要がある。特に、生体蛍光イメージングの実態に鑑みると、得られる蛍光標識生体物質には、生体組織中での優れた耐光性を付与できることが重要となってくる。

しかし、上記特許文献１に記載のジピロメテンホウ素錯体は、水溶性が十分なレベルではなく、水溶液中での耐光性も十分なレベルではなかった。また、上記非特許文献１に記載のジピロメテンホウ素錯体は、得られる蛍光標識生体物質が生体内での十分な耐光性を有しているとは言えなかった。ジピロメテンホウ素錯体には、依然、上記の水溶性と、得られる蛍光標識生体物質の生体組織中での優れた耐光性の両特性のさらなる向上が求められている。本発明者らの検討によれば、上記非特許文献１に記載されるような高水溶性のジピロメテンホウ素錯体は褪色が生じやすく、耐光性と水溶性、特に、化合物の水溶性と蛍光標識抗体の生体組織中での耐光性とを両立したジピロメテンホウ素錯体の開発は困難であることがわかってきた。

本発明は、ジピロメテンホウ素錯体構造を有し、生体物質の蛍光標識用途に求められる優れた親水性を示し、蛍光標識生体物質に生体組織中での優れた耐光性を付与できる化合物を提供することを課題とする。また本発明は、この化合物と生体物質とを結合してなる、生体組織中での優れた耐光性を示す蛍光標識生体物質を提供することを課題とする。

## 課題を解決するための手段

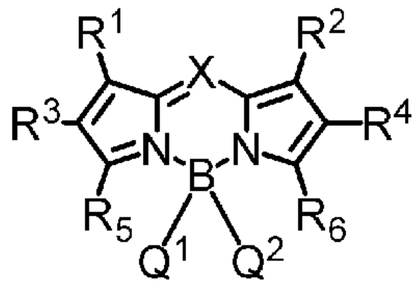
[0007] 本発明者らは、既存の水溶性ジピロメテンホウ素錯体の褪色は、ホウ素原子部位における活性酸素による光分解に起因すると考えた。この考えの下、本発明者らが鋭意検討を重ねた結果、ジピロメテンホウ素錯体に対して、ホウ素原子に少なくとも１つのアルキル基を結合させ、さらに親水性基を導入して、特定の錯体構造とすることにより、ジピロメテンホウ素錯体化合物の、高水溶性を保ちつつ抗酸化性を高めることができることを見出した。さらに、このジピロメテンホウ素錯体化合物を生体分子の標識化合物（色素）として用いることにより、生体組織中での優れた耐光性を備えた標識生体物質（蛍光色素）が得られることを見出した。本発明はこれらの知見に基づき更に検討を重ね、完成されるに至ったものである。

[0008] すなわち、本発明の上記課題は、下記の手段によって解決された。

＜１＞

下記式（１）で表される化合物。

[化1]



式（１）

式中、ＸはＣＲ$^{7}$又はＮを示す。

Ｒ$^{1}$～Ｒ$^{7}$、Ｑ$^{1}$及びＱ$^{2}$は水素原子、ハロゲン原子、シアノ基又は下記式（Ａ）で表される基を示す。Ｒ$^{1}$～Ｒ$^{7}$、Ｑ$^{1}$及びＱ$^{2}$のうち隣接する置換基同士が環構造を形成してもよい。

ただし、Ｒ$^{3}$、Ｒ$^{4}$、Ｒ$^{7}$、Ｑ$^{1}$及びＱ$^{2}$の少なくとも１つは下記親水性基群Ｐｉの少なくとも１種の基を含み、Ｑ$^{1}$及びＱ$^{2}$の少なくとも１つはアルキル基を示す。

[化2]

式（Ａ）

式中、Ｌ$^{3}$は、単結合であるか、又は、アルキレン基、アルケニレン基、ア

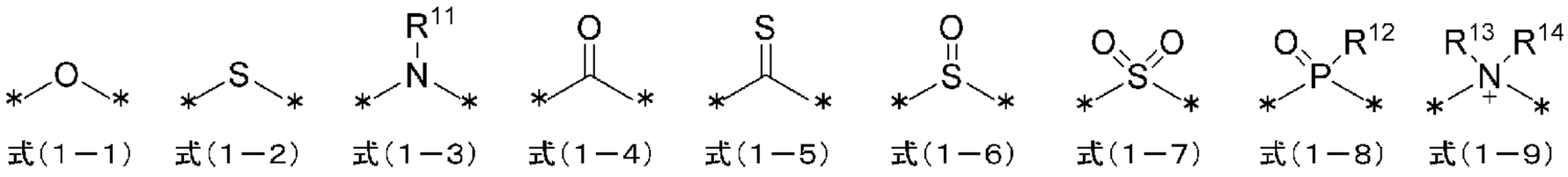
ルキニレン基、アリーレン基、ヘテロアリーレン基及び下記式（１－１）～式（１－９）のいずれかで表される各基のうちの１種又は２種以上を組み合わせた連結基を示す。

Ｒ$^{111}$は、水素原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基又は１価の脂肪族複素環基を示す。

ただし、Ｒ$^{111}$における水素原子が解離性の水素原子である場合は塩を形成していてもよく、Ｌ$^{3}$及びＲ$^{111}$における各基は、さらに置換基を有していてもよい。

＊は結合部を示す。

[化3]




式(1－1) 式(1－2) 式(1－3) 式(1－4) 式(1－5) 式(1－6) 式(1－7) 式(1－8) 式(1－9)

式中、Ｒ$^{11}$～Ｒ$^{14}$は水素原子又は置換基を示す。

＊は結合部を示す。

＜親水性基群Ｐｉ＞

カルボキシ基もしくはその塩、スルホ基もしくはその塩、ホスホノ基もしくはその塩、オニオ基、及び、ポリアミノ酸残基

＜２＞

上記ＸがＣＲ$^{7}$であって、このＲ$^{7}$が上記式（Ａ）で表される基である、＜１＞に記載の化合物。

＜３＞

上記Ｒ$^{3}$、Ｒ$^{4}$及びＲ$^{7}$のうち少なくとも１つが、上記親水性基群Ｐｉの少なくとも１種の基を有する、＜１＞又は＜２＞に記載の化合物。

＜４＞

上記Ｒ$^{3}$及びＲ$^{4}$のうち少なくとも１つが上記式（Ａ）で表される基であり、この式（Ａ）で表される基は下記親水性基群Ｐｉ－１の少なくとも１種の基を有する、＜１＞～＜３＞のいずれか１つに記載の化合物。

＜親水性基群Ｐｉ－１＞

カルボキシ基もしくはその塩、スルホ基もしくはその塩、及び、ホスホノ基もしくはその塩

＜５＞

上記式（Ａ）で表される基のＬ[3]が、アルケニレン基、アルキニレン基、アリーレン基、ヘテロアリーレン基並びに上記の式（１－１）、式（１－３）、式（１－４）、式（１－７）及び式（１－８）のいずれかで表される各基のうちの２種以上を組み合わせた連結基であって、かつ、上記親水性基群Ｐｉ－１の少なくとも１種の基を有する、＜４＞に記載の化合物。

＜６＞

上記Ｒ[3]及びＲ[4]のうち少なくとも１つが、カルボキシ基もしくはその塩、スルホ基もしくはその塩、又は、ホスホノ基もしくはその塩である、＜１＞～＜５＞のいずれか１つに記載の化合物。

＜７＞

上記Ｒ[3]及びＲ[4]のうち少なくとも１つがスルホ基もしくはその塩である、＜１＞～＜６＞のいずれか１つに記載の化合物。

＜８＞

上記Ｑ[1]がハロゲン原子、アルキル基、アルキニル基、アリール基、ヒドロキシ基又はアルコキシ基である、＜１＞～＜７＞のいずれか１つに記載の化合物。

＜９＞

上記Ｑ[2]が炭素数１～４のアルキル基である、＜１＞～＜８＞のいずれか１つに記載の化合物。

＜１０＞

上記Ｑ[2]が炭素数１～４のハロゲノアルキル基である、＜１＞～＜９＞のいずれか１つに記載の化合物。

＜１１＞

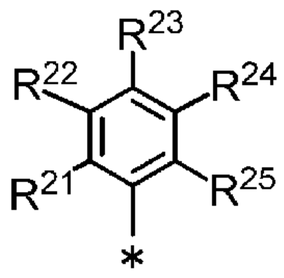
上記Ｒ[7]が水素原子、アリール基又はヘテロアリール基である、＜１＞～＜

１０＞のいずれか１つに記載の化合物。

＜１２＞

上記Ｒ[7]が水素原子又は下記式（Ｃ）で表される基である、＜１＞～＜１１＞のいずれか１つに記載の化合物。

[化4]



式（Ｃ）

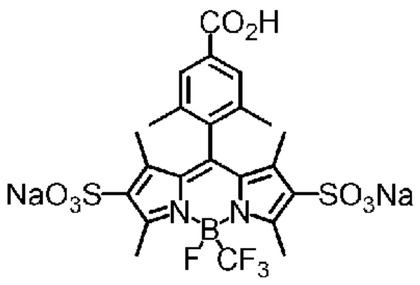
式中、Ｒ[21]は置換基を示し、Ｒ[22]～Ｒ[25]は水素原子又は置換基を示す。

＊は結合部を示す。

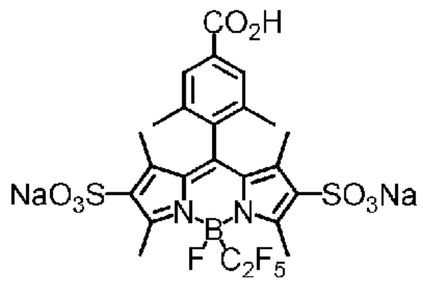
＜１３＞

下記化合物（１）～化合物（７）のいずれかで表される、＜１＞に記載の化合物。

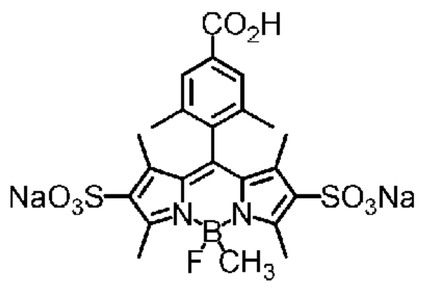
[化5]



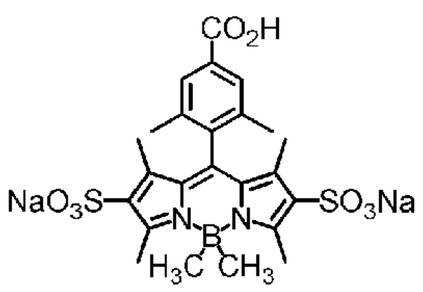
化合物（１）



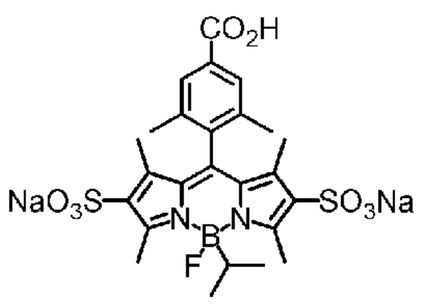
化合物（２）



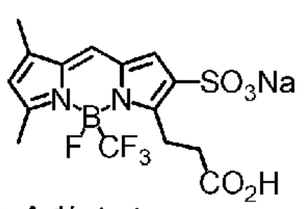
化合物（３）



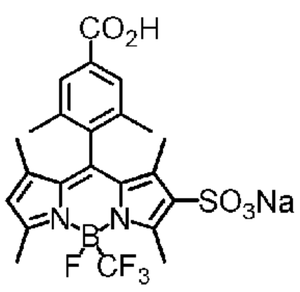
化合物（４）



化合物（５）



化合物（６）



化合物（７）

＜１４＞

上記Ｑ[1]がハロゲン原子であり、かつ上記Ｒ[7]がアリール基である、＜９＞に記載の化合物。

＜１５＞

上記Ｒ[3]及びＲ[4]が共にスルホ基もしくはその塩である、＜１４＞に記載の化合物。

＜１６＞

上記Ｑ[2]が炭素数１～４のハロゲノアルキル基である、＜１５＞に記載の化合物。

＜１３＞

上記Ｒ[1]～Ｒ[7]、Ｑ[1]及びＱ[2]のうち少なくとも１つが、生体物質との結合性部位を有する、＜１＞～＜１６＞のいずれか１つに記載の化合物。

＜１４＞

＜１７＞に記載の化合物と生体物質とが結合してなる蛍光標識生体物質。

＜１５＞

上記生体物質がタンパク質、ペプチド、アミノ酸、核酸、糖鎖及び脂質のいずれかである＜１８＞に記載の蛍光標識生体物質。

＜１６＞

上記化合物と上記生体物質との結合が下記ｉ）～ｖ）のいずれかによる結合である＜１８＞又は＜１９＞に記載の蛍光標識生体物質。

ｉ）ペプチド間での非共有結合又は共有結合、

ｉｉ）化合物中の長鎖アルキル基と生体物質中の脂質二重膜又は脂質とのファンデルワールス相互作用、

ｉｉｉ）化合物中のＮ－ヒドロキシスクシンイミドエステルと生体物質中のアミノ基とを反応させてなるアミド結合、

ｉｖ）化合物中のマレイミド基と生体物質中のスルファニル基とを反応させてなるチオエーテル結合、

ｖ）化合物中のアジド基と生体物質中のアセチレン基、又は、化合物中のアセチレン基と生体物質中のアジド基とをＣｌｉｃｋ反応させてなる、トリアゾール環の形成を伴う結合

## 発明の効果

[0009] 本発明の化合物は、生体物質の蛍光標識用途に求められる優れた親水性と、得られる蛍光標識生体物質に生体組織中での優れた耐光性を付与できる化合物である。また、本発明の蛍光標識生体物質は生体組織中での耐光性に優

れ、生体蛍光イメージング等の蛍光標識による生体観察に好適に用いることができる。

## 発明を実施するための形態

[0010] 本発明において、特定の符号又は式で表示された置換基もしくは連結基等（以下、置換基等という）が複数あるとき、又は、複数の置換基等を同時に規定するときには、特段の断りがない限り、それぞれの置換基等は互いに同一でも異なっていてもよい。このことは、置換基等の数の規定についても同様である。また、複数の置換基等が近接するとき（特に、隣接するとき）には、特段の断りがない限り、それらが互いに連結して環を形成していてもよい。また、特段の断りがない限り、環、例えば脂環、芳香族環及びヘテロ環は、さらに縮環して縮合環を形成していてもよい。

本発明において、特段の断りがない限り、二重結合については、分子内にＥ型及びＺ型が存在する場合、そのいずれであっても、またこれらの混合物であってもよい。また、特段の断りがない限り、化合物としてジアステレオマー及びエナンチオマーが存在する場合には、そのいずれであっても、またこれらの混合物であってもよい。例えば、本発明の一般式（１）で表される化合物においては、ホウ素原子を不斉中心とするエナンチオマーが存在し得る。そのため、本発明の一般式（１）で表される化合物は、上記のホウ素原子を不斉中心とするエナンチオマーのうちの少なくとも１つを含む限り、これらの混合物であってもよく、例えば、後述の化合物（６）及び（７）並びにこれらの標識抗体（６）及び（７）は、ホウ素原子と不斉中心とするエナンチオマーの混合物である。また、本発明の一般式（１）で表される化合物としてその構造を具体的に記載する化合物については、記載する構造の化合物の他に、エナンチオマーを含む意味で使用する。

[0011] 本発明において、化合物（錯体を含む。）及び置換基の表示については、化合物そのもの及び置換基そのもののほか、その塩、そのイオンを含む意味に用いる。例えば、後述の特定の親水性基群Ｐｉ及びＰｉ－１等から選ばれる基が解離性の水素原子を有する場合には、水素原子が解離して、対応する

塩構造を取っていてもよい。このような、解離性の水素原子を有する基としては、例えば、カルボキシ基、スルホ基及びホスホノ基が挙げられる。

塩構造の場合、その塩の種類は１種類でもよく、２種類以上混在していてもよく、化合物中で塩型と遊離酸構造の基が混在していてもよく、また、塩構造の化合物と遊離酸構造化合物が混在していてもよい。

また、本発明の効果を損なわない範囲で、構造の一部を変化させたものを含む意味である。更に、置換又は無置換を明記していない化合物については、本発明の効果を損なわない範囲で、任意の置換基を有していてもよい意味である。このことは、置換基（例えば、「アルキル基」、「メチル基」、「メチル」などのように表現される基）及び連結基（例えば、「アルキレン基」、「メチレン基」、「メチレン」などのように表現される基）についても同様である。このような任意の置換基のうち、本発明において好ましい置換基は、後述の置換基群Ｔから選択される置換基である。

本発明において、ジピロメテンホウ素錯体構造とは、ホウ素原子に対してジピロメテン骨格が少なくとも２座配位で配位する構造を意味する。すなわち、ジピロメテンの２つの窒素原子がホウ素原子に少なくとも配位することで形成される。

また、本発明における化合物は、$Q^1$及び$Q^2$の少なくとも１つとして有する特定のアルキル基が、ジピロメテン骨格上の隣接する置換基（例えば、$R^5$又は$R^6$）と結合して環構造を形成し、ジピロメテン骨格がホウ素原子に対して３座又は４座で配位する化合物も含む。ただし、本発明においては、ジピロメテン骨格はホウ素原子に対して２座配位で配位することが好ましい。また、本発明における化合物において、$R^1$～$R^6$のうち隣接する置換基同士が結合して環を形成し、縮環構造を形成していてもよい。これらの結合して環を形成する置換基の組合わせとしては、$R^1$と$R^3$、$R^3$と$R^5$、$R^2$と$R^4$、及び、$R^4$と$R^6$が挙げられる。形成される環の数は構造上採り得る限り特に制限なく、複数の環が形成されていてもよい。

また、本発明で記載する化学構造式において、ジピロメテンの２つの窒素

原子のうちの１つの窒素原子上の正電荷、及び、ホウ素原子上の負電荷を省略して記載する。

本発明において、ある基の炭素数を規定する場合、この炭素数は、本発明ないし本明細書において特段の断りのない限りは、基全体の炭素数を意味する。つまり、この基がさらに置換基を有する形態である場合、この置換基を含めた全体の炭素数を意味する。

[0012] また、本発明において「～」を用いて表される数値範囲は、「～」前後に記載される数値を下限値及び上限値として含む範囲を意味する。

[0013] 本発明の化合物は、下記式（１）で表される。この式（１）で表される化合物は、ホウ素原子に対してジピロメテン骨格が少なくとも２座配位で配位するジピロメテンホウ素錯体構造を有する、ジピロメテンホウ素錯体化合物である。このため、双極子モーメントと遷移双極子が互いに直交することになり、高極性の溶媒中でも強い蛍光を示すと考えられる。

また、本発明の化合物が、生体物質の蛍光標識用途に求められる十分な親水性（高水溶性）と抗酸化性を示し、蛍光標識生体物質に生体組織中での優れた耐光性を付与できる理由の詳細については定かではないが、次のように考えられる。

本発明の化合物は、ジピロメテンホウ素錯体におけるホウ素原子に少なくとも１つのアルキル基を結合させた化合物であり、さらに、特定の親水性基群Ｐｉから選ばれる基を導入した特定構造を有する化合物である。アルキル基は一般的なホウ素配位子であるフッ素原子よりも立体的に嵩高く、活性酸素等の光分解要因物質の接近を抑制することによりホウ素原子の安定性（抗酸化性）を向上させ、この結果、本発明の化合物が生体物質と結合すると、蛍光標識生体物質の、生体組織中での耐光性を向上させることができると考えられる。また、上記アルキル基をハロゲン原子が置換したハロゲノアルキル基とすることによって、化合物のＨＯＭＯ軌道（Highest Occupied Molecular Orbital）のエネルギー準位を低下させることができ、化合物（錯体）におけるホウ素原子の安定性が更に向上し、水溶液中での耐光性もより一

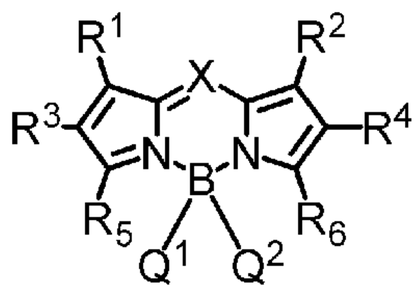
層向上させることができると考えられる。しかも、ホウ素原子に少なくとも１つのアルキル基を結合させたうえで、特定の親水性基を導入することにより、ホウ素原子の安定性を維持しながら化合物に親水性を付与することができると考えられる。これらの結果、本発明の化合物は、ホウ素原子部位に対する、活性酸素による光分解が阻害され、蛍光標識生体物質に生体組織中での優れた耐光性を付与できるうえ、十分な親水性も示すと考えられる。

以下、本発明の式（１）で表される化合物について詳述する。

[0014] ＜式（１）で表される化合物＞

本発明の式（１）で表される化合物は、下記の通りであり、蛍光を発する。以下、本発明の式（１）で表される化合物を蛍光性化合物とも称す。

[0015] [化6]



式（１）

[0016] 式中、ＸはＣＲ$^{7}$又はＮを示す。

Ｒ$^{1}$～Ｒ$^{7}$、Ｑ$^{1}$及びＱ$^{2}$は水素原子、ハロゲン原子、シアノ基又は下記式（Ａ）で表される基を示す。Ｒ$^{1}$～Ｒ$^{7}$、Ｑ$^{1}$及びＱ$^{2}$のうち隣接する置換基同士は、互いに連結して環構造を形成してもよい。

ただし、Ｒ$^{3}$、Ｒ$^{4}$、Ｒ$^{7}$、Ｑ$^{1}$及びＱ$^{2}$の少なくとも１つは、後述する親水性基群Ｐｉの少なくとも１種の基を含む。また、Ｑ$^{1}$及びＱ$^{2}$の少なくとも１つはアルキル基を示す。

[0017] 以下、式（１）における置換基等について詳述する。

[0018] ・式（Ａ）で表される基

[0019] [化7]

式（Ａ）

[0020] 式中、Ｌ$^{3}$は、単結合であるか、又は、アルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、アリーレン基、ヘテロアリーレン基及び下記式（１－１）～

式（１－９）のいずれかで表される各基のうちの１種又は２種以上を組み合わせた連結基を示す。

Ｒ$^{111}$は、水素原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基又は１価の脂肪族複素環基を示す。

ただし、Ｒ$^{111}$における水素原子が解離性の水素原子である場合は塩を形成していてもよい。

また、Ｌ$^{3}$及びＲ$^{111}$における各基は、さらに置換基を有していてもよい。

また、Ｌ$^{3}$が単結合であって、かつ、Ｒ$^{111}$が水素原子であることはない。

＊は結合部を示す。

[0021] なお、式（Ａ）で表される基については、Ｒ$^{111}$を以下の規則（ｉ）～（iv）に基づいて決定し、残部をＬ$^{3}$として解釈するものとする。なお、規則（ｉ）を最優先とし、続いて規則（ii）、（iii）の順に適用し、最後に規則（iv）を適用するものとする。

（ｉ）式（Ａ）で表される基が、後述する親水性基Ｐｉを有する場合

親水性基Ｐｉの末端部分がＲ$^{111}$で表される基として解する。

具体的には、以下の通りである。

カルボキシ基は、Ｌ$^{3}$：式（１－４）で表される基と式（１－１）で表される基を組合わせた連結基と、Ｒ$^{111}$：水素原子とにより表される基である。

スルホ基は、Ｌ$^{3}$：式（１－７）で表される基と式（１－１）で表される基を組合わせた連結基と、Ｒ$^{111}$：水素原子とにより表される基である。

ホスホノ基は、Ｌ$^{3}$：Ｒ$^{12}$が－ＯＨである式（１－８）で表される基と式（１－１）で表される基を組合わせた連結基と、Ｒ$^{111}$：水素原子とにより表される基である。

オニオ基は、Ｌ$^{3}$：式（１－９）で表される基と、Ｒ$^{111}$：水素原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基又は１価の脂肪族複素環基とにより表される基である。

ポリアミノ酸残基は、ポリアミノ酸残基における末端のアミノ基がＬ$^{3}$：式

（１－３）で表される基とＲ$^{111}$：水素原子とにより表される基、又は、ポリアミノ酸残基における末端のカルボキシ基がＬ$^{3}$：式（１－４）で表される基と式（１－１）で表される基を組合わせた連結基と、Ｒ$^{111}$：水素原子とにより表される基である。

なお、上記の親水性基Ｐｉにおける水素原子が解離性の水素原子として解離した基は、それぞれ、カルボキシ基の塩、スルホ基の塩又はホスホノ基の塩に相当する。この塩は後述の特定の親水性基Ｐｉで記載する塩と同義である。

ただし、式（Ａ）で表される基が２つ以上の親水性基Ｐｉを有する場合、上記の規則（ｉ）は、式（Ａ）で表される基において、＊（結合部）から親水性基Ｐｉまでの最短結合原子数が最大となる箇所に位置する親水性基Ｐｉについて適用し、残りの親水性基Ｐｉについては、Ｌ$^{3}$における置換基がさらに有する置換基として解する。

（ii）式（Ａ）で表される基がアルキル基である場合

Ｌ$^{3}$が単結合であって、Ｒ$^{111}$アルキル基である基として解する。

（iii）式（Ａ）で表される基において、式（Ａ）で表される基における末端構造が、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基又は１価の脂肪族複素環基である場合

Ｒ$^{111}$がアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基又は１価の脂肪族複素環基である基として解する。

ただし、上記（iii）において、「式（Ａ）で表される基における末端構造」とは、式（Ａ）で表される基において、最長となる結合鎖のうち＊（結合部）から数えて最も末端に位置する構造を意味する。

上記（iii）において、式（Ａ）で表される基が後述する生体物質との結合性部位を有する基である場合、上記の「式（Ａ）で表される基における末端構造」は、式（Ａ）で表される基における後述する生体物質との結合性部位を水素原子に置換した基について読む。すなわち、後述する生体物質との結合性部位を、Ｌ$^{3}$又はＲ$^{111}$における各基がさらに有していてもよい置換基と

して解する。

（iv）上記（ｉ）～（iii）に該当しない式（Ａ）で表される基については、式（Ａ）で表される基における末端構造側から順に、Ｒ$^{111}$及びＬ$^{3}$を決定する。

この場合、Ｒ$^{111}$として採り得るアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基及び１価の脂肪族複素環基を、さらに置換基を有していてもよい置換基として解してもよい。

[0022] （Ｌ$^{3}$）

Ｌ$^{3}$として採りうるアルキレン基は、後述する置換基群Ｔから選択されるアルキル基から更に水素原子を１つ除去した基と同義であり、好ましいものも同じである。

Ｌ$^{3}$として採りうるアルケニレン基は、後述する置換基群Ｔから選択されるアルケニル基から更に水素原子を１つ除去した基と同義であり、好ましいものも同じである。

Ｌ$^{3}$として採りうるアルキニレン基は、後述する置換基群Ｔから選択されるアルキニル基から更に水素原子を１つ除去した基と同義であり、好ましいものも同じである。

Ｌ$^{3}$として採りうるアリーレン基は、後述する置換基群Ｔから選択されるアリール基から更に水素原子を１つ除去した基と同義であり、好ましいものも同じである。

Ｌ$^{3}$として採りうるヘテロアリーレン基は、後述する置換基群Ｔから選択されるヘテロアリール基から更に水素原子を１つ除去した基と同義であり、好ましいものも同じである。

Ｌ$^{3}$として採りうるアルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、アリーレン基及びヘテロアリーレン基は、無置換の基であってもよく、置換基を有する基であってもよい。

Ｌ$^{3}$として採りうる上記アルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、アリーレン基及びヘテロアリーレン基が有していてもよい置換基としては、

特に限定されず、好ましくは、後述する置換基群Ｔから選択され、より好ましくは、ハロゲン原子、アルコキシ基及び後述する親水性基Ｐｉが挙げられる。

ハロゲン原子としては、フッ素原子、塩素原子、臭素原子及びヨウ素原子が挙げられ、好ましくはフッ素原子である。

また、Ｌ$^{3}$として採りうる上記アルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、アリーレン基及びヘテロアリーレン基が有していてもよい置換基の数は、構造として採り得る限り特に制限されず、少なくとも１個以上とすることができ、上限値としては、特に制限されず、例えば、アルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、アリーレン基及びヘテロアリーレン基における全ての水素原子が置換基で置換されていてもよい。

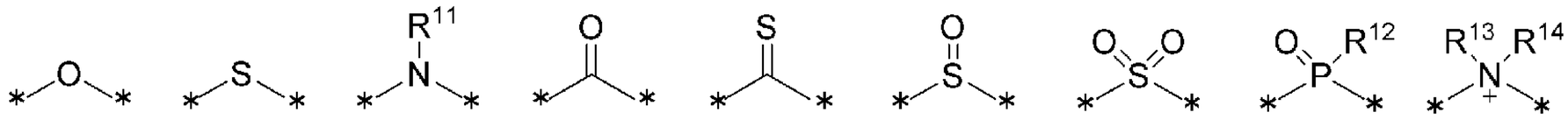
[0023] Ｌ$^{3}$として採り得る、アルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、アリーレン基、ヘテロアリーレン基及び下記式（１－１）～式（１－９）のいずれかで表される各基のうちの１種又は２種以上を組み合わせた連結基において、組み合わせる基の種類は、妥当な化学構造となる限り特に制限されないが、例えば、１～６種を組み合わせた連結基が好ましく、１～３種を組み合わせた連結基がより好ましい。すなわち、Ｌ$^{3}$において、例えば、下記式（１－１）～式（１－３）のいずれかで表される各基が２個以上連続した基は含まれない。

Ｌ$^{3}$として採り得る、アルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、アリーレン基、ヘテロアリーレン基及び下記式（１－１）～式（１－９）のいずれかで表される各基のうちの１種又は２種以上を組み合わせた連結基において、組み合わせる基の数は、特に制限されないが、例えば、平均で、２～２０００が好ましく挙げられ、２～２０００がより好ましく、２～２００がさらに好ましい。

[0024] Ｌ$^{3}$として採り得る式（１－１）～式（１－９）のいずれかで表される基は、下記の通りである。

[0025]

[化8]




[0026] 式中、Ｒ$^{11}$～Ｒ$^{14}$は、各々独立に、水素原子又は置換基を示す。

Ｒ$^{13}$及びＲ$^{14}$は、結合して環を形成していてもよい。

＊は結合部を示す。

[0027] Ｒ$^{11}$、Ｒ$^{13}$及びＲ$^{14}$として採りうる置換基としては、特に限定されず、好ましくは、後述する置換基群Ｔから選択される。Ｒ$^{11}$、Ｒ$^{13}$及びＲ$^{14}$としては、各々独立に、水素原子、アルキル基、アリール基、ヘテロアリール基、アシル基、又は、スルホニル（アルキル、シクロアルキル又はアリールが置換したスルホニル基であり、アルキルスルホニルが好ましい。）が好ましく、水素原子又はアルキル基がより好ましい。

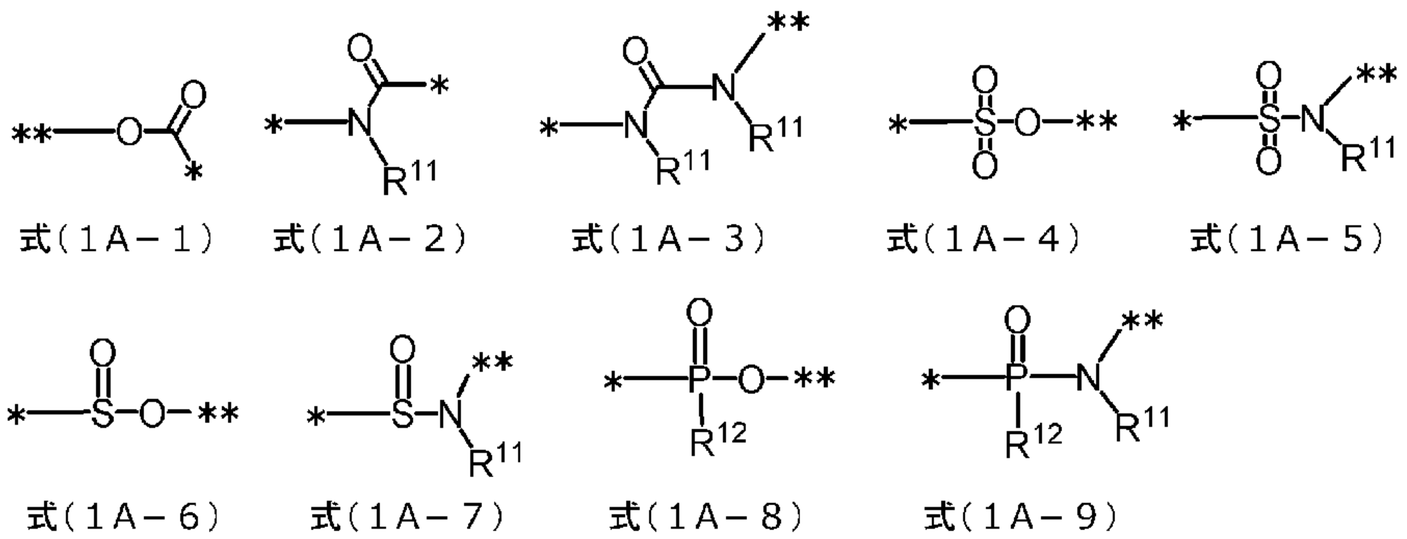
なお、Ｒ$^{11}$、Ｒ$^{13}$及びＲ$^{14}$として採り得る上記アルキル基、アリール基、ヘテロアリール基、アシル基及びスルホニル基は、いずれも、無置換の基であってもよく、置換基を有する基であってもよい。上記、置換基を有する基としては、特に制限されないが、例えば、後述する親水性基Ｐｉを置換基として有する、アルキル基、アリール基、ヘテロアリール基、アシル基及びスルホニル基が好ましく挙げられる。

Ｒ$^{12}$として採りうる置換基としては、特に限定されず、好ましくは、後述する置換基群Ｔから選択される。Ｒ$^{12}$としては、水素原子、ヒドロキシ基、アルコキシ基、アリールオキシ基、アルキル基、アリール基又はヘテロアリール基が好ましく、ヒドロキシ基、アルコキシ基又はアリールオキシ基がより好ましく、ヒドロキシ基がさらに好ましい。

[0028] 上記式（１－１）～式（１－９）のいずれかで表される基を組み合わせた基としては、下記式（１Ａ－１）～式（１Ａ－９）のいずれかで表される基が好ましく挙げられる。

[0029]

[化9]



式（１Ａ－１）　式（１Ａ－２）　式（１Ａ－３）　式（１Ａ－４）　式（１Ａ－５）

式（１Ａ－６）　式（１Ａ－７）　式（１Ａ－８）　式（１Ａ－９）

[0030]　Ｒ[11]及びＲ[12]は上記Ｒ[11]及びＲ[12]と同義である。

＊及び＊＊は結合部を示す。なお、＊＊は、Ｌ[3]として採り得る基である場合におけるＲ[111]側との結合部を示す。式（１Ａ－２）は、Ｌ[3]中いずれの＊側でＲ[111]と結合してもよい。

[0031]　上記Ｌ[3]として採り得る、上記式（１－１）～式（１－９）のいずれかで表される各基を組み合わせた連結基としては、上記式（１Ａ－１）、（１Ａ－２）、（１Ａ－４）又は式（１Ａ－８）のいずれかで表される基が好ましく、上記式（１Ａ－１）又は（１Ａ－４）のいずれかで表される基がより好ましい。

上記式（１Ａ－１）、（１Ａ－４）又はＲ[12]がヒドロキシ基である（１Ａ－８）のいずれかで表される基とＲ[111]としての水素原子とで表される基は、特定の親水性基Ｐｉとしての、カルボキシ基、スルホ基又はホスホノ基にそれぞれ相当する。また、これらの基から水素原子が解離性の水素原子として解離した基は、それぞれ、カルボキシ基の塩、スルホ基の塩又はホスホノ基の塩に相当する。

[0032]　また、Ｌ[3]としては、式（１－１）～式（１－９）のいずれかで表される各基又はこれらの基を組み合わせた連結基と、アルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、アリーレン基及びヘテロアリーレン基の少なくとも１種以上とを組み合わせた連結基であってもよく、アルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、アリーレン基及びヘテロアリーレン基の１種又は２種以上を組み合わせた基を介して、式（１－１）～式（１－９）のいずれかで

表される各基又はこれらの基を組み合わせた連結基を２又は３以上連結した連結基であってもよい。

Ｌ$^{3}$として採り得る２種以上を組み合わせた連結基の具体例としては、例えば、アルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、アリーレン基及びヘテロアリーレン基の少なくとも２種（好ましくは２～４種）を組み合わせ基、並びに、アルキレン基、アリーレン基及びヘテロアリーレン基の少なくとも１種（好ましくは１～４種）と、式（１－１）～式（１－９）のいずれかで表される少なくとも１種（好ましくは１～４種）とを組合わせた連結基が挙げられる。

Ｌ$^{3}$として採り得る２種以上を組み合わせた連結基のうち、繰り返し構造を有する基としては、例えば、アルキレン基－［式（１Ａ－２）で表される基－アルキレン基］－式（１Ａ－１）、（１Ａ－４）又は（１Ａ－８）のいずれかで表される基、アリーレン基－［式（１Ａ－２）で表される基－アルキレン基］－式（１Ａ－１）、（１Ａ－４）又は（１Ａ－８）のいずれかで表される基、アリーレン基－式（１Ａ－２）で表される基－［アルキレン基－式（１－１）で表される基］－アルキレン基－式（１Ａ－１）、（１Ａ－４）又は（１Ａ－８）のいずれかで表される基、及び、アルキレン基－式（１Ａ－２）で表される基－［アルキレン基－式（１－１）で表される基］－アルキレン基－式（１Ａ－１）、（１Ａ－４）又は（１Ａ－８）のいずれかで表される基が好ましく挙げられる。なお、［　］は繰り返し構造であることを示す。

[0033] （Ｒ$^{111}$）

Ｒ$^{111}$として採りうる水素原子が解離性の水素原子である場合、式（Ａ）で表される基は、上記解離性の水素原子が解離して塩を形成していてもよい。この塩は後述の特定の親水性基Ｐｉで記載する塩と同義である。

水素原子が解離性であるとは、例えば、酸解離定数（ｐＫａ）が１０以下であることを意味し、７以下が好ましく、５以下がより好ましい。上記酸解離定数は、水中での２５℃における値を意味する。

[0034] $R^{111}$として採りうる、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基及び1価の脂肪族複素環基としては、それぞれ、置換基群Tにおける対応する基と同義であり、好ましいものも同じである。

$R^{111}$として採り得る上記アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基及び1価の脂肪族複素環基は、いずれも、無置換の基であってもよく、置換基を有する基であってもよい。

$R^{111}$として採り得る上記各基が有していてもよい置換基としては、特に限定されず、後述する置換基群Tから選択される基が挙げられ、好ましくは、ハロゲン原子である。ハロゲン原子としては、フッ素原子、塩素原子、臭素原子及びヨウ素原子が挙げられ、好ましくはフッ素原子である。また、後述する生体物質との結合性部位を置換基として有していてもよい。

$R^{111}$として採り得る上記各基が有していてもよい置換基の数は、構造として採り得る限り特に制限されず、少なくとも1個以上とすることができる。上限値としては、特に制限されず、例えば、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基及び1価の脂肪族複素環基における全ての水素原子が置換基で置換されていてもよい。

$R^{111}$として採りうるアルキル基のうち置換基を有するアルキル基としては、ハロゲノアルキル基が好ましく挙げられる。$R^{111}$として採りうるハロゲノアルキル基は、置換基群Tにおけるアルキル基における少なくとも1つの水素原子がハロゲン原子で置換されたこと以外は、置換基群Tにおけるアルキル基と同義であり、好ましいものも同じである。

ハロゲン原子としては、フッ素原子、塩素原子、臭素原子及びヨウ素原子が挙げられ、好ましくはフッ素原子である。

ハロゲノアルキル基を構成するハロゲン原子の数に特に制限はなく、例えば、パーハロゲノアルキル基であってもよい。

また、$R^{111}$として採り得る上記各基が後述する親水性基Ｐｉ、ハロゲン原子及び後述する生体物質との結合性部位以外の置換基を有する場合、これらの後述する親水性基Ｐｉ、ハロゲン原子及び後述する生体物質との結合性部

位以外の置換基の個数は、例えば、１個以上とすることができ、１又は２個が好ましい。

[0035] 式（Ａ）で表される基としては、具体的には、以下の（１）又は（２）の基が好ましい形態として挙げられる。ただし、これらの例において、Ｌ$^{3}$及びＲ$^{111}$における置換基が置換基を有する形態を排除するものではなく、無置換であっても、置換基を有していてもよい。Ｌ$^{3}$及びＲ$^{111}$における置換基が有していてもよい置換基としては、それぞれ、上述のＬ$^{3}$及びＲ$^{111}$における有していてもよい置換基の記載を好ましく適用することができる。

（１）後述する親水性基群Ｐｉから選ばれる少なくとも１種の基を有する場合

式（Ａ）で表される基は、Ｌ$^{3}$がアルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、アリーレン基、ヘテロアリーレン基及び上記式（１－１）～式（１－９）のいずれかで表される各基のうちの１種又は２種以上を組み合わせた連結基であって、かつ、Ｒ$^{111}$は、水素原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基又は１価の脂肪族複素環基である。

この場合、Ｌ$^{3}$はアルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、アリーレン基、ヘテロアリーレン基並びに上記式（１－１）、式（１－３）、式（１－４）、式（１－７）及び式（１－８）のいずれかで表される各基のうちの１種又は２種以上を組み合わせた連結基が好ましく、アルキレン基、アリーレン基、上記式（１－１）、式（１－４）、及び式（１－７）で表される各基のうちの２種以上を組み合わせた連結基がより好ましい。これらの場合、Ｒ$^{111}$は水素原子が好ましい。式（Ａ）で表される基としては、後述の親水性基群Ｐｉ－１から選ばれる少なくとも１種の基を有することがより好ましい。

（２）後述する親水性基群Ｐｉから選ばれる基を有しない場合

式（Ａ）で表される基は、Ｌ$^{3}$が単結合であって、かつ、Ｒ$^{111}$がアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基又は１価

の脂肪族複素環基であるか、$L^3$がアルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、アリーレン基、ヘテロアリーレン基及び上記式（１－１）～式（１－９）のいずれかで表される各基のうちの１種又は２種以上を組み合わせた連結基であって、かつ、$R^{111}$が水素原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基又は１価の脂肪族複素環基である。

この場合、$L^3$が単結合又は式（１－１）で表される基であって、かつ、$R^{111}$がアルキル基であることが好ましく、$L^3$が単結合であって、かつ、$R^{111}$がアルキル基であることがより好ましい。

[0036] ・$R^1$～$R^6$

上記$R^1$～$R^6$は、各々独立に、水素原子、ハロゲン原子、シアノ基又は上記式（Ａ）で表される基を示し、水素原子又は上記式（Ａ）で表される基が好ましく、水素原子又は上記（１）もしくは（２）の好ましい形態の基がより好ましい。

$R^1$～$R^6$が採りうるハロゲン原子としては、フッ素原子、塩素原子、臭素原子及びヨウ素原子が挙げられ、好ましくはフッ素原子である。

以下、$R^1$～$R^6$のさらに好ましい基について、より具体的に記載する。ただし、各記載において、各基はさらに、置換基（後述する生体物質との結合性部位等）を有していてもよい。

$R^1$及び$R^2$としては、なかでも、水素原子又は上記（２）の好ましい形態の基がさらに好ましい。

上記（２）の好ましい形態の基としては、例えば、$L^3$が単結合であって$R^{111}$がアルキル基である基、及び、$L^3$が式（１－１）で表される基であって$R^{111}$がアルキル基である基が挙げられる。

$R^1$及び$R^2$としては、例えば、水素原子、アルキル基及びアルコキシ基が挙げられ、水素原子もしくはアルキル基が好ましい。

[0037] $R^3$及び$R^4$としては、水素原子又は上記（１）の好ましい形態の基がさらに好ましい。

上記（１）の好ましい形態の基としては、例えば、Ｌ$^{3}$がアルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、アリーレン基、ヘテロアリーレン基並びに式（１－１）、式（１－３）、式（１－４）、式（１－７）及び式（１－８）のいずれかで表される各基の１種又は２種以上を組み合わせた連結基であって、かつ、後述の親水性基群Ｐｉ－１から選ばれる基を有する基が挙げられ、例えばスルホ基もしくはその塩が挙げられる。

Ｒ$^{3}$及びＲ$^{4}$としては、Ｒ$^{3}$及びＲ$^{4}$の少なくとも１つがスルホ基もしくはその塩であることが好ましく、Ｒ$^{3}$及びＲ$^{4}$が共にスルホ基もしくはその塩であることがより好ましい。

Ｒ$^{3}$及びＲ$^{4}$の少なくとも１つがスルホ基もしくはその塩である場合、もう一方は水素原子であることが好ましい。

[0038] Ｒ$^{5}$及びＲ$^{6}$としては、水素原子又は上記（１）もしくは（２）の好ましい形態の基がより好ましく、水素原子又は上記（２）の好ましい形態の基がさらに好ましい。

上記（１）の好ましい形態の基としては、例えば、Ｌ$^{3}$がアルキレン基、上記式（１－１）、及び式（１－４）を組み合わせた連結基がであってＲ$^{111}$が水素原子である基が挙げられる。

上記（２）の好ましい形態の基としては、例えば、Ｌ$^{3}$が単結合であるか、又は、アルケニレン基、アルキニレン基及び式（１－１）で表される基の１種又は２種以上を組み合わせた連結基であって、Ｒ$^{111}$がアルキル基又はアリール基である基が挙げられる。

Ｒ$^{5}$及びＲ$^{6}$としては、例えば、水素原子、アルキル基、カルボキシアルキル基、アリール基、アルコキシ基、アルケニレン－アリール基、アリーレン－式（１－１）で表される基－アルキル基、アルケニレン－アリーレン－式（１－１）で表される基－アルキル基、及び、アルキニレン－アリーレン－式（１－１）で表される基－アルキル基が挙げられ、アルキル基又はカルボキシアルキル基が好ましく、具体的にはメチル基、ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$ＣＯＯＨ基などが挙げられる。

[0039] ・X

上記Xは、$CR^7$又はNを示し、$CR^7$が好ましい。

$R^7$は、水素原子、ハロゲン原子、シアノ基又は上記式（A）で表される基を示し、水素原子又は式（A）で表される基であることが好ましい。式（A）で表される基としては、上記（1）又は（2）の好ましい形態の基が好ましく挙げられる。

$R^7$が採りうるハロゲン原子としては、フッ素原子、塩素原子、臭素原子及びヨウ素原子が挙げられ、好ましくはフッ素原子である。

Xが上記の好ましい形態（すなわち、Xが$CR^7$である形態）を満たすことにより、標識生体物質に生体組織中での優れた耐光性を付与でき、また、化合物及び標識生体物質に優れた蛍光量子収率を付与することができる。このことは、The Journal of Physical Chemistry A, 2016, 120, p.2537-2546に記載されているように、２座のジピロメテン配位子を有するホウ素錯体において、メソ位がNである場合に光化学的分解が起きやすいことと、同様のメカニズムによると考えられる。また、Analyst. 2014 Oct 7; 139(19): p.4862-4873に記載されるように、XがNである場合は、水溶液中又は生体組織中で周囲の水分子とNが水和等の相互作用をし、振動エネルギー遷移等の無輻射失活が起こることによって一般的に低い蛍光量子収率となるのに対し、X が$CR^7$の場合は上記の相互作用が抑えられるため蛍光量子収率が高くなる傾向にある。

[0040] 上記$R^7$としては、水素原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アリールオキシ基又はヘテロアリールオキシ基が好ましい。

ここで、$R^7$として好ましいアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基及びヘテロアリール基としては、それぞれ、式（A）の$R^{111}$におけるアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基及びヘテロアリール基の記載を好ましく適用することができる。また、$R^7$として好ましいアリールオキシ基におけるアリール基及びヘテロアリールオキシ基におけるヘテ

ロアリール基については、それぞれ、式（Ａ）のＲ$^{111}$におけるアリール基及びヘテロアリール基の記載を好ましく適用することができる。

上記のＲ$^{7}$として好ましく採り得るアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アリールオキシ基及びヘテロアリールオキシ基は、無置換であってもよく、置換基を有していてもよい。上記のアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アリールオキシ基及びヘテロアリールオキシ基が有していてもよい置換基としては、特に制限されないが、例えば、後述する置換基群Ｔから選択され、ハロゲン原子、アルキル基、アルケニル基、アルコキシ基、アルキルスルファニル基、後述する親水性基Ｐｉ、及び、後述する生体物質との結合性部位を好ましく挙げることができ、アルキル基、後述する親水性基Ｐｉ又は後述する生体物質との結合性部位がより好ましい。親水性基Ｐｉとしては、後述する親水性基Ｐｉの記載を好ましく適用することができ、カルボキシ基もしくはその塩を有する基であることが最も好ましい。

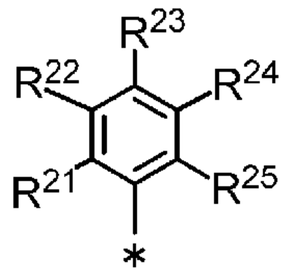
Ｒ$^{7}$の具体例としては、３－カルボキシプロピル、４－カルボキシ－２，６－ジメチルフェニル、４－カルボキシ－２，６－ジメトキシフェニル、４－カルボキシ－２，６－ジフルオロフェニル及び４－カルボキシ－２，６－ジメチルフェニルオキシ等が挙げられる。

[0041] 上記Ｒ$^{7}$は、水素原子、アルキル基、アリール基、ヘテロアリール基、アリールオキシ基又はヘテロアリールオキシ基がより好ましく、水素原子、アルキル基、アリール基又はヘテロアリール基がさらに好ましく、水素原子又はアリール基が特に好ましく、アリール基が最も好ましい。

なかでも、上記Ｒ$^{7}$としては、嵩高い置換基を導入することで活性酸素による光分解を阻害し、標識生体物質の生体組織中での耐光性（耐褪色性）をより向上させる観点から、アリール基又はヘテロアリール基が好ましい。また、より優れた蛍光量子収率を実現させる観点からは、上記Ｒ$^{7}$は、自由回転置換基でない水素原子であるか、ベンゼン環の回転が抑制された、下記式（Ｃ）で表される基がより好ましく、下記式（Ｃ）で表される基がさらに好まし

い。

[0042] [化10]



式(C)

[0043] 式中、$R^{21}$は置換基を示し、$R^{22}$～$R^{25}$は水素原子又は置換基を示す。

＊は結合部を示す。

[0044] $R^{21}$における置換基としては、式（C）におけるベンゼン環の回転を抑制することができる限り、特に限定されず、好ましくは、後述する置換基群Tから選択される。例えば、$R^{21}$としては、ハロゲン原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルコキシ基又はアルキルスルファニル基が好ましく、アルキル基がより好ましい。

$R^{22}$～$R^{25}$として採りうる置換基としては、特に限定されず、好ましくは、後述する置換基群Tから選択される。$R^{22}$～$R^{25}$としては、水素原子、ハロゲン原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルコキシ基又はアルキルスルファニル基が好ましく、$R^{22}$～$R^{25}$として採り得る置換基としては、アルキル基がより好ましい。また、後述する親水性基Ｐｉ及び後述する生体物質との結合性部位も好ましく挙げられる。

$R^{21}$～$R^{25}$として採りうる、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルコキシ基及びアルキルスルファニル基としては、それぞれ、置換基群Tにおける対応する基と同義であり、好ましいものも同じである。

$R^{21}$～$R^{25}$として採り得る置換基であるアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルコキシ基及びアルキルスルファニル基は、無置換の基であってもよく、置換基を有する基であってもよい。上記、置換基（アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルコキシ基及びアルキルスルファニル基）が有してもよい置換基としては、特に制限されないが、例えば、後述する置換基群Tから選択される。後述する親水性基Ｐｉ又は後述する生体物質との結合性部位を有することも好ましい。

$R^{23}$が、後述する親水性基Ｐｉ又は後述する生体物質との結合性部位を有することが、生体物質との結合性の観点から好ましく、カルボキシ基又は後述する生体物質との結合性部位を有することがより好ましい。

なかでも、$R^{21}$が置換基であって、$R^{23}$が後述する親水性基Ｐｉ又は後述する生体物質との結合性部位を有し、$R^{22}$、$R^{24}$及び$R^{25}$のうち少なくとも$R^{25}$が置換基であることがより好ましく、$R^{21}$がハロゲン原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルコキシ基又はアルキルスルファニル基であって、$R^{23}$が後述する親水性基Ｐｉ又は後述する生体物質との結合性部位を有し、$R^{22}$、$R^{24}$及び$R^{25}$のうち少なくとも$R^{25}$がアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルコキシ基又はアルキルスルファニル基であることがさらに好ましく、$R^{21}$がアルキル基であって、$R^{23}$がカルボキシ基又は後述する生体物質との結合性部位を有し、$R^{22}$、$R^{24}$及び$R^{25}$のうち少なくとも$R^{25}$がアルキル基であることが特に好ましい。これらの場合、$R^{22}$及び$R^{24}$は、水素原子、ハロゲン原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルコキシ基又はアルキルスルファニル基であればよく、水素原子が好ましい。

[0045] ・$Q^1$及び$Q^2$

上記$Q^1$及び$Q^2$は、各々独立に、水素原子、ハロゲン原子、シアノ基又は上記式（Ａ）で表される基を示す。ただし、$Q^1$及び$Q^2$の少なくとも１つはアルキル基を示す。

$Q^1$及び$Q^2$が採りうるハロゲン原子としては、フッ素原子、塩素原子、臭素原子及びヨウ素原子が挙げられ、好ましくはフッ素原子である。

$Q^1$は、ハロゲン原子、アルキル基、アルキニル基、アリール基、ヒドロキシ基又はアルコキシ基であることが好ましく、ハロゲン原子又はアルキル基であることがより好ましく、ハロゲン原子であることがさらに好ましい。

$Q^2$は、アルキル基であることが好ましく、標識生体物質の生体組織中での優れた耐光性に加え、化合物の耐光性（水溶液中）をより向上させる観点からは、ハロゲノアルキル基であることがより好ましい。なお、$Q^2$がハロゲノ

アルキル基である場合には、２つのフッ素原子がホウ素原子に配位した従来のジピロメテンホウ素錯体と同レベルの、優れた蛍光量子収率を示すこともできる。アルキル基（ハロゲノアルキル基を含む。）の炭素数は特に制限はないが、水溶性と標識生体物質の生体組織中での優れた耐光性を両立させる観点から、１～１５が好ましく、１～１０がより好ましく、１～４がさらに好ましい。

上記ハロゲノアルキル基とは、アルキル基の少なくとも１つの水素原子がハロゲン原子で置換されていればよい。ハロゲノアルキル基を構成するハロゲン原子の数に特に制限はなく、例えば、パーハロゲノアルキル基であってもよい。

上記アルキル基（ハロゲノアルキル基を含む。）は、直鎖状であってもよく、分岐状であってもよく、環を形成していてもよい。

[0046] ＜親水性基群Ｐｉ＞

カルボキシ基もしくはその塩、スルホ基（－$SO_3H$）もしくはその塩、ホスホノ基〔－$PO(OH)_2$〕もしくはその塩、オニオ基及びポリアミノ酸残基

$R^3$、$R^4$、$R^7$、$Q^1$及び$Q^2$のうち少なくとも１つは、上記親水性基群Ｐｉから選ばれる少なくとも１種の基を有する。

上記「塩」とは、式（１）で表される蛍光性化合物の分子内で塩を形成する形態を含む意味である。

カルボキシ基、スルホ基及びホスホノ基の塩としては、例えば、Ｎａ、Ｌｉ及びＫ等のアルカリ金属の塩、Ｍｇ、Ｃａ及びＢａ等のアルカリ土類金属の塩、テトラアルキルアンモニウム等の有機アミンの塩が挙げられる。

式（１）で表される化合物中における上記親水性基Ｐｉの数は、$R^3$、$R^4$、$R^7$、$Q^1$及び$Q^2$のうちのいずれかが少なくとも１つ有する限り特に制限されない。式（１）で表される化合物として有し得る上記親水性基Ｐｉの数は、親水性と標識生体物質の生体組織中での優れた耐光性の両立の点から、１

～６個が好ましく、１～４個がより好ましく、１～３個がさらに好ましく、２又は３個が特に好ましい。

なお、本発明の式（１）で表される蛍光性化合物が、後述する生体物質との結合性部位又はその前駆体となる置換基として上記親水性基Ｐｉを有する場合、本発明の式（１）で表される蛍光性化合物は、上記生体物質との結合性部位となる基の他に、親水性基Ｐｉを１個以上有することが実際的であり、好ましい。具体例としては、生体物質との結合性部位となり得るＮＨＳエステルの前駆体として、カルボキシ基又はその塩が挙げられる。

[0047] 式（１）で表される蛍光性化合物中に複数の上記親水性基Ｐｉが含まれる場合は、その複数の基は塩構造及び遊離酸構造のいずれであってもよく、互いに同一でもよく異なっていてもよい。

ここで、「ポリアミノ酸」とは、２以上のアミノ酸がペプチド結合で連結した化合物を意味し、ペプチド及びタンパク質を含む概念である。「ポリアミノ酸」を構成するアミノ酸の数は、２～３０が好ましく、４～２０がより好ましく、６～１０がさらに好ましい。「ポリアミノ酸残基」は、ポリアミノ酸から得られる基である。「ポリアミノ酸残基」は、ポリアミノ酸を構成するアミノ酸が有する－$NH_2$、－$CO_2H$、－ＯＨ又は－ＳＨの水素原子の１つを結合手（－）に置き替えた基（例えば－$CO_2H$の水素原子を結合手に置き換えると－Ｃ（＝Ｏ）－Ｏ－＊＊となる。＊＊はポリアミノ酸が式（１）の蛍光性化合物中に組み込まれるための結合部となる。）が好ましい。また、ポリアミノ酸を構成するアミノ酸が有する－$NH_2$、－$CO_2H$、－ＯＨ又は－ＳＨの水素原子の１つを結合手（－）に置き替えた基は、更に、＞Ｃ＝Ｏ及び＞ＮＨ等の結合を介することにより、ポリアミノ酸残基として組み込まれていてもよい。

上記オニオ基は、アンモニオ基（ピリジニウム塩、ピペリジニウム塩、ピペラジニウム塩及びピロリジニウム塩などの環状アンモニオを含む。）、スルホニオ基及びホスホニオ基が挙げられ、アンモニオ基が好ましい。

オニオ基を構成する対イオンとしては、例えば、スルホネートイオン及び

ヨージドイオン等の無機イオンが挙げられる。

オニオ基としては、構成する対イオンを置換基中に置換基として有する形態であってもよく、単に対イオンとして含有する形態であってもよい。

[0048] 本発明の式（１）で表される蛍光性化合物は、優れた水溶性と標識生体物質の生体組織中での優れた耐光性を同時に付与するという観点から、$R^3$、$R^4$及び$R^7$のうち少なくとも１つが、上記親水性基群Ｐｉの少なくとも１種の基を有することが好ましい。

なかでも、ＨＯＭＯ軌道（Highest Occupied Molecular Orbital）がリッチな$R^3$及び$R^4$の少なくともいずれか１つに、上記親水性基Ｐｉのうち電子求引性の基を導入することにより、分子全体の酸化電位を深くする効果が得られ、結果的に、水溶性（優れた親水性）に加えて優れた標識生体物質の生体組織中での優れた耐光性を相乗効果として付与していると考えられる。

上記観点から、$R^3$及び$R^4$のうちの少なくとも１つが、上記式（Ａ）で表される基であり、この式（Ａ）で表される基は下記親水性基群Ｐｉ－１の少なくとも１種の基を有することが好ましい。

＜親水性基群Ｐｉ－１＞

カルボキシ基もしくはその塩、スルホ基もしくはその塩、及び、ホスホノ基もしくはその塩

上記親水性基群Ｐｉ－１の少なくとも１種の基を含む式（Ａ）で表される基としては、上記式（Ａ）における$L^3$がアルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、アリーレン基、ヘテロアリーレン基並びに式（１－１）、式（１－３）、式（１－４）、式（１－７）及び式（１－８）のいずれかで表される各基のうちの２種以上を組み合わせた連結基であって、かつ、上記親水性基群Ｐｉ－１の少なくとも１種の基を有する置換基がより好ましい。

なかでも、$R^3$及び$R^4$のうちの少なくとも１つが、上記親水性基群Ｐｉ－１から選ばれる基であることがより好ましく、スルホ基もしくはその塩であることがさらに好ましい。

[0049] 以下に、本発明の式（１）で表される蛍光性化合物の具体例を以下に示す

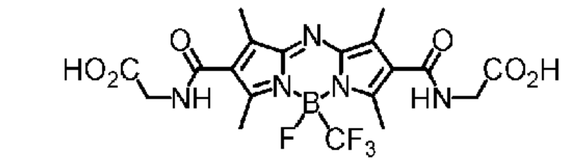
が、本発明はこれらの化合物に限定されない。下記具体例において、特定の親水性基Ｐｉ等の解離性の水素原子を有する基については、水素原子が解離して塩構造を採っていてもよい。

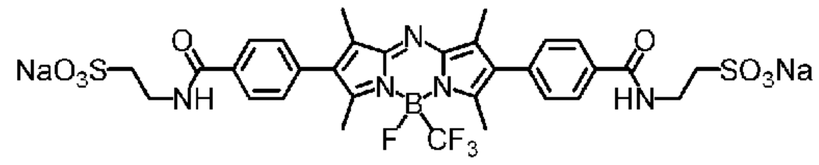
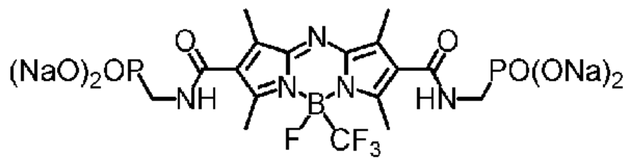
下記例示化合物において、Ｍｅはメチル基を、ｉＰｒはイソプロピル基を、Ｒｆは－ＣＦ（ＣＦ$_3$）$_2$を示す。

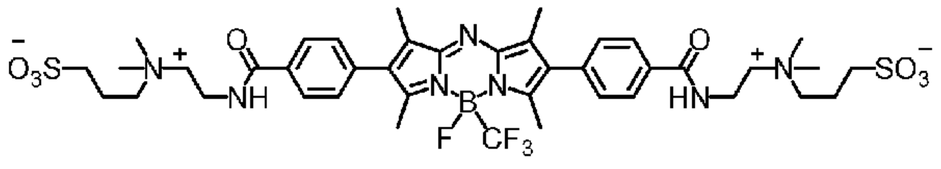
下記例示化合物において、好ましいものは後述する化合物（１）～化合物（７）に相当する化合物である。なお、後述する化合物（１）～化合物（７）におけるスルホ基は、ナトリウムイオンを対イオンとする塩（－ＳＯ$_3$Ｎａ）の形態で記載されているが、この形態の他、上記親水性基群Ｐｉにおいて記載するその他の対イオンとの塩であってもよく、又、スルホ基（－ＳＯ$_3$Ｈ）であってもよい。なかでも、後述する化合物（１）～化合物（７）におけるスルホ基は、ナトリウムイオンを対イオンとする塩の形態であることが好ましい。

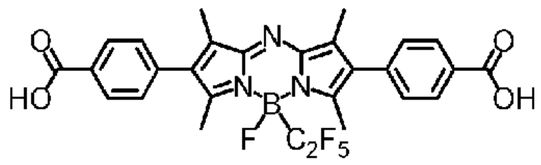
[0050]

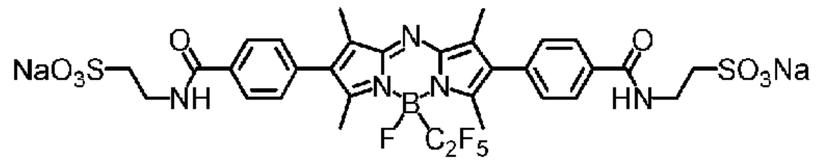
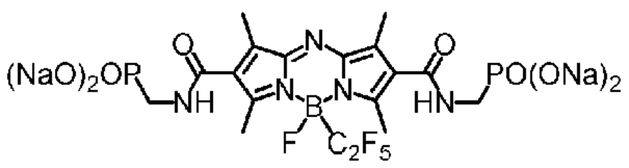
[化11]

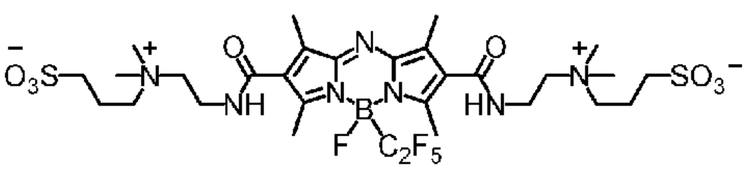
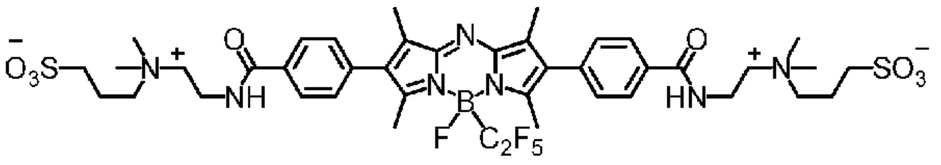




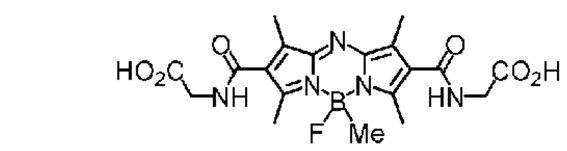
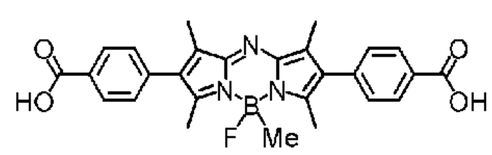
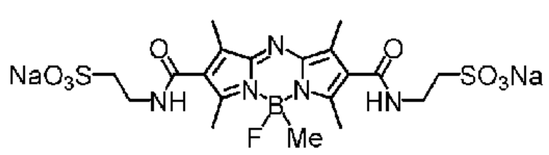
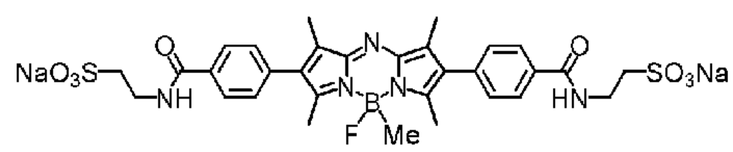
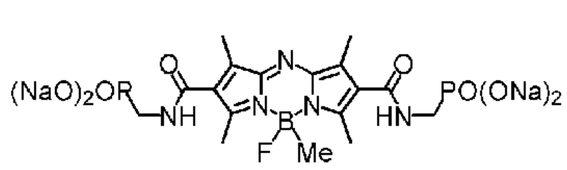
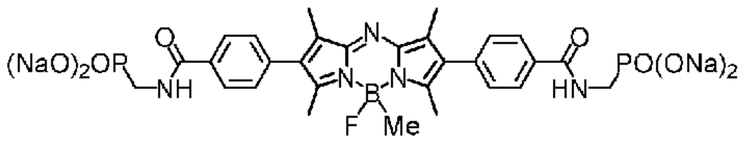
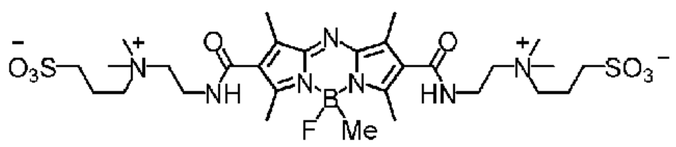
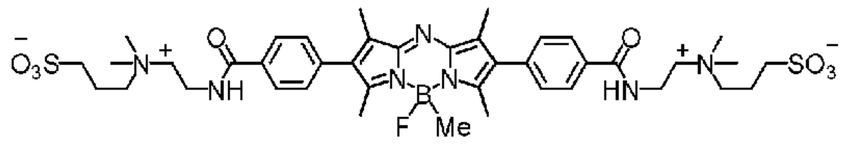
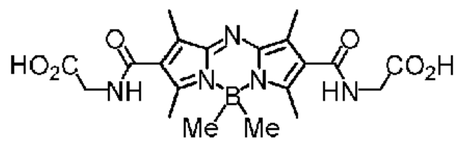
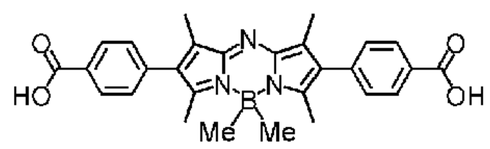
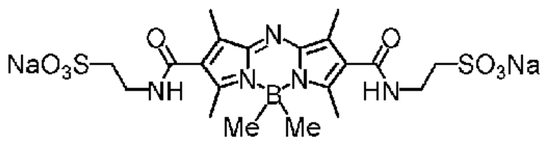
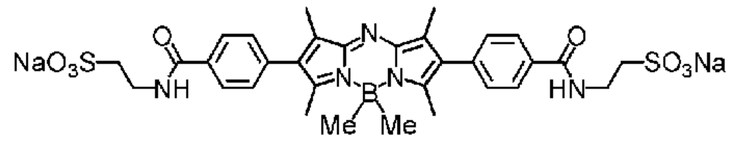
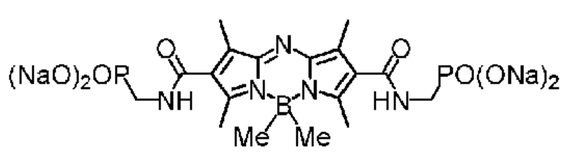
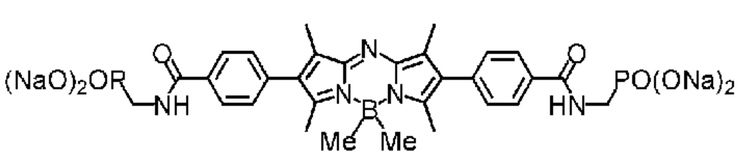
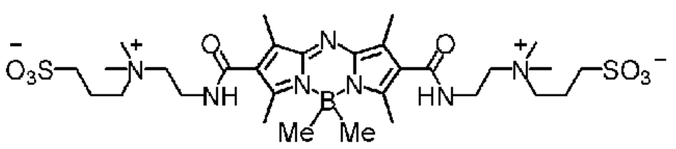
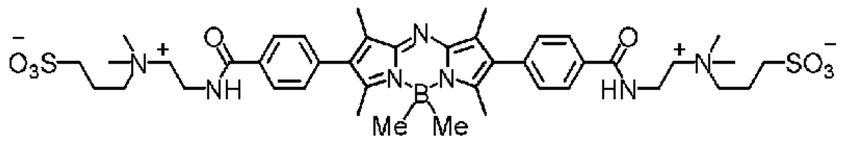
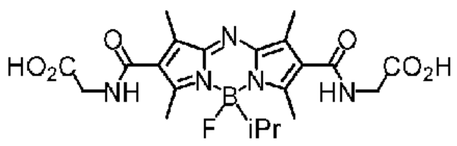
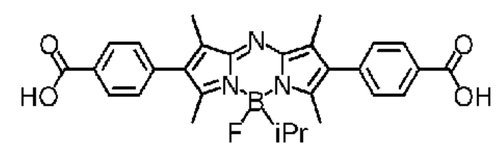
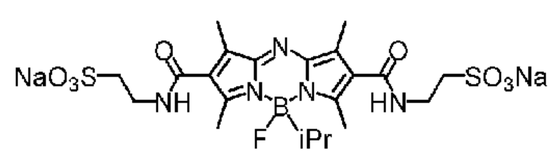
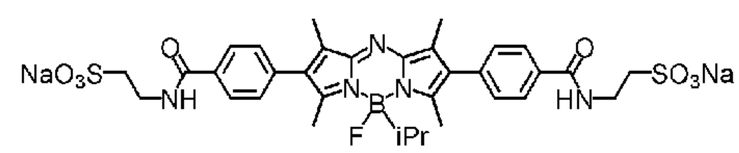
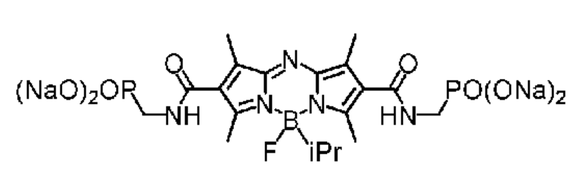
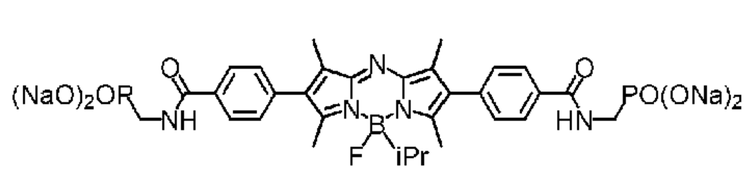
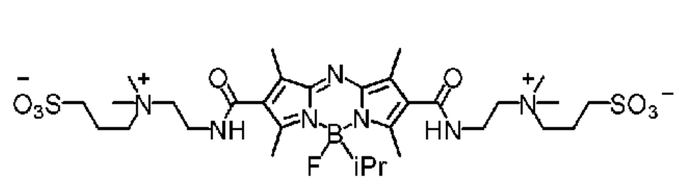
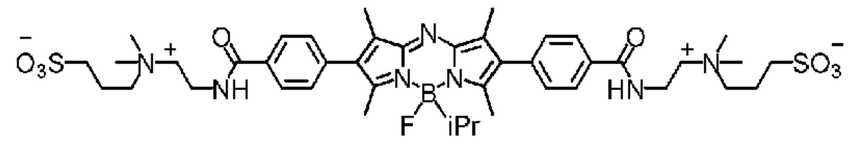


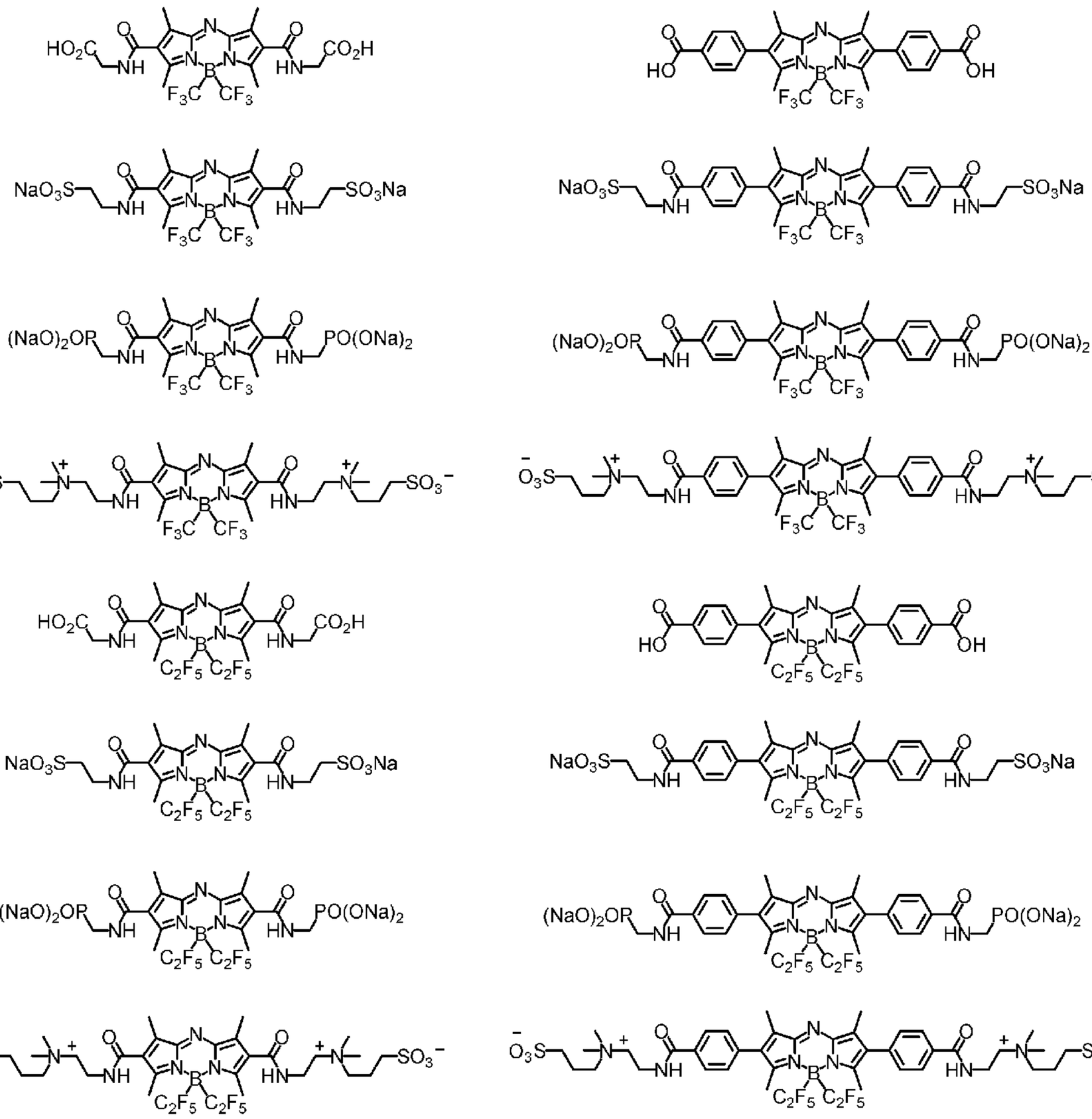
[0051]

[化12]

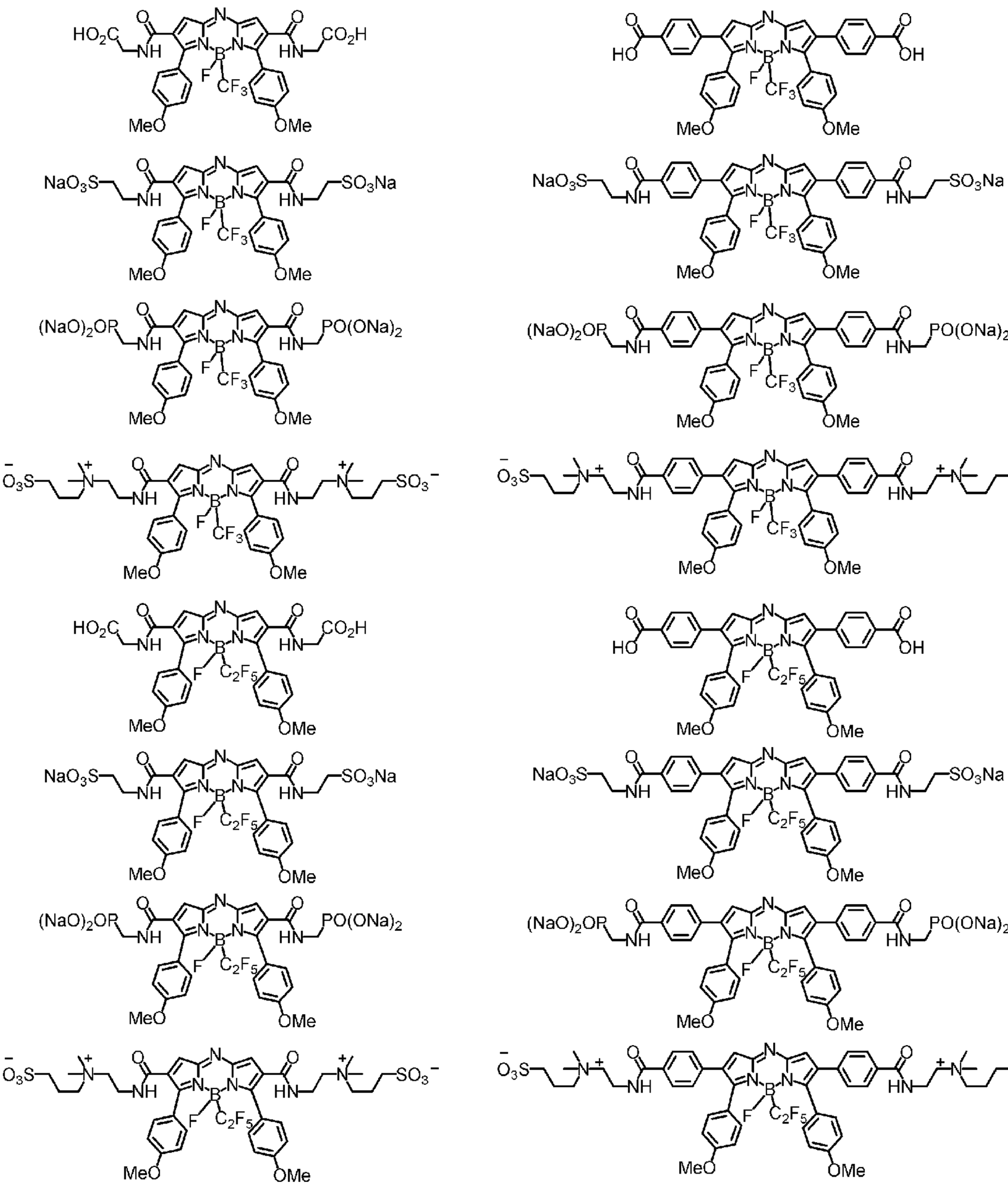
[0052]

[化13]



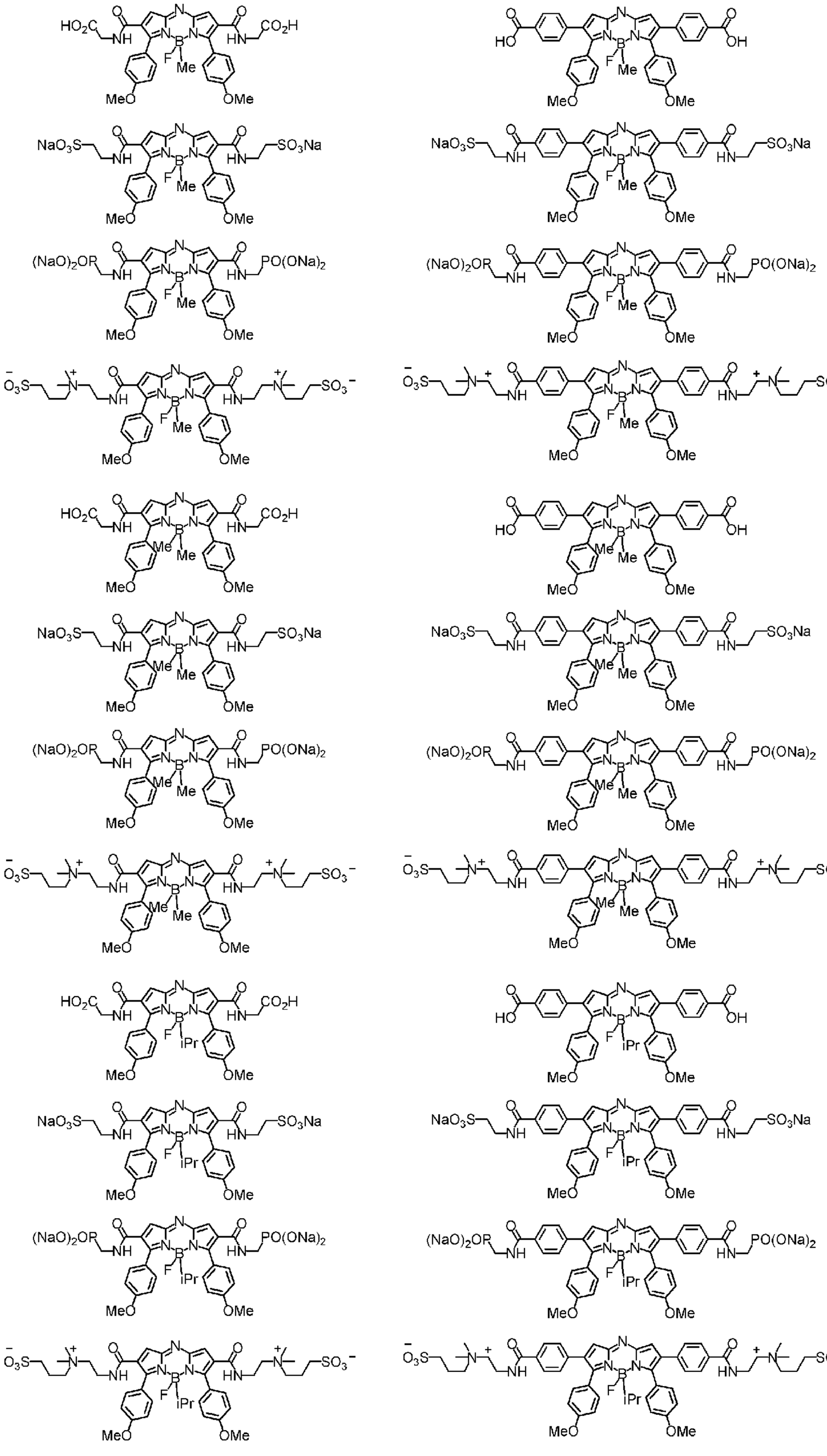
[0053]

[化14]



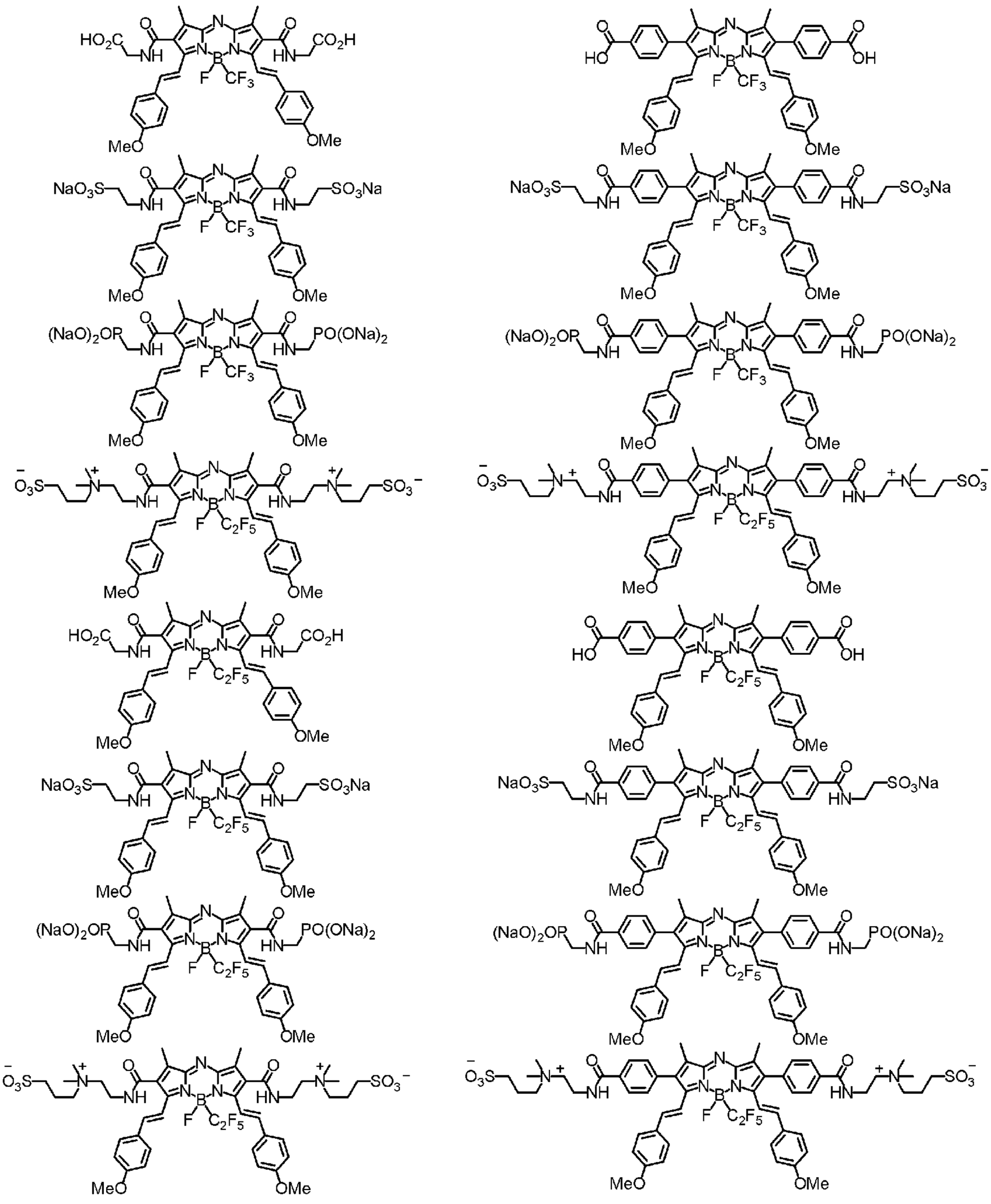
[0054]

[化15]



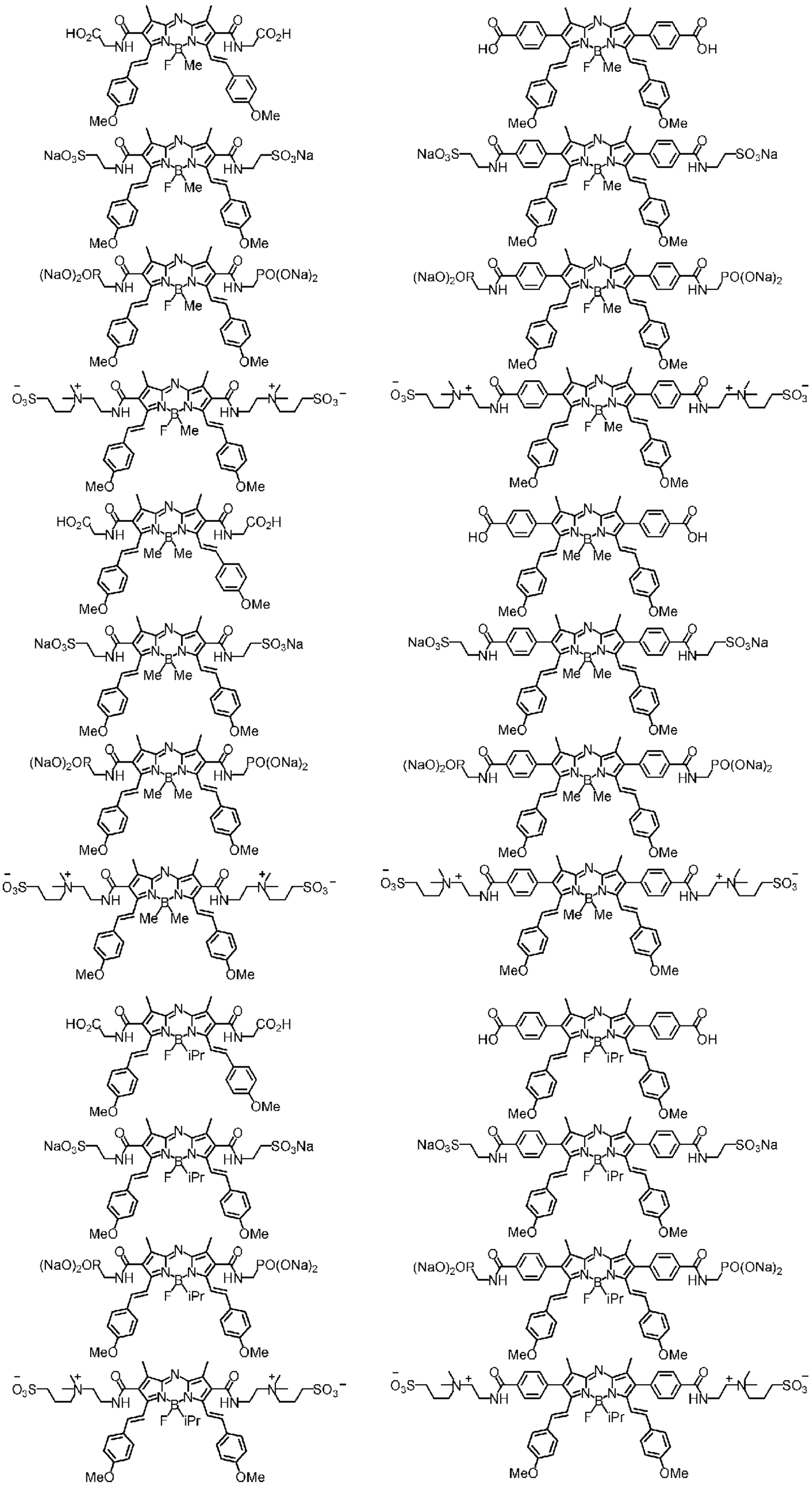
[0055]

[化16]



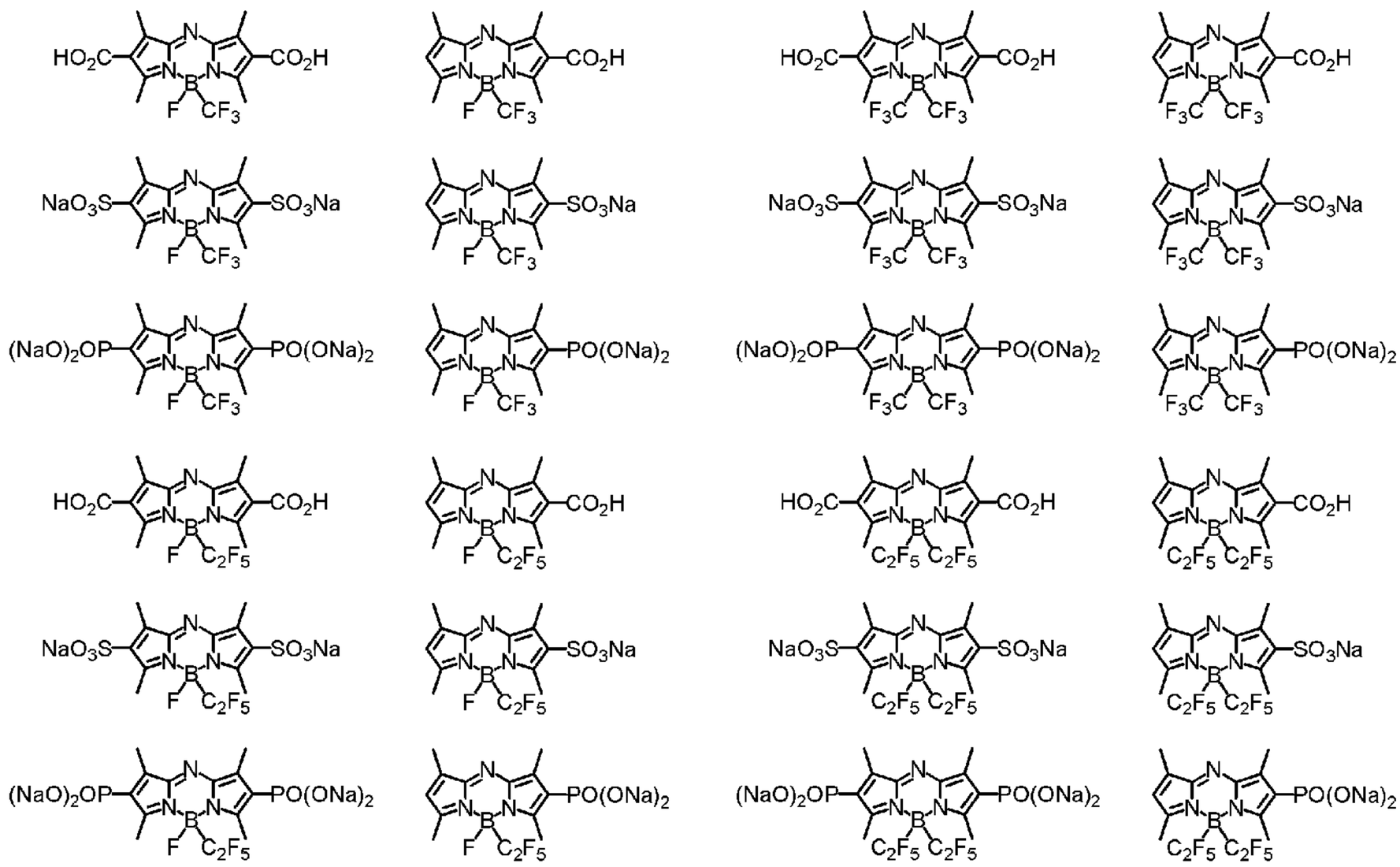
[0056]

[化17]

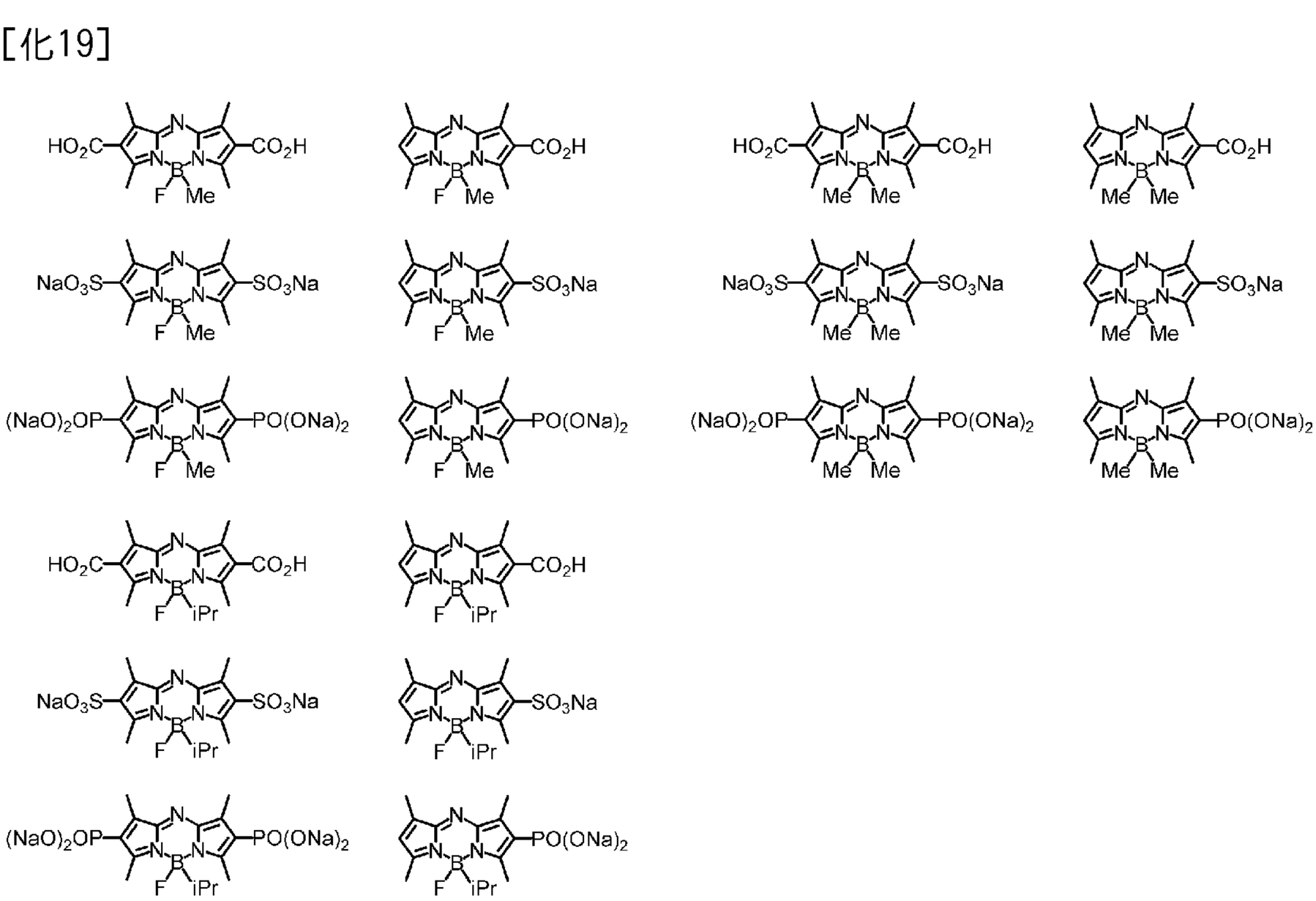


[0057]

[化18]

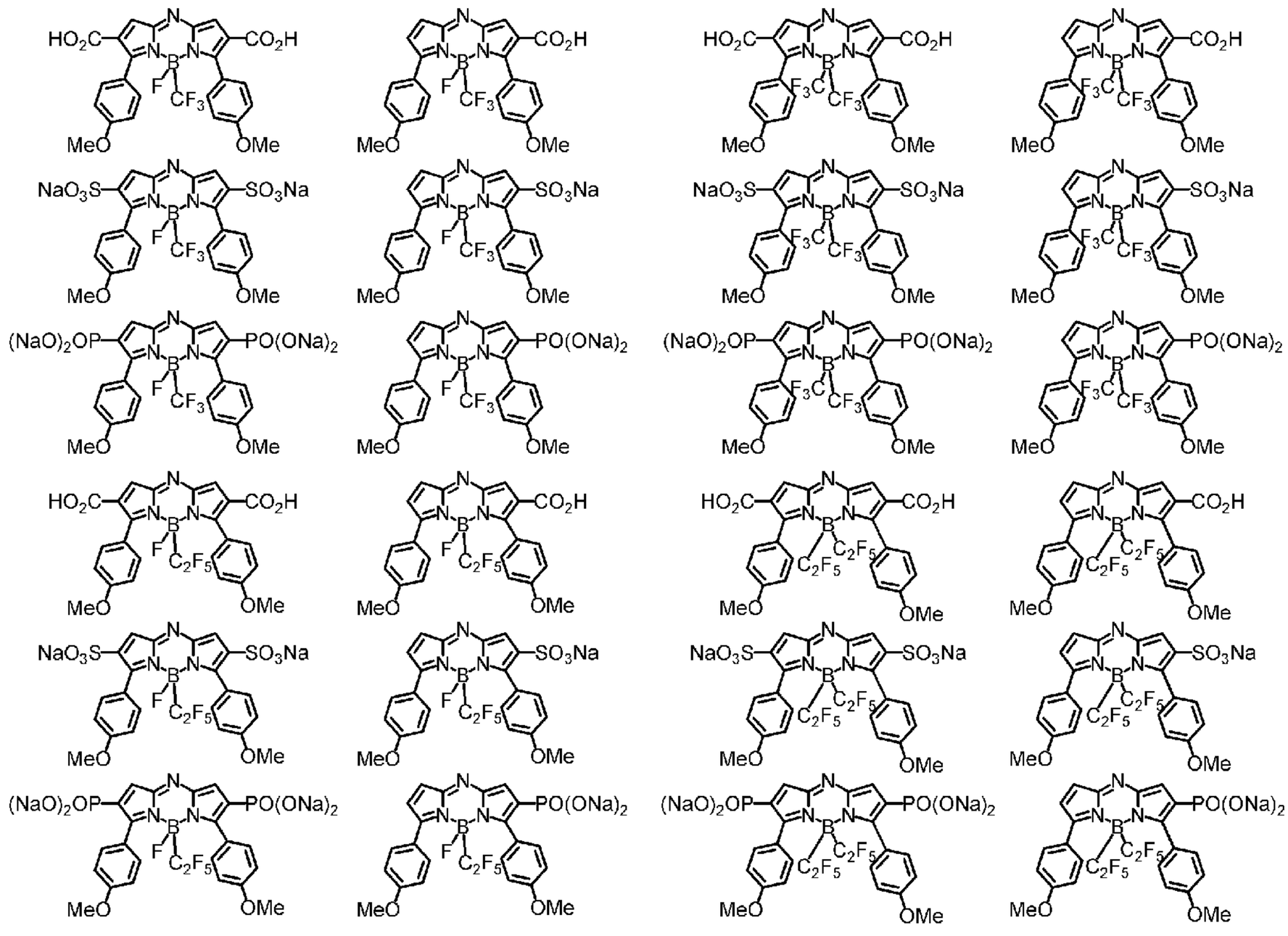


[0058] [化19]

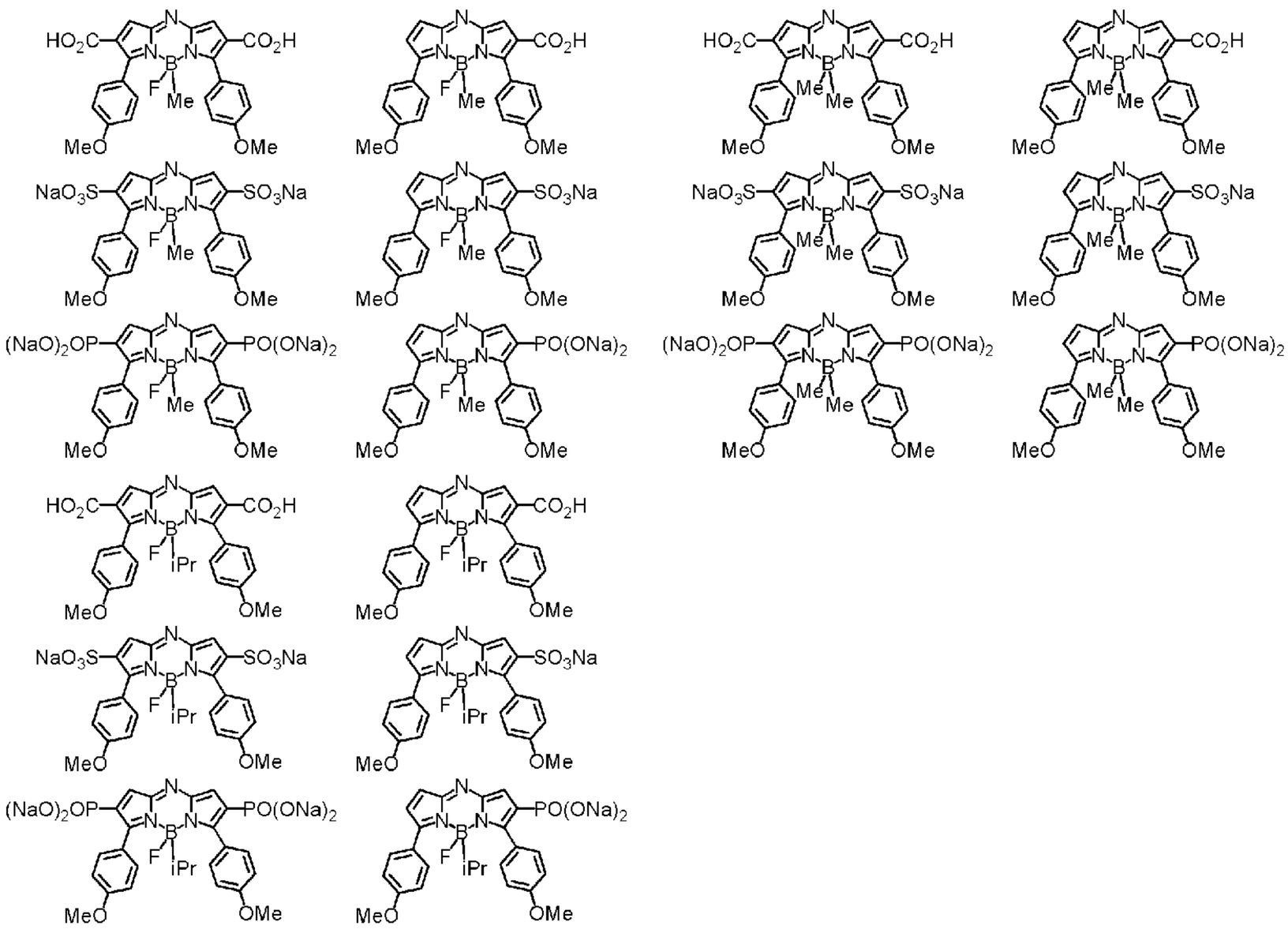


[0059]

[化20]

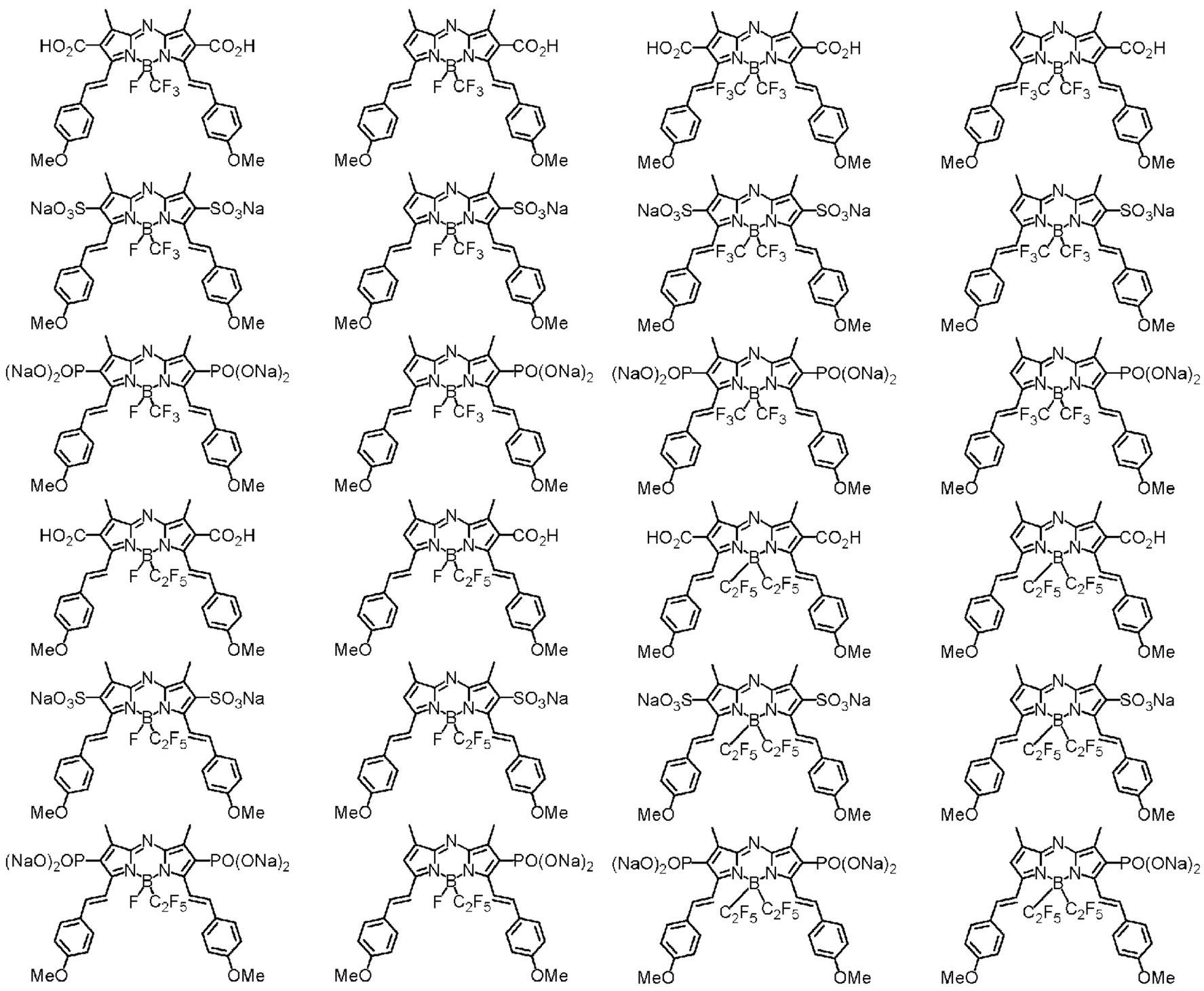


[0060] [化21]



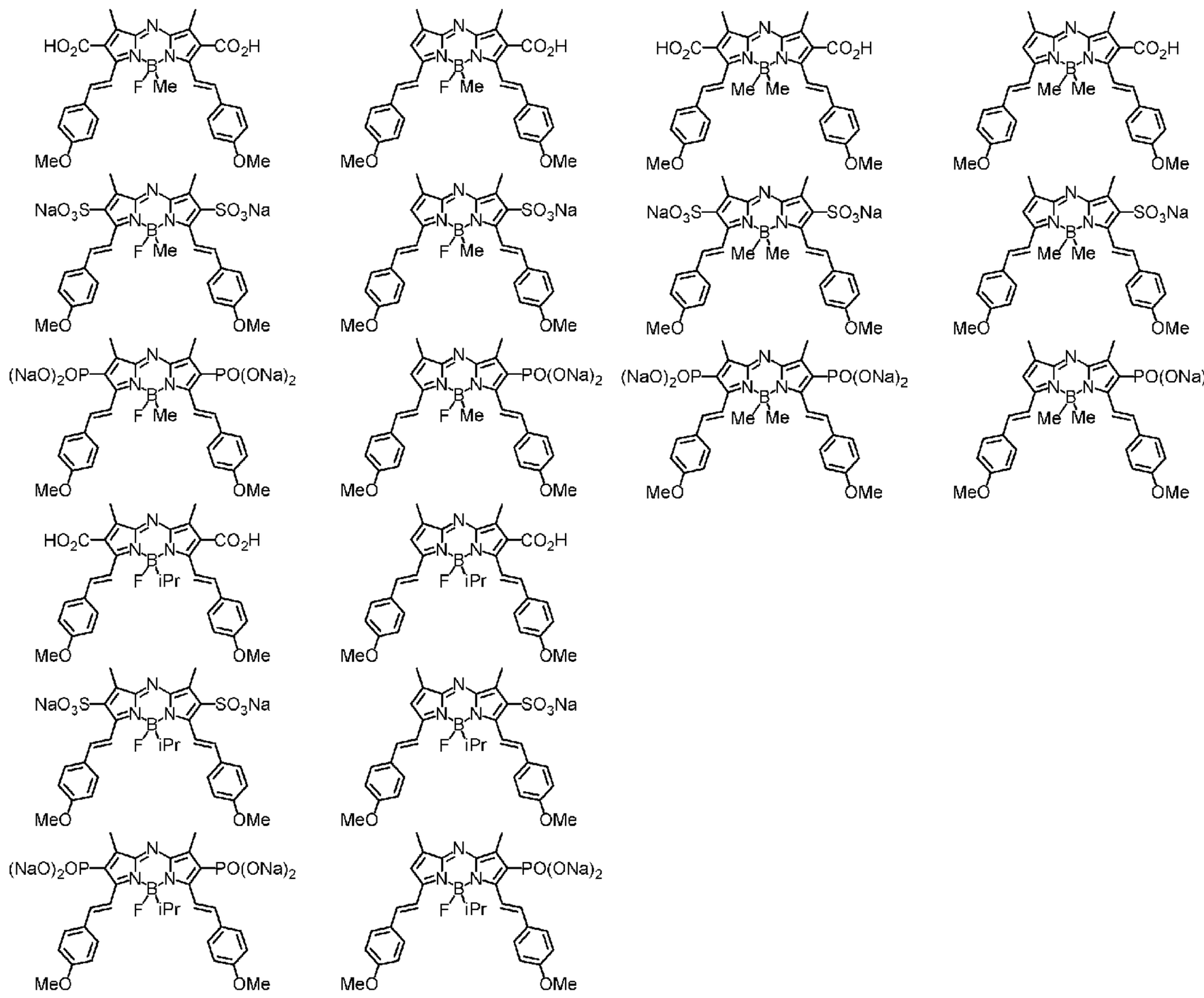
[0061]

[化22]



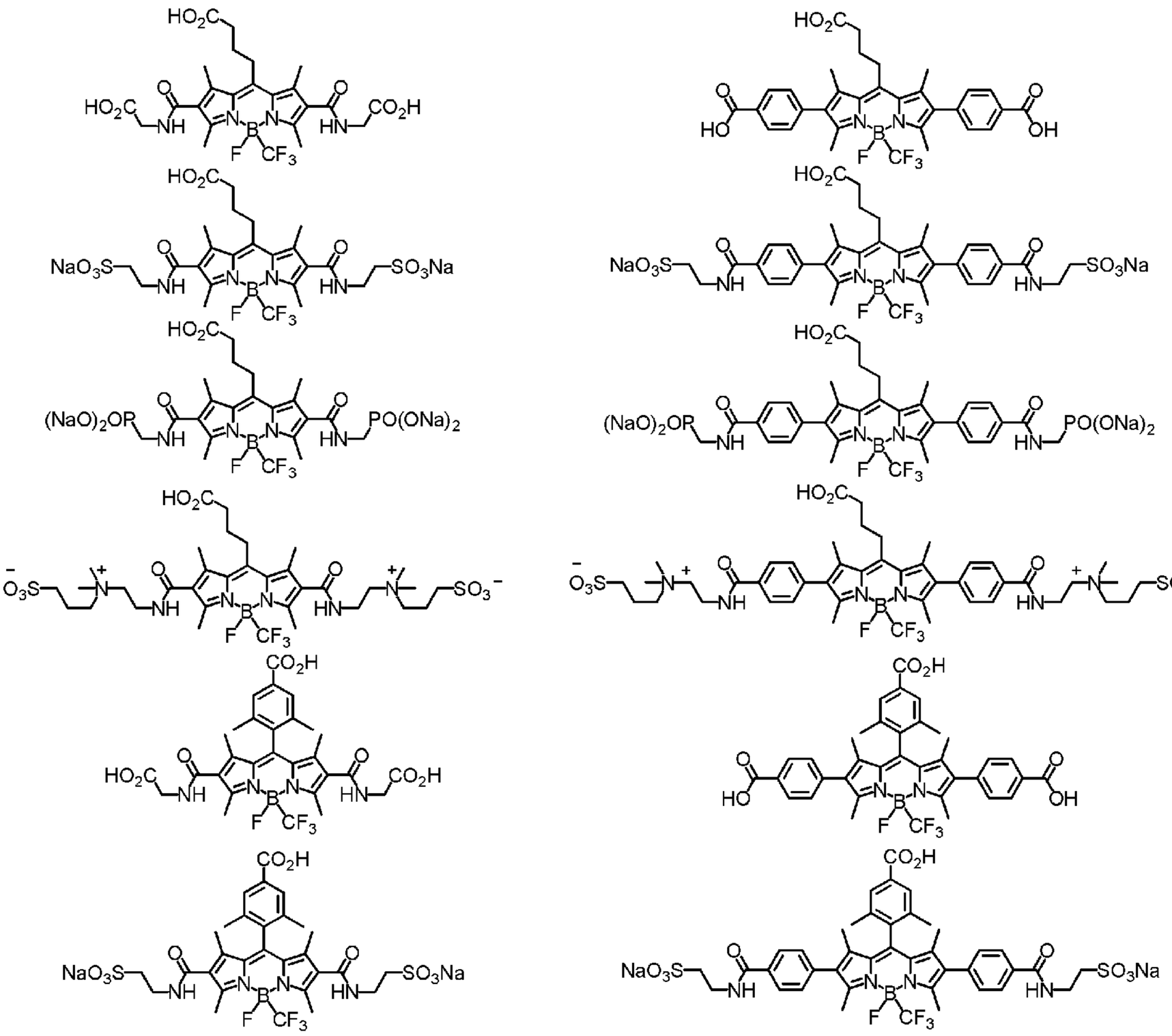
[0062]

[化23]



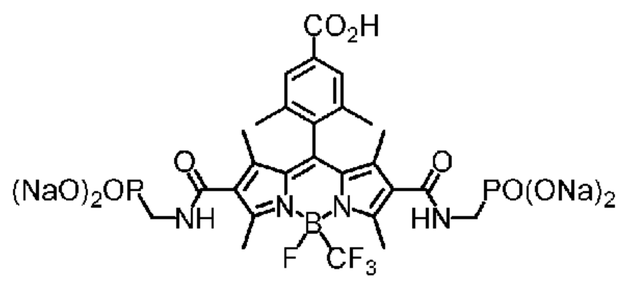
[0063]

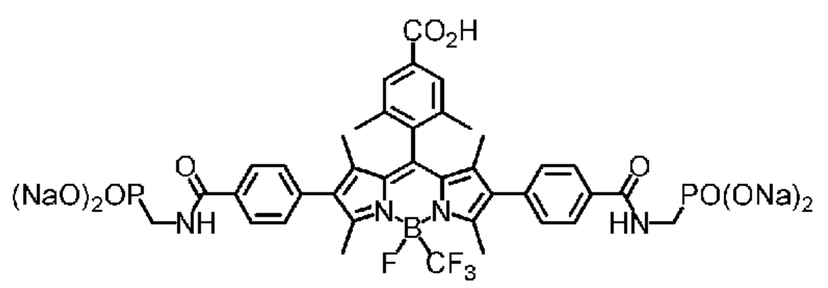
[化24]

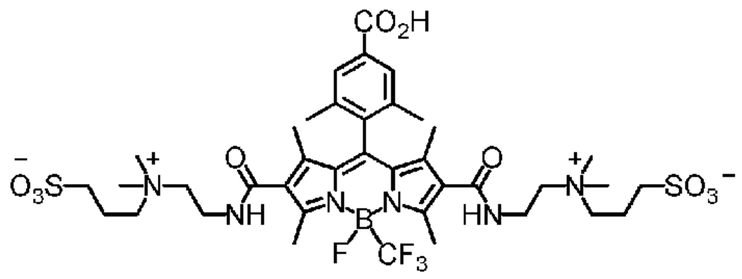


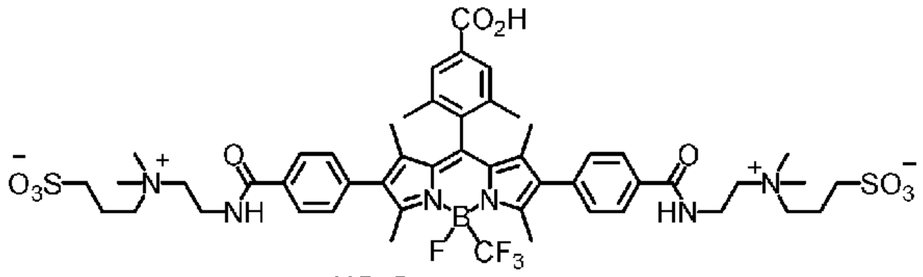
[0064]

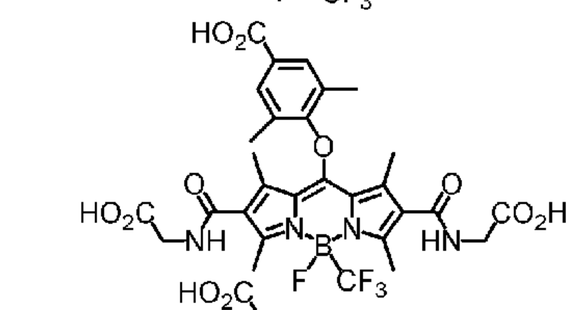
[化25]

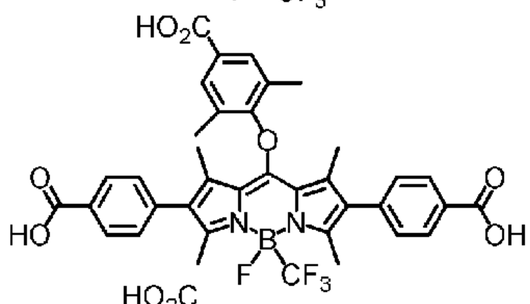


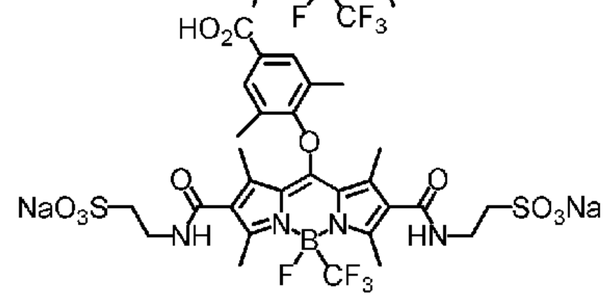


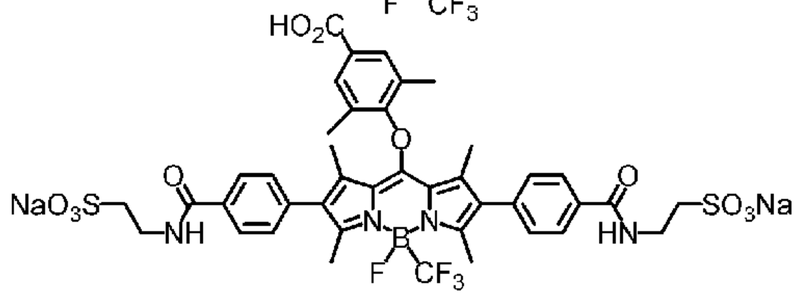


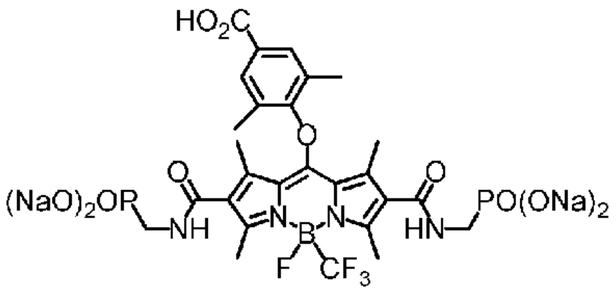


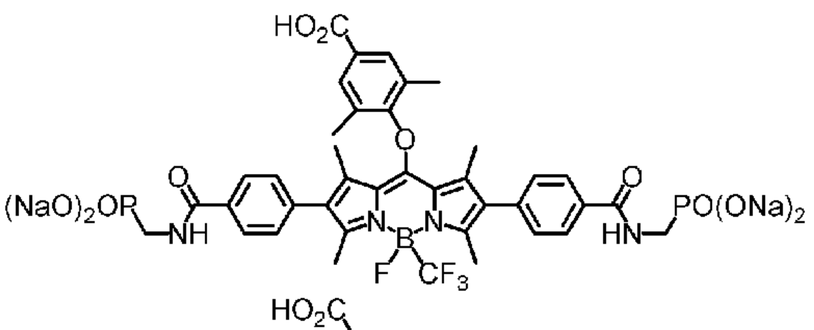


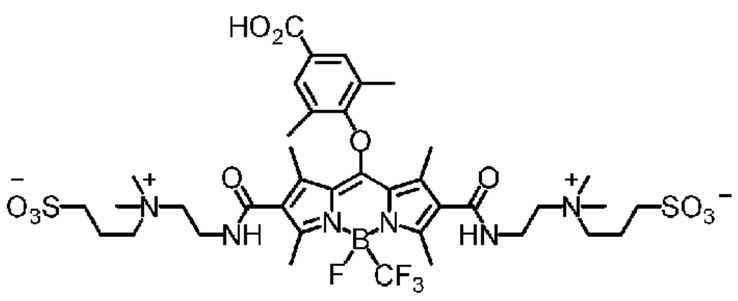


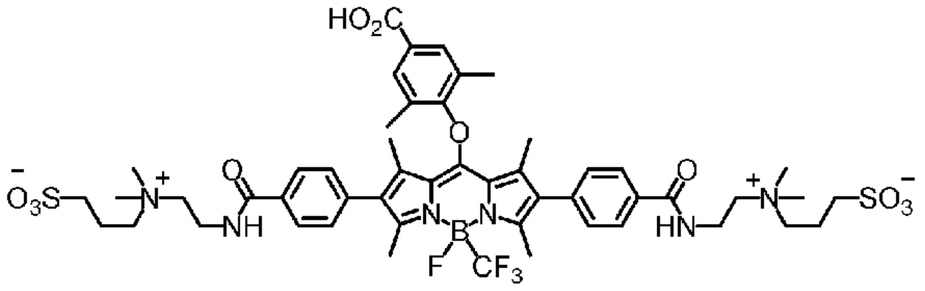






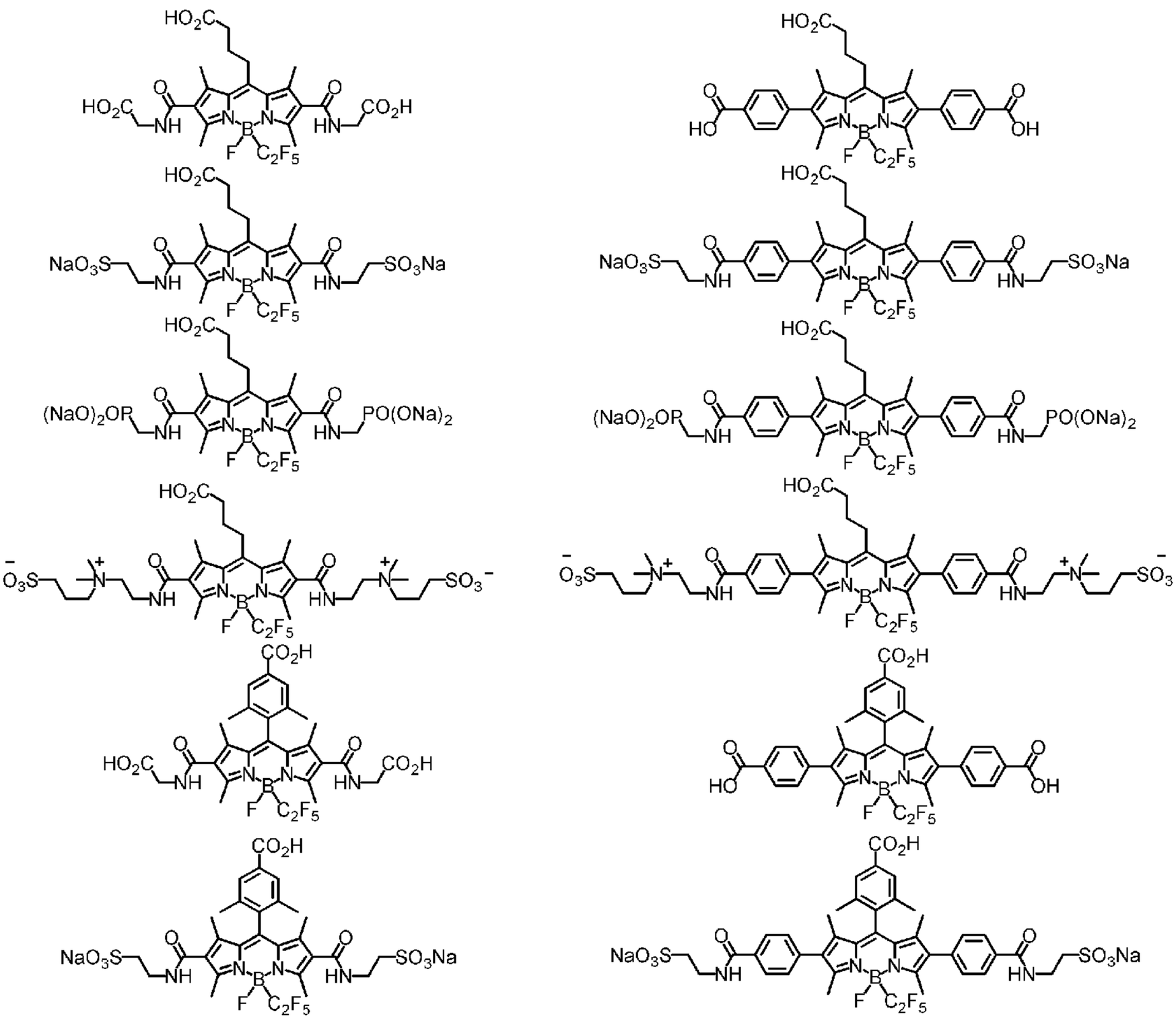






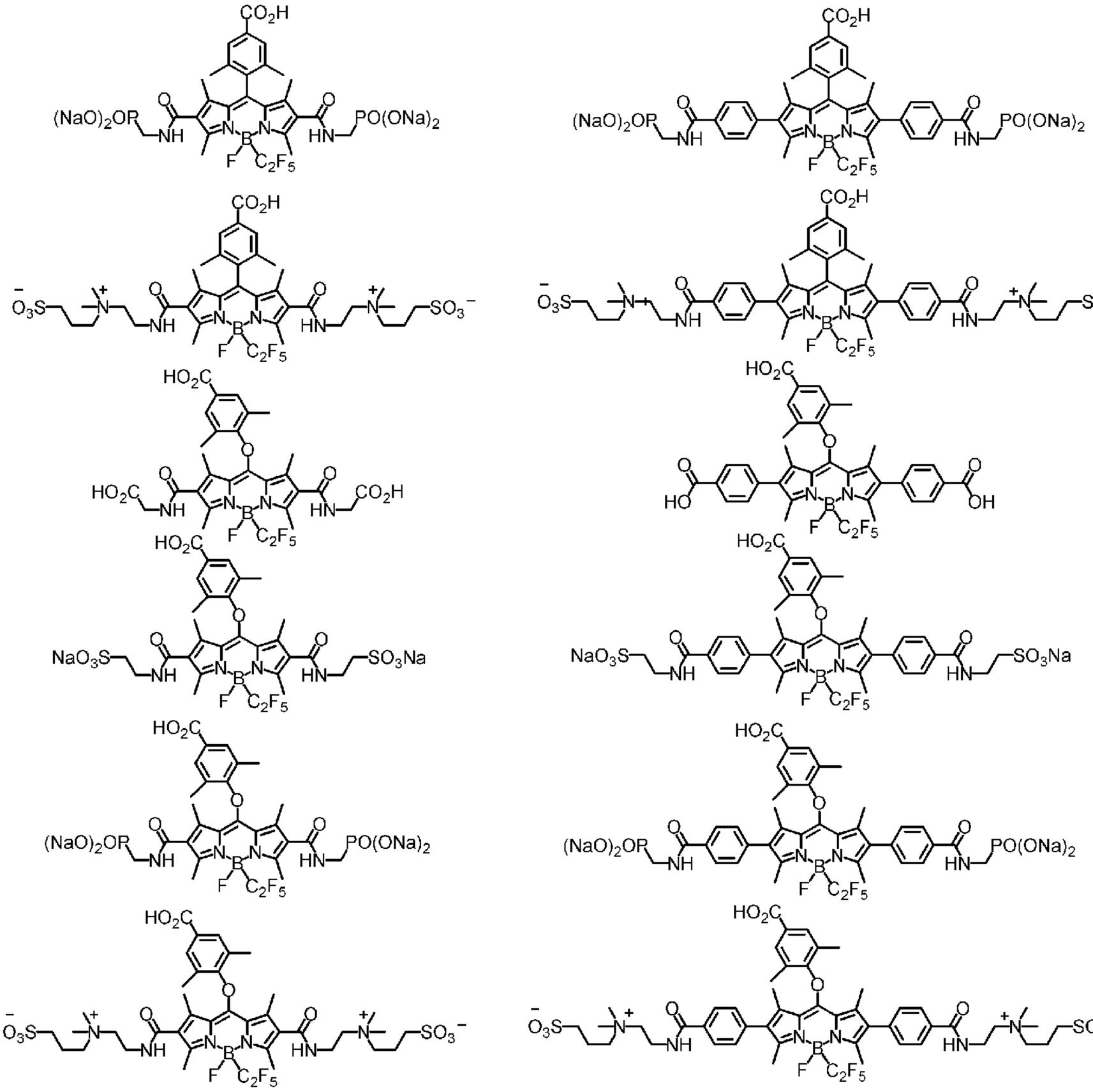
[0065]

[化26]



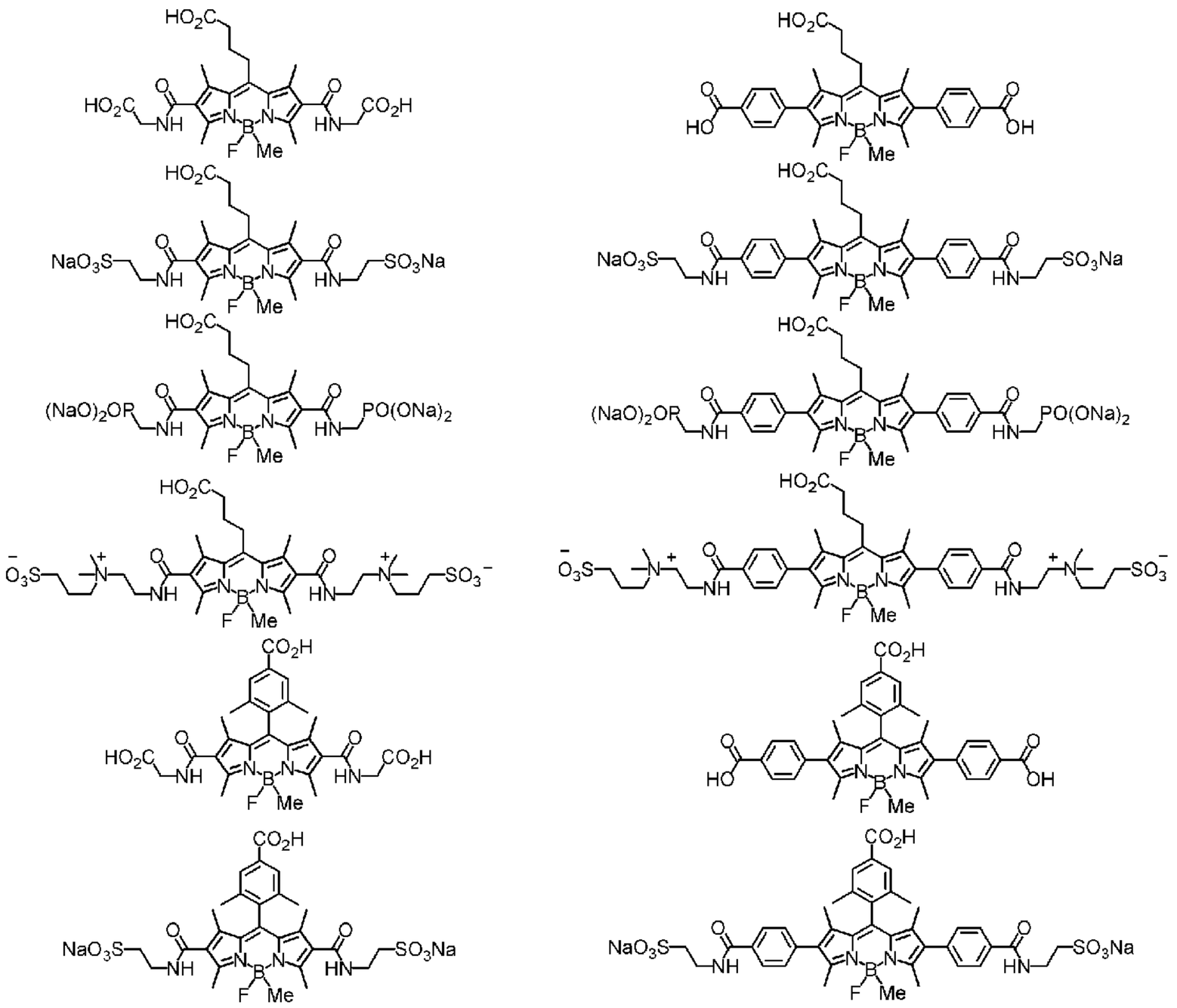
[0066]

[化27]



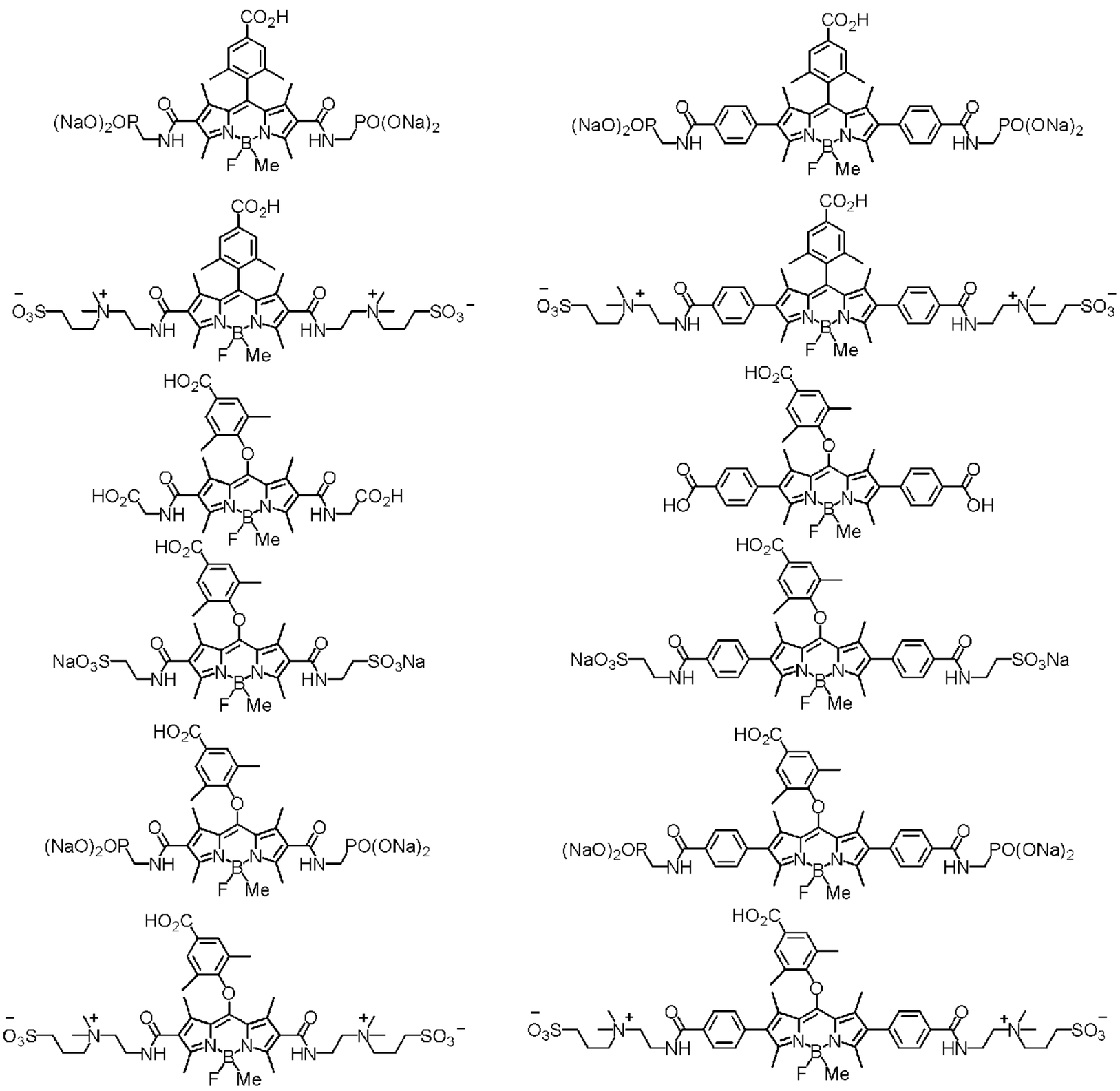
[0067]

[化28]



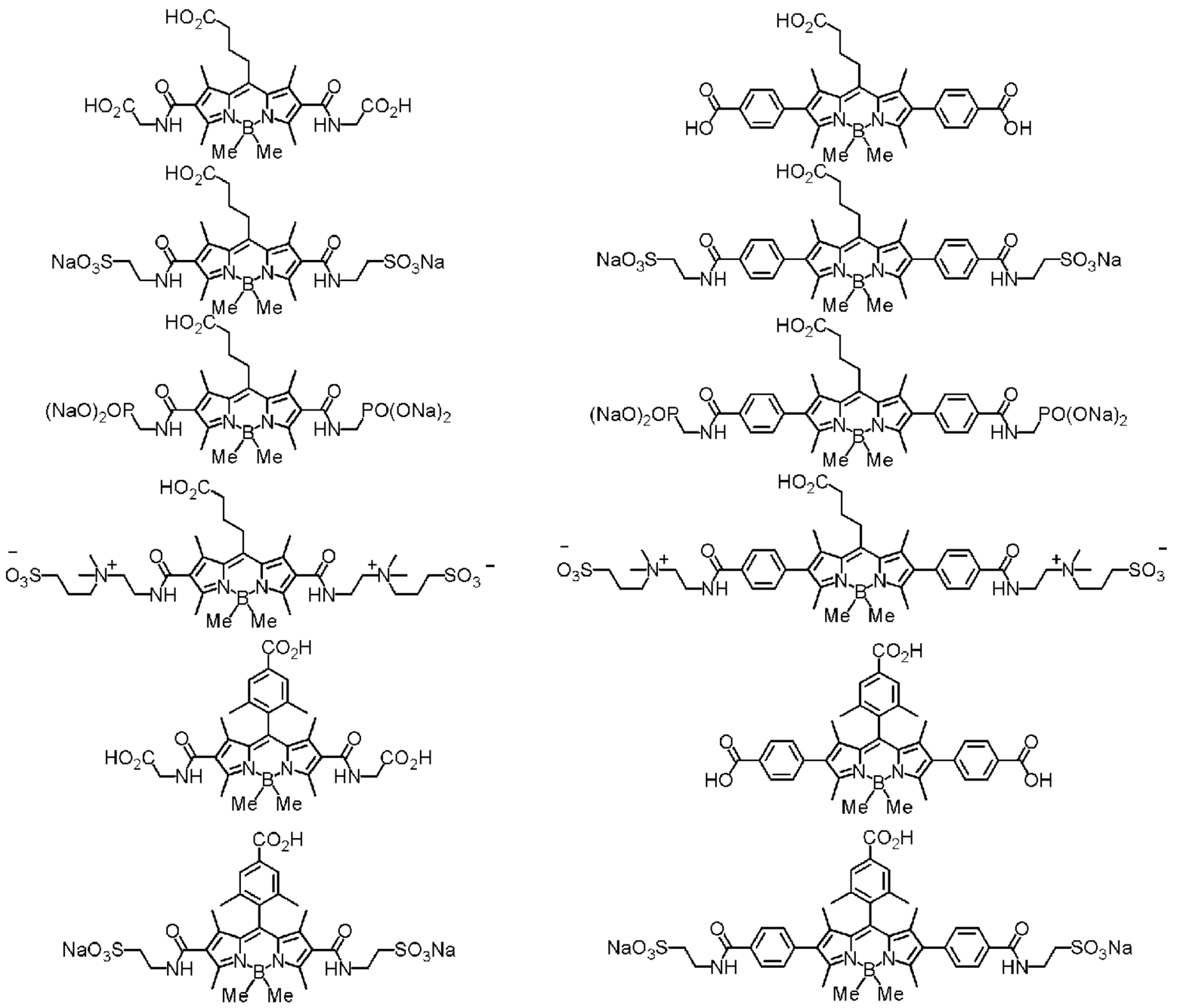
[0068]

[化29]



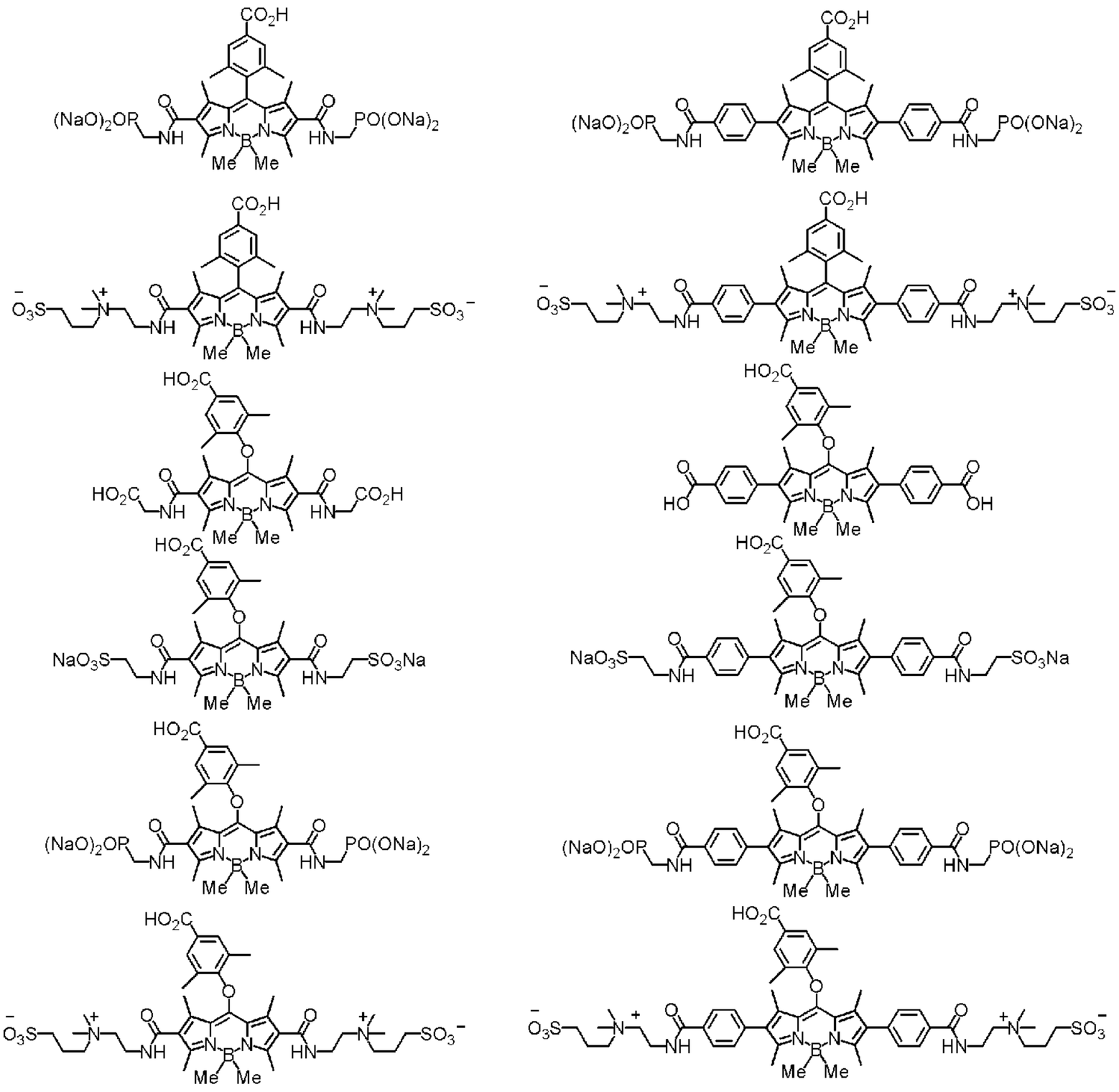
[0069]

[化30]



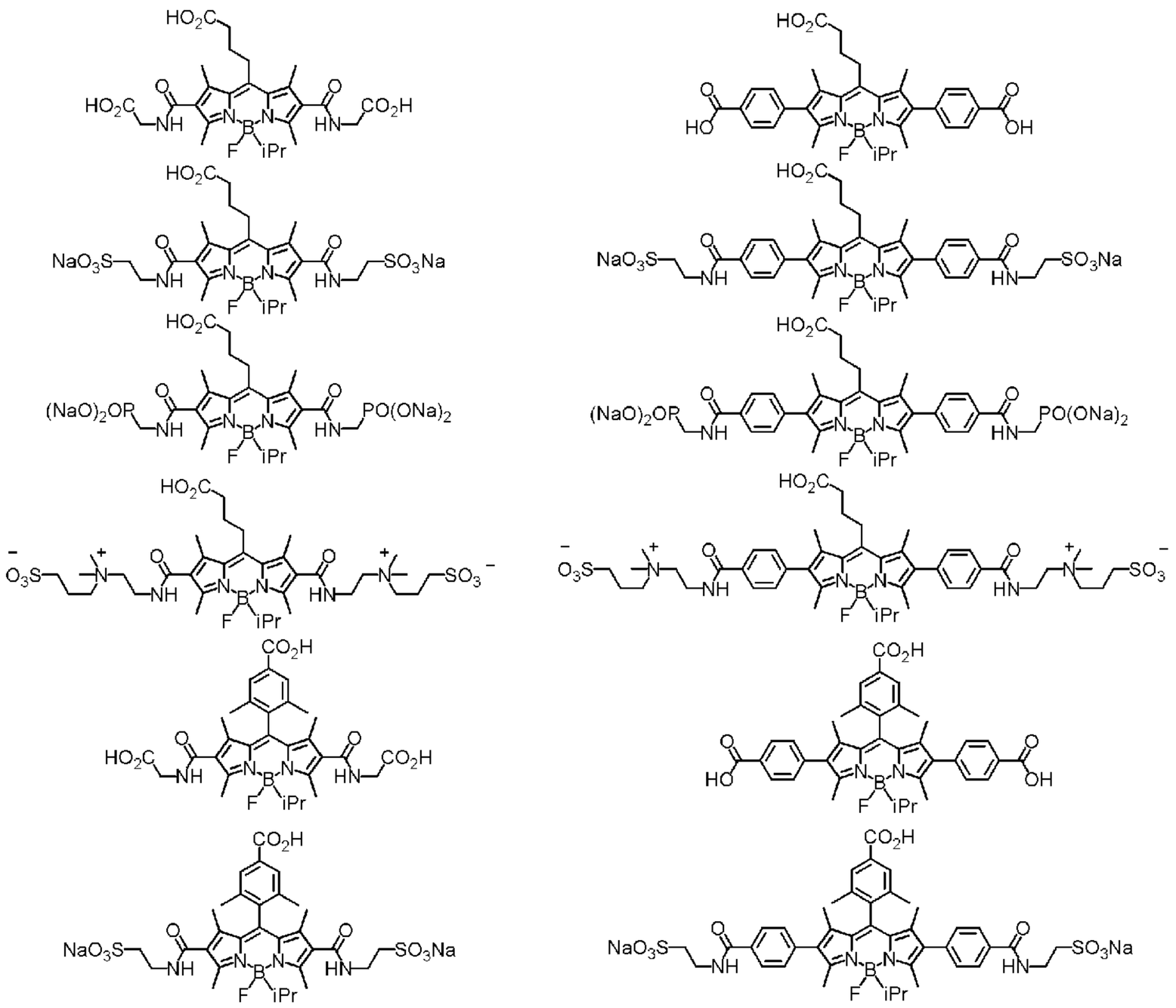
[0070]

[化31]



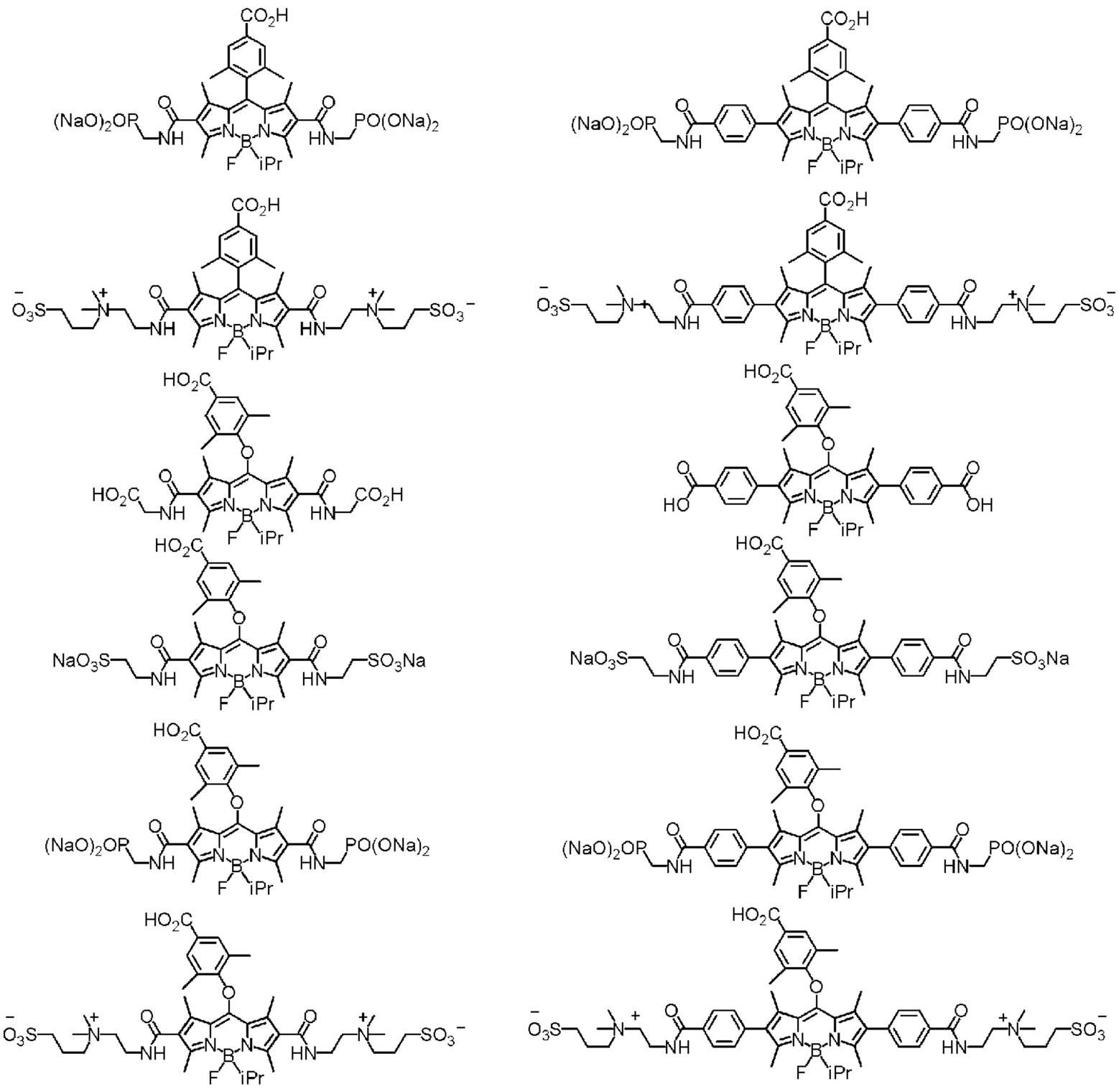
[0071]

[化32]



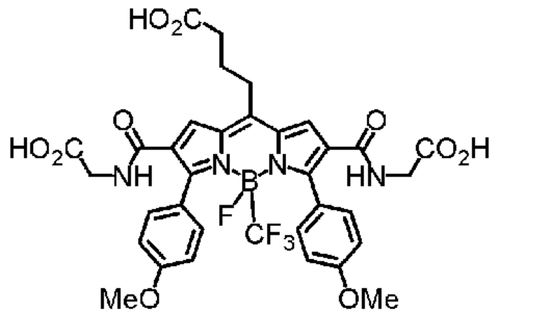
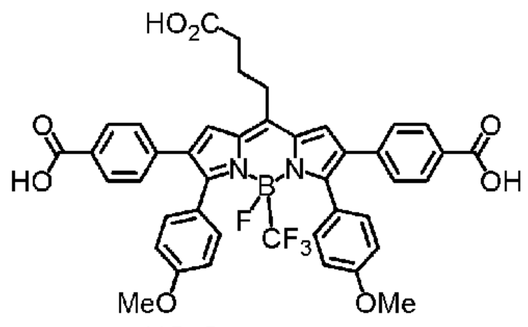
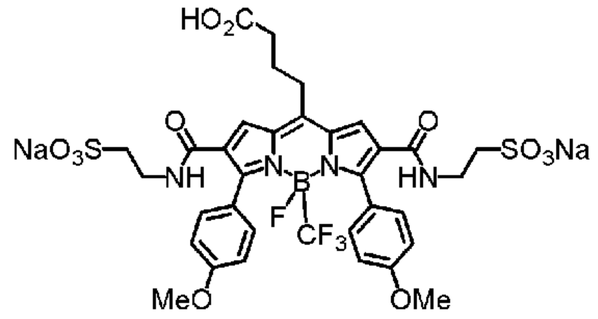
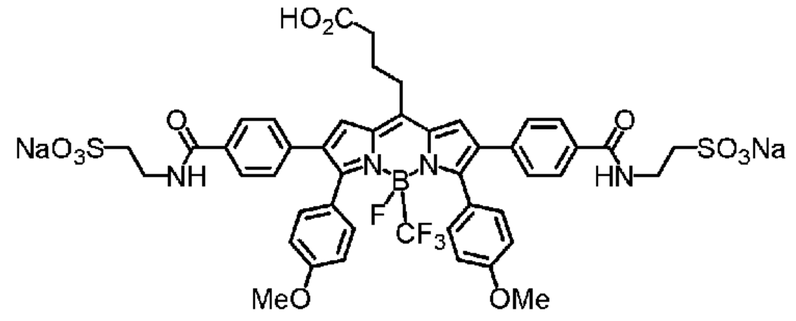
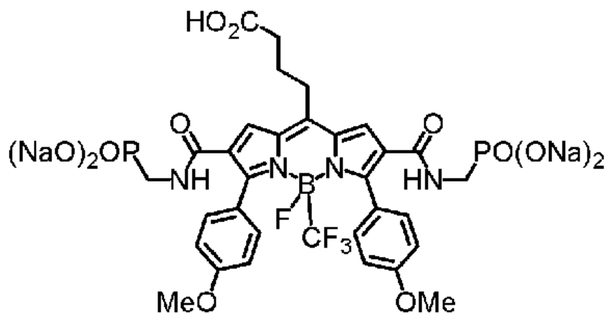
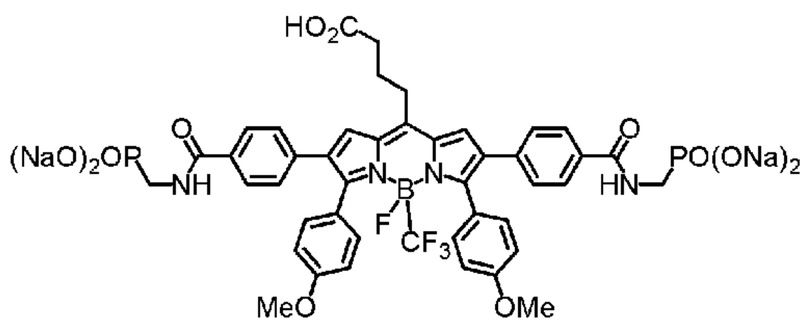
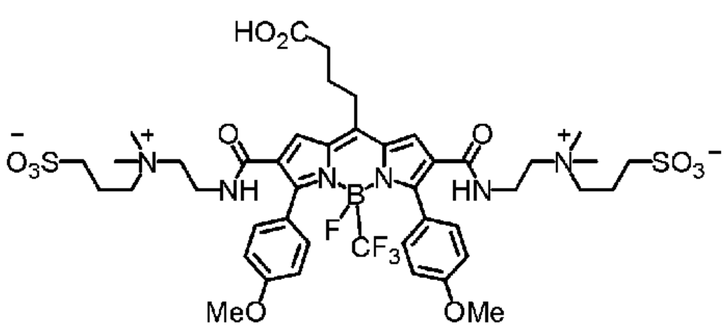
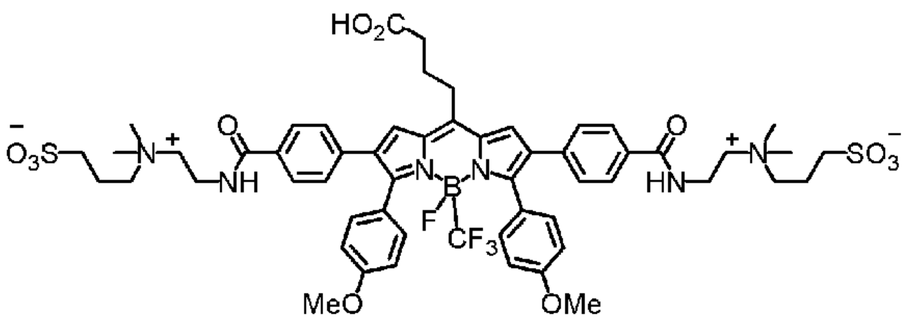
[0072]

[化33]

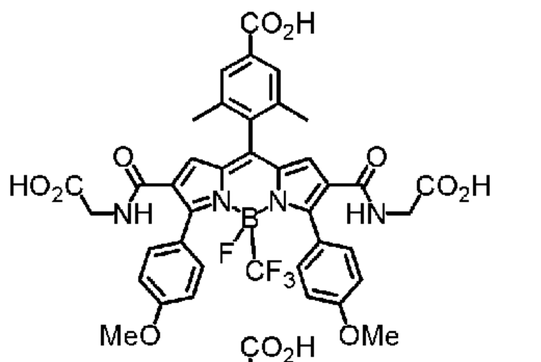
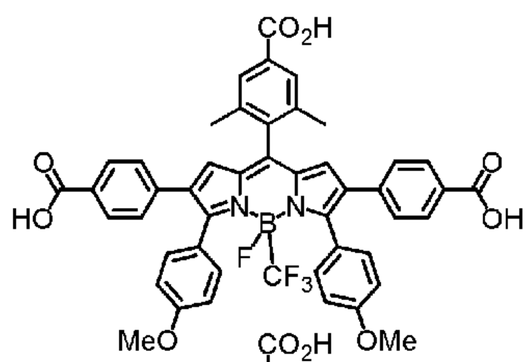
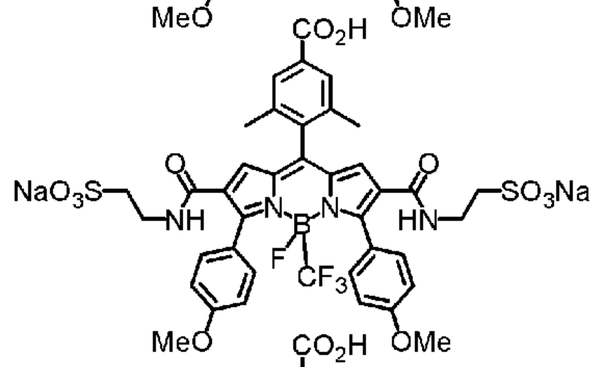
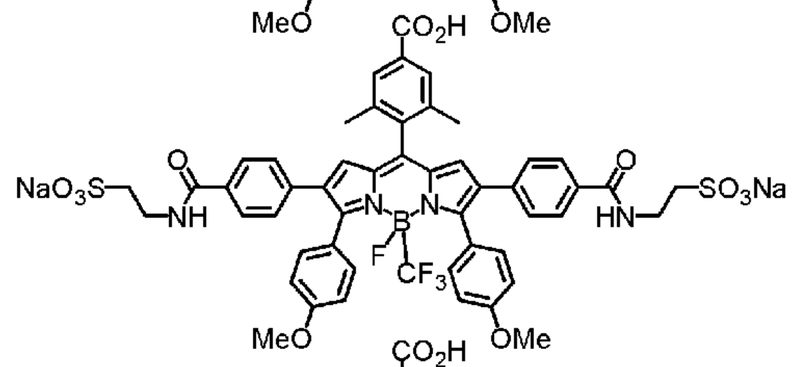
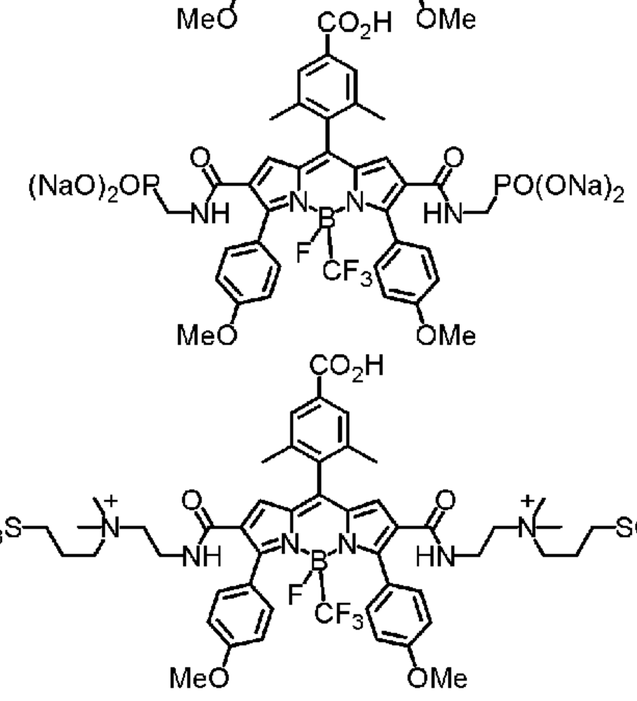
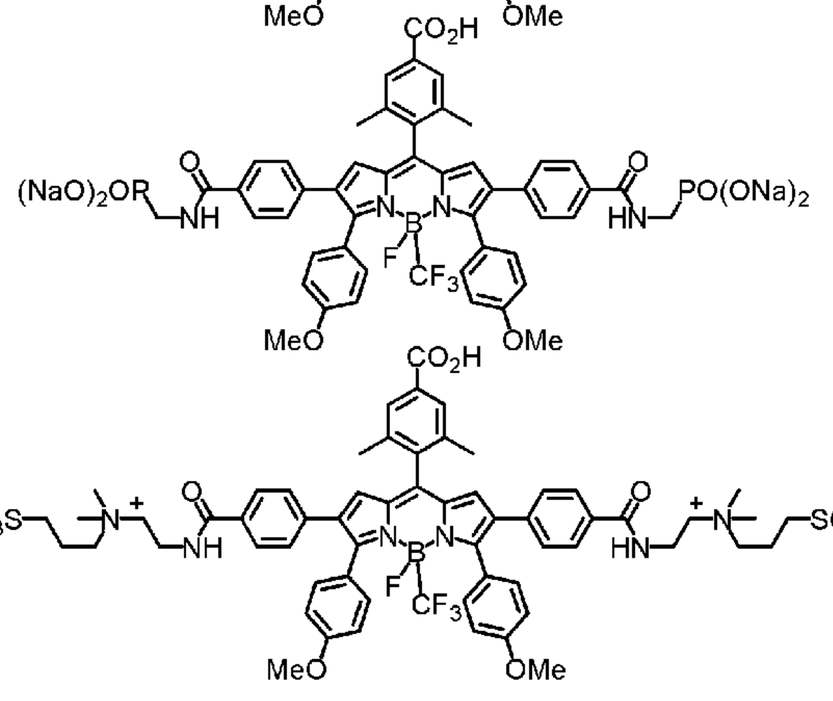


[0073]

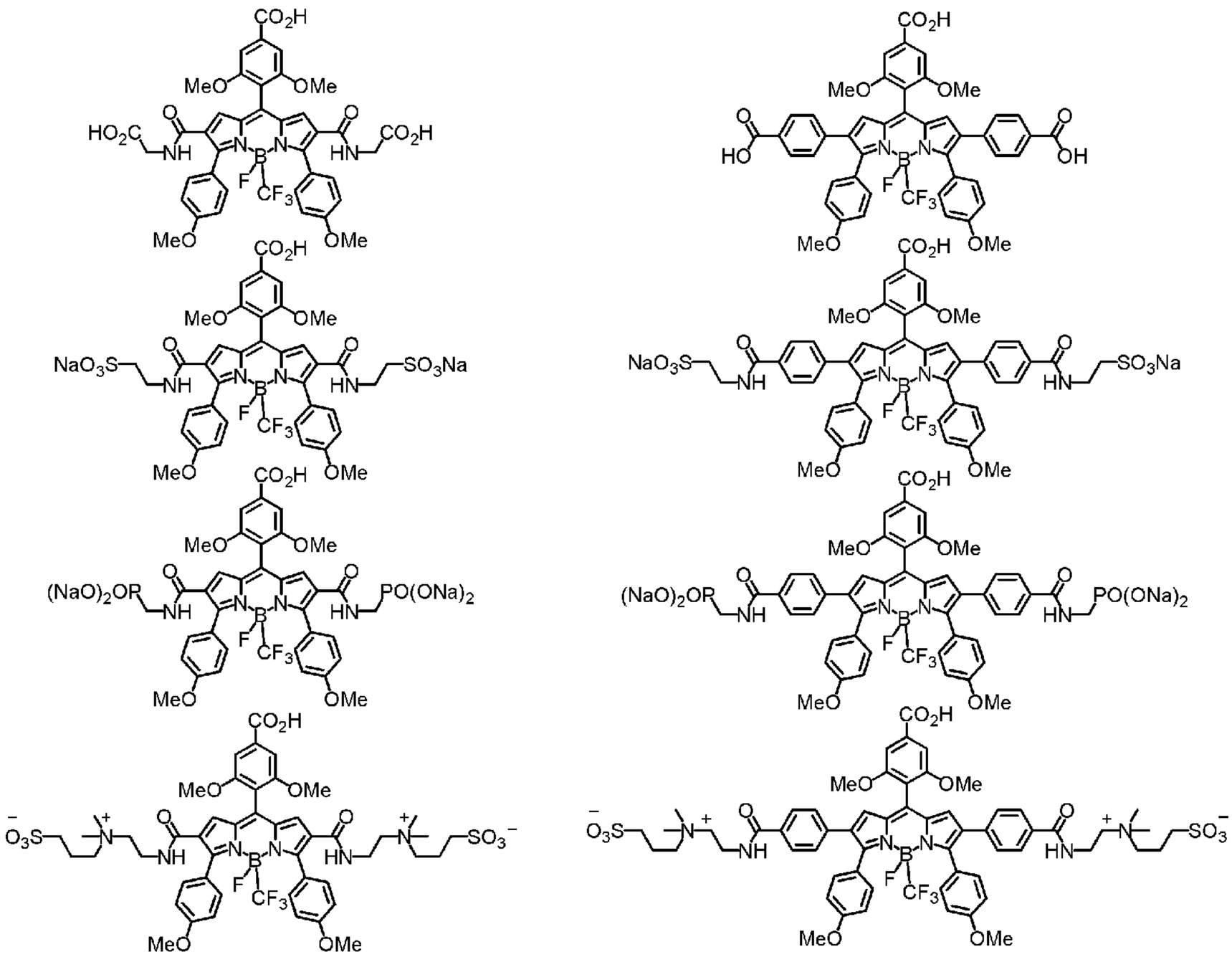
[化34]

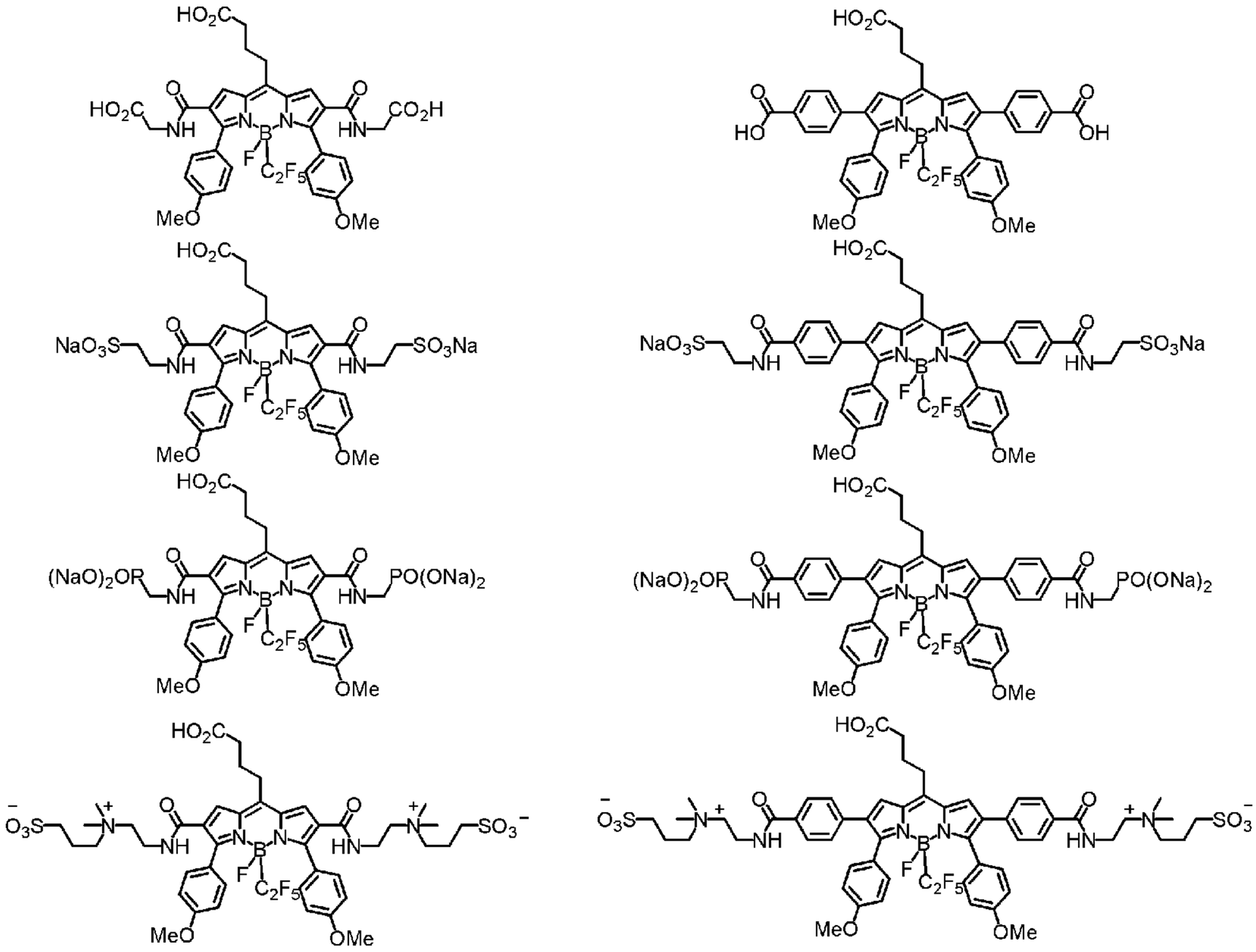
[0074] [化35]

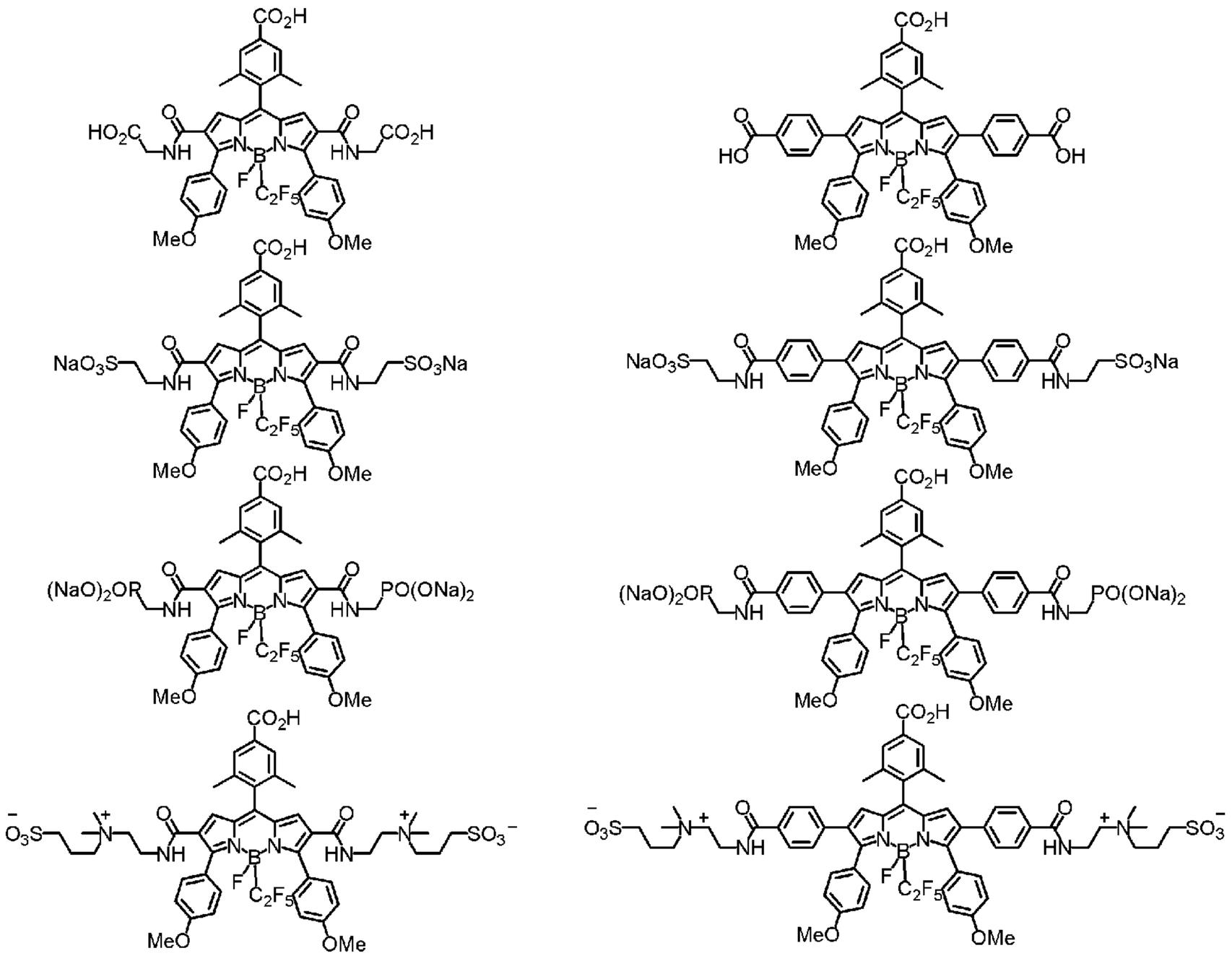
[0075] [化36]



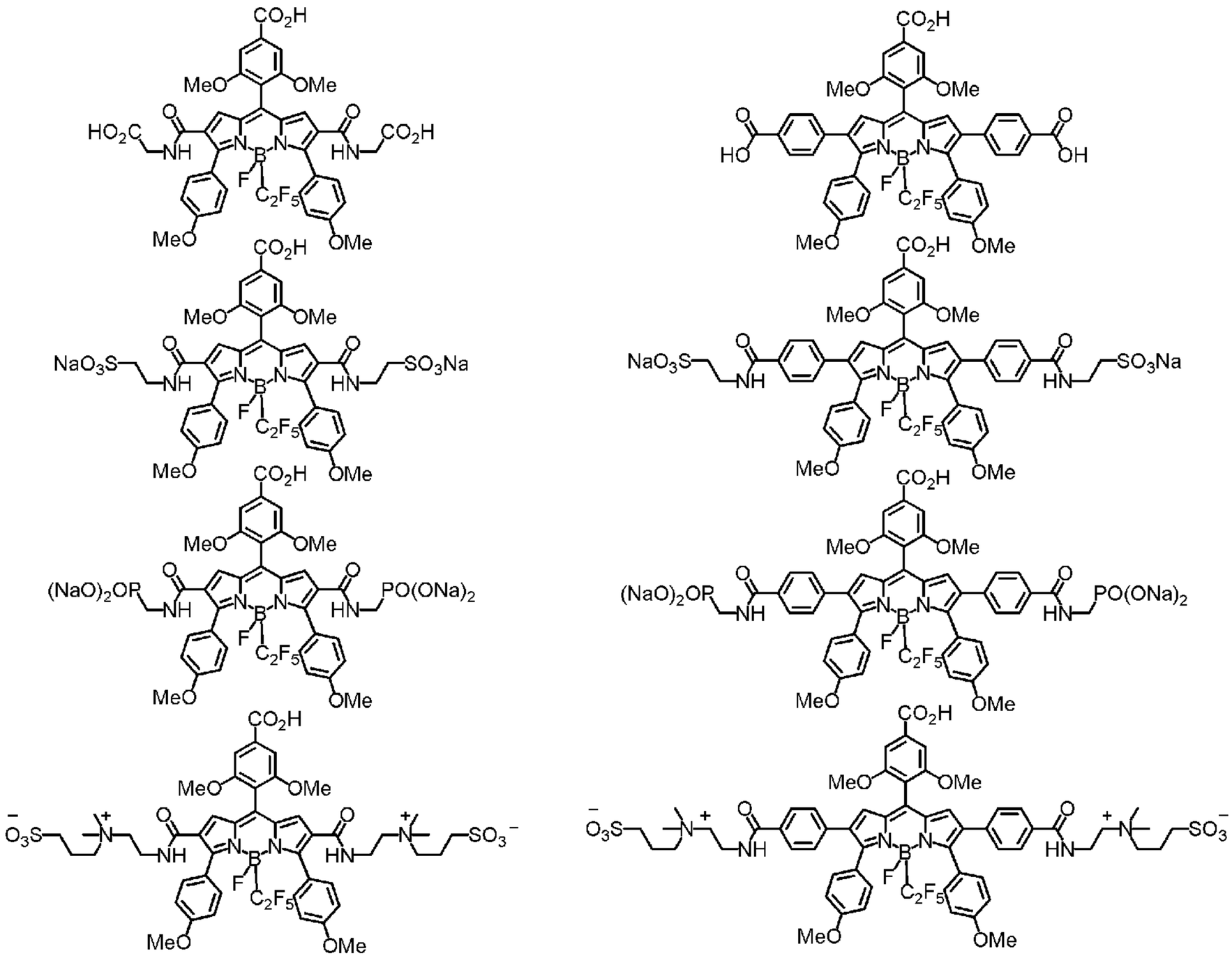
[0076] [化37]



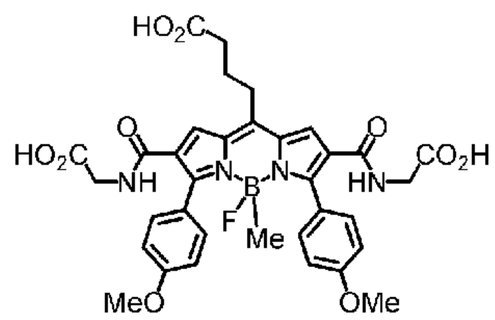
[0077] [化38]

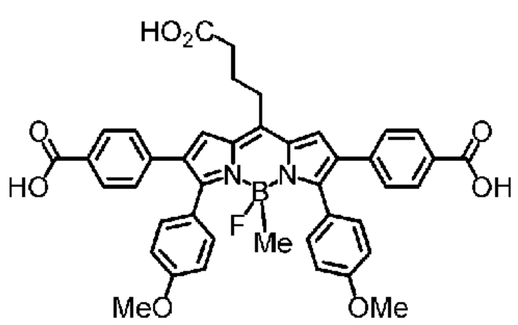


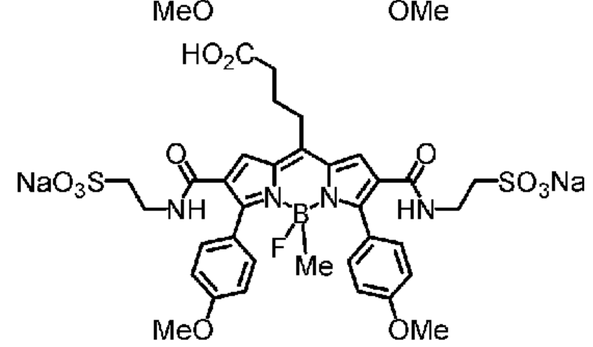
[0078] [化39]

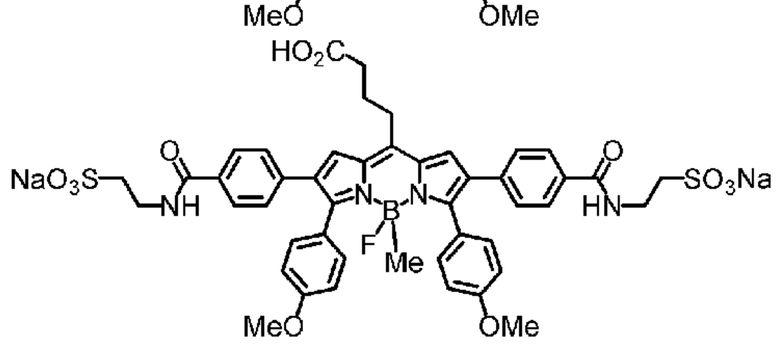


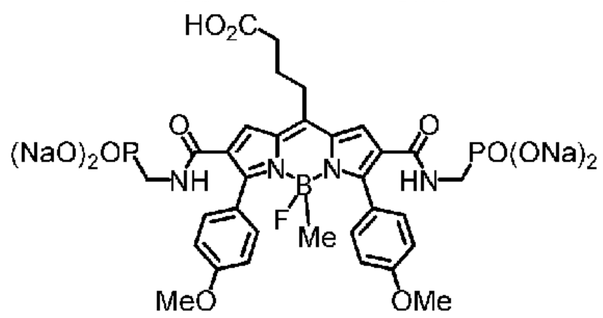
[0079] [化40]

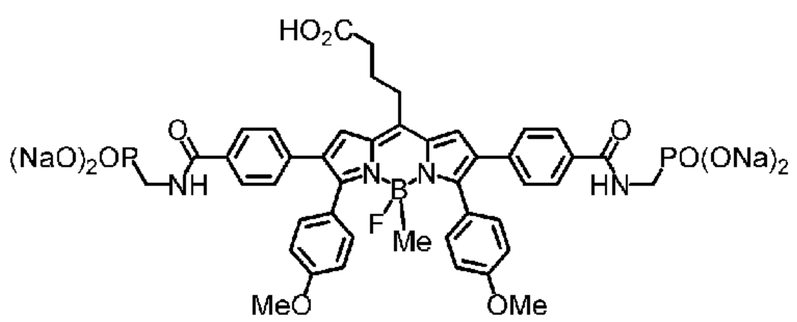


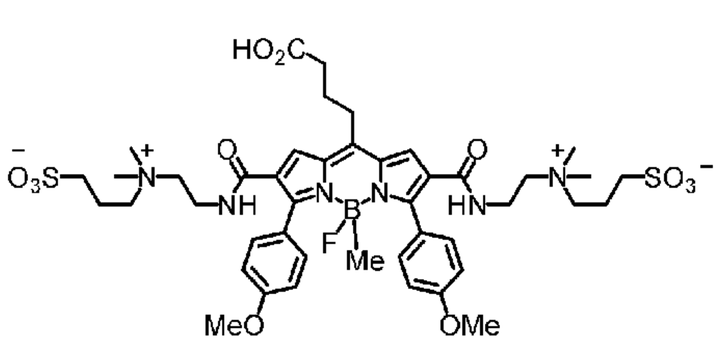


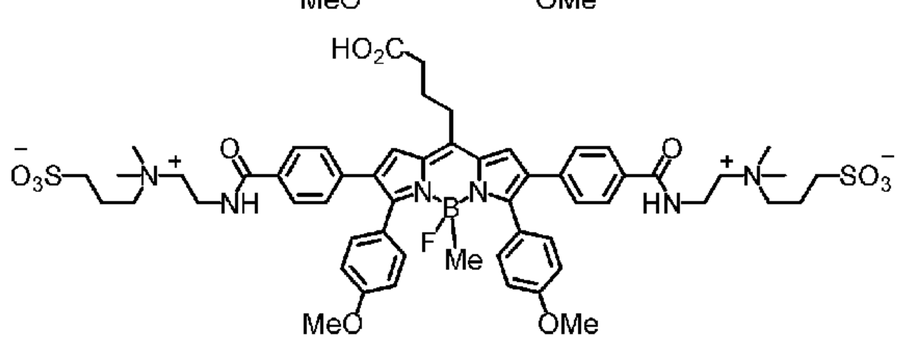


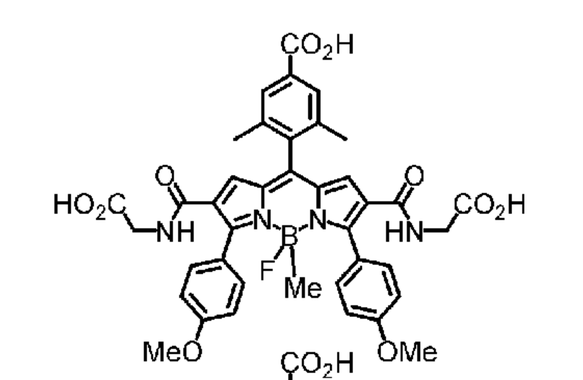


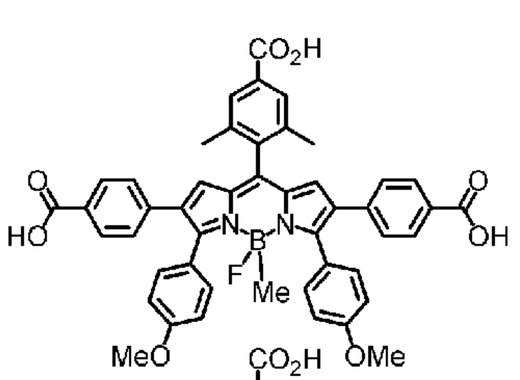


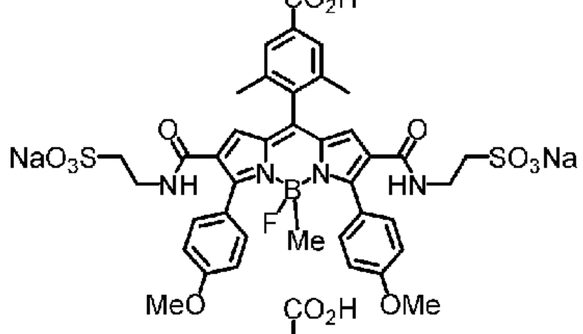


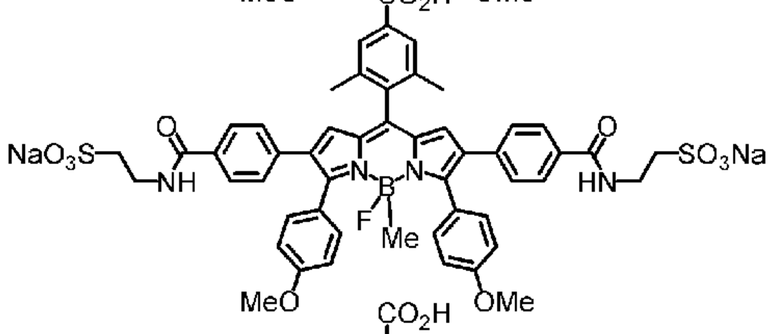


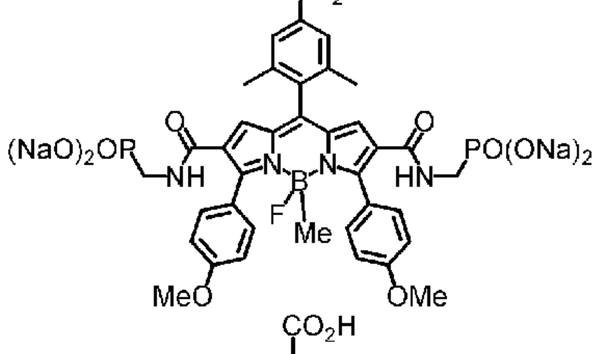


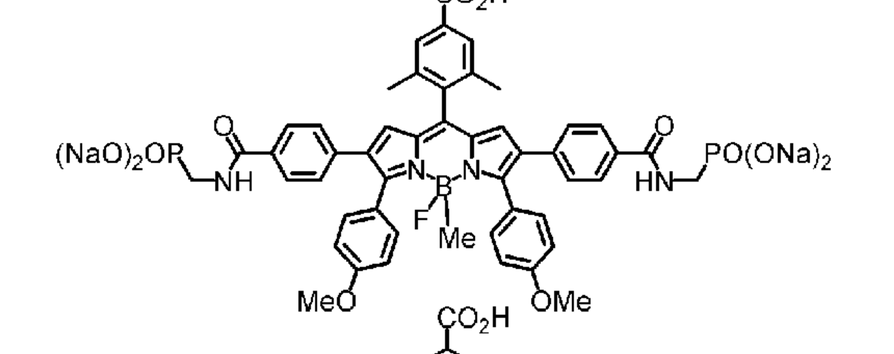


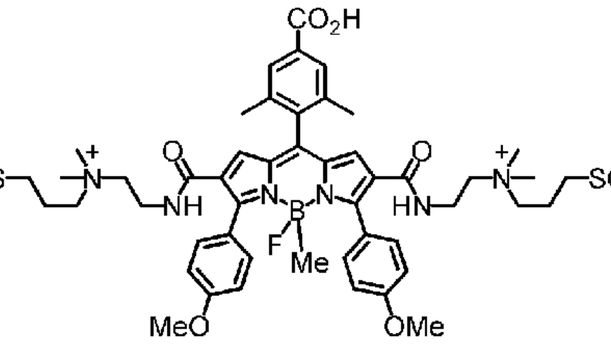


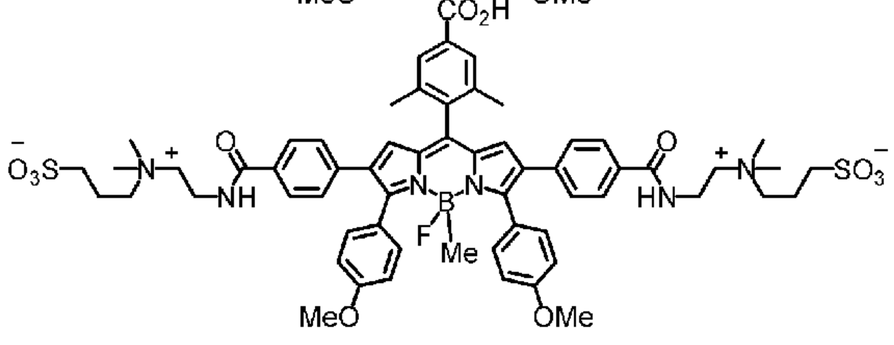






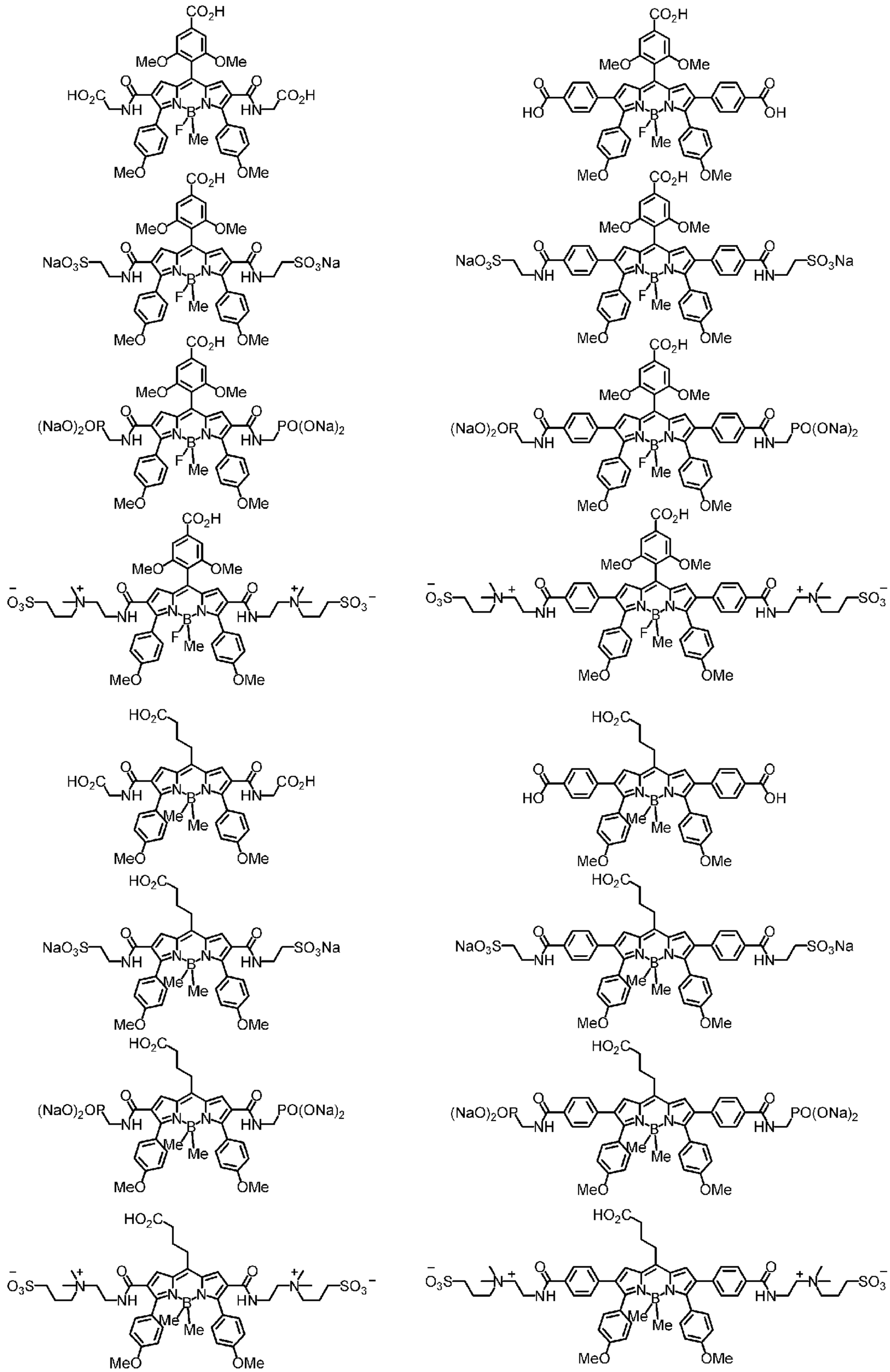






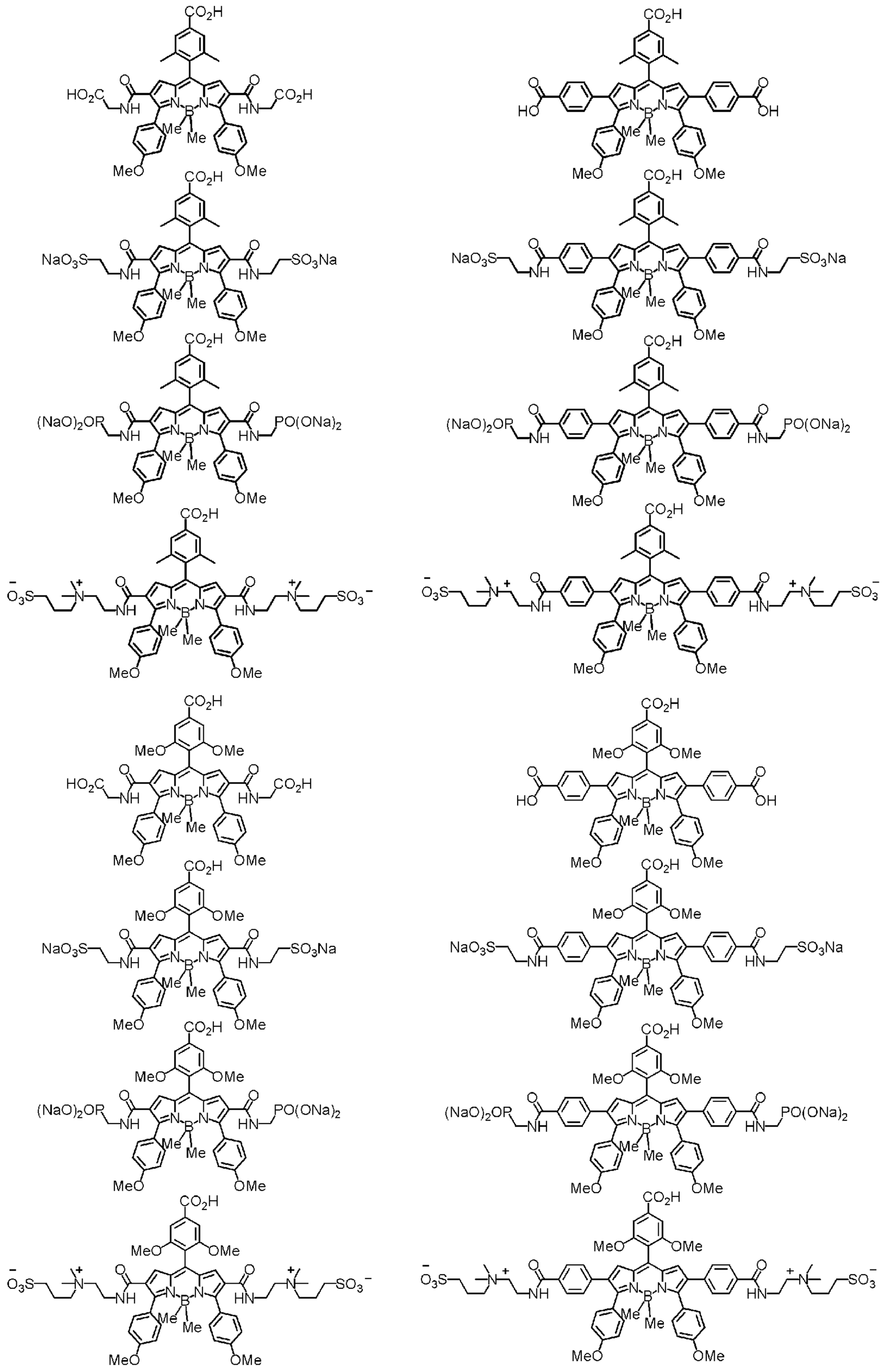
[0080]

[化41]



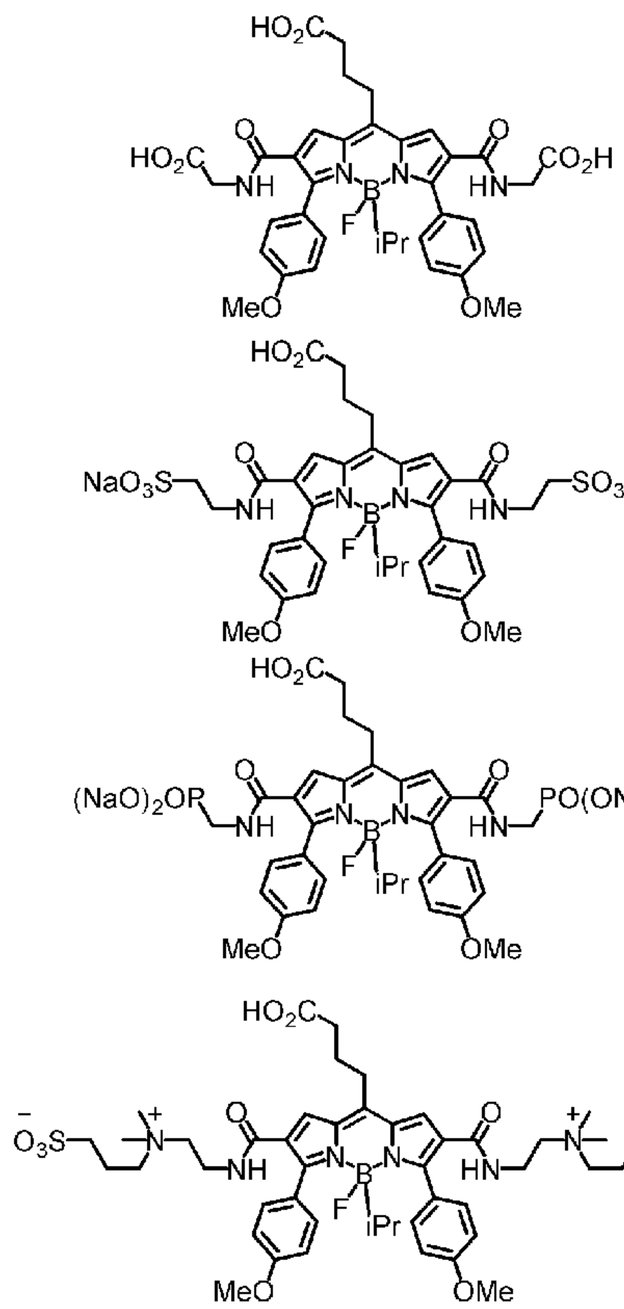
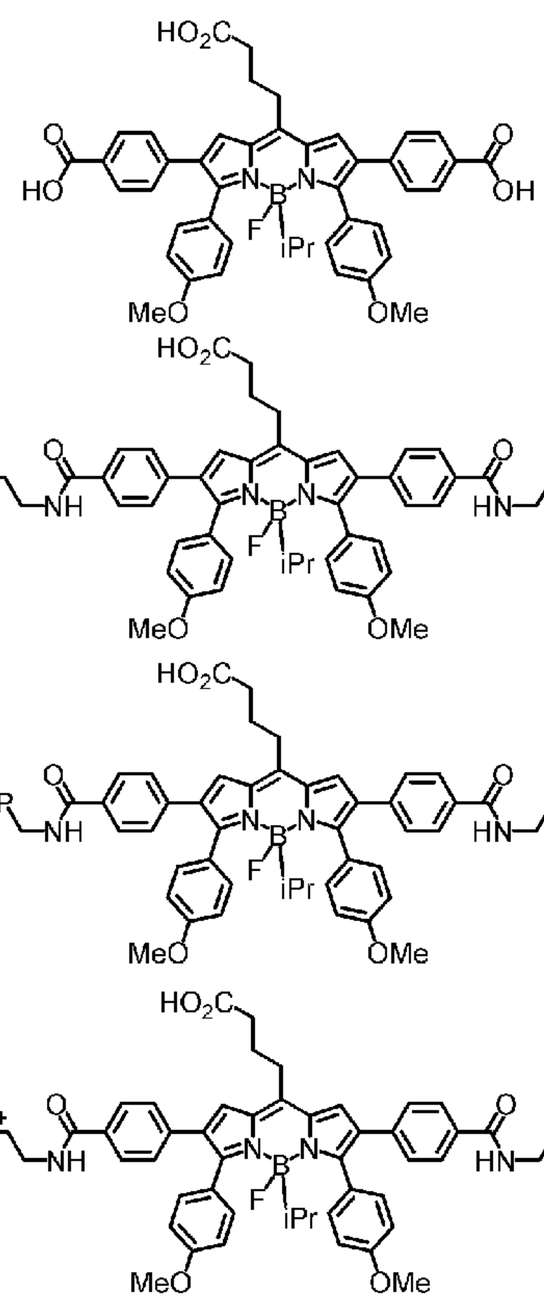
[0081]

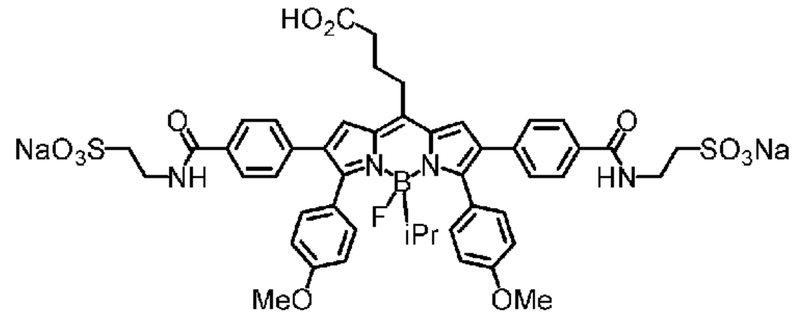
[化42]

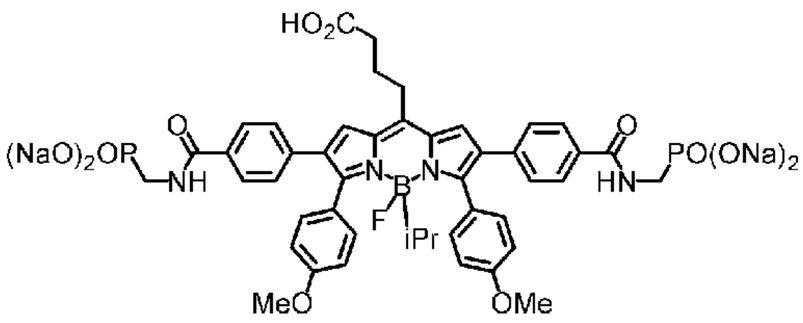
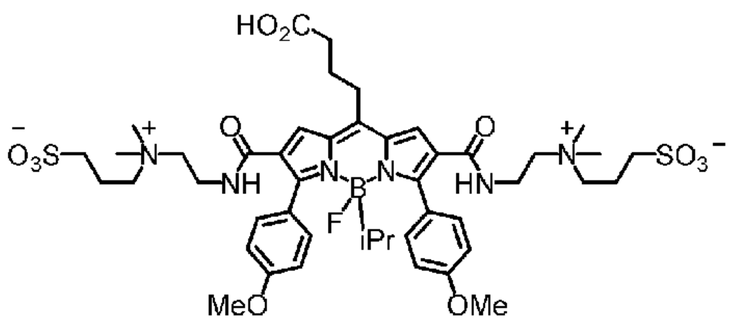
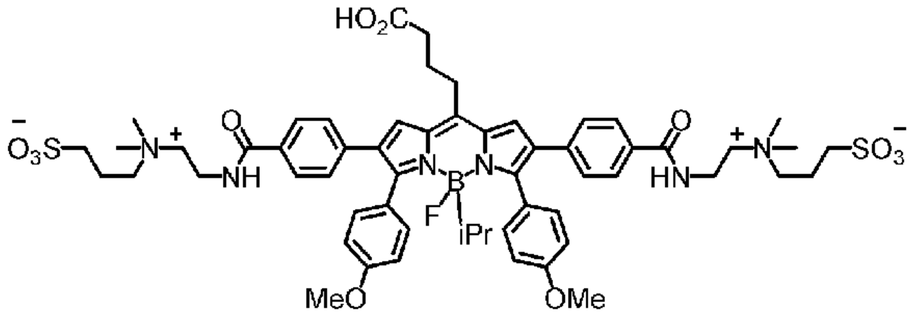
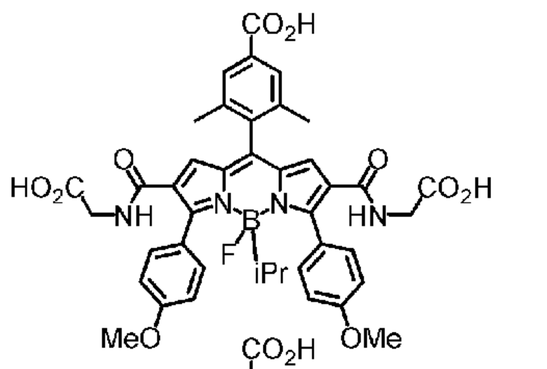
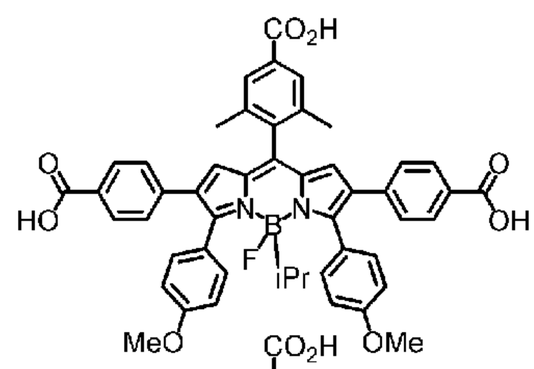
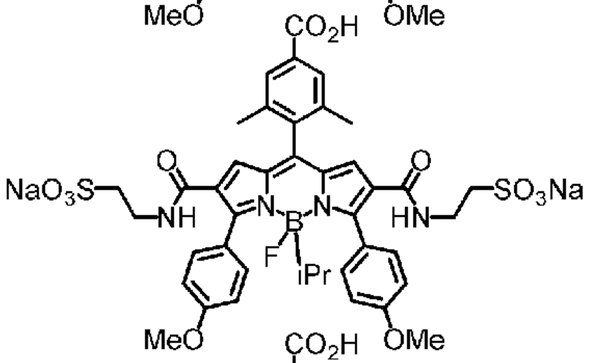
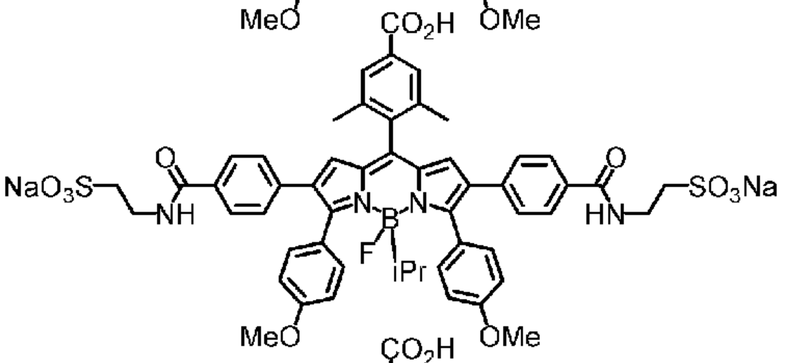
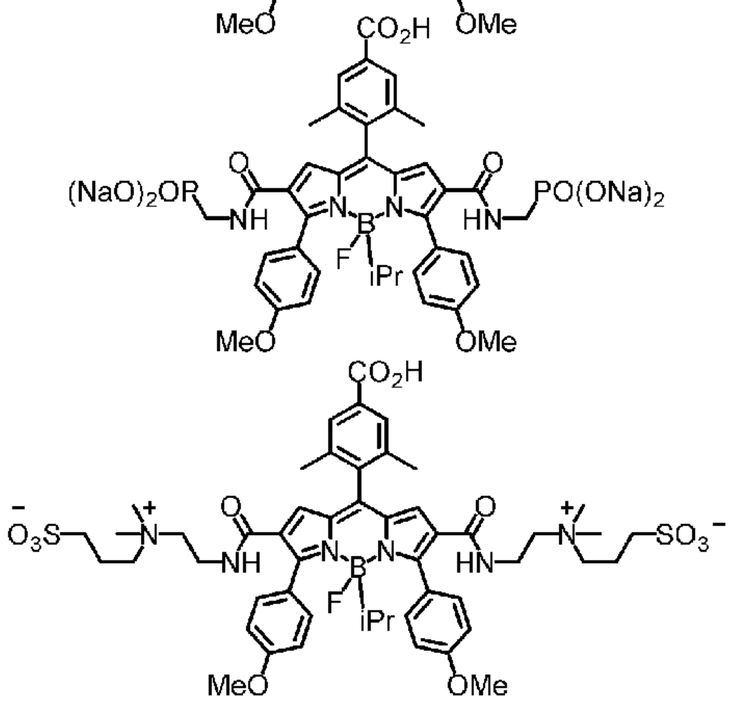
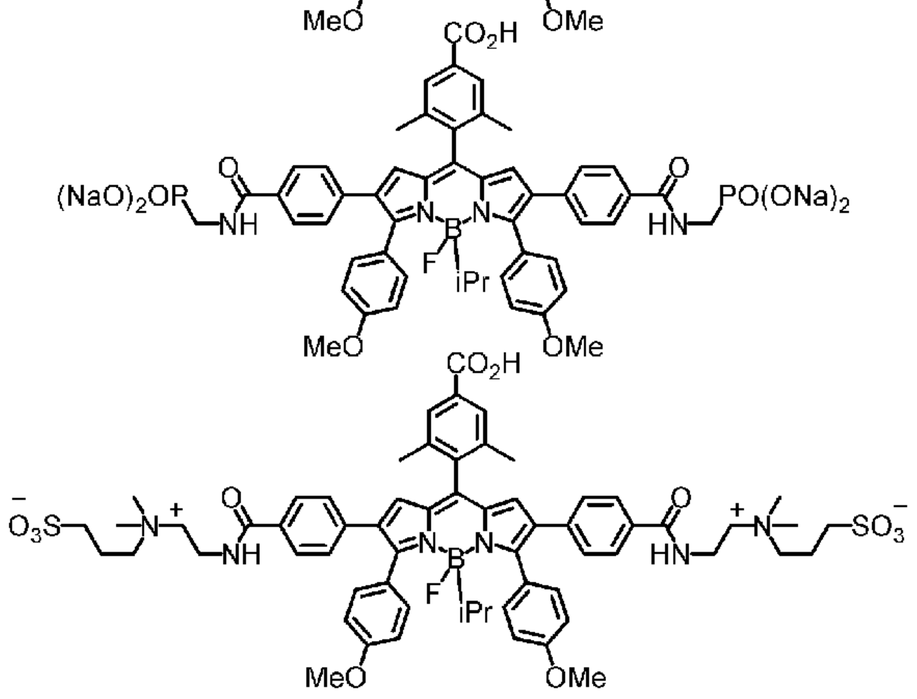


[0082]

[化43]

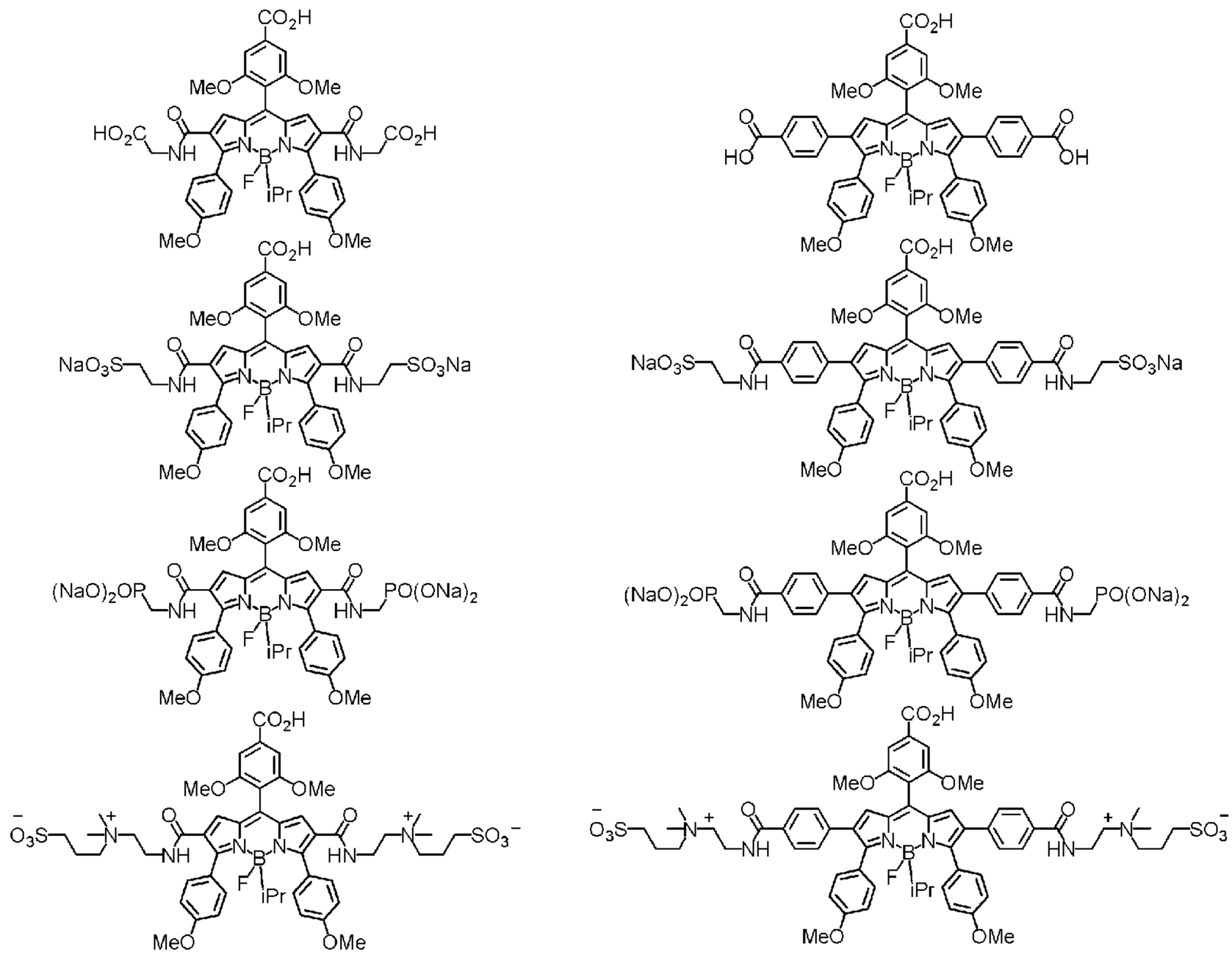





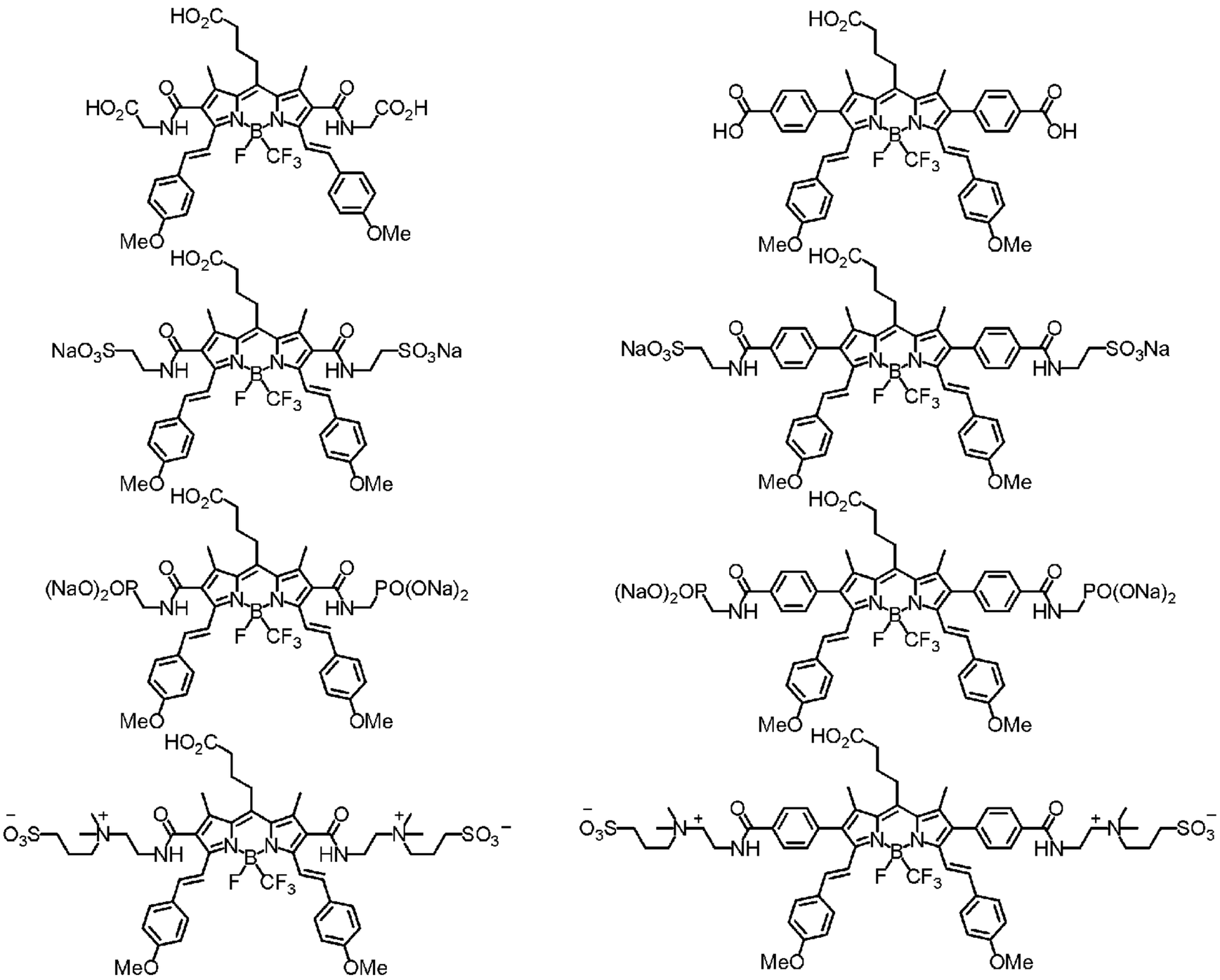
[0083]

[化44]



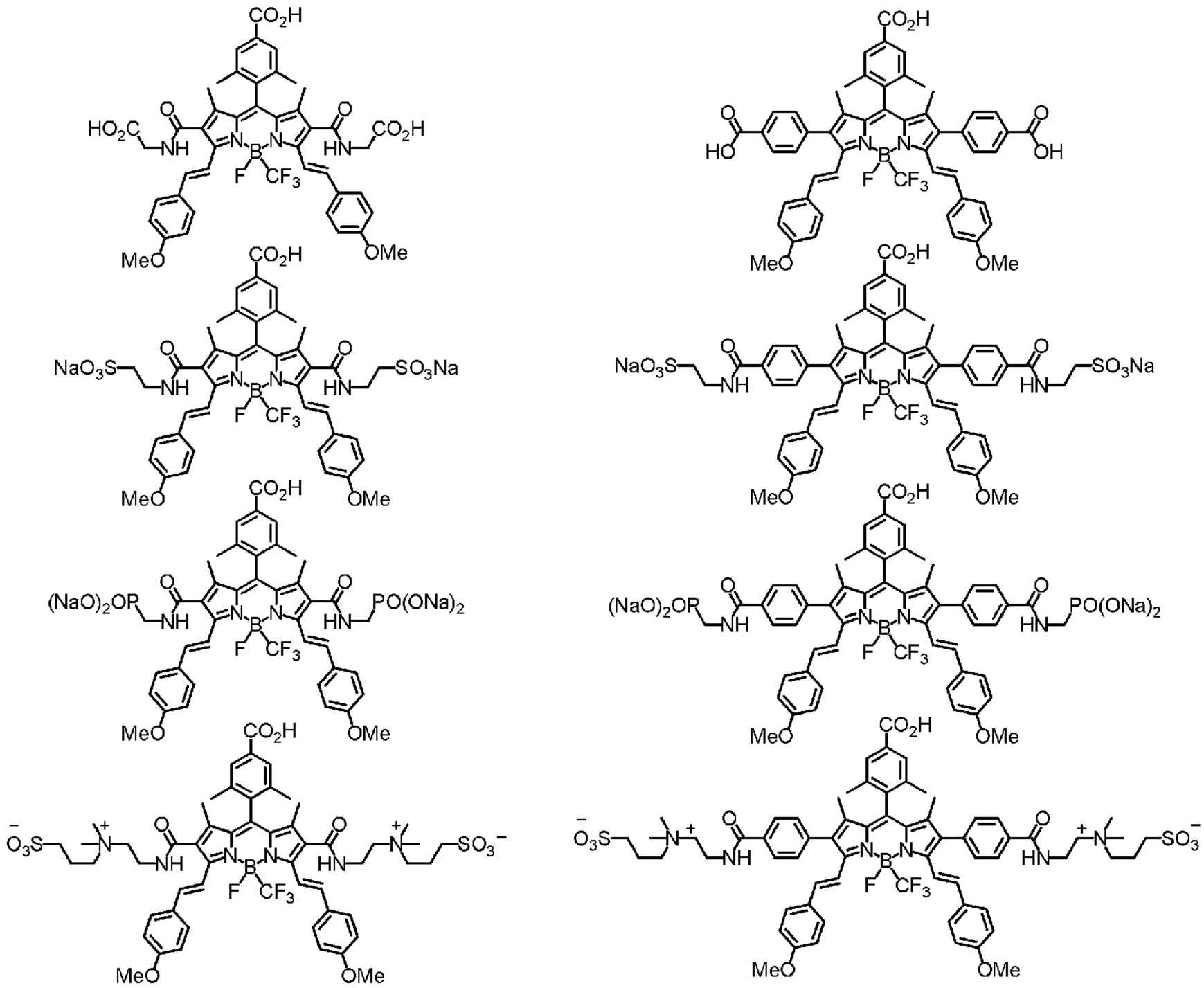
[0084]

[化45]



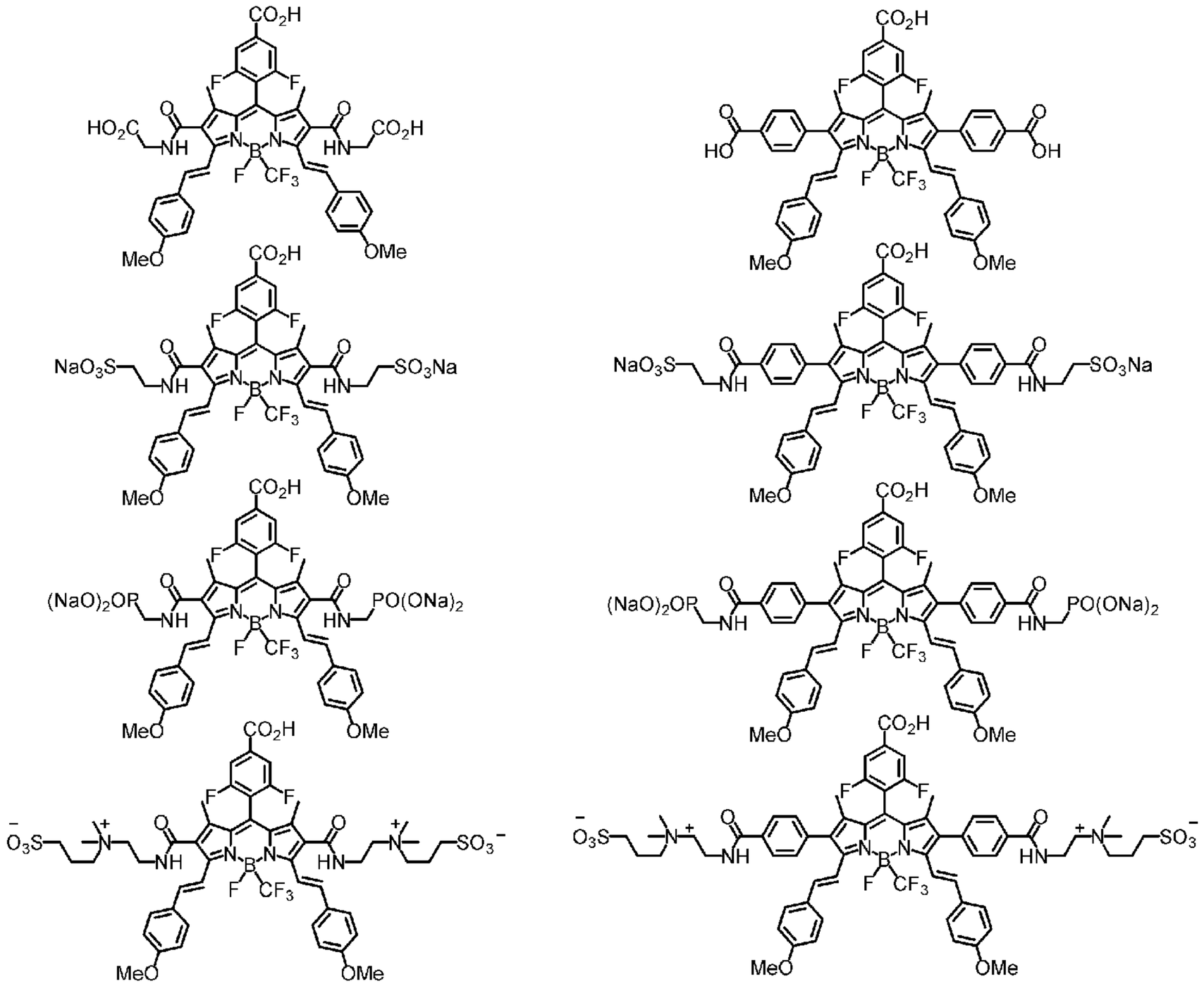
[0085]

[化46]



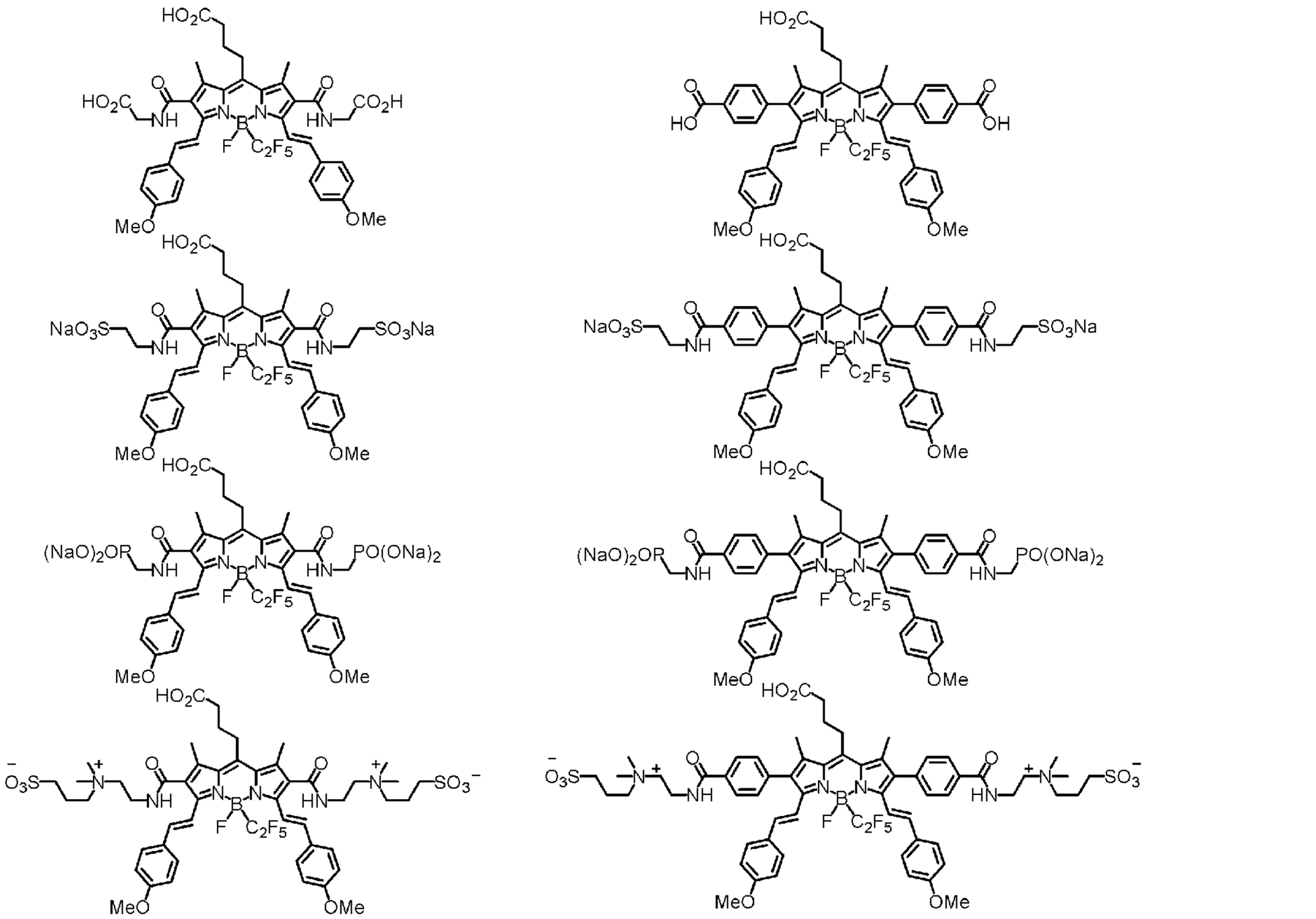
[0086]

[化47]



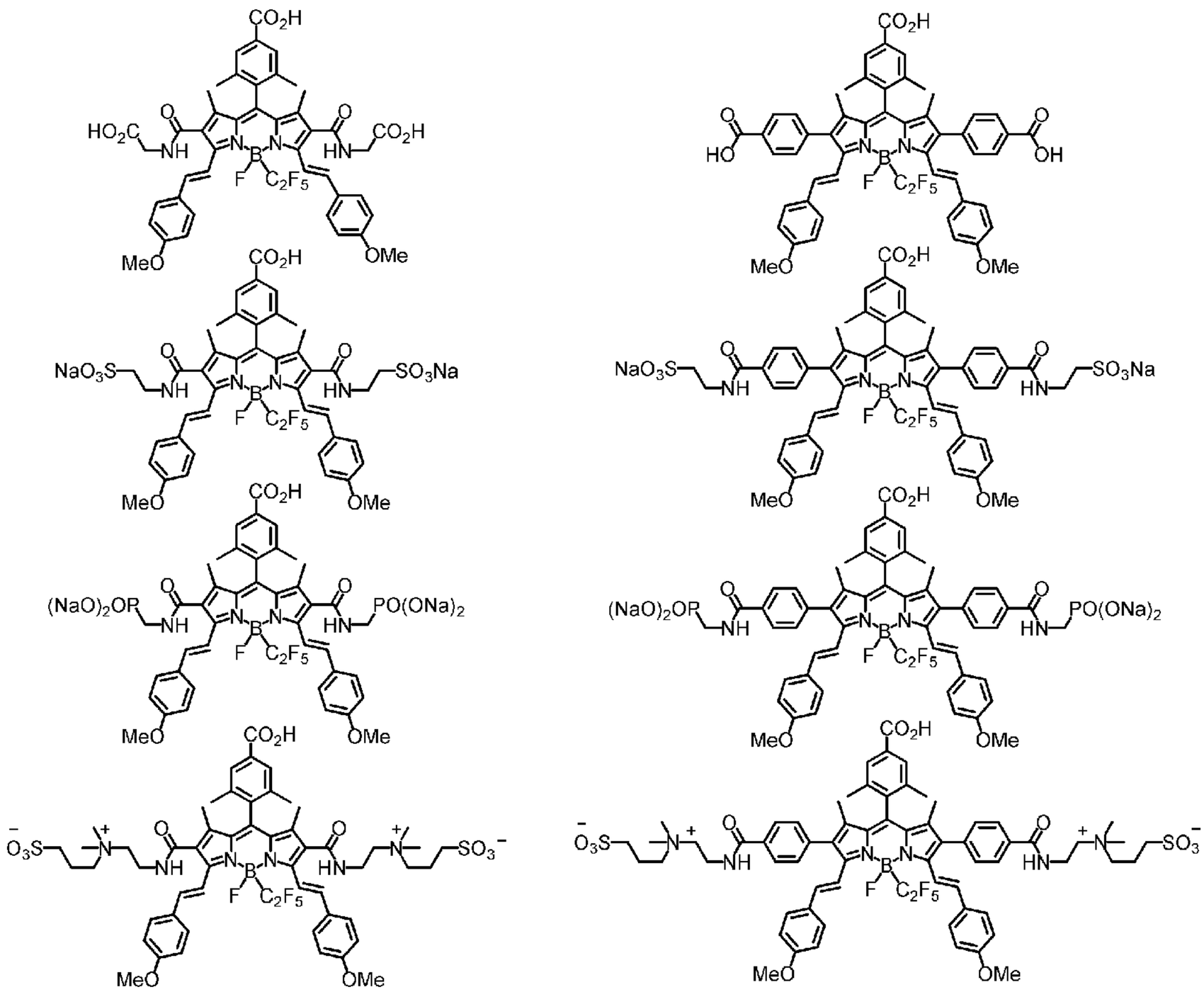
[0087]

[化48]



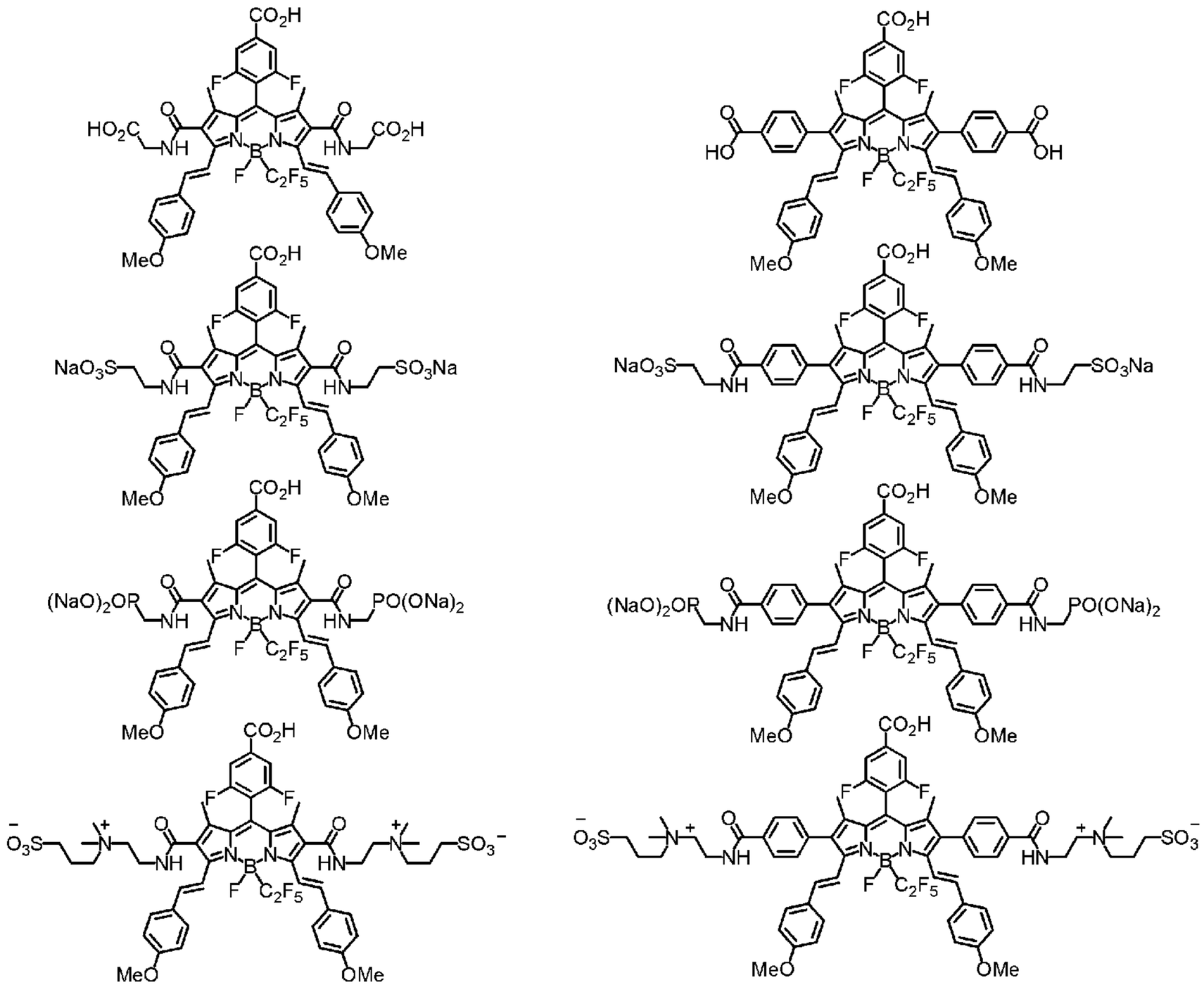
[0088]

[化49]



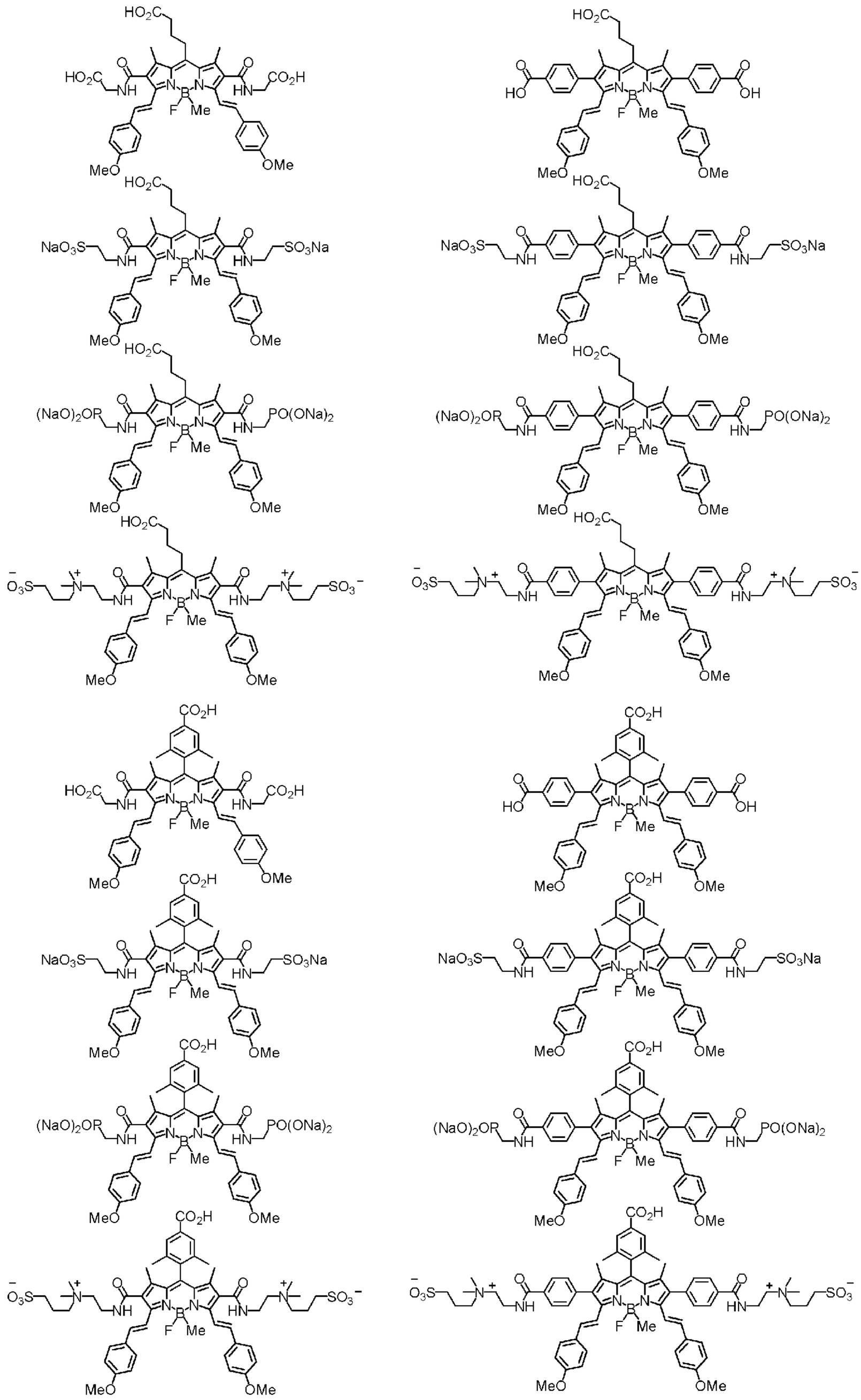
[0089]

[化50]



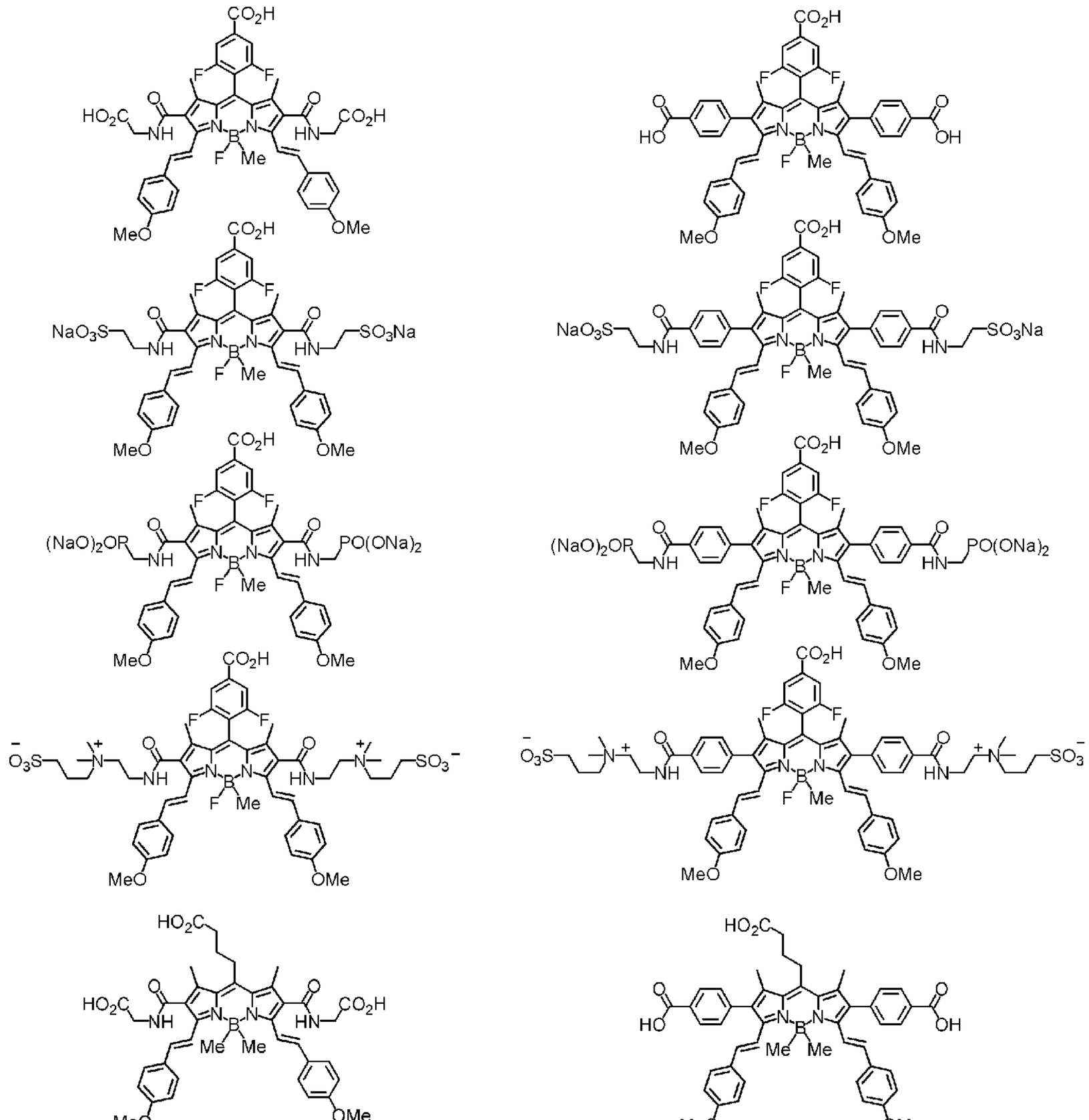
[0090]

[化51]



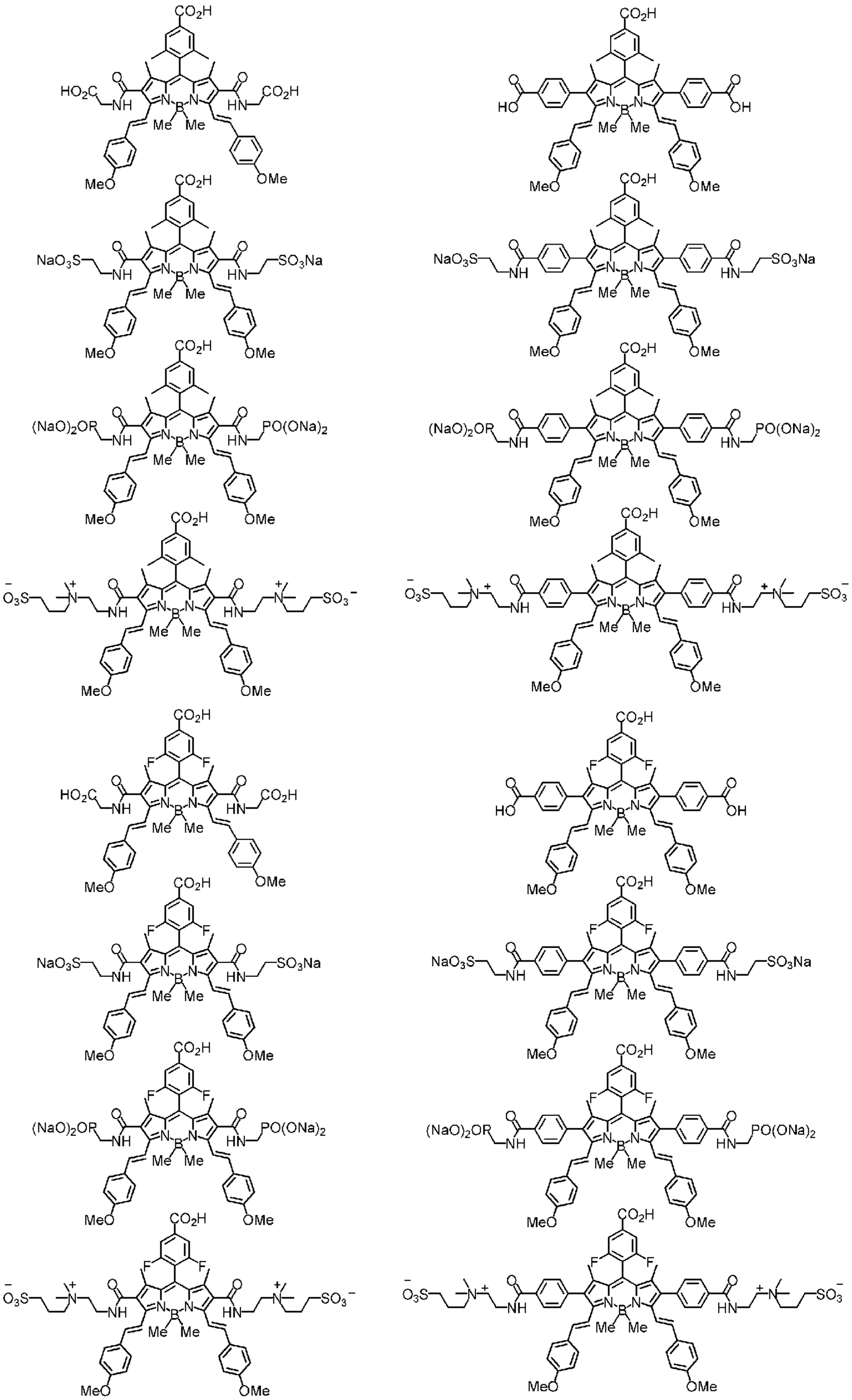
[0091]

[化52]



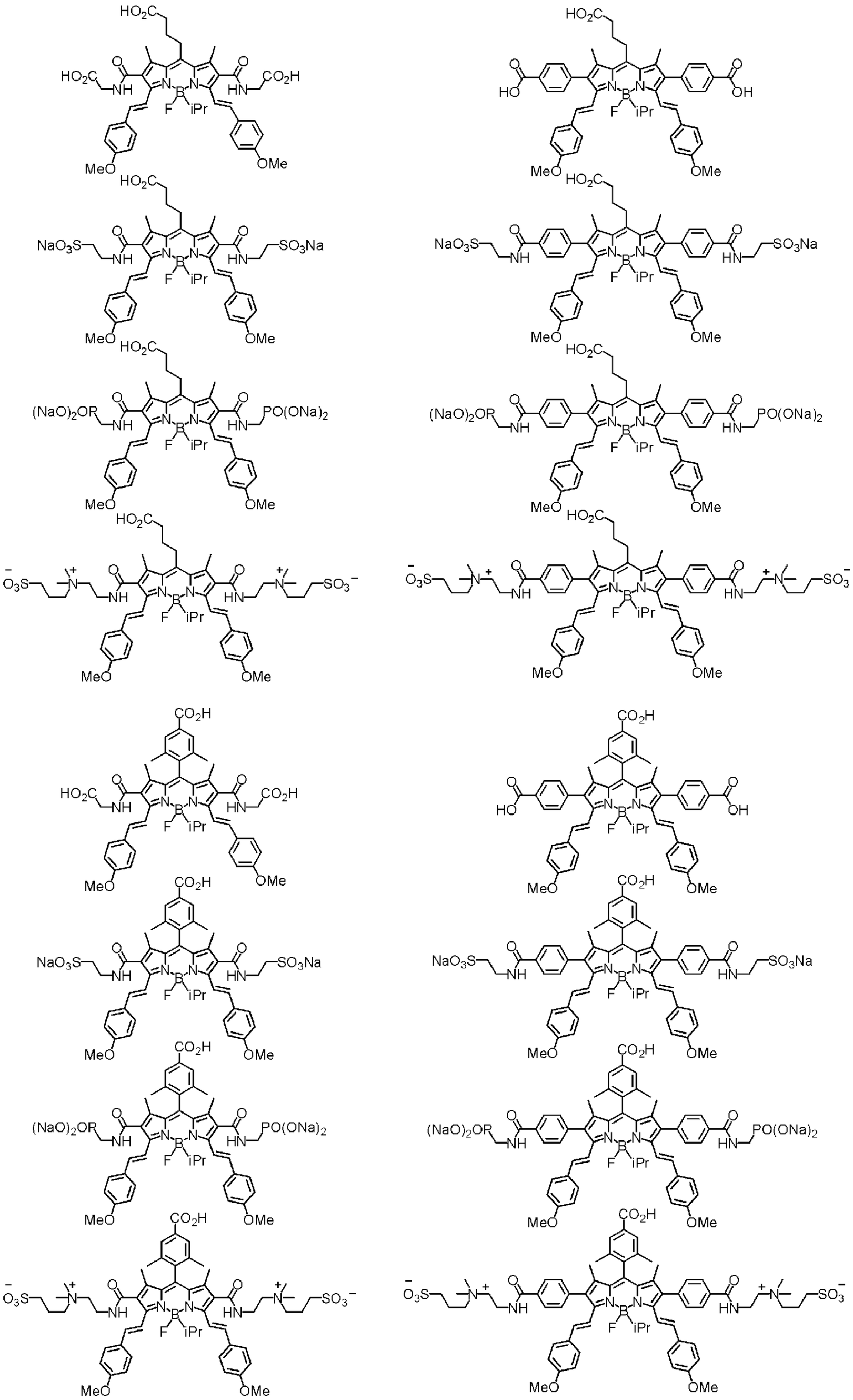
[0092]

[化53]



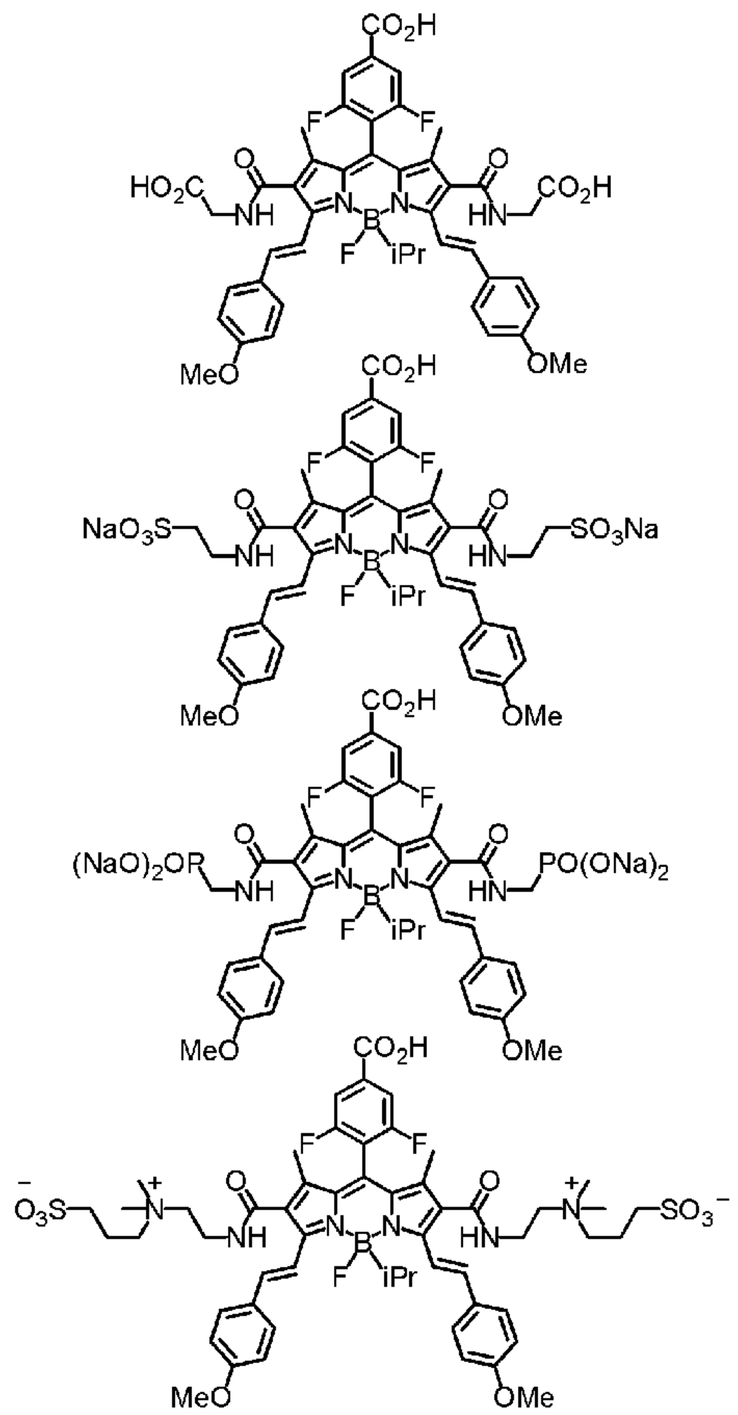
[0093]

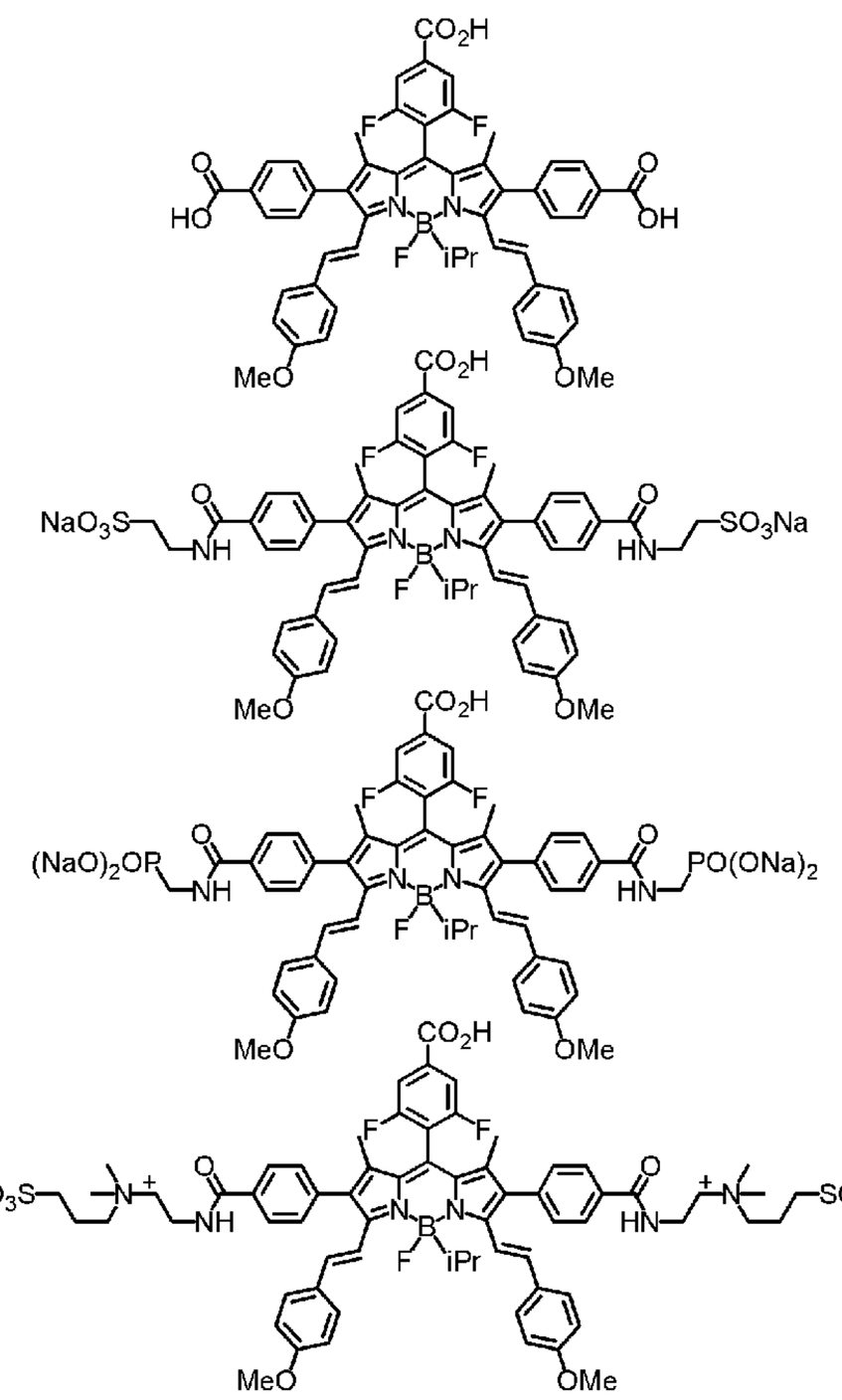
[化54]



[0094]

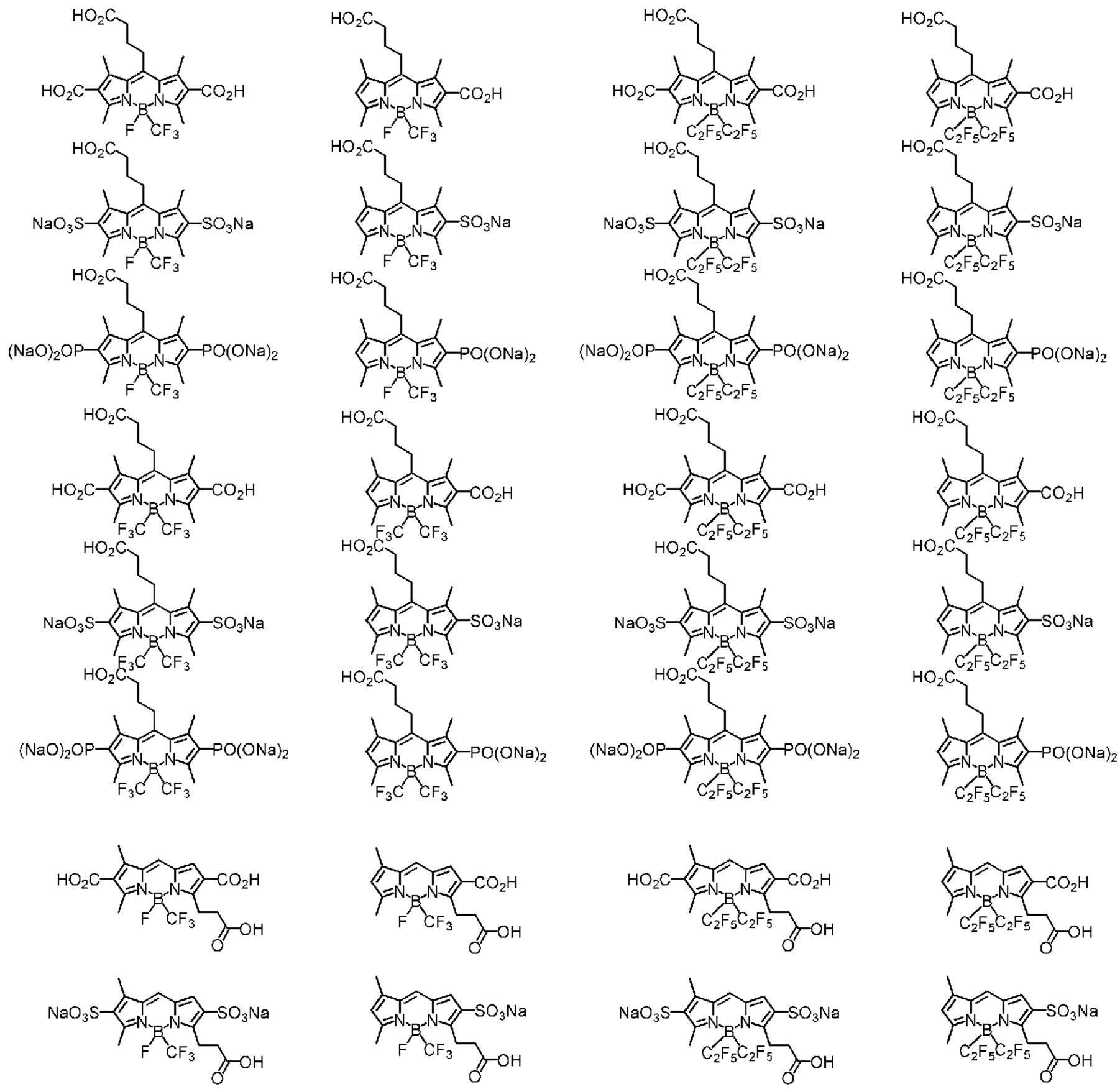
[化55]





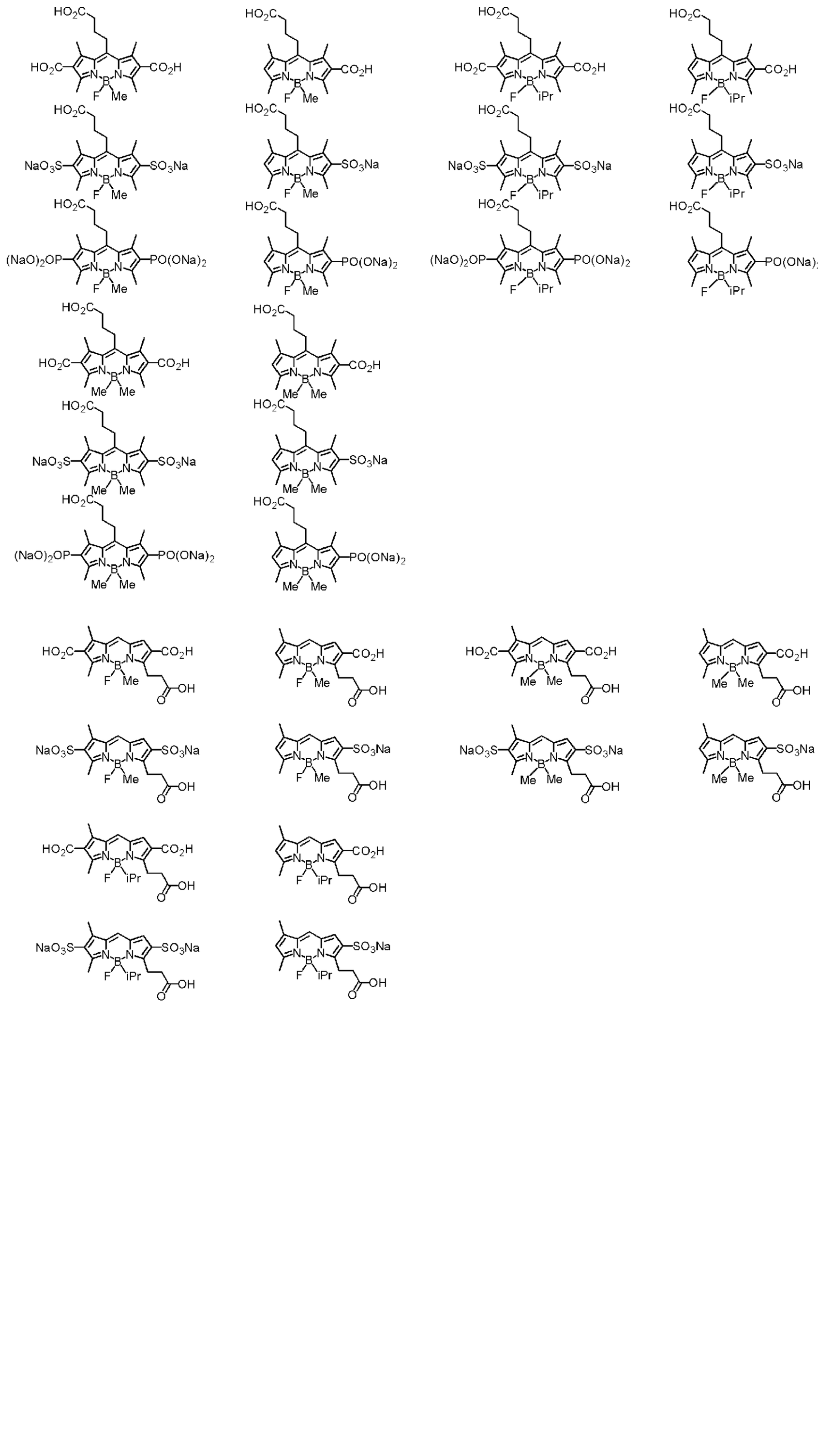
[0095]

[化56]



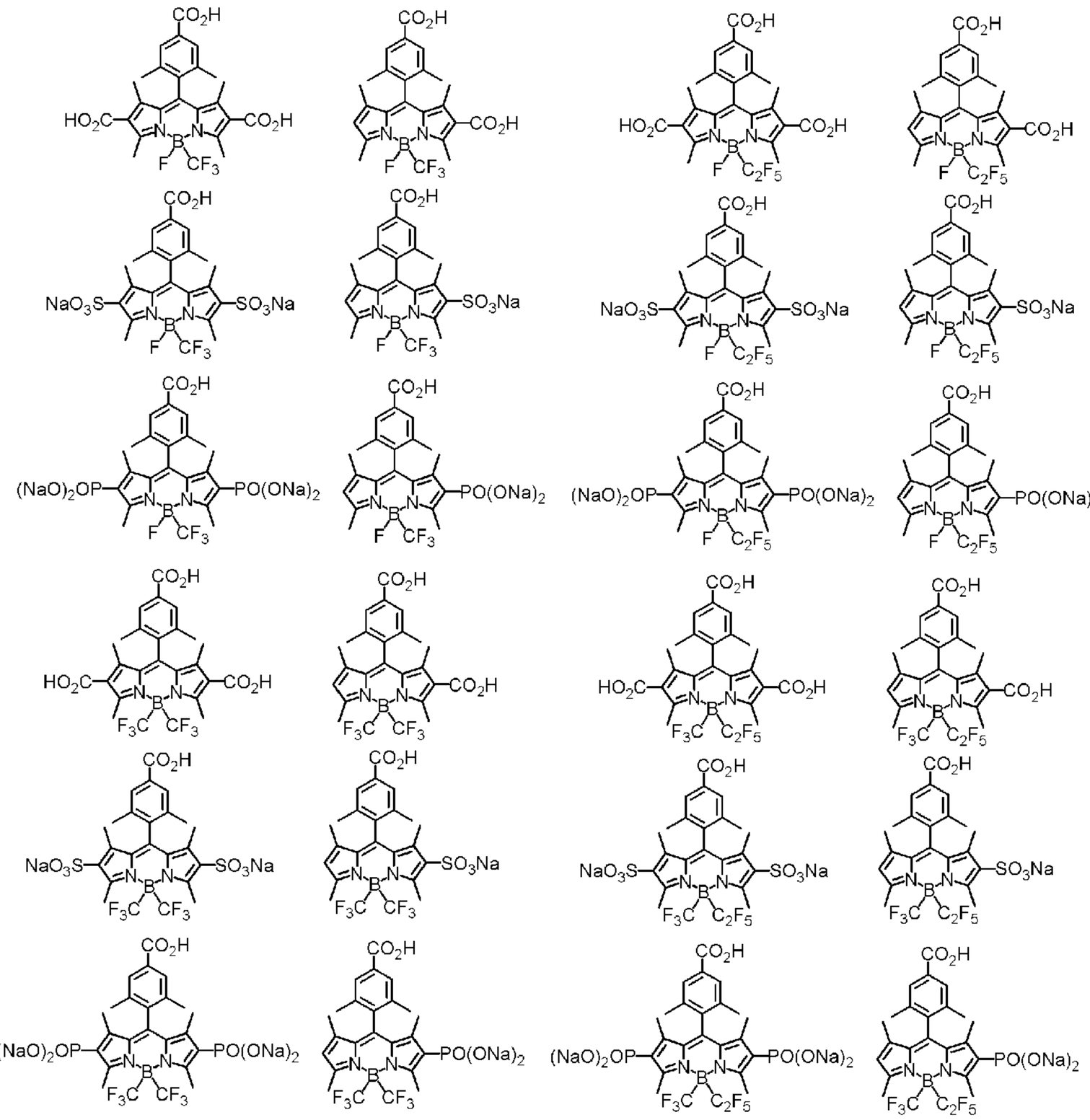
[0096]

[化57]



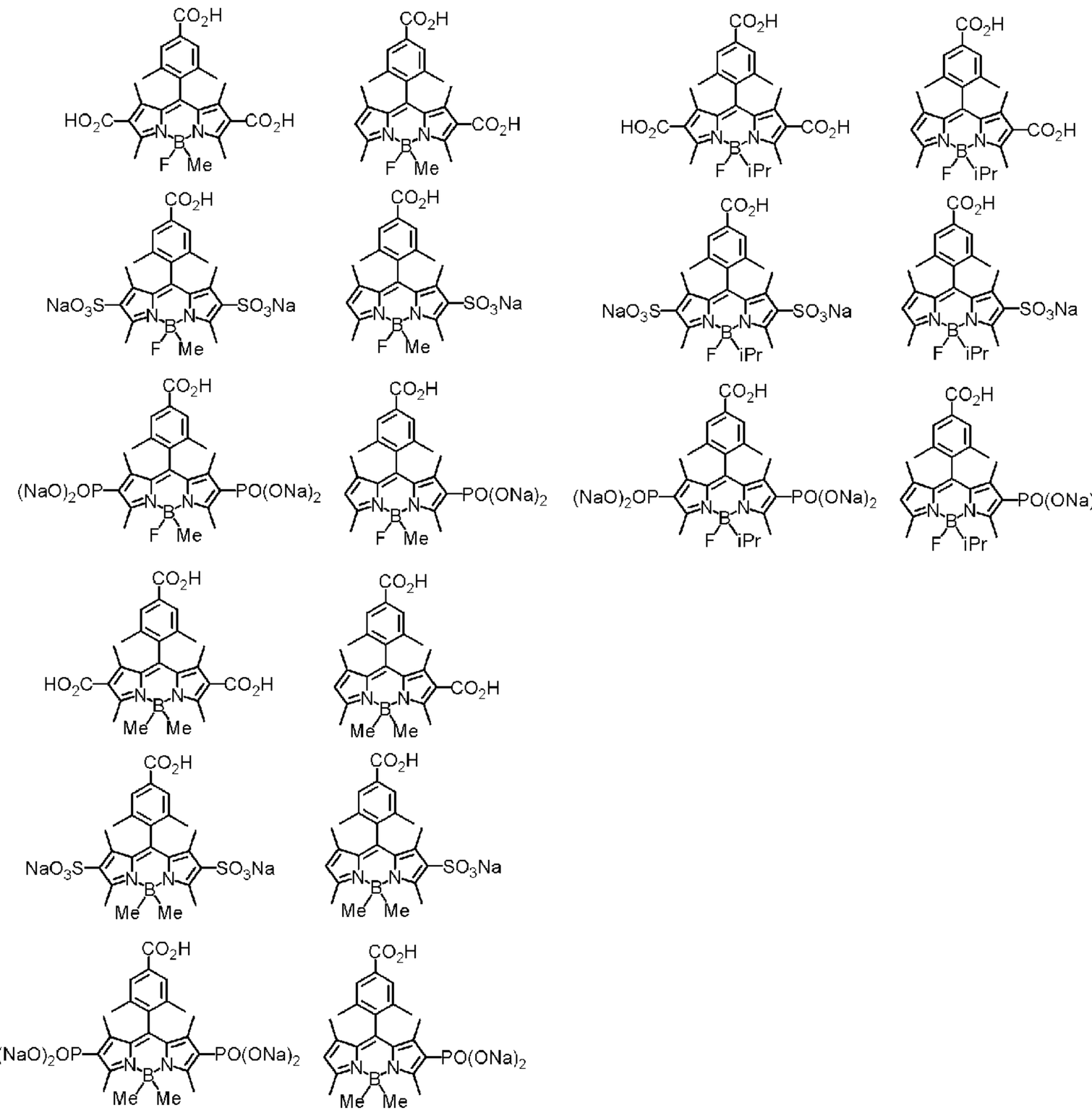
[0097]

[化58]



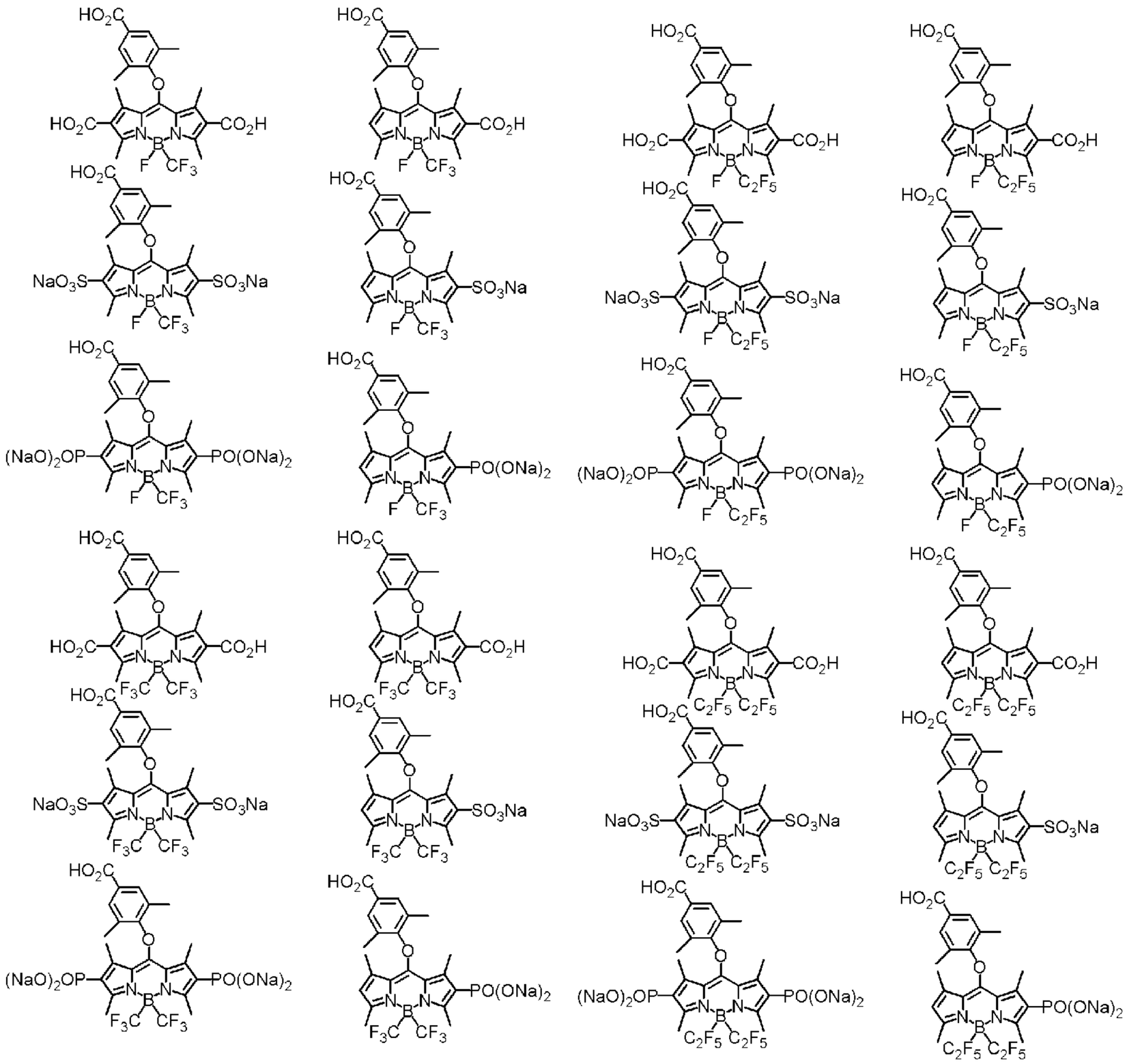
[0098]

[化59]



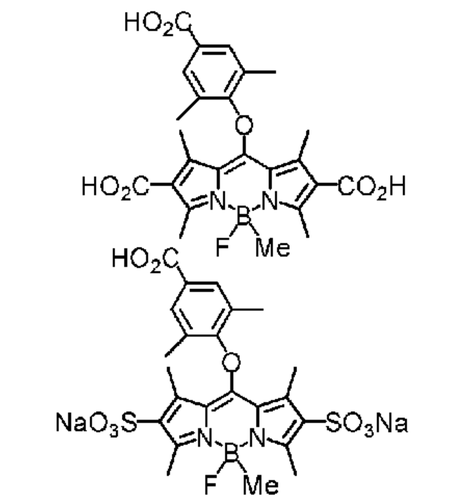
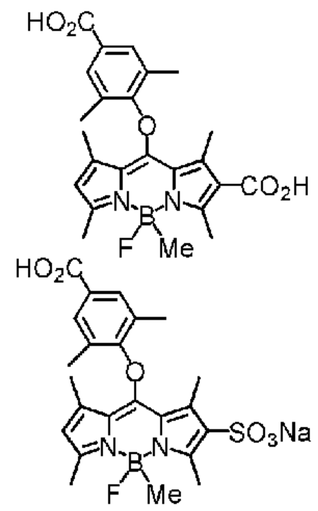
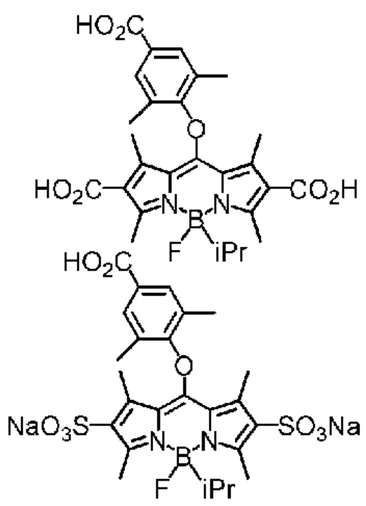
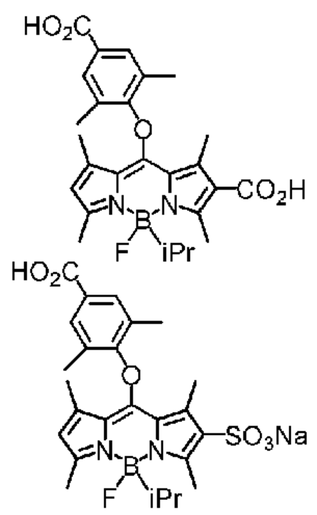
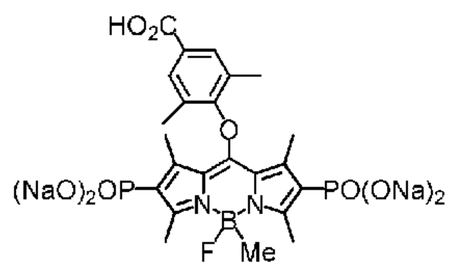
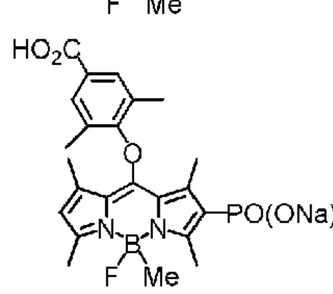
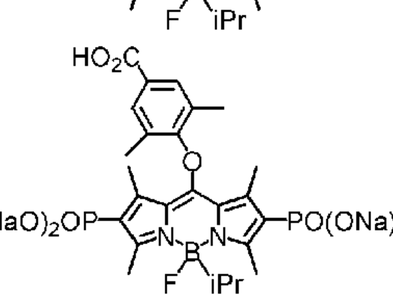
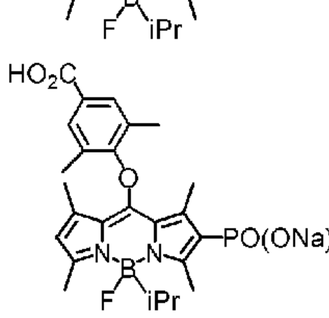
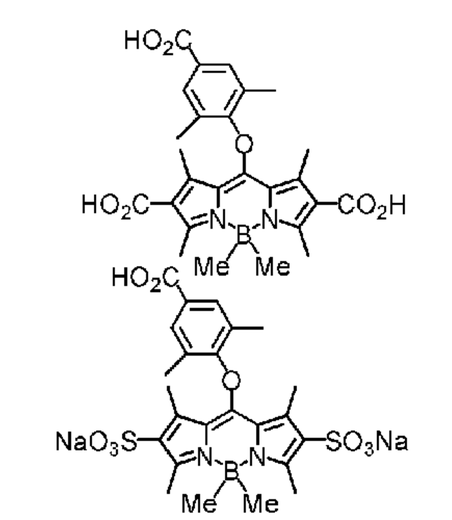
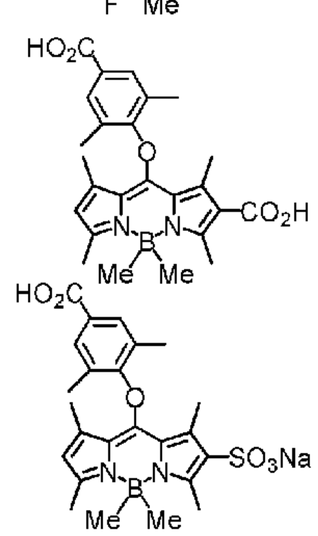
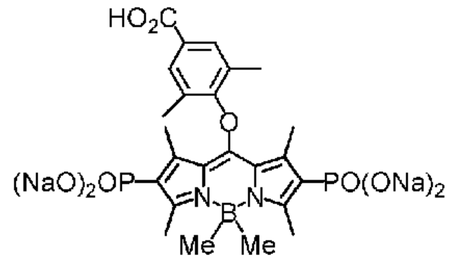
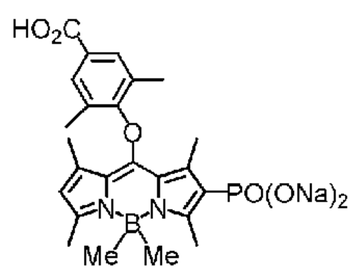
[0099]

[化60]



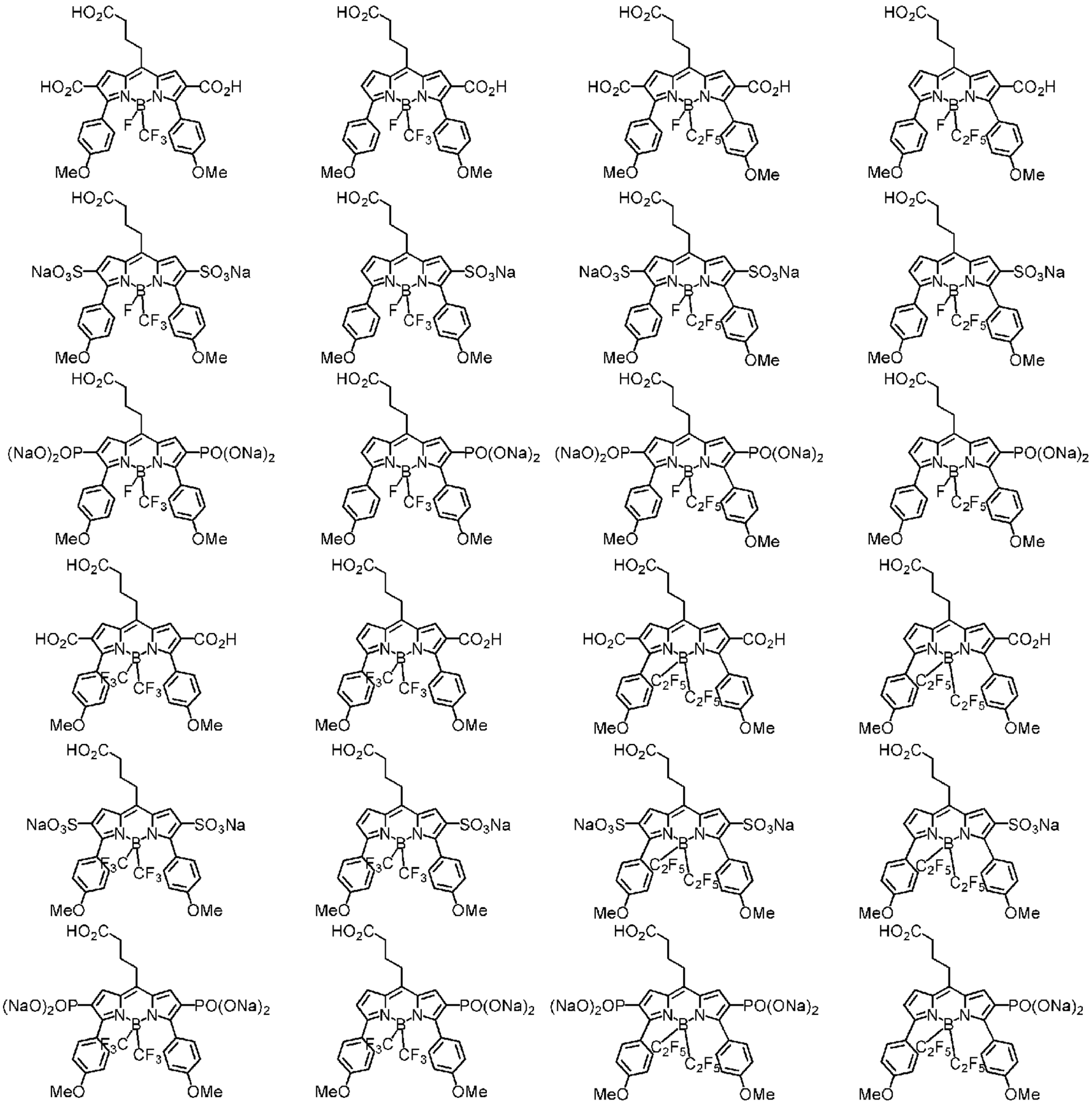
[0100]

[化61]

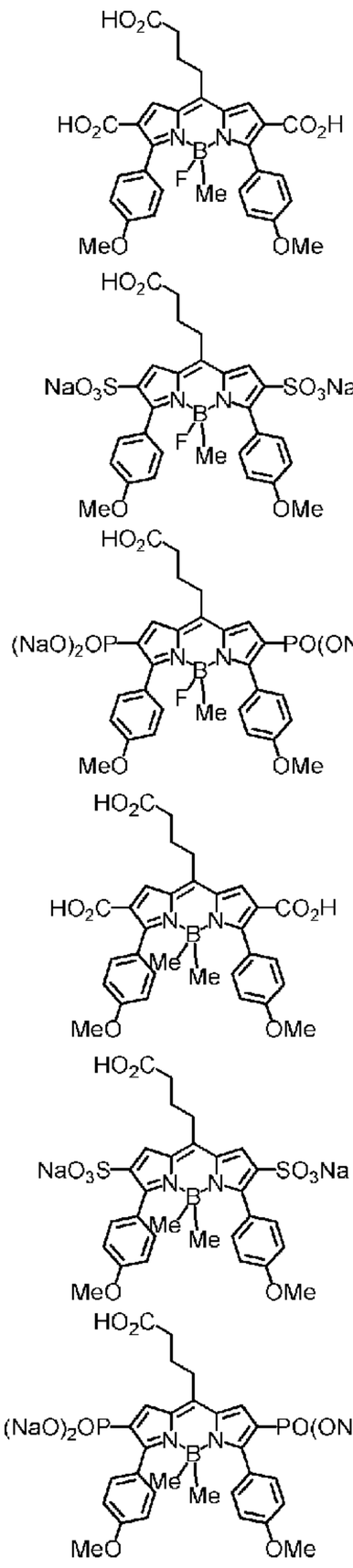
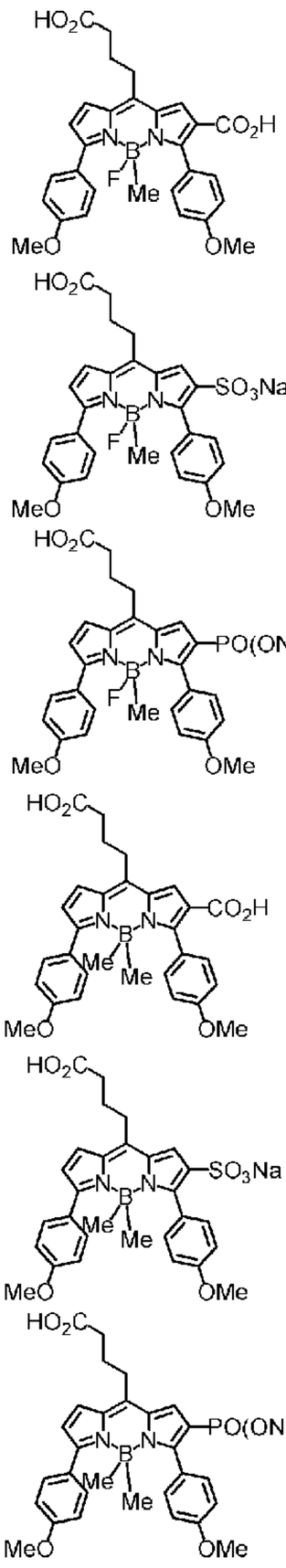
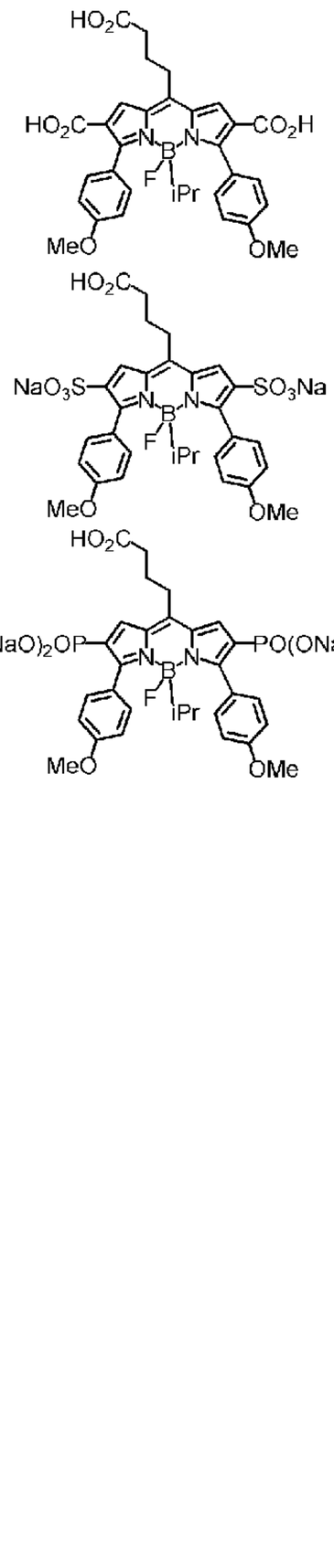
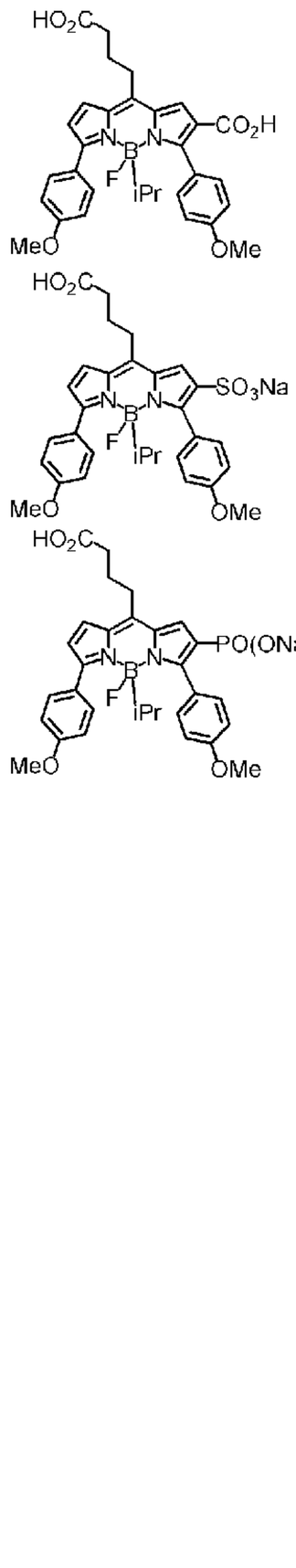
[0101]

[化62]



[0102]

[化63]

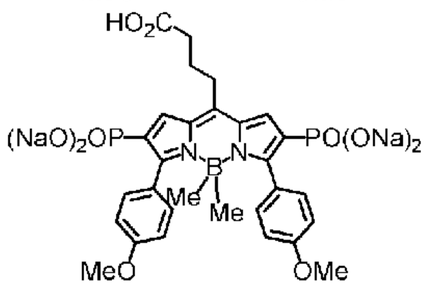
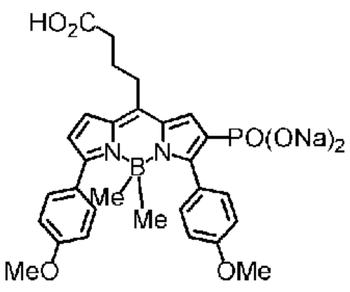






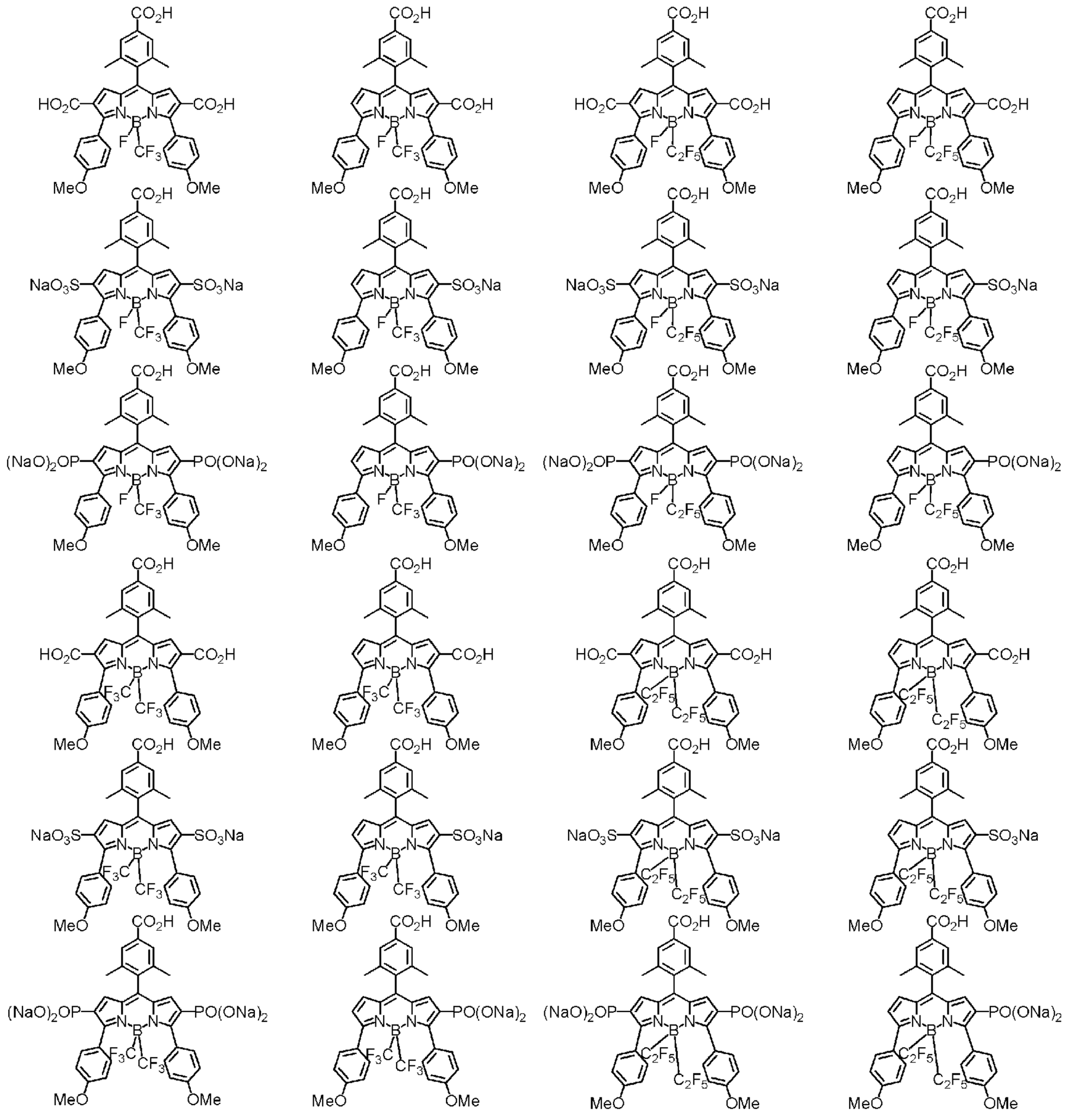




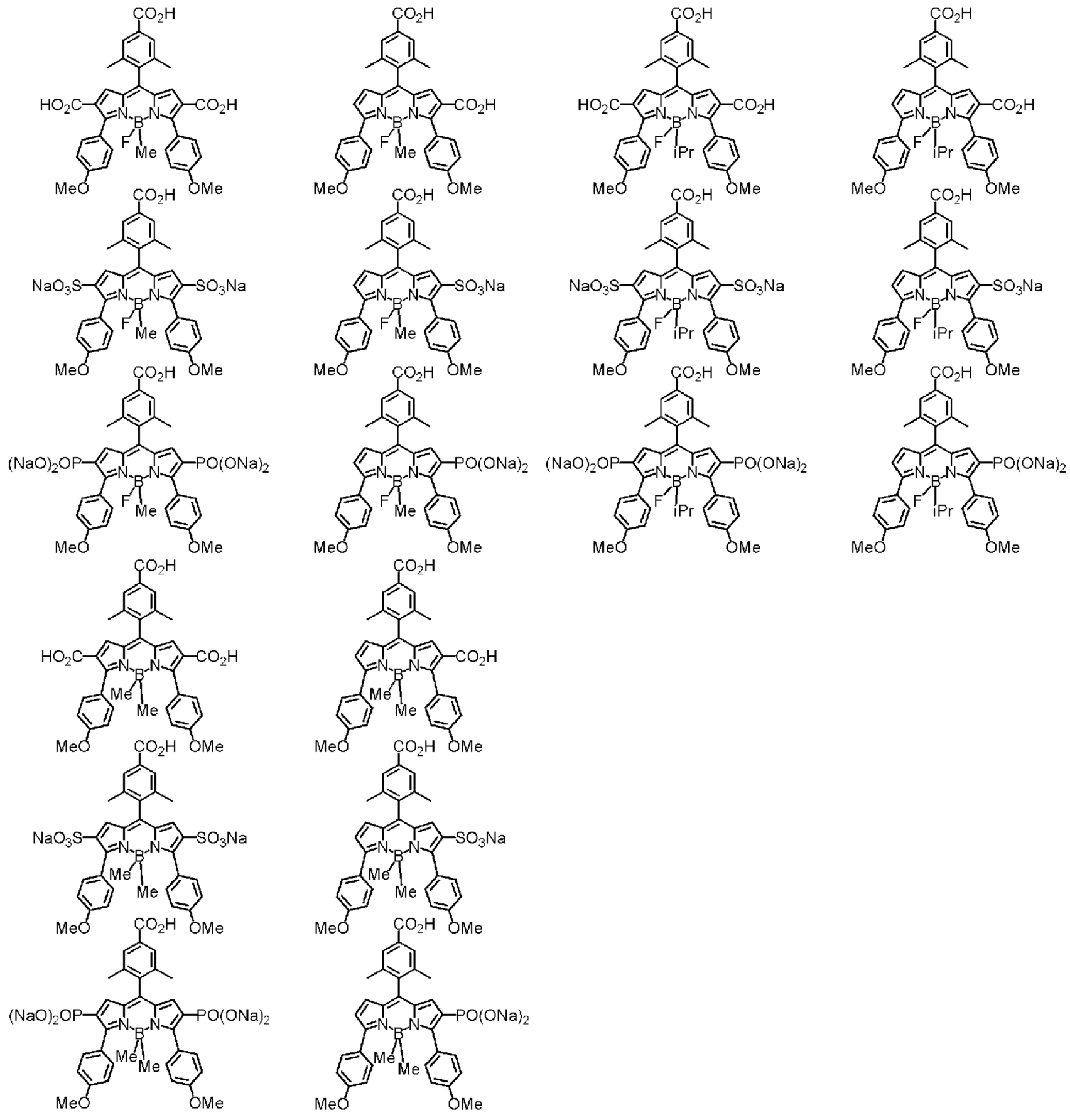
[0103]

[化64]



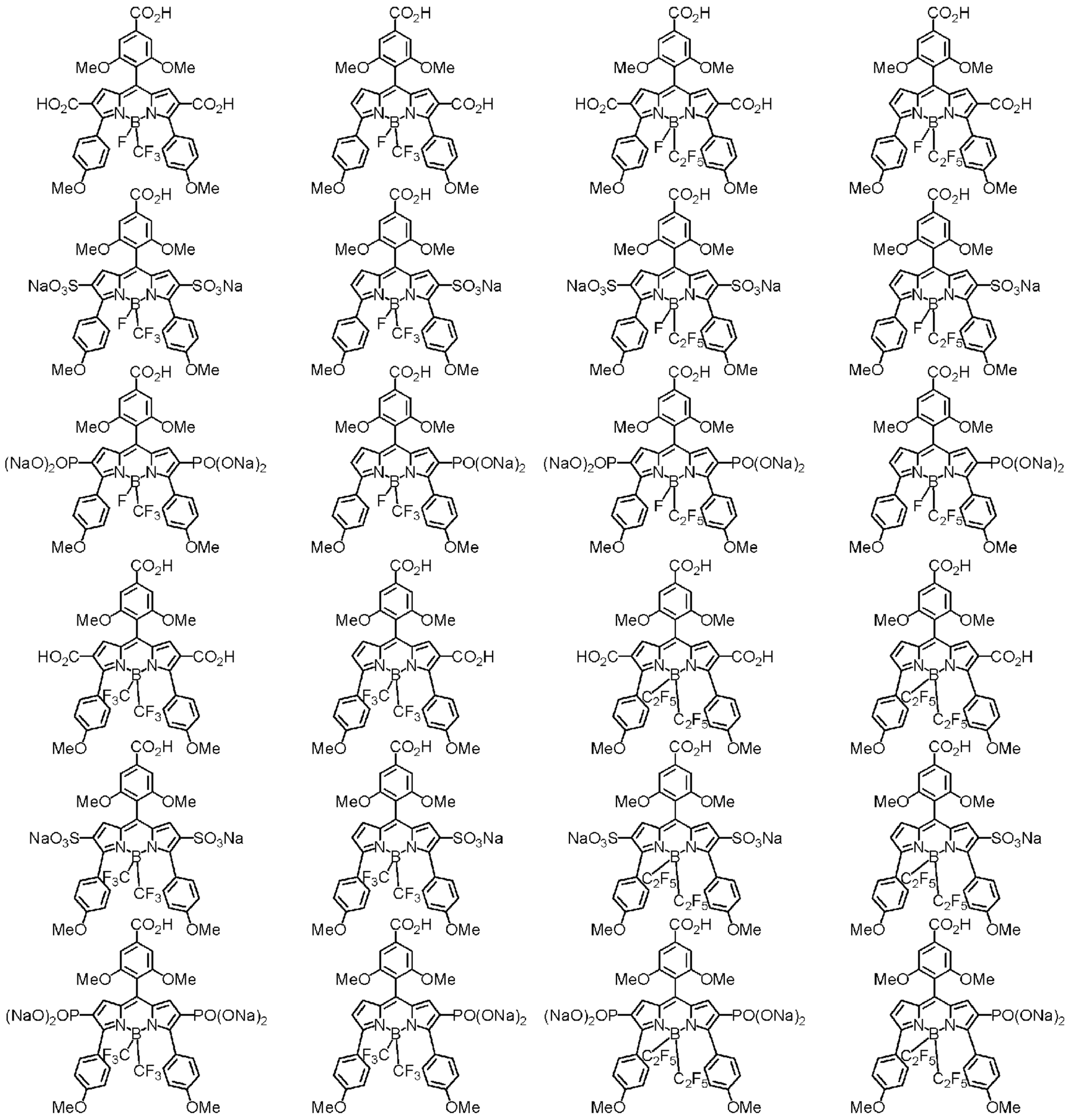
[0104]

[化65]



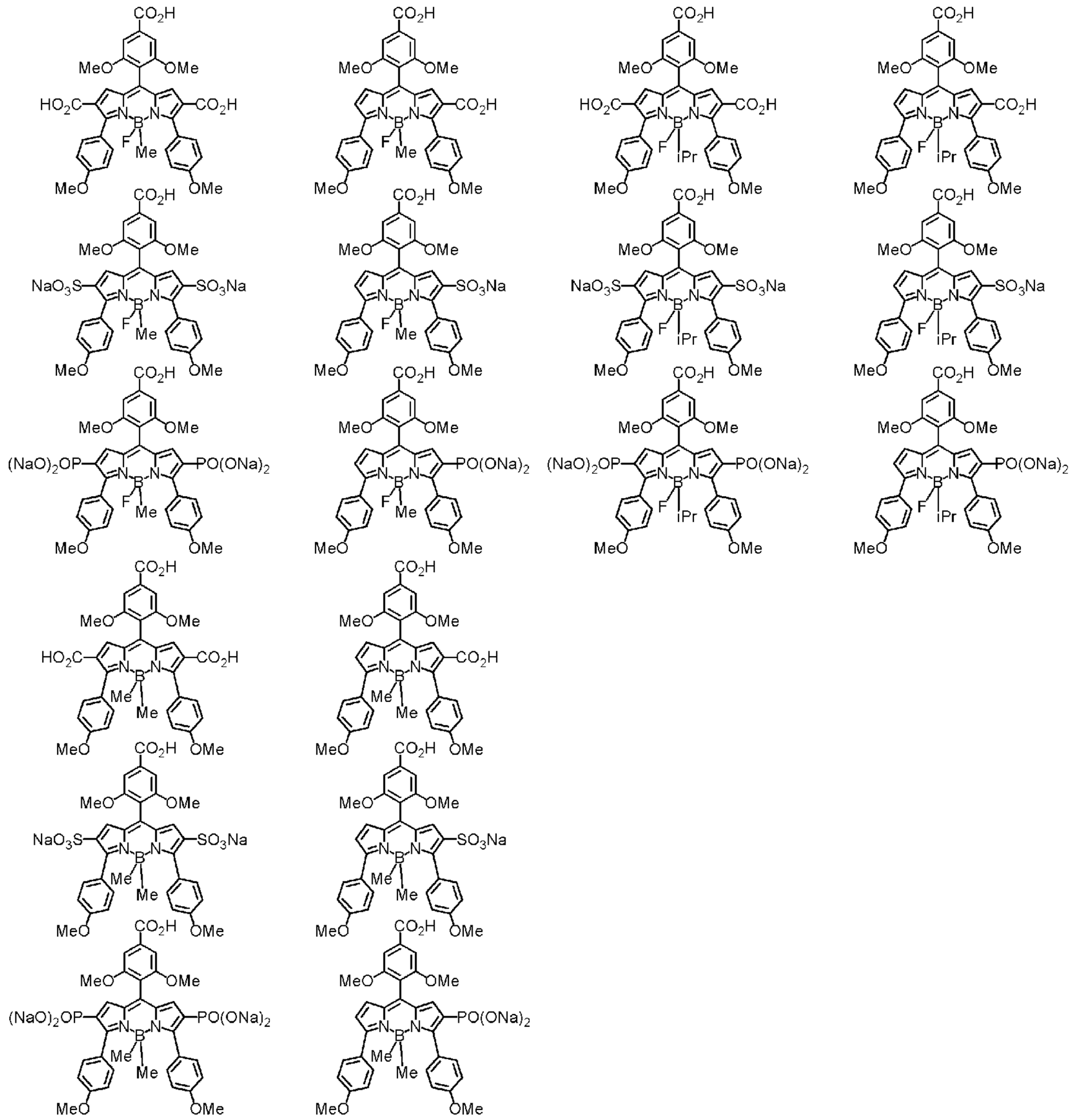
[0105]

[化66]



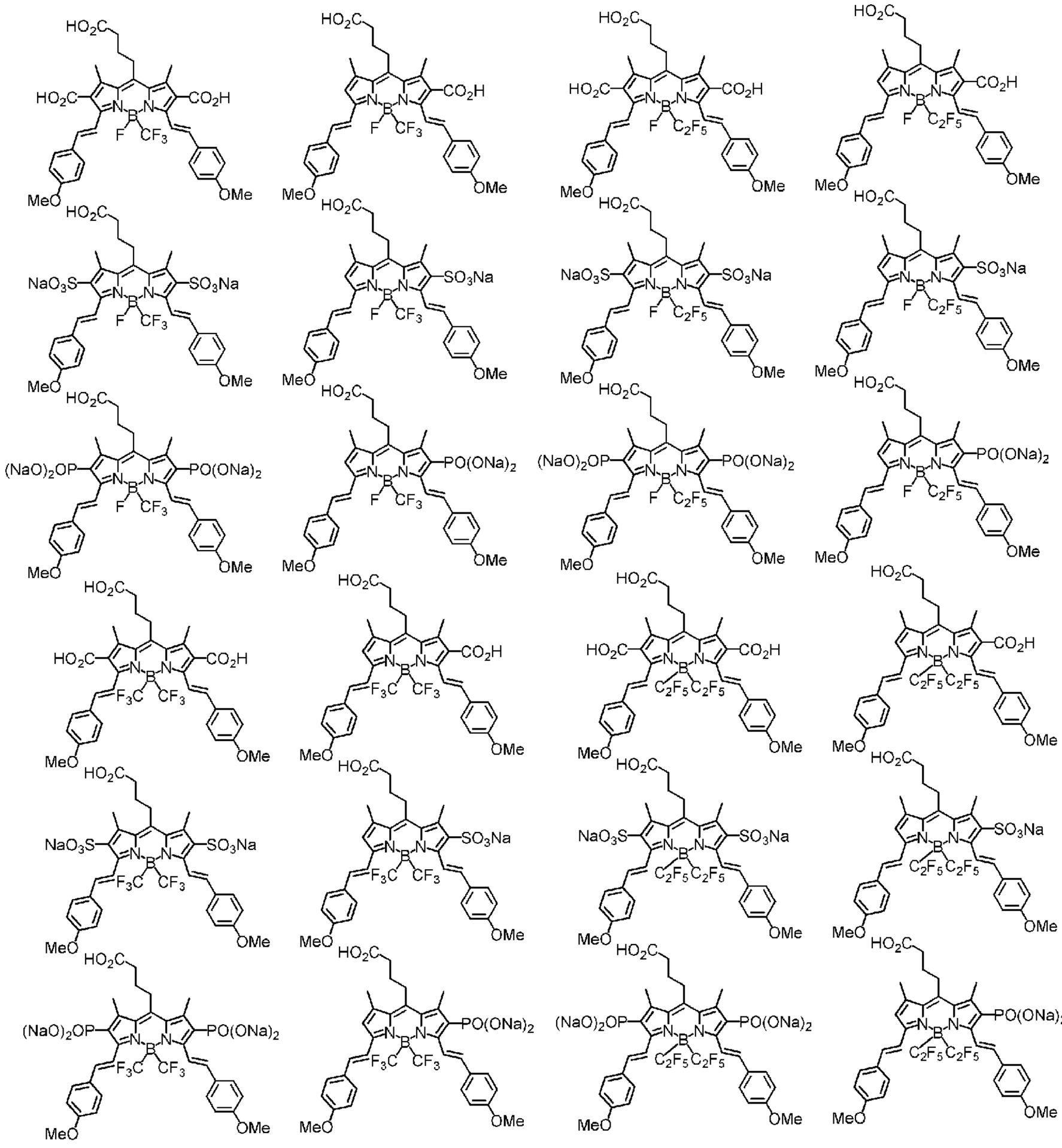
[0106]

[化67]



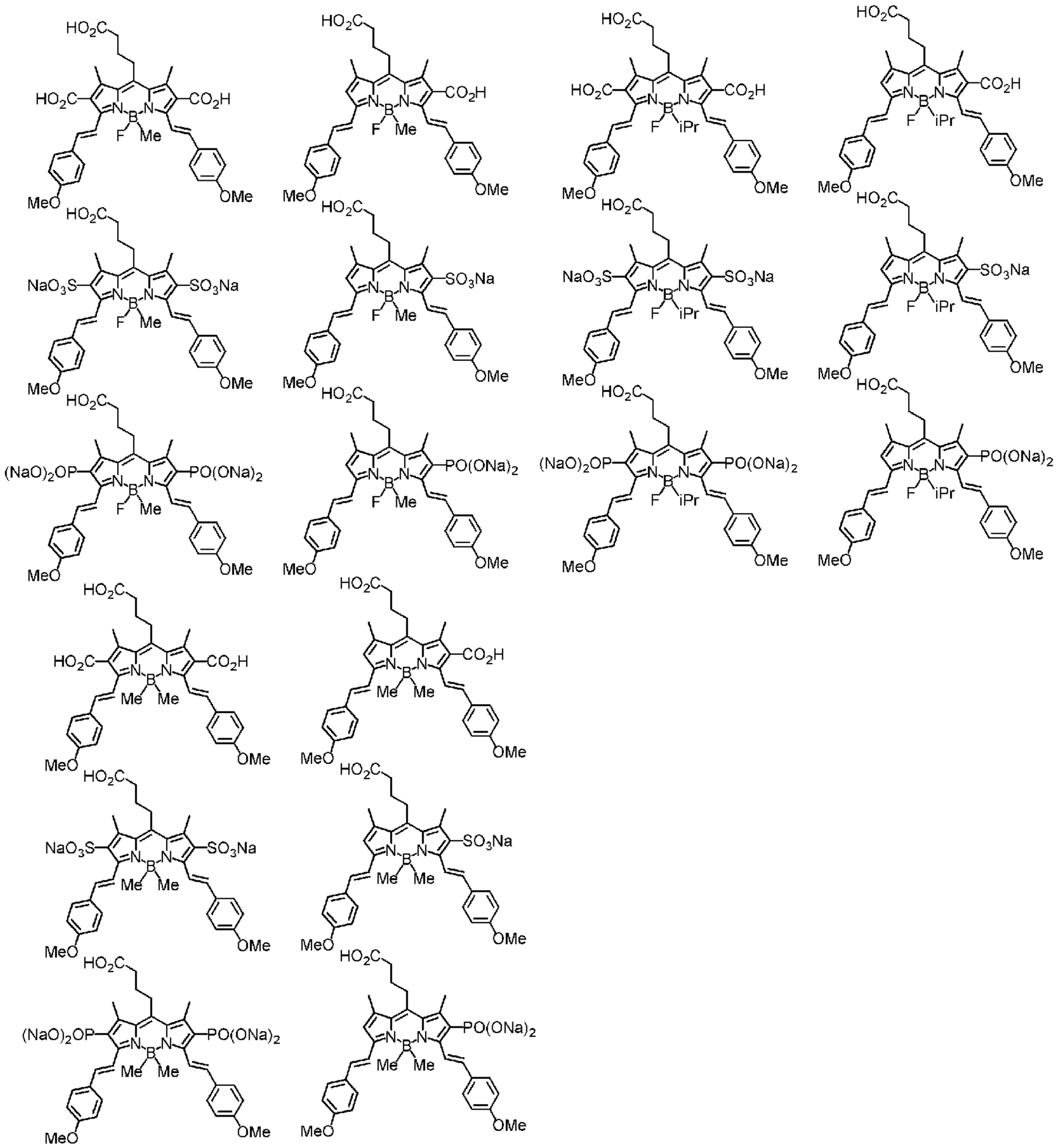
[0107]

[化68]



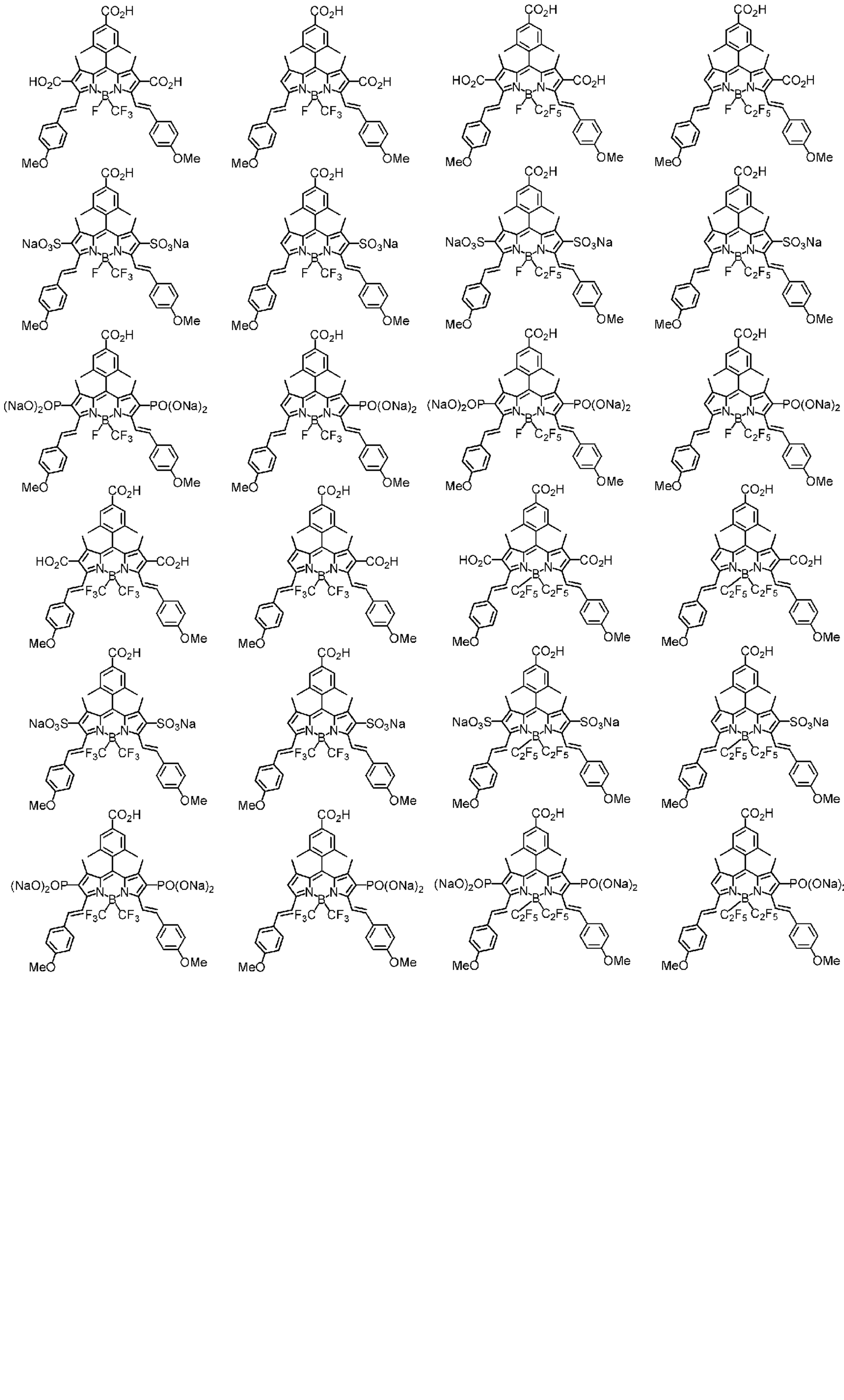
[0108]

[化69]



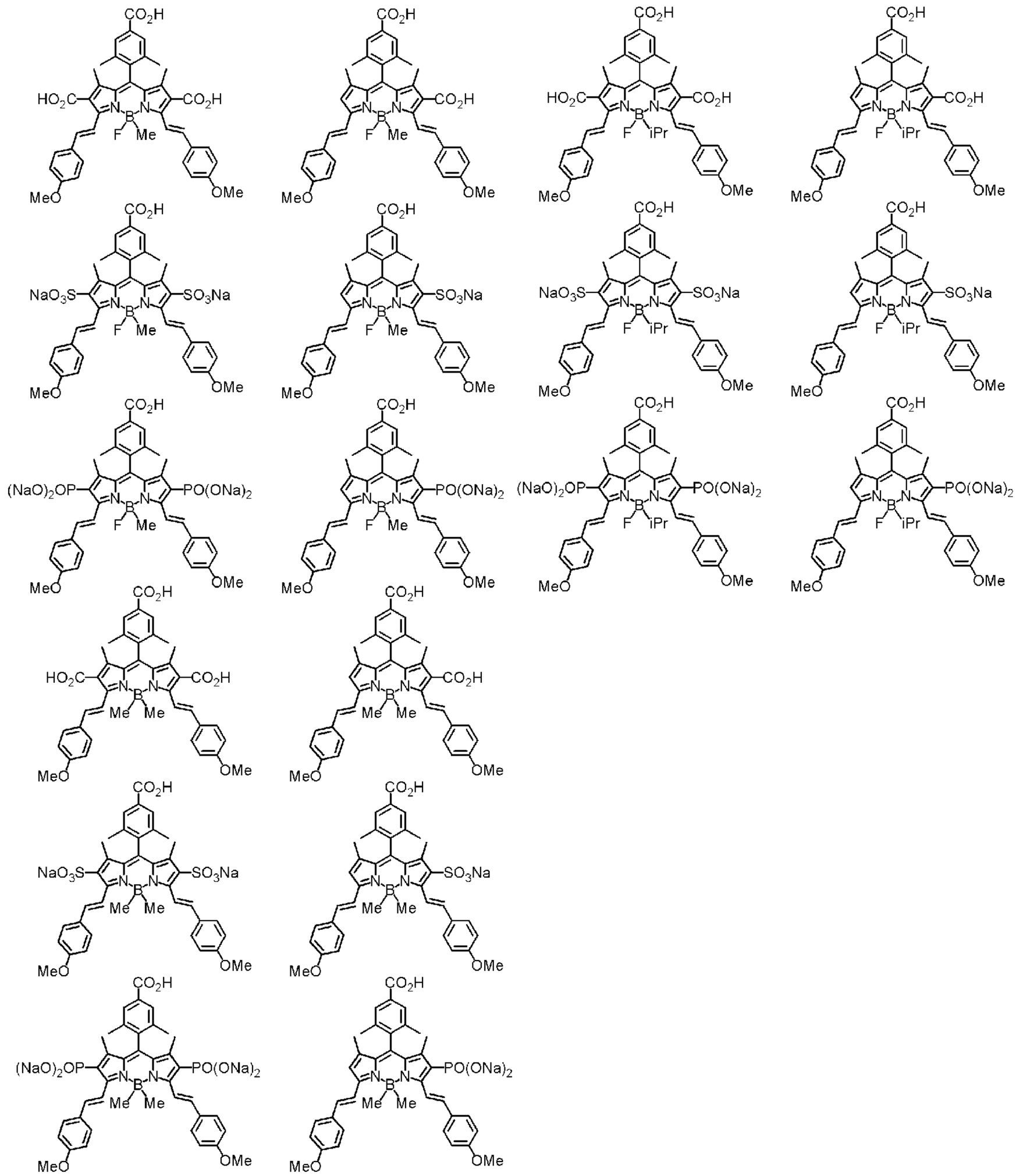
[0109]

[化70]



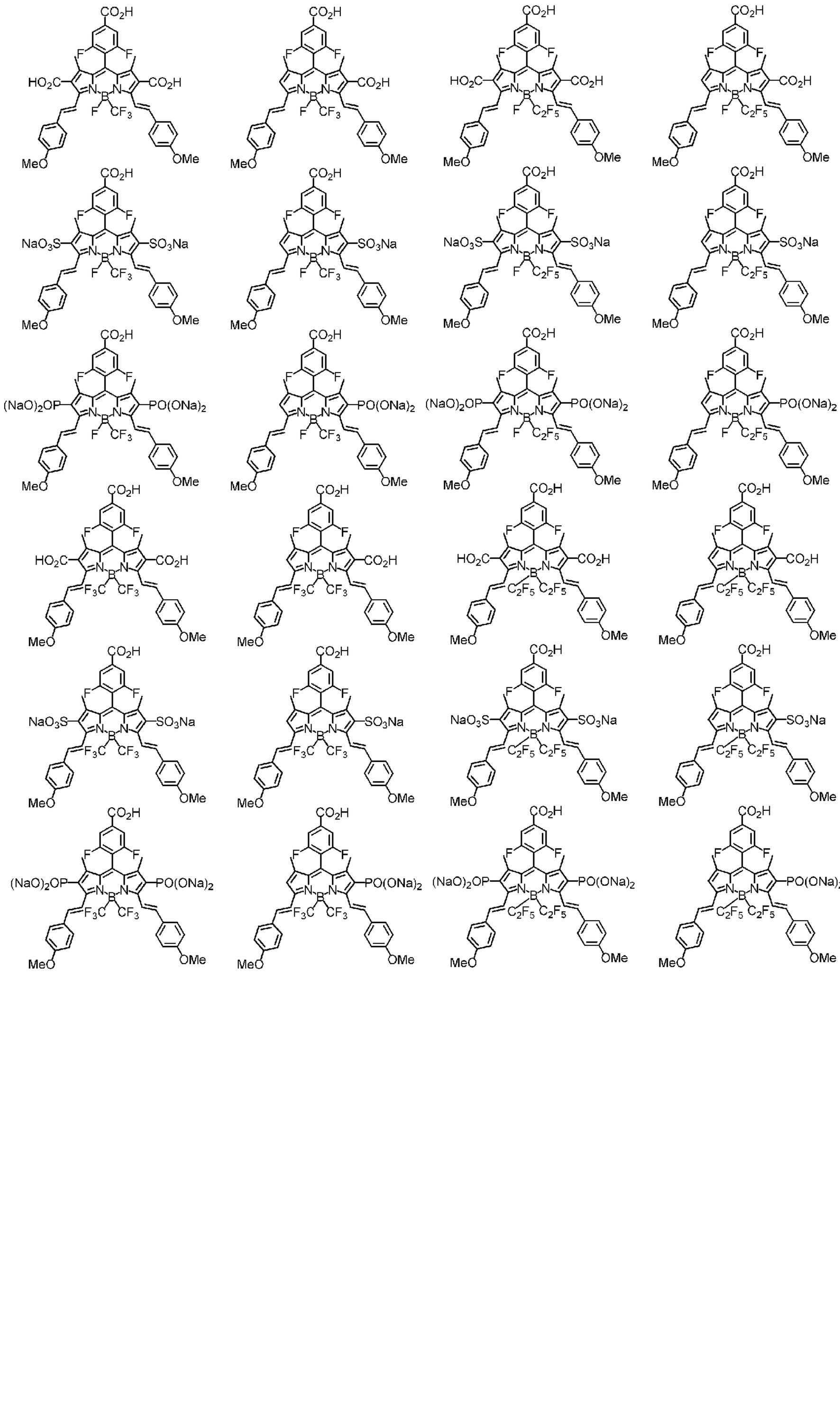
[0110]

[化71]



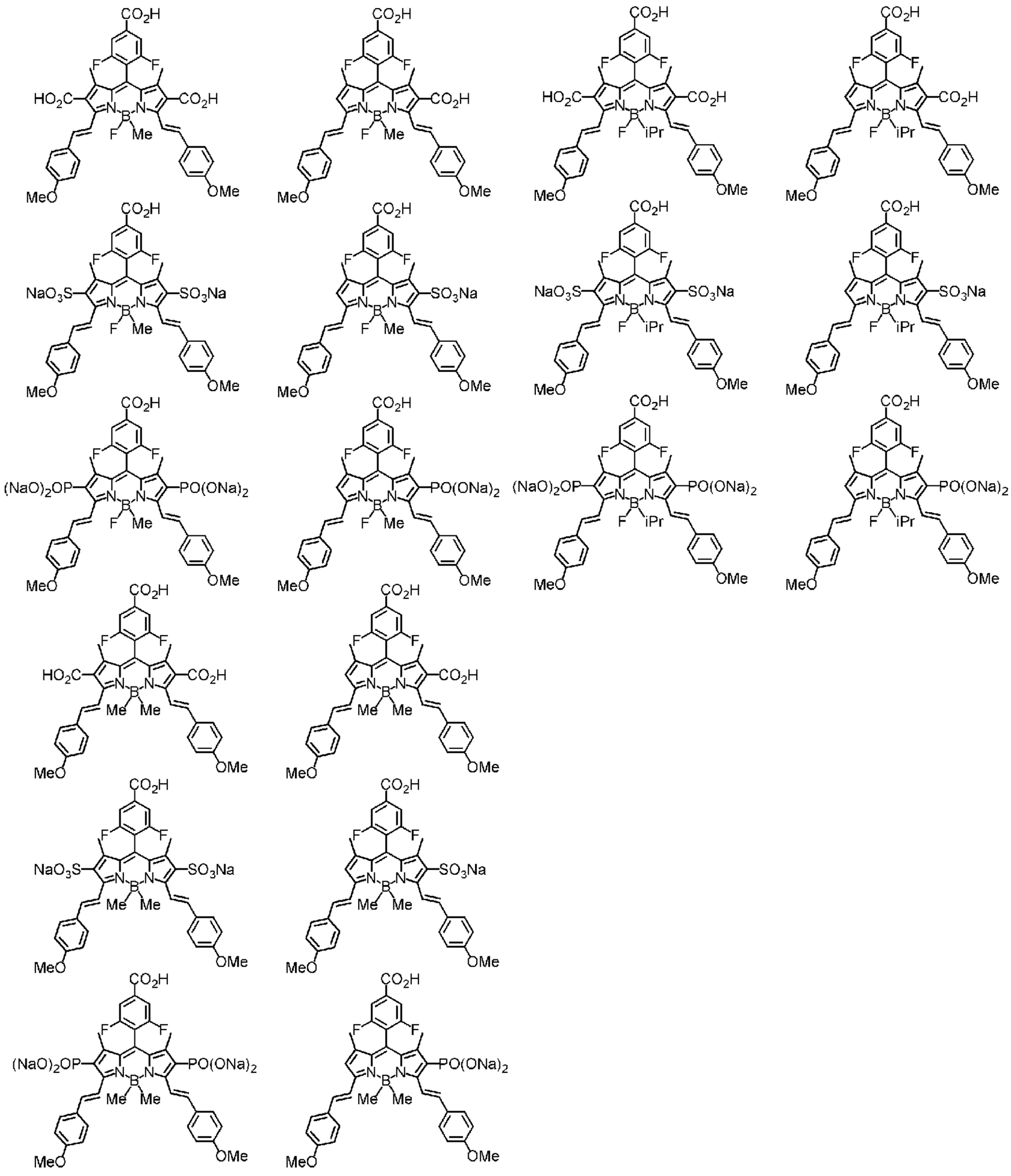
[0111]

[化72]



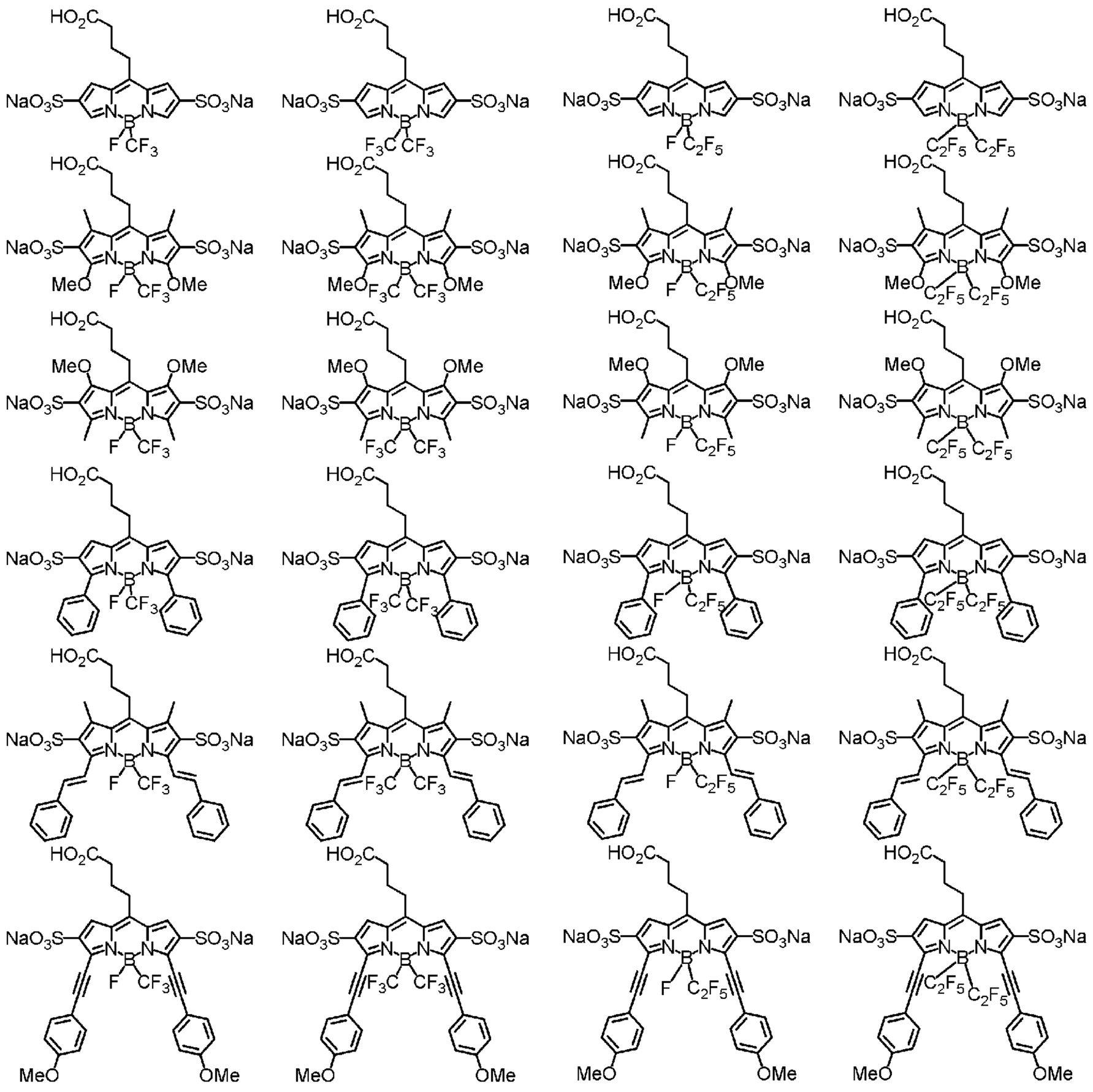
[0112]

[化73]



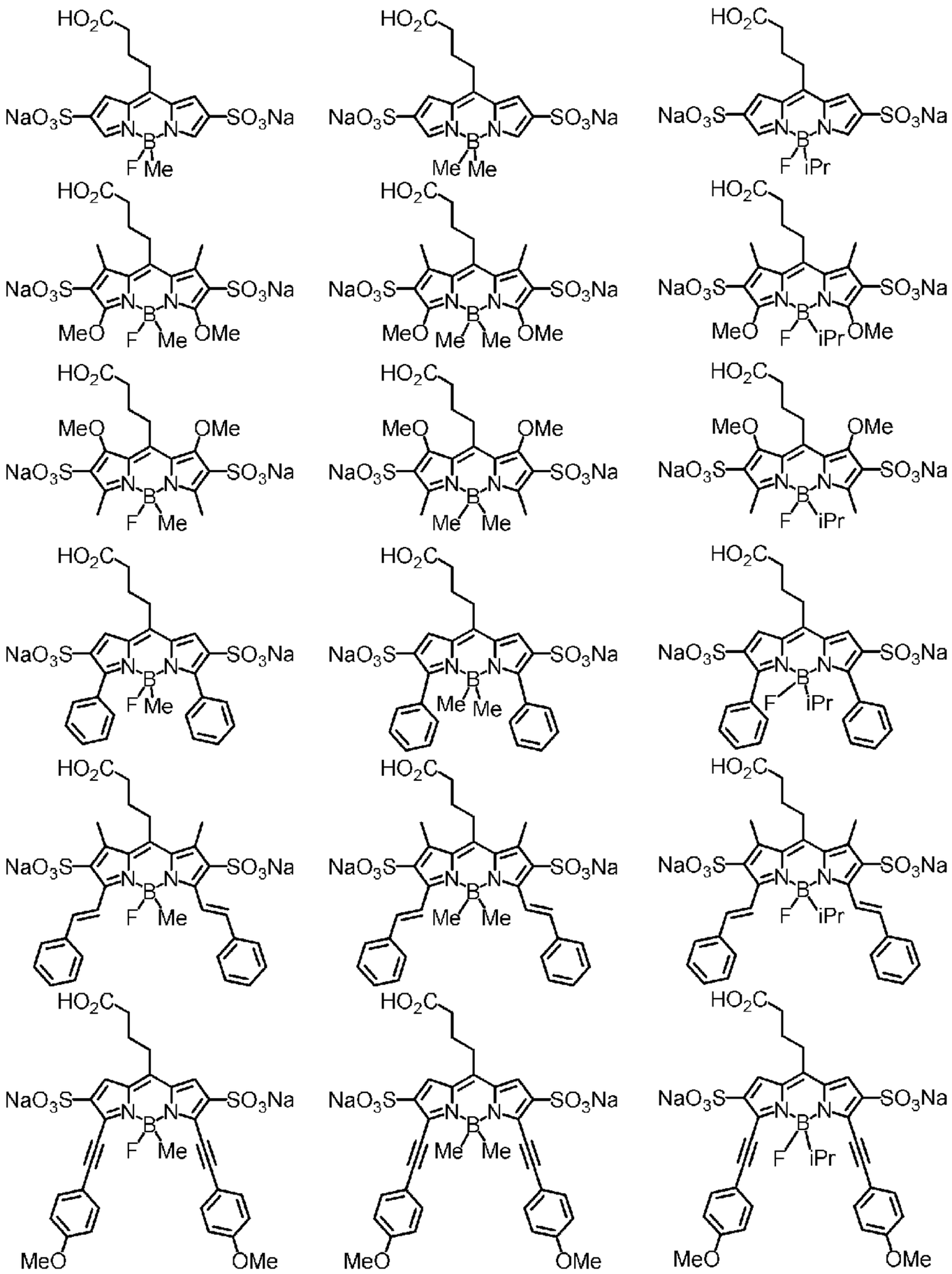
[0113]

[化74]



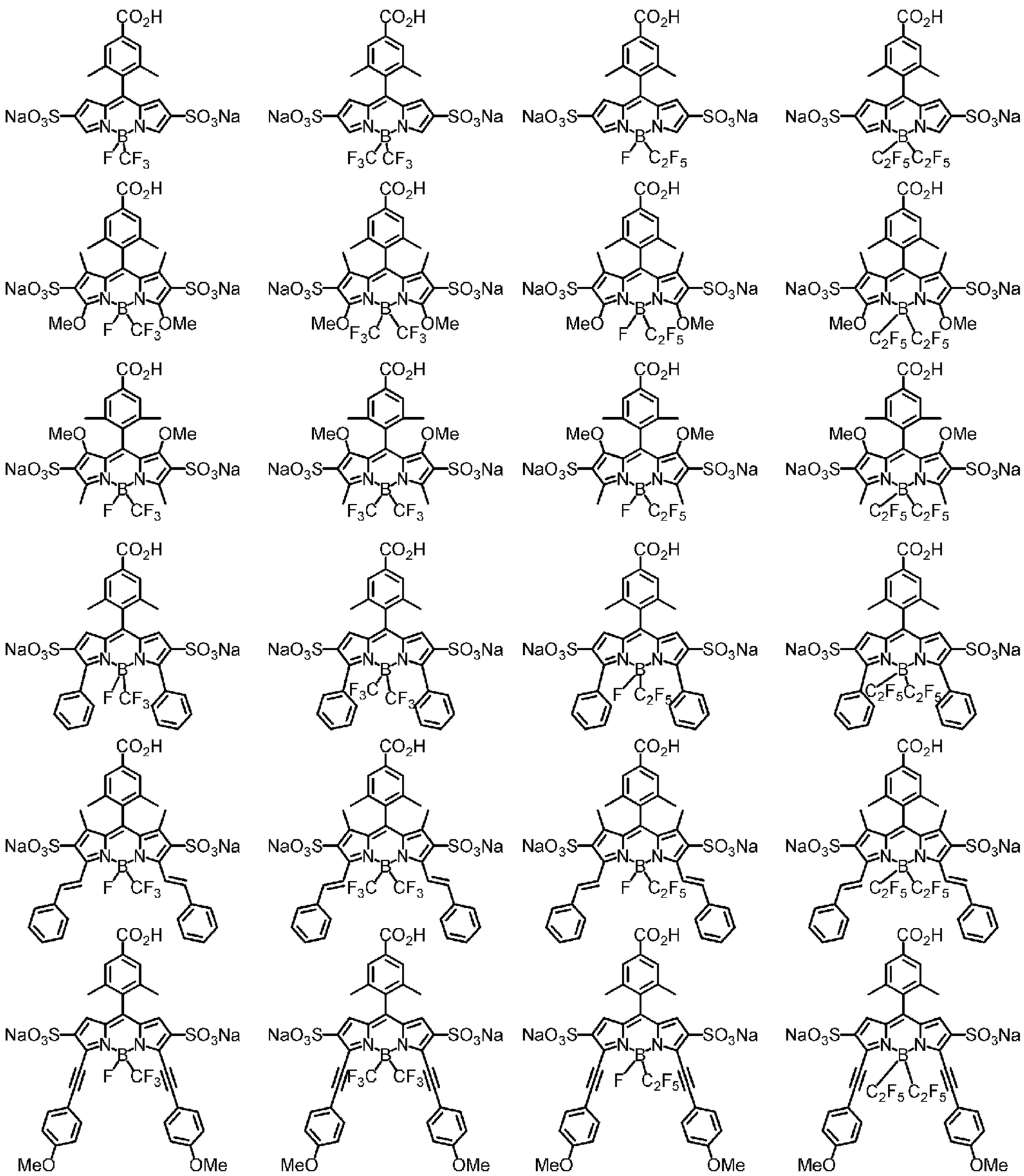
[0114]

[化75]



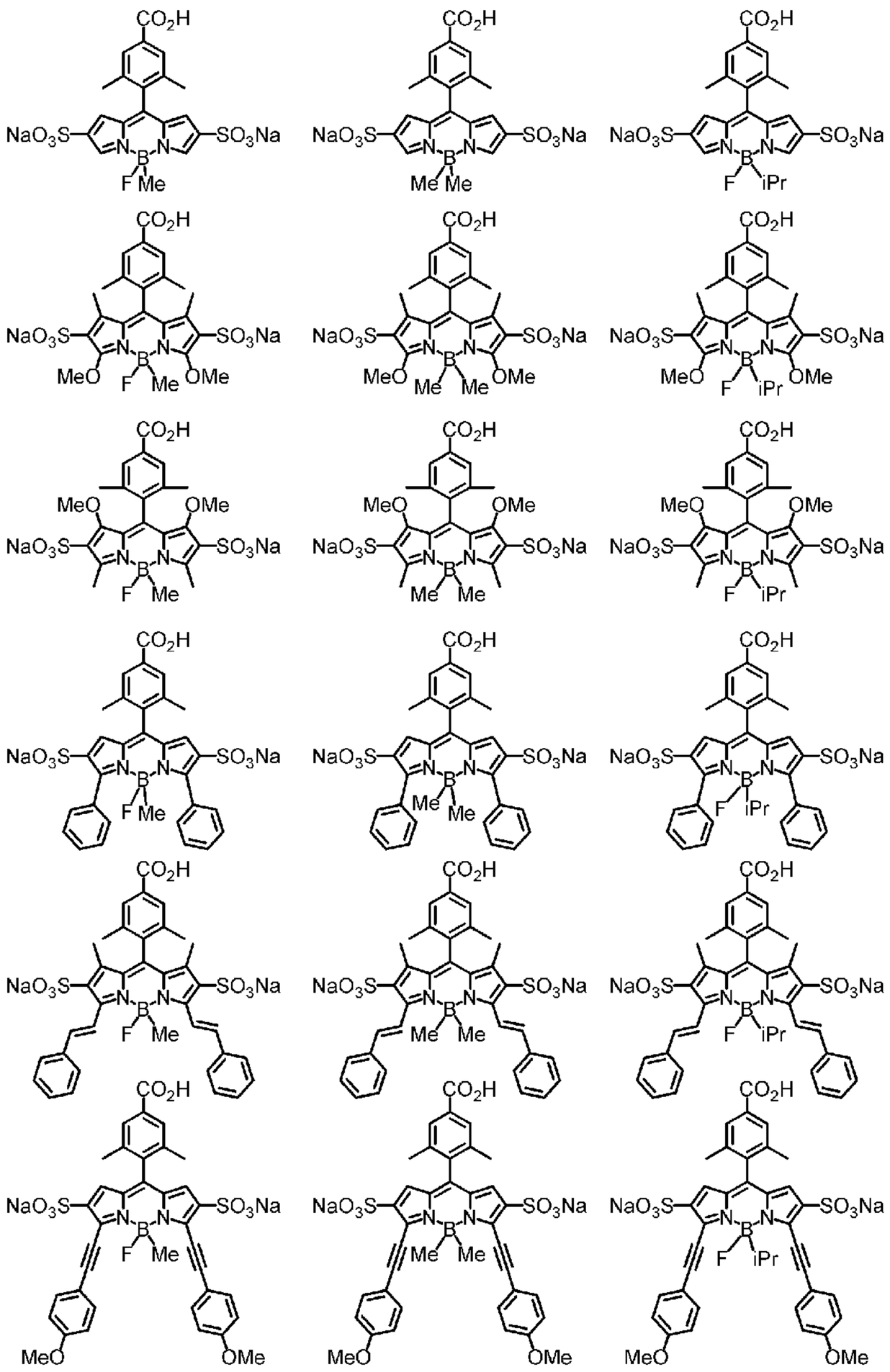
[0115]

[化76]



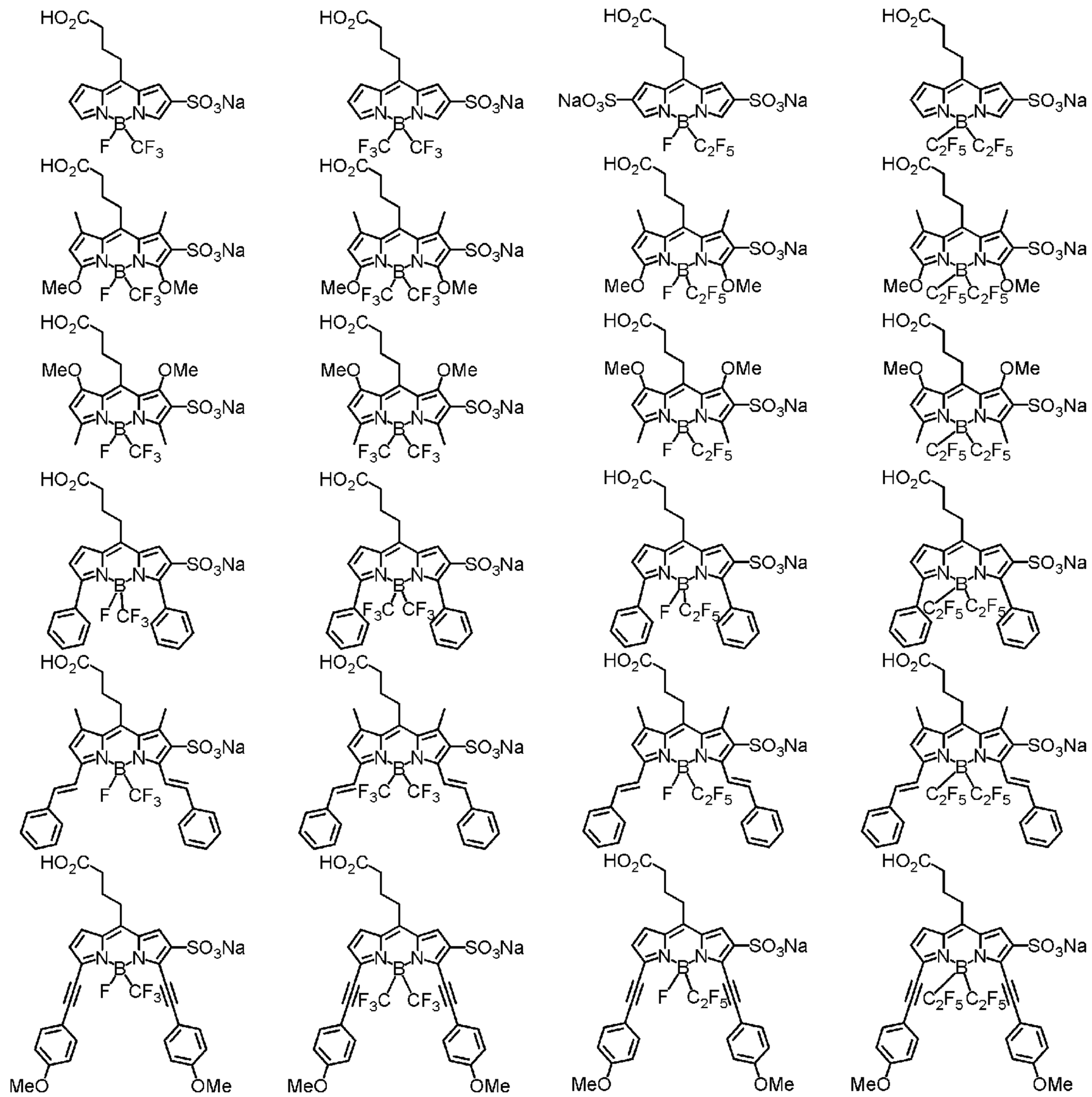
[0116]

[化77]



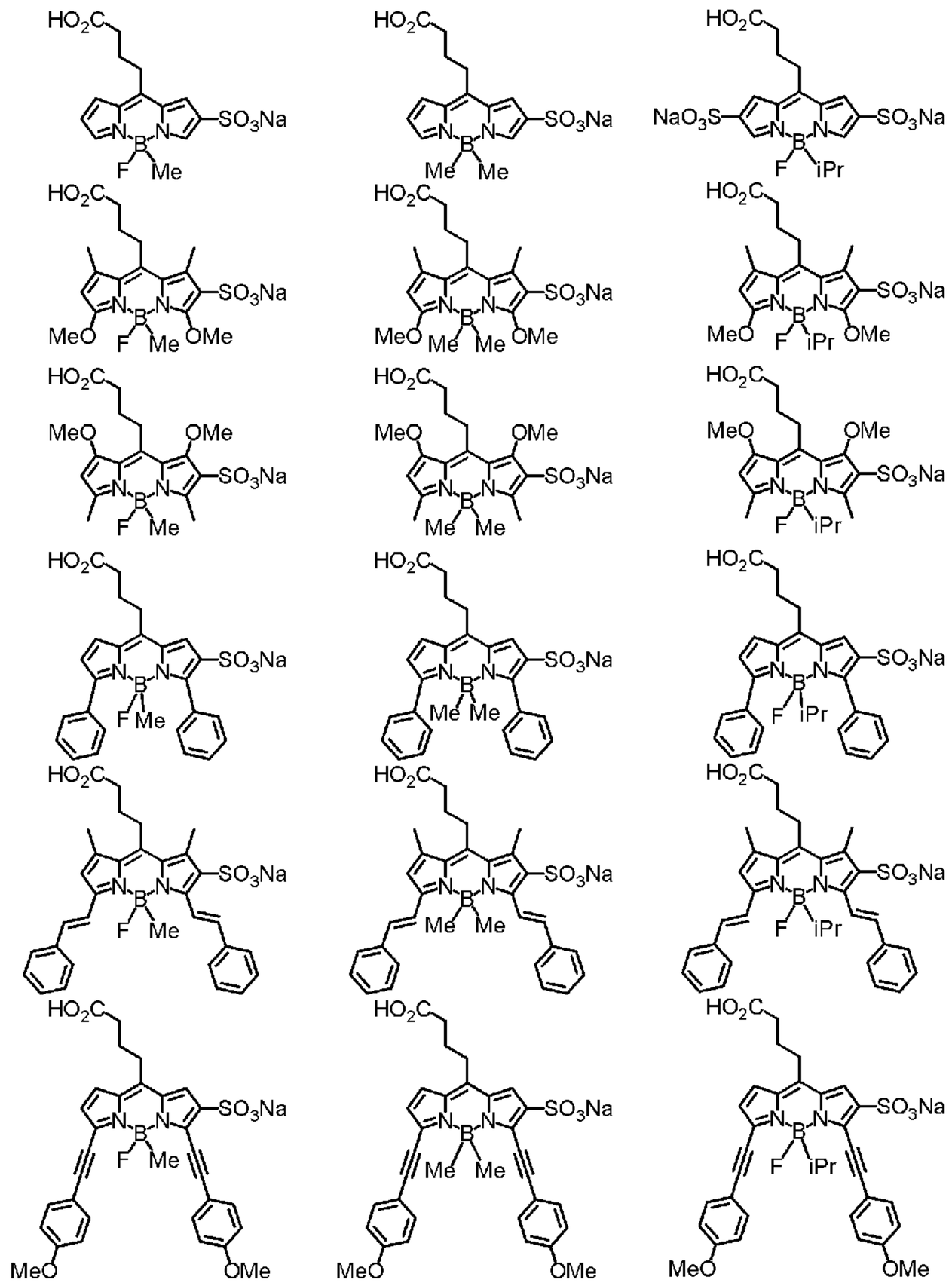
[0117]

[化78]



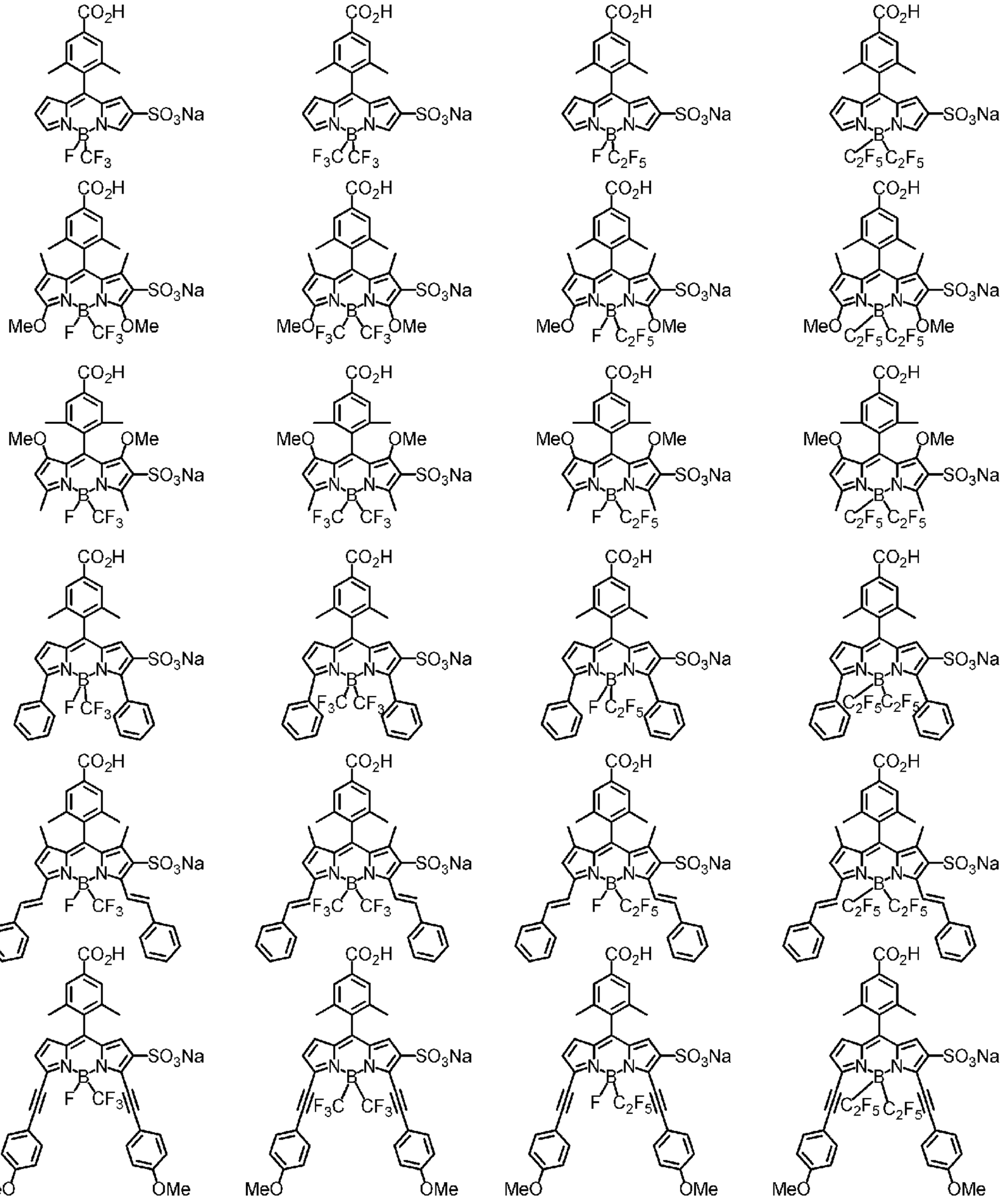
[0118]

[化79]



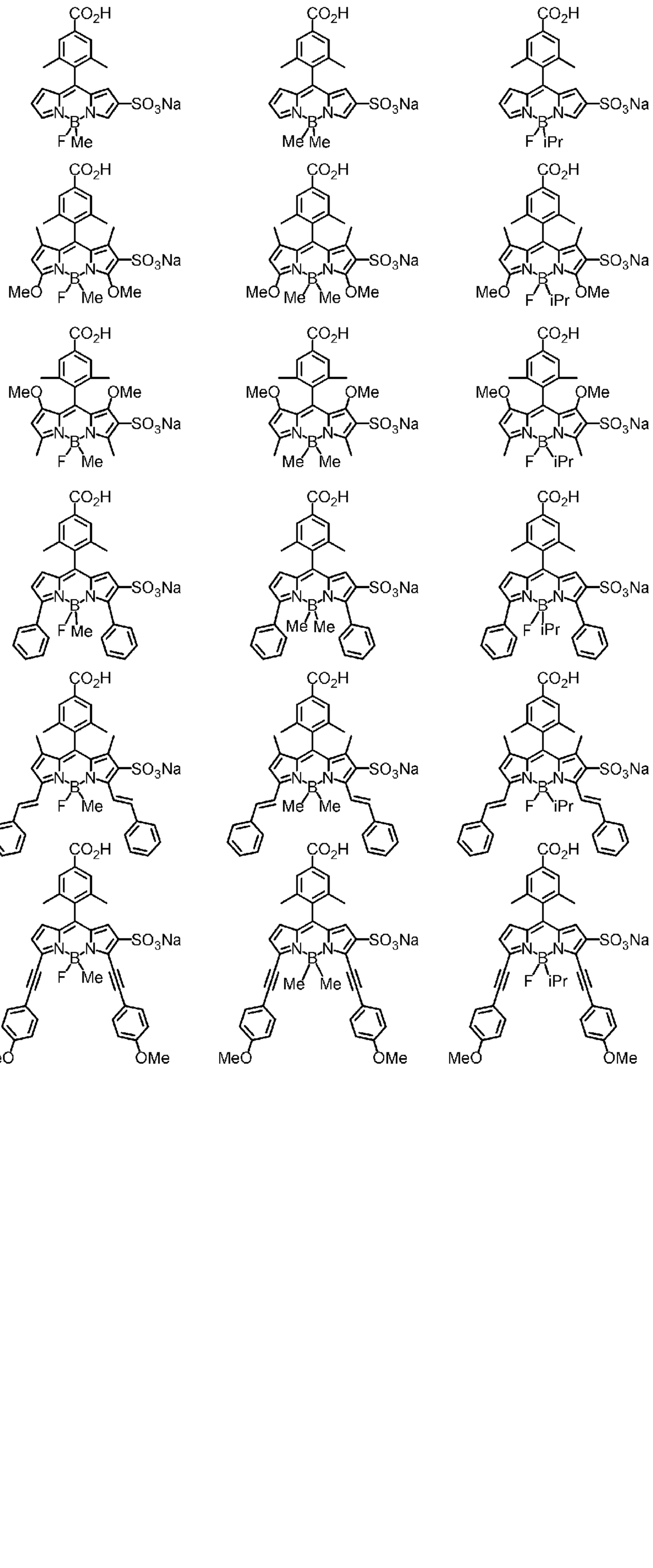
[0119]

[化80]



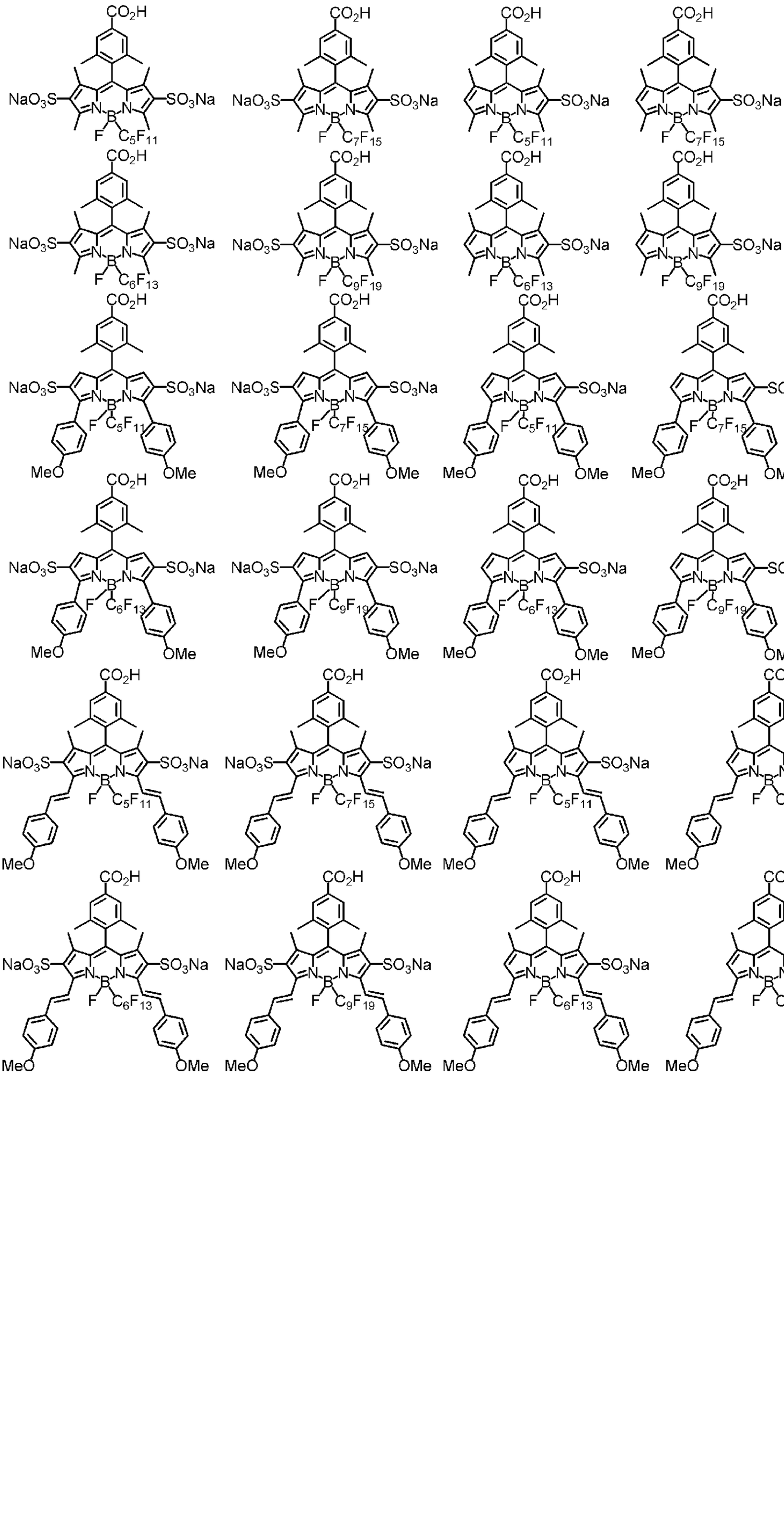
[0120]

[化81]



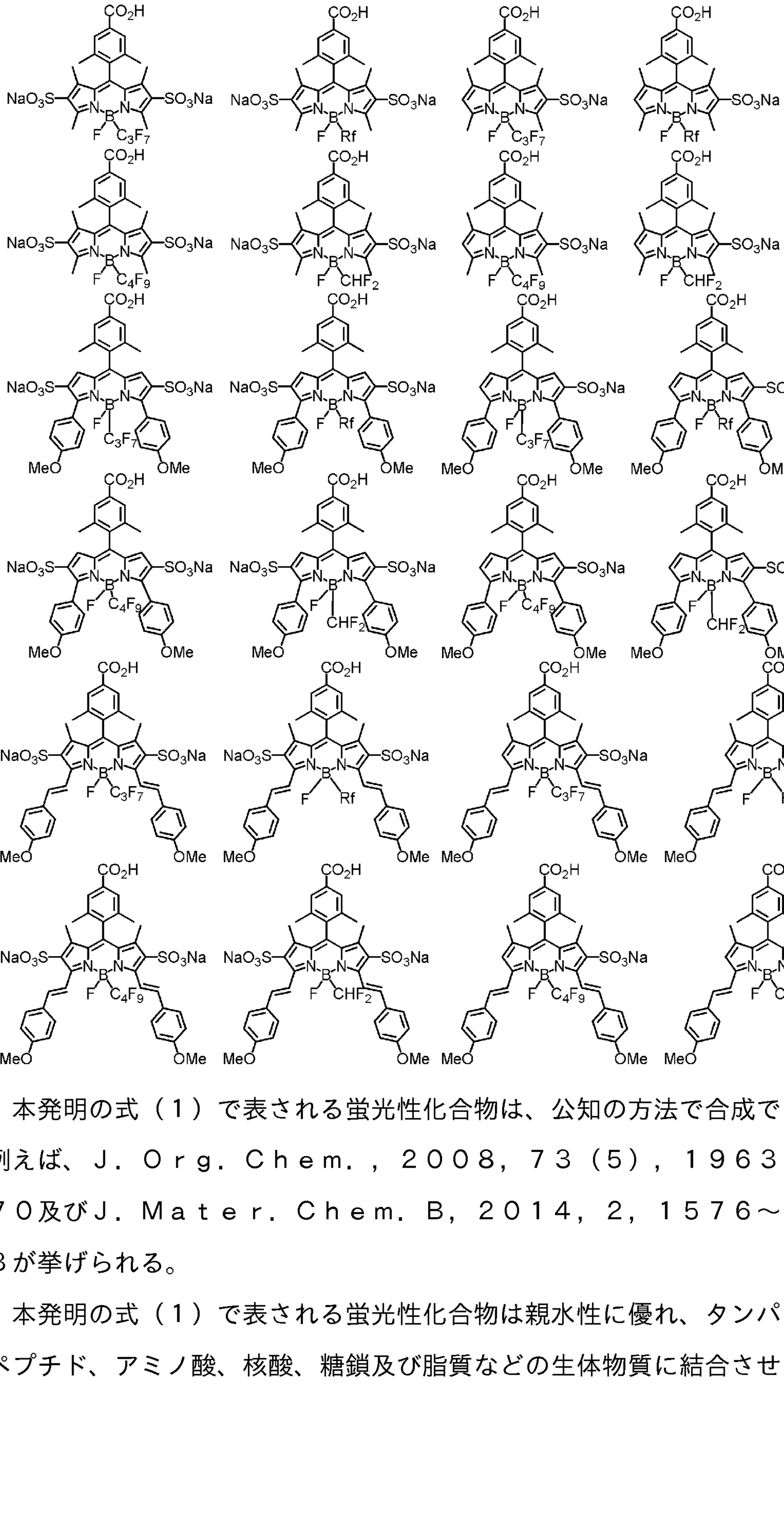
[0121]

[化82]



[0122]

[化83]



[0123] 本発明の式（１）で表される蛍光性化合物は、公知の方法で合成できる。例えば、Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，２００８，７３（５），１９６３～１９７０及びＪ．Ｍａｔｅｒ．Ｃｈｅｍ．Ｂ，２０１４，２，１５７６～１５８３が挙げられる。

[0124] 本発明の式（１）で表される蛍光性化合物は親水性に優れ、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、核酸、糖鎖及び脂質などの生体物質に結合させること

により、生体蛍光イメージング用試薬として使用することができる。

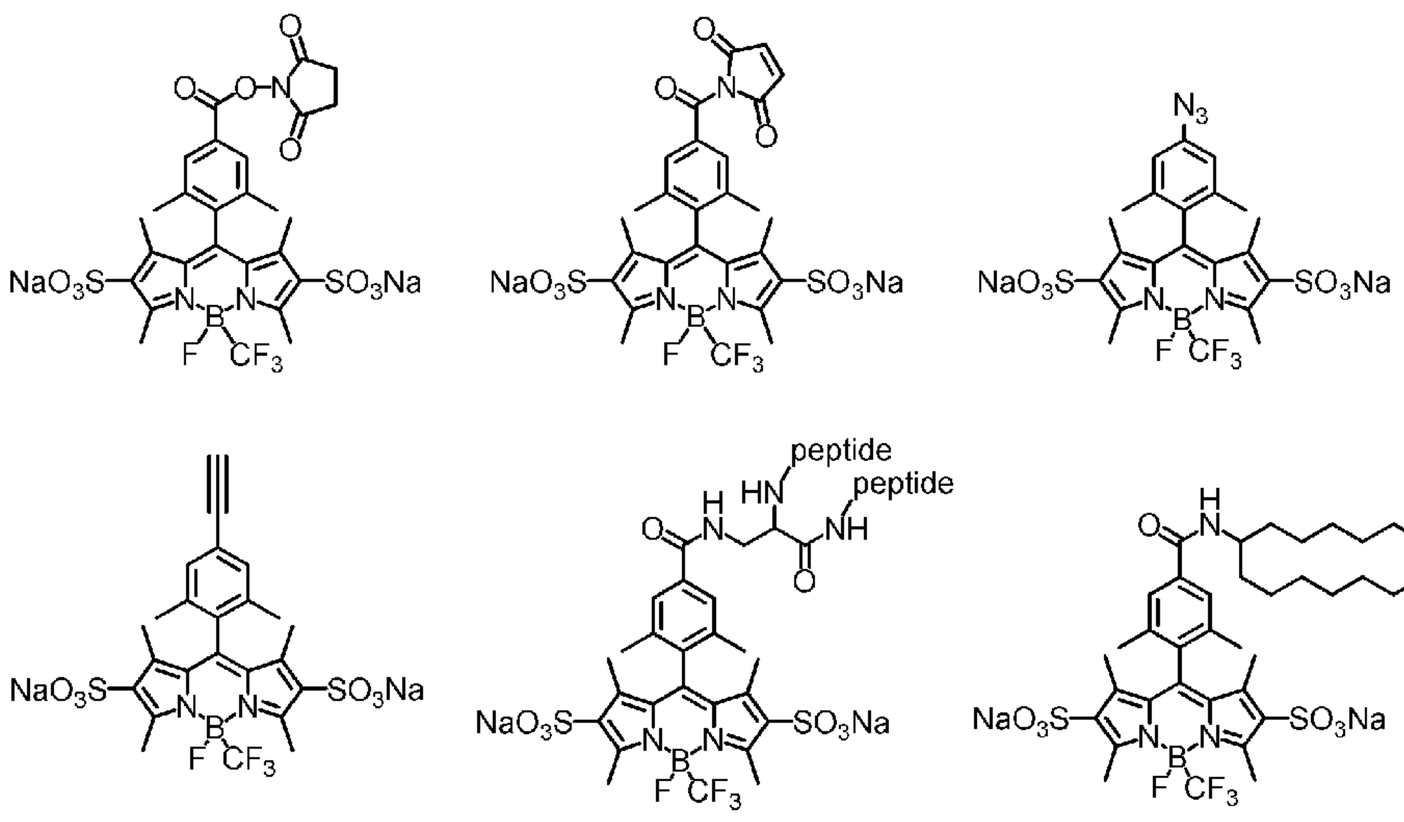
さらに、本発明の式（１）で表される蛍光性化合物は、この化合物を用いた蛍光標識生体物質についての生体組織中での優れた耐光性を付与でき、特に、$Q^1$及び$Q^2$の少なくとも１つがハロゲノアルキル基である場合には、水を含む水溶性溶媒（水溶性溶媒は酸素を比較的多く含む溶媒である）中においても優れた耐光性（化合物及び標識生体物質）を付与できる。そのため、従来の蛍光性化合物を用いた場合に比べ、長期間、高解像度で生体観察等することが可能となる。

すなわち、本発明の式（１）で表される蛍光性化合物は、生体物質との間で相互作用（物理吸着及び化学結合等）する基を有した化合物も包含され、このような形態は、本発明の蛍光性化合物を生体蛍光イメージング等の生体物質の蛍光標識に適用する点から特に好ましい。

具体的には、本発明の蛍光性化合物は、$R^1$～$R^7$、$Q^1$及び$Q^2$のうち少なくとも１つが、生体物質との結合性部位を有することが好ましく、結合性部位としては、例えば、下記蛍光標識生体物質で記載する部位が挙げられる。

[0125] 以下に、生体物質との間で相互作用する基を有した化合物の具体例を示すが、本発明はこれらの化合物に限定されない。下記具体例において、特定の親水性基Ｐｉ等の解離性の水素原子を有する基については、水素原子が解離して塩構造を採っていてもよい。

[0126] [化84]



[0127] 生体物質に作用（付着を含む）もしくは結合するための基を有した化合物は、公知の方法で合成できる。例えば、Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ（Ｔｈｉｒｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ、Ｇｒｅｇ Ｔ．Ｈｅｒｍａｎｓｏｎ著）を参照することができる。

[0128] ＜＜蛍光標識生体物質＞＞

本発明の蛍光標識生体物質（単に、標識生体物質とも称す。）は、本発明の式（１）で表される蛍光性化合物と生体物質とが結合した物質である。式（１）で表される蛍光性化合物と生体物質との結合は、式（１）で表される蛍光性化合物と生体物質とが直接結合した形態でもよいし、連結基を介して連結した形態でもよい。

[0129] 上記生体物質としては、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、核酸、糖鎖及び脂質が好ましく挙げられる。タンパク質としては抗体が好ましく挙げられ、脂質としてはリン脂質、脂肪酸及びステロールが好ましく挙げられる。本発明の式（１）で表される蛍光性化合物と抗体とが結合した標識生体物質は、標識抗体と称す。

上記生体物質のうち、臨床病理的に有用な物質としては、特に制限されるものではないが、例えば、Ｉｇ（Ｉｍｍｕｎｏｇｌｏｂｕｌｉｎ）Ｇ、ＩｇＭ、ＩｇＥ、ＩｇＡ、ＩｇＤ等の免疫グロブリン、補体、ＣＲＰ（Ｃ－ｒｅａｃｔｉｖｅ ｐｒｏｔｅｉｎ）．フェリチン、$\alpha_1$マイクログロブリン、$\beta_2$マイクログロブリン等の血漿タンパク及びそれらの抗体、α－フェトプロテイン、癌胎児抗原（ＣＥＡ）、前立線性酸性ホスファターゼ（ＰＡＰ）、ＣＡ（ｃａｒｂｏｈｙｄｒａｔｅ ａｎｔｉｇｅｎ）１９－９、ＣＡ－１２５等の腫瘍マーカー及びそれらの抗体、黄体化ホルモン（ＬＨ）、卵胞刺激ホルモン（ＦＳＨ）、ヒト繊毛性ゴナドトロビン（ｈＣＧ）、エストロゲン、インスリン等のホルモン類及びそれらの抗体、Ｂ型肝炎ウィルス（ＨＢＶ）関連抗原（ＨＢｓ、ＨＢｅ、ＨＢｃ）．ヒト免疫不全ウィルス（ＨＩＶ）、成人Ｔ細胞白血病（ＡＴＬ）等のウイルス感染関連物質及びそれらの抗体、等が挙げられる。

さらに、ジフテリア菌、ボツリヌス菌、マイコプラズマ、梅毒トレポネーマ等のバクテリア及びそれらの抗体、トキソプラズマ、トリコモナス、リーシュマニア、トリバノゾーマ、マラリア原虫等の原虫類及びそれらの抗体、ＥＬＭ３、ＨＭ１、ＫＨ２、ｖ６．５、ｖ１７．２、ｖ２６．２（由来マウス１２９、１２９／ＳＶ、Ｃ５７ＢＬ／６、ＢＡＬＢ／ｃ）等のＥＳ細胞（Ｅｍｂｒｙｏｎｉｃ　Ｓｔｅｍ　Ｃｅｌｌ）及びそれらの抗体、フェニトイン、フェノバルビタール等の抗てんかん薬、キニジン、ジゴキニシン等の心血管薬、テオフィリン等の抗喘息薬、クロラムフェニコール、ゲンタマイシン等の抗生物質等の薬物類及びそれらの抗体、その他の酵素、菌体外毒素（スチレリジンＯ等）及びそれらの抗体等も挙げられる。また、Ｆａｂ’２、Ｆａｂ、Ｆｖ等の抗体断片も用いる事ができる。

[0130] 本発明の式（１）で表される蛍光性化合物（以下、蛍光性化合物（１）とも略す。）と生体物質が相互作用して結合した具体的な形態としては、例えば、下記に記載する形態が挙げられる。

ｉ）蛍光性化合物（１）中のペプチドと生体物質中のペプチドとの非共有結合（例えば、水素結合、キレート形成を含むイオン結合）又は共有結合、

ｉｉ）蛍光性化合物（１）中の長鎖アルキル基と生体物質中の脂質二重膜及び脂質などとのファンデルワールス力、

ｉｉｉ）蛍光性化合物（１）中のＮＨＳエステル（Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル）と生体物質中のアミノ基との反応によるアミド結合、

ｉｖ）蛍光性化合物（１）中のマレイミド基と生体物質中のスルファニル基（－ＳＨ）との反応によるチオエーテル結合、

ｖ）蛍光性化合物（１）中のアジド基と生体物質中のアセチレン基とのＣｌｉｃｋ反応又は蛍光性化合物（１）中のアセチレン基と生体物質中のアジド基とのＣｌｉｃｋ反応によるトリアゾール環の形成、

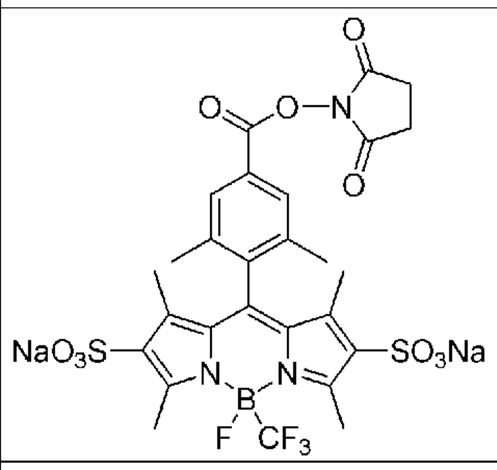
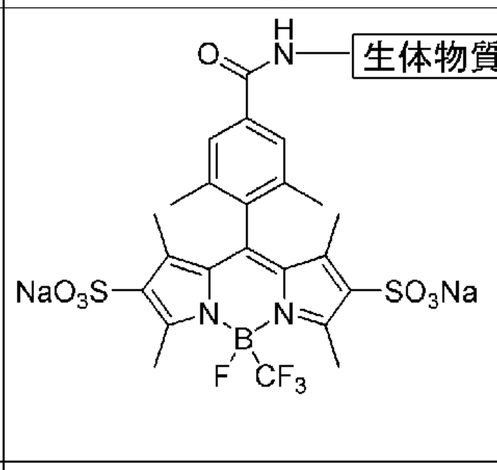
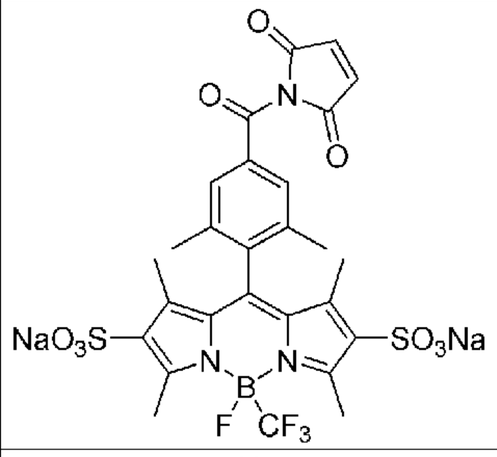
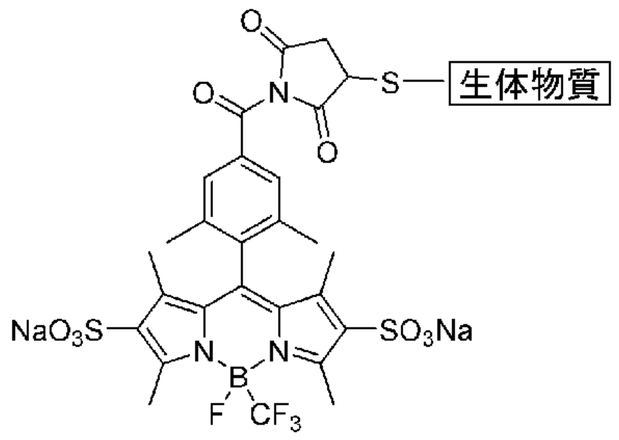
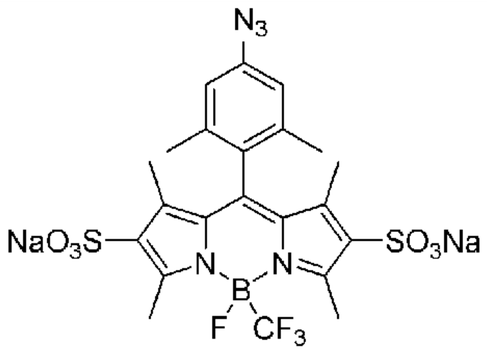
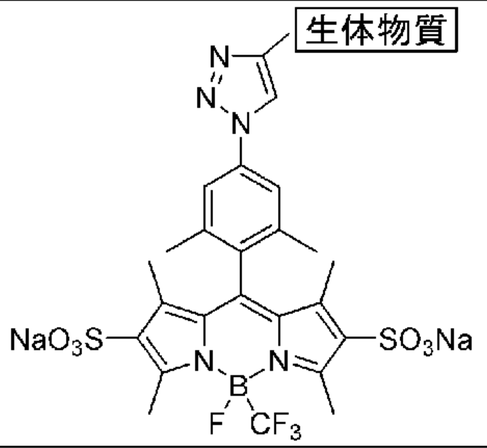
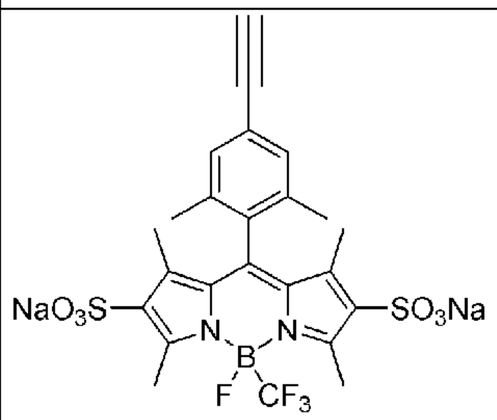
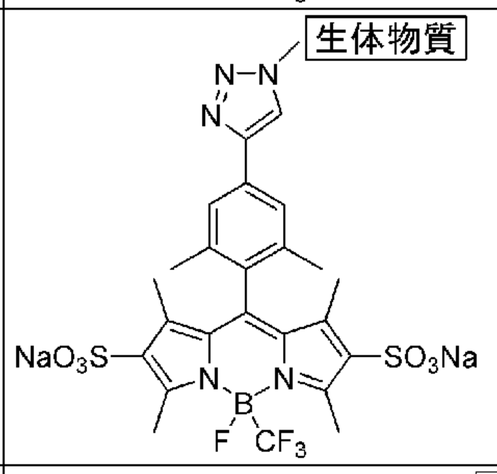
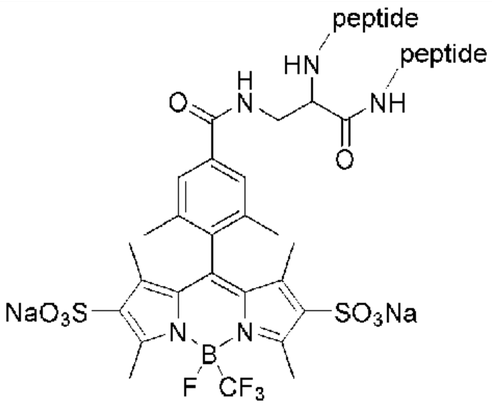
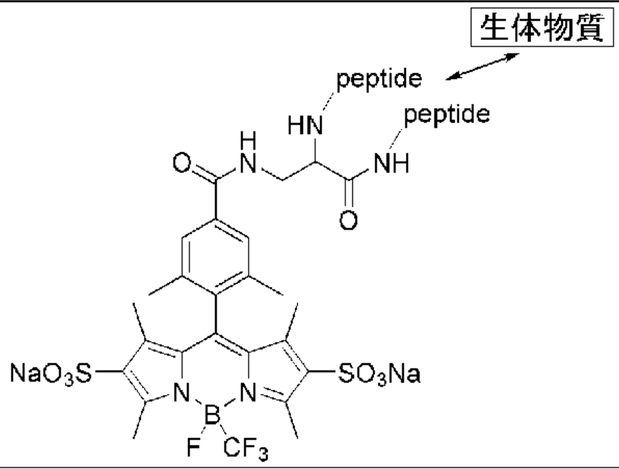
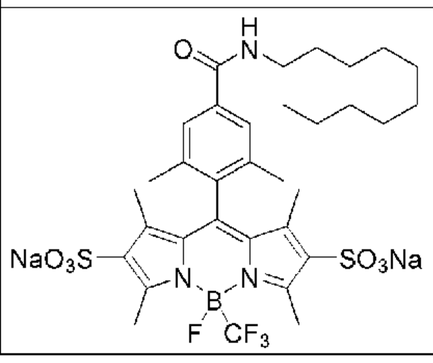
が挙げられる。

上記ｉ）～ｖ）の形態以外にも、例えば、Lucas C. D. de Rezende and Flavio da Silva Emery, A Review of the Synthetic Strategies for the Dev

elopment of BODIPY Dyes for Conjugation with Proteins, Orbital: The Electronic Journal of Chemistry, 2013, Vol 5, No. 1, p.62-83に記載の形態により結合することができる。また、本発明の蛍光標識生体物質の作製においても、同文献に記載の方法等を適宜参照することができる。

[0131]

[化85]

| 蛍光性化合物中の反応性基 | 蛍光性化合物例 | 生体物質中の反応性基 | 生成物（結合様式） |
|---|---|---|---|
| ＮＨＳエステル |  | アミノ基（抗体など） |  |
| マレイミド |  | スルファニル基（抗体など） |  |
| アジド |  | アセチレン基（Click反応） |  |
| アセチレン |  | アジド基（Click反応） |  |
| ペプチド（ポリアミノ酸） |  | ペプチド結合部位（抗体など様々） |  |
| 長鎖アルキル |  | 脂質二重膜リン脂質など | ファンデルワールス力 |

[0132] 本発明の蛍光標識生体物質は、標識生体物質の生体組織中での耐光性に優れ、更に親水性にも優れる。また、本発明の蛍光標識生体物質のうち、$Q^1$及び$Q^2$の少なくとも１つがハロゲノアルキル基である場合には、標識生体物質の生体組織中での優れた耐光性に加え、水を含む水溶性溶媒（水溶性溶媒は酸素を比較的多く含む溶媒である）中においても、化合物及び標識生体物質は耐光性に優れる。そのため、従来のＢＯＤＩＰＹ（登録商標）化合物等のジピロメテンホウ素錯体構造を有する蛍光標識生体物質を用いた場合に比べ、長期間、高解像度で生体観察等することが可能となる。また、本発明の蛍光標識生体物質のうち、$Q^1$及び$Q^2$の少なくとも１つがハロゲノアルキル基である場合には、生理食塩水及びリン酸緩衝液等の水系媒体に溶解した溶液形態における化合物及び標識生体物質の耐光性に優れるため、溶液形態での保存性にも優れる。

[0133] ＜蛍光標識生体物質を含む試薬＞

本発明の蛍光標識生体物質を含む試薬において、本発明の蛍光標識生体物質は、例えば、生理食塩水及びリン酸緩衝液等の水系媒体に溶解した溶液形態、並びに、微粒子状粉末及び凍結乾燥粉末等の固形形態等、特に制限されることなく、使用目的等に応じてその形態を適宜選択することができる。

例えば、下記生体蛍光イメージング試薬として本発明の蛍光標識生体物質を用いる場合に、上記いずれかの形態の蛍光標識生体物質を含む試薬として使用することもできる。

[0134] ＜蛍光標識生体物質の用途＞

本発明の式（１）で表される蛍光性化合物から得られる本発明の蛍光標識生体物質は、光照射により励起された蛍光性化合物から放出される蛍光を安定的に検出することができる。しかも、生体蛍光イメージング試薬としての使用に求められる十分な親水性を備える。このため、本発明の蛍光標識生体物質は、例えば、生体蛍光イメージング試薬として好適である。

本発明の蛍光標識生体物質を蛍光色素として使用して染色した細胞は、褪色が高度に抑制されることにより、長時間に亘り蛍光強度を維持することが

できる。このため、本発明の蛍光標識生体物質は、タイムラプス測定による顕微鏡観察等の長期に亘る生体物質の観察、共焦点レーザー顕微鏡等の高解像度顕微鏡又はＳＴＥＤ顕微鏡（誘導放出抑制顕微鏡）等の超解像顕微鏡を用いた生体物質の観察などの、優れた耐光性が求められる生体蛍光イメージングにより好適に用いることができる。

[0135] 本発明の蛍光標識生体物質を用いた生体蛍光イメージングは、以下（ｉ）～（ｉｉｉ）の工程を含む。

（ｉ）標的とする生体物質（以下、「標的生体物質」と称す。）と、標的生体物質に結合可能な生体物質と本発明の蛍光性化合物とが結合した本発明の蛍光標識生体物質と、を用意する工程

（ｉｉ）標的生体物質と本発明の蛍光標識生体物質とを結合させる工程

（ｉｉｉ）本発明の蛍光標識生体と標的生体物質とが結合した物質に、本発明の蛍光標識生体が吸収する波長域の光を照射し、本発明の蛍光標識生体が発する蛍光を検出する工程

[0136] 上記生体蛍光イメージングにおいて、標的生体物質に結合可能な生体物質としては、上記本発明の蛍光標識生体物質における生体物質が挙げられる。標的生体物質（被検体）にあわせて適宜選択することができ、被検体に対して特異的に結合可能な生体物質を選択することができる。

[0137] 上記標的生体物質のうちタンパク質としては、いわゆる疾患マーカーが挙げられる。疾患マーカーとしては、特に制限はされるものではないが、例えば、α－フェトプロテイン（ＡＦＰ）、ＰＩＶＫＡ－ＩＩ（ｐｒｏｔｅｉｎ ｉｎｄｕｃｅｄ ｂｙ ｖｉｔａｍｉｎ Ｋ ａｂｓｅｎｃｅ ｏｒ ａｎｔａｇｏｎｉｓｔ ＩＩ）、ＢＣＡ（ｂｒｅａｓｔ ｃａｒｃｉｎｏｍａ－ａｓｓｏｃｉａｔｅｄ ａｎｔｉｇｅｎ）２２５、塩基性フェトプロテイン（ＢＦＰ）、ＣＡ（ｃａｒｂｏｈｙｄｒａｔｅ ａｎｔｉｇｅｎ）１５－３、ＣＡ１９－９、ＣＡ７２－４、ＣＡ１２５、ＣＡ１３０、ＣＡ６０２、ＣＡ５４／６１（ＣＡ５４６）、癌胎児性抗原（ＣＥＡ）、ＤＵＰＡＮ－２、エラスターゼ１、免疫抑制酸性タンパク（ＩＡＰ）、ＮＣＣ－ＳＴ－４３

９、γ－セミノプロテイン（γ－Ｓｍ）、前立腺特異抗原（ＰＳＡ）、前立腺酸性フォスファターゼ（ＰＡＰ）、神経特異エノラーゼ（ＮＳＥ）、Ｉｂａ１、アミロイドβ、タウ、扁平上皮癌関連抗原（ＳＣＣ抗原）、シアリルＬｅＸ－ｉ抗原（ＳＬＸ）、ＳＰａｎ－１、組織ポリペプタイド抗原（ＴＰＡ）、シリアルＴｎ抗原（ＳＴＮ）、シフラ（ｃｙｔｏｋｅｒａｔｉｎ：ＣＹＦＲＡ）ペプシノゲン（ＰＧ）、Ｃ－反応性タンパク（ＣＲＰ）、血清アミロイドＡタンパク（ＳＡＡ）、ミオグロビン、クレアチンキナーゼ（ＣＫ）、トロポニンＴ、心室筋ミオシン軽鎖Ｉ等が挙げられる。

[0138] 上記標的生体物質のうち細菌としては、細胞微生物学的検査の対象とされる細菌が挙げられ、特に制限されるものではないが、例えば、大腸菌、サルモネラ菌、レジオネラ菌、公衆衛生に問題を生じる菌等が挙げられる。

[0139] 上記標的生体物質のうちウイルスとしては、特に制限されるものではないが、例えば、Ｃ型、Ｂ型肝炎ウイルスの抗原等の肝炎ウイルス抗原、ＨＩＶウイルスのｐ２４タンパク抗原、ＣＭＶ（サイトメガロウイルス）のｐｐ６５タンパク抗原、ＨＰＶ（パピローマウイルス）のＥ６及びＥ７タンパク等が挙げられる。

[0140] 上記（ｉ）において、標的生体物質は、特に制限されることなく、常法に従って調製することができる。

また、本発明の蛍光標識生体物質も、特に制限されることなく、標的生体物質に結合可能な生体物質と本発明の蛍光性化合物とを常法に従って結合させて調製することができる。結合の形態及び結合を形成する反応としては、上記本発明の蛍光標識生体物質で記載する相互作用により結合する形態及び反応を挙げることができる。

[0141] 上記（ｉｉ）において、本発明の蛍光標識生体物質と標的生体物質とは、直接結合させても、本発明の蛍光標識生体物質及び標的生体物質とは異なるその他の生体物質を介して結合させてもよい。本発明の蛍光標識生体物質を用いた生体蛍光イメージングは特に限定されないが、例えば、蛍光細胞染色を挙げることができる。蛍光細胞染色には、一次抗体として蛍光標識抗体を

用いる直接法、蛍光標識抗体としての二次抗体を一次抗体と反応させて用いる間接法とがある。本発明の蛍光標識生体物質は、直接法及び間接法のいずれにおける蛍光標識抗体としても用いることができるが、間接法における蛍光標識抗体として用いることが好ましい。

本発明の蛍光標識生体物質と標的生体物質との結合は、特に制限されることなく、常法に従って行うことができる。

[0142] 上記（ｉｉｉ）において、本発明の蛍光標識生体を励起するための波長は、本発明の蛍光標識生体を励起可能な発光波長（波長光）であれば特に限定されない。通常、３００～１０００ｎｍが好ましく、４００～８００ｎｍがより好ましい。

[0143] 本発明に用いられる蛍光励起光源としては、本発明の蛍光標識生体を励起可能な発光波長（波長光）を発光するものであれば特に限定されず、各種レーザー光源を用いることができる。例えば、Ｈｅ－Ｎｅレーザー、$CO_2$レーザー、Ａｒイオンレーザー、Ｋｒイオンレーザー、Ｈｅ－Ｃｄレーザー、エキシマレーザー、窒素レーザー等の気体レーザー、ルビーレーザー、イットリウム－アルミニウム－ガーネット（ＹＡＧ）レーザー、ガラスレーザー等の固体レーザー、色素レーザー、半導体レーザー等が挙げられる。また、各種光学フィルターを用いて、好ましい励起波長を得たり、蛍光のみを検出したりする事ができる。

[0144] 上記（ｉ）～（ｉｉｉ）におけるその他の事項については、特に制限されることなく、通常用いられる手法、試薬、装置等の条件と適宜選択することができる。

[0145] 本発明の蛍光標識生体物質を用いた生体蛍光イメージングは、本発明の蛍光標識生体と標的生体物質とが結合した物質の褪色が高度に抑制されることにより、長期に亘り蛍光強度を維持して生体物質を観察することができ、また、高解像度顕微鏡、超解像度顕微鏡を用いた場合にも蛍光強度を維持した観察を行うことができる。

[0146] また、本発明の蛍光標識生体物質は、上記の他、染色細胞の長期保存等に

おいても、適宜保存条件を調整して好適に用いることができる。

[0147] －　置換基群Ｔ　－

本発明において、好ましい置換基としては、下記置換基群Ｔから選ばれる置換基が挙げられる。

また、本明細書において、単に置換基としてしか記載されていない場合は、この置換基群Ｔを参照するものであり、各々の基、例えば、アルキル基、が記載されているのみの場合は、この置換基群Ｔの対応する基が好ましく適用される。

さらに、本明細書において、アルキル基を環状（シクロ）アルキル基と区別して記載している場合、アルキル基は、直鎖アルキル基及び分岐アルキル基を包含する意味で用いる。一方、アルキル基を環状アルキル基と区別して記載していない場合、及び、特段の断りがない場合、アルキル基は、直鎖アルキル基、分岐アルキル基及びシクロアルキル基を包含する意味で用いる。このことは、環状構造を採りうる基（アルキル基、アルケニル基、アルキニル基等）を含む基（アルコキシ基、アルキルチオ基、アルケニルオキシ基等）、環状構造を採りうる基を含む化合物についても同様である。基が環状骨格を形成しうる場合、環状骨格を形成する基の原子数の下限は、この構造を採りうる基について下記に具体的に記載した原子数の下限にかかわらず、３以上であり、５以上が好ましい。

下記置換基群Ｔの説明においては、例えば、アルキル基とシクロアルキル基のように、直鎖又は分岐構造の基と環状構造の基とを明確にするため、これらを分けて記載していることもある。

[0148] 置換基群Ｔに含まれる基としては、下記の基を含む。

アルキル基（好ましくは炭素数１～３０、より好ましくは炭素数１～２０、さらに好ましくは炭素数１～１２、さらに好ましくは炭素数１～８、さらに好ましくは炭素数１～６、特に好ましくは炭素数１～３）、アルケニル基（好ましくは炭素数２～３０、より好ましくは炭素数２～２０、さらに好ましくは炭素数２～１２、さらに好ましくは炭素数２～６、さらに好ましくは

炭素数２～４）、アルキニル基（好ましくは炭素数２～３０、より好ましくは炭素数２～２０、さらに好ましくは炭素数２～１２、さらに好ましくは炭素数２～６、さらに好ましくは炭素数２～４）、シクロアルキル基（好ましくは炭素数３～２０）、シクロアルケニル基（好ましくは炭素数５～２０）、アリール基（単環の基であってもよく、縮環の基（好ましくは２～６環の縮環の基）であってもよい。縮環の基である場合、５～７員環等からなる。アリール基は好ましくは炭素数６～４０、より好ましくは炭素数６～３０、さらに好ましくは炭素数６～２６、特に好ましくは炭素数６～１０）、ヘテロ環基（環構成原子として少なくとも１つの窒素原子、酸素原子、硫黄原子、リン原子、ケイ素原子又はセレン原子を有し、単環の基であってもよく、縮環の基（好ましくは２～６環の縮環の基）であってもよい。単環の基である場合、その環員数は５～７員が好ましく、５員又は６員がより好ましい。ヘテロ環基の炭素数は好ましくは２～４０、より好ましくは２～２０である。ヘテロ環基は芳香族ヘテロ環基（ヘテロアリール基）及び脂肪族ヘテロ環基（脂肪族複素環基）が包含される。）、アルコキシ基（好ましくは炭素数１～２０、より好ましくは炭素数１～１２）、アルケニルオキシ基（好ましくは炭素数２～２０、より好ましくは炭素数２～１２）、アルキニルオキシ基（好ましくは炭素数２～２０、より好ましくは炭素数２～１２）、シクロアルキルオキシ基（好ましくは炭素数３～２０）、アリールオキシ基（好ましくは炭素数６～４０、より好ましくは炭素数６～２６、さらに好ましくは炭素数６～１４）、ヘテロ環オキシ基（好ましくは炭素数２～２０）、

[0149] アルコキシカルボニル基（好ましくは炭素数２～２０）、シクロアルコキシカルボニル基（好ましくは炭素数４～２０）、アリールオキシカルボニル基（好ましくは炭素数６～２０）、アミノ基（好ましくは炭素数０～２０で、無置換アミノ基（－$NH_2$）、（モノ－又はジ－）アルキルアミノ基、（モノ－又はジ－）アルケニルアミノ基、（モノ－又はジ－）アルキニルアミノ基、（モノ－又はジ－）シクロアルキルアミノ基、（モノ－又はジ－）シクロアルケニルアミノ基、（モノ－又はジ－）アリールアミノ基、（モノ－又は

ジー）ヘテロ環アミノ基を含む。無置換アミノ基を置換する上記各基は置換基群Ｔの対応する基と同義である。）、スルファモイル基（好ましくは炭素数０～２０で、アルキル、シクロアルキルもしくはアリールのスルファモイル基が好ましい。）、アシル基（好ましくは炭素数１～２０、より好ましくは炭素数２～１５）、アシルオキシ基（好ましくは炭素数１～２０）、カルバモイル基（好ましくは炭素数１～２０で、アルキル、シクロアルキルもしくはアリールのカルバモイル基が好ましい。）、

[0150] アシルアミノ基（好ましくは炭素数１～２０）、スルホンアミド基（好ましくは炭素数０～２０で、アルキル、シクロアルキルもしくはアリールのスルホンアミド基が好ましい。）、アルキルチオ基（好ましくは炭素数１～２０、より好ましくは炭素数１～１２）、シクロアルキルチオ基（好ましくは炭素数３～２０）、アリールチオ基（好ましくは炭素数６～４０、より好ましくは炭素数６～２６、さらに好ましくは炭素数６～１４）、ヘテロ環チオ基（好ましくは炭素数２～２０）、アルキル、シクロアルキルもしくはアリールスルホニル基（好ましくは炭素数１～２０）、

[0151] シリル基（好ましくは炭素数１～３０、より好ましくは炭素数１～２０で、アルキル、アリール、アルコキシもしくはアリールオキシが置換したシリル基が好ましい。）、シリルオキシ基（好ましくは炭素数１～２０で、アルキル、アリール、アルコキシもしくはアリールオキシが置換したシリルオキシ基が好ましい。）、ヒドロキシ基、シアノ基、ニトロ基、ハロゲン原子（例えばフッ素原子、塩素原子、臭素原子又はヨウ素原子）、酸素原子（具体的には、環を構成する＞$CH_2$を＞Ｃ＝Ｏに置き換える）、カルボキシ基（－$CO_2H$）、ホスホノ基〔－$PO(OH)_2$〕、ホスホノオキシ基〔－Ｏ－$PO(OH)_2$〕、スルホ基（－$SO_3H$）、ホウ酸基〔－$B(OH)_2$〕、オニオ基（環状アンモニオを含むアンモニオ基、スルホニオ基（－$SH_2^+$）、ホスホニオ基（－$PH_3^+$）を含み、好ましくは炭素数０～３０、より好ましくは１～２０）、スルファニル基（－ＳＨ）、アミノ酸残基、又は、ポリアミノ酸残基が挙げられる。

また、カルボキシ基、ホスホノ基、スルホ基、オニオ基、アミノ酸残基、又は、ポリアミノ酸残基を置換基として有する上記のアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、シクロアルキル基、シクロアルケニル基、アリール基、ヘテロ環基、アルコキシ基、アルケニルオキシ基、アルキニルオキシ基、シクロアルキルオキシ基、アリールオキシ基、ヘテロ環オキシ基、アルコキシカルボニル基、シクロアルコキシカルボニル基、アリールオキシカルボニル基、アミノ基、スルファモイル基、アシル基、アシルオキシ基、カルバモイル基、アシルアミノ基、スルホンアミド基、アルキルチオ基、シクロアルキルチオ基、アリールチオ基、ヘテロ環チオ基、アルキル、シクロアルキルもしくはアリールスルホニル基が挙げられる。

[0152] 置換基群Ｔから選ばれる置換基は、より好ましくは、アルキル基、アルケニル基、シクロアルキル基、アリール基、ヘテロ環基、アルコキシ基、シクロアルコキシ基、アリールオキシ基、アルコキシカルボニル基、シクロアルコキシカルボニル基、アミノ基、アシルアミノ基、シアノ基又はハロゲン原子であり、特に好ましくは、アルキル基、アルケニル基、アリール基、ヘテロ環基、アルコキシ基、アルコキシカルボニル基、アミノ基、アシルアミノ基又はシアノ基である。

[0153] 置換基群Ｔから選ばれる置換基は、特段の断りがない限り、上記の基を複数組み合わせてなる基をも含む。例えば、化合物又は置換基等がアルキル基、アルケニル基等を含むとき、これらは置換されていても置換されていなくてもよい。また、アリール基、ヘテロ環基等を含むとき、それらは単環でも縮環でもよく、置換されていても置換されていなくてもよい。

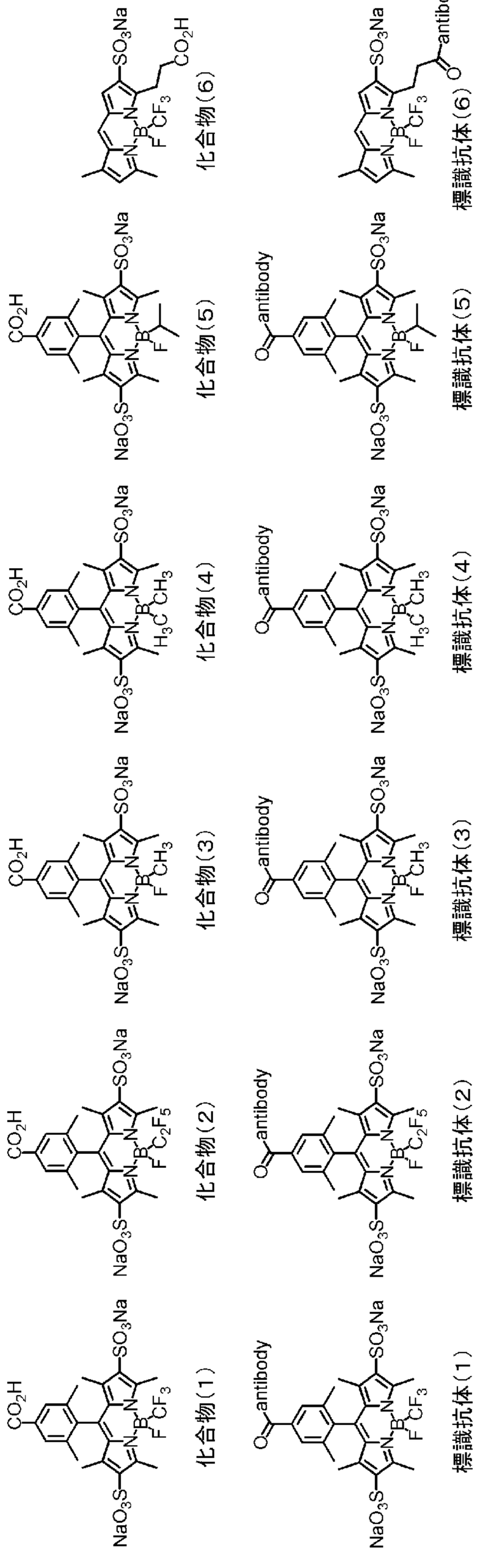
## 実施例

[0154] 以下に実施例に基づき、本発明についてさらに詳細に説明するが、本発明はこれに限定されない。なお、本発明において、室温とは２５℃を意味する。

[0155] 実施例及び比較例として用いた化合物及び標識抗体を、以下に示す。

[0156]

[化86]




[0157] 比較化合物（１）は国際公開第２０１６／１４３６９９号の段落［００６５］に記載の化合物３である。

比較化合物（２）はRSC Advances, 2016, vol.6, 38, p.32070-32073に記載の化合物である。

比較化合物（１）及び（２）は各文献記載の方法により、合成した。

比較標識抗体（２）は、後述する標識抗体（１）の合成方法と同様の方法により、合成した。

また、ＢＯＤＩＰＹ　ＦＬ、ＢＯＤＩＰＹ４９３／５０３及びＢＯＤＩＰＹ４９２／５１５は、いずれも、サーモフィッシャーサイエンティフィック社製の市販品（商品名）である。

[0158] 以下に、化合物及び標識抗体の合成方法を詳しく説明するが、出発物質、色素中間体及び合成ルートはこれらに限定されるものではない。

[0159] 特に記載のない場合、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおける担体は、ＳＮＡＰ　ＫＰ－Ｓｉｌ　Ｃａｒｔｒｉｄｇｅ（Ｂｉｏｔａｇｅ社製）、ハイフラッシュカラムＷ００１、Ｗ００２、Ｗ００３、Ｗ００４又はＷ００５〔山善社製〕を使用した。ＮＨシリカは、ＳＮＡＰ　ＫＰ－ＮＨ　Ｃａｒｔｒｉｄｇｅ（Ｂｉｏｔａｇｅ社製）を使用した。溶離液における混合比は、容量比である。例えば、「酢酸エチル：ノルマルヘキサン＝０：１００→１００：０」は、「酢酸エチル：ノルマルヘキサン＝０：１００」の溶離液を「酢酸エチル：ノルマルヘキサン＝１００：０」の溶離液へ変化させたことを意味する。

[0160] ＭＳスペクトルは、ＡＣＱＵＩＴＹ　ＳＱＤ　ＬＣ／ＭＳ　Ｓｙｓｔｅｍ〔Ｗａｔｅｒｓ社製、イオン化法：ＥＳＩ（ＥｌｅｃｔｒｏＳｐｒａｙ　Ｉｏｎｉｚａｔｉｏｎ、エレクトロスプレーイオン化）〕又はＬＣＭＳ－２０１０ＥＶ〔島津製作所社製、イオン化法：ＥＳＩ及びＡＰＣＩ（Ａｔｍｏｓｐｈｅｒｉｃ　Ｐｒｅｓｓｕｒｅ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｉｏｎｉｚａｔｉｏｎ、大気圧化学イオン化）を同時に行うイオン化法〕を用いて測定した。

[0161] なお、合成した化合物及び標識抗体は、特段の記載がない限り、作製後すぐに使用しない場合には、遮光条件下で保存したものを使用した。また、市販品の化合物及び標識抗体についても、購入後使用するまでは遮光条件下で

保存した物を使用した。

[0162] 以下に、使用する略語について、まとめて記載する。

[0163] ＤＤＱ：２，３－ジクロロ－５，６－ジシアノ－１，４－ベンゾキノン

ＤＣＣ：ジシクロヘキシルカルボジイミド

ＮＨＳ：Ｎ－ヒドロキシこはく酸イミド

ＴＭＳＯＴｆ：トリメチルシリルトリフルオロメタンスルホン酸

ＴＦＡ：トリフルオロ酢酸

ＤＩＰＥＡ：ジイソプロピルエチルアミン

ＤＣＭ：ジクロロメタン

ＤＭＡＰ：４－ジメチルアミノピリジン

ＤＭＦ：Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミド

ＤＭＳＯ：ジメチルスルホキシド

ＰＢＳ：リン酸緩衝生理食塩水

Ｂｏｃ又はＢＯＣ：ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル基

Ｍｅ：メチル基

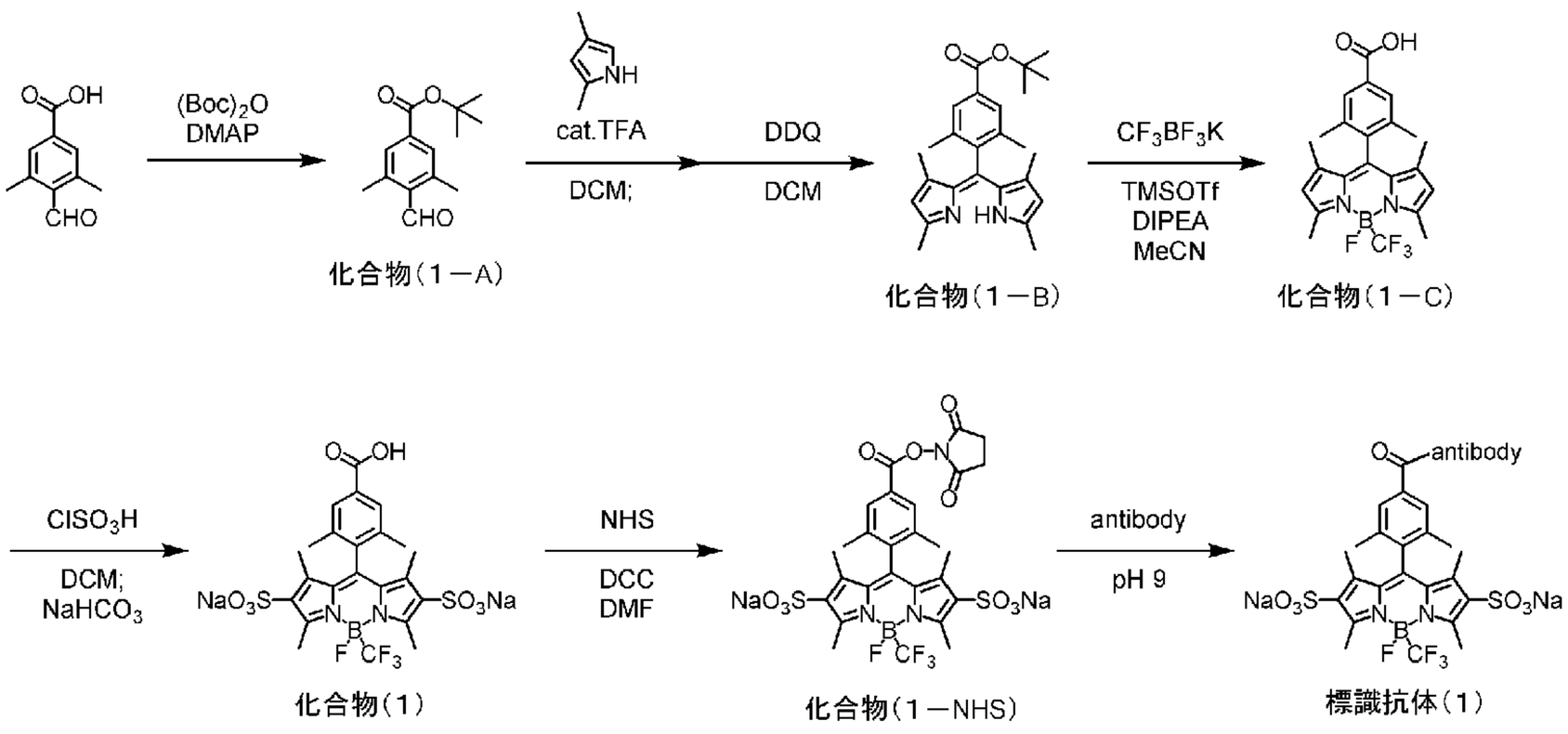
Ｅｔ：エチル基

ＴＭＳ：トリメチルシリル基

[0164] ［合成例１：化合物（１）及び標識抗体（１）の合成］

下記のスキームに基づき、化合物（１）及び標識抗体（１）を合成した。

[0165] [化87]



[0166] ＜化合物（１－Ａ）の合成＞

５０ｍＬナスフラスコに、３，５－ジメチル－４－ホルミル安息香酸（ＡＯＢＣｈｅｍ社）１．０ｇ、二炭酸ジ－ｔｅｒｔ－ブチル（富士フイルム和光純薬（株））２．６ｍＬ、Ｎ，Ｎ－ジメチル－４－アミノピリジン（富士フイルム和光純薬（株））１．０ｇ、ｔｅｒｔ－ブタノール（富士フイルム和光純薬（株））５．４ｍＬ、テトラヒドロフラン（富士フイルム和光純薬（株））５．３ｍＬを加え、室温にて１６時間攪拌した。水を添加した後、酢酸エチルで抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル：ノルマルヘキサン＝５：９５）で精製し、減圧下溶媒を留去し、化合物（１－Ａ）を０．９５ｇ（収率７２％、白色固体）得た。

[0167] ＜化合物（１－Ｂ）の合成＞

５０ｍＬナスフラスコに、２，４－ジメチル－１Ｈ－ピロール（富士フイルム和光純薬（株））０．７５ｇ、化合物（１－Ａ）０．７４ｇ、塩化メチレン３２ｍＬを加え、トリフルオロ酢酸（富士フイルム和光純薬（株））０．０２ｍＬを加えたのち室温下で１時間攪拌した。続いて氷冷下で２，３－ジクロロ－５，６－ジシアノ－１，４－ベンゾキノン（富士フイルム和光純薬（株））を１．１５ｇ加え、室温に昇温後３０分攪拌した。続いて水を添加し、塩化メチレンにて抽出しシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル：ノルマルヘキサン＝１５：８５）で精製した。減圧下溶媒を留去し、化合物（１－Ｂ）を０．７ｇ（収率５５％、茶褐色固体）得た。

［Ｍ＋Ｈ$^{+}$］$^{+}$：４０５

[0168] ＜化合物（１－Ｃ）の合成＞

５０ｍＬナスフラスコに、化合物（１－Ｂ）０．１１ｇ、塩化メチレン６ｍＬを加え、窒素雰囲気下Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミン（富士フイルム和光純薬（株））０．１４ｍＬを加え、室温にて１０分間攪拌した。続いてトリフルオロメチルトリフルオロホウ素カリウム（富士フイルム和光純薬（株））０．１８ｇ、トリメチルシリルトリフルオロメタンスルホン酸（

富士フイルム和光純薬（株））０．４６ｇ、アセトニトリル１．５ｍＬを混合した溶液を氷冷下加え、室温に昇温後３時間攪拌した。反応混合物を直接シリカゲルにチャージし、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル：ノルマルヘキサン＝０：１００→１００：０）で精製した。減圧下溶媒を留去し、化合物（１－Ｃ）を０．１３ｇ（収率９９％、赤褐色固体）得た。

［Ｍ＋Ｈ$^{+}$］$^{+}$：４４７

[0169] ＜化合物（１）の合成＞

５０ｍＬナスフラスコに、化合物（１－Ｃ）０．０７ｇ、塩化メチレン１４ｍＬを加え、クロロスルホン酸（富士フイルム和光純薬（株））０．０９ｍＬを氷冷下添加し、５分間攪拌した。続いて炭酸水素ナトリウム（富士フイルム和光純薬（株））０．５９ｇ、蒸留水４．７ｍＬを加え、減圧下塩化メチレンを留去したのち、混合溶液を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー（Ｂｉｏｔａｇｅ社製、Ｃ１８カラム、蒸留水のみ）で精製し、凍結乾燥にて溶媒を留去し、化合物（１）を０．０５ｇ（収率５３％、赤色固体）得た。

［Ｍ－２Ｎａ$^{+}$＋Ｈ$^{+}$］$^{-}$：６０５

[0170] ＜化合物（１－ＮＨＳ）の合成＞

５０ｍＬナスフラスコに、化合物（１）０．０５ｇ、Ｎ－ヒドロキシこはく酸イミド（富士フイルム和光純薬（株））０．０４ｇ、ジシクロヘキシルカルボジイミド（富士フイルム和光純薬（株））０．１３ｇ、ジメチルホルムアミド０．６４ｍＬを加え、室温にて１時間半攪拌した。続いて飽和塩化ナトリウム水溶液を加え、混合溶液を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー（Ｂｉｏｔａｇｅ社製、Ｃ１８カラム、アセトニトリル：蒸留水＝１０：９０）で精製し、凍結乾燥にて溶媒を留去し、化合物（１－ＮＨＳ）を０．０３ｇ（収率６０％、赤色固体）得た。

［Ｍ－２Ｎａ$^{+}$＋Ｈ$^{+}$］$^{-}$：７０２

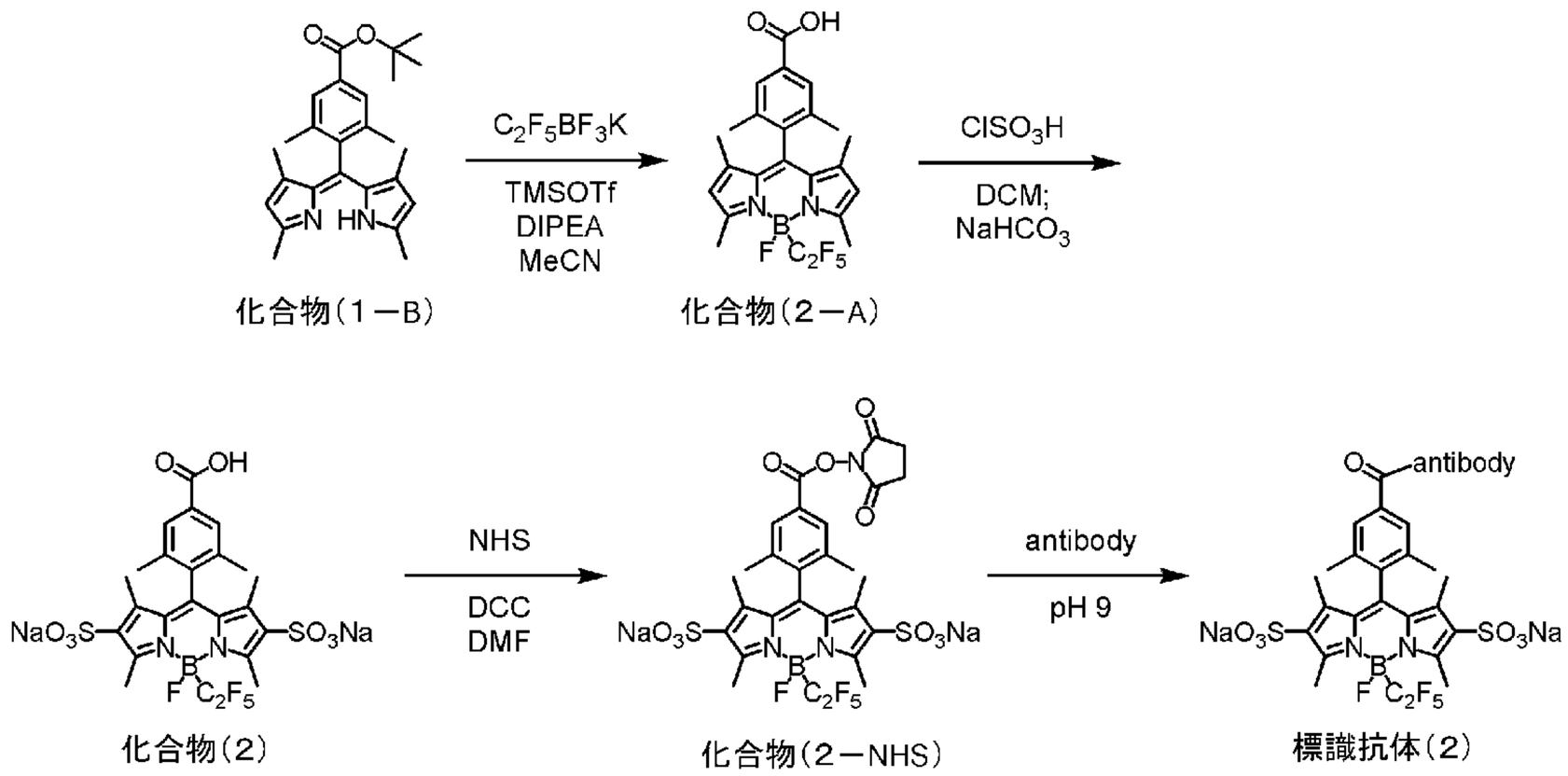
[0171] ＜標識抗体（１）の合成＞

抗ウサギＩｇＧ抗体〔ホスト：ヤギ、２．４ｍｇ／ｍＬ、カタログ番号：１１１－００５－００３、ＪａｃｋｓｏｎＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ社製〕４００μＬに炭酸塩ｐＨ標準液（ｐＨ＝１０．０１）（富士フイルム和光純薬（株））４０μＬ、化合物（１－ＮＨＳ）の濃度２０ｍＭのＤＭＳＯ溶液３．２μＬを加えて攪拌後、１時間室温で静置した。続いて、反応液を直接Ｓｅｐｈａｄｅｘ　Ｇ－２５カラム〔カタログ番号：１７０８５１０１、ＧＥヘルスケア社製〕にチャージし、ＰＢＳ〔ｐＨ＝７．４、富士フイルム和光純薬（株）〕で精製することで標識抗体（１）を得た。

[0172] ［合成例２：化合物（２）及び標識抗体（２）の合成法］

下記のスキームに基づき、化合物（２）及び標識抗体（２）を合成した。

[0173] [化88]




[0174] ＜化合物（２－Ａ）の合成＞

化合物（１－Ｃ）の合成法において、トリフルオロメチルトリフルオロホウ素カリウムに代えてペンタフルオロエチルトリフルオロホウ素カリウム（Ａｌｄｒｉｃｈ社製）を用いた以外は同様にして化合物（２－Ａ）を０．１３ｇ（赤褐色固体）得た。

［Ｍ＋Ｈ$^+$］$^+$：４９７

[0175] ＜化合物（２）の合成＞

化合物（１）の合成法において、化合物（１－Ｃ）に代えて化合物（２－

Ａ）を用いた以外は同様にして化合物（２）を０．０２ｇ（赤色固体）得た。

［Ｍ－２Ｎａ$^{+}$＋Ｈ$^{+}$］$^{-}$：６５５

[0176] ＜化合物（２－ＮＨＳ）の合成＞

化合物（１－ＮＨＳ）の合成法において、化合物（１）に代えて化合物（２）を用いた以外は同様にして化合物（２－ＮＨＳ）を０．０１ｇ（赤色固体）得た。

［Ｍ－２Ｎａ$^{+}$＋Ｈ$^{+}$］$^{-}$：７５２

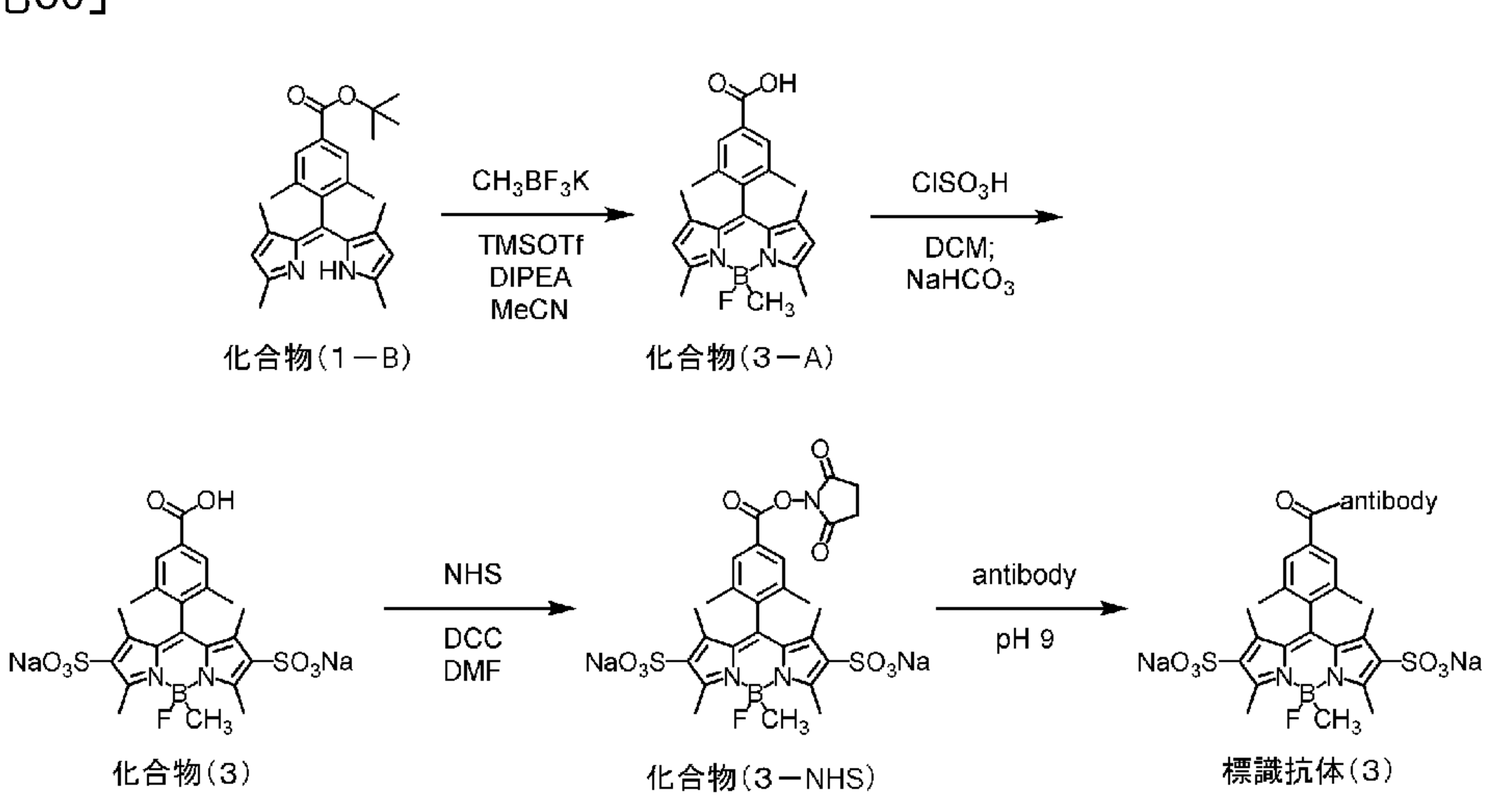
[0177] ＜標識抗体（２）の合成＞

標識抗体（１）の合成法において、化合物（１－ＮＨＳ）に代えて化合物（２－ＮＨＳ）を用いた以外は同様にして標識抗体（２）を得た。

[0178] ［合成例３：化合物（３）及び標識抗体（３）の合成］

下記のスキームに基づき、化合物（３）及び標識抗体（３）を合成した。

[0179] [化89]




[0180] ＜化合物（３－Ａ）の合成＞

化合物（１－Ｃ）の合成法において、トリフルオロメチルトリフルオロホウ素カリウムに代えてメチルトリフルオロホウ素カリウム（Ａｌｄｒｉｃｈ社製）を用いた以外は同様にして化合物（３－Ａ）を０．１１ｇ（赤褐色固体）得た。

［Ｍ＋Ｈ$^{+}$］$^{+}$：３９３

[0181] ＜化合物（３）の合成＞

化合物（１）の合成法において、化合物（１－Ｃ）に代えて化合物（３－Ａ）を用いた以外は同様にして化合物（３）を０．０３ｇ（赤色固体）得た。

［Ｍ－２Ｎａ$^{+}$＋Ｈ$^{+}$］$^{-}$：５５１

[0182] ＜化合物（３－ＮＨＳ）の合成＞

化合物（１－ＮＨＳ）の合成法において、化合物（１）に代えて化合物（３）を用いた以外は同様にして化合物（３－ＮＨＳ）を０．０１ｇ（赤色固体）得た。

［Ｍ－２Ｎａ$^{+}$＋Ｈ$^{+}$］$^{-}$：６４８

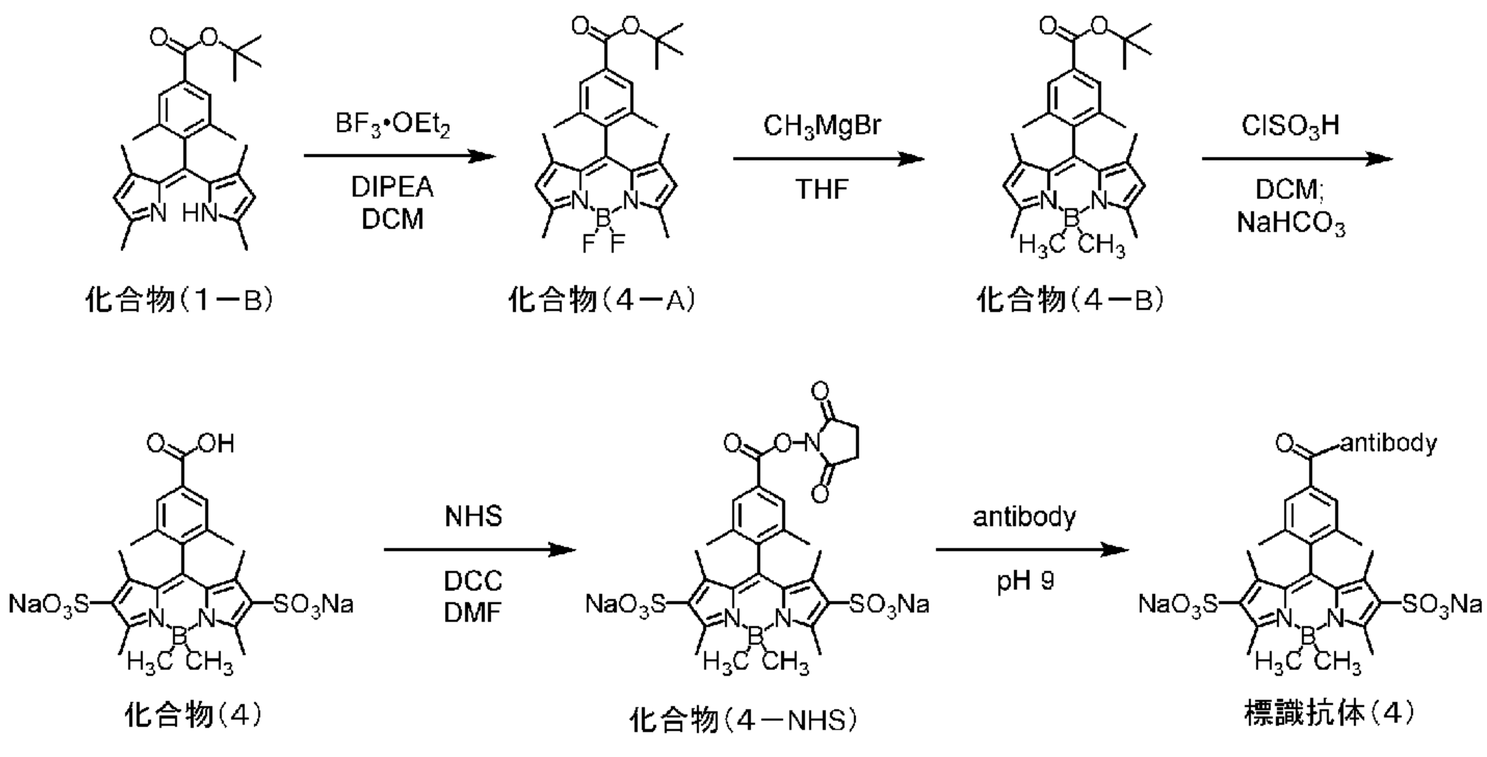
[0183] ＜標識抗体（３）の合成＞

標識抗体（１）の合成法において、化合物（１－ＮＨＳ）に代えて化合物（３－ＮＨＳ）を用いた以外は同様にして標識抗体（３）を得た。

[0184] ［合成例４：化合物（４）及び標識抗体（４）の合成］

下記のスキームに基づき、化合物（４）及び標識抗体（４）を合成した。

[0185] [化90]




[0186] ＜化合物（４－Ａ）の合成＞

５０ｍＬナスフラスコに化合物（１－Ｂ）０．１０ｇ、塩化メチレン４．３ｍＬを加えた。続いて、窒素雰囲気下、Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミン（富士フイルム和光純薬（株））０．２６ｍＬ、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体（富士フイルム和光純薬（株））０．３０ｍＬを加え、室温にて１０分撹拌した。飽和塩化ナトリウム水溶液を添加した後、塩化メチレ

ンにて抽出し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル：ノルマルヘキサン＝２０：８０）で精製した。減圧下溶媒を留去し、化合物（４－Ａ）を０．１７ｇ（収率８９％、赤褐色固体）得た。

［Ｍ＋Ｈ$^+$］$^+$：４５３

[0187] ＜化合物（４－Ｂ）の合成＞

５０ｍＬナスフラスコに、化合物（４－Ａ）０．０２５ｇ、テトラヒドロフラン（富士フイルム和光純薬（株））１．１ｍＬを加え、窒素雰囲気下、メチルマグネシウムブロミド（１２％テトラヒドロフラン溶液、約１ｍｏｌ／Ｌ）（東京化成工業（株））０．５５ｍＬを氷冷下で加え、１時間撹拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液を添加した後、塩化メチレンにて抽出し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル：ノルマルヘキサン＝５：９５）で精製した。減圧下溶媒を留去し、化合物（４－Ｂ）を０．０２７ｇ（収率１１１％、赤褐色固体）得た。

［Ｍ＋Ｈ$^+$］$^+$：４４５

[0188] ＜化合物（４）の合成＞

化合物（１）の合成法において、化合物（１－Ｃ）に代えて化合物（４－Ｂ）を用いた以外は同様にして化合物（４）を０．０１３ｇ（赤色固体）得た。

［Ｍ－２Ｎａ$^+$＋Ｈ$^+$］$^-$：５４７

[0189] ＜化合物（４－ＮＨＳ）の合成＞

化合物（１－ＮＨＳ）の合成法において、化合物（１）に代えて化合物（４）を用いた以外は同様にして化合物（４－ＮＨＳ）を０．００４ｇ（赤色固体）得た。

［Ｍ－２Ｎａ$^+$＋Ｈ$^+$］$^-$：６４４

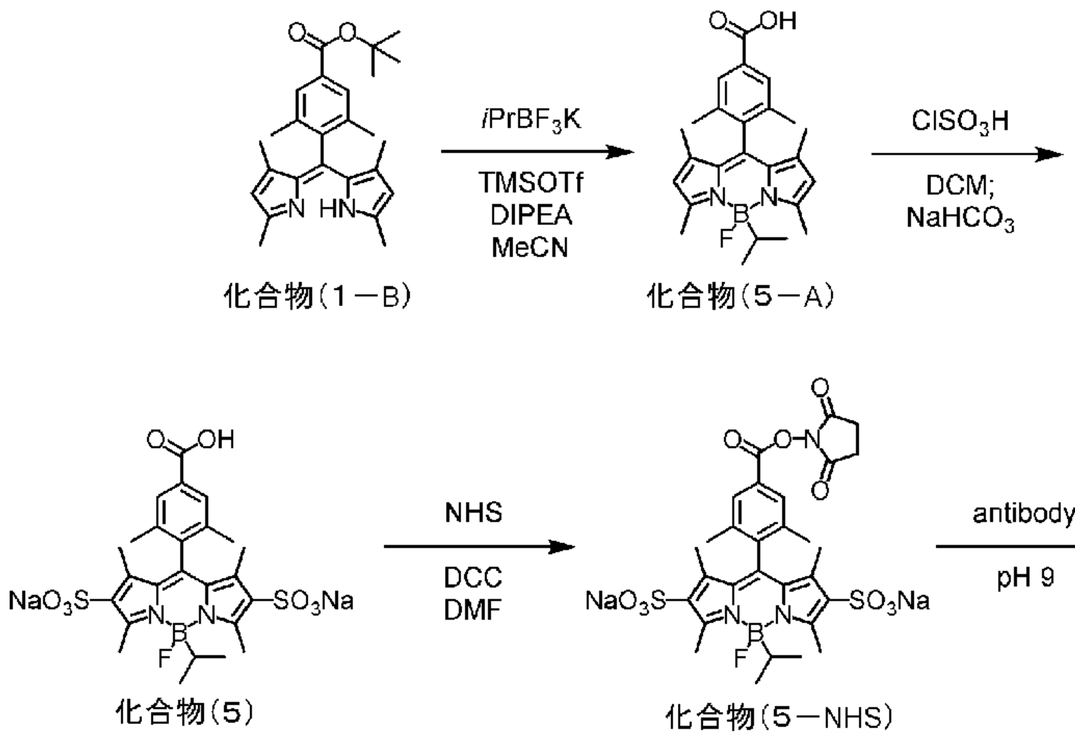
[0190] ＜比較標識抗体（４）の合成＞

標識抗体（１）の合成法において、化合物（１－ＮＨＳ）に代えて化合物（４－ＮＨＳ）を用いた以外は同様にして標識抗体（４）を得た。

[0191] ［合成例５：化合物（５）及び標識抗体（５）の合成］

下記のスキームに基づき、化合物（５）及び標識抗体（５）を合成した。

[0192] [化91]




[0193] ＜化合物（５－Ａ）の合成＞

化合物（１－Ｃ）の合成法において、トリフルオロメチルトリフルオロホウ素カリウムに代えてイソプロピルトリフルオロホウ素カリウム（Ａｌｄｒｉｃｈ社製）を用いた以外は同様にして化合物（５－Ａ）を０．００８ｇ（赤褐色固体）得た。

［Ｍ＋Ｈ$^+$］$^+$：４２１

[0194] ＜化合物（５）の合成＞

化合物（１）の合成法において、化合物（１－Ｃ）に代えて化合物（５－Ａ）を用いた以外は同様にして化合物（５）を０．０００９ｇ（赤色固体）得た。

［Ｍ－２Ｎａ$^+$＋Ｈ$^+$］$^-$：５７９

[0195] ＜化合物（５－ＮＨＳ）の合成＞

化合物（１－ＮＨＳ）の合成法において、化合物（１）に代えて化合物（５）を用いた以外は同様にして化合物（５－ＮＨＳ）を０．０００５ｇ（赤色固体）得た。

［Ｍ－２Ｎａ$^+$＋Ｈ$^+$］$^-$：６７６

[0196] ＜標識抗体（５）の合成＞

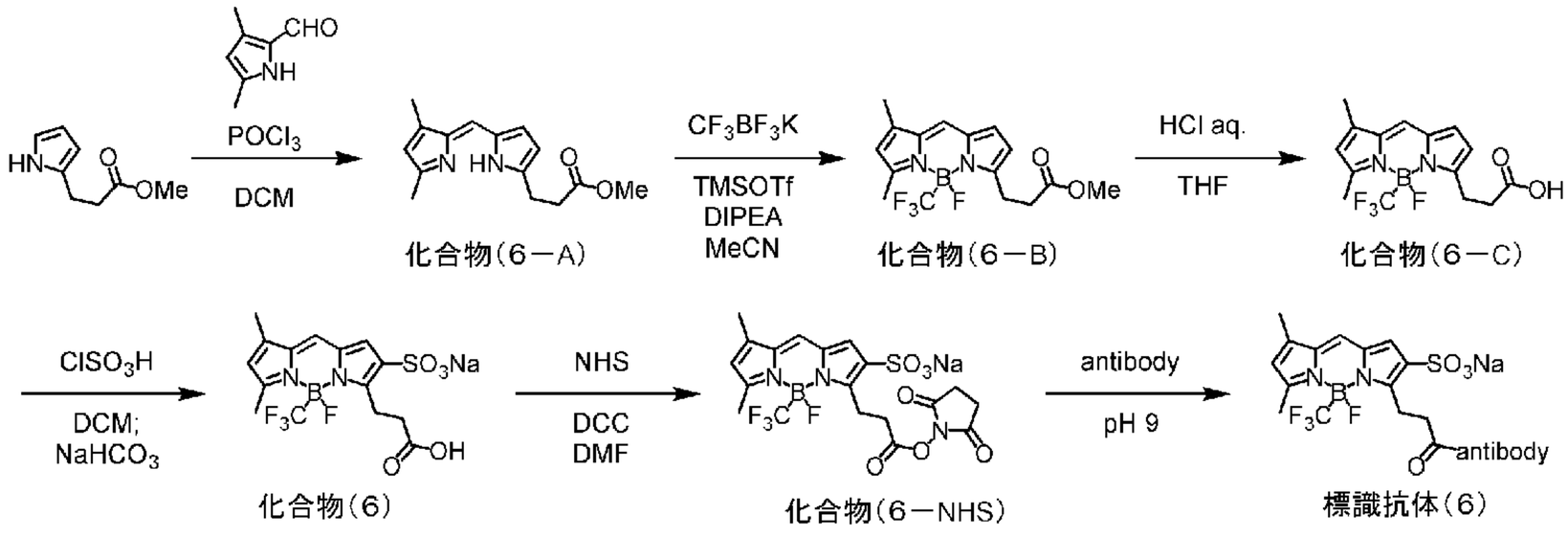
標識抗体（１）の合成法において、化合物（１－ＮＨＳ）に代えて化合物

（５－ＮＨＳ）を用いた以外は同様にして標識抗体（５）を得た。

[0197] ［合成例６：化合物（６）及び標識抗体（６）の合成］

下記のスキームに基づき、化合物（６）及び標識抗体（６）を合成した。

[0198] [化92]




[0199] ＜化合物（６－Ａ）の合成＞

５０ｍＬナスフラスコに、３，５－ジメチル－１Ｈ－ピロール－２－カルバルデヒド（富士フイルム和光純薬（株））０．１５ｇ、３－（２－ピロリル）プロパン酸メチル（Ｔｏｒｏｎｔｏ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ社）０．１３ｇ、塩化メチレン１０ｍＬを加え、氷冷下にてオキシ塩化リン（富士フイルム和光純薬（株））０．０９ｍＬを加えたのち室温に昇温し４時間攪拌した。室温にて反応液を水に添加し、塩化メチレンにて抽出しシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチルのみ）で精製した。減圧下溶媒を留去し、化合物（６－Ａ）を０．１９ｇ（収率７６％、赤褐色固体）得た。

［Ｍ＋Ｈ$^{+}$］$^{+}$：２５９

[0200] ＜化合物（６－Ｂ）の合成＞

５０ｍＬナスフラスコに、化合物（６－Ａ）０．０５ｇ、塩化メチレン５ｍＬを加え、窒素雰囲気下Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミン（富士フイルム和光純薬（株））０．１０ｍＬを加え、室温にて１０分間攪拌した。続いてトリフルオロメチルトリフルオロホウ素カリウム（富士フイルム和光純薬（株））０．１４ｇ、トリメチルシリルトリフルオロメタンスルホン酸（富士フイルム和光純薬（株））０．３４ｇ、アセトニトリル１．３ｍＬを混

合した溶液を氷冷下加え、室温に昇温後３時間攪拌した。反応混合物を直接シリカゲルにチャージし、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル：ノルマルヘキサン＝０：１００→１００：０）で精製した。減圧下溶媒を留去し、化合物（６－Ｂ）を０．０１７ｇ（収率２５％、赤褐色固体）得た。

［Ｍ＋Ｈ$^{+}$］$^{+}$：３５７

[0201] ＜化合物（６－Ｃ）の合成＞

５０ｍＬナスフラスコに、化合物（６－Ｂ）０．００２ｇ、テトラヒドロフラン０．２ｍＬ、３０％塩酸（富士フイルム和光純薬（株））０．１ｍＬ、蒸留水０．１ｍＬを加え、室温にて１２時間攪拌した。続いて酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させた後に減圧下溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルにチャージし、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル：ノルマルヘキサン＝０：１００→１００：０）で精製した。減圧下溶媒を留去し、化合物（６－Ｃ）を０．００１ｇ（収率６９％、赤褐色固体）得た。

［Ｍ＋Ｈ$^{+}$］$^{+}$：３４３

[0202] ＜化合物（６）の合成＞

５０ｍＬナスフラスコに、化合物（６－Ｃ）０．００１ｇ、塩化メチレン０．３ｍＬを加え、クロロスルホン酸（富士フイルム和光純薬（株））０．０００２ｍＬを氷冷下添加し、５分間攪拌した。続いて飽和炭酸水素ナトリウム水溶液（富士フイルム和光純薬（株））１ｍＬを加え、減圧下塩化メチレンを留去したのち、混合溶液を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー（Ｂｉｏｔａｇｅ社製、Ｃ１８カラム、蒸留水のみ）で精製し、凍結乾燥にて溶媒を留去し、化合物（６）を０．０００５ｇ（収率４０％、赤色固体）得た。

［Ｍ－Ｎａ$^{+}$］$^{-}$：４２１

[0203] ＜化合物（６－ＮＨＳ）の合成＞

化合物（１－ＮＨＳ）の合成法において、化合物（１）に代えて化合物（

６）を用いた以外は同様にして化合物（６－ＮＨＳ）を０．０００３ｇ（赤色固体）得た。

［Ｍ－Ｎａ$^{+}$］$^{-}$：５１８

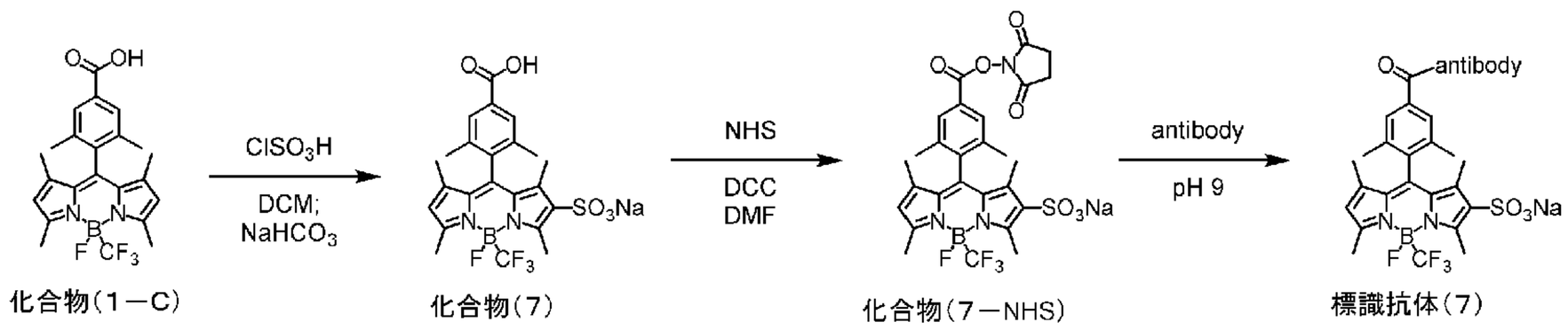
[0204] ＜標識抗体（６）の合成＞

標識抗体（１）の合成法において、化合物（１－ＮＨＳ）に代えて化合物（６－ＮＨＳ）を用いた以外は同様にして標識抗体（６）を得た。

[0205] ［合成例７：化合物（７）及び標識抗体（７）の合成］

下記のスキームに基づき、化合物（７）及び標識抗体（７）を合成した。

[0206] [化93]




[0207] ＜化合物（７）の合成＞

化合物（１）の合成法において、クロロスルホン酸０．０９ｍＬを０．０１ｍＬとした以外は同様にして化合物（７）を０．００１ｇ（赤色固体）得た。

［Ｍ－Ｎａ$^{+}$］$^{-}$：５２５

[0208] ＜化合物（７－ＮＨＳ）の合成＞

化合物（１－ＮＨＳ）の合成法において、化合物（１）に代えて化合物（７）を用いた以外は同様にして化合物（７－ＮＨＳ）を０．０００５ｇ（赤色固体）得た。

［Ｍ－Ｎａ$^{+}$］$^{-}$：６２２

[0209] ＜標識抗体（７）の合成＞

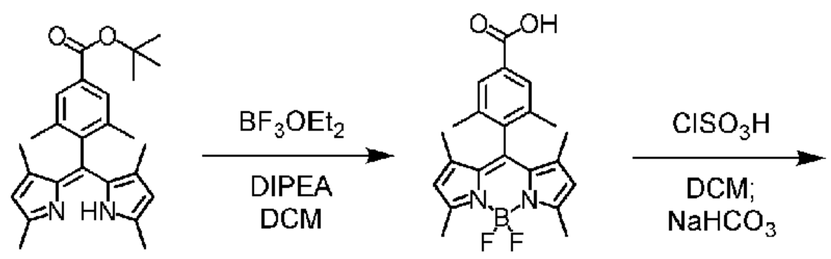
標識抗体（１）の合成法において、化合物（１－ＮＨＳ）に代えて化合物（７－ＮＨＳ）を用いた以外は同様にして標識抗体（７）を得た。

[0210] ［合成例８：比較化合物（３）及び比較標識抗体（３）の合成］

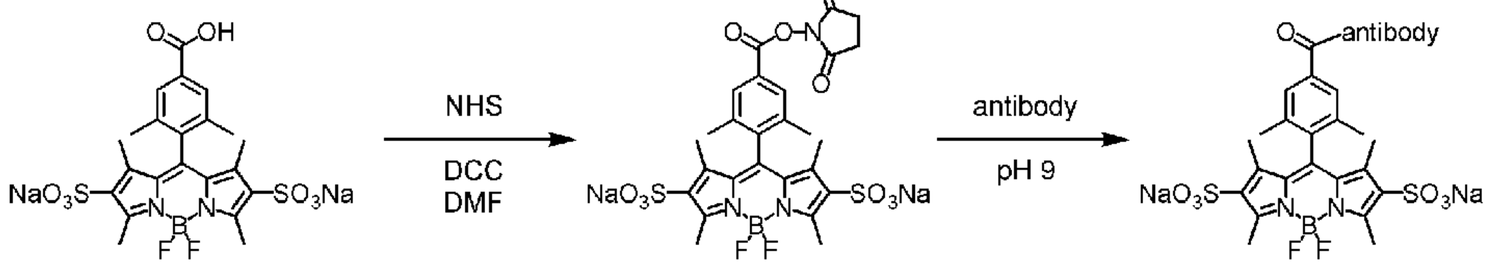
下記のスキームに基づき、比較合物（３）及び比較標識抗体（３）を合成

した。

[0211] [化94]




化合物（1－B） 比較化合物（3－A）




比較化合物（3） 比較化合物（3－NHS） 比較標識抗体（3）

[0212] ＜比較化合物（３－Ａ）の合成＞

化合物（１－Ｃ）の合成法において、トリフルオロメチルトリフルオロホウ素カリウムとトリメチルシリルトリフルオロメタンスルホン酸に代えてトリフルオロホウ素ジエチルエーテル錯体（富士フイルム和光純薬（株））を用いた以外は同様にして比較化合物（３－Ａ）を０．３０ｇ（赤褐色固体）得た。

［Ｍ＋Ｈ$^+$］$^+$：３９７

[0213] ＜比較化合物（３）の合成＞

化合物（１）の合成法において、化合物（１－Ｃ）に代えて比較化合物（３－Ａ）を用いた以外は同様にして比較化合物（３）を０．１０ｇ（赤色固体）得た。

［Ｍ－２Ｎａ$^+$＋Ｈ$^+$］$^-$：５５５

[0214] ＜比較化合物（３－ＮＨＳ）の合成＞

化合物（１－ＮＨＳ）の合成法において、化合物（１）に代えて比較化合物（３）を用いた以外は同様にして比較化合物（３－ＮＨＳ）を０．０４ｇ（赤色固体）得た。

［Ｍ－２Ｎａ$^+$＋Ｈ$^+$］$^-$：６５２

[0215] ＜比較標識抗体（３）の合成＞

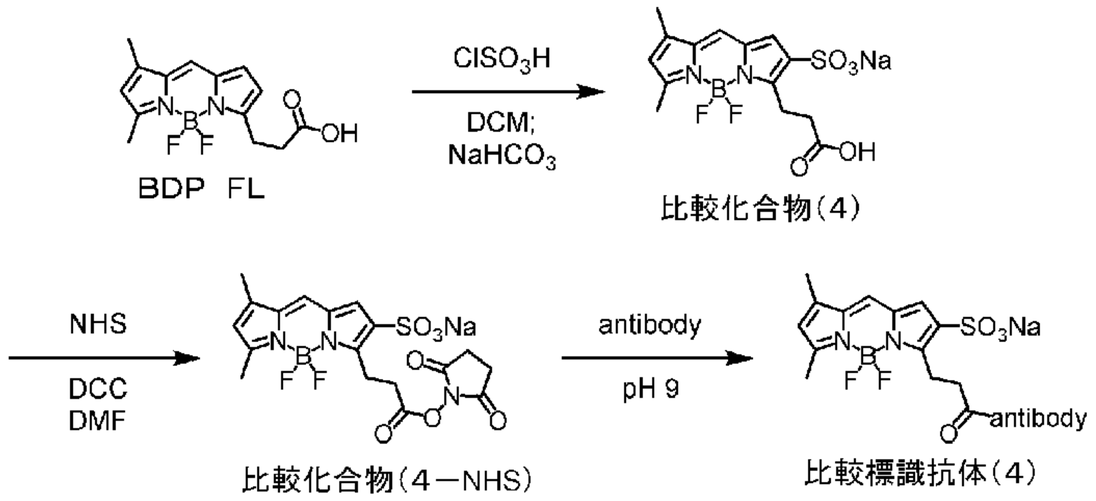
標識抗体（１）の合成法において、化合物（１－ＮＨＳ）に代えて比較化

合物（３－ＮＨＳ）を用いた以外は同様にして比較標識抗体（３）を得た。

[0216] ［合成例９：比較化合物（４）及び比較標識抗体（４）の合成］

下記のスキームに基づき、比較化合物（４）及び比較標識抗体（４）を合成した。

[0217] [化95]




[0218] ＜比較化合物（４）の合成＞

化合物（６）の合成法において、化合物（６－Ｃ）に代えてＢＤＰ　ＦＬ（東京化成工業（株））を用いた以外は同様にして比較化合物（４）を８ｍｇ（赤色固体）得た。

［Ｍ－Ｎａ$^{+}$］$^{-}$：３７１

[0219] ＜比較化合物（４－ＮＨＳ）の合成＞

化合物（１－ＮＨＳ）の合成法において、化合物（１）に代えて比較化合物（４）を用いた以外は同様にして比較化合物（４－ＮＨＳ）を０．００５ｇ（赤色固体）得た。

［Ｍ－Ｎａ$^{+}$］$^{-}$：４６８

[0220] ＜比較標識抗体（４）の合成＞

標識抗体（１）の合成法において、化合物（１－ＮＨＳ）に代えて比較化合物（４－ＮＨＳ）を用いた以外は同様にして比較標識抗体（４）を得た。

[0221] なお、特に記載はしていないが、スルホ基およびカルボキシ基は塩構造（例えば、カリウム塩、ナトリウム塩、あるいはＤＩＰＥＡ塩）を採っていてもよい。

[0222] ＜実施例１＞化合物の水溶性及び蛍光量子収率の評価

上記で示した各化合物について、下記特性を評価し、その結果を表１に示

した。表中の生体物質との結合性部位の欄において、「○」は生体物質との結合性部位を有することを示し、「×」は生体物質との結合性部位を有しないことを示す。

[0223] ［１］水溶性の評価

１．５ｍＬのエッペンチューブ中に、上記化合物（以下、サンプルと称す）を濃度２０ｍＭで含むＤＭＳＯ溶液５μＬと、ｐＨ７．４のＰＢＳ４９５μＬとを入れて混合し、マルチシェーカーＭＳ　３００（商品名、アズワン社製）により、２０００ｒｐｍで３０分間撹拌した。得られた混合液を遮光下で６０分間静置した後、さらに遠心沈降（１２０００ｒｐｍ、５分間）させた。細孔径０．２０μｍのフィルターを用いてろ過したろ液について、Ｎｅｘｅｒａ　ＵＨＰＬＣ　〔商品名、島津製作所社製、カラム：Ｓｈｉｍ－ｐａｃｋ　ＸＲ－ＯＤＳＩＩ〕を用いてサンプル濃度（サンプルがすべて溶解した場合、サンプル濃度は２００μＭとなる。）を測定し、以下の評価基準に基づき評価した。

本試験において、水溶性は評価ランク「Ｂ」以上が合格である。

－　水溶性の評価基準　－

Ａ：１００μＭ以上

Ｂ：１０μＭ以上１００μＭ未満

Ｃ：１μＭ以上１０μＭ未満

Ｄ：１μＭ未満であるか、または、水溶性が低く濃度測定不可である

[0224] ［２］蛍光量子収率の評価

上記化合物のＰＢＳ溶液（ｐＨ７．４）を、以下参考資料に記載の手法にて評価した。

“A Guide to Recording Fluorescence Quantum Yields” (HORIBA Scientific社の資料、https://www.horiba.com/fileadmin/uploads/Scientific/Documents/Fluorescence/quantumyieldstrad.pdfより入手可能)

本試験において、蛍光量子収率は評価ランク「Ｂ」以上を満たすことが、

蛍光性化合物としての実用性の観点から好ましい。

－　蛍光量子収率の評価基準　－

Ａ：０．９以上

Ｂ：０．７以上０．９未満

Ｃ：０．５以上０．７未満

Ｄ：０．３以上０．５未満

Ｅ：０．３未満

Ｆ：低水溶性により評価不可

[0225] [表1]

表１

| | 蛍光性化合物 | 水溶性 | 蛍光量子収率 | 生体物質との結合性部位 |
|---|---|---|---|---|
| 実施例１－１ | 化合物（１） | A | A | ○ |
| 実施例１－２ | 化合物（２） | A | A | ○ |
| 実施例１－３ | 化合物（３） | A | B | ○ |
| 実施例１－４ | 化合物（４） | A | B | ○ |
| 実施例１－５ | 化合物（５） | A | B | ○ |
| 実施例１－６ | 化合物（６） | A | B | ○ |
| 実施例１－７ | 化合物（７） | A | A | ○ |
| 参考例１－１ | BODIPY FL | C | B | ○ |
| 参考例１－２ | BODIPY493/503 | C | A | × |
| 参考例１－３ | BODIPY492/515 | A | A | × |
| 比較例１－１ | 比較化合物（１） | C | B | × |
| 比較例１－２ | 比較化合物（２） | A | D | ○ |
| 比較例１－３ | 比較化合物（３） | A | A | ○ |
| 比較例１－４ | 比較化合物（４） | A | B | ○ |

[0226] 上記表１の結果から、以下のことがわかる。

比較例１－１で用いた蛍光性化合物は水溶性が低く、親水性に劣っていた。また、市販のジピロメテンホウ素錯体化合物を用いた参考例１－１～１－３のうち、参考例１－１及び１－２は水溶性が低く、親水性に劣っており、参考例１－３は生体物質と結合させて標識生体物質として使用することを想定しておらず、標識生体物質として使用する上での汎用性に劣っていた。

これに対して、本発明の式（１）で表される蛍光性化合物（１）～（７）及び比較化合物（２）～（４）は、水溶性がいずれも合格レベルであり、か

つ生体物質との結合性部位を有しているため、標識生体物質として使用する上での汎用性が期待される。

例えば、上記式（１）中のＱ$^{2}$がハロゲノアルキル基であり、かつＲ$^{3}$およびＲ$^{4}$が共に親水性基群Ｐｉの少なくとも１種の基を有する蛍光性化合物（１）および（２）は、水溶性および蛍光量子収率がともに良好である。

同様に、上記式（１）中のＱ$^{2}$がハロゲノアルキル基であり、かつＲ$^{3}$またはＲ$^{4}$の一方が親水性基群Ｐｉの少なくとも１種の基を有する蛍光性化合物（７）も、水溶性および蛍光量子収率がともに良好である。

なお、その他の蛍光性化合物（３）～蛍光性化合物（６）のうちでは、上記式（１）中のＱ$^{2}$がアルキル基であり、かつＲ$^{3}$およびＲ$^{4}$が共に親水性基群Ｐｉの少なくとも１種の基を有する蛍光性化合物（３）が好ましい。

以下実施例２において、これらの蛍光性化合物（１）～（５）、（７）及び比較化合物（２）及び（３）の各標識抗体を用いて免疫組織染色標本を作製し、その耐光性を評価した。

[0227] ＜実施例２＞標識抗体の免疫組織染色標本での耐光性（耐褪色性）評価

上記に示した各標識抗体を用いて、下記の通り免疫組織染色を行った。調製した標本について、下記特性を評価し、その結果を表２に示した。

[0228] ［免疫組織染色標本の作製］

灌流固定したウィスターラットの脳切片（５μｍ）をＴｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００溶液で洗浄し、ブロッキングしたのち、抗Ｉｂａ１抗体（富士フイルム和光純薬社製）と一晩反応させた。続いて洗浄後に、各標識抗体の溶液と約２時間反応させた。洗浄後に７０％グリセロール－ＰＢＳで封入し、免疫組織染色標本とした。

[0229] ［染色標本での耐褪色性の評価］

各染色細胞サンプルを共焦点レーザー顕微鏡〔ＴＣＳ　ＳＰ５、ライカ社製〕に設置し、光源のＨｅ－Ｎｅレーザー（出力１００％）を波長４８８ｎｍ、検出を波長５００～５５０ｎｍとして各タイムラプス測定を実施した。染色部４か所、非染色部４か所の蛍光強度の時間プロファイルを取得し、染

色部の平均信号強度から非染色部の平均信号強度を差し引いた値を正味の蛍光強度とした。露光前の蛍光強度を１００％として、５０％低下（蛍光強度が５０％に到達）するまでの露光時間を求め、以下の評価基準に基づき評価した。

本試験において、耐褪色性は評価ランク「Ｂ」以上が合格である。

－　耐褪色性の評価基準　－

Ａ：３分以上

Ｂ：２分以上３分未満

Ｃ：１分以上２分未満

Ｄ：１分未満

[0230] [表2]

表２

| | 染色に用いた標識抗体名 | 耐褪色性 |
|---|---|---|
| 実施例２－１ | 標識抗体（１） | A |
| 実施例２－２ | 標識抗体（２） | A |
| 実施例２－３ | 標識抗体（３） | A |
| 実施例２－４ | 標識抗体（４） | A |
| 実施例２－５ | 標識抗体（５） | A |
| 実施例２－６ | 標識抗体（７） | A |
| 比較例２－１ | 比較標識抗体（２） | D |
| 比較例２－２ | 比較標識抗体（３） | C |

[0231] 上記表２の結果から、比較標識抗体（２）又は（３）を用いて作製した染色標本に比べて、本発明の式（１）で表される蛍光性化合物で標識した抗体を用いて作製した染色標本は、優れた耐褪色性を示すことがわかる。

このように、本発明の蛍光性化合物は、高い水溶性を示し、生体物質との優れた結合性により標識生体物質として用いることもできる。また、蛍光性化合物としての実用性の観点から求められる高い蛍光量子収率を示す。さらに、得られた標識抗体は、従来のジピロメテンホウ素錯体構造を有する化合物の欠点であった、生体組織中での耐光性を改善することができる。そのため、本発明の蛍光性化合物は、生体物質のイメージング又は生体物質の検出に使用する蛍光色素としての汎用性を大きく向上させることができる。

[0232] ＜参考例１＞化合物の耐光性評価

上記で示した各化合物及び各標識抗体それぞれについて、下記特性を評価し、その結果を表３に示した。

[0233] ［１］水溶液中での耐光性の評価

上記化合物又は標識抗体（以下、サンプルと称す）を、吸収波長ピークの吸光度が０．０９５～０．１０５となるようにして、ｐＨ７．４のＰＢＳに溶解した。得られた溶液を、メリーゴーランド光照射機を用いて露光した状態で、サンプルの吸収波長ピークの吸光度を分光器（ＨＰ社製、商品名：Ａｇｉｌｅｎｔ８４５３）により経時的に測定した。

なお、メリーゴーランド光照射機を用いた露光は、ウシオ電機社製のキセノンランプＵＸＬ－５００Ｄ－Ｏ（商品名）を用い、シャープカットフィルターとしてＨＯＹＡ社製のＨＡ－５０フィルター及びＹ４４フィルター（いずれも商品名）を使用し、露光強度２２ｍＷ／ｃｍ$^2$（５００ｎｍ換算）の条件で行った。

露光前の吸収波長ピークの吸光度を１００％として、この吸収波長ピークの吸光度が５０％低下（吸収波長ピークの吸光度が５０％に到達）するまでの露光時間を求め、以下の評価基準に基づき評価した。評価ランクが高いと安定している時間が長くなるため非常に好ましい。

－　耐光性の評価基準　－

Ａ：８０時間以上

Ｂ：６０時間以上８０時間未満

Ｃ：４０時間以上６０時間未満

Ｄ：２０時間以上４０時間未満

Ｅ：１０時間以上２０時間未満

Ｆ：１０時間未満

Ｇ：低水溶性により評価不可

[0234] ［２］水溶性及び蛍光量子収率の評価

上記実施例１における水溶性及び蛍光量子収率の評価において、測定用のサンプルを化合物から標識抗体に代えた以外は実施例１に記載の方法と同様にして、標識抗体の水溶性及び蛍光量子収率の評価を行った。

水溶性については、評価ランクが高いと親水性が高くなるため非常に好ましく、蛍光量子収率については、評価ランクが高いと蛍光量子収率に優れるため非常に好ましい。

[0235] [表3-1]

表３－１

| | 蛍光性化合物 | 耐光性 |
|---|---|---|
| 実施例３－１ | 化合物（１） | A |
| 実施例３－２ | 化合物（２） | A |
| 実施例３－３ | 化合物（３） | D |
| 参考例３－１ | BODIPY FL | F |
| 参考例３－２ | BODIPY493/503 | F |
| 参考例３－３ | BODIPY492/515 | E |
| 比較例３－１ | 比較化合物（１） | C |
| 比較例３－２ | 比較化合物（２） | B |

[0236] [表3-2]

表３－２

| | 標識抗体 | 水溶性 | 耐光性 | 蛍光量子収率 |
|---|---|---|---|---|
| 実施例４－１ | 標識抗体（１） | A | B | B |
| 実施例４－２ | 標識抗体（２） | A | B | B |
| 実施例４－３ | 標識抗体（３） | A | E | B |
| 比較例４－１ | 比較標識抗体（２） | A | E | D |

[0237] 上記表３の結果から、以下のことがわかる。

参考例３－１～３－３並びに比較例３－１及び３－２で用いた蛍光性化合物に対して、実施例３－１及び３－２で用いた、本発明の式（１）で表される化合物のうち$Q^1$及び$Q^2$の少なくとも１つがハロゲノアルキル基である化合物（１）及び（２）は、水溶液中での耐光性に優れていた。

また、比較例４－１で用いた比較標識抗体（２）に対して、実施例３－１及び３－２で用いた化合物の標識抗体である実施例４－１及び４－２の標識抗体は、水溶性が高く、水溶液中での耐光性にも優れ、また、蛍光量子収率にも優れていた。

このように、上記表１及び２の結果もあわせると、本発明の式（１）で表

される化合物のうちQ[1]及びQ[2]の少なくとも１つがハロゲノアルキル基である化合物及びその標識抗体は、親水性及び生体組織中での優れた耐光性に加え、水溶液中での耐光性にも優れることがわかった。

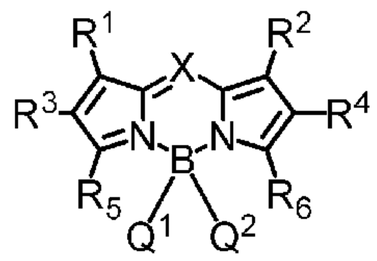
[0238] 本発明をその実施態様とともに説明したが、我々は特に指定しない限り我々の発明を説明のどの細部においても限定しようとするものではなく、添付の請求の範囲に示した発明の精神と範囲に反することなく幅広く解釈されるべきであると考える。

[0239] 本願は、２０１９年１１月２１日に日本国で特許出願された特願２０１９－２１０７０１及び２０２０年６月２６日に日本国で特許出願された特願２０２０－１１０９０９に基づく優先権を主張するものであり、これらはここに参照してその内容を本明細書の記載の一部として取り込む。

# 請求の範囲

[請求項1] 下記式（１）で表される化合物。

[化1]



式（１）

式中、ＸはＣＲ[7]又はＮを示す。

Ｒ[1]～Ｒ[7]、Ｑ[1]及びＱ[2]は水素原子、ハロゲン原子、シアノ基又は下記式（Ａ）で表される基を示す。Ｒ[1]～Ｒ[7]、Ｑ[1]及びＱ[2]のうち隣接する置換基同士が環構造を形成してもよい。

ただし、Ｒ[3]、Ｒ[4]、Ｒ[7]、Ｑ[1]及びＱ[2]の少なくとも１つは下記親水性基群Ｐｉの少なくとも１種の基を含み、Ｑ[1]及びＱ[2]の少なくとも１つはアルキル基を示す。

[化2]

式（Ａ）

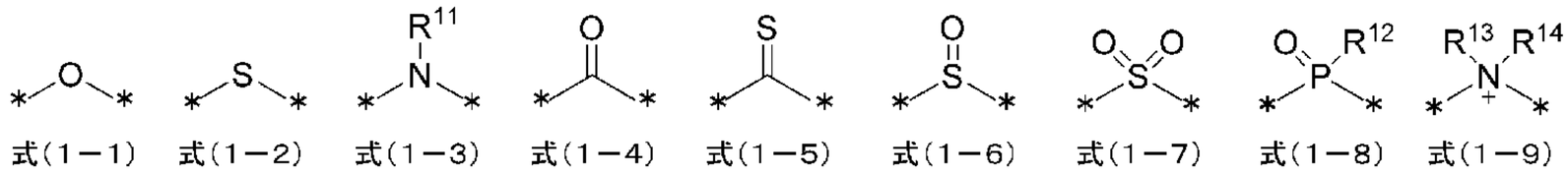
式中、Ｌ[3]は、単結合であるか、又は、アルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、アリーレン基、ヘテロアリーレン基及び下記式（１－１）～式（１－９）のいずれかで表される各基のうちの１種又は２種以上を組み合わせた連結基を示す。

Ｒ[111]は、水素原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基又は１価の脂肪族複素環基を示す。

ただし、Ｒ[111]における水素原子が解離性の水素原子である場合は塩を形成していてもよく、Ｌ[3]及びＲ[111]における各基は、さらに置換基を有していてもよい。

＊は結合部を示す。

[化3]




式中、Ｒ[11]～Ｒ[14]は水素原子又は置換基を示す。

＊は結合部を示す。

＜親水性基群Ｐｉ＞

カルボキシ基もしくはその塩、スルホ基もしくはその塩、ホスホノ基もしくはその塩、オニオ基、及び、ポリアミノ酸残基

[請求項2] 前記ＸがＣＲ[7]であって、該Ｒ[7]が水素原子又は前記式（Ａ）で表される基である、請求項１に記載の化合物。

[請求項3] 前記Ｒ[3]、Ｒ[4]及びＲ[7]のうち少なくとも１つが、前記親水性基群Ｐｉの少なくとも１種の基を有する、請求項１又は２に記載の化合物。

[請求項4] 前記Ｒ[3]及びＲ[4]のうち少なくとも１つが前記式（Ａ）で表される基であり、該式（Ａ）で表される基は下記親水性基群Ｐｉ－１の少なくとも１種の基を有する、請求項１～３のいずれか１項に記載の化合物。

＜親水性基群Ｐｉ－１＞

カルボキシ基もしくはその塩、スルホ基もしくはその塩、及び、ホスホノ基もしくはその塩

[請求項5] 前記式（Ａ）で表される基のＬ[3]が、アルケニレン基、アルキニレン基、アリーレン基、ヘテロアリーレン基並びに前記の式（１－１）、式（１－３）、式（１－４）、式（１－７）及び式（１－８）のいずれかで表される各基のうちの２種以上を組み合わせた連結基であって、かつ、前記親水性基群Ｐｉ－１の少なくとも１種の基を有する、請求項４に記載の化合物。

[請求項6] 前記Ｒ[3]及びＲ[4]のうち少なくとも１つが、カルボキシ基もしくはその塩、スルホ基もしくはその塩、又は、ホスホノ基もしくはその塩

である、請求項１～５のいずれか１項に記載の化合物。

[請求項7] 前記Ｒ[3]及びＲ[4]のうち少なくとも１つがスルホ基もしくはその塩である、請求項１～６のいずれか１項に記載の化合物。

[請求項8] 前記Ｑ[1]がハロゲン原子、アルキル基、アルキニル基、アリール基、ヒドロキシ基又はアルコキシ基である、請求項１～７のいずれか１項に記載の化合物。

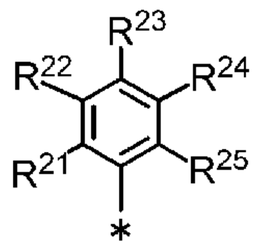
[請求項9] 前記Ｑ[2]が炭素数１～４のアルキル基である、請求項１～８のいずれか１項に記載の化合物。

[請求項10] 前記Ｑ[2]が炭素数１～４のハロゲノアルキル基である、請求項１～９のいずれか１項に記載の化合物。

[請求項11] 前記Ｒ[7]が水素原子、アリール基又はヘテロアリール基である、請求項１～１０のいずれか１項に記載の化合物。

[請求項12] 前記Ｒ[7]が水素原子又は下記式（Ｃ）で表される基である、請求項１～１１のいずれか１項に記載の化合物。

[化4]



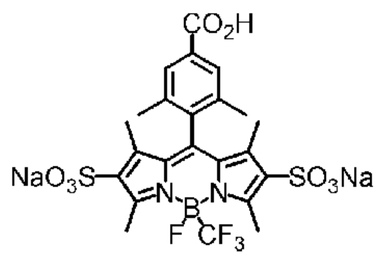
式(C)

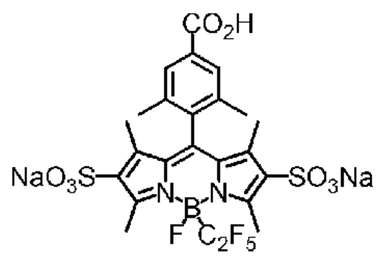
式中、Ｒ[21]は置換基を示し、Ｒ[22]～Ｒ[25]は水素原子又は置換基を示す。

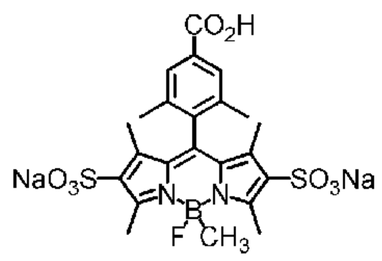
＊は結合部を示す。

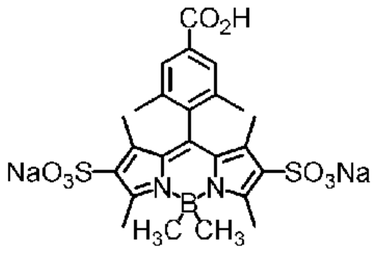
[請求項13] 下記化合物（１）～化合物（７）のいずれかで表される、請求項１に記載の化合物。

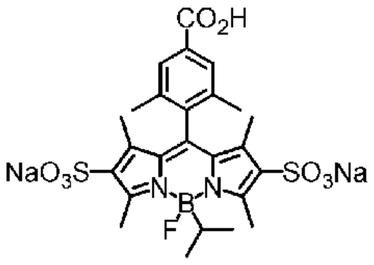
[化5]

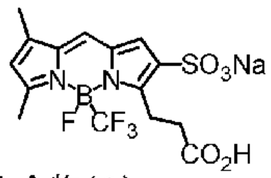

化合物(1)

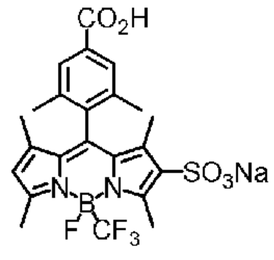

化合物(2)


化合物(3)


化合物(4)


化合物(5)


化合物(6)


化合物(7)

[請求項14] 前記Ｑ[1]がハロゲン原子であり、かつ前記Ｒ[7]がアリール基である、請求項９に記載の化合物。

[請求項15] 前記Ｒ[3]及びＲ[4]が共にスルホ基もしくはその塩である、請求項１４に記載の化合物。

[請求項16] 前記Ｑ[2]が炭素数１～４のハロゲノアルキル基である、請求項１５に記載の化合物。

[請求項17] 前記Ｒ[1]～Ｒ[7]、Ｑ[1]及びＱ[2]のうち少なくとも１つが、生体物質との結合性部位を有する、請求項１～１６のいずれか１項に記載の化合物。

[請求項18] 請求項１７に記載の化合物と生体物質とが結合してなる蛍光標識生体物質。

[請求項19] 前記生体物質がタンパク質、ペプチド、アミノ酸、核酸、糖鎖及び脂質のいずれかである請求項１８に記載の蛍光標識生体物質。

[請求項20] 前記化合物と前記生体物質との結合が下記ｉ）～ｖ）のいずれかによる結合である請求項１８又は１９に記載の蛍光標識生体物質。

ｉ）ペプチド間での非共有結合又は共有結合、

ｉｉ）化合物中の長鎖アルキル基と生体物質中の脂質二重膜又は脂質とのファンデルワールス相互作用、

ｉｉｉ）化合物中のＮ－ヒドロキシスクシンイミドエステルと生体物質中のアミノ基とを反応させてなるアミド結合、

ｉｖ）化合物中のマレイミド基と生体物質中のスルファニル基とを反応させてなるチオエーテル結合、

ｖ）化合物中のアジド基と生体物質中のアセチレン基、又は、化合物中のアセチレン基と生体物質中のアジド基とをＣｌｉｃｋ反応させてなる、トリアゾール環の形成を伴う結合

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2020/043224

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
C07F 5/02(2006.01)i; C09K 11/06(2006.01)i; C07K 1/13(2006.01)i; A61K 47/54(2017.01)i; A61K 47/59(2017.01)i; A61K 47/61(2017.01)i; A61K 47/62(2017.01)i; A61K 47/68(2017.01)i; A61K 49/00(2006.01)i; C12N15/10(2006.01)i; C09B 23/04(2006.01)i; C09B 23/14(2006.01)i; G01N 33/53(2006.01)i; G01N 21/64(2006.01)i
FI: C09B23/14 CSP; C09K11/06; G01N 21/64 F; A61K49/00; C07K1/13; C12N15/10 Z; A61K47/68; A61K47/62; A61K47/54; A61K47/61; A61K47/59; C09B23/04; G01N 33/53 D; G01N 33/53 M; C07F5/02 D CSP

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)
C07F5/02; C09K11/06; C07K1/13; G01N 21/64; A61K47/54; A61K47/59; A61K47/61; A61K47/62; A61K47/68; A61K49/00; C12N15/10; C09B23/04; C09B23/14; G01N33/53

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 | 1971-2021 |
| Registered utility model specifications of Japan | 1996-2021 |
| Published registered utility model applications of Japan | 1994-2021 |

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAplus/REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| X | JP 2000-29213 A (KANSAI PAINT CO., LTD.) 28 January 2000 (2000-01-28) table 1, compounds 1-13 | 1, 3-4, 6, 8-9, 17 |
| A | entire text | 2, 5, 7, 10-16, 18-20 |
| X | JP 2000-29205 A (KANSAI PAINT CO., LTD.) 28 January 2000 (2000-01-28) table 1, compounds 1-13 | 1, 3-4, 6, 8-9, 17 |
| A | entire text | 2, 5, 7, 10-16, 18-20 |
| X | JP 2000-3038 A (KANSAI PAINT CO., LTD.) 07 January 2000 (2000-01-07) table 1, compounds 1-13 | 1, 3-4, 6, 8-9, 17 |
| A | entire text | 2, 5, 7, 10-16, 18-20 |

☒ 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 |
|---|---|
| 13 January 2021 (13.01.2021) | 26 January 2021 (26.01.2021) |
| Name and mailing address of the ISA/<br>Japan Patent Office<br>3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,<br>Tokyo 100-8915, Japan | Authorized officer<br><br>Telephone No. |

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.
PCT/JP2020/043224

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| X<br>A | JP 11-352675 A (KANSAI PAINT CO., LTD.) 24 December 1999 (1999-12-24) table 1, compounds 1-13<br>entire text | 1, 3-4, 6, 8-9, 17<br>2, 5, 7, 10-16, 18-20 |
| X<br>A | JP 2000-47384 A (KANSAI PAINT CO., LTD.) 18 February 2000 (2000-02-18) table 1, compounds 1-45<br>entire text | 1-2, 8-9, 17<br>3-7, 10-16, 18-20 |
| X<br>A | JP 2002-169275 A (MITSUI CHEMICALS, INC.) 14 June 2002 (2002-06-14) table 2, compounds 2-23<br>entire text | 12, 8-9, 17<br>2-7, 10-16, 18-20 |
| X<br>A | JP 2000-47379 A (KANSAI PAINT CO., LTD.) 18 February 2000 (2000-02-18) table 1, compounds 1-45<br>entire text | 1-2, 8-9, 17<br>3-7, 10-16, 18-20 |
| X<br>A | JP 2000-56458 A (KANSAI PAINT CO., LTD.) 25 February 2000 (2000-02-25) table 1, compounds 1-36<br>entire text | 1, 8-9, 17<br>2-7, 10-16, 18-20 |
| X<br>A | JP 2000-56450 A (KANSAI PAINT CO., LTD.) 25 February 2000 (2000-02-25) table 1, compounds 1-36<br>entire text | 1, 8-9, 17<br>2-7, 10-16, 18-20 |
| A | JP 2019-172826 A (FUJIFILM CORPORATION) 10 October 2019 (2019-10-10) entire text | 1-20 |
| A | JP 2019-144145 A (FUJIFILM CORPORATION) 29 August 2019 (2019-08-29) entire text | 1-20 |
| A | US 2015/0252061 A1 (THE GENERAL HOSPITAL CORPORATION) 10 September 2015 (2015-09-10) entire text | 1-20 |
| A | WIJESOORIYA, C. S. et al., "A photoactivatable BODIPY probe for localization-based super-resolution cellular imaging", Angewandte chemie, International Edition, 2018, vol. 57, no. 39, pp. 12685-12689, fig. 1 | 1-20 |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**
Information on patent family members

International application no.
PCT/JP2020/043224

| Patent Documents referred in the Report | Publication Date | Patent Family | Publication Date |
|---|---|---|---|
| JP 2000-29213 A | 28 Jan. 2000 | (Family: none) | |
| JP 2000-29205 A | 28 Jan. 2000 | (Family: none) | |
| JP 2000-3038 A | 07 Jan. 2000 | US 6106999 A<br>table 1, compounds 1-13<br>KR 10-1999-0023527 A | |
| JP 11-352675 A | 24 Dec. 1999 | US 6106999 A<br>table 1, compounds 1-13<br>KR 10-1999-0023527 A | |
| JP 2000-47384 A | 18 Feb. 2000 | (Family: none) | |
| JP 2002-169275 A | 14 Jun. 2002 | (Family: none) | |
| JP 2000-47379 A | 18 Feb. 2000 | (Family: none) | |
| JP 2000-56458 A | 25 Feb. 2000 | (Family: none) | |
| JP 2000-56450 A | 25 Feb. 2000 | (Family: none) | |
| JP 2019-172826 A | 10 Oct. 2019 | (Family: none) | |
| JP 2019-144145 A | 29 Aug. 2019 | EP 3531132 A1<br>entire text | |
| US 2015/0252061 A1 | 10 Sep. 2015 | WO 2014/055505 A1 | |

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2020/043224

A.　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

C07F 5/02(2006.01)i; C09K 11/06(2006.01)i; C07K 1/13(2006.01)i; A61K 47/54(2017.01)i; A61K 47/59(2017.01)i; A61K 47/61(2017.01)i; A61K 47/62(2017.01)i; A61K 47/68(2017.01)i; A61K 49/00(2006.01)i; C12N 15/10(2006.01)i; C09B 23/04(2006.01)i; C09B 23/14(2006.01)i; G01N 33/53(2006.01)i; G01N 21/64(2006.01)i
FI: C09B23/14 CSP; C09K11/06; G01N21/64 F; A61K49/00; C07K1/13; C12N15/10 Z; A61K47/68; A61K47/62; A61K47/54; A61K47/61; A61K47/59; C09B23/04; G01N33/53 D; G01N33/53 M; C07F5/02 D CSP

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））

C07F5/02; C09K11/06; C07K1/13; G01N21/64; A61K47/54; A61K47/59; A61K47/61; A61K47/62; A61K47/68; A61K49/00; C12N15/10; C09B23/04; C09B23/14; G01N33/53

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 | １９７１－２０２１年 |
| 日本国実用新案登録公報 | １９９６－２０２１年 |
| 日本国登録実用新案公報 | １９９４－２０２１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）

CAplus/REGISTRY (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 |
|---|---|---|
| X | JP 2000-29213 A (関西ペイント株式会社) 28.01.2000 (2000-01-28)<br>表１の化合物１－１３ | 1,3-4,6,8-9,17 |
| A | 全文 | 2,5,7,10-16,18-20 |
| X | JP 2000-29205 A (関西ペイント株式会社) 28.01.2000 (2000-01-28)<br>表１の化合物１－１３ | 1,3-4,6,8-9,17 |
| A | 全文 | 2,5,7,10-16,18-20 |
| X | JP 2000-3038 A (関西ペイント株式会社) 07.01.2000 (2000-01-07)<br>表１の化合物１－１３ | 1,3-4,6,8-9,17 |
| A | 全文 | 2,5,7,10-16,18-20 |
| X | JP 11-352675 A (関西ペイント株式会社) 24.12.1999 (1999-12-24)<br>表１の化合物１－１３ | 1,3-4,6,8-9,17 |
| A | 全文 | 2,5,7,10-16,18-20 |

☑ 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抵触するものではなく、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 |
|---|---|
| 13.01.2021 | 26.01.2021 |

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）
井上　明子 4Z 3230
電話番号 03-3581-1101 内線 3480

国際調査報告

| 国際出願番号 |
| --- |
| PCT/JP2020/043224 |

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 |
| --- | --- | --- |
| X | JP 2000-47384 A (関西ペイント株式会社) 18.02.2000 (2000-02-18)<br>表１の化合物１－４５ | 1-2,8-9,17 |
| A | 全文 | 3-7,10-16,18-20 |
| X | JP 2002-169275 A (三井化学株式会社) 14.06.2002 (2002-06-14)<br>表２の化合物２－２３ | 1-2,8-9,17 |
| A | 全文 | 3-7,10-16,18-20 |
| X | JP 2000-47379 A (関西ペイント株式会社) 18.02.2000 (2000-02-18)<br>表１の化合物１－４５ | 1-2,8-9,17 |
| A | 全文 | 3-7,10-16,18-20 |
| X | JP 2000-56458 A (関西ペイント株式会社) 25.02.2000 (2000-02-25)<br>表１の化合物１－３６ | 1,8-9,17 |
| A | 全文 | 2-7,10-16,18-20 |
| X | JP 2000-56450 A (関西ペイント株式会社) 25.02.2000 (2000-02-25)<br>表１の化合物１－３６ | 1,8-9,17 |
| A | 全文 | 2-7,10-16,18-20 |
| A | JP 2019-172826 A (富士フイルム株式会社) 10.10.2019 (2019-10-10)<br>全文 | 1-20 |
| A | JP 2019-144145 A (富士フイルム株式会社) 29.08.2019 (2019-08-29)<br>全文 | 1-20 |
| A | US 2015/0252061 A1 (THE GENERAL HOSPITAL CORPORATION) 10.09.2015 (2015-09-10)<br>全文 | 1-20 |
| A | WIJESOORIYA, C. S. et al., A photoactivatable BODIPY probe for localization-based super-resolution cellular imaging, Angewandte chemie, International Edition, 2018, Vol.57, No.39, p.12685-12689<br>Figure 1 | 1-20 |

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2020/043224

| 引用文献 | 公表日 | パテントファミリー文献 | 公表日 |
|---|---|---|---|
| JP 2000-29213 A | 28.01.2000 | （ファミリーなし） | |
| JP 2000-29205 A | 28.01.2000 | （ファミリーなし） | |
| JP 2000-3038 A | 07.01.2000 | US 6106999 A<br>表１の化合物１－１３<br>KR 10-1999-0023527 A | |
| JP 11-352675 A | 24.12.1999 | US 6106999 A<br>表１の化合物１－１３<br>KR 10-1999-0023527 A | |
| JP 2000-47384 A | 18.02.2000 | （ファミリーなし） | |
| JP 2002-169275 A | 14.06.2002 | （ファミリーなし） | |
| JP 2000-47379 A | 18.02.2000 | （ファミリーなし） | |
| JP 2000-56458 A | 25.02.2000 | （ファミリーなし） | |
| JP 2000-56450 A | 25.02.2000 | （ファミリーなし） | |
| JP 2019-172826 A | 10.10.2019 | （ファミリーなし） | |
| JP 2019-144145 A | 29.08.2019 | EP 3531132 A1<br>全文 | |
| US 2015/0252061 A1 | 10.09.2015 | WO 2014/055505 A1 | |