【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第３部門第２区分
【発行日】平成19年9月13日(2007.9.13)

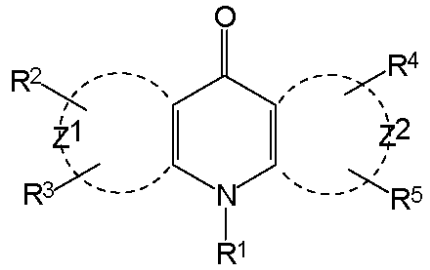
【公表番号】特表2007-500182(P2007-500182A)
【公表日】平成19年1月11日(2007.1.11)
【年通号数】公開・登録公報2007-001
【出願番号】特願2006-521676(P2006-521676)
【国際特許分類】
Ｃ０７Ｊ　43/00　(2006.01)
Ｇ０１Ｎ　21/78　(2006.01)
Ｃ１２Ｑ　 1/26　(2006.01)
Ｃ０９Ｂ　57/00　(2006.01)
Ｃ０９Ｂ　15/00　(2006.01)
Ｃ０９Ｂ　48/00　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ０７Ｊ　43/00
Ｇ０１Ｎ　21/78　Ｃ
Ｃ１２Ｑ　 1/26
Ｃ０９Ｂ　57/00　Ｚ
Ｃ０９Ｂ　15/00
Ｃ０９Ｂ　48/00

【手続補正書】
【提出日】平成19年7月30日(2007.7.30)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
以下の式Ｉの化合物であって、アロマターゼ活性を有する酵素の作用を受けた際に蛍光寿命に関して当該化合物の蛍光信号が変化することを特徴とする化合物。

Ｒ－Ｌ－Ｓ　（Ｉ）

式中、Ｒは蛍光染料分子であり、
Ｌは適宜存在し得る連結基であって、１個以上の原子を含み、Ｎ、Ｏ及びＳなどの他の原子も含んでいてもよい炭化水素鎖を含む連結基であり、
Ｓは酵素アロマターゼの基質基を含む分子である。
【請求項２】
Ｒが次の式ＩＩのアクリドン染料である、請求項１記載の化合物。

【化１】



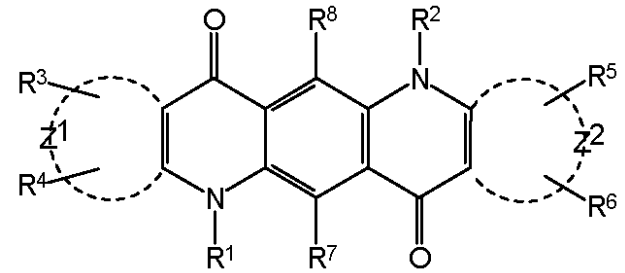
(II)

式中、基Ｒ[2]及びＲ[3]はＺ[1]環構造に結合しており、基Ｒ[4]及びＲ[5]はＺ[2]環構造に結合しており、
Ｚ[1]及びＺ[2]は独立に１又は２個の芳香族又は複素芳香族縮合環系を完成するのに必要な原子を表し、各環は、炭素原子と適宜酸素、窒素及びイオウから選択される２個以下の原子とから選択される５又は６個の原子を有し、
Ｒ[1]、Ｒ[2]、Ｒ[3]、Ｒ[4]及びＲ[5]は独立に水素、ハロゲン、アミド、ヒドロキシル、シアノ、アミノ、モノ又はジＣ[1]～Ｃ[4]アルキル置換アミノ、スルフヒドリル、カルボニル、Ｃ[1]～Ｃ[6]アルコキシ、アリール、ヘテロアリール、Ｃ[1]～Ｃ[20]アルキル、アラルキル、基－Ｅ－Ｆ（式中、Ｅは炭素、窒素、酸素、イオウ及びリン原子からなる群から選択される１～６０個の原子の鎖を有するスペーサー基であり、Ｆは目標結合基である）、並びに基－（ＣＨ[2]－）[n]Ｙ（式中、Ｙはスルホネート、サルフェート、ホスホネート、ホスフェート、四級アンモニウム及びカルボキシルから選択され、ｎは０又は１～６の整数である）から選択される。

【請求項３】

Ｒが次の式ＩＩＩのキナクリドン染料である、請求項１記載の化合物。

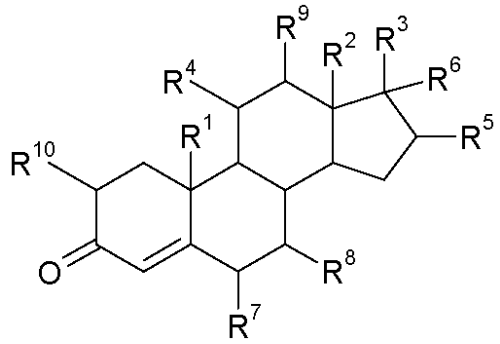
【化２】



(III)

式中、基Ｒ[3]及びＲ[4]はＺ[1]環構造に結合しており、基Ｒ[5]及びＲ[6]はＺ[2]環構造に結合しており、
Ｚ[1]及びＺ[2]は独立に１又は２個の芳香族又は複素芳香族縮合環系を完成するのに必要な原子を表し、各環は、炭素原子と適宜酸素、窒素及びイオウから選択される２個以下の原子とから選択される５又は６個の原子を有し、
Ｒ[1]、Ｒ[2]、Ｒ[3]、Ｒ[4]、Ｒ[5]、Ｒ[6]、Ｒ[7]及びＲ[8]は独立に水素、ハロゲン、アミド、ヒドロキシル、シアノ、アミノ、モノ又はジＣ[1]～Ｃ[4]アルキル置換アミノ、スルフヒドリル、カルボニル、カルボキシル、Ｃ[1]～Ｃ[6]アルコキシ、アリール、ヘテロアリール、Ｃ[1]～Ｃ[20]アルキル、アラルキル、基－Ｅ－Ｆ（式中、Ｅは炭素、窒素、酸素、イオウ及びリン原子からなる群から選択される１～６０個の原子の鎖を有するスペーサー基であり、Ｆは目標結合基である）、並びに基－（ＣＨ[2]－）[n]Ｙ（式中、Ｙはスルホネート、サルフェート、ホスホネート、ホスフェート、四級アンモニウム及びカルボキシルから選択され、ｎは０又は１～６の整数である）から選択される。

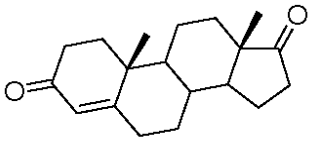
【請求項４】
Ｌは、炭素原子から選択される１～４０個の連結原子を含有し、－ＮＲ’－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＣＨ＝ＣＨ－、－Ｃ＝Ｃ－、－ＣＯＮＨ－及びフェニレニル基（式中、Ｒ’は水素及び$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{4}$アルキルから選択される）から選択される、１個以上の基を適宜含んでもよいリンカー基である、請求項１乃至請求項３のいずれか１項記載の化合物。
【請求項５】
Ｌが２～３０個の原子を含有するリンカー基である、請求項１乃至請求項４のいずれか１項記載の化合物。
【請求項６】
Ｌが６～２０個の原子を含有するリンカー基である、請求項１乃至請求項５のいずれか１項記載の化合物。
【請求項７】
Ｌが以下の基から選択されるリンカー基である、請求項１乃至請求項６のいずれか１項記載の化合物。
$\{(-CHR'-)_{p}-Q-(-CHR'-)_{r}\}_{s}$
式中、各ＱはＣＨＲ’、ＮＲ’、Ｏ、－ＣＨ＝ＣＨ－、Ａｒ及びＣＯＮＨ－から選択され、
各Ｒ’は独立に水素又は$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{4}$アルキルであり、
各ｐは独立に０～５であり、
各ｒは独立に０～５であり、
ｓは１又は２である。
【請求項８】
Ｑが－ＣＨＲ’－、－Ｏ－及び－ＣＯＮＨ－（式中、Ｒ’は水素又は$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{4}$アルキルである）からなる群から選択される請求項７記載の化合物。
【請求項９】
Ｓが次の式ＩＸの酵素アロマターゼの基質基である、請求項１乃至請求項８のいずれか１項記載の化合物。
【化３】



(IX)

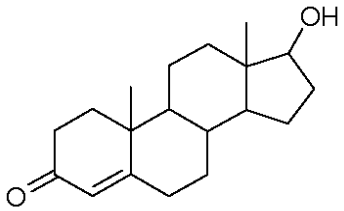
式中、R^{1}及びR^{2}はＨ及びメチルから選択され、
R^{3}はＨ、$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{8}$アルキル、シアノ、－$(ＣＨ_{2})_{k}$－$ＯＲ^{a}$、－$(ＣＨ_{2})_{k}$－$ＣＯＯＲ^{a}$、－$(ＣＨ_{2})_{k}$－$ＳＯ_{3}Ｒ^{a}$、－$(ＣＨ_{2})_{k}$－ＣＨＯ、－$(ＣＨ_{2})_{k}$－$ＮＲ^{b}Ｒ^{c}$及び－$(ＣＨ_{2})_{k}$－$ＣＯＲ^{d}$から選択され、
R^{4}はＨ、－$ＣＯＲ^{a}$及びヒドロキシルから選択され、
R^{5}はＨ、－$ＣＯＲ^{a}$、ヒドロキシル、シアノ及びハライドから選択され、
R^{6}はＨ及びヒドロキシルから選択され、
R^{7}、R^{8}及びR^{9}は独立にＨ、－$ＣＯＲ^{a}$及びヒドロキシルから選択され、
R^{10}はＨ及びハライドから選択され、
但し、R^{a}はＨ、及びＯＨで適宜置換された$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{4}$アルキルから選択され、
R^{b}及びR^{c}はＨ及び$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{4}$アルキルから選択され、

R^dはC_1～C_8アルキル、又は$COOR^a$、OH、OR^a若しくはSO_3R^aで適宜置換されたC_1～C_8アルキルから選択され、
kは０又は１～８の整数である。
【請求項１０】
基Ｓが、４－アンドロステン－３－オン、４－コレステン－３－オン、４－エストレン－３－オン及び４－プレグネン－３－オンの誘導体からなるステロイドファミリーの群から選択されるステロイドである、請求項９記載の化合物。
【請求項１１】
Ｓが次の式Ｘのアンドロステンジオン又はその誘導体である、請求項１乃至請求項１０のいずれか１項記載の化合物。
【化４】



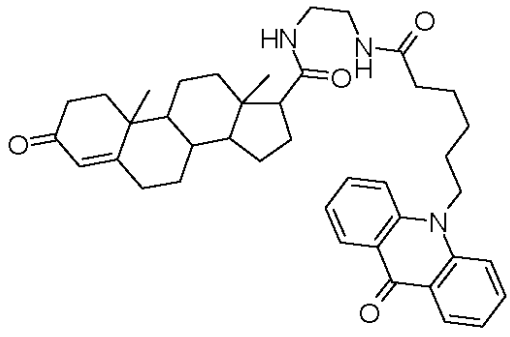
(X)

【請求項１２】
Ｓが次の式ＸＩのテストステロン又はその誘導体である、請求項１乃至請求項１０のいずれか１項記載の化合物。
【化５】



(XI)

【請求項１３】
次の式ＸＸの請求項１乃至請求項１２のいずれか１項記載の化合物。
【化６】



(XX)

【請求項１４】
試料のアロマターゼ活性を測定する方法であって、
ｉ）前記試料に請求項１乃至請求項１３のいずれか１項記載の化合物を加える前に、その蛍光寿命を測定する段階と、
ｉｉ）アロマターゼ活性に好都合な条件下で、前記試料に前記化合物を加える段階と、
ｉｉｉ）段階ｉｉ）に続いて、前記化合物の蛍光寿命の変化を測定する段階と
を含み、

蛍光寿命の前記変化を、アロマターゼ活性を測定するために使用することができる方法。
【請求項１５】
試料が抽出物、細胞、組織及び有機体からなる群から選択される請求項１４記載の方法。
【請求項１６】
アロマターゼの活性に対する効果を測定しようとする試験薬剤のスクリーニング方法であって、
ｉ）前記薬剤の存在下で請求項１４又は請求項１５記載の方法を実施する段階と、
ｉｉ）前記薬剤の存在下での前記アロマターゼの活性と、前記薬剤の非存在下でのアロマターゼの活性の既知の値とを比較する段階とを含み、
前記薬剤の存在下での前記アロマターゼの活性と、前記薬剤の非存在下での前記既知の値との差がアロマターゼの活性に対する試験薬剤の効果を示す方法。
【請求項１７】
前記既知の値を電子データベースに保存する請求項１６記載の方法。
【請求項１８】
アロマターゼの活性に対する効果を測定しようとする試験薬剤のスクリーニング方法であって、当該方法が
ｉ）前記薬剤の存在下及び非存在下で請求項１４又は請求項１５記載の方法を実施する段階と、
ｉｉ）前記薬剤の存在下及び非存在下で前記酵素の活性を測定する段階
を含み、
前記薬剤の存在下と非存在下での前記アロマターゼの活性の差が、アロマターゼの活性に対する試験薬剤の効果を示す方法。
【請求項１９】
前記薬剤の非存在下と存在下でのアロマターゼの活性の前記活性の差を標準化し、電子的に保存し、基準化合物の値と比較する請求項１８記載の方法。
【請求項２０】
請求項１乃至請求項１３のいずれか１項記載の化合物の組織内での分布を測定する方法であって、
前記化合物は、前記組織内の生細胞によって取り込み可能であり、
ｉ）無細胞環境又は親宿主細胞において前記化合物の蛍光寿命を測定する段階と、
ｉｉ）前記化合物を、１以上の細胞又はアロマターゼを過剰発現するように操作した細胞に加える段階と、
ｉｉｉ）段階ｉｉ）に続いて前記化合物の蛍光強度又は寿命を測定する段階と
を含み、
蛍光寿命の変化がアロマターゼ活性を示し、それを使用して前記化合物の分布を測定することができる方法。
【請求項２１】
第１の被検体の組織内での前記化合物の分布を、第２の被検体の組織内での前記化合物の分布と比較する請求項２０記載の方法。
【請求項２２】
前記被検体が哺乳動物、植物、昆虫、魚、トリ、ハエ、線虫及び藻類からなる群から選択される請求項２１記載の方法。
【請求項２３】
前記哺乳動物がマウス又はラットである請求項２２記載の方法。
【請求項２４】
アロマターゼ活性を測定するためのインビトロ又はインビボ画像形成用プローブとしての請求項１乃至請求項１３のいずれか１項記載の化合物の使用。
【請求項２５】
第１の被検体から採取した試料中のアロマターゼの活性と、第２の健康な対照被検体から採取した試料中のアロマターゼの活性とを比較することを含む、被検体においてアロマタ

ーゼ活性の増大によって引き起こされた疾患を、請求項１４記載の方法を用いて診断する方法であって、前記第２の健康な対照被検体に対する前記第１の被検体から採取した試料の測定された活性の増大が疾患を示す方法。

【請求項２６】

ｉ）請求項１乃至請求項１３のいずれか１項記載の化合物と、ｉｉ）アッセイ緩衝液と、適宜ｉｉｉ）停止緩衝液とを含むキット。