

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2016-521254

(P2016-521254A)

(43) 公表日 平成28年7月21日 (2016.7.21)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07F 7/10 (2006.01)	C O 7 F 7/10 C S P Q	2 G O 4 3
G01N 21/64 (2006.01)	G O 1 N 21/64 Z N A F	4 C O 5 7
G01N 33/533 (2006.01)	G O 1 N 33/533	4 C O 7 6
C09K 11/06 (2006.01)	C O 9 K 11/06	4 C O 8 4
C07H 23/00 (2006.01)	C O 7 H 23/00	4 C O 8 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 102 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2016-503068 (P2016-503068)
 (86) (22) 出願日 平成26年3月14日 (2014.3.14)
 (85) 翻訳文提出日 平成27年10月5日 (2015.10.5)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2014/029350
 (87) 国際公開番号 W02014/144793
 (87) 国際公開日 平成26年9月18日 (2014.9.18)
 (31) 優先権主張番号 61/794,188
 (32) 優先日 平成25年3月15日 (2013.3.15)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

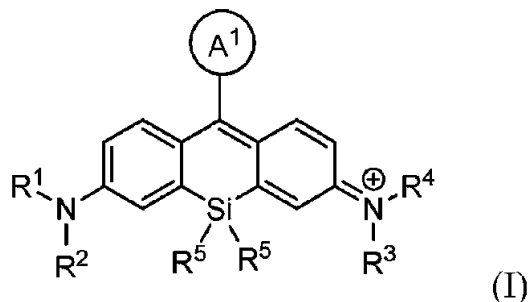
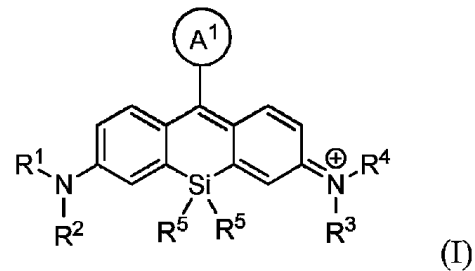
(71) 出願人 508064849
 ビセン メディカル, インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02451, ウォーザン, ウィンター ストリート 940
 (74) 代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策
 (74) 代理人 100113413
 弁理士 森下 夏樹
 (74) 代理人 100181674
 弁理士 飯田 貴敏
 (74) 代理人 100181641
 弁理士 石川 大輔

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 *in vitro* および *in vivo* イメージングおよび検出のための置換シラキサンテニウム赤色～近赤外蛍光色素

(57) 【要約】

本発明は、蛍光性化合物のファミリーを提供する。上記化合物は、一つまたは複数の生体分子、例えばタンパク質、核酸、および治療用小分子に化学的に連結され得る置換シラキサンテニウム化合物である。化合物は、様々な医学的、生物学的および診断的用途でのイメージングのために使用され得る。上記色素は、*in vitro*、*in vivo* および *ex vivo* イメージング用途で特に有用である。一実施形態では、本発明は、赤色から近赤外の吸収および発光波長を有する蛍光性 9 - 置換 3, 6 - ジアミノ 10 - シラキサンテニウム蛍光色素のファミリーを提供する。

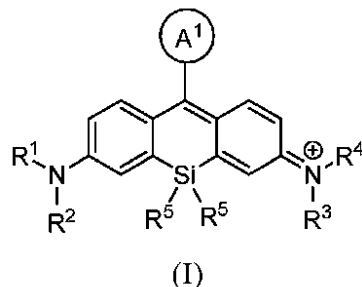


【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I によって表される化合物

【化 60】



10

またはその塩であって、式中、

A¹ は、フェニルまたは 5 ~ 6 員のヘテロアリールであり、それらの各々は、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、-CO₂H、-CO₂⁻、-CO₂-（任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル）、-C(O)N(R⁶)(R⁷)、-N(R⁶)C(O)(R⁷)、アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル）、ニトロ、アルキレン-O-アルキレン-CO₂H、アルキレン-O-アルキレン-CO₂⁻、-SO₂-N(R⁶)-アルキレン-CO₂H、-SO₂-N(R⁶)-アルキレン-CO₂⁻、-N(R⁶)-SO₂-アルキレン-CO₂H、-N(R⁶)-SO₂-アルキレン-CO₂⁻、-SO₂-N(R⁶)-（任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル）、-SO₂-N(R⁶)₂、-SO₂-N(R⁶)-アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル）、X¹、およびアルキレン-X¹ からなる群から独立に選択される 1、2 または 3 個の置換基で任意選択により置換されており、

20

X¹ は、出現するごとに独立に、エステル、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネート、-NH₂-OH、-SH、-SO₃H、カルボキシル、-C(O)Cl、-(CO)O(CO)R⁸、-CON(H)NH₂、アセトキシメチルエステル、置換もしくは非置換 N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換もしくは非置換 N-ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル、ニトロフェニルエステル、フルオロフェニルエステル、アルキン、アジド、ヒドラジド、アルコキシルアミン、-NCS、-CHO、-COCH₂I、ホスホルアミダイト、フタルアミド、またはマレイミドを表し、

30

R¹ および R² は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、もしくは -C(O)N(R⁶)(任意選択により置換されているアルキル)を表すか、または R¹ および R² は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R³ および R⁴ は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、もしくは -C(O)N(R⁶)(任意選択により置換されているアルキル)を表すか、または R³ および R⁴ は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

40

R⁵ は、出現するごとに独立に、C₁ ~ C₆ アルキルを表し、これは任意選択により、官能基、エステル、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネート、-NH₂-OH、-SH、-SO₃H、カルボキシル、-C(O)Cl、-(CO)O(CO)R⁸、-CON(H)NH₂、アセトキシメチルエステル、置換もしくは非置換 N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換もしくは非置換 N-ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル、ニトロフェニルエステル、フルオロフェニルエステル、アルキン、アジド、ヒドラジド、アルコキシルアミン、-NCS、-CHO、-COCH₂I、ホスホルアミダイト、フタルアミド、またはマレイミドを担持

50

しており、

R^6 は、出現するごとに独立に、水素またはアルキルを表し、

R^7 は、出現するごとに独立に、水素、アルキル、アルキレン - CO_2H 、アルキレン - $C(O)N(R^6)_2$ 、アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル)、任意選択により置換されているヘテロシクリル、アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロアリアル)、またはヒドロキシアルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル)を表し、

R^8 は、出現するごとに独立に、水素、アルキルまたはアリアルを表す、化合物またはその塩。

【請求項 2】

A^1 が、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシ、アルコキシ、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2^-$ 、 $-CO_2-$ (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、 $-C(O)N(R^6)(R^7)$ 、 $-N(R^6)C(O)(R^7)$ 、アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル)、ニトロ、アルキレン - O - アルキレン - CO_2H 、アルキレン - O - アルキレン - CO_2^- 、 $-SO_2-N(R^6)-$ アルキレン - CO_2H 、 $-SO_2-N(R^6)-$ アルキレン - CO_2^- 、 $-N(R^6)-SO_2-$ アルキレン - CO_2H 、 $-N(R^6)-SO_2-$ アルキレン - CO_2^- 、 $-SO_2-N(R^6)-$ (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、 $-SO_2-N(R^6)_2$ 、および $-SO_2-N(R^6)-$ アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル) からなる群から独立に選択される 1、2 または 3 個の置換基で任意選択により置換されている 5 ~ 6 員のヘテロアリアルである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

A^1 が、チオフェニル、フラニルまたはピリジニルであり、それらの各々が、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシ、アルコキシ、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2^-$ 、 $-CO_2-$ (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、 $-C(O)N(R^6)(R^7)$ 、 $-N(R^6)C(O)(R^7)$ 、アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル)、ニトロ、アルキレン - O - アルキレン - CO_2H 、アルキレン - O - アルキレン - CO_2^- 、 $-SO_2-N(R^6)-$ アルキレン - CO_2H 、 $-SO_2-N(R^6)-$ アルキレン - CO_2^- 、 $-N(R^6)-SO_2-$ アルキレン - CO_2H 、 $-N(R^6)-SO_2-$ アルキレン - CO_2^- 、 $-SO_2-N(R^6)-$ (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、 $-SO_2-N(R^6)_2$ 、および $-SO_2-N(R^6)-$ アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル) からなる群から独立に選択される 1、2 または 3 個の置換基で任意選択により置換されている、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 4】

A^1 が、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシ、アルコキシ、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2^-$ 、 $-CO_2-$ (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、 $-C(O)N(R^6)(R^7)$ 、 $-N(R^6)C(O)(R^7)$ 、アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル)、ニトロ、アルキレン - O - アルキレン - CO_2H 、アルキレン - O - アルキレン - CO_2^- 、 $-SO_2-N(R^6)-$ アルキレン - CO_2H 、 $-SO_2-N(R^6)-$ アルキレン - CO_2^- 、 $-N(R^6)-SO_2-$ アルキレン - CO_2H 、 $-N(R^6)-SO_2-$ アルキレン - CO_2^- 、 $-SO_2-N(R^6)-$ (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、 $-SO_2-N(R^6)_2$ 、および $-SO_2-N(R^6)-$ アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル) からなる群から独立に選択される 1、2 または 3 個の置換基で任意選択により置換されているフェニルである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 5】

R^1 および R^2 が、それぞれ独立に、水素もしくはアルキルを表すか、または R^1 および R^2 が、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、4 ~ 6 員の飽和複素環式環を形成する、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 6】

R^3 および R^4 が、それぞれ独立に、水素もしくはアルキルを表すか、または R^3 および R^4 が、それらが結合している窒素原子と一緒に、4 ~ 6 員の飽和複素環式環を形成する、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 7】

R^5 がメチルである、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 8】

R^6 が水素である、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 9】

R^7 が、出現するごとに独立に、水素、アルキル、アルキレン - CO_2H 、またはアルキレン - $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^6)_2$ を表す、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の化合物。

10

【請求項 10】

本明細書の表 1 または 2 に提示されている化合物である、請求項 1 に記載の化合物または薬学的に許容されるその塩。

【請求項 11】

本明細書の表 1 または 2 に提示されている分子を含む、請求項 1 に記載の化合物または薬学的に許容されるその塩。

【請求項 12】

約 500 nm ~ 約 1100 nm の範囲の吸収および発光波長を有する、請求項 1 から 11 のいずれか一項に記載の化合物。

20

【請求項 13】

約 500 nm ~ 約 600 nm の範囲の吸収および発光波長を有する、請求項 1 から 11 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 14】

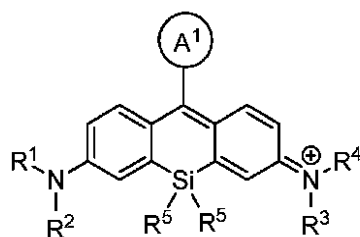
生物学的分子と、請求項 1 から 13 のいずれか一項に記載の化合物との反応によって形成された、コンジュゲート化合物。

【請求項 15】

- L - BM によって定義される 1、2 または 3 個の基で置換されている、式 I の化合物であるコンジュゲート化合物またはその塩であって、ここで、L は結合またはリンカーであり、- BM は生物学的分子のラジカルであり、式 I は、以下の

30

【化 61】



(I)

40

によって表され、式中、

A^1 は、フェニルまたは 5 ~ 6 員のヘテロアリールであり、それらの各々は、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CO}_2^-$ 、 $-\text{CO}_2-$ (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^6)(\text{R}^7)$ 、 $-\text{N}(\text{R}^6)\text{C}(\text{O})(\text{R}^7)$ 、アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル)、ニトロ、アルキレン - O - アルキレン - CO_2H 、アルキレン - O - アルキレン - CO_2^- 、 $-\text{SO}_2 - \text{N}(\text{R}^6) - \text{アルキレン} - \text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2 - \text{N}(\text{R}^6) - \text{アルキレン} - \text{CO}_2^-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^6) - \text{SO}_2 - \text{アルキレン} - \text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{N}(\text{R}^6) - \text{SO}_2 - \text{アルキレン} - \text{CO}_2^-$ 、 $-\text{SO}_2 - \text{N}(\text{R}^6) -$ (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、 $-\text{SO}_2 - \text{N}(\text{R}^6)_2$ 、 $-\text{SO}_2 - \text{N}(\text{R}^6) -$

50

アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル)、 X^1 、およびアルキレン - X^1 からなる群から独立に選択される 1、2 または 3 個の置換基で任意選択により置換されており、

X^1 は、出現するごとに独立に、エステル、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネート、 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、カルボキシル、 $-C(O)Cl$ 、 $-(CO)O(CO)R^8$ 、 $-CON(H)NH_2$ 、アセトキシメチルエステル、置換もしくは非置換 N - ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換もしくは非置換 N - ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル、ニトロフェニルエステル、フルオロフェニルエステル、アルキン、アジド、ヒドラジド、アルコキシルアミン、 $-NCS$ 、 $-CHO$ 、 $-COCH_2I$ 、ホスホルアミダイト、フタルアミド、またはマレイミドを表し、

R^1 および R^2 は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、もしくは $-C(O)N(R^6)$ (任意選択により置換されているアルキル) を表すか、または R^1 および R^2 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R^3 および R^4 は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、もしくは $-C(O)N(R^6)$ (任意選択により置換されているアルキル) を表すか、または R^3 および R^4 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R^5 は、出現するごとに独立に、 $C_1 \sim 6$ アルキルを表し、これは任意選択により、官能基、エステル、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネート、 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、カルボキシル、 $-C(O)Cl$ 、 $-(CO)O(CO)R^8$ 、 $-CON(H)NH_2$ 、アセトキシメチルエステル、置換もしくは非置換 N - ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換もしくは非置換 N - ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル、ニトロフェニルエステル、フルオロフェニルエステル、アルキン、アジド、ヒドラジド、アルコキシルアミン、 $-NCS$ 、 $-CHO$ 、 $-COCH_2I$ 、ホスホルアミダイト、フタルアミド、またはマレイミドを担持しており、

R^6 は、出現するごとに独立に、水素またはアルキルを表し、

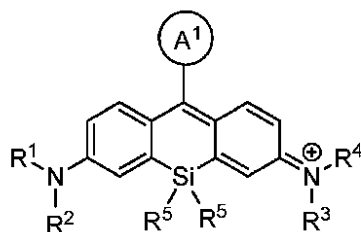
R^7 は、出現するごとに独立に、水素、アルキル、アルキレン - CO_2H 、アルキレン - $C(O)N(R^6)_2$ 、アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル)、任意選択により置換されているヘテロシクリル、アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロアリール)、またはヒドロキシルアルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル) を表し、

R^8 は、出現するごとに独立に、水素、アルキルまたはアリールを表す、
 コンジュゲート化合物またはその塩。

【請求項 16】

式 I I によって表されるコンジュゲート化合物

【化 62】



(II)

またはその塩であって、式中、

A^1 は、フェニルまたは 5 ~ 6 員のヘテロアリールであり、それらの各々は、 $-C(O)$

10

20

30

40

50

- ψ 、- $C(O)N(R^6)$ - ψ 、アルキレン - $C(O)$ - ψ 、アルキレン - $C(O)N(R^6)$ - ψ 、- $N(R^6)C(O)$ - ψ 、アルキレン - $C(O)$ - ψ 、アルキレン - $N(R^6)C(O)$ - ψ 、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、- CO_2H 、- CO_2^- 、- CO_2 - (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、- $C(O)N(R^6)(R^7)$ 、- $N(R^6)C(O)(R^7)$ 、アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル)、ニトロ、アルキレン - O - アルキレン - CO_2H 、アルキレン - O - アルキレン - CO_2^- 、- $SO_2 - N(R^6)$ - アルキレン - CO_2H 、- $SO_2 - N(R^6)$ - アルキレン - CO_2^- 、- $N(R^6) - SO_2 -$ アルキレン - CO_2H 、 $N(R^6) - SO_2 -$ アルキレン - CO_2^- 、- $SO_2 - N(R^6) -$ (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、- $SO_2 - N(R^6)_2$ 、および - $SO_2 - N(R^6) -$ (アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル) からなる群から独立に選択される 1、2 または 3 個の置換基で任意選択により置換されており、

ψ は、生物学的分子のラジカルであり、

R^1 および R^2 は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、もしくは - $C(O)N(R^6)$ (任意選択により置換されているアルキル) を表すか、または R^1 および R^2 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R^3 および R^4 は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、もしくは - $C(O)N(R^6)$ (任意選択により置換されているアルキル) を表すか、または R^3 および R^4 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R^5 は、出現するごとに独立に、 $C_1 - 6$ アルキルを表し、これは任意選択により、官能基、エステル、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネート、- NH_2 、- OH 、- SH 、- SO_3H 、カルボキシル、- $C(O)Cl$ 、- $(CO)O(CO)R^8$ 、- $CON(H)NH_2$ 、アセトキシメチルエステル、置換もしくは非置換 N - ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換もしくは非置換 N - ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル、ニトロフェニルエステル、フルオロフェニルエステル、アルキン、アジド、ヒドラジド、アルコキシルアミン、- NCs 、- CHO 、- $COCH_2I$ 、ホスホルアミダイト、フタルアミド、またはマレイミドを担持しており、

R^6 は、出現するごとに独立に、水素またはアルキルを表し、

R^7 は、出現するごとに独立に、水素、アルキル、アルキレン - CO_2H 、アルキレン - $C(O)N(R^6)_2$ 、アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル)、任意選択により置換されているヘテロシクリル、アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロアリール)、またはヒドロキシルアルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル) を表す、

コンジュゲート化合物またはその塩。

【請求項 17】

前記生物学的分子が、ポリペプチド、核酸または細胞である、請求項 14 から 16 のいずれか一項に記載のコンジュゲート化合物。

【請求項 18】

式 IIII によって表される化合物

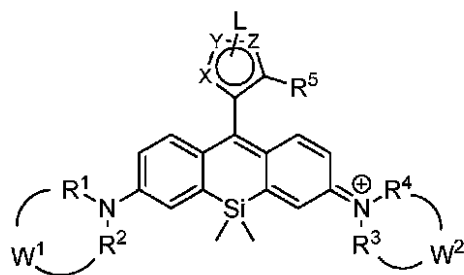
10

20

30

40

【化 6 3】



(III)

10

またはその塩であって、式中、

X、YおよびZは、独立に、O、S、N、Si、Cまたは(C=C)であり、

Lは、存在しないか、またはリンカー部分であり、これは任意選択により、カルボキシレート、カルボキシアルキル、マレイミド、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネート、-NH₂、-OH、-SH、-SO₃H、カルボキシル、-COCl、-(CO)O(CO)R⁷、-CONHNH₂、アセトキシメチルエステル、置換および非置換N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換および非置換N-ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル、ニトロ-もしくはフルオロもしくはフェノールエステル、アジド、-NCs、-CHO、アジド、-COCH₂I、ホスホルアミダイト、フタルアミド、またはマレイミドなどの官能基または反応基を担持しており、R⁷は、H、アルキルおよびアリールからなる群から選択され、

R¹、R²、R³およびR⁴は、独立に、H、メチル、エチル、アルキル、または環式アルキル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、または複素環式アルキニル、カルボキシアルキル、アミノアルキル、ハロアルキル、アジドアルキル、アミド、アミノ酸、またはペプチドであり、

R⁵は、存在しないか、またはH、C₁~₂₀アルキル、カルボキシル、カルボキシアルキル、スルホネート、スルホンアミド、ハロゲン、ヒドロキシ、アミン、アミド、ニトロ、シアノ、O-アルキル、S-アルキル、シリル、O-シリルメチル、エチル、イソプロピル、カルボキシアルキル、ハロアルキル、アルキルスルフィド、トリフルオロメチル、ヒドラジドであり、

W¹およびW²は、独立に、存在しないか、または脂肪族炭素、窒素、酸素、硫黄もしくはケイ素を含有し、R²およびR³もしくはR⁴およびR⁵と共に、任意選択によりさらなる置換基と共に4~9員の環を形成する環式基である、

化合物またはその塩。

【請求項 19】

細胞膜を透過することができる、請求項 18 に記載の化合物。

【請求項 20】

750 ダルトン未満の分子量を有する、請求項 18 に記載の化合物。

【請求項 21】

約400 Da ~ 750 Daの分子量を有する、請求項 18 に記載の化合物。

【請求項 22】

500 ダルトン未満の分子量を有する、請求項 18 に記載の化合物。

【請求項 23】

約500 nm ~ 約1100 nmの範囲の吸収および発光波長を有する、請求項 18 に記載の化合物。

【請求項 24】

約500 nm ~ 約600 nmの範囲の吸収および発光波長を有する、請求項 18 に記載の化合物。

【請求項 25】

40

50

R^1 が、水素またはメチルである、請求項 18 に記載の化合物。

【請求項 26】

複数の化学修飾基を含む、請求項 18 から 25 のいずれか一項に記載の化合物。

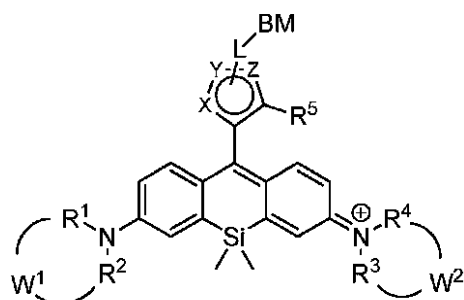
【請求項 27】

遠赤から近赤外領域において蛍光性である、請求項 18 から 26 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 28】

式 I V によって表される蛍光性生体分子

【化 6 4】



(IV)

またはその塩であって、式中、

X、YおよびZは、独立に、O、S、N、Si、Cまたは(C=C)であり、

Lは、連結基であり、前記連結基は任意選択により、カルボキシレート、カルボキシアルキル、マレイミド、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネート、 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、カルボキシル、 $-COCl$ 、 $-(CO)O(CO)R^7$ 、 $-CONHNH_2$ 、アセトキシメチルエステル、置換および非置換N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換および非置換N-ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル、ニトロ-もしくはフルオロもしくはフェノールエステル、アジド、 $-NCS$ 、 $-CHO$ 、アジド、 $-COCH_2I$ 、ホスホルアミダイト、フタルアミド、またはマレイミドなどの官能基または反応基を担持しており、 R^7 は、H、アルキルおよびアリールからなる群から選択され、

BMは、生体分子であり、前記蛍光性生体分子は、少なくとも一つのBMを含み、

R^1 、 R^2 、 R^3 および R^4 は、独立に、H、メチル、エチル、アルキル、または環式アルキル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、または複素環式アルキニル、カルボキシアルキル、アミノアルキル、ハロアルキル、アジドアルキル、アミド、アミノ酸、またはペプチドであり、

R^5 は、存在しないか、またはH、 C_{1-20} アルキル、カルボキシル、カルボキシアルキル、スルホネート、スルホンアミド、ハロゲン、ヒドロキシ、アミン、アミド、ニトロ、シアノ、O-アルキル、S-アルキル、シリル、O-シリルメチル、エチル、イソプロピル、カルボキシアルキル、ハロアルキル、アルキルスルフィド、トリフルオロメチル、ヒドラジドであり、

W^1 および W^2 は、独立に、存在しないか、または脂肪族炭素、窒素、酸素、硫黄もしくはケイ素を含有し、 R^2 および R^3 もしくは R^4 および R^5 と共に、任意選択によりさらなる置換基と共に4~9員の環を形成する環式基である、
蛍光性生体分子またはその塩。

【請求項 29】

前記BMが、細胞、タンパク質または核酸である、請求項 28 に記載の蛍光性生体分子。

【請求項 30】

請求項 1 から 16 のいずれか一項に記載の化合物および薬学的に許容される賦形剤を含

10

20

30

40

50

む、医薬組成物。

【請求項 3 1】

請求項 1 7 から 2 7 のいずれか一項に記載の化合物、または請求項 2 8 もしくは 2 9 に記載の蛍光性生体分子、および薬学的に許容される賦形剤を含む、医薬組成物。

【請求項 3 2】

(a) 対象に、請求項 1 から 2 7 のいずれか一項に記載の化合物を投与するステップと、
(b) 前記化合物を、前記対象内に分布させるステップと、
(c) 前記化合物によって放出されたシグナルを検出するステップとを含む、*in vivo* イメージング方法。

10

【請求項 3 3】

(a) 対象に、蛍光色素を含む請求項 1 から 2 7 のいずれか一項に記載の化合物を投与するステップと、
(b) 前記化合物を、前記対象内に分布させるステップと、
(c) 前記対象を、前記蛍光色素によって吸収可能な波長の光に曝露するステップと、
(d) 前記化合物によって放出されたシグナルを検出するステップとを含む、*in vivo* 光学イメージング方法。

【請求項 3 4】

(a) 試料を、請求項 1 から 2 7 のいずれか一項に記載の化合物と接触させるステップと、
(b) 前記化合物を、生物学的標的に結合させるステップと、
(c) 任意選択により、結合していない化合物を除去するステップと、
(d) 前記化合物から放出されたシグナルを検出するステップとを含む、*in vitro* イメージング方法。

20

【請求項 3 5】

前記試料が、生物学的試料である、請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 6】

(a) 試料を、請求項 1 から 2 7 のいずれか一項に記載の化合物と接触させるステップと、
(b) 前記化合物を、生物学的標的に結合させるステップと、
(c) 任意選択により、結合していない化合物を除去するステップと、
(d) 前記化合物から放出されたシグナルを検出するステップとを含む、*ex vivo* イメージング方法。

30

【請求項 3 7】

前記試料が、生物学的試料である、請求項 3 6 に記載の方法。

【請求項 3 8】

前記化合物によって放出された前記シグナルが、画像を構築するために使用される、請求項 3 2 から 3 4 および 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記画像が、断層画像である、請求項 3 2 から 3 4 および 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 4 0】

前記化合物から放出された前記シグナルが、前記化合物の活性化および/もしくは生物学的標的への結合を示すものであるか、または前記試料における分析物の存在、非存在もしくは量を、任意選択により、時間分解蛍光測定の場合と同様に時間分解能で決定するためのものである、請求項 3 2 から 3 4 および 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 1】

前記シグナルが、酵素の存在によって増幅され、ここで、前記酵素は、前記生物学的標的に結合しているかまたは前記生物学的標的に近接しており、そして、前記酵素の活性により、前記蛍光性化合物の前記標的、分析物または周囲領域への結合または蓄積がもたら

50

される、請求項 3 4、3 6 および 4 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 2】

前記化合物が、適切なアクセプターまたはドナーへの、または適切なアクセプターまたはドナーからの蛍光共鳴エネルギー移動を受ける、請求項 3 2 から 3 4、3 6 および 4 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 3】

a) 適切な波長の入射光で励起され得る一重項酸素感受物質 (ドナー) を含有する、分析物に特異的な結合パートナー、ならびに

b) 一重項酸素感受性部分および前記化合物を含む、分析物に特異的な第 2 の結合パートナー

10

を提供するステップをさらに含む、請求項 3 2 から 3 4、3 6、4 0 および 4 2 のいずれか一項に記載の方法であって、

分析物に特異的な前記第 2 の結合パートナーが、一重項酸素の存在下で光を放出し、それによって前記分析物の存在または量が決定される、方法。

【請求項 4 4】

前記検出ステップが、細胞の分析または画像化を可能にする、請求項 3 4、3 6、4 0 および 4 2 から 4 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記細胞が、一群の細胞または無傷組織の一部であり、前記分析または画像化することが、顕微鏡、フローサイトメーターまたはイメージングフローサイトメーターを使用して実施される、請求項 4 4 に記載の方法。

20

【請求項 4 6】

前記検出ステップが、複数の試料を逐次的に画像化するために反復される、請求項 3 4、3 6、4 0 および 4 2 から 4 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記検出ステップが、多重アッセイ、ハイコンテンツスクリーニングアッセイまたはハイコンテンツ分析アッセイで、一つの試料または一組の試料における複数のバイオマーカー、標的または分析物の分析を可能にする、請求項 3 4、3 6、4 0 および 4 2 から 4 3 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 4 8】

ステップ (a) ~ (c) が、所定の時間間隔で反復され、それによって前記対象において前記放出されたシグナルの経時的な評価を可能にする、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 4 9】

ステップ (a) ~ (d) が、所定の時間間隔で反復され、それによって前記対象において前記放出されたシグナルの経時的な評価を可能にする、請求項 3 3、3 4 および 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 0】

前記対象が、動物またはヒトである、請求項 3 2 または 3 3 に記載の方法。

【請求項 5 1】

40

ステップ (a) において、シグナル特性が互いに識別可能な 2 種類またはそれより多くの種類のイメージングプローブが、対象に投与され、前記イメージングプローブの少なくとも一つが、シラキサンテニウム化合物である、請求項 3 2 から 3 4 または 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 2】

前記照射および検出ステップが、内視鏡、カテーテル、断層撮影システム、手持ち式の光学イメージングシステム、または術中顕微鏡を使用して実施される、請求項 3 2 から 3 4 または 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 3】

放出されたシグナルの存在、非存在またはレベルが、病状を示す、請求項 3 2 から 3 4

50

または 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 4】

疾患を検出および / またはモニタするために使用される、請求項 3 2 から 3 4 または 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 5】

前記疾患が、骨疾患、がん、心血管疾患、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、心虚血、心筋再かん流傷害、環境疾患、皮膚疾患、免疫疾患、遺伝性疾患、感染性疾患、炎症性疾患、代謝性疾患、神経変性疾患、眼疾患、および呼吸器疾患からなる群から選択される、請求項 5 4 に記載の方法。

【請求項 5 6】

ステップ (a) において、シラキサニウム化合物で標識された細胞が、前記対象に投与される、請求項 3 2 から 3 4 または 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 7】

前記シラキサニウム化合物によって放出された前記シグナルが、前記細胞の輸送および局在をモニタするために使用される、請求項 5 6 に記載の方法。

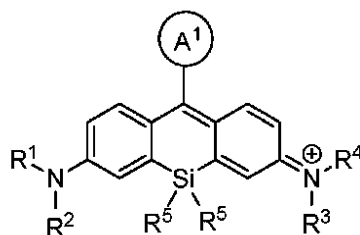
【請求項 5 8】

疾患領域に局在し、実効線量の放射線を送達する放射標識を含む、請求項 1 から 2 7 のいずれか一項に記載の化合物を、対象に全身的または局所的に投与するステップを含む、対象の疾患を処置する方法。

【請求項 5 9】

式 I によって表される化合物

【化 6 5】



(I)

またはその塩であって、式中、

A¹ は、フェニルまたは 5 ~ 6 員のヘテロアリールであり、それらの各々は、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、-CO₂H、-CO₂⁻、-CO₂- (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、-C(O)N(R⁶)(R⁷)、-N(R⁶)C(O)(R⁷)、アルキレン- (任意選択により置換されているヘテロシクリル)、ニトロ、アルキレン-O-アルキレン-CO₂H、アルキレン-O-アルキレン-CO₂⁻、-SO₂-N(R⁶)-アルキレン-CO₂H、-SO₂-N(R⁶)-アルキレン-CO₂⁻、-N(R⁶)-SO₂-アルキレン-CO₂H、-N(R⁶)-SO₂-アルキレン-CO₂⁻、-SO₂-N(R⁶)-(任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、-SO₂-N(R⁶)₂、-SO₂-N(R⁶)-アルキレン-(任意選択により置換されているヘテロシクリル)、X¹、およびアルキレン-X¹ からなる群から独立に選択される 1、2 または 3 個の置換基で任意選択により置換されており、

X¹ は、出現するごとに独立に、マレイミド、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネート、-NH₂、-OH、-SH、-SO₃H、カルボキシル、-C(O)Cl、-(CO)O(CO)R⁸、-CON(H)NH₂、アセトキシメチルエステル、置換もしくは非置換 N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換もしくは非置換 N-ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル、ニトロ-フェノールエステル、フルオロ-フェノールエステル、アジド、-NCS、-CHO

、 $-COCH_2I$ 、ホスホルアミダイト、フタルアミド、またはマレイミドを表し、
 R^1 および R^2 は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキルもしくは $-C(O)N(R^6)$ (任意選択により置換されているアルキル) を表すか、または R^1 および R^2 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R^3 および R^4 は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキルもしくは $-C(O)N(R^6)$ (任意選択により置換されているアルキル) を表すか、または R^3 および R^4 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R^5 は、出現するごとに独立に、 $C_1 \sim 6$ アルキルを表し、

R^6 は、出現するごとに独立に、水素またはアルキルを表し、

R^7 は、出現するごとに独立に、水素、アルキル、アルキレン- CO_2H 、アルキレン- $C(O)N(R^6)_2$ 、アルキレン-(任意選択により置換されているヘテロシクリル)、任意選択により置換されているヘテロシクリル、アルキレン-(任意選択により置換されているヘテロアリール)、またはヒドロキシアルキレン-(任意選択により置換されているヘテロシクリル)を表し、

R^8 は、出現するごとに独立に、水素、アルキルまたはアリールを表す、

化合物またはその塩。

【請求項 60】

A^1 が、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2^-$ 、 $-CO_2-$ (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、 $-C(O)N(R^6)(R^7)$ 、 $-N(R^6)C(O)(R^7)$ 、アルキレン-(任意選択により置換されているヘテロシクリル)、ニトロ、アルキレン-O-アルキレン- CO_2H 、アルキレン-O-アルキレン- CO_2^- 、 $-SO_2-N(R^6)-アルキレン-CO_2H$ 、 $-SO_2-N(R^6)-アルキレン-CO_2^-$ 、 $-N(R^6)-SO_2-アルキレン-CO_2H$ 、 $-N(R^6)-SO_2-アルキレン-CO_2^-$ 、 $-SO_2-N(R^6)-$ (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、 $-SO_2-N(R^6)_2$ 、および $-SO_2-N(R^6)-アルキレン-$ (任意選択により置換されているヘテロシクリル) からなる群から独立に選択される 1、2 または 3 個の置換基で任意選択により置換されている 5 ~ 6 員のヘテロアリールである、請求項 59 に記載の化合物。

【請求項 61】

A^1 が、チオフェニル、フラニルまたはピリジニルであり、それらの各々が、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2^-$ 、 $-CO_2-$ (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、 $-C(O)N(R^6)(R^7)$ 、 $-N(R^6)C(O)(R^7)$ 、アルキレン-(任意選択により置換されているヘテロシクリル)、ニトロ、アルキレン-O-アルキレン- CO_2H 、アルキレン-O-アルキレン- CO_2^- 、 $-SO_2-N(R^6)-アルキレン-CO_2H$ 、 $-SO_2-N(R^6)-アルキレン-CO_2^-$ 、 $-N(R^6)-SO_2-アルキレン-CO_2H$ 、 $-N(R^6)-SO_2-アルキレン-CO_2^-$ 、 $-SO_2-N(R^6)-$ (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、 $-SO_2-N(R^6)_2$ 、および $-SO_2-N(R^6)-アルキレン-$ (任意選択により置換されているヘテロシクリル) からなる群から独立に選択される 1、2 または 3 個の置換基で任意選択により置換されている、請求項 59 に記載の化合物。

【請求項 62】

A^1 が、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2^-$ 、 $-CO_2-$ (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、 $-C(O)N(R^6)(R^7)$ 、 $-N(R^6)C(O)(R^7)$ 、アルキレン-(任意選択により置換されているヘテロシクリル)、ニトロ、アルキレン-O-アルキレン- CO_2H 、アルキレン-O-アルキレン- CO_2^- 、 $-SO_2-N(R^6)-アルキレン-CO_2H$ 、 $-SO_2-N(R^6)-アルキレン-CO_2^-$ 、 $-N(R^6)-SO_2-アルキレン-CO_2H$ 、 $-N(R^6)-SO_2-アルキレン-CO_2^-$ 、 $-SO_2-N(R^6)-$ (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、 $-SO_2-N(R^6)_2$ 、および $-SO_2-N(R^6)-アルキレン-$ (任意選択により置換されているヘテロシクリル) からなる群から独立に選択される 1、2 または 3 個の置換基で任意選択により置換されている、請求項 59 に記載の化合物。

10

20

30

40

50

ン - CO₂H、-N(R⁶)-SO₂-アルキレン-CO₂⁻、-SO₂-N(R⁶)-
 (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、-SO₂-N(R⁶)₂、お
 よび-SO₂-N(R⁶)-アルキレン-(任意選択により置換されているヘテロシクリ
 ル)からなる群から独立に選択される1、2または3個の置換基で任意選択により置換さ
 れているフェニルである、請求項59に記載の化合物。

【請求項63】

R¹およびR²が、それぞれ独立に、水素もしくはアルキルを表すか、またはR¹およ
 びR²が、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、4～6員の飽和複素環式環を
 形成する、請求項59から62のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項64】

R³およびR⁴が、それぞれ独立に、水素もしくはアルキルを表すか、またはR³およ
 びR⁴が、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、4～6員の飽和複素環式環を
 形成する、請求項59から63のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項65】

R⁵がメチルである、請求項59から64のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項66】

R⁶が水素である、請求項59から65のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項67】

R⁷が、出現するごとに独立に、水素、アルキル、アルキレン-CO₂H、またはアル
 キレン-C(O)N(R⁶)₂を表す、請求項59から66のいずれか一項に記載の化合
 物。

【請求項68】

本明細書の表1または2に提示されている化合物である、請求項59に記載の化合物ま
 たは薬学的に許容されるその塩。

【請求項69】

本明細書の表1または2に提示されている分子を含む、請求項59に記載の化合物また
 は薬学的に許容されるその塩。

【請求項70】

約500nm～約1100nmの範囲の吸収および発光波長を有する、請求項59から
 69のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項71】

約500nm～約600nmの範囲の吸収および発光波長を有する、請求項59から6
 9のいずれか一項に記載の化合物。

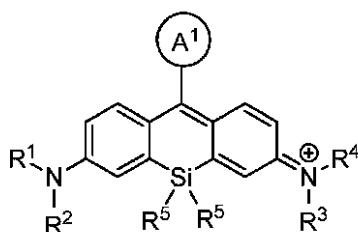
【請求項72】

生物学的分子と、請求項59から71のいずれか一項に記載の化合物との反応によって
 形成された、コンジュゲート化合物。

【請求項73】

-L-BMによって定義される1、2または3個の基で置換されている、式Iの化合物
 であるコンジュゲート化合物またはその塩であって、ここで、Lは結合またはリンカーで
 あり、-BMは生物学的分子のラジカルであり、式Iは、以下の

【化66】



(I)

によって表され、式中、

10

20

30

40

50

A¹ は、フェニルまたは 5 ~ 6 員のヘテロアリールであり、それらの各々は、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、-CO₂H、-CO₂⁻、-CO₂-（任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル）、-C(O)N(R⁶)(R⁷)、-N(R⁶)C(O)(R⁷)、アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル）、ニトロ、アルキレン-O-アルキレン-CO₂H、アルキレン-O-アルキレン-CO₂⁻、-SO₂-N(R⁶)-アルキレン-CO₂H、-SO₂-N(R⁶)-アルキレン-CO₂⁻、-N(R⁶)-SO₂-アルキレン-CO₂H、-N(R⁶)-SO₂-アルキレン-CO₂⁻、-SO₂-N(R⁶)-（任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル）、-SO₂-N(R⁶)₂、-SO₂-N(R⁶)-アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル）、X¹、およびアルキレン-X¹ からなる群から独立に選択される 1、2 または 3 個の置換基で任意選択により置換されており、

X¹ は、出現するごとに独立に、マレイミド、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネート、-NH₂、-OH、-SH、-SO₃H、カルボキシル、-C(O)Cl、-(CO)O(CO)R⁸、-CON(H)NH₂、アセトキシメチルエステル、置換もしくは非置換 N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換もしくは非置換 N-ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル、ニトロ-フェノールエステル、フルオロ-フェノールエステル、アジド、-NCS、-CHO、-COCH₂I、ホスホルアミダイト、フタルアミド、またはマレイミドを表し、

R¹ および R² は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキルもしくは -C(O)N(R⁶)(任意選択により置換されているアルキル)を表すか、または R¹ および R² は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R³ および R⁴ は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキルもしくは -C(O)N(R⁶)(任意選択により置換されているアルキル)を表すか、または R³ および R⁴ は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R⁵ は、出現するごとに独立に、C₁ ~ 6 アルキルを表し、

R⁶ は、出現するごとに独立に、水素またはアルキルを表し、

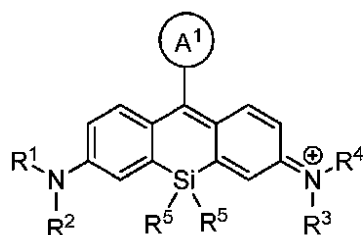
R⁷ は、出現するごとに独立に、水素、アルキル、アルキレン-CO₂H、アルキレン-C(O)N(R⁶)₂、アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル）、任意選択により置換されているヘテロシクリル、アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロアリール）、またはヒドロキシルアルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル）を表し、

R⁸ は、出現するごとに独立に、水素、アルキルまたはアリールを表す、
 コンジュゲート化合物またはその塩。

【請求項 74】

式 I I によって表されるコンジュゲート化合物

【化 67】



(II)

またはその塩であって、式中、

A¹ は、フェニルまたは 5 ~ 6 員のヘテロアリールであり、それらの各々は、-C(O)

10

20

30

40

50

- ψ 、- $C(O)N(R^6)$ - ψ 、アルキレン - $C(O)$ - ψ 、アルキレン - $C(O)N(R^6)$ - ψ 、- $N(R^6)C(O)$ - ψ 、アルキレン - $C(O)$ - ψ 、アルキレン - $N(R^6)C(O)$ - ψ 、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、- CO_2H 、- CO_2^- 、- CO_2 - (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、- $C(O)N(R^6)(R^7)$ 、- $N(R^6)C(O)(R^7)$ 、アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル)、ニトロ、アルキレン - O - アルキレン - CO_2H 、アルキレン - O - アルキレン - CO_2^- 、- SO_2 - $N(R^6)$ - アルキレン - CO_2H 、- SO_2 - $N(R^6)$ - アルキレン - CO_2^- 、- $N(R^6)$ - SO_2 - アルキレン - CO_2H 、 $N(R^6)$ - SO_2 - アルキレン - CO_2^- 、- SO_2 - $N(R^6)$ - (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、- SO_2 - $N(R^6)_2$ 、および - SO_2 - $N(R^6)$ - (アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル) からなる群から独立に選択される 1、2 または 3 個の置換基で任意選択により置換されており、

ψ は、生物学的分子のラジカルであり、

R^1 および R^2 は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、もしくは - $C(O)N(R^6)$ (任意選択により置換されているアルキル) を表すか、または R^1 および R^2 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R^3 および R^4 は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、もしくは - $C(O)N(R^6)$ (任意選択により置換されているアルキル) を表すか、または R^3 および R^4 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R^5 は、出現するごとに独立に、 $C_1 - 6$ アルキルを表し、

R^6 は、出現するごとに独立に、水素またはアルキルを表し、

R^7 は、出現するごとに独立に、水素、アルキル、アルキレン - CO_2H 、アルキレン - $C(O)N(R^6)_2$ 、アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル)、任意選択により置換されているヘテロシクリル、アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロアリール)、またはヒドロキシルアルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル) を表す、

コンジュゲート化合物またはその塩。

【請求項 75】

前記生物学的分子が、ポリペプチド、核酸または細胞である、請求項 72 から 74 のいずれか一項に記載のコンジュゲート化合物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2013年3月15日に出願された米国仮特許出願第 61 / 794, 188 号の利益を主張する。この米国仮特許出願は、その全体が参考として本明細書に援用される。

【0002】

発明の分野

本発明は、蛍光性色素 (fluorescent dye) (蛍光色素 (fluorochrome)) を使用する組成物および方法を提供する。この組成物は、一般に、様々な医学的、診断的および生物学的用途で使うことができるシラキサントニウム (silaxanthonium) 蛍光色素を含有している。蛍光色素によって、in vitro、ex vivo および in vivo イメージング用途における蛍光検出が可能になる。

【背景技術】

【0003】

10

20

30

40

50

背景

光学イメージング方法および検出方法は、他のイメージング方法および検出方法を上回るいくつかの利点を提供する。組織、臓器または対象全体のイメージングでは、典型的に、赤色および近赤外（NIR）範囲（600～1200nm）の光を使用して、組織浸透性を最大限にし、天然の生物学的吸収剤、例えばヘモグロビンおよび水による吸収、ならびに生物学的分子による自己蛍光を最小限に抑える。光学イメージングにより、高い感受性を提供することができ、試験対象または実験技師を電離放射線に曝露する必要がなくなり、複数の識別可能なプローブ（分子イメージングにおいて重要となり得る）を同時に使用することができ、機能的イメージング、検出、診断的用途、顕微鏡法、サイトメトリー、組織イメージング、ならびに *in vitro* および *in vivo* イメージングにおいて重要な、高い時間および空間分解能が提供される。

10

【0004】

蛍光イメージングまたは検出では、規定帯域幅を有するフィルタ光またはレーザーが、励起光源として使用される。励起光は、身体組織または他の分析用試料、例えば顕微鏡スライド、細胞もしくはマルチウェルプレート中を移動し、励起光は、レポーター分子（例えば、コントラスト剤、感作物質、蛍光色素またはイメージングプローブ）に遭遇すると、吸収される。次に、レポーター分子は光を放出するかまたは励起シグナルもしくはエネルギーを、励起光とは異なる検出可能な特性を有する光を放出できる別の分子に伝達する。次に、放出されて生じた光を使用し、試料におけるレポーターの画像を構築し、量を定量化することができる。ほとんどの光学イメージング技術は、レポーター分子として有機および無機蛍光性色素（蛍光色素）を使用することに依存している。

20

【0005】

蛍光性色素または蛍光色素は、一般に公知であり、蛍光顕微鏡法、蛍光免疫アッセイおよびフローサイトメトリーなどの手順によって、様々な生物学的および非生物学的材料の蛍光標識および検出に使用される。このような材料を蛍光性色素で標識するための典型的な方法は、色素分子上の適切な基と、標識される材料上の適合性のある基との結合を用いて蛍光性複合体を作り出すことである。このように、例えば細胞、組織、アミノ酸、タンパク質、抗体、薬物、ホルモン、ヌクレオチド、核酸、脂質および多糖等の材料は、化学的に標識され、検出もしくは定量化されてよいが、または標的材料に特異的に結合することができ、かつ蛍光検出方法によって検出され得る蛍光プローブとして使用されてよい。明るい蛍光性色素によって、高い感度を有する結合材料の検出または局在化が可能になる。

30

【0006】

蛍光性色素を用いる光学イメージングは、*in vitro* および *in vivo* の両方で、他の様式（modality）を上回る重要な利点を有する強力なイメージング様式として浮上してきた。遠赤から近赤外（NIR）領域（630～900nm）において蛍光を発する色素は、水およびヘモグロビンによって吸収される、より長波長の光およびより短波長の光と比較して、これらの波長の光が優れた組織浸透性を有することに起因して、*in vivo* イメージングには必須である。またNIR色素は、組織自己蛍光の典型的な範囲のはるかに外側で吸収および放出し、これにより、組織および細胞の *in vitro* イメージングに極めてよく適している。

40

【0007】

長年、インドシアニン色素は、*in vivo* でのNIR蛍光イメージングに使用されてきた主なクラスの色素であり、インドシアニングリーン（分子量775Da）は、ヒトにおける診断上の使用に承認されている、最も知られているNIR色素の一つである。さらに、カルボン酸などの様々な連結官能基を担持しているインドシアニンの数々の誘導体型が、バイオコンジュゲーションおよびイメージング用途における使用のために開発されてきた。しかし、インドシアニンファミリーを含む、NIR領域において蛍光性である現在の分子構築物は、サイズが大きく（>750Da）、水溶性が低い傾向があり、複数のスルホネート基などの可溶化基を組み込む必要がある。次に、得られた色素は、非常に低

50

い細胞膜透過性を示し、細胞内構造を標的化するには、それらの使用が制限される。

【 0 0 0 8 】

*in vitro*および*in vivo*の両方で、NIRイメージングを細胞内標的まで到達させるよう拡大するために、細胞膜透過性が高く、より小さい新規の遠赤からNIR蛍光性のフルオロフォアを開発する必要性が高まっている。このような目的に合った理想的なフルオロフォアは、サイズが小さく（＜750Da）、良好な水溶性を有しており、遠赤からNIR範囲の吸光度および発光プロファイルと高い消衰係数および量子収率を有しており、生細胞膜透過性が高く、非常に重要な置換基を変更することにより調整できる光学特性を有することができる。

【 0 0 0 9 】

それにも関わらず、様々な医学的、診断的および生物学的用途で使用する新しい色素が、現在も必要とされている。*in vitro*、*ex vivo*および*in vivo*用途において十分に働く色素が必要である。

【 発明の概要 】

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 1 0 】

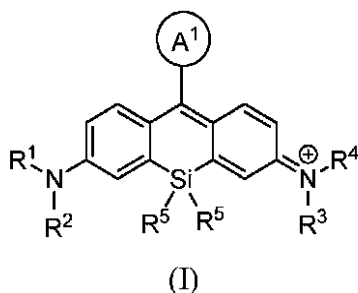
発明の概要

本発明は、*in vitro*および*in vivo*の両方でイメージングおよび検出用途に使用できる、遠赤およびNIRスペクトルに該当するように選択された置換基を使用することにより十分に赤方偏移しているシラキサンテニウムコアベースの蛍光性化合物（蛍光色素）を記載する。一実施形態では、本発明は、赤色から近赤外の吸収および発光波長を有する蛍光性9-置換3,6-ジアミノ10-シラキサンテニウム蛍光色素のファミリーを提供する。ある特定の実施形態では、本発明の蛍光色素は、低分子量（約750Da未満）を有し、著しい細胞透過性を呈し、シラキサンテニウムコアに関して選択された置換基または置換基の位置/配向の変更によって改変することができる光学特性を有する。

【 0 0 1 1 】

一実施形態では、本発明は、式Iによって表される化合物

【 化 1 】

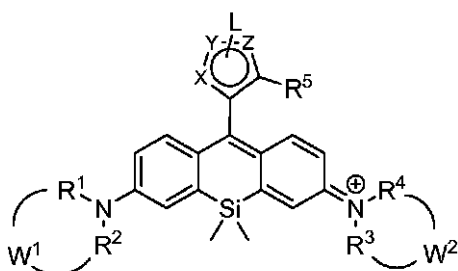


またはその塩を提供し、式中、変数は、詳細な説明で定義される通りである。

【 0 0 1 2 】

別の実施形態では、本発明は、次式によって表される蛍光性シラキサンテニウム蛍光色素

【 化 2 】



10

20

30

40

50

およびその塩を提供し、式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 L 、 W^1 、 W^2 、 X 、 Y および Z は、以下でより詳細に記載される。一実施形態では、 W^1 または W^2 は、脂肪族または芳香族炭素環式または複素環式部分を含む。別の実施形態では、 X 、 Y または Z は、ヘテロ原子、例えば N 、 O 、 S または Si を含む。別の実施形態では、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 L 、 W^1 、 W^2 、 X 、 Y または Z によって表される置換基は、例えば、光学吸光度もしくは発光波長の偏移を誘発するか、または量子収率もしくは光安定性を増大させることによって、9-シラキサニウムコアの光学特性を改善する。他の実施形態では、本発明は、細胞膜を透過することができる化合物を提供する。

【0013】

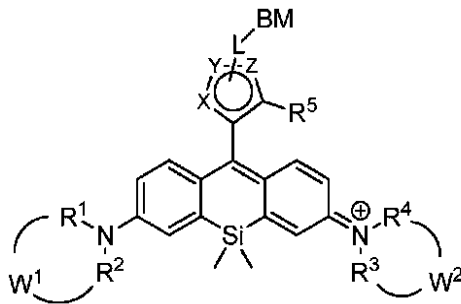
ある特定の実施形態では、化合物は、750ダルトン未満の分子量を有する。他の実施形態では、化合物は、約400～750ダルトンの分子量を有する。他の実施形態では、化合物は、500ダルトン未満の分子量を有する。

【0014】

ある特定の実施形態では、化合物は、約500nm～1100nmの範囲の吸収および発光波長を有する。他の実施形態では、化合物は、約600nm～850nmの範囲の吸収および発光波長を有する。他の実施形態では、化合物は、遠赤から近赤外領域において蛍光性である。

【0015】

ある特定の実施形態では、化合物は、以下によって表される蛍光性生体分子【化3】



またはその塩であり、式中、 X 、 Y および Z は、独立に、 O 、 S 、 N 、 Si 、 C または($C=C$)であり、 L は、連結基であり、これは任意選択により、カルボキシレート、カルボキシアリル、マレイミド、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネート、 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、カルボキシル、 $-COCl$ 、 $-(CO)O(CO)R^7$ 、 $-CONHNH_2$ 、アセトキシメチルエステル、置換および非置換 N -ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換および非置換 N -ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル、ニトロ-もしくはフルオロもしくはフェノールエステル、アジド、 $-NCS$ 、 $-CHO$ 、アジド、 $-COCH_2I$ 、ホスホルアミダイト、フタルアミド、またはマレイミドなどの官能基または反応基を担持しており、 R^7 は、 H 、アルキルおよびアリールからなる群から選択され、

BM は、生体分子であり、蛍光性生体分子は、少なくとも一つの BM を含み、

R^1 、 R^2 、 R^3 および R^4 は、独立に、 H 、メチル、エチル、アルキル、または環式アルキル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、または複素環式(例えばモルホリン)アルキニル、カルボキシアリル、アミノアルキル、ハロアルキル、アジドアルキル、アミド、アミノ酸、またはペプチドであり、

R^5 は、存在しないか、または H 、 C_{1-20} アルキル、カルボキシル、カルボキシアリル、スルホネート、スルホンアミド、ハロゲン、ヒドロキシ、アミン、アミド、ニトロ、シアノ、 O -アルキル、 S -アルキル、シリル、 O -シリルメチル、エチル、イソプロピル、カルボキシアリル、ハロアルキル、アルキルスルフィド、トリフルオロメチル、ヒドラジドであり、

W^1 および W^2 は、独立に、存在しないか、または脂肪族炭素、窒素、酸素、硫黄もしくは

はケイ素を含有し、 R^2 および R^3 もしくは R^4 および R^5 と共に、任意選択によりさらなる置換基と共に 4 ~ 9 員の環を形成する環式基である。別の実施形態では、化合物は、細胞、タンパク質または核酸である生体分子 (BM) を含む。

【0016】

ある特定の実施形態では、本発明は、(a) 試料を、本発明の剤と接触させるステップと、(b) 上記剤を、生物学的標的に結合させるステップと、(c) 任意選択により、結合していない剤を除去するステップと、(d) 上記剤から放出されたシグナルを検出し、それによって上記剤が生物学的標的によって活性化されたか、または生物学的標的に結合したかを決定するステップとを含む、*in vitro* イメージング方法を提供する。他の実施形態では、試料は、生物学的試料である。他の実施形態では、蛍光色素によって放出された光学シグナルは、例えば蛍光顕微鏡、フローサイトメーター、または他の適切な検出デバイスを用いて検出される。

10

【0017】

ある特定の実施形態では、本発明は、(a) 試料を、本発明の剤と接触させるステップと、(b) 上記剤を、生物学的標的に結合させるステップと、(c) 任意選択により、結合していない剤を除去するステップと、(d) 上記剤から放出されたシグナルを検出し、それによって上記剤が生物学的標的によって活性化されたか、または生物学的標的に結合したかを決定するステップとを含む、*ex vivo* イメージング方法を提供する。他の実施形態では、試料は、生物学的試料である。

20

【0018】

ある特定の実施形態では、本発明は、(a) 対象に、本発明の剤を投与するステップと、(b) 上記剤を対象内に分布させるステップと、(c) 上記剤によって放出されたシグナルを検出するステップとを含む、*in vivo* イメージング方法を提供する。

【0019】

別の実施形態では、本発明は、(a) 対象、例えば動物またはヒトに、本発明の蛍光色素またはそのコンジュゲートを投与するステップと、(b) 蛍光色素またはそのコンジュゲートを、上記対象内に分布させるか、または生物学的標的と接触、相互作用、もしくは結合させるステップと、(c) 上記対象を、蛍光色素によって吸収可能な波長の光に曝露するステップと、(d) 蛍光色素によって放出された光学シグナルを、例えば内視鏡、カテーテル、断層撮影イメージングシステム、落射蛍光もしくは反射イメージングシステム、手持ち式の光学イメージングシステム、術中システムまたは顕微鏡を用いて検出するステップとを含む、*in vivo* 光学イメージング方法を提供する。

30

【0020】

ある特定の実施形態では、本発明のイメージング方法によって、化合物により放出されたシグナルを使用して、画像を構築することができる。他の実施形態では、画像は、断層画像である。他の実施形態では、ステップ (a) ~ (c) は、所定の時間間隔で反復され、それによって放出されたシグナルを経時的に評価することができる。他の実施形態では、照射および検出ステップは、内視鏡、カテーテル、断層撮影システム、手持ち式の光学イメージングシステム、または術中顕微鏡を使用して実施される。

【0021】

ある特定の実施形態では、ステップ (a) において、シグナル特性が互いに識別可能な二つまたはそれより多くの造影剤または検出剤が、対象に投与されるかまたは生物学的もしくは化学的試料などの試料に適用される場合、造影剤または検出剤の少なくとも一つは、本発明の化合物である。他の実施形態では、本発明の化合物は、本明細書に記載のまたは当技術分野で公知の一つまたは複数の造影剤または検出剤と共に、単一の試料または対象における複数の標的を画像化または検出するための多重アッセイで使用される。

40

【0022】

ある特定の実施形態では、本発明は、生物学的試料などの試料における分析物を検出または定量化するための方法を提供する。他の実施形態では、検出方法は、ホモジニアスアッセイである。他の実施形態では、該方法は、ヘテロジニアスアッセイである。他の実施

50

形態では、該方法は、時間分解蛍光またはルミネッセンスアッセイである。別の実施形態では、該方法は、チラミドシグナル増幅アッセイなどのシグナル増幅アッセイである。

【0023】

ある特定の実施形態では、本発明の材料および方法は、ハイスループットスクリーニングアッセイにおける構成要素として使用される。他の実施形態では、本発明の材料および方法は、ハイコンテンツスクリーニングアッセイにおける構成要素として使用される。

【0024】

ある特定の実施形態では、開示の方法は、疾患または生物学的状態、例えば骨疾患、がん、心血管疾患、皮膚疾患、環境疾患、免疫疾患、感染性疾患、炎症、遺伝性疾患、代謝性疾患、神経変性疾患、眼疾患、および呼吸器疾患を検出、モニタまたは診断するために使用され得る。このような疾患または生物学的状態は、生物学的試料、例えば細胞、組織、生検、または生存対象、例えば動物もしくはヒトにおいて検出、モニタまたは診断され得る。

10

【0025】

ある特定の実施形態では、細胞は、本明細書に記載の蛍光色素化合物で標識され、得られた標識細胞は、対象に投与される。蛍光色素化合物によって放出されたシグナルは、細胞の輸送および局在をモニタするか、または細胞療法の有効性を評価するために使用され得る。

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図1】図1は、本発明のシラキサンテニウム蛍光色素化合物の細胞取込みを示す図である。図1Aは、フローサイトメトリー研究における、非標識細胞と、シアニン色素と、シラキサンテニウム化合物の間の平均蛍光を比較するグラフである。シラキサンテニウムベースの化合物は、シアニンベースの化合物よりも高い細胞蛍光を有した。図1Bは、シラキサンテニウム化合物およびシアニン色素の細胞取込みの蛍光顕微鏡画像である。また、細胞を、細胞内取込みに関する対照としてミトコンドリア色素でインキュベートした。統合した画像によって、シラキサンテニウム化合物は、電荷中性シアニン色素よりも細胞取込みが多かったことが実証される。

20

【0027】

【図2】図2は、ペプチドとコンジュゲートし、内部クエンチされた活性化可能なシラキサンテニウム蛍光色素化合物の吸光度および蛍光を示す図である。図2Aは、クエンチされたシラキサンテニウム化合物に関する活性化スキームを示す図である。ペプチドの酵素的切断によって、クエンチを排除し、蛍光を放出するのに十分なシラキサンテニウムフルオロフォアが除去分離される。図2Bは、クエンチされ、活性化されたシラキサンテニウム蛍光性化合物の吸光度および蛍光の比較を示す図である。ペプチドを切断すると、活性化シラキサンテニウム化合物は、それらのクエンチされた対応物よりもかなり高い吸光度および蛍光を有する。

30

【0028】

【図3】図3は、シラキサンテニウム蛍光性化合物（化合物34）を使用した、マウスにおける蛍光部位の断層画像である。図3は、シラキサンテニウム化合物を投与して1分後～3時間後のマウスの断層画像である。

40

【0029】

【図4】図4は、商業用の蛍光性グルコース分子と比較した、グルコースとコンジュゲートしたシラキサンテニウム化合物の細胞取込みの蛍光顕微鏡画像およびフローサイトメトリ定量化を示す図である。

【0030】

【図5】図5は、HeLa細胞におけるニトロイミダゾールとコンジュゲートしたシラキサンテニウム化合物69の取込みおよび局在を示す図である。

【0031】

【図6A】図6Aは、酵素で切断可能なペプチド配列によって分離された、内部クエンチ

50

された一対のシラキサンテニウム蛍光色素（化合物 78）の酵素切断の際の蛍光活性化を示す図である。

【図 6 B】図 6 B は、酵素活性に関して、クエンチされ、活性化されたシラキサンテニウムベースのプロブの吸光度および発光スペクトルを示す図である。

【0032】

【図 7】図 7 は、静脈内注射後の本発明の蛍光色素化合物の FMT 2500 断層撮影 *in vivo* イメージングシステム（PerkinElmer、マサチューセッツ州 Waltham）による断層撮影イメージングを実証する図である。

【0033】

【図 8】図 8 は、フローサイトメトリーおよび蛍光顕微鏡法による、4T1 細胞における異なる波長プロファイルを有する 2 種の異性体の 9 - チエニルシラキサンテニウム化合物の細胞取込みおよび洗い流しを示す図である。

10

【0034】

【図 9 A】図 9 A は、活性化可能なチエニル化合物 91 のプロテアーゼ活性化を示す図である。

【図 9 B】図 9 B は、フローサイトメトリーおよび蛍光顕微鏡法による、生細胞における酵素で活性化可能ないくつかのシラキサンテニウム化合物 92、93 および 91 の取込みおよび活性化を示す図である。

【図 9 C】図 9 C は、FMT によって断層撮影イメージングされた、生存マウスにおける化合物 92 の *in vivo* 活性化および体内分布を示す図である。

20

【発明を実施するための形態】

【0035】

発明の詳細な説明

本発明は、約 500 nm ~ 約 1100 nm の範囲、より好ましくは約 600 nm ~ 約 900 nm の範囲の波長を有する光を吸収および / または放出するシラキサンテニウム蛍光色素化合物（色素）のファミリーを提供する。ある特定の実施形態では、色素は、約 600 nm ~ 約 850 nm、約 650 nm ~ 約 900 nm、または約 650 nm ~ 約 850 nm の範囲の波長を有する光を吸収および / または放出する。蛍光色素化合物またはそれらの特定のコンジュゲートもしくは誘導体は、細胞膜を透過可能であり、他の分子または生体分子にコンジュゲートすることができ、様々な *in vitro* および *in vivo* イメージング用途において特に有用である。

30

【0036】

一般に、本発明の蛍光色素は、式 $W^1 - (SX)_{Ar} - W^2$ およびその塩によって表すことができ、式中の SX は、3, 6 - ジアミノ - 10 - シラキサンテニウムコアを表し、Ar は、SX コアの 9 位における置換アリールまたはヘテロアリール基を表し、 W^1 および W^2 は、それぞれ独立に、存在しないか、またはそれぞれ、SX コアの 3 - および 6 - アミノ置換基の周りの同じもしくは異なる炭素環式もしくは複素環式基を表す。一つの重要な特色は、置換基 Ar、 W^1 および W^2 が、SX コアの光学特性にどのように影響を及ぼすかということである。本明細書、実施例および添付の特許請求の範囲において用いられる特定の用語を、以下のセクションにまとめて示す。

40

【0037】

I. 定義

本明細書に列挙した定義は、本開示の残りの部分に照らして読まれ、当業者によるように理解されるべきである。別段定義されない限り、本明細書で使用されるあらゆる技術用語および科学用語は、本発明が属する分野の技術者に一般に理解される意味と同じ意味を有する。

【0038】

「化学的に連結されている」は、組み合わされた凝集体が一単位として機能し得るほど十分に強力な原子間の引力によって、接続されていることを意味する。これには、化学結合、例えば共有結合、非共有結合、例えばイオン結合、金属結合、および架橋結合、疎水

50

性相互作用、水素結合、およびファンデルワールス相互作用が含まれるが、これらに限定されない。これには、架橋またはケーシング (c a g i n g) も含まれる。

【 0 0 3 9 】

用語「アルキル」は、当技術分野で認識されており、これには、直鎖アルキル基、分岐鎖アルキル基、シクロアルキル (脂環式) 基、アルキル置換シクロアルキル基、およびシクロアルキル置換アルキル基を含む飽和脂肪族基が含まれる。ある特定の実施形態では、直鎖または分岐鎖アルキルは、その骨格内に約 3 0 個またはそれ未満の炭素原子を有しており (例えば、直鎖では $C_1 \sim C_{30}$ 、分岐鎖では $C_3 \sim C_{30}$)、あるいは約 2 0 個またはそれ未満の炭素原子を有している。同様に、シクロアルキルは、それらの環構造内に約 3 ~ 約 1 0 個の炭素原子を有しており、あるいは環構造内に約 5、6 または 7 個の炭素

10

【 0 0 4 0 】

さらに、用語「アルキル」には、「置換アルキル」が含まれ、これは、炭化水素骨格の一つまたは複数の炭素上の水素と置き換わっている置換基を有するアルキル部分を指す。このような置換基には、例えば、ヒドロキシル、カルボニル (例えば、カルボキシル、アルコキシカルボニル、ホルミルまたはアシル)、チオカルボニル (例えば、チオエステル、チオアセテートまたはチオホルメート)、アルコキシル、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、アルキルチオ、サルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、または芳香族もしくは複素芳香族部分が含まれ得る。適切な場合、炭化水素鎖上の置換部分は、それら自体置換されていてもよいことが、当業者には理解される。例えば、置換アルキルの置換基には、アミノ、アジド、イミノ、アミド、ホスホリル (ホスホネートおよびホスフィネートを含む)、スルホニル (サルフェート、スルホンアミド、スルファモイルおよびスルホネートを含む)、およびシリル基、ならびにエーテル、アルキルチオ、カルボニル (ケトン、アルデヒド、カルボキシレートおよびエステルを含む)、 $-CN$ 等の置換および非置換形態が含まれ得る。例示的な置換アルキルを以下に記載する。シクロアルキルは、アルキル、アルケニル、アルコキシ、アルキルチオ、アミノアルキル、カルボニル置換アルキル、 $-CN$ 等でさらに置換されていてもよい。ある特定の実施形態では、アルキルは非置換である。ある特定の

20

30

【 0 0 4 1 】

用語「ハロアルキル」は、一つまたは複数の水素原子がハロゲンで置き換えられていることを除き、先に定義されているアルキル基を指す。

【 0 0 4 2 】

用語「アルキレン」は、非置換の直鎖または分岐鎖アルキル基のジラジカルを指す。

【 0 0 4 3 】

用語「アラルキル」および「アルキルアリール」は、当技術分野で認識されており、アリール基 (例えば、芳香族または複素芳香族基) で置換されているアルキル基を指す。

【 0 0 4 4 】

用語「アルケニル」および「アルキニル」は、当技術分野で認識されており、前述のアルキルに対して長さおよび可能な置換が類似している不飽和脂肪族基を指すが、それぞれ少なくとも 1 個の二重結合または三重結合を含有している。

40

【 0 0 4 5 】

用語「ヘテロ原子」は、当技術分野で認識されており、炭素または水素以外の任意の元素の原子を指す。例示的なヘテロ原子として、ホウ素、窒素、酸素、リン、硫黄およびセレンが挙げられる。

【 0 0 4 6 】

用語「アリール」は、当技術分野で認識されており、0 ~ 4 個のヘテロ原子を含み得る 5 員、6 員および 7 員の単環芳香族基、例えば、ベンゼン、ピロール、フラン、チオフェン、イミダゾール、オキサゾール、チアゾール、トリアゾール、ピラゾール、ピリジン、

50

ピラジン、ピリダジンおよびピリミジン等を指す。環構造内にヘテロ原子を有するアリール基は、「ヘテロアリール」または「ヘテロ芳香族」と呼ぶこともできる。芳香環は、前述のような置換基、例えばハロゲン、アジド、アルキル、アラルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヒドロキシル、アルコキシル、アミノ、ニトロ、スルフヒドリル、イミノ、アミド、ホスホネート、ホスフィネート、カルボニル、カルボキシル、シリル、エーテル、アルキルチオ、スルホニル、スルホンアミド、スルファモイル、ケトン、アルデヒド、エステル、ヘテロシクリル、芳香族または複素芳香族部分、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 等で、一つまたは複数の環の位置において置換されていてもよい。用語「アリール」には、2個またはそれより多くの炭素が二つの隣接する環（この環は「縮合環」である）に共通しており、環の少なくとも一つが芳香族であり、例えば他の環式環が、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、アリールおよび/またはヘテロシクリルであり得る、二つまたはそれより多くの環式環を有する多環式環系も含まれる。

10

【0047】

用語「ヘテロシクリル」、「複素環式基」または「複素環式部分」は、当技術分野で認識されており、その環構造には1~4個のヘテロ原子が含まれる、3員~約10員の環構造あるいは3員~約7員環を指す。複素環は、多環（polycycle）であってもよい。ヘテロシクリル基には、例えばチオフエン、チアントレン、フラン、ピラン、イソベンゾフラン、クロメン、キサントレン、フェノキサントレン（phenoxanthene）、ピロール、イミダゾール、ピラゾール、イソチアゾール、イソオキサゾール、ピリジン、ピラジン、ピリミジン、ピリダジン、インドリジン、イソインドール、インドール、インダゾール、プリン、キノリジン、イソキノリン、キノリン、フタラジン、ナフチリジン、キノキサリン、キナゾリン、シンノリン、プテリジン、カルバゾール、カルボリン、フェナントリジン、アクリジン、ピリミジン、フェナントロリン、フェナジン、フェナルサジン、フェノチアジン、フラザン、フェノキサジン、ピロリジン、オキサラン、チオラン、オキサゾール、ピペリジン、ピペラジン、モルホリン、ラクトン、ラクタム、例えばアゼチジノンおよびピロリジノン、スルタム、スルトン等が含まれる。複素環式環は、前述のような置換基、例えばハロゲン、アルキル、アラルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヒドロキシル、アミノ、ニトロ、スルフヒドリル、イミノ、アミド、ホスホネート、ホスフィネート、カルボニル、カルボキシル、シリル、エーテル、アルキルチオ、スルホニル、ケトン、アルデヒド、エステル、ヘテロシクリル、芳香族または複素芳香族部分、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 等で、一つまたは複数の位置において置換されていてもよい。

20

30

【0048】

用語「ポリシクリル（polycyclic）」、「多環式基」または「ポリシクロ（polycyclo）部分」は、当技術分野で認識されており、2個またはそれより多くの炭素が二つの隣接する環に共通しており、例えばその環が「縮合環」である、二つまたはそれより多くの環（例えば、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、アリールおよび/またはヘテロシクリル）を指す。隣り合っていない原子を介して結合されている環は、「架橋」環と呼ばれる。多環の環のそれぞれは、前述のような置換基、例えばハロゲン、アルキル、アラルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヒドロキシル、アミノ、ニトロ、スルフヒドリル、イミノ、アミド、ホスホネート、ホスフィネート、カルボニル、カルボキシル、シリル、エーテル、アルキルチオ、スルホニル、ケトン、アルデヒド、エステル、ヘテロシクリル、芳香族または複素芳香族部分、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 等で置換されていてもよい。

40

【0049】

用語「ニトロ」は、当技術分野で認識されており、 $-NO_2$ を指す。用語「ハロゲン」は、当技術分野で認識されており、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ または $-I$ を指す。用語「スルフヒドリル」は、当技術分野で認識されており、 $-SH$ を指す。用語「ヒドロキシル」は、 $-OH$ を意味する。用語「スルホニル」は、当技術分野で認識されており、 $-SO_2$ を指す。「ハロゲン化物」は、ハロゲンの対応するアニオンを指し、「擬ハロゲン化物」

50

は、CottonおよびWilkinsonによる「Advanced Inorganic Chemistry」に記載の定義を有する。

【0050】

用語「アミン」および「アミノ」は、当技術分野で認識されており、非置換および置換アミンの両方を指し、例えば、以下の一般式によって表され得る部分を指す。

【化4】



10

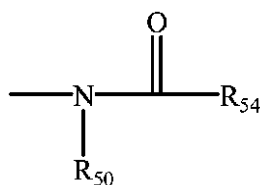
式中、 R_{50} 、 R_{51} 、 R_{52} および R_{53} は、それぞれ独立に、水素、アルキル、アルケニル、 $-(CH_2)_m-R_{61}$ を表すか、または R_{50} および R_{51} は、それらが結合しているN原子と一緒に、環構造内に4～8個の原子を有する複素環を完成し、 R_{61} は、アリール、シクロアルキル、シクロアルケニル、複素環または多環を表し、 m は、0または1～8の範囲の整数である。ある特定の実施形態では、 R_{50} または R_{51} の一方のみがカルボニルであってもよく、例えば R_{50} 、 R_{51} および窒素は、一緒になってイミドを形成しない。他の実施形態では、 R_{50} および R_{51} (および任意選択により R_{52}) は、それぞれ独立に、水素、アルキル、アルケニル、または $-(CH_2)_m-R_{61}$ を表す。したがって、用語「アルキルアミン」には、置換または非置換アルキルが結合している、先に定義したアミン基が含まれ、すなわち、 R_{50} および R_{51} の少なくとも一つは、アルキル基である。

20

【0051】

用語「アシルアミノ」は、当技術分野で認識されており、以下の一般式によって表され得る部分を指す。

【化5】



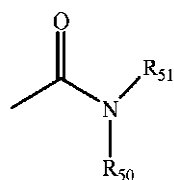
30

式中、 R_{50} は、先に定義した通りであり、 R_{54} は、水素、アルキル、アルケニルまたは $-(CH_2)_m-R_{61}$ を表し、 m および R_{61} は、先に定義した通りである。

【0052】

用語「アミド」は、当技術分野ではアミノ置換カルボニルと認識されており、これには、以下の一般式によって表され得る部分が含まれる。

【化6】



40

式中、 R_{50} および R_{51} は、先に定義した通りである。本発明では、アミドのある特定の実施形態は、不安定であり得るイミドは含まない。

【0053】

用語「アルキルチオ」は、硫黄ラジカルが結合している、先に定義したアルキル基を指す。ある特定の実施形態では、「アルキルチオ」部分は、 $-S-$ アルキル、 $-S-$ アルケニル、 $-S-$ アルキニル、および $-S-(CH_2)_m-R_{61}$ のうちの一つによって表さ

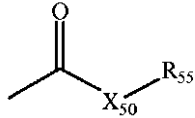
50

れ、 m および R_{61} は、先に定義されている。代表的なアルキルチオ基には、メチルチオ、エチルチオ等が含まれる。

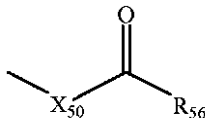
【0054】

用語「カルボニル」は、当技術分野で認識されており、これには、以下の一般式によって表され得るような部分が含まれる。

【化7】



10



式中、 X_{50} は、結合であるかまたは酸素もしくは硫黄を表し、 R_{55} および R_{56} は、水素、アルキル、アルケニル、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{R}_{61}$ または薬学的に許容される塩を表し、 R_{56} は、水素、アルキル、アルケニルまたは $-(\text{CH}_2)_m-\text{R}_{61}$ を表し、 m および R_{61} は、先に定義されている。 X_{50} が酸素であり、 R_{55} または R_{56} が水素ではない場合、式は、「エステル」を表す。 X_{50} が酸素であり、 R_{55} が、先に定義した通りである場合、部分は、本明細書ではカルボキシル基と呼ばれ、特に R_{55} が水素である場合、式は、「カルボン酸」を表す。 X_{50} が酸素であり、 R_{56} が水素である場合、式は、「ホルメート」を表す。一般に、先の式の酸素原子が硫黄に置き換えられた場合、式は、「チオールカルボニル」基を表す。 X_{50} が硫黄であり、 R_{55} または R_{56} が水素ではない場合、式は、「チオールエステル」を表す。 X_{50} が硫黄であり、 R_{55} が水素である場合、式は、「チオールカルボン酸」を表す。 X_{50} が硫黄であり、 R_{56} が水素である場合、式は、「チオールホルメート」を表す。他方では、 X_{50} が結合であり、 R_{55} が水素ではない場合、先の式は、「ケトン」基を表す。 X_{50} が結合であり、 R_{55} が水素である場合、先の式は、「アルデヒド」基を表す。

20

30

【0055】

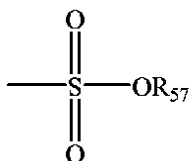
用語「アルコキシル」または「アルコキシ」は、当技術分野で認識されており、酸素が結合している、先に定義したアルキル基を指す。代表的なアルコキシル基には、メトキシ、エトキシ、プロピルオキシ、tert-ブトキシ等が含まれる。「エーテル」は、酸素によって、共有結合で連結されている二つの炭化水素である。したがって、アルキルをエーテルにするアルキルの置換基は、 $-\text{O}-$ アルキル、 $-\text{O}-$ アルケニル、 $-\text{O}-$ アルキニル、 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{R}_{61}$ (m および R_{61} は、前述の通りである)のうちの一つによって表され得るものなどのアルコキシルであるか、またはアルコキシルに似ている。

【0056】

用語「スルホネート」は、当技術分野で認識されており、以下の一般式によって表され得る部分を指す。

40

【化8】



式中、 R_{57} は、電子対、水素、アルキル、シクロアルキルまたはアリアルである。

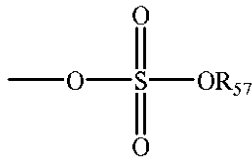
【0057】

用語「サルフェート」は、当技術分野で認識されており、これには、以下の一般式によ

50

って表され得る部分が含まれる。

【化 9】

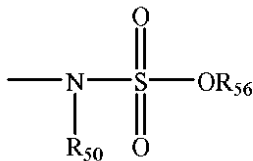


式中、 R_{57} は、先に定義した通りである。

【0058】

用語「スルホンアミド」は、当技術分野で認識されており、これには、以下の一般式によって表され得る部分が含まれる。 10

【化 10】

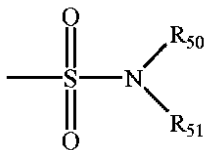


式中、 R_{50} および R_{56} は、先に定義した通りである。

【0059】

用語「スルファモイル」は、当技術分野で認識されており、以下の一般式によって表され得る部分を指す。 20

【化 11】

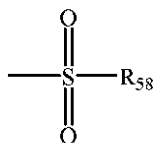


式中、 R_{50} および R_{51} は、先に定義した通りである。

【0060】

用語「スルホニル」は、当技術分野で認識されており、以下の一般式によって表され得る部分を指す。 30

【化 12】

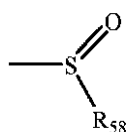


式中、 R_{58} は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリールまたはヘテロアリールのうちの一つである。

【0061】

用語「スルホキシド(sulfoxido)」は、当技術分野で認識されており、以下の一般式によって表され得る部分を指す。 40

【化 13】



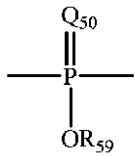
式中、 R_{58} は、先に定義されている。

【0062】

用語「ホスホリル」は、当技術分野で認識されており、一般に以下の式によって表され 50

得る。

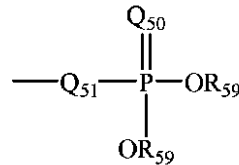
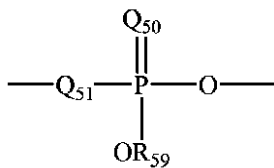
【化 1 4】



式中、 Q_{50} は、S または O を表し、 R_{59} は、水素、低級アルキルまたはアリールを表す。例えばアルキルを置換するために使用される場合、ホスホリルアルキルのホスホリル基は、以下の一般式によって表され得る。

10

【化 1 5】



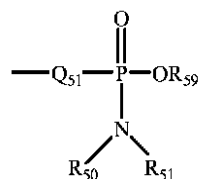
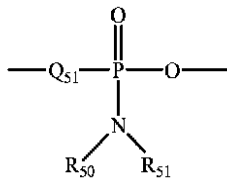
式中、 Q_{50} および R_{59} は、それぞれ独立に、先に定義されており、 Q_{51} は、O、S または N を表す。 Q_{50} が S である場合、ホスホリル部分は、「ホスホロチオエート」である。

20

【0063】

用語「ホスホルアミダイト」は、当技術分野で認識されており、以下の一般式によって表され得る。

【化 1 6】



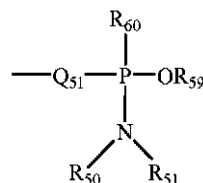
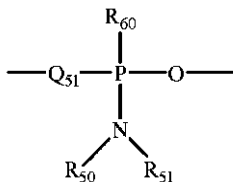
式中、 Q_{51} 、 R_{50} 、 R_{51} および R_{59} は、先に定義した通りである。

30

【0064】

用語「ホスホルアミダイト (phosphonamidite)」は、当技術分野で認識されており、以下の一般式によって表され得る。

【化 1 7】



式中、 Q_{51} 、 R_{50} 、 R_{51} および R_{59} は、先に定義した通りであり、 R_{60} は、低級アルキルまたはアリールを表す。

40

【0065】

アルケニルおよびアルキニル基に対して類似の置換を行って、例えば、アミノアルケニル、アミノアルキニル、アミドアルケニル、アミドアルキニル、イミノアルケニル、イミノアルキニル、チオアルケニル、チオアルキニル、カルボニル置換アルケニルまたはアルキニルを生成することができる。

【0066】

各表現、例えばアルキル、m、n 等の定義は、任意の構造において一回より多くの回数

50

生じる場合、同構造の他所におけるその定義とは独立であるものとする。

【0067】

「置換」または「で置換されている」は、このような置換が、置換された原子および置換基の許容される原子価に従い、置換によって、例えば転移、環化、脱離または他の反応などによる変換を自然発生的に受けない安定な化合物が得られるという暗黙の条件を含むことが理解される。

【0068】

また用語「置換」は、有機化合物のあらゆる許容可能な置換基を含むことが企図される。例示的な置換基として、例えばハロゲン、アジド、アルキル、アラルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヒドロキシル、アルコキシル、アミノ、ニトロ、スルフヒドリル、イミノ、アミド、ホスホネート、ホスフィネート、カルボニル、カルボキシル、シリル、エーテル、アルキルチオ、スルホニル、スルホンアミド、スルファモイル、ケトン、アルデヒド、エステル、ヘテロシクリル、芳香族または複素芳香族部分、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 等が挙げられる。広範な一態様では、許容可能な置換基には、有機化合物の非環式および環式、分枝鎖および非分枝鎖、炭素環式および複素環式、芳香族および非芳香族置換基が含まれる。例示的な置換基として、例えば、本明細書に先に記載したものが挙げられる。許容可能な置換基は、適切な有機化合物に対して一つであっても複数であってもよく、そして同じであっても異なってもよい。また置換基は、それら自体が、前述の置換基の一つまたは複数でさらに置換され得る。本発明の目的では、窒素などのヘテロ原子は、ヘテロ原子の価数を満たす、本明細書に記載の有機化合物の水素置換基および/または任意の許容可能な置換基を有することができる。本発明は、有機化合物の許容可能な置換基によって、いかなる方式でも制限されないものとする。

10

20

【0069】

用語「生理的に許容される担体」は、本発明の化合物の一つまたは複数、分散、溶解、懸濁、混合し、かつ生理的に容認される、すなわち過度の不快感も、刺激感も、毒性もなしに、対象の身体に、体内に、または身体上に投与され得る担体を指す。

【0070】

本説明を通して、組成物が特定の成分を有する、含む(including)または含む(comprising)と説明される場合、その組成物はまた、列挙した成分から本質的になるかまたは列挙した成分からなることが企図される。同様に、プロセスが特定のプロセスステップを有する、含む(including)または含む(comprising)と説明される場合、そのプロセスはまた、列挙したプロセスステップから本質的になるかまたは列挙したプロセスステップからなる。さらに、ステップの順序または特定の動作を実施する順序は、本発明が操作可能である限り、重要ではないことを理解すべきである。さらに、二つまたはそれより多くのステップまたは動作は、同時に実施することができる。

30

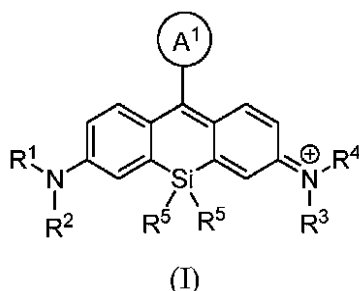
【0071】

II. 本発明のシラキサンテニウム化合物

本発明の一態様は、式Iによって表される化合物

【化18】

40



またはその塩を提供し、式中、

A¹ は、フェニルまたは5～6員のヘテロアリールであり、それらの各々は、アルキル、

50

ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CO}_2^-$ 、 $-\text{CO}_2-$ （任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル）、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^6)$ （ R^7 ）、 $-\text{N}(\text{R}^6)\text{C}(\text{O})(\text{R}^7)$ 、アルキレン（任意選択により置換されているヘテロシクリル）、ニトロ、アルキレン- O -アルキレン- CO_2H 、アルキレン- O -アルキレン- CO_2^- 、 $-\text{SO}_2-\text{N}(\text{R}^6)-\text{アルキレン}-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2-\text{N}(\text{R}^6)-\text{アルキレン}-\text{CO}_2^-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^6)-\text{SO}_2-\text{アルキレン}-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{N}(\text{R}^6)-\text{SO}_2-\text{アルキレン}-\text{CO}_2^-$ 、 $-\text{SO}_2-\text{N}(\text{R}^6)-$ （任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル）、 $-\text{SO}_2-\text{N}(\text{R}^6)_2$ 、 $-\text{SO}_2-\text{N}(\text{R}^6)-\text{アルキレン}-$ （任意選択により置換されているヘテロシクリル）、 X^1 、およびアルキレン- X^1 からなる群から独立に選択される 1、2 または 3 個の置換基で任意選択により置換されており、

X^1 は、出現するごとに独立に、マレイミド、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネート、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、カルボキシル、 $-\text{C}(\text{O})\text{Cl}$ 、 $-(\text{CO})\text{O}(\text{CO})\text{R}^8$ 、 $-\text{CON}(\text{H})\text{NH}_2$ 、アセトキシメチルエステル、置換もしくは非置換 N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換もしくは非置換 N-ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル、ニトロ-フェノールエステル、フルオロ-フェノールエステル、アジド、 $-\text{NCS}$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{COCH}_2\text{I}$ 、ホスホルアミダイト、フタルアミド、またはマレイミドを表し、

R^1 および R^2 は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキルもしくは $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^6)$ （任意選択により置換されているアルキル）を表すか、または R^1 および R^2 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R^3 および R^4 は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキルもしくは $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^6)$ （任意選択により置換されているアルキル）を表すか、または R^3 および R^4 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R^5 は、出現するごとに独立に、 $\text{C}_1 \sim 6$ アルキルを表し、

R^6 は、出現するごとに独立に、水素またはアルキルを表し、

R^7 は、出現するごとに独立に、水素、アルキル、アルキレン- CO_2H 、アルキレン- $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^6)_2$ 、アルキレン（任意選択により置換されているヘテロシクリル）、任意選択により置換されているヘテロシクリル、アルキレン（任意選択により置換されているヘテロアリール）、またはヒドロキシルアルキレン（任意選択により置換されているヘテロシクリル）を表し、

R^8 は、出現するごとに独立に、水素、アルキルまたはアリールを表す。

一部の実施形態では、式 (I) に記載の変数は、以下の通りに定義され得る。

A^1 は、フェニルまたは 5 ~ 6 員のヘテロアリールであり、それらの各々は、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CO}_2^-$ 、 $-\text{CO}_2-$ （任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル）、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^6)$ （ R^7 ）、 $-\text{N}(\text{R}^6)\text{C}(\text{O})(\text{R}^7)$ 、アルキレン（任意選択により置換されているヘテロシクリル）、ニトロ、アルキレン- O -アルキレン- CO_2H 、アルキレン- O -アルキレン- CO_2^- 、 $-\text{SO}_2-\text{N}(\text{R}^6)-\text{アルキレン}-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2-\text{N}(\text{R}^6)-\text{アルキレン}-\text{CO}_2^-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^6)-\text{SO}_2-\text{アルキレン}-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{N}(\text{R}^6)-\text{SO}_2-\text{アルキレン}-\text{CO}_2^-$ 、 $-\text{SO}_2-\text{N}(\text{R}^6)-$ （任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル）、 $-\text{SO}_2-\text{N}(\text{R}^6)_2$ 、 $-\text{SO}_2-\text{N}(\text{R}^6)-\text{アルキレン}-$ （任意選択により置換されているヘテロシクリル）、 X^1 、およびアルキレン- X^1 からなる群から独立に選択される 1、2 または 3 個の置換基で任意選択により置換されており、

X^1 は、出現するごとに独立に、エステル、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネート、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、カルボキシル、 $-\text{C}(\text{O})\text{Cl}$ 、 $-(\text{CO})\text{O}(\text{CO})\text{R}^8$ 、 $-\text{CON}(\text{H})$

10

20

30

40

50

NH₂、アセトキシメチルエステル、置換もしくは非置換N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換もしくは非置換N-ヒドロキシルホスクシンイミドエステル、ニトロフェニルエステル、フルオロフェニルエステル、アルキン、アジド、ヒドラジド、アルコキシルアミン、-NCS、-CHO、-COCH₂I、ホスホルアミダイト、フタルアミド、またはマレイミドを表し、

R¹およびR²は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、もしくは-C(O)N(R⁶)（任意選択により置換されているアルキル）を表すか、またはR¹およびR²は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R³およびR⁴は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、もしくは-C(O)N(R⁶)（任意選択により置換されているアルキル）を表すか、またはR³およびR⁴は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R⁵は、出現するごとに独立に、C₁~₆アルキルを表し、これは任意選択により、官能基、エステル、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネート、-NH₂、-OH、-SH、-SO₃H、カルボキシル、-C(O)Cl、-(CO)O(CO)R⁸、-CON(H)NH₂、アセトキシメチルエステル、置換もしくは非置換N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換もしくは非置換N-ヒドロキシルホスクシンイミドエステル、ニトロフェニルエステル、フルオロフェニルエステル、アルキン、アジド、ヒドラジド、アルコキシルアミン、-NCS、-CHO、-COCH₂I、ホスホルアミダイト、フタルアミド、またはマレイミドを担持しており、

R⁶は、出現するごとに独立に、水素またはアルキルを表し、

R⁷は、出現するごとに独立に、水素、アルキル、アルキレン-CO₂H、アルキレン-C(O)N(R⁶)₂、アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル）、任意選択により置換されているヘテロシクリル、アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロアリール）、またはヒドロキシルアルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル）を表し、

R⁸は、出現するごとに独立に、水素、アルキルまたはアリールを表す。

【0072】

ある特定の実施形態では、化合物は、-1の電荷を有する対イオンをさらに含む。-1の電荷を有する例示的な対イオンとして、例えばハロゲン化物（例えば、Cl⁻、Br⁻またはI⁻）およびRCO₂⁻（ここで、Rはアルキル、アリール、アラルキル等である）が挙げられる。

【0073】

ある特定の実施形態では、A¹は、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、-CO₂H、-CO₂⁻、-CO₂-（任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル）、-C(O)N(R⁶)(R⁷)、-N(R⁶)C(O)(R⁷)、アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル）、ニトロ、アルキレン-O-アルキレン-CO₂H、アルキレン-O-アルキレン-CO₂⁻、-SO₂-N(R⁶)-アルキレン-CO₂H、-SO₂-N(R⁶)-アルキレン-CO₂⁻、-N(R⁶)-SO₂-アルキレン-CO₂H、-N(R⁶)-SO₂-アルキレン-CO₂⁻、-SO₂-N(R⁶)-（任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル）、-SO₂-N(R⁶)₂、および-SO₂-N(R⁶)-アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル）からなる群から独立に選択される1、2または3個の置換基で任意選択により置換されている5~6員のヘテロアリールである。ある特定の実施形態では、A¹は、チオフェニル、フラニルまたはピリジニルであり、それらの各々は、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、-CO₂H、-CO₂⁻、-CO₂-（任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル）、-C(O)N(R⁶)(R⁷)、-N(R⁶)C(O)(R⁷)、アルキレン-（任意選択により置換さ

10

20

30

40

50

れているヘテロシクリル)、ニトロ、アルキレン - O - アルキレン - CO₂H、アルキレン - O - アルキレン - CO₂⁻、- SO₂ - N(R⁶) - アルキレン - CO₂H、- SO₂ - N(R⁶) - アルキレン - CO₂⁻、- N(R⁶) - SO₂ - アルキレン - CO₂H、- N(R⁶) - SO₂ - アルキレン - CO₂⁻、- SO₂ - N(R⁶) - (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、- SO₂ - N(R⁶)₂、および - SO₂ - N(R⁶) - アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル) からなる群から独立に選択される 1、2 または 3 個の置換基で任意選択により置換されている。ある特定の実施形態では、A¹ は、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、- CO₂H、- CO₂⁻、- CO₂ - (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、- C(O)N(R⁶)(R⁷)、- N(R⁶)C(O)(R⁷)、アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル)、ニトロ、アルキレン - O - アルキレン - CO₂H、アルキレン - O - アルキレン - CO₂⁻、- SO₂ - N(R⁶) - アルキレン - CO₂H、- SO₂ - N(R⁶) - アルキレン - CO₂⁻、- N(R⁶) - SO₂ - アルキレン - CO₂H、- N(R⁶) - SO₂ - アルキレン - CO₂⁻、- SO₂ - N(R⁶) - (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、- SO₂ - N(R⁶)₂、および - SO₂ - N(R⁶) - アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル) からなる群から独立に選択される 1、2 または 3 個の置換基で任意選択により置換されているフェニルである。

10

【0074】

ある特定の実施形態では、R¹ および R² は、それぞれ独立に、水素もしくはアルキルを表すか、または R¹ および R² は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、4 ~ 6 員の飽和複素環式環を形成する。

20

【0075】

ある特定の実施形態では、R³ および R⁴ は、それぞれ独立に、水素もしくはアルキルを表すか、または R³ および R⁴ は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、4 ~ 6 員の飽和複素環式環を形成する。

【0076】

ある特定の実施形態では、R⁵ はメチルである。ある特定の実施形態では、R⁶ は水素である。ある特定の実施形態では、R⁷ は、出現するごとに独立に、水素、アルキル、アルキレン - CO₂H、またはアルキレン - C(O)N(R⁶)₂ を表す。ある特定の実施形態では、R⁷ は、ヒドロキシルアルキレン - (任意選択により置換されているヘテロアリール)、アルキレン - (任意選択により置換されているフェニル)、およびヒドロキシルアルキレン - (任意選択により置換されているフェニル) をさらに含むことができる。

30

【0077】

ある特定の実施形態では、化合物は、本明細書の表 1 または 2 に提示されている化合物、または薬学的に許容されるその塩である。

【0078】

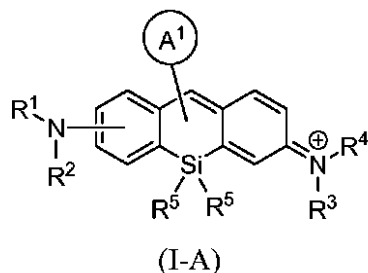
ある特定の実施形態では、化合物は、約 500 nm ~ 約 1100 nm の範囲の吸収および発光波長を有する。ある特定の実施形態では、化合物は、約 500 nm ~ 約 600 nm の範囲の吸収および発光波長を有する。

40

【0079】

本発明の一態様は、式 I - A によって表される化合物

【化 19】



またはその塩を提供し、式中、

A¹ は、フェニルまたは 5 ～ 6 員のヘテロアリールであり、それらの各々は、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、-CO₂H、-CO₂⁻、-CO₂-（任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル）、-C(O)N(R⁶)(R⁷)、-N(R⁶)C(O)(R⁷)、アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル）、ニトロ、アルキレン-O-アルキレン-CO₂H、アルキレン-O-アルキレン-CO₂⁻、-SO₂-N(R⁶)-アルキレン-CO₂H、-SO₂-N(R⁶)-アルキレン-CO₂⁻、-N(R⁶)-SO₂-アルキレン-CO₂H、-N(R⁶)-SO₂-アルキレン-CO₂⁻、-SO₂-N(R⁶)-（任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル）、-SO₂-N(R⁶)₂、-SO₂-N(R⁶)-アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル）、X¹、およびアルキレン-X¹ からなる群から独立に選択される 1、2 または 3 個の置換基で任意選択により置換されており、

X¹ は、出現するごとに独立に、マレイミド、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネート、-NH₂、-OH、-SH、-SO₃H、カルボキシル、-C(O)Cl、-(CO)O(CO)R⁸、-CON(H)NH₂、アセトキシメチルエステル、置換もしくは非置換 N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換もしくは非置換 N-ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル、ニトロ-フェノールエステル、フルオロ-フェノールエステル、アジド、-NCS、-CHO、-COCH₂I、ホスホルアミダイト、フタルアミド、またはマレイミドを表し、

R¹ および R² は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキルもしくは -C(O)N(R⁶)(任意選択により置換されているアルキル)を表すか、または R¹ および R² は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R³ および R⁴ は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキルもしくは -C(O)N(R⁶)(任意選択により置換されているアルキル)を表すか、または R³ および R⁴ は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R⁵ は、出現するごとに独立に、C₁ - C₆ アルキルを表し、

R⁶ は、出現するごとに独立に、水素またはアルキルを表し、

R⁷ は、出現するごとに独立に、水素、アルキル、アルキレン-CO₂H、アルキレン-C(O)N(R⁶)₂、アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル）、任意選択により置換されているヘテロシクリル、アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロアリール）、またはヒドロキシルアルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル）を表し、

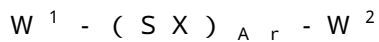
R⁸ は、出現するごとに独立に、水素、アルキルまたはアリールを表す。

【0080】

ある特定の実施形態では、化合物は、-1 の電荷を有する対イオンをさらに含む。-1 の電荷を有する例示的な対イオンとして、例えばハロゲン化物（例えば、Cl⁻、Br⁻ または I⁻）および RCO₂⁻（ここで、R はアルキル、アリール、アラルキル等である）が挙げられる。

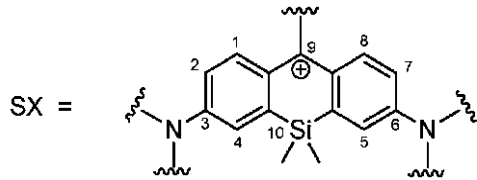
【 0 0 8 1 】

本発明の別の態様は、以下の一般式によって表される化合物を提供する。



式中、SXは、3, 6 - ジアミノ - 10 - シラキサンテニウムコア（炭素の番号付けを含む）を表し、

【 化 2 0 】



10

W^1 および W^2 は、独立に、存在しないか、または SX コア上の 3 - および 6 - アミノ置換基に連結されている同じもしくは異なる炭素環式もしくは複素環式基を含み、 W^1 または W^2 の存在または非存在は、蛍光色素の光学特性を変え得る。Ar は、SX コアの 9 位における置換または非置換アリールまたはヘテロアリール置換基を表し、アリールまたはヘテロアリール基、その配向および置換基の性質は、SX コアの光学特性を変え得る。

【 0 0 8 2 】

本発明の一部の実施形態では、Ar は、フェニル、ピリジン、フラン、チオフェン、イミダゾール、ピロール、オキサゾール、イソオキサゾール、ベンゾオキサゾール、チアゾール、イソチアゾール、ベンゾチアゾール (benzothiazole)、ピリミジン、ピリダジン、トリアゾールによって表される。ある特定の実施形態では、Ar は、非置換チオフェンであり、例えば、チオフェン環の 2 位または 3 位においてコアに結合している非置換チオフェンである。

20

【 0 0 8 3 】

本発明の一部の実施形態では、 W^1 または W^2 は、独立に、存在しないか、または SX の 3 - もしくは 6 - アミノ置換基と一緒に、アジリジン、アゼチジン、ピロリジン、ピラゾリジン、ピペリジン、ピペラジン、オキサゾリジン、モルホリンもしくはチオモルホリンによって表される複素環式環を形成する。

【 0 0 8 4 】

一部の実施形態では、SX コアの Si 原子に結合している置換基は、それぞれ独立に、任意選択により官能基、エステル、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネート、 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、カルボキシル、 $-C(O)Cl$ 、 $-(CO)O(CO)R^8$ 、 $-CON(H)NH_2$ 、アセトキシメチルエステル、置換もしくは非置換 N - ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換もしくは非置換 N - ヒドロキシルホススクシンイミドエステル、ニトロフェニルエステル、フルオロフェニルエステル、アルキン、アジド、ヒドラジド、アルコキシルアミン、 $-NCS$ 、 $-CHO$ 、 $-COCH_2I$ 、ホスホルアミダイト、フタルアミド、またはマレイミドを担持している $C_1 \sim 6$ アルキルから選択され得る。例えば、置換基は、それぞれ独立に、非置換 $C_1 \sim 6$ アルキル（例えば CH_3 ）およびカルボキシル (CO_2H) で置換されている $C_1 \sim 6$ アルキルから選択され得る。

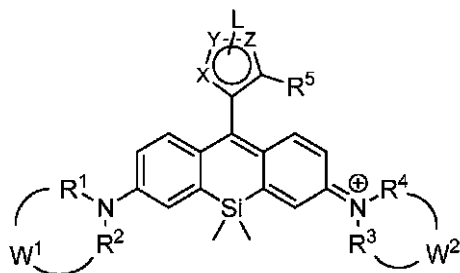
30

40

【 0 0 8 5 】

本発明の別の態様は、以下の一般構造によって表される化合物

【化 2 1】



およびその塩を提供し、式中、

L は、存在しないか、またはリンカー部分であり、これは任意選択により、カルボキシレート、カルボキシアルキル、マレイミド、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネート、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、カルボキシル、 $-\text{COCl}$ 、 $-(\text{CO})\text{O}(\text{CO})\text{R}^7$ 、 $-\text{CONHNH}_2$ 、アセトキシメチルエステル、置換および非置換 N - ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換および非置換 N - ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル、ニトロ - もしくはフルオロもしくはフェノールエステル、アジド、 $-\text{NCS}$ 、 $-\text{CHO}$ 、アジド、 $-\text{COCH}_2\text{I}$ 、ホスホルアミダイト、フタルアミド、またはマレイミドなどの官能基または反応基を担持しており、 R^7 は、H、アルキルおよびアリールからなる群から選択され、

BM は、生体分子であり、蛍光性生体分子は、少なくとも一つの BM を含み、

R^1 、 R^2 、 R^3 および R^4 は、独立に、H、メチル、エチル、アルキル、または環式アルキル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、または複素環式（例えばモルホリン）アルキニル、カルボキシアルキル、アミノアルキル、ハロアルキル、アジドアルキル、アミド、アミノ酸、またはペプチドであり、

R^5 は、存在しないか、または H、 C_{1-20} アルキル、カルボキシル、カルボキシアルキル、スルホネート、スルホンアミド、ハロゲン、ヒドロキシ、アミン、アミド、ニトロ、シアノ、O - アルキル、S - アルキル、シリル、O - シリルメチル、エチル、イソプロピル、カルボキシアルキル、ハロアルキル、アルキルスルフィド、トリフルオロメチル、ヒドラジドであり、

W^1 および W^2 は、独立に、存在しないか、または脂肪族炭素、窒素、酸素、硫黄もしくはケイ素を含有し、 R^2 および R^3 もしくは R^4 および R^5 と共に、任意選択によりさらなる置換基と共に 4 ~ 9 員の環を形成する環式基であり、

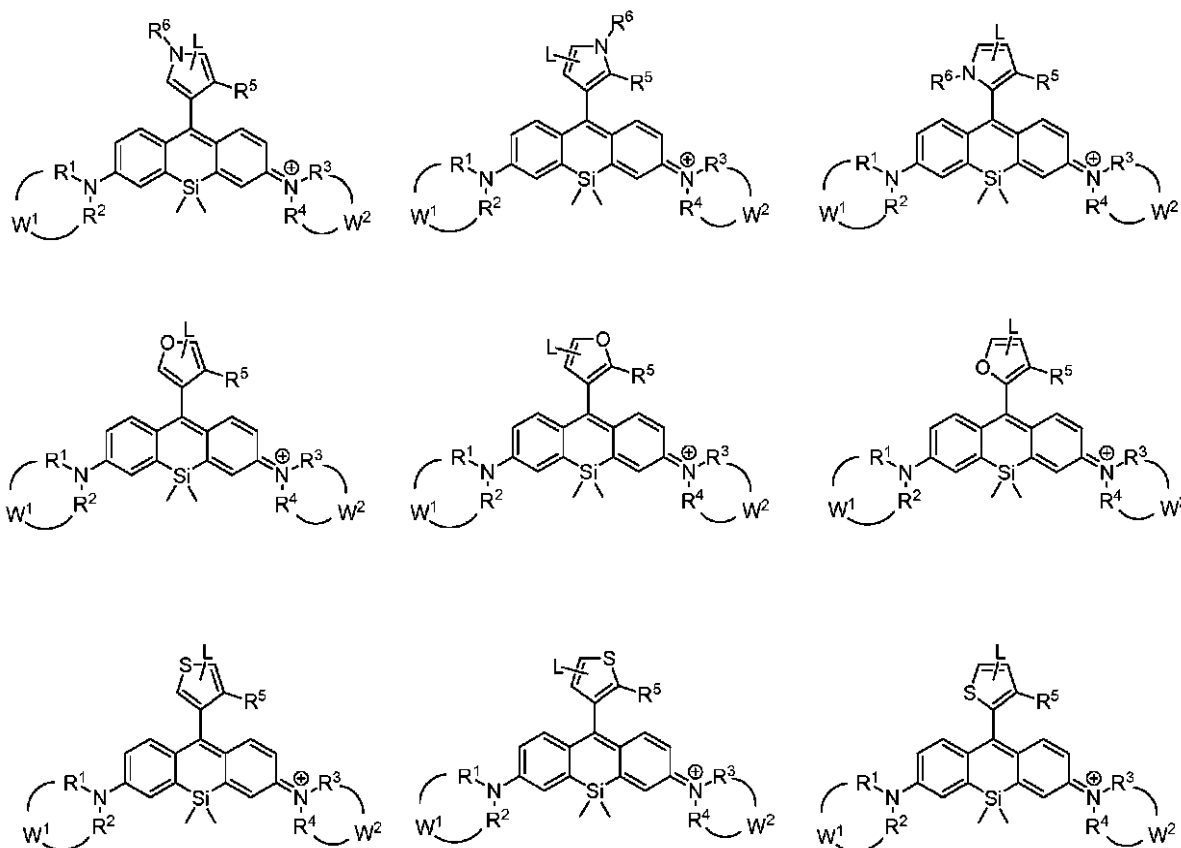
X、Y および Z は、独立に、O、S、N、Si、C または $(\text{C}=\text{C})$ である。

X、Y および Z のそれぞれは、可能な場合、限定されるものではないが、H、 C_{1-20} アルキル、ハロゲン、ニトロ、O - アルキル、S - アルキルを含む追加の置換基を担持し得ると理解される。

【0086】

本発明の一実施形態は、X、Y または Z のうちの厳密に一つからなり、その一つは N、O または S 原子であり、一方で他の二つは C であり、したがってシラキサニウムコアの 9 位に結合している基 Ar は、ピロリル、チエニル、フラニルまたは追加の置換基を有する基を表す。別の実施形態では、X、Y または Z におけるヘテロ原子の位置によって、得られる蛍光色素化合物の吸収および発光波長が変化する。一実施形態では、ヘテロ原子の組込みによって、蛍光色素化合物の吸光度および発光波長が約 5 ~ 35 nm だけ赤方偏移する。別の実施形態では、蛍光色素化合物の吸光度および発光波長は、約 10 ~ 25 nm だけ赤方偏移する。このタイプの蛍光色素化合物は、次式によって表され得る。

【化 2 2】



10

20

式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 L 、 W^1 、 W^2 は、本明細書で定義される通りであり、 R^6 は、 H 、 C_{1-20} アルキル、アルキルアール、アール、アルケニル、アルキニルまたは L である。

【0087】

別の実施形態では、蛍光色素化合物の波長は、 C である他の二つの位置 Y または Z 位と比較して、 X 位に S を組み込むことによって、約 $15 \sim 20 \text{ nm}$ だけ赤方偏移する。色素の実験式を変えずにヘテロ原子の位置を変えることによるこのような予想されない吸収の変化によって、本発明の蛍光色素の蛍光波長を調整して、例えば、検出器フィルタセットを用いてより良好に整列させ、非常に類似した組成の複数のフルオロフォアを用いる多重化をより容易に可能にすることが可能である。

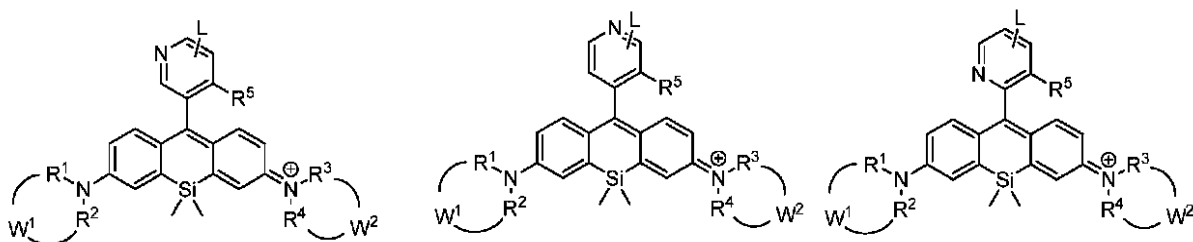
30

【0088】

本発明の別の実施形態では、 X 、 Y または Z のうちの厳密に一つは、窒素(N)原子(例えば、 N 、 O 、 S または Si)であり、一方で他の二つは、一つの C および一つの($C=C$)によって表され、したがってシラキサンテニウムコアの9位に結合している基 Ar は、ピリジル基を表す。このタイプの蛍光色素化合物は、次式によって表され得る。

【化 2 3】

40



式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 L 、 W^1 、 W^2 は、本明細書で定義される通りである。

50

【0089】

他の実施形態では、X、YおよびZは、シラキサンテニウムコアの9位におけるアリアル基が、任意選択によりR⁵およびLを担持している、オキサゾール、イソオキサゾール、ベンゾオキサゾール、チアゾール、イソチアゾール、ベンゾチアゾール、ピリミジン、ピリダジン、トリアゾール基になるように選択される。

【0090】

他の実施形態では、Lは、-NH₂、-OH、-SH、-SO₃H、カルボキシル、-COCl、-(CO)O(CO)R⁷、-CONHNH₂、アセトキシメチルエステル、置換および非置換N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換および非置換N-ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル、ニトロ-またはフルオロまたはフェノールエステル、アジド、-NCS、-CHO、アジド、-COCH₂I、ホスホルアミダイト、フタルアミド、ならびにマレイミド(R⁷は、H、アルキルおよびアリアルからなる群から選択される)からなる群から選択される官能基を含有する。

10

【0091】

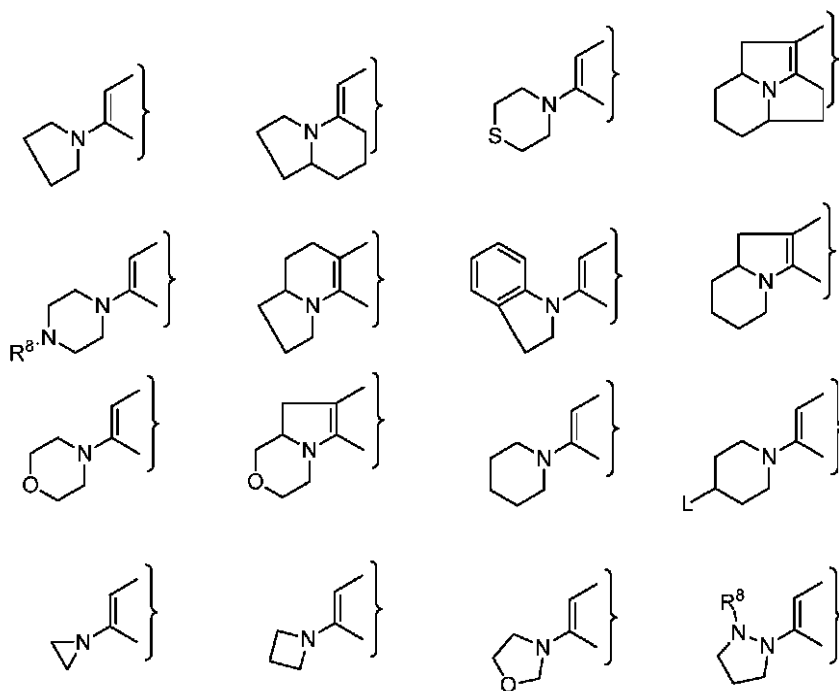
別の実施形態では、9-シラキサンテニウムコアの1、2、4、5、7または8位は、独立に、例えばアルキル、ハロゲン、スルホネート、ニトロ、シアノ、O-アルキル、S-アルキル、アミノ、カルボン酸、カルボン酸エステル、アミド、スルホンアミド、またはヒドロキシル基によって置換されていてもよい。

【0092】

W¹およびW²は、同じであっても異なってもよいと理解される。例えば、R¹-W¹-R²およびR³-W²-R⁴は、

20

【化24】



30

40

からなる群から選択され得、式中、R⁸は、H、C₁~C₂₀アルキル、アルキルアリアル、アリアル、アルケニル、アルキニルであり、Lは、分子、生体分子、ナノ粒子等にコンジュゲートすることができる官能基または反応基、例えばカルボキシレート、カルボキシルアルキル、マレイミド、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネートを任意選択により担持しているリンカー部分である。一つまたは複数の非水素置換基を、炭素環式または複素環式環に対して組み込むことを使用して、得られる色素の吸収および発光スペクトルを調整することができる。

【0093】

一般に、本発明の蛍光色素化合物は、4,4'-メチレンビス(3-プロモアニリン)

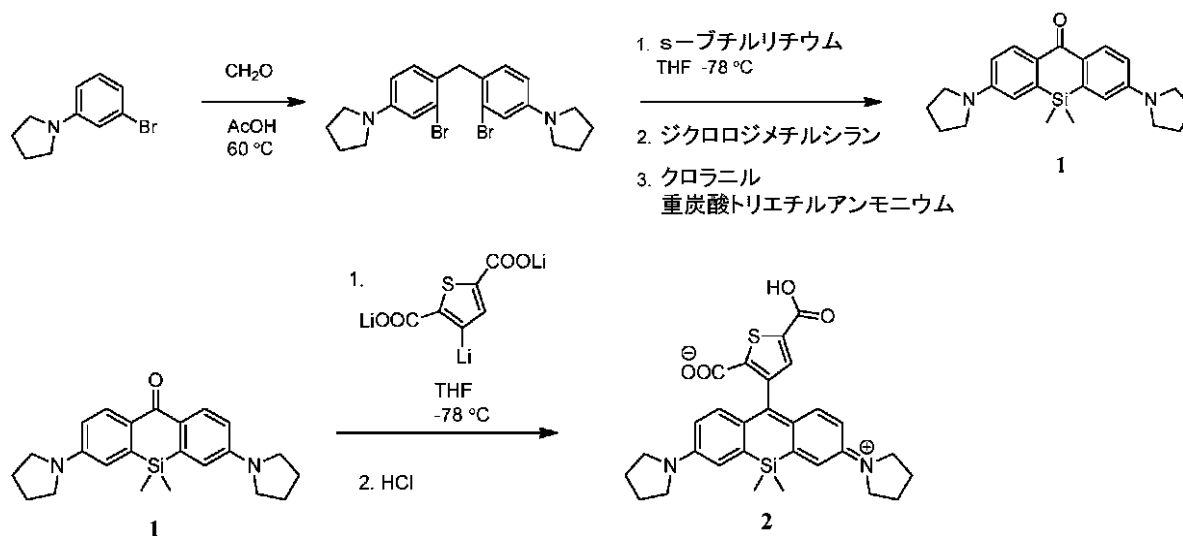
50

誘導体から合成され得る。10 - シラキサンテンの合成のいくつかの例は、Fuら「A design concept of long-wavelength fluorescent analogs of rhodamine dyes: replacement of oxygen with silicon atom」、Chem. Comm. 2008年、1780~1782頁およびNaganoら「Evolution of Group 14 Rhodamines as Platforms for Near-Infrared Fluorescence Probes Utilizing Photoinduced Electron Transfer」、ACS Chem. Biol. 2011年、6巻、600~608頁に記載されている。最初に、N,N-二置換3-ブロモアニリン、例えば1-(3-ブロモフェニル)ピロリジンを、ホルムアルデヒドと縮合させて、ビス-(3-ブロモアニリン)化合物を形成し、それをシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製することができる。次に、臭素原子をブチルリチウムと反応させ、その後ジクロロジメチルシランで処置して、10 - シラキサンテンコアを形成する。次に、重炭酸トリエチルアンモニウム存在下で、10 - シラキサンテンを過剰のクロラニルを用いて酸化させて、10 - シラキサンテンを形成し、それを、2,5-ジカルボキシチオフェンと3当量のブチルリチウムを反応させることによって*in situ*で作製することができるリチウム(2,5-ジカルボキシチオフェン-3-イル)リチウムなどのアリール-リチウム試薬と反応させ、その後酸で後処理すると、下記の通り、置換3,6-アミノ-9-アリール-10-シラキサンテニウム蛍光色素化合物を得ることができる。

10

20

【化25】



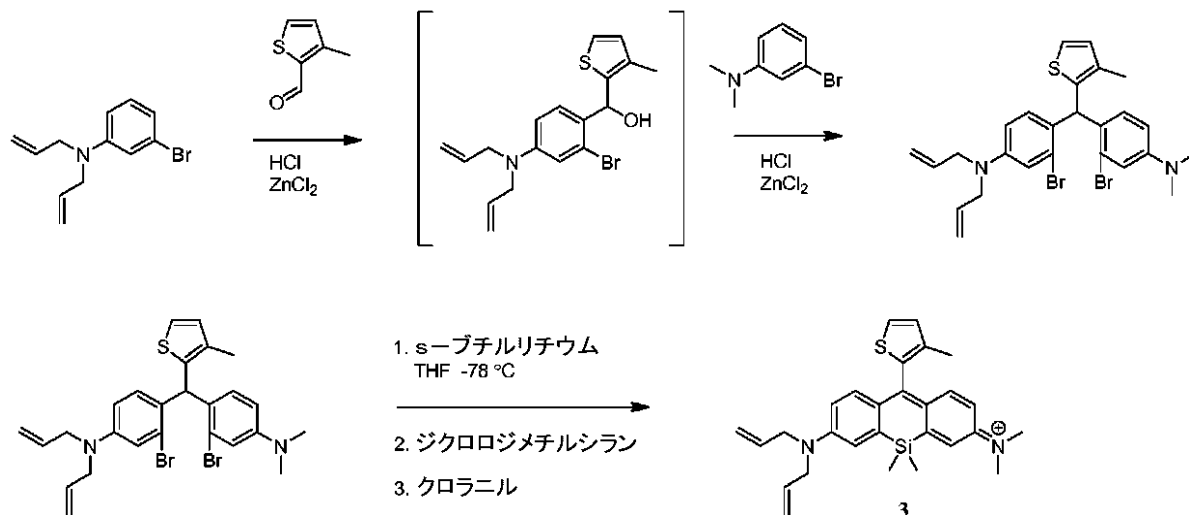
30

【0094】

本発明のある特定の実施形態では、シラキサンテニウム蛍光色素化合物は、非対称性である。このような非対称性キサンテニウム化合物は、以下の通りに合成することができる。一つのN,N-二置換3-ブロモアニリン、例えばN,N-ジアリル-3-ブロモアニリンを、塩酸中でZnCl₂中と共に加熱することによって、1当量のアルデヒド、例えば3-メチルチオフェン-2-カルボアルデヒドと反応させる。最初の縮合の後、第2のN,N-二置換3-ブロモアニリン、例えばN,N-ジメチル-3-ブロモアニリンを付加させて、非対称性ビス-(3-ブロモアニリン)中間体を得、それをシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製する。次に、非対称性中間体を、THF中-78でブチルリチウムと反応させ、その後ジクロロジメチルシランを添加し、クロラニルを用いて酸化させると、下記の通り、非対称性9-アリール-10-シラキサンテニウム蛍光色素化合物が得られる。

40

【化 2 6】



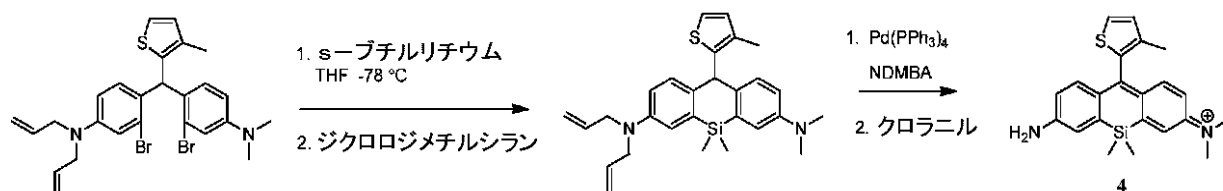
10

【0095】

本発明の他の実施形態では、非対称性蛍光色素化合物は、非置換の、すなわち水素だけを担持している 3, 6 - ジアミノ - 10 - シラキサントニウムコアの窒素置換基の一つを有する。このような非対称性蛍光色素化合物は、N, N' - ジメチルバルビツール酸 (NDMBA) などのアрил捕捉剤の存在下で、非対称性 N, N - ジアリル - 10 - シラキサントニウム蛍光色素の、パラジウム触媒による脱アリル化によって合成することができる。N, N - ジアリル - 10 - シラキサントニウムは、N, N - ジアリルキサントニウム蛍光色素と同様の手法で調製されるが、クロラニルを用いる最終的な酸化ステップは、下記の通り、アリル脱保護の後に実施される。

20

【化 2 7】



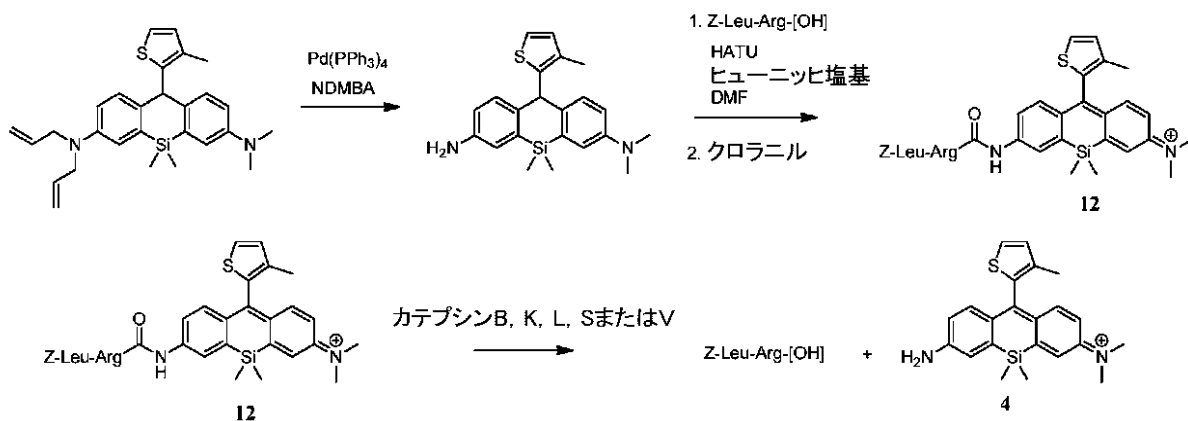
30

【0096】

本発明の別の態様では、アミン置換基の一つが、酵素またはプロテアーゼ、例えば Z - Leu - Arg によって切断され得るアミノ酸またはペプチド配列を含む非蛍光性アミドの形態である場合、非対称性シラキサントニウムは、発蛍光性である。酵素、例えばカテプシン B、K、L、S または V による非蛍光性アミドの切断によって、遊離アミンが放出され、それによって、蛍光性シラキサントニウム蛍光色素が放出される。キサントニウムコアの他のアミンおよび 9 位の置換基、例えば 3 - メチルチエン - 2 - イル基は、9 位にヘテロアリアル基を含有していない化合物と比較して、活性化された蛍光色素化合物を赤方偏移させることができる。このような発蛍光性シラキサントニウムプローブの合成および酵素活性化を、以下に記載する。

40

【化 2 8】



10

【0097】

ある特定の実施形態では、化合物は、表1に提示されている化合物またはその塩を含む。対イオン（例えばハロゲン化物、例えば Cl^- ）は、電荷中性組成物を提供するために、必要に応じて存在し得ると理解される。例えば、表1に図示した化合物13は、+1の電荷を示しており、したがって、 Cl^- などの対イオンが存在して、電荷中性組成物を提供すると理解される。

【表 1 - 1】

表1

化合物番号	構造
13	
14	
15	
16	
17	
18	

10

20

30

40

【表 1 - 2】

化合物番号	構造
19	
4	
20	
21	
22	
23	

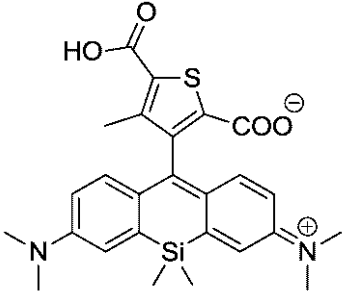
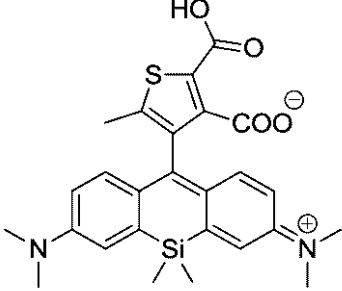
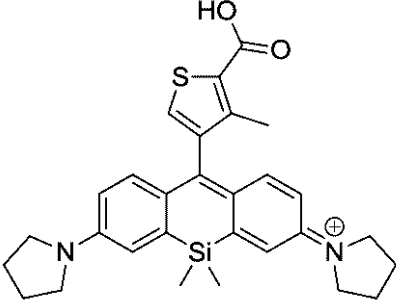
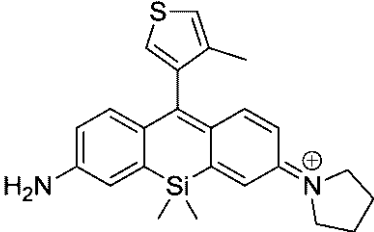
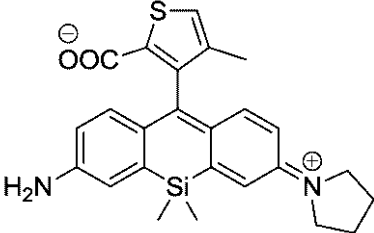
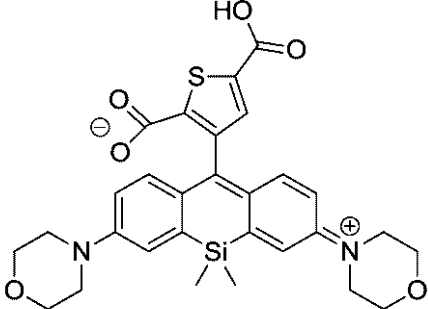
10

20

30

40

【表 1 - 3】

化合物番号	構造
24	
25	
26	
27	
28	
29	

10

20

30

40

【表 1 - 4】

化合物番号	構造
30	
31	
32	
33	
34	

10

20

30

40

【表 1 - 5】

化合物番号	構造
35	
36	
37	
38	
39	
40	

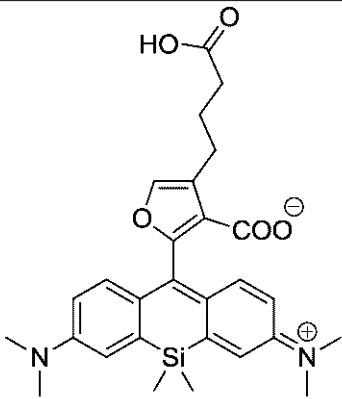
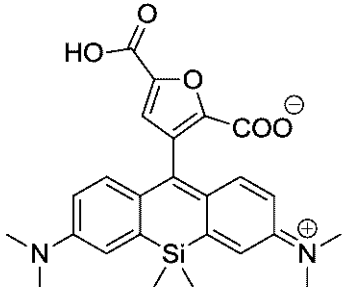
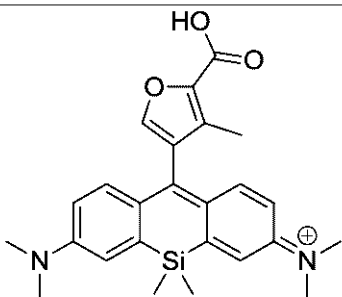
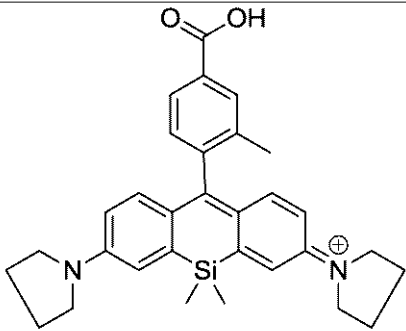
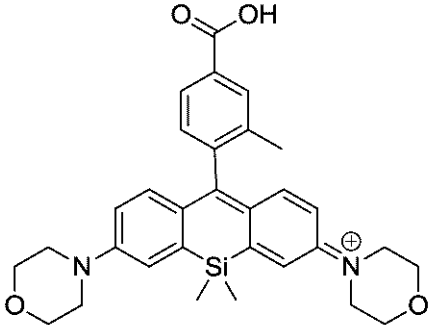
10

20

30

40

【表 1 - 6】

化合物番号	構造
41	
42	
43	
44	
45	

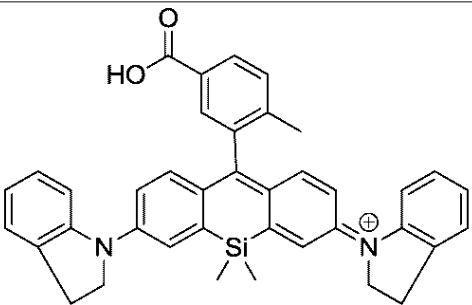
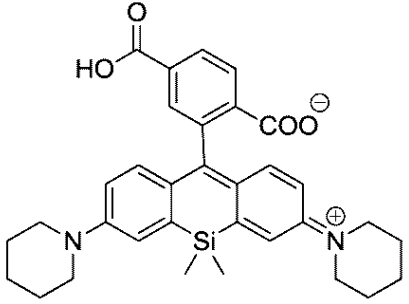
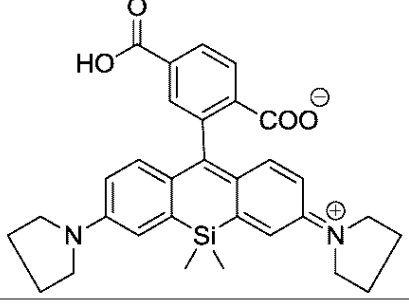
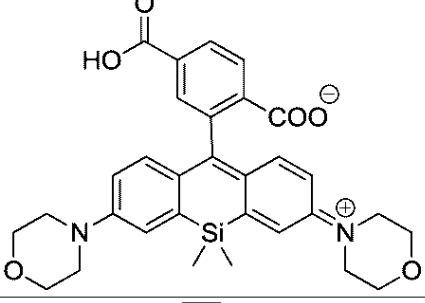
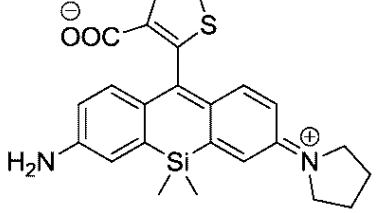
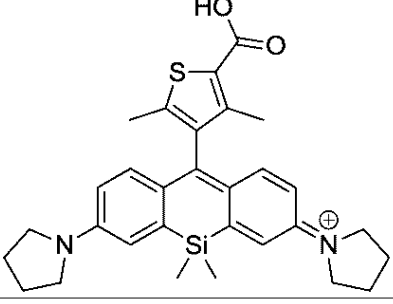
10

20

30

40

【表 1 - 7】

化合物番号	構造
46	
47	
48	
49	
50	
51	

10

20

30

40

【表 1 - 8】

化合物番号	構造
52	
53	
54	
55	
56	

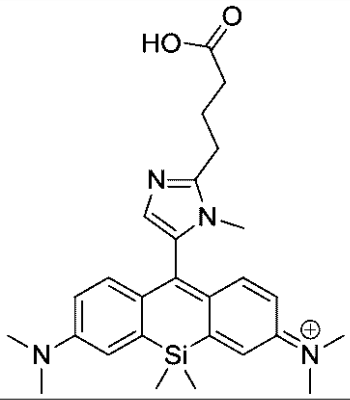
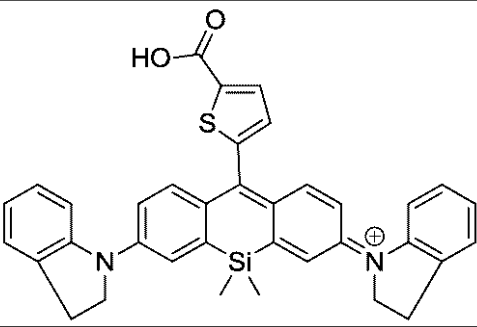
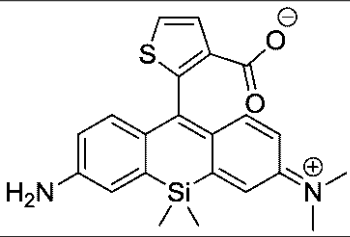
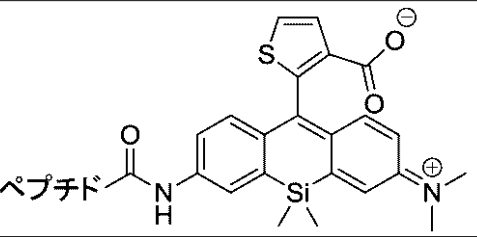
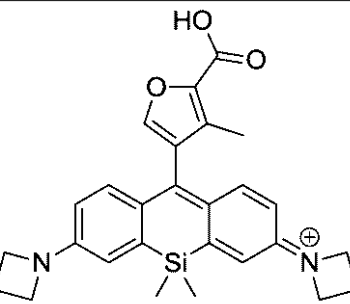
10

20

30

40

【表 1 - 9】

化合物番号	構造
57	
58	
59	
60	
61	

10

20

30

40

【表 1 - 10】

化合物番号	構造
62	
63	
64	

10

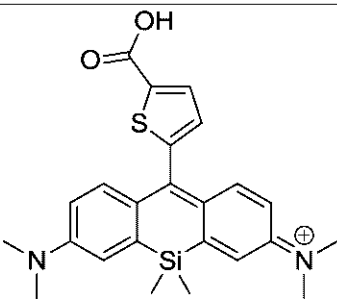
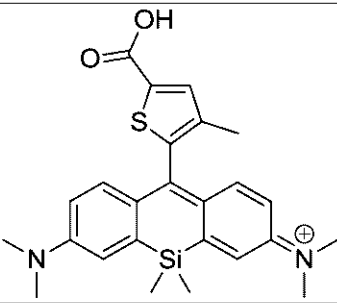
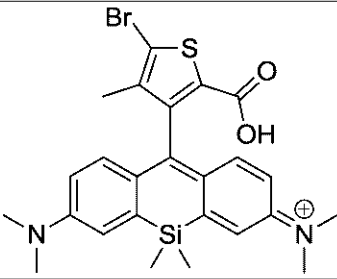
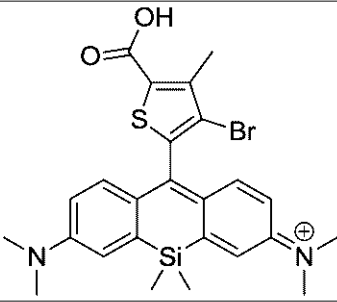
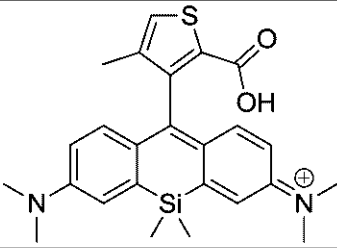
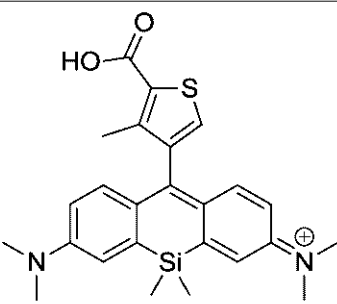
20

30

【 0 0 9 8 】

ある特定の好ましい実施形態では、化合物は、表 2 に提示されている化合物またはその塩を含む。対イオン（例えばハロゲン化物、例えば Cl^- ）は、電荷中性組成物を提供するために、必要に応じて存在し得ると理解される。例えば、表 2 に図示した化合物 6 5 は、+ 1 の電荷を示しており、したがって、 Cl^- などの対イオンが存在して、電荷中性組成物を提供すると理解される。

【表 2 - 1】

化合物番号	構造
65	
22	
16	
66	
17	
18	

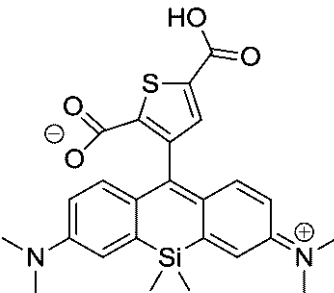
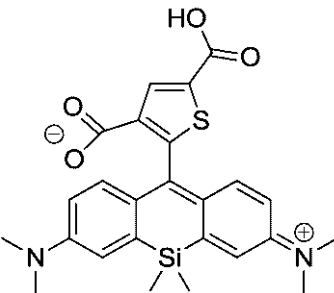
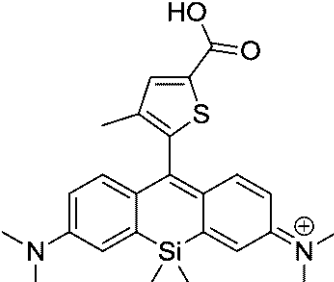
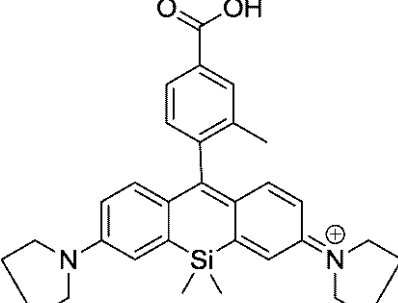
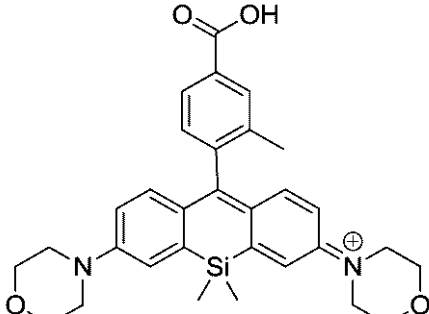
10

20

30

40

【表 2 - 2】

化合物番号	構造
20	
21	
22	
44	
45	

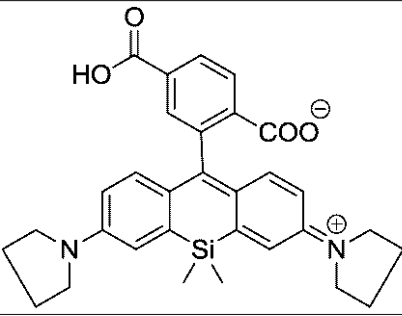
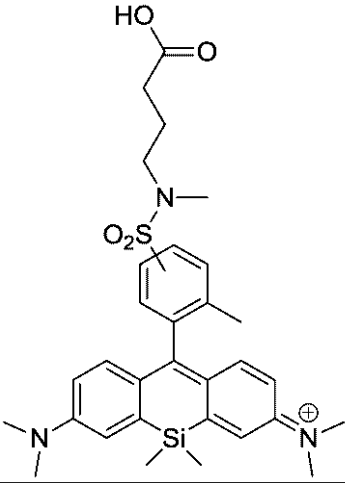
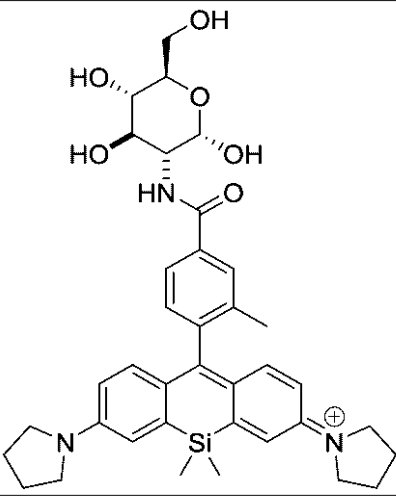
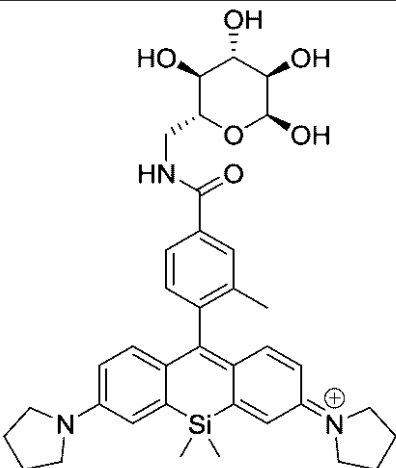
10

20

30

40

【表 2 - 3】

化合物番号	構造
46	
62	
67	
68	

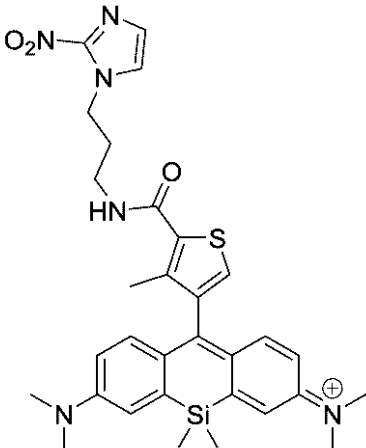
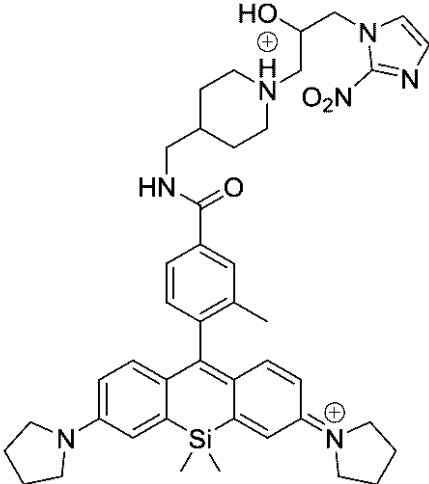
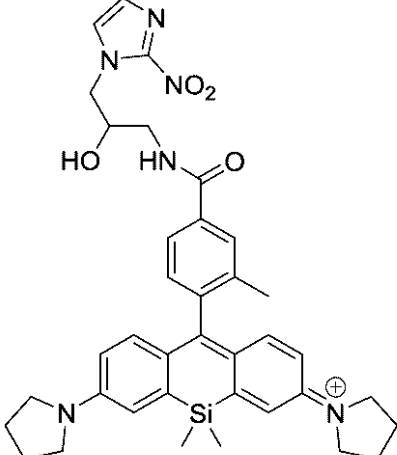
10

20

30

40

【表 2 - 4】

化合物番号	構造
69	
70	
71	

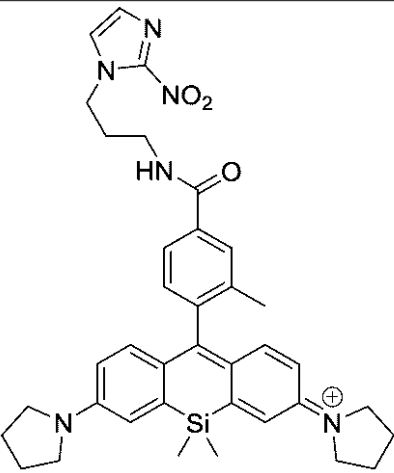
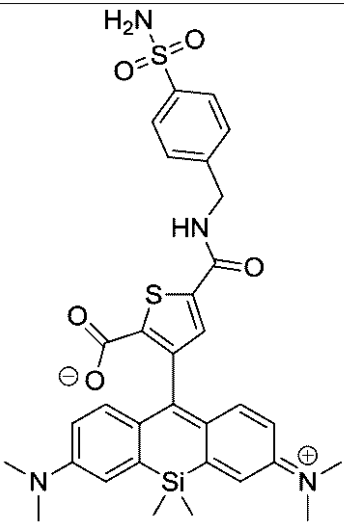
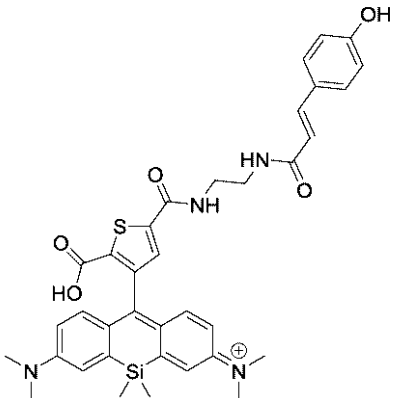
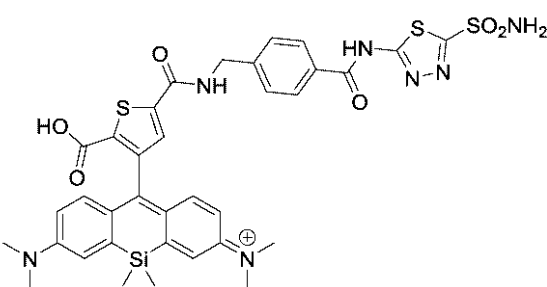
10

20

30

40

【表 2 - 5】

化合物番号	構造
72	
73	
79	
80	

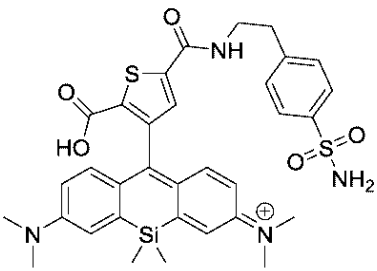
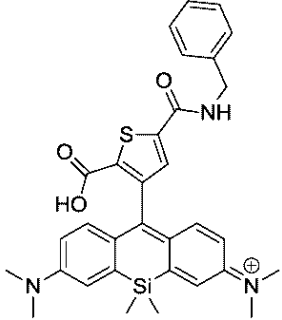
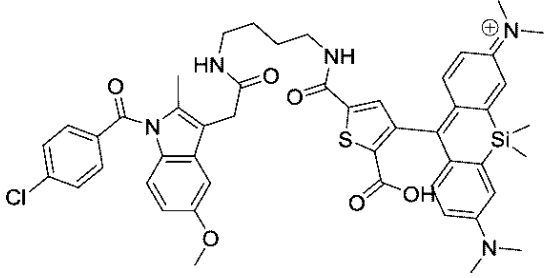
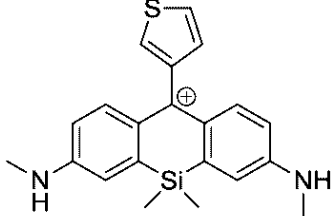
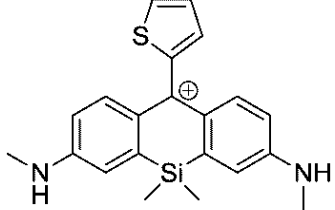
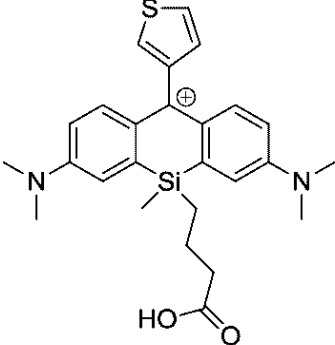
10

20

30

40

【表 2 - 6】

化合物番号	構造
81	
82	
83	
84	
85	
86	

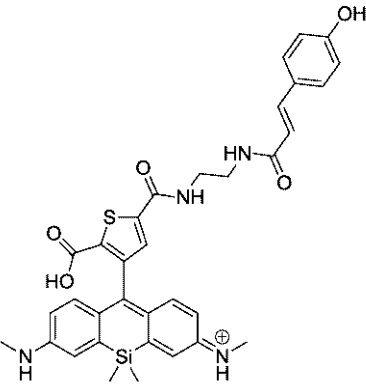
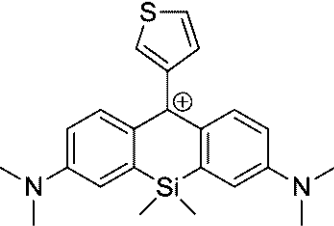
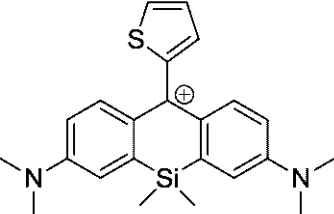
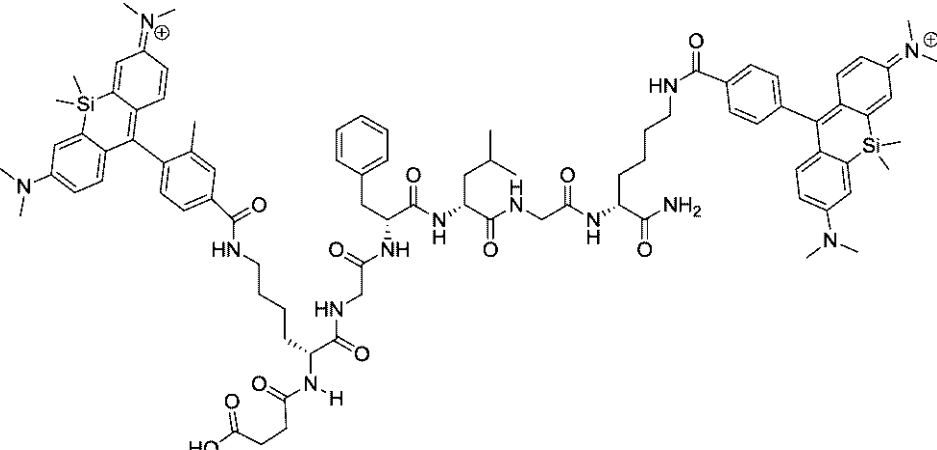
10

20

30

40

【表 2 - 7】

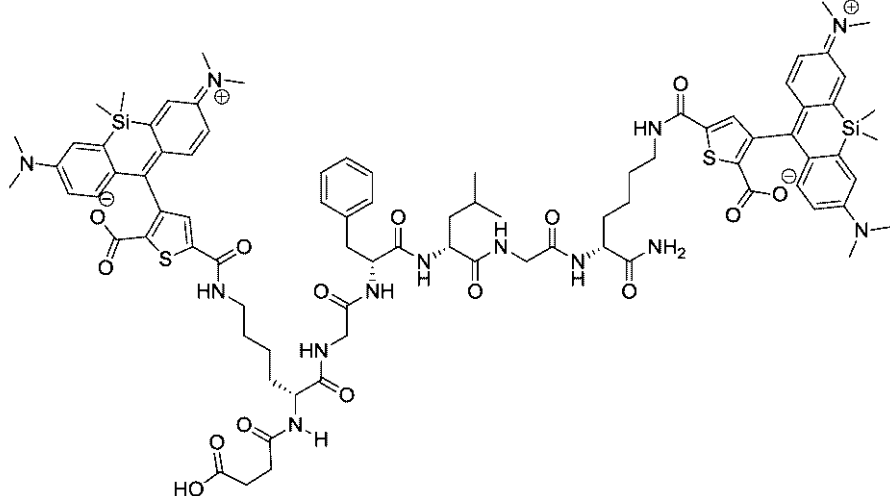
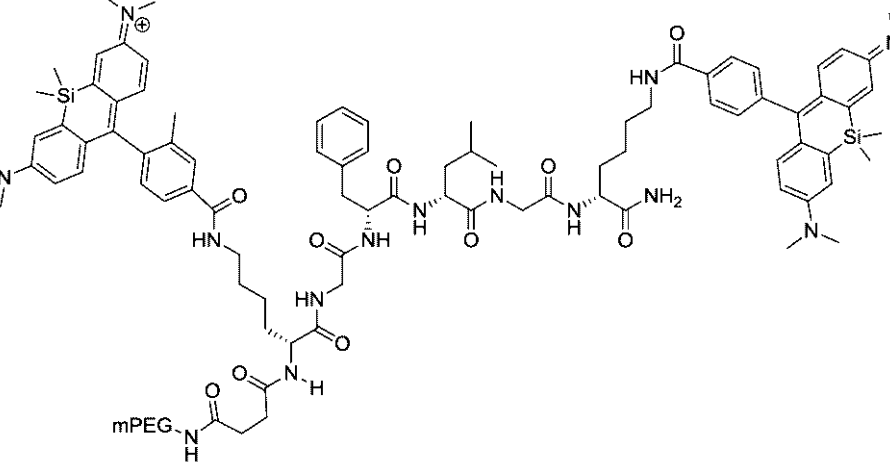
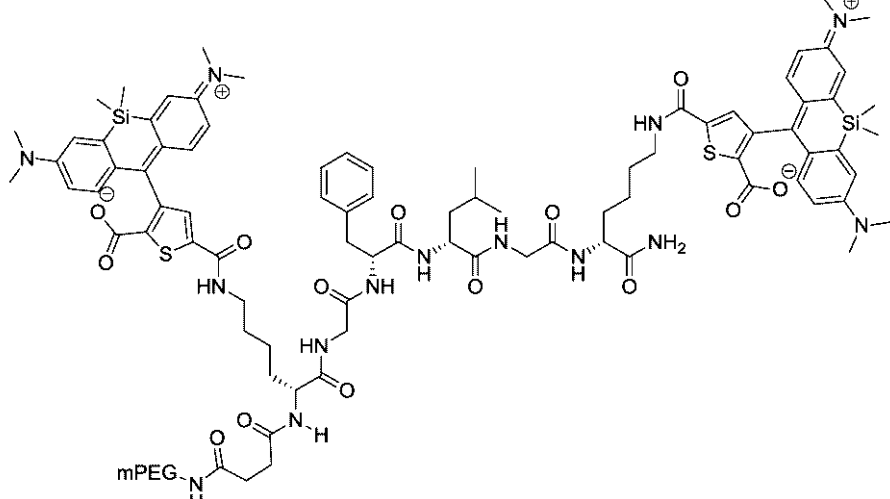
化合物番号	構造
87	
88	
89	
90	

10

20

30

【表 2 - 8】

化合物番号	構造
91	
92	
93	

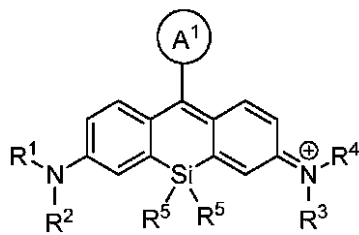
【0099】

本発明の別の態様は、生物学的分子と、式 I の化合物などの本明細書に記載の化合物との反応によって形成されたコンジュゲート化合物を提供する。

【0100】

本発明の別の態様は、- L - BM (L は、結合またはリンカーであり、- BM は、生物学的分子のラジカルである) によって定義される 1、2 または 3 個の基で置換されている、以下によって表される式 I の化合物であるコンジュゲート化合物

【化 29】



(I)

10

またはその塩を提供し、式中、

A¹ は、フェニルまたは 5 ～ 6 員のヘテロアリールであり、それらの各々は、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、-CO₂H、-CO₂⁻、-CO₂-（任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル）、-C(O)N(R⁶)(R⁷)、-N(R⁶)C(O)(R⁷)、アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル）、ニトロ、アルキレン-O-アルキレン-CO₂H、アルキレン-O-アルキレン-CO₂⁻、-SO₂-N(R⁶)-アルキレン-CO₂H、-SO₂-N(R⁶)-アルキレン-CO₂⁻、-N(R⁶)-SO₂-アルキレン-CO₂H、-N(R⁶)-SO₂-アルキレン-CO₂⁻、-SO₂-N(R⁶)-（任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル）、-SO₂-N(R⁶)₂、-SO₂-N(R⁶)-

20

アルキレン-X¹ からなる群から独立に選択される 1、2 または 3 個の置換基で任意選択により置換されており、
X¹ は、出現するごとに独立に、マレイミド、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネート、-NH₂、-OH、-SH、-SO₃H、カルボキシル、-C(O)Cl、-(CO)O(CO)R⁸、-CON(H)NH₂、アセトキシメチルエステル、置換もしくは非置換 N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換もしくは非置換 N-ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル、ニトロ-フェノールエステル、フルオロ-フェノールエステル、アジド、-NCS、-CHO、-COCH₂I、ホスホルアミダイト、フタルアミド、またはマレイミドを表し、

30

R¹ および R² は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキルもしくは -C(O)N(R⁶)(任意選択により置換されているアルキル)を表すか、または R¹ および R² は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R³ および R⁴ は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキルもしくは -C(O)N(R⁶)(任意選択により置換されているアルキル)を表すか、または R³ および R⁴ は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R⁵ は、出現するごとに独立に、C₁ ～ C₆ アルキルを表し、

R⁶ は、出現するごとに独立に、水素またはアルキルを表し、

40

R⁷ は、出現するごとに独立に、水素、アルキル、アルキレン-CO₂H、アルキレン-C(O)N(R⁶)₂、アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル）、任意選択により置換されているヘテロシクリル、アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロアリール）、またはヒドロキシルアルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル）を表し、

R⁸ は、出現するごとに独立に、水素、アルキルまたはアリールを表す。

一部の実施形態では、式 (I) に記載の変数は、以下の通りに定義され得る。

A¹ は、フェニルまたは 5 ～ 6 員のヘテロアリールであり、それらの各々は、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、-CO₂H、-CO₂⁻、-CO₂-（任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル）、-C(O)N(R⁶)(

50

R^7)、 $-N(R^6)C(O)(R^7)$ 、アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル)、ニトロ、アルキレン - O - アルキレン - CO_2H 、アルキレン - O - アルキレン - CO_2^- 、 $-SO_2-N(R^6)-$ アルキレン - CO_2H 、 $-SO_2-N(R^6)-$ アルキレン - CO_2^- 、 $-N(R^6)-SO_2-$ アルキレン - CO_2H 、 $-N(R^6)-SO_2-$ アルキレン - CO_2^- 、 $-SO_2-N(R^6)-$ (任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル)、 $-SO_2-N(R^6)_2$ 、 $-SO_2-N(R^6)-$ アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル)、 X^1 、およびアルキレン - X^1 からなる群から独立に選択される 1、2 または 3 個の置換基で任意選択により置換されており、

X^1 は、出現するごとに独立に、エステル、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネート、 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、カルボキシル、 $-C(O)Cl$ 、 $-(CO)O(CO)R^8$ 、 $-CON(H)NH_2$ 、アセトキシメチルエステル、置換もしくは非置換 N - ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換もしくは非置換 N - ヒドロキシルホスクシンイミドエステル、ニトロフェニルエステル、フルオロフェニルエステル、アルキン、アジド、ヒドラジド、アルコキシルアミン、 $-NCS$ 、 $-CHO$ 、 $-COCH_2I$ 、ホスホルアミダイト、フタルアミド、またはマレイミドを表し、

R^1 および R^2 は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、もしくは $-C(O)N(R^6)$ (任意選択により置換されているアルキル) を表すか、または R^1 および R^2 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R^3 および R^4 は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、もしくは $-C(O)N(R^6)$ (任意選択により置換されているアルキル) を表すか、または R^3 および R^4 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R^5 は、出現するごとに独立に、 $C_1 - 6$ アルキルを表し、これは任意選択により、官能基、エステル、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネート、 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、カルボキシル、 $-C(O)Cl$ 、 $-(CO)O(CO)R^8$ 、 $-CON(H)NH_2$ 、アセトキシメチルエステル、置換もしくは非置換 N - ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換もしくは非置換 N - ヒドロキシルホスクシンイミドエステル、ニトロフェニルエステル、フルオロフェニルエステル、アルキン、アジド、ヒドラジド、アルコキシルアミン、 $-NCS$ 、 $-CHO$ 、 $-COCH_2I$ 、ホスホルアミダイト、フタルアミド、またはマレイミドを担持しており、

R^6 は、出現するごとに独立に、水素またはアルキルを表し、

R^7 は、出現するごとに独立に、水素、アルキル、アルキレン - CO_2H 、アルキレン - $C(O)N(R^6)_2$ 、アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル)、任意選択により置換されているヘテロシクリル、アルキレン - (任意選択により置換されているヘテロアリール)、またはヒドロキシルアルキレン - (任意選択により置換されているヘテロシクリル) を表し、

R^8 は、出現するごとに独立に、水素、アルキルまたはアリールを表す。

【0101】

ある特定の実施形態では、化合物は、 -1 の電荷を有する対イオンをさらに含む。 -1 の電荷を有する例示的な対イオンとして、例えばハロゲン化物 (例えば、 Cl^- 、 Br^- または I^-) および RCO_2^- (ここで、 R はアルキル、アリール、アラルキル等である) が挙げられる。

【0102】

ある特定の実施形態では、 R^1 および R^2 は、それぞれ独立に、水素もしくはアルキルを表すか、または R^1 および R^2 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、4 ~ 6 員の飽和複素環式環を形成する。

10

20

30

40

50

【 0 1 0 3 】

ある特定の実施形態では、 R^3 および R^4 は、それぞれ独立に、水素もしくはアルキルを表すか、または R^3 および R^4 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、4～6員の飽和複素環式環を形成する。

【 0 1 0 4 】

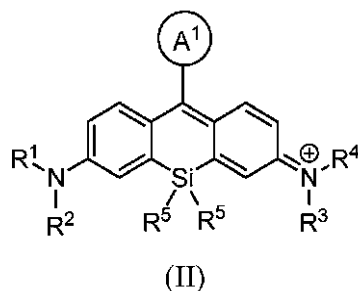
ある特定の実施形態では、 R^5 はメチルである。ある特定の実施形態では、 R^6 は水素である。ある特定の実施形態では、 R^7 は、出現するごとに独立に、水素、アルキル、アルキレン - CO_2H 、またはアルキレン - $C(O)N(R^6)_2$ を表す。

【 0 1 0 5 】

本発明の別の態様は、式 I I によって表されるコンジュゲート化合物

10

【 化 3 0 】



20

またはその塩を提供し、式中、

A^1 は、フェニルまたは5～6員のヘテロアリールであり、それらの各々は、 $-C(O)-\psi$ 、 $-C(O)N(R^6)-\psi$ 、アルキレン - $C(O)-\psi$ 、アルキレン - $C(O)N(R^6)-\psi$ 、 $-N(R^6)C(O)-\psi$ 、アルキレン - $C(O)-\psi$ 、アルキレン - $N(R^6)C(O)-\psi$ 、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2^-$ 、 $-CO_2-$ （任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル）、 $-C(O)N(R^6)(R^7)$ 、 $-N(R^6)C(O)(R^7)$ 、アルキレン - （任意選択により置換されているヘテロシクリル）、ニトロ、アルキレン - O - アルキレン - CO_2H 、アルキレン - O - アルキレン - CO_2^- 、 $-SO_2-N(R^6)-$ アルキレン - CO_2H 、 $-SO_2-N(R^6)-$ アルキレン - CO_2^- 、 $-N(R^6)-SO_2-$ アルキレン - CO_2H 、 $N(R^6)-SO_2-$ アルキレン - CO_2^- 、 $-SO_2-N(R^6)-$ （任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル）、 $-SO_2-N(R^6)_2$ 、および $-SO_2-N(R^6)-$ （アルキレン - （任意選択により置換されているヘテロシクリル））からなる群から独立に選択される1、2または3個の置換基で任意選択により置換されており、

30

ψ は、生物学的分子のラジカルであり、

R^1 および R^2 は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、もしくは $-C(O)N(R^6)$ （任意選択により置換されているアルキル）を表すか、または R^1 および R^2 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

40

R^3 および R^4 は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、もしくは $-C(O)N(R^6)$ （任意選択により置換されているアルキル）を表すか、または R^3 および R^4 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R^5 は、出現するごとに独立に、 $C_1 \sim 6$ アルキルを表し、

R^6 は、出現するごとに独立に、水素またはアルキルを表し、

R^7 は、出現するごとに独立に、水素、アルキル、アルキレン - CO_2H 、アルキレン - $C(O)N(R^6)_2$ 、アルキレン - （任意選択により置換されているヘテロシクリル）、任意選択により置換されているヘテロシクリル、アルキレン - （任意選択により置換されているヘテロアリール）、またはヒドロキシルアルキレン - （任意選択により置換され

50

ているヘテロシクリル)を表す。

一部の実施形態では、式(II)に記載の変数は、以下の通りに定義され得る。

A¹は、フェニルまたは5～6員のヘテロアリールであり、それらの各々は、-C(O)-ψ、-C(O)N(R⁶)-ψ、アルキレン-C(O)-ψ、アルキレン-C(O)N(R⁶)-ψ、-N(R⁶)C(O)-ψ、アルキレン-C(O)-ψ、アルキレン-N(R⁶)C(O)-ψ、アルキル、ハロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、-CO₂H、-CO₂⁻、-CO₂-（任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル）、-C(O)N(R⁶)(R⁷)、-N(R⁶)C(O)(R⁷)、アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル）、ニトロ、アルキレン-O-アルキレン-CO₂H、アルキレン-O-アルキレン-CO₂⁻、-SO₂-N(R⁶)-アルキレン-CO₂H、-SO₂-N(R⁶)-アルキレン-CO₂⁻、-N(R⁶)-SO₂-アルキレン-CO₂H、N(R⁶)-SO₂-アルキレン-CO₂⁻、-SO₂-N(R⁶)-（任意選択により置換されているヘテロシクロアルキル）、-SO₂-N(R⁶)₂、および-SO₂-N(R⁶)-（アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル））からなる群から独立に選択される1、2または3個の置換基で任意選択により置換されており、

ψは、生物学的分子のラジカルであり、

R¹およびR²は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、もしくは-C(O)N(R⁶)(任意選択により置換されているアルキル)を表すか、またはR¹およびR²は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R³およびR⁴は、それぞれ独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、もしくは-C(O)N(R⁶)(任意選択により置換されているアルキル)を表すか、またはR³およびR⁴は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、単環式もしくは二環式環を形成し、

R⁵は、出現するごとに独立に、C₁～₆アルキルを表し、これは任意選択により、官能基、エステル、スクシンイミジルエステル、カルボキサミド、プロパルギル、アジドアルキル、イソチオシアネート、-NH₂、-OH、-SH、-SO₃H、カルボキシル、-C(O)Cl、-(CO)O(CO)R⁸、-CON(H)NH₂、アセトキシメチルエステル、置換もしくは非置換N-ヒドロキシスクシンイミジルエステル、置換もしくは非置換N-ヒドロキシルホスクシンイミドエステル、ニトロフェニルエステル、フルオロフェニルエステル、アルキン、アジド、ヒドラジド、アルコキシルアミン、-NCs、-CHO、-COCH₂I、ホスホルアミダイト、フタルアミド、またはマレイミドを担持しており、

R⁶は、出現するごとに独立に、水素またはアルキルを表し、

R⁷は、出現するごとに独立に、水素、アルキル、アルキレン-CO₂H、アルキレン-C(O)N(R⁶)₂、アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル）、任意選択により置換されているヘテロシクリル、アルキレン-（任意選択により置換されているヘテロアリール）、またはヒドロキシルアルキレン-（任意選択により置換されているヘテロシクリル）を表す。

【0106】

ある特定の実施形態では、化合物は、-1の電荷を有する対イオンをさらに含む。-1の電荷を有する例示的な対イオンとして、例えばハロゲン化物（例えば、Cl⁻、Br⁻またはI⁻）およびRCO₂⁻（ここで、Rはアルキル、アリール、アラルキル等である）が挙げられる。

【0107】

ある特定の実施形態では、R¹およびR²は、それぞれ独立に、水素もしくはアルキルを表すか、またはR¹およびR²は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、4～6員の飽和複素環式環を形成する。

【0108】

10

20

30

40

50

ある特定の実施形態では、 R^3 および R^4 は、それぞれ独立に、水素もしくはアルキルを表すか、または R^3 および R^4 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、4～6員の飽和複素環式環を形成する。

【0109】

ある特定の実施形態では、 R^5 はメチルである。ある特定の実施形態では、 R^6 は水素である。ある特定の実施形態では、 R^7 は、出現するごとに独立に、水素、アルキル、アルキレン- CO_2H 、またはアルキレン- $C(O)N(R^6)_2$ を表す。

【0110】

ある特定の実施形態では、生物学的分子は、ポリペプチド、核酸または細胞である。

【0111】

本発明の別の態様は、タンパク質分解性または酵素分解性 (enzymolytic) の切断可能な (scissile) 結合を与える、ペプチド、タンパク質または他の生体分子、およびペプチド、タンパク質または生体分子に化学的に連結され、したがってそれらの蛍光を著しくクエンチする、本発明の2種類またはそれより多くの種類の蛍光色素化合物を含む。ペプチド、タンパク質または生体分子の切断可能な結合に対して酵素が作用する (例えば酵素的切断によって) と、蛍光色素化合物は分離し、剤は、適切な波長および周波数の電磁放射線によって励起されるときに蛍光シグナルを放出する。本明細書で使用される場合、用語「クエンチされる」は、フルオロフォアからの蛍光シグナルを部分的または完全に低減するプロセスを意味すると理解される。例えば、本発明の蛍光色素化合物からの蛍光シグナルは、第1の蛍光色素のごく近くへの第2の蛍光色素 (同じまたは異なる化合物のいずれか) の配置、または第1のフルオロフォアのごく近くへの非発蛍光的にクエンチする発色団分子、例えば消光剤の配置によって、分子間または分子内で低下し得る。剤は、例えばペプチド、タンパク質もしくは生体分子のタンパク質分解性または酵素分解性の切断可能な結合の酵素的切断によって、脱クエンチ (または活性化) される。一部の実施形態では、本発明の蛍光色素化合物の一つまたは複数は、3, 6-ジアミノ-10-シラキサンテニウムコアの9位に結合している環式部分 (例えば、式 (I) または (II) の A1) を介して、生体分子 (例えばペプチド) に連結されている。例えば、本明細書に記載の化合物 90～93 を参照されたい。

【0112】

他の実施形態では、本発明の蛍光色素化合物は、非常に低い内部蛍光 (intrinsic fluorescence) (量子収率) を有する場合があるが、電磁スペクトルの遠赤から NIR 領域において高い吸収性を保持することができる。このような蛍光色素化合物は、吸収波長に近い波長の蛍光を放出する別の蛍光性化合物に非常に近接している場合、消光剤化合物として使用できることが企図される。1種の蛍光性化合物および低い内部蛍光を有する相補的な本発明の消光剤化合物を含有するこのような化合物は、例えばその蛍光性化合物および消光剤化合物が、特定の酵素またはプロテアーゼによって認識され、切断される、ペプチド、タンパク質または生体分子の酵素分解性の切断可能な結合によって分離される場合に、活性化可能であり得る。本発明の分子内でクエンチされる蛍光色素および消光剤化合物は、酵素の助けを借りてまたは助けを借りずに、酸化または還元などの化学的手段を介して同様に活性化され得ることがさらに企図される。

【0113】

ある特定の実施形態では、本発明の化合物は、Lを介して生物学的分子または生体分子 (BM) に化学的に連結され得る。得られた蛍光色素-生体分子のコンジュゲートは、例えば生物学的分子と標的の間の相互作用に起因して、例えば受容体-リガンドの相互作用、酵素-基質の相互作用、抗体-抗原の相互作用等を介して、標的に対して高い結合親和性を有することができる。このような化学的に連結された一般式 $[W^1 - (SX)_{Ar} - W^2] - L - BM$ の化合物は、以下の通りに表され得る。

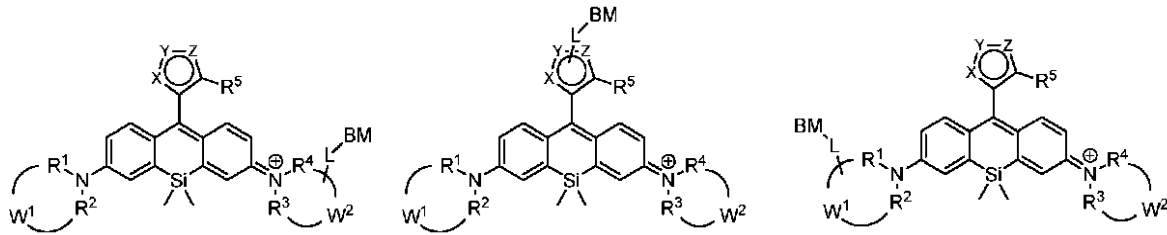
10

20

30

40

【化 3 1】



式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 L 、 W^1 、 W^2 、 X 、 Y および Z は、本明細書で定義の通りであり、 BM は、生体分子である。先の構造は、例示的であり、生体分子（ BM ）は、直接的またはリンカー L を介して、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 L 、 W^1 、 W^2 、 X 、 Y および Z として同定される基の任意の一つまたは複数により、このような化合物に化学的に連結され得ると理解される。

【0114】

本発明の別の実施形態は、9 - チエニル - 3 , 6 - ジアミノ - 10 - シラキサントニウムまたはその塩であり、これは、二つのアミノ基（例えば、メチル、エチルまたは炭素環式基）およびチエニル基（例えば、メチルおよびカルボキシレート）上に任意選択の置換基を有する。10 位にケイ素原子を組み込むことによって、10 - オキサキサントニウム（oxaxanthene）色素と比較しておよそ100 nmの赤方偏移が引き起こされ、9 位ならびに3 - および6 - アミノ基における置換基により、吸収もしくは発光波長を偏移させることによって、または量子収率を増大させることによって、色素の光学特性がさらに改善され得る。置換基の様々な組合せを使用して、特定の目的（例えば、顕微鏡の所与のフィルタセットを一致させるか、または全体的な輝度を増大させるため）に合わせて色素の特性を「調整」することができる。さらに、例えばチエニル基に連結することによって、標的リガンドまたは生体分子に連結するために、色素に官能性ハンドル（handle）を組み込むことができる。合成された第1のクラスの色素における二つの代表的な分子は、3 , 6 - ビス - （ジメチルアミノ） - 9 - （3 - メチル - 5 - カルボキシ - チエン - 2 - イル） - 10 , 10 - ジメチル - 10 - シラキサントニウム - 9 - イウムおよび3 , 6 - ビス（ジメチルアミノ） - 9 - （2 - カルボキシ - 3 - メチル - チエン - 4 - イル） - 10 , 10 - ジメチル - 10 - シラキサントニウムまたはそれらの塩である。このクラスの分子についての予期しなかった観測は、キサントニウムコアへのチエニル基の結合位置が、吸収波長極大値に対して劇的な効果を及ぼすということである。例えばチエニル基が、チエニル基の2 位または5 位においてキサントニウムコアに結合している場合、極大吸収波長は、3 位または4 位を介する結合と比較して20 ~ 25 nmだけ赤方偏移する。他の置換基も、光学特性に影響を及ぼし、例えばシラキサントニウムコアに隣り合っているメチル置換基により、量子収率の8 倍の増加がもたらされる。一連の6 種の9 - チエニル - 10 - シラキサントニウム色素を合成して、光学特性の差異を実証した。

【0115】

本発明の一実施形態は、3 位および6 位のアミン上に、例えばアジリジン、アゼチジン、ピロリジン、ピラゾリジン、ピペリジン、ピペラジン、オキサゾリジン、モルホリンまたはチオモルホリンを形成する炭素環式、複素環式または二環式置換基を有する9 - 置換 - 3 , 6 - ジアミノ - 10 - シラキサントニウム - 9 - イウムコアを含む。このような環式置換基は、色素の光学特性または溶解特性を変えることができる。例えば環式ピロール基は、色素に、メチル置換基だけを担持している同等の色素よりも高い量子収率を与える。別の例として、水を含むいくつかの溶媒における溶解特性は、モルホリン置換基で増強される。また環式アミン置換基は、シラキサントニウムの2、4、5または7 位を介して、第2の環と縮合しているか、または色素のシラキサントニウムコアと縮合している多環式であり得る。多環式配置は、吸収および発光波長、ならびに量子収率などの色素特性を変えることができる。色素は、3 位および6 位における窒素上の環式基に関して対称であって

も非対称であってもよく、または窒素の一つは、環式基を有していなくてもよい。合成された例示的なN-環式シラキサンテニウム蛍光色素化合物は、3,6-ビス-(ピロリジン-1-イル)-9-(2-メチル-4-カルボキシフェニル)-10,10-ジメチル-10-シラキサンテン-9-イウムおよびその塩、ならびに3,6-ビス-(ピロリジン-1-イル)-9-(3-メチル-5-カルボキシ-チエン-2-イル)-10,10-ジメチル-10-シラキサンテン-9-イウムおよびその塩である。

【0116】

本発明はまた、文献によるキサントンの合成に使用される、困難な精製ステップおよび還元反応時間を除去することによって、収率および時間を大幅に改善する非常に重要な中間体(10-シラキサントン)の合成方法を提供する。新しい手順によって、ピロニン中

10

【0117】

本発明の別の態様では、化合物はまた、アミン置換基の一つが、例えば酵素によって切断され得るアミノ酸またはペプチド配列を有する非蛍光性アミドの形態である場合、発蛍光性になるように作製され得る。非蛍光性アミドが切断されると、蛍光性になる遊離アミンが放出される。キサントニウムコアの他のアミンおよび9位における置換基は、活性化フルオロフォアを、確実に遠赤/NIR領域(約635nmより長い)に赤方偏移させるように選択される。

【0118】

本発明の一部の実施形態では、蛍光色素化合物またはそれらのコンジュゲートは、細胞膜透過性が高い。他の実施形態では、化合物またはコンジュゲートは、フローサイトメトリーによって定量化される通り、同等の波長において吸収および放出する一般的なインドシアニン色素よりも数十倍、数百倍または数千倍も透過性が高い。他の実施形態では、蛍光色素化合物またはそれらのコンジュゲートは、ミトコンドリアまたは核などの細胞内の特定の領域に局在することができ、例えば蛍光顕微鏡法によって画像化することができる。他の実施形態では、蛍光色素化合物またはそれらのコンジュゲートは、特定の細胞内マーカー、受容体またはタンパク質に結合する。他の実施形態では、細胞内マーカー、受容体またはタンパク質との化合物またはコンジュゲートの結合のイメージングは、細胞の疾患または状態、例えばがんまたは低酸素症を示す。他の実施形態では、本発明の蛍光色素化合物は、*in vitro*もしくは*in vivo*で細胞を標識するために直接使用され得るか、または標的リガンド、小分子、薬物、酵素阻害剤、生体分子、ペプチド、炭水化物、タンパク質、抗体、ミセルもしくはナノ粒子への共有結合性もしくは非共有結合性の結合によって修飾し、タンパク質、受容体、細胞、組織を、もしくは生存動物内で標識し、画像化するために使用され得る。さらに、画像化する目的では、本発明は、限定されるものではないが、*in vivo*イメージング装置、例えばIVISまたはFMT、蛍光顕微鏡、フローサイトメーターおよび細胞選別機、ならびに蛍光プレートリーダーを含む多くの既存の蛍光イメージングデバイスと共に使用され得る。

20

30

【0119】

本発明の一部の態様では、本発明の蛍光色素化合物は、P-糖タンパク質(P-gp)のための基質である。他の態様では、化合物は、生細胞のP-gp活性の*in vitro*評価のために使用される。他の態様では、化合物は、薬物などの別の分子による、生細胞のP-gp活性の阻害を評価するために使用される。他の態様では、化合物は、例えば阻害剤またはP-gpと相互作用することができる薬物の存在下および非存在下で、動物、例えばマウスまたはラットの脳内への化合物の蓄積を画像化することによって、生存動物におけるP-gp阻害を画像化するために使用される。血液脳関門におけるP-gpの阻害によって、P-gpの基質である蛍光色素化合物の脳内蓄積度がより高くなる。脳内蓄積の変化は、例えば蛍光分子断層撮影(FMT)イメージングによって検出され、定量化され得る。

40

【0120】

50

本発明の別の態様では、蛍光色素化合物は、炭酸脱水酵素 I I などの細胞内酵素もしくはタンパク質、または炭酸脱水酵素 I X などの細胞外酵素、細胞外タンパク質、膜結合酵素、もしくは膜結合タンパク質に結合する、スルホンアミド、例えばベンゼンスルホンアミドまたはアセタゾラミドなどの分子に化学的に連結される。本発明の別の態様では、蛍光色素化合物は、薬物、例えばインドメタシンに化学的に連結される。本発明の別の態様では、薬物に連結された蛍光色素化合物は、シクロオキシゲナーゼ - 2 (C O X - 2) などの薬物標的を画像化するために使用される。本発明のさらなる一態様では、画像化される薬物標的は、細胞内にある。一部の態様では、標的化蛍光色素化合物は、特に、限定されるものではないが、顕微鏡法、超分解能顕微鏡法、共焦点顕微鏡法またはイメージングフローサイトメトリーなどの利用で、特定の細胞構造または領域、例えば核、サイトゾル、ミトコンドリア、膜、核周囲領域、リソソームまたは他の構造を画像化するために使用され得る。他の態様では、特定の細胞内タンパク質、標的、構造またはバイオマーカー、例えば核、ミトコンドリア、膜、リソソーム、受容体もしくは酵素、例えば炭酸脱水酵素もしくはシクロオキシゲナーゼ 2、DNA、RNA、または他の構造の標的化は、顕微鏡法、フローサイトメトリー、細胞計数、細胞選別、または *in vitro* もしくは *in vivo* での細胞追跡などの利用のために、細胞全体の蛍光標識として使用される。

10

20

30

40

50

【0121】

本発明の蛍光色素化合物は、それらの細胞透過性、および標的リガンド、ペプチド、タンパク質、抗体または他の生体分子とコンジュゲートするためのハンドルと組み合わせられると、そうでなければ従来の赤色から近赤外色素を使用しても入手できない場合がある細胞内標的の *in vivo* イメージングを提供する。本発明の一部の態様では、蛍光色素化合物の全体的分子量は低く、置換基に応じて約 400 ~ 約 750 Da であり、好ましくは 400 ~ 600 Da である。インドシアニン色素などの他の近赤外蛍光色素と比較してサイズがより小さいほど、生体分子の自然な機能による立体障害がより小さく、より良好な造影剤を可能にするので、ペプチド、タンパク質、炭水化物、核酸または抗体などの生体分子を標識するのに重要な利益となる。

【0122】

W^1 、 W^2 、 SX および / または Ar は、任意選択により、生体分子と共有結合および / または化学的連結を形成することができるリンカー部分を含み得る。このようなリンカー部分は、異なる化合物上の官能基と化学的に反応して、共有結合性連結を形成することができる反応基、または異なる化合物上の反応基と化学的に反応して、共有結合性連結を形成することができる官能基を含み得る。このような反応基には、例えば、それぞれ求核試薬または求電子試薬である対応する官能基への曝露によって共有結合性連結を形成することができる求電子試薬または求核試薬が含まれ得る。あるいは、反応基は、光で活性化可能な基であり、適切な波長の光を照射した後のみ化学的に反応性になる。本発明の化合物と連結される生体分子との反応の結果、コンジュゲート物質に本発明の化合物を結合させる新しい連結に、反応基の一つまたは複数の原子が組み込まれ得る。

【0123】

本明細書で企図される生体分子として、タンパク質（例えば、酵素、ホルモン、抗体およびその抗原結合フラグメント、ならびに単鎖抗体）、ペプチド、アミノ酸、糖タンパク質、細胞受容体のリガンド、ポリサッカライド、炭水化物、核酸（例えば、DNA および RNA）、ヌクレオシド、ヌクレオチド、アプタマー、ペプチジル核酸、細胞受容体、酵素基質、酵素補因子、ビオチン、ホルモン、神経伝達物質、増殖因子、サイトカイン、リンホカイン、レクチン、セレクチン、脂質、脂質集合体（例えば、ミセルまたは小胞）、および毒素が挙げられるが、これらに限定されない。限定されるものではないが、アシアロ糖タンパク質受容体、ソマトスタチン、神経成長因子、オキシトシン、ボンベシン、カルシトニン、アルギニンバソプレシン、アンギオテンシン II、心房性ナトリウム利尿ペプチド、インスリン、グルカゴン、プロラクチン、ゴナドトロピン、様々なオピオイドおよびウロキナーゼタイプのプラスミノーゲン活性化因子を含む、トランスフェリン、ビタミン、炭水化物および内部移行 (*internalizing*) 受容体を標的化するリガ

ンドの標的化および送達、例えば葉酸媒介性標的化 (Leamon & Low, Drug Discovery Today、6巻: 44~51頁、2001年) に関するものなどの他の生体分子を使用することができる。また、限定されるものではないが、ウイルスおよび細菌を含むいくつかの供給源に由来し得る膜、膜透過および核移行シグナル配列も企図される。生体分子には、有機分子、ポリマー、デンドリマー、細胞 (例えば、哺乳動物細胞、非哺乳動物細胞、植物細胞、昆虫細胞、胚細胞)、細菌、バクテリオファージ、ウイルス、生物、粒子、微粒子、またはナノ粒子も含まれ得る。生体分子には、限定されるものではないが、光線療法または放射線療法分子を含む治療用薬物分子も含まれ得る。生体分子の他の例として、化合物 67~83、87、および 90~93 において 3, 6 - ジアミノ - 10 - シラキサンテニウムコアの 9 位に結合している環 (例えば、式 (I) または (II) の A1) に連結されている部分が挙げられるが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

【0124】

本発明の蛍光色素化合物は、以下のタイプの造影剤またはプローブ: 分子プローブ、活性化可能なプローブ、酵素活性化可能なプローブ、量子ドットベースのイメージングプローブ、ナノ粒子ベースのイメージングプローブ、生体分子を標的化したプローブ、波長偏移ビーコン、多色プローブ、標的に高い結合親和性を有するプローブ、非特異的イメージングプローブ、細胞ベースのプローブ、二重様式 (dual modality) 剤、光学/CT二重様式剤 (例えば、CT剤に物理的または化学的に結合した光学的剤)、光学/MR二重様式剤 (例えば、MR剤に物理的または化学的に結合した光学的剤)、光学/核二重様式剤 (例えば、放射性原子にまたは放射性原子と物理的または化学的に結合した光学的剤)、および/またはそれらの任意の組合せ、の一つまたは複数を作り出すために使用され得る。

【0125】

化学的に連結された生体分子を含む本発明の化合物は、生体分子に化学的に連結されていない化合物と比較して、増強された蛍光を有することができる。ある特定の実施形態では、蛍光は、連結されていない化合物と比較して、約10%、約25%または約50%増強されている。本発明の化合物に化学的に連結されている生体分子は、in vivo、ex vivo および/または in vitro での分子の蓄積、体内分布、排除、標的化、結合および/または認識を変えてもよく、増強させてもよい。

【0126】

一つまたは複数の生体分子は、いくつかの反応性官能基を含有する多価の連結またはリンカーを介して蛍光色素に化学的に連結されて、構造 $(SX)_t - ((L)_v (BM)_r)$ [Lは、リンカーもしくはスペーサ、または多価のスペーサもしくはリンカーであり、BMは、生体分子であり、SXは、既に定義されている通りであり、 $t = 1 \sim 6$ 、 $v = 1 \sim 500$ および $r = 1 \sim 500$ であり、 $((L)_v)$ は、 v が1を超える場合、同じリンカーのコピーまたは異なるリンカーの組合せを表す] の生体適合性である蛍光性分子を形成することができる。

【0127】

本発明の化合物に適したリンカー部分の例は、既に文献 (米国特許出願第2002/0064794号 (2002年)、米国特許第6,086,737号、米国特許第6,048,982号、米国特許第6,747,159号、および米国特許第6,448,008号参照) に記載されている。

【0128】

本発明の1種超の蛍光色素化合物は、単一の生体分子に化学的に連結され得ると理解される。このような構造の一例は、 $SX_u - BM$ ($u = 1 \sim 500$ であり、SXおよびBMは、先に定義した通りである) と表され得る。

【0129】

開示の化合物の塩も企図され、それには、塩基付加塩および酸付加塩の両方が含まれる。本発明の化合物は、適切な有機または無機塩基と反応して塩基付加塩を形成することが

できる、一つまたは複数の十分に酸性のプロトンを有することができる。塩基付加塩には、無機塩基、例えばアンモニウム、またはアルカリもしくはアルカリ土類金属水酸化物、炭酸塩、重炭酸塩等、ならびに有機塩基、例えばアルコキシド、アルキルアミド、アルキルおよびアリールアミン等に由来する塩が含まれる。したがって、本発明の塩を調製するのに有用なこのような塩基には、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウム、炭酸カリウム等が含まれる。

【0130】

十分に塩基性の基、例えばアミンを有する本発明の化合物は、有機または無機酸と反応して、酸付加塩を形成することができる。塩基性の基を有する化合物から酸付加塩を形成するために一般に用いられる酸は、無機酸、例えば塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硫酸、リン酸等、および有機酸、例えば *p*-トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸、シュウ酸、*p*-ブロモフェニル-スルホン酸、炭酸、コハク酸、クエン酸、安息香酸、酢酸等である。このような塩の例として、硫酸塩、ピロ硫酸塩、重硫酸塩、亜硫酸塩、亜硫酸水素塩、リン酸塩、一水素リン酸塩、二水素リン酸塩、メタリン酸塩、ピロリン酸塩、塩化物、臭化物、ヨウ化物、酢酸塩、プロピオン酸塩、デカン酸塩、カプリル酸塩、アクリル酸塩、ギ酸塩、イソ酪酸塩、カプロン酸塩、ヘプタン酸塩、プロピオール酸塩、シュウ酸塩、マロン酸塩、コハク酸塩、スベリン酸塩、セバシン酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、ブチン-1,4-二酸塩、ヘキシン-1,6-二酸塩、安息香酸塩、クロロ安息香酸塩、メチル安息香酸塩、ジニトロ安息香酸塩、ヒドロキシ安息香酸塩、メトキシ安息香酸塩、フタル酸塩、スルホン酸塩、キシレンスルホン酸塩、フェニル酢酸塩、フェニルプロピオン酸塩、フェニル酪酸塩、クエン酸塩、乳酸塩、ガンマ-ヒドロキシ酪酸塩、グリコール酸塩、酒石酸塩、メタンスルホン酸塩、プロパンスルホン酸塩、ナフタレン-1-スルホン酸塩、ナフタレン-2-スルホン酸塩、マンデル酸塩等が挙げられる。

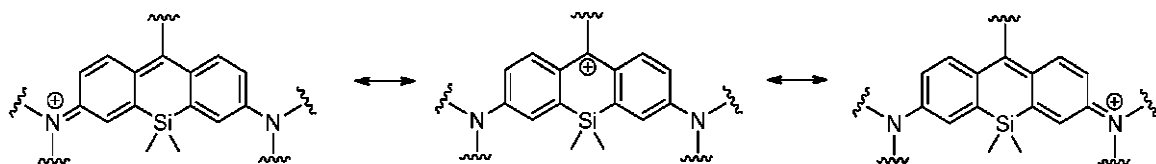
【0131】

他の実施形態では、 T_1 は、 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、カルボキシル、 $-COCl$ 、 $-(CO)O(CO)R_{13}$ 、 $-CONHNH_2$ 、置換および非置換 *N*-ヒドロキシスクシンイミドエステル、置換および非置換 *N*-ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル、ニトロ-またはフルオロ-フェノールエステル、アジド、 $-NCS$ 、 $-CHO$ 、アジド、 $-COCH_2I$ 、ホスホルアミダイト、フタルアミド、ならびにマレイミドからなる群から選択され、 R_{13} は、*H*、アルキルおよびアリールからなる群から選択される。

【0132】

本発明の化合物が、*SX* 環およびアミン置換基における二重結合の位置を示す構造によって本明細書に図示される場合、その構造は、例えば以下の図に示されている通り、任意の共鳴構造も包含することを理解されたい。

【化32】

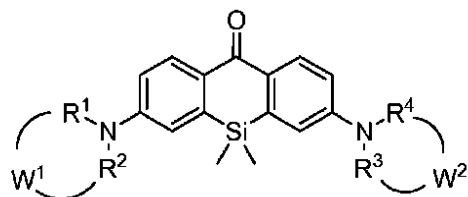


式中、先の構造のそれぞれにおいて、*SX* コアの周りの置換基は、本明細書で定義の通りである。

【0133】

別の態様では、本発明は、以下の一般構造式の化合物を提供する。

【化 3 3】



式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 W^1 および W^2 は、先に定義した通りである。

【0134】

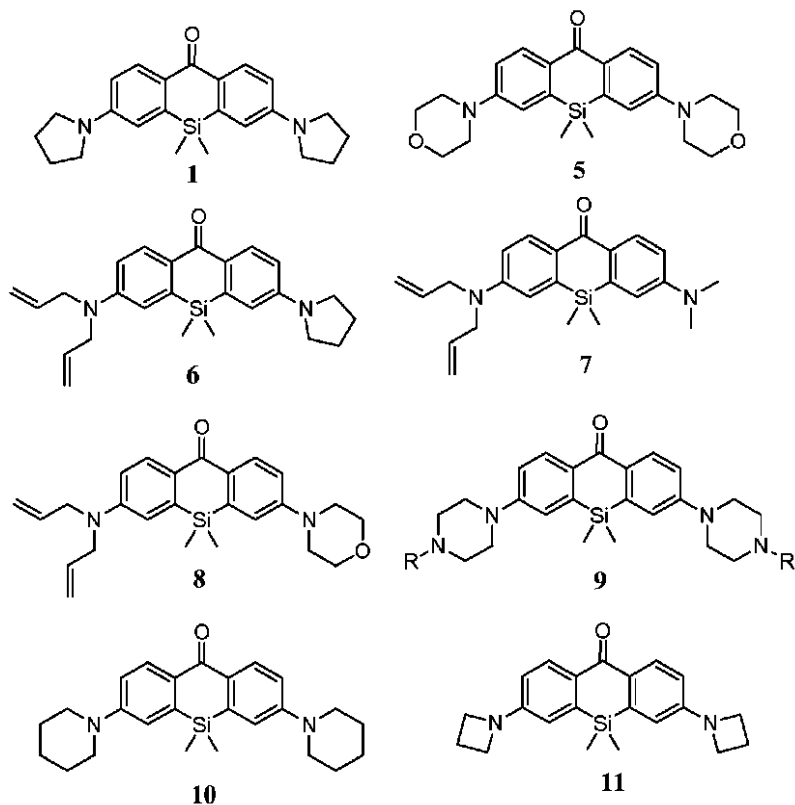
ある特定の実施形態では、 W^1 および W^2 は、独立に、存在しないか、または脂肪族炭素、窒素、酸素、硫黄もしくはケイ素を含有し、 R^1 および R^2 もしくは R^3 および R^4 と共に、任意選択により環式環上のさらなる置換基と一緒に 3 ~ 9 員の環を形成する基から選択される。

10

【0135】

本発明の別の態様は、以下の化合物を提供する。

【化 3 4】



20

30

【0136】

化合物は、以下の通り生体分子または細胞で標識され得る。本明細書に記載の通り反応性官能基を担持している本発明の化合物（蛍光色素）は、様々な濃度において約 5 分間 ~ 24 時間またはそれより長く、約 4 ~ 約 37 の温度で一つまたは複数の生体分子と共にインキュベートされる。インキュベーション後、遊離蛍光色素、または生体分子に化学的に連結されなかった蛍光色素は、例えばクロマトグラフィーまたは限外濾過法などの当業者に公知の方法を使用して除去され得る。

40

【0137】

細胞を、インキュベーション後に遠心分離して、上清が除去されている細胞ペレットを作り出すことができる。細胞を、培養培地または生理食塩水に再度懸濁させて、残留蛍光色素、結合していない蛍光色素、または遊離蛍光色素を洗い流すことができる。これを数回反復してもよい。この方式では、内部もしくは外部の細胞分子への直接的なコンジュゲ

50

ートによって、または限定されるものではないがサイトゾル、エンドソーム、核、ゴルジ装置、および他の細胞内小器官を含む様々な細胞内区画への非特異的な細胞取込みによって、細胞を標識することができる。

【0138】

開示の化合物および/または組成物を、キットとしてパッケージングすることができ、このキットは任意選択により、化合物を使用するための指示を含むことができる。非限定的な例として、例えば粉末または凍結乾燥形態の組成物、ならびに *in vivo* および/または *in vitro* での利用のための再構成、投与量情報および保存情報を含む使用のための指示を含有するキットが挙げられる。キットは、任意選択により、使える状態のまたは投与のために溶液とさらに混合する必要がある液体形態の組成物の容器、例えば粉末形態を再構成するためのバイアル、注射のためのシリンジ、特製のIV送達システム、吸入器等を含有することができる。このような容器は、対象への単一または複数用量を含有することができる。さらにキットは、*in vivo* または *in vitro* における組成物の検出に役立つ構成要素、例えば特殊内視鏡、光フィルタを含有することができる。

10

【0139】

生体分子に化学的に連結されている化合物を含む、本明細書に開示の化合物は、対象、例えば動物またはヒト対象に投与するのに適した医薬組成物に製剤化することができる。したがって製剤は、化合物を、投与の所望の形態および/または用量に適した生理的に許容される担体と一緒に含む。生理的に許容される担体として、水、食塩水を挙げることができ、これには、緩衝剤などの剤、および医薬製剤における使用に適合する保存剤などの他の剤がさらに含まれ得る。好ましい担体は、流体、好ましくは液体、より好ましくは水溶液であるが、固体製剤、局所製剤、吸入製剤、眼科用製剤、および経皮製剤のための担体も、本発明の範囲に含まれることが企図される。

20

【0140】

さらに医薬組成物は、生理的に許容される担体に一つまたは複数の安定剤を含むことができる。このような組成物における使用に適した安定剤の例として、例えば、低分子量炭水化物、例えば直鎖多価アルコール、例えばソルビトールおよびグリセロールが挙げられる。イノシトールなどの他の低分子量炭水化物を使用することもできる。

30

【0141】

本発明の化合物は、経口または非経口投与され得ることが企図される。非経口投与では、化合物は、静脈内、筋肉内、皮膚、経皮、皮下、直腸内、経鼻、膣内、および眼に投与され得る。したがって組成物は、例えば、固体錠剤、カプセル、丸剤、凍結乾燥散剤を含む散剤、コロイド懸濁液、ミクロスフェア、リボソーム顆粒、懸濁液、エマルション、溶液、ヒドロゲルを含むゲル、ペースト、軟膏、クリーム、ギプス、灌注溶液、水薬、浸透圧送達デバイス、坐剤、浣腸、注射剤、移植片、スプレー、またはエアロゾルの形態であってよい。医薬組成物は、従来の薬務に従って製剤化され得る（例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy、第20版、2000年、A. R. Gernaro編、Lippincott Williams & Wilkins、Philadelphia、およびEncyclopedia of Pharmaceutical Technology、J. SwarbrickおよびJ. C. Boylan編、1988~1999年、Marcel Dekker、New York参照）。

40

【0142】

III. 本発明の蛍光色素化合物の利用

本発明の化合物は、様々な *in vivo* および *in vitro* での用途において使用され得る。これらの用途を、以下の部分に論じる。

(a) *in vivo* での用途

【0143】

本発明は、様々なイメージング用途、例えば光学イメージング用途で使用するこ

50

きる新規蛍光性化合物を提供する。光学イメージング技術の総説については、例えば、Alfanoら、Ann. NY Acad. Sci. 820巻：248～270頁、1997年；Weissleder、Nature Biotechnology 19巻、316～317頁（2001年）；Ntziachristosら、Eur. Radiol. 13巻：195～208頁（2003年）；Gravesら、Curr. Mol. Med. 4巻：419～430頁（2004年）；Citrinら、Expert Rev. Anticancer Ther. 4巻：857～864頁（2004年）；Ntziachristos、Ann. Rev. Biomed. Eng. 8巻：1～33頁（2006年）；Kooら、Cell Oncol. 28巻：127～139頁（2006年）；およびRaoら、Curr. Opin. Biotechnol. 18巻：17～25頁（2007年）参照。

10

【0144】

本発明の実施に有用なイメージングシステムは、典型的に、三つの基本的な構成要素、（１）本発明の蛍光色素化合物を励起するのに適切な光源、（２）蛍光色素の励起を誘発するために使用した光による発光を分離または識別するためのシステム、および（３）検出システムを含む。この検出システムは、手持ち式であってもよく、他の有用なイメージングデバイス、例えば内視鏡、カテーテル、術中顕微鏡および／もしくはビューアーに組み込むことができる。

【0145】

好ましくは、光源は、単色（または実質的に単色）光を提供する。光源は、適切にフィルタをかけた白色光、すなわち広帯域供給源からのバンドパス光であり得る。例えば、150ワットのハロゲンランプからの光を、Omega Optical（バーモント州Brattleboro）から市販されている適切なバンドパスフィルタに通過させることができる。システムに応じて、光源はレーザーであってもよい。例えば、Boasら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91巻：4887～4891頁、1994年；Ntziachristosら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97巻：2767～2772頁、2000年；およびAlexander、J. Clin. Laser Med. Surg. 9巻：416～418頁、1991年参照。イメージングのためのレーザーに関する情報は、例えばImaging Diagnostic Systems, Inc.（フロリダ州Plantation）および様々な他の供給源に見出され得る。高域または高バンドパスフィルタを使用して、励起光から光学発光を分離することができる。適切な高域または高バンドパスフィルタは、Omega Optical（バーモント州Burlington）から市販されている。

20

30

【0146】

一般に、光検出システムは、集光／画像形成構成要素および光検出／画像記録構成要素を含むとみなすことができる。光検出システムは、両方の構成要素を組み込む単一の集積デバイスであってもよいが、集光／画像形成構成要素および光検出／画像記録構成要素を、別個に論じる。

【0147】

特に有用な集光／画像形成構成要素は、内視鏡である。腹膜（Gahlenら、J. Photochem. Photobiol. B 52巻：131～135頁、1999年）、卵巣がん（Majorら、Gynecol. Oncol. 66巻：122～132頁、1997年）、結腸および直腸（Mycekら、Gastrointest. Endosc. 48巻：390～394頁、1998年；およびSteppら、Endoscopy 30巻：379～386頁、1998年）、胆管（Izuishira、Hepatogastroenterology 46巻：804～807頁、1999年）、胃（Abeら、Endoscopy 32巻：281～286頁、2000年）、膀胱（Kriegmaierら、Urol. Int. 63巻：27～31頁、1999年；およびRiedlら、J. Endourol. 13巻：755～759頁、1999年）。

40

50

9年)、肺(Hirschら、Clin Cancer Res 7巻:5~220頁、2001年)、脳(Ward, J. Laser Appl. 10巻:224~228頁、1998年)、食道、および頭頸部領域を含む数々の組織および臓器のin vivo光学イメージングに使用されている内視鏡デバイスおよび技術を、本発明の実施において用いることができる。

【0148】

他のタイプの集光構成要素は、光ファイバーデバイスを含むカテーテルベースのデバイスである。このようなデバイスは、血管内イメージングに特に適している。例えば、Tearneyら、Science 276巻:2037~2039頁、1997年;およびCirculation 94巻:3013頁、1996年参照。

10

【0149】

フェーズドアレイ技術(Boasら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91巻:4887~4891頁、1994年;Chance、Ann. NY Acad. Sci. 838巻:29~45頁、1998年)、光学断層撮影法(Chengら、Optics Express 3巻:118~123頁、1998年;およびSiegelら、Optics Express 4巻:287~298頁、1999年)、生体内顕微鏡法(Dellianら、Br. J. Cancer 82巻:1513~1518頁、2000年;Monskyら、Cancer Res. 59巻:4129~4135頁、1999年;およびFukumuraら、Cell 94巻:715~725頁、1998年)、共焦点イメージング(Korlachら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96巻:8461~8466頁、1999年;Rajadhyaksharら、J. Invest. Dermatol. 104巻:946~952頁、1995年;およびGonzalezら、J. Med. 30巻:337~356頁、1999年)ならびに蛍光分子断層撮影法(FMT)(Nziachristosら、Nature Medicine 8巻:757~760頁、2002年;米国特許第6,615,063号、PCT出願第WO03/102558号、およびPCT US/03/07579)を含むさらに他のイメージング技術を、本発明の蛍光色素化合物と共に使用することができる。同様に、蛍光色素化合物は、様々なイメージングシステム、例えば、[1]IVIS(登録商標)イメージングシステム:100シリーズ、200シリーズ(Xenogen、カルフォルニア州Alameda)、[2]SPECTRUMおよびLUMINA(Xenogen、カルフォルニア州Alameda)、[3]SoftScan(登録商標)またはExplore Optix(商標)(GE Healthcare、英国)、[4]Maestro(商標)およびNuance(商標)-2 Systems(CRi、マサチューセッツ州Woburn)、[5]Carestream Molecular Imaging(ニューヨーク州Rochester)製のImage Station In-Vivo FX(かつてのKodak Molecular Imaging Systems)、[6]OV100、IV100(Olympus Corporation、日本)、[7]Cellvizio Mauna Kea Technologies、フランス)[8]NanoSPECT/CTまたはHiSPECT(Bioscan、ワシントンDC)、[9]CTLM(登録商標)またはLILATM(Imaging Diagnostic Systems、フロリダ州Plantation)、[10]DYNOTTM(NIRx Medical Technologies、ニューヨーク州Glen Head)、ならびに[11]Berthold Technologies(ドイツ)によるNight Owlイメージングシステムにおいて使用され得る。

20

30

40

【0150】

このようなシステムでは、様々な光検出/画像記録構成要素、例えば電荷結合素子(CCD)システムまたは写真フィルムを使用することができる。光検出/画像記録の選択は、使用される集光/画像形成構成要素のタイプを含む因子に応じて決まる。しかし、適切な構成要素の選択、光学イメージングシステムへの構成要素の組入れ、およびシステムの

50

操作は、当技術分野の通常の技術の範囲内であると理解される。

【0151】

光学イメージングおよび測定技術として、蛍光イメージング、ルミネッセンスイメージング、内視鏡検査、蛍光内視鏡検査、光干渉断層計、透過イメージング、時間分解透過イメージング、共焦点イメージング、非線形顕微鏡法、光音響イメージング、音響光学型イメージング、分光法、反射分光法、生体内イメージング、二光子イメージング、干渉法、コヒーレンス干渉法、拡散光学断層撮影法、および蛍光分子断層撮影法が挙げられるが、これらに限定されない。

【0152】

注射の蛍光色素化合物は、固体支持体、例えば粒子にカップリングされるか、またはそれらの内部に組み込まれ得ることが企図される。したがって、蛍光色素化合物は、蛍光性でもある粒子を生成するために、磁気特性を有する金属酸化物ナノ粒子にカップリングされ得ると理解される。したがって、得られた粒子は、当技術分野で公知の技術を使用して、MRIイメージングで使用されてもよい。MRI技術の総説については、Westbrook、Handbook of MRI Technique、第2版、1999年、Blackwell Science参照。例えば、蛍光性分子断層撮影法および磁気共鳴イメージングによって得られた画像が、互いに位置合わせされるか(c o - r e g i s t e r)または融合されて、画像化される項目に関する追加の情報を提供し得ることは可能である。さらに、多重様式のイメージングシステム(すなわち、光学およびMRIイメージングシステムを組み合わせたもの)を使用して、組み合わされた光学的MR画像を作り出すことができる。

10

20

【0153】

さらに、本発明の組成物および方法は、他のイメージング組成物および方法と組み合わせて使用され得る。例えば、本発明の蛍光色素化合物は、単独で、または他の従来のイメージング様式、例えばX線、コンピュータ断層撮影法(CT)、MRIイメージング、超音波、陽電子放出断層撮影法(PET)、および単光子コンピュータ断層撮影法(SPECT)と組み合わせて、光学イメージングプロトコルを介して目的の領域を画像化するために使用され得る。例えば、本発明の組成物および方法を、CTまたはMRIイメージングと組み合わせて使用して、例えば別のイメージング様式によって生成された画像を位置合わせすることによって、解剖学的および分子的情報の両方を同時に得ることができる。本発明の組成物および方法は、X線、CT、PET、超音波、SPECT、MRおよび他の光学コントラスト剤と組み合わせて使用されてもよいが、または代わりに本発明の蛍光色素化合物は、光学イメージングと組み合わせてCT、PET、SPECTおよびMRIイメージング様式を使用して検出することができる、ヨウ素、ガドリニウム原子および放射性同位元素などの造影剤を含有することもできる。

30

【0154】

i n v i v o 光学イメージングの例示的な方法は、(a)対象、例えばヒトまたは動物に、本発明の蛍光性化合物を投与するステップと、(b)蛍光色素化合物が対象内に分布するか、または生物学的標的と接触もしくは相互作用するのに十分な時間を設けるステップと、(c)対象を、電磁放射線、例えば蛍光色素化合物によって吸収可能な波長の光に曝露するステップと、(d)蛍光色素化合物によって放出された光学シグナルを検出するステップとを含む。

40

【0155】

対象は、脊椎動物、例えばヒトを含む哺乳動物であり得ると理解される。また動物は、非脊椎動物(例えば、C . e l e g a n s、D r o s o p h i l aまたは他のモデル研究生物等)であってもよい。生物学的標的として、細胞、細胞培養物、組織、組織切片、臓器、臓器切片、サイトスピン試料、タンパク質、核酸、炭水化物、脂質等を挙げることができるが、これらに限定されない。

【0156】

例えばステップ(a)~(d)を含む上述のステップは、所定の時間間隔で反復され得

50

、それによって対象において放出された蛍光色素化合物のシグナルの経時的な評価を可能にし得る。照射および検出ステップ（それぞれステップ（c）および（d））は、平面イメージングシステム、内視鏡、カテーテル、断層撮影システム、手持ち式の光学イメージングシステム、ゴーグル、または術中顕微鏡を使用して実施され得る。蛍光色素化合物によって放出されたシグナルは、画像、例えば断層画像を構築するために使用され得る。

【0157】

これらのステップの前または最中に、検出システムは、対象から放出された光学的および/または他のシグナル（例えばMR、核、X線）を検出するために、対象（例えば動物またはヒト）の周りまたはその近傍に位置することができる。放出された光学的および/または他のシグナルは、画像、例えば断層画像または平面画像を構築するために処理され得る。さらに、処理されたシグナルは、単独で、または融合（組み合わせられた）画像のいずれかの画像として表示され得る。

10

【0158】

さらに、一つまたは複数の造影剤を選択的に検出し、同時に画像化する *in vivo* イメージング方法を実施することが可能である。このような手法では、例えば前述のステップ（a）において、シグナル特性が互いに識別可能な2種類またはそれより多くの種類の造影剤が、同時または連続的に対象に投与され、造影剤の少なくとも一つは、本発明の蛍光色素化合物を含有する。複数の剤を使用すると、複数の生物学的プロセス、機能または標的の記録が可能になる。

20

【0159】

本発明はまた、標識された細胞が対象に投与される *in vivo* イメージング方法を特色とする。細胞は、*ex vivo* で蛍光色素化合物により標識することができる。細胞は、対象に直接由来してもよく、別の供給源（例えば、別の対象、細胞培養物等）に由来してもよい。蛍光色素化合物は、細胞と混合されて、細胞を有効に標識することができる。得られた標識細胞はステップ（a）で対象に投与されて生じる標識細胞を有効に標識することができる。次に、ステップ（b）～（d）を下記の通りに行う。この方法は、T細胞、腫瘍細胞、免疫細胞および幹細胞を含む特定の細胞型、ならびに他の細胞型の輸送および局在をモニタするために使用され得る。特に、この方法は、細胞ベースの治療をモニタするために使用され得る。

30

【0160】

蛍光色素化合物の製剤化、投与方法の選択、対象に投与される蛍光色素化合物の投薬量、および蛍光色素化合物の投与と光（および、その環境下で適切な場合、他の形態の電磁放射線も）へのそれらの曝露との間のタイミングは、当技術分野の技術レベルの範囲内であると理解される。

【0161】

本発明の方法は、対象における蛍光色素化合物の局在を経時的に追跡するか、または対象における蛍光色素化合物の代謝および/もしくは排泄の変化もしくは変質を経時的に評価することを含み、いくつかの兆候を決定するために使用され得る。上記方法はまた、限定されるものではないが、有効性、最適なタイミング、最適な投与レベル（個々の患者または試験対象に合わせることを含む）、および治療の組合せの相乗効果を決定することを含めて、このような治療によってモジュレートされた分子的事象および生物学的経路を画像化することによって、このような疾患の治療の次に来るように使用されてもよい。

40

【0162】

本発明の方法および組成物はまた、医師または外科医が、疾患領域、例えば関節炎、がん、特に結腸ポリープ、または脆弱もしくは不安定なブランクを同定し、特徴付けて、疾患状態の組織と通常の組織を識別する（例えば、通常の手術用顕微鏡を使用して検出することが困難な腫瘍境界を検出すること）のを助ける、例えば、脳外科手術において、例えば病変ががん性であり除去されるべきかもしくは非がん性であり静置されるべきかを決定することによる、または疾患の外科的ステージ分類（例えば、術中のリンパ節のステージ分類、センチネルリンパ節マッピング、もしくは術中出血の評価）における治療的もしくは

50

は外科的介入の決定を助けるためか、または腫瘍境界を描くために使用され得る。

【0163】

本発明の方法および組成物はまた、疾患、特に初期疾患の局在、疾患もしくは疾患関連状態の重症度、疾患のステージ分類の検出、特徴付けおよび／もしくは決定、ならびに／または疾患のモニタリングに使用され得る。放出されたシグナルの存在、非存在またはレベルは、病状を示し得る。本発明の方法および組成物はまた、様々な治療介入、例えば外科手順をモニタおよび／または案内し、細胞ベースの治療を含む薬物治療をモニタするために使用され得る。本発明の方法はまた、疾患または疾患状態の予後において使用され得る。

【0164】

前述のそれぞれに関して、（治療の前、最中または後に）検出またはモニタされ得るこのような疾患または疾患状態の例として、例えば、炎症（例えば、関節炎によって引き起こされた炎症、例えば関節リウマチ）、がん（例えば、結腸直腸、卵巣、肺、乳房、前立腺、子宮頸部、精巣、皮膚、脳、胃腸管、脾臓、肝臓、腎臓、膀胱、胃、白血病、口、食道、骨）、心血管疾患（例えば、アテローム性動脈硬化症および血管の炎症状態、虚血、脳卒中、血栓症、播種性血管内凝固）、皮膚疾患（例えば、カボジ肉腫、乾癬、アレルギー性皮膚炎）、眼疾患（例えば、黄斑変性症、糖尿病性網膜症）、感染性疾患（例えば、後天性免疫不全症候群、マラリア、シャーガス病、住血吸虫症を含む、細菌、ウイルス、真菌および寄生虫の感染症）、免疫疾患（例えば、自己免疫性障害、リンパ腫、多発性硬化症、関節リウマチ、真性糖尿病、紅斑性狼瘡（*lupus erythematosus*）、重症筋無力症、グレーブス病）、中枢神経系疾患（例えば神経変性疾患、例えばパーキンソン病、アルツハイマー病、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症、プリオン病）、遺伝性疾患、代謝性疾患、環境疾患（例えば、鉛、水銀および放射能の中毒症、皮膚がん）、骨に関係する疾患（例えば、骨粗鬆症、原発性および転移性骨腫瘍、変形性関節症）、神経変性疾患、および外科手術に関係する合併症（例えば、移植片拒絶、臓器拒絶反応、創傷治癒の変質、線維症、または外科的移植に関係する他の合併症）が挙げられる。

【0165】

したがって、本発明の方法および組成物は、例えば、腫瘍細胞の存在および／または局在、例えばアテローム性動脈硬化症または関節炎における活性化マクロファージの存在を含む、炎症の存在および／または局在、冠動脈および末梢動脈において急性閉塞の危険性がある領域（すなわち、脆弱なプラーク）、拡大動脈瘤の領域、頸動脈の不安定なプラークおよび虚血領域を含む、血管疾患の存在および局在を決定するために使用され得る。本発明の開示の方法は、例えばアポトーシス、壊死、低酸素症および血管新生の同定および評価において使用され得る。あるいは、開示の方法はまた、例えば治療用化合物または治療で処置する前、および処置した後の対象を画像化し、対応する画像を比較することによって、特定の分子標的に対する治療用化合物または治療の効果を評価するために使用され得る。

【0166】

（b）*in vitro*での用途

さらに、蛍光色素化合物は、様々な*in vitro*アッセイ、例えば結合実験、分析物の検出、蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）アッセイ、時間分解蛍光アッセイ、シグナル増幅アッセイ、例えばチラミッドシグナル増幅アッセイ、ホモジニアスアッセイ、例えばルミネッセンス酸素チャネル免疫アッセイ（*luminescent oxygen channeling immunoassay*）、ハイスループットスクリーニング、ハイコンテンツスクリーニング、フローサイトメトリー、細胞アッセイ（溶解または生存）、顕微鏡法、および*in vitro*イメージング実験で使用され得ると理解される。先のセクションで論じたイメージング技術は、*in vitro*イメージング実験にも利用できると理解される。

【0167】

例示的な*in vitro*イメージング方法は、（a）試料を、本発明の蛍光色素化合

10

20

30

40

50

物を含むプローブと接触させるステップと、(b) 蛍光色素化合物を、(i) 生物学的標的によって活性化し、かつ/または(ii) 生物学的標的に結合させるステップと、(c) 任意選択により、活性化していないかまたは結合していない蛍光色素化合物を除去するステップと、(d) 試料を、蛍光色素化合物によって吸収可能な波長の電磁放射線、例えば光に曝露するステップと、(e) 蛍光色素化合物から放出されたシグナルを検出し、それによってプローブが生物学的標的によって活性化されたか、または結合されたかを決定するステップとを含む。

【0168】

また本発明の蛍光色素化合物は、他のクラスの蛍光色素化合物、例えばフルオレセイン、ローダミン、シアニン、ホウ素-ジピロメテンまたはオキサジンと平行してまたは同時に使用され得ること、および、本発明の蛍光色素の独特な化学的、物理的および光学的特性によって、本発明の蛍光色素は、別のクラスの蛍光色素化合物に由来する一つまたは複数の蛍光色素の同時使用を含む多重蛍光アッセイに特に十分適していることが理解される。

10

【0169】

試料は、例えば、初代細胞、細胞培養物、または組織、ウイルス、分析物、タンパク質、免疫グロブリン、炭水化物、酵素、脂質、サイトカイン、ヒストン、修飾ヒストン、DNA、修飾DNA、または他の生体分子を含有する液体または固体試料であり得る。生物学的標的は、例えば細胞、細胞凝集体、組織もしくは組織試料、構造物(マクロセルレベル(例えば、骨または組織)または細胞内レベル(例えば、ミトコンドリアまたは核)の両方)、および細胞成分、例えばタンパク質(例えば、酵素または構造的タンパク質)、脂質、核酸または多糖であり得る。また試料は、水試料、土壌試料、食品試料、または他の生物学的もしくは非生物学的起源の試料の場合と同様に、生細胞または無傷細胞の非存在下で、特定の細胞または生物学的実体、例えばタンパク質、ペプチド、ウイルス、DNA、RNA、脂質、炭水化物等の存在のマーカーを含有し得ると考えられる。

20

【0170】

また本発明の蛍光色素化合物は、生物学的または非生物学的起源の試料における、非生物学的材料または非生物学的起源由来の材料を検出するために使用され得ることが企図される。例として、爆発物、毒素、武器、肥料、薬物、重金属、微量金属、金属カチオン、産業廃棄物、または他の分析物などの材料の検出が挙げられる。

30

【0171】

蛍光色素化合物は、様々な*in vitro*リガンド結合アッセイで使用され得、したがって磁気粒子に組み込まれると、磁気検出ベースのアッセイにおいて使用され得る(米国特許第6,046,585号および同第6,275,031号、米国特許第5,445,970号、米国特許第4,219,335号、Chemlaら(2000年)Proc Natl Acad Sci USA 97巻、14268~72頁参照)。また蛍光色素化合物は、米国特許第5,164,297号およびPerezらNature Biotechnol. 2002年、20巻(8号):816~20頁に記載のものなどの磁気共鳴ベースのリガンド結合アッセイにおいて使用され得る。蛍光色素化合物は、細胞選別および計数用途で使用されてもよい。

40

【0172】

蛍光色素化合物はまた、核酸ベースのアッセイにおいてレポーター基として使用され得る。例えば、蛍光色素化合物は、ハイブリダイゼーションアッセイ、例えば*in situ*ハイブリダイゼーションアッセイ、配列決定反応、増幅反応、例えばリアルタイムポリメラーゼ連鎖反応増幅反応において使用するために、核酸、例えばDNAまたはRNA、修飾核酸、PNA、分子ビーコン、または他の核酸結合分子(例えば、低分子干渉RNAすなわち*siRNA*)とカップリングさせられ得る。例えば、核酸ハイブリダイゼーション原則によって、試料中の一本鎖核酸(すなわち、mRNA、cDNAまたは変性二本鎖DNA)を検出するために、本発明の蛍光色素化合物を、一本鎖核酸(プローブ)に化学的に連結させ、一つまたは複数の一本鎖核酸(標的核酸)を含有すると疑われる試料と接

50

触させ、任意選択により固体支持体上に固定する。プローブは、プローブが試料中の標的核酸にハイブリダイズして二本鎖を形成することを可能にする条件下で、試料と共にインキュベートされる。非結合プローブは、洗浄によって除去され得、結合したプローブは検出され得、プローブ中の蛍光色素化合物によって放出された蛍光の存在またはレベルは、試料中の標的核酸の存在または量を示す。

【0173】

蛍光色素化合物はまた、蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) ベースのアッセイもしくは時間分解 FRET (TR-FRET) アッセイにおいて、または消光剤分子と共に使用され得る。蛍光色素化合物が FRET のための適切なアクセプターまたはドナー、例えば金属キレート、例えばユーロピウムまたは別の蛍光色素に非常に近接している場合、蛍光色素化合物から他のドナーもしくはアクセプター分子への、または他のドナーもしくはアクセプター分子から蛍光色素化合物へのエネルギー移動が生じ得る。酵素等の結合、蓄積、作用を介して、蛍光色素化合物と、他のドナーまたはアクセプター分子との近さが変化すると、FRET または TR-FRET の効率が変化する。このような変化を測定し、使用して、酵素の結合、蓄積または作用を定量化することができる。

10

【0174】

本発明の別の態様では、本発明の蛍光色素は、金属または金属カチオンの存在、非存在、量、または量の変化を検出するために使用され得る。適切な金属キレート基は、蛍光色素化合物に結合することができ、標的金属、例えば銅、亜鉛、カルシウム、鉛、カドミウム、水銀、鉄、コバルト、マンガン、クロム、または他の金属と結合するかまたはそれを放出すると、蛍光色素化合物の蛍光の変化が観測される。

20

【0175】

蛍光色素化合物は、分析物の検出および定量化に特に有用である。検出アッセイ中、化合物から放出されたシグナルは、その化合物が生物学的標的によって活性化されたか、もしくは生物学的標的に結合したかを決定するか、または試料における分析物の存在、非存在もしくは量を、任意選択により時間分解蛍光測定の場合と同様に時間分解能で決定するために使用される。

【0176】

一態様では、化合物のシグナルは、酵素の存在によって増幅され、酵素は、生物学的標的に結合しているかまたは生物学的標的に近接しており、そして、酵素の活性により、蛍光性化合物の標的、分析物または周囲領域への結合または蓄積がもたらされる。酵素の一例は、セイヨウワサビペルオキシダーゼであり、これは、抗体などの他の分子に結合することができ、そして、例えばチラミドまたは 4 - ヒドロキシシンナムアミドにコンジュゲートした蛍光色素化合物に作用して、蛍光色素化合物の、酵素に非常に近接した分子への増幅された結合および増幅された蓄積をシグナルで伝えることができる。

30

【0177】

本発明の一態様では、蛍光色素化合物は、(a) 適切な波長の入射光で励起され得る一重項酸素感受物質 (ドナー) を含有する、分析物に特異的な結合パートナー、ならびに (b) 一重項酸素感受性部分および本発明の化合物を含む一つまたは複数の蛍光性またはルミネッセンス部分を含有する、一重項酸素の存在下で光を放出する、分析物に特異的な第 2 の結合パートナーからなる、分析物の存在または量を決定するためのホモジニアスアッセイの成分として使用され得る。

40

【0178】

本発明の別の態様では、蛍光色素化合物は、顕微鏡の下での場合またはフローサイトメーターもしくはイメージングフローサイトメーターの場合と同様に、個々の細胞を分析または画像化するために使用され得る。

【0179】

本発明の別の態様では、蛍光色素化合物は、顕微鏡または他の適切なイメージングデバイスの下での場合と同様に、無傷組織の試料または類似の試料の場合と同様に細胞の群を分析または画像化するために使用され得る。

50

【0180】

本発明の別の態様では、蛍光色素化合物は、ハイスループットスクリーニングアッセイの場合と同様に複数の試料を逐次的に分析または画像化するために使用され得る。このようなアッセイは、例えば96ウェルプレートまたは384ウェルプレートまたは1536ウェルプレート内で行うことができる。

【0181】

蛍光色素化合物はまた、一つの試料または一組の試料の複数のバイオマーカー、標的または分析物の分析における一つまたは複数の成分として、多重アッセイ、ハイコンテントスクリーニングアッセイ、またはハイコンテント分析アッセイにおいて、適切なイメージングデバイスまたは分析デバイスと共に使用され得る。単一の試料における二つ、三つ、四つ、五つ、六つまたはそれより多くの異なる標的またはマーカーを、個々のプローブと一緒に定量化または画像化して、分析中の試料の状態のハイコンテント読取りを提供することができる。

10

【0182】

(c) ex vivoでの用途

さらに、蛍光色素化合物は、様々なex vivoアッセイ、例えば結合実験、およびex vivoイメージング実験で使用され得ると理解される。先のセクションで論じたイメージング技術は、ex vivoイメージング実験にも利用できると理解される。

【0183】

例示的なex vivoイメージング方法は、(a)試料を、本発明の蛍光色素化合物を含むプローブと接触させるステップと、(b)蛍光色素化合物を、(i)生物学的標的によって活性化し、かつ/または(ii)生物学的標的に結合させるステップと、(c)任意選択により、活性化していないかまたは結合していない蛍光色素化合物を除去するステップと、(d)試料を、蛍光色素化合物によって吸収可能な波長の電磁放射線、例えば光に曝露するステップと、(e)蛍光色素化合物から放出されたシグナルを検出し、それによってプローブが生物学的標的によって活性化されたか、または結合されたかを決定するステップとを含む。

20

【0184】

試料は、例えば初代細胞、細胞培養物または組織を含有する液体試料または固体試料であり得る。生物学的標的は、例えば細胞、細胞凝集体、組織もしくは組織試料、構造物(マクロセルレベル(例えば、骨臓器または組織)または細胞内レベル(例えば、ミトコンドリアまたは核)の両方、および細胞成分、例えばタンパク質(例えば、酵素または構造的タンパク質)、脂質、核酸または多糖であり得る。

30

【実施例】

【0185】

ここで、一般的に記載されている本発明は、本発明のある特定の態様および実施形態を単に例示する目的で含まれ、本発明を制限するものではない以下の実施例を参照することによってより容易に理解される。

【0186】

本発明の化合物の調製に使用できる代表的な材料および方法を、以下にさらに記載する。あらゆる市販の化学薬品および溶媒(試薬グレード)は、一般に、さらなる精製なしに供給されたまま使用される。分析および分取HPLC法は、以下を含む。

40

A カラム: Agilent Zorbax 80、Extend C18、4.6 × 250 mm (5 μm)。

移動相: アセトニトリル、25 mM 酢酸トリエチルアンモニウム。

B カラム: Varian Dynamax、100、C18、41.4 × 250 mm。

移動相: アセトニトリル、25 mM 酢酸トリエチルアンモニウム。

C カラム: Phenomenex Jupiter、300、C18

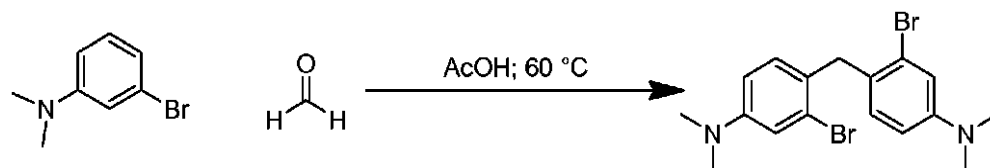
移動相: アセトニトリル、25 mM 酢酸トリエチルアンモニウム。

50

(実施例1) 化合物22: (3, 6-ビス(ジメチルアミノ)-9-(2-カルボキシ-4-メチル-チエン-5-イル)-10, 10-ジメチル-10-シラキサンテニウムクロリド)の合成

化合物22を、以下のスキームに従って合成した。

【化35】



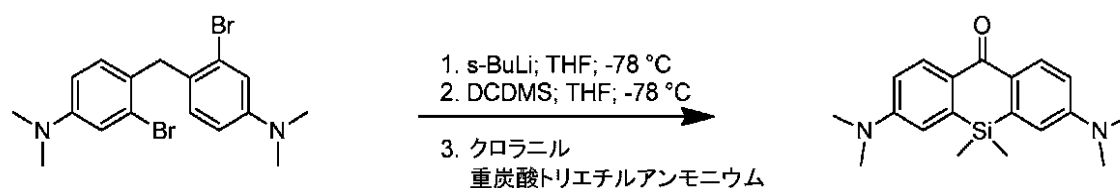
10

【0187】

化合物N, Nジメチル-3-ブロモアニリン(10.0g、50.0mmol)のAcOH(250mL)溶液に、37%ホルムアルデヒド水溶液(4.5g、150.0mmol)の12.16mLを添加し、混合物を60で115分間撹拌した。室温に冷却した後、酢酸の一部を減圧して除去した。次に、反応混合物を飽和NaHCO₃水溶液およびNaOH水溶液で中和し、CH₂Cl₂で抽出した。有機層をブラインで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、蒸発乾固させた。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(シリカゲル)によって精製して、純粋な4, 4'-メチレンビス(3-ブロモ-N, N-ジメチルアニリン)(5.24g、12.7mmol、収率51%)を得た。

20

【化36】



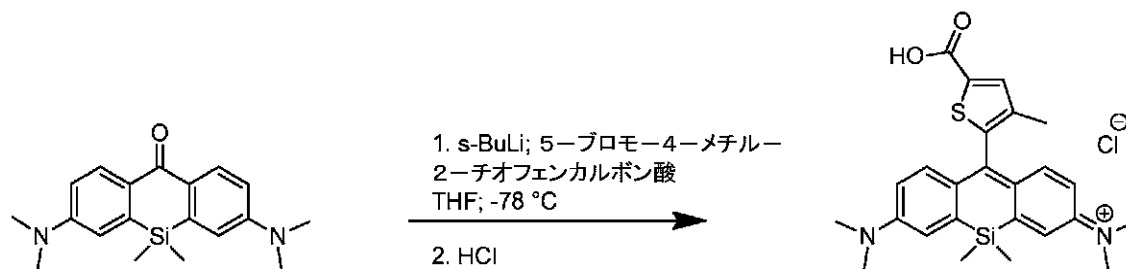
【0188】

窒素でパージしたフラスコに、4, 4'-メチレンビス(3-ブロモ-N, N-ジメチルアニリン)(1000mg、2.42mmol)および無水THF(25mL)を加えた。溶液を-78に冷却し、1.4Mのs-BuLi(3.46mL、4.84mmol)を添加し、混合物を30分間撹拌した。同じ温度で、無水THF(25mL)に溶解させたMe₂SiCl₂(324μL、2.62mmol)をゆっくり添加し、混合物を室温に温め、次に1時間撹拌した。2NのHClを添加することによって、反応をクエンチし、混合物を室温で10分間撹拌した。飽和NaHCO₃を添加し、全体をCH₂Cl₂で抽出した。次に、クロラニル(1750mg、7.05mmol)を、合わせた有機層に、1M重炭酸トリエチルアンモニウム(3mL)と共に添加し、混合物を終夜撹拌した。溶媒を蒸発させ、残渣をフラッシュクロマトグラフィー(シリカゲル)によって精製して、純粋な3, 6-ビス(ジメチルアミノ)-10, 10-ジメチル-10-シラキサンテン(425mg、1.3mmol、収率54%)を得た。

30

40

【化37】



22

50

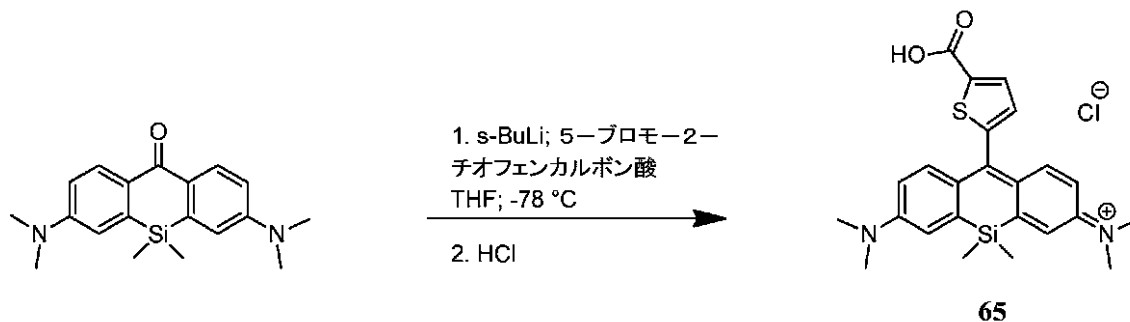
【 0 1 8 9 】

窒素でパージしたフラスコ中で、3, 6 - ビス (ジメチルアミノ) - 10, 10 - ジメチル - 10 - シラキサントン (50.0 mg、0.16 mmol) を無水 THF (10 mL) に溶解させた。溶液を -78℃ に冷却した。同じ温度で、4 - メチル - 5 - ブロモ - 2 - チオフェンカルボン酸 (136 mg、0.81 mmol) および無水 THF (5 mL) をフラスコに添加し、1 M の *s*-BuLi (1.16 mL、1.62 mmol) を添加し、混合物を 30 分間撹拌した。リチウム化溶液をゆっくり添加し、混合物を室温に温め、次に 2 時間撹拌した。2 N の HCl を添加することによって、反応をクエンチし、混合物を室温で 10 分間撹拌した。飽和 NaHCO₃ を添加し、全体を CH₂Cl₂ で抽出した。有機層を Na₂SO₄ で乾燥させ、溶媒を蒸発させた。粗製混合物を HPLC によって精製して、純粋な 3, 6 - ビス (ジメチルアミノ) - 9 - (2 - カルボキシ - 4 - メチル - チエン - 5 - イル) - 10, 10 - ジメチル - 10 - シラキサンテニウムクロリド 2 (9.7 mg、0.022 mmol、収率 14%) を得た。

10

(実施例 2) 化合物 65 : (3, 6 - ビス (ジメチルアミノ) - 9 - (2 - カルボキシ - チエン - 5 - イル) - 10, 10 - ジメチル - 10 - シラキサンテニウムクロリド) の合成

【 化 3 8 】



20

【 0 1 9 0 】

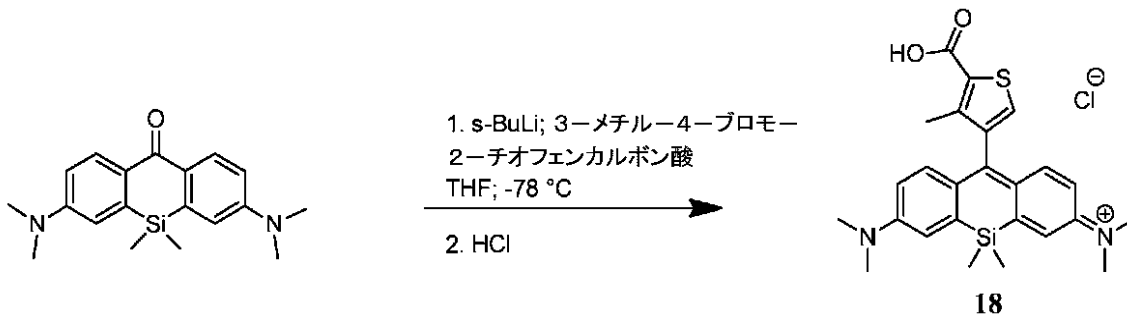
窒素でパージしたフラスコ中で、3, 6 - ビス (ジメチルアミノ) - 10, 10 - ジメチル - 10 - シラキサントン (50.0 mg、0.16 mmol) を無水 THF (10 mL) に溶解させた。溶液を -78℃ に冷却した。同じ温度で、tert - ブチル 4 - ブロモ - 3 - メチル - 2 - チオフェンカルボン酸 (136 mg、0.81 mmol) および無水 THF (5 mL) をフラスコに添加し、1 M の *s*-BuLi (1.16 mL、1.62 mmol) を添加し、混合物を 30 分間撹拌した。リチウム化溶液をゆっくり添加し、混合物を室温に温め、次に 2 時間撹拌した。2 N の HCl を添加することによって、反応をクエンチし、混合物を室温で 10 分間撹拌した。飽和 NaHCO₃ を添加し、全体を CH₂Cl₂ で抽出した。有機層を Na₂SO₄ で乾燥させ、溶媒を蒸発させた。粗製混合物を HPLC によって精製して、純粋な 3, 6 - ビス (ジメチルアミノ) - 9 - (2 - カルボキシ - 3 - メチル - チエン - 4 - イル) - 10, 10 - ジメチル - 10 - シラキサンテニウムクロリド 65 (9.7 mg、0.022 mmol、収率 14%) を得た。

30

(実施例 3) 化合物 18 : (3, 6 - ビス (ジメチルアミノ) - 9 - (2 - カルボキシ - 3 - メチル - チエン - 4 - イル) - 10, 10 - ジメチル - 10 - シラキサンテニウムクロリド) の合成

40

【化 3 9】



10

【0191】

窒素でパージしたフラスコ中で、3,6-ビス(ジメチルアミノ)-10,10-ジメチル-10-シラキサントン(50.0 mg、0.16 mmol)を無水THF(10 mL)に溶解させた。溶液を-78 に冷却した。同じ温度で、3-メチル-4-ブromo-2-チオフェンカルボン酸(136 mg、0.81 mmol)および無水THF(5 mL)をフラスコに添加し、1 Mのs-BuLi(1.16 mL、1.62 mmol)を添加し、混合物を30分間撹拌した。リチウム化溶液をゆっくり添加し、混合物を室温に温め、次に2時間撹拌した。2 NのHClを添加することによって、反応をクエンチし、混合物を室温で10分間撹拌した。飽和NaHCO₃を添加し、全体をCH₂Cl₂で抽出した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、溶媒を蒸発させた。粗製混合物をHPLCによって精製して、純粋な3,6-ビス(ジメチルアミノ)-9-(2-カルボキシ-3-メチル-チエン-4-イル)-10,10-ジメチル-10-シラキサントニウムクロリド18(9.7 mg、0.022 mmol、収率14%)を得た。

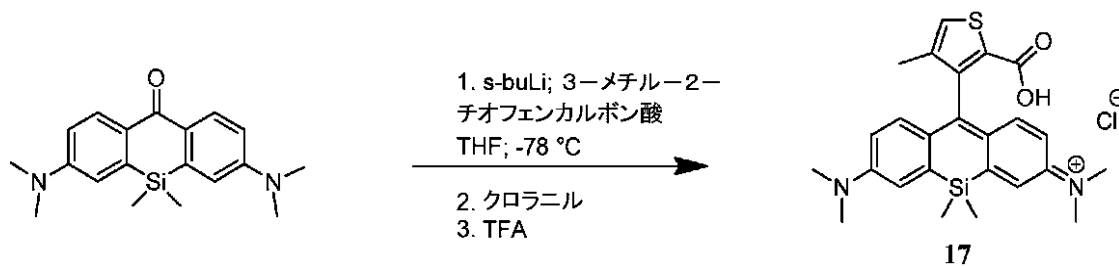
20

(実施例4)化合物番号17:(2,6-ビス(ジメチルアミノ)-9-(2-カルボキシ-4-メチル-チエン-3-イル)-10,10-ジメチル-10-シラキサントニウムクロリド)IVの合成

【0192】

化合物17を、以下のスキームに記載の通りに調製した。

【化 4 0】



30

【0193】

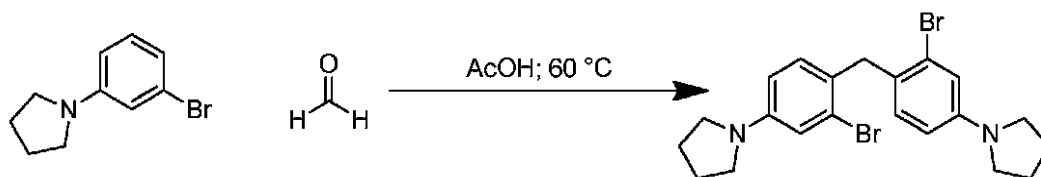
窒素でパージしたフラスコ中で、3,6-ビス(ジメチルアミノ)-10,10-ジメチル-10-シラキサントン(50.0 mg、0.16 mmol)を無水THF(10 mL)に溶解させた。溶液を-78 に冷却した。同じ温度で、tert-ブチル4-bromo-3-メチルベンゾエート(136 mg、0.81 mmol)および無水THF(5 mL)をフラスコに添加し、1 Mのs-BuLi(1.16 mL、1.62 mmol)を添加し、混合物を30分間撹拌した。リチウム化溶液をゆっくり添加し、混合物を室温に温め、次に2時間撹拌した。2 NのHClを添加することによって、反応をクエンチし、混合物を室温で10分間撹拌した。飽和NaHCO₃を添加し、全体をCH₂Cl₂で抽出した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、溶媒を蒸発させた。粗製混合物をHPLCによって精製して、純粋な3,6-ビス(ジメチルアミノ)-9-(2-カルボキシ-4-メチル-チエン-3-イル)-10,10-ジメチル-10-シラキサントニウムクロリド17(9.7 mg、0.022 mmol、収率14%)を得た。

40

50

(実施例5) 化合物44: (2,6-ビス(ピリドリル(pyrrolidin)-1-イル)-9-(2-メチル-4-カルボキシフェニル)-10,10-ジメチル-10-シラキサテニウム)の合成

【化41】

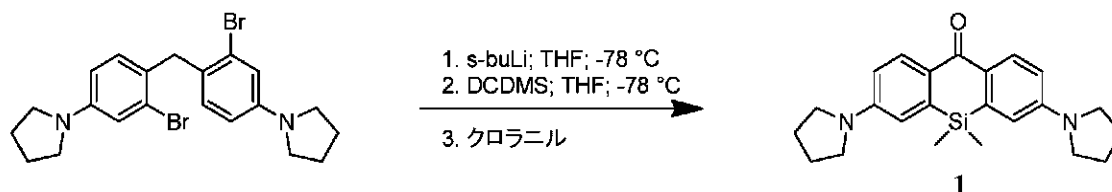


10

【0194】

化合物1-(3-ブロモフェニル)-ピロリジン(10.0g、44mmol)のAcOH(250mL)溶液に、37%ホルムアルデヒド水溶液(4.5g、150.0mmol)の12.16mLを添加し、混合物を60で115分間撹拌した。室温に冷却した後、酢酸の一部を減圧して除去した。次に、反応混合物を飽和NaHCO₃水溶液およびNaOH水溶液で中和し、CH₂Cl₂で抽出した。有機層をブラインで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、蒸発乾固させた。残渣を、フラッシュクロマトグラフィー(シリカゲル)によって精製して、純粋なビス(2-プロモ-4-(ピロリジン-1-イル)フェニル)メタン(5.1g、11mmol、収率50%)を得た。

【化42】



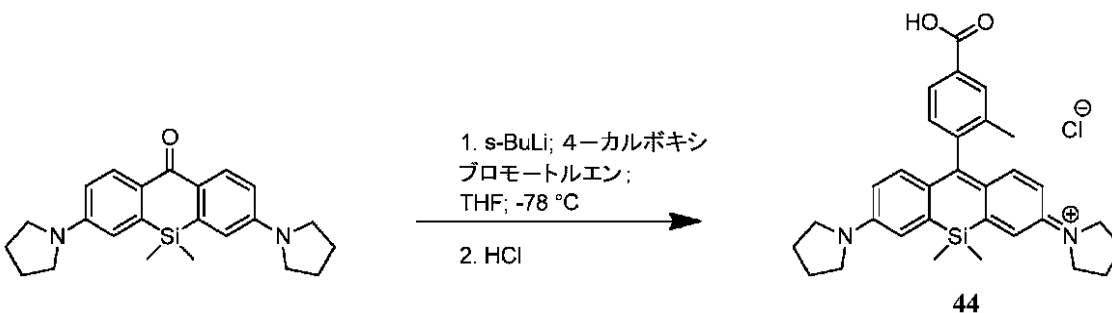
20

【0195】

窒素でパージしたフラスコに、ビス(2-プロモ-4-(ピロリジン-1-イル)フェニル)メタン(1000mg、2.42mmol)および無水THF(25mL)を添加した。溶液を-78に冷却し、1.4Mのs-BuLi(3.46mL、4.84mmol)を添加し、混合物を30分間撹拌した。同じ温度で、無水THF(25mL)に溶解させたMe₂SiCl₂(3.24μL、2.62mmol)をゆっくり添加し、混合物を室温に温め、次に1時間撹拌した。2NのHClを添加することによって、反応をクエンチし、混合物を室温で10分間撹拌した。飽和NaHCO₃を添加し、全体をCH₂Cl₂で抽出した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、蒸発させた。残渣をCH₂Cl₂(10mL)に溶解させ、その後クロラニル(1250mg、5.0mmol)を1M重炭酸トリエチルアンモニウム(2.5mL、2.5mmol)と共に添加し、混合物を終夜室温で撹拌した。溶媒を蒸発させ、残渣をフラッシュクロマトグラフィー(シリカゲル)によって精製して、純粋な3,6-ビス(ピリドリル-1-イル)-10,10-ジメチル-10-シラキサントンを得た。

30

【化43】



40

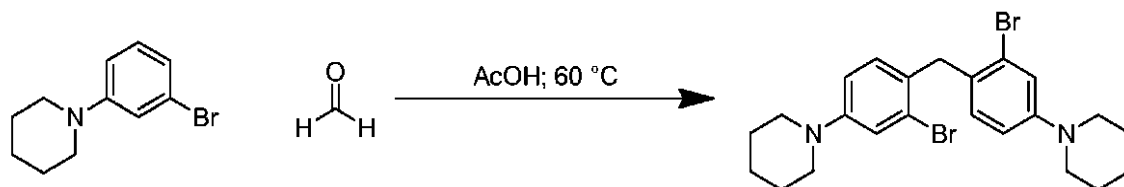
50

【 0 1 9 6 】

窒素でパージしたフラスコ中で、2, 6 - ビス (ピリドリン - 1 - イル) - 10, 10 - ジメチル - 10 - シラキサントン (50.0 mg、0.162 mmol) を無水 THF (10 mL) に溶解させた。溶液を - 78 °C に冷却した。同じ温度で、tert - ブチル 4 - ブロモ - 3 - メチルベンゾエート (136 mg、0.81 mmol) および無水 THF (5 mL) をフラスコに添加し、1 M の s - BuLi (0.58 mL、0.81 mmol) を添加し、混合物を 30 分間撹拌した。リチウム化溶液をゆっくり添加し、混合物を室温に温め、次に 2 時間撹拌した。2 N の HCl を添加することによって、反応をクエンチし、混合物を室温で 10 分間撹拌した。飽和 NaHCO₃ を添加し、全体を CH₂Cl₂ で抽出した。有機層を Na₂SO₄ で乾燥させ、溶媒を蒸発させた。粗製混合物を HPLC によって精製して、純粋な残渣を得、それを TFA (1 mL) に溶解させた。TFA を減圧して除去して、3, 6 - ビス (ピリドリン - 1 - イル) - 9 - (2 - メチル - 4 - カルボキシフェニル) - 10, 10 - ジメチル - 10 - シラキサントニウム 44 (9.7 mg、0.022 mmol、収率 14%) を得た。

(実施例 6) 化合物 74 - (3, 6 - ビス (ピペリジン - 1 - イル) - 9 - (2 - メチル - 4 - カルボキシフェニル) - 10, 10 - ジメチル - 10 - シラキサントニウム) の合成

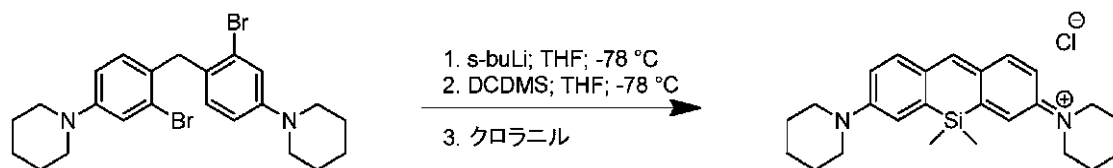
【 化 4 4 】



【 0 1 9 7 】

化合物 1 - (3 - ブロモフェニル) - ピペリジン (10.0 g、50.0 mmol) の AcOH (250 mL) 溶液に、37%ホルムアルデヒド水溶液 (4.5 g、150.0 mmol) の 12.16 mL を添加し、混合物を 60 °C で 115 分間撹拌した。室温に冷却した後、酢酸の一部を減圧して除去した。次に、反応混合物を飽和 NaHCO₃ 水溶液および NaOH 水溶液で中和し、CH₂Cl₂ で抽出した。有機層をブラインで洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、蒸発乾固させた。残渣を、フラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル) によって精製して、ビス (2 - ブロモ - 4 - (ピペリジン - 1 - イル) フェニル) メタン (5.24 g、12.7 mmol、収率 51%) を得た。

【 化 4 5 】

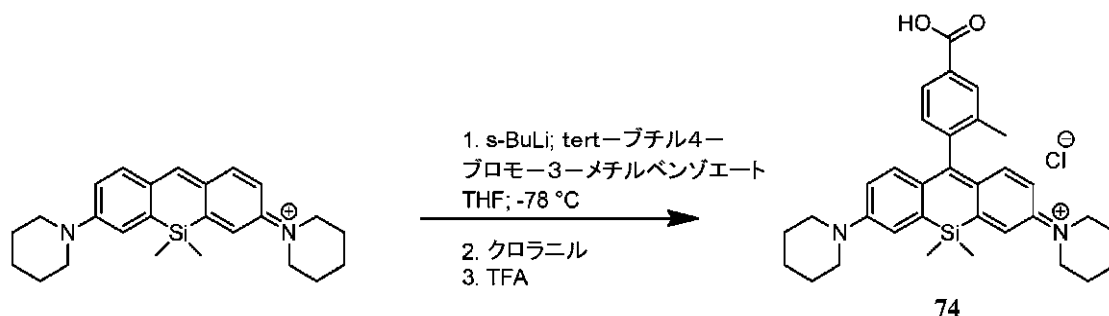


【 0 1 9 8 】

窒素でパージしたフラスコに、ビス (2 - ブロモ - 4 - (ピペリジン - 1 - イル) フェニル) メタン (1.0 g、2.2 mmol) および無水 THF (25 mL) を添加した。溶液を - 78 °C に冷却し、1.4 M の s - BuLi (3.46 mL、4.84 mmol) を添加し、混合物を 30 分間撹拌した。同じ温度で、無水 THF (25 mL) に溶解させた Me₂SiCl₂ (3.24 μL、2.62 mmol) をゆっくり添加し、混合物を室温に温め、次に 1 時間撹拌した。2 N の HCl を添加することによって、反応をクエンチし、混合物を室温で 10 分間撹拌した。飽和 NaHCO₃ を添加し、全体を CH₂Cl₂ で抽出した。有機層を Na₂SO₄ で乾燥させ、蒸発させた。残渣を CH₂Cl₂ (10 mL) に溶解させ、その後クロラニル (600 mg、2.4 mmol) を添加した。溶媒

を再び蒸発させた。残渣をフラッシュクロマトグラフィー（シリカゲル）によって精製して、純粋な 3, 6 - ビス（ピロリジン - 1 - イル） - 10, 10 - ジメチル - 10 - シラキサンテン - 9 - イウムクロリド（340 mg、収率 40 %）を得た。

【化 4 6】



10

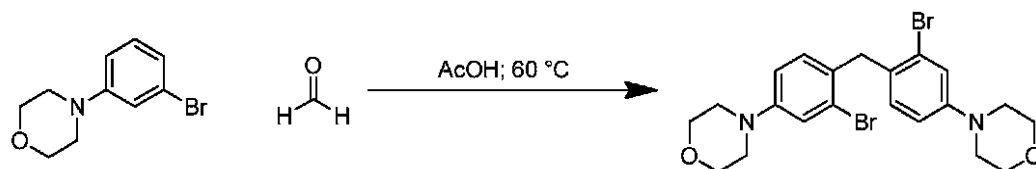
【0199】

窒素でパージしたフラスコ中で、3, 6 - ビス（ピロリジン - 1 - イル） - 10, 10 - ジメチル - 10 - シラキサンテン - 9 - イウムクロリド（50.0 mg、0.125 mmol）を無水 THF（10 mL）に溶解させた。溶液を - 78 に冷却した。同じ温度で、tert-ブチル 4-プロモ-3-メチルベンゾエート（136 mg、0.81 mmol）および無水 THF（5 mL）をフラスコに添加し、1 M の s-BuLi（0.58 mL、0.81 mmol）を添加し、混合物を 30 分間撹拌した。リチウム化溶液をゆっくり添加し、混合物を室温に温め、次に 2 時間撹拌した。2 N の HCl を添加することによって、反応をクエンチし、混合物を室温で 10 分間撹拌した。飽和 NaHCO₃ を添加し、全体を CH₂Cl₂ で抽出した。有機層を Na₂SO₄ で乾燥させ、溶媒を蒸発させた。粗製混合物を HPLC によって精製して、純粋な残渣を得、それを TFA（1 mL）に溶解させた。TFA を減圧して除去して、3, 6 - ビス（ピペリジン - 1 - イル） - 9 - （2 - メチル - 4 - カルボキシフェニル） - 10, 10 - ジメチル - 10 - シラキサンテニウム 74（11.2 mg、収率 16 %）を得た。

20

（実施例 7）化合物 45：（3, 6 - ビス（モルホリノ） - 9 - （2 - メチル - 4 - カルボキシフェニル） - 10, 10 - ジメチル - 10 - シラキサンテニウム）の合成

【化 4 7】



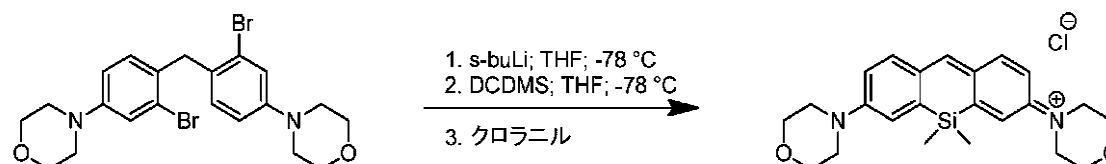
30

【0200】

化合物 1 - （3 - プロモフェニル） - モルホリン（10.0 g、41.0 mmol）の AcOH（250 mL）溶液に、37 %ホルムアルデヒド水溶液（4.5 g、150.0 mmol）の 12.16 mL を添加し、混合物を 60 で 115 分間撹拌した。室温に冷却した後、酢酸の一部を減圧して除去した。次に、反応混合物を飽和 NaHCO₃ 水溶液および NaOH 水溶液で中和し、CH₂Cl₂ で抽出した。有機層をブラインで洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、蒸発乾固させた。残渣を、フラッシュクロマトグラフィー（シリカゲル）によって精製して、ビス（2 - プロモ - 4 - モルホリノフェニル）メタン（5.1 g、収率 50 %）を得た。

40

【化 4 8】

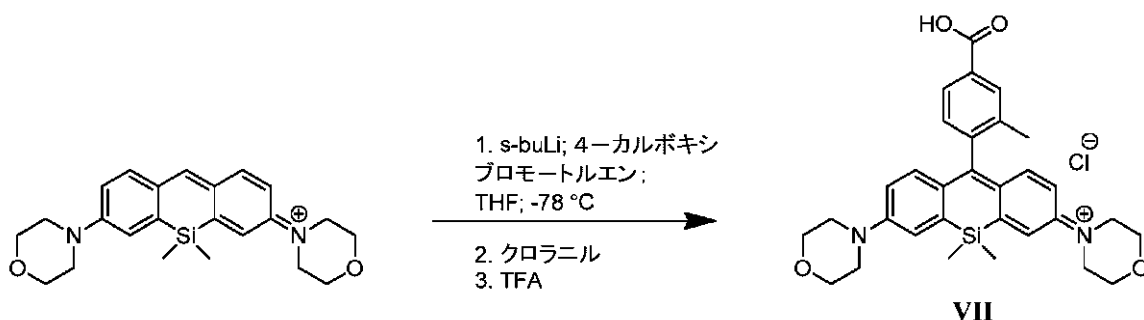


50

【0201】

窒素でパージしたフラスコに、ビス(2-ブロモ-4-ホルホリノフェニル)メタン(1.0 g、2.2 mmol)および無水THF(25 mL)を添加した。溶液を-78に冷却し、1.4 Mの*s*-BuLi(3.46 mL、4.84 mmol)を添加し、混合物を30分間撹拌した。同じ温度で、無水THF(25 mL)に溶解させたMe₂SiCl₂(3.24 μL、2.62 mmol)をゆっくり添加し、混合物を室温に温め、次に1時間撹拌した。2 NのHClを添加することによって、反応をクエンチし、混合物を室温で10分間撹拌した。飽和NaHCO₃を添加し、全体をCH₂Cl₂で抽出した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、蒸発させた。残渣をCH₂Cl₂(10 mL)に溶解させ、その後クロラニル(600 mg、2.4 mmol)を添加した。溶媒を再び蒸発させた。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(シリカゲル)によって精製して、純粋な3,6-ビス(ピロリジン-1-イル)-10,10-ジメチル-10-シラキサンテン-9-イウムクロリド(340 mg、収率40%)を得た。

【化49】



【0202】

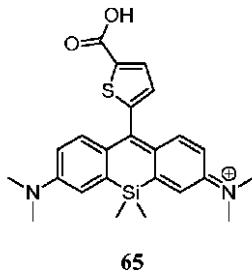
窒素でパージしたフラスコ中で、3,6-ビス(ピロリジン-1-イル)-10,10-ジメチル-10-シラキサンテン-9-イウムクロリド(50.0 mg、0.125 mmol)を無水THF(10 mL)に溶解させた。溶液を-78に冷却した。同じ温度で、*tert*-ブチル4-ブロモ-3-メチルベンゾエート(136 mg、0.81 mmol)および無水THF(5 mL)をフラスコに添加し、1 Mの*s*-BuLi(0.58 mL、0.81 mmol)を添加し、混合物を30分間撹拌した。リチウム化溶液をゆっくり添加し、混合物を室温に温め、次に2時間撹拌した。2 NのHClを添加することによって、反応をクエンチし、混合物を室温で10分間撹拌した。飽和NaHCO₃を添加し、全体をCH₂Cl₂で抽出した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、溶媒を蒸発させた。粗製混合物をHPLCによって精製して、純粋な残渣を得、それをTFA(1 mL)に溶解させた。TFAを減圧して除去して、3,6-ビス(ホルホリノ)-9-(2-メチル-4-カルボキシフェニル)-10,10-ジメチル-10-シラキサンテニウム45(11.2 mg、収率16%)を得た。

(実施例8)9-置換10-シラキサンテニウム蛍光色素の光学特性に対する例示的置換基効果

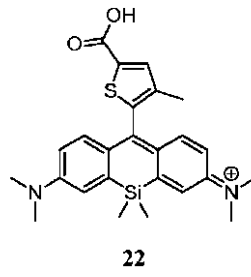
【0203】

この実施例は、光学特性(吸収および発光極大波長、ならびに相対輝度)を示す。相対輝度は、蛍光色素の極大吸収波長において励起した場合の、1 cmの正方形キュベット内の蛍光色素溶液の蛍光強度を、その極大吸収波長における同じ試料の吸収で割ったものによって定義される。式IIのX位にS原子を伴って示されている三つの例は、YまたはZ位にS原子を有する三つの例と比較して、約20 nm赤方偏移する。チエニル置換基をメチル、プロモまたはカルボキシ置換基でさらに誘導体化することにより、28倍の範囲の相対輝度が示される。

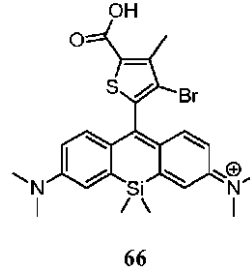
【化 5 0】



吸収／発光: 669/688 nm
相対的蛍光: 373

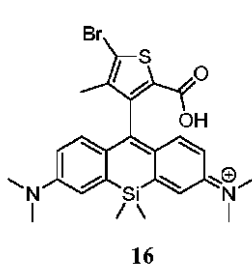


吸収／発光: 668/678 nm
相対的蛍光: 3,032

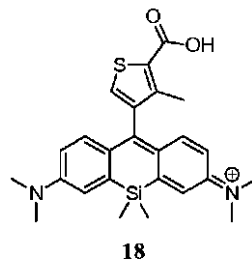


吸収／発光: 672/688 nm
相対的蛍光: 3,838

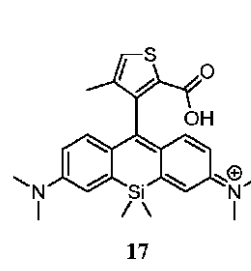
10



吸収／発光: 649/664 nm
相対的蛍光: 6,185



吸収／発光: 653/6668 nm
相対的蛍光: 9,608



吸収／発光: 649/666 nm
相対的蛍光: 10,421

20

【 0 2 0 4】

図 1 は、9 - チエニル S X 化合物の硫黄原子を、式 I の Z 位（化合物 17）から X 位に移動し、臭素置換基を加えた場合（化合物 66）に観測された 23 nm の赤方偏移を示す。この偏移は、例えば 4 チャンネル FMT 断層撮影の *in vivo* イメージングシステムまたは多チャンネル蛍光顕微鏡で、これらの 2 種の化合物を用いて二つの異なる波長で多重イメージングを可能にするのに十分である。

（実施例 9）いくつかの例示的なシラキサンテニウム蛍光色素化合物の特性

【 0 2 0 5】

この実施例では、細胞非透過性のシアニン色素（スルホン化 Cy5 類似体）CY1 と比較して、いくつかの例示的なシラキサンテニウム（SX）蛍光色素の吸収および発光特徴を、表 3 にまとめる。吸収および発光特徴は、1 cm の正方形キュベット内で、1 × PBS 中で測定した。相対的蛍光（輝度）を、実施例 8 と同様に測定し、化合物 CY1 の蛍光に対して正規化した。

30

【表 3】

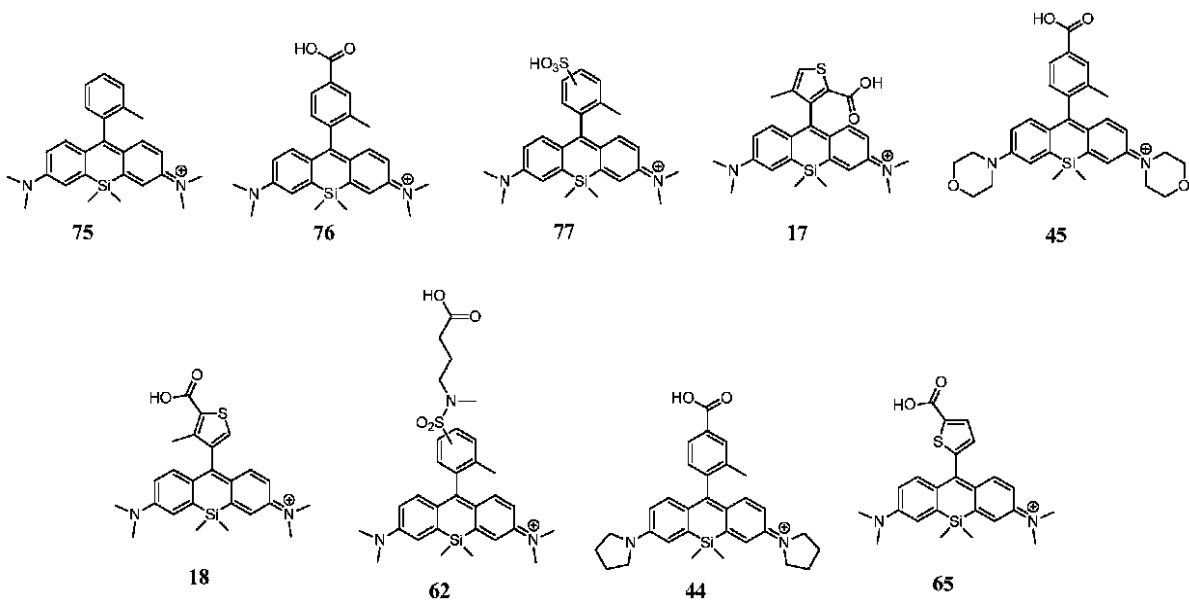
表3

化合物	吸収 λ max (nm)	発光 λ max (nm)	相対的蛍光
CY1	648	666	1.00
75	649	662	1.46
76	649	663	1.38
77	650	666	1.20
17	649	666	1.11
45	651	670	0.75
18	653	668	1.02
62	654	667	1.12
44	655	669	1.54
65	669	683	0.05

10

【化 5 1】

20



30

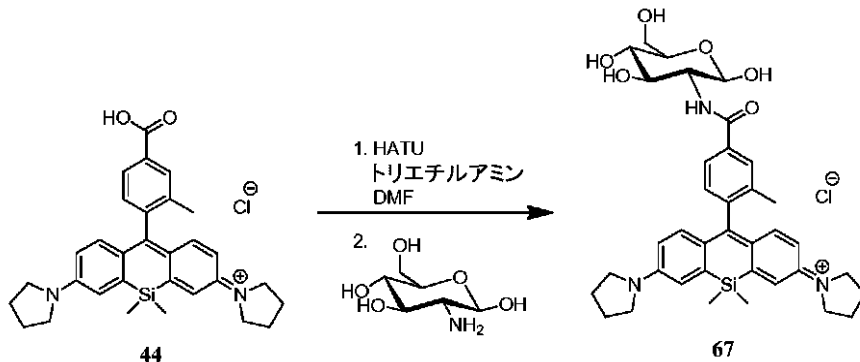
(実施例 10) 生体分子 (グルコサミン) へのシラキサンテニウム蛍光色素化合物のコンジュゲーション

【0206】

化合物 44 (1 mg、1.9 μ mol) を、DMF 100 μ L に溶解させ、HATU (1-[ビス(ジメチルアミノ)メチレン]-1H-1,2,3-トリアゾロ[4,5-b]ピリジニウム 3-オキシドヘキサフルオロホスフェート、0.75 mg、2.0 μ mol) およびトリエチルアミン 0.3 μ L (2.1 μ mol) を添加した。室温で 10 分間経過した後、D-グルコサミンヒドロクロリド (1 mg、4.7 μ mol) を添加し、溶液を室温で 2 時間反応させた。グルコサミンとコンジュゲートした蛍光色素化合物 67 を、HPLC によって精製した。

40

【化 5 2】



10

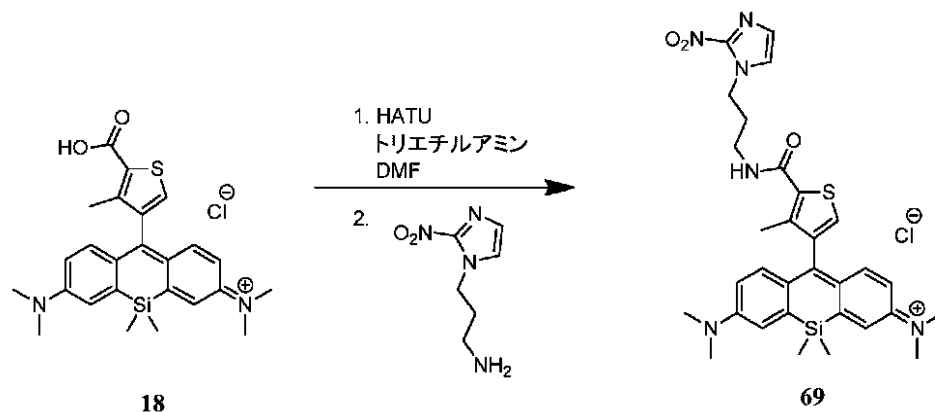
(実施例 11) ニトロイミダゾールへのシラキサントニウム蛍光色素化合物のコンジュゲーション

【0207】

化合物 18 (1 mg、2.1 μmol) を、DMF 100 μL に溶解させ、HATU (1 - [ビス(ジメチルアミノ)メチレン] - 1H - 1, 2, 3 - トリアゾロ[4, 5 - b]ピリジニウム 3 - オキシドヘキサフルオロホスフェート、0.83 mg、2.2 μmol) およびトリエチルアミン 0.33 μL (2.3 μmol) を添加した。室温で 10 分間経過した後、1 - (3 - アミノプロピル) - 2 - ニトロイミダゾール (1 mg、5.9 μmol) を添加し、溶液を室温で 2 時間反応させた。2 - ニトロイミダゾールとコンジュゲートした蛍光色素化合物 69 を、HPLC によって精製した。

20

【化 5 3】



30

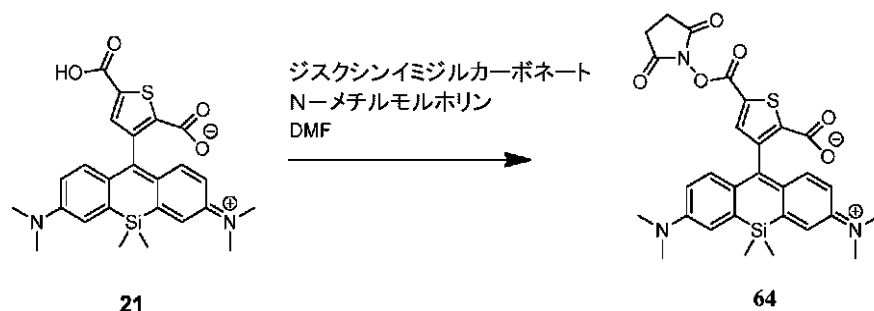
(実施例 12) 抗体へのシラキサントニウム蛍光色素化合物のコンジュゲーション

【0208】

この実施例は、シラキサントニウム蛍光色素の反応性 N - ヒドロキシスクシンイミジルエステルの合成、およびその後の、抗体からなる生体分子を蛍光標識するためのそのエステルの使用を示す。アミン反応性スクシンイミジルエステル 64 を生成するために、化合物 21 (1 mg、2.1 μmol) を DMF 50 μL に溶解させ、ジスクシンイミジルカーボネート (1 mg、4 μmol) を N - メチルモルホリン 1 μL と共に添加する。反応を室温で 30 分間進行させ、次にエーテル 1500 μL を添加することによって生成物を沈殿させ、遠心分離およびエーテルのデカントによって単離し、その後真空中で乾燥させる。

40

【化 5 4】



10

抗体を標識するために、化合物 64 (1.75 μmol) 1 mg を DMSO 100 μL に溶解させる。次に、この溶液 5 μL を、1 $\times$ PBS 中 1 mg / mL の濃度で抗体 1 mL に添加する。1 M 重炭酸ナトリウム 50 μL を添加し、溶液を室温で 1 時間回転させる。標識抗体を、BioRad から得た 10 DG カラムを使用して、サイズ排除クロマトグラフィーによって精製する。

(実施例 13) シラキサンテニウム蛍光色素化合物の細胞取込み

【0209】

この実施例では、フローサイトメトリーによって細胞取込みを示す。HT-29 細胞を、0.5 μM の CY1、CY2 (類似の光学的吸光度および発光波長の一般的なシアニン色素) または 75 と共に室温で 5 分間インキュベートした。細胞を遠心分離機で遠心処理し、次に、固体状態 660 nm (60 mW) 赤色レーザーおよび 712 / 21 nm バンドパスフィルタを備えた BD LSR II フローサイトメーター (BD Biosciences、メリーランド州 Rockville) を使用するフローサイトメトリーによって分析するために、1 $\times$ PBS に再度懸濁させた。2 種のシアニン色素 CY1 および CY2 と共にインキュベートした細胞では、非標識細胞のバックグラウンドの 2 倍および 4 倍の非常に少量の蛍光シグナルが定量されたが、シラキサンテニウム色素 75 のシグナルは、細胞のバックグラウンドの 140 倍であった。非標識細胞からバックグラウンドを差し引いた後、75 は、CY1 および CY2 よりもそれぞれ 155 倍および 51 倍高い蛍光を有していた。定量化データを、代表的なヒストグラムと共に、以下の図 2 に示す。

20

(実施例 14) 2 種のシラキサンテニウム化合物の蛍光顕微鏡検査および Mitotracker Green との共局在

30

【0210】

この実施例は、HT-29 細胞におけるシラキサンテニウム色素の取込みおよび細胞内局在を示す。HT-29 細胞を、0.25 μM の 75、76 または CY3、非スルホン化シアニン色素) と共に 1 時間インキュベートし、ミトコンドリアマーカである 0.25 μM の Mitotracker Green と共に 30 分間インキュベートした。細胞を洗浄し、サイトスピン処理し、図 3 に示されている通り共焦点顕微鏡法によって分析した。色素蛍光は、第 1 のパネルに青色で示され、Mitotracker は中間のパネルに緑色で示され、これら二つのオーバーレイは、第 3 の組のパネルに示されている。両方の SX 色素は、細胞に効率的に浸透し、Mitotracker と共局在していた。非スルホン化中性シアニン色素 CY3 は、これらの条件下では細胞に効率的に浸透しなかった。

40

(実施例 15) 生体分子とコンジュゲートした SX 化合物の細胞取込み

【0211】

この実施例は、生体分子 (グルコサミン) とコンジュゲートした SX 化合物である化合物 67 の、KB 細胞への細胞取込みを示す。KB 細胞を培地中で 2 時間培養し、次に 30 μM の化合物 67 と共に 30 分間インキュベートした後、2 種の異なる蛍光性色素に適したフィルタセットを用いて、蛍光顕微鏡法およびフローサイトメトリーによって細胞を分析した。また対照として、細胞を、やはり 30 μM の商業用の蛍光性グルコサミン誘導体 2-NBDG と共にインキュベートした。図 4 は、蛍光顕微鏡法 (核染色 DAPI は青色、化合物 67 は赤色、2-NBDG は緑色) およびフローサイトメトリーの結果を示して

50

いる。両方の蛍光性グルコサミン誘導体は細胞によって取り込まれたが、ヒストグラムによって示されている通り、フローサイトメトリーによる定量化では、化合物 67 について検出器飽和が明らかになった一方、商業用の誘導体 2 - NBDG は、この機器およびフィルタセットでは通常の分析範囲内にあった。この予期しない検出器飽和は、細胞内の化合物 67 からの非常に多量の蛍光シグナルを示しており、本発明の SX 化合物の優れた細胞透過特性を例示している。

(実施例 16) ニトロイミダゾールとコンジュゲートした SX 化合物の細胞取込み

【0212】

この実施例は、ニトロイミダゾールとコンジュゲートした SX 化合物である化合物 69 の、HeLa 細胞における取込みおよび局在を示す。HeLa 細胞を、384 ウェルプレートに播種し (5000 個の細胞 / ウェル)、インキュベーター内で終夜保持した。培地を除去し、血清を含まない培地中 0.25 μ M の化合物 69 を添加した。細胞を 60 分間インキュベートし、次に培地を完全培地と交換し、細胞を、Operetta イメージングシステム (非共焦点、20 $\times$ 高 NA) で、620 ~ 640 nm および 650 ~ 760 nm の励起および発光フィルタをそれぞれ用いて画像化した。図 5 には、核染色 DAPI が青色で示されており、一方で、化合物 69 の蛍光は赤色で示されている。

(実施例 17) ペプチドとコンジュゲートした内部クエンチされた活性化可能なシラキサンテニウム蛍光色素化合物

【0213】

図 6A は、酵素で切断可能なペプチド配列によって分離された、内部クエンチされた一対のシラキサンテニウム蛍光色素 (化合物 78) の酵素切断の際の蛍光活性化を示す。化合物 78 は、HATU およびトリエチルアミンを使用して、2 種のカルボン酸色素を、ペプチド配列のリシン側鎖アミンにコンジュゲートすることによって合成した。クエンチされたプローブを、HPLC によって精製した。クエンチされた (破線) および活性化された (1 $\times$ PBS 中キモトリプシンによって切断した、実線) 蛍光色素の吸光度および蛍光 (それぞれ、Cary 50 UV-vis 分光光度計 (Varian) および Cary Eclipse 蛍光分光光度計で測定した) を、図 6B に示す。蛍光シグナル強度は、2 種の蛍光色素化合物を分離するペプチド配列が酵素によって切断されると、劇的に増大する。

(実施例 18) シラキサンテニウム蛍光色素化合物 44 の in vivo イメージング

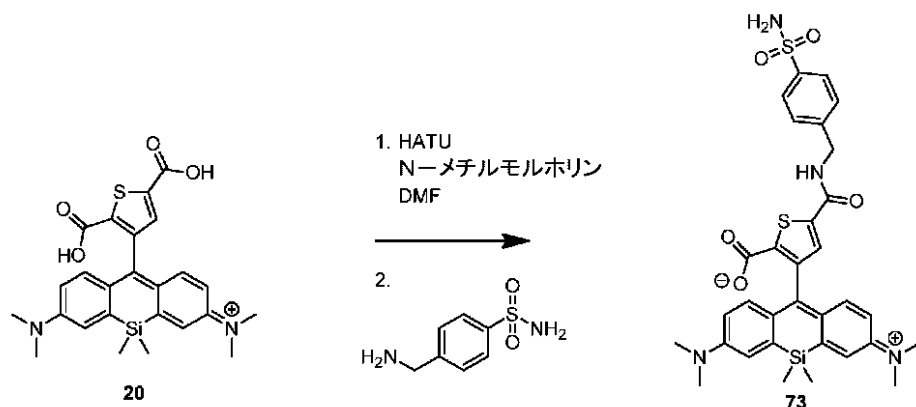
【0214】

図 7 は、化合物 44 を生存マウスに静脈内注射した後の本発明の蛍光色素化合物の FMT 2500 断層撮影 in vivo イメージングシステム (PerkinElmer、マサチューセッツ州 Waltham) による断層撮影イメージングを実証する。2 匹の SKH-1E 雌性マウス (9 週齢) に、2 nmol の化合物 44 を注射した。マウスの全身の断層画像を、1、15、30 および 45 分、ならびに 1、2 および 3 時間目に得た。心臓領域において、蛍光色素化合物の速やかな蓄積が見られた後、身体の他の領域ではより緩慢に蓄積して、非標的化合物は 3 時間で洗い流され、これは、in vivo イメージング用の窓の代りをする。

(実施例 19) 炭酸脱水酵素標的化シラキサンテニウム (silaxthenium) 化合物 73 の合成

化合物 20 (0.5 mg、1.0 μ mol) を DMF 100 μ L に溶解させ、HATU (1 - [ビス (ジメチルアミノ) メチレン] - 1H - 1, 2, 3 - トリアゾロ [4, 5 - b] ピリジニウム 3 - オキシドヘキサフルオロホスフェート、0.83 mg、2.2 μ mol) および N - メチルモルホリン 0.33 μ L (2.3 μ mol) を添加した。室温で 30 分間経過した後、4 - (アミノメチル) ベンゼンスルホンアミド (1 mg、5.4 μ mol) を添加し、溶液を室温で 2 時間反応させた。2 - ニトロイミダゾールとコンジュゲートした蛍光色素化合物 73 を、HPLC によって精製した。

【化 5 5】



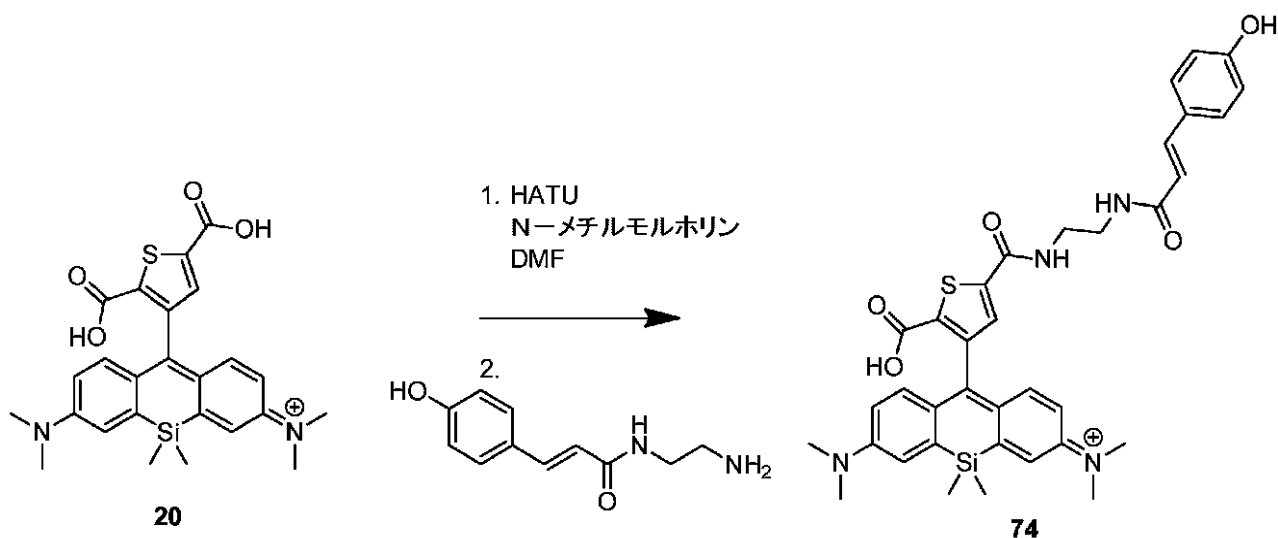
10

(実施例 20) 4 - ヒドロキシシシナムアミド誘導体化シラキサンテニウム化合物 74 の合成

化合物 20 (0.5 mg、1.0 μmol) を DMF 100 μL に溶解させ、HATU (1 - [ビス(ジメチルアミノ)メチレン] - 1H - 1, 2, 3 - トリアゾロ[4, 5 - b]ピリジニウム 3 - オキシドヘキサフルオロホスフェート、0.83 mg、2.2 μmol) および N - メチルモルホリン 0.33 μL (2.3 μmol) を添加した。室温で 30 分間経過した後、N - (2 - アミノエチル) - 4 - ヒドロキシシシナムアミド (1 mg、5 μmol) を添加し、溶液を室温で 2 時間反応させた。2 - ニトロイミダゾールとコンジュゲートした蛍光色素化合物 74 を、HPLC によって精製した。

20

【化 5 6】



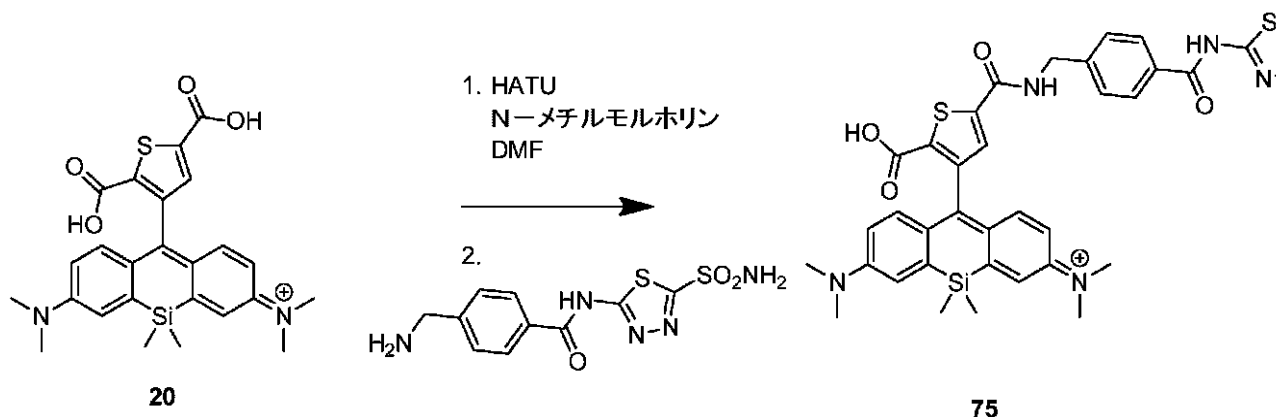
30

(実施例 21) アセタゾラミドとコンジュゲートしたシラキサンテニウム化合物 75 の合成

化合物 20 (0.5 mg、1.0 μmol) を DMF 100 μL に溶解させ、HATU (1 - [ビス(ジメチルアミノ)メチレン] - 1H - 1, 2, 3 - トリアゾロ[4, 5 - b]ピリジニウム 3 - オキシドヘキサフルオロホスフェート、0.83 mg、2.2 μmol) および N - メチルモルホリン 0.33 μL (2.3 μmol) を添加した。室温で 30 分間経過した後、4 - (アミノメチル) - N - (5 - スルファモイル - 1, 3, 4 - チアジアゾール - 2 - イル) ベンズアミド (1.5 mg、4.8 μmol) を添加し、溶液を室温で 2 時間反応させた。2 - ニトロイミダゾールとコンジュゲートした蛍光色素化合物 75 を、HPLC によって精製した。

40

【化 5 7】



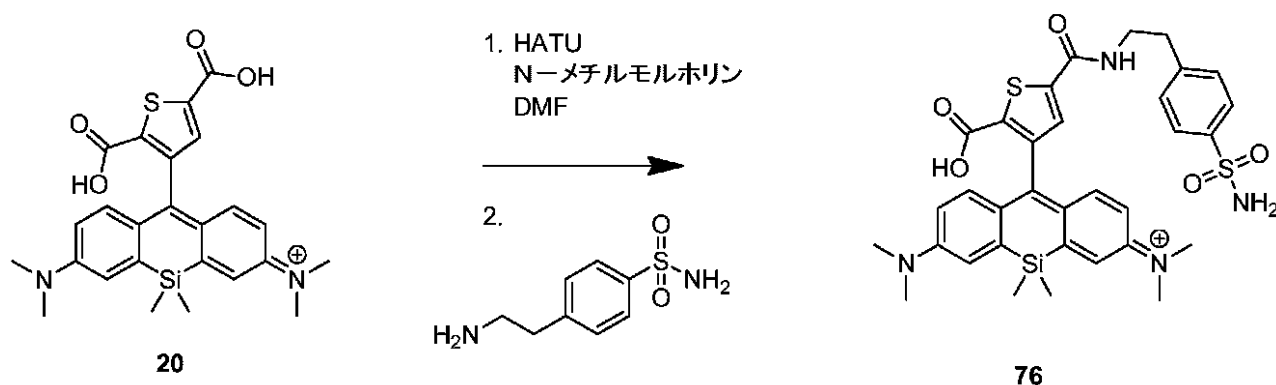
10

(実施例 22) (4-アミノエチル)ベンゼンスルホンアミド誘導体化シラキサンテニウム化合物 76 の合成

化合物 20 (0.5 mg、1.0 μmol) を DMF 100 μL に溶解させ、HATU (1-[ビス(ジメチルアミノ)メチレン]-1H-1,2,3-トリアゾロ[4,5-b]ピリジニウム3-オキシドヘキサフルオロホスフェート、0.83 mg、2.2 μmol) および N-メチルモルホリン 0.33 μL (2.3 μmol) を添加した。室温で 30 分間経過した後、4-(アミノエチル)ベンゼンスルホンアミド (1 mg、5.0 μmol) を添加し、溶液を室温で 2 時間反応させた。2-ニトロイミダゾールとコンジュ

20

【化 5 8】



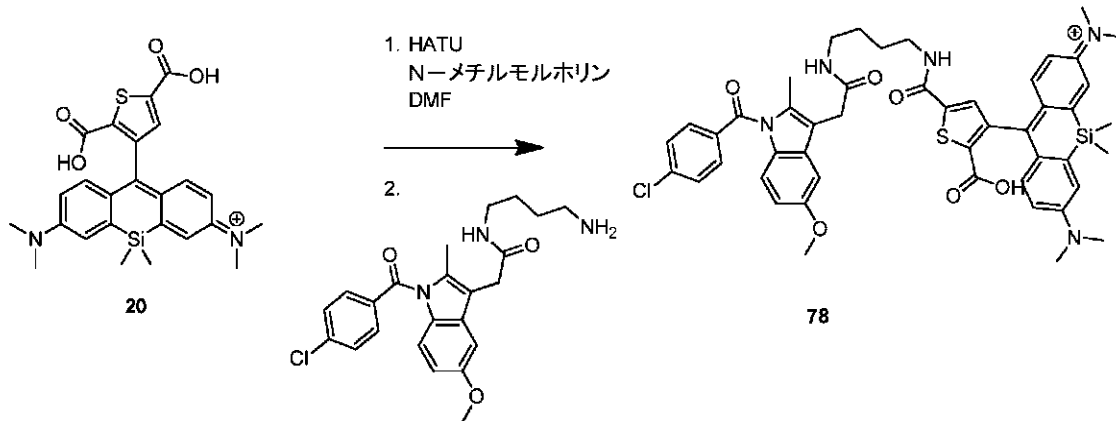
30

(実施例 23) インドメタシンとコンジュゲートした (COX-2 標的化) シラキサンテニウム化合物 78 の合成

化合物 20 (0.5 mg、1.0 μmol) を DMF 100 μL に溶解させ、HATU (1-[ビス(ジメチルアミノ)メチレン]-1H-1,2,3-トリアゾロ[4,5-b]ピリジニウム3-オキシドヘキサフルオロホスフェート、0.83 mg、2.2 μmol) および N-メチルモルホリン 0.33 μL (2.3 μmol) を添加した。室温で 30 分間経過した後、(4-アミノブチル)インドメタシンカルボキサミド (2 mg、4.7 μmol) を添加し、溶液を室温で 2 時間反応させた。2-ニトロイミダゾールとコンジュゲートした蛍光色素化合物 78 を、HPLC によって精製した。

40

【化 5 9】



10

(実施例 24) 顕微鏡法およびフローサイトメトリーによる、同一の実験式を有するが異なる波長特徴を有する 2 種の 9 - チエニルシラキサンテン蛍光色素の細胞取込み

2 種の異性体チエニル Si - Rh o 色素 88 および 89 を、前述の方法を使用して合成した。同一の分子量および分子式の 2 種の異性体化合物は、吸収および発光極大が、652 nm および 668 nm (88)、ならびに 667 nm および 681 nm (89) である。化合物を、細胞取込みおよび洗い流しについて、フローサイトメトリーそして、さらに蛍光顕微鏡法によって 2 種の異なるフィルタセットを用いて分析した。0.5 ml の細胞 / mL 培養培地の、トリプシン EDTA で剥離された 4 T1 を、1 μM の 88 または 89 と共に 37 °C で 30 分間インキュベートした。細胞を、PBS で 1 回洗浄し、88 については 705 / 70 nm 発光フィルタを用いて、89 については 712 / 21 nm 発光フィルタを用いるフローサイトメトリー、および蛍光顕微鏡法によって分析した。両方の色素の著しい取込みが観測され、フローサイトメトリーによって定量化すると、1.5 時間の洗い流しの後も、色素のおよそ 3 分の 1 が残っていた (図 8)。

20

(実施例 25) いくつかの活性化可能な SX 誘導体の in vitro および in vivo 特徴付け

図 9 A は、37 °C で 4 時間の、1 × PBS 中での活性化可能なチエニル化合物 91 (キモトリプシンによって) の代表的なプロテアーゼ活性化を示す。蛍光強度の 2.2 倍の増大が観測された。図 9 B は、フローサイトメトリーおよび蛍光顕微鏡法による、生細胞における化合物 92、93 および 91 の取込みおよび活性化を示す。トリプシン EDTA で剥離された 4 T1 を、0.5 ml の細胞 / 2 mL 培養培地で 6 ウェル組織培養プレートに播種し、1 μM または 5 μM の 92、93 または 91 と共に 37 °C で 21 時間インキュベートした。細胞を PBS で 1 回洗浄し、剥離し、FC および FL M (Cy5 フィルタ) によって分析した。図 9 C は、FMT によって断層撮影して画像化した、生存マウスにおける化合物 92 の in vivo 活性化および体内分布を示す。トリプシン EDTA で剥離された 4 T1 細胞を、1.5 ml / 部位で移植し、およそ 1 週間後に画像化した。92 を、4 nmol で後眼窩に注射し、5 時間目および 24 時間目に FMT によって画像化した。クエンチされたシラキサンテニウム剤の活性化が、腫瘍、肝臓および腸において in vivo で検出されたが、このことは、活性化可能なシラキサンテニウム化合物を、定量的 in vivo イメージングに使用できることを実証している。

30

40

【0215】

参考としての援用

本明細書に引用したあらゆる刊行物、特許文書および特許出願文書は、それぞれがそうして個々に示されている場合と同程度に、それら全体が参考として、かつ、あらゆる目的で本明細書に明確に援用される。

【0216】

均等物

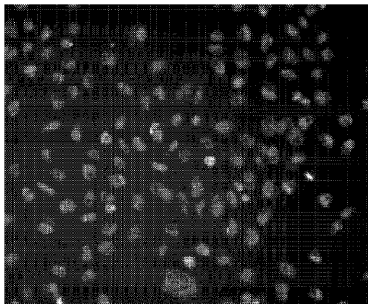
本発明は、本発明の趣旨または必須の特徴から逸脱することなく、他の特定の形態に具

50

体化され得る。したがって、上述の実施形態は、本明細書に記載の本発明を制限するものではなく、例示的なあらゆる観点で考慮されるべきである。したがって、本発明の範囲は、上述の説明ではなく添付の特許請求の範囲によって示され、特許請求の範囲の等価物の意味および範囲に含まれるあらゆる変化が、本発明に包含されるものとする。

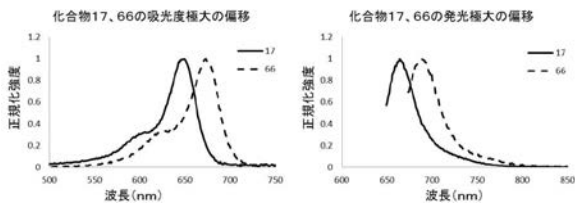
【 図 5 】

FIGURE 5



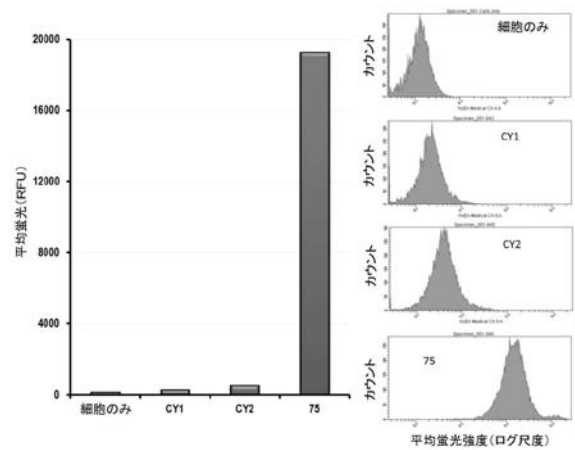
【 図 1 】

FIGURE 1



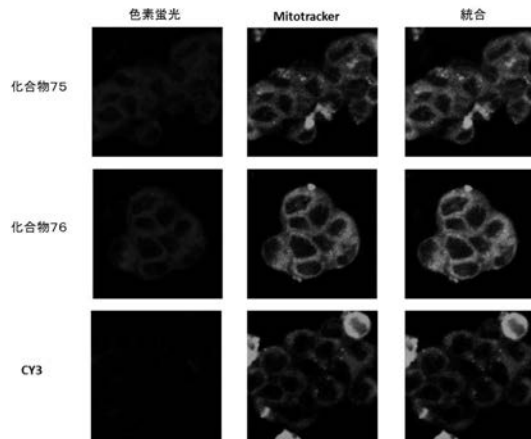
【 図 2 】

FIGURE 2



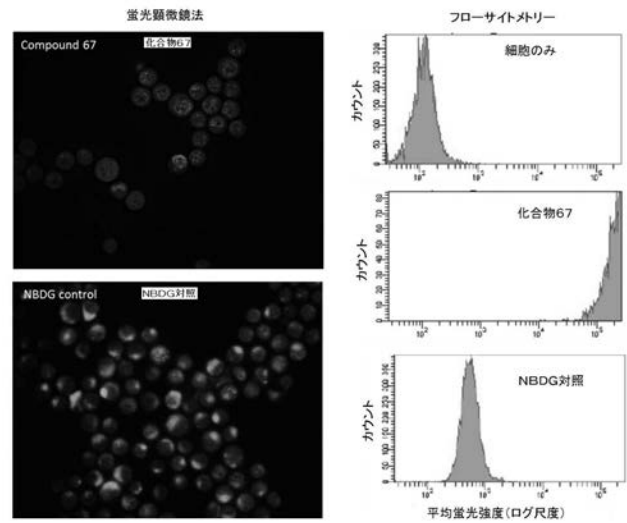
【 図 3 】

FIGURE 3



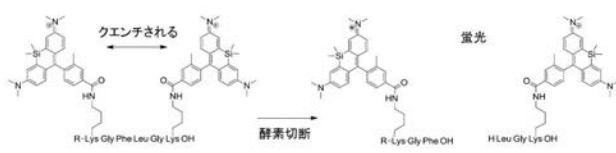
【 図 4 】

FIGURE 4



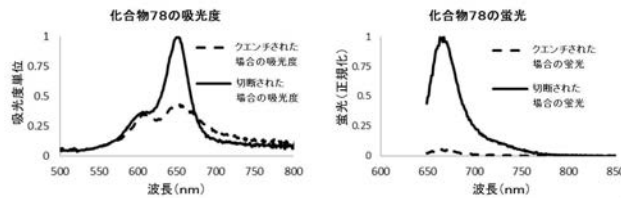
【 図 6 A 】

FIGURE 6A



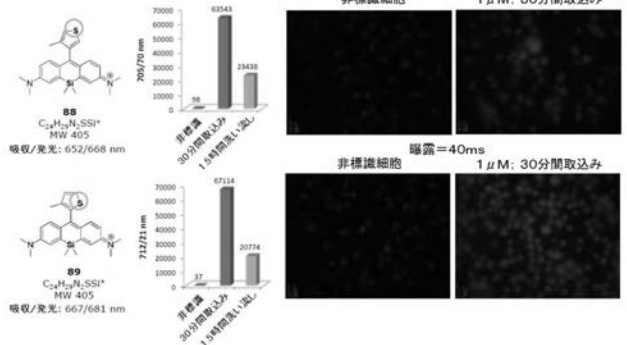
【 図 6 B 】

FIGURE 6B



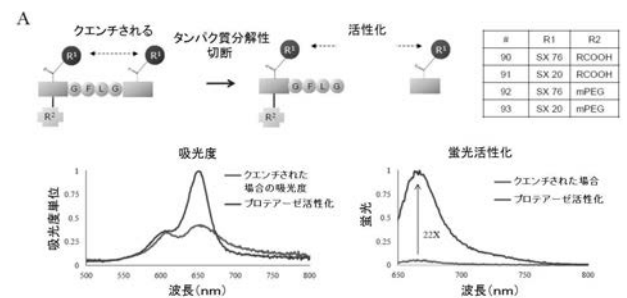
【 図 8 】

FIGURE 8



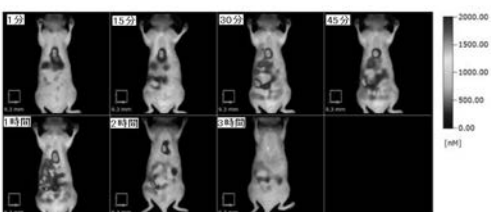
【 図 9 A 】

FIGURE 9A



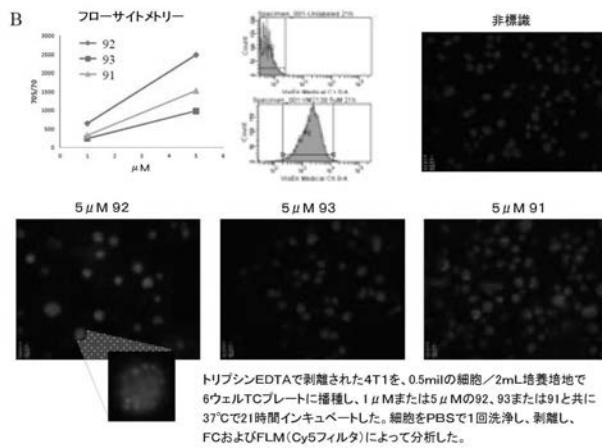
【 図 7 】

FIGURE 7



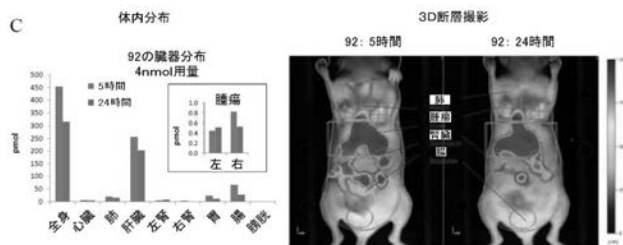
【図 9 B】

FIGURE 9B



【図 9 C】

FIGURE 9C



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2014/029350

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07F7/08 A61K47/10 A61K47/48 C07K7/00 C08L71/02
 ADD.

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)

C07F A61K C07K C08L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

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

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	YUICHIRO KOIDE ET AL: "Development of an Si-Rhodamine-Based Far-Red to Near-Infrared Fluorescence Probe Selective for Hypochlorous Acid and Its Applications for Biological Imaging", JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, vol. 133, no. 15, 20 April 2011 (2011-04-20), pages 5680-5682, XP055013693, ISSN: 0002-7863, DOI: 10.1021/ja111470n figure 1 abstract	1,4-9, 12-17, 30-59, 62-67, 70-75
A	----- -/-	2,3,10, 11, 18-29, 60,61, 68,69

☒ 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

13 June 2014

Date of mailing of the international search report

26/06/2014

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Eberhard, Michael

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2014/029350

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2013/029650 A1 (ECOLE POLYTECH [CH]; UMEZAWA KEITARO [JP]; GRAZVYDAS LUKINAVICIUS [CH]) 7 March 2013 (2013-03-07)	1,4-9, 12-17, 30-59, 62-67, 70-75
A	claims 8-10 abstract	2,3,10, 11, 18-29, 60,61, 68,69
X	----- YU KUSHIDA ET AL: "Red fluorescent scaffold for highly sensitive protease activity probes", BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, AMSTERDAM, NL, vol. 22, no. 12, 25 April 2012 (2012-04-25), pages 3908-3911, XP028509305, ISSN: 0960-894X, DOI: 10.1016/J.BMCL.2012.04.114 [retrieved on 2012-05-02]	1,4-9, 12-17, 30-59, 62-67, 70-75
A	* scheme 1 * abstract figures 2,3	2,3,10, 11, 18-29, 60,61, 68,69
X	----- TING WANG ET AL: "Spirolactonized Si-rhodamine: a novel NIR fluorophore utilized as a platform to construct Si-rhodamine-based probes", CHEMICAL COMMUNICATIONS, vol. 48, no. 70, 1 January 2012 (2012-01-01), page 8781, XP055120996, ISSN: 1359-7345, DOI: 10.1039/c2cc34159j	1,4-9, 12-17, 30-59, 62-67, 70-75
A	figure 1	2,3,10, 11, 18-29, 60,61, 68,69
	----- -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2014/029350

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	YUICHIRO KOIDE ET AL: "Development of NIR Fluorescent Dyes Based on Si-rhodamine for in Vivo Imaging", JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, vol. 134, no. 11, 21 March 2012 (2012-03-21), pages 5029-5031, XP055120998, ISSN: 0002-7863, DOI: 10.1021/ja210375e	1,4-9, 12-17, 30-59, 62-67, 70-75
A	compound SiR650 abstract	2,3,10, 11, 18-29, 60,61, 68,69
X	----- WO 2012/111818 A1 (UNIV TOKYO [JP]; NAGANO TETSUO [JP]; HANAOKA KENJIRO [JP]; KOIDE YUICHI) 23 August 2012 (2012-08-23)	1,4-9, 12-17, 30-59, 62-67, 70-75
A	compound (I) abstract figures 6,7 paragraphs [0047] - [0054], [0077], [0079], [0088], [0091] -----	2,3,10, 11, 18-29, 60,61, 68,69
X	TAKUYA MYOCHIN ET AL: "Design Strategy for a Near-Infrared Fluorescence Probe for Matrix Metalloproteinase Utilizing Highly Cell Permeable Boron Dipyrromethene", JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, vol. 134, no. 33, 22 August 2012 (2012-08-22), pages 13730-13737, XP055121019, ISSN: 0002-7863, DOI: 10.1021/ja303931b	1,4-9, 12-17, 30-59, 62-67, 70-75
A	compounds SiR-MMP, SiR-N abstract	2,3,10, 11, 18-29, 60,61, 68,69
X	----- WO 2012/083064 A1 (SOUTHERN ILLINOIS UNIVERSITY CARBONDALE [US]; DYER DANIEL [US]; SCOTT) 21 June 2012 (2012-06-21)	1,4-9, 12-17, 30-59, 62-67, 70-75
A	paragraph [0027] compounds 12,24 abstract tables 1,3 ----- -/--	2,3,10, 11, 18-29, 60,61, 68,69

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2014/029350

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 100 361 999 C (UNIV DALIAN SCIENCE & ENG [CN]) 16 January 2008 (2008-01-16)	1,4-9, 12-17, 30-59, 62-67, 70-75
A	pages 3,5-8	2,3,10, 11, 18-29, 60,61, 68,69
X	----- YUICHIRO KOIDE ET AL: "Evolution of Group 14 Rhodamines as Platforms for Near-Infrared Fluorescence Probes Utilizing Photoinduced Electron Transfer", ACS CHEMICAL BIOLOGY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, DC, US, vol. 6, no. 6, 17 June 2011 (2011-06-17), pages 600-608, XP002665642, ISSN: 1554-8929, DOI: 10.1021/CB1002416 [retrieved on 2011-03-17]	1,4-9, 12-17, 30-59, 62-67, 70-75
A	abstract compound SiR figures 2(C),2(D),4,6	2,3,10, 11, 18-29, 60,61, 68,69
X,P	----- WEN PIAO ET AL: "Development of Azo-Based Fluorescent Probes to Detect Different Levels of Hypoxia", ANGEWANDTE CHEMIE INTERNATIONAL EDITION, vol. 52, no. 49, 2 December 2013 (2013-12-02), pages 13028-13032, XP055120990, ISSN: 1433-7851, DOI: 10.1002/anie.201305784 figure 1 the whole document	1,4-9, 12-17, 30-59, 62-67, 70-75
X,P	----- EUNHA KIM ET AL: "Red Si-rhodamine drug conjugates enable imaging in GFP cells", CHEMICAL COMMUNICATIONS, vol. 50, no. 34, 1 January 2014 (2014-01-01), page 4504, XP055121010, ISSN: 1359-7345, DOI: 10.1039/c4cc00144c figure 1 * scheme 1 * the whole document -----	1,4-9, 12-17, 30-59, 62-67, 70-75

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2014/029350

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2013029650 A1	07-03-2013	EP 2748173 A1 WO 2013029650 A1	02-07-2014 07-03-2013
WO 2012111818 A1	23-08-2012	NONE	
WO 2012083064 A1	21-06-2012	NONE	
CN 100361999 C	16-01-2008	NONE	

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/695 (2006.01)	A 6 1 K 31/695	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/7056 (2006.01)	A 6 1 K 31/7056	4 H 0 4 5
A 6 1 K 49/00 (2006.01)	A 6 1 K 49/00 A	4 H 0 4 9
A 6 1 K 51/00 (2006.01)	A 6 1 K 43/00	
A 6 1 K 47/48 (2006.01)	A 6 1 K 49/02 C	
A 6 1 K 47/42 (2006.01)	A 6 1 K 47/48	
C 0 7 K 7/02 (2006.01)	A 6 1 K 47/42	
C 0 9 B 57/00 (2006.01)	C 0 7 K 7/02	
A 6 1 P 19/08 (2006.01)	C 0 9 B 57/00 Z	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 19/08	
A 6 1 P 9/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 17/00 (2006.01)	A 6 1 P 9/10 1 0 1	
A 6 1 P 37/02 (2006.01)	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 31/00 (2006.01)	A 6 1 P 37/02	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 0 5	
A 6 1 P 3/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/00	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 27/02 (2006.01)	A 6 1 P 3/00	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
	A 6 1 P 27/02	
	A 6 1 P 11/00	

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, T M), EP(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, R S, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), 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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, H R, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG , NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 グローブス, ケビン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 7 4, アーリントン, ヘンダーソン ストリート
3 7

(72)発明者 バフ, ライアン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 7 2, ウォータータウン, コモン ストリート
3 2 2

F ターム(参考) 2G043 AA03 BA16 DA01 EA01 FA01

4C057 AA17 AA18 CC03 DD02 NN10

4C076 AA95 CC01 CC04 CC07 CC10 CC11 CC18 CC21 CC26 CC27

CC31 CC41 EE41 EE59

4C084 AA07 AA12 NA13 NA14 ZA151 ZA331 ZA361 ZA451 ZA591 ZA891

ZA961 ZB071 ZB111 ZB211 ZB261 ZB311 ZC211

4C085 HH11 KA27 KA29 KB61 KB78 LL01 LL07 LL09 LL13 LL17

	LL18	LL20								
4C086	AA01	AA02	AA03	DA44	EA02	GA13	MA02	MA05	NA13	NA14
	ZA15	ZA33	ZA36	ZA45	ZA59	ZA89	ZA96	ZB07	ZB11	ZB21
	ZB26	ZB31	ZC21							
4H045	AA10	AA20	AA30	BA13	BA51	EA50	FA10			
4H049	VN01	VP01	VQ35	VQ37	VQ57	VQ59	VQ61	VQ64	VQ84	VR24
	VU29	VW01	VW02							

专利名称(译)	用于体外成像和检测Chiraxistanium红取代近红外荧光染料		
公开(公告)号	JP2016521254A	公开(公告)日	2016-07-21
申请号	JP2016503068	申请日	2014-03-14
[标]申请(专利权)人(译)	文森医学公司		
申请(专利权)人(译)	碧森医药公司		
[标]发明人	グローブスケビン バフライアン		
发明人	グローブス, ケビン バフ, ライアン		
IPC分类号	C07F7/10 G01N21/64 G01N33/533 C09K11/06 C07H23/00 A61K31/695 A61K31/7056 A61K49/00 A61K51/00 A61K47/48 A61K47/42 C07K7/02 C09B57/00 A61P19/08 A61P35/00 A61P9/00 A61P9/10 A61P17/00 A61P37/02 A61P43/00 A61P31/00 A61P29/00 A61P3/00 A61P25/28 A61P27/02 A61P11/00		
CPC分类号	A61K49/0021 A61K49/0052 A61K49/0054 C07F7/0816 C09B11/28 C09B69/008 A61K49/0019 G01N33/56966		
FI分类号	C07F7/10.CSP.Q G01N21/64.ZNA.F G01N33/533 C09K11/06 C07H23/00 A61K31/695 A61K31/7056 A61K49/00.A A61K43/00 A61K49/02.C A61K47/48 A61K47/42 C07K7/02 C09B57/00.Z A61P19/08 A61P35/00 A61P9/00 A61P9/10.101 A61P9/10 A61P17/00 A61P37/02 A61P43/00.105 A61P31/00 A61P29/00 A61P3/00 A61P25/28 A61P27/02 A61P11/00		
F-TERM分类号	2G043/AA03 2G043/BA16 2G043/DA01 2G043/EA01 2G043/FA01 4C057/AA17 4C057/AA18 4C057/CC03 4C057/DD02 4C057/NN10 4C076/AA95 4C076/CC01 4C076/CC04 4C076/CC07 4C076/CC10 4C076/CC11 4C076/CC18 4C076/CC21 4C076/CC26 4C076/CC27 4C076/CC31 4C076/CC41 4C076/EE41 4C076/EE59 4C084/AA07 4C084/AA12 4C084/NA13 4C084/NA14 4C084/ZA151 4C084/ZA331 4C084/ZA361 4C084/ZA451 4C084/ZA591 4C084/ZA891 4C084/ZA961 4C084/ZB071 4C084/ZB111 4C084/ZB211 4C084/ZB261 4C084/ZB311 4C084/ZC211 4C085/HH11 4C085/KA27 4C085/KA29 4C085/KB61 4C085/KB78 4C085/LL01 4C085/LL07 4C085/LL09 4C085/LL13 4C085/LL17 4C085/LL18 4C085/LL20 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/AA03 4C086/DA44 4C086/EA02 4C086/GA13 4C086/MA02 4C086/MA05 4C086/NA13 4C086/NA14 4C086/ZA15 4C086/ZA33 4C086/ZA36 4C086/ZA45 4C086/ZA59 4C086/ZA89 4C086/ZA96 4C086/ZB07 4C086/ZB11 4C086/ZB21 4C086/ZB26 4C086/ZB31 4C086/ZC21 4H045/AA10 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA13 4H045/BA51 4H045/EA50 4H045/FA10 4H049/VN01 4H049/VP01 4H049/VQ35 4H049/VQ37 4H049/VQ57 4H049/VQ59 4H049/VQ61 4H049/VQ64 4H049/VQ84 4H049/VR24 4H049/VU29 4H049/VW01 4H049/VW02		
代理人(译)	夏木森下 饭田TakashiSatoshi 石川大介 山本健作		
优先权	61/794188 2013-03-15 US		
其他公开文献	JP6606487B2 JP2016521254A5		
外部链接	Espacenet		
摘要(译)			

本发明提供了荧光化合物家族。 这些化合物是可以化学连接到一种或多种生物分子（例如蛋白质，核酸和治疗性小分子）的取代的硅黄萘化合物。 这些化合物可用于各种医学，生物学和诊断应用中的成像。 染料在体外，体内和离体成像应用中特别有用。 在一个实施方案中，本发明提供了一种具有从红色到近红外的吸收和发射波长的荧光9-取代的3，6-二氨基10-硅黄萘荧光染料家族。

