

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
A 6 1 K 31/403		A 6 1 K 31/403	4 C 0 6 1
A 6 1 B 1/00	300	A 6 1 B 1/00	300 D 4 C 0 6 3
A 6 1 K 47/48		A 6 1 K 47/48	4 C 0 7 6
49/00		49/00	Z 4 C 0 8 5
49/04		49/04	Z 4 C 0 8 6
審査請求 未請求 予備審査請求（全 49数） 最終頁に続く			

(21)出願番号	特願2001 - 552798(P2001 - 552798)	(71)出願人	マリンクロッド・インコーポレイテッド M A L L I N C K R O D T I N C . アメリカ合衆国、63134 ミズーリ州、セント ルイス、マクドネル ブールバード675、 ピー・オー・ボックス 5840
(86)(22)出願日	平成13年1月17日(2001.1.17)	(72)発明者	サミュエル・アイ・アチレフ アメリカ合衆国63044ミズーリ州セント・ル イス、サン・セビーリャ・コート3424番
(85)翻訳文提出日	平成14年7月17日(2002.7.17)	(72)発明者	ラガバン・ラジャゴパラン アメリカ合衆国63043ミズーリ州メリーラン ド・ハイツ、ピンソン・コート13031番
(86)国際出願番号	PCT/US01/01467	(74)代理人	弁理士 青山 葆 （外2名）
(87)国際公開番号	W001/052743		
(87)国際公開日	平成13年7月26日(2001.7.26)		
(31)優先権主張番号	09/484,320		
(32)優先日	平成12年1月18日(2000.1.18)		
(33)優先権主張国	米国(US)		
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 生物医学的適用のための調整可能なインドシアニン染料

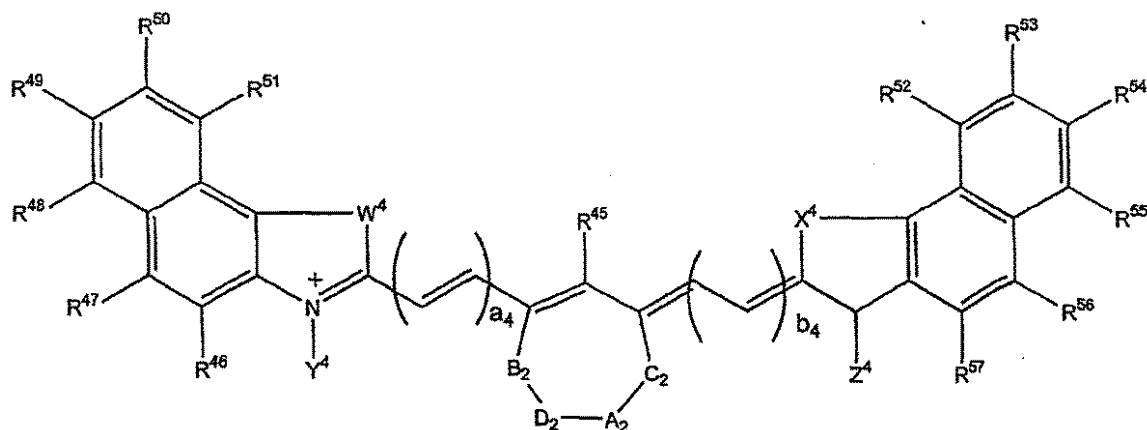
(57)【要約】

光学的モダリティーの感度と特異性は、高度に吸光的な染料を造影剤として使用することにより増強される。電磁スペクトルの近赤外領域で吸光および発光する新規インドシアニン染料を開示する。これらの染料は、様々な疾患状態の造影、診断および治療に有用である。特に、本発明の分子は、光学的診断用造影および治療に、腫瘍および他の異常の検出のための内視鏡的応用で、局所治療に、腫瘍のフォトアコースティック造影、検出および治療に、並びに腫瘍の音波蛍光造影、検出および治療に、有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下式のインドシアニン染料を含む組成物。

【化1】



式中、 a_4 および b_4 は0ないし5で変化し； W^4 および X^4 は同一であっても異なってもよくかつ $-CR^{10}R^{11}$ 、 $-O-$ 、 $-NR^{12}$ 、 $-S-$ および $-Se$ からなる群から選択されるものであり； Y^4 および Z^4 は同一であっても異なってもよくかつ $-(CH_2)_c-CO_2H$ 、 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_d-CH_2-CO_2H$ 、 $-(CH_2)_e-NH_2$ 、 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_f-CH_2-NH_2$ 、 $-(CH_2)_g-N(R^{14})-(CH_2)_h-CO_2H$ および $-(CH_2)_i-N(R^{15})-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_j-CH_2-CO_2H$ からなる群から選択されるものであり； A_2 は単結合または二重結合であり； A_2 が単結合ならば、 B_2 および C_2 は同一であっても異なってもよくかつ $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-Se-$ 、 $-P-$ 、および $-NR^{38}$ からなる群から選択されるものであり、そして D_2 は $-CR^{39}R^{40}$ および $-C=O$ から選択されるものであり； A_2 が二重結合ならば、 B_2 は $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-Se-$ 、 $-P-$ および $-NR^{38}$ からなる群から選択されるものであり、 C_2 は窒素および $-CR^{41}$ から選択されるものであり、そして D_2 は $-CR^{42}$ であり； R^{45} ないし R^{57} は同一であっても異なってもよくかつ水素、 $C1-C10$ アルキル、親水性ペプチド、 $C1-C10$ アリール、ヒドロキシル、 $C1-C10$ ポリヒドロキシアルキル、 $C1-C10$ アルコキシル、シアノ、ニトロ、ハロゲンおよび $-NR^{43}R^{44}$ からなる群から選択されるもの

であり； R^{38} ないし R^{42} は同一であっても異なってもよくかつ - 水素、
 $C1 - C10$ アルキル、 $C1 - C10$ アリール、 $C1 - C10$ アルコキシル、 C
 $1 - C10$ ポリアルコキシアルキル、 $-CH_2(CH_2-O-CH_2)_c-CH$
 $_2-OH$ 、 $C1 - C20$ ポリヒドロキシアルキル、 $C1 - C10$ ポリヒドロキシ
 アリール、 $-(CH_2)_d-CO_2H$ 、 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_e-$
 CH_2-CO_2H 、 $-(CH_2)_f-NH_2$ および $-CH_2-(CH_2-O-C$
 $H_2)_g-CH_2-NH_2$ からなる群から選択されるものであり； c 、 e 、 g 、
 h および i は1ないし10で変化し； d 、 f および j は1ないし100で変化し
 ；そして R^{43} および R^{44} は同一であっても異なってもよくかつ水素、 C
 $1 - C10$ アルキルおよび $C1 - C10$ アリールからなる群から選択されるもの
 であるか、または共に5、6、もしくは7員の炭素環式環または場合により1も
 しくはそれ以上の酸素、窒素、または硫黄原子を含有する5、6もしくは7員の
 複素環式環である。

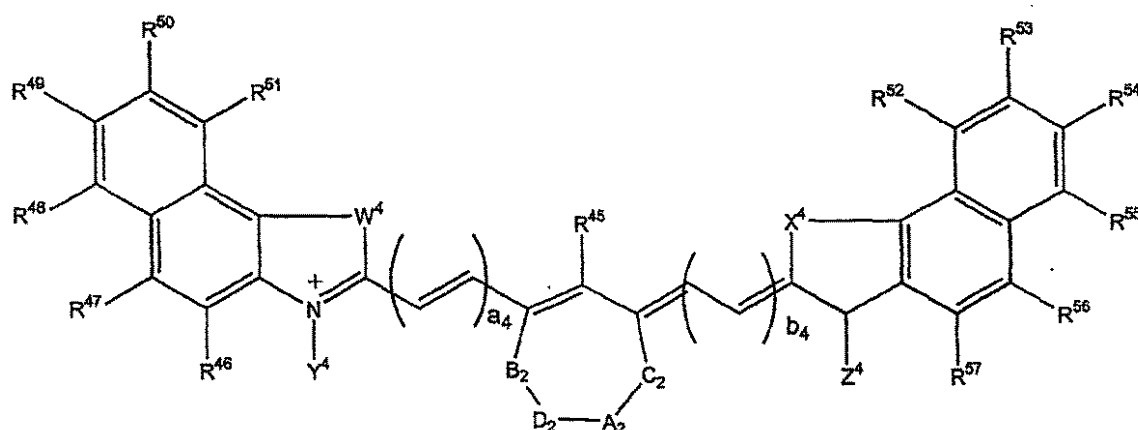
【請求項2】 a_4 および b_4 が0ないし3で変化し； A_2 が単結合であり
 ； B_2 が $-O-$ 、 $-S-$ および $-NR^{38}$ からなる群から選択されるものであり
 ； C_2 が $-CH_2$ および $-C=O$ から選択されるものであり； D_2 が $-O-$ 、 $-$
 $S-$ および $-NR^{38}$ からなる群から選択されるものであり； R^{45} が水素、ハ
 ロゲン原子、糖類および親水性ペプチドからなる群から選択されるものであり；
 R^{46} ないし R^{57} が水素であり； W^4 および X^4 が同一であっても異なってい
 てもよくかつ $-C(CH_3)_2$ 、 $C((CH_2)_{zz}OH)CH_3$ 、 $C((CH_2)_{zz}OH)_2$ 、 $C((CH_2)_{zz}CO_2H)CH_3$ 、 $C((CH_2)_{zz}CO_2H)$
 $_2$ 、 $C((CH_2)_{zz}NH_2)CH_3$ 、 $C((CH_2)_{zz}NH_2)_2$ 、 $C((CH_2)_{zz}NR_{pp}R_{pz})CH_3$ および $C((CH_2)_{zz}NR_{pp}R_{pz})_2$ からなる
 群から選択されるものであり； Y^4 および Z^4 が同一であっても異なっても
 よくかつ $-(CH_2)_c-CO_2H$ 、 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_d-C$
 H_2-CO_2H 、 $-(CH_2)_g-N(R^{14})-(CH_2)_h-CO_2H$ およ
 び $-(CH_2)_i-N(R^{15})-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_j-CH_2$
 $-CO_2H$ からなる群から選択されるものであり； R_{pp} および R_{pz} が同一であっ
 ても異なってもよくかつ $-(CH_2)_c-CO_2H$ 、 $-CH_2-(CH_2-$

$\text{O} - \text{CH}_2)_d - \text{CH}_2 - \text{CO}_2\text{H}$ 、 $-(\text{CH}_2)_g - \text{N}(\text{R}^{14}) - (\text{CH}_2)_h - \text{CO}_2\text{H}$ および $-(\text{CH}_2)_i - \text{N}(\text{R}^{15}) - \text{CH}_2 - (\text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2)_j - \text{CH}_2 - \text{CO}_2\text{H}$ からなる群から選択されるものであり；c、e、g、h、iおよびzzが1ないし5で変化し；d、fおよびjは1ないし100で変化し；そして R^{14} および R^{15} が同一であっても異なってもよくかつ水素、C1 - C10アルキル、C1 - C10アリール、C1 - C10アルコキシル、C1 - C10ポリアルコキシアリール、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2)_c - \text{CH}_2 - \text{OH}$ 、C1 - C20ポリヒドロキシアリール、 $-(\text{CH}_2)_d - \text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2 - (\text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2)_e - \text{CH}_2 - \text{CO}_2\text{H}$ 、 $-(\text{CH}_2)_f - \text{NH}_2$ および $-\text{CH}_2 - (\text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2)_g - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$ からなる群から選択されるものである、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】 a_4 および b_4 が3であり； A_2 が二重結合であり； B_2 が $-\text{O}-$ であり； C_2 および D_2 が CH であり； R^{46} ないし R^{57} が水素であり； W^4 および X^4 が同一であっても異なってもよくかつ $-\text{C}((\text{CH}_2)_{zz}\text{OH})_2$ 、 $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz}\text{CO}_2\text{H})_2$ および $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz}\text{NR}_{pp}\text{R}_{pz})_2$ からなる群から選択されるものであり； Y^4 および Z^4 が同一であってかつ $-(\text{CH}_2)_c - \text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2 - (\text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2)_d - \text{CH}_2 - \text{CO}_2\text{H}$ および $-(\text{CH}_2)_g - \text{N}(\text{R}^{14}) - (\text{CH}_2)_h - \text{CO}_2\text{H}$ からなる群から選択されるものである、請求項1に記載の組成物。

【請求項4】 下式のインドシアニン染料組成物の有効量を個体に投与することを含む診断処置または治療処置を実施する方法。

【化2】



式中、 a_4 および b_4 は0ないし5で変化し； W^4 および X^4 は同一であっても異なってもよくかつ $-CR^{10}R^{11}$ 、 $-O-$ 、 $-NR^{12}$ 、 $-S-$ および $-Se$ からなる群から選択されるものであり； Y^4 および Z^4 は同一であっても異なってもよくかつ $-(CH_2)_c-CO_2H$ 、 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_d-CH_2-CO_2H$ 、 $-(CH_2)_e-NH_2$ 、 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_f-CH_2-NH_2$ 、 $-(CH_2)_g-N(R^{14})-(CH_2)_h-CO_2H$ および $-(CH_2)_i-N(R^{15})-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_j-CH_2-CO_2H$ からなる群から選択されるものであり； A_2 は単結合または二重結合であり； A_2 が単結合ならば、 B_2 および C_2 は同一であっても異なってもよくかつ $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-Se-$ 、 $-P-$ 、および $-NR^{38}$ からなる群から選択されるものであり、そして D_2 は $-CR^{39}R^{40}$ および $-C=O$ から選択されるものであり； A_2 が二重結合ならば、 B_2 は $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-Se-$ 、 $-P-$ および $-NR^{38}$ からなる群から選択されるものであり、 C_2 は窒素および $-CR^{41}$ から選択されるものであり、そして D_2 は $-CR^{42}$ であり； R^{45} ないし R^{57} は同一であっても異なってもよくかつ水素、 $C1-C10$ アルキル、親水性ペプチド、 $C1-C10$ アリール、ヒドロキシル、 $C1-C10$ ポリヒドロキシアルキル、 $C1-C10$ アルコキシル、シアノ、ニトロ、ハロゲンおよび $-NR^{43}R^{44}$ からなる群から選択されるものであり； R^{38} ないし R^{42} は同一であっても異なってもよくかつ水素、 $C1-C10$ アルキル、 $C1-C10$ アリール、 $C1-C10$ アルコキシル、 $C1-C10$ ポリアルコキシアルキル、 $-CH_2(CH_2-O-CH_2)_c-CH$

$_2$ - OH、C 1 - C 2 0 ポリヒドロキシアルキル、C 1 - C 1 0 ポリヒドロキシアリール、 $-(CH_2)_d-CO_2H$ 、 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_e-CH_2-CO_2H$ 、 $-(CH_2)_f-NH_2$ および $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_g-CH_2-NH_2$ からなる群から選択されるものであり；c、e、g、h および i は 1 ないし 10 で変化し；d、f および j は 1 ないし 100 で変化し；そして R^{43} および R^{44} は同一であっても異なってもよくかつ水素、C 1 - C 1 0 アルキルおよび C 1 - C 1 0 アリールからなる群から選択されるものであるか、または共に 5、6、もしくは 7 員の炭素環式環または場合により 1 もしくはそれ以上の酸素、窒素、または硫黄原子を含有する 5、6 もしくは 7 員の複素環式環である。

【請求項 5】 a_4 および b_4 が 0 ないし 3 で変化し； A_2 が単結合であり； B_2 が - O -、- S - または $-NR^{38}$ からなる群から選択されるものであり； C_2 が $-CH_2$ および $-C=O$ から選択されるものであり； D_2 が - O -、- S - および $-NR^{38}$ からなる群から選択されるものであり； R^{45} が水素、ハロゲン原子、糖類および親水性ペプチドからなる群から選択されるものであり； R^{46} ないし R^{57} が水素であり； W^4 および X^4 が同一であっても異なってもよくかつ $-C(CH_3)_2$ 、 $C((CH_2)_{zz}OH)CH_3$ 、 $C((CH_2)_{zz}OH)_2$ 、 $C((CH_2)_{zz}CO_2H)CH_3$ 、 $C((CH_2)_{zz}CO_2H)_2$ 、 $C((CH_2)_{zz}NH_2)CH_3$ 、 $C((CH_2)_{zz}NH_2)_2$ 、 $C((CH_2)_{zz}NR_{pp}R_{pz})CH_3$ および $C((CH_2)_{zz}NR_{pp}R_{pz})_2$ からなる群から選択されるものであり； Y^4 および Z^4 が同一であっても異なってもよくかつ $-(CH_2)_c-CO_2H$ 、 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_d-CH_2-CO_2H$ 、 $-(CH_2)_g-N(R^{14})-(CH_2)_h-CO_2H$ および $-(CH_2)_i-N(R^{15})-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_j-CH_2-CO_2H$ からなる群から選択されるものであり； R_{pp} および R_{pz} が同一であっても異なってもよくかつ $-(CH_2)_c-CO_2H$ 、 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_d-CH_2-CO_2H$ 、 $-(CH_2)_g-N(R^{14})-(CH_2)_h-CO_2H$ および $-(CH_2)_i-N(R^{15})-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_j-CH_2-CO_2H$ からなる群から選択されるものであり；c、e、

g、h、i および z z が 1 ないし 5 で変化し；d、f および j は 1 ないし 100 で変化し；そして R^{14} および R^{15} が同一であっても異なってもよくかつ水素、C1 - C10 アルキル、C1 - C10 アリール、C1 - C10 アルコキシル、C1 - C10 ポリアルコキシアリール、 $-CH_2(CH_2-O-CH_2)_c$ 、 $-CH_2-OH$ 、C1 - C20 ポリヒドロキシアリール、C1 - C10 ポリヒドロキシアリール、 $-(CH_2)_d-CO_2H$ 、 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_e-CH_2-CO_2H$ 、 $-(CH_2)_f-NH_2$ および $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_g-CH_2-NH_2$ からなる群から選択されるものである、インドシアニン染料組成物の有効量を個体に投与することを含む、請求項 4 に記載の診断処置または治療処置を実施する方法。

【請求項 6】 a_4 および b_4 が 3 であり； A_2 が二重結合であり； B_2 が $-O-$ であり； C_2 および D_2 が CH であり； R^{46} ないし R^{57} が水素であり； W^4 および X^4 が同一であっても異なってもよくかつ $-C((CH_2)_{zz}OH)_2$ 、 $C((CH_2)_{zz}CO_2H)_2$ および $C((CH_2)_{zz}NR_{pp}R_{pz})_2$ からなる群から選択されるものであり； Y^4 および Z^4 が同一であってかつ $-(CH_2)_c-CO_2H$ 、 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_d-CH_2-CO_2H$ および $-(CH_2)_g-N(R^{14})-(CH_2)_h-CO_2H$ からなる群から選択されるものである、インドシアニン染料組成物の有効量を個体に投与することを含む、請求項 4 に記載の診断処置または治療処置を実施する方法。

【請求項 7】 該処置が、350 - 1300 nm の領域における波長の光を利用するものである、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 8】 該診断処置が、光学的断層 X 線撮影法である、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 9】 該診断処置が、蛍光内視鏡検査である、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 10】 さらに該バイオコンジュゲートの血液クリアランスプロファイルを蛍光、吸収または光散乱によってモニターすること、但し 350 - 1300 nm の領域における波長の光を利用するものである、を含む、請求項 4 に記載の方法。

【請求項11】 該処置が、さらに造影および治療段階を含み、該造影および治療が吸収、光散乱、フォトアコースティックおよび音波蛍光技法からなる群から選択されるものである、請求項4に記載の方法。

【請求項12】 該処置がアテローム性動脈硬化症プラークおよび血液凝塊診断目的のものである、請求項4に記載の方法。

【請求項13】 該処置が局所治療を施すことをさらに含む、請求項4に記載の方法。

【請求項14】 該治療処置がフォトダイナミック療法を含むものである、請求項4に記載の方法。

【請求項15】 該治療処置が、微小転移巣検出用レーザー補助ガイド手術（LAGS）を含む、請求項4に記載の方法。

【請求項16】 該染料を固相合成によりペプチドまたはバイオ分子とコンジュゲートさせることを含む、請求項1の組成物製法。

【請求項17】 診断用または治療用染料分子組成物に、生物適合性有機溶媒を1ないし5パーセント添加することによる、インビボまたはインビトロの蛍光クエンチング防御方法。

【請求項18】 該染料分子を、ジメチルスルフォキシド（DMSO）1ないし50パーセントを含む媒体中に溶解させる、請求項17に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

一般的に本発明は、造影、診断および治療における使用のための新規シアニンおよびインドシアニン染料に関するものである。特に、本発明は、新規の炭素環式および複素環式部分が染料分子のポリエン部分に組み込まれている、シアニンおよびインドシアニン染料の組成物に関するものである。

【0002】

発明の背景

電磁スペクトルの可視および近赤外線領域における光を吸収および放射する幾つかの染料は、生物適合性があり、モル吸光率が高く、または蛍光量子収量が高い故に最近様々な生物医学的適用例に使用されている。造影剤としての染料に関連した光学モダリティーの高い感度は核医学の場合と相応しており、電離放射線の望ましくない作用を伴うことなく器官および組織の視覚化が可能となる。近赤外線（NIR）領域における吸収および放射が強いシアニン染料は、生物組織がこの領域では光学的に透過性であるため特に有用である（B. C. Wilson、Optical properties of tissues（「組織の光学特性」）、Encyclopedia of Human Biology、1991、5、587 - 597）。例えば、NIR領域で吸収および放射するインドシアニングリーンは、心拍出量、肝機能および肝臓血流量をモニターするのに使用されており（Y - L. He, H. Tanigami, H. Ueyama, T. Mashimo, and I. Yoshiya、Measurement of blood volume using indocyanine green measured with pulse-spectrometry: Its reproducibility and reliability（「パルス分光法で測定される インドシアニンググリーンを用いた血液量の測定：その再現性および信頼性」）、Critical Care Medicine、1998、26(8)、1446 - 1451、J. Caesar, S. Shaldon, L. Chiandussiら、The use of Indocyanine green in the measurement of hepatic blood flow and as a test of hepatic function（「肝臓血流量測定および肝機能検査におけるインドシアニンググリーンの使用」）、Clin. Sci. 1961、21、43 - 57）、そしてその官能性誘導体は、診断目的用に生体分子をコンジュゲートするのに使用されている（R. B. Mujumdar, L. A. Ernst, S. R. Mujumdar ら、Cyanine dye labeling rea

gents: Sulfoindocyanine succinimidyl esters (「シアニン染料標識試薬：スルホインドシアニンスクシニミジルエステル類」)、Bioconjugate Chemistry、1993、4(2)、105-111、Linda G. Lee および Sam L. Woo. "N-Heteroaromatic ion and iminium ion substituted cyanine dyes for use as fluorescent labels" (「蛍光標識として使用するためのN-複素環式芳香族イオンおよびイミニウムイオンで置換されたシアニン染料」)、米国5,453,505; Eric Hohenschuh ら、"Light imaging contrast agents" (「光造影の造影剤」)、WO98/48846; Jonathan Turner ら、"Optical diagnostic agents for the diagnosis of neurodegenerative diseases by means of near infra-red radiation" (「近赤外線放射による神経変性病診断用光学的診断剤」)、WO98/22146; Kai Licha ら、"In-vivo diagnostic process by near infrared radiation" (「近赤外線放射によるインビトロ診断プロセス」) WO96/17628; Robert A. Snow ら、Compounds (化合物) WO98/48838)。

【0003】

シアニン染料誘導体の使用における主たる欠点は、肝臓によるこれらの染料の急速なクリアランスにより生じる肝胆汁性毒性に関する可能性である (G. R. Cherrick, S. W. Stein, C. M. Leevy ら、Indocyanine green: Observations on its physical properties, plasmadecay, and hepatic extraction (「インドシアニングリーン：その物理特性、血漿崩壊および肝臓抽出に関する観察」)、J. Clinical Investigation、1960、39、592-600)。これは、溶解状態のシアニン染料が凝集体を形成する傾向があり、それらが肝臓のクッパー細胞により吸収され得ることに関連している。この問題を回避する様々な試みはこれまでのところあまり有効ではなかった。典型的には、親水性ペプチド、ポリエチレングリコールまたはオリゴサッカリドコンジュゲートが使用されたが、これらは長期循環性産物を生じるため、結局は肝臓によりクリアランスされる。現行のシアニンおよびインドシアニン染料系に伴う別の大きな問題点は、これらの染料の吸収および放射特性における大きな変化を誘発する能力の範囲にそれらが限界を示すことである。様々なヘテロ原子および環状部分をこれらの染料のポリエ

ン鎖に組込む試みはこれまでに為されているが (L. Strekowski, M. Lipowska, および G. Patonay, Substitution reactions of a nucleofugal group in heptamethine cyanine dyes (「ヘタメチンシアニン染料における離核基の置換反応」)、J. Org. Chem., 1992, 57, 4578 - 4580、N. Narayanan および G. Patonay, A new method for the synthesis of heptamethine cyanine dyes: Synthesis of new near infrared fluorescent labels (「ヘプタメチンシアニン染料の新規合成方法: 新規近赤外線蛍光標識の合成」)、J. Org. Chem., 1995, 60, 2391 - 2395、E. Fung および R. Rajagopalan, Monocyclic functional dyes for contrast enhancement in optical imaging (光学造影における造影強化のための単環式官能性染料)、米国5,732,104; R. Rajagopalan および E. Fung, Delta^{1,6} bicyclo[4,4,0] functional dyes for contrast enhancement in optical imaging (光学造影における造影強化のためのデルタ^{1,6}二環式[4,4,0]官能性染料)、米国5,672,333; R. Rajagopalan および E. Fung, Tricyclic functional dyes for contrast enhancement in optical imaging (光学造影における造影強化のための三環式官能性染料)、米国5,709,845)、生成した染料系は、特にフォトアコースティック診断適用が非常に敏感である830nmを越える、吸収および放射最大値に大した差異は示さない。それらはまた、肝臓吸収を促進する突起した疎水性コアを有する。さらに、ほとんどのシアニン染料は、生物医学適用に有用である、デンドリマーの形成能を有していない。

【0004】

従って、溶液における染料凝集を阻止し得、デンドリマーを形成しやすくさせ、800nmを越えて吸収または放射し得、望ましい光学物理特性を有し、組織特異的ターゲティング能力が賦与されている新しい染料の設計が要望される。

【0005】

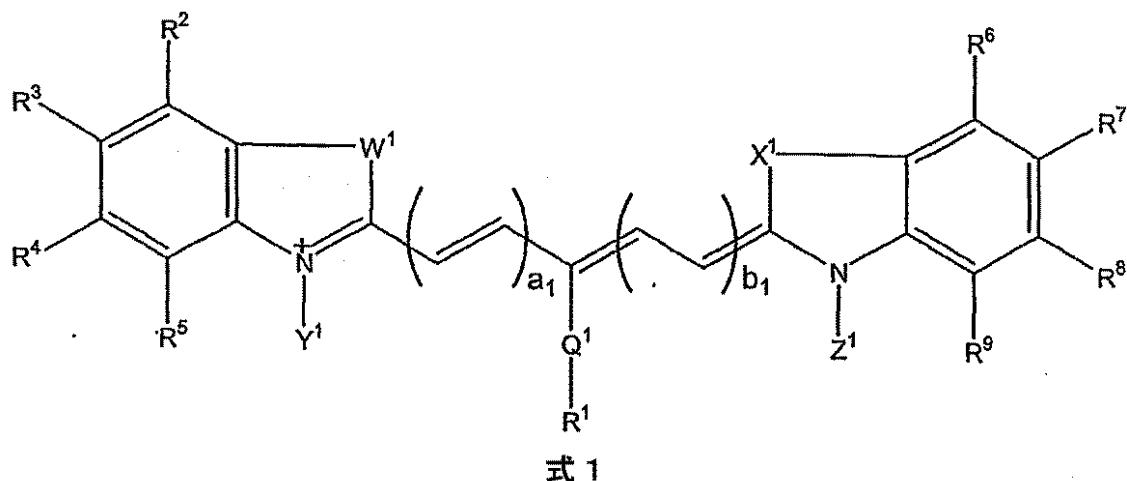
発明の背景を確認するために、または実施に関してさらに詳細を記すために本明細書で使用する公報および他の資料は、参照により本明細書の一部とする。

【0006】

発明の概要

本発明は、特に一般式 1 のシアニン染料を含む新規組成物に関するものである。

【化 3】



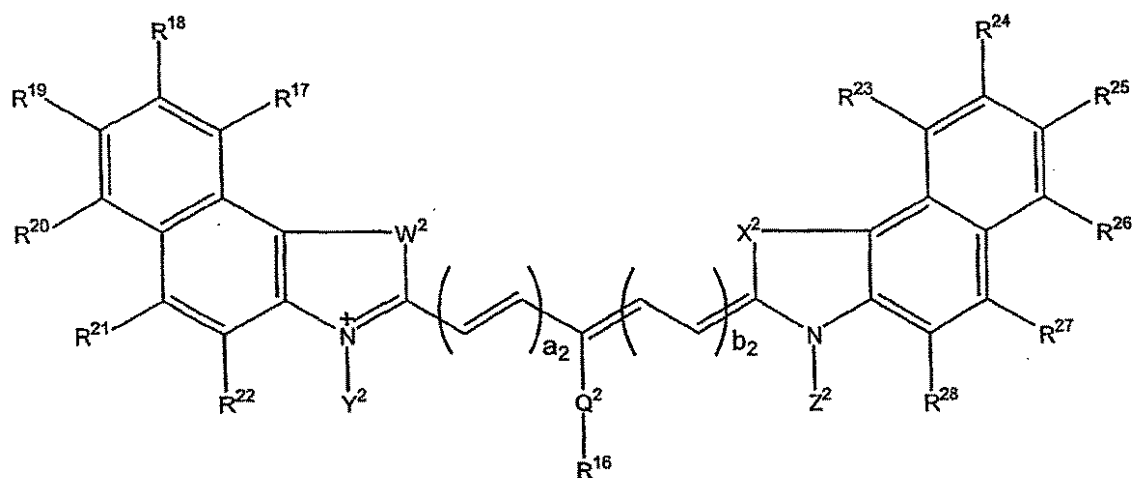
式中、 a_1 および b_1 は 0 ないし 5 で変化し； W^1 および X^1 は同一であっても異なってもよくかつ $-CR^{10}R^{11}$ 、 $-O-$ 、 $-NR^{12}$ 、 $-S-$ および $-Se$ からなる群から選択されるものであり； Q^1 は単結合であるかまたは $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-Se-$ および $-NR^{13}$ からなる群から選択されるものであり； Y^1 および Z^1 は同一であっても異なってもよくかつ $-(CH_2)_c-CO_2H$ 、 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_d-CH_2-CO_2H$ 、 $-(CH_2)_e-NH_2$ 、 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_f-CH_2-NH_2$ 、 $-(CH_2)_g-N(R^{14})-(CH_2)_h-CO_2H$ および $-(CH_2)_i-N(R^{15})-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_j-CH_2-CO_2H$ からなる群から選択されるものであり； R^1 および R^{10} ないし R^{15} は同一であっても異なってもよくかつ、水素、 $C1-C10$ アルキル、 $C1-C10$ アリール、 $C1-C10$ アルコキシル、 $C1-C10$ ポリアルコキシアリール、 $-CH_2(CH_2-O-CH_2)_c-CH_2-OH$ 、 $C1-C20$ ポリヒドロキシアリール、 $-(CH_2)_d-CO_2H$ 、 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_e-CH_2-CO_2H$ 、 $-(CH_2)_f-NH_2$ および $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_g-CH_2-NH_2$ からなる群から選択されるものであり； c 、 e 、 g 、 h および i は 1 ないし 10 で変化し； d 、 f および j は 1 ないし 100 で変化し；そして R^2 ないし R^9 は同一であっても異なってい

でもよくかつ水素、C1 - C10アルキル、C1 - C10アリール、ヒドロキシル、C1 - C10ポリヒドロキシアリール、C1 - C10アルコキシル、アミノ、C1 - C10アミノアルキル、シアノ、ニトロおよびハロゲンである。

【0007】

本発明はまた、一般式2のインドシアニン染料を含む新規組成物に関するものである。

【化4】



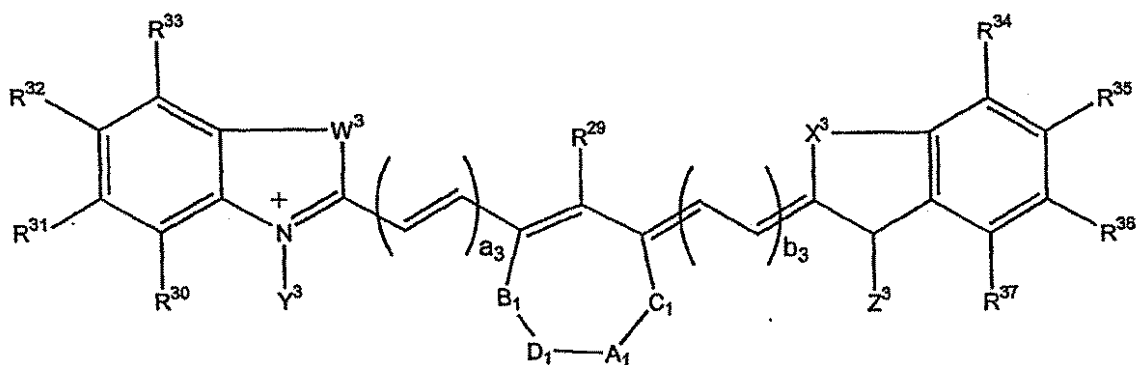
式2

式中、 a_2 および b_2 は a_1 および b_1 と同様に定義され； W^2 および X^2 は W^1 および X^1 と同様に定義され； Q^2 は Q^1 と同様に定義され； R^{16} および R^{10} ないし R^{15} は R^1 および R^{10} ないし R^{15} と同様に定義され； Y^2 は Y^1 と同様に定義され； Z^2 は Z^1 と同様に定義され；そして R^{17} ないし R^{28} は R^2 ないし R^9 と同様に定義される。

【0008】

本発明はまた、一般式3のシアニン染料を含む新規組成物に関するものである。

【化5】



式 3

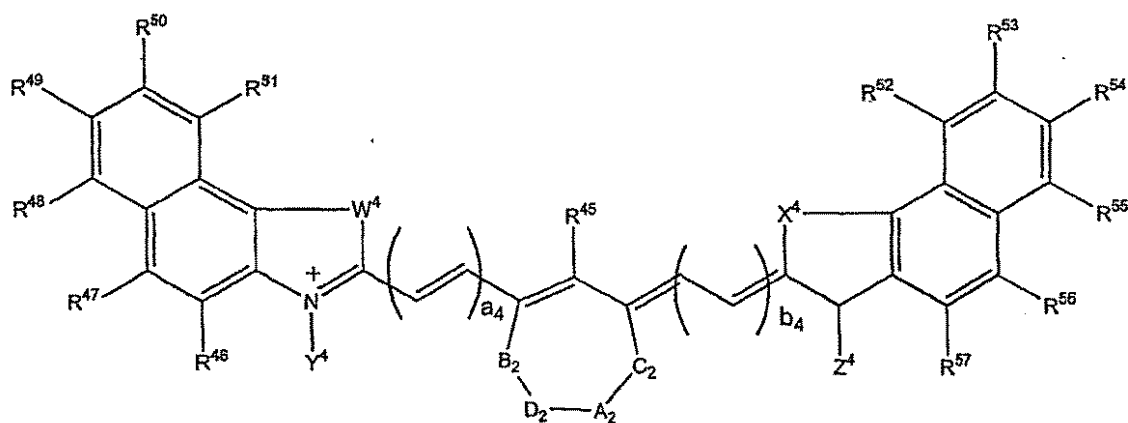
式中、 a_3 および b_3 は a_1 および b_1 と同様に定義され； W^3 および X^3 は W^1 および X^1 と同様に定義され； Y^3 は Y^1 と同様に定義され； Z^3 は Z^1 と同様に定義され； A_1 は単結合または二重結合であり； A_1 が単結合ならば、 B_1 および C_1 は同一であっても異なってもよくかつ - O -、- S -、- Se -、- P -、および - NR³⁸からなる群から選択されるものであり、そして D_1 は - CR³⁹R⁴⁰および - C = Oからなる群から選択されるものであり； A_1 が二重結合ならば、 B_1 は - O -、- S -、- Se -、- P - および - NR³⁸からなる群から選択されるものであり、 C_1 は窒素または - CR⁴¹であり、そして D_1 は - CR⁴²であり； R^{29} ないし R^{37} は水素、C1 - C10アルキル、C1 - C10アリール、ヒドロキシル、親水性ペプチド、C1 - C10ポリヒドロキシルアルキル、C1 - C10アルコキシル、シアノ、ニトロ、ハロゲンおよび - NR⁴³R⁴⁴からなる群から選択されるものであり； R^{38} ないし R^4 ²は同一であっても異なってもよくかつ - 水素、C1 - C10アルキル、C1 - C10アリール、C1 - C10アルコキシル、C1 - C10ポリアルコキシル、- CH₂(CH₂ - O - CH₂)_c - CH₂ - OH、C1 - C20ポリヒドロキシルアルキル、C1 - C10ポリヒドロキシアリール、- (CH₂)_d - CO₂H、- CH₂ - (CH₂ - O - CH₂)_e - CH₂ - CO₂H、- (CH₂)_f - NH₂および - CH₂ - (CH₂ - O - CH₂)_g - CH₂ - NH₂からなる群から選択されるものであり；c、e、g、hおよびiは1ないし10で変化し；d、fおよびjは1ないし100で変化し； R^{43} および R^{44} は同一であっても異なってもよくかつ水素、C1 - C10アルキル、C1 - C1

0 アリールからなる群から選択されるものであるか、または共に5、6、もしくは7員の炭素環式環または場合により1またはそれ以上の酸素、窒素、または硫黄原子を含有する5、6、ないし7員の複素環式環である。

【0009】

本発明はまた、一般式4のインドシアニン染料を含む新規組成物に関するものであり、式中、 a_4 および b_4 は a_1 および b_1 と同様に定義され； W^4 および X^4 は W^1 および X^1 と同様に定義され； Y^4 は Y^1 と同様に定義され； Z^4 は Z^1 と同様に定義され； A_2 は A_1 と同様に定義され； B_2 、 C_2 および D_2 は B_1 、 C_1 および D_1 と同様に定義され；そして R^{45} ないし R^{57} は R^{29} ないし R^{37} と同様に定義される。

【化6】

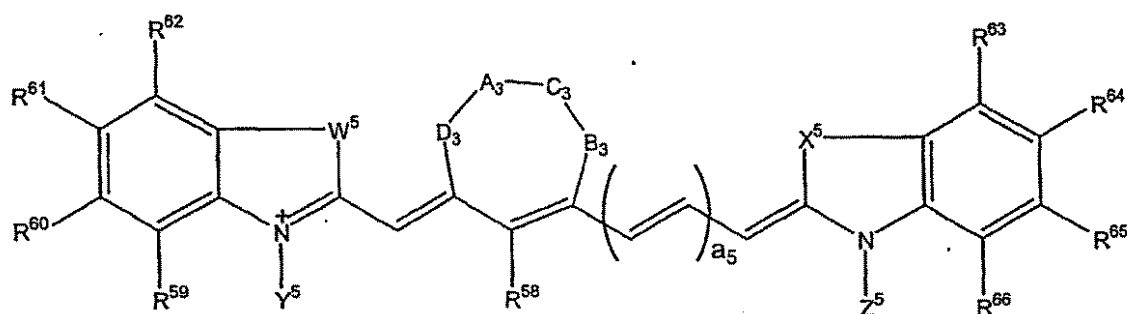


式4

【0010】

本発明はまた、一般式5のシアニン染料を含む新規組成物に関するものである。

【化7】



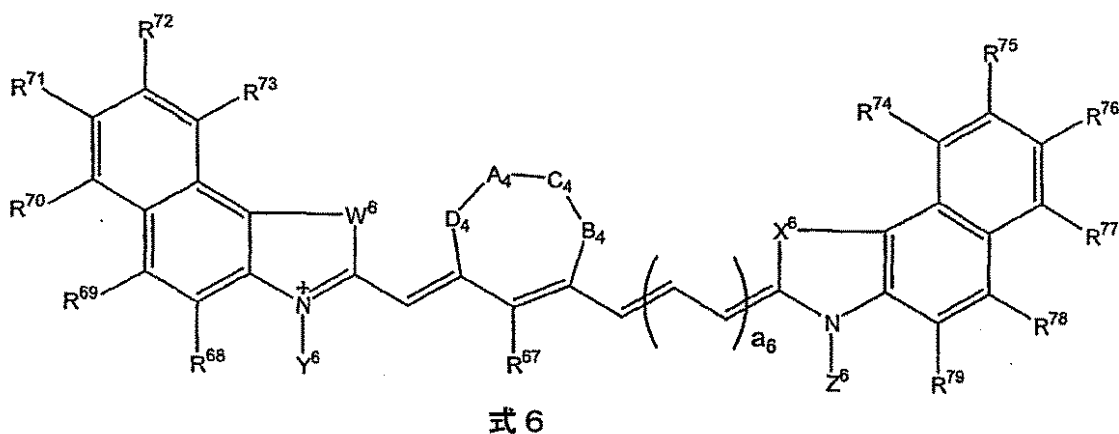
式5

式中、 a_5 は a_1 と同様に定義され； W^5 および X^5 は W^1 および X^1 と同様に定義され； Y^5 は Y^1 と同様に定義され； Z^5 は Z^1 と同様に定義され； A_3 は A_1 と同様に定義され； B_3 、 C_3 および D_3 は B_1 、 C_1 および D_1 と同様に定義され；そして R^{58} ないし R^{66} は R^{29} ないし R^{37} と同様に定義される。

【0011】

本発明はまた、一般式6のシアニン染料を含む新規組成物に関するものである。

【化8】



式中、 a_6 は a_1 と同様に定義され； W^6 および X^6 は W^1 および X^1 と同様に定義され； Y^6 は Y^1 と同様に定義され； Z^6 は Z^1 と同様に定義され； A_4 は A_1 と同様に定義され； B_4 、 C_4 および D_4 は B_1 、 C_1 および D_1 と同様に定義され；そして R^{67} ないし R^{79} は R^{29} ないし R^{37} と同様に定義される。

【0012】

本発明はまた、固相法によって本発明の染料をペプチドまたは生体分子に結合させる方法に関連する。

【0013】

本発明はまた、蛍光のクエンチングを防止する方法に関連する。シアニン染料は一般的に水性溶媒中で凝集体を形成し、蛍光のクエンチングを導くことが知られている。我々は例えば染料の疎水的核の存在が蛍光のクエンチングを導く場合

、1 - 50 %のジメチルスルホキシド (D M S O) のような生物適合性有機溶媒の添加により凝集が防止されて蛍光が回復し、インビボでの器官の可視化が可能になることを観察した。

【0014】

発明の詳細な説明

式1ないし6の染料を含む本発明の新規組成物は、現在当分野で記載されているものに対して顕著な利点を呈する。スキーム1ないし6に図解するように、これらの染料は、分子内および分子間の規則正しい疎水的相互作用を防止することにより、溶液中での凝集を防止するように設計されている。それらはまた、デンドリマーの形成を容易にするために、染料の発色団の近傍に複数の結合部位を有する。固く、延長された発光団バックボーンが存在によって、蛍光量子収量が増え、かつ最高吸光が800nm以上に拡大される。これらの染料への生体分子の結合は、容易に達成される。それらは、断層X線撮影法による器官の造影；器官機能のモニター；冠動脈造影法；蛍光内視鏡検査；腫瘍の検出、造影および治療；レーザーガイド手術；フォトアコースティックおよび音波蛍光技法などを含むが、これらに限定されるわけではない、多様な生物医学的適用例において有用である。前述の生物医学的適用例のいくつかを達成する特別な実施態様を下記に示す。

【0015】

本発明のある実施態様では、本発明の染料は、腫瘍および他の異常の検出と処置のための、光学的断層X線撮影法、内視鏡検査、フォトアコースティックおよび音波蛍光的適用例で有用である。

【0016】

本発明の他の態様では、本発明の染料は、局所治療に有用である。

【0017】

本発明のさらに他の態様では、本発明の染料は、染料の血液クリアランスプロファイルをモニターすることによる、腫瘍および他の異常の存在の検出に有用である。

【0018】

本発明のさらなる実施態様では、腹腔鏡による腫瘍の微小転移巣検出用レーザー補助ガイド手術に有用である。

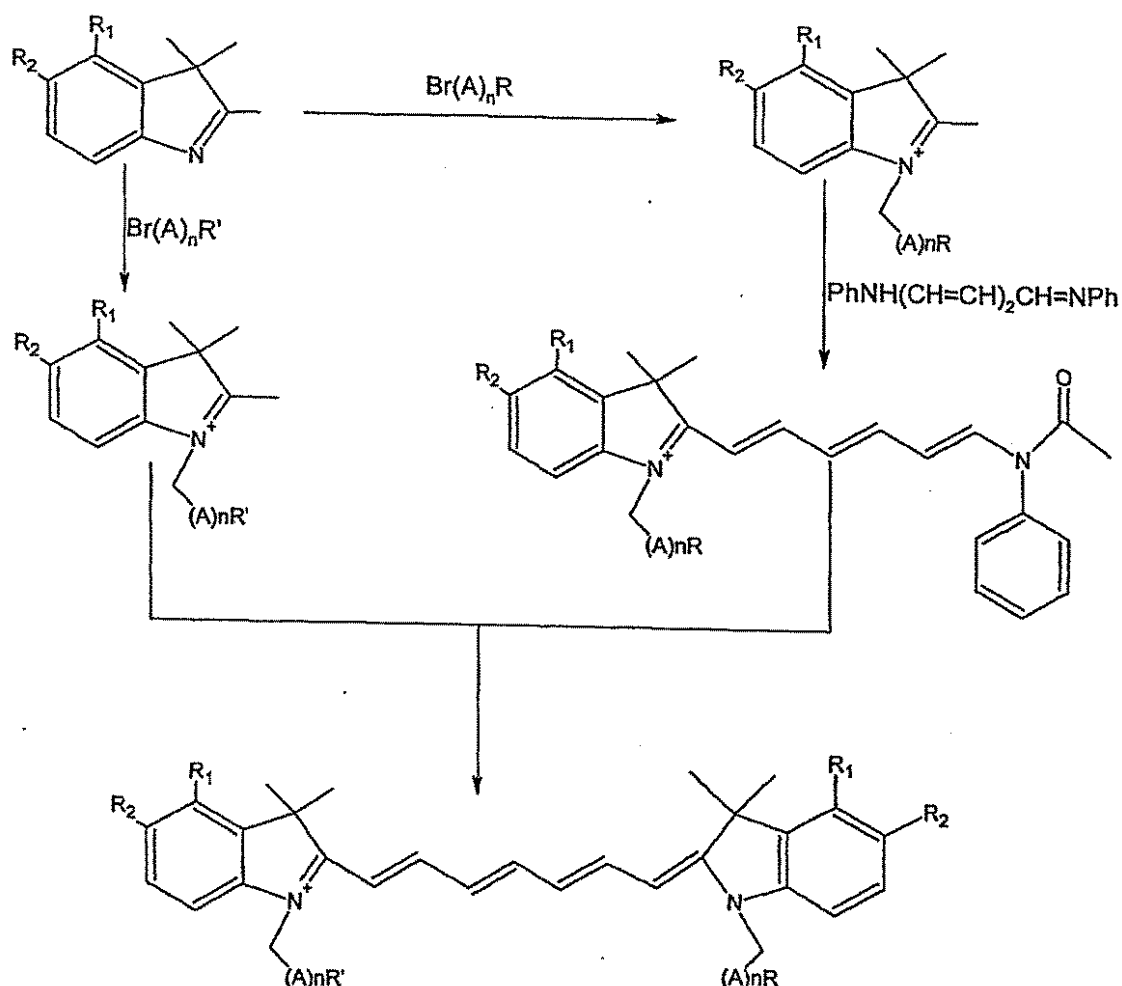
【0019】

本発明のさらに他の態様では、本発明の染料の染料バイオコンジュゲートは、アテローム性動脈硬化症プラークおよび血液凝塊の診断に有用である。

【0020】

本発明の新規染料は、当分野で周知であり、スキーム1-5に示す方法に従って調製される。そしてバイオコンジュゲートの合成におけるそれらの使用をスキーム6に示す。

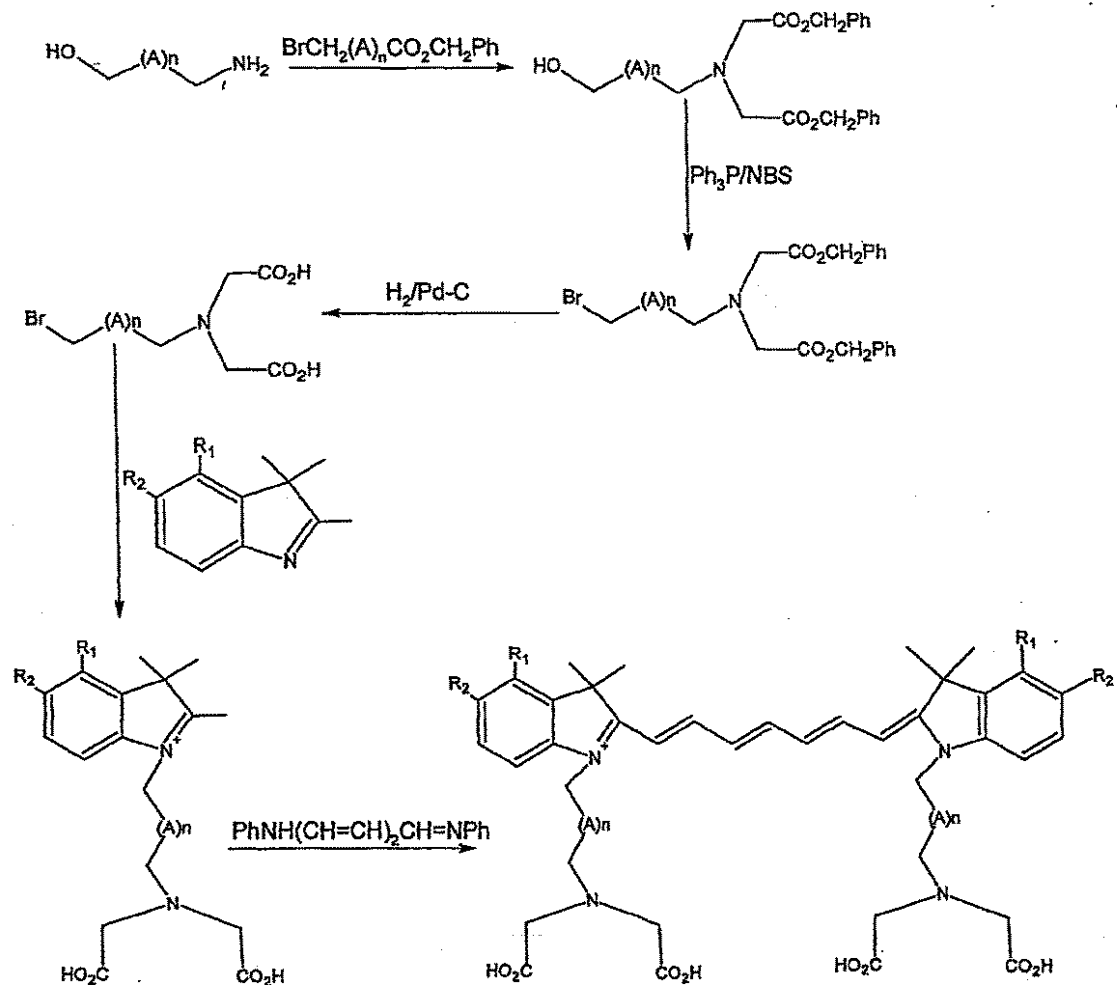
【化9】



スキーム1：ビスカルボン酸の調製； A = CH₂ または CH₂OCH₂；
 R = COOH； R' = COOH, NHFmoc； CO₂t-Bu； SO₃⁻；
 R₁ = R₂ = H (式1) または R₁, R₂ = 縮合フェニル (式2)

【0021】

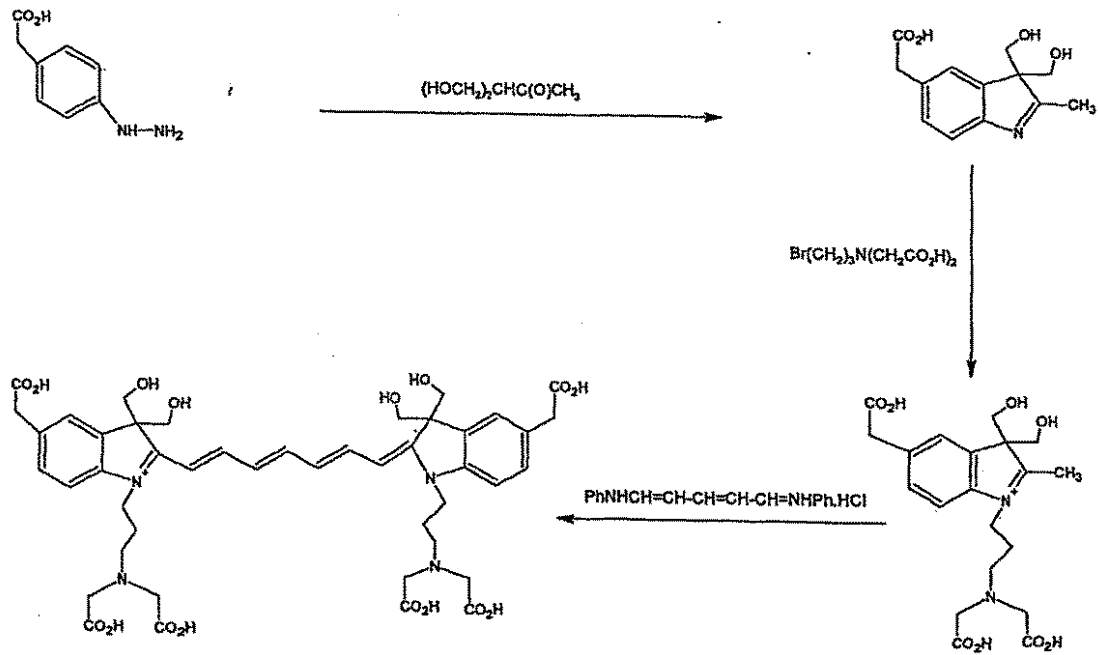
【化10】



スキーム2：テトラカルボン酸の調製； $\text{A}=\text{CH}_2$ または CH_2OCH_2 ； $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{H}$ （式1）または R_1, R_2 =縮合フェニル（式2）

【0022】

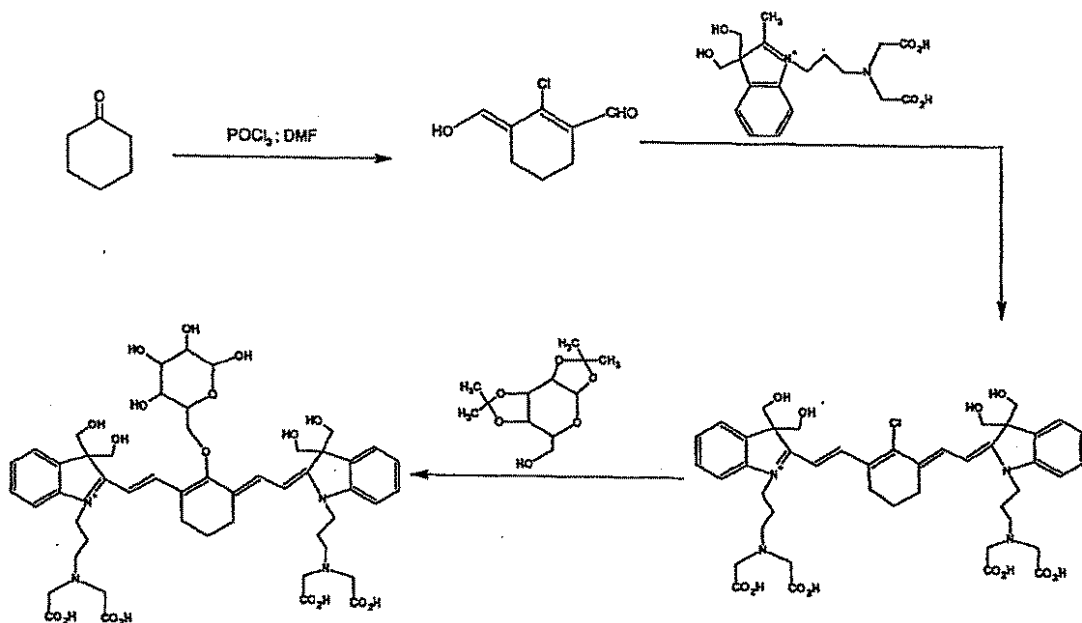
【化11】



スキーム3：ポリヒドロキシカルボン酸シアニン染料の調製

【0023】

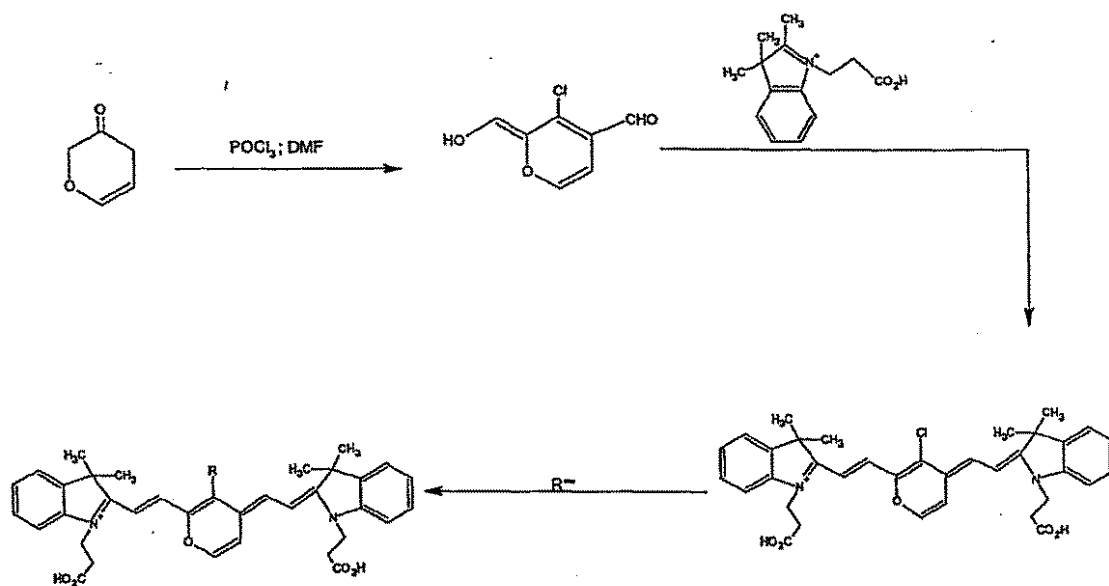
【化12】



スキーム4：非凝集性シアニン染料の合成

【0024】

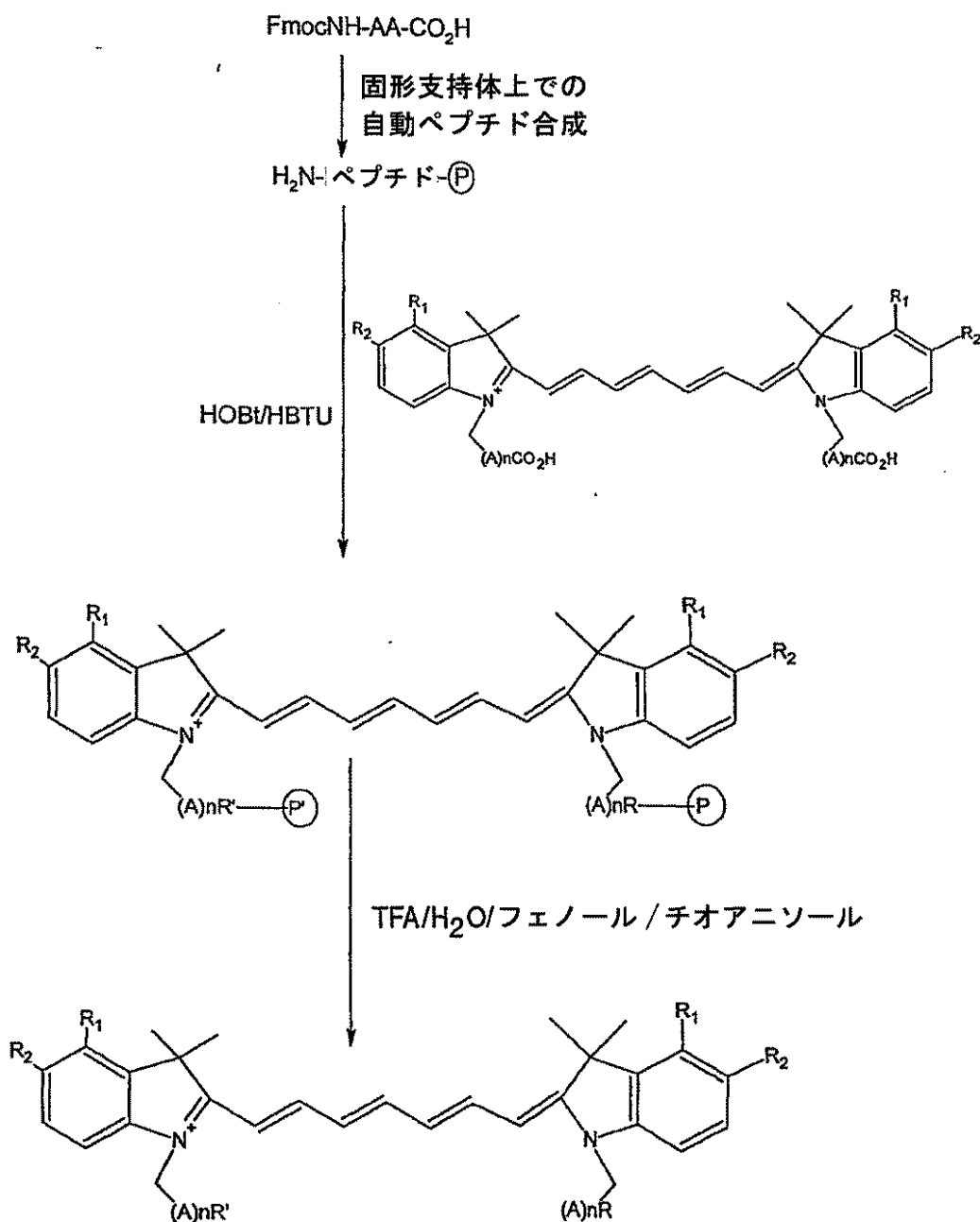
【化13】



スキーム5 : 「調整可能」シアニン染料の合成

【0025】

【化14】



スキーム6：バイオコンjugate調製の代表的スキーム；A=CH₂ または CH₂OCH₂；
R₁=R₂=H (式1) または R₁,R₂=縮合フェニル (式2)；AA=アミノ酸
R=CONHペプチド；R'=R (ビスコンjugate) または COOH (モノコンjugate)

(P)=固形支持体；(P')=R' の定義に応じて存在または非存在；

【0026】

好ましい実施態様では、本発明による染料は一般式1を有し、式中a₁およびb₁は0ないし3で変化し；Q¹は単結合であり；R¹ないしR⁹は水素であり；W¹およびX¹は同一であっても異なってもよくかつ-C(CH₃)₂、C((CH₂)_{zz}OH)CH₃、C((CH₂)_{zz}OH)₂、C((CH₂

$(\text{CH}_2)_{zz} \text{CO}_2\text{H}) \text{CH}_3$ 、 $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz} \text{CO}_2\text{H})_2$ 、 $\text{C}((\text{CH}_2)_z \text{NH}_2) \text{CH}_3$ 、 $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz} \text{NH}_2)_2$ 、 $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz} \text{NR}_{pp} \text{R}_{pz}) \text{CH}_3$ および $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz} \text{NR}_{pp} \text{R}_{pz})_2$ からなる群から
 選択されるものであり； Y^1 および Z^1 は同一であっても異なってもよくか
 つ $(\text{CH}_2)_c - \text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2 - (\text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2)_d - \text{CH}_2 - \text{CO}_2\text{H}$ 、 $-(\text{CH}_2)_g - \text{N}(\text{R}^{14}) - (\text{CH}_2)_h - \text{CO}_2\text{H}$ および $-(\text{CH}_2)_i - \text{N}(\text{R}^{15}) - \text{CH}_2 - (\text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2)_j - \text{CH}_2 - \text{CO}_2\text{H}$ からなる群から選択されるものであり； R_{pp} および R_{pz} は同一であっても異なってもよくかつ $(\text{CH}_2)_c - \text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2 - (\text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2)_d - \text{CH}_2 - \text{CO}_2\text{H}$ 、 $-(\text{CH}_2)_g - \text{N}(\text{R}^{14}) - (\text{CH}_2)_h - \text{CO}_2\text{H}$ および $-(\text{CH}_2)_i - \text{N}(\text{R}^{15}) - \text{CH}_2 - (\text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2)_j - \text{CH}_2 - \text{CO}_2\text{H}$ からなる群から選択されるものであり； R^{14} およ
 び R^{15} は同一であっても異なってもよくかつ - 水素、 $\text{C}1 - \text{C}10$ アルキ
 ル、 $\text{C}1 - \text{C}10$ アリール、 $\text{C}1 - \text{C}10$ アルコキシル、 $\text{C}1 - \text{C}10$ ポリアル
 コキシアルキル、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2)_c - \text{CH}_2 - \text{OH}$ 、 $\text{C}1 - \text{C}20$ ポリヒドロキシアルキル、 $\text{C}1 - \text{C}10$ ポリヒドロキシアリール、 $-(\text{CH}_2)_d - \text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2 - (\text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2)_e - \text{CH}_2 - \text{CO}_2\text{H}$ 、
 $-(\text{CH}_2)_f - \text{NH}_2$ および $-\text{CH}_2 - (\text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2)_g - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$ からなる群から選択されるものであり； c 、 e 、 g 、 h 、 i および zz は
 1 ないし 5 で変化し；そして d 、 f および j は 1 ないし 100 で変化する。

【0027】

他の好ましい実施態様では、本発明による染料は一般式 2 を有し、式中、 a_2
 および b_2 は 0 ないし 3 で変化し； Q^2 は単結合であり； R^{16} ないし R^{28} は
 水素であり； W^2 および X^2 は同一であっても異なってもよくかつ $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz} \text{OH}) \text{CH}_3$ 、 $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz} \text{OH})_2$ 、 $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz} \text{CO}_2\text{H}) \text{CH}_3$ 、 $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz} \text{CO}_2\text{H})_2$ 、 $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz} \text{NH}_2) \text{CH}_3$ 、 $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz} \text{NH}_2)_2$ 、 $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz} \text{NR}_{pp} \text{R}_{pz}) \text{CH}_3$ および $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz} \text{NR}_{pp} \text{R}_{pz})_2$ ； Y^2 および Z^2 は同一であっても異なってもよくかつ $(\text{CH}_2)_c - \text{CO}_2$

H 、 $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_d-\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-(\text{CH}_2)_g$
 $-\text{N}(\text{R}^{14})-(\text{CH}_2)_h-\text{CO}_2\text{H}$ および $-(\text{CH}_2)_i-\text{N}(\text{R}^{15})$
 $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_j-\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{H}$ からなる群から選択さ
 れるものであり； R_{pp} および R_{pz} は同一であっても異なってもよくかつ
 $-(\text{CH}_2)_c-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_d-\text{CH}_2-\text{C}$
 O_2H 、 $-(\text{CH}_2)_g-\text{N}(\text{R}^{14})-(\text{CH}_2)_h-\text{CO}_2\text{H}$ および $-(\text{C}$
 $\text{H}_2)_i-\text{N}(\text{R}^{15})-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_j-\text{CH}_2-\text{CO}_2$
 H からなる群から選択されるものであり； R^{14} および R^{15} は同一であっても
 異なってもよくかつ、水素、 $\text{C}1-\text{C}10$ アルキル、 $\text{C}1-\text{C}10$ アリール
 、 $\text{C}1-\text{C}10$ アルコキシル、 $\text{C}1-\text{C}10$ ポリアルコキシアリール、 $-\text{CH}_2$
 $(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_c-\text{CH}_2-\text{OH}$ 、 $\text{C}1-\text{C}20$ ポリヒドロキシアリール、 $\text{C}1-\text{C}10$ ポリヒドロキシアリール、 $-(\text{CH}_2)_d-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CH}$
 $_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_e-\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-(\text{CH}_2)_f-\text{NH}_2$ お
 よび $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_g-\text{CH}_2-\text{NH}_2$ ； c 、 e 、 g 、 h 、
 i および z は1ないし5で変化し；そして d 、 f および j は1ないし100で
 変化する。

【0028】

他の好ましい実施態様では、本発明による染料は一般式3を有し、式中、 a_3
 および b_3 は0ないし3で変化し； A_1 は単結合であり； B_1 は $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$
 および $-\text{NR}^{38}$ からなる群から選択されるものであり； C_1 は $-\text{CH}_2$ または
 $-\text{C}=\text{O}$ であり； D_1 は $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ および $-\text{NR}^{38}$ からなる群から選択さ
 れるものであり； R^{29} は水素、ハロゲン原子、糖類または親水性ペプチドであ
 り； R^{30} ないし R^{37} は水素であり； R^{38} は、水素、 $\text{C}1-\text{C}10$ アルキル
 、 $\text{C}1-\text{C}10$ アリール、 $\text{C}1-\text{C}10$ アルコキシル、 $\text{C}1-\text{C}10$ ポリアルコ
 キシアリール、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_c-\text{CH}_2-\text{OH}$ 、 $\text{C}1-\text{C}2$
 0 ポリヒドロキシアリール、 $\text{C}1-\text{C}10$ ポリヒドロキシアリール、 $-(\text{CH}_2)$
 $_d-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_e-\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-($
 $\text{CH}_2)_f-\text{NH}_2$ および $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_g-\text{CH}_2-\text{N}$
 H_2 からなる群から選択されるものであり； W^3 および X^3 は同一であっても異

なっているもよくかつ - $C(CH_3)_2$ 、 $C((CH_2)_{zz}OH)CH_3$ 、 $C((CH_2)_{zz}OH)_2$ 、 $C((CH_2)_{zz}CO_2H)CH_3$ 、 $C((CH_2)_{zz}CO_2H)_2$ 、 $C((CH_2)_{zz}NH_2)CH_3$ 、 $C((CH_2)_zNH_2)_2$ 、 $C((CH_2)_{zz}NR_{pp}R_{pz})CH_3$ および $C((CH_2)_{zz}NR_{pp}R_{pz})_2$ からなる群から選択されるものであり； Y^3 および Z^3 は同一であっても異なっているもよくかつ - $(CH_2)_c - CO_2H$ 、 $-CH_2 - (CH_2 - O - CH_2)_d - CH_2 - CO_2H$ 、 $-(CH_2)_g - N(R^{14}) - (CH_2)_h - CO_2H$ および $-(CH_2)_i - N(R^{15}) - CH_2 - (CH_2 - O - CH_2)_j - CH_2 - CO_2H$ からなる群から選択されるものであり； R_{pp} および R_{pz} は同一であっても異なっているもよくかつ - $(CH_2)_c - CO_2H$ 、 $-CH_2 - (CH_2 - O - CH_2)_d - CH_2 - CO_2H$ 、 $-(CH_2)_g - N(R^{14}) - (CH_2)_h - CO_2H$ および $-(CH_2)_i - N(R^{15}) - CH_2 - (CH_2 - O - CH_2)_j - CH_2 - CO_2H$ からなる群から選択されるものであり； R^{14} および R^{15} は同一であっても異なっているもよくかつ - 水素、 $C1 - C10$ アルキル、 $C1 - C10$ アリール、 $C1 - C10$ アルコキシル、 $C1 - C10$ ポリアルコキシアルキル、 $-CH_2(CH_2 - O - CH_2)_c - CH_2 - OH$ 、 $C1 - C20$ ポリヒドロキシアルキル、 $C1 - C10$ ポリヒドロキシアリール、 $-(CH_2)_d - CO_2H$ 、 $-CH_2 - (CH_2 - O - CH_2)_e - CH_2 - CO_2H$ 、 $-(CH_2)_f - NH_2$ および $-CH_2 - (CH_2 - O - CH_2)_g - CH_2 - NH_2$ からなる群から選択されるものであり； c 、 e 、 g 、 h 、 i および z は1ないし5で変化し；そして d 、 f および j は1ないし100で変化する。

【0029】

他の好ましい実施態様では、本発明による染料は一般式4を有し、 a_4 および b_4 は0ないし3で変化し； A_2 は単結合または二重結合であり； B_2 は $-O-$ 、 $-S-$ 、または $-NR^{38}$ からなる群から選択されるものであり； C_2 は $-CH_2$ または $-C=O$ であり； D_2 は $-O-$ 、 $-S-$ および $-NR^{38}$ からなる群から選択されるものであり； R^{38} は $-$ 水素、 $C1 - C10$ アルキル、 $C1 - C10$ アリール、 $C1 - C10$ アルコキシル、 $C1 - C10$ ポリアルコキシアルキ

ル、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_c-\text{CH}_2-\text{OH}$ 、 $\text{C}1-\text{C}20$ ポリヒドロキシアルキル、 $\text{C}1-\text{C}10$ ポリヒドロキシアリール、 $-(\text{CH}_2)_d-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_e-\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-(\text{CH}_2)_f-\text{NH}_2$ および $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_g-\text{CH}_2-\text{NH}_2$ からなる群から選択されるものであり； R^{45} は水素、ハロゲン原子、糖類または親水性ペプチドであり； R^{46} ないし R^{57} は水素であり； W^4 および X^4 は同一であっても異なってもよくかつ $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz}\text{OH})\text{CH}_3$ 、 $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz}\text{OH})_2$ 、 $((\text{CH}_2)_{zz}\text{CO}_2\text{H})\text{CH}_3$ 、 $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz}\text{CO}_2\text{H})_2$ 、 $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz}\text{NH}_2)\text{CH}_3$ 、 $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz}\text{NH}_2)_2$ 、 $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz}\text{NR}_{pp}\text{R}_{pz})\text{CH}_3$ および $\text{C}((\text{CH}_2)_{zz}\text{NR}_{pp}\text{R}_{pz})_2$ からなる群から選択されるものであり； Y^4 および Z^4 は同一であっても異なってもよくかつ $-(\text{CH}_2)_c-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_d-\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-(\text{CH}_2)_g-\text{N}(\text{R}^{14})-(\text{CH}_2)_h-\text{CO}_2\text{H}$ および $-(\text{CH}_2)_i-\text{N}(\text{R}^{15})-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_j-\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{H}$ からなる群から選択されるものであり； R_{pp} および R_{pz} は同一であっても異なってもよくかつ $-(\text{CH}_2)_c-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_d-\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-(\text{CH}_2)_g-\text{N}(\text{R}^{14})-(\text{CH}_2)_h-\text{CO}_2\text{H}$ および $-(\text{CH}_2)_i-\text{N}(\text{R}^{15})-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_j-\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{H}$ から選択されるものであり； R^{14} および R^{15} は同一であっても異なってもよくかつ、水素、 $\text{C}1-\text{C}10$ アルキル、 $\text{C}1-\text{C}10$ アリール、 $\text{C}1-\text{C}10$ アルコキシル、 $\text{C}1-\text{C}10$ ポリアルコキシアルキル、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_c-\text{CH}_2-\text{OH}$ 、 $\text{C}1-\text{C}20$ ポリヒドロキシアルキル、 $\text{C}1-\text{C}10$ ポリヒドロキシアリール、 $-(\text{CH}_2)_d-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_e-\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-(\text{CH}_2)_f-\text{NH}_2$ および $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_g-\text{CH}_2-\text{NH}_2$ からなる群から選択されるものであり； c 、 e 、 g 、 h 、 i および zz は1ないし5で変化し；そして d 、 f および j は1ないし100で変化する。

【0030】

他の好ましい実施態様では、本発明による染料は一般式5を有し、 a_5 は0ないし3で変化し； A_3 は単結合または二重結合であり； B_3 は-O-、-S-および-NR³⁸からなる群から選択されるものであり； C_3 は-CH₂または-C=Oであり； D_3 は-O-、-S-および-NR³⁸からなる群から選択されるものであり； R^{38} は-水素、C1-C10アルキル、C1-C10アリール、C1-C10アルコキシル、C1-C10ポリアルコキシアルキル、-CH₂(CH₂-O-CH₂)_c-CH₂-OH、C1-C20ポリヒドロキシアルキル、C1-C10ポリヒドロキシアリール、-(CH₂)_d-CO₂H、-CH₂-(CH₂-O-CH₂)_e-CH₂-CO₂H、-(CH₂)_f-NH₂および-CH₂-(CH₂-O-CH₂)_g-CH₂-NH₂からなる群から選択されるものであり； R^{58} は水素、ハロゲン原子、糖類または親水性ペプチドであり； R^{59} ないし R^{66} は水素であり； W^5 および X^5 は同一であっても異なってもよくかつ-C(CH₃)₂、C((CH₂)_{zz}OH)CH₃、C((CH₂)_{zz}OH)₂、C((CH₂)_{zz}CO₂H)CH₃、C((CH₂)_{zz}CO₂H)₂、C((CH₂)_{zz}NH₂)CH₃、C((CH₂)_{zz}NH₂)₂、C((CH₂)_{zz}NR_{pp}R_{pz})CH₃およびC((CH₂)_{zz}NR_{pp}R_{pz})₂からなる群から選択されるものであり； Y^5 および Z^5 は同一であっても異なってもよくかつ-(CH₂)_c-CO₂H、-CH₂-(CH₂-O-CH₂)_d-CH₂-CO₂H、-(CH₂)_g-N(R¹⁴)-(CH₂)_h-CO₂Hおよび-(CH₂)_i-N(R¹⁵)-CH₂-(CH₂-O-CH₂)_j-CH₂-CO₂Hからなる群から選択されるものであり； R_{pp} および R_{pz} は同一であっても異なってもよくかつ-(CH₂)_c-CO₂H、-CH₂-(CH₂-O-CH₂)_d-CH₂-CO₂H、-(CH₂)_g-N(R¹⁴)-(CH₂)_h-CO₂Hおよび-(CH₂)_i-N(R¹⁵)-CH₂-(CH₂-O-CH₂)_j-CH₂-CO₂Hから選択されるものであり； R^{14} および R^{15} は同一であっても異なってもよくかつ-水素、C1-C10アルキル、C1-C10アリール、C1-C10アルコキシル、C1-C10ポリアルコキシアルキル、-CH₂(CH₂-O-CH₂)_c-CH₂-OH、C1-C20ポリヒドロキシアルキル、C1-C10ポリヒ

ドロキシアリール、 $-(CH_2)_d-CO_2H$ 、 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_e-CH_2-CO_2H$ 、 $-(CH_2)_f-NH_2$ および $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_g-CH_2-NH_2$ からなる群から選択されるものであり；c、e、g、h、iおよびz zは1ないし5で変化し；そしてd、fおよびjは1ないし100で変化する。

【0031】

他の好ましい実施態様では、本発明による染料は一般式6を有し、 a_6 は0ないし3で変化し； A_4 は単結合または二重結合であり； B_4 は $-O-$ 、 $-S-$ および $-NR^{38}$ からなる群から選択されるものであり； C_4 は $-CH_2$ または $-C=O$ であり； D_4 は $-O-$ 、 $-S-$ および $-NR^{38}$ からなる群から選択されるものであり； R^{38} は $-$ 水素、 $C1-C10$ アルキル、 $C1-C10$ アリール、 $C1-C10$ アルコキシル、 $C1-C10$ ポリアルコキシアルキル、 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_c-CH_2-OH$ 、 $C1-C20$ ポリヒドロキシアルキル、 $C1-C10$ ポリヒドロキシアリール、 $-(CH_2)_d-CO_2H$ 、 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_e-CH_2-CO_2H$ 、 $-(CH_2)_f-NH_2$ および $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_g-CH_2-NH_2$ からなる群から選択されるものであり； R^{67} は水素、ハロゲン原子、糖類または親水性ペプチドであり； R^{68} ないし R^{79} は水素であり； W^6 および X^6 は同一であっても異なってもよくかつ $-C(CH_3)_2$ 、 $C((CH_2)_{zz}OH)CH_3$ 、 $C((CH_2)_{zz}OH)_2$ 、 $C((CH_2)_{zz}CO_2H)CH_3$ 、 $C((CH_2)_{zz}CO_2H)_2$ 、 $C((CH_2)_{zz}NH_2)CH_3$ 、 $C((CH_2)_{zz}NH_2)_2$ 、 $C((CH_2)_{zz}NR_{pp}R_{pz})CH_3$ および $C((CH_2)_{zz}NR_{pp}R_{pz})_2$ からなる群から選択されるものであり； Y^6 および Z^6 は同一であっても異なってもよくかつ $-(CH_2)_c-CO_2H$ 、 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_d-CH_2-CO_2H$ 、 $-(CH_2)_g-N(R^{14})-(CH_2)_h-CO_2H$ および $-(CH_2)_i-N(R^{15})-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_j-CH_2-CO_2H$ からなる群から選択されるものであり； R_{pp} および R_{pz} は同一であっても異なってもよくかつ $-(CH_2)_c-CO_2H$ 、 $-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_d-CH_2-CO_2H$ 、 $-($

$\text{CH}_2)_g - \text{N}(\text{R}^{14}) - (\text{CH}_2)_h - \text{CO}_2\text{H}$ および $-(\text{CH}_2)_i - \text{N}(\text{R}^{15}) - \text{CH}_2 - (\text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2)_j - \text{CH}_2 - \text{CO}_2\text{H}$ からなる群
 から選択されるものであり； R^{14} および R^{15} は同一であっても異なっていて
 もよくかつ、水素、C1 - C10アルキル、C1 - C10アリール、C1 - C10アルコキシル、C1 - C10ポリアルコキシアルキル、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2)_c - \text{CH}_2 - \text{OH}$ 、C1 - C20ポリヒドロキシアルキル、C1 - C10ポリヒドロキシアリール、 $-(\text{CH}_2)_d - \text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2 - (\text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2)_e - \text{CH}_2 - \text{CO}_2\text{H}$ 、 $-(\text{CH}_2)_f - \text{NH}_2$ および $-\text{CH}_2 - (\text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2)_g - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$ からなる群から選択されるものであり； c 、 e 、 g 、 h 、 i および z は1ないし5で変化し；そして d 、 f および j は1ないし100で変化する。

【0032】

本発明の組成物は、腸管または非腸管投与用の診断用組成物に製剤できる。これらの組成物は、意図する投与のタイプに適する通常の医薬担体および賦形剤と共に、有効量の染料を含有する。例えば、非腸管製剤は、本発明による染料の滅菌水性水剤または懸濁剤を含有するのが有利である。非腸管組成物は直接、または全身的投与のために多量の非腸管組成物と混合して、注射し得る。そのような溶液は、医薬的に許容し得る緩衝液および場合により塩化ナトリウムのような電解質を含有してもよい。

【0033】

腸管投与用の製剤は、当分野で周知のように、多様であり得る。一般に、そのような製剤は、水性液剤または懸濁剤中に有効量の染料を含む液状薬である。そのような腸管組成物は、場合により、緩衝液、界面活性剤、揺変性剤などを含む。経口投与用の組成物は、その感覚的品質を高めるために、香料および他の成分も含有してもよい。

【0034】

診断用組成物は、所望の増強を達成するために有効な用量で投与する。そのような用量は、用いる特定の染料、造影処置の対象である器官または組織、使用する造影設備などに応じて、多様であり得る。

【0035】

本発明の診断用組成物は、通常の方法で使用される。該組成物は、典型的には温血動物である患者に、全身的にか、または造影される器官または組織へ局所的にかのどちらかで投与され得、その後患者は造影処置を受ける。

【0036】

上記のものの組合せは、多様な光物理学および化学的性質を有する、新しいシアニンおよびインドシアニン染料の合成および使用への、重要なアプローチを表している。本発明の染料は新しく、そして生物医学的適用例で有用である。本発明は以下の実施例でさらに詳述されるが、それは例示説明の目的で提案されているものであり、いかなる意味においても本発明の範囲を限定することを企図していない。また、染料のいくつかの最高吸光を予測するための、信頼し得るコンピュータ上の方法も確立された。当分野で周知の標準的な技術、または以下に特に記した技術を利用する。

【0037】

(実施例)

実施例1

ビス(エチルカルボキシメチル)インドシアニン染料の合成(スキーム1、 R_1 、 R_2 = 縮合フェニル、 $A = CH_2$ 、 $n = 1$ および $R = R' = CO_2H$)

1,2-ジクロロベンゼン(40 mL)中1,1,2-トリメチル-[1H]-ベンゾ[e]インドール(9.1 g、43.58ミリモル)および3-ブロモプロピオン酸(10.0 g、65.37ミリモル)から成る混合物を12時間110で加熱した。溶液を室温に冷却し、得られた赤色残留物を濾過し、アセトニトリル:ジエチルエーテル(1:1)混合物で洗浄した。得られた固体を真空乾燥すると、10 g(64%)の明褐色粉末が得られた。この固体の一部(6.0 g、16.56ミリモル)、グルタコンアルデヒドジアニルモノ塩酸塩(2.36 g、8.28ミリモル)および酢酸ナトリウムトリ水和物(2.93 g、21.53ミリモル)をエタノール(150 mL)中で90分間還流させた。溶媒を濃縮後、40 mLの2N HCl水溶液を残留物に加え、混合物を遠心分離し、上清を傾瀉した。上清がほぼ無色になるまでこの手順を反復した。約5 mLの水:アセト

ニトリル(3:2)混合物を固体残留物に加え、凍結乾燥すると、2 gの濃緑色フレークが得られた。化合物の純度は、 ^1H -NMRおよびLC-質量分光測定法により確立された。

【0038】

実施例2

ビス(ペンチルカルボキシメチル)インドシアニン染料の合成(スキーム1、 R_1 、 R_2 = 縮合フェニル、 $A = \text{CH}_2$ 、 $n = 4$ および $R = R' = \text{CO}_2\text{H}$)

1,2-ジクロロベンゼン(250 mL)中1,1,2-トリメチル-[1H]-ベンゾ[e]インドール(20 g、95.6ミリモル)および6-ブロモヘキサ酸(28.1 g、144.1ミリモル)から成る混合物を12時間110 °で加熱した。緑色溶液を室温に冷却し、形成された褐色固体沈澱物を濾過により集めた。1,2-ジクロロベンゼンおよびジエチルエーテルで固体を洗浄後、得られた褐色粉末(24 g、64%)を室温で真空乾燥した。この固体の一部(4.0 g、9.8ミリモル)、グルタコンアルデヒドジアニルモノ塩酸塩(1.4 g、5ミリモル)および酢酸ナトリウムトリ水和物(1.8 g、12.9ミリモル)をエタノール(80 mL)中で1時間還流させた。溶媒を濃縮後、20 mLの2 N HCl水溶液を残留物に加え、混合物を遠心分離し、上清を傾瀉した。上清がほぼ無色になるまでこの手順を反復した。約5 mLの水:アセトニトリル(3:2)混合物を固体残留物に加え、凍結乾燥すると、約2 gの濃緑色フレークが得られた。化合物の純度は、 ^1H -NMRおよびLC-質量分光測定法により確立された。

【0039】

実施例3

ビスエチルカルボキシメチルインドシアニン染料の合成(スキーム1、 R_1 、 $R_2 = \text{H}$ 、 $A = \text{CH}_2$ 、 $n = 1$ および $R = R' = \text{CO}_2\text{H}$)

この化合物は実施例1と同じ要領で製造されたが、ただし出発材料として1,1,2-トリメチルインドールを使用した。

【0040】

実施例4

ビス(エチルカルボキシメチル)インドシアニン染料の合成(スキーム1、 R_1 、 R_2 = 縮合フェニル、 $A = CH_2$ 、 $n = 1$ および $R = R' = CO_2H$)

この化合物は実施例1と同じ要領で製造されたが、ただし、プロモプロピオン酸の代わりに ω -プロモヘキサオキシエチレングリコールプロピオリル酸を使用し、反応は1,2-ジメトキシプロパン中で行なわれた。

【0041】

実施例5

ビスエチルカルボキシメチルインドシアニン染料の合成(スキーム2、 R_1 、 R_2 = 縮合フェニル、 $A = CH_2$ 、および $n = 0$)

50 ml のジメチルホルムアミドおよびベンジルプロモアセテート(16.0 g、70 ミリモル)の溶液を、100 ml の三頸フラスコ中で攪拌した。固体重炭酸カリウム(7.8 g、78 ミリモル)を加えた。フラスコをアルゴンによりパージングし、氷浴で0℃に冷却した。攪拌混合物にエタノールアミン(1.9 g、31 ミリモル)および4 ml のジメチルホルムアミドの溶液を5分間かけて滴下した。滴下完了後、混合物を0℃で1時間攪拌した。氷浴を除去し、混合物を室温で一夜攪拌した。反応混合物を100 ml のメチレンクロリドおよび100 ml の飽和重炭酸ナトリウム溶液間に分配した。層を分離し、メチレンクロリド層を100 ml の飽和重炭酸ナトリウム溶液で再洗浄した。水層を合わせ、25 ml のメチレンクロリドで2回抽出した。メチレンクロリド層を合わせ、100 ml の食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した。メチレンクロリドを約35℃で吸引装置により減圧除去し、そして残存しているジメチルホルムアミドを約45℃で真空除去した。粗物質を真空ラインで一夜室温で放置した。

【0042】

前工程からの粗物質を100 ml のメチレンクロリドに室温で溶かした。トリフェニルホスフィン(8.91 g、34 ミリモル)を加え、攪拌しながら溶かした。アルゴンでのパージングを開始し、混合物を氷浴で0℃に冷却した。N-ブロモスクシンイミド(6.05 g、34 ミリモル)を2分間にわたって分割して加えた。混合物を0℃で1.5時間攪拌した。メチレンクロリドを真空除去すると、紫色油状物が得られた。この油状物を一定して手動攪拌しながら200 ml

のエーテルで磨砕した。この期間中、油状物は非常に粘稠性になった。エーテル溶液を傾瀉し、油状物を100mlのエーテルで磨砕した。エーテル溶液を傾瀉し、油状物を再び100ml分量のエーテルで磨砕した。エーテルを傾瀉し、エーテル溶液を合わせ、約2時間放置することにより、トリフェニルホスフィンオキシドを結晶化させた。エーテル溶液を結晶から傾瀉し、固体を100mlのエーテルで洗浄した。体積が約25mlとなるまで合わせたエーテル抽出物の体積を真空により低減化した。これを0 で一夜放置した。エーテル(10ml)を冷混合物に加え、混合して固体を懸濁させた。混合物を45gのシリカゲルのカラムで濾過し、エーテルで溶離し、75mlフラクションを集めた。TLCにより測定された、生成物を含むフラクションをプールし、エーテルを真空除去した。この結果、粗生成物10.1gが得られた。この物質を、9:1ヘキサン:エーテルに変えながら、ヘキサンによるシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーにかけた。生成物含有フラクションをプールし、溶媒を真空除去した。この結果、7.4g(57%収率)の純粋生成物が得られた。

【0043】

10%パラジウム炭素(1g)および150mlのメタノール中ベンジルエステル(10g)の溶液から成る混合物を2時間25psiで水素化分解した。混合物をセライトで濾過し、残留物をメタノールで洗浄した。溶媒を濃縮すると、定量的収率で粘稠性油状物が得られた。

【0044】

ブロミドと1,1,2-トリメチル-[1H]-ベンゾ[e]インドールとの反応を実施例1と同じ要領で実施した。

【0045】

実施例6

ビス(エチルカルボキシメチルジヒドロキシル)インドシアニン染料(スキーム3)

ヒドロキシ-インドール化合物は、文献上の方法(P. L. Southwick, J. G. Cairns, L. A. Ernst, および A. S. Waggoner、「蛍光性バイオラベル用中間体としての(2,3,3-トリメチル-3-H-インドール-5-イル)酢酸誘導体

の「一ポットフィッシャー合成」(One pot Fischer synthesis of (2,3,3-trimethyl-3-H-indol-5-yl)-acetic acid derivatives as intermediates for fluorescent biolabels)、Org. Prep. Proced. Int. Briefs、1988、20(3)、279-284)により容易に製造される。室温で30分間および還流温度で1分間酢酸(50 mL)中p-カルボキシメチルフェニルヒドラジン塩酸塩(30ミリモル、1当量)および1,1-ビス(ヒドロキシメチル)プロパノン(45ミリモル、1.5当量)の反応により、固体残留物として(3,3-ジヒドロキシメチル-2-メチル-3-H-インドール-5-イル)酢酸が得られる。実施例5記載の要領で製造された3-ブロモプロピル-N,N-ビス(カルボキシメチル)アミンと中間体インドールとの反応および後続のインドール中間体とグルタコンアルデヒドジアニルモノ塩酸塩(実施例1参照)との反応により、目的生成物が得られる。

【0046】

実施例7

ビス(プロピルカルボキシメチル)インドシアニン染料の合成(スキーム4)
文献に記載(G. A. ReynoldsおよびK. H. Drexhage、「赤外線吸収する安定したヘプタメチンピリリウム染料」(Stable heptamethine pyrylium dyes that absorb in the infrared)、J. Org. Chem. 1977、42(5)、885-888)の要領で中間体2-クロロ-1-ホルミル-3-ヒドロキシメチレンシクロヘキサンを製造した。等量(各々40 mL)のジメチルホルムアミド(DMF)およびジクロロメタンを混合し、溶液をアセトン-ドライアイス浴中で-10℃に冷却した。アルゴン雰囲気下、ジクロロメタン中オキシ塩化リン(40 mL)を冷DMF溶液に滴下した。生成した溶液を室温に温まるまで放置し、6時間還流させた。室温に冷却後、混合物を氷冷水中に注ぎ、12時間4℃で貯蔵した。濾過後、黄色粉末約8 gが得られた。インドール中間体と環状ジアルデヒドの縮合は、実施例1記載の要領で実施される。さらにビスイソプロピリデンアセタール保護モノサッカリドによる染料の官能化は、文献に記載された方法により達成された(J. H. Flanagan, C. V. Owens, S. E. Romero ら、時間経過順識別法を用いたDNA配列決定適用における塩基-招集(コーリング)用近赤外線重

原子修飾蛍光染料 (Near infrared heavy-atom-modified fluorescent dyes for base-calling in DNA-sequencing application using temporal discrimination)、Anal. Chem.、1998、70(13)、2676-2684)。

【0047】

実施例8

ビス(エチルカルボキシメチル)インドシアニン染料の合成(スキーム5)

これらの染料は、実験7記載の要領で製造される。これらの染料は赤外線領域で吸収する。スキーム5に示された典型的な実例は、1036nmでの予測吸収最大値を有する。

【0048】

実施例9

ペプチドの合成

下記方法は、オクトレオテートの合成を目的とする。他のペプチドは、場合によっては軽微な修飾を伴ない得る類似方法により製造された。これらのペプチドを、バイオコンジュゲート調製へ本発明の染料を使用することの容易さを例示説明するために用いる。

【0049】

オクタペプチドは、アプライド・バイオシステムズ(432AモデルのSYNERGYペプチド・シンセサイザー)から市販されているペプチド合成装置を用いた自動フルオレニルメトキシカルボニル(Fmoc)固相ペプチド合成法により製造された。最初のペプチドカートリッジは、25マイクロモル割合でFmoc-Thrによる前荷重ワン樹脂を含んでいた。後続のカートリッジは、次のアミノ酸:Cys(Acm)、Thr(t-Bu)、Lys(Boc)、Trp(Boc)およびTyr(t-Bu)に関する側鎖保護基を伴うFmoc保護アミノ酸を含んでいた。アミノ酸カートリッジをペプチド合成装置に置き、C-末端からN-末端位置へ生成物を合成させた。カップリング反応は、2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート(HBTU)/N-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBt)の存在下において75マイクロモルの保護アミノ酸により実施された。ジ

メチルホルムアミド中20%ピペリジンによりFmoc保護基を除去した。合成完了後、チオール基をトリフルオロ酢酸タリウムにより閉環し、6時間トリフルオロ酢酸(85%)：水(5%)：フェノール(5%)：チオアニソール(5%)を含む開裂混合物により固体支持体から生成物を開裂した。ペプチドをt-ブチルメチルエーテルにより沈澱させ、水：アセトニトリル(2：3)混合物により凍結乾燥した。ペプチドをHPLCにより精製し、LC/MSにより分析した。

【0050】

オクトレオチドのアミノ酸配列は、D-Phe-Cys'-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys'-Thr(ただし、Cys'は2個のシステインアミノ酸間における分子内ジスルフィド結合の存在を示す)である。オクトレオチドは、同じ手順により製造された。

【0051】

オクトレオチド、D-Phe-Cys'-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys'-Thr-OH(ただし、Cys'は2個のシステインアミノ酸間における分子内ジスルフィド結合の存在を示す)は、同じ手順により製造された。

【0052】

ボンベシン類似体は同じ手順により製造されたが、トリフルオロ酢酸タリウムによる閉環は必要とされなかった。側鎖脱保護および樹脂からの開裂は、各々50μLのエタンジチオール、チオアニソールおよび水、および850μLのトリフルオロ酢酸により実施された。2種の類似体が製造された：Gly-Ser-Gly-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂およびGly-Asp-Gly-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂。

【0053】

コレシストキニンオクタペプチド類似体は、閉環段階を伴わずにオクトレオテートの場合と同じ要領で製造された。3種の類似体が製造された：Asp-Tyr-Met-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH₂、Asp-Tyr-Nle-Gly-Trp-Nle-Asp-Phe-NH₂、およびD-A

s p - T y r - N l e - G l y - T r p - N l e - A s p - P h e - N H ₂。

【0054】

ニューロテンシン類似体は、閉環段階を伴わずにオクトレオテートと同様に製造された：D - L y s - P r o - A r g - A r g - P r o - T y r - I l e - L e u。

【0055】

実施例10

ペプチド - 染料コンジュゲートの合成

下記方法は、オクトレオテートコンジュゲートの合成に関するものであるが、他のペプチド - 染料コンジュゲートの合成にも類似方法が使用される。

【0056】

オクトレオテートは実施例6記載の要領で製造されたが、ペプチドは固体支持体から開裂されず、P h eのN - 末端F m o c基は保持されていた。チオール基はトリフルオロ酢酸タリウムにより閉環され、P h eを脱保護することにより遊離アミンが脱離された。ビスエチルカルボキシメチルインドシアニン染料(53 mg、75マイクロモル)が、D M S O (3 7 5 μ L) 中H B T U / H O B t の0.2モル溶液、およびD M S O (3 7 5 μ L) 中ジイソプロピルエチルアミンの0.2モル溶液から成る活性化試薬に加えられた。約30分で活性化は完了し、樹脂結合ペプチド(25マイクロモル)を染料に加えた。室温で3時間カップリング反応を実施した。混合物を濾過し、固体残留物をD M F、アセトニトリルおよびT H Fで洗浄した。緑色残留物を乾燥後、ペプチドが樹脂から開裂され、85%トリフルオロ酢酸、2.5%水、2.5%チオアニソールおよび2.5%フェノールの混合物により側鎖保護基が除去された。樹脂を濾過し、冷t - ブチルメチルエーテル(M T B E)を用いて染料 - ペプチドコンジュゲートを沈澱させ、これをアセトニトリル：水(2：3)混合物に溶かし、凍結乾燥した。生成物をH P L Cにより精製すると、モノオクトレオテート - ビスエチルカルボキシメチルインドシアニン染料(サイテート1、80%)およびビスオクトレオテート - ビスエチルカルボキシメチルインドシアニン染料(サイテート2、20%)が得られた。モノオクトレオテートコンジュゲートは、反応時間を2時間に減らす

ことによりビスコンジュゲートに対しほぼ独占的 (> 95%) に得られる。しかしながら、これはまた、不完全反応を誘発するため、非染料コンジュゲートペプチドによる受容体の飽和を回避するためには染料コンジュゲートから遊離オクトレオテートを注意深く分離しなければならない。

【0057】

オクトレオテート - ビスペンチルカルボキシメチルインドシアニン染料は、若干の修正を加えながらも上記と同じ要領で製造された。ビスペンチルカルボキシメチルインドシアニン染料 (60 mg、75 マイクロモル) が、DMSO (400 μ L) 中 HBTU / HOBt の 0.2 モル溶液、および DMSO (400 μ L) 中ジイソプロピルエチルアミンの 0.2 モル溶液から成る活性化試薬に加えられた。約 30 分で活性化は完了し、樹脂結合ペプチド (25 マイクロモル) を染料に加えた。室温で 3 時間反応を実施した。混合物を濾過し、固体残留物を DMF、アセトニトリルおよび THF で洗浄した。緑色残留物を乾燥後、ペプチドが樹脂から開裂され、85% トリフルオロ酢酸、2.5% 水、2.5% チオアニソールおよび 2.5% フェノールの混合物により側鎖保護基が除去された。樹脂を濾過し、冷 t - ブチルメチルエーテル (MTBE) を用いて染料 - ペプチドコンジュゲートを沈澱させ、これをアセトニトリル : 水 (2 : 3) 混合物に溶かし、凍結乾燥した。生成物を HPLC により精製すると、オクトレオテート - 1, 1, 2 - トリメチル - [1H] - ベンゾ[e]インドールプロピオン酸コンジュゲート (10%)、モノオクトレオテート - ビスペンチルカルボキシメチルインドシアニン染料 (サイテート 3、60%) およびビスオクトレオテート - ビスペンチルカルボキシメチルインドシアニン染料 (サイテート 4、30%) が得られた。

【0058】

本発明は好ましい実施態様の詳細を参照して開示されるが、開示は限定的意味よりもむしろ例示説明を企図しており、本発明の精神および付記した特許請求の範囲の内で、当業者は容易に改変を行うであろうことが予期されていると理解すべきである。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Achilefu, Samuel
 Rajagopalan, Raghavan
 Dorshow, Richard B
 Bugaj, Joseph E.

<120> Tunable Indocyanine Dyes For Biomedical Applications

<130> dnastrng

<140> 09/484,320
 <141> 2000-01-18

<160> 8

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence:Octreotide

<220>
 <221> SITE
 <222> (1)
 <223> This is D-phenylalanine

<220>
 <221> DISULFID
 <222> (2)..(7)

<220>
 <221> SITE
 <222> (4)
 <223> This is D-tryptophan

<220>
 <221> SITE
 <222> (8)
 <223> This C-terminal residue ends with a hydroxyl

<400> 1
 Phe Cys Tyr Trp Lys Thr Cys Thr
 1 5

<210> 2
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <221> SITE
 <222> (11)
 <223> This C-terminal amino acid ends with an NH2

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:ANALOG OF
BOMBESIN.

<400> 2
Gly Ser Gly Gln Trp Ala Val Gly His Leu Met
1 5 10

<210> 3
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> SITE
<222> (11)
<223> THIS C-TERMINAL AMINO ACID ENDS WITH AN NH2.

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:ANALOG OF
BOMBESIN.

<400> 3
Gly Asp Gly Gln Trp Ala Val Gly His Leu Met
1 5 10

<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> SITE
<222> (8)
<223> THIS C-TERMINAL RESIDUE ENDS WITH NH2.

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:ANALOG OF
CHOLECYSTOKININ

<400> 4
Asp Tyr Met Gly Trp Met Asp Phe
1 5

<210> 5
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)
<223> Nle

<220>

<221> MOD_RES
<222> (6)
<223> Nle

<220>
<221> SITE
<222> (8)
<223> THIS C-TERMINAL ENDS WITH NH2.

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:ANALOG OF
 CHOLECYSTOKININ

<400> 5
Asp Tyr Xaa Gly Trp Xaa Asp Phe
 1 5

<210> 6
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)
<223> Nle

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)
<223> Nle

<220>
<221> SITE
<222> (8)
<223> THIS C-TERMINAL RESIDUE ENDS WITH NH2

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:ANALOG OF
 CHOLECYSTOKININ

<220>
<221> SITE
<222> (1)
<223> THIS IS D-ASPARTIC ACID

<400> 6
Asp Tyr Xaa Gly Trp Xaa Asp Phe
 1 5

<210> 7
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> SITE

```

<222> (1)
<223> THIS IS D-LYSINE.

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:ANALOG OF
      NEUROTENSIN

<400> 7
Lys Pro Arg Arg Pro Tyr Ile Leu
  1                               5

<210> 8
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:Octreotate

<220>
<221> SITE
<222> (1)
<223> This is D-phenylalanine

<220>
<221> DISULFID
<222> (2)..(7)

<220>
<221> SITE
<222> (4)
<223> This is D-tryptophan

<400> 8
Phe Cys Tyr Trp Lys Thr Cys Thr
  1                               5

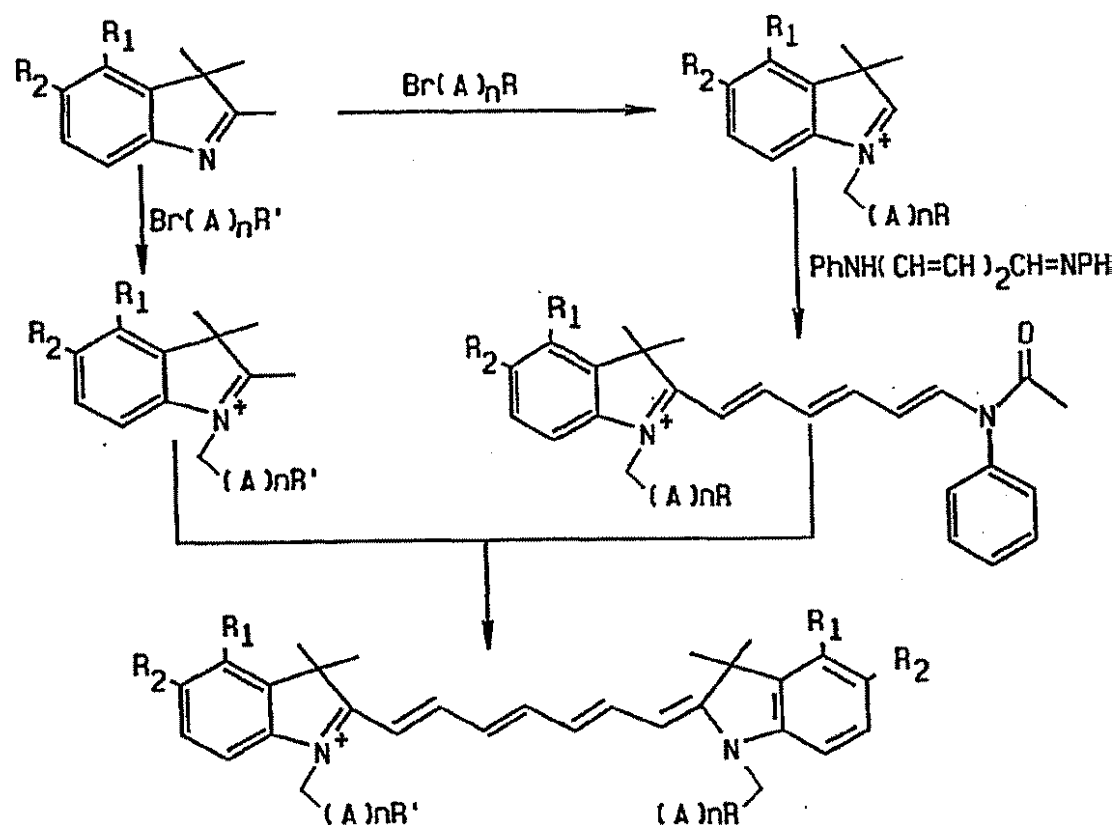
```

【図面の簡単な説明】

- 【図1】 ビスカルボン酸シアニン染料の合成に関する反応経路を示す。
- 【図2】 テトラカルボン酸シアニン染料の合成に関する反応経路を示す。
- 【図3】 ポリヒドロキシカルボン酸染料の合成に関する反応経路を示す。
- 【図4】 非凝集性シアニン染料の合成に関する反応経路を示す。
- 【図5】 長波長吸収性染料の合成に関する反応経路を示す。
- 【図6】 シアニン染料バイオコンジュゲートの合成に関する反応経路を示す。

す。

【図1】



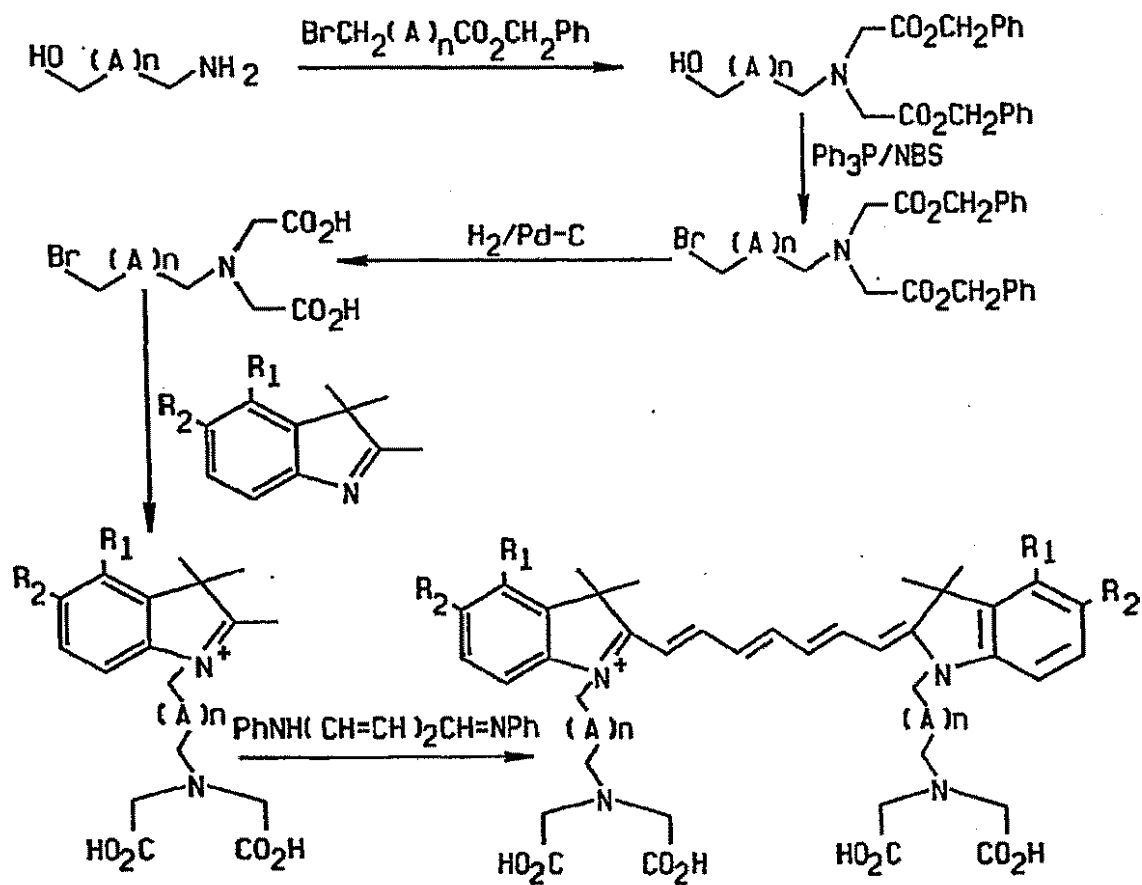
ビスカルボン酸の調製； A = CH₂ または CH₂OCH₂；

R = COOH； R' = COOH, NHFmoc； CO₂t-Bu； SO₃⁻

R₁ = R₂ = H (式1) または R₁, R₂ = 縮合フェニル (式2)

FIG. 1

【図2】

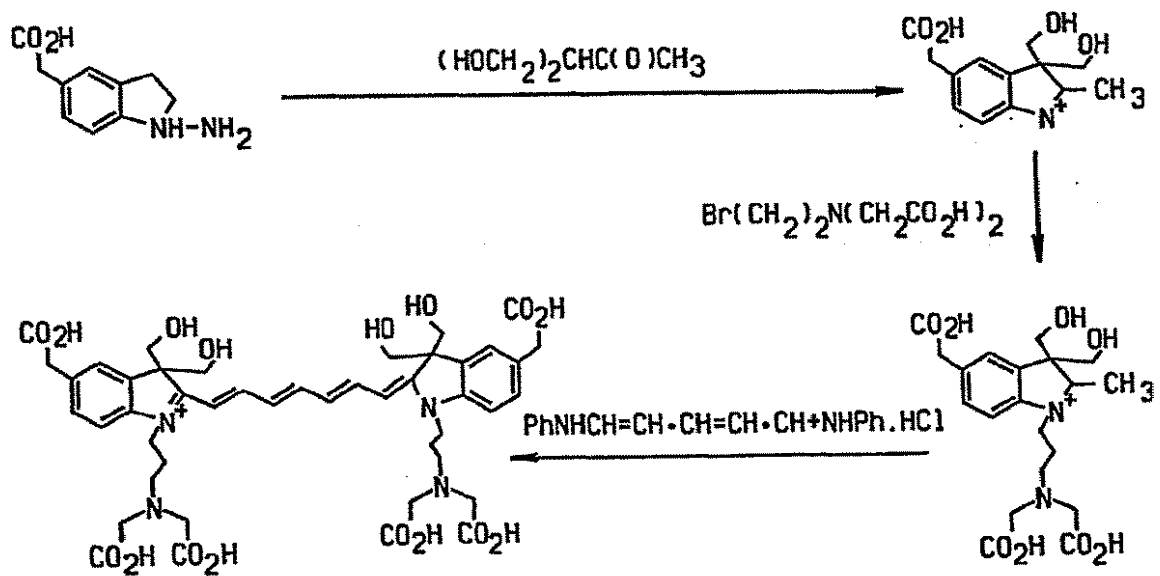


テトラカルボン酸の調製; $\text{A} = \text{CH}_2$ または CH_2OCH_2 ;

$\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{H}$ (式1) または $\text{R}_1, \text{R}_2 =$ 縮合フェニル (式2)

FIG. 2

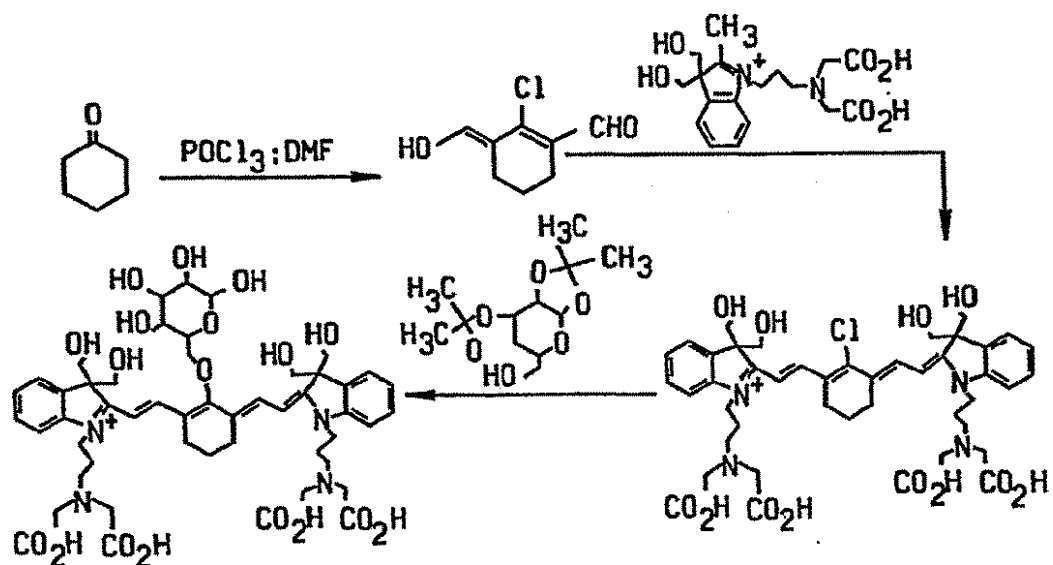
【図3】



ポリヒドロキシカルボン酸シアニン染料の調製

FIG. 3

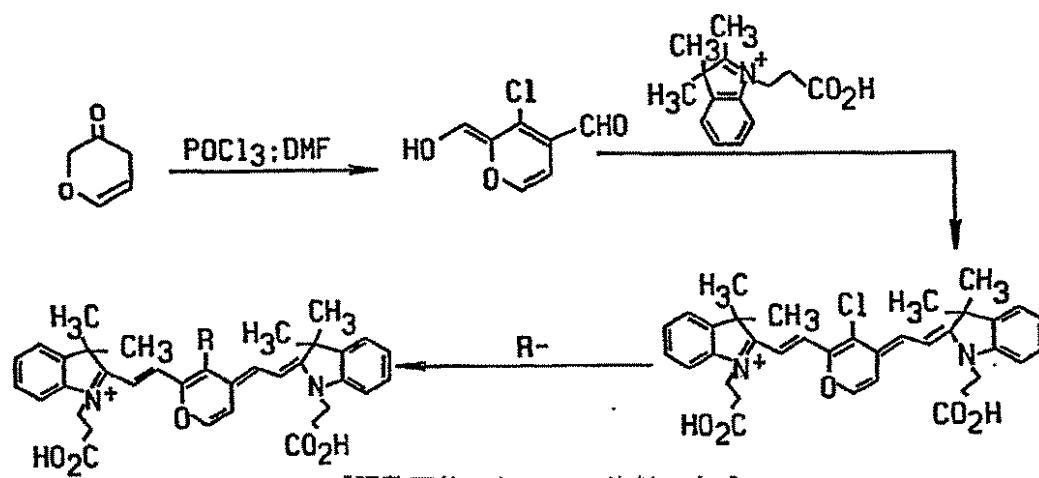
【図4】



非凝集性シアニン染料の合成

FIG. 4

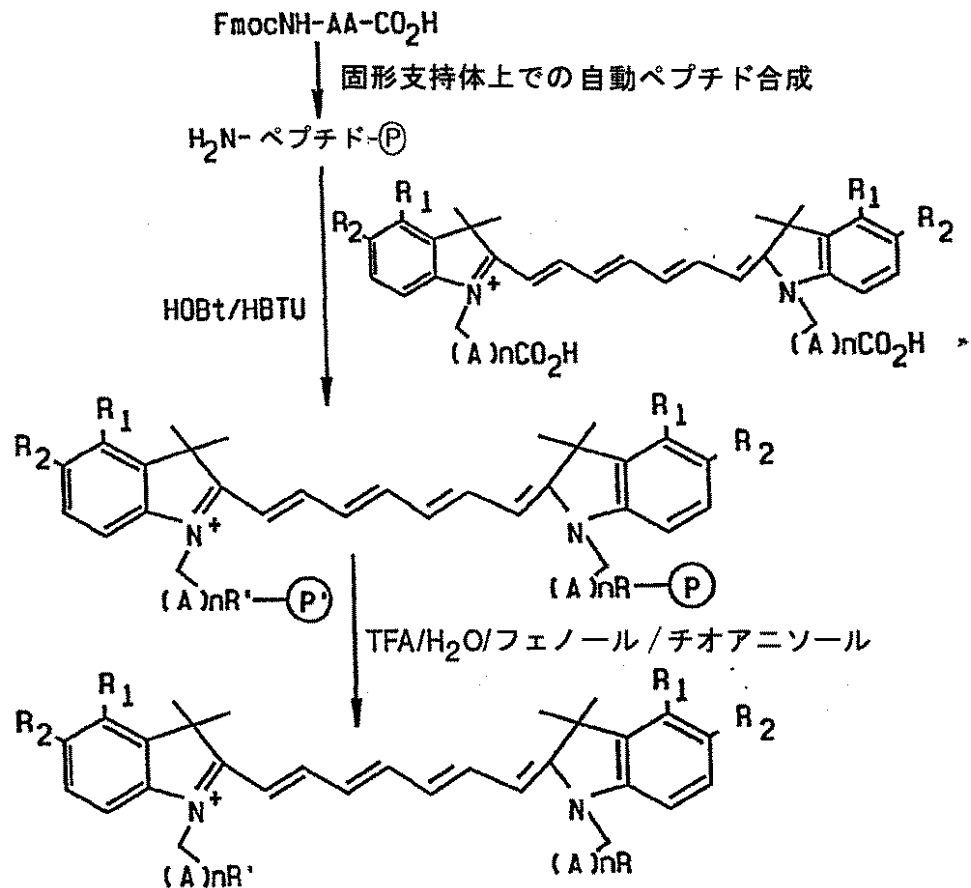
【図5】



「調整可能」シアニン染料の合成

FIG. 5

【図6】



バイオコンジュゲート調製の代表的スキーム; A = CH₂ または CH₂OCH₂;

R₁ = R₂ = H (式1) または R₁, R₂ = 縮合フェニル (式2); AA = アミノ酸

R = CONHペプチド; R' = R (ビスコンジュゲート) または COOH (モノコンジュゲート)

Ⓟ = 固形支持体; Ⓟ' = R' の定義に応じて存在または非存在;

FIG. 6

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US01/01467
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : A61B 10/00 US CL : 424/9.6 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) U.S. : 424/1.11, 1.65, 9.1, 9.6 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) EAST, STN		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A,E	US 6,180,087 B1 (ACHILEFU et al) 30 January 2001, see entire document, especially, columns 19-24, claims 1-16.	1-16
Y	BERGMARK W. R. Dramatic Fluorescence Effects for Coumarin Laser Dyes Coincluded with Organic Solvents in Cyclodextrins. Journal of Physical Chemistry, 1990, Vol. 94, No. 12, pages 5020-5022, especially, page 5021, Tables II and III.	17 and 18
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:	*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 *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document 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 *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 *Z* document member of the same patent family	
Date of the actual completion of the international search 08 MARCH 2001		Date of mailing of the international search report 23 APR 2001
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer D. Jones Telephone No. (703) 308-1235

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーム(参考)
A 6 1 P 35/00		A 6 1 P 35/00	4 C 2 0 4
C 0 9 B 23/00		C 0 9 B 23/00	L 4 H 0 5 6
// C 0 7 D 209/60		C 0 7 D 209/60	
405/14		405/14	
(81)指定国	E P (A T , B E , C H , C Y , D E , D K , E S , F I , F R , G B , G R , I E , I T , L U , M C , N L , P T , S E , T R) , O A (B F , B J , C F , C G , C I , C M , G A , G N , G W , M L , M R , N E , S N , T D , T G) , A P (G H , G M , K E , L S , M W , M Z , S D , S L , S Z , T Z , U G , Z W) , E A (A M , A Z , B Y , K G , K Z , M D , R U , T J , T M) , A E , A G , A L , A M , A T , A U , A Z , B A , B B , B G , B R , B Y , B Z , C A , C H , C N , C R , C U , C Z , D E , D K , D M , D Z , E E , E S , F I , G B , G D , G E , G H , G M , H R , H U , I D , I L , I N , I S , J P , K E , K G , K P , K R , K Z , L C , L K , L R , L S , L T , L U , L V , M A , M D , M G , M K , M N , M W , M X , M Z , N O , N Z , P L , P T , R O , R U , S D , S E , S G , S I , S K , S L , T J , T M , T R , T T , T Z , U A , U G , U S , U Z , V N , Y U , Z A , Z W		
(72)発明者	リチャード・ビー・ドーショー アメリカ合衆国63146ミズーリ州セント・ ルイス、ニーハウス・レイン11977番		
(72)発明者	ジョゼフ・イー・ブガジュ アメリカ合衆国63303ミズーリ州セント・ チャールズ、ケッタリング・ドライブ2916 番		
F ターム(参考)	4C061 AA24 BB01 CC00 DD01 HH51 WW17 4C063 AA01 AA03 BB05 CC06 CC78 DD06 EE01 EE05 4C076 AA95 CC27 EE59F FF16 FF65 4C085 HH01 HH11 JJ02 KA27 KB55 KB56 KB57 LL01 LL11 4C086 AA01 AA03 BA07 BC13 GA01 GA02 GA07 NA14 ZB26 4C204 BB01 CB03 CB13 DB03 DB13 DB15 EB10 FB16 FB17 GB01 GB17 4H056 CA01 CB02 CB06 CC02 CC08 CE03 CE06 DD03		

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2003520215A5	公开(公告)日	2008-03-06
申请号	JP2001552798	申请日	2001-01-17
[标]申请(专利权)人(译)	马林克罗特公司		
申请(专利权)人(译)	马连杆有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	马连杆有限公司		
[标]发明人	サミュエルアイアチレフ ラガバンラジャゴパラン リチャードビードーショー ジョゼフィーブガジュ		
发明人	サミュエル・アイ・アチレフ ラガバン・ラジャゴパラン リチャード・ビー・ドーショー ジョゼフ・イー・ブガジュ		
IPC分类号	A61K31/403 A61B1/00 A61K47/48 A61K49/00 A61K49/04 A61P35/00 C09B23/00 C07D209/60 C07D405/14		
CPC分类号	A61K41/0033		
FI分类号	A61K31/403 A61B1/00.300.D A61K47/48 A61K49/00.Z A61K49/04.Z A61P35/00 C09B23/00.L C07D209/60 C07D405/14		
F-TERM分类号	4C061/AA24 4C061/BB01 4C061/CC00 4C061/DD01 4C061/HH51 4C061/WW17 4C063/AA01 4C063/AA03 4C063/BB05 4C063/CC06 4C063/CC78 4C063/DD06 4C063/EE01 4C063/EE05 4C076/AA95 4C076/CC27 4C076/EE59F 4C076/FF16 4C076/FF65 4C085/HH01 4C085/HH11 4C085/JJ02 4C085/KA27 4C085/KB55 4C085/KB56 4C085/KB57 4C085/LL01 4C085/LL11 4C086/AA01 4C086/AA03 4C086/BA07 4C086/BC13 4C086/GA01 4C086/GA02 4C086/GA07 4C086/NA14 4C086/ZB26 4C204/BB01 4C204/CB03 4C204/CB13 4C204/DB03 4C204/DB13 4C204/DB15 4C204/EB10 4C204/FB16 4C204/FB17 4C204/GB01 4C204/GB17 4H056/CA01 4H056/CB02 4H056/CB06 4H056/CC02 4H056/CC08 4H056/CE03 4H056/CE06 4H056/DD03		
优先权	09/484320 2000-01-18 US		
其他公开文献	JP2003520215A		

摘要(译)

通过使用高吸收染料作为造影剂，可以提高光学模态的灵敏度和特异性。公开了新颖的吲哚菁染料，其在电磁光谱的近红外区域吸收和发射。这些染料可用于成像，诊断和治疗各种疾病。特别地，本发明的分子可用于光学诊断成像和治疗，内窥镜检测肿瘤和其他异常的应用，局部治疗，肿瘤的光声成像，检测和治疗以及它可用于声荧光成像，肿瘤的检测和治疗。

