



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt



(10) **DE 603 14 290 T2 2008.02.07**

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 1 579 210 B1

(21) Deutsches Aktenzeichen: 603 14 290.7

(86) PCT-Aktenzeichen: PCT/US03/40714

(96) Europäisches Aktenzeichen: 03 813 810.3

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: WO 2004/057331

(86) PCT-Anmeldetag: 19.12.2003

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: 08.07.2004

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: 28.09.2005

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: 06.06.2007

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 07.02.2008

(51) Int Cl.⁸: **G01N 33/52 (2006.01)**

C12Q 1/04 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

325801 19.12.2002 US

738573 16.12.2003 US

(73) Patentinhaber:

3M Innovative Properties Co., St. Paul, Minn., US

(74) Vertreter:

derzeit kein Vertreter bestellt

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HU, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK,
TR

(72) Erfinder:

PRINCE, Ryan B., Saint Paul, MN 55133-3427, US;
HAYS, David S., Saint Paul, MN 55133-3427, US;
DILLOW, Angela K., Saint Paul, MN 55133-3427,
US; BROWN, Randall P., Saint Paul, MN
55133-3427, US; BOMMARITO, G. Marco, Saint
Paul, MN 55133-3427, US; BATTISTE, John L.,
Saint Paul, MN 55133-3427, US

(54) Bezeichnung: **AUS POLYDIACETYLEN HERGESTELLTE KOLORIMETRISCHE SENSOREN.**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingereicht, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft eine Technik zum Nachweis von Analyten, bei der beobachtbare spektrale Änderungen an Polydiacetylenaggregaten verwendet werden. Genauer gesagt betrifft diese Erfindung einen kolorimetrischen Sensor, umfassend Polydiacetylenaggregate, und ein Verfahren, bei dem der Sensor verwendet wird, um einen Analyten nachzuweisen.

[0002] Diacetylene sind typischerweise farblos und machen entweder thermisch oder mittels aktinischer Strahlung eine Additionspolymerisation durch. In dem Maße, wie die Polymerisation fortschreitet, machen diese Verbindungen eine kontrastierende Farbänderung nach blau oder purpurrot durch. Wenn die Polydiacetylene äußerer Reizen, wie Hitze, physikalische Belastung oder eine Änderung der Lösemittel oder Gegenionen, ausgesetzt werden, zeigen sie eine weitere Farbänderung, die durch die Verzerrung der planaren Konformation des Grundgerüsts hervorgerufen wird. Von Polydiacetylenaggregaten ist bekannt, dass sie bei einem Anstieg der Temperatur oder Änderungen des pH-Werts auf Grund von Konformationsänderungen im konjugierten Grundgerüst die Farbe von blau nach rot ändern, wie in Mino, et al., Langmuir, Bd. 8, S. 594, 1992; Chance, et al., Journal of Chemistry and Physics, Bd. 71, 206, 1979; Shibutag, Thin Solid Films, Bd. 179, S. 433, 1989; Kaneko, et al., Thin Solid Films, Bd. 210, 548, 1992; und US-Patentschrift Nr. 5,672,465 beschrieben. Die Nutzung dieser Klasse von Verbindungen ist zur Verwendung als biochrome Indikatoren bekannt, wie in US-Patentschrift Nr. 5,622,872 und Veröffentlichung WO 02/00920 erläutert.

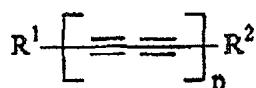
[0003] Vorgeschlagene Anwendungen von Polydiacetylenen zum Nachweis von Analyten werden in den US-Patentschriften Nrn. 6,395,561 B1; 6,306,598 B1; 6,277,652; 6,183,722; 6,080,423 und Veröffentlichung WO 01/71317 erläutert. Insbesondere sind Versuche unternommen worden, Biosensoren mit Rezeptoren aufzubauen, die spezifisch mit pathogenen Bakterien, Viren, Toxinen und dergleichen reagieren, die in Polydiacetylenmembranen eingearbeitet sind, und die Farbänderung (blau nach rot) wird induziert, wenn die Rezeptoren an ihre spezifischen Analyten (pathogene Bakterien, Viren, Toxine usw.) binden. Solche Verfahren erfordern, dass die bindende Struktur des Rezeptors und Analyten bekannt und der Rezeptor identifiziert ist. Die Synthese sowohl der Rezeptoren als auch der Polydiacetylenmembranen kann kompliziert und schwierig sein. Die Polydiacetylenmembranen können ungenügende Farbänderung beim Binden mit einem Analyten zeigen, was weitere Substanzen zur Unterstützung der strukturellen Änderung oder die Verbesserung der analytischen Ausrüstung, um die Farbänderung zu beobachten, erforderlich macht.

[0004] S. Kolusheva et al. beschreiben in Nature 2000, 18, 225–227, ein kolorimetrisches Assay zum raschen Screening von antimikrobiellen Peptiden.

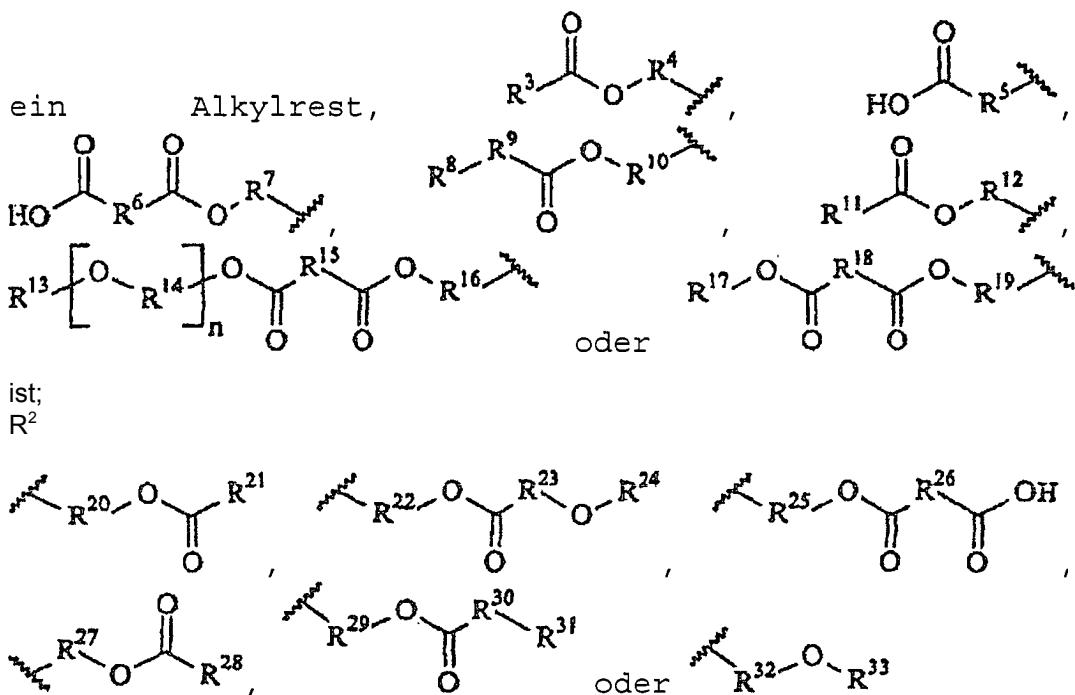
[0005] Es besteht weiterhin ein Bedarf, Messwandler herzustellen, die Diacetylene einsetzen, die präziser, besser an eine gegebene Anwendung angepasst, weniger komplex und für nicht-technisches Personal in vielen Umgebungen besser verfügbar sind. Vorrichtungen, die bequem transportiert und einzeln für eine spezielle Anwendung verwendet, dann weggeworfen werden, sind besonders wünschenswert.

[0006] Die vorliegende Erfindung stellt einen kolorimetrischen Sensor bereit, um das Vorhandensein von Analyten durch spektrale Änderungen (Farbänderungen, die mit bloßem Auge oder mit einem Kolorimeter sichtbar sind) nachzuweisen, die als eine Folge des spezifischen Bindens der Analyten an Polydiacetylenaggregate auftreten. Die Polydiacetylenaggregate zeigen das Vorhandensein eines Analyten auf eine einfache, aber hochgradig empfindliche Weise an.

[0007] Die vorliegende Erfindung stellt einen kolorimetrischen Sensor bereit, umfassend einen Rezeptor und das Polymerisationsreaktionsprodukt, umfassend mindestens eine Verbindung der Formel



wobei R^1



R³, R⁸, R¹³, R²¹, R²⁴, R³¹ und R³³ unabhängig voneinander Alkylreste sind; R⁴, R⁵, R⁷, R¹⁴, R¹⁶, R¹⁹, R²⁰, R²², R²⁵ und R³² unabhängig voneinander Alkylenreste sind; R⁶, R¹⁵, R¹⁸ und R²⁶ unabhängig voneinander Alkylenreste, Alkenylenreste oder Arylenreste sind; R⁹ ein Alkylenrest oder -NR³⁴- ist; R¹⁰, R¹², R²⁷ und R²⁹ unabhängig voneinander Alkylenreste oder Alkylen-arylenreste sind; R¹¹ und R²⁸ unabhängig voneinander Alkinylreste sind; R¹⁷ ein Rest ist, der einen Ester aktiviert; R²³ ein Arylenrest ist; R³⁰ ein Alkylenrest oder -NR³⁶- ist; R³⁴ und R³⁶ unabhängig voneinander H oder ein C₁-C₄-Alkylrest sind; p 1 bis 5 ist; und n 1 bis 20 ist; und wobei R¹ und R² nicht gleich sind.

[0008] Es wird auch eine einfachere Herstellung und Verwendung von Polydiacetylenaggregaten in Lösung und zur Abscheidung auf einem Substrat bereitgestellt.

[0009] Es wird auch eine Vorrichtung und ein Verfahren zum Nachweis von kleinen Molekülen, pathogenen und nicht pathogenen Organismen, Toxinen, Membranrezeptoren und -fragmenten, flüchtigen organischen Verbindungen, Enzymen und Enzymsubstraten, Antikörpern, Antigenen, Proteinen, Peptiden, Nukleinsäuren und Peptidnukleinsäuren bereitgestellt.

[0010] Es wird auch ein einfach zu verwendendes, kostengünstiges Testkit bereitgestellt, dessen Zuverlässigkeit in einem weiten Bereich von Umweltbedingungen und wenn der Analyt mit vielen anderen Materialien gemischt ist, verhältnismäßig stabil ist.

[0011] Es wird auch ein Verfahren zum Verwenden des kolorimetrischen Sensors, um einen Analyten nachzuweisen, bereitgestellt, indem der kolorimetrische Sensor mit einem Analyten in Kontakt gebracht wird und eine Farbänderung beobachtet wird.

[0012] Es wird auch ein Verfahren zum indirekten Nachweis eines Analyten bereitgestellt, indem der kolorimetrische Sensor mit einer Sonde in Kontakt gebracht wird, die eine Affinität sowohl zum Analyten als auch zum Rezeptor aufweist, und keine Farbänderung beobachtet wird.

[0013] Die vorstehende Zusammenfassung der vorliegenden Erfindung soll nicht jede einzelne offenbare Ausführungsform oder jede Implementierung der vorliegenden Erfindung beschreiben. Die ausführliche Beschreibung, die folgt, veranschaulicht diese Ausführungsformen in besonderer Weise.

[0014] [Fig. 1](#) zeigt eine schematische Darstellung eines kolorimetrischen Sensors der vorliegenden Erfindung.

[0015] [Fig. 2](#) zeigt eine schematische Darstellung eines kolorimetrischen Sensorarrays der vorliegenden Erfindung.

[0016] [Fig. 3](#) zeigt eine schematische Darstellung eines kolorimetrischen Sensors, um den Sensor mit einem Analyten in Kontakt zu bringen.

[0017] [Fig. 4](#) zeigt eine schematische Darstellung eines faltbaren kolorimetrischen Sensors, um den Sensor mit einem Analyten in Kontakt zu bringen.

[0018] [Fig. 5](#) zeigt eine schematische Darstellung eines kolorimetrischen Sensors der vorliegenden Erfindung mit einer Art der Zuführung des Analyten.

[0019] [Fig. 6](#) zeigt eine schematische Darstellung eines kolorimetrischen Sensorarrays der vorliegenden Erfindung mit einer Art der Zuführung des Analyten.

[0020] [Fig. 7](#) ist ein Phasendiagramm, das die Farben des beschichteten und getrockneten Polydiacetylen-films als eine Funktion des Kontaktwinkels des Substrats zeigt.

[0021] [Fig. 8](#) ist ein Phasendiagramm, das die Farben des beschichteten und getrockneten Polydiacetylen-films als eine Funktion des Oberflächenspannung des Substrats zeigt.

[0022] Die vorliegende Erfindung stellt einen kolorimetrischen Sensor, umfassend Diacetylenmaterialien, und ein Verfahren der Verwendung des Sensors, um einen Analyten nachzuweisen, bereit.

[0023] Auf die folgenden definierten Begriffe sollen diese Definitionen angewendet werden, wenn nicht eine unterschiedliche Definition in den Ansprüchen oder anderswo in dieser Beschreibung angegeben ist:

Wie hier verwendet, bezieht sich der Begriff „Alkylrest“ auf einen gerad- oder verzweigt-kettigen oder cyclischen einwertigen Kohlenwasserstoffrest mit einer angegebenen Anzahl von Kohlenstoffatomen. Alkylreste schließen diejenigen mit einem bis zwanzig Kohlenstoffatomen ein. Beispiele für „Alkylrest“, wie es hier verwendet wird, schließen Methyl, Ethyl, n-Propyl, n-Butyl, n-Pentyl, Isobutyl und Isopropyl und dergleichen ein, sind aber nicht darauf begrenzt. Es versteht sich, dass, wo cyclische Einheiten beabsichtigt sind, mindestens drei Kohlenstoffe in dem Alkylrest vorhanden sein müssen. Diese cyclischen Einheiten schließen Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl und Cycloheptyl ein.

[0024] Wie hier verwendet, bezieht sich der Begriff „Alkylenrest“ auf einen gerad- oder verzweigt-kettigen oder cyclischen zweiwertigen Kohlenwasserstoffrest mit einer angegebenen Anzahl von Kohlenstoffatomen. Alkylenreste schließen diejenigen mit einem bis vierzehn Kohlenstoffatomen ein. Beispiele für „Alkylenrest“, wie es hier verwendet wird, schließen Methylen, Ethylen, Trimethylen, Tetramethylen und dergleichen ein, sind aber nicht darauf begrenzt. Es versteht sich, dass, wo cyclische Einheiten beabsichtigt sind, mindestens drei Kohlenstoffe in dem Alkylenrest vorhanden sein müssen. Diese cyclischen Einheiten schließen Cyclopropylen, Cyclobutylen, Cyclopentylen, Cyclohexylen und Cycloheptylen ein.

[0025] Wie hier verwendet, bezieht sich der Begriff „Alkenylenrest“ auf einen gerad- oder verzweigt-kettigen oder cyclischen zweiwertigen Kohlenwasserstoffrest mit einer angegebenen Anzahl von Kohlenstoffatomen und einer oder mehreren Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungen. Alkenylenreste schließen diejenigen mit zwei bis acht Kohlenstoffatomen ein. Beispiele für „Alkenylenrest“, wie es hier verwendet wird, schließen Ethen-1,2-diyl oder Propen-1,3-diyl ein, sind aber nicht darauf begrenzt.

[0026] Wie hier verwendet, bezieht sich der Begriff „Arylenrest“ auf zweiwertige ungesättigte aromatische Carboxylreste mit einem einzelnen Ring, wie Phenylen, oder mehreren anelierten Ringen, wie Naphthylen oder Anthrylen. Arylenreste schließen diejenigen mit sechs bis dreizehn Kohlenstoffatomen ein. Beispiele für „Arylenrest“, wie es hier verwendet wird, schließen Benzol-1,2-diyl, Benzol-1,3-diyl, Benzol-1,4-diyl oder Naphthalin-1,8-diyl ein, sind aber nicht darauf begrenzt.

[0027] Wie hier verwendet, bezieht sich der Begriff „Alkylen-Arylenrest“ auf eine Alkyleneinheit, wie vorstehend definiert, die an eine Aryleneinheit, wie vorstehend definiert, gebunden ist. Beispiele für „Alkylenarylenrest“, wie es hier verwendet wird, schließen $-\text{CH}_2\text{-Phenylen}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-Phenylen}$ und $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-Phenylen}$ ein, sind aber nicht darauf begrenzt.

[0028] Wie hier verwendet, bezieht sich der Begriff „Alkinylrest“ auf einen gerad- oder verzweigt-kettigen oder cyclischen einwertigen Kohlenwasserstoffrest mit zwei bis dreißig Kohlenstoffen und mindestens einer Kohlenstoff-Kohlenstoff-Dreifachbindung. Beispiele für „Alkinylrest“, wie es hier verwendet wird, schließen Ethinyl, Propinyl und Butinyl ein, sind aber nicht darauf begrenzt.

[0029] Wie hier verwendet, bezieht sich der Begriff „Analyt(en)“ auf jedes Material, das mit dem Sensor der vorliegenden Erfindung nachgewiesen werden kann. Diese Materialien schließen kleine Moleküle, pathogene und nicht pathogene Organismen, Toxine, Membranrezeptoren und -fragmente, flüchtige organische Verbindungen, Enzyme und Enzymsubstrate, Antikörper, Antigene, Proteine, Peptide, Nukleinsäuren und Peptidnukleinsäuren ein, sind aber nicht darauf begrenzt.

[0030] Wie hier verwendet, bezieht sich der Begriff „Bakterien“ auf alle Formen von Mikroorganismen, die als Bakterien angesehen werden, einschließlich Kokken, Bazillen, Spirochäten, Sphaeroplasten, Protoplasten usw.

[0031] Wie hier verwendet, bezieht sich der Begriff „Rezeptor“ auf jedes Molekül mit einer Bindungsaffinität für einen Analyten von Interesse. Rezeptor schließt natürlich vorkommende Rezeptoren, wie Oberflächenmembranproteine, Enzyme, Lektine, Antikörper, rekombinante Proteine usw.; synthetische Proteine; Nukleinäuren; c-Glykoside; Kohlenhydrate; Ganglioside; und Chelatbildner ein, ist aber nicht darauf begrenzt.

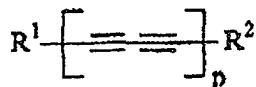
[0032] Wie hier verwendet, beziehen sich die Begriffe „Aggregat“ oder „Selbstorganisation“ auf jede Selbstordnung von Diacetylenmolekülen vor der Polymerisation. J. Israelachvili, Intermolecular and Surface Forces (2. Aufl.), Academic Press, New York (1992), S. 321–427.

[0033] Wie hier verwendet, bezieht sich der Begriff „selbstorganisierende Monoschicht(en)“ (SAMs) auf jeden geordneten ultradünnen organischen Film, der aus einem gegebenen Substrat durch spontane Selbst-Anordnung gebildet wird. A. Ulman, An Introduction to Ultrathin Organic Films, Academic Press, New York (1991), S. 237–301.

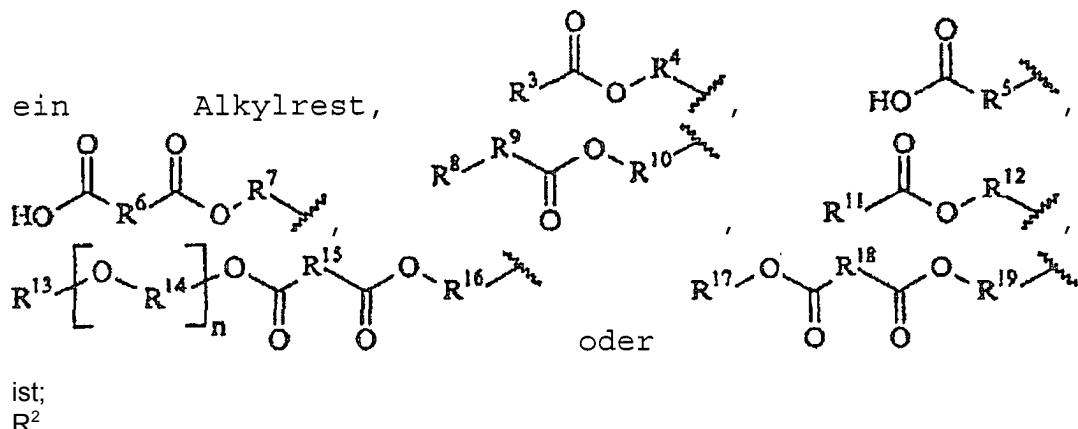
[0034] Wie hier verwendet, beschreibt der Begriff „Messwertwandler“ ein Material, das in der Lage ist, ein Erkennungereignis auf molekularem Niveau in ein beobachtbares Signal zu wandeln.

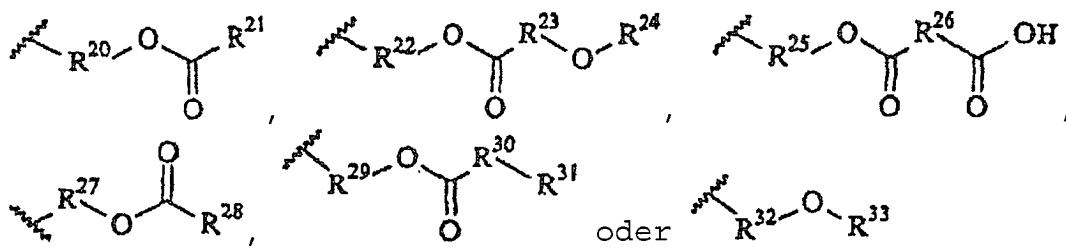
[0035] Von allen Zahlen wird hierin angenommen, dass sie mit dem Begriff „etwa“ modifiziert sind. Die Aufzählung der numerischen Bereiche durch Endpunkte schließt alle Zahlen ein, die innerhalb dieses Bereichs eingeschlossen sind (z. B. schließt 1 bis 5 1, 1,5, 2, 2,75, 3, 3,80, 4 und 5 ein).

[0036] Die vorliegende Erfindung stellt einen kolorimetrischen Sensor, umfassend neue Polydiacetylenaggregate, in die ein Rezeptor zum Nachweis eines Analyten eingebracht ist, bereit. Die Polydiacetylenaggregate sind polymerisierte Verbindungen der Formel



wobei R^1





ist;

$R^3, R^8, R^{13}, R^{21}, R^{24}, R^{31}$ und R^{33} unabhängig voneinander Alkylreste sind; $R^4, R^5, R^7, R^{14}, R^{16}, R^{19}, R^{20}, R^{22}, R^{25}$ und R^{32} unabhängig voneinander Alkylenreste sind; R^6, R^{15}, R^{18} und R^{26} unabhängig voneinander Alkenylenreste, Alkenylenreste oder Arylenreste sind; R^9 ein Alkylenrest oder $-NR^{34}-$ ist; R^{10}, R^{12}, R^{27} und R^{29} unabhängig voneinander Alkylenreste oder Alkylen-arylenreste sind; R^{11} und R^{29} unabhängig voneinander Alkinylreste sind; R^{17} ein Rest ist, der einen Ester aktiviert; R^{23} ein Arylenrest ist; R^{30} ein Alkylenrest oder $-NR^{36}-$ ist; R^{34} und R^{36} unabhängig voneinander H oder ein C_1 - C_4 -Alkylrest sind; p 1 bis 5 ist; und n 1 bis 20 ist; und wobei R^1 und R^2 nicht gleich sind.

[0037] Beispiele für R^1 , wenn R^1 ein Alkylrest ist, schließen C_1 - C_{20} -Alkylreste, C_6 - C_{18} -Alkylreste und C_{12} - C_{16} -Alkylreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^1 , wenn R^1 ein Alkylrest ist, schließen Dodecyl und Hexadecyl ein.

[0038] Beispiele für R^3 schließen C_1 - C_{20} -Alkylreste und C_6 - C_{18} -Alkylreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^3 schließen Undecyl und Pentadecyl ein.

[0039] Beispiele für R^4 schließen C_1 - C_{14} -Alkylenreste und C_1 - C_4 -Alkylenreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^4 schließen Methylen ($-CH_2-$), Trimethylen ($-CH_2CH_2CH_2-$) und Tetramethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$) ein.

[0040] Beispiele für R^5 schließen C_1 - C_{14} -Alkylenreste und C_1 - C_3 -Alkylenreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^5 schließen Ethylen ($-CH_2CH_2-$) und Trimethylen ($-CH_2CH_2CH_2-$) ein.

[0041] Beispiele für R^6 , wenn R^6 ein Alkylenrest ist, schließen C_1 - C_{14} -Alkylenreste und C_1 - C_3 -Alkylenreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^6 , wenn R^6 ein Alkylenrest ist, schließen Ethylen ($-CH_2CH_2-$) und Trimethylen ($-CH_2CH_2CH_2-$) ein. Beispiele für R^6 , wenn R^6 ein Alkenylenrest ist, schließen C_2 - C_8 -Alkenylenreste und C_2 - C_4 -Alkenylenreste ein. Ein zusätzliches Beispiel für R^6 , wenn R^6 ein Alkenylenrest ist, schließt Ethenylen ($-C=C-$) ein. Beispiele für R^6 , wenn R^6 ein Arylenrest ist, schließen C_6 - C_{13} -Arylenreste und Phenylen ein. Ein zusätzliches Beispiel für R^6 , wenn R^6 ein Arylenrest ist, ist Benzol-1,2-diyli.

[0042] Beispiele für R^7 schließen C_1 - C_{14} -Alkylenreste und C_2 - C_9 -Alkylenreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^7 schließen Ethylen ($-CH_2CH_2-$), Trimethylen ($-CH_2CH_2CH_2-$), Tetramethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Pentamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Hexamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Heptamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Octamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$) und Nonamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$) ein.

[0043] Beispiele für R^8 schließen C_1 - C_{16} -Alkylreste und C_1 - C_8 -Alkylreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^8 schließen Butyl, Pentyl und Hexyl ein.

[0044] R^9 ist unabhängig voneinander ein Alkylenrest oder $-NR^{34}-$, wobei R^{34} H oder ein C_1 - C_4 -Alkylrest ist.

[0045] Beispiele für R^9 , wenn R^9 ein Alkylenrest ist, schließen C_1 - C_{14} -Alkylenreste und C_1 - C_3 -Alkylenreste, wie beispielsweise Methylen ($-CH_2-$), ein. Beispiele für R^9 , wenn R^9 $-NR^{34}-$ ist, schließen $-NH-$, $-N(CH_2CH_3)-$ und $-N(CH_3)-$ ein.

[0046] Beispiele für R^{10} , wenn R^{10} ein Alkylenrest ist, schließen C_1 - C_{14} -Alkylenreste und C_1 - C_8 -Alkylenreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^{10} , wenn R^{10} ein Alkylenrest ist, schließen Methylen ($-CH_2-$), Ethylen ($-CH_2CH_2-$), Trimethylen ($-CH_2CH_2CH_2-$), Tetramethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$), $-C(CH_3)_2$ und $-CH((CH_2)_{1,4}CH_3)-$ ein. Beispiele für R^{10} , wenn R^{10} ein Alkylen-arylenrest ist, schließen (C_1 - C_{14} -Alkylen)-arylenreste und (C_1 - C_{14} -Alkylen)-phenylen ein. Ein zusätzliches Beispiel für R^{10} , wenn R^{10} ein Alkylen-arylenrest ist, schließt $-CH_2$ -Phenylen ein.

[0047] Beispiele für R^{11} C_2 - C_{30} -Alkinylreste und C_{20} - C_{25} -Alkinylreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^{11} schließen C_2 - C_{30} -Alkinylreste mit mindestens zwei Kohlenstoff-Kohlenstoff-Dreifachbindungen ($-C\equiv C-$) und

C_{20} - C_{25} -Alkinylreste mit mindestens zwei Kohlenstoff-Kohlenstoff-Dreifachbindungen ein. Weitere Beispiele für R^{11} schließen C_{22} -Alkinyl mit mindestens zwei Kohlenstoff-Kohlenstoff-Dreifachbindungen, C_{24} -Alkinyl mit mindestens zwei Kohlenstoff-Kohlenstoff-Dreifachbindungen ein. Noch weitere Beispiele für R^{11} schließen $-(CH_2)_8-C\equiv C-C\equiv C-(CH_2)_9CH_3$ und $-(CH_2)_8-C\equiv C-C\equiv C-(CH_2)_{11}CH_3$ ein.

[0048] Beispiele für R^{12} , wenn R^{12} ein Alkylenrest ist, schließen C_1 - C_{14} -Alkylenreste und C_1 - C_8 -Alkylenreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^{12} , wenn R^{12} ein Alkylenrest ist, schließen Methylen ($-CH_2-$), Ethylen ($-CH_2CH_2-$), Trimethylen ($-CH_2CH_2CH_2-$), Tetramethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$), $-C(CH_3)_2$ - und $-CH((CH_2)_{14}CH_3)-$ ein. Beispiele für R^{12} , wenn R^{12} ein Alkylen-arylenrest ist, schließen (C_1 - C_{14} -Alkylen)-arylenreste und (C_1 - C_{14} -Alkylen)-phenylen ein. Ein zusätzliches Beispiel für R^{12} , wenn R^{12} ein Alkylen-arylenrest ist, schließt $-CH_2$ -Phenyl ein.

[0049] Beispiele für R^{13} schließen C_1 - C_4 -Alkylreste, wie beispielsweise Methyl, ein.

[0050] Beispiele für R^{14} schließen C_1 - C_4 -Alkylenreste, wie beispielsweise Ethylen ($-CH_2CH_2-$), ein.

[0051] Beispiele für R^{15} , wenn R^{15} ein Alkylenrest ist, schließen C_1 - C_{14} -Alkylenreste und C_1 - C_3 -Alkylenreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^{15} , wenn R^{15} ein Alkylenrest ist, schließen Ethylen ($-CH_2CH_2-$) und Trimethylen ($-CH_2CH_2CH_2-$) ein. Beispiele für R^{15} , wenn R^{15} ein Alkenylenrest ist, schließen C_2 - C_8 -Alkenylenreste und C_2 - C_4 -Alkenylenreste ein. Ein zusätzliches Beispiel für R^{15} , wenn R^{15} ein Alkenylenrest ist, schließt Ethenylen ($-C=C-$) ein. Beispiele für R^{15} , wenn R^{15} ein Arylenrest ist, schließen C_6 - C_{13} -Arylenreste und Phenyl ein. Ein zusätzliches Beispiel für R^{15} , wenn R^{15} ein Arylenrest ist, ist Benzol-1,4-diyli.

[0052] Beispiele für R^{16} schließen C_1 - C_{14} -Alkylenreste und C_2 - C_9 -Alkylenreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^{16} schließen Ethylen ($-CH_2CH_2-$), Trimethylen ($-CH_2CH_2CH_2-$), Tetramethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Pentamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Hexamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Heptamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Octamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$) und Nonamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$) ein.

[0053] Beispiele für R^{17} Reste ein, die die benachbarte Estergruppe für den Acyltransfer aktivieren. Solche Reste, die einen Ester aktivieren, schließen beispielsweise Pentafluorphenol, Pentachlorphenol, 2,4,6-Trichlorphenol, 3-Nitrophenol, N-Hydroxysuccinimid, N-Hydroxyphthalimid und diejenigen, die in M. Bodanszky, „Principles of Peptide Synthesis“, (Springer-Verlag 1984), offenbart werden, ein. Ein zusätzliches Beispiel für R^{17} ist 2,5-Dioxo-1-pyrrolidinyl.

[0054] Beispiele für R^{18} , wenn R^{18} ein Alkylenrest ist, schließen C_1 - C_{14} -Alkylenreste und C_1 - C_3 -Alkylenreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^{18} , wenn R^{18} ein Alkylenrest ist, schließen Ethylen ($-CH_2CH_2-$) und Trimethylen ($-CH_2CH_2CH_2-$) ein. Beispiele für R^{18} , wenn R^{18} ein Alkenylenrest ist, schließen C_2 - C_8 -Alkenylenreste und C_2 - C_4 -Alkenylenreste ein. Ein zusätzliches Beispiel für R^{18} , wenn R^{18} ein Alkenylenrest ist, schließt Ethenylen ($-C=C-$) ein. Beispiele für R^{18} , wenn R^{18} ein Arylenrest ist, schließen C_6 - C_{13} -Arylenreste und Phenyl ein. Ein zusätzliches Beispiel für R^{18} , wenn R^{18} ein Arylenrest ist, ist Benzol-1,2-diyli.

[0055] Beispiele für R^{19} schließen C_1 - C_4 -Alkylenreste und C_2 - C_9 -Alkylenreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^{19} schließen Ethylen ($-CH_2CH_2-$), Trimethylen ($-CH_2CH_2CH_2-$), Tetramethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Peptamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Hexamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Heptamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Octamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$) und Nonamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$) ein.

[0056] Beispiele für R^{20} schließen C_1 - C_{14} -Alkylenreste, C_1 - C_9 -Alkylenreste und C_1 - C_4 -Alkylenreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^{20} schließen Methylen ($-CH_2-$), Ethylen ($-CH_2CH_2-$), Trimethylen ($-CH_2CH_2CH_2-$), Tetramethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Pentamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Hexamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Heptamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Octamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$) und Nonamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$) ein.

[0057] Beispiele für R^{21} , wenn R^{21} ein Alkylrest ist, schließen C_1 - C_{20} -Alkylreste, C_6 - C_{18} -Alkylreste und C_{10} - C_{17} -Alkylreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^{21} , wenn R^{21} ein Alkylrest ist, schließen Decyl, Undecyl, Tridecyl, Tetradecyl, Pentadecyl, Heptadecyl ein.

[0058] Beispiele für R^{22} schließen C_1 - C_{14} -Alkylenreste und C_2 - C_9 -Alkylenreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^{22} schließen Ethylen ($-CH_2CH_2-$), Trimethylen ($-CH_2CH_2CH_2-$) und Tetramethylen ein.

[0059] Beispiele für R^{23} schließen C_6 - C_{13} -Arylenreste und Phenylen ein. Ein zusätzliches Beispiel für R^{23} , wenn R^{23} ein Arylenrest ist, ist Benzol-1,4-diyi.

[0060] Beispiele für R^{24} schließen C_1 - C_{20} -Alkylreste und C_6 - C_{18} -Alkylreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^{24} schließen Methyl, Ethyl, Propyl, Butyl, Pentyl, Hexyl, Heptyl, Octyl, Nonyl und Dodecyl ein.

[0061] Beispiele für R^{25} schließen C_1 - C_{14} -Alkylenreste und C_2 - C_9 -Alkylenreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^{25} schließen Ethylen ($-CH_2CH_2-$), Trimethylen ($-CH_2CH_2CH_2-$), Tetramethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Pentamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Hexamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Heptamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Octamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$) und Nonamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$) ein.

[0062] Beispiele für R^{26} , wenn R^{26} ein Alkylenrest ist, schließen C_1 - C_{14} -Alkylenreste und C_1 - C_3 -Alkylenreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^{26} , wenn R^{26} ein Alkylenrest ist, schließen Ethylen ($-CH_2CH_2-$) und Trimethylen ($-CH_2CH_2CH_2-$) ein. Beispiele für R^{26} , wenn R^{26} ein Alkenylenrest ist, schließen C_2 - C_8 -Alkenylenreste und C_2 - C_4 -Alkenylenreste ein. Ein zusätzliches Beispiel für R^{26} , wenn R^{26} ein Alkenylenrest ist, schließt Ethenylen ($-C=C-$) ein. Beispiele für R^{26} , wenn R^{26} ein Arylenrest ist, schließen C_6 - C_{13} -Arylenreste und Phenylen ein. Ein zusätzliches Beispiel für R^{26} , wenn R^{26} ein Arylenrest ist, ist Benzol-1,2-diyi.

[0063] Beispiele für R^{27} , wenn R^{27} ein Alkylenrest ist, schließen C_1 - C_{14} -Alkylenreste und C_1 - C_8 -Alkylenreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^{27} , wenn R^{27} ein Alkylenrest ist, schließen Methylen ($-CH_2-$), Ethylen ($-CH_2CH_2-$), Trimethylen ($-CH_2CH_2CH_2-$), Tetramethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$), $-C(CH_3)_2$ - und $-CH((CH_2)_{1-4}CH_3)-$ ein. Beispiele für R^{27} , wenn R^{27} ein Alkylen-arylenrest ist, schließen (C_1 - C_{14} -Alkylen)-arylenreste und (C_1 - C_{14} -Alkylen)-phenylen ein. Ein zusätzliches Beispiel für R^{27} , wenn R^{27} ein Alkylen-arylenrest ist, schließt $-CH_2$ -Phenylen ein.

[0064] Beispiele für R^{28} schließen C_2 - C_{30} -Alkinylreste und C_{20} - C_{25} -Alkinylreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^{28} schließen C_2 - C_{30} -Alkinylreste mit mindestens zwei Kohlenstoff-Kohlenstoff-Dreifachbindungen ($-C\equiv C-$) und C_{20} - C_{25} -Alkinylreste mit mindestens zwei Kohlenstoff-Kohlenstoff-Dreifachbindungen ein. Weitere Beispiele für R^{28} schließen C_{22} -Alkinyl mit mindestens zwei Kohlenstoff-Kohlenstoff-Dreifachbindungen, C_{24} -Alkinyl mit mindestens zwei Kohlenstoff-Kohlenstoff-Dreifachbindungen ein. Noch weitere Beispiele für R^{28} schließen $-(CH_2)_8-C\equiv C-C\equiv C-(CH_2)_9CH_3$ und $-(CH_2)_8-C\equiv C-C\equiv C-(CH_2)_{11}CH_3$ ein.

[0065] Beispiele für R^{29} , wenn R^{29} ein Alkylenrest ist, schließen C_1 - C_{14} -Alkylenreste und C_1 - C_8 -Alkylenreste ein.

[0066] Zusätzliche Beispiele für R^{29} , wenn R^{29} ein Alkylenrest ist, schließen Methylen ($-CH_2-$), Ethylen ($-CH_2CH_2-$), Trimethylen ($-CH_2CH_2CH_2-$), Tetramethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$), $-C(CH_3)_2$ - und $-CH((CH_2)_{1-4}CH_3)-$ ein. Beispiele für R^{29} , wenn R^{29} ein Alkylen-arylenrest ist, schließen (C_1 - C_{14} -Alkylen)-arylenreste und (C_1 - C_{14} -Alkylen)-phenylen ein. Ein zusätzliches Beispiel für R^{29} , wenn R^{29} ein Alkylen-arylenrest ist, schließt $-CH_2$ -Phenylen ein.

[0067] R^{30} ist unabhängig voneinander ein Alkylenrest oder $-NR^{36}-$, wobei R^{36} H oder ein C_1 - C_4 -Alkylrest ist.

[0068] Beispiele für R^{30} , wenn R^{30} ein Alkylenrest ist, schließen C_1 - C_{14} -Alkylenreste und C_1 - C_3 -Alkylenreste, wie beispielsweise Methylen ($-CH_2-$), ein. Beispiele für R^{30} , wenn R^{30} $-NR^{36}-$ ist, schließen $-NH-$, $-N(CH_2CH_3)-$ und $-N(CH_3)-$ ein.

[0069] Beispiele für R^{31} schließen C_1 - C_{16} -Alkylreste und C_1 - C_8 -Alkylreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^{31} schließen Butyl, Pentyl und Hexyl ein.

[0070] Beispiele für R^{32} schließen C_1 - C_{14} -Alkylenreste und C_2 - C_9 -Alkylenreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^{32} schließen Ethylen ($-CH_2CH_2-$), Trimethylen ($-CH_2CH_2CH_2-$), Tetramethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$), Pentamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$) und Hexamethylen ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$) ein.

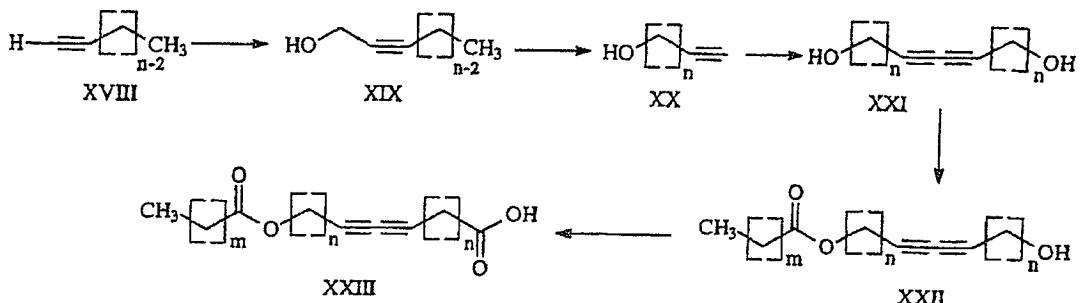
[0071] Beispiele für R^{33} schließen C_1 - C_{20} -Alkylreste, C_6 - C_{18} -Alkylreste und C_{10} - C_{16} -Alkylreste ein. Zusätzliche Beispiele für R^{33} schließen Dodecyl, Tetradecyl, Hexadecyl und Octadecyl ein.

[0072] Verbindungen der vorliegenden Erfindung können auch diejenigen einschließen, bei denen p 1 oder 2 sein kann und n 1 bis 20, 3 bis 17, 6 bis 14 oder 9 bis 11 sein kann.

[0073] Die Erfindung schließt die hier beschriebenen Verbindungen, einschließlich der Isomeren, wie Strukturisomere und geometrische Isomere, Salze, Solvate oder Polymorphe, ein.

Herstellung der Diacetylenverbindungen

[0074] Diacetylene der Formel XXIII können hergestellt werden, wie in Schema 1 dargestellt, wobei n typischerweise 1 bis 4 beträgt und m typischerweise 10 bis 14 beträgt.



Schema 1

[0075] Verbindungen der Formel XXIII können mittels Oxidation aus Verbindungen der Formel XXII durch Reaktion mit einem geeigneten Oxidationsmittel in einem geeigneten Lösemittel, wie beispielsweise DMF, hergestellt werden. Geeignete Oxidationsmittel schließen beispielsweise das Jones-Reagenz und Pyridiniumdichromat ein. Diese Reaktion wird typischerweise für eine Zeitdauer von 1 Stunde bis 48 Stunden, im Allgemeinen 8 Stunden, bei einer Temperatur von 0°C bis 40°C, im Allgemeinen 0°C bis 25°C ablaufen gelassen.

[0076] Verbindungen der Formel XXII können aus Verbindungen der Formel XXI durch Reaktion mit einem geeigneten Säurechlorid hergestellt werden. Geeignete Säurechloride schließen jedes Säurechlorid ein, das das gewünschte Produkt ergibt, wie beispielsweise Lauroylchlorid, 1-Dodecanoylchlorid, 1-Tetradecanoylchlorid, 1-Hexadecanoylchlorid und 1-Octadecanoylchlorid. Geeignete Lösemittel schließen beispielsweise Ether, Tetrahydrofuran, Dichlormethan und Chloroform ein. Diese Reaktion wird typischerweise für eine Zeitdauer von 1 Stunde bis 24 Stunden, im Allgemeinen 3 Stunden, bei einer Temperatur von 0°C bis 40°C, im Allgemeinen 0°C bis 25°C in Gegenwart einer Base, wie Trialkylamin- oder Pyridinbase, ablaufen gelassen.

[0077] Verbindungen der Formel XXI sind entweder im Handel erhältlich (z. B. wenn n 1 bis 4 ist) oder können aus Verbindungen der Formel XVIII über Verbindungen XIX und XX hergestellt werden, wie in Schema 1 dargestellt und beispielsweise in Abrams, Suzanne R.; Shaw, Angela C. „Triple-bond isomerizations: 2- to 9-decyn-1-ol“, Org. Synth. (1988), 66, 127–31 und Brandsma, L. „Preparative Acetylenic Chemistry“, (Elsevier Pub. Co.: New York, 1971), offenbart.

[0078] Diacetylenverbindungen, wie sie hier offenbart werden, können auch durch Umsetzen von Verbindungen der Formel XXII mit einem Säureanhydrid, wie Bernstein-, Glutar-, oder Phthalsäureanhydrid, in Gegenwart eines geeigneten Lösemittels, wie Toluol, hergestellt werden. Diese Reaktion wird typischerweise für eine Zeitdauer von 1 Stunde bis 24 Stunden, im Allgemeinen 15 Stunden, bei einer Temperatur von 50°C bis 125°C, im Allgemeinen 100°C bis 125°C ablaufen gelassen.

[0079] Die Diacetylenverbindungen, wie sie hier offenbart werden, organisieren sich in Lösung selbst, wodurch sich Aggregate bilden, die unter Verwendung jeder aktinischen Strahlung, wie beispielsweise elektromagnetische Strahlung im UV- oder sichtbaren Bereich des elektromagnetischen Spektrums, polymerisiert werden können. Die Polymerisation der Diacetylenverbindungen führt zu Produkten der Polymerisationsreaktion, die eine Farbe im sichtbaren Spektrum von weniger als 570 nm, zwischen 570 nm und 600 nm oder von größer als 600 nm in Abhängigkeit von ihrer Konformation und dem Ausgesetztheit an äußeren Faktoren aufweisen. Typischerweise führt die Polymerisation der hier offenbarten Diacetylenverbindungen zu Polymeren netzwerken der metastabilen blauen Phase, die ein Polydiacetylengrundgerüst einschließen. Diese Polymeren netzwerke der metastabilen blauen Phase machen eine Farbänderung von bläulich zu rötlich-orange durch, wenn sie beispielsweise äußeren Faktoren, wie Hitze, einer Änderung des Lösemittels oder Gegenions, falls verfügbar, oder physikalischer Belastung ausgesetzt werden.

[0080] Die Polymerisationsprodukte von einigen der hier offenbarten Diacetylenverbindungen können eine reversible Farbänderung und/oder eine Farbänderung mit drei Zuständen zeigen. Beispielsweise kann nach

der Polymerisation das resultierende Polymernetzwerk der blauen Phase die Farbe zu einem rötlich-orangen Zustand ändern, wenn es der Hitze, einer Änderung des Lösemittels oder Gegenions oder physikalischer Belastung ausgesetzt wird. Dieses rötlich-orange Polymernetzwerk kann dann die Farbe zu einem gelblich-orangen Zustand ändern, wenn es weiter der Hitze, einer Änderung des Lösemittels oder Gegenions oder physikalischer Belastung ausgesetzt wird. Außerdem können die hier offenbarten Polymernetzwerke auf reversible Weise zwischen diesen rötlich-orangen und gelblich-orangen Zuständen hin- und herwechseln.

[0081] Die Fähigkeit der Diacetylenverbindungen und ihrer Polymerisationsprodukte, die hier offenbart werden, eine sichtbare Farbänderung durchzumachen, wenn sie physikalischer Belastung ausgesetzt werden, machen sie zu idealen Kandidaten für die Herstellung von Messwandlern zum Nachweis eines Analyten. Die Polydiacetylenaggregate, die aus den offenbarten Diacetylenverbindungen gebildet werden, können in Biosensoranwendungen als ein Messwertwandler fungieren.

[0082] Die strukturellen Anforderungen an ein Diacetylenmolekül sind bei einer gegebenen Sensoranwendung typischerweise anwendungsspezifisch. Merkmale, wie Gesamtkettenlänge, Löslichkeit, Polarität, Kristallinität und Vorhandensein von funktionellen Gruppen zur weiteren molekularen Modifikation bestimmen alle zusammenwirkend die Fähigkeit eines Diacetylenmoleküls, als ein verwendbares Sensormaterial zu dienen. Beispielsweise sollte im Fall des Bionachweises eines Analyten in wässrigen Medien die Struktur der Diacetylenverbindung in der Lage sein, eine stabile Dispersion in Wasser zu bilden, in wirksamer Weise zu einem gefärbten Material zu polymerisieren, die passende Rezeptorchemie zum Binden eines Analyten einzuarbeiten und diese Bindungswechselwirkung mittels einer Farbänderung zu einem Messwert umzuwandeln. Diese Fähigkeiten sind von den strukturellen Merkmalen der Diacetylenverbindungen abhängig.

[0083] Die Diacetylenverbindungen der vorliegenden Erfindung besitzen die vorstehend beschriebenen Fähigkeiten und können leicht und wirksam zu Polydiacetylenaggregaten polymerisiert werden, die die erwünschten Farbänderungen durchmachen. Außerdem ermöglichen die Diacetylenverbindungen die Einarbeitung großer Überschüsse an nicht polymerisierbarem Material, wie ein nachstehend beschriebener Rezeptor, während sie immer noch eine stabile, polymerisierbare Lösung bilden.

[0084] Die offenbarten Diacetylenverbindungen können auf schnelle, hoch ergiebige Weise synthetisiert werden, einschließlich den Syntheseverfahren mit hohem Durchsatz. Das Vorhandensein von Funktionalität in den Grundgerüsten der Diacetylenverbindungen, wie beispielsweise Heteroatome, stellt die Möglichkeit zur leichten strukturellen Ausarbeitung bereit, um die Erfordernisse einer gegebenen Sensoranwendung zu erfüllen. Die Diacetylenverbindungen können zu dem gewünschten Netzwerk, das ein Polydiacetylengrundgerüst enthält, polymerisiert werden, indem das Diacetylen in ein geeignetes Lösemittel, wie beispielsweise Wasser, gegeben wird, das Gemisch beschallt wird und dann die Lösung mit ultraviolettem Licht, typischerweise bei einer Wellenlänge von 254 nm, bestrahlt wird. Nach der Polymerisation macht die Lösung eine Farbänderung nach bläulich-purpur durch.

Kolorimetrische Sensoren, umfassend Polydiacetylenaggregate

[0085] Die kolorimetrischen Sensoren der vorliegenden Erfindung, umfassend die offenbarten Diacetylenverbindungen, können als die Grundlage für den kolorimetrischen Nachweis eines molekularen Erkennungseignisses in Lösung oder beschichtet auf einem Substrat dienen. Eine solche molekulare Erkennungsvorrichtung kann hergestellt werden, indem ein Rezeptor entweder vor oder nach der Polymerisation zu dem Diacetylen-Monomersystem gegeben wird. Bei der Polymerisation oder danach wird der Rezeptor wirksam in das Polymernetzwerk eingebracht, so dass die Wechselwirkung des Rezeptors mit einem Analyten zu einer sichtbaren Farbänderung auf Grund der Störung des konjugierten En-In-Polymergrundgerüsts führt.

[0086] In einer Ausführungsform wird der Rezeptor physikalisch unter die Polydiacetylenaggregate gemischt und dispergiert. In einer alternativen Ausführungsform wird der Rezeptor kovalent an die Polydiacetylenaggregate gebunden. Beispiele für verwendbare Rezeptoren schließen Oberflächenmembranproteine, Enzyme, Lektine, Antikörper, rekombinante Proteine usw.; synthetische Proteine; Nukleinsäuren; c-Glykoside; Kohlenhydrate; Ganglioside; und Chelatbildner ein, sind aber nicht darauf begrenzt. In einer Ausführungsform ist der Rezeptor ein Phospholipid. In einer alternativen Ausführungsform ist der Rezeptor ein Glycerin, das mit bekannten Verfahren, wie dem in Alcaraz, Marie-Lyne; Peng, Ling; Klotz, Phillip; Goeldner, Maurice, J. Org. Chem. 1996, 61, 192–201, erläuterten, in das Diacetylenaggregat eingebracht wird.

[0087] Die kolorimetrischen Sensoren der vorliegenden Erfindung, die aus den offenbarten Diacetylenverbindungen gebildet werden, sind für viele Anwendungen geeignet, die nach kostengünstiger, stabiler, präziser,

konsistenter und schneller Diagnostik außerhalb der Laborumgebung verlangen. Die Anwendungen schließen Point-of-Care-Testing, durch den Patienten selbst durchführbare Diagnostik, militärischen und industriellen Nachweis von Pathogenen und VOCs, die in Luft oder Wasser übertragen werden, und Lebensmittelverarbeitung ein.

[0088] In einer Ausführungsform können die kolorimetrischen Sensoren zum Nachweis von gramnegativen Bakterien in biologischen Flüssigkeiten verwendet werden, um das Vorhandensein einer Infektion zu diagnostizieren. Beispielsweise zeigt das Vorhandensein von gramnegativen Bakterien im Urin eine Infektion des Urin an. Ein kolorimetrischer Sensor, umfassend die Polydiacetylenaggregate der vorliegenden Erfindung, kann das Vorhandensein von gramnegativen Bakterien im Urin oder anderen biologischen Flüssigkeiten durch Farbänderung entweder in einer Lösung oder als eine Beschichtung auf einem Substrat anzeigen.

[0089] In bestimmten Ausführungsformen können die kolorimetrischen Sensoren der vorliegenden Erfindung mit anderen bekannten diagnostischen Verfahren zusammengebracht werden, wodurch eine mehrgleisige Bestimmung des Vorhandenseins von Bakterien oder anderen Analyten bereitgestellt wird. Beispielsweise lässt beim Testen von Urinproben ein kolorimetrischer Test, der Aktivität von Leukozyten- (weiße Blutkörperchen oder WBKs) Esterase nachweist, wie in US-Patentschrift Nr. 4,299,917 beschrieben, auf Pyurie (Eiter im Urin) schließen und kann als ein Anzeichen für das Vorhandensein einer Infektion interpretiert werden. Ein Sensor, der sowohl einen Test auf Leukozyten in ganzer oder lysierter Form als auch einen Test auf gramnegative Bakterien kombiniert, der auf den Polydiacetylenaggregaten der vorliegenden Erfindung basiert, kann verwendet werden, um nicht nur auf das Vorliegen einer Infektion zu schließen, sondern auch ob die Infektion durch gram-negative oder grampositive Bakterien verursacht wird. Ein negatives Ergebnis an diesem kombinierten Sensor zum gramnegativen Nachweis, das am Polydiacetylenabschnitt des Sensors beobachtet wird, in Verbindung mit einem positiven Ergebnis am Leukozytenabschnitt des Sensors kann als das Vorliegen einer grampositiven bakteriellen Infektion interpretiert werden. Umgekehrt deutet ein positives Ergebnis beim gramnegativen Test auf eine gramnegative bakterielle Infektion hin. Weitere potenzielle Verfahren zum Nachweisen von Leukozyten können fluorometrische Assays verwenden, um direkt das Vorliegen dieser Zellen abzuschätzen, wie beispielsweise in Peyman, Khoobehi B., „Fluorescent labeling of blond cells for evaluation of retinal and choroidal circulation“, Ophthalmic Surg. Lasers (Feb. 1999), 30(2): 140–5 beschrieben; oder um die Peroxidfreisetzung aus aktivierten Leukozyten nachzuweisen, wie in Mohanty, J. G., Jaffe, Jonathan S., Schulman, Edward S., Raible, Donald G. „A highlysensitive fluorescent micro-assay of H₂O₂ release from activated human leukocytes using a dihydroxyphenoxazine derivative“, J. Immunological Methods (1997), 202, 133–141, offenbart.

[0090] Die aktuelle rasche diagnostische Fähigkeit, d. h. weniger als 15 Minuten, bei der Analyse von Urinproben ist auf den bakteriellen Nachweis unter Verwendung der Kombination eines Leukozytentests mit einem Test auf Nitrate begrenzt, wie der Test auf Nitrate, der in der US-Patentschrift Nr. 5,434,235 beschrieben wird. Der Test auf Nitrat beruht auf einem kolorimetrischen Assay, das in der Lage ist, Nitrate als das Nebenprodukt des Bakterienmetabolismus nachzuweisen. Der Test ist durch seine Unfähigkeit, das Vorliegen der Bakterien direkt nachzuweisen, und die Tatsache, dass nicht alle Bakterien Nitrate produzieren, stark eingeschränkt, und somit werden einige Gruppen von Bakterien nicht nachgewiesen.

[0091] Zur raschen Diagnose von sowohl gramnegativen als auch grampositiven Bakterien können der kolorimetrische Sensor der vorliegenden Erfindung und der Leukozytentest auf dasselbe Substrat aufgetragen werden, um das Vorliegen oder Fehlen von gramnegativen und grampositiven Bakterien, wie vorstehend beschrieben, zu bestimmen. Dies kann die Notwendigkeit minimieren, 16 bis 24 Stunden auf die Ergebnisse einer Kultur der Urinprobe zu warten, um die Klasse von Bakterien zu identifizieren, bevor die antibiotische Behandlung beginnt. In denjenigen Fällen, bei denen ein Antibiotikum verschrieben wird, bevor die Ergebnisse der Kultur erhalten werden, kann das Antibiotikum auf die Klasse von Bakterien auf der Basis der Ergebnisse des Sensors abgezielt werden.

[0092] In einer alternativen Ausführungsform können die kolorimetrischen Sensoren der vorliegenden Erfindung in Verbindung mit Wundverbänden verwendet werden, um das Vorliegen einer Infektion nachzuweisen. Der Sensor kann in den Verband als eine Schicht, die direkt oder indirekt mit der Wunde in Kontakt ist, integriert werden. Der Sensor kann auch während der Verwendung in den Verband eingefügt werden. In einer anderen Ausführungsform kann man sich einen Verbandaufbau vorstellen, bei dem ein Wundexsudat von der Wunde zu einem Abschnitt des Verbands, der nicht mit der Wunde in Kontakt ist, wo der Sensor angebracht ist, durch mikrofluidische Kanäle geleitet wird, wie diejenigen, die in US-Patentschrift Nr. US 6,420,622 B1 beschrieben werden. Der Sensor kann auch als eine eigenständige Diagnostik bei der Beurteilung einer Wundinfektion verwendet werden, indem der Analyt analysiert wird, der von einem Wundentupfer extrahiert wurde.

[0093] Ein Sensor, umfassend die Polydiacetylenaggregate, kann ohne die Notwendigkeit, einen Film mit dem herkömmlichen LB-(Langmuir-Blodgett)Verfahren zu bilden, erhalten werden, bevor er auf einen passenden Träger übertragen wird. In einer anderen Ausführungsform können die Polydiacetylenaggregate auf einem Substrat unter Verwendung des bekannten LB-Verfahrens erzeugt werden, wie in A. Ulman, *An Introduction to Ultrathin Organic Films*, Academic Press, New York (1991), S. 101–219, beschrieben.

[0094] Die vorliegende Erfindung stellt Biosensorfähigkeiten in einem Einmal-Klebstoffprodukt bereit. Die Sensoren sind in sich abgeschlossen und erfordern keine zusätzliche Instrumentierung, um ein messbares Ergebnis zu übertragen. In einer anderen Ausführungsform ist die Verwendung mit weiterer analytischer Instrumentierung möglich, um die Empfindlichkeit weiter zu erhöhen, wie Fluoreszenz bei der fluoreszenten „roten“ Phase, die sich nach dem Nachweis des Analyten entwickelt. Die Sensoren dienen dazu, eine Vorrichtung zum schnellen Screening, d. h. weniger als 30 Minuten und vorzugsweise weniger als 15 Minuten, bereitzustellen, wenn der Nachweis des Vorliegens eines Schwellenwerts eines spezifischen Analyten gewünscht ist. Außerdem sind die Sensoren der vorliegenden Erfindung wegwerfbar und verhältnismäßig kostengünstig.

[0095] In einer Ausführungsform der Erfindung umfasst der kolorimetrische Sensor einen Messwertwandler, der aus einem Rezeptor gebildet wird, der in die Polydiacetylenaggregate in Lösung eingebracht ist. Die Lösung kann in einem einfachen Ampullensystem bereitgestellt werden, wobei der Analyt direkt zu einer Ampulle gegeben wird, die eine Lösung mit dem Messwertwandler enthält, der für den Analyten von Interesse spezifisch ist. In einer anderen Ausführungsform kann der kolorimetrische Sensor mehrere Ampullen in einem Kit umfassen, wobei jede Ampulle einen Messwertwandler enthält, umfassend Polydiacetylenaggregate mit eingearbeiteten Rezeptoren, die für unterschiedliche Analyten speziell sind. Für diejenigen Anwendungen, bei denen der Analyt nicht direkt zum Polydiacetylen-Messwertwandler gegeben werden kann, kann ein zweiteiliges Ampullensystem verwendet werden. Ein Teilraum der Ampulle kann Reagenzien zur Probenvorbereitung des Analyten physikalisch getrennt vom zweiten Teilraum enthalten, der den Messwertwandler, der aus den Polydiacetylenaggregaten gebildet ist, enthält. Sobald die Probenvorbereitung abgeschlossen ist, wird die physikalische Sperre, die die Teilräume trennt, entfernt, wodurch ermöglicht wird, dass sich der Analyt mit dem Messwertwandler zum Nachweis mischt.

[0096] In einer weiteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist der kolorimetrische Sensor ein schneller Indikator im Band- oder Etikettenformat, wie in [Fig. 1](#) dargestellt. [Fig. 1](#) zeigt ein Band oder Etikett **10**, das mit einem Haftkleber **20** beschichtet ist, und einen Messwertwandler **30**, der auf ein Substrat **40** aufgetragen ist. Der Haftkleber **20** kann Band oder Etikett **10** zum direkten Nachweis eines Analyten an einer Oberfläche befestigen. Der Haftkleber **20** ist von Messwertwandler **30**, der die Polydiacetylenaggregate enthält, isoliert, um schädliche Wirkungen potenziell zu minimieren. In [Fig. 1](#) umgibt der Haftkleber **20** den Messwertwandler **30**, der in der Mitte von Band oder Etikett **10** angeordnet ist. In einer alternativen Ausführungsform (nicht gezeigt) sind der Haftkleber und der Messwertwandler vereinigt.

[0097] Gegebenenfalls enthält Band oder Etikett **10** ein transparentes Fenster auf der Seite von Band oder Etikett **10**, die nicht den Haftkleber **20** enthält. Das Fenster ist mittig unter dem Messwertwandler **30** angeordnet, um dem Anwender zu ermöglichen, die Farbänderung zu sehen, ohne das Band oder Etikett **10** von der Oberfläche, die den Analyten enthält, zu entfernen.

[0098] In [Fig. 2](#) wird das Band oder Etikett **110** als eine Anordnung **111** gezeigt, die aus mehreren Messwertwandlern **112**, **113**, **114**, **115** und **116** besteht. Jeder der Messwertwandler **112**, **113**, **114**, **115** und **116** kann aus denselben oder unterschiedlichen Polydiacetylenaggregaten gebildet sein, wobei jedes Polydiacetylenaggregat denselben oder unterschiedlichen Rezeptor einarbeitet. Durch Variation der Messwertwandler **112**, **113**, **114**, **115** und **116** kann die Anordnung **111** so gestaltet werden, dass sie mehrere Analyte bei verschiedenen Konzentrationsniveaus nachweist. In einer anderen Ausführungsform kann jeder der Messwertwandler **112**, **113**, **114**, **115** durch einen alternativen diagnostischen Test, wie der Leukozytentest, ersetzt werden.

[0099] In einer weiteren Ausführungsform, die in [Fig. 3](#) gezeigt wird, umfasst Band oder Etikett **100** ein faltbares Substrat **101** mit Haftkleber **102** auf einer Seite des faltbaren Substrats **101** und Messwertwandler **103**, der auf der gegenüber liegenden Seite von faltbarem Substrat **101**, die zum Haftkleber **102** zeigt, angeordnet ist. Die Oberfläche, die einen Zielanalyten enthält, kann mit Haftkleber **102** in Kontakt gebracht werden, um die Probe zu sammeln. Sobald die Probe, die den Analyten enthält, gesammelt ist, wird das faltbare Substrat **101** gefaltet, dass der Haftkleber **102** mit dem Messwertwandler **103** in Kontakt kommt, wie in [Fig. 4](#) gezeigt. Gegebenenfalls kann das faltbare Substrat **101** perforiert sein, um die Trennung von faltbarem Substrat **101** in zwei oder mehr Teile zu ermöglichen, wobei ein Teil Haftkleber **102** enthält und ein anderer Teil den Messwertwandler **103** enthält. Beides, das faltbare Merkmal und/oder die Perforationen des faltbaren Substrats **101**, er-

möglichen dem Anwender, bei Anwendungen, die jene Funktionalität erfordern, zu verhindern, dass der Messwertwandler mit der Probenoberfläche, die den Analyten enthält, in Kontakt kommt.

[0100] Gegebenenfalls kann das faltbare Substrat **101** in [Fig. 3](#) auch mehrere Messwertwandler einschließen, wie in [Fig. 2](#) gezeigt und vorstehend beschrieben. Ferner kann das faltbare Substrat **101** ein transparentes Fenster auf der Seite einschließen, die dem Messwertwandler **103** gegenüber liegt, um jede Farbänderung zu sehen, nachdem das faltbare Substrat **101** gefaltet ist, damit Messwertwandler **103** mit Haftkleber **102** in Kontakt kommt.

[0101] Alternative Ausführungsformen sind in den [Fig. 5](#) und [Fig. 6](#) gezeigt, die die Zuführung einer Flüssigkeitsprobe zu dem Messwertwandler über ein mikrofluidisches Element ermöglichen, wie diejenigen, die in den US-Patentschriften Nrn. 6,375,871 und 6,451,191 beschrieben werden. In [Fig. 5](#) enthält Band oder Etikett **301** ein mikrofluidisches Element **302**, das den Analyten dem Messwertwandler **303** zuführt. Bei einer Anwendung kann der Haftkleber auf Band oder Etikett **301** auf der Seite, die dem Messwertwandler **303** gegenüber liegt, bereitgestellt sein, um zu ermöglichen, dass das Band oder Etikett an einer Oberfläche zu Lagerungs- oder Haltezwecken befestigt wird, wie Befestigen an einer Wand oder einem Behälter.

[0102] In [Fig. 6](#) wird ein mikrofluidisches Element **401** auf Band oder Etikett **402** bereitgestellt. Das mikrofluidische Element **401** führt den Analyten mehreren Vertiefungen **403**, **404**, **405** und **406** zu, die denselben oder unterschiedliche Messwertwandler enthalten. Jeder der Messwertwandler in den mehreren Vertiefungen **403**, **404**, **405** und **406** kann aus denselben oder unterschiedlichen Polydiacetylenaggregaten gebildet sein, wobei jedes Polydiacetylenaggregat denselben oder unterschiedlichen Rezeptor einarbeitet. Durch Variation der Messwertwandler können die mehreren Vertiefungen **403**, **404**, **405** und **406** so gestaltet werden, dass sie den Nachweis für mehrere Analyte bei verschiedenen Konzentrationsniveaus bereitstellen.

[0103] Für diejenigen Anwendungen, die Probenvorbereitung des Analyten erfordern, kann ein Kit eine Ampulle zur Lagerung des Reagens und zum Mischen des Analyten enthalten, bevor der kolorimetrische Sensor, der auf einem zweidimensionalen Substrat aufgetragen ist, damit in Kontakt gebracht wird. In einer Ausführungsform kann der Kit eine Ampulle zur Lagerung des Reagens und Analytenvorbereitung mit einem Deckelsystem, das den Messwertwandler der vorliegenden Erfindung, der auf ein Substrat aufgetragen ist, enthält, umfassen.

[0104] Die vorliegende Erfindung stellt auch ein Verfahren zur Analyse eines Analyten bereit, welches das In Kontakt Bringen des vorstehend erwähnten kolorimetrischen Sensors mit einer Lösungsprobe oder Oberfläche, die einen Analyten enthält, und Ausnutzen einer Absorptionsmessung oder einer visuellen Beobachtung mit dem bloßen Auge, um Farbänderung am kolorimetrischen Sensor nachzuweisen, umfasst.

[0105] In einer alternativen Ausführungsform stellt die vorliegende Erfindung ein Verfahren zum indirekten Nachweis eines Analyten durch Auswahl einer Sonde mit einer Affinität, mit sowohl dem Rezeptor, der in die Polydiacetylenaggregate eingearbeitet ist, und dem Analyten zu binden. Die gewählte Sonde zeigt eine competitive Affinität zum Analyten. Wenn der Analyt von Interesse vorhanden ist, bindet die Sonde eher mit den Analyten als dem Rezeptor am Polydiacetylengrundgerüst, was zu keiner Farbänderung führt. Wenn der Analyt fehlt, bindet die Sonde an den Rezeptor, der am Polydiacetylengrundgerüst eingebracht ist, was zu einer Farbänderung von blau nach rot führt. Die Sonde kann mit dem Messwertwandler in Kontakt kommen, nachdem der Analyt mit dem Messwertwandler in Kontakt kommt, oder kann mit dem Analyten gemischt werden, bevor das Gemisch mit dem Messwertwandler in Kontakt kommt.

[0106] Die Sonde kann mit dem Messwertwandler in Lösung oder aufgetragen auf einem Substrat in Kontakt gebracht werden. Die Sonde kann jedes Molekül mit einer Affinität zu sowohl dem Zielanalyten als auch dem Rezeptor sein. Mögliche Sonden zur Verwendung in der vorliegenden Erfindung schließen Membranen spaltende Peptide, wie Alamethicin, Magainin, Gramicidin, Polymyxin-B-Sulfat und Melittin ein.

[0107] Unter Verwendung des indirekten Verfahrens zum Nachweis ist eine hohe Empfindlichkeit, die für niedrige Nachweissniveaus sorgt, auf der Grundlage der Konzentration der verwendeten Sonde möglich. Als Nachweisstrategie können Sondenkonzentrationen gewählt werden, die gewünschten Nachweissniveaus der Konzentration entsprechen. Das Verfahren des indirekten Nachweises unter Verwendung der Sonde ermöglicht den Entwurf des Systems um die Art und Konzentration der Sonde für die gewünschte Empfindlichkeit in einer gegebenen Anwendung herum. Dies ermöglicht, dass der Messwertwandler für mehrere Analyten von Interesse universal ist. Beispielsweise kann ein einziger Messwertwandler (Polydiacetylen/Rezeptor-Kombination) dazu dienen, mehrere Analyten nachzuweisen, indem die Sonde in Kontakt mit dem Messwertwandler gemäß

der Affinität der Sonde zum Analyten variiert wird.

Substrateigenschaften

[0108] Die Substrate der vorliegenden Erfindung können durch Kontaktwinkelmessungen unter Verwendung von milli-Q (Millipore) Wasser und Methyleniodid (Aldrich) als Testflüssigkeiten gekennzeichnet werden. Für eine Kontaktwinkelmessung wird ein Goniometer von Rare-Hart verwendet, um den Kontaktwinkel zu messen, den ein Tropfen einer Testflüssigkeit bildet, wenn er auf ein Substrat aufgebracht wird. Auch wenn der Tropfen ein makroskopisches Gebiet des Substrats bedeckt, testet die Wechselwirkung der Flüssigkeit und der Oberfläche lediglich die äußersten 1 bis 5 Ångstrom der Oberfläche. Somit stellt die Analyse des Kontaktwinkels eine präzise und empfindliche Technik bereit, um die Oberflächenenergetik zu kennzeichnen, wie in A. Ulman, An Introduction to Ultrathin Organic Films, Academic Press, New York (1991), S. 48–58, erläutert.

[0109] Von den Beschichtungssubstraten, die in der vorliegenden Erfindung verwendet werden, kann angenommen werden, dass sie zwei weite Kategorien umfassen. Die erste dieser Kategorien schließt hochgradig ebene Substrate, wie aufgedampftes Gold auf atomar ebenen Silicium-(111)-wafers, atomar ebene Silicium-(111)-wafer oder Floatglas ein, die nackt und mit selbstorganisierenden Monoschichten (SAMs) modifiziert sind, um ihre Oberflächenenergie auf systematische Weise zu ändern. Die zweite Klasse von Oberflächen umfasste Oberflächen mit einer hochgradig texturierten Topographie, die viele verschiedene Klassen von Materialien einschloss, welche von Papiersubstraten bis zu Beschichtungen, die für polymere Tinten aufnahmefähig sind, zu strukturierten polymeren Filmen, mikroporösen Filmen und Membranmaterialien reichte. Gemeinsame Eigenschaften unter diesen Substraten sind die große Oberflächenrauheit und/oder Porosität. Bei diesen hochgradig texturierten Oberflächen können die Messungen der Kontaktwinkel und die Bestimmung der polaren und dispersiven Oberflächenenergien aus diesen Kontaktwinkelmessungen nicht als eine Gleichgewichtscharakterisierung ihrer wahren thermodynamischen Energien angesehen werden. Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung geben die Kontaktwinkel eine „effektive“ oder „praktische“ Oberflächenenergie an, die verwendet werden kann, um diese Substrate zu Vergleichszwecken zu klassifizieren.

[0110] Die Tabelle 1 fasst die Substrate zusammen, die mit den Polydiacetylenaggregaten zur Verwendung als ein kolorimetrischer Sensor der vorliegenden Erfindung beschichtet sind. Die SAMs, die verwendet werden, um das Substrat zu modifizieren, werden mit dem Substrat aufgeführt, wenn sie verwendet werden. Die Substrat-Kontaktwinkel, wie mit Wasser und Methyleniodid gemessen, werden aufgeführt, ebenso wie die dispersiven und polaren Komponenten der Oberflächenenergie, die mit dem Verfahren des geometrischen Mittels berechnet wurden, wie in S. Wu; Polymer Interface and Adhesion; Marcel Dekker, New York (1982), gezeigt. In der letzten Spalte ist die Farbe der trockenen PDA-Beschichtung aufgelistet.

Tabelle 1

Nummer	Substrat	Hersteller	Ft.-schr. θ (Wasser) (°)	Ft.-schr. θ (MI) (°)	γ (dispersiv) (dyn/cm)	γ (polar) (dyn / cm)	Farbe der trockenen Beschichtung
1	Umkehrchromatographie-Si-Gelplatte	Aldrich ; Milwaukee, WI	158 ± 3,0	< 5	101,7	39,5	Blau

2	Mani-la-Broschüre npapier	Smead, Nr. 2-153L-2, Hasting s, MN	115 ± 5,0	< 5	76,2	7,9	Blau
3	Sauberer Floatglas	Corning Glass Works; Corning , NY	90 ± 3 ,8	42 ± 2, 4	39,6	0,9	Blau
4	Texturier tes Photopapiere	3M Teile-Nr. 34-8506-6 373-2; St. Paul, MN	123 ± 5,4	< 5	82,1	13,3	Blau
5	Glanz-Photopapiere	3M Teile-Nr. 34-8506-6 378-I; St. Paul, MN	105 ± 8,0	30 ± 1, 3	58,1	1,5	Blau
6	PE-IR-Karte	3M Typ 61-100-12 ; St. Paul, MN	144 ± 0,6	< 5	95,4	30,0	Blau
7	PTFE-IR-Karte	3M Typ 62; St. Paul, MN	133 ± 2,3	66 ± 2, 5	44,0	7,6	Blau

8	Octadecyl tri-chlorisila n-SAM auf Si (111)	Gelest, Inc.; Morrisville, PA	112 ± 1,1	69 ± 1, 9	28,3	0,1	Rot
9	Perfluordecyl-1H,1H,2H,2H-trichlorosilane auf Si-(111)-Wafer	Gelest, Inc.; Morrisville, PA	113 ± 1,6	91 ± 1, 3	11,7	0,7	Rot
10	Octadecyl tri-chlorisila n-SAM auf Si (111)	Gelest, Inc.; Morrisville, PA	112 ± 2,2	65 ± 1, 8	31,9	0,3	Rot
11	Dodecanethiol-SAM auf aufgedampftem Au	Aldrich ; Milwaukee, WI	108 ± 3,0	65 ± 4, 4	30,0	0	Rot
12	Octadecanethiol-SAM auf aufgedampftem Au	Aldrich ; Milwaukee, WI	107 ± 0,6	67 ± 2, 7	27,7	0	Rot
13	Mikrostrukturierter PP	3M Probe Nr. PP-3445; St. Paul, MN	155 ± 4,5	110 ± 6,0	9,8	2,5	Rot

14	FC-TIPS-Membran	3M Probe; St. Paul, MN	112 ± 5,5	127 ± 11,5	0,1	8,7	Rot
15	PVDF-Membran	Millipore Corporation XF1J076 T8; Bedford, MA	86 ± 2,9	61 ± 1,1	22,8	5,4	Rot
16	Nackte Si-(111)-Wafer	Siltec Corporation; Salem, OR	52 ± 2,6	47 ± 2,8	18,7	29,2	Gemisch
17	Nacktes aufgedampftes Au	3M Probe; St. Paul, MN	97 ± 4,5	48 ± 0,6	38,9	0,1	Gemisch
18	11-Mercapto-1-undecanol auf aufgedampftem Au	Aldrich ; Milwaukee, WI	58 ± 1,6	38 ± 1,7	26,0	19,8	Gemisch
19	16-Mercaptohexadecanoic acid auf aufgedampftem Au	Aldrich ; Milwaukee, WI	40 ± 1,6	35 ± 6,0	21,4	35,7	Gemisch

[0111] Die [Fig. 6](#) und [Fig. 7](#) zeigen das Phasendiagramm auf Basis der kolorimetrischen Beobachtungen an den getrockneten Beschichtungen und der Kontaktwinkelanalyse der beschichteten Substrate. [Fig. 6](#) zeigt die resultierende Farbe des beschichteten Substrats als eine Funktion des Fortschreit-Kontaktwinkels von Wasser gegen den Fortschreit-Kontaktwinkel von Methyleniodid. [Fig. 7](#) zeigt die resultierende Farbe des beschichteten Substrats als eine Funktion der polaren Komponente der Oberflächenenergie des Substrats gegen die disperse Komponente der Oberflächenenergie, wie mit dem Verfahren des geometrischen Mittels aus den Fortschreit-Kontaktwinkeln von Wasser und Methyleniodid berechnet, wie in S. Wu; Polymer Interface and Adhesion; Marcel Dekker, New York (1982), bereitgestellt. Die Oberflächen, bei denen die Polydiacetylenbeschichtung bei ihrer anfänglichen blauen Farbe blieb, sind in jedem Diagramm durch einen ausgefüllten Kreis gekennzeichnet. Die Oberflächen, die mit einem Kreis gekennzeichnet sind, sind diejenigen, deren anfängliche „blaue“ Phase sich beim Trocknen zu der roten Phase wandelte. Schließlich kennzeichnen die dreieckigen Punkte die Oberflächen, bei denen die trockene Beschichtung ein Gemisch aus den blauen und roten Phasen zeigte.

[0112] Die Nummern in Tabelle 1, die den verschiedenen Substraten zugewiesen sind, entsprechen den Symbolen in den [Fig. 6](#) und [Fig. 7](#).

[0113] In einer Ausführungsform der Erfindung, die beim Trocknen die ursprüngliche „blaue“ der Polydiacetylenaggregate beibehält, zeigen die beschichteten Substrate Fortschreit-Kontaktwinkel mit Methyleniodid von unter 50°, wie in [Fig. 6](#) dargestellt. Dieser Zustand entspricht den Substraten, die durch eine disperse Komponente ihrer Oberflächenenergie von mehr als 40 dyn/cm in [Fig. 7](#) gekennzeichnet sind. Für Anwendungen, die den Erhalt der ursprünglichen „blauen“ Phase erfordern, beeinflussen die Topographie und Oberflächenergie die Effektivität des Messwertwandlers auf dem Substrat in Eigenschaften, wie Farbkontrast beim Nachweis und Lagerstabilität.

[0114] In einer alternativen Ausführungsform führen Substrate mit diesen Eigenschaften, die einen Fortschreit-Kontaktwinkel mit Wasser von weniger als 90° aufweisen, zu trockenen Beschichtungen, die ein Gemisch aus den blauen und roten Phasen enthalten, wie in [Fig. 6](#) dargestellt. Dieser Zustand entspricht Ober-

flächen, bei denen die disperse Komponente der Oberflächenenergie weniger als 40 dyn/cm betragen kann, aber mit einer polaren Komponente der Oberflächenenergie von mehr als mindestens 10 dyn/cm in [Fig. 7](#).

Beispiele

[0115] Alle Teile, Prozentsätze, Verhältnisse usw. in den Beispielen und dem Rest der Beschreibung beziehen sich auf Mol, wenn nicht anders angegeben. Alle Lösemittel und Reagenzien ohne einen genannten Lieferanten wurden von Aldrich Chemical; Milwaukee, WI, gekauft. Wasser wurde unter Verwendung eines UV-Milli-Q-Wasserreinigungsgeräts mit einem spezifischen Widerstand von 18,2 MΩ/cm gereinigt. (Millipore, Redford MA)

[0116] Für diejenigen Diacetylengemische, die mit einer Sonde beschallt wurden, wurde eine Reihe von Proben hergestellt, indem die anfängliche Diacetylenlösung auf mehrere Ampullen zur Beschallung mit Sonden über einen Bereich von Leistung und Dauern getrennt wurde, um die Einstellungen zu bestimmen, die eine erfolgreiche Selbstorganisation bei den Diacetylenmonomeren induzieren. Auch wenn in den folgenden Beispielen die Beschallung mit einer Sonde 1 Minute lang bei einer Leistungseinstellung von 5 erfolgte, weiß ein Fachmann, dass passende Regulierung der Leistung und Dauer empirisch dasselbe Ergebnis ergeben können.

[0117] Die kolorimetrische Antwort (CR) wurde durch die prozentuale Änderung der blauen Farbe bestimmt, die durch die Gleichung $CR = [(PB_{\text{anfangs}} - PB_{\text{Probe}})/PB_{\text{anfangs}}] \times 100$ dargestellt wird, wobei PB = blaue Farbe in der Probe, wie unter Verwendung der Bildbearbeitungssoftware Adobe Photoshop, Version 5, bestimmt.

Tabelle der Abkürzungen

Abkürzung oder Handelsname	Beschreibung
11-Brom-1-undecanol	$\text{Br}(\text{CH}_2)_{11}\text{OH}$
11-Bromundecansäure	$\text{Br}(\text{CH}_2)_{10}\text{C}(\text{O})\text{OH}$
TBDMSCI	tert-Butyldimethylsilylchlorid
Diin-1	Bis(trimethylsilyl)butadiin, im Handel von Gelest; Tullytown, PA, erhältlich
THF	Tetrahydrofuran
1-Bromdodecan	$\text{Br}(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$
TRAF	Tetrabutylammoniumfluorid
HMPA	Hexamethylphosphoramid
1-Bromhexadecan	$\text{Br}(\text{CH}_2)_{15}\text{CH}_3$
Methansulfonylchlorid	
CH_2Cl_2	Dichlormethan
DMF	Dimethylformamid
Oxalylchlorid	CICOOCOCl
DMPC	Dimyristoylphosphatidylcholin; im Handel von Avanti Polar Lipids, Alabaster, Al., erhältlich
ATCC	American Type Culture Collection
PDC	Pyridiniumdichromat
DMAP	4-(Dimethylamino)pyridin
KAPA	Kalium-3-aminopropylamid, hergestellt gemäß Abrams, S. R.; Shaw, A. C. Organic Syntheses, 1988, 66, 127–131.
PPS	Polypropylen
PE	Polyethylen
PTFE	Polytetrafluorethylen
PVDF	Polyvinylidenfluorid

Beispiel 1

Herstellung von $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_3\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_3$ Schritt 1: Herstellung von $\text{HO}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_3$

[0118] In einem Glas-Reaktionsgefäß wurden 600 mg 5,7-Dodecadiin-1,12-diol ($\text{HO}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{OH}$), 0,275 mL Pyridin und 10 mL THF gemischt. Zu dieser Lösung wurden 676 mg Lauroylchlorid gegeben und das resultierende Gemisch wurde 15 Stunden lang gemischt. Das Gemisch wurde dann mit Diethylether verdünnt und mit 0,1 N HCl und Kochsalzlösung gewaschen. Die organische Phase wurde abgetrennt, über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösemittel wurde entfernt, wodurch sich ein weißer Feststoff ergab. Der Feststoff wurde an Silicagel (Gradient von 25 Vol.-% bis 50 Vol.-% Ethylacetat in Hexanen) gereinigt, wodurch sich 570 mg $\text{HO}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_3$ als ein weißer Feststoff ergaben.

Schritt 2: Herstellung von $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_3\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_3$

[0119] In einem a Glas-Reaktionsgefäß wurden 377 mg $\text{HO}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_3$, das in Schritt 1 hergestellt worden war, in 3 mL DMF gelöst, und 1,32 g PDC wurden zugegeben. Das resultierende Gemisch wurde 8 Stunden lang gerührt und dann mit Wasser und Diethylether aufgearbeitet. Die vereinigten Etherphasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösemittel wurde entfernt, wodurch sich ein weißer Feststoff ergab. Der Feststoff wurde an Silicagel gereinigt, wobei mit 25/74/1 Volumenteilen Ethylacetat/Hexane/Ameisensäure eluiert wurde, wodurch sich 0,21 g $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_3\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_3$ als ein weißer Feststoff ergaben.

Beispiele 2 bis 5

Herstellung von $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_{a-1}\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_a\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_b\text{CH}_3$

[0120] Dieselbe Vorgehensweise, die in Beispiel 1 beschrieben wurde, wurde unter Verwendung des Diols und Säurechlorids in Schritt 1, die in Tabelle 2 aufgeführt sind, befolgt, wodurch sich die Verbindungen mit der allgemeinen Struktur $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_{a-1}\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_a\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_b\text{CH}_3$ ergaben (a und b sind in Tabelle 2 definiert).

Tabelle 2

Beispiel	Diol, a-Wert	Säurechlorid, b-Wert
2	$\text{HO}(\text{CH}_2)_3\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$, a = 3	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 14
3	$\text{HO}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{OH}$, a = 4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 12
4	$\text{HO}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{OH}$, a = 4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 14
5	$\text{HO}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{OH}$, a = 4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 16

BEISPIEL 6

Herstellung von $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_3$ Schritt 1: Herstellung von $\text{HO}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_3$

[0121] In einem Glas-Reaktionsgefäß wurden 4,99 g 5,7-Dodecadiin-1,12-diol ($\text{HO}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{OH}$), 2,2 g Pyridin und 50 mL THF gemischt. Zu dieser Lösung wurden 6,34 g Myristolchlorid gegeben und das resultierende Gemisch wurde 15 Stunden lang gemischt. Das Gemisch wurde dann mit Diethylether verdünnt und mit 0,1 N HCl und Kochsalzlösung gewaschen. Die organische Phase wurde abgetrennt, über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösemittel wurde entfernt, wodurch sich ein weißer Feststoff ergab. Der Feststoff wurde an Silicagel (Gradient 15 Vol.-% bis 100% Ethylacetat) gereinigt, wodurch sich 5,0 g $\text{HO}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_3$ als ein weißer Feststoff ergaben.

Schritt 2: Herstellung von $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_3$

[0122] In einem verschließbaren Rohr wurden 1,41 g $\text{HO}(\text{CH}_2)_3\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_3$, das in Schritt 1 hergestellt worden war, 0,435 g Bernsteinsäureanhydrid, 13 mL Toluol und 0,106 g DMAP vereinigt, und das Rohr wurde verschlossen. Das Gemisch wurde 14,5 Stunden lang auf 105°C erhitzt, der Ansatz wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, 0,15 mL Wasser wurden zugegeben, das Rohr wurde wieder verschlossen und erneut 30 Minuten lang auf 105°C erhitzt. Das Gemisch wurde dann mit Diethylether verdünnt und mit 0,1 N HCl und Kochsalzlösung gewaschen. Die organische Phase wurde abgetrennt, über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösemittel wurde entfernt, wodurch sich ein weißer Feststoff ergab. Der Feststoff wurde an Silicagel gereinigt, wobei mit 10/89/1 Volumenteilen Ethylacetat/Dichlormethan/Ameisensäure eluiert wurde, wodurch sich 1,70 g $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_3$ als ein weißer Feststoff ergaben.

Beispiele 7 bis 17

Herstellung von $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_a\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_a\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_b\text{CH}_3$

[0123] Dieselbe Vorgehensweise, die in Beispiel 6 beschrieben wurde, wurde unter Verwendung des Diols und Säurechlorids in Schritt 1, die in Tabelle 3 aufgeführt sind, befolgt, wodurch sich die Verbindungen mit der allgemeinen Struktur $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_a\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_a\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_b\text{CH}_3$ ergaben (a und b sind in Tabelle 3 definiert).

Tabelle 3

Beispiel	Diol, a-Wert	Säurechlorid, b-Wert
7	$\text{HO}(\text{CH}_2)_2\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, a = 2	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 10
8	$\text{HO}(\text{CH}_2)_2\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, a = 2	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 12
9	$\text{HO}(\text{CH}_2)_2\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, a = 2	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 14
10	$\text{HO}(\text{CH}_2)_2\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, a = 2	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 16
11	$\text{HO}(\text{CH}_2)_3\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$, a = 3	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 10
12	$\text{HO}(\text{CH}_2)_3\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$, a = 3	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 12
13	$\text{HO}(\text{CH}_2)_3\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_3\text{CH}$, a = 3	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 14
14	$\text{HO}(\text{CH}_2)_3\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$, a = 3	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 16
15	$\text{HO}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{OH}$, a = 4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 10
16	$\text{HO}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{OH}$, a = 4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 14
17	$\text{HO}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{OH}$, a = 4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 16

BEISPIEL 18

Herstellung von $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_5\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_5\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_3$ Schritt 1: Herstellung von $\text{HO}(\text{CH}_2)_5\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_5\text{OH}$

[0124] $\text{HO}(\text{CH}_2)_5\text{C}\equiv\text{CH}$ wurde mit der durch KAPA geförderten Isomerisierung von $\text{HOCH}_2\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$, das gemäß Miller, J. G.; Oehlschlager, A. C. J. Org. Chem. 1984, 49, 2332–2338, hergestellt wurde, oder $\text{HO}(\text{CH}_2)_2\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$ (im Handel von GFS Chemicals erhältlich; Powell, OH) hergestellt. Die oxidative Kupplung von $\text{HO}(\text{CH}_2)_5\text{C}\equiv\text{CH}$ wurde in einem Glas-Reaktionsgefäß durch Auflösen von 6,95 g $\text{HO}(\text{CH}_2)_5\text{C}\equiv\text{CH}$ in Pyridin/Methanol (2,0 mL/6,2 mL) und Zugeben von 307 g CuCl, gefolgt von Röhren in Gegenwart von Sauerstoff durchgeführt, bis alles Ausgangsmaterial verbraucht war. Das Reaktionsgemisch wurde mit Diethylether und 4 N HCl aufgearbeitet, die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, filtriert und eingeeengt. Umkristallisieren des Rückstands aus 1/1 Hexane/tert-Butyl-methyl-ether er gab 5,35 g $\text{HO}(\text{CH}_2)_5\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_5\text{OH}$.

Schritt 2: Herstellung von $\text{HO}(\text{CH}_2)_5\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_5\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_3$

[0125] Dieselbe Vorgehensweise, die in Beispiel 6, Schritt 1 beschrieben wurde, wurde befolgt, ausgenommen dass an Stelle von 5,7-Dodecadiin-1,12-diol das im vorstehenden Schritt 1 hergestellte Diol verwendet wurde.

Schritt 3: Herstellung von $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_5\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_5\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_3$

[0126] Dieselbe Vorgehensweise, die in Beispiel 6, Schritt 2 beschrieben wurde, wurde befolgt.

Beispiele 19 bis 21

Herstellung von $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_5\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_5\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_b\text{CH}_3$

[0127] Dieselbe Vorgehensweise, die in Beispiel 18 beschrieben wurde, wurde unter Verwendung des Diols und Säurechlorids in Schritt 2, die in Tabelle 4 aufgeführt sind, befolgt, wodurch sich die Verbindungen mit der allgemeinen Struktur $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_5\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_5\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_b\text{CH}_3$ ergaben (b ist in Tabelle 4 definiert).

Tabelle 4

Beispiel	Diol	Säurechlorid, b-Wert
19	$\text{HO}(\text{CH}_2)_5\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_5\text{OH}$	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 12
20	$\text{HO}(\text{CH}_2)_5\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_5\text{OH}$	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 14
21	$\text{HO}(\text{CH}_2)_5\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_5\text{OH}$	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 16

Beispiele 22 bis 25

Herstellung von $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_6\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_b\text{CH}_3$

[0128] Dieselbe Vorgehensweise, die in Beispiel 18, Schritt 1 beschrieben wurde, wurde befolgt, wodurch das Diol $\text{HO}(\text{CH}_2)_6\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$ ausgehend von 1-Heptin hergestellt wurde. Die übrige Vorgehensweise für Beispiel 18 wurde unter Verwendung des Diols und Säurechlorids in Schritt 2, die in Tabelle 5 aufgeführt sind, befolgt, wodurch sich die Verbindungen mit der allgemeinen Struktur $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_6\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_b\text{CH}_3$ ergaben (b ist in Tabelle 5 definiert).

Tabelle 5

Beispiel	Diol	Säurechlorid, b-Wert
22	$\text{HO}(\text{CH}_2)_6\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 10
23	$\text{HO}(\text{CH}_2)_6\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 12
24	$\text{HO}(\text{CH}_2)_6\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 14
25	$\text{HO}(\text{CH}_2)_6\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, b = 16

Beispiele 26 bis 29

Herstellung von $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_7\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_7\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_b\text{CH}_3$

[0129] Dieselbe Vorgehensweise, die in Beispiel 18, Schritt 1 beschrieben wurde, wurde befolgt, wodurch das Diol $\text{HO}(\text{CH}_2)_7\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_7\text{OH}$ ausgehend von 1-Octin hergestellt wurde. Die übrige Vorgehensweise für Beispiel 18 wurde unter Verwendung des Diols und Säurechlorids in Schritt 2, die in Tabelle 6 aufgeführt sind, befolgt, wodurch sich die Verbindungen mit der allgemeinen Struktur $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_7\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_7\text{O}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_b\text{CH}_3$ ergaben (b ist in Tabelle 6 definiert).

Tabelle 6

Beispiel	Diol	Säurechlorid
26	HO(CH ₂) ₇ C≡C-C≡C(CH ₂) ₇ OH	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ C(O)Cl, b = 10
27	HO(CH ₂) ₇ C≡C-C≡C(CH ₂) ₇ OH	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ C(O)Cl, b = 12
28	HO(CH ₂) ₇ C≡C-C≡C(CH ₂) ₇ OH	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ C(O)Cl, b = 16

Beispiele 29 bis 32

Herstellung von HO(O)C(CH₂)₂C(O)O(CH₂)₉C≡C-C≡C(CH₂)₉O(O)C(CH₂)_bCH₃

[0130] Dieselbe Vorgehensweise, die in Beispiel 18, Schritt 1 beschrieben wurde, wurde befolgt, wodurch das Diol HO(CH₂)₉C≡C-C≡C(CH₂)₉OH ausgehend von 1-Decin hergestellt wurde. Die übrige Vorgehensweise für Beispiel 18 wurde unter Verwendung des Diols und Säurechlorids in Schritt 2, die in Tabelle 7 aufgeführt sind, befolgt, wodurch sich die Verbindungen mit der allgemeinen Struktur HO(O)C(CH₂)₂C(O)O(CH₂)₉C≡C-C≡C(CH₂)₉O(O)C(CH₂)_bCH₃ ergaben (b ist in Tabelle 7 definiert).

Tabelle 7

Beispiel	Diol	Säurechlorid, b-Wert
29	HO(CH ₂) ₉ C≡C-C≡C(CH ₂) ₉ OH	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ C(O)Cl, b = 10
30	HO(CH ₂) ₉ C≡C-C≡C(CH ₂) ₉ OH	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ C(O)Cl, b = 12
31	HO(CH ₂) ₉ C≡C-C≡C(CH ₂) ₉ OH	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ C(O)Cl, b = 14
32	HO(CH ₂) ₉ C≡C-C≡C(CH ₂) ₉ OH	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ C(O)Cl, b = 16

Beispiel 33

Herstellung von HO(O)C(CH₂)₃C(O)O(CH₂)₄C≡C-C≡C(CH₂)₄O(O)C(CH₂)₁₂CH₃

[0131] Dieselbe Vorgehensweise, die in Beispiel 6 beschrieben wurde, wurde befolgt, ausgenommen dass in Schritt 2 Glutarsäureanhydrid an Stelle von Bernsteinsäureanhydrid verwendet wurde.

Beispiel 34

Herstellung von HO(O)CHC=CHC(O)O(CH₂)₄C≡C-C≡C(CH₂)₄O(O)C(CH₂)₁₄CH₃

[0132] Dieselbe Vorgehensweise, die in Beispiel 6 beschrieben wurde, wurde befolgt, ausgenommen dass in Schritt 1 CH₃(CH₂)₁₄C(O)Cl an Stelle von CH₃(CH₂)₁₂C(O)Cl verwendet wurde und in Schritt 2 Maleinsäureanhydrid an Stelle von Bernsteinsäureanhydrid verwendet wurde.

Beispiel 35

Herstellung von HO(O)C(1,2-C₆H₄)C(O)O(CH₂)₄C≡C-C≡C(CH₂)₄O(O)C(CH₂)₁₂CH₃

[0133] Dieselbe Vorgehensweise, die in Beispiel 6 beschrieben wurde, wurde befolgt, ausgenommen dass in Schritt 2 Phthalsäureanhydrid an Stelle von Bernsteinsäureanhydrid verwendet wurde.

Beispiel 36

Herstellung von HO(O)C(CH₂)₂C(O)O(CH₂)₄C≡C-C≡C(CH₂)₄O(CH₂)₁₁CH₃Schritt 1: Herstellung von HO(CH₂)₄C≡C-C≡C(CH₂)₄O(CH₂)₁₁CH₃

[0134] In einem Glas-Reaktionsgefäß wurde eine Suspension von 120 mg Natriumhydrid in 10 mL trockenem DMF hergestellt, und 972 mg 5,7-Dodecadiin-1,12-diol (HO(CH₂)₄C≡C-C≡C(CH₂)₄OH) wurden zugegeben. Nach 5 Minuten Rühren wurden 1,31 g CH₃(CH₂)₁₁Br zugegeben, und das resultierende Gemisch wurde 15

Stunden lang gerührt. Das Gemisch wurde dann durch Zugabe von gesättigter NH_4Cl -Lösung gequencht und mit 100 mL Diethylether verdünnt. Die organische Phase wurde abgetrennt und 3-mal mit Kochsalzlösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösemittel wurde entfernt, wodurch sich ein gelbes Öl ergab. Das Öl wurde an Silicagel (Gradient 25 Vol.-% bis 35 Vol.-% Ethylacetat in Hexan) gereinigt, wodurch sich 606 mg $\text{HO}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{O}(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ als ein weißer Feststoff ergaben.

Schritt 2: Herstellung von $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{O}(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$

[0135] In einem verschließbaren Rohr wurden 181 mg $\text{HO}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{O}(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$, das in Schritt 1 hergestellt worden war, 63 mg Bernsteinsäureanhydrid, 2 mL Toluol und 15 mg DMAP vereinigt, und das Rohr wurde verschlossen. Das Gemisch wurde 16 Stunden lang auf 110°C erhitzt, der Ansatz wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, 3 Tropfen Wasser wurden zugegeben, das Rohr wurde wieder verschlossen und erneut 30 Minuten lang auf 110°C erhitzt. Das Gemisch wurde dann mit Diethylether verdünnt und mit 0,1 N HCl und Kochsalzlösung gewaschen. Die organische Phase wurde abgetrennt, über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösemittel wurde entfernt, wodurch sich ein weißer Feststoff ergab. Der Feststoff wurde an Silicagel gereinigt, wobei mit 10/89/1 Volumenteilen Ethylacetat/Dichlormethan/Ameisensäure eluiert wurde, wodurch sich $\text{HO}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_4\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{O}(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ als ein weißer Feststoff ergab.

Beispiele 37 bis 41

Herstellung von $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_a\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_a\text{O}(\text{CH}_2)_b\text{CH}_3$

[0136] Dieselbe Vorgehensweise, die in Beispiel 37 beschrieben wurde, wurde unter Verwendung des Diols und Säurebromids in Schritt 1, die in Tabelle 8 aufgeführt sind, befolgt, wodurch sich die Verbindungen mit der allgemeinen Struktur $\text{HO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_a\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_a\text{O}(\text{CH}_2)_b\text{CH}_3$ ergaben (a und b sind in Tabelle 8 definiert).

Tabelle 8

Beispiel	Diol, a-Wert	Alkylbromid, b-Wert
37	$\text{HO}(\text{CH}_2)_2\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, a = 4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_b\text{Br}$, b = 13
38	$\text{HO}(\text{CH}_2)_2\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, a = 4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_b\text{Br}$, b = 15
39	$\text{HO}(\text{CH}_2)_2\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, a = 4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_b\text{Br}$, b = 17
40	$\text{HO}(\text{CH}_2)_2\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, a = 5	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_b\text{Br}$, b = 11
41	$\text{HO}(\text{CH}_2)_3\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$, a = 5	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_b\text{Br}$, b = 13

Beispiel 42

[0137] Eine Probe von 10,1 mg der Verbindung, die in Beispiel 6 hergestellt worden war, wurde in ein Glasgefäß gegeben und in 5 mL Isopropanol suspendiert. Das Gemisch wurde zum Sieden erhitzt und 10 mL 70°C warmes Wasser wurden zugegeben. Die resultierende Lösung wurde gekocht, bis die Temperatur 95°C erreicht hatte, was anzeigen, dass alles Isopropanol abgekocht war. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur und dann 16 Stunden lang auf 4°C abgekühlt. Ein 2-mL-Aliquot der Lösung wurde 10 Minuten lang mit Licht von 254 nm belichtet, was eine dunkelblaue Farbe ergab, die darauf schließen ließ, dass Polymerisation eingetreten war.

Beispiel 43

Nachweis eines Membranpeptids in Lösung

[0138] Eine Probe von 1,0 mM Konzentration an Diacetylenmonomer, wie in Beispiel 6 hergestellt, und DMPC

(6:4) in Tris-Puffer (2 mM, pH-Wert = 8,5) wurde in einem Glasgefäß hergestellt, im Bad in einem Bronson Modell #1510 Bad-Beschallungsgerät (im Handel von VWR Scientific Products; West Chester, PA, erhältlich) 30 Minuten lang beschallt und etwa 16 Stunden lang in einen Kühlschrank bei 4°C gegeben. Die Probe wurde dann durch einen 1,2-µm-Spritzenfilter filtriert und durch 10 Minuten Bestrahlung der Probe unter einer 254-nm-UV-Lampe (im Handel von VWR Scientific Products; West Chester, PA, erhältlich) bei einem Abstand von 3 cm polymerisiert. Die Polymerisation führt zu der Beobachtung einer deutlichen, bläulich-purpurnen Farbe.

[0139] Die Nachweiseigenschaft der Lösung wurde durch die Zugabe von –80 µL einer Polymyxin-B-sulfat-Lösung (10.050 Einheiten/mL) zur Probe bestimmt. Dies führte zu einer raschen kolorimetrischen Antwort, die leicht visuell als eine Änderung von blau nach rot bestimmt und durch UV-Vis-Spektroskopie als eine Verschiebung von einer maximalen Extinktion bei 640 nm zu einer maximalen Extinktion bei 540 nm in Spektren, die nach einer Stunde bei Raumtemperatur aufgenommen wurden, quantifiziert werden konnte.

Beispiel 44

Nachweis eines Membranpeptids auf einem Substrat

[0140] Das polymerisierte PDA/DMPC-Gemisch, das in Beispiel 43 hergestellt wurde, wurde auf ein Stück einer Umkehrphasen-C-18-Silicagelplatte aufgetragen. Die Lösung wurde auf die Platte getüpfelt und konnte bei Raumtemperatur trocknen, was zu blauen Punkten auf der Testplatte führte. Um diese Festzustandsform des Sensors zu testen, wurde eine Testlösung (40 µL) Polymyxin-B-sulfat (10.050 Einheiten/mL) zum Probenpunkt gegeben. Dies führte zu einer unmittelbaren (< 15 Sekunden) Farbänderung von blau nach rosa. Ein Kontrolltest unter Verwendung von lediglich milli-Q-Wasser (50 µL) zeigte keine Farbänderung.

Beispiel 45

Nachweis von Peptid-Membran-Wechselwirkungen in Lösung

[0141] Ein Gemisch des Diacetylenmonomers aus Beispiel 6 und DMPC (6:4) wurde in eine Ampulle abgewogen und in Tris-Puffer (2 mM, pH-Wert = 8,5) suspendiert, wodurch sich eine Lösung mit 1 mM Konzentration ergab, und eine polymerisierte Nachweislösung wurde wie in Beispiel 43 hergestellt.

[0142] Die Nachweiseigenschaft der Lösung wurde durch die Zugabe von –50 µL einer 1 mM Mellitinlösung zur Probe bestimmt. Dies führte zu einer raschen kolorimetrischen Antwort, die leicht visuell als eine Änderung von blau nach rot bestimmt und durch UV-Vis-Spektroskopie als eine Verschiebung von einer maximalen Extinktion bei 640 nm zu einer maximalen Extinktion bei 540 nm in Spektren, die nach einer Stunde bei Raumtemperatur aufgenommen wurden, quantifiziert werden konnte.

Beispiel 46

Nachweis von Peptid-Membran-Wechselwirkungen auf einem Substrat

[0143] Eine Testplatte wurde unter Verwendung der polymerisierten Nachweislösung aus Beispiel 45 unter Verwendung derselben Vorgehensweise wie in Beispiel 44 hergestellt. Mehrere Punkte (jeweils 40 µL) der polymerisierten Lösungen wurden auf ein Stück einer Umkehrphasen-C-18-Silicagelplatte gegeben. Die Lösungen konnten bei Raumtemperatur trocknen, was zu blauen Punkten führte. Um die Fähigkeit der Substrate, Peptide nachzuweisen, zu testen, wurden zwei Proben, die 15 bzw. 30 nanomol Mellitin enthielten, zu den verschiedenen Punkten auf der Testplatte gegeben. Dies führte zu einer unmittelbaren (< 15 Sekunden) Farbänderung von blau nach rot. Kontrollproben von milli-Q-Wasser, die auf getrennte Testpunkte getüpfelt wurden, zeigten keine Farbänderung.

Beispiel 47

Nachweis von enzymatischer Grenzflächenkatalyse durch Phospholipase A2 in Lösung

[0144] Eine Nachweislösung wurde wie in Beispiel 45 hergestellt. Die Nachweiseigenschaften der Lösungen wurden durch die Zugabe von –50 µL 75 µM Phospholipase-A2-Lösung zu jeder der Proben bestimmt. Dies führte zu einer kolorimetrischen Antwort, die leicht visuell als eine Änderung von blau nach rot bestimmt und durch UV-Vis-Spektroskopie als eine Verschiebung von einer maximalen Extinktion bei 640 nm zu einer maxi-

malen Extinktion bei 540 nm in Spektren, die nach einer Stunde bei Raumtemperatur aufgenommen wurden, quantifiziert werden konnte.

Beispiel 48

Versuchter Nachweis von Peptid-Membran-Wechselwirkungen unter Verwendung von im Handel erhältlichen Diacetylenmonomeren auf einem Substrat

[0145] Gemische aus im Handel erhältlicher 10,12-Tricosadiinsäure (erhältlich von GFS Chemicals; Powell, OH) und DMPC (6:4) wurden verwendet, um eine Nachweislösung und Testplatte wie in Beispiel 44 zu erzeugen. Die Polymerisation führte zu der Beobachtung einer deutlichen, bläulich-purpurnen Farbe. Beim Tüpfeln der Nachweislösung auf die Testplatten trockneten einige der Lösungen, was zu einer Farbänderung zu einem roten Punkt führte, während andere Proben zu einem blau gefärbten Punkt trockneten.

[0146] Um die Nachweiseigenschaften für die Peptid-Membran-Wechselwirkung der polymerisierten Aggregate auf einem Substrat zu testen, wurden 30 nanomol Mellitin (im Handel von Sigma Aldrich; St. Louis, MO, erhältlich) zu den Punkten gegeben, die zu einer blauen Farbe getrocknet waren. Dies führte entweder zu keiner Farbänderung oder einem fleckigen Aussehen, das eine CR von weniger als 5% in Abhängigkeit von der Herstellung der Lösung widerspiegeln.

Beispiel 49

Versuchter Nachweis von Peptid-Membran-Wechselwirkungen unter Verwendung von im Handel erhältlichen Diacetylenmonomeren auf einem 2-D-Substrat

[0147] Beispiel 48 wurde wiederholt, ausgenommen dass, um die Nachweiseigenschaften für die Peptid-Membran-Wechselwirkung der polymerisierten Aggregate auf einem Substrat zu testen, 50 µL Polymyxin-B-sulfat-Lösung (10.050 Einheiten/mL) zu jedem der Punkte auf der Testplatte gegeben wurden. Dies führte zu einem fleckigen Aussehen, das eine CR von weniger als 5% Farbänderung in Abhängigkeit von der Herstellung der Lösung widerspiegeln.

Beispiel 50

Indirekter Nachweis von E. coli auf einem Substrat

[0148] Die Testplatten wurden wie in Beispiel 46 hergestellt.

[0149] Um den Nachweis von E. coli zu testen, wurde eine Polymyxin-B-sulfat-Lösung (10.050 Einheiten/mL) zu einer Ampulle, die lediglich milli-Q-Wasser enthielt, und zu einer Ampulle, die eine Suspension von E. coli [ATCC25922, ~10⁹ Bakterien/mL in milli-Q-Wasser] enthielt, gegeben. Nachdem die zwei Proben 30 Minuten stehen gelassen worden waren, wurden sie durch einen 0,45-µm-Spritzenfilter filtriert und 40 µL von jedem der Eluenten wurden auf getrocknete Punkte des Sensorgemisches gegeben. Nach 15 Minuten wurde die Flüssigkeit entfernt und die Platten wurden untersucht. Die Probe mit keinen E. coli und lediglich Polymyxin B zeigte eine Farbänderung nach rot, während diejenigen Proben mit sowohl E. coli als auch Polymyxin B keine dramatische Farbänderung zeigten.

Beispiel 51

Nachweis von E. coli in einer biologischen Flüssigkeit auf einem Substrat

[0150] Ein Gemisch aus Diacetylenmonomer, wie in Beispiel 6 hergestellt, und DMPC (6:4) wurde in eine Ampulle abgewogen und in HEPES-Puffer (5 mM, pH-Wert = 7,2) suspendiert, wodurch eine 1 mM Lösung hergestellt wurde. Die Lösung wurde dann mit einer Sonde unter Verwendung eines Modell XL2020 Sonden-Beschallungsgeräts (im Handel von Misonix, Inc.; Farmington, NY, erhältlich) 1 Minute lang bei einer Leistungseinstellung von 5 beschallt und über Nacht (~16 Stunden) in einen Kühlschrank bei 4°C gegeben. Die Probe wurde durch einen 1,2-µm-Spritzenfilter filtriert, und die Polymerisation einer gerührten Lösung wurde durch 20 Minuten Bestrahlung der Probe unter einer 254-nm-UV-Lampe bei einem Abstand von 3 cm erreicht, was zu der Beobachtung einer blauen Farbe führte. Unter Verwendung einer Spritze wurden mehrere Punkte (jeweils 40 µL) der polymerisierten Lösung auf ein Stück einer Umkehrphasen-C-18-Silicagelplatte gegeben. Die Punkte konnten bei Raumtemperatur trocknen, was zu blauen Punkten führte. Um den Nachweis von E. coli zu tes-

ten, wurde eine Polymyxin-B-sulfat-Lösung (10.050 Einheiten/mL) zu einer Lösung von menschlichem Urin und einer Lösung von menschlichem Urin, die mit *E. coli* [ATCC25922, $\sim 10^9$ Bakterien/mL in milli-Q-Wasser] verseucht war, gegeben. Nachdem die Proben 30 Minuten lang bei 37°C inkubiert worden waren, wurden die Proben auf Raumtemperatur abgekühlt und 40 µL jedes Eluenten wurden auf einen getrockneten Punkt der PDA/DMPC-Lösung gegeben. Nach 40 Minuten wurde die Flüssigkeit entfernt und die Platten wurden untersucht. Die Punkte zeigten eine wesentliche Farbänderung für die Probe mit keinen *E. coli* und lediglich vorhandenem Polymyxin B, während die Probe mit *E. coli* und vorhandenem Polymyxin B wenig Änderung der Farbe zeigte.

Beispiel 52

Nachweis von Lipopolysaccharid auf einem Substrat

[0151] Gemische aus Diacetylenmonomer, wie in Beispiel 6 hergestellt, und DMPC (6:4) wurden in Ampullen abgewogen und in HEPES-Puffer (5 mM, pH-Wert = 7,2) suspendiert, wodurch eine 1 mM Lösung hergestellt wurde. Testplatten auf einer Umkehrphasen-C-18-Silicagelplatte wurden dann wie in Beispiel 43 hergestellt. Um den Nachweis von Lipopolysaccharid zu testen, wurden 1000 µL Polymyxin-B-sulfat-Lösung (628 Einheiten/mL) zu einer 1-mL-Lösung von Endotoxin-freiem Wasser und einer 1-mL-Lösung von Endotoxin-freiem Wasser, die mit Lipopolysaccharid (10.000 Einheiten/mL) verseucht war, gegeben. Nachdem die Proben 30 Minuten lang bei 37°C inkubiert worden waren, wurden die Proben auf Raumtemperatur abgekühlt und 40 µL jeder Lösung wurden auf einen getrockneten Punkt der PDA/DMPC-Lösung gegeben. Nach 60 Minuten wurde die Flüssigkeit entfernt und die Platten wurden untersucht. Die Probe ohne Lipopolysaccharid zeigte eine Farbänderung nach rot, während die Lösung mit Lipopolysaccharid und Polymyxin B keine Farbänderung zeigte.

Beispiel 53

Nachweis von Lipopolysaccharid auf einem 2-D-Substrat unter Verwendung von Glycerin

[0152] Gemische aus Diacetylenmonomer, wie in Beispiel 6 hergestellt, und Tetradecansäure-12-(4,4,-dihydroxybutyloxy)-dodeca-5,7-diinylester (1:1) wurden in Ampullen abgewogen und in HEPES-Puffer (5 mM, pH-Wert = 7,2) suspendiert, wodurch eine 1 mM Lösung hergestellt wurde. Die Lösungen wurden dann mit einer Sonde unter Verwendung eines Modell XL2020 Sonden-Beschallungsgeräts (im Handel von Misonix, Inc.; Farmington, NY, erhältlich) 1 Minute lang bei einer Leistungseinstellung von 5 beschallt und dann über Nacht (~ 16 Stunden) in einen Kühlschrank bei 4°C gegeben. Die Proben wurden durch einen 1,2-µm-Spritzenfilter filtriert, und die Polymerisation einer gerührten Lösung wurde durch 60 Sekunden Bestrahlung der Probe unter einer 254-nm-UV-Lampe bei einem Abstand von 3 cm erreicht, was zu der Beobachtung einer intensiven blauen Farbe führte. Unter Verwendung einer Spritze wurden mehrere Punkte (jeweils 40 µL) der polymerisierten Lösungen auf ein Stück einer Umkehrphasen-C-18-Silicagelplatte gegeben. Die Lösungen konnten bei Raumtemperatur trocknen, was zu blauen Punkten führte. Um den Nachweis von Lipopolysaccharid zu testen, wurde eine Polymyxin-B-sulfat-Lösung (5025 Einheiten/mL) zu einer Lösung von Endotoxin-freiem Wasser und einer Lösung von Endotoxin-freiem Wasser, die mit Lipopolysaccharid verseucht war, gegeben. Nachdem die Proben 30 Minuten lang bei 37°C inkubiert worden waren, wurden die Proben auf Raumtemperatur abgekühlt und 500 µL jeder Lösung wurden auf einen getrockneten Punkt der PDA/DMPC-Lösung gegeben. Nach 15 Minuten vorsichtigem Schütteln wurde die Flüssigkeit entfernt und die Platten wurden untersucht. Dies führte zu einer kolorimetrischen Antwort, die leicht visuell als eine Änderung von blau nach rot in Abwesenheit von Lipopolysaccharid bestimmt werden konnte.

Beispiel 54

Charakterisierung von Substraten, die geeignet sind, die aktive Phase der Polydiacetylenaggregate aufrecht zu erhalten

[0153] Um die Substrateigenschaften zu bestimmen, die in Tabelle 1 identifiziert werden, wurden Oberflächen auf die folgende Weise zur Bewertung hergestellt. Die Goldoberflächen wurden durch Aufdampfen von Gold auf einen mit Chrom grundierten polierten Siliciumwafer hergestellt. Die resultierende Oberfläche war hochgradig reflektiv bei einer mittleren quadratischen Oberflächenrauheit von weniger als 15 Å, wie durch Interatomarkraftmikroskopie (AFM) unter Verwendung des Nanoscope Command Reference Manual Version 4.42; Digital Instruments; Abschnitte 12.5 und 12.6, gemessen. Die Goldoberflächen wurden vor der Verwendung unter Verwendung eines trockenen Stickstoffstroms abgestaubt.

[0154] Die Glasoberflächen wurden durch über Nacht Reinigen in einem oxidierenden Bad (im Handel von Nochromix erhältlich), gefolgt von ausgiebigem Spülen in milli-Q-Wasser, bis das Spülwasser eine einheitliche Fläche auf der Glasoberfläche ohne Verlust der Benetzung aufrecht erhalten konnte, hergestellt. Die Glasoberflächen wurden vor der Verwendung unter Verwendung eines trockenen Stickstoffstroms abgestaubt.

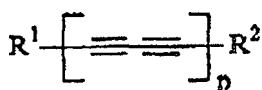
[0155] Siliciumwaferoberflächen wurden verwendet, wie erhalten, und vor der Verwendung unter Verwendung eines trockenen Stickstoffstroms abgestaubt. Oberflächen, die mit SAMS modifiziert wurden, wurden durch Eintauchen der Oberfläche in eine Lösung mit einer SAM-Konzentration von nominell 1 mM gebildet. Entweder Ethanol oder Chloroform wurden als Lösemittel verwendet. Die Eintauchdauern betrugen mindestens 24 Stunden, gefolgt von ausgedehntem Spülen mit dem reinen Lösemittel, das während der Selbstorganisation verwendet wird. Die Proben konnten dann vor den Kontaktwinkelmessungen über Nacht in einem Trockenschrank trocknen.

[0156] Alle anderen Oberflächen wurden verwendet, wie erhalten. Nach der Herstellung und Behandlung wurde jede Probe in mehrere kleinere Stücke geschnitten, von denen einige für die Kontaktwinkelmessungen und einige für die Beschichtung mit der PDA-Lösung verwendet wurden. Um die Substrate aufzutragen, wurden Gemische aus Diacetylenmonomer, wie in Beispiel 6 hergestellt, und DMPC (6:4) in Ampullen abgewogen und in HEPES-Puffer (5 mM, pH-Wert = 7,2) suspendiert, wodurch eine 1 mM Lösung hergestellt wurde. Die Lösungen wurden dann mit einer Sonde unter Verwendung eines Modell XL2020 Sonden-Beschallungsgeräts (im Handel von Misonix, Inc.; Farmington, NY, erhältlich) 1 Minute lang bei einer Leistungseinstellung von 5 beschallt und dann über Nacht (~16 Stunden) in einen Kühlschrank bei 4°C gegeben. Die Proben wurden durch einen 1,2-µm-Spritzenfilter filtriert, und eine gerührte Lösung wurde durch 20 Minuten Bestrahlung der Probe unter einer 254-nm-UV-Lampe bei einem Abstand von 3 cm polymerisiert, was zu der Beobachtung einer blauen Farbe führte. Unter Verwendung einer Spritze wurden mehrere Punkte (jeweils 40 µL) der polymerisierten Lösungen auf eine Reihe von Substraten, die in Tabelle 1 spezifiziert sind, gegeben. Die Lösungen konnten bei Raumtemperatur trocknen, und die resultierende Farbe der Punkte wurde aufgezeichnet.

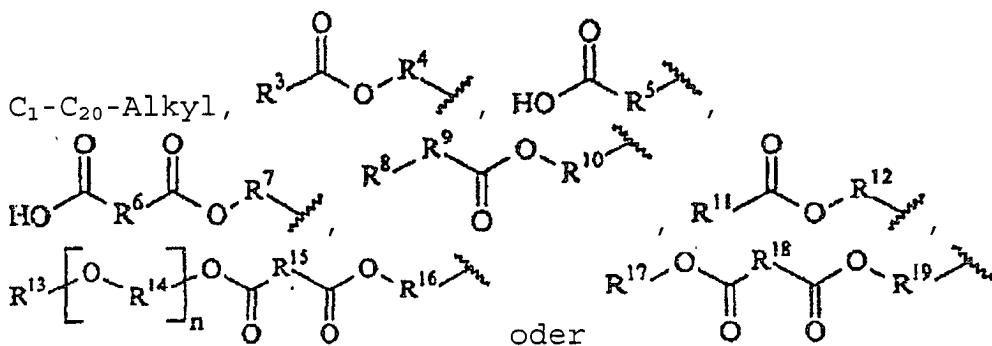
Red Phase	Rote Phase
Blue Phase	Blaue Phase
Blue Phase	Blaue Phase
Mixed Phase	Gemischte Phase
Advancing θ_{MI} (°)	Fortschreit- θ_{MI} (°)
Advancing θ_{H2O} (°)	Fortschreit- θ_{H2O} (°)
Figur 8	
Red Phase	Rote Phase
Blue Phase	Blaue Phase
Mixed Phase	Gemischte Phase
γ^P (dynes/cm)	γ^P (dyn/cm)
γ^D (dynes/cm)	γ^D (dyn/cm)

Patentansprüche

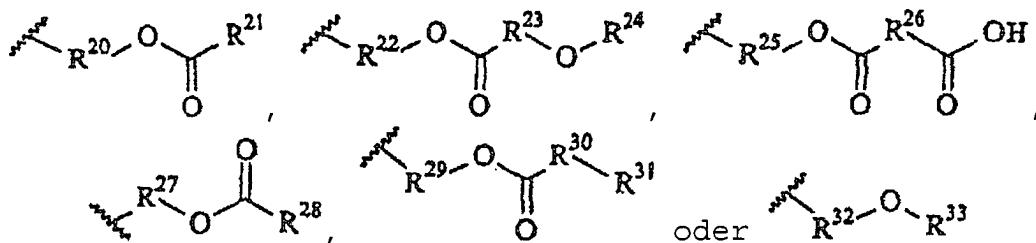
1. Kolorimetrischer Sensor zum Nachweisen eines Analyten, umfassend:
einen Rezeptor und
eine polymerisierte Zusammensetzung, umfassend mindestens eine Verbindung der Formel



wobei R¹



umfasst;
 R^2



umfasst;

$R^3, R^8, R^{13}, R^{21}, R^{24}, R^{31}$ und R^{33} unabhängig voneinander C_1-C_{20} -Alkyl sind;

$R^4, R^5, R^7, R^{14}, R^{16}, R^{19}, R^{20}, R^{22}, R^{25}$ und R^{32} unabhängig voneinander C_1-C_{14} -Alkylen sind;

R^6, R^{15}, R^{18} und R^{26} unabhängig voneinander C_1-C_{14} -Alkylen, C_2-C_8 -Alkenylen oder C_6-C_{13} -Arylen sind;

$R^9 C_1-C_{14}$ -Alkylen oder $-NR^{34}$ - ist;

R^{10}, R^{12}, R^{27} und R^{29} unabhängig voneinander C_1-C_{14} -Alkylen oder $(C_1-C_{14}$ -Alkylen)- $(C_2-C_8$ -arylen) sind;

R^{11} und R^{28} unabhängig voneinander C_2-C_{30} -Alkinylen sind;

R^{17} eine Gruppe ist, die einen Ester aktiviert;

$R^{23} C_6-C_{13}$ -Arylen ist;

$R^{30} C_1-C_{14}$ -Alkylen oder $-NR^{36}$ - ist;

R^{34} und $R^{36} C_1-C_4$ -Alkyl sind;

p 1 bis 5 ist;

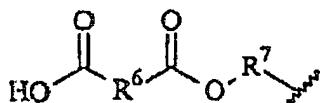
n 1 bis 20 ist;

wobei R^1 und R^2 nicht gleich sind;

wobei der Rezeptor in die polymerisierte Zusammensetzung inkorporiert ist, wodurch ein Transducer erzeugt wird; und

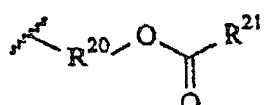
wobei der Transducer eine Farbänderung zeigt, wenn er mit einem Analyten in Kontakt gebracht wird.

2. Sensor nach Anspruch 1, wobei R^1



ist,

wobei R^7 Ethylen, Trimethylen, Tetramethylen, Pentamethylen, Hexamethylen, Heptamethylen, Octamethylen oder Nonamethylen ist und R^6 Ethylen, Trimethylen, Ethenylen oder Phenyl ist; und wobei R^2



ist,

wobei R^{20} Ethylen, Trimethylen, Tetramethylen, Pentamethylen, Hexamethylen, Heptamethylen, Octamethylen oder Nonamethylen ist und wobei R^{21} Undecyl, Tridecyl, Pentadecyl, Heptadecyl ist; und wobei p 1 ist.

3. Sensor nach Anspruch 1, wobei der Rezeptor aus der Gruppe bestehend aus Phospholipid und Glycerin gewählt ist.

4. Sensor nach Anspruch 1, wobei der Transducer in einer wässrigen Lösung dispergiert ist.
5. Sensor nach Anspruch 1, wobei der Transducer auf einem Substrat aufgetragen ist.
6. Sensor nach Anspruch 5, wobei das Substrat einen Kontaktwinkel von weniger als 50 Grad bei der Verwendung von Methyleniodid zeigt.
7. Sensor nach Anspruch 5, wobei das Substrat aus der Gruppe bestehend aus Kieselgelplatte, Papier, Glas, texturiertem Photopapier, Glanzphotopapier und mikroporösem Film gewählt ist.
8. Sensor nach Anspruch 1, wobei der Rezeptor durch physikalisches Mischen in die polymerisierte Zusammensetzung integriert ist.
9. Sensor nach Anspruch 1, wobei der Rezeptor kovalent an die polymerisierte Zusammensetzung gebunden ist.
10. Verfahren zum Nachweis eines Analyten, umfassend
Bilden des kolorimetrischen Sensors nach Anspruch 1, wobei der Rezeptor in die polymerisierte Zusammensetzung inkorporiert wird, wodurch ein Transducer erzeugt wird, der eine Farbänderung zeigen kann;
in Kontakt bringen des Sensors mit einem Analyten; und
Beobachten einer Farbänderung, wenn der Analyt vorhanden ist.
11. Verfahren zum Nachweis eines Analyten, umfassend
Bilden des kolorimetrischen Sensors nach Anspruch 1, wobei der Rezeptor in die polymerisierte Zusammensetzung inkorporiert wird, wodurch ein Transducer erzeugt wird, der eine Farbänderung zeigen kann;
in Kontakt bringen des Transducers mit einem Analyten;
in Kontakt bringen des Transducers mit einer Sonde, die eine Affinität sowohl zum Analyten als auch zum Rezeptor aufweist; und
Beobachten keiner Farbänderung, wenn der Analyt vorhanden ist.
12. Verfahren nach Anspruch 11, wobei die Sonde und der Analyt zu einem Gemisch vereinigt werden, bevor sie mit dem Transducer in Kontakt gebracht werden.
13. Verfahren nach Anspruch 11, wobei die Sonde ein Membranen spaltendes Peptid umfasst.
14. Verfahren nach Anspruch 11, wobei die Sonde aus der Gruppe bestehend aus Alamethicin, Magainin, Gramicidin, Polymyxin-B-sulfat und Melittin gewählt wird.
15. Verfahren nach Anspruch 11, wobei der Analyt aus der Gruppe bestehend aus gramnegativen Bakterien und Endotoxin gewählt wird.
16. Einmal-Kit zum Nachweisen des Vorhandenseins eines Analyten, umfassend:
einen oder mehrere Transducer, umfassend den kolorimetrischen Sensor nach Anspruch 1; und
ein Mittel zum in Kontakt bringen des Transducers mit einem Analyten.
17. Kit nach Anspruch 16, ferner umfassend eine oder mehrere Sonden mit einer Affinität zum Rezeptor und einem oder mehreren Analyten; wobei die Sonde vom Transducer physikalisch getrennt ist, bis der Kit verwendet wird.
18. Kit nach Anspruch 16, wobei ein oder mehrere Transducer in einer wässrigen Lösung dispergiert sind.
19. Kit nach Anspruch 16, wobei ein oder mehrere Transducer auf einem Substrat aufgetragen sind, wodurch eine Anordnung erzeugt wird.
20. Verfahren zum Nachweisen des Vorhandenseins von Bakterien in einer Körperflüssigkeit, umfassend den Schritt des in Kontakt bringens des Sensors nach Anspruch 1 mit einer Körperflüssigkeit.
21. Kolorimetrischer Sensor nach Anspruch 1, ferner umfassend einen diagnostischen Test zum Nachweisen von Leukozyten.

22. Verfahren zum Nachweisen des Vorhandenseins von Bakterien in einer Körperflüssigkeit, umfassend den Schritt des in Kontakt bringens des Sensors nach Anspruch 21 mit einer Körperflüssigkeit.
23. Verfahren nach Anspruch 20 oder 21, wobei die Körperflüssigkeit aus der Gruppe bestehend aus Urin, Mukus, Wundexsudat und Blut gewählt wird.
24. Medizinischer Gegenstand, umfassend einen Wundverband und den kolorimetrischen Sensor nach Anspruch 1.
25. Medizinischer Gegenstand nach Anspruch 24, wobei der kolorimetrische Sensor mit dem Wundbett durch ein Fluidkontrollsysteem verbunden ist.
26. Medizinischer Gegenstand nach Anspruch 25, wobei das Fluidkontrollsysteem ein mikrofluidisches System ist.
27. Verfahren zum Nachweisen des Vorhandenseins von Bakterien, wobei das Verfahren den Schritt des Einfügens des kolorimetrischen Sensors nach Anspruch 1 in einen Wundverband umfasst.

Es folgen 3 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

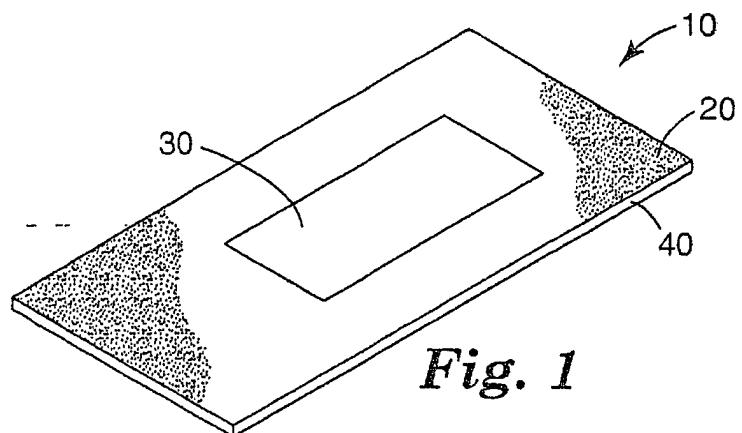


Fig. 1

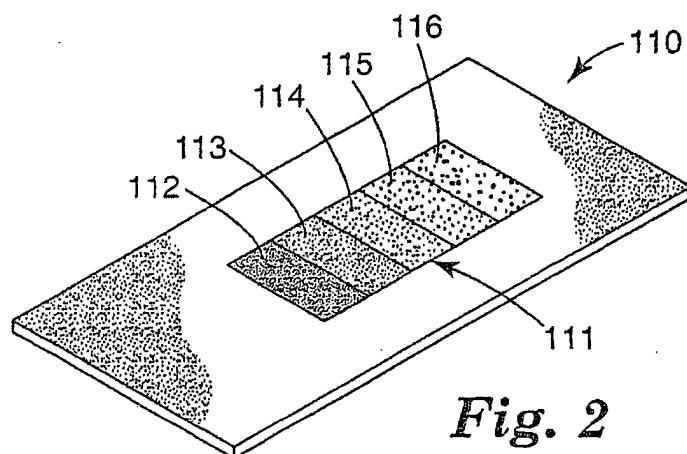


Fig. 2

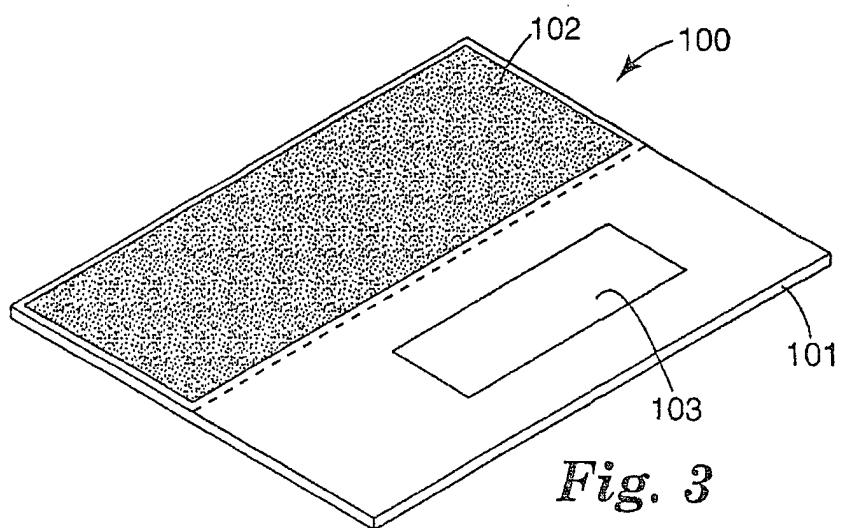


Fig. 3

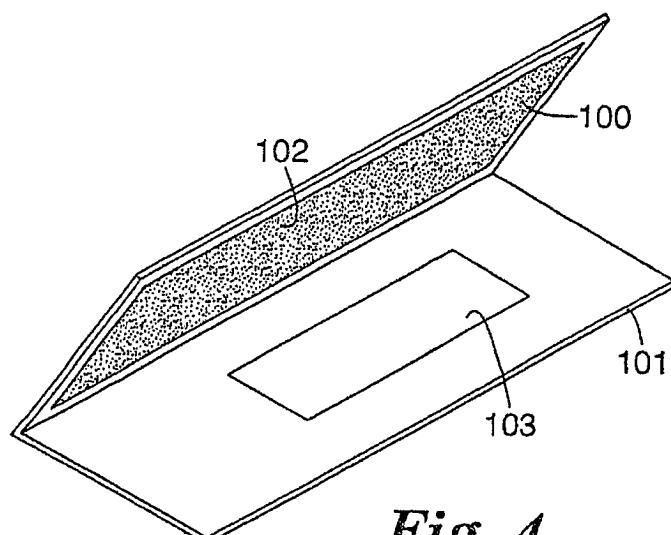


Fig. 4

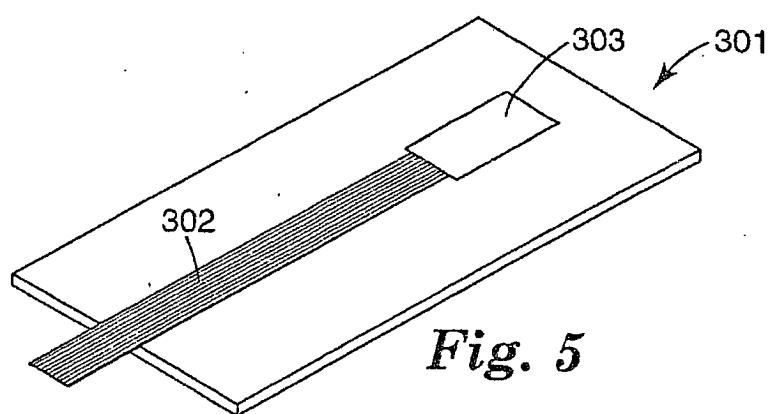


Fig. 5

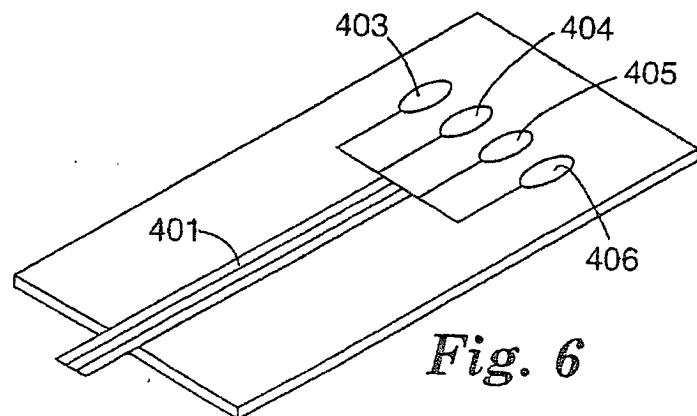


Fig. 6

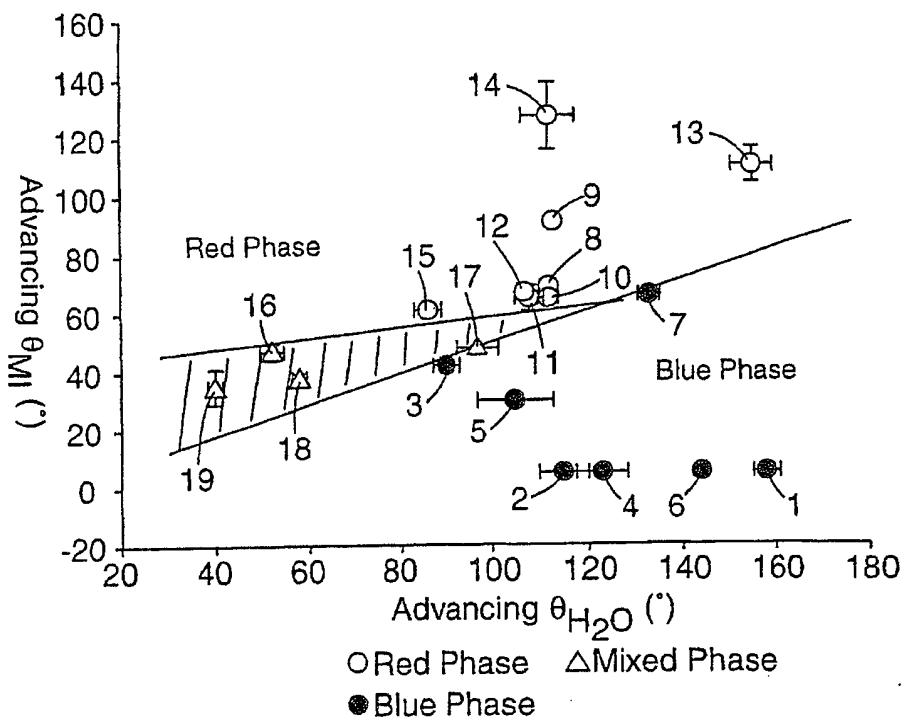


Fig. 7

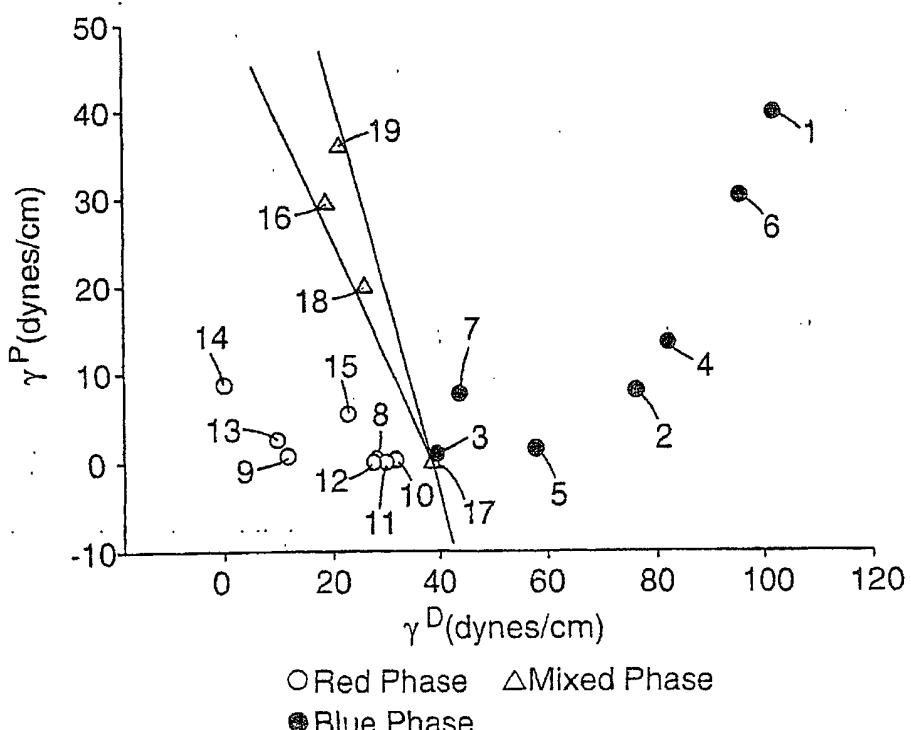


Fig. 8

Figur 7	
Red Phase	Rote Phase