



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년04월26일

(11) 등록번호 10-2525252

(24) 등록일자 2023년04월20일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07F 9/6561 (2006.01) *C09B 69/10* (2006.01)
C09K 11/06 (2006.01) *G01N 1/30* (2006.01)
G01N 15/10 (2006.01) *G01N 21/64* (2006.01)
G01N 33/58 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07F 9/6561 (2013.01)
C09B 69/102 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2018-7031703
- (22) 출원일자(국제) 2017년03월31일
 심사청구일자 2020년03월30일
- (85) 번역문제출일자 2018년10월31일
- (65) 공개번호 10-2018-0129896
- (43) 공개일자 2018년12월05일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2017/025513
- (87) 국제공개번호 WO 2017/173348
 국제공개일자 2017년10월05일
- (30) 우선권주장
 62/316,836 2016년04월01일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
 JP2013511700 A
 W02015027176 A1
 W02010055789 A1
- (73) 특허권자
 소니그룹주식회사
 일본국 도쿄도 미나토쿠 코난 1-7-1
 소니 코퍼레이션 오브 아메리카
 미국 10010 뉴욕주 뉴욕 매디슨 애비뉴 25
- (72) 발명자
 매트레이 트레이시
 미국 워싱턴주 98296 스노호미시 78번 애비뉴 사
 우스이스트 15233
 싱 샤라트
 미국 캘리포니아주 92067 랜초 산타 페 탑 오 모
 닝 웨이 8171
 밴브런트 마이클
 미국 워싱턴주 98042 커빙턴 사우스이스트 261번
 스트리트 16619
- (74) 대리인
 장훈

전체 청구항 수 : 총 15 항

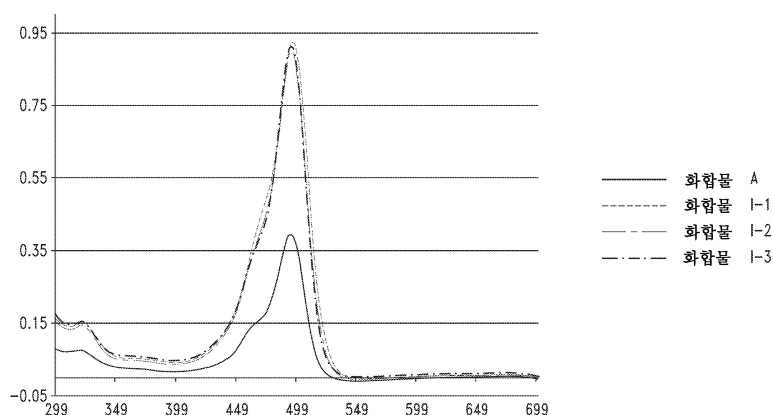
심사관 : 박수진

(54) 발명의 명칭 강성 공간군을 갖는 매우 밝은 이량체성 또는 중합체성 염료

(57) 요약

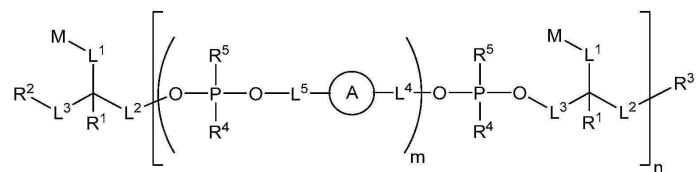
본 발명은 형광 또는 착색 염료로 유용한 화합물에 관한 것이다. 이 화합물은 하기 화학식 (I), 또는 이의 입체 (뒷면에 계속)

대표도



이성체, 호변이성체, 또는 염을 갖는다.

화학식 (I)



여기서, $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, L^1, L^2, L^3, L^4, L^5, A, M, m$ 및 n 은 본원에 정의된 바와 같다. 이 화합물의 제조와 관련된 방법 및 용도가 또한 제공된다.

(52) CPC특허분류

C09B 69/103 (2013.01)

C09B 69/109 (2013.01)

C09K 11/06 (2022.01)

G01N 1/30 (2013.01)

G01N 21/6428 (2013.01)

G01N 33/583 (2013.01)

G01N 2015/1006 (2013.01)

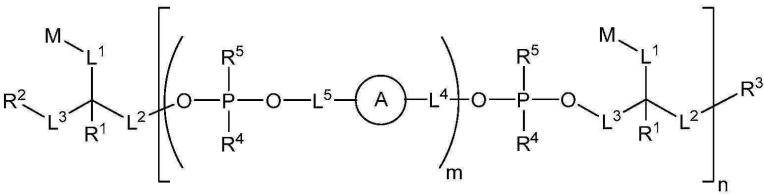
명세서

청구범위

청구항 1

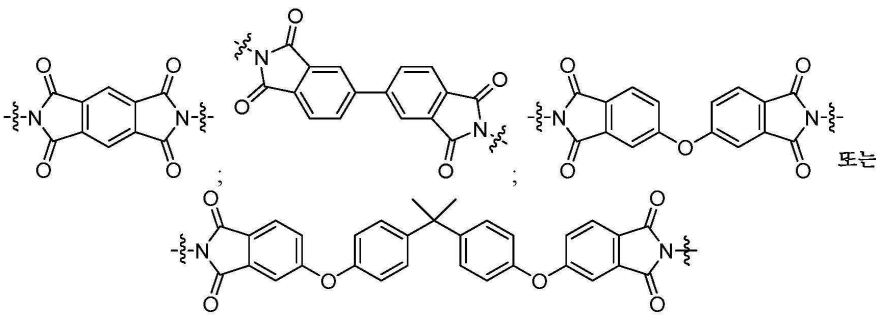
화학식 (I)의 화합물, 또는 이의 입체이성체, 염 또는 호변이성체:

화학식 (I)

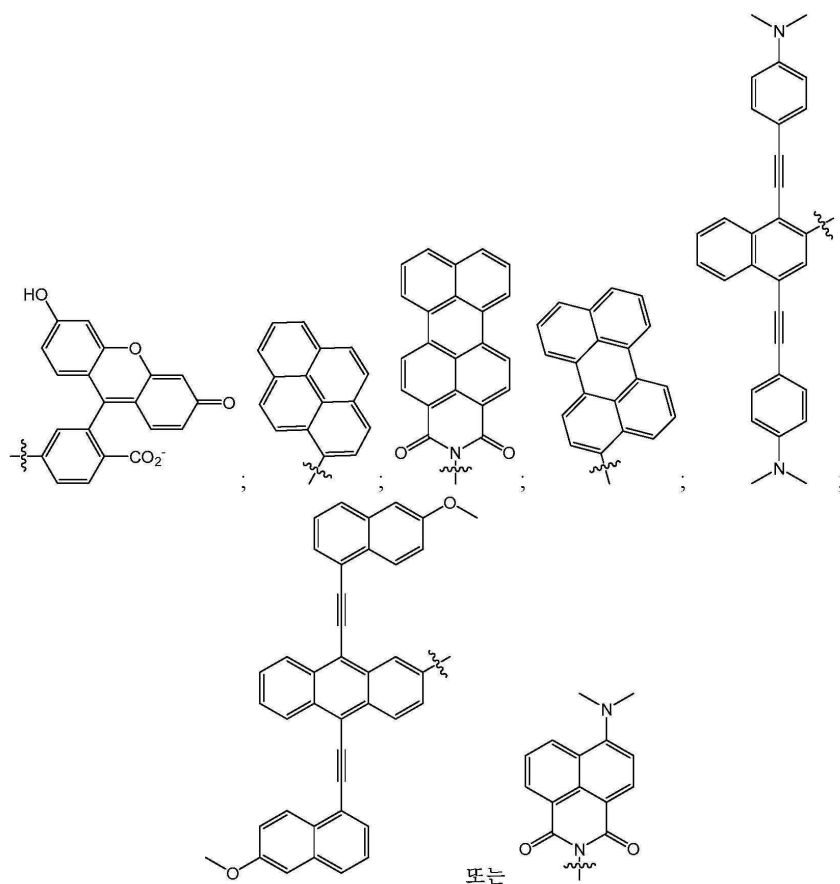


상기 화학식 (I)에서,

A는, 각각의 경우에, 독립적으로 하기 화학식들 중 하나이고;



M은, 각각의 경우에, 독립적으로 하기 화학식들 중 하나를 갖는 형광 또는 착색 모이어티이고;



L^1 은, 각각의 경우에, 독립적으로 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌, 헤테로알킬렌, 헤테로알케닐렌, 헤테로알키닐렌, 헤테로원자 링커, 에스테르, 아마이드, 티오에스테르, 디설파이드, 카보사이클릭 링커, 헤테로사이클릭 링커, 헤테로아릴 링커, 트리아졸릴 링커, 또는 이들의 조합이고;

L^2 , L^3 , L^4 및 L^5 는, 각각의 경우에, 독립적으로 직접 결합, 임의의 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌, 헤테로알킬렌, 헤테로알케닐렌, 헤테로알키닐렌 또는 헤테로원자 링커이고;

R^1 은, 각각의 경우에, 독립적으로 H, 알킬 또는 알콕시이고;

R^2 및 R^3 은 각각 독립적으로 H, OH, SH, 알킬, 알콕시, 알킬에테르, $-OP(=R_a)(R_b)R_c$, Q, Q에 대한 공유 결합을 포함하는 알킬렌 또는 헤테로알킬렌 링커, 분석물 분자에 대한 공유 결합을 포함하는 알킬렌 또는 헤테로알킬렌 링커, 고정 지지체에 대한 공유 결합을 포함하는 알킬렌 또는 헤테로알킬렌 링커 또는 화학식 (I)의 추가의 화합물에 대한 공유 결합을 포함하는 알킬렌 또는 헤테로알킬렌 링커이고, 여기서, R_a 는 O 또는 S이고; R_b 는 OH, SH, O^- , S^- , OR_d 또는 SR_d 이고; R_c 는 OH, SH, O^- , S^- , OR_d , SR_d , 알킬, 알콕시, 알킬에테르, 알콕시알킬에테르, 포스페이트, 티오포스페이트, 포스포알킬, 티오포스포알킬, 포스포알킬에테르 또는 티오포스포알킬에테르이고; R_d 는 카운터 이온이고;

R^4 는, 각각의 경우에, 독립적으로 OH, SH, O^- , S^- , OR_d 또는 SR_d 이고;

R^5 는, 각각의 경우에, 독립적으로 옥소 또는 티오텍소이거나 부재하고;

Q는, 각각의 경우에, 독립적으로 설프하이드릴, 디설파이드, N-석신이미드 에스테르, 이미도에스테르, 폴리플루오로페닐 에스테르, 이소티오시아네이트, 아지드, 알킨, 알켄, 디엔, 디에노필, 산 할라이드, 설포닐 할라이드, 포스핀, α -할로아미드, 비오틴, 아미노 또는 말레이미드 작용 그룹을 포함하는 모이어티이고;

m은, 각각의 경우에, 독립적으로 1 또는 그 이상의 정수이고;

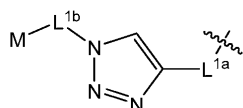
n은 1 또는 그 이상의 정수이다.

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항에 있어서, 적어도 하나의 경우의 L^1 에 있어서, L^1 -M이 하기 화학식을 갖는, 화합물:

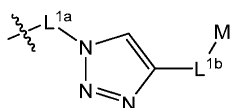


상기 화학식에서,

L^{1a} 및 L^{1b} 는 각각 독립적으로 직접 결합, 알킬렌 링커 또는 헤테로알킬렌 링커이다.

청구항 4

제1항에 있어서, 적어도 하나의 경우의 L^1 에 있어서, L^1 -M이 하기 화학식을 갖는, 화합물:



상기 화학식에서,

L^{1a} 및 L^{1b} 는 각각 독립적으로 직접 결합, 알킬렌 링커 또는 헤테로알킬렌 링커이다.

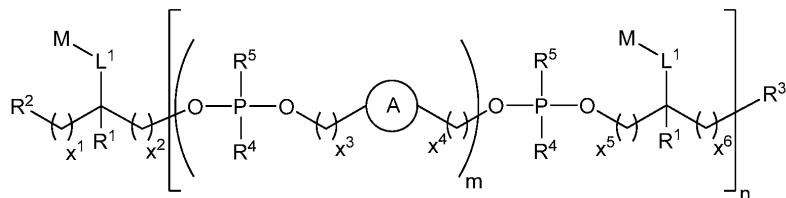
청구항 5

제1항에 있어서, L^1 이, 각각의 경우에, 독립적으로 알킬렌 또는 헤테로알킬렌 링커인, 화합물.

청구항 6

제1항, 제3항 및 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물이 화학식 (IA)을 갖는, 화합물:

화학식 (IA)



상기 화학식 (IA)에서,

x^1 , x^2 , x^3 , x^4 , x^5 및 x^6 은, 각각의 경우에, 독립적으로 0 내지 6의 정수이다.

청구항 7

제1항, 제3항 및 제4항 중 어느 한 항에 있어서, R^4 가, 각각의 경우에, 독립적으로 OH, O^- 또는 OR_d 인, 화합물.

청구항 8

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

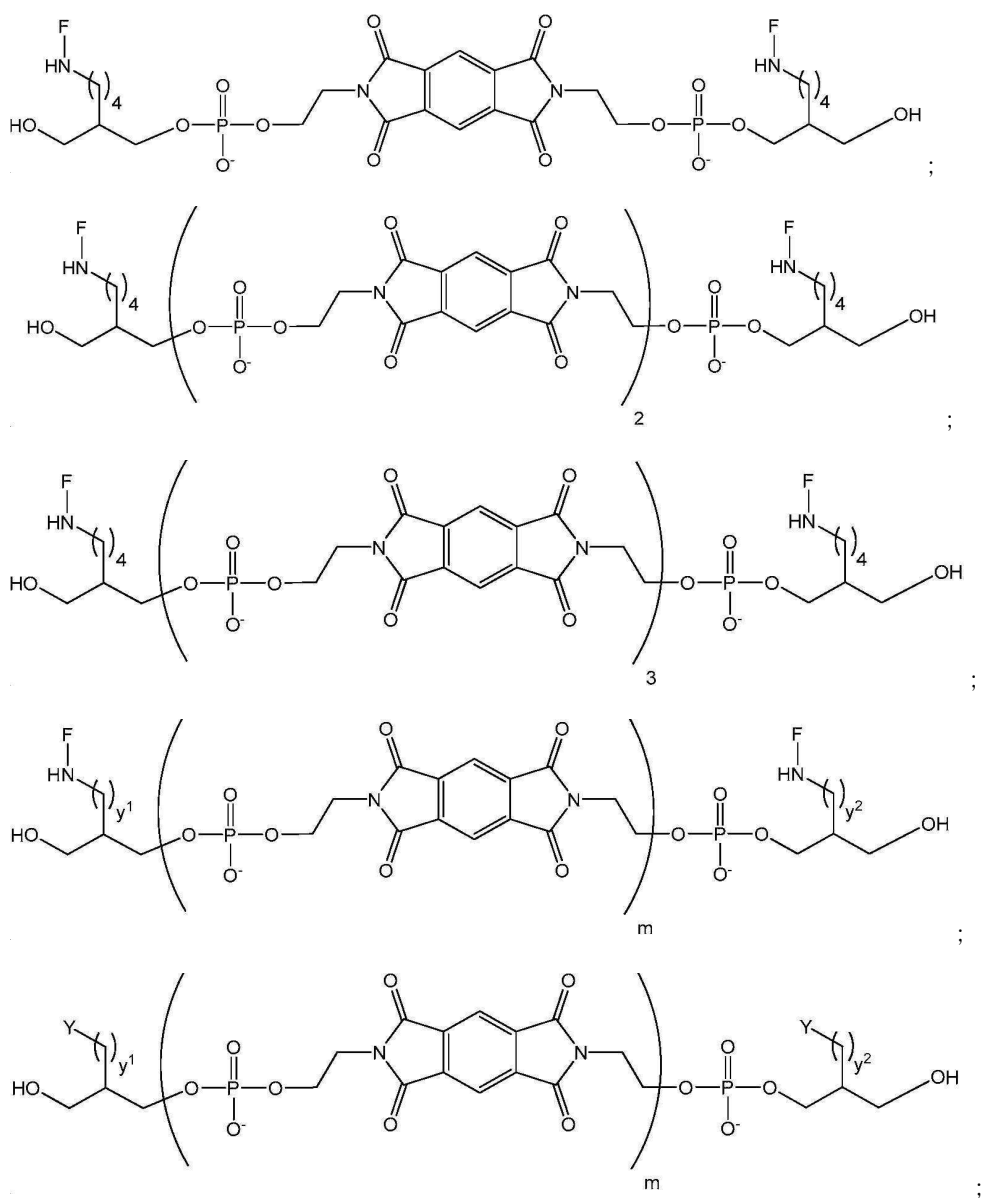
삭제

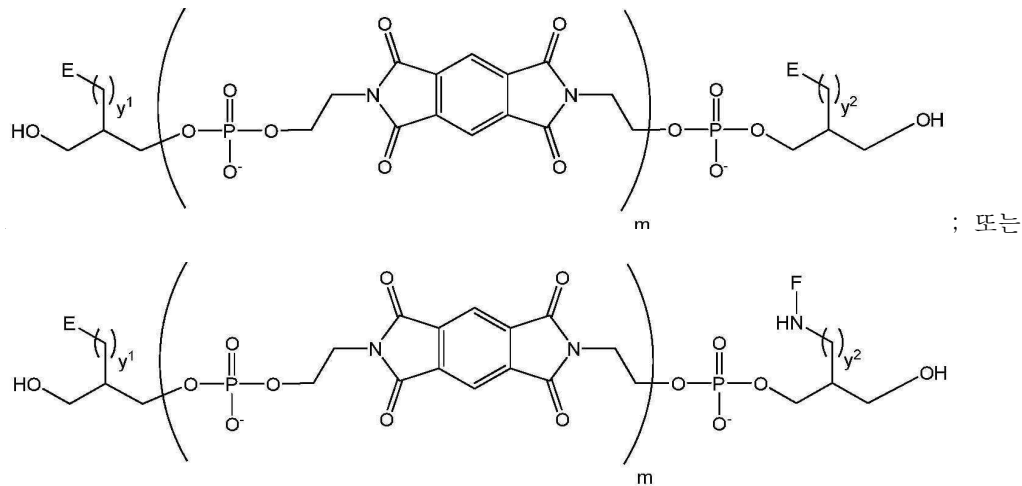
청구항 18

삭제

청구항 19

하기 화학식들 중 하나를 갖는 화합물:



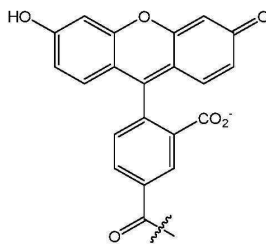


상기 화학식에서,

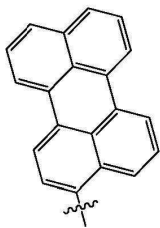
m 은 1 내지 10이고;

y^1 및 y^2 는 각각 독립적으로 1 내지 6이고;

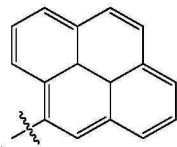
F는 하기 화학식을 갖고;



E는 하기 화학식을 갖고;



Y는 하기 화학식을 갖는다:



청구항 20

분석물 분자를 시각적으로 검출하는 방법으로서,

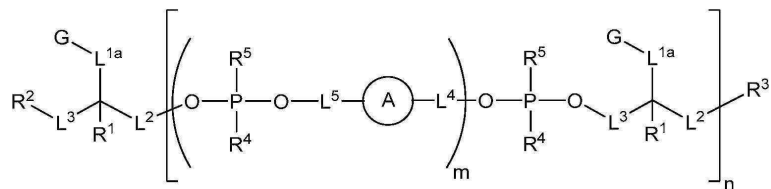
- R^2 또는 R^3 이 Q이거나 또는 Q에 대한 공유 결합을 포함하는 알킬렌 또는 헤테로알킬렌 링커인 제1항에 따른 화합물을 상기 분석물 분자와 혼합하는 단계;
- 상기 화합물과 상기 분석물 분자의 접합체를 형성하는 단계; 및
- 상기 접합체를 이의 가시적인 특성에 의해 검출하는 단계

를 포함하는, 방법.

청구항 21

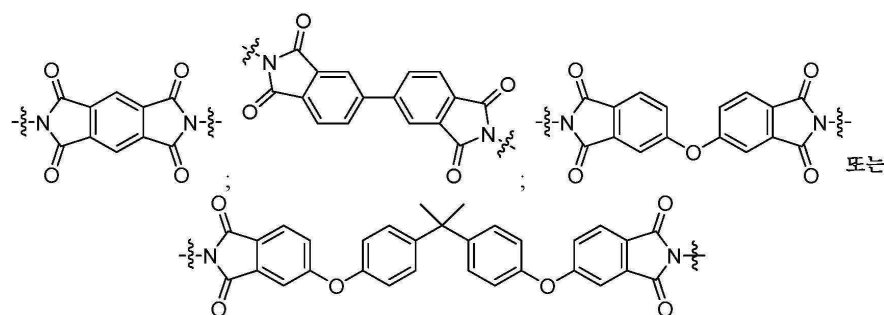
화학식 (II)의 화합물 또는 이의 입체이성체, 염 또는 호변이성체:

화학식 (II)



상기 화학식 (II)에서,

A는, 각각의 경우에, 독립적으로 하기 화학식들 중 하나이고;



G는, 각각의 경우에, 독립적으로 알킬 또는 아지드 그룹을 포함하고;

L^{1a}, L², L³, L⁴ 및 L⁵는, 각각의 경우에, 독립적으로 직접 결합, 임의의 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌, 헤테로알킬렌, 헤테로알케닐렌, 헤테로알키닐렌 또는 헤테로원자 링커이고;

R¹은, 각각의 경우에, 독립적으로 H, 알킬 또는 알콕시이고;

R² 및 R³은 각각 독립적으로 H, OH, SH, 알킬, 알콕시, 알킬에테르, -OP(=R_a)(R_b)R_c, Q, Q에 대한 공유 결합을 포함하는 알킬렌 또는 헤테로알킬렌 링커, 분석물 분자에 대한 공유 결합을 포함하는 알킬렌 또는 헤테로알킬렌 링커, 고정 지지체에 대한 공유 결합을 포함하는 알킬렌 또는 헤테로알킬렌 링커 또는 화학식 (II)의 추가의 화합물에 대한 공유 결합을 포함하는 알킬렌 또는 헤테로알킬렌 링커이고, 여기서, R_a는 O 또는 S이고; R_b는 OH, SH, O⁻, S⁻, OR_d 또는 SR_d이고; R_c는 OH, SH, O⁻, S⁻, OR_d, SR_d, 알킬, 알콕시, 알킬에테르, 알콕시알킬에테르, 포스페이트, 티오포스페이트, 포스포알킬, 티오포스포알킬, 포스포알킬에테르 또는 티오포스포알킬에테르이고; R_d는 카운터 이온이고;

R⁴는, 각각의 경우에, 독립적으로 OH, SH, O⁻, S⁻, OR_d 또는 SR_d이고;

R⁵는, 각각의 경우에, 독립적으로 옥소 또는 티오택소이거나 부재하고;

Q는, 각각의 경우에, 독립적으로 설포하이드릴, 디설파이드, N-석신이미드 에스테르, 이미도에스테르, 폴리플루오로페닐 에스테르, 이소티오시아네이트, 아지드, 알킨, 알켄, 디엔, 디에노필, 산 할라이드, 설포닐 할라이드, 포스핀, α-할로아미드, 비오틴, 아미노 또는 말레이미드 작용 그룹을 포함하는 모이어티이고;

m은, 각각의 경우에, 독립적으로 1 또는 그 이상의 정수이고;

n은 1 또는 그 이상의 정수이다.

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 일반적으로 강성 공간군(rigid spacing group)을 갖는 이량체성 및 중합체성 형광 또는 착색 염료, 및 이의 제조 방법 및 다양한 분석 방법에 있어서의 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 형광 및/또는 착색 염료는 고감도 검출 시약이 바람직한 분야에서 특히 적합한 것으로 알려져 있다. 샘플 내의 특정 구성요소 또는 성분을 우선적으로 표지화(labeling)할 수 있는 염료로 인해 연구원은 특정 구성요소 또는 성분의 존재, 양 및/또는 위치를 결정할 수 있게 된다. 또한, 특정 시스템을 다양한 환경에서 이의 공간적 및 시간적 분포와 관련하여 모니터링할 수 있다.

[0003] 형광법(fluorescence method) 및 비색법(colorimetric method)은 화학 및 생물학에서 매우 광범위하다. 이들 방법은 생체분자(biomolecule)의 존재, 구조, 거리, 배향, 착물화 및/또는 위치에 대한 유용한 정보를 제공한다. 또한, 시간-분해법(time-resolved method)이 역학과 동역학의 측정시에 점차적으로 사용되고 있다.

그 결과, 핵산 및 단백질과 같은 생체분자의 형광 또는 색 표지화를 위한 다수의 전략들이 개발되고 있다. 생체분자의 분석은 통상적으로 수성 환경에서 발생하기 때문에, 수용성 염료의 개발 및 사용에 초점을 맞추고 있다.

[0004] 고도의 형광 또는 착색 염료는 신호 대 잡음 비(signal to noise ratio)를 증가시키고 다른 관련 이익을 제공하기 때문에 바람직하다. 따라서, 공지된 형광 및/또는 착색 모이어티(moiety)로부터 신호를 증가시키려는 시도가 있어 왔다. 예를 들면, 2개 이상의 형광 및/또는 착색 모이어티를 포함하는 이량체성 및 중합체성 화합물은, 이러한 화합물이 보다 밝은 염료를 형성할 것으로 예상되어 제조되어 왔다. 그러나, 분자내 형광 소광(intramolecular fluorescence quenching)의 결과, 공지된 이량체성 및 중합체성 염료는 바람직한 밝기 증가를 달성하지 못하였다.

[0005] 따라서, 증가된 분자 밝기(molar brightness)를 갖는 수용성 염료가 당업계에 요구된다. 이상적으로, 이러한 염료 및 바이오마커(biomarker)는 강렬하게 착색성 또는 형광성이어야 하며, 다양한 색에서 그리고 다양한 형광 파장에서 이용 가능해야 한다. 본 발명은 이러한 필요성을 충족시키며 추가의 관련 이점을 제공한다.

발명의 내용

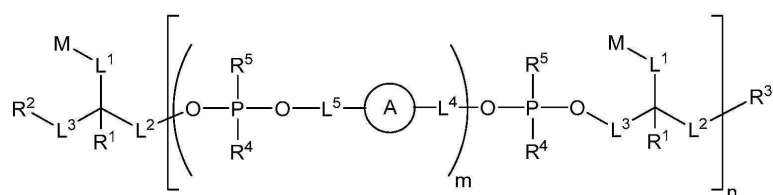
[0006] 간단히, 본 발명의 양태들은 일반적으로 생체분자와 같은 분석물 분자(analyte molecule)를 시각적으로 검출할 수 있게 하는 수용성 형광 및/또는 착색 염료 및/또는 프로브(probe)로서 유용한 화합물, 및 이의 제조용 시약에 관한 것이다. 염료를 사용하여 분석물 분자를 시각적으로 검출하는 방법이 또한 기재되어 있다.

[0007] 본원에 기재된 염료의 양태들은 강성 링커(rigid linker)("A")에 의해 공유 연결된(linked) 2개 이상의 형광 및/또는 착색 모이어티를 포함한다. 이량체성 및/또는 중합체성 염료의 이전의 보고와는 달리, 본 발명의 염료는 상응하는 단량체성 염료 화합물보다 상당히 밝다. 한편, 이론에 한정되기를 바라지는 않지만, 강성 링커 모이어티는, 분자내 형광 소광이 감소 및/또는 제거되도록 형광 모이어티 및/또는 착색 모이어티 간의 충분한 공간적 분리를 제공하는 것으로 여겨진다.

[0008] 본 발명의 양태들의 수용성 형광 또는 착색 염료는 강렬하게 착색되고/되거나 형광성이며, 육안 검사 또는 다른 수단에 의해 용이하게 관찰될 수 있다. 몇몇 양태들에서, 화합물은 사전에 조사(illumination)하거나 화학적 또는 효소적 활성화시키지 않고도 관찰될 수 있다. 본원에 기재된 바와 같이 염료를 적절하게 선택함으로써, 다양한 색을 갖는 시각적으로 검출 가능한 분석물 분자가 수득될 수 있다.

[0009] 하나의 양태에서, 화학식 (I)의 화합물, 또는 이의 입체이성체, 호변이성체(tautomer) 또는 염이 제공된다. 화학식 (I)의 화합물은 다양한 분석 방법에서의 형광 및/또는 착색 염료의 사용을 포함하는 다수의 분야에서 유용하다.

[0010] 화학식 (I)



[0011]

[0012] 상기 화학식 (I)에서,

[0013] $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, L^1, L^2, L^3, L^4, L^5, A, M, m$ 및 n 는 본원에 정의된 바와 같다.

[0014] 또 다른 양태에서, 샘플을 염색(staining)하는 방법이 제공되며, 당해 방법은, 상기 샘플에 화학식 (I)의 화합물을, 상기 샘플을 적절한 파장에서 조사하는 경우 광학 응답을 유발시키기에 충분한 양으로 첨가하는 단계를 포함한다.

[0015] 기타 양태들에서, 본 발명은 분석물 분자를 시각적으로 검출하는 방법으로서,

[0016] (a) 화학식 (I)의 화합물을 제공하는 단계; 및

[0017] (b) 상기 화합물을 이의 가시적인 특성에 의해 검출하는 단계

[0018] 를 포함하는 방법을 제공한다.

[0019] 기타 기재된 방법은 생체분자를 시각적으로 검출하는 방법으로서,

[0020] (a) 화학식 (I)의 화합물을 하나 이상의 생체분자와 혼합하는 단계; 및

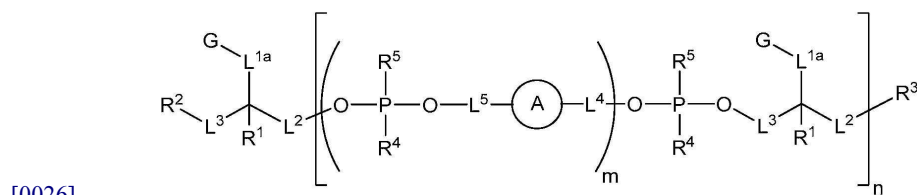
[0021] (b) 상기 화합물을 이의 가시적인 특성에 의해 검출하는 단계

[0022] 를 포함하는 방법을 제공한다.

[0023] 다른 양태는 화학식 (I)의 화합물 및 하나 이상의 생체분자를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 하나 이상의 생체분자를 검출하기 위한 분석 방법에 있어서의 이러한 조성물의 용도가 또한 제공된다.

[0024] 몇몇 상이한 양태들에서, 화학식 (II)의 화합물, 또는 이의 입체이성체, 염 또는 호변이성체가 제공된다. 화학식 (II)의 화합물은 화학식 (I)의 형광 및/또는 착색 염료의 제조를 위한 중간체로서의 사용을 포함하는 다수의 분야에서 유용하다.

[0025] 화학식 (II)



[0027] 상기 화학식 (II)에서,

[0028] R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , L^{1a} , L^2 , L^3 , L^4 , L^5 , A, G, m 및 n는 본원에 정의된 바와 같다.

[0029] 기타 양태들에서, 분석물 분자를 표지화하는 방법으로서,

[0030] (a) R^2 또는 R^3 이 Q이거나 또는 Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링커인 화학식 (II)의 화합물을 분석물 분자와 혼합하는 단계;

[0031] (b) 화합물과 분석물 분자의 접합체(conjugate)를 형성하는 단계; 및

[0032] (c) 접합체를 화학식 $M-L^{1b}-G'$ (여기서, R^2 , R^3 , Q, G 및 $M-L^{1b}-G'$ 는 본원에 정의된 바와 같다)의 화합물과 반응시켜, G와 G'의 반응에 의해 적어도 하나의 공유 결합을 형성하는 단계

[0033] 를 포함하는 방법이 제공된다.

[0034] 몇몇 상이한 양태들에서, 분석물 분자를 표지화하는 또 다른 방법으로서,

[0035] (a) R^2 또는 R^3 이 Q이거나 또는 Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링커인 화학식 (II)의 화합물을 화학식 $M-L^{1b}-G'$ (여기서, R^2 , R^3 , Q, G 및 $M-L^{1b}-G'$ 는 본원에 정의된 바와 같다)의 화합물과 혼합하여, G와 G'의 반응에 의해 적어도 하나의 공유 결합을 형성하는 단계; 및

[0036] (b) 단계 (a)의 생성물을 분석물 분자와 반응시켜, 단계 (a)의 생성물과 분석물 분자의 접합체를 형성하는 단계

[0037] 를 포함하는 방법이 제공된다.

[0038] 더 상이한 양태들에서, 화학식 (I)의 화합물의 제조 방법으로서, 화학식 (II)의 화합물을 화학식 $M-L^{1b}-G'$ (여기서, G 및 $M-L^{1b}-G'$ 는 본원에 정의된 바와 같다)의 화합물과 혼합하여, G와 G'의 반응에 의해 적어도 하나의 공유 결합을 형성하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다.

[0039] 본 발명의 이들 및 다른 측면은 하기 상세한 설명을 참조로 분명해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0040] 도면에서, 동일한 참조 번호는 유사한 요소들을 식별한다. 도면에서 요소들의 크기 및 상대적 위치는 반드시 일정한 비율로 도시되는 것은 아니며 이들 요소 중 일부는 임의로 확대되어 도면의 판독성을 개선시킨다.

또한, 도시된 요소의 특정 형상은 특정 요소의 실제 형상에 관한 어떠한 정보를 전달하려는 것이 아니며, 도면에서 용이하게 인식하기 위한 것으로만 선택되었다.

도 1은 비교용 염료 화합물에 대한 UV 흡광도 스펙트럼을 제공한다.

도 2는 비교용 염료 화합물에 대한 형광 방출 스펙트럼을 제공한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0041] 하기 설명에서, 본 발명의 다양한 양태의 완전한 이해를 제공하기 위해, 특정한 구체적 세부 사항들이 제시된다. 그러나, 당업자는 본 발명이 이들 세부 사항 없이도 실시될 수 있음을 이해할 것이다.
- [0042] 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 본 명세서 및 청구범위 전반에 걸쳐, 단어 "포함한다(comprise)" 및 이의 변형태, 예를 들면 "포함한다(comprises)" 및 "포함하는(comprising)"는 개방된 포괄적 의미, 즉 "포함하지만 이에 한정되지 않는"으로 해석되어야 한다.
- [0043] 본 명세서 전반에 걸쳐 "하나의 양태(one embodiment)" 또는 "한 양태(an embodiment)"에 대한 언급은 양태와 관련하여 기재된 특성의 특징, 구조 또는 특성이 본 발명의 적어도 하나의 양태에 포함됨을 의미한다. 따라서, 본 명세서 전반에 걸쳐 다양한 장소에서 어구 "하나의 양태에서" 또는 "한 양태에서"의 출현이 반드시 모두 동일한 양태를 지칭하고 있는 것은 아니다. 또한, 특정한 특징, 구조, 또는 특성은 하나 이상의 양태들에서 임의의 적합한 방식으로 조합될 수 있다.
- [0044] "아미노"는 $-NH_2$ 그룹을 지칭한다.
- [0045] "카복시"는 $-CO_2H$ 그룹을 지칭한다.
- [0046] "시아노"는 $-CN$ 그룹을 지칭한다.
- [0047] "포뮬"은 $-C(=O)H$ 그룹을 지칭한다.
- [0048] "하이드록시" 또는 "하이드록실"은 $-OH$ 그룹을 지칭한다.
- [0049] "이미노"는 $=NH$ 그룹을 지칭한다.
- [0050] "니트로"는 $-NO_2$ 그룹을 지칭한다.
- [0051] "옥소"는 $=O$ 치환체 그룹을 지칭한다.
- [0052] "설파하이드릴"은 $-SH$ 그룹을 지칭한다.
- [0053] "티옥소"는 $=S$ 그룹을 지칭한다.
- [0054] "알킬"은 불포화가 없고, 1 내지 12개의 탄소 원자(C_1-C_{12} 알킬), 1 내지 8개의 탄소 원자(C_1-C_8 알킬) 또는 1 내지 6개의 탄소 원자(C_1-C_6 알킬)를 갖고, 단일 결합에 의해 분자의 나머지에 부착되어 있는, 탄소 및 수소 원자로만 이루어진 선형 또는 분지형 탄화수소 쇠 그룹, 예를 들면, 메틸, 에틸, n-프로필, 1-메틸에틸(이소-프로필), n-부틸, n-펜틸, 1,1-디메틸에틸(t-부틸), 3-메틸헥실, 2-메틸헥실 등을 지칭한다. 본 명세서에서 특별히 언급하지 않는 한, 알킬 그룹은 임의로 치환된다.
- [0055] "알킬렌" 또는 "알킬렌 쇠"는 분자의 나머지를 라디칼 그룹에 연결하는, 탄소 및 수소로만 이루어지고, 불포화가 없고, 1 내지 12개의 탄소 원자를 갖는 선형 또는 분지형 2가 탄화수소 쇠, 예를 들면, 메틸렌, 에틸렌, 프로필렌, n-부틸렌, 에테닐렌, 프로페닐렌, n-부테닐렌, 프로피닐렌, n-부티닐렌 등을 지칭한다. 알킬렌 쇠는 단일 결합을 통해 분자의 나머지에 그리고 단일 결합을 통해 라디칼 그룹에 부착된다. 분자의 나머지에 대한 그리고 라디칼 그룹에 대한 알킬렌 쇠의 부착 지점은 쇠 내의 1개 탄소 또는 임의의 2개 탄소를 통해서일 수 있다. 본 명세서에서 특별히 언급하지 않는 한, 알킬렌은 임의로 치환된다.
- [0056] "알케닐렌" 또는 "알케닐렌 쇠"는 분자의 나머지를 라디칼 그룹에 연결하는, 탄소 및 수소로만 이루어지고, 적어도 하나의 탄소-탄소 이중 결합을 함유하고 2 내지 12개의 탄소 원자를 갖는 선형 또는 분지형 2가 탄화수소 쇠, 예를 들면, 에테닐렌, 프로페닐렌, n-부테닐렌 등을 지칭한다. 알케닐렌 쇠는 단일 결합을 통해 분자의 나머지에 그리고 이중 결합 또는 단일 결합을 통해 라디칼 그룹에 부착된다. 분자의 나머지에 대한 그리고 라디칼 그룹에 대한 알케닐렌 쇠의 부착 지점은 쇠 내의 1개 탄소 또는 임의의 2개 탄소를 통해서일 수 있다. 본

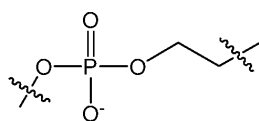
명세서에서 특별히 언급하지 않는 한, 알케닐렌은 임의로 치환된다.

[0057] "알키닐렌" 또는 "알키닐렌 쇠"는 분자의 나머지를 라디칼 그룹에 연결하는, 탄소 및 수소로만 이루어지고, 적어도 하나의 탄소-탄소 삼중 결합을 함유하고 2 내지 12개의 탄소 원자를 갖는 선형 또는 분지형 2가 탄화수소 쇠, 예를 들면, 에테닐렌, 프로페닐렌, n-부테닐렌 등을 지칭한다. 알키닐렌 쇠는 단일 결합을 통해 분자의 나머지에 그리고 이중 결합 또는 단일 결합을 통해 라디칼 그룹에 부착된다. 분자의 나머지에 대한 그리고 라디칼 그룹에 대한 알키닐렌 쇠의 부착 지점은 쇠 내의 1개 탄소 또는 임의의 2개 탄소를 통해서일 수 있다. 본 명세서에서 특별히 언급하지 않는 한, 알키닐렌은 임의로 치환된다.

[0058] "알킬에테르"는 적어도 하나의 탄소-탄소 결합이 탄소-산소 결합으로 대체된 위에서 정의된 바와 같은 임의의 알킬 그룹을 지칭한다. 탄소-산소 결합은 (알콕시 그룹에서와 같이) 말단부에 있을 수 있으며 또는 탄소 산소 결합은 내부(즉, C-O-C)에 있을 수 있다. 알킬에테르는 적어도 하나의 탄소 산소 결합을 포함하지만, 하나를 초과하여 포함할 수 있다. 예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜(PEG)은 알킬에테르의 의미에 포함된다. 본 명세서에서 특별히 언급하지 않는 한, 알킬에테르 그룹은 임의로 치환된다. 예를 들면, 몇몇 양태들에서, 알킬에테르는 알코올 또는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ (여기서, 각각의 R_a , R_b 및 R_c 는 화학식 (I)의 화합물에 대해 정의된 바와 같다)로 치환된다.

[0059] "알콕시"는 화학식 $-OR_a$ (여기서, R_a 는 상기 정의된 바와 같이 1 내지 12개의 탄소 원자를 함유하는 알킬 그룹이다)의 그룹을 지칭한다. 본 명세서에서 특별히 언급하지 않는 한, 알콕시 그룹은 임의로 치환된다.

[0060] "헤테로알킬렌"은, 상기 정의된 바와 같이, 알킬렌 쇠 내에 또는 알킬렌 쇠의 말단에 적어도 하나의 헤테로원자(예를 들면, N, O, P 또는 S)를 포함하는 알킬렌 그룹을 지칭한다. 몇몇 양태들에서, 헤테로원자는 알킬렌 쇠 내에 있다(즉, 헤테로알킬렌은 적어도 하나의 탄소-헤테로원자-탄소 결합을 포함한다). 기타 양태들에서, 헤테로원자는 알킬렌의 말단에 있으며 따라서 알킬렌을 분자의 나머지(예를 들면, M1-H-B-M2, 여기서, M1 및 M2는 분자의 일부이고, H는 헤테로원자이고 B는 알킬렌이다)에 연결하게 된다. 본 명세서에서 특별히 언급하지 않는 한, 헤테로알킬렌 그룹은 임의로 치환된다. 예시적인 헤테로알킬렌 연결(linking) 그룹이 하기 예시된다.



"C 링커"

[0061]

상기 C-링커의 다합체가 헤테로알킬렌 링커의 다양한 양태들에 포함된다.

[0062]

[0063] "헤테로알케닐렌"은, 상기 정의된 바와 같이, 적어도 하나의 탄소-탄소 이중 결합을 포함하는 헤테로알킬렌이다. 본 명세서에서 특별히 언급하지 않는 한, 헤테로알케닐렌 그룹은 임의로 치환된다.

[0064] "헤테로알키닐렌"은 적어도 하나의 탄소-탄소 삼중 결합을 포함하는 헤테로알킬렌이다. 본 명세서에서 특별히 언급하지 않는 한, 헤테로알키닐렌 그룹은 임의로 치환된다.

[0065] "헤테로원자 링커"와 관련하여 "헤테로원자"는 하나 이상의 헤테로원자로 이루어진 링커 그룹을 지칭한다. 예시적인 헤테로원자 링커는 O, N, P 및 S로 이루어진 그룹으로부터 선택된 단일 원자, 및 다수의 헤테로원자, 예를 들면 화학식 $-P(O^-)(=O)O^-$ 또는 $-OP(O^-)(=O)O^-$ 의 링커 및 다합체 및 이들의 조합을 포함한다.

[0066] "포스페이트"는 $-OP(=O)(R_a)R_b$ 그룹을 지칭하며, 여기서 R_a 는 OH, O^- 또는 OR_c 이고; R_b 는 OH, O^- , OR_c , 티오포스페이트 그룹 또는 추가의 포스페이트 그룹이고; R_c 는 카운터 이온(counter ion)(예를 들면, Na^+ 등)이다.

[0067] "포스포알킬"은 $-OP(=O)(R_a)R_b$ 그룹을 지칭하며, 여기서 R_a 는 OH, O^- 또는 OR_c 이고; R_b 는 -O알킬이고; R_c 는 카운터 이온(예를 들면, Na^+ 등)이다. 본 명세서에서 특별히 언급하지 않는 한, 포스포알킬 그룹은 임의로 치환된다. 예를 들면, 특정 양태들에서, 포스포알킬 그룹 내의 -O알킬 모이어티는 하이드록실, 아미노, 설프하이드릴, 포스페이트, 티오포스페이트, 포스포알킬, 티오포스포알킬, 포스포알킬에테르 또는 티오포스포알킬에테르 중 하나 이상으로 임의로 치환된다.

- [0068] "포스포알킬에테르"는 $-OP(=O)(R_a)R_b$ 그룹을 지칭하며, 여기서 R_a 는 OH, O^- 또는 OR_c 이고; R_b 는 -O알킬에테르이고; R_c 는 카운터 이온(예를 들면, Na^+ 등)이다. 본 명세서에서 특별히 언급하지 않는 한, 포스포알킬에테르 그룹은 임의로 치환된다. 예를 들면, 특정 양태들에서, 포스포알킬에테르 그룹 내의 -O알킬에테르 모이어티는 하이드록실, 아미노, 설프하이드릴, 포스페이트, 티오포스페이트, 포스포알킬, 티오포스포알킬, 포스포알킬에테르 또는 티오포스포알킬에테르 중 하나 이상으로 임의로 치환된다.
- [0069] "티오포스페이트"는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 그룹을 지칭하며, 여기서 R_a 는 O 또는 S이고; R_b 는 OH, O^- , S^- , OR_d 또는 SR_d 이고; R_c 는 OH, SH, O^- , S^- , OR_d , SR_d , 포스페이트 그룹 또는 추가의 티오포스페이트 그룹이고; R_d 는 카운터 이온(예를 들면, Na^+ 등)이고, 단, i) R_a 는 S이거나; ii) R_b 는 S^- 또는 SR_d 이거나; iii) R_c 는 SH, S^- 또는 SR_d 이거나; iv) i), ii) 및/또는 iii)의 조합이다.
- [0070] "티오포스포알킬"은 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 그룹을 지칭하며, 여기서 R_a 는 O 또는 S이고; R_b 는 OH, O^- , S^- , OR_d 또는 SR_d 이고; R_c 는 -O알킬이고; R_d 는 카운터 이온(예를 들면, Na^+ 등)이고, 단, i) R_a 는 S이거나; ii) R_b 는 S^- 또는 SR_d 이거나; iii) R_a 는 S이고 R_b 는 S^- 또는 SR_d 이다. 본 명세서에서 특별히 언급하지 않는 한, 티오포스포알킬 그룹은 임의로 치환된다. 예를 들면, 특정 양태들에서, 티오포스포알킬 그룹 내의 -O알킬 모이어티는 하이드록실, 아미노, 설프하이드릴, 포스페이트, 티오포스페이트, 포스포알킬, 티오포스포알킬, 포스포알킬에테르 또는 티오포스포알킬에테르 중 하나 이상으로 임의로 치환된다.
- [0071] "티오포스포알킬에테르"는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 그룹을 지칭하며, 여기서 R_a 는 O 또는 S이고; R_b 는 OH, O^- , S^- , OR_d 또는 SR_d 이고; R_c 는 -O알킬에테르이고; R_d 는 카운터 이온(예를 들면, Na^+ 등)이고, 단, i) R_a 는 S이거나; ii) R_b 는 S^- 또는 SR_d 이거나; iii) R_a 는 S이고 R_b 는 S^- 또는 SR_d 이다. 본 명세서에서 특별히 언급하지 않는 한, 티오포스포알킬에테르 그룹은 임의로 치환된다. 예를 들면, 특정 양태들에서, 티오포스포알킬 그룹 내의 -O알킬에테르 모이어티는 하이드록실, 아미노, 설프하이드릴, 포스페이트, 티오포스페이트, 포스포알킬, 티오포스포알킬, 포스포알킬에테르 또는 티오포스포알킬에테르 중 하나 이상으로 임의로 치환된다.
- [0072] "카보사이클릭"은 3 내지 18개의 탄소 원자를 포함하는 안정한 3 내지 18원 방향족 또는 비방향족 환을 지칭한다. 본 명세서에서 특별히 언급하지 않는 한, 카보사이클릭 환은 융합된(fused) 또는 브릿징된(bridged) 환 시스템을 포함할 수 있고 부분적으로 또는 전적으로 포화될 수 있는 모노사이클릭, 바이사이클릭, 트리사이클릭 또는 테트라사이클릭 환 시스템일 수 있다. 비방향족 카보사이클릭 라디칼은 사이클로알킬을 포함하고, 방향족 카보사이클릭 라디칼은 아릴을 포함한다. 본 명세서에서 특별히 언급하지 않는 한, 카보사이클릭 그룹은 임의로 치환된다.
- [0073] "사이클로알킬"은 3 내지 15개의 탄소 원자, 바람직하게는 3 내지 10개의 탄소 원자를 갖는 융합된 또는 브릿징된 환 시스템을 포함할 수 있고, 포화 또는 불포화되며 단일 결합에 의해 분자의 나머지에 부착되는, 안정한 비방향족 모노사이클릭 또는 폴리사이클릭 카보사이클릭 환을 지칭한다. 모노사이클릭 사이클로알킬은, 예를 들면 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헵틸, 및 사이클로옥틸을 포함한다. 폴리사이클릭 사이클로알킬은, 예를 들면 아다만틸, 노보닐, 테칼리닐, 7,7-디메틸-바이사이클로-[2.2.1]헵타닐 등을 포함한다. 본 명세서에서 특별히 언급하지 않는 한, 사이클로알킬 그룹은 임의로 치환된다.
- [0074] "아릴"은 적어도 하나의 카보사이클릭 방향족 환을 포함하는 환 시스템을 지칭한다. 몇몇 양태들에서, 아릴은 6 내지 18개의 탄소 원자를 포함한다. 아릴 환은 융합된 또는 브릿징된 환 시스템을 포함할 수 있는 모노사이클릭, 바이사이클릭, 트리사이클릭 또는 테트라사이클릭 환 시스템일 수 있다. 아릴은 아세안트릴렌, 아세나프틸렌, 아세페난트릴렌, 안트라센, 아줄렌, 벤젠, 크리센, 플루오란텐, 플루오렌, as-인다센, s-인다센, 인단, 인덴, 나프탈렌, 페날렌, 페난트렌, 플레이아덴, 피렌, 및 트리페닐렌으로부터 유도된 아릴을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 본 명세서에서 특별히 언급하지 않는 한, 아릴 그룹은 임의로 치환된다.
- [0075] "헤테로사이클릭"은 1 내지 12개의 탄소 원자를 포함하고 질소, 산소 및 황으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1 내지 6개의 헤테로원자를 포함하는 안정한 3 내지 18원 방향족 또는 비방향족 환을 지칭한다. 본 명세서에서

특별히 언급하지 않는 한, 헤테로사이클릭 환은 모노사이클릭, 바이사이클릭, 트리사이클릭 또는 테트라사이클릭 환 시스템일 수 있으며, 이는 융합된 또는 브릿징된 환 시스템을 포함할 수 있고; 헤테로사이클릭 환 내의 질소, 탄소 또는 황 원자는 임의로 산화될 수 있고; 질소 원자는 임의로 4급화될 수 있고; 헤테로사이클릭 환은 부분적으로 또는 전적으로 포화될 수 있다. 방향족 헤테로사이클릭 환의 예는 하기 헤테로아릴의 정의에 열거되어 있다(즉, 헤테로아릴은 헤테로사이클릭의 서브세트(subset)이다). 비방향족 헤테로사이클릭 환의 예는 디옥솔라닐, 티에닐[1,3]디티아닐, 데카하이드로이소퀴놀릴, 이미다졸리닐, 이미다졸리디닐, 이소티아졸리디닐, 이속사졸리딘, 모르폴리닐, 옥타하이드로인돌릴, 옥타하이드로이소인돌릴, 2-옥소피페라지닐, 2-옥소피페리디닐, 2-옥소피롤리디닐, 옥사졸리딘, 피페리디닐, 피페라지닐, 4-피페리도닐, 피롤리디닐, 피라졸리디닐, 피라졸로피리미디닐, 퀴놀리디닐, 티아졸리디닐, 테트라하이드로푸릴, 트리옥사닐, 트리티아닐, 트리아지나닐, 테트라하이드로피라닐, 티오모르폴리닐, 티아모르폴리닐, 1-옥소-티오모르폴리닐, 및 1,1-디옥소-티오모르폴리닐을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 본 명세서에서 특별히 언급하지 않는 한, 헤테로사이클릭 그룹은 임의로 치환된다.

[0076] "헤테로아릴"은 1 내지 13개의 탄소 원자, 질소, 산소 및 황으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1 내지 6개의 헤테로원자 및 적어도 하나의 방향족 환을 포함하는 5 내지 14원 환 시스템을 지칭한다. 본 발명의 특정 양태들의 목적을 위해, 헤테로아릴 라디칼은 모노사이클릭, 바이사이클릭, 트리사이클릭 또는 테트라사이클릭 환 시스템일 수 있으며, 이는 융합된 또는 브릿징된 환 시스템을 포함할 수 있고; 헤테로아릴 라디칼 내의 질소, 탄소 또는 황 원자는 임의로 산화될 수 있고; 원자는 임의로 4급화될 수 있다. 예는 아제피닐, 아크리디닐, 벤즈이미다졸릴, 벤즈티아졸릴, 벤즈인돌릴, 벤조디옥솔릴, 벤조푸라닐, 벤즈옥사졸릴, 벤조티아졸릴, 벤조티아디아졸릴, 벤조[b][1,4]디옥세피닐, 1,4-벤조디옥사닐, 벤조나프토프라닐, 벤즈사졸릴, 벤조디옥솔릴, 벤조디옥시닐, 벤조피라닐, 벤조피라노닐, 벤조푸라닐, 벤조푸라노닐, 벤조티에닐 (벤조티오페닐), 벤조트리아졸릴, 벤조[4,6]이미다조[1,2-a]피리디닐, 벤즈사졸리노닐, 벤즈이미다졸티오닐, 카바졸릴, 신놀리닐, 디벤조푸라닐, 디벤조티오페닐, 푸라닐, 푸라노닐, 이소티아졸릴, 이미다졸릴, 인다졸릴, 인돌릴, 인다졸릴, 이소인돌릴, 인돌리닐, 이소인돌리닐, 이소퀴놀릴, 인돌리지닐, 이속사졸릴, 나프티리디닐, 옥사디아졸릴, 2-옥소아제피닐, 옥사졸릴, 옥시라닐, 1-옥시도피리디닐, 1-옥시도피리미디닐, 1-옥시도피라지닐, 1-옥시도피리다지닐, 1-페닐-1H-피롤릴, 페나지닐, 페노티아지닐, 페녹사지닐, 프탈라지닐, 프테리디닐, 프테리디노닐, 푸리닐, 피롤릴, 피라졸릴, 피리디닐, 피리디노닐, 피라지닐, 피리미디닐, 피리미도닐, 피리다지닐, 피롤릴, 피리도[2,3-d]피리미노닐, 퀴나졸리닐, 퀴나졸리노닐, 퀴녹살리닐, 퀴녹살리노닐, 퀴놀리닐, 이소 퀴놀리닐, 테트라하이드로퀴놀리닐, 티아졸릴, 티아디아졸릴, 티에노[3,2-d]피리미딘-4-오닐, 티에노[2,3-d] 피리미딘-4-오닐, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 트리아지닐, 및 티오페닐(즉, 티에닐)을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 본 명세서에서 특별히 언급하지 않는 한, 헤테로아릴 그룹은 임의로 치환된다.

[0077] "융합된"은 적어도 2개의 환을 포함하며, 2개의 환이 적어도 하나의 공통(common) 환 원자, 예를 들면 2개의 공통 환 원자를 공유하는 환 시스템을 지칭한다. 융합된 환이 헤테로사이클릭 환 또는 헤테로아릴 환인 경우, 공통 환 원자(들)는 탄소 또는 질소일 수 있다. 융합된 환은 바이사이클릭, 트리사이클릭, 테트라사이클릭 등을 포함한다.

[0078] 본원에 사용된 용어 "치환된"은 상기 그룹들 중 어느 하나(예를 들면, 알킬, 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌, 헤테로알킬렌, 헤테로알케닐렌, 헤테로알키닐렌, 알콕시, 알킬에테르, 포스포알킬, 포스포알킬에테르, 티오포스포알킬, 티오포스포알킬에테르, 카보사이클릭, 사이클로알킬, 아릴, 헤테로사이클릭 및/또는 헤테로아릴)를 의미하며, 여기서, 적어도 하나의 수소 원자(예를 들면, 1개, 2개, 3개 또는 모든 수소 원자)는, 할로겐 원자, 예를 들면, F, Cl, Br, 및 I; 하이드록실 그룹, 알콕시 그룹, 및 에스테르 그룹과 같은 그룹 내의 산소 원자; 티올 그룹, 티오알킬 그룹, 설폰 그룹, 설포닐 그룹, 및 설포사이드 그룹과 같은 그룹 내의 황 원자; 아민, 아마이드, 알킬아민, 디알킬아민, 아릴아민, 알킬아릴아민, 디아릴아민, N-옥사이드, 이미드, 및 엔아민과 같은 그룹 내의 질소 원자; 트리알킬실릴 그룹, 디알킬아릴실릴 그룹, 알킬디아릴실릴 그룹, 및 트리아릴실릴 그룹과 같은 그룹 내의 규소 원자; 및 다양한 다른 그룹 내의 기타 헤테로원자이지만 이에 한정되지 않는 수소 원자가 아닌 원자에 대한 결합에 의해 대체된다. 또한 "치환된"은, 하나 이상의 수소 원자가 옥소, 카보닐, 카복실, 및 에스테르 그룹 내의 산소, 및 이민, 옥심, 하이드라존, 및 니트릴과 같은 그룹 내의 질소와 같은 헤테로원자에 대한 고위 결합(higher-order bond)(예를 들면, 이중 또는 삼중 결합)에 의해 대체된 상기 그룹들 중 어느 하나를 의미한다. 예를 들면, "치환된"은, 하나 이상의 수소 원자가 $-NR_gR_h$, $-NR_gC(=O)R_h$, $-NR_gC(=O)NR_gR_h$, $-NR_gC(=O)OR_h$, $-NR_gSO_2R_h$, $-OC(=O)NR_gR_h$, $-OR_g$, $-SR_g$, $-SOR_g$, $-SO_2R_g$, $-OSO_2R_g$, $-S-O_2OR_g$, $=NSO_2R_g$, 및 $-SO_2NR_gR_h$ 에 의해 대체된 상기 그룹들 중 어느 하나를 의미한다. 또한 "치환된"은, 하나 이상의 수소 원자가 $-C(=O)R_g$, $-C(=O)OR_g$,

$-C(=O)NR_gR_h$, $-CH_2SO_2R_g$, $-CH_2SO_2NR_gR_h$ 에 의해 대체된 상기 그룹들 중 어느 하나를 의미한다. 상기에서, R_g 및 R_h 는 동일하거나 상이하며 독립적으로 수소, 알킬, 알콕시, 알킬아미노, 티오알킬, 아릴, 아르알킬, 사이클로알킬, 사이클로알킬알킬, 할로알킬, 헤테로사이클릴, N-헤테로사이클릴, 헤테로사이클릴알킬, 헤테로아릴, N-헤테로아릴 및/또는 헤테로아릴알킬이다. 추가로 "치환된"은, 하나 이상의 수소 원자가 아미노, 시아노, 하이드록실, 이미노, 니트로, 옥소, 티오옥소, 할로, 알킬, 알콕시, 알킬아미노, 티오알킬, 아릴, 아르알킬, 사이클로알킬, 사이클로알킬알킬, 할로알킬, 헤테로사이클릴, N-헤테로사이클릴, 헤테로사이클릴알킬, 헤테로아릴, N-헤테로아릴 및/또는 헤테로아릴알킬 그룹에 대한 결합에 의해 대체된 상기 그룹들 중 어느 하나를 의미한다. 또한, 상기 치환체 각각은 상기 치환체들 중 하나 이상으로 임의로 치환될 수도 있다.

[0079] "접합(conjugation)"은 1개의 p-오비탈과 개재 시그마 결합(intervening sigma bond)을 가로지르는 또 다른 p-오비탈과의 중첩(overlap)을 지칭한다. 접합은 사이클릭 또는 어사이클릭(acyclic) 화합물에서 발생할 수 있다. "접합도(degree of conjugation)"는 적어도 하나의 p-오비탈과 개재 시그마 결합을 가로지르는 또 다른 p-오비탈과의 중첩을 지칭한다. 예를 들면, 1,3-부타디엔은 하나의 접합도를 갖는 한편, 벤젠 및 기타 방향족 화합물은 통상 다중 접합도를 갖는다. 형광성인 착색 화합물은 통상 적어도 하나의 접합도를 포함한다.

[0080] "형광(fluorescent)"은 특정 주파수의 광을 흡수하고 상이한 주파수의 광을 방출할 수 있는 분자를 나타낸다. 형광은 당업자에게 익히 공지되어 있다.

[0081] "착색(colored)"은 착색 스펙트럼(즉, 적색, 황색, 청색 등) 내에서 광을 흡수하는 분자를 나타낸다.

[0082] "링커(linker)"는 분자의 부분을 동일 분자의 또 다른 부분에 또는 상이한 분자, 모이어티 또는 고형 지지체(예를 들면, 미세입자(microparticle))에 연결하는 적어도 하나의 원자, 예를 들면, 탄소, 산소, 질소, 황, 인 및 이들의 조합의 인접한 쌍을 지칭한다. 링커는 공유 결합 또는 다른 수단, 예를 들면, 이온 결합 또는 수소 결합 상호작용을 통해 분자를 연결할 수 있다.

[0083] 용어 "생체분자(biomolecule)"는 핵산, 탄수화물, 아미노산, 폴리펩티드, 당단백질, 호르몬, 앵타머 및 이들의 혼합물을 포함하는 다양한 생물학적 물질들 중 어느 하나를 지칭한다. 보다 구체적으로, 상기 용어는 RNA, DNA, 올리고뉴클레오티드, 변형된 또는 유도체화된 뉴클레오티드, 효소, 수용체, 프리온, 수용체 리간드(호르몬 포함), 항체, 항원, 및 독소, 뿐만 아니라 박테리아, 바이러스, 혈액 세포, 및 조직 세포를 비제한적으로 포함하는 것으로 의도된다. 본 발명의 시각적으로 검출 가능한 생체분자(예를 들면, 연결된 생체분자를 갖는 화학식 (I)의 화합물)는, 본원에 추가로 기재된 바와 같이, 생체분자를, 당해 생체분자 상의 임의의 이용가능한 원자 또는 작용성 그룹, 예를 들면, 아미노, 하이드록시, 카복실, 또는 설프하이드릴 그룹을 통해 화합물에 대한 생체분자의 부착을 가능하게 하는 반응성 그룹을 갖는 화합물과 접촉시킴으로써 제조된다.

[0084] "반응성 그룹"은 제2 반응성 그룹(예를 들면, "상보적인 반응성 그룹(complementary reactive group)")과 반응하여 예를 들면 치환, 산화, 환원, 첨가 또는 고리화첨가 반응에 의해 하나 이상의 공유 결합을 형성할 수 있는 모이어티이다. 예시적인 반응성 그룹은 표 1에 제공되며, 예를 들면, 친핵체, 친전자체, 디엔, 디에노필, 알데히드, 옥심, 하이드라존, 알킨, 아민, 아지드, 아실아지드, 아실할라이드, 니트릴, 니트론, 설프하이드릴, 디설프아이드, 설프닐 할라이드, 이소티오시아네이트, 이미도에스테르, 활성화 에스테르, 케톤, α , β -불포화 카보닐, 알켄, 말레이미드, α -할로이미드, 에폭사이드, 아지리딘, 테트라진, 테트라졸, 포스핀, 비오틴, 티이란(thiirane) 등을 포함한다.

[0085] 용어 "가시적인" 및 "시각적으로 검출 가능한"은 본원에서 사용되어, 사전 조사 또는 화학적 또는 효소적 활성화 없이도 육안 검사에 의해 관찰가능한 물질을 지칭한다. 이러한 시각적으로 검출 가능한 물질은 약 300 내지 약 900nm 범위의 스펙트럼의 영역에서 광을 흡수하고 방출한다. 바람직하게는, 이러한 물질은, 바람직하게는 적어도 약 $40,000M^{-1}cm^{-1}$, 보다 바람직하게는 적어도 약 $50,000M^{-1}cm^{-1}$, 보다 더 바람직하게는 적어도 약 $60,000M^{-1}cm^{-1}$, 더욱 더 보다 바람직하게는 적어도 약 $70,000M^{-1}cm^{-1}$, 가장 바람직하게는 적어도 약 $80,000M^{-1}cm^{-1}$ 의 분자 흡광 계수(molar extinction coefficient)를 갖도록 강렬하게 착색된다. 본 발명의 화합물은 육안으로, 또는 흡수 분광광도계, 투과광 현미경, 디지털 카메라 및 스캐너를 포함하지만 이에 한정되지 않는 광학 기반 검출 장치의 도움으로 관찰하여 검출될 수 있다. 시각적으로 검출 가능한 물질은 가시 스펙트럼에서 광을 방출 및/또는 흡수하는 것들로 한정되지 않는다. 자외선(UV) 영역(약 10nm 내지 약 400nm), 적외선(IR) 영역(약 700nm 내지 약 1mm)에서 광을 방출 및/또는 흡수하는 물질, 및 전자기 스펙트럼의 다른 영역에서 방출 및/또는 흡수하는 물질 또한 "시각적으로 검출 가능한" 물질의 범주 내에 포함된다.

- [0086] 본 발명의 양태들의 목적을 위해, 용어 "광안정성 가시 염료(photostable visible dye)"는, 상기 본원에 정의된 바와 같은, 시각적으로 검출 가능하고, 광에 노출되어도 크게 변경되거나 분해되지 않는 화학적 모이어티를 지칭한다. 바람직하게는, 광안정성 가시 염료는 적어도 1시간 동안 광에 노출된 후에도 상당한 표백 또는 분해를 나타내지 않는다. 보다 바람직하게는, 상기 가시 염료는 적어도 12시간, 보다 더 바람직하게는 적어도 24시간, 더욱 더 바람직하게는 적어도 1주, 가장 바람직하게는 적어도 1개월 동안 광에 노출된 후에도 안정하다. 본 발명의 화합물 및 방법에서 사용하기에 적합한 광안정성 가시 염료의 비제한적 예는 아조 염료, 티오인디고 염료, 퀴나크리돈 안료, 디옥사진, 프탈로시아닌, 페리논, 디케토피롤로피롤, 퀴노프탈론, 및 트리아릴카보늄을 포함한다.
- [0087] 본원에서 사용된 용어 "페릴렌 유도체"는 시각적으로 검출 가능한 임의의 치환된 페릴렌을 포함하고자 한다. 그러나, 이 용어는 페릴렌 자체를 포함하고자 하는 것은 아니다. 용어 "안트라센 유도체", "나프탈렌 유도체" 및 "피렌 유도체"가 유사하게 사용된다. 몇몇 바람직한 양태에서, 유도체(예를 들면, 페릴렌, 피렌, 안트라센 또는 나프탈렌 유도체)는 페릴렌, 안트라센, 나프탈렌, 또는 피렌의 이미드, 비스이미드 또는 하이드라잠이미드(hydrazamimide) 유도체이다.
- [0088] 본 발명의 다양한 양태들의 시각적으로 검출 가능한 분자는 특정 분석물(예를 들면, 생체분자)의 존재, 위치 또는 양을 결정할 필요가 있는 매우 다양한 분석 분야, 예를 들면 생화학 및 생물리학 분야에서 유용하다. 따라서, 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 생체분자에 연결된 화학식 (I)의 화합물을 포함하는, 시각적으로 검출 가능한 생체분자를 갖는 생물학적 시스템을 제공하는 단계; 및 (b) 상기 생체분자를 이의 가시적인 특성들에 의해 검출하는 단계를 포함하는, 생체분자를 시각적으로 검출하는 방법을 제공한다. 본 발명의 목적을 위해, "생체분자를 이의 가시적인 특성들에 의해 검출하는 것"은 생체분자가, 조사 또는 화학적 또는 효소적 활성화 없이도 육안으로, 또는 흡수 분광광도계, 투과광 현미경, 디지털 카메라 및 스캐너를 비제한적으로 포함하는 광학 기반 검출 장치의 도움으로 관찰됨을 의미한다. 농도계(densitometer)는 존재하는 시각적으로 검출 가능한 생체분자의 양을 정량하는데 사용될 수 있다. 예를 들면, 2개 샘플 내의 생체분자의 상대적 양은 상대 광학 밀도를 측정함으로써 결정될 수 있다. 생체분자당 염료 분자의 화학량론이 공지되어 있으며 염료 분자의 흡광 계수가 공지되어 있는 경우라면, 생체분자의 절대 농도가 또한 광학 밀도의 측정으로부터 결정될 수 있다. 본원에서 사용된 용어 "생물학적 시스템"은, 시각적으로 검출 가능한 생체분자 이외에도 하나 이상의 생체분자를 포함하는 임의의 용액 또는 혼합물을 지칭하도록 사용된다. 이러한 생물학적 시스템의 비제한적 예는 세포, 세포 추출물, 조직 샘플, 전기영동 겔, 검정용 혼합물, 및 혼성화 반응 혼합물을 포함한다.
- [0089] "고형 지지체"는 분자의 고체 상 지지체에 대해 당업계에 공지된 임의의 고형 물질을 지칭하며, 예를 들면 "미세입자"는 유리 비드(bead), 자성 비드, 중합체성 비드, 비-중합체성 비드 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는 본 발명의 화합물에 부착하기에 유용한 다수의 작은 입자들 중 임의의 것을 지칭한다. 특정 양태들에서, 미세입자는 폴리스티렌 비드를 포함한다.
- [0090] "염기쌍 생성 모이어티(base pairing moiety)"는 수소 결합을 통해 상보적 헤테로사이클릭 모이어티와 혼성화할 수 있는 헤테로사이클릭 모이어티(예를 들면, 왓슨-크릭(Watson-Crick) 염기쌍 생성)를 지칭한다. 염기쌍 생성 모이어티는 천연 및 비천연 염기를 포함한다. 염기쌍 생성 모이어티의 비제한적 예는 RNA 및 DNA 염기, 예를 들면, 아데노신, 구아노신, 티미딘, 시토신 및 우라딘 및 이들의 유사체이다.
- [0091] 본원에 기재된 본 발명의 양태들은 또한 상이한 원자 질량 또는 질량수를 갖는 원자로 대체된 하나 이상의 원자를 가짐으로써 동위원소로 표시된 화학식 (I) 또는 (II)의 모든 화합물을 포함하고자 한다. 개시된 화합물에 혼입될 수 있는 동위원소의 예는 수소, 탄소, 질소, 산소, 인, 불소, 염소, 및 요오드의 동위원소, 예를 들면 ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{123}I , 및 ^{125}I 각각을 포함한다.
- [0092] 화학식 (I) 또는 (II)의 동위원소로 표시된 화합물은 일반적으로 당업자에게 공지된 통상의 기술에 의해 또는 아래 기재된 것들과 유사한 방법에 의해 그리고 이전에 사용된 비표지된 시약 대신에 적절한 동위원소로 표시된 시약을 사용하는 하기 실시예에서 제조될 수 있다.
- [0093] "안정한 화합물" 및 "안정한 구조"는 반응 혼합물로부터 유용한 정도의 순도로의 단리, 및 효과적인 치료제로의 제형화를 존속시키기에 충분히 견고한 화합물을 지칭하고자 한다.
- [0094] "임의의" 또는 "임의로"는 후속 기재된 사건 또는 상황이 일어나거나 일어나지 않을 수 있으며, 본 기재사항은 상기 사건 또는 상황이 일어나는 경우 및 이들이 일어나지 않는 경우를 포함함을 의미한다. 예를 들면, "임의로 치환된 알킬"은 알킬 그룹이 치환될 수 있거나 치환되지 않을 수 있고 본 기재사항은 치환된 알킬 그룹 및

치환되지 않은 알킬 그룹 둘 다를 포함함을 의미한다.

[0095] "염"은 산 부가염 및 염기 부가염 둘 다를 포함한다.

[0096] "산 부가염"은, 예를 들면, 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등이지만 이에 한정되지 않는 무기 산; 및 예를 들면, 아세트산, 2,2-디클로로아세트산, 아디프산, 알긴산, 아스코르브산, 아스파르트산, 벤젠설폰산, 벤조산, 4-아세트아미도벤조산, 캄포르산, 캄포르-10-설폰산, 카프르산, 카프로산, 카프릴산, 탄산, 신남산, 시트르산, 사이클람산, 도데실설푸르산, 에탄-1,2-디설폰산, 에탄설폰산, 2-하이드록시에탄설폰산, 포름산, 푸마르산, 갈락타르산, 겐티스산, 글루코헵톤산, 글루콘산, 글루쿠포산, 글루탐산, 글루타르산, 2-옥소-글루타르산, 글리세로인산, 글리콜산, 히푸르산, 이소부티르산, 락트산, 락토비온산, 라우르산, 말레산, 말산, 말론산, 만델산, 메탄설폰산, 점액산, 나프탈렌-1,5-디설폰산, 나프탈렌-2-설폰산, 1-하이드록시-2-나프토산, 니코틴산, 올레산, 오로트산, 옥살산, 팔미트산, 파모산, 프로피온산, 피로글루탐산, 피루브산, 살리실산, 4-아미도살리실산, 세박산, 스테아르산, 석신산, 타르타르산, 티오시안산, p-톨루엔설폰산, 트리플루오로아세트산, 운데실렌산 등이지만 이에 한정되지 않는 유기 산으로 형성되는 이러한 염을 지칭한다.

[0097] "염기 부가염"은 유리 산에 무기 염기 또는 유기 염기를 첨가하여 제조되는 염을 지칭한다. 무기 염기로부터 유래된 염은 나트륨, 칼륨, 리튬, 암모늄, 칼슘, 마그네슘, 철, 아연, 구리, 망간, 알루미늄 염 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 유기 염기로부터 유래된 염은, 1급, 2급, 및 3급 아민, 자연 발생 치환된 아민을 포함한 치환된 아민, 사이클릭 아민 및 염기성 이온 교환 수지, 예를 들면, 암모니아, 이소프로필아민, 트리메틸아민, 디에틸아민, 트리에틸아민, 트리프로필아민, 디에탄올아민, 에탄올아민, 데아놀, 2-디메틸아미노에탄올, 2-디에틸아미노에탄올, 디사이클로헥실아민, 리신, 아르기닌, 히스티딘, 카페인, 프로카인, 하이드라바민, 콜린, 베타인, 베네타민, 벤자틴, 에틸렌디아민, 글루코사민, 메틸글루카민, 테오브로민, 트리에탄올아민, 트로메타민, 퓨린, 피페라진, 피페리딘, N-에틸피페리딘, 폴리아민 수지 등의 염을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 특히 바람직한 유기 염기는 이소프로필아민, 디에틸아민, 에탄올아민, 트리메틸아민, 디사이클로헥실아민, 콜린 및 카페인이다.

[0098] 결정화는 본원에 기재된 화합물의 용매화물을 형성시킬 수 있다. 본 발명의 양태들은 기재된 화합물들의 모든 용매화물을 포함한다. 본원에서 사용된 용어 "용매화물"은 용매의 하나 이상의 분자와 본 발명의 화합물의 하나 이상의 분자를 포함하는 집합체를 지칭한다. 용매는 물일 수 있으며, 이때 용매화물은 수화물일 수 있다. 또는, 용매는 유기 용매일 수 있다. 따라서, 본 발명의 화합물은 일수화물, 이수화물, 반수화물(hemihydrate), 세스퀴수화물(sesquihydrate), 삼수화물, 사수화물 등을 포함하는 수화물, 뿐만 아니라 상응하는 용매화된 형태로서 존재할 수 있다. 본 발명의 화합물은 진정한 용매화물일 수 있으며, 한편 다른 경우에 본 발명의 화합물은 단지 외래성 물(adventitious water) 또는 또 다른 용매를 보유할 수 있거나, 또는 물과 일부 외래성 용매의 혼합물일 수 있다.

[0099] 본 발명의 화합물의 양태들(예를 들면, 화학식 (I) 또는 (II)의 화합물), 또는 이의 염, 호변이성체 또는 용매화물은 하나 이상의 비대칭 중심을 함유할 수 있고, 따라서 절대 입체화학 측면에서 (R)- 또는 (S)-로서, 또는 아미노산에 대해서는 (D)- 또는 (L)-로서 정의될 수 있는, 에난티오머, 부분입체이성체, 및 다른 입체이성체를 야기할 수 있다. 본 발명은 모든 이러한 가능한 이성체, 뿐만 아니라 이의 라세미 및 광학적으로 순수한 형태를 포함하고자 한다. 광학 활성 (+) 및 (-), (R)- 및 (S)-, 또는 (D)- 및 (L)-이성체는 키랄 신티온(chiral synthon) 또는 키랄 시약을 사용하여 제조되거나, 통상의 기술, 예를 들면, 크로마토그래피 및 분별 결정을 사용하여 분할될 수 있다. 개별 에난티오머들의 제조/단리를 위한 통상의 기술은, 적합한 광학적으로 순수한 전구체로부터의 키랄 합성, 또는 예를 들면 키랄 고압 액체 크로마토그래피(HPLC)를 사용한 라세미체(또는 염 또는 유도체의 라세미체)의 분리를 포함한다. 본원에 기재된 화합물이 올레핀성 이중 결합 또는 기하학적 비대칭의 다른 중심을 함유하는 경우, 그리고 달리 특정되지 않는 한, 화합물은 E 및 Z 기하이성체 둘 다를 포함하는 것으로 의도된다. 마찬가지로, 모든 토토머 형태가 또한 포함되는 것으로 의도된다.

[0100] "입체이성체"는 동일 결합에 의해 결합된 동일 원자로 이루어지지만 교체가 불가능한 상이한 3차원 구조를 갖는 화합물을 지칭한다. 본 발명은 다양한 입체이성체 및 이들의 혼합물을 고려하며, 분자가 서로의 겹쳐질 수 없는 거울상인 2개의 입체이성체를 지칭하는 "에난티오머"를 포함한다.

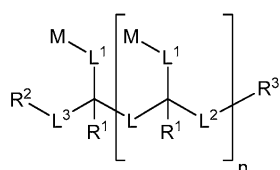
[0101] "호변이성체(tautomer)"는 분자의 하나의 원자로부터 동일 분자의 또 다른 원자로의 양성자 이동을 지칭한다. 본 발명은 임의의 상기 화합물의 호변이성체를 포함한다. 화합물의 다양한 호변이성체 형태는 당업자에 의해 용이하게 유도될 수 있다.

[0102] 본원에 사용된 화학 명명 프로토콜 및 구조 다이어그램은 ACD/Name 버전 9.07 소프트웨어 프로그램 및/또는 ChemDraw Ultra 버전 11.0 소프트웨어 명명 프로그램(캠브릿지소프트(CambridgeSoft))을 이용하는, I.U.P.A.C. 명명법 시스템의 변형 형태이다. 당업자에게 친숙한 일반명이 또한 사용된다.

[0103] 전술한 바와 같이, 본 발명의 하나의 양태에서, 다양한 분석 방법에서 형광 및/또는 착색 염료로 유용한 화합물이 제공된다. 기타 양태들에서, 형광 및/또는 착색 염료로 유용한 화합물의 제조를 위한 합성 중간체로 유용한 화합물이 제공된다. 일반적으로, 본 발명의 양태들은 형광 및/또는 착색 모이어티의 이량체 및 고급(higher) 중합체에 관한 것이다. 형광 및/또는 착색 염료로 유용한 화합물이 제공된다. 기타 양태들에서, 형광 및/또는 착색 염료로 모이어티는 하나 이상의 강성 링커(즉, 모이어티 "A")에 의해 연결된다. 이론에 한정되기를 바라지 않으면서, 링커는, 분자내 소광이 감소 또는 제거되어 큰 물 "뿔기"(예를 들면, 큰 형광 방출)를 갖는 염료 화합물이 생성되도록 형광 모이어티 및/또는 착색 모이어티 간의 충분한 공간적 분리를 유지하는 것을 돕는 것으로 여겨진다.

[0104] 따라서, 몇몇 양태들에서, 화합물은 화학식 (A)를 갖는다.

[0105] 화학식 (A)



[0106]

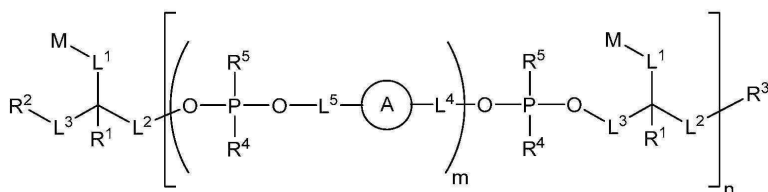
[0107] 상기 화학식 (A)에서,

[0108] L은 하나 이상의 (예를 들면, 각각의) M 그룹 간의 공간적 분리를 유지하여 분자내 소광이 감소 또는 제거되기에 충분한 강성(rigidity)을 갖는 링커이고,

[0109] R¹, R², R³, L¹, L², L³ 및 n은 화학식 (I)에 대해 정의된 바와 같다.

[0110] 기타 양태들에서, 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 입체이성체, 염 또는 호변이성체가 제공된다.

[0111] 화학식 (I)



[0112]

[0113] 상기 화학식 (I)에서,

[0114] A는, 각각의 경우에, 독립적으로 하나 이상의 융합된 카보사이클릭 또는 헤테로사이클릭 환 시스템을 포함하는 모이어티이고;

[0115] M은, 각각의 경우에, 독립적으로 2개 이상의 탄소-탄소 이중 결합 및 적어도 하나의 집합도를 포함하는 모이어티이고;

[0116] L¹은, 각각의 경우에, 독립적으로 i) 임의의 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌, 헤테로알킬렌, 헤테로알케닐렌, 헤테로알키닐렌 또는 헤테로원자 링커; 또는 ii) 2개의 상보적인 반응성 그룹들의 반응에 의해 형성될 수 있는 작용 그룹을 포함하는 링커이고;

[0117] L², L³, L⁴ 및 L⁵는, 각각의 경우에, 독립적으로 임의의 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌, 헤테로알킬렌, 헤테로알케닐렌, 헤테로알키닐렌 링커 또는 헤테로원자 링커이고;

[0118] R¹은, 각각의 경우에, 독립적으로 H, 알킬 또는 알콕시이고;

[0119] R^2 및 R^3 은 각각 독립적으로 H, OH, SH, 알킬, 알콕시, 알킬에테르, $-OP(=R_a)(R_b)R_c$, Q, Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링커, 분석물 분자에 대한 공유 결합을 포함하는 링커, 고형 지지체에 대한 공유 결합을 포함하는 링커 또는 화학식 (I)의 추가의 화합물에 대한 공유 결합을 포함하는 링커이고, R_a 는 O 또는 S이고; R_b 는 OH, SH, O^- , S^- , OR_d 또는 SR_d 이고; R_c 는 OH, SH, O^- , S^- , OR_d , SR_d , 알킬, 알콕시, 알킬에테르, 알콕시알킬에테르, 포스페이트, 티오포스페이트, 포스포알킬, 티오포스포알킬, 포스포알킬에테르 또는 티오포스포알킬에테르이고; R_d 는 카운터 이온이고;

[0120] R^4 는, 각각의 경우에, 독립적으로 OH, SH, O^- , S^- , OR_d 또는 SR_d 이고;

[0121] R^5 는, 각각의 경우에, 독립적으로 옥소 또는 티오텍소이거나 부재하고;

[0122] Q는, 각각의 경우에, 독립적으로 분석물 분자, 고형 지지체 또는 상보적인 반응성 그룹 Q'와의 공유 결합을 형성할 수 있는 반응성 그룹을 포함하는 모이어티이고;

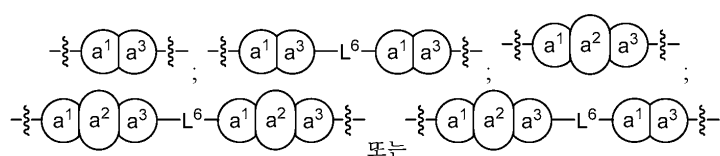
[0123] m은, 각각의 경우에, 독립적으로 0 또는 그 이상의 정수이고, 적어도 하나의 경우 m은 1 또는 그 이상의 정수이고;

[0124] n은 1 또는 그 이상의 정수이다.

[0125] 화학식 (I)의 화합물의 다양한 링커 및 치환체(예를 들면, M, A, Q, R^1 , R^2 , R^3 , R^c , L^1 , L^2 , L^3 , L^4 및 L^5)는 하나 이상의 치환체로 임의로 치환된다. 예를 들면, 몇몇 양태들에서, 임의의 치환체는 화학식 (I)의 화합물의 수용성 및 기타 특성을 최적화시키기 위해 선택된다. 특정 양태들에서, 화학식 (I)의 화합물의 각각의 알킬, 알콕시, 알킬에테르, 알콕시알킬에테르, 포스포알킬, 티오포스포알킬, 포스포알킬에테르 및 티오포스포알킬에테르는 하이드록실, 알콕시, 알킬에테르, 알콕시알킬에테르, 설프하이드릴, 아미노, 알킬아미노, 카복실, 포스페이트, 티오포스페이트, 포스포알킬, 티오포스포알킬, 포스포알킬에테르 및 티오포스포알킬에테르로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 치환체로 임의로 치환된다.

[0126] 몇몇 양태들에서, A는, 각각의 경우에, 독립적으로 하나 이상의 융합된 아릴 또는 헤테로아릴 환 시스템을 포함하는 모이어티이다. 상이한 양태들에서, A는, 각각의 경우에, 독립적으로 하나 이상의 융합된 비사이클릭 또는 트리사이클릭 아릴 또는 헤테로아릴 환 시스템을 포함하는 모이어티이다.

[0127] 기타 더욱 특정한 양태들에서, A는, 각각의 경우에, 독립적으로, 하기 화학식들 중 하나를 갖는, 융합된 카보사이클릭 또는 헤테로사이클릭 환 시스템이다.



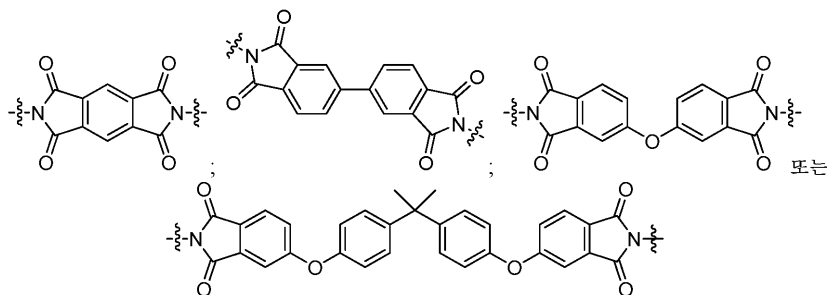
[0128]

[0129] 상기 화학식에서,

[0130] a^1 , a^2 및 a^3 은, 각각의 경우에, 독립적으로 5, 6 또는 7원 카보사이클릭 또는 헤테로사이클릭 환이고;

[0131] L^6 은 직접 결합 또는 링커이다.

[0132] 기타 양태들에서, A는, 각각의 경우에, 독립적으로 하기 화학식들 중 하나를 갖는다.



[0133]

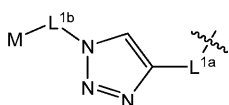
[0134] 임의의 링커 L^1 은 화합물의 나머지에 대한 M 모이어티의 부착 지점으로 사용될 수 있다. 예를 들면, 몇몇 양태들에서, 화학식 (I)의 화합물에 대한 합성 전구체가 제조되며, M 모이어티는 당업계에 공지된 임의의 개수의 용이한 방법, 예를 들면 "클릭 화학(click chemistry)"으로 지칭된 방법을 사용하여 합성 전구체에 부착된다. 이러한 목적을 위해, 신속하며 실질적으로 비가역적인 임의의 반응이, M을 합성 전구체에 부착하여 화학식 (I)의 화합물을 형성시키는데에 사용될 수 있다. 예시적인 반응은 트리아졸의 형성을 위한 아지드 및 알킨의 구리 촉매화 반응(휘스켄 1,3-쌍극자 고리화첨가(Huisgen 1,3-dipolar cycloaddition)), 디엔 및 디노필의 반응(딜스-알더(Diels-Alder)), 변형-촉진된(strain-promoted) 알킨-니트론 고리화첨가, 변형된 알켄과 아지드, 테트라진 또는 테트라졸과의 반응, 알켄 및 아지드 [3+2] 고리화첨가, 알켄 및 테트라진 역요구 딜스-알더(inverse-demand Diels-Alder), 알켄 및 테트라졸 광반응 및 다양한 치환 반응, 예를 들면 친전자성 원자에서의 친핵성 공격에 의한 이탈 그룹의 치환을 포함한다. 몇몇 양태들에서, L^1 을 형성하기 위한 반응이 수성 환경에서 실행될 수 있다.

[0135] 따라서, 몇몇 양태들에서, L^1 은 각각의 경우에 2개의 상보적인 반응성 그룹들의 반응에 의해 형성될 수 있는 작용 그룹을 포함하는 링커, 예를 들면 상기 "클릭" 반응들 중 하나의 생성물인 작용 그룹이다. 적어도 하나의 경우의 L^1 에 대한 다양한 양태들에서, 작용 그룹은 알데히드, 옥심, 하이드라존, 알킨, 아민, 아지드, 아실아지드, 아실할라이드, 니트릴, 니트론, 설포하이드릴, 디설파이드, 설포닐 할라이드, 이소티오시아네이트, 이미도 에스테르, 황산화 에스테르, 케톤, α, β -불포화 카보닐, 알켄, 말레이미드, α -할로이미드, 에폭사이드, 아지리딘, 테트라진, 테트라졸, 포스핀, 비오틴 또는 티이란 작용 그룹과 상보적인 반응성 그룹과의 반응에 의해 형성될 수 있다.

[0136] 적어도 하나의 경우의 L^1 에 대한 기타 양태들에서, 작용 그룹은 알킨과 아지드의 반응에 의해 형성될 수 있다.

[0137] 적어도 하나의 경우의 L^1 에 대한 더 많은 양태들에서, 작용 그룹은 알켄, 에스테르, 아마이드, 티오에스테르, 디설파이드, 카보사이클릭, 헤테로사이클릭 또는 헤테로아릴 그룹을 포함한다. 적어도 하나의 경우의 L^1 에 대한 몇몇 더욱 특정한 양태들에서, L^1 은 트리아졸릴 작용 그룹을 포함하는 링커이다.

[0138] 적어도 하나의 경우의 L^1 에 대한 기타 양태들에서, L^1 -M은 하기 화학식을 갖는다.

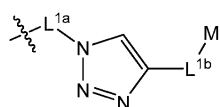


[0139]

[0140] 상기 화학식에서,

[0141] L^{1a} 및 L^{1b} 는 각각 독립적으로 임의의 링커이다.

[0142] 적어도 하나의 경우의 L^1 에 대한 상이한 양태들에서, L^1 -M은 하기 화학식을 갖는다.



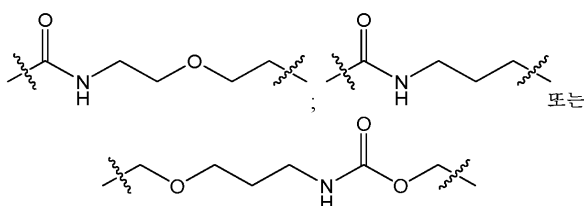
[0143]

[0144] 상기 화학식에서,

[0145] L^{1a} 및 L^{1b} 는 각각 독립적으로 임의의 링커이다.

[0146] 전술된 다양한 양태들에서, L^{1a} 또는 L^{1b} 또는 둘 다가 부재한다. 기타 양태들에서, L^{1a} 또는 L^{1b} 또는 둘 다 존재한다.

[0147] 몇몇 양태들에서, L^{1a} 및 L^{1b} 는, 존재하는 경우, 각각 독립적으로 알킬렌 또는 헤테로알킬렌이다. 예를 들면, 몇몇 양태들에서, L^{1a} 및 L^{1b} 는, 존재하는 경우, 독립적으로 하기 화학식들 중 하나를 갖는다.

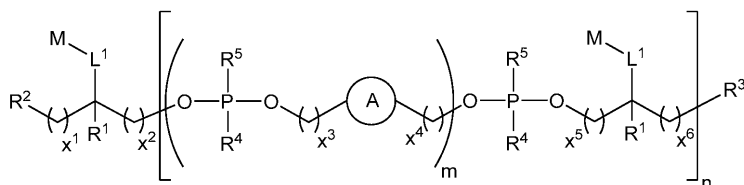


[0148]

[0149] 화학식 (I)의 기타 상이한 양태들에서, L^1 은, 각각의 경우에, 독립적으로 임의의 알킬렌 또는 헤테로알킬렌 링커이다.

[0150] 더 많은 양태들에서, L^2 , L^3 , L^4 및 L^5 은, 각각의 경우에, 독립적으로 C_1 - C_6 알킬렌, C_2 - C_6 알케닐렌 또는 C_2 - C_6 알키닐렌이다. 예를 들면, 몇몇 양태들에서, 화합물은 화학식 (IA)를 갖는다.

[0151] 화학식 (IA)



[0152]

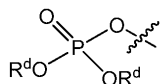
[0153] 상기 화학식 (IA)에서,

[0154] x^1 , x^2 , x^3 , x^4 , x^5 및 x^6 은, 각각의 경우에, 독립적으로 0 내지 6의 정수이다.

[0155] 화학식 (IA)의 화합물의 특정 양태들에서, x^3 및 x^4 는 둘 다 각각의 경우에 2이다. 기타 양태들에서, x^1 , x^2 , x^5 및 x^6 은 각각의 경우에 각각 1이다.

[0156] 화학식 (IA)의 화합물의 몇몇 더욱 특정한 양태들에서, L^1 은, 각각의 경우에, 독립적으로 트리아졸릴 작용 그룹을 포함한다. 화학식 (IA)의 화합물의 기타 양태들에서, L^1 은, 각각의 경우에, 독립적으로 임의의 알킬렌 또는 헤테로알킬렌 링커이다.

[0157] 화학식 (I) 또는 (IA)의 화합물의 기타 양태들에서, R^4 는, 각각의 경우에, 독립적으로 OH, O^- 또는 OR_d 이다. "OR_d" 및 "SR_d"는 양이온과 관련된 O^- 및 S^- 를 지칭하고자 하는 것으로 이해된다. 예를 들면, 포스페이트 그룹의 이나트륨 염은 다음과 같이 나타낼 수 있다.



[0158]

[0159]

상기 화학식에서,

[0160]

R_a 는 나트륨(Na^+)이다.

[0161]

화학식 (I) 또는 (IA)의 화합물의 기타 양태들에서, R^5 는, 각각의 경우에, 옥소이다.

[0162]

임의의 상기 화합물의 몇몇 상이한 양태들에서, R^1 은 H이다.

[0163]

기타 다양한 양태들에서, R^2 및 R^3 은 각각 독립적으로 OH 또는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 이다. 몇몇 상이한 양태들에서, R^2 또는 R^3 은 OH 또는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 이고, R^2 또는 R^3 중 나머지는 Q이거나 또는 Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링 커다.

[0164]

기타 양태들에서, Q는, 각각의 경우에, 독립적으로 분석물 분자와의 공유 결합을 형성할 수 있는 반응성 그룹을 포함하는 모이어티 또는 고형 지지체이다. 기타 양태들에서, Q는, 각각의 경우에, 독립적으로 상보적인 반응성 그룹과 공유 결합을 형성할 수 있는 반응성 그룹을 포함하는 모이어티 Q'이다. 예를 들면, 몇몇 양태들에서, Q'는 화학식 (I)의 추가의 화합물에(예를 들면, R^2 또는 R^3 위치에) 존재하고, Q 및 Q'는 상보적인 반응성 그룹을 포함하여, 화학식 (I)의 화합물과 화학식 (I)의 추가의 화합물의 반응은 화학식 (I)의 화합물의 공유 결합된 이량체를 형성시킨다. 또한 화학식 (I)의 다합체 화합물이 유사한 방식으로 제조될 수 있으며 이는 본 발명의 양태들의 범주 내에 포함된다.

[0165]

Q 그룹의 유형 및 Q 그룹의 화학식 (I)의 화합물의 나머지에 대한 연결성은 제한되지 않으며, 단, Q는 원하는 결합을 형성하기에 적절한 반응성을 갖는 모이어티를 포함한다.

[0166]

특정 양태에서, Q는 수성 조건하에 가수분해를 일으키지 않지만 분석물 분자 또는 고형 지지체(예를 들면, 아민, 아지드 또는 알킨) 상의 상응하는 그룹과 결합을 형성하기에 충분히 반응성인 모이어티이다.

[0167]


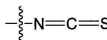

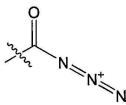
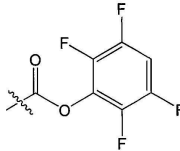
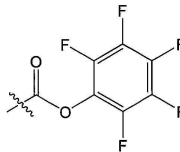
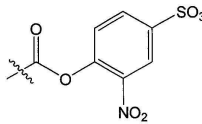
화학식 (I)의 화합물의 특정 양태들은 생체접합(bioconjugation) 분야에서 통상 사용되는 Q 그룹을 포함한다. 예를 들면, 몇몇 양태들에서, Q는 친핵성 반응성 그룹, 친전자성 반응성 그룹 또는 고리화첨가 반응성 그룹을 포함한다. 몇몇 더욱 특정한 양태들에서, Q는 설프하이드릴, 디설파이드, 활성화 에스테르, 이소티오시아네이트, 아지드, 알킨, 알켄, 디엔, 디에노필, 산 할라이드, 설폰일 할라이드, 포스핀, α -할로아미드, 비오틴, 아미노 또는 말레이미드 작용 그룹을 포함한다. 몇몇 양태들에서, 활성화 에스테르는 N-석신이미드 에스테르, 이미도에스테르 또는 폴리플루오로페닐 에스테르이다. 기타 양태들에서, 알킨은 알킬 아지드 또는 아실 아지드이다.

[0168]

예시적인 Q 모이어티가 표 1에 제공된다.

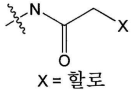
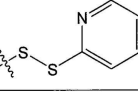
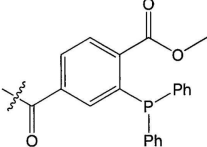


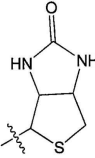


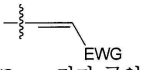

표 1

예시적인 Q 모이어티

구조	분류
	설프하이드릴
	이소티오시아네이트
	이미도에스테르
	아실 아지드
	활성화 에스테르
	활성화 에스테르
	활성화 에스테르

[0169]

구조	분류
	활성화 에스테르
	활성화 에스테르
	활성화 에스테르
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드
	설포닐 할라이드

구조	분류
 X = 할로	α -할로이미드
	디설파이드
	포스핀
	아지드
	알킨
	비오틴
	디엔
	알켄/디에노필
 EWG = 전자 구인 기 (electron withdrawing group)	알켄/디에노필
	아미노

[0171]

[0172]

Q가 SH인 몇몇 양태들에서, SH 모이어티는 또 다른 화학식 (I)의 화합물 상에서 또 다른 설프하이드릴 그룹과의 디설파이드 결합을 형성하는 경향이 있을 것임을 주목해야 한다. 따라서, 몇몇 양태들은, 디설파이드 결합이 SH Q 그룹으로부터 유도되는 디설파이드 이량체 형태의 화학식 (I)의 화합물을 포함한다.

[0173]

몇몇 기타 양태들에서, R^2 또는 R^3 중 하나는 OH 또는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 이고, R^2 또는 R^3 중 나머지는 분석물 분자에 대한 공유 결합을 포함하는 링커 또는 고정 지지체에 대한 공유 결합을 포함하는 링커이다. 예를 들면, 몇몇 양태들에서, 분석물 분자는 핵산, 아미노산 또는 이들의 중합체이다. 기타 양태들에서, 분석물 분자는 효소, 수용체, 수용체 리간드, 항체, 당단백질, 앵타머 또는 프리온이다. 상이한 양태들에서, 고정 지지체는 중합체성 비드 또는 비-중합체성 비드이다.

[0174]

m 값은 원하는 형광 및/또는 색 강도에 근거하여 선택될 수 있는 또 다른 변수이다. 몇몇 양태들에서, m은, 각각의 경우에, 독립적으로 2 또는 그 이상의 정수이다. 몇몇 양태들에서, m은, 각각의 경우에, 독립적으로 1 내지 10의 정수, 3 내지 10 또는 3 내지 6이다. 기타 양태들에서, m은, 각각의 경우에, 독립적으로 1 내지 5의 정수, 예를 들면 1, 2, 3, 4 또는 5이다. 기타 양태들에서, m은, 각각의 경우에, 독립적으로 5 내지 10의 정수, 예를 들면 5, 6, 7, 8, 9 또는 10의 정수이다.

[0175]

형광 강도는 n 값을 상이하게 선택하여 조정할 수도 있다. 특정 양태들에서, n은 1 내지 100의 정수이다. 기

타 양태들에서, n 은 1 내지 10의 정수이다. 몇몇 양태들에서, n 은 1이다.

- [0176] M은 예를 들면 원하는 색 및/또는 형광 방출 파장에 근거한 원하는 광학적 특성에 근거하여 선택된다. 몇몇 양태들에서, M은 각각의 경우에 동일하며, 그러나, M의 각각의 경우는 동일한 M일 필요는 없음을 아는 것이 중요하다. 특정 양태들은 M이 각각의 경우에 동일하지 않은 화합물을 포함한다. 예를 들면, 몇몇 양태들에서, 각각의 M은 동일하지 않으며, 상이한 M 모이어티들은 형광 공명 에너지 전달(fluorescence resonance energy transfer)(FRET) 방법에 사용하기 위한 흡광도(absorbance) 및/또는 방출(emission)을 갖도록 선택된다. 예를 들면, 이러한 양태들에서, 상이한 M 모이어티들은, 하나의 파장에서 방사선의 흡광도가 FRET 메커니즘에 의해 상이한 파장에서 방사선의 방출을 일으키도록 선택된다. 예시적인 M 모이어티는 원하는 최종 용도에 따라 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. FRET 방법을 위한 예시적인 M 모이어티는 플루오레세인 및 5-TAMRA (5-카복시테트라메틸로다민, 석신이미딜 에스테르) 염료를 포함한다.
- [0177] M은 M 상의 임의의 위치(즉, 원자)로부터 분자의 나머지에 부착될 수 있다. 당업자는 분자의 나머지에 M을 부착하기 위한 수단을 인지할 것이다. 예시적인 방법은 본원에 기재된 "클릭" 반응을 포함한다.
- [0178] 몇몇 양태들에서, M은 형광 또는 착색 모이어티이다. 예를 들면 당업계에 공지되어 있으며 비색(colorimetric), UV, 및/또는 형광 검정법에서 통상 사용되는 임의의 형광 및/또는 착색 모이어티가 사용될 수 있다. 다양한 본 발명의 양태들에서, 사용되는 M 모이어티의 예는 크산텐 유도체(예를 들면, 플루오레세인, 로다민, 오레곤 그린, 에오신 또는 텍사스 레드); 시아닌 유도체(예를 들면, 시아닌, 인도카르보시아닌, 옥사카르보시아닌, 티아카르보시아닌 또는 메로시아닌); Seta, SeTau, 및 Square 염료를 포함하는 수쿠아레인 유도체 및 환-치환된 수쿠아레인; 나프탈렌 유도체(예를 들면, 덴실 및 프로단 유도체); 쿠마린 유도체; 옥사디아졸 유도체(예를 들면, 피리딜옥사졸, 니트로벤조사디아졸 또는 벤조사디아졸); 안트라센 유도체(예를 들면, DRAQ5, DRAQ7 및 CyTRAK 오렌지를 포함하는 안트라퀴논); 피렌 유도체, 예를 들면 캐스케이드 블루(cascade blue); 옥사진 유도체(예를 들면, 나일 레드(Nile red), 나일 블루, 크레실 바이올렛(cresyl violet), 옥사진); 아크리딘 유도체(예를 들면, 프로플라빈, 아크리딘 오렌지, 아크리딘 옐로우); 아릴메틴 유도체: 오라민, 크리스탈 바이올렛, 말라카이트 그린; 및 테트라피롤 유도체(예를 들면, 포르핀, 프탈로시아닌 또는 빌리루빈)를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 기타 예시적인 M 모이어티는 시아닌 염료, 크산테이트 염료(예를 들면, Hex, Vic, Nedd, Joe 또는 Tet); 야키마 옐로우; 레드몬드 레드; 탐라(tamra); 텍사스 레드 및 알렉사 플루오르®(alex fluor®) 염료를 포함한다.
- [0179] 전술된 양태들 중 기타 양태들에서, M은 3개 이상의 아릴 또는 헤테로아릴 환, 또는 이들의 조합, 예를 들면 4개 이상의 아릴 또는 헤테로아릴 환, 또는 이들의 조합, 또는 심지어 5개 이상의 아릴 또는 헤테로아릴 환, 또는 이들의 조합을 포함한다. 몇몇 양태들에서, M은 6개의 아릴 또는 헤테로아릴 환, 또는 이들의 조합을 포함한다. 추가의 양태들에서, 환은 융합된다. 예를 들면, 몇몇 양태들에서, M은 3개 이상의 융합된 환, 4개 이상의 융합된 환, 5개 이상의 융합된 환, 또는 심지어 6개 이상의 융합된 환을 포함한다.
- [0180] 몇몇 양태들에서, M은 사이클릭이다. 예를 들면, 몇몇 양태들에서, M은 카보사이클릭이다. 기타 양태에서, M은 헤테로사이클릭이다. 전술된 양태들 중 기타 양태들에서, M은, 각각의 경우에, 독립적으로 아릴 모이어티를 포함한다. 이들 양태들 중 몇몇에서, 아릴 모이어티는 멀티사이클릭이다. 기타 보다 특정한 예들에서, 아릴 모이어티는 예를 들면 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 심지어 4개가 넘는 아릴 환을 포함할 수 있는 융합된-멀티사이클릭 아릴 모이어티이다.
- [0181] 상기 화학식 (I) 또는 (IA)의 화합물의 기타 양태들에서, M은, 각각의 경우에, 독립적으로 적어도 하나의 헤테로원자를 포함한다. 예를 들면, 몇몇 양태들에서, 헤테로원자는 질소, 산소 또는 황이다.
- [0182] 상기 양태들 중 임의의 것의 또 다른 양태들에서, M은, 각각의 경우에, 독립적으로 적어도 하나의 치환체를 포함한다. 예를 들면, 몇몇 양태들에서, 치환체는 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도, 아미노, 알킬아미노, 아릴아미노, 하이드록시, 설프하이드릴, 알콕시, 아릴옥시, 페닐, 아릴, 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 이소프로필, t-부틸, 카복시, 설포네이트, 아마이드, 또는 포밀 그룹이다.
- [0183] 전술한 양태들 중 몇몇 보다 특정한 양태들에서, M은, 각각의 경우에, 독립적으로 디메틸아미노스티벤, 퀴나크리돈, 플루오로페닐-디메틸-BODIPY, his-플루오로페닐-BODIPY, 아크리딘, 테릴렌, 섹시페닐, 포르피린, 벤조피렌, (플루오로페닐-디메틸-디플루오로보라-디아자-인다센)페닐, (bis-플루오로페닐-디플루오로보라-디아자-인다센)페닐, 쿼터페닐, bi-벤조디아졸, ter-벤조디아졸, bi-나프틸, bi-안트라실, 스쿠아레인, 스쿠아릴륨, 9,10-에티닐안트라센 또는 ter-나프틸 모이어티이다. 기타 양태들에서, M은, 각각의 경우에, 독립적으로

표 2

화학식 (I)의 예시적인 화합물

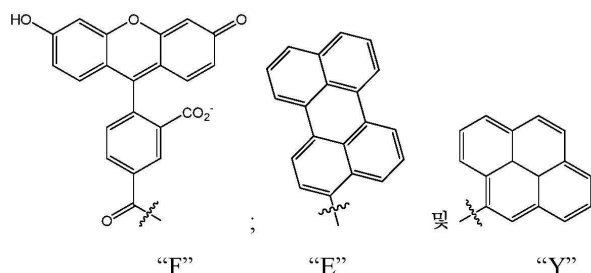
번호	구조
I-1	
I-2	
I-3	
I-4	
I-5	
I-6	

[0188]

번호	구조
I-7	

[0189]

[0190] 표 2에서 사용된 바와 같이 그리고 명세서에 걸쳐, F, E 및 Y는 각각 플루오레세인, 페릴렌 및 피렌 모이어티를 지칭하며 하기 구조를 갖는다.



[0191]

[0192]

본 발명의 염료 화합물은 "조정 가능"하며, 이는, 상기 화합물들 중 임의의 화합물의 변수의 적절한 선택에 의해, 당업자는 원하는 및/또는 소정의 분자 형광성(molar fluorescence)(분자 밝기)을 갖는 화합물을 얻을 수 있음을 의미한다. 화합물의 조정능은, 사용자가 특정 분석에서 사용하기 위한 또는 목적하는 특정 분석물을 식별하기 위한 원하는 형광성 및/또는 색을 갖는 화합물에 쉽게 도달할 수 있게 한다. 모든 변수들이 화합물의 분자 형광성에 영향을 끼칠 수 있지만, M, A, m 및 n의 적절한 선택은 화합물의 분자 형광성에서 중요한 역할을 하는 것으로 여겨진다. 따라서, 하나의 양태에서, 원하는 분자 형광성을 갖는 화합물을 수득하는 방법이 제공되며, 이 방법은 공지된 형광성을 갖는 M 모이어티를 선택하는 단계, M 모이어티를 포함하는 화학식 (I)의 화합물을 제조하는 단계, 및 A, m 및 n을 위한 적절한 변수를 선택하여 원하는 분자 형광성을 얻는 단계를 포함한다.

[0193]

특정 양태들에서, 분자 형광성은 모 형광단(parent fluorophore)(예를 들면, 단량체)의 형광 방출에 대한 배(fold) 증가 또는 감소 측면에서 표현될 수 있다. 몇몇 양태들에서, 본 발명의 화합물의 분자 형광성은 모 형광단에 비해 1.1x, 1.5x, 2x, 3x, 4x, 5x, 6x, 7x, 8x, 9x, 10x이거나 심지어 더 크다. 다양한 양태들은 A, m 및 n의 적절한 선택에 의해 모 형광단에 비해 형광에서 원하는 배 증가(fold increase)를 갖는 화합물을 제조하는 것을 포함한다.

[0194]

설명을 용이하게 하기 위해, 인 모이어티(phosphorous moiety)(예를 들면, 포스페이트 등)를 포함하는 다양한 화합물이 음이온 상태(예를 들면, $-OPO(OH)O^-$, $-OPO_3^{2-}$)로 묘사된다. 당업자는 전하가 pH에 의존하며 충전되지 않은 형태(예를 들면, 양성자화된 형태 또는 염, 예를 들면 나트륨 또는 다른 양이온)가 또한 본 발명의 양태들의 범주에 포함됨을 용이하게 이해할 것이다.

[0195]

진술한 화합물 및 하나 이상의 분석 분자(예를 들면, 생체분자) 중 임의의 것을 포함하는 조성물이 다양한 기타 양태들에서 제공된다. 몇몇 양태들에서, 하나 이상의 분석물 분자의 검출을 위한 분석 방법에서의 이러한 조성물의 사용이 또한 제공된다.

[0196]

기타 양태들에서, 화합물은 다양한 분석 방법들에 유용하다. 예를 들면, 특정 양태들에서, 본 발명은 샘플을 염색하는 방법으로서, 상기 샘플에 화학식 (I)의 화합물, 예를 들면 R^2 또는 R^3 중 하나는 분석물 분자에 대한 공유 결합을 포함하는 링커(예를 들면, 생체분자) 또는 미세입자이고 R^2 또는 R^3 중 나머지는 H, OH, 알킬, 알콕시, 알킬에테르 또는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 인 화학식 (I)의 화합물을, 상기 샘플을 적절한 과장에서 조사하는 경우 광학 응답을 유발시키기에 충분한 양으로 첨가하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0197]

상기 방법의 몇몇 양태들에서, R^2 는 분석물 분자, 예를 들면 생체분자에 대한 공유 연결을 포함하는 링커이다. 예를 들면, 핵산, 아미노산 또는 이들의 중합체(예를 들면, 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩티드)이다. 또 다른 양태들에서, 생체분자는 효소, 수용체, 수용체 리간드, 항체, 당단백질, 앵타머 또는 프리온이다.

[0198]

상기 방법의 기타 양태들에서, R^2 는 고형 지지체, 예를 들면 미세입자에 대한 공유 연결을 포함하는 링커이다. 예를 들면, 몇몇 양태들에서, 미세입자는 중합체성 비드 또는 비-중합체성 비드이다.

[0199]

더 많은 양태들에서, 상기 광학 응답은 형광 응답(fluorescent response)이다.

[0200]

기타 양태들에서, 상기 샘플은 세포를 포함하며, 몇몇 양태들은 상기 세포를 유동 세포계측법(flow cytometry)으로 관찰함을 추가로 포함한다.

[0201]

또 다른 양태들에서, 방법은, 형광 응답을, 검출 가능하게 상이한 광학 성질을 갖는 제2 형광단(fluorophore)의 형광 응답으로부터 구별함을 추가로 포함한다.

- [0202] 기타 양태들에서, 본 발명은 분석물 분자, 예를 들면 생체분자를 시각적으로 검출하는 방법으로서,
- [0203] (a) 화학식 (I)의 화합물, 예를 들면 R^2 또는 R^3 중 하나는 분석물 분자에 대한 공유 결합을 포함하는 링커이고 R^2 또는 R^3 중 나머지는 H, OH, 알킬, 알콕시, 알킬에테르 또는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 인 화학식 (I)의 화합물을 제공하는 단계; 및
- [0204] (b) 상기 화합물을 이의 가시적인 특성에 의해 검출하는 단계
- [0205] 를 포함하는 방법을 제공한다.
- [0206] 몇몇 양태들에서, 분석물 분자는 핵산, 아미노산 또는 이들의 중합체(예를 들면, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드)이다. 또 다른 양태들에서, 분석물 분자는 효소, 수용체, 수용체 리간드, 항체, 당단백질, 앵타머 또는 프리온이다.
- [0207] 기타 양태들에서, 분석물 분자, 예를 들면 생체분자를 시각적으로 검출하는 방법으로서,
- [0208] (a) 상기 화합물들 중 임의의 것을 하나 이상의 분석물 분자와 혼합하는 단계; 및
- [0209] (b) 상기 화합물을 이의 가시적인 특성에 의해 검출하는 단계
- [0210] 를 포함하는 방법을 제공한다.
- [0211] 기타 양태들에서, 분석물 분자를 시각적으로 검출하는 방법으로서,
- [0212] (a) R^2 또는 R^3 은 Q이거나 또는 Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링커인 제1항에 따르는 화합물을 분석물 분자와 혼합하는 단계;
- [0213] (b) 화합물과 분석물 분자의 접합체를 형성하는 단계; 및
- [0214] (c) 접합체를 이의 가시적인 특성에 의해 검출하는 단계
- [0215] 를 포함하는 방법을 제공한다.
- [0216] 몇몇 상이한 양태들에서, 화학식 (I)의 화합물을 세포 분석을 위해 다양하게 사용할 수 있다. 예를 들면, 유동 세포계측법을 사용함으로써, 살아있는 세포와 죽은 세포를 식별하고, 세포의 건강을 평가하고(예를 들면, 괴사(necrosis) 세포 vs. 초기 자멸사(apoptosis) 세포 vs. 후기 자멸사 세포 vs. 살아있는 세포), 세포 주기 동안 배수성(ploidy)과 유사분열(mitosis)을 추적하고, 세포 증식의 다양한 상태를 결정하는데 상기 화합물을 사용할 수 있다. 이론에 한정되기를 바라지는 않지만, 화학식 (I)의 화합물의 양태들은 양으로 하전된(positively charged) 모이어티에 우선적으로 결합한다고 여겨진다. 따라서, 몇몇 양태들에서, 화합물을 손상 세포(non-intact cell), 예를 들면, 괴사 세포의 존재를 결정하는 방법에 사용할 수 있다. 예를 들면, 괴사 세포의 존재는, 세포를 함유하는 샘플을 화학식 (I)의 화합물과 혼합하고 유동 세포계측법으로 혼합물을 분석함으로써 결정될 수 있다. 화학식 (I)의 화합물은 괴사 세포에 결합하므로, 이의 존재는 유동 세포계측 조건하에서 검출 가능하다. 괴사 세포에 결합하기 위해 아민 반응성 그룹을 필요로 하는 다른 염색 시약과는 달리, 화학식 (I)의 화합물을 사용하는 염색 방법의 양태들은 단백질을 함유하지 않는 항온처리 완충제를 필요로 하지 않으므로, 이러한 방법은 관련된 공지된 방법들보다 더 효율적으로 수행된다.
- [0217] 다양한 기타 양태들에서, 화합물을, 비손상 또는 손상 세포(intact or non-intact cell), 자멸사 체(apoptotic body), 탈분극막 및/또는 투과된 막에서 양으로 하전된 모이어티의 존재를 결정하기 위한 관련 방법에서 사용할 수 있다.
- [0218] 상기 방법들 이외에도, 화학식 (I)의 화합물의 양태들은, 암 및 다른 조직의 식별을 위한 내시경검사 절차에서의 영상화; 죽은 세포에 대한 화합물의 특이적 결합에 의한 괴사 조직 식별; 단일 세포 및/또는 단일 분자 분석법, 예를 들면 증폭이 거의 또는 전혀 없는 폴리뉴클레오티드의 검출; 예를 들면 암세포에 우선적으로 결합하는 항체 또는 당 또는 기타 모이어티에 대한 화학식 (I)의 화합물의 접합으로 인한 암 영상화; 외과 수술에서의 영상화; 다양한 질환의 식별을 위한 히스톤의 결합; 예를 들면 화학식 (I)의 화합물에서 M 모이어티를 활성 약물 모이어티로 대체함으로써 인한 약물 전달; 및/또는 예를 들면 다양한 식물군 및/또는 유기체에 대한 화학식 (I)의 화합물의 우선적인 결합에 의한 치과 작업 및 기타 절차에 있어서의 조영제를 포함하지만 이에 한정되지는 않는 다양한 분야 및 방법에서의 유용성을 밝혀내었다.

[0219] 상기 서술된 바와 같은 화학식 (I)의 화합물의 임의의 양태, 및 상기 서술된 바와 같은 화학식 (I)의 화합물에서의 R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , L^1 , L^2 , L^3 , L^4 , L^5 , A, M, m 및/또는 n 변수에 대해 본원에 서술된 임의의 구체적인 선택은, 독립적으로, 화학식 (I)의 화합물의 다른 양태 및/또는 변수와 조합되어 상기에서 구체적으로 서술되지 않은 본 발명의 양태를 형성할 수 있음이 이해된다. 또한, 선택 목록이 특정 양태 및/또는 청구범위에서 임의의 특정 R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , L^1 , L^2 , L^3 , L^4 , L^5 , A, M, m 및/또는 n 변수에 대해 열거되어 있는 경우, 각각의 개별 선택은 특정 양태 및/또는 청구범위로부터 제거될 수 있으며 나머지 선택 목록은 본 발명의 범주 내에 있는 것으로 간주될 것이라는 점이 이해된다.

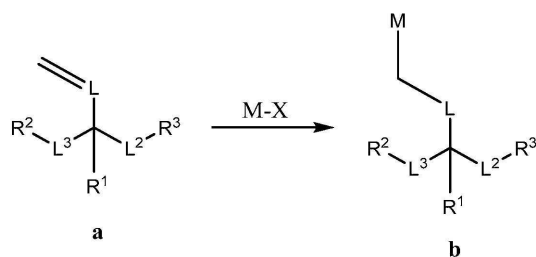
[0220] 본 기재사항에서, 도시된 화학식의 치환체 및/또는 변수의 조합은 이러한 기여가 안정한 화합물을 초래하는 경우에만 허용되는 것으로 이해된다.

[0221] 또한, 당업자는 본원에 기재된 공정에서 중간체 화합물의 작용성 그룹이 적합한 보호 그룹에 의해 보호될 필요가 있음을 인식할 것이다. 이러한 작용성 그룹은 하이드록시, 아미노, 머캅토 및 카복실산을 포함한다. 하이드록시에 적합한 보호 그룹은 트리알킬실릴 또는 디알킬알킬실릴(예를 들면, *t*-부틸디메틸실릴, *t*-부틸디페닐실릴 또는 트리메틸실릴), 테트라하이드로피라닐, 벤질 등을 포함한다. 아미노, 아미디노 및 구아니디노에 적합한 보호 그룹은 *t*-부톡시카보닐, 벤질옥시카보닐 등을 포함한다. 머캅토에 적합한 보호 그룹은 -C(O)-R"(여기서, R"은 알킬, 알릴 또는 아릴알킬이다), *p*-메톡시벤질, 트리틸 등을 포함한다. 카복실산에 적합한 보호 그룹은 알킬, 알릴 또는 아릴알킬 에스테르를 포함한다. 보호 그룹은 당업자에게 공지되고 본원에 기재된 바와 같이 표준 기술에 따라 추가되거나 제거될 수 있다. 보호 그룹의 사용은 문헌[Green, T.W. and P.G.M. Wutz, *Protective groups in Organic Synthesis* (1999), 3rd Ed., Wiley]에 상세히 기술되어 있다. 당업자가 인식할 수 있는 바와 같이 보호 그룹은 중합체 수지, 예를 들면 왕(Wang) 수지, 링크(Rink) 수지 또는 2-클로로트리틸-클로라이드 수지일 수도 있다.

[0222] 또한, 유리 염기 또는 산 형태로 존재하는 본 발명의 모든 화합물은 당업자에게 공지된 방법에 의해 적절한 무기 또는 유기 염기 또는 산을 사용한 처리에 의해 이들의 염으로 전환시킬 수 있다. 본 발명의 화합물의 염은 표준 기술에 의해 이들의 유리 염기 또는 산 형태로 전환시킬 수 있다.

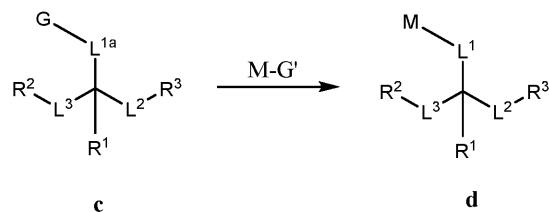
[0223] 하기 반응식은 본 발명의 화합물의 염을 제조하는 예시적 방법을 설명한다. 당업자에게 공지된 다른 방법을 조합함으로써 또는 유사한 방법에 의해 이들 화합물을 제조할 수 있는 것으로 이해된다. 또한, 당업자가, 아래 기재된 바와 유사한 방식으로, 필요에 따라 적절한 출발 성분을 사용하고 합성 파라미터를 변경함으로써 아래 구체적으로 설명되지 않은 화학식 (I)의 다른 화합물을 제조할 수 있을 것임이 이해된다. 일반적으로, 출발 성분은 시그마 알드리치(Sigma Aldrich), 랭커스터 신테시스, 인코포레이티드(Lancaster Synthesis, Inc.), 메이브릿지(Maybridge), 매트릭스 사이언티픽(Matrix Scientific), TCI, 및 플루오로켐 유에스에이(Fluorochem USA) 등과 같은 공급처로부터 구입할 수 있거나 당업자에게 공지된 자료(예를 들면, 문헌[Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 5th edition (Wiley, December 2000)] 참조)에 따라 합성될 수 있거나 본원에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다.

[0224] 반응식 I



[0225] 반응식 I은 화학식 (I)의 화합물의 제조에 유용한 중간체를 제조하기 위한 예시적인 방법을 기술하며, 여기서, R^1 , L^2 , L^3 및 M은 상기 정의된 바와 같고, R^2 및 R^3 은 상기 정의된 바와 같거나 이의 보호된 변수이고, L은 임의의 링커이다. 반응식 I을 참조하면, 화학식 a의 화합물은 구입하거나 또는 당업자에게 널리 공지된 방법으로 제조할 수 있다. 당업계에 공지된 스즈키 커플링 조건하에 M-X(여기서 x는 브로모와 같은 할로젠이다)와 반응시켜 화학식 b의 화합물을 형성시킨다. 화학식 b의 화합물을 아래 개시된 화학식 (I)의 화합물의 제조에 사용할 수 있다.

[0227] 반응식 II

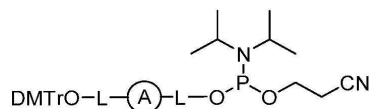


[0228]

[0229] 반응식 II는 화학식 (I)의 화합물의 제조에 유용한 중간체를 제조하기 위한 또 다른 방법을 기술한다. R^1 , L^1 , L^2 , L^3 , G 및 M은 상기 정의된 바와 같고, R^2 및 R^3 은 상기 정의된 바와 같거나 이의 보호된 변수인 반응식 II를 참조하면, 구입할 수 있거나 당업자에게 널리 공지된 방법으로 제조할 수 있는 화학식 c의 M-G'와 반응시켜 화학식 d의 화합물을 형성시킨다. 여기서, G 및 G'는 상보적인 반응성(complementary reactivity)을 갖는 작용성 그룹(즉, 반응하여 공유 결합을 형성하는 작용성 그룹)을 나타낸다. G'는 M에 대해 펜던트이거나 M의 구조 골격의 일부일 수 있다. G는 본원에 기재된 임의의 개수의 작용성 그룹, 예를 들면 알킬일 수 있다.

[0230] 화학식 (I)의 화합물은 널리 공지된 자동화된 DNA 합성 조건의 화학식 (e)의 포스포아미다이트 화합물과의 반응에 의해 화학식 b 또는 d 중 하나로부터 제조될 수 있다.

[0231] 화학식 (e)



[0232]

[0233] 상기 화학식 (e)에서,

[0234] A는 상기 정의된 바와 같고,

[0235] 각각의 L은 독립적으로 임의의 링커이다.

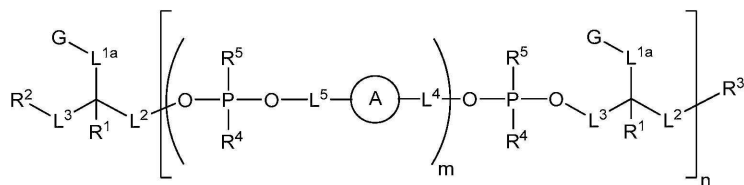
[0236] DNA 합성 방법은 당업계에 익히 공지되어 있다. 간단히 말하면, 상기 중간체 b 또는 d의 2개의 알코올 그룹, 예를 들면 R^2 및 R^3 을 디메톡시트리틸(DMT) 그룹 및 2-시아노에틸-N,N-디이소프로필아미노 포스포아미다이트 그룹 각각으로 관능화시킨다. 통상적으로 테트라졸과 같은 활성화제의 존재하에 포스포아미다이트 그룹을 알코올 그룹에 커플링시키고 이어서 인 원자를 요오드로 산화시킨다. 디메톡시트리틸 그룹을 산(예를 들면, 클로로아세트산)으로 제거하여 유리 알코올을 노출시키고, 이를 포스포아미다이트 그룹과 반응시킬 수 있다. 2-시아노에틸 그룹을 수성 암모니아로 처리함으로써 올리고머화 후에 제거할 수 있다.

[0237] 올리고머화 방법에서 사용되는 포스포아미다이트의 제조 또한 당업계에 익히 공지되어 있다. 예를 들면, 1급 알코올(예를 들면, R^3)은 DMT-Cl과의 반응에 의해 DMT 그룹으로서 보호할 수 있다. 이어서, 2급 알코올(예를 들면, R^2)을 2-시아노에틸 N,N-디이소프로필클로로포스포아미다이트와 같은 적절한 시약과의 반응에 의해 포스포아미다이트로서 관능화시킨다. 포스포아미다이트의 제조 방법 및 이의 올리고머화는 당업계에 익히 공지되어 있고 실시예에서 보다 상세히 기술된다.

[0238] 화학식 (I)의 화합물은 전술된 널리 공지된 포스포아미다이트 화학법에 따라 중간체 b 또는 d 및 e의 올리고머화에 의해 제조된다. 포스포아미다이트 커플링을 원하는 횟수로 반복함으로써 원하는 개수의 m 및 n 반복 단위가 분자 내에 혼입된다. 아래 개시된 화학식 (II)의 화합물이 유사한 방법으로 제조될 수 있음이 인지될 것이다.

[0239] 다양한 기타 양태들에서, 화학식 (I)의 화합물의 제조에 유용한 화합물이 제공된다. 화합물은 단량체, 이량체 및/또는 올리고머 형태로 제조될 수 있으며 이어서 M 모이어티는 임의의 개수의 합성 방법(예를 들면, 전술된 "클릭" 반응)을 통해 화합물에 공유 부착되어 화학식 (I)의 화합물을 형성한다. 따라서, 다양한 양태들에서, 화학식 (II) 또는 이의 입체이성체, 염 또는 호변이성체의 화합물이 제공된다.

[0240] 화학식 (II)



[0241]

[0242] 상기 화학식 (II)에서,

[0243] A는, 각각의 경우에, 독립적으로 하나 이상의 융합된 카보사이클릭 또는 헤테로사이클릭 환 시스템을 포함하는 모이어티이고;

[0244] G는, 각각의 경우에, 독립적으로 상보적인 반응성 그룹과 공유 결합을 형성할 수 있는 반응성 그룹을 포함하는 모이어티이고;

[0245] L^{1a} , L^2 , L^3 , L^4 및 L^5 는, 각각의 경우에, 독립적으로 임의의 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌, 헤테로알킬렌, 헤테로알케닐렌, 헤테로알키닐렌 또는 헤테로원자 링커이고;

[0246] R^1 은, 각각의 경우에, 독립적으로 H, 알킬 또는 알콕시이고;

[0247] R^2 및 R^3 은 각각 독립적으로 H, OH, SH, 알킬, 알콕시, 알킬에테르, $-OP(=R_a)(R_b)R_c$, Q, Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링커, 분석물 분자에 대한 공유 결합을 포함하는 링커, 고형 지지체에 대한 공유 결합을 포함하는 링커 또는 화학식 (II)의 추가의 화합물에 대한 공유 결합을 포함하는 링커이고, 여기서, R_a 는 O 또는 S이고; R_b 는 OH, SH, O^- , S^- , OR_d 또는 SR_d 이고; R_c 는 OH, SH, O^- , S^- , OR_d , SR_d , 알킬, 알콕시, 알킬에테르, 알콕시알킬에테르, 포스페이트, 티오포스페이트, 포스포알킬, 티오포스포알킬, 포스포알킬에테르 또는 티오포스포알킬에테르이고; R_d 는 카운터 이온이고;

[0248] R^4 는, 각각의 경우에, 독립적으로 OH, SH, O^- , S^- , OR_d 또는 SR_d 이고;

[0249] R^5 는, 각각의 경우에, 독립적으로 옥소 또는 티오택소이거나 부재하고;

[0250] Q는, 각각의 경우에, 독립적으로 분석물 분자, 고형 지지체 또는 상보적인 반응성 그룹 Q'와의 공유 결합을 형성할 수 있는 반응성 그룹을 포함하는 모이어티이고;

[0251] m은, 각각의 경우에, 독립적으로 0 또는 그 이상의 정수이고, 적어도 하나의 경우 m은 1 또는 그 이상의 정수이고;

[0252] n은 1 또는 그 이상의 정수이다.

[0253] 화학식 (II)의 화합물에서 G 모이어티는, M 모이어티 상에서 상보적인 그룹과 공유 결합을 형성하기에 적절한 반응성 그룹을 갖는 그룹을 포함하는 임의의 모이어티로부터 선택될 수 있다. 예시적인 양태들에서, G 모이어티는 표 1에 제공된 특정 예들을 포함하는 본원에 기재된 Q 모이어티 중 임의의 것로부터 선택될 수 있다. 몇몇 양태들에서, G는, 각각의 경우에, 독립적으로, 트리알콜의 형성을 위한 아지드 및 알킨의 구리 촉매화 반응(휘스젠 1,3-쌍극자 고리화첨가), 디엔 및 디에노필의 반응(딜스-알더), 변형-축진된 알킨-니트론 고리화첨가, 변형된 알켄과 아지드, 테트라진 또는 테트라졸과의 반응, 알켄 및 아지드 [3+2] 고리화첨가, 알켄 및 테트라진 역요구 딜스-알더, 알켄 및 테트라졸 광반응 및 다양한 치환 반응, 예를 들면 친전자성 원자에서의 친핵성 공격에 의한 이탈 그룹의 치환을 포함하는 반응에 적합한 모이어티를 포함한다.

[0254] 몇몇 양태들에서, G는, 각각의 경우에, 독립적으로, 알데히드, 옥심, 하이드라존, 알킨, 아민, 아지드, 아실아지드, 아실할라이드, 니트릴, 니트론, 설프하이드릴, 디설프아이드, 설프닐 할라이드, 이소티오시아네이트, 이미도에스테르, 활성화 에스테르, 케톤, α, β -불포화 카보닐, 알켄, 말레이미드, α -할로이미드, 에폭사이드, 아지리딘, 테트라진, 테트라졸, 포스핀, 비오틴 또는 티이탄 작용 그룹을 포함하는 모이어티이다.

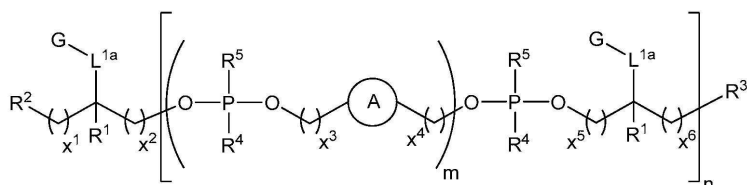
[0255] 기타 양태들에서, G는, 각각의 경우에, 독립적으로, 알킨 또는 아지드 그룹을 포함한다. 상이한 양태들에서, G

는, 각각의 경우에, 독립적으로, 상보적인 반응성 그룹과 반응하면, 알켄, 에스테르, 아미드, 티오에스테르, 디설파이드, 카보사이클릭, 헤테로사이클릭 또는 헤테로아릴 그룹을 포함하는 작용 그룹을 형성할 수 있는 반응성 그룹을 포함한다. 예를 들면, 몇몇 양태에서, 헤테로아릴은 트리아졸릴이다.

[0256] 화학식 (II)의 화합물의 다양한 기타 양태들에서, L^2 , L^3 , L^4 및 L^5 는, 각각의 경우에, 독립적으로 C_1 - C_6 알킬렌, C_2 - C_6 알케닐렌 또는 C_2 - C_6 알키닐렌이다.

[0257] 기타 양태들에서, 화합물은 화학식 (IIA)을 갖는다.

[0258] 화학식 (IIA)

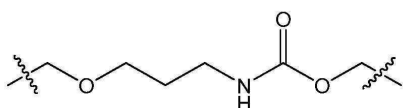


[0259]



[0260] 상기 화학식 (IIA)에서,

[0261] x^1, x^2, x^3, x^4, x^5 및 x^6 은, 각각의 경우에, 독립적으로 0 내지 6의 정수이다.

[0262] 화학식 (II)의 화합물의 기타 양태들에서, 각각의 L^{1a} 는 부재한다. 기타 양태들에서, 각각의 L^{1a} 는 존재하며, 예를 들면 L^{1a} 는, 각각의 경우에, 독립적으로 헤테로알킬렌이다. 특정 양태들에서, L^{1a} 는 하기 화학식을 갖는다.



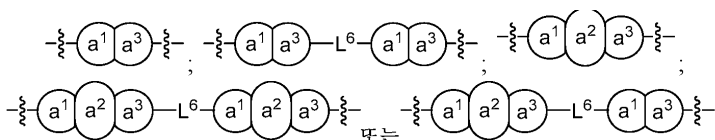
[0263]

[0264] 화학식 (II)의 화합물의 상기 양태들 중 임의의 것에서, G는, 각각의 경우에, 독립적으로  또는  이다.

[0265] 화학식 (IIa)의 화합물의 다양한 양태들에서, x^3 및 x^4 는 각각의 경우에 둘 다 2이다. 기타 양태들에서, x^1 , x^2 , x^5 및 x^6 은 각각의 경우에 각각 1이다.

[0266] 화학식 (II) 또는 (IIa)의 화합물의 몇몇 기타 양태들에서, A는, 각각의 경우에, 독립적으로 하나 이상의 융합된 아릴 또는 헤테로아릴 환 시스템을 포함하는 모이어티이다. 상이한 양태들에서, A는, 각각의 경우에, 독립적으로 하나 이상의 융합된 비사이클릭 또는 트리사이클릭 아릴 또는 헤테로아릴 환 시스템을 포함하는 모이어티이다.

[0267] 화학식 (II) 또는 (IIa)의 화합물의 기타 더욱 특정한 양태들에서, A는, 각각의 경우에, 독립적으로, 하기 화학식들 중 하나를 갖는 융합된 카보사이클릭 또는 헤테로사이클릭 환 시스템이다.



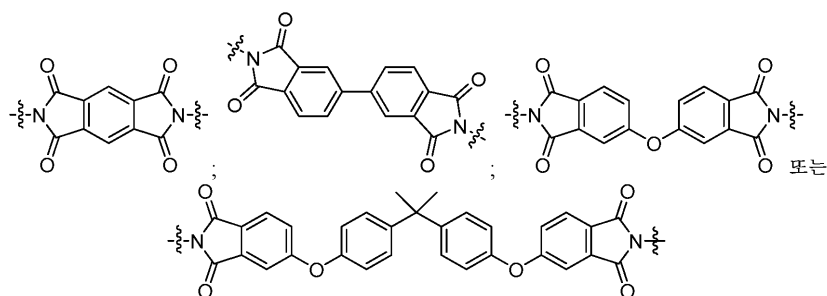
[0268]

[0269] 상기 화학식에서,

[0270] a^1 , a^2 및 a^3 은, 각각의 경우에, 독립적으로 5, 6 또는 7원 카보사이클릭 또는 헤테로사이클릭 화이고;

[0271] L^6 은 직접 결합 또는 링커이다.

[0272] 화학식 (II) 또는 (IIa)의 화합물의 기타 양태들에서, A는, 각각의 경우에, 독립적으로 하기 화학식들 중 하나를 갖는다.



[0273]

[0274] 기타 양태들에서, R^4 는, 각각의 경우에, 독립적으로 OH, O^- 또는 OR_d 이고, 상이한 양태들에서, R^5 는, 각각의 경우에, 옥소이다.

[0275] 화학식 (II) 또는 (IIa)의 화합물의 몇몇 상이한 양태들에서, R^1 은 H이다.

[0276] 화학식 (II) 또는 (IIa)의 화합물의 기타 다양한 양태들에서, R^2 및 R^3 는 각각 독립적으로 OH 또는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 이다. 몇몇 상이한 양태들에서, R^2 또는 R^3 은 OH 또는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 이고, R^2 또는 R^3 중 나머지는 Q이거나 또는 Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링커다.

[0277] 화학식 (II) 또는 (IIa)의 화합물의 기타 양태들에서, Q는, 각각의 경우에, 독립적으로 분석물 분자와의 공유 결합을 형성할 수 있는 반응성 그룹을 포함하는 모이어티 또는 고형 지지체이다. 기타 양태들에서, Q는, 각각의 경우에, 독립적으로 상보적인 반응성 그룹과 공유 결합을 형성할 수 있는 반응성 그룹을 포함하는 모이어티 Q'이다. 예를 들면, 몇몇 양태들에서, Q'는 화학식 (I)의 추가의 화합물에(예를 들면, R^2 또는 R^3 위치에) 존재하고, Q 및 Q'는 상보적인 반응성 그룹을 포함하여, 화학식 (II) 또는 (IIa)의 화합물과 화학식 (II) 또는 (IIa)의 추가의 화합물의 반응은 화학식 (II) 또는 (IIa)의 화합물의 공유 결합된 이량체를 형성시킨다. 또한 화학식 (II) 또는 (IIa)의 다합체 화합물이 유사한 방식으로 제조될 수 있으며 이는 본 발명의 양태들의 범주 내에 포함된다.

[0278] Q 그룹의 유형 및 Q 그룹의 화학식 (II) 또는 (IIa)의 화합물의 나머지에 대한 연결성은 제한되지 않으며, 단, Q는 원하는 결합을 형성하기에 적절한 반응성을 갖는 모이어티를 포함한다.

[0279] 화학식 (II) 또는 (IIa)의 화합물의 특정 양태들에서, Q는, 수성 조건하에 가수분해를 일으키지 않지만 분석물 분자 또는 고형 지지체(예를 들면, 아민, 아지드 또는 알킨) 상의 상응하는 그룹과 결합을 형성하기에 충분히 반응성인 모이어티이다.

[0280] 화학식 (II) 또는 (IIa)의 화합물의 특정 양태들은 생체접합 분야에서 통상 사용되는 Q 그룹을 포함한다. 예를 들면, 몇몇 양태들에서, Q는 친핵성 반응성 그룹, 친전자성 반응성 그룹 또는 고리화첨가 반응성 그룹을 포함한다. 몇몇 더욱 특정한 양태들에서, Q는 설포하이드릴, 디설파이드, 활성화 에스테르, 이소티오시아네이트, 아지드, 알킨, 알켄, 디엔, 디에노필, 산 할라이드, 설포닐 할라이드, 포스핀, α -할로아미드, 비오틴, 아미노 또는 말레이미드 작용 그룹을 포함한다. 몇몇 양태들에서, 활성화 에스테르는 N-석신이미드 에스테르, 이미도 에스테르 또는 폴리플루오로페닐 에스테르이다. 기타 양태들에서, 알킨은 알킬 아지드 또는 아실 아지드이다.

[0281] 화학식 (II) 또는 (IIa)의 화합물에 대한 예시적인 Q 모이어티는 표 I에 제공된다.

[0282] 화학식 (I) 또는 (Ia)의 화합물에서와 같이, Q가 SH인 화학식 (II) 또는 (IIa)의 화합물의 몇몇 양태들에서, SH 모이어티는 또 다른 화학식 (II) 또는 (IIa)의 화합물 상에서 또 다른 설포하이드릴 그룹과의 디설파이드 결합을 형성하는 경향이 있을 것이다. 따라서, 몇몇 양태들은 디설파이드 결합이 SH Q 그룹으로부터 유도되는 디설파이드 이량체 형태의 화학식 (II) 또는 (IIa)의 화합물을 포함한다.

[0283] 화학식 (II) 또는 (IIa)의 화합물의 몇몇 기타 양태들에서, R^2 또는 R^3 중 하나는 OH 또는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 이고, R^2 또는 R^3 중 나머지는 분석물 분자에 대한 공유 결합을 포함하는 링커 또는 고형 지지체에 대한 공유 결합을

포함하는 링커이다. 예를 들면, 몇몇 양태들에서, 분석물 분자는 핵산, 아미노산 또는 이들의 중합체이다. 기타 양태들에서, 분석물 분자는 효소, 수용체, 수용체 리간드, 항체, 당단백질, 앵타머 또는 프리온이다. 상이한 양태들에서, 고형 지지체는 중합체성 비드 또는 비-중합체성 비드이다.

[0284] 화학식 (II) 또는 (IIa)의 화합물의 기타 양태들에서, m 은, 각각의 경우에, 독립적으로 1 내지 10의 정수이다. 예를 들면, 몇몇 양태들에서, m 은, 각각의 경우에, 독립적으로 1 내지 5의 정수이다.

[0285] 화학식 (II) 또는 (IIa)의 화합물의 상이한 양태들에서, n 은 1 내지 100의 정수이다. 예를 들면, 몇몇 양태들에서, n 은 1 내지 10의 정수이다.

[0286] 기타 상이한 양태들에서, 화학식 (II)의 화합물은 표 3으로부터 선택된다.

표 3

화학식 (II)의 예시적인 화합물

번호	구조
II-1	<p>$m = 1-10$; y^1 및 y^2는 각각 독립적으로 $1-6$</p>

[0287]

[0288] 화학식 (II) 또는 (IIa)의 화합물은 다양한 방법에서 사용될 수 있으며, 예를 들면, 양태들에서, 분석물 분자를 표지화하는 방법으로서,

[0289] (a) R^2 또는 R^3 은 Q이거나 또는 Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링커인 개시된 화학식 (I)의 화합물 중 임의의 것을 분석물 분자와 혼합하는 단계;

[0290] (b) 화합물과 분석물 분자의 접합체를 형성하는 단계; 및

[0291] (c) 접합체를 화학식 $M-L^{1b}-G'$ (여기서, M은 2개 이상의 탄소-탄소 이중 결합 및 적어도 하나의 접합도를 포함하는 모이어티이고; L^{1b} 는 임의의 알킬렌, 헤테로알킬렌 또는 헤테로원자 링커이고; G' 는 G에 대해 상보적인 반응성 그룹이다)의 화합물과 혼합하여, 적어도 하나의 G와 적어도 하나의 G' 의 반응에 의해 적어도 하나의 공유 결합을 형성하는 단계

[0292] 를 포함하는 방법이 제공된다.

[0293] 상이한 양태는 분석물 분자를 표지화하는 방법으로서,

[0294] (a) R^2 또는 R^3 은 Q이거나 또는 Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링커인 본원에 기재된 화학식 (II)의 화합물 중 임의의 것을 화학식 $M-L^{1b}-G'$ (여기서, M은 2개 이상의 탄소-탄소 이중 결합 및 적어도 하나의 접합도를 포함하는 모이어티이고; L^{1b} 는 임의의 알킬렌, 헤테로알킬렌 또는 헤테로원자 링커이고; G' 는 G에 대해 상보적인 반응성 그룹이다)의 화합물과 혼합하여, G와 G' 의 반응에 의해 적어도 하나의 공유 결합을 형성하는 단계; 및

[0295] (b) 단계 (a)의 생성물을 분석물 분자와 반응시켜, 단계 (a)의 생성물과 분석물 분자의 접합체를 형성하는 단계

[0296] 를 포함하는 방법이다.

[0297] 추가로, 전술한 바와 같이, 화학식 (II)의 화합물은 화학식 (I)의 화합물의 제조에 유용하다. 따라서, 하나의 양태에서, 화학식 (I)의 화합물의 제조 방법으로서, 화학식 (II)의 화합물을 화학식 $M-L^{1b}-G'$ (여기서, M은 2개 이상의 탄소-탄소 이중 결합 및 적어도 하나의 접합도를 포함하는 모이어티이고; L^{1b} 는 임의의 알킬렌, 헤테로알킬렌 또는 헤테로원자 링커이고; G' 는 G에 대해 상보적인 반응성 그룹이다)의 화합물과 혼합하여, G와 G' 의 반

에 의해 적어도 하나의 공유 결합을 형성하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다.

[0298]

하기 실시예는 제한이 아닌 설명을 목적으로 제공된다.

[0299]

실시예

[0300]

일반적인 방법

[0301]

^1H NMR 스펙트럼을 JEOL 400MHz 분광계 상에서 얻었다. ^1H 스펙트럼은 TMS에 대해 기준으로 하였다. 역상 HPLC 염료 분석을 45°C에서 유지된 2.1mm×50mm Acquity BEH-C18 컬럼을 갖춘 Waters Acquity UHPLC 시스템을 사용하여 수행하였다. 질량 스펙트럼 분석을 MassLynx 4.1 획득 소프트웨어(acquisition software)를 사용하여 Waters/Micromass Quattro micro MS/MS 시스템 상에서 (MS 유일 모드에서) 수행하였다. 염료에서 LC/MS에 사용된 이동상은 100mM 1,1,1,3,3,3-헥사플루오로-2-프로판올(HFIP), 8.6mM 트리에틸아민(TEA), pH 8이었다. 포스포아미다이트 포스포아미다이트 및 전구체 분자를 아세트니트릴/물 이동상 구배를 사용하는 45°C에서 유지된 2.1mm×50mm Acquity BEH-C18 컬럼을 갖춘 Waters Acquity UHPLC 시스템을 사용하여 분석하였다. 단량체 중간체의 분자량은 Waters/Micromass Quattro micro MS/MS 시스템 상에서 (MS 유일 모드에서) 트로필륨 양이온 주입 향상된 이온화(tropylium cation infusion enhanced ionization)를 사용하여 획득하였다. 여기 및 발광 프로파일 실험을 Cary Eclipse 분광광도계 상에서 기록하였다.

[0302]

달리 언급되지 않는 한, 모든 반응은 질소 대기하에 오븐 건조된 유리 제품에서 수행하였다. 시판 DNA 합성 시약을 글렌 리서치(Glen Research)(미국 버지니아주 스틸링)로부터 구입하였다. 무수 피리딘, 톨루엔, 디클로로메탄, 디이소프로필에틸 아민, 트리에틸아민, 아세트산, 피리딘, 및 THF를 알드리치로부터 구입하였다. 모든 다른 화학물질을 알드리치 또는 TCI로부터 구입하고 추가 정제 없이 그대로 사용하였다.

[0303]

모든 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide) 염료를 포스포아미다이트-기반 커플링 접근법에 관한 표준 프로토콜을 사용하여 ABI 394 DNA 합성장치에서 합성하였다. 올리고뉴클레오타이드 포스포아미다이트의 합성을 위한 세어셈블리 주기는 다음과 같았다: (i) 탈트리틸화(detritylation), 디클로로메탄 중 3% 트리클로로아세트산, 1분; (ii) 커플링, 아세트니트릴 중 0.1M 포스포아미다이트 및 0.45M 테트라졸, 10분; (iii) 캡핑(capping), THF/루티딘, 1/1, v/v 중 0.5M 아세트산 무수물, 15초; (iv) 산화, THF/피리딘/물, 10/10/1, v/v/v 중 0.1M 요오드, 30초.

[0304]

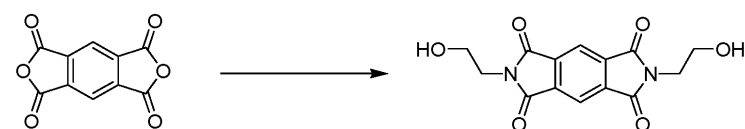
사이클 내에서의 화학적 단계 후에 아세트니트릴 세척하고 0.2 내지 0.4분 동안 무수 아르곤으로 플러싱(flushing)하였다. 지지체로부터의 절단(cleavage) 및 염기 및 포스포아미데이트 보호 그룹의 제거는, 실온에서 1시간 동안 암모니아로 처리하여 수행하였다. 이어서 올리고뉴클레오타이드 염료를 상기 기재된 바와 같이 역상 HPLC로 분석하였다.

[0305]

실시예 1

[0306]

포스포아미다이트 염료 단량체의 합성

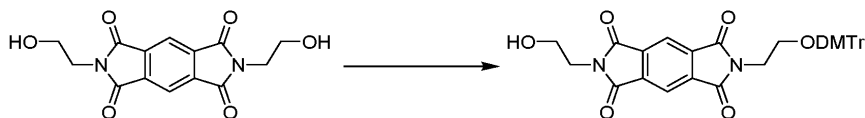


[0307]

[0308]

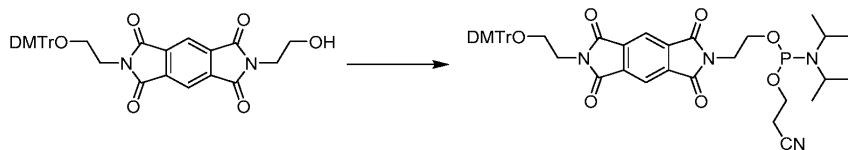
교반 막대를 갖춘 250ml 환저 플라스크에 피로멜리트산 무수물(1.0g, 4.59mmol) 및 디옥산(50ml)을 넣었다. 여기에 에탄올아민(622 μl , 11.5mmol) 및 디이소프로필에틸아민(4.0ml, 23mmol)을 첨가하였다. 플라스크에 환류 응축기를 장착하고, 오일 조(oil bath)에 넣어 밤새 환류 가열하였다. 혼합물을 냉각시켰다. 고형물을 여과하고 나중을 위해 보유하였다. 여액을 응축시키고 에틸 아세테이트와 물 사이에 분배시켰다. 에틸 아세테이트 층을 보유하고 수성 층을 에틸 아세테이트로 추가로 2회 추출하였다. 유기 층들을 합하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고 고형물로 농축시켰다. 추출 및 선행하는 여과로부터의 고형물은 TLC에 의해 동일하다는 것이 밝혀졌으며 이들을 합하여 최종 물질을 획득하였다(870mg).

[0309] 생성물의 LC/MS는 m/z 305가 가장 큰 피크와 관련되어 있음을 나타내었다. 전반적인 순도는 ~79%이었다.



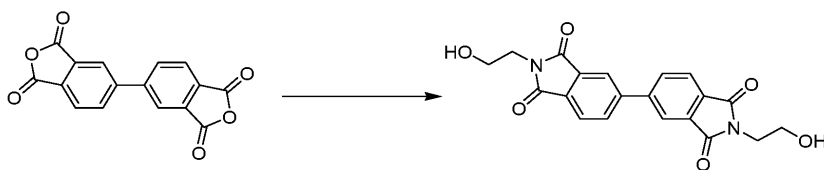
[0310]

[0311] 교반 막대를 갖춘 100ml 환저 플라스크에 피리딘(15ml) 중의 디올(850mg, 2.8mmol)을 넣었다. 혼합물을 질소 스트림하에 빙냉하였다. 여기에 4,4-디메톡시트리틸 클로라이드(237mg, 0.7mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 4℃에서 밤새 교반하였다. 메탄올(2ml)을 첨가하고, 혼합물을 15분 동안 교반하고 이어서 회전증발기(rotovap)에서 페이스트로 농축하였다. 잔류물을 중탄산나트륨 포화용액과 톨루엔 사이에 분배시켰다. 톨루엔 층을 보유하고 수성 층을 디클로로메탄으로 추가로 2회 추출하였다. 유기 층들을 합하고, 황산나트륨으로 건조시키고 농축시켰다. 실리카 겔 크로마토그래피(디클로로메탄/메탄올 구배)로 최종 정제하여 최종 생성물을 고체로 수득하였다(372mg).



[0312]

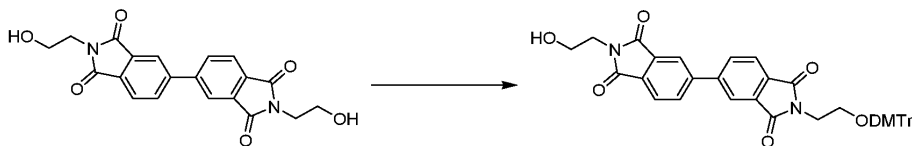
[0313] 교반 막대를 갖춘 100ml 환저 플라스크에 무수 디클로로메탄(25ml) 중의 단일보호된(monoprotected) DMTr 알코올(150mg, 0.24mmol)을 디이소프로필에틸아민(215μl, 1.23mmol)과 함께 넣었다. 2-시아노에틸-N,N-디이소프로필클로로포스포아미다이트(110μl, 0.49mmol)를 첨가하고 혼합물을 30분 동안 교반하였으며 이 지점에서 TLC는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 혼합물을 디클로로메탄과 포화 중탄산나트륨 사이에 분배하였다. 유기 층을 보유하고, 황산나트륨으로 건조시키고 황색 오일로 농축시켜 이를 DNA 합성장치에서 직접 사용하였다.



[0314]

[0315] 교반 막대를 갖춘 250ml 환저 플라스크에 3,3',4,4'-비페닐테트라카복실산 이무수물(1.2g, 4.1mmol) 및 디옥산(80ml)을 넣었다. 에탄올아민(616μl, 10.2mmol) 및 디이소프로필에틸아민(3.5ml)을 첨가하고, 플라스크에 환류 응축기를 장착하고 혼합물을 밤새 환류 가열하였다. 반응을 냉각시키고 교반 비이커에 물(1500ml)을 첨가하여 침강시켰다. 고형물을 여과 수집하고 진공하에 건조시켰다(0.74g)

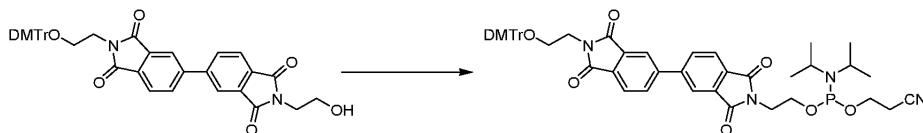
[0316] 순도는 > 95%였다. 예측 MW는 380.4이다. 실측 MW는 380.2였다.



[0317]

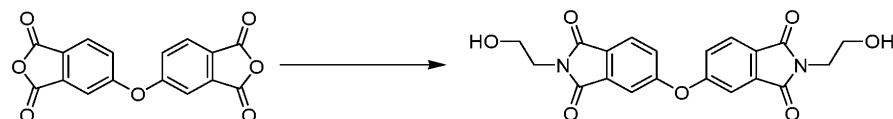
[0318] 교반 막대를 갖춘 50ml 환저 플라스크에 피리딘(9ml) 중의 디올(700mg, 1.8mmol)을 넣었다. 혼합물을 질소하에 빙냉하였다. 여기에 4,4-디메톡시트리틸 클로라이드(468mg, 1.4mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 4℃에서 밤새 교반하였다. 메탄올(2ml)을 첨가하고, 혼합물을 10분 동안 교반하고 이어서 회전증발기에서 페이스트로 농축하였다. 실리카 겔 크로마토그래피(디클로로메탄/메탄올 구배)로 정제하여 최종 생성물을 고체로 수득하였다(151mg).

[0319] 전반적인 순도는 ~89%이다. M/Z 773.8은 생성물 + 트로필륨과 일치한다.



[0320]

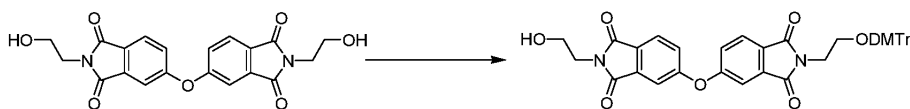
[0321] 교반 막대를 갖춘 100ml 환저 플라스크에 무수 디클로로메탄(25ml) 중의 단일보호된 DMTr 알코올(132mg, 0.19mmol)을 디이소프로필에틸아민(168 μ l, 0.74mmol)과 함께 넣었다. 2-시아노에틸-N,N-디이소프로필클로로포스포아미다이트(86 μ l, 0.38mmol)를 첨가하고 혼합물을 30분 동안 교반하였으며 이 지점에서 TLC는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 혼합물을 디클로로메탄과 포화 중탄산나트륨 사이에 분배시켰다. 유기 층을 보유하고, 황산나트륨으로 건조시키고 오일로 농축시켰으며 이를 DNA 합성장치에서 바로 사용하였다.



[0322]

[0323] 교반 막대를 갖춘 250ml 환저 플라스크에 4,4'-옥시디프탈산 무수물(1.2g, 3.9mmol) 및 디옥산(90ml)을 넣었다. 에탄올아민(584 μ l, 9.7mmol) 및 디이소프로필에틸아민(3.4ml)을 첨가하고, 플라스크에 환류 응축기를 장착하고 혼합물을 밤새 환류 가열하였다. 반응을 냉각시키고 회전증발기에서 페이스트로 농축시켰으며 이를 에틸 아세테이트와 물 사이에 분배시켰다. 유기 층을 보유하고, 수성 층을 에틸 아세테이트로 추가로 추출하였다. 유기 층들을 합하고, 황산나트륨으로 건조시키고 최종 고형 생성물로 농축시켰다(1.33g).

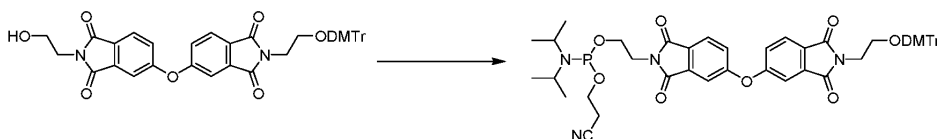
[0324] 전반적인 순도는 ~83%이다. 1.16분에서 주요 피크. 계산 MW는 396.4이다. 실측 MW는 396.2이다.



[0325]

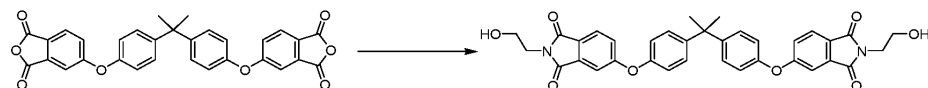
[0326] 교반 막대를 갖춘 20ml 환저 플라스크에 피리딘(9ml) 중의 디올(700mg, 1.8mmol)을 넣었다. 혼합물을 질소하에서 빙냉하였다. 여기에 4,4-디메톡시트리틸 클로라이드(449mg, 1.3mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 4℃에서 밤새 교반하였다. 메탄올(2ml)을 첨가하고, 혼합물을 15분 동안 교반하고 이어서 회전증발기에서 페이스트로 농축하였다. 실리카 겔 크로마토그래피(디클로로메탄/메탄올 구배)로 정제하여 최종 생성물을 고체로 수득하였다(600mg).

[0327] 전반적인 순도는 ~82%이다. 예측 MW는 698.7이다. 실측 MW는 788.5이고, 이는 생성물 + 트로필륨과 일치한다.



[0328]

[0329] 교반 막대를 갖춘 100ml 환저 플라스크에 무수 디클로로메탄(25ml) 중의 단일보호된 DMTr 알코올(100mg, 0.14mmol)을 디이소프로필에틸아민(125 μ l, 0.71mmol)과 함께 넣었다. 2-시아노에틸-N,N-디이소프로필클로로포스포아미다이트(64 μ l, 0.28mmol)를 첨가하고 혼합물을 30분 동안 교반하였으며 이 지점에서 TLC는 반응이 완결되었음을 나타내었다. 혼합물을 디클로로메탄과 포화 중탄산나트륨 사이에 분배시켰다. 유기 층을 보유하고, 황산나트륨으로 건조시키고 황색 오일로 농축시키고 이를 고체 상 올리고뉴클레오타이드 합성에서 직접 사용하였다.

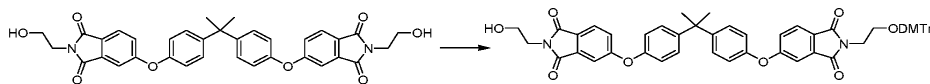


[0330]

[0331] 교반 막대를 갖춘 250ml 환저 플라스크에 4,4'-(4,4'-이소프로필리덴디페녹시)비스(프탈산 무수물)(1.5g, 2.9mmol) 및 디옥산(50ml)을 넣었다. 에탄올아민(435 μ l, 7.2mmol) 및 디이소프로필에틸아민(2.5ml)을

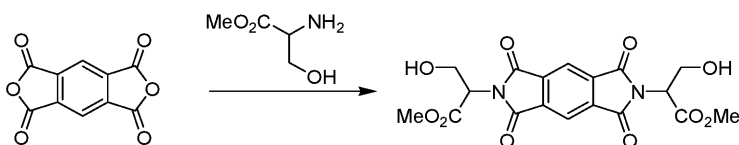
첨가하고, 플라스크에 환류 응축기를 장착하고 혼합물을 밤새 환류 가열하였다. 반응을 냉각시키고 회전증발기에서 페이스트로 농축시켰으며 이를 디클로로메탄과 물 사이에 분배하였다. 유기 층을 보유하고, 수성 층을 디클로로메탄으로 추가로 2회 추출하였다. 유기 층들을 합하고, 황산나트륨으로 건조시키고 최종 고형 생성물로 농축시켰다(400mg).

[0332] 전반적인 순도는 ~89%이다. 예측 MW는 606.6이다. 실측 MW는 606.4이다.



[0333]

[0334] 교반 막대를 갖춘 20ml 환저 플라스크에 피리딘(3ml) 중의 디올(400mg, 0.7mmol)을 넣었다. 혼합물을 질소하에서 냉각하였다. 여기에 4,4 디메톡시트리틸 클로라이드(168mg, 0.5mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 4℃에서 밤새 교반하였다. 메탄올(1ml)을 첨가하고, 혼합물을 10분 동안 교반하고 이어서 회전증발기에서 페이스트로 농축하였다. 실리카 겔 크로마토그래피(디클로로메탄/메탄올 구배)로 최종 정제하여 최종 생성물을 고체로 수득하였다. 전반적인 순도는 ~36%이다. M/Z 1000은 생성물 + 트로필륨과 일치한다.



[0335]

[0336] 교반 막대를 갖춘 250ml 환저 플라스크에 피로멜리트산 이무수물 (0.75g, 3.4mmol) 및 디옥산(80ml)을 넣었다. 세린 메틸 에스테르(1.2g, 7.6mmol) 및 디이소프로필에틸아민(4.8ml)을 첨가하고, 플라스크에 환류 응축기를 장착하고 혼합물을 밤새 환류 가열하였다. 반응을 냉각시키고 회전증발기에서 페이스트로 농축시켰으며 이를 에틸 아세테이트와 시트르산(500mM) 사이에 분배시켰다. 유기 층을 보유하고, 수성 층을 에틸 아세테이트로 추가로 2회 추출하였다. 유기 층들을 합하고, 황산나트륨으로 건조시키고 최종 오일로 농축시켰다(1.4g).

[0337] 계산 MW는 420.33이다. 실측 MW는 420.1이다.



[0338]

[0339] 교반 막대를 갖춘 100ml 환저 플라스크에 피리딘(17ml) 중의 디올(1.4g, 3.5mmol)을 넣었다. 혼합물을 질소하에서 냉각하였다. 여기에 4,4 디메톡시트리틸 클로라이드(883mg, 2.6mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 4℃에서 밤새 교반하였다. 메탄올(5ml)을 첨가하고, 혼합물을 10분 동안 교반하고 이어서 회전증발기에서 페이스트로 농축하였다. 잔류물을 중탄산나트륨 포화용액과 에틸 아세테이트 사이에 분배시켰다. 유기 층을 보유하고, extracted 수성 층 two additional times with 에틸 아세테이트. 유기 층들을 합하고, 황산나트륨으로 건조시키고 농축시켰다. 실리카 겔 크로마토그래피(디클로로메탄/에틸 아세테이트 구배)로 최종 정제하여 최종 생성물을 오일로 수득하였다(1.7g). MW 812는 생성물 + 트로필륨과 일치한다.

[0340] 실시예 2

[0341] 올리고머 염료의 합성

[0342] 올리고머 염료를 Applied Biosystems 394 DNA/RNA 합성장치 또는 GE AKTA 10 OligoPilot에서 1μmol 또는 10μmol 규모로 합성하였으며 3'-포스페이트 그룹을 보유하였다. 염료를 CPG 비드 또는 폴리스티렌 고형 지지체 상에서 직접 합성하였다. 염료를 표준 고체 상 DNA 방법에 의해 3' 내지 5' 방향으로 합성하였다. 커플링 방법은 표준 β-시아노에틸 포스포아미다이트 화학 조건을 사용하였다. 적절한 포스포아미다이트를 사용하여 원하는 횟수로 합성 주기를 반복하여, 상이한 개수의 반복 단위를 혼입하였다. 모든 포스포아미다이트 단량체를 아세토니트릴/디클로로메탄(0.1M 용액)에 용해시키고, 다음과 같은 합성 주기를 사용하여 순차적으로 첨가하였다: 1) 톨루엔 중의 디클로로아세트산에 의한 5'-디메톡시트리틸 보호 그룹의 제거, 2) 아세토니트릴 중의 활성제 시약에 의한 이후의 포스포아미다이트의 커플링, 3) 요오딘/피리딘/물에 의한 산화, 및 4) 아세트산 무수물/1-메틸이미다졸/아세토니트릴에 의한 캡핑. 5' 올리고플로로사이드(oligofloroside)가 조립될 때까지 합성 주기를 반복하였다. 쉐 어셈블리의 말단에서, 모노메톡시트리틸(MMT) 그룹 또는 디메톡시트리틸(DMT) 그룹을

디클로로메탄 중의 디클로로아세트산 또는 톨루엔 중의 디클로로아세트산에 의해 제거하였다.

[0343] 염료를 고형 지지체로부터 절단하고 다음과 같이 탈보호시켰다:

[0344] 1ml 마이크로피펫을 사용하여 450 μ l의 농축 NH₄OH를 1.5ml 에펜도르프 튜브 내의 ~25mg의 반응 CPG 고형 지지체에 첨가하였다. 슬러리를 Vortex 믹서를 사용하여 간단히 혼합하고, 침강시키고, 이어서 가스 형성(및 버블링)이 감소하기 시작할 때까지 55 $^{\circ}$ C 가열 블록 상에 놓았으며(개방하였으며) 이 시점에서 튜브는 단단히 밀폐하였다. 2시간(+/-15분) 동안 열처리한 다음 튜브를 제거하여 실온으로 냉각시켰다. 튜브와 그 내용물을 원심분리기에서 최대 속도(13400rpm)로 1분 동안 회전시킨 다음 상청액을 유리 피펫으로 꺼내어 표지된 제2의 1.5ml 에펜도르프 튜브에 넣었으며, 지지체를 포함하지 않도록 주의하였다. 지지체를 세척하고 ~150 μ l의 아세토니트릴로 2X 스핀다운(spun-down)시켜 염료 제거를 최대화하는 것을 돕고, 세척액을 지지체로부터 조심스럽게 제거하고 표지된 제2의 튜브에 첨가하였다. 정화된 상청액을 40 $^{\circ}$ C에서 CentriVap 농축기로 완전 건조시켜 NH₄OH를 제거하였다.

[0345] 실시예 3

[0346] 올리고머 염료의 특성화

[0347] 1ml의 탈이온수를 실시예 2에 따라 제조된 건조된 염료 시퀀스(dye sequence)에 첨가하여, ~0.3 내지 1.0mM(추후 결정됨)의 농축 스톱을 재구성하고 확립하였다. 2 μ l 분취량(aliquot)의 각 염료 구조체를 HPLC-MS로 분석하여, 150mM HFIP/TEA (pH 9) 이동 상 및 유기 용리 성분으로서의 메탄올을 갖는 45 $^{\circ}$ C 가열된 초고성능 2.1mm \times 50mm C18 컬럼(1.7 μ m)을 사용하여 식별하고 상대 순도를 결정하였다. 구배는 10분에 걸쳐 1 내지 100%였다. 전자분무 이온화를 (네거티브 모드에서) 사용하여, 염료 시퀀스의 분자량을 결정하였으며 불순물 특성화를 보조하였다.

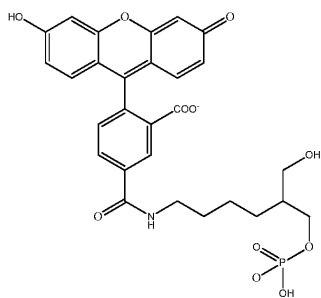
[0348] 마이크로피펫을 사용하여 샘플을 농축 스톱으로부터 취하고, NanoDrop UV-vis 분광광도계(써모 사이언티픽(Thermo Scientific))의 선형 범위(linear range) 내에 있도록 이를 0.1X PBS(10x 내지 100x)에서 적절히 희석하였다. 0.1X PBS를 사용하여 NanoDrop에서 블랭크를 측정하고, 이어서 적절한 파장에서 희석된 염료 시퀀스의 흡광도를 기록하였다. 염료 시퀀스에 존재하는 각각의 플루오레세인에 대해 75,000M⁻¹cm⁻¹(F; 494nm에서 관독함); 각각의 피렌에 대해 34,500M⁻¹cm⁻¹(Y; 343nm에서 관독함); 및 각각의 페틸렌에 대해 40,000M⁻¹cm⁻¹(E; 440nm에서 관독함)를 사용하여, 흡광 계수(extinction coefficient)(ϵ)는 염료 구조체 내의 형광체(fluor)(M 모이어티)의 총 개수에 의해 결정하였다. 스페이서와 링커는 ϵ 에 영향을 미치지 않는 것으로 추정된다.

[0349] 농도를 결정하고, 염료 스톱을 NaPO₄(pH 7.5에서 0.1M) 및 NaCO₃(pH 9.0에서 0.1M) 완충액으로 희석하여 2 μ M(또는 5 μ M, 모든 것이 기기의 선형 범위(linear range)에서 작동함)의 용액을 최종 용적 ~3.5ml로 제조하였다. 이러한 용액을 UV/Vis로 스캔한 다음, 이를 사용하여, 10 내지 50nM 범위에서 형광측정기(fluorimeter)에서 관독하기 위한 두 번째 희석액을 적절한 완충액에서 제조하였다. 필요한 농도는 M 모이어티의 동일성에 따라 달라질 것이다.

[0350] 1cm 석영 큐벳을 사용하여, 300nm로부터 700nm까지 스캔하여 2 μ M 샘플의 흡광도를 측정하였다. 스캔 속도는 중간으로 설정되었다.

[0351] 1cm 석영 큐벳과 Cary Eclipse 분광계를 사용하여, 적절한 여기 파장(상기 염료의 경우 494nm)을 사용하고 499nm로부터 700nm까지 스캔하여 25nM 샘플의 방출을 관독하였다. 스캔 속도는 중간으로 설정되었다.

[0352] 화합물 I-1, I-2, 및 I-3의 UV 흡광도(도 1) 및 형광 방출(도 2) 스펙트럼을 "단량체성" 플루오레세인 화합물(화합물 A)과 비교하였다. 예상대로, 화합물 A에 비해 화합물 I-1, I-2 및 I-3의 UV 흡광도가 대략 2배 더 크다. 또한, m = 1일 때(화합물 I-1), 방출은 화합물 A의 방출보다 약간 더 클 뿐인 것으로 밝혀졌다. 그러나, m = 2 또는 그 이상일 때(화합물 I-2 및 I-3), 방출은 화합물 A에 비해 대략 2배가 되며, 이는 발색단의 소광이 거의 또는 전혀 없음을 나타낸다. 따라서, 강성 링커 A는 특히 A 모이어티의 개수가 증가함에 따라(즉, m이 증가함에 따라) 형광단의 소광을 방지하는 것으로 보인다.



화합물 A

[0353]

[0354]

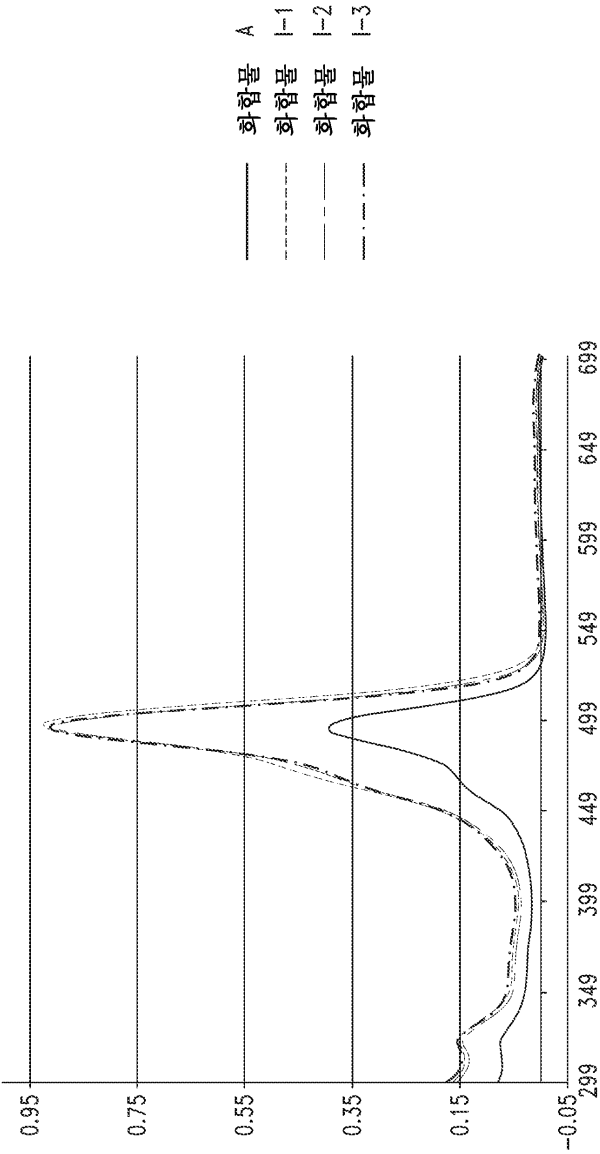
본원 명세서에 언급된 미국 특허, 미국 특허 출원 공보, 미국 특허 출원, 외국 특허, 외국 특허 출원 및 비특허 공보는 이들의 전문이 본원에 기재된 내용과 일관성이 없지 않는 정도까지 참조로 인용된다.

[0355]

이전의 기재로부터 본 발명의 특정 양태가 설명을 목적으로 본원에 기재되었지만 다양한 변형이 본 발명의 취지 및 범위로부터 벗어나지 않고도 만들어질 수 있는 것으로 인정된다. 따라서, 본 발명은 첨부된 청구범위에 의한 것을 제외하고는 제한되지 않는다.

도면

도면1



도면2

