



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년09월07일
(11) 등록번호 10-1896820
(24) 등록일자 2018년09월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 241/46 (2006.01) G01N 27/327 (2006.01)
G01N 33/544 (2006.01) G01N 33/66 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 241/46 (2013.01)
G01N 27/3277 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-7028460
(22) 출원일자(국제) 2015년04월13일
심사청구일자 2016년10월13일
(85) 번역문제출일자 2016년10월13일
(65) 공개번호 10-2016-0132970
(43) 공개일자 2016년11월21일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2015/057933
(87) 국제공개번호 WO 2015/158645
국제공개일자 2015년10월22일
(30) 우선권주장
14164571.3 2014년04월14일
유럽특허청(EPO)(EP)
(56) 선행기술조사문헌
KR1020100131495 A*
H. BUENEMANN et al. Biochemistry, 1981, Vol.
20, No. 10, pp. 2864-2874.
US4683198 A
KR101223854 B1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
에프. 호프만-라 로슈 아게
스위스 체하-4070 바젤 그렌짜체스트라쎄 124
(72) 발명자
하인들 디터
독일 81377 뮌헨 마그놀린백 7
노르트마이어 크리스티네
독일 68305 만하임 케텔러백 6
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인코리아나

전체 청구항 수 : 총 12 항

심사관 : 정승두

(54) 발명의 명칭 페나지늄 매개체

(57) 요약

본 발명은 1-아미노-페나진 유도체인 화학적 화합물 또는 이의 염 또는 용매화물 및 이의 용도에 관한 것이다.
본 발명은 또한 상기 언급된 화학적 화합물을 포함하는 화학적 매트릭스 및 시험 요소에 관한 것이다. 또한 본 발명은 본 발명에 따른 화학적 매트릭스와 상기 샘플을 접촉시키는 단계, 상기 액체 샘플의 존재 하에 화학적 매트릭스에 의해 유리 또는 소비된 전자의 양을 추정하는 단계, 및 이에 따라 액체 샘플 중 분석물의 양을 측정하는 단계를 포함하는, 샘플 중 분석물의 양을 측정하는 방법에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

G01N 33/544 (2013.01)

G01N 33/66 (2013.01)

G01N 2400/00 (2013.01)

(72) 발명자

게바우어 페터

독일 82377 펜츠베르크 로쓰바이데 15

헌트 듀 발 스테이시

미국 46256 인디애나주 인디애나폴리스 머드 크릭
로드 8851

바우어-에스핀돌라 클라우스 안드레아스

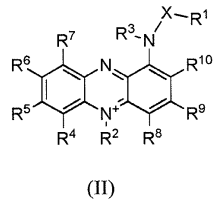
독일 68305 만하임 랑거 술라크 129

명세서

청구범위

청구항 1

하기 구조 (II) 를 갖는 화학적 화합물 또는 이의 염 또는 용매화물:



[식 중,

X 는 $-C(=O)-$ 이고,

R^1 은, 3 내지 8 의 C-원자를 포함하고 사슬의 말단에 $-C(=O)-OH$ 를 포함하는 알킬이고,

R^2 는 $-(CH_2)_n-CH_3$ (식 중, n 은 1 내지 6 의 범위임)이고,

R^3 은 H 이고,

식 중, $R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9$ 및 R^{10} 은 H 임].

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

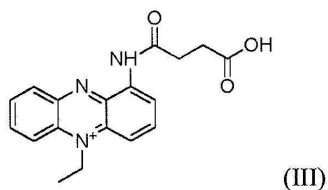
삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

제 1 항에 있어서, 하기 구조를 포함하는 화학적 화합물:



청구항 9

제 1 항 또는 제 8 항에 따른 화학적 화합물을 포함하는 화학적 매트릭스.

청구항 10

제 1 항 또는 제 8 항에 따른 화학적 화합물 및/또는 제 1 항 또는 제 8 항에 따른 화학적 화합물을 포함하는 화학적 매트릭스를 포함하는 시험 요소.

청구항 11

제 1 항 또는 제 8 항에 있어서, 분석 또는 진단 시험에서 사용되는 화학적 화합물.

청구항 12

제 11 항에 있어서, 상기 분석 또는 진단 시험이 시험 샘플 중의 글루코오스 농도를 측정하는 것을 포함하는 화학적 화합물.

청구항 13

제 1 항 또는 제 8 항에 있어서, 제 1 항 또는 제 8 항에 따른 화학적 화합물을 포함하는 화학적 매트릭스의 제조를 위해, 제 1 항 또는 제 8 항에 따른 화학적 화합물 및/또는 제 1 항 또는 제 8 항에 따른 화학적 화합물을 포함하는 화학적 매트릭스를 포함하는 시험 요소를 제조하기 위해, 또는 샘플 중 분석물의 양을 측정하기 위해 사용되는, 화학적 화합물 또는 이의 염 또는 용매화물.

청구항 14

하기 단계를 포함하는, 샘플 중 분석물의 양을 측정하는 방법:

- a) 제 9 항에 따른 화학적 매트릭스와 상기 샘플을 접촉시키는 단계,
- b) 상기 샘플의 존재 하에 화학적 매트릭스에 의해 유리 또는 소비된 산화환원 등가물의 양을 추정하는 단계, 및
- c) 이에 따라 샘플 중 분석물의 양을 측정하는 단계.

청구항 15

제 14 항에 있어서, 단계 b) 에서 화학적 매트릭스에 의해 유리 또는 소비된 산화환원 등가물의 양이 광학 또는 전기화학 센서에 의해 추정되는 방법.

청구항 16

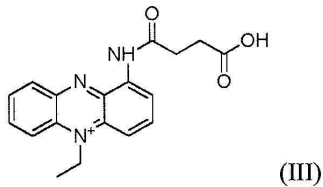
제 1 항에 있어서, n 이 1 또는 2 인 화학적 화합물.

청구항 17

제 1 항에 있어서, R² 가 에틸인 화학적 화합물.

청구항 18

제 8 항에 있어서, 하기 구조로 이루어지는 화학적 화합물:



발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 발명은 1-아미노-페나진 유도체인 화학적 화합물 또는 이의 염 또는 용매화물 및 이의 용도에 관한 것이다.
- 본 발명은 또한 상기 언급된 화학적 화합물을 포함하는 화학적 매트릭스 및 시험 요소에 관한 것이다.
- 또한, 본 발명은 상기 샘플과 본 발명에 따른 화학적 매트릭스를 접촉시키고, 상기 액체 샘플의 존재 하에 화학적 매트릭스에 의해 유리 또는 소비된 전자의 양을 추정하고, 이에 따라 액체 샘플 중 분석물의 양을 측정하는 것을 포함하는, 샘플 중 분석물의 양을 측정하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 의료 진단 분야에서, 많은 경우에 하나 이상의 분석물이 체액, 예컨대 혈액, 간질액, 소변, 타액 또는 기타 유형의 체액의 샘플에서 검출되어야 한다. 검출하고자 하는 분석물의 예는 글루코오스, 트리글리세라이드, 락테이트, 콜레스테롤 또는 이러한 체액에 전형적으로 존재하는 기타 유형의 분석물이다. 분석물의 농도 및/또는 존재에 따라, 적절한 처리가 필요에 따라 선택될 수 있다.
- [0003] 일반적으로, 당업자에게 공지된 장치 및 방법은 하나 이상의 시험 화학물질을 포함하는 시험 요소를 사용하는데, 이는 검출하고자 하는 분석물의 존재 하에 하나 이상의 검출가능한 검출 반응 예컨대 광학적 또는 전기화학적 검출가능한 검출 반응을 수행할 수 있다. 이와 관련된 이러한 시험 화학물질 및 방법과 관련하여, 예를 들어 [J. Hoenes 등 (The Technology Behind Glucose Meters: Test Strips, Diabetes Technology & Therapeutics, Volume 10, Supplement 1, 2008, S-10 ~ S-26), US 2009/0246808 A1, 및 [Habermueller 등 ((2000), Fresenius J Anal Chem 366 :560)] 를 참조할 수 있다. 글루코오스의 전기화학적 검출의 경우, 예를 들어 [Heller & Feldman (2008), Chem. Rev. 108: 2482] 에서 개괄이 제공된다.
- [0004] 특히 분석물의 전기화학적 검출에서, 페나진 유도체는 효소 검정 (Ghosh and Quayle (1979), Anal Biochem 99: 112; Hisada 등 (1981), J Appl Biochem 3:535; Yomo 등 (1989) Eur J Biochem 179:293), 특히 공동인자로서 NAD 에 따른 효소 검정에서의 산화환원 매개체로서 제안 및 평가되고 있는데, 이는 아진 매개체가 낮은 과전압에 의해 사용될 수 있기 때문이다 (Cooney 등 (2008), Energy Environ. Sci. 1: 320). 그러나, 감소된 페나진 유도체는 낮은 용해도를 가지므로, 측정에 사용된 전극 상에서 재용해되기 어려운 침전물을 형성하는 경향이 있다 (Inzelt & Puskas (2004), Electrochimica Acta 49: 969). 또한, 업계에 기재된 페나진의 산화환원 전위는, 입원 환자에게 흔히 투여되어 예를 들어 상기 환자의 혈당 측정에 시스템적 에러를 야기하는, 예를 들어 아스코르베이트와 같은 화합물에 의한 상기 페나진의 환원을 허용하는 범위 이내에 있다 (Heller & Feldman, loc. cit.).
- [0005] 따라서, 심지어 환원 상태에서도 양호한 용해도를 갖고 의약으로서 사용된 환원제, 특히 아스코르베이트에 의한 환원에 저항성이지만 환원된 코엔자임과의 빠른 반응을 허용하는 페나진 유도체에 대한 업계의 요구가 있다.

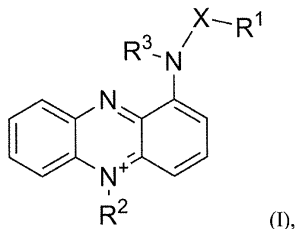
발명의 내용

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0006] 해결하고자 하는 과제
- [0007] 따라서 본 발명의 목적은 상기 언급된 요구에 따르는 수단 및 방법을 제공하여, 선행 기술의 단점을 적어도 일부 회피하는 것이다.
- [0008] 발명의 요약
- [0009] 이러한 과제는 본원에 개시된 구조를 포함하는 화학적 화합물 또는 이의 염 또는 용매화물, 상기 화학적 화합물

또는 이의 염 또는 용매화물을 포함하는 화학적 매트릭스, 상기 화학적 화합물 또는 이의 염 또는 용매화물을 포함하는 시험 요소, 및 본원에 개시된 분석물의 양을 측정하는 방법에 의해 해결된다. 독립된 방식 또는 어느 임의의 조합으로 실현될 수 있는 바람직한 구현에는 독립항에 열거되어 있고 본 상세한 설명에 기재되어 있다.

[0010] 따라서, 본 발명은 하기 구조 (I) 을 포함하는 화학적 화합물 또는 이의 염 또는 용매화물에 관한 것이다:



[0011]

[0012] [식 중,

[0013] X 는 $-C(=O)-$, $-C(=S)-$ 또는 $-S(=O)_2-$ 이고,

[0014] R^1 은, X 가 $C(=O)$ 인 경우 2 개 이상의 C-원자를 포함하고 X 가 $C(=S)$ 또는 $S(=O)_2$ 인 경우 1 개 이상의 C-원자를 포함하는, 유기 측쇄이고,

[0015] R^2 는 2 개 이상의 C-원자를 포함하는 유기 측쇄이고,

[0016] R^3 은 H 또는 유기 측쇄이고,

[0017] 여기서 R^1 , R^2 및 R^3 중 하나 이상은 친수성 측쇄임].

[0018] 하기에서 사용된 바와 같은, 용어 "갖다", "포함하다" 또는 "포괄하다" 또는 이의 어느 임의의 문법적 변형은 비배타적 방식으로 사용된다. 따라서, 이러한 용어는 이러한 용어에 의해 도입된 특징 이외에 추가 특징이 이러한 문맥에 기재된 실체에 존재하지 않는 상황 및 하나 이상의 추가 특징이 존재하는 상황 모두를 나타낼 수 있다. 예로서, 표현 "A 는 B 를 갖는다", "A 는 B 를 포함한다" 및 "A 는 B 를 포괄한다" 는, B 이외에 다른 요소가 A 에 존재하지 않는 상황 (즉, 단독 및 배타적으로 B 로 이루어지는 상황) 및 B 이외에 하나 이상의 추가 요소, 예컨대 요소 C, 요소들 C 및 D 또는 심지어 추가 요소가 실체 A 에 존재하는 상황 모두를 나타낼 수 있다.

[0019] 또한, 아래 사용된 바와 같이, 용어 "바람직하게는", "더 바람직하게는", "가장 바람직하게는", "특히", "더욱 특히", "특별히", "더욱 특별히" 또는 유사한 용어는 대안적 가능성을 제한하지 않으면서 임의적 특징과 함께 사용된다. 따라서, 이러한 용어에 의해 도입된 특징은 임의적 특징이고 임의의 방식으로 청구항의 범주를 제한하는 것이 의도되지 않는다. 본 발명은 당업자가 인식할 바와 같이 대안적 특징을 사용함으로써 수행될 수 있다. 유사하게는, "본 발명의 구현예에서" 또는 유사한 표현에 의해 도입된 특징은, 본 발명의 대안적 구현예와 관련한 임의의 제한, 본 발명의 범주와 관련한 임의의 제한, 및 본 발명의 임의적 또는 비임의적 특징과 상기 방식으로 도입된 특징의 조합 가능성과 관련한 임의의 제한이 없는, 임의적 특징인 것으로 의도된다.

[0020] 본원에서 사용된 바와 같은, 용어 "화학적 화합물", "염" 및 "용매화물" 은 숙련된 화학자에게 공지된 이의 일반적 의미로 사용된다. 본 발명에 따른 화합물의 순전하가 양성인 경우, 바람직한 상대이온은 트리플루오로메탄술포네이트 (트리플레이트), 술포이트, 알킬 술포네이트, 토실레이트, 포스페이트, 테트라플루오로보레이트, 헥사플루오로포스페이트, 트리플루오르아세테이트, 퍼클로레이트, 클로라이드 또는 니트레이트 이온이다. 본 발명에 따른 화합물의 순전하 (net charge) 가 음성인 경우, 바람직한 상대이온은 리튬, 나트륨, 및/또는 칼륨 이온 또는 테트라메틸암모늄 이온이다. 바람직하게는, 본 발명에 따른 화합물의 순전하는 본원의 다른 곳에서 명시된 표준 조건 하의 수용액 중 화합물의 순전하이다.

[0021] 용어 "측쇄" 는 당업자에 의해 이해되고, 본원에 기재된 화학적 화합물의 코어 부분에 공유결합적으로 부착된 원자 또는 화학적 기에 관한 것이며, 상기 코어 부분은 "주쇄" 또는 "백본" 으로 또한 나타내어진다. 바람직하게는, 측쇄는 본원에서 아래 기재된 바와 같은 유기 측쇄이다. 용어 "치환" 측쇄는 하나 이상의 위치,

바람직하게는 1, 2 또는 3 위치에서 치환된 측쇄에 관한 것이고, 여기서 치환기는 임의의 이용가능한 원자에 부착되어 안정한 화학적 화합물을 생성할 수 있다. 용어 "임의 치환" 측쇄는 비치환 또는 치환 측쇄에 관한 것임이 당업자에 의해 이해된다.

[0022] 본원에서 사용된 용어 "유기 측쇄" 는 하나 이상의 탄소 원자를 포함하는 임의의 임의 치환 측쇄에 관한 것이다. 바람직하게는, 유기 측쇄는 임의 치환된, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 아르알킬, 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 또는 헤테로아릴 측쇄이다. 바람직하게는, 치환된 유기 측쇄는 $-COO^-$, $=O$, $-OH$, $-CN$, 할로젠, $-NH_2$, $-NH(알킬)$, $-N(알킬)_2$, $-N(알킬)_3^+$, $-NH(아릴)$, $N(아릴)_2$, $-NO_2$, $-O(알킬)$, $-O-(CH_2)_n-OH$, $-O-(CH_2)_n-O(알킬)$, $-O(아르알킬)$, $-O(아릴)$, $-OPO_3^{2-}$, $-PO_3^{2-}$, $-OSO_3^-$ 및 $-SO_3^-$ 로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상 치환기로 치환된 유기 측쇄이다. 바람직하게는, 치환기의 알킬, 아릴 및 아르알킬 기는 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 아르알킬, 헤테로시클로알킬 또는 헤테로아릴 기를 포함하는 기에 의해 추가로 치환되지 않는다. 더 바람직하게는, 치환기의 알킬, 아릴 및 아르알킬 기는 추가로 치환되지 않는다.

[0023] 본원에서 사용된 용어 "알킬" 은, 이의 하나 이상의 탄소 원자 중 하나 이상에 대한 공유 결합에 의해 주쇄에 연결된, 직쇄 또는 분지쇄, 포화 탄화수소 기에 관한 것이다. 바람직한 알킬기는 직쇄 알킬, 예를 들어, 바람직하게는 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 헥실, 헵틸, 옥틸, 노닐, 데실, 운데실, 도데실, 또는 분지쇄 알킬 기, 예를 들어 바람직하게는 $-CH(CH_3)_2$, $-CH(CH_2CH_3)_2$, $-C(CH_3)_3$, $-C(CH_2CH_3)_3$, $-CH(CH_3)(CH_2CH_3)$, $-CH_2CH(CH_3)_2$, $-CH_2CH(CH_3)(CH_2CH_3)$, $-CH_2CH(CH_2CH_3)_2$, $-CH_2C(CH_3)_3$, $-CH_2C(CH_2CH_3)_3$, $-CH(CH_3)CH(CH_3)(CH_2CH_3)$, $-CH_2CH_2CH(CH_3)_2$, $-CH_2CH_2CH(CH_3)(CH_2CH_3)$, $-CH_2CH_2CH(CH_2CH_3)_2$, $-CH_2CH_2C(CH_3)_3$, $-CH_2CH_2C(CH_2CH_3)_3$, $-CH(CH_3)CH_2CH(CH_3)_2$ 또는 $-CH(CH_3)CH(CH_3)CH(CH_3)_2$ 이다. 따라서, 알킬 기는 1차 알킬 기, 2차 알킬 기 및 3차 알킬 기를 포함한다. 용어 "시클로알킬" 은 바람직하게는 탄소수 3 내지 12 의 원형으로 폐쇄된 탄화수소 기에 관한 것이다. 바람직한 시클로알킬은 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실, 시클로헵틸 및 시클로옥틸이다.

[0024] 용어 "알케닐" 측쇄는 하나 이상의 $C=C$ 이중 결합을 포함하고 이의 둘 이상의 탄소 원자 중 하나 이상에 공유 결합에 의해 주쇄에 연결된 측쇄에 관한 것이다. 이에 따라, 용어 "알키닐" 측쇄는 이의 둘 이상의 탄소 원자 중 하나 이상에 대한 공유 결합에 의해 주쇄에 연결된 하나 이상의 $C\equiv C$ 삼중 결합을 포함하는 측쇄에 관한 것이다.

[0025] 용어 "시클로알케닐" 은 바람직하게는 5 내지 12 개의 탄소 원자를 갖고, 하나 이상 $C=C$ 이중 결합을 포함하고, 이의 둘 이상의 탄소 원자 중 하나 이상에 대한 공유 결합에 의해 주쇄에 연결되는 원형으로 폐쇄된 탄화수소 기에 관한 것이다. 용어 "시클로알키닐" 은 바람직하게는 8 내지 12 개의 탄소 원자를 갖고, 하나 이상 $C\equiv C$ 삼중 결합을 포함하고, 이의 둘 이상의 탄소 원자 중 하나 이상에 대한 공유 결합에 의해 주쇄에 연결되는 원형으로 폐쇄된 탄화수소 기에 관한 것이다.

[0026] 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "알콕시" 측쇄는 바람직하게는 나타난 수의 탄소 원자를 갖는 $-O$ -알킬 측쇄에 관한 것이다. 바람직하게는, 알콕시 측쇄는 $-O$ -메틸, $-O$ -에틸, $-O$ -프로필, $-O$ -이소프로필, $-O$ -부틸, $-O$ -sec-부틸, $-O$ -tert-부틸, $-O$ -펜틸, $-O$ -이소펜틸, $-O$ -네오펜틸, $-O$ -헥실, $-O$ -이소헥실 또는 $-O$ -네오헥실이다.

[0027] 본원에서 사용된 용어 "아릴" 은 바람직하게는 1, 2 또는 3 개의 방향족 고리를 포함하는, 탄소수 6 내지 14 의 방향족 고리 또는 고리계에 관한 것이다. 바람직한 아릴 측쇄는 페닐, 나프틸, 안트라세닐 및 페난트레닐이다. 본 발명의 화학적 화합물의 내용에서 용어 "고리" 는 당업자에 의해 이해되고; 이에 따라, 용어 "고리계" 는 하나 이상의 공유 결합을 공유하는 둘 이상의 고리를 포함하는 화학적 구조에 관한 것이다. 따라서, 바람직하게는, "아릴" 은 또한 시클로알킬과 융합된 방향족 고리계 및/또는 헤테로시클로알킬 고리를 포함한다.

[0028] 본원에서 사용된 바와 같은, 용어 "아르알킬" 은 알킬 측쇄에 관한 것이고, 여기서 하나 이상의 수소는 아릴 측쇄로 대체된다. 바람직하게는, 아르알킬은 벤질 또는 페네틸이다.

[0029] 본원에서 사용된 용어 "헤테로시클로알킬" 은 5 내지 14 개의 고리 원자, 바람직하게는 5 내지 7 개의 고리 원자를 갖는 포화 또는 일부 불포화 고리 또는 고리계에 관한 것이고, 여기서 하나 이상 고리 원자는 N, O 및 S 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 헤테로원자이고, 상기 고리 또는 고리계는 상기 고리 또는 고리계의 C 또는 N 원자에 대한 공유 결합에 의해 주쇄에 연결된다. 바람직하게는, 헤테로시클로알킬은 아제피닐, 디히드로푸릴, 디히드로피라닐, 이미다졸리디닐, 이미다졸리닐, 이소티아졸리디닐, 이속사졸리디닐, 모르폴리닐, 옥사졸

리디닐, 피페라지닐, 피페리디닐, 피라졸리디닐, 피롤리디닐, 테트라히드로푸릴, 테트라히드로피라닐, 티아디아졸릴리디닐, 티아졸리디닐 또는 티오모르폴리닐이다.

[0030] 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "헤테로아릴" 은 5 내지 14 개의 고리 원자, 바람직하게는 5 내지 7 개의 고리 원자를 갖는 방향족 고리 또는 고리계에 관한 것이고, 여기서 하나 이상 고리 원자는 N, O, 및 S 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 헤테로원자이고, 상기 고리 또는 고리계는 상기 고리 또는 고리계의 C 또는 N 원자에 대한 공유 결합에 의해 주쇄에 연결된다. 바람직하게는, 고리 당 4 개 이하, 더 바람직하게는 3 개 이하, 가장 바람직하게는 2 개 이하의 고리 원자는 N, O 및 S 로 이루어지는 헤테로원자의 군으로부터 독립적으로 선택되는 헤테로원자이다. 바람직하게는, 헤테로아릴은 피리디닐, 피리다지닐, 피라지닐, 퀴나옥살릴, 이도리지닐, 벤조[b]티에닐, 퀴나졸리닐, 푸리닐, 인돌릴, 퀴놀리닐, 피리미디닐, 피롤릴, 피라졸릴, 옥사졸릴, 티아졸릴, 티에닐, 이속사졸릴, 옥사티아디아졸릴, 이소티아졸릴, 테트라졸릴, 이미다졸릴, 트리아졸릴, 푸라닐, 벤조푸릴 또는 인돌릴이다.

[0031] 용어 "친수성" 은 당업자에 공지되어 있고, 극성 용매, 특히 물에 용해되거나, 이와 혼합되거나, 이에 의해 습윤되는 경향을 갖는 화학적 화합물 또는 화학적 화합물의 분획의 특성에 관한 것이다. 본 발명의 측쇄의 내용에서 사용된 바와 같은, 용어 "친수성 측쇄" 는 바람직하게는 25°C, 10⁸ Pa 및 pH=7 의 표준 조건 하에 2 이하, 더 바람직하게는 1.5 이하, 보다 더 바람직하게는 1 이하, 가장 바람직하게는 0.8 이하의 옥탄올/물 계수 (logK_{OW}) 를 갖는, 본원에 명시된 측쇄에 관한 것이다. 본 명세서의 내용에서, 측쇄 R^x (x= 1, 2 또는 3) 의 logK_{OW} 값은 화학식 H-R^x 의 화학적 화합물의 logK_{OW} 값과 동일한 것으로 가정된다. 당업자는 어떻게 화학적 화합물의 logK_{OW} 값을 측정하는지를 알고 있다. 바람직하게는, 친수성 측쇄는 -C(=Y¹)-OH, -C(OH)R¹¹R¹², -C(=Y¹)-R¹¹, -C(=Y¹)-Y²-R¹¹, -Y¹-R¹¹, -NH₂, -NHR¹¹, -NMe³⁺, -NH-C(=Y¹)-R¹¹, -S(O)R¹¹, -SO₂R¹¹, -SO₂-OH- 및 -P(O)(OR¹¹)(OR¹²)-O-P(O)(OR¹¹)(OR¹²)- 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상 친수성 관능기를 포함하고, 이때 Y¹ 및 Y² 는 O 또는 S 로부터 독립적으로 선택되고, R¹¹ 및 R¹² 은 서로 독립적으로 H 및, 비치환 또는 치환, 알킬 및 아릴로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 더 바람직하게는, 친수성 측쇄는 C(=O)- 및 -C(=O)-OH 로부터 선택되는 하나 이상 친수성 관능기를 포함한다. 가장 바람직하게는, 친수성 측쇄는 상기 언급된 표준 조건 하에 전하, 바람직하게는 음전하를 포함하는 하나 이상의 화학적 기를 포함하는 측쇄이다.

[0032] 본 명세서의 구조식의 내용에서, 측쇄 R¹ 은 X 가 C(=O) 인 경우 2 개 이상의 C-원자를 포함하고, X 가 C(=S) 또는 S(=O)₂ 인 경우 1 개 이상의 C-원자를 포함하는 유기 측쇄이다. 바람직하게는, 측쇄 R¹ 은 화학식 (I) 또는 (II) 의 기 X 의 C 또는 S 원자에 공유 결합된 3 내지 20 개의 C-원자의 연속 사슬을 갖는 임의 치환된 유기 측쇄, 바람직하게는 알킬이다. 더 바람직하게는, 측쇄 R¹ 은 OH, OPO₃²⁻, PO₃²⁻, SO₃⁻, 및 COO⁻ 로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상 치환기를 포함하는 화학식 (I) 또는 (II) 의 기 X 의 C 또는 S 원자에 공유 결합된 탄소수 3 내지 8 의 연속 사슬을 갖는 알킬이다. 바람직하게는, 측쇄 R¹ 은 화학적 화합물의 제 2 분자에 화학적 화합물의 하나의 분자를 공유결합적으로 연결하는 링커, 바람직하게는 알킬 링커, 더 바람직하게는 비분지형 알킬 링커이고, 즉 바람직하게는 화학적 화합물은 두 분자가 링커를 통해 연결되는 2량체이다. 본 발명에 따른 바람직한 2량체는 본원의 실시예에 나타나 있고, 특히 화학식 (XVII), (XVIII), (XIX), 또는 (XX) 중 하나에 따른 구조를 갖는 화합물이다. 바람직하게는, 상기 링커는 3 개 이상의 C-원자, 더 바람직하게는 3 내지 20 개의 C-원자를 갖는다. 바람직하게는, R¹ 의 탄소 원자의 사슬에는 하나 이상의 -NHCO- 및/또는 -O- 실체가 개입되고, 여기서 두 -NHCO- 실체는 최소한 1 개의 C 원자에 의해 그리고 -O- 실체는 최소한 2 개의 C 원자에 의해 분리되고; 예를 들어, 더 바람직하게는 상기 링커는 폴리-글라이신 및/또는 폴리-에틸렌글리콜 사슬을 포함한다. 임의로는, 측쇄는 -OH 기에 의해 추가로 치환되고, 여기서 -OH 기는 사슬의 임의적 O- 원자에 연결되는 탄소 원자에 절대 결합되지 않는다.

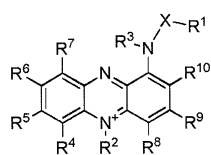
[0033] 화학식 (I) 및 (II) 의 내용에서 사용된 바와 같은, X 는 C(=Y) (여기서, Y 는 O 또는 S 임) 이거나, X 는 S(=O)₂ 이다. 바람직하게는, X 는 C(=O) 이다. 이에 따라, 화학식 (I) 또는 (II) 의 -X-R¹ 은 바람직하게는 푸마릴, 글루타릴, 아디필이거나, 가장 바람직하게는 숙시닐이다.

[0034] 본 명세서의 구조식의 내용에서, 측쇄 R^2 은 2 개 이상의 C-원자를 포함하는 유기 측쇄이다. 바람직하게는, 측쇄 R^2 는 임의 치환된, 알킬, 아릴 또는 아르알킬이고, R^2 의 맥락에서 상기 언급된 유기 측쇄에 바람직한 치환기는 $-OH$, OPO_3^{2-} , PO_3^{2-} , SO_3^- , 가장 바람직하게는 COO^- 이다. 더 바람직하게는, R^2 는 $-(CH_2)_n-CH_3$ 의 구조를 갖고, 이때 n 은 0 내지 6 의 범위이고, 보다 더 바람직하게는 n 은 0, 1 또는 2 이고; 가장 바람직하게는 R^2 는 에틸이다. 바람직하게는, R^2 의 탄소 원자의 사슬에는 하나 이상의 $-NHCO-$ 및/또는 $-O-$ 실체가 개입되고, 여기서 2 개의 $-NHCO-$ 실체는 최소한 하나의 C 원자에 의해 분리되고 $-O-$ 실체는 2 개의 C 원자에 의해 분리되고; 예를 들어, 더 바람직하게는 상기 링커는 폴리-글리신 및/또는 폴리-에틸렌글리콜 사슬을 포함한다. 임의로는, 측쇄는 $-OH$ 기에 의해 추가로 치환되고, 여기서 $-OH$ 기는 사슬의 임의적 O-원자에 연결되는 탄소 원자에 절대 결합되지 않는다. 또다른 바람직한 구현예에서, R^2 는 임의 치환된, 아릴이고; 더 바람직하게는 R^2 는 페닐이다.

[0035] 본 명세서의 구조식의 내용에서, 측쇄 R^3 은 본원에서 상기 기재된 측쇄이다. 바람직하게는, R^3 은 H 이다.

[0036] 본 발명의 화학적 화합물에서, R^1 , R^2 및 R^3 중 하나 이상, 바람직하게는 R^1 및 R^2 중 하나 이상은 본원에서 상기 명시된 바와 같은 친수성 측쇄이다. 바람직하게는, R^1 , R^2 및 R^3 중 둘 이상은 친수성 측쇄이고, 더 바람직하게는 적어도 R^1 및 R^2 은 친수성 측쇄이거나 R^2 및 R^3 은 친수성 측쇄이다. 바람직하게는, 측쇄 R^1 , R^2 및 R^3 는 본 발명에 따른 화합물의 용해도가 15 mmol/L 이상, 더 바람직하게는 25 mmol/L 이상, 가장 바람직하게는 50 mmol/L 이상이도록 선택되고, 여기서 용해도는 바람직하게는 표준 조건 하에, 더 바람직하게는 본원의 다른 곳에서 명시된 표준 조건 하에 측정된 수중 용해도이다.

[0037] 바람직하게는, 화학적 화합물 또는 이의 염 또는 용매화물은 하기 구조 (II) 를 갖는다:



(II)

[0038]

[0039] [식 중, R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 및 R^{10} 은 서로 독립적으로, H; 치환 또는 비치환 알킬, 시클로알킬, 알케닐, 시클로알케닐, 알키닐, 아릴, 헤테로시클로알킬, 헤테로아릴, 할로젠; $-NO_2$, $-SO_3^-$, $-CN$, $-CH=CH-COOH$ 및 $-Y^3-R^{13}$ 로 이루어지는 군으로부터 선택되고, 이때 Y^3 은 $-O-$, $-C(=O)-$ 또는 $-N(R^{14})-$ 이고, R^{13} 및 R^{14} 는 서로 독립적으로, 비치환 또는 치환, 알킬 및 아릴로 이루어지는 군으로부터 선택됨].

[0040] 바람직하게는, R^5 및/또는 R^9 는 알킬 또는 시클로알킬이다. 더 바람직하게는, R^5 및/또는 R^9 는 $-H$, 메틸, $-F$, $-Cl$, $-C(=O)-$, $-NO_2$, $-SO_3^-$, $-CN$, 또는 $-CH=CH-COOH$ 이다. 가장 바람직하게는, R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 및 R^{10} 는 $-H$ 이다.

[0041] 더 바람직하게는, 화학적 화합물 또는 이의 염 또는 용매화물은 구조 (II) 를 갖고, 여기서

[0042] R^3 , R^4 , R^6 , R^7 , R^8 , 및 R^{10} 은 H 이고;

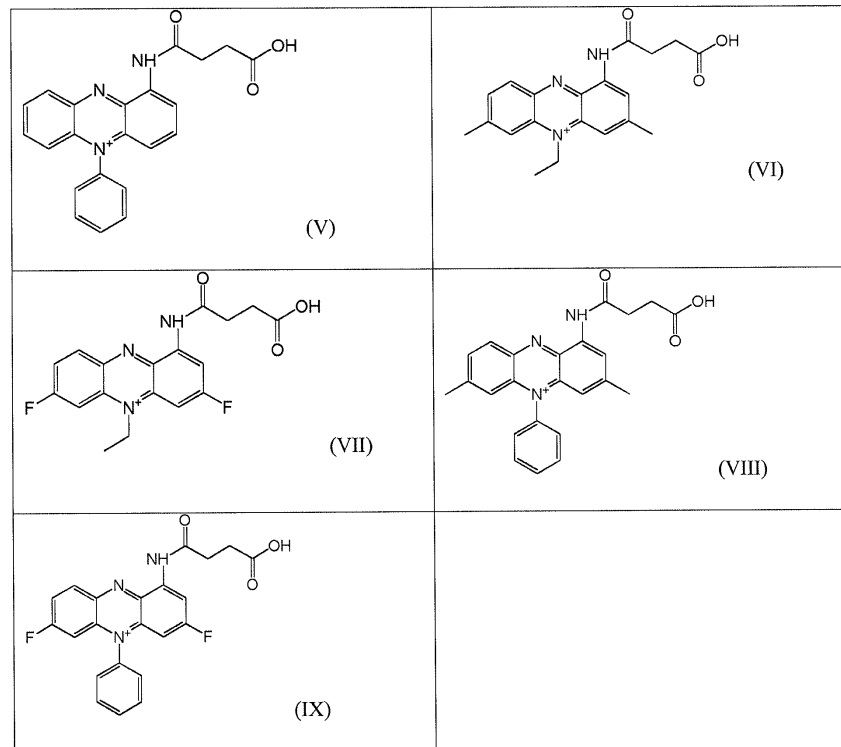
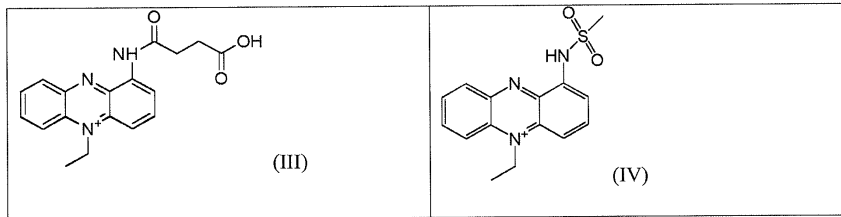
[0043] X 는 $C=O$ 이고;

[0044] R^1 및/또는 R^2 는 바람직하게는 음으로 하전된 기, 더 바람직하게는 COO^- , SO_3^- , $-OPO_3^{2-}$, 또는 PO_3^{2-} 를 절충하는 친수성 알킬, 아릴 또는 아르알킬 측쇄이다.

[0045] 보다 더 바람직하게는, 화학적 화합물 또는 이의 염 또는 용매화물은 아래 표 1 에 나타낸 화학식으로부터 선택된 화학식의 구조를 갖는다.

[0046] 표 1: 본 발명의 바람직한 화학적 화합물.

[0047]



[0048]

[0049] 가장 바람직하게는, 화학적 화합물 또는 이의 염 또는 용매화물은 화학식 (III) 의 구조를 갖는다.

[0050] 유리하게는, 1-아미노-페나진 화합물에 대한 벌키 측쇄의 첨가가 예를 들어 아스코르베이트와 같은 생물학적 샘플에 잠재적으로 존재하는 환원제에 의해 상기 화합물이 산화환원 반응되는 경향을 감소시키고, 상기 효과가 상기 벌키 측쇄가 화학식 (I) 및 (II) 의 라벨링된 위치 R^1 , R^2 및 R^3 중 하나 이상에 도입될 때 가장 확연하다는 것이 본 발명 하의 작업에서 밝혀졌다. 또한, 화합물의 용해도, 특히 이의 환원시의 침전되는 경향은 화학식 (I) 및 (II) 의 라벨링된 위치 R^1 , R^2 및 R^3 중 하나 이상에 하나 이상의 친수성 측쇄를 포함시킴으로써 향상될 수 있다는 것이 밝혀졌다. 또한, 상기 언급된 구조 중 하나를 갖는 화합물은 화학적 매트릭스에 포함될 때 반년 초과 동안 안정하다는 것이 밝혀졌다. 상기 언급된 효과 모두는 벌키한 및 음으로 하전된 측쇄가 사용될 때 가장 현저하였다. 이론에 얽매이지 않으면서, 측쇄의 음으로 하전된 기는 또한 양으로 하전된 페나진 고리와 상호작용할 수 있고, 이는 산화 형태의 안정화를 야기할 수 있다.

[0051] 상기 이루어진 정의는 하기에 필요한 부분만 약간 수정하여 적용된다. 아래 추가로 이루어진 추가 정의 및 설명은 또한 필요한 부분만 약간 수정하여 본 명세서에 기재된 모든 구현예에 적용된다.

[0052] 본 발명은 또한 본 발명의 화학적 화합물을 포함하는 화학적 매트릭스에 관한 것이다.

[0053] 용어 "화학적 매트릭스" 는 당업자에 공지되어 있다. 바람직하게는, 본 발명의 화학적 매트릭스는 본 발명의 화학적 화합물 이외에, 본원에서 아래 기재되는 바와 같은 산화환원 효소 및 산화환원 공동인자를 포함한다. 조성물이 추가 성분, 예를 들어 바람직하게는 완충액 성분 (예를 들어, 포스페이트 완충 식염수, 트리스 완충액 (Tris buffer), 시트레이트 완충액, 글리세린 포스페이트 완충액 또는 구드 완충액 (Good's buffer)) 또는

기타 염, 세제 등, 및 본원에서 아래 명시된 성분을 포함할 수 있음이 당업자에 의해 이해된다.

[0054] 본 발명에 따른 화학적 매트릭스는 바람직하게는 먼저 용매 또는 용매 혼합물에 본 발명의 조성물의 성분을 용해시킴으로써 제공될 수 있다. 더 바람직하게는, 상기 용매 또는 용매 혼합물은 이후 적합한 처리에 의해 제거되어, 나머지 성분은 본질적으로 상기 용매 또는 용매 혼합물을 포함하지 않는다. 본 발명에 의해 바람직하게는 예상되는 적합한 처리는 열 처리, 증발 기술, 동결 건조 등을 포함한다. 바람직하게는, 예상된 처리는 열 처리, 특히 하기 조건 하의 열 처리를 포함한다: 약 20 내지 45 분 동안 약 60 °C 이상에서 또는 약 1 내지 2 분 동안 약 95 °C 에서의 열 처리 (열 순환과 함께); 20 내지 200 마이크로미터 이하의 화학적 매트릭스 두께; 1 bar 또는 0.1 bar 의 압력. 또한, 건조 조건 하에 화학적 매트릭스를 유지하기 위해 저장은 바람직하게는 건조제, 즉 데시칸트 (desiccant) 의 존재 하에 수행된다는 것이 이해될 것이다. 적합한 건조제는 바람직하게는 실리카 겔, 제올라이트, 칼슘 카르보네이트 또는 마그네슘 술페이트를 포함한다.

[0055] 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "산화환원 효소" 는, 본원의 다른 곳에서 나타난 바와 같은 산화환원 공동 인자에 또는 이로부터 산화환원 등가로서 하이드라이드 (H^-) 를 수송함으로써 기관의 바람직하게는 특이적인, 산화 또는 환원을 촉매작용시킬 수 있는 폴리펩타이드를 나타낸다. 바람직하게는, 산화환원 효소는 탈수소효소, 즉 수용체 분자, 바람직하게는 본원의 다른 곳에서 나타난 산화환원 공동 인자에 산화환원 등가물로서 하이드라이드 (H^-) 를 수송함으로써 기관의 산화를 촉매작용시킬 수 있는 폴리펩타이드이다. 본 발명에 의해 예상된 탈수소효소는 바람직하게는 산화환원 공동 인자 (또는 조효소로서 때때로 나타내어짐) 에 따른 것 예컨대 피롤로 퀴놀린 퀴논 (PQQ) 또는 이의 유도체, 니코틴아미드-아데닌-디뉴클레오티드 (NAD) 또는 이의 유도체, 또는 플라빈 공동 인자, 예컨대 플라빈-아데닌-디뉴클레오티드 (FAD) 또는 플라빈 모노뉴클레오티드 (FMN), 또는 이의 유도체이다. 바람직한 탈수소효소는 특히 락테이트 탈수소효소 (EC 번호 1.1.1.27 또는 1.1.1.28), 글루코오스 탈수소효소 (아래 참조), 알코올 탈수소효소 (EC 번호 1.1.1.1 또는 1.1.1.2), L-아미노산 탈수소효소 (EC 번호 1.4.1.5), 글리세롤 탈수소효소 (EC 번호 1.1.1.6), 말레이트 탈수소효소 (EC 번호 1.1.1.37), 3-히드록시부티레이트 탈수소효소 (EC 번호 1.1.1.30) 또는 소르비톨 탈수소효소 (EC 번호 1.1.1.14) 이다.

[0056] 더 바람직하게는, 상기 산화환원 효소는 글루코오스 탈수소효소이다. 가장 바람직하게는, 상기 글루코오스 탈수소효소는 하기로 이루어지는 군으로부터 선택된다: 글루코오스 탈수소효소 (EC 번호 1.1.1.47), 퀴노단백질 글루코오스 탈수소효소 (EC 번호 1.1.5.2), 특히, 피롤로 퀴놀린 퀴논 (PQQ)-의존적 글루코오스 탈수소효소 (EC 번호 1.1.5.2), 글루코오스-6-포스페이트 탈수소효소 (EC 번호 1.1.1.49), 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드 (NAD)-의존적 글루코오스 탈수소효소 (EC 번호 1.1.1.119) 및 플라빈 아데닌 디뉴클레오티드 (FAD)-의존적 글루코오스 탈수소효소 (EC 번호 1.1.99.10) 또는 이의 효소적 활성 돌연변이.

[0057] 상기 언급된 효소의 효소적 활성 돌연변이는 이전에 언급된 선행 기술에서 상기 언급된 야생형 효소에 대해 보고된 아미노산 서열로부터 하나 이상의 아미노산을 치환, 부가 또는 삭제함으로써 획득될 수 있다. 바람직한 돌연변이는 US 7,132,270 또는 US 7,547,535 에 개시된 바와 같은 그 야생형 상대자에 비해 개선된 기질 특이성을 갖는 PQQ-의존적 글루코오스 탈수소효소의 돌연변이이다. 두 문헌은 돌연변이에 대해 여기서 참조 인용된다. 추가 돌연변이는 Baik 등 (Baik 2005, Appl Environ Microbiol 71: 3285), Vasquez-Figuera 등 (Vasquez-Figuera 2007, Chem BioChem 8: 2295), 및 WO 2005/045016 에 개시되어 있는 것이다.

[0058] 본 발명에 따라 바람직한 것은 본원에서 참조 인용된, 적어도 아미노산 위치 96, 170 및/또는 252 에 돌연변이를 갖는, WO2009/103540A1 (p.21) 또는 EP1660648 에 개시된 글루코오스 탈수소효소 (E.C. 1.1.1.47) 돌연변이이다. 이러한 아미노산 위치에서 예상된 바람직한 돌연변이는 Glu96Gly, Glu170Arg 또는 Lys 및/또는 Lys252Leu 의 치환이고, 조합 Glu170Lys / Lys252Leu 가 더 바람직하다. 가장 바람직하게는, 상기 돌연변이는 바실러스 서브틸리스 (Bacillus subtilis) 로부터의 글루코오스 탈수소 효소 중의 돌연변이 Glu170Arg 및 Gln252Leu 이다.

[0059] 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "산화환원 공동 인자" 는 산화환원-활성 플라빈, 니코틴아미드 또는 피롤로 퀴놀린 퀴논 (PQQ) 보조효소에 관한 것이다. 당업자는 선택된 산화환원 효소에 따라, 적절하게 상기 언급된 보조효소 중 하나를 어떻게 선택할지를 알고 있다. 바람직하게는, 플라빈, 니코틴아미드 또는 PQQ 보조효소는 플라빈 아데닌 디뉴클레오티드 (FAD), 플라빈 모노뉴클레오티드 (FMN) 또는 PQQ, 또는 상기 언급된 화합물 중 하나의 유도체이다. 더 바람직하게는, 플라빈, 니코틴아미드 또는 PQQ 보조효소는 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드 (NAD^+), 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드 포스페이트 ($NADP^+$), 또는 이의 유도체이다. 바람직한 NAD^+ 또는 $NADP^+$ 유도체는 안정화된 NAD^+ 또는 $NADP^+$ 유도체, 즉 바람직하게는, 카르바시클릭 유도체,

예컨대 더 바람직하게는 개시된 바와 같은 carbaNAD⁺ 또는 carbaNADP⁺ (예를 들어 바람직하게는 Slama (Biochemistry 27: 183 (1988)), Hutchinson et al. (Chem. Comm. 24: 2765 (1996)), US 5,801,006, WO98/33936, WO01/49247 및 WO2007/012494 에서 개시됨) 이다. 가장 바람직하게는, 산화환원 공동 인자는 NAD⁺, NADP⁺, carbaNAD⁺ 또는 carbaNADP⁺ 이다.

[0060] 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "산화환원 등가물" 은 당업자에 익히 공지된 산화환원 화학에서 통상 사용된 개념에 관한 것이다. 바람직하게는, 용어는 산화환원 효소의 기질로부터 산화환원 공동 인자에 및/또는 상기 산화환원 공동 인자로부터 산화환원 매개체에 및/또는 상기 산화환원 매개체로부터 지시 화합물 및/또는 전극에 수송되는 전자에 관한 것이다.

[0061] 본 발명의 화학적 매트릭스의 바람직한 구현예에서, 상기 조성물은 또한 하나 이상의 세제, 팽윤제, 필름-형성제 및/또는 고체 입자를 포함한다. 적합한 안정화제, 세제, 팽윤제, 필름 형성제, 산화제 및/또는 본 발명의 조성물에서 사용되는 고체 입자는 당업자에 공지되어 있다. 바람직하게는, 상기 하나 이상의 세제는 하기로 이루어지는 군으로부터 선택된다: 나트륨-N-메틸-N-올레오일타우레이트, N-옥타노일-N-메틸-글루카미드, Mega 8 (N-메틸-N-옥타노일글루카미드), 디옥틸나트륨 술포숙시네이트 (DONS), Rhodapex® (바람직하게는 CO-433 또는 CO-436). 바람직하게는, 상기 하나 이상의 팽윤제는 하기로 이루어지는 군으로부터 선택된다: 메틸 비닐 에테르 말레산 무수물 공중합체, 잔탄 검 및 메틸 비닐 에테르 말레산 공중합체. 바람직하게는, 상기 하나 이상의 필름-형성제는 폴리비닐프로피오네이트 분산액, 폴리비닐 에스테르, 폴리비닐 아세테이트, 폴리아크릴산 에스테르, 폴리메타크릴산, 폴리비닐 아미드, 폴리아미드, 폴리스티렌으로 이루어지는 군으로부터 선택되며, 예컨대 부타디엔, 스티렌 또는 말레산 에스테르의 혼합 중합물 (polymerisate) 이 또한 적합하다. 바람직하게는, 상기 하나 이상의 고체 입자는 하기로 이루어지는 군으로부터 선택된다: 실리카 입자, 특히, 이산화규소, 나트륨 실리케이트 또는 알루미늄 실리케이트, 규조토 (kieselgur), 금속 산화물, 특히 티탄 산화물 및/또는 알루미늄 산화물, 합성 산화물 물질, 특히, 산화물 물질의 나노입자 예컨대 이산화규소, 알루미늄 산화물 또는 티탄 산화물의 나노입자, 카올린, 분말 유리, 비정질 실리카, 칼슘 술페이트 및 바륨 술페이트.

[0062] 또한, 본 발명은 본 발명의 화학적 화합물 및/또는 본 발명의 화학적 매트릭스를 포함하는 시험 요소에 관한 것이다.

[0063] 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "시험 요소" 는 고체 지지체 상에 시험 화학 조성물, 바람직하게는 건조 시험 화학 조성물을 포함하는 유닛에 관한 것이다. 바람직하게는, 시험 화학 조성물은 본원에서 아래 기재된 시험 필드 (test field) 에 포함된다. 또한 바람직하게는, 시험 요소는 바람직하게는 시험 필드에 모세관 작용에 의해 액체를 취하고/하거나 수송하는데 적합화된 모세관 요소를 추가로 포함한다. 바람직하게는, 시험 요소는 광학 시험 요소 및 전기화학 시험 요소로부터 선택된다. 시험 요소는 또한 임의로는 하나 이상의 천자 (puncture) 요소, 예컨대 랜싱 (lancing) 요소를 포함할 수 있는데, 이는 바람직하게는 천자 동작, 샘플링 동작 또는 랜싱 동작을 수행하여 피부 표면의 절개를 발생시키기 위해 시험 필드에 대해 움직이게 탑재될 수 있다. 바람직하게는, 시험 필드는 천자, 샘플링 또는 랜싱 동작 동안 고정된 위치에서 유지되고, 여기서 체액 샘플은 시험 필드에 예컨대 모세관 작용에 의해 및/또는 천자, 샘플링 또는 랜싱 동작 이후 시험 필드에 천자 요소 또는 그 일부를 가압하는 것에 의해 수송된다. 바람직하게는, 시험 요소는 시험 스트립, 시험 테이프 또는 시험 디스크이다.

[0064] 용어 "시험 필드" 는 바람직하게는 하나 이상의 캐리어 예컨대 하나 이상의 캐리어 필름에 의해 잡혀지는 시험 화학 조성물의 연속 또는 불연속적 양에 관한 것이다. 따라서, 시험 화학은 시험 필드의 층 또는 필름 하나 이상에 포함될 수 있거나 형성할 수 있고, 및/또는 시험 필드는 하나 이상의 층을 갖는 층 셋업 (layer setup) 을 포함할 수 있고, 여기서 층 중 하나 이상의 시험 화학을 포함한다. 따라서, 시험 필드는 캐리어 상에 배치된 층 셋업을 포함할 수 있고, 여기서 체액의 샘플은 하나 이상의 적용면, 예컨대 시험 필드의 에지 및/또는 시험 필드의 적용 표면으로부터 층 셋업에 적용될 수 있다. 바람직하게는, 시험 필드는 다층 셋업을 갖고, 상기 다층 셋업은 체액에 함유된 하나 이상의 미립자 성분을 분리하는데 적합화된 하나 이상의 분리 층을 추가로 포함하고 하나 이상의 시험 물질을 갖는 하나 이상의 검출 층을 포함하고, 여기서 분리 층은 검출 층과 모세관 요소 사이에 배치된다. 체액과 시험 필드 사이에 임의로 존재하는 모든 층은 적어도 분석물의 통과를 허용하도록 선택됨이 당업자에 의해 이해된다.

[0065] 바람직하게는, 시험 요소는 광학 시험 요소, 즉 분석물의 존재 하에 하나 이상의 광학 특성을 바꾸는데 적합화된 시험 요소이다. 더 바람직하게는, 시험 요소에 포함된 하나 이상의 화학적 매트릭스는 분석물의 존재 하에 하나 이상의 광학적으로 검출가능한 검출 반응을 수행한다. 보다 더 바람직하게는, 검출 반응은 산화환

원 반응이다. 가장 바람직하게는, 검출 반응은 중간체 및/또는 생성물로서 산화환원 등가물 및/또는 전자를 생성한다. 바람직하게는, 검출 반응에 의해 생성된 광학적으로 검출가능한 신호는 샘플 중 분석물의 양 및/또는 농도에 비례한다.

[0066] 바람직하게는, 분석물의 존재 하에 하나 이상의 광학 특성을 바꾸는데 적합화된 시험 요소, 바람직하게는 상기 시험 요소에 포함된 화학적 매트릭스는, 상기 상술된 성분 이외에 산화환원 등가물의 존재 하에 하나 이상의 광학 특성을 바꾸는 지시약 하나 이상을 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "지시약" 은 바람직하게는 본 발명의 효소의 활성화에 따라, 바람직하게는 이에 비례하여 하나 이상의 광학 특성을 바꾸는 화합물에 관한 것이다. 바람직하게는, 지시약은 광학 지시 성분인데, 이는 효소 중 하나 이상 또는 화학적 매트릭스에 포함된 효소가 분석물과 반응할 때 하나 이상의 광학적으로 검출가능한 특성 변화를 수행한다. 따라서, 하나 이상의 지시약은 바람직하게는 하나 이상의 효소 및 분석물의 효소적 반응의 광학 특성 지표의 변화를 수행하는 하나 이상의 염료를 포함한다.

[0067] 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "광학 특성" 은 광학 장비에 의해 검출될 수 있는 특성에 관한 것이다. 구체적으로는, 광학 특성은 하기로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 특성일 수 있거나 이를 포함할 수 있다: 반사 특성, 투과 특성, 방사 특성, 산란 특성, 형광 특성, 인광 특성, 회절 특성 및 편광 특성. 바람직하게는, 본원에 나타난 바와 같은 광학 특성은 광학적으로 검출될 수 있는 지시약의 특성 예컨대 광 흡수, 발광, 광 완화 (light remission) 또는 이와 관련된 특성을 나타낸다. 본원에서 사용된 바와 같은 하나 이상의 광학 특성의 상기 변화가 이전에 검출가능하지 않았던 특성의 존재의 검출, 이전에 검출된 특성의 결여의 검출, 및 특성의 정량적 변화의 검출, 즉 하나 이상의 광학 특성의 변화 정도를 보정하는 신호 강도 변화의 검출을 포함함이 이해될 것이다. 본 발명에 의해 예상된 바람직한 광학 특성은 색채, 형광, 발광 또는 굴절이다. 화학적 매트릭스에서 검출하고자 하는 원하는 광학 특성에 따라, 당업자는 지체 없이 적합한 지시약을 선택하는 위치에 있다. 상기 정의된 광학 특성의 측정 값으로서 판독될 수 있는 물리적 신호로의 전환 방법은 당업계에 익히 공지되어 있고 예를 들어 EP 0 821 234, EP 0 974 303, 및 US 2005/0023152 에 기재되어 있다.

[0068] 본 발명에 따른 지시약의 광학 특성은 본 발명의 효소의 활성화에 따라 변화한다. 따라서, 바람직하게는 광학 특성의 변화는 오로지 효소가 검출 반응을 촉매작용시키는 경우에 발생한다. 더 바람직하게는, 광학 특성의 변화는 화학적 매트릭스에 존재하는 효소에 의해 겪는 촉매적 사이클의 수에 비례한다. 따라서, 가장 바람직하게는 광학 특성의 변화는 효소에 의해 전환된 분석물 분자의 수에 비례한다.

[0069] 더 바람직하게는, 시험 요소는 전기화학적 시험 요소이다. 이에 따라, 시험 요소는 바람직하게는 본원에서 아래 명시된 화학적 매트릭스를 직접 또는 간접적으로 접촉시키는 둘 이상의 전극을 포함한다. 적합한 전극, 전극 셋업 및 작동 방식은 당업자에 공지되어 있고, 예를 들어 WO 2007/071562 A1, WO 2014/001382 A1, US 2005/0023152 및 여기서 언급된 문헌에 기재되어 있다. 또한, 화학적 매트릭스는 샘플 유체 중 분석물의 존재를 나타내는 전기화학적 신호를 생성하는 분석물과 반응하기 위해 하나 이상의 화학적 작용제를 포함한다는 것이 본 발명에 의해 예상된다. 바람직하게는, 샘플 유체 중 분석물의 존재를 나타내는 전기화학적 신호를 생성하는 분석물과의 반응을 위한 하나 이상의 화학적 작용제는 본 발명의 화학적 화합물을 포함한다. 더 바람직하게는, 전기화학적 신호를 생성하기 위해 분석물과 반응하기 위한 화학적 작용제는 본 발명의 화학적 화합물 이외에 상기 본원에서 기재된 하나 이상의 산화환원 효소를 추가로 포함한다. 가장 바람직하게는, 전기화학적 신호를 생성하기 위해 분석물과 반응하기 위한 화학적 작용제는 본 발명의 화학적 화합물 및 하나 이상의 산화환원 효소 이외에 상기 본원에서 기재된 하나 이상의 산화환원 공동 인자를 추가로 포함한다. 바람직하게는, 전기화학적 특성은 분석물의 농도를 나타내는 전류측정 또는 전량분석 반응을 포함한다. 예를 들어 미국 특허 번호 5,108,564, 4,919,770 및 6,054,039 를 참조한다.

[0070] 바람직하게는, 전기화학적 시험 요소는 상기 시험요소에 포함된 화학적 매트릭스를 접촉시키거나, 상기 시험 화학에 전도성 연결된 수단을 접촉시키는 둘 이상의 전극을 포함한다. 바람직하게는, 화학적 매트릭스에 전도성적으로 연결된 수단은 산화환원 공동인자 및/또는 산화환원 매개체의 층을 통한 확산을 가능하게 하기 위한 화학적 매트릭스에 연결된 시험 스트립의 층이다. 더 바람직하게는 화학적 매트릭스에 전도성적으로 연결된 수단은 상기 화학적 매트릭스에 적어도 일부 오버레이 및/또는 언더레이되어, 층을 통한 산화환원 매개체 및/또는 산화환원 공동 인자의 확산을 가능하게 하는 시험 스트립의 층이다.

[0071] 본 발명에 따른 전기화학적 특성은 본 발명의 산화환원 효소의 활성화에 따라 변화한다. 따라서, 바람직하게는 전기화학적 특성의 변화는 오로지 산화환원 효소가 검출 반응을 촉매작용시키는 경우에 발생한다. 더 바

바람직하게는, 광학 특성의 변화는 화학적 매트릭스에 존재하는 산화환원 효소에 의해 겪는 촉매적 사이클의 수에 비례한다. 따라서, 가장 바람직하게는, 광학 특성의 변화는 산화환원 효소에 의해 전환된 분석물 분자의 수에 비례한다.

[0072] 본 발명은 또한 본 발명의 화학적 화합물 및/또는 본 발명에 따른 시험 요소를 포함하는, 액체 샘플 중 분석물의 양을 측정하는 장치에 관한 것이다. 바람직하게는, 장치는 광학 및/또는 전기화학적 센서를 추가로 포함한다.

[0073] 또한, 본 발명은 분석 또는 진단 시험에서의 본 발명에 따른 화학적 화합물의 용도에 관한 것이다.

[0074] 바람직하게는, 분석 또는 진단 시험은 광학 또는 전기화학적 수단에 의해 검출가능한 임의의 생물학적 또는 화학적 분석물의 정성적 및/또는 정량적 측정을 포함한다. 바람직하게는, 분석물은 대상체의 시험 샘플, 더 바람직하게는 체액의 시험 샘플에 포함된다. 더 바람직하게는, 분석 또는 진단 시험은 시험 샘플 중 글루코오스 농도를 측정하는 것을 포함한다. 가장 바람직하게는, 분석 또는 진단 시험은 당뇨병에 걸린 대상체 또는 당뇨병에 걸린 것으로 의심되는 대상체로부터의 시험 샘플 중 글루코오스 농도를 측정하는 것을 포함한다. 또한 바람직하게는, 분석 또는 진단 시험은 바람직하게는 당뇨병에 걸린 대상체 또는 당뇨병에 걸린 것으로 의심되는 대상체에서 혈당 농도를 모니터링하기 위한 시험이다. 분석 또는 진단 시험은 바람직하게는 시험 관내 시험이다.

[0075] 본원에서 사용된 용어 "분석물"은 체액에 존재하는 화학적 화합물에 관한 것이다. 바람직하게는, 분석물은 소분자인데, 즉 바람직하게는 분석물은 생물학적 거대분자가 아니다. 더 바람직하게는, 분석물은 유기 분자, 가장 바람직하게는 본 발명에 따른 시험 화학의 존재 하에 산화환원 반응될 수 있는 유기 분자이다. 바람직하게는, 분석물은 대상체의 대사의 분자이다. 또한 바람직하게는, 분석물은 저분자량 화학적 화합물, 더 바람직하게는 1000 u (1000 Da; 1.66×10^{-24} kg) 미만의 분자 질량을 갖는 화학적 화합물이다. 더 바람직하게는, 분석물은 말레이트, 에탄올, 아스코르브산, 콜레스테롤, 글리세롤, 우레아, 3-히드록시부티레이트, 락테이트, 피루베이트, 트리글리세리드, 케톤, 간 매개변수, 크레아티닌, HDL 등으로 이루어지는 목록으로부터 선택되고; 더 바람직하게는, 분석물은 혈당이다.

[0076] 본원에서 사용된 용어 "대상체"는 척추동물에 관한 것이다. 바람직하게는, 대상체는 포유류, 더 바람직하게는 마우스, 랫트, 고양이, 개, 햄스터, 기니피그, 양, 염소, 돼지, 소 또는 말이다. 보다 더 바람직하게는, 대상체는 영장류이다. 가장 바람직하게는, 대상체는 인간이다. 바람직하게는, 대상체는 하나 이상의 분석물의 정규로부터의 측정가능한 편차와 관련된 질환 또는 병상에 시달리거나 이에 시달리는 것으로 의심된다. 더 바람직하게는, 대상체는 당뇨병에 시달린다. 바람직하게는, 대상체는 바람직하게는 환원제에 의한 전신적 치료, 바람직하게는 아스코르베이트 (비타민 C)에 의한 치료를 받는다.

[0077] 본원에서 사용된 용어 "체액"은 혈액, 혈장, 혈청, 누액, 소변, 림프, 뇌척수액, 담즙, 대변, 땀, 간질액 및 타액을 포함하는, 본 발명의 분석물을 포함하는 것으로 공지되거나 이를 포함하는 것으로 예상되는 대상체의 모든 체액에 관한 것이다. 바람직하게는 체액은 혈액, 혈장 또는 혈청이다.

[0078] 용어 "시험 샘플"은 당업자에 의해 이해되며, 조직 또는 바람직하게는 대상체의 체액의 임의의 적절히 크기화된 하위부분에 관한 것이다. 체액 시험 샘플은 예를 들어 정맥 또는 동맥 천자, 표피 천자 등을 포함하는 익히 공지된 기술에 의해 획득될 수 있다.

[0079] 본원에서 사용된 용어 "당뇨병" 또는 "진성 당뇨병"은 글루코오스 대사가 손상되는 질환 병상을 나타낸다. 상기 손상은 고혈당을 야기한다. 세계 보건 기구 (WHO)에 따르면, 당뇨병은 4개의 부류로 하위분류될 수 있다. 1형 당뇨병은 인슐린의 결여에 의해 야기된다. 인슐린은 소위 췌장 소도 세포에 의해 생성된다. 상기 세포는 1형 당뇨병 (1a형)에서 자가면역 반응에 의해 파괴될 수 있다. 또한, 1형 당뇨병은 또한 특발성 변종 (1b형)을 포함한다. 2형 당뇨병은 인슐린 저항성에 의해 야기된다. 현분류에 따른 3형 당뇨병은 모든 기타 특정 유형의 진성 당뇨병을 포함한다. 예를 들어 베타 세포는 인슐린 생성에 영향을 주는 유전적 결함을 가질 수 있고, 인슐린 저항성은 유전적으로 야기될 수 있거나, 그러한 췌장은 파괴 또는 손상될 수 있다. 또한, 호르몬 규제완화 또는 약물은 또한 3형 당뇨병을 야기할 수 있다. 4형 당뇨병은 임신 동안 발생할 수 있다. 바람직하게는, 본원에서 사용된 당뇨병은 1형 당뇨병, 더 바람직하게는 2형 당뇨병을 나타낸다. 독일 당뇨병 협회 (German Society for Diabetes)에 따르면, 당뇨병은 단식 상태에서 110 mg/dl 초과이거나 식후 220 mg/dl 초과인 혈장 글루코오스 수준에 의해 진단된다. 본 발명의 분석 또는 진단 시험 이외에 또는 이와 함께 사용될 수 있는 당뇨병 진단에 또한 바람직한 진단 기술은 업계에 익히 공지되

어 있고, 약학의 표준 교과서, 예컨대 Stedman 또는 Pschyrembl 에 기재되어 있다.

- [0080] 당뇨병에서, 혈당 수준은 예를 들어 식사 이후의 고혈당을 회피하고/하거나 이에 대한 대응책을 강구하기 위해 또는 예를 들어 인슐린의 투여 이후 저혈당을 회피하고/하거나 이에 대한 대응책을 강구하기 위해 정기적으로 확인되어야 함이 당업자에 의해 이해된다. 이에 따라, 본 발명은 또한 더 바람직하게는 고혈당, 저혈당 또는 정상적 글루코오스 수준에서 사용하기 위해 혈당 수준의 측정을 위한 본 발명의 화학적 화합물에 관한 것이다.
- [0081] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 화학적 매트릭스의 생산 또는 본 발명에 따른 장치의 생산을 위한, 본 발명에 따른 화학적 화합물의 용도에 관한 것이다.
- [0082] 또한, 본 발명은 하기 단계를 포함하는, 샘플 중 분석물의 양을 측정하는 방법에 관한 것이다:
- [0083] a) 본 발명에 따른 화학적 매트릭스와 상기 샘플을 접촉시키는 단계,
- [0084] b) 상기 액체 샘플의 존재 하에 화학적 매트릭스에 의해 유리 또는 소비된 산화환원 등가물의 양을 추정하는 단계, 및
- [0085] c) 이에 따라 샘플 중 분석물의 양을 측정하는 단계.
- [0086] 분석물의 양을 측정하는 방법은 바람직하게는 시험관내 방법이다. 또한, 이는 상기 명백하게 언급된 것 이외의 단계들을 포함할 수 있다. 예를 들어 추가 단계는 예를 들어 단계 a) 를 위해 샘플을 가공 및/또는 조 건화하는 단계, 또는 단계 b) 에서 상기 화학적 매트릭스에 전압을 적용하고/하거나 그 내의 전류를 측정하는 단계에 관련될 수 있다. 또한, 상기 단계 중 하나 이상은 자동화 장비에 의해 수행될 수 있다. 또한 방법의 단계 하나 이상, 예를 들어 화학적 매트릭스에 의해 유리 또는 소비된 전자의 양을 추정하는 단계가 반복 될 수 있음이 당업자에 의해 이해된다.
- [0087] 용어 "측정하는" 은 샘플 중 분석물의 양을 측정하는 것, 바람직하게는 반정량적으로, 더 바람직하게는 정량적으로 측정하는 것에 관한 것이다.
- [0088] 산화환원 등가물, 바람직하게는 화학적 매트릭스에서 유리 또는 소비된 전자의 양을 추정하는 방법은 선행 기술에 공지되어 있다. 바람직하게는, 유리 또는 소비된 산화환원 등가물의 양은 광학 또는 전기화학적 시험 요소에 의해 추정된다. 바람직하게는, 유리 또는 소비된 산화환원 등가물의 양의 추정은 둘 이상의 전극과 상기 시험 화학에 전도성적으로 연결된 수단 또는 화학적 매트릭스와의 접촉, 상기 전극에 대한 전압의 적용, 및 화학적 매트릭스를 접촉하는 상기 전극을 통한 전류 흐름의 측정을 포함한다.
- [0089] 본 발명은 또한 하기를 포함하는, 샘플 중 분석물의 양을 측정하기 위한 키트에 관한 것이다:
- [0090] a) 본 발명에 따른 시험 요소, 및
- [0091] b) 대상체의 신체 표면 상에 절개를 생성하기 위한 수단.
- [0092] 신체에 절개를 생성하는 수단은 당업자에 공지되어 있고, 바람직하게는 메스, 나이프 또는 바늘을 포함한다. 신체 표면 상에 절개를 생성하는 더 바람직한 수단은 랜셋 (lancet) 이다.
- [0093] 본 명세서에 언급된 모든 참조 문헌은 그 전체 개시 내용 및 본 명세서에서 구체적으로 언급된 개시 내용에 대해 여기서 참조 인용된다.
- [0094] 하기 실시예는 단지 본 발명을 설명할 것이다. 이는 본 발명의 범주를 제한하는 것으로 전혀 해석되지 않을 것이다.
- [0095] 본 발명의 추가 임의적 특징 및 구현에는 바람직하게는 독립항과 함께, 바람직한 구현예의 후속 설명에 더 상세히 개시될 것이다. 여기서, 각각의 임의적 특징은 당업자가 인식할 바와 같이 독립된 방식 및 어느 임의의 실행가능한 조합으로 실현될 수 있다. 본 발명의 범주는 바람직한 구현예에 의해 제한되지 않는다.
- [0096] 도면에서:
- [0097] 도 1: 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄 (화학식 (III) 의 화합물) 의 시클릭 볼타모그램 (voltammogram). A: 완충액 pH 7.0 (블랭크 전류), B: 완충액 중 2 mM 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄, C: 완충액 중 2 mM 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄 + 1.2 mM 아스코르브산, D: 완충액 중 1.2 mM 아스코르브산.

[0098] 도 2: A) 아스코르브산 간섭의 투약량 반응 곡선; -100 mV, pH 7.0 에서의 크로노암페로메트리 (Chronoamperometry); 5 mM 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄, 35 mM cNAD, 및 1.5 kU/g 글루코오스 탈수소효소 (GDH) 의 용액을 나타낸 글루코오스 농도로 인큐베이션함, A: 0 mg/mL 아스코르브산, B: 30 mg/mL 아스코르브산, C: 100 mg/mL 아스코르브산; 선형: 선형 회귀; B) 아스코르브산 간섭의 투약량 반응 곡선; +650 mV, pH 7.0 에서의 크로노암페로메트리; 5 mM 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄, 35 mM cNAD 및 1.5 kU/g 글루코오스 탈수소효소 (GDH) 의 용액을 나타낸 글루코오스 농도로 인큐베이션함, A: 0 mg/mL 아스코르브산, B: 30 mg/mL 아스코르브산, C: 100 mg/mL 아스코르브산; 선형: 선형 회귀.

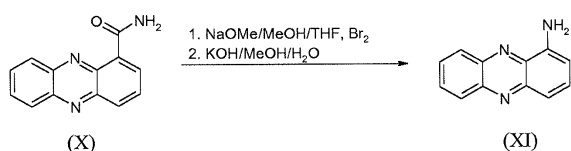
[0099] 도 3: 매개체 제형의 가용 시간. 매개체 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄 및 1-(3-카르복시프로폭시)-5-에틸페나지늄을 가용 시간 실험에서 비교함. 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄 (A: 0 h, B: 48 h) 및 1-(3-카르복시프로폭시)-5-에틸페나지늄 (C: = 0 h, D: 48 h) 의 가용시간을 나타냄; 선형: 선형 회귀.

[0100] 도 4: A) 글루코오스 측정 스트립 중 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄 (CPEP) 및 1-(3-카르복시프로폭시)-5-에틸페나지늄 (CEPES) 에 대한 투약량 반응 곡선. 나타낸 것은 아스코르베이트의 부재 (실선) 및 아스코르베이트의 존재 (점선) 하의 5 개의 복제품에 대한 선형 회귀 선임. 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄의 R^2 는 아스코르베이트의 부재 하에 0.9962 이었고 아스코르베이트의 존재 하에 0.9834 이었음. 1-(3-카르복시프로폭시)-5-에틸페나지늄의 R^2 는 아스코르베이트의 존재 하에 0.9728 이었고 아스코르베이트의 존재 하에 0.999 이었음. B) 낮은 글루코오스 농도에서 글루코오스 측정 스트립 중 1-(3-카르복시프로폭시)-5-에틸페나지늄 (CEPES) 을 사용하여 아스코르베이트에 의해 야기된 전류 오프셋; (A) 에서와 동일한 데이터, 낮은 글루코오스 농도에서 CEPES 를 사용하여 측정된 값의 상세도.

[0101] 구현예의 상세한 설명 (실시예)

[0102] 본 발명에 따른 화합물의 합성을 위한 핵심 중간체는 1-아미노 페나진이고, 이는 다양한 방법에 의해 합성될 수 있다 (참조: Urleb, U. and Gobec, S., Science of Synthesis, 2004, 16, 913-943). 이후 1-아미노 페나진은 아실- 또는 술폰닐클로라이드와 반응되고 임의로는 보호기의 제거 후에 알킬화된다. 페나지늄 질소 상에 아릴 기를 갖는 페나지늄 염의 경우, 상이한 합성 방법이 사용될 수 있다 (참조: Kehrmann and Masslenikow; Chemische Berichte, 1911, 44, 2629).

[0103] 실시예 1: 1-아미노-페나진의 합성

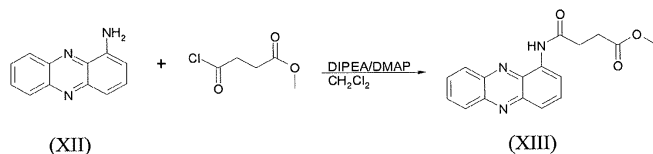


[0104]

[0105] 100 ml MeOH 중 나트륨 메탄올레이트 (MeOH 중 25%, 24.6 ml, 107 mmol) 의 용액을 -78℃ 로 냉각하고 10.0 ml MeOH 중 브롬 (2.10 ml, 40.9 mmol) 의 용액을 2 분의 기간에 걸쳐 첨가하였다. 추가 냉각 하에, 용액을 먼저 5 분 동안 교반한 후, 적하 깔대기를 통해 1 h 의 기간에 걸쳐 200 ml 건조 메탄올 및 400 ml 건조 THF 중 페나진-1-카르복사미드 (4.00 g, 17.9 mmol) 를 첨가했다. 완전한 첨가 이후 맑은 오렌지색 용액을 수득하고, 이를 실온으로 가온하고 55 °C 에서 2 h 동안 추가 교반했다. 이후 혼합물을 실온으로 냉각시키고 추가로 72 h 동안 교반했다. 감압 하에 증발시킨 이후 잔여물을 메탄올 (300 ml) 및 수성 NaOH (40%, 150 ml) 중에 용해시키고 90 °C 에서 4 h 동안 환류하였다. 이후 용액을 0 °C 로 냉각하고, 농축 HCl 을 사용해 pH 8.5 로 설정하여, 암적색 현탁액을 수득하였다. 감압 하에 약 200 ml 로 농축시킨 이후 500 ml 물을 첨가했다. 혼합물을 CHCl₃ 로 3 회 추출했다. 합쳐진 유기 층을 Na₂SO₄ 로 건조시키고, 감압 하에 농축했다.

미정제 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (n-헥산/에틸 아세테이트, 80:20 -> 75:25) 에 의해 정제하여, 암적색 고체로서 표제 화합물 2.86 g (82%) 을 수득했다.

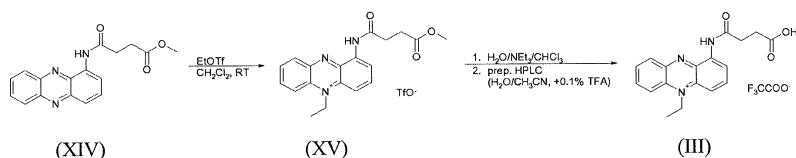
[0106] **실시예 2:** N-페나진-1-일-숙시남산 메틸 에스테르의 합성



[0107]

[0108] 1-아미노페나진 (1.00 g, 5.12 mmol) 을 40.0 ml CH_2Cl_2 및 N,N-디이소프로필에틸아민 (957 μl , 5.63 mmol) 에 용해시켰다. 4-N,N-디메틸아미노피리딘 (31.3 mg, 0.256 mmol) 의 첨가 이후 혼합물을 0℃ 로 냉각시키고, 이후 5 min 의 기간에 걸쳐 메틸 4-클로로-4-옥소부티레이트 (693 μl , 5.63 mmol) 를 첨가했다. 생성된 용액을 실온에서 16 h 동안 추가 교반했다. 50.0 ml CH_2Cl_2 로 희석시킨 후, 혼합물을 50.0 ml 수성 NaOH (0.5%) 로 1 회 세척하였다. 유기층을 Na_2SO_4 로 건조시키고 감압 하에 농축했다. 미정제 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (n-헥산/아세톤 80:20) 에 의해 정제하여, 황색 고체로서 1.45 g (92%) 의 표제 화합물을 수득했다.

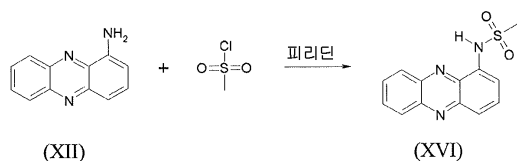
[0109] **실시예 3:** 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄 트리플루오로아세테이트의 합성



[0110]

[0111] 에틸 트리플루오로메탄술포네이트 (542 μl , 4.18 mmol) 를 2.00 ml CH_2Cl_2 중 N-페나진-1-일-숙시남산 메틸 에스테르 (64.6 mg, 0.208 mmol) 의 용액에 적가했다. 이후 혼합물을 50 ℃ 에서 3.5 h 동안 환류시키고 실온에서 16 h 동안 교반했다. 이후 50.0 ml CH_2Cl_2 및 2.00 ml NEt_3 을 첨가하고, 생성된 용액을 물로 2 회 추출했다. 합쳐진 수성층을 CHCl_3 로 1 회 세척하고 동결건조하여, 42.0 mg 미정제 생성물을 수득했다. 이를 예비 HPLC (Chromolith, $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ 구배 + 0.1% TFA) 에 의해 정제하여, 암자색 결정으로서 28.9 mg (43%) 의 표제 화합물을 생성했다.

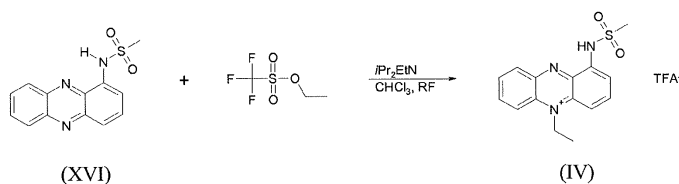
[0112] **실시예 4:** N-페나진-1-일-메탄술포나미드의 합성



[0113]

[0114] 1-아미노-페나진 (50.0 mg, 0.256 mmol) 을 피리딘 (1.00 ml) 에 희석시키고 0 ℃ 로 냉가했다. 추가 냉각 하에 메탄술포닐 클로라이드 (23.8 μl , 0.307 mmol) 를 첨가했다. 혼합물을 0 ℃ 에서 5 min 동안 교반하고 이후 실온에서 16 h 동안 교반했다. 감압 하에 농축한 후, 미정제 생성물을 실리카 겔 크로마토그래피 (n-헥산/아세톤 80:20) 에 의해 정제하여, 황색 고체로서 66.0 mg (94%) 의 표제 화합물을 수득했다.

[0115] **실시예 5:** 5-에틸-1-메탄술포닐아미노-페나지늄 트리플루오르아세테이트의 합성



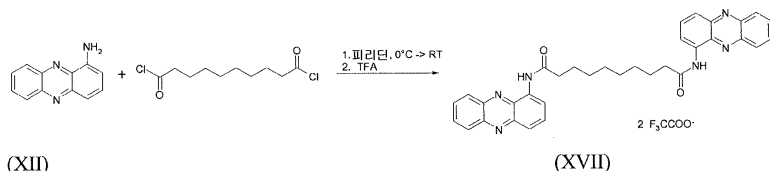
[0116]

[0117] N-페나진-1-일-메탄술포나미드 (20.0 mg, 0.073 mmol) 를 CHCl_3 (2.00 ml) 에 희석시키고, 에틸 트리플루오르메탄술포네이트 (1.00 ml, 7.70 mmol) 을 첨가하여, 혼합물이 즉시 적색으로 바뀌었다. 혼합물을 7 h 동안 70

℃ 에서 환류하고 16 h 동안 실온에서 교반했다. 이후, N-에틸디소프로필아민 (250 μ l, 1.46 mmol) 을 첨가하여, 색깔이 암적색에서 갈색으로 바뀌었다. 이러한 혼합물을 8 h 동안 추가로 환류하고 16 h 동안 실온에서 교반했다. 감압 하의 농축 이후 수득된 미정제 생성물을 10.0 ml CHCl_3 및 10.0 ml 물에 희석시켰다.

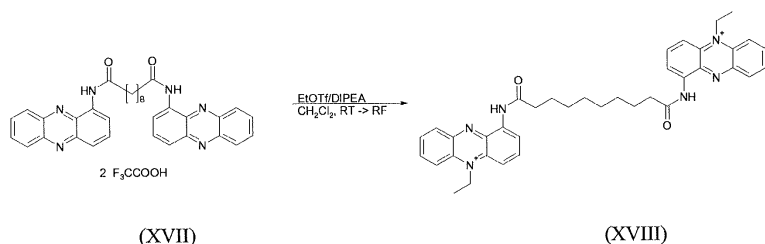
유기층을 물로 4 회 추출했다. 합쳐진 수성층을 감소시켜 건조하고, 예비 HPLC (Chromolith; $\text{H}_2\text{O}/\text{TFA}$ -구배 + 0.1% TFA) 를 통해 정제하여, 암적색 고체로서 2.2 mg (7%) 을 수득했다.

[0118] 실시예 6: 데칸2산 비스-페나진-1-일아미드 비스트리플루오로아세테이트 염의 합성



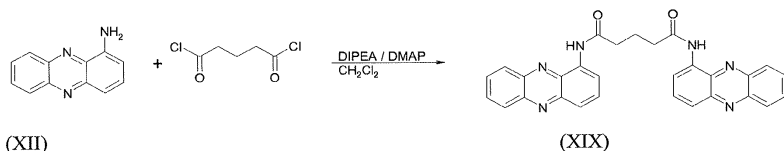
1-아미노-페나진 (25.0 mg, 0.128 mmol) 을 피리딘 (1.30 ml) 에 용해시키고 0℃ 로 냉각했다. 이러한 용액에 0.50 ml CH_2Cl_2 중 세바코일 클로라이드 (13.7 μ l, 0.064 mmol) 의 용액을 30 min 의 기간에 걸쳐 천천히 첨가했다. 생성된 현탁액을 실온에서 48 h 동안 추가 교반했다. 이후 혼합물을 트리에틸암모늄 아세테이트 완충액 (pH 7, 1M, 5.00 ml) 으로 희석시키고 CH_2Cl_2 로 3 회 추출했다. 합쳐진 유기층을 Na_2SO_4 로 건조시키고 감압 하에 농축했다. 수득된 미정제 생성물을 3.00 ml $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ (1:1 + 0.1% TFA) 에 현탁시키고 여과했다. 주로 표제 화합물을 함유하는 잔여물을 추가 정제 없이 사용했다. 수율: 황색 고체로서 12.3 mg (34%).

[0121] 실시예 7: 데칸2산 비스-[(5-에틸-페나진-1-일)-아미드]의 합성



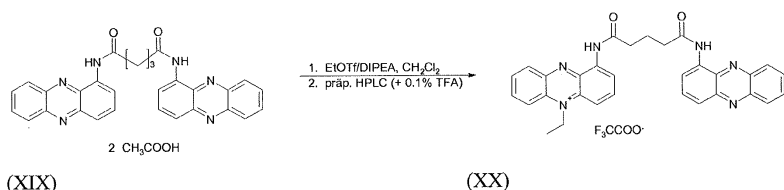
CH_2Cl_2 (3.00 ml) 중 데칸2산 비스-페나진-1-일아미드 디트리플루오로아세테이트 염 (12.3 mg, 0.016 mmol) 의 현탁액에 디소프로필에틸아민 (37.4 μ l, 0.22 mmol) 및 에틸 트리플루오로메탄술포네이트 (300 μ l, 2.31 mmol) 를 첨가했다. 생성된 갈색 용액을 55℃ 에서 3 h 동안 환류하고, 실온에서 16 h 동안 추가 교반했다. 감압 하에 증발시킨 후, 수득된 미정제 생성물을 예비 HPLC (XTerra, $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ 구배 + 0.1% TFA) 에 의해 정제하여, 암자색 결정으로서 0.9 mg (9%) 의 표제 화합물을 수득했다.

[0124] 실시예 8: 펜탄2산 비스-페나진-1-일아미드의 합성



1-아미노 페나진 (50.0 mg, 0.256 mmol) 의 용액에 디소프로필 에틸아민 (87.0 μ l, 0.512 mmol) 및 촉매적 양의 디메틸아미노피리딘을 첨가했다. 생성된 적색 용액에 글루타릴 클로라이드 (16.3 μ l, 0.128 mmol) 를 첨가하고, 실온에서 16 h 동안 교반했다. 수득된 오렌지색 현탁액을 물로 희석하고 CH_2Cl_2 로 2 회 추출했다. 합쳐진 유기층을 Na_2SO_4 로 건조시키고 감압 하에 농축했다. 생성된 미정제 생성물을 산성 산에 현탁시키고 여과했다. 수득된 잔여물을 또한 실리카 겔 크로마토그래피 (CHCl_3 /아세톤, 9:1) 에 의해 정제하여, 황색 고체로서 15.8 mg (13%) 의 표제 화합물을 수득했다.

[0127] **실시예 9:** 5-에틸-1-[4-(페나진-1-일카르바모일)-부틸아미노]-페나지늄 트리플루오로아세테이트의 합성



[0128]

[0129] 펜탄2산 비스-페나진-1-일아미드 디아세테이트 염 (15.8 mg, 0.032 mmol) 을 CH_2Cl_2 (3.00 ml) 에 현탁시키고 에틸 트리플레이트 (500 μl , 3.86 mmol) 을 첨가하였다. 디이소프로필 에틸아민 (48.9 μl , 0.288 mmol) 을 생성된 적갈색 현탁액에 첨가한 후, 50 $^{\circ}\text{C}$ 에서 1.5 h 동안 환류하였다. 실온에서 16 h 교반한 후, 혼합물을 또다시 7 h 동안 환류시키고, 이후 16 h 동안 실온에서 추가 교반했다. 생성된 맑은 자색 용액을 감압 하에 농축시켰다. 수득된 미정제 생성물을 3.00 ml $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ (1:1 + 0.1% TFA) 에 현탁시키고, 여과했다.

잔여물을 예비 HPLC (XTerra, $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ 구배 + 0.1% TFA) 에 의해 추가 정제하여, 적갈색 고체로서 1.0 mg (6%) 의 표제 화합물을 얻었다.

[0130] **실시예 10:** 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄의 산화환원 전위

[0131] 전형적 1-아실화 아미노 페나지늄 에토술페이트, 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄 (화학적 (III) 의 화합물) 의 형식적 산화환원 전위를 시험 스트립에서 금 작업 전극에서 Ag/AgCl 에 대해 측정했다. 본 출원인은 도 1 에 나타난 바와 같이 시클릭 볼타메트리 (voltammetry) 에 의해 생리학적 조건 (0.9% NaCl) 하에 Ag/AgCl 에 대해 -236 mV 을 얻었다. 시클릭 볼타모그램은 Ag/AgCl 에 대해 비교적 낮은 전위의 -100 mV 이 성분을 산화시키기에 충분함을 보여준다.

[0132] 매개체 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄의 준가역성 산화 및 환원은 2 개의 전자 수송을 통해 Ag/AgCl 에 대해 0 mV 내지 -500 mV 의 전위 범위에서 발생한다. 아스코르브산은 이러한 전위장에서 산화될 수 없고, 전류는 순수한 완충 용액의 블랭크 전류와 유사하다. 매개체 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄에 대한 아스코르브산의 첨가는 애노드 전류 및 캐소드 전류를 유의하게 변화시키지 않고, 산화환원 전위는 단지 Ag/AgCl 에 대해 -231 mV 로 이동된다. 따라서, 아스코르브산의 첨가는 산화환원 매개체를 유의하게 환원시키지 않는다.

[0133] **실시예 11:** 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄을 사용한 아스코르베이트 간섭

[0134] 도 2 는 +650 mV 에서 cNADH 의 직접적 산화와 비교하여, 산화환원 매개체 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄을 사용하는 -100 mV 의 낮은 산화 전위의 이점을 나타낸다. 후자의 전위에서 아스코르브산은 너무 산화될 것이고 블랭크 전류는 아스코르브산의 농도에 따라 급속하게 증가한다. 따라서, -100 mV 의 비교적 낮은 전위는 간섭 성분의 직접적 산화를 회피하기 위해 매우 유용하고 블랭크 전류는 심지어 샘플이 고농도의 아스코르브산을 함유함에도 0 에 매우 근접하게 유지된다. 아스코르베이트 및 글루코오스의 다양한 농도에서 cNAD (35 mM), 글루코오스 탈수소효소 (1.5 kU/g) 의 존재 하에 통상적 조건 (pH 7.0) 하에서 전류를 측정했다.

[0135] **실시예 12:** 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄 및 1-(3-카르복시프로폭시)-5-에틸페나지늄의 가용 시간

[0136] 매개체 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄 및 1-(3-카르복시프로폭시)-5-에틸페나지늄을 가용 시간 실험에서 비교했다. 매개체의 성능을 반응 혼합물의 제조 직후 ($t=0$) 및 48 h 이후 측정했다. 도 3 에 나타난 바와 같이, 모든 산화환원 매개체는 48 시간의 가용 시간 이후 전류의 현저한 감소를 나타내지 않는다. 따라서, 모든 매개체는 제형 중에 매우 안정한 것으로 보여진다. 매개체 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄은 글루코오스 농도의 전체 범위에 걸쳐 매개체 1-(3-카르복시프로폭시)-5-에틸페나지늄보다 높은 전류를 나타낸다.

[0137] **실시예 13:** 기타 1-아미노-페나진 유도체를 사용한 아스코르베이트 간섭

[0138] 1-아세틸아미노-5-메틸-페나지늄 트리플루오르메탄술포네이트, 1-아세틸아미노-5-에틸-페나지늄 트리플루오로아

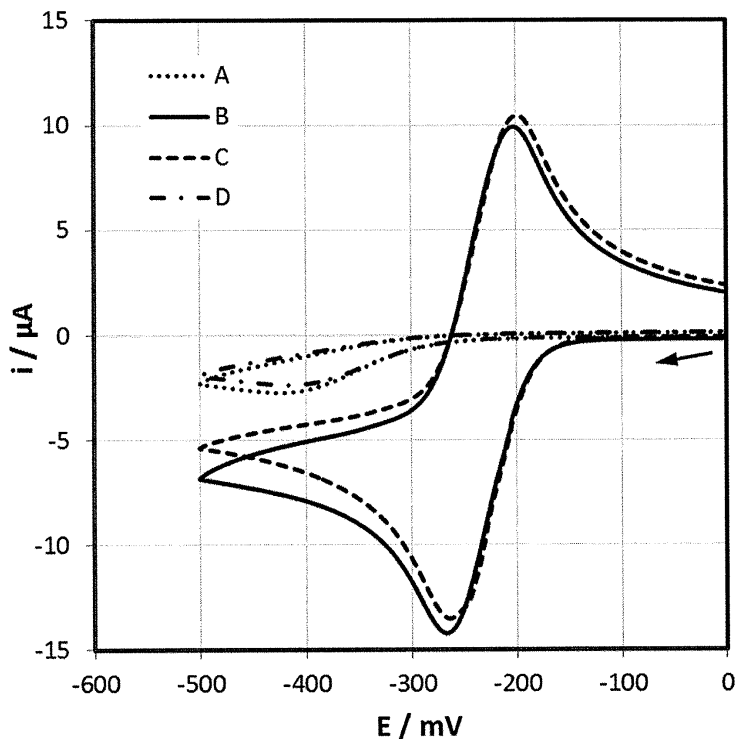
세테이트 및 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄 (화학식 III) 을 아스코르베이트에 대해 그 반응성과 관련하여 비교했다. 이를 위해, 각각 0.23 mM 의 각각의 화합물을 5배 물 과량의 아스코르베이트의 존재 하에 0.1 M 트리에틸암모늄 아세테이트 완충액 (pH 7) 중에 실온에서 인큐베이션했다. 517 nm (1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄) 또는 512 nm (기타 두 화합물) 에서의 흡수 감소를 시간에 따라 기록했다. 1-아세틸아미노-5-메틸-페나지늄과 반대로, 흡수는 분 당 12 % 로 감소하는데, 상기 감소는 1-아세틸아미노-5-에틸-페나지늄의 경우 분 당 7 % 로 그리고 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄의 경우 5 % 미만으로 저하된다.

[0139] 실시예 14: 1-히드록시-페나진 유도체를 사용한 성능 및 아스코르베이트 간섭

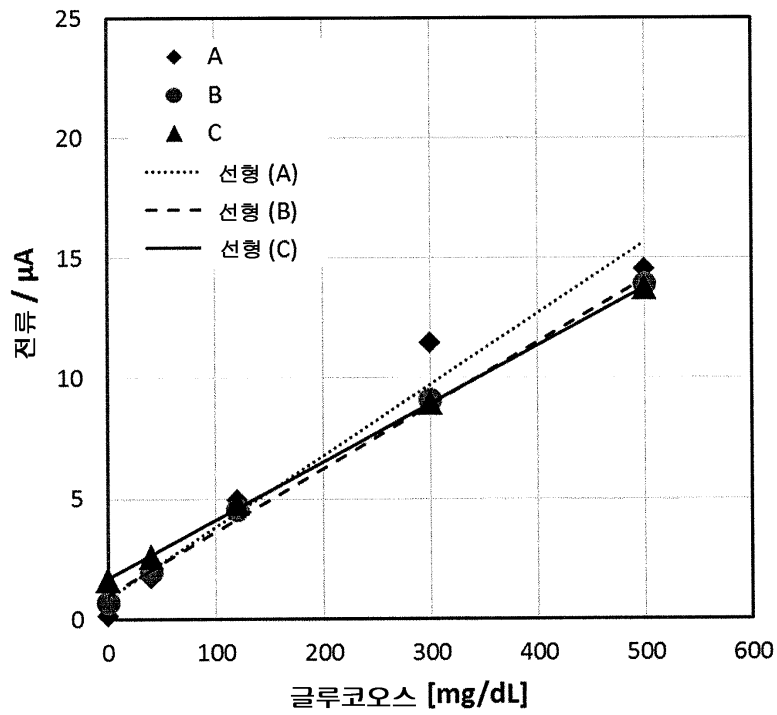
[0140] 1-(3-카르복시프로폭시)-5-에틸페나지늄 및 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄을, 아스코르베이트의 부재 및 존재 하에 글루코오스 시험 스트립에서 산화환원 매개체로서 이의 성능과 관련해 비교했다. 이를 위해, 투약량 반응 곡선을 0 mg/dL, 10 mg/dL (0.5 mM), 30 mg/dL (1.5 mM) 및 80 mg/dL (4.0 mM) 의 글루코오스 농도를 사용하여 그리고 1.48 mM 의 어느 산화환원 매개체의 존재 하에 기록하였다. 존재하는 경우 아스코르브산을 15 mg/dL (0.85 mM) 의 농도로 사용했다. 도 4A) 에 나타낸 바와 같이, 주어진 글루코오스 농도에서 투약량 반응은 1-(3-카르복시프로폭시)-5-에틸페나지늄 (CEPES) 에 비해 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄 (CPEP) 을 사용하여 더 높다. 또한, 기울기 투약량 반응은 1-(3-카르복시프로폭시)-5-에틸페나지늄에 비해 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄의 경우 대략 2 배이다 (34 nA*dL/mg 대 16.7 nA*dL/mg). 또한, 아스코르베이트는 오로지 1-(3-카르복시-프로피오닐아미노)-5-에틸-페나지늄의 존재 하에 측정된 전류에 대해 작은 효과만을 갖는다. 대조적으로, 아스코르베이트는 1-(3-카르복시프로폭시)-5-에틸페나지늄이 산화환원 매개체로서 사용될 때 특히 30 mg/dL 미만의 낮은 글루코오스 농도에서 전류 오프셋을 야기한다 (도 4B)).

도면

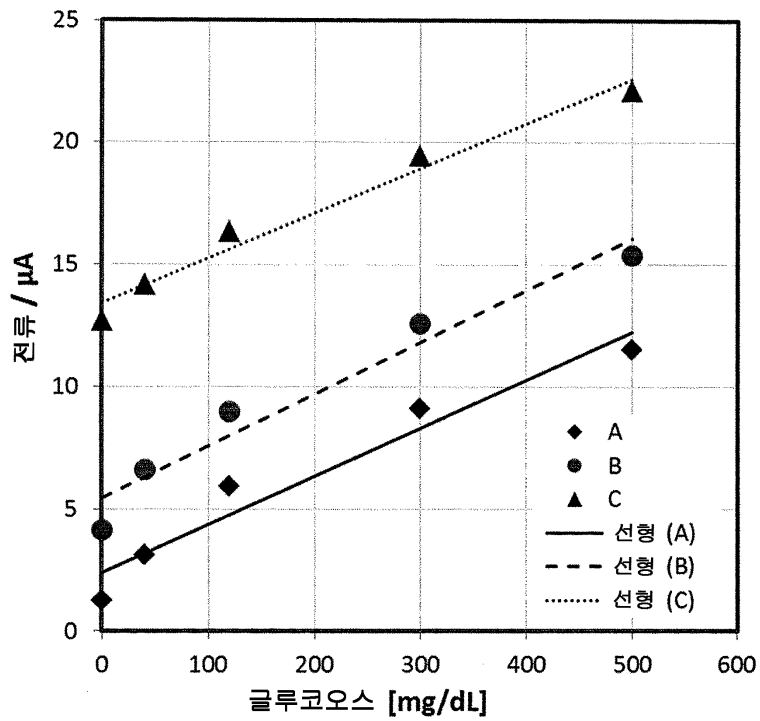
도면1



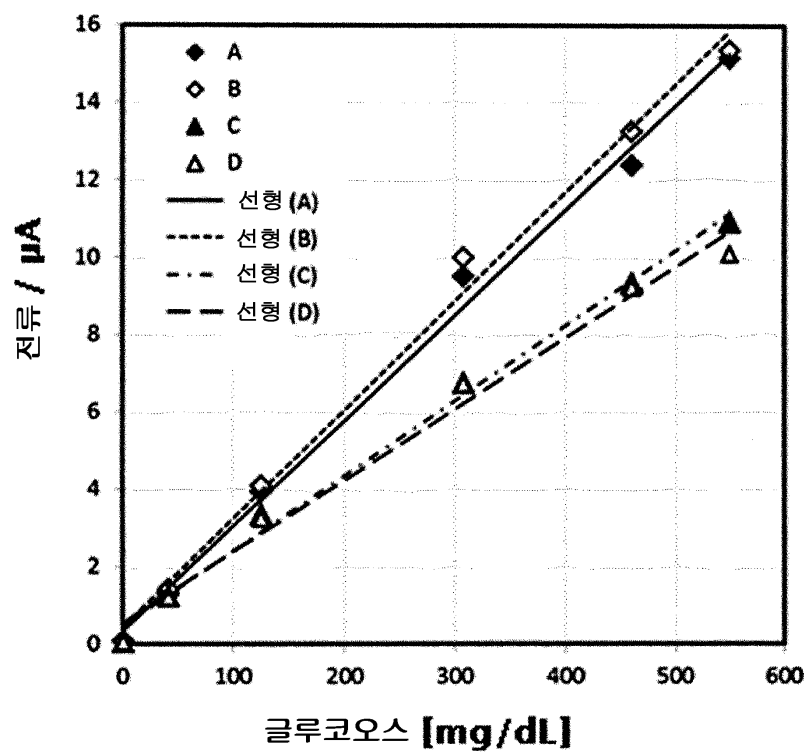
도면2a



도면2b

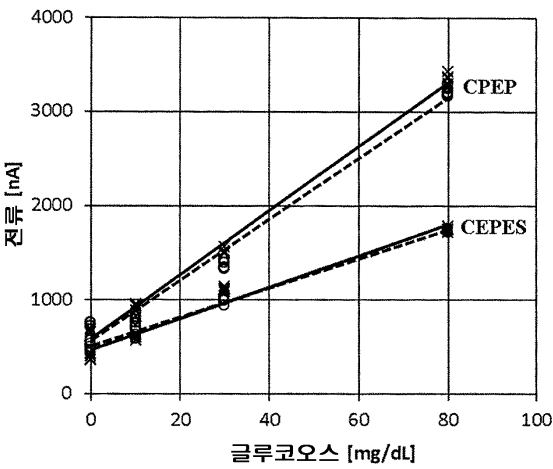


도면3



도면4

A



B

