

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0029292

(43) 공개일자 2025년03월04일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07F 9/24 (2006.01) *C07F 9/09* (2006.01)
C07F 9/6518 (2006.01) *C09B 69/10* (2006.01)
G01N 33/52 (2006.01) *G01N 33/58* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07F 9/2408 (2013.01)
C07F 9/091 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2025-7005807(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2017년03월31일
 심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2023-7014901
 원출원일자(국제) 2017년03월31일
 심사청구일자 2023년05월02일
- (85) 번역문제출일자 2025년02월21일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2017/025530
- (87) 국제공개번호 WO 2017/173355
 국제공개일자 2017년10월05일
- (30) 우선권주장
 62/317,192 2016년04월01일 미국(US)
- (71) 출원인
 소니그룹주식회사
 일본국 도쿄도 미나토쿠 코난 1-7-1
- (72) 발명자
 매트레이 트레이시
 미국 워싱턴주 98296 스노호미시 78쓰 애브뉴 사
 우스이스트 15233
 싱 샤랏
 미국 캘리포니아주 92067 란초 산타 페 탑 오 모
 닝 웨이 8171
 맨브런트 마이클
 미국 워싱턴주 98042 코빙튼 사우스이스트 261스
 트 16619
- (74) 대리인
 장훈

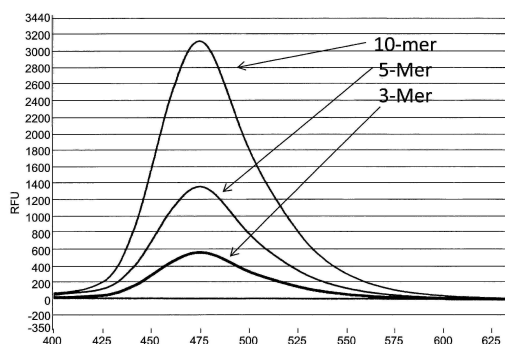
전체 청구항 수 : 총 98 항

(54) 발명의 명칭 초휘도 이량체성 또는 중합체성 염료

(57) 요약

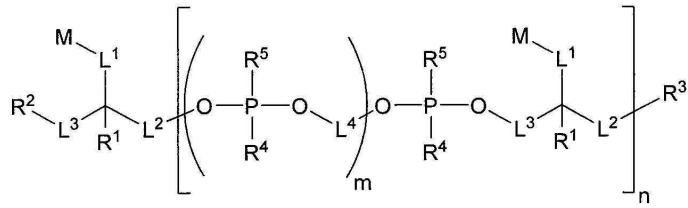
형광 또는 유색 염료로 유용한 화합물이 개시된다. 상기 화합물, 또는 이의 입체 이성질체, 토토머 또는 염은 (뒷면에 계속)

대표도



화학식 I을 갖는다.

[화학식 I]



상기 화학식 I에서,

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , L^1 , L^2 , L^3 , L^4 , M, m 및 n은 본원 명세서에 개시된 바와 같다. 이러한 화합물의 제조 및 사용과 관련된 방법도 제공된다.

(52) CPC특허분류

C07F 9/6518 (2018.08)

C09B 69/102 (2013.01)

C09B 69/103 (2013.01)

C09B 69/109 (2013.01)

G01N 33/52 (2013.01)

G01N 33/58 (2020.05)

G01N 33/582 (2013.01)

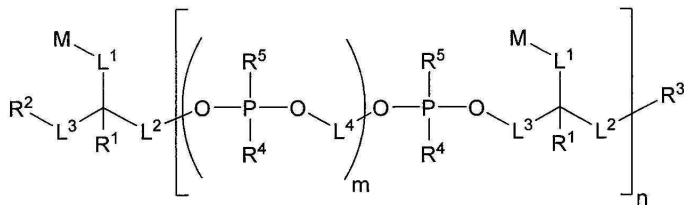
명세서

청구범위

청구항 1

화학식 I을 갖는 화합물, 또는 이의 입체 이성질체, 염 또는 토포머.

[화학식 I]



상기 화학식 I에서,

M은, 각각의 발생 시, 독립적으로, 2개 이상의 탄소-탄소 이중 결합 및 1 이상의 공액도(degree of conjugation)를 포함하는 모이어티(moiety)이고;

L¹은, 각각의 발생 시, 독립적으로, 2개의 상보적인 반응성 그룹을 반응시켜 형성할 수 있는 관능성 그룹을 포함하는 링커(linker)이고;

L² 및 L³은, 각각의 발생 시, 독립적으로, 임의의 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌, 헤테로알킬렌, 헤테로알케닐렌, 헤테로알키닐렌 또는 헤테로워자성 링커이고;

L⁴는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌, 헤테로알킬렌, 헤테로알케닐렌 또는 헤테로알키닐렌 링커이고;

R¹은, 각각의 발생 시, 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 링커, 분석물 분자에 대한 공유 결합을 포함하는 링커, 고체 지지체에 대한 공유 결합을 포함하는 링커, 또는 화학식 I의 추가적인 화합물에 대한 공유 결합을 포함하는 링커이며, 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 짝이온이고;

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

R⁵는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 옥소, 티옥소이거나 부재하고;

Q은, 각각의 발생 시, 독립적으로, 분석물 분자, 고체 지지체 또는 상보적인 반응성 그룹 Q'와 공유 결합을 형성할 수 있는 반응성 그룹을 포함하는 모이어티이고;

m 은, 각각의 발생 시, 독립적으로, 0 이상의 정수이고;

n 은 1 이상의 정수이다.

청구항 2

제1항에 있어서, L¹의 적어도 하나의 발생에 있어서, 상기 관능성 그룹이 알데하이드, 옥심, 하이드라존, 알킨,

아민, 아지드, 아실아지드, 아실할라이드, 니트릴, 니트론, 설프히드릴, 디설파이드, 설포닐 할라이드, 이소티오시아네이트, 이미도에스테르, 활성화된 에스테르, 케톤, α, β -불포화 카보닐, 알켄, 말레이미드, α -할로이미드, 에폭사이드, 아지리딘, 테트라진, 테트라졸, 포스핀, 비오틴 또는 티란 관능성 그룹과, 상보적인 반응성 그룹과의 반응에 의해 형성될 수 있는, 화합물.

청구항 3

제1항에 있어서, L^1 의 하나 이상의 발생에 있어서, 상기 관능성 그룹이 알킨과 아지드의 반응에 의해 형성될 수 있는, 화합물.

청구항 4

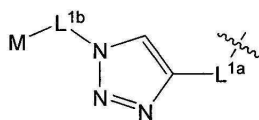
제1항에 있어서, L^1 의 하나 이상의 발생에 있어서, 상기 관능성 그룹이 알켄, 에스테르, 아마이드, 티오에스테르, 디설파이드, 카보사이클릭, 헤테로사이클릭 또는 헤테로아릴 그룹을 포함하는, 화합물.

청구항 5

제1항에 있어서, L^1 의 하나 이상의 발생에 있어서, L^1 이 트리아졸릴 관능성 그룹을 포함하는 링커인, 화합물.

청구항 6

제1항에 있어서, L^1 의 하나 이상의 발생에 있어서, L^1 -M이 하기 화학식을 갖는, 화합물.

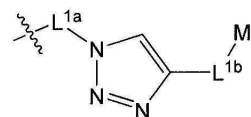


상기 화학식에서,

L^{1a} 및 L^{1b} 는 각각 독립적으로 임의의 링커이다.

청구항 7

제1항에 있어서, L^1 의 하나 이상의 발생에 있어서, L^1 -M이 하기 화학식을 갖는, 화합물.



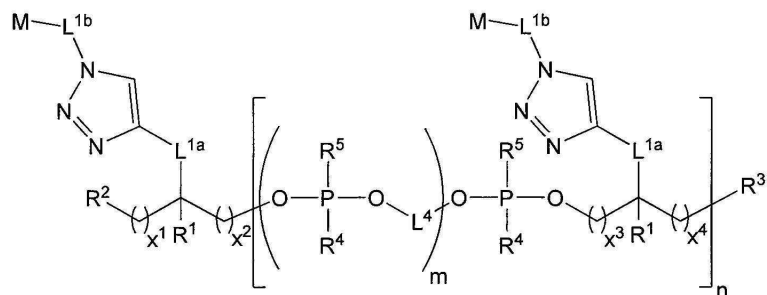
상기 화학식에서,

L^{1a} 및 L^{1b} 는 각각 독립적으로 임의의 링커이다.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 화합물이 화학식 IA를 갖는, 화합물.

[화학식 IA]



상기 화학식 IA에서,

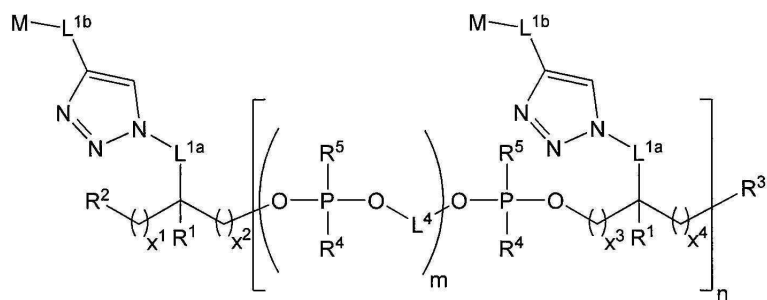
L^{1a} 및 L^{1b} 는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 임의의 링커이고;

x^1 , x^2 , x^3 및 x^4 는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 0 내지 6의 정수이다.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 화합물이 화학식 IB를 갖는, 화합물.

[화학식 IB]



상기 화학식 IB에서,

L^{1a} 및 L^{1b} 는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 임의의 링커이고;

x^1 , x^2 , x^3 및 x^4 는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 0 내지 6의 정수이다.

청구항 10

제6항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, L^{1a} 또는 L^{1b} , 또는 이들 둘 다가 부재하는, 화합물.

청구항 11

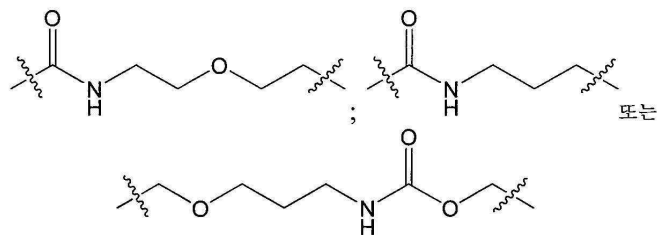
제6항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, L^{1a} 또는 L^{1b} , 또는 이들 둘 다가 존재하는, 화합물.

청구항 12

제11항에 있어서, L^{1a} 및 L^{1b} 가 존재하는 경우, 각각 독립적으로 알킬렌 또는 헤테로알킬렌인, 화합물.

청구항 13

제12항에 있어서, L^{1a} 및 L^{1b} 가 존재하는 경우, 하기 화학식들 중 하나를 독립적으로 갖는, 화합물.



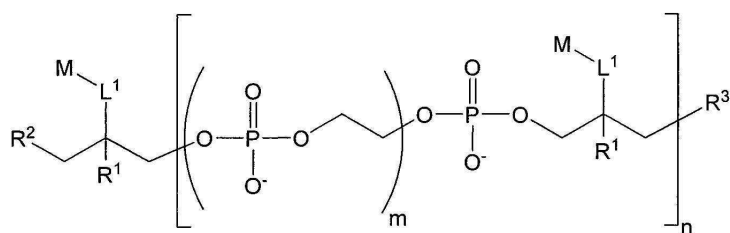
청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, L^4 가 각각의 발생 시, 독립적으로, C_1-C_6 알킬렌, C_2-C_6 알케닐렌 또는 C_2-C_6 알키닐렌인, 화합물.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 화합물이 화학식 IC를 갖는, 화합물.

[화학식 IC]



상기 화학식 IC에서,

x^1 , x^2 , x^3 및 x^4 는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 0 내지 6의 정수이고;

y 는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 1 내지 6의 정수이다.

청구항 16

제15항에 있어서, L^1 이 각각의 발생 시, 독립적으로 트리아졸릴 관능성 그룹을 포함하는, 화합물.

청구항 17

제15항 또는 제16항에 있어서, m 의 각각의 정수값에 대한 y 가 2인, 화합물.

청구항 18

제15항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 발생 시, x^1 , x^2 , x^3 및 x^4 가 각각 1인, 화합물.

청구항 19

제15항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 발생 시, x^2 및 x^4 가 각각 0이고, x^3 이 1인, 화합물.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, R^4 가 각각의 발생 시, 독립적으로 OH, O^- 또는 OR_d 인, 화합물.

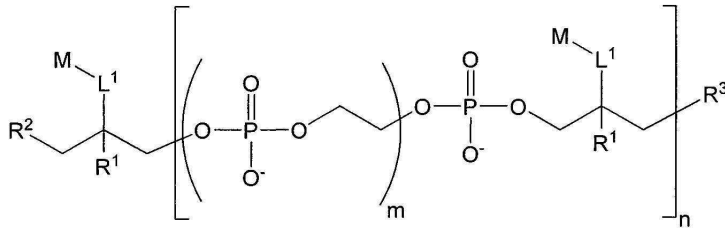
청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, R^5 가 각각의 발생 시, 옥소인, 화합물.

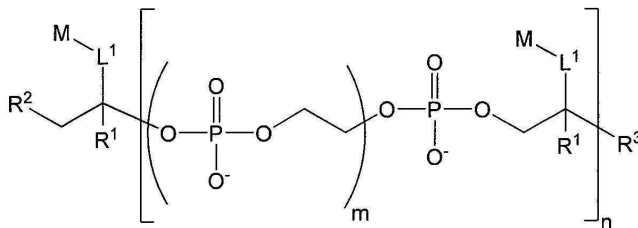
청구항 22

제1항에 있어서, 상기 화합물이 화학식 ID 또는 화학식 IE 중 하나를 갖는, 화합물.

[화학식 ID]



[화학식 IE]



청구항 23

제22항에 있어서, L^1 이 각각의 발생 시, 독립적으로, 트리아졸릴 관능성 그룹을 포함하는, 화합물.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, R^1 이 H인, 화합물.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, R^2 및 R^3 은 각각 독립적으로 OH 또는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 인, 화합물.

청구항 26

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, R^2 또는 R^3 중 하나가 OH 또는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 이고, R^2 또는 R^3 중 다른 하나가 Q이거나 또는 Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링커인, 화합물.

청구항 27

제1항 내지 제24항 또는 제26항 중 어느 한 항에 있어서, Q가 친핵성 반응성 그룹, 친전자성 반응성 그룹 또는 부가환화 반응성 그룹을 포함하는, 화합물.

청구항 28

제27항에 있어서, Q가 설프히드릴, 디설파이드, 활성화된 에스테르, 이소티오시아네이트, 아지드, 알킨, 알켄, 디엔, 친디엔체, 산 할라이드, 설포닐 할라이드, 포스핀, α -할로아미드, 비오틴, 아미노 또는 말레이미드 관능

성 그룹을 포함하는, 화합물.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 활성화된 에스테르가 N-석신이미드 에스테르, 이미도에스테르 또는 폴리플루오로페닐 에스테르인, 화합물.

청구항 30

제28항에 있어서, 상기 아지드가 알킬 아지드 또는 아실 아지드인, 화합물.

청구항 31

제1항 내지 제24항 또는 제26항 중 어느 한 항에 있어서, Q가 표 1로부터 선택되는 모이어티인, 화합물.

청구항 32

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, R^2 또는 R^3 중 하나가 OH 또는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 이고, R^2 또는 R^3 중 다른 하나가 분석물 분자에 대한 공유 결합을 포함하는 링커 또는 고체 지지체에 대한 공유 결합을 포함하는 링커인, 화합물.

청구항 33

제32항에 있어서, 상기 분석물 분자가 핵산, 아미노산 또는 이들의 중합체인, 화합물.

청구항 34

제32항에 있어서, 상기 분석물 분자가 효소, 수용체, 수용체 리간드, 항체, 당단백질, 앵타머 또는 프리온인, 화합물.

청구항 35

제32항에 있어서, 상기 고체 지지체가 중합체성 비드 또는 비중합체성(nonpolymeric) 비드인, 화합물.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, m의 하나 이상의 발생이 3 이상의 정수인, 화합물.

청구항 37

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, m이, 각각의 발생 시, 독립적으로 3 내지 10의 정수인, 화합물.

청구항 38

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, m이, 각각의 발생 시, 독립적으로 7 내지 9의 정수인, 화합물.

청구항 39

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, n이 1 내지 100의 정수인, 화합물.

청구항 40

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, n이 1 내지 10의 정수인, 화합물.

청구항 41

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, M이, 각각의 발생 시, 독립적으로, 4개 이상의 아릴 또는 헤테로아릴 환, 또는 이들의 조합을 포함하는 모이어티인, 화합물.

청구항 42

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, M이, 각각의 발생 시, 독립적으로 형광성이거나 유색인, 화합물.

청구항 43

제42항에 있어서, M이 형광성인, 화합물.

청구항 44

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, M이, 각각의 발생 시, 독립적으로, 4개 이상의 융합된 환을 포함하는 융합된-멀티사이클릭 아릴 모이어티를 포함하는, 화합물.

청구항 45

제1항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, M이, 각각의 발생 시, 독립적으로, 디메틸아미노스틸벤, 퀴나크리돈, 플루오로페닐-디메틸-BODIPY, his-플루오로페닐-BODIPY, 아크리딘, 테릴렌, 섹시페닐, 포르피린, 벤조피렌, (플루오로페닐-디메틸-디플루오로보라-디아자-인다센)페닐, (비스-플루오로페닐-디플루오로보라-디아자-인다센)페닐, 쿼터페닐, 비-벤조티아졸, ter-벤조티아졸, 비-나프틸, 비-안트라실, 스쿠아레인, 스쿠아릴륨, 9,10-에티닐안트라센 또는 ter-나프틸 모이어티인, 화합물.

청구항 46

제1항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, M이, 각각의 발생 시, 독립적으로, p-테르페닐, 페릴렌, 아조벤젠, 페나진, 페난트롤린, 아크리딘, 티오크산트렌, 크리센, 루브렌, 코로넨, 시아닌, 페릴렌 이미드, 또는 페릴렌 아마이드 또는 이들의 유도체인, 화합물.

청구항 47

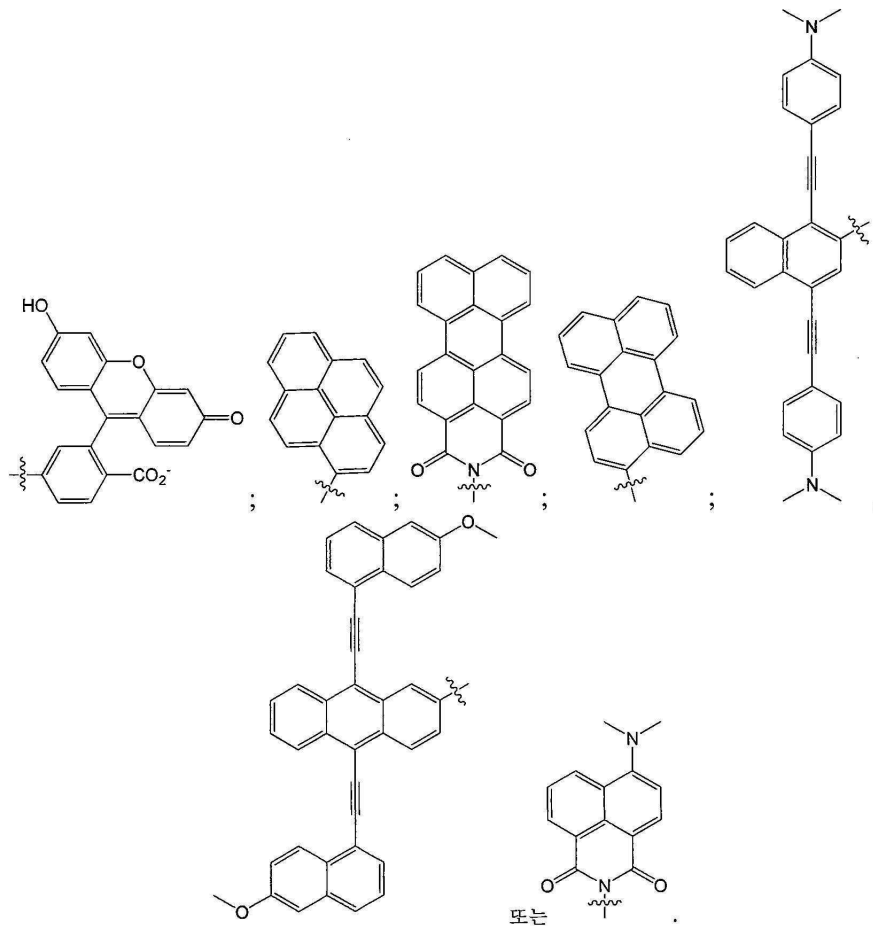
제1항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, M이, 각각의 발생 시, 독립적으로, 쿠마린 염료, 레조루핀 염료, 디피로메텐보론 디플루오라이드 염료, 루테늄 비피리딜 염료, 에너지 전달 염료, 티아졸 오렌지 염료, 폴리메틴 또는 N-아릴-1,8-나프탈이미드 염료인, 화합물.

청구항 48

제1항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, M이, 각각의 발생 시, 독립적으로, 피렌, 페릴렌, 페릴렌 모노이미드 또는 6-FAM 또는 이들의 유도체인, 화합물.

청구항 49

제1항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, M이, 각각의 발생 시, 독립적으로 하기 화학식들 중 하나를 갖는, 화합물.



청구항 50

표 2로부터 선택되는 화합물.

청구항 51

적합한 파장에서 샘플에 조사하는 경우에 광학 응답을 생성하기에 충분한 양의 제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 기재된 화합물을 상기 샘플에 가하는 단계를 포함하는, 샘플을 염색시키는 방법.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 광학 응답이 형광 응답인, 방법.

청구항 53

제51항 또는 제52항에 있어서, 상기 샘플이 세포를 포함하는, 방법.

청구항 54

제53항에 있어서, 유세포 측정으로 상기 세포를 관찰하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 55

제52항에 있어서, 검출 가능하게 상이한 광학적 성질들을 갖는 제2 형광체(fluorophore)의 형광 응답을 구별하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 56

다음 단계들을 포함하는, 분석물 분자를 시각적으로 검출하기 위한 방법:

- (a) R^2 또는 R^3 이 상기 분석물 분자에 대한 공유 결합을 포함하는 링커인, 제1항에 기재된 화합물을 제공하는 단계; 및
- (b) 상기 화합물의 가시적 성질들에 의해 상기 화합물을 검출하는 단계.

청구항 57

다음 단계들을 포함하는, 분석물 분자를 시각적으로 검출하기 위한 방법:

- (a) R^2 또는 R^3 이 Q이거나 또는 Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링커인 제1항에 기재된 화합물을 상기 분석물 분자와 혼합하는 단계;
- (b) 상기 화합물과 상기 분석물 분자의 접합체(conjugate)를 형성하는 단계; 및
- (c) 상기 접합체의 가시적 성질들에 의해 상기 접합체를 검출하는 단계.

청구항 58

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 기재된 화합물 및 하나 이상의 분석물 분자를 포함하는, 조성물.

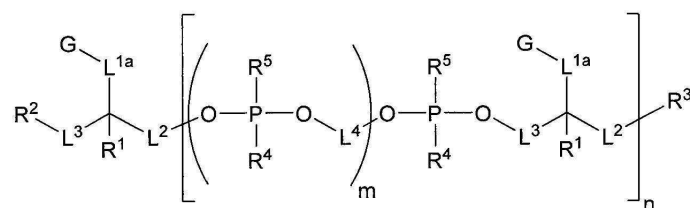
청구항 59

상기 하나 이상의 분석물 분자를 검출하기 위한 분석적 방법에서의 제58항에 기재된 조성물의 용도.

청구항 60

화학식 II를 갖는 화합물, 또는 이의 입체 이성질체, 염 또는 토포머.

[화학식 II]



상기 화학식 II에서,

G는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 상보적인 반응성 그룹과 공유 결합을 형성할 수 있는 반응성 그룹을 포함하는 모이어티이고;

L^{1a} , L^2 및 L^3 은, 각각의 발생 시, 독립적으로, 임의의 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌, 헤테로알킬렌, 헤테로알케닐렌, 헤테로알키닐렌 또는 헤테로원자성 링커이고;

L^4 는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌, 헤테로알킬렌, 헤테로알케닐렌 또는 헤테로알키닐렌 링커이고;

R^1 은, 각각의 발생 시, 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 링커, 분석물 분자에 대한 공유 결합을 포함하는 링커, 고체 지지체에 대한 공유 결합을 포함하는 링커, 또는 화학식 II의 추가적인 화합물에 대한 공유 결합을 포함하는 링커이며, 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 짝이온이고;

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

R^5 는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 옥소, 티옥소이거나 부재하고;

Q는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 분석물 분자, 고체 지지체, 또는 상보적인 반응성 그룹 Q'와 공유 결합을 형성할 수 있는 반응성 그룹을 포함하는 모이어티이고;

m의 하나 이상의 발생이 1 이상인 경우, m은, 각각의 발생 시, 독립적으로, 0 이상의 정수이고;

n은 1 이상의 정수이다.

청구항 61

제60항에 있어서, G가 각각의 발생 시, 독립적으로, 알데하이드, 옥심, 하이드라존, 알킨, 아민, 아지드, 아실 아지드, 아실할라이드, 니트릴, 니트론, 설프히드릴, 디설파이드, 설포닐 할라이드, 이소티오시아네이트, 이미 도에스테르, 활성화된 에스테르, 케톤, α, β -불포화 카보닐, 알켄, 말레이미드, α -할로이미드, 에폭사이드, 아지리딘, 테트라진, 테트라졸, 포스핀, 비오틴 또는 티란 관능성 그룹을 포함하는, 화합물.

청구항 62

제60항에 있어서, G가 각각의 발생 시, 독립적으로, 알킨 또는 아지드 그룹을 포함하는, 화합물.

청구항 63

제60항에 있어서, G가, 상보적인 반응성 그룹과 반응 시, 각각의 발생 시, 독립적으로, 알켄, 에스테르, 아미드, 티오에스테르, 디설파이드, 카보사이클릭, 헤테로사이클릭 또는 헤테로아릴 그룹을 포함하는 관능성 그룹을 형성할 수 있는 반응성 그룹을 포함하는, 화합물.

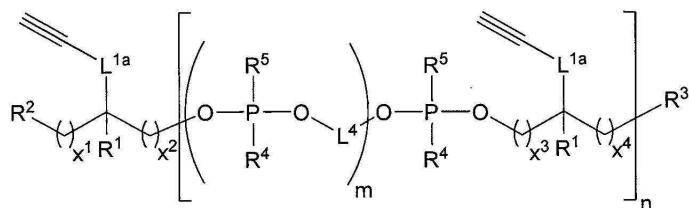
청구항 64

제63항에 있어서, 상기 헤테로아릴이 트리아졸릴인, 화합물.

청구항 65

제60항에 있어서, 상기 화합물이 화학식 IIA를 갖는, 화합물.

[화학식 IIA]



상기 화학식 IIA에서,

L^{1a} 및 L^{1b} 는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 임의의 링커이고;

x^1 , x^2 , x^3 및 x^4 는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 0 내지 6의 정수이다.

청구항 66

제60항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 L^{1a} 가 부재하는, 화합물.

청구항 67

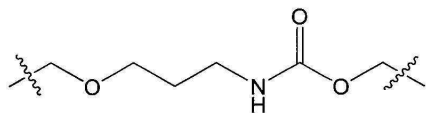
제60항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 L^{1a} 가 존재하는, 화합물.

청구항 68

제67항에 있어서, L^{1a} 가 각각의 발생 시, 독립적으로 헤테로알킬렌인, 화합물.

청구항 69

제68항에 있어서, L^{1a} 가 하기 화학식을 갖는, 화합물:



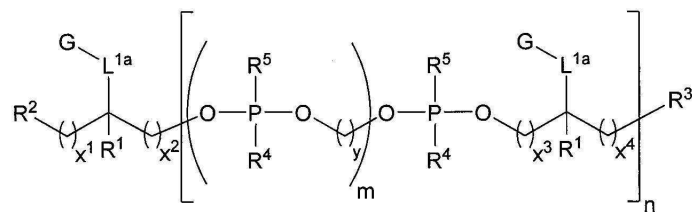
청구항 70

제60항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서, L^4 가 각각의 발생 시, 독립적으로 C_1-C_6 알킬렌, C_2-C_6 알케닐렌 또는 C_2-C_6 알키닐렌인, 화합물.

청구항 71

제60항에 있어서, 상기 화합물이 화학식 IIB를 갖는, 화합물.

[화학식 IIB]



상기 화학식 IIB에서,

x^1 , x^2 , x^3 및 x^4 는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 0 내지 6의 정수이고;

y 는 1 내지 6의 정수이다.

청구항 72

제71항에 있어서, G 가 각각의 발생 시, 독립적으로 $\text{---}\equiv$ 또는 ---N_3 인, 화합물.

청구항 73

제71항 또는 제72항에 있어서, m 의 각각의 정수값에 대한 y 가 2인, 화합물.

청구항 74

제71항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 발생 시, x^1 , x^2 , x^3 및 x^4 가 각각 1인, 화합물.

청구항 75

제71항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 발생 시, x^2 및 x^4 가 각각 0이고, x^3 이 1인, 화합물.

청구항 76

제60항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, R^4 가 각각의 발생 시, 독립적으로 OH , O^- 또는 OR_d 인, 화합물.

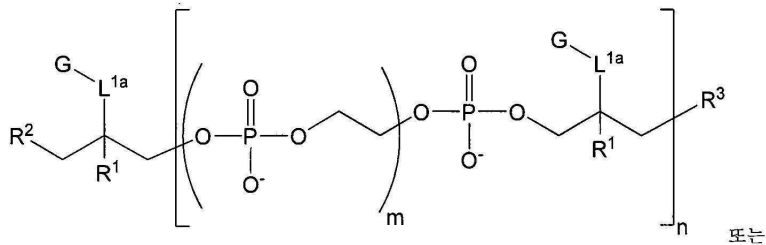
청구항 77

제60항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, R^5 가 각각의 발생 시, 옥소인, 화합물.

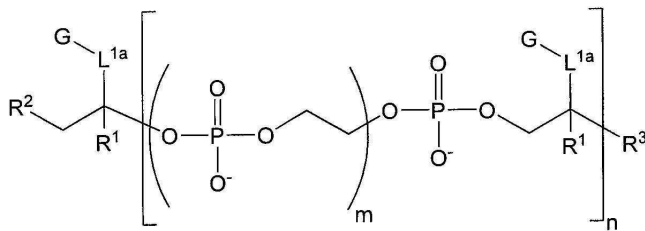
청구항 78

제60항에 있어서, 상기 화합물이 화학식 IID 또는 화학식 IIE 중 하나를 갖는, 화합물.

[화학식 IID]



[화학식 IIE]



청구항 79

제78항에 있어서, G가 각각의 발생 시, 독립적으로 \equiv 또는 $-N_3$ 인, 화합물.

청구항 80

제60항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, R^1 이 H인, 화합물.

청구항 81

제60항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, R^2 및 R^3 이 각각 독립적으로 OH 또는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 인, 화합물.

청구항 82

제60항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, R^2 또는 R^3 중 하나가 OH 또는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 이고, R^2 또는 R^3 중 다른 하나가 Q이거나 또는 Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링커인, 화합물.

청구항 83

제60항 내지 제80항 또는 제82항 중 어느 한 항에 있어서, Q가 친핵성 반응성 그룹, 친전자성 반응성 그룹 또는 부가환화 반응성 그룹을 포함하는, 화합물.

청구항 84

제83항에 있어서, Q가 설포하이드릴, 디설파이드, 활성화된 에스테르, 이소티오시아네이트, 아지드, 알킨, 알켄, 디엔, 친디엔체, 산 할라이드, 설포닐 할라이드, 포스핀, α -할로아미드, 비오틴, 아미노 또는 말레이미드 관능성 그룹을 포함하는, 화합물.

청구항 85

제84항에 있어서, 상기 활성화된 에스테르가 N-석신이미드 에스테르, 이미도에스테르 또는 폴리플루오로페닐 에

스테르인, 화합물.

청구항 86

제84항에 있어서, 상기 알킨이 알킬 아지드 또는 아실 아지드인, 화합물.

청구항 87

제60항 내지 제80항 또는 제82항 중 어느 한 항에 있어서, Q가 표 1로부터 선택되는 모이어티인, 화합물.

청구항 88

제60항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, R^2 또는 R^3 중 하나가 OH 또는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 이고, R^2 또는 R^3 중 다른 하나가 분석물 분자에 대한 공유 결합을 포함하는 링커, 또는 고체 지지체에 대한 공유 결합을 포함하는 링커인, 화합물.

청구항 89

제88항에 있어서, 상기 분석물 분자가 핵산, 아미노산 또는 이들의 중합체인, 화합물.

청구항 90

제88항에 있어서, 상기 분석물 분자가 효소, 수용체, 수용체 리간드, 항체, 당단백질, 앵타머 또는 프리온인, 화합물.

청구항 91

제88항에 있어서, 상기 고체 지지체가 중합체성 비드 또는 비중합체성 비드인, 화합물.

청구항 92

제60항 내지 제91항 중 어느 한 항에 있어서, m이 각각의 발생 시, 독립적으로 3 내지 10의 정수인, 화합물.

청구항 93

제60항 내지 제91항 중 어느 한 항에 있어서, m이 각각의 발생 시, 독립적으로 7 내지 9의 정수인, 화합물.

청구항 94

제60항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, n이 1 내지 100의 정수인, 화합물.

청구항 95

제60항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, n이 1 내지 10의 정수인, 화합물.

청구항 96

다음 단계들을 포함하는, 분석물 분자의 표지 방법:

(a) R^2 또는 R^3 이 Q이거나 또는 Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링커인 제60항에 기재된 화합물을 상기 분석물 분자와 혼합하는 단계;

(b) 상기 화합물과 상기 분석물 분자의 접합체를 형성하는 단계; 및

(c) 상기 접합체를 화학식 $M-L^{1b}-G'$ 의 화합물과 반응시켜, 하나 이상의 G와 하나 이상의 G'의 반응에 의한 1개 이상의 공유 결합을 형성하는 단계로서,

여기서,

M은 2개 이상의 탄소-탄소 이중 결합 및 1 이상의 공액도를 포함하는 모이어티이고;

L^{1b} 는 임의의 알킬렌 또는 헤테로알킬렌 링커이고;

G'는 G에 대하여 상보적인 반응성 그룹인 단계.

청구항 97

다음 단계들을 포함하는, 분석물 분자의 표지 방법:

(a) R^2 또는 R^3 이 Q이거나 또는 Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링커인 제60항에 기재된 화합물을 화학식 $M-L^{1b}-G'$ 의 화합물과 혼합하여, G와 G'의 반응에 의해 1개 이상의 공유 결합을 형성하는 단계; 및

(b) 단계 (a)의 생성물을 상기 분석물 분자와 반응시켜, 상기 단계 (a)의 생성물과 상기 분석물 분자의 접합체를 형성하는 단계로서,

여기서,

M은 2개 이상의 탄소-탄소 이중 결합 및 1 이상의 공액도를 포함하는 모이어티이고;

L^{1b} 는 임의의 알킬렌 또는 헤테로알킬렌 링커이고;

G'는 G에 대하여 상보적인 반응성 그룹인, 단계.

청구항 98

제1항에 기재된 화합물의 제조방법으로서,

제60항에 기재된 화합물을 화학식 $M-L^{1b}-G'$ 의 화합물과 혼합하여, G와 G'의 반응에 의해 1개 이상의 공유 결합을 형성하는 단계를 포함하고,

M은 2개 이상의 탄소-탄소 이중 결합 및 1 이상의 공액도를 포함하는 모이어티이고;

L^{1b} 는 임의의 알킬렌 또는 헤테로알킬렌 링커이고;

G'는 G에 대하여 상보적인 반응성 그룹인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 일반적으로 이량체성 및 중합체성 형광 또는 유색 염료, 및 이들의 제조 방법 및 다양한 분석 방법에서의 이들의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 형광 및/또는 유색 염료는 고감도 검출 시약이 바람직한 적용에서 특히 적합한 것으로 알려져 있다. 샘플 내의 특정 구성요소(ingredient) 또는 성분(component)을 우선적으로 표지화할 수 있는 염료로 인해 연구원이 특정 구성요소 또는 성분의 존재, 양 및/또는 위치를 결정할 수 있게 된다. 또한, 특정 시스템은 다양한 환경에서 이들의 공간적 및 시간적 분포와 관련하여 모니터링할 수 있다.

[0003] 형광 및 비색 방법은 화학 및 생물학에서 극히 광범위하다. 이들 방법은 생체 분자에 관한 존재, 구조, 거리, 배향, 착물화 및/또는 위치에 대한 유용한 정보를 제공한다. 또한, 시간-분해 방법(time-resolved method)은 역학과 동역학의 측정에서 점차적으로 사용되고 있다. 그 결과, 핵산 및 단백질과 같은 생체 분자의 형광 또는 색 표지화를 위한 많은 전략들이 개발되었다. 생체 분자의 분석이 전형적으로 수성 환경에서 발생하기 때문에 수용성 염료의 개발 및 사용에 중점을 두었다.

[0004] 이러한 염료의 사용은 신호 대 잡음 비를 증가시키고 다른 관련 이익을 제공하기 때문에 고도로 형광성이거나 또는 고도로 착색된 염료가 바람직하다. 따라서, 공지된 형광성 및/또는 유색 모이어티(moiety)들로부터 신호를 증가시키고자 시도되어 왔다. 예를 들면, 2중 이상의 형광 및/또는 유색 모이어티들을 포함하는 이량체성 및 중합체성 화합물은, 이러한 화합물이 더 밝은 염료를 생성할 것이라는 예상하에 제조되어 왔다. 그러나, 분자내 형광 소광의 결과로서, 공지된 이량체성 및 중합체성 염료는 바람직한 휘도 증가를 달성하지 못했다.

[0005] 따라서, 몰 휘도(molar brightness)가 증가된 수용성 염료가 당업계에 필요하다. 이상적으로, 이러한 염료 및

바이오마커는 강렬하게 유색성 또는 형광성이어야 하며, 다양한 색들로 그리고 다양한 형광 파장에서 이용가능해야 한다. 본 발명은 이러한 필요성을 충족시키며, 추가의 관련 이점을 제공한다.

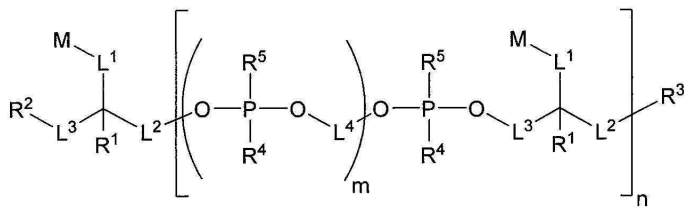
발명의 내용

[0006] 간단히, 본 발명의 양태들은 일반적으로 생체 분자와 같은 분석물 분자 뿐만 아니라 이들의 제조용 시약의 시각적 검출을 가능하게 하는 수용성, 형광 및/또는 유색 염료 및/또는 프로브로서 유용한 화합물에 관한 것이다. 염료를 사용하여 분석물 분자를 시각적으로 검출하는 방법이 또한 기재되어 있다.

[0007] 본 발명의 양태들의 수용성 형광 또는 유색 염료는 강렬하게 유색성이고/유색성이거나 형광성이며, 육안 검사 또는 다른 수단에 의해 용이하게 관찰될 수 있다. 일부 양태에서, 화합물은 이전의 조명 또는 화학적 또는 효소적 활성화 없이 관찰될 수 있다. 본원에 기재된 바와 같은 염료의 적절한 선택에 의해, 다양한 색의 시각적으로 검출가능한 분석물 분자를 얻을 수 있다.

[0008] 일양태에서, 화학식 I을 갖는 화합물, 또는 이의 입체 이성질체, 토토머 또는 염이 제공된다.

[0009] [화학식 I]



[0010]

[0011] 상기 화학식 I에서,

[0012] R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , L^1 , L^2 , L^3 , L^4 , M, m 및 n은 본원 명세서에 정의된 바와 같다.

[0013] 화학식 I의 화합물은 다양한 분석법에서의 형광 및/또는 유색 염료로서의 사용을 포함하여 다수의 적용에서의 유용성을 확인한다.

[0014] 또 다른 양태에서, 샘플을 염색하기 위한 방법이 제공되며, 상기 방법은, 상기 샘플이 적합한 파장에서 조명되는 경우, 광학 응답을 생성하기에 충분한 양의 화학식 I의 화합물을 상기 샘플에 가하는 단계를 포함한다.

[0015] 다른 양태에서, 본원 명세서는 다음 단계들을 포함하는, 분석물 분자를 시각적으로 검출하기 위한 방법을 제공한다:

[0016] (a) 화학식 I의 화합물을 제공하는 단계; 및

[0017] (b) 이의 가시적 성질들에 의해 상기 화합물을 검출하는 단계.

[0018] 다른 개시된 방법들은 다음 단계들을 포함하는, 생체 분자를 시각적으로 검출하기 위한 방법을 포함한다:

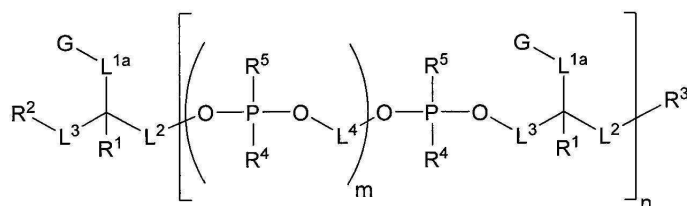
[0019] (a) 화학식 I의 화합물을 하나 이상의 생체 분자와 혼합하는 단계; 및

[0020] (b) 이의 가시적 성질들에 의해 상기 화합물을 검출하는 단계.

[0021] 다른 양태들은 화학식 I의 화합물 및 하나 이상의 생체 분자를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 하나 이상의 생체 분자를 검출하기 위한 분석 방법에서의 이러한 조성물의 용도도 제공된다.

[0022] 일부 다른 상이한 양태에서, 화학식 II의 화합물 또는 이의 입체 이성질체, 염, 또는 토토머가 제공된다.

[0023] [화학식 II]



[0024]

- [0025] 상기 화학식 II에서,
- [0026] R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , L^{1a} , L^2 , L^3 , L^4 , A, G, m 및 n는 본원 명세서에 정의되는 바와 같다.
- [0027] 화학식 II의 화합물은, 화학식 I의 형광 및/또는 유색 염료를 제조하기 위한 중간체로서의 용도를 포함하는 다양한 적용에서의 유용성을 확인한다.
- [0028] 다른 양태에서, 다음 단계들을 포함하는 분석물 분자의 표지 방법이 제공된다:
- [0029] (a) R^2 또는 R^3 이 Q이거나 또는 Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링커인 화학식 II의 화합물을 상기 분석물 분자와 혼합하는 단계;
- [0030] (b) 상기 화합물과 상기 분석물 분자의 접합체를 형성하는 단계; 및
- [0031] (c) 상기 접합체를 화학식 $M-L^{1b}-G'$ 의 화합물과 반응시켜, G와 G'의 반응에 의해 1개 이상의 공유 결합을 형성하는 단계로서, 여기서, R^2 , R^3 , Q, G 및 $M-L^{1b}-G'$ 는 본원 명세서에 정의되는 바와 같다.
- [0032] 일부 상이한 양태에서, 다음 단계들을 포함하는, 또 다른 분석물 분자의 표지 방법이 제공된다:
- [0033] (a) R^2 또는 R^3 이 Q이거나 또는 Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링커인 화학식 II의 화합물을 화학식 $M-L^{1b}-G'$ 의 화합물과 혼합하여, G와 G'의 반응에 의해 1개 이상의 공유 결합을 형성하는 단계; 및
- [0034] (b) 단계 (a)의 생성물을 상기 분석물 분자와 반응시켜, 단계 (a)의 생성물과 상기 분석물 분자의 접합체를 형성하는 단계로서, 여기서, R^2 , R^3 , Q, G 및 $M-L^{1b}-G'$ 는 본원 명세서에 정의되는 바와 같다.
- [0035] 보다 상이한 양태에서, 화학식 I의 화합물의 제조방법이 제공되며, 상기 방법은 화학식 II의 화합물을 화학식 $M-L^{1b}-G'$ 의 화합물과 혼합하여, G와 G'의 반응에 의해 1개 이상의 공유 결합을 형성하는 단계를 포함하며, 여기서, G 및 $M-L^{1b}-G'$ 는 본원 명세서에 정의되는 바와 같다.
- [0036] 본 발명의 이러한 양태 및 다른 양태는 하기 상세한 설명들에 대한 참조에 따라 자명해질 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0037] 도면에서, 동일한 참조 번호는 유사한 요소들을 식별한다. 도면에서 요소들의 크기 및 상대적 위치는 반드시 일정한 비로 그려지는 것은 아니며, 이들 요소들 중 일부는 임의로 확대되어 도면의 가독성을 개선시키기 위해 배치된다. 또한, 그려진 요소들의 특정 형상은 특정 요소들의 실제 형상에 관한 임의의 정보를 전달하려는 것이 아니며, 도면에서 용이한 인식을 위해서만 선택되었다.
- 도 1은, 3-mer, 5-mer, 및 10-mer 쿠마린 염료 화합물에 대한 형광 스펙트럼을 제공한다.
- 도 2는, 3-mer, 5-mer, 및 10-mer 플루오레세인 염료 화합물에 대한 형광 스펙트럼을 제공한다.

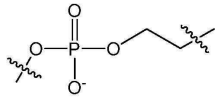
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0038] 하기 설명에서, 특정 구체적 세부 사항은 본 발명의 다양한 양태의 완전한 이해를 제공하기 위해 제시된다. 그러나, 당해 기술분야의 숙련가는 본 발명이 이들 세부 사항 없이 실시될 수 있음을 이해할 것이다.
- [0039] 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 본 명세서 및 청구범위 전반에 걸쳐, 단어 "포함한다" 및 이의 변형, 예를 들면, "포함한다" 및 "포함하는"은 개방적, 포괄적 의미, 즉 "포함하지만, 이로써 제한되지 않는"으로 해석되어야 한다.
- [0040] 본 명세서 전반에 걸쳐 "일양태(one embodiment)" 또는 "하나의 양태(an embodiment)"에 대한 언급은 양태와 관련하여 기재된 특징의 특징, 구조 또는 특성이 본 발명의 적어도 하나의 양태에 포함됨을 의미한다. 따라서, 본 명세서 전반에 걸쳐 다양한 장소에서 어구 "일양태에서" 또는 "하나의 양태에서"의 출현이 반드시 모두 동일한 양태를 지칭하고 있는 것은 아니다. 또한, 특징의 특징, 구조, 또는 특성은 하나 이상의 양태에서 임의의 적합한 방식으로 조합될 수 있다.
- [0041] "아미노"는 $-NH_2$ 그룹을 나타낸다.

- [0042] "카복시"는 $\text{-CO}_2\text{H}$ 그룹을 나타낸다.
- [0043] "시아노"는 -CN 그룹을 나타낸다.
- [0044] "포르밀"은 -C(=O)H 그룹을 나타낸다.
- [0045] "하이드록시" 또는 "하이드록실"은 -OH 그룹을 나타낸다.
- [0046] "이미노"는 =NH 그룹을 나타낸다.
- [0047] "니트로"는 -NO_2 그룹을 나타낸다.
- [0048] "옥소"는 =O 치환체 그룹을 나타낸다.
- [0049] "설프히드릴"은 -SH 그룹을 나타낸다.
- [0050] "티옥소"는 =S 그룹을 나타낸다.
- [0051] "알킬"은 1 내지 12개 탄소 원자($\text{C}_1\text{-C}_{12}$ 알킬), 1 내지 8개 탄소 원자($\text{C}_1\text{-C}_8$ 알킬) 또는 1 내지 6개 탄소 원자($\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬)를 갖는, 단일 결합에 의해 분자의 나머지에 부착되어 있는, 불포화를 포함하지 않는, 탄소 및 수소 원자로만 이루어진 선형 또는 분지형 탄화수소쇄 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 나타낸다. 본 명세서에 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 알킬 그룹은 임의로 치환된다.
- [0052] "알킬렌" 또는 "알킬렌쇄"는 분자의 나머지를 라디칼 그룹에 연결하는, 불포화를 포함하지 않는, 탄소 및 수소 원자로만 이루어지며, 1 내지 12개 탄소 원자를 갖는, 선형 또는 분지형 2가 탄화수소쇄, 예를 들면, 메틸렌, 에틸렌, 프로필렌, *n*-부틸렌, 에테닐렌, 프로페닐렌, *n*-부테닐렌, 프로피닐렌, *n*-부티닐렌 등을 나타낸다. 알킬렌쇄는 단일 결합을 통해 분자의 나머지에 그리고 단일 결합을 통해 라디칼 그룹에 부착된다. 분자의 잔여 부분 및 라디칼 그룹에 대한 알킬렌쇄의 부착점은, 상기 쇠 내의 1개의 탄소 또는 임의의 2개의 탄소를 통할 수 있다. 본원 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 알킬렌은 임의로 치환된다.
- [0053] "알케닐렌" 또는 "알케닐렌쇄"는, 분자의 나머지를 라디칼 그룹에 연결하는, 탄소 및 수소만으로 이루어지며, 1 개 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 포함하고 탄소수 2 내지 12인, 선형 또는 분지형 2가 탄화수소쇄, 예를 들어 에테닐렌, 프로페닐렌, *n*-부테닐렌 등이다. 알케닐렌쇄는 단일 결합을 통해 분자의 나머지에, 그리고 이중 결합 또는 단일 결합을 통해 라디칼 그룹에 부착된다. 분자의 잔여 부분 및 라디칼 그룹에 대한 알케닐렌쇄의 부착점은, 상기 쇠 내의 1개의 탄소 또는 임의의 2개의 탄소를 통할 수 있다. 본원 명세서에서 달리 특별히 언급되지 않는 한, 알케닐렌은 임의로 치환된다.
- [0054] "알키닐렌" 또는 "알키닐렌쇄"는, 분자의 나머지를 라디칼 그룹에 연결하는, 탄소 및 수소만으로 이루어지며, 1 개 이상의 탄소-탄소 삼중 결합을 포함하고 탄소수 2 내지 12인, 선형 또는 분지형 2가 탄화수소쇄, 예를 들어 에테닐렌, 프로페닐렌, *n*-부테닐렌 등이다. 상기 알케닐렌쇄는 단일 결합을 통해 분자의 나머지에, 그리고 이중 결합 또는 단일 결합을 통해 라디칼 그룹에 부착된다. 분자의 잔여 부분 및 라디칼 그룹에 대한 알키닐렌쇄의 부착점은, 상기 쇠 내의 1개의 탄소 또는 임의의 2개의 탄소를 통할 수 있다. 본원 명세서에서 달리 특별히 언급되지 않는 한, 알키닐렌은 임의로 치환된다.
- [0055] "알킬에테르"는 상기 정의된 바와 같은 임의의 알킬 그룹을 나타내고, 여기서 적어도 하나의 탄소-탄소 결합은 탄소-산소 결합으로 대체된다. 탄소-산소 결합은 (알콕시 그룹에서와 같이) 말단 단부상에 있을 수 있거나, 탄소 산소 결합은 내부(즉, C-O-C)일 수 있다. 알킬에테르는 적어도 1개의 탄소 산소 결합을 포함하나, 하나 초과를 포함할 수 있다. 예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜(PEG)은 알킬에테르의 의미 내에 포함된다. 본 명세서에서 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 알킬에테르 그룹은 임의로 치환된다. 예를 들면, 일부 양태에서 알킬에테르는 알코올 또는 $\text{-OP(=R}_a\text{)(R}_b\text{)R}_c$ 로 치환되며, 여기서, 각각의 R_a , R_b 및 R_c 는 화학식 I의 화합물에 대하여 정의된 바와 같다.
- [0056] "알콕시"는 화학식 -OR_a 의 그룹을 나타내고, 여기서 R_a 는 1 내지 12개 탄소 원자를 함유하는 상기 정의된 바와 같은 알킬 그룹이다. 본 명세서에서 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 알콕시 그룹은 임의로 치환된다.
- [0057] "헤테로알킬렌"은, 상기 정의된 바와 같이 알킬렌쇄 내에 또는 알킬렌쇄 말단에 적어도 하나의 헤테로 원자(예를 들면, N, O, P 또는 S)를 포함하는 알킬렌 그룹을 나타낸다. 일부 양태에서, 헤테로 원자는 알킬렌쇄 내에

존재한다(즉, 헤테로알킬렌은 적어도 하나의 탄소-헤테로 원자-탄소 결합을 포함한다). 다른 양태에서, 헤테로 원자는 알킬렌의 말단에 존재하며, 따라서 알킬렌을 분자의 나머지 부분에 결합시키는 역할을 한다(예를 들면, M1-H-A-M2, 여기서, M1 및 M2는 분자의 부분이고, H는 헤테로 원자이고, A는 알킬렌이다). 본 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 헤테로알킬렌 그룹은 임의로 치환된다.

[0058] 예시적인 헤테로알킬렌 연결 그룹을 아래에 예시한다:



"C 링커"

[0059]

[0060] 상기 C-링커의 다량체는 헤테로알킬렌 링커의 다양한 양태에 포함된다.

[0061] "헤테로알케닐렌"은, 1개 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 포함하는, 상기 정의된 바와 같은 헤테로알킬렌이다. 본원 명세서에서 달리 특별히 언급되지 않는 한, 헤테로알케닐렌 그룹은 임의로 치환된다.

[0062] "헤테로알키닐렌"은, 1개 이상의 탄소-탄소 삼중 결합을 포함하는 헤테로알킬렌이다. 본원 명세서에서 달리 특별히 언급되지 않는 한, 헤테로알키닐렌 그룹은 임의로 치환된다.

[0063] "헤테로원자성 링커"와 관련하여 "헤테로원자성"은 하나 이상의 헤테로 원자로 이루어진 링커 그룹을 나타낸다. 예시적인 헤테로원자성 링커는 O, N, P 및 S로 이루어진 그룹으로부터 선택된 단일 원자, 및 다중 헤테로 원자, 예를 들면, 화학식 $-P(O^-)(=O)O^-$ 또는 $-OP(O^-)(=O)O^-$ 를 갖는 링커 및 다량체 및 이들의 조합을 포함한다.

[0064] "포스페이트"는 $-OP(=O)(R_a)R_b$ 그룹을 나타내고, 여기서 R_a 는 OH, O^- 또는 OR_c 이고; R_b 는 OH, O^- , OR_c , 티오포스페이트 그룹 또는 추가의 포스페이트 그룹이고, 여기서, R_c 는 짝이온(예를 들면, Na^+ 등)이다.

[0065] "포스포알킬"은 $-OP(=O)(R_a)R_b$ 그룹을 나타내고, 여기서, R_a 는 OH, O^- 또는 OR_c 이고; R_b 는 -O알킬이고, 여기서 R_c 는 짝이온(예를 들면, Na^+ 등)이다. 본 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 포스포알킬 그룹은 임의로 치환된다. 예를 들면, 특정 양태에서, 포스포알킬 그룹 내의 -O알킬 모이어티는 1개 이상의 하이드록실, 아미노, 설프히드릴, 포스페이트, 티오포스페이트, 포스포알킬, 티오포스포알킬, 포스포알킬에테르 또는 티오포스포알킬에테르로 임의로 치환된다.

[0066] "포스포알킬에테르"는 $-OP(=O)(R_a)R_b$ 그룹을 나타내고, 여기서, R_a 는 OH, O^- 또는 OR_c 이고; R_b 는 -O알킬에테르이고, 여기서 R_c 는 짝이온(예를 들면, Na^+ 등)이다. 본 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 포스포알킬에테르 그룹은 임의로 치환된다. 예를 들면, 특정 양태에서, 포스포알킬에테르 그룹 내의 -O알킬에테르 모이어티는 1개 이상의 하이드록실, 아미노, 설프히드릴, 포스페이트, 티오포스페이트, 포스포알킬, 티오포스포알킬, 포스포알킬에테르 또는 티오포스포알킬에테르로 임의로 치환된다.

[0067] "티오포스페이트"는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 그룹을 나타내고, 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, 여기서, R_d 는 짝이온(예를 들면, Na^+ 등)이며, 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.

[0068] "티오포스포알킬"은 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 그룹을 나타내고, 여기서, R_a 는 O 또는 S이고; R_b 는 OH, O^- , S^- , OR_d 또는 SR_d 이고; R_c 는 -O알킬이고, 여기서 R_d 는 짝이온(예를 들면, Na^+ 등)이며, 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 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 티오포스포알킬 그룹은 임의로 치환된다. 예를 들면, 특정 양태에서, 티오포스포알킬 그룹 내의 -O알킬 모이어티는 1개 이상의 하이드록실, 아미노, 설프히드릴, 포스페이트, 티오포스페이트, 포스포알킬, 티오포스포알킬, 포스포알킬에테르 또는 티오포스포알킬에테르로 임의로 치환된다.

- [0069] "티오포스포알킬에테르"는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 그룹을 나타내고, 여기서, R_a 는 O 또는 S이고; R_b 는 OH, O^- , S^- , OR_d 또는 SR_d 이고; R_c 는 -O알킬에테르이고, 여기서 R_d 는 짝이온(예를 들면, Na^+ 등)이며, 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 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 티오포스포알킬에테르 그룹은 임의로 치환된다. 예를 들면, 특정 양태에서, 티오포스포알킬 그룹 내의 -O알킬에테르 모이어티는 1개 이상의 하이드록실, 아미노, 설포하이드릴, 포스페이트, 티오포스페이트, 포스포알킬, 티오포스포알킬, 포스포알킬에테르 또는 티오포스포알킬에테르로 임의로 치환된다.
- [0070] "카보사이클릭"은 3 내지 18개의 탄소 원자를 포함하는 안정한 3 내지 18원의 방향족 또는 비방향족 환을 나타낸다. 본 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 카보사이클릭 환은 모노사이클릭, 바이사이클릭, 트리사이클릭 또는 테트라사이클릭 환 시스템일 수 있으며, 융합 또는 브릿징된 환 시스템을 포함할 수 있으며, 일부 또는 전부 포화될 수 있다. 비-방향족 카보사이클릭 라디칼은 사이클로알킬을 포함하고, 방향족 카보사이클릭 라디칼은 아릴을 포함한다. 본 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 카보사이클릭 그룹은 임의로 치환된다.
- [0071] "사이클로알킬"은 3 내지 15개의 탄소 원자, 바람직하게는 3 내지 10개 탄소 원자를 갖는, 융합 또는 브릿징된 환 시스템 포함할 수 있으며, 포화 또는 불포화되고 단일 결합에 의해 분자의 나머지에 부착되는, 안정한 비방향족 모노사이클릭 또는 폴리사이클릭 카보사이클릭 환을 나타낸다. 모노사이클릭 사이클로알킬은, 예를 들면, 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헵틸, 및 사이클로옥틸을 포함한다. 폴리사이클릭 사이클로알킬은, 예를 들면, 아다만틸, 노보닐, 데칼리닐, 7,7-디메틸-바이사이클로-[2.2.1]헵타닐 등을 포함한다. 본 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 사이클로알킬 그룹은 임의로 치환된다.
- [0072] "아릴"은 적어도 하나의 카보사이클릭 방향족 환을 포함하는 환 시스템을 나타낸다. 일부 양태에서, 아릴은 6 내지 18개의 탄소 원자를 포함한다. 아릴 환은 융합 또는 브릿징된 환 시스템을 포함할 수 있는, 모노사이클릭, 바이사이클릭, 트리사이클릭 또는 테트라사이클릭 환 시스템일 수 있다. 아릴은 아세안트릴렌, 아세나프틸렌, 아세페난트릴렌, 안트라센, 아줄렌, 벤젠, 크리센, 플루오르안텐, 플루오렌, *as*-인다센, *s*-인다센, 인단, 인텐, 나프탈렌, 페날렌, 페난트렌, 플레시아텐, 피렌, 및 트리페닐렌으로부터 유도된 아릴을 포함하지만, 이로써 제한되지 않는다. 본 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 아릴 그룹은 임의로 치환된다.
- [0073] "헤테로사이클릭"은 1 내지 12개 탄소 원자 및 질소, 산소 및 황으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1 내지 6개 헤테로 원자를 포함하는 안정한 3 내지 18원 방향족 또는 비방향족 환을 나타낸다. 본 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 헤테로사이클릭 환은 융합 또는 브릿징된 환 시스템을 포함할 수 있는, 모노사이클릭, 바이사이클릭, 트리사이클릭 또는 테트라사이클릭 환 시스템일 수 있으며; 헤테로사이클릭 환 내의 질소, 탄소 또는 황 원자는 임의로 산화될 수 있으며; 질소 원자는 임의로 4급화될 수 있고; 헤테로사이클릭 환은 일부 또는 전부 포화될 수 있다. 방향족 헤테로사이클릭 환의 예는 하기 헤테로아릴(즉, 헤테로아릴은 헤테로사이클릭의 서브세트임)의 정의에 열거되어 있다. 비방향족 헤테로사이클릭 환의 예는 디옥솔라닐, 티에닐[1,3]디티아닐, 데카하이드로이소퀴놀릴, 이미다졸리닐, 이미다졸리디닐, 이소티아졸리디닐, 이소옥사졸리디닐, 모르폴리닐, 옥타하이드로인돌릴, 옥타하이드로이소인돌릴, 2-옥소피페라지닐, 2-옥소피페리디닐, 2-옥소피롤리디닐, 옥사졸리디닐, 피페리디닐, 피페라지닐, 4-피페리도닐, 피롤리디닐, 피라졸리디닐, 피라졸로피리미디닐, 퀴누클리디닐, 티아졸리디닐, 테트라하이드로푸릴, 트리옥사닐, 트리티아닐, 트리아지나닐, 테트라하이드로피라닐, 티오모르폴리닐, 티아모르폴리닐, 1-옥소-티오모르폴리닐, 및 1,1-디옥소-티오모르폴리닐을 포함하지만, 이로써 제한되지 않는다. 본 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 헤테로사이클릭 그룹은 임의로 치환된다.
- [0074] "헤테로아릴"은 1 내지 13개 탄소 원자, 질소, 산소 및 황으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1 내지 6개 헤테로 원자, 및 적어도 하나의 방향족 환을 포함하는 5 내지 14원 환 시스템을 나타낸다. 본 발명의 특정 양태의 목적을 위해, 헤테로아릴 라디칼은 융합 또는 브릿징된 환 시스템을 포함할 수 있는, 모노사이클릭, 바이사이클릭, 트리사이클릭 또는 테트라사이클릭 환 시스템일 수 있고; 헤테로아릴 라디칼 내의 질소, 탄소 또는 황 원자는 임의로 산화될 수 있고; 질소 원자는 임의로 4급화될 수 있다. 예는 아제피닐, 아크리디닐, 벤즈이미다졸릴, 벤즈티아졸릴, 벤즈인돌릴, 벤조디옥솔릴, 벤조푸라닐, 벤조옥사졸릴, 벤조티아졸릴, 벤조티아디아졸릴, 벤조[*b*][1,4]디옥세피닐, 1,4-벤조디옥사닐, 벤조나프토판라닐, 벤조옥사졸릴, 벤조디옥솔릴, 벤조디옥시닐, 벤조피라닐, 벤조피라노닐, 벤조푸라닐, 벤조푸라노닐, 벤조티에닐(벤조티오펜), 벤조트리아졸릴, 벤조[4,6]이미다조[1,2-*a*]피리디닐, 벤조옥사졸리노닐, 벤즈이미다졸티오닐, 카바졸릴, 신놀리닐, 디벤조푸

라닐, 디벤조티오펜, 푸라닐, 푸라노닐, 이소티아졸릴, 이미다졸릴, 인다졸릴, 인돌릴, 인다졸릴, 이소인돌릴, 인돌리닐, 이소인돌리닐, 이소퀴놀릴, 인돌리지닐, 이소옥사졸릴, 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, 피리미디노닐, 피리다지닐, 피롤릴, 피리도[2,3-d]피리미디노닐, 퀴나졸리닐, 퀴나졸리노닐, 퀴녹살리닐, 퀴녹살리노닐, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 테트라하이드로퀴놀리닐, 티아졸릴, 티아디아졸릴, 티에노[3,2-d]피리미딘-4-노닐, 티에노[2,3-d]피리미딘-4-노닐, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 트리아지닐, 및 티오펜(즉, 티에닐)을 포함하지만, 이로써 제한되지 않는다. 본 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 헤테로아릴 그룹을 임의로 치환된다.

[0075] "융합된"은 적어도 2개의 환을 포함하는 환 시스템을 나타내며, 여기서, 2 개의 환은 적어도 하나의 공통 환 원자, 예를 들면, 2개의 공통 환 원자를 공유한다. 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.

[0076] 본원에 사용된 용어 "치환된"은 상기 그룹들 중 어느 하나(예를 들면, 알킬, 알킬렌, 알케닐렌, 알킬닐렌, 헤테로알킬렌, 헤테로알케닐렌, 헤테로알킬닐렌, 알콕시, 알킬에테르, 포스포알킬, 포스포알킬에테르, 티오포스포알킬, 티오포스포알킬에테르, 카보사이클릭, 사이클로알킬, 아릴, 헤테로사이클릭 및/또는 헤테로아릴)를 의미하고, 여기서, 적어도 하나의 수소 원자(예를 들면, 1, 2, 3 또는 모든 수소 원자)는, 예를 들면, 할로젠 원자, 예를 들면, F, Cl, Br, 및 I; 하이드록실 그룹, 알콕시 그룹, 및 에스테르 그룹과 같은 그룹 중의 산소 원자; 티올 그룹, 티오알킬 그룹, 설펜 그룹, 설포닐 그룹, 및 설폭사이드 그룹과 같은 그룹 내의 황 원자; 아민, 아미드, 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 다른 헤테로 원자이지만, 이에 제한되지 않는 수소 원자가 아닌 원자에 대한 결합에 의해 대체된다. "치환된"은 또한 상기 그룹 중 어느 하나를 의미하며, 여기서 1개 이상의 수소 원자는 헤테로 원자, 예를 들면, 옥소, 카보닐, 카복실, 및 에스테르 그룹 내의 산소; 및 이민, 옥심, 하이드라존, 및 니트릴과 같은 그룹 내의 질소에 대한 고위 결합(higher-order bond)(예를 들면, 이중- 또는 삼중 결합)에 의해 대체된다. 예를 들면, "치환된"은 상기 그룹 중 어느 하나를 포함하며, 여기서 1개 이상의 수소 원자는 $-NR_gR_h$, $-NR_gC(=O)R_h$, $-NR_gC(=O)NR_gR_h$, $-NR_gC(=O)OR_h$, $-NR_gSO_2R_h$, $-OC(=O)NR_gR_h$, $-OR_g$, $-SR_g$, $-SOR_g$, $-SO_2R_g$, $-OSO_2R_g$, $-SO_2OR_g$, $=NSO_2R_g$, 및 $-SO_2NR_gR_h$ 로 대체된다. "치환된"은 또한 상기 그룹 중 어느 하나를 포함하며, 여기서 1개 이상의 수소 원자는 $-C(=O)R_g$, $-C(=O)OR_g$, $-C(=O)NR_gR_h$, $-CH_2SO_2R_g$, $-CH_2SO_2NR_gR_h$ 로 대체된다. 상기에서, R_g 및 R_h 는 동일하거나 상이하고 독립적으로 수소, 알킬, 알콕시, 알킬아미노, 티오알킬, 아릴, 아르알킬, 사이클로알킬, 사이클로알킬알킬, 할로알킬, 헤테로사이클릭, N-헤테로사이클릭, 헤테로사이클릭알킬, 헤테로아릴, N-헤테로아릴 및/또는 헤테로아릴알킬이다. "치환된"은 추가로, 상기 그룹 중 어느 하나의 그룹 의미하며, 여기서 1개 이상의 수소 원자는 아미노, 시아노, 하이드록실, 이민, 니트로, 옥소, 티옥소, 할로, 알킬, 알콕시, 알킬아미노, 티오알킬, 아릴, 아르알킬, 사이클로알킬, 사이클로알킬알킬, 할로알킬, 헤테로사이클릭, N-헤테로사이클릭, 헤테로사이클릭알킬, 헤테로아릴, N-헤테로아릴 및/또는 헤테로아릴알킬 그룹에 대한 결합에 의해 대체된다. 또한, 상기 치환체 각각은 또한 상기 치환체 중 1개 이상으로 임의로 치환될 수 있다.

[0077] "공액(conjugation)"은 1개의 p-오비탈과 개재 시그마 결합을 가로지르는 또 다른 p-오비탈의 중첩을 나타낸다. 공액은 사이클릭 또는 비사이클릭(acyclic) 화합물에서 발생할 수 있다. "공액도(degree of conjugation)"는 적어도 하나의 p-오비탈과 개재 시그마 결합을 가로지르는 다른 p-오비탈의 중첩을 나타낸다. 예를 들면, 1,3-부타디엔은 1의 공액도를 갖는 한편, 벤젠 및 다른 방향족 화합물은 전형적으로 다중 공액도를 갖는다. 형광 및 유색 화합물은 전형적으로 공액도가 적어도 1이다.

[0078] "형광"은 특정 주파수의 빛을 흡수하고 상이한 주파수의 빛을 발광할 수 있는 분자를 나타낸다. 형광은 당해 기술분야의 숙련가에게 익히 공지되어 있다.

[0079] "유색"은 유색 스펙트럼(즉, 적색, 황색, 청색 등) 내에서 빛을 흡수하는 분자를 나타낸다.

[0080] "링커"는 분자의 부분을 동일 분자의 또 다른 부분에 또는 상이한 분자, 모이어티 또는 고체 지지체(예를 들면, 미세입자)에 연결하는, 적어도 하나의 원자, 예를 들면, 탄소, 산소, 질소, 황, 인 및 이들의 조합의 인접한 쌍을 나타낸다. 링커는 공유 결합 또는 다른 수단, 예를 들면, 이온 결합 또는 수소 결합 상호 작용을 통해 분자

를 연결할 수 있다.

- [0081] 용어 "생체 분자"는 핵산, 탄수화물, 아미노산, 폴리펩티드, 당단백질, 호르몬, 앵타머 및 이들의 혼합물을 포함하는, 다양한 생물학적 물질 중 어느 하나의 물질을 나타낸다. 보다 구체적으로, 용어는 제한 없이 RNA, DNA, 올리고뉴클레오타이드, 변형된 또는 유도체화된 뉴클레오타이드, 효소, 수용체, 프리온, 수용체 리간드(호르몬 포함), 항체, 항원, 및 독소, 뿐만 아니라 박테리아, 바이러스, 혈액 세포, 및 조직 세포를 포함하는 것으로 의도된다. 본 발명의 시각적으로 검출가능한 생체 분자(예를 들어, 이에 연결된 생체 분자를 갖는 화학식 I의 화합물)는, 본원에 추가로 기재된 바와 같이, 생체 분자를 임의의 이용가능한 원자 또는 관능성 그룹, 예를 들면, 생체 분자 상의 아미노, 하이드록시, 카복실, 또는 설프히드릴 그룹을 통해 화합물에 대해 생체 분자의 부착을 가능하게 하는 반응성 그룹을 갖는 화합물과 접촉시킴으로써 제조된다.
- [0082] "반응성 그룹"은, 제2 반응성 그룹(예를 들어 "상보적인 반응성 그룹")과 반응하여, 예를 들어 치환, 산화, 환원, 첨가, 또는 부가화합 반응에 의해 1개 이상의 공유 결합을 형성할 수 있는 모이어티이다. 예시적인 반응성 그룹은 표 1에 제공되며, 예를 들어, 친핵체, 친전자체, 디엔, 친디엔체, 알데하이드, 옥심, 하이드라존, 알킨, 아민, 아지드, 아실아지드, 아실할라이드, 니트릴, 니트론, 설프히드릴, 디설프라이드, 설프닐 할라이드, 이소티오시아네이트, 이미도에스테르, 활성화된 에스테르, 케톤, α, β -불포화 카보닐, 알켄, 말레이미드, α -할로이미드, 에폭사이드, 아지리딘, 테트라진, 테트라졸, 포스핀, 비오틴, 티란 등을 포함한다.
- [0083] 용어 "시각적" 및 "시각적으로 검출가능한"은 본원에 사용되어, 이전의 조명, 또는 화학적 또는 효소적 활성화 없이, 육안 검사에 의해 관찰가능한 물질을 나타낸다. 이러한 시각적으로 검출가능한 물질은 약 300 내지 약 900nm 범위에 이르는 스펙트럼의 영역에서 빛을 흡수하고 발광한다. 바람직하게는, 이러한 물질은, 바람직하게는 적어도 약 $40,000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, 보다 바람직하게는 적어도 약 $50,000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, 더욱 보다 바람직하게는 적어도 약 $60,000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, 더더욱 보다 바람직하게는 적어도 약 $70,000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, 가장 바람직하게는 적어도 약 $80,000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 의 몰 흡광 계수를 갖는 강렬하게 유색성이다. 본 발명의 화합물은 육안으로, 또는 흡수 분광광도계, 투과광 현미경, 디지털 카메라 및 스캐너를 포함하지만 제한 없이 광학 기반 검출 장치를 활용하는 관찰에 의해 검출될 수 있다. 시각적으로 검출가능한 물질은 가시 스펙트럼에서 빛을 발광 및/또는 흡수하는 것들에 제한되지 않는다. 자외선(UV) 영역(약 10nm 내지 약 400nm), 적외선(IR) 영역(약 700nm 내지 약 1mm)에서 빛을 발광 및/또는 흡수하는 물질, 및 전자기 스펙트럼의 다른 영역에서 발광 및/또는 흡수하는 물질은 또한 "시각적으로 검출가능한" 물질의 범주 내에 포함된다.
- [0084] 본 발명의 양태들의 목적을 위해, 용어 "광안정성 가시 염료"는 상기 본원에 정의된 바와 같은, 시각적으로 검출가능하고, 빛에 노출시 상당히 변경되거나 분해되지 않는 화학적 모이어티를 나타낸다. 바람직하게는, 광안정성 가시 염료는 적어도 1시간 동안 빛에 노출된 후 상당한 표백 또는 분해를 나타내지 않는다. 보다 바람직하게는, 가시 염료는 적어도 12시간, 더욱 보다 바람직하게는 적어도 24시간, 더더욱 바람직하게는 적어도 1주, 가장 바람직하게는 적어도 1개월 동안 빛에 노출 후 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.
- [0085] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "페릴렌 유도체"는 시각적으로 검출가능한 임의의 치환된 페릴렌을 포함하고자 하는 것이다. 그러나, 상기 용어는 페릴렌 자체를 포함하고자 하는 것은 아니다. 용어 "안트라센 유도체", "나프탈렌 유도체", 및 "피렌 유도체"는 유사하게 사용된다. 일부 바람직한 양태에서, 유도체(예를 들면, 페릴렌, 피렌, 안트라센 또는 나프탈렌 유도체)는 페릴렌, 안트라센, 나프탈렌, 또는 피렌의 이미드, 비스이미드 또는 하이드라잠이미드 유도체이다.
- [0086] 본 발명의 다양한 양태들의 시각적으로 검출가능한 분자는 특정 분석물(예를 들면, 생체 분자)의 존재, 위치 또는 양을 결정할 필요가 있는 생화학 및 생물학적 적용과 같은 매우 다양한 분석 적용에 유용하다. 따라서, 또 다른 양상에서, 본 발명은 (a) 생물계(biological system)에 생체 분자에 연결된 화학식 I의 화합물을 포함하는 시각적으로 검출가능한 생체 분자를 제공하는 단계; 및 (b) 상기 생체 분자를 이의 시각적 성질들에 의해 검출하는 단계를 포함하는, 생체 분자를 시각적으로 검출하기 위한 방법을 제공한다. 본 발명의 목적을 위해, 어구 "생체 분자를 이의 시각적 성질들에 의해 검출하는 것"은 생체 분자가, 조명 또는 화학적 또는 효소적 활성화 없이, 육안으로, 또는 흡수 분광광도계, 투과광 현미경, 디지털 카메라 및 스캐너를 제한 없이 포함하는, 광학 기반 검출 장치를 활용하여 관찰됨을 의미한다. 농도계(densitometer)는 존재하는 시각적으로 검출가능한 생체 분자의 양을 정량하는데 사용될 수 있다. 예를 들면, 두 샘플 중의 생체 분자의 상대적 양은 상대 광학 밀도를 측정함으로써 결정될 수 있다. 생체 분자당 염료 분자의 화학량론이 알려져 있고, 염료 분자의 흡광 계수가 알

려진 경우라면, 생체 분자의 절대 농도가 또한 광학 밀도의 측정으로부터 결정될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "생물계"는 사용되어 시각적으로 검출가능한 생체 분자 이외에도 하나 이상의 생체 분자를 포함하는 임의의 용액 또는 혼합물을 나타낸다. 이러한 생물계의 비제한적 예는 세포, 세포 추출물, 조직 샘플, 전기영동 겔, 검정용 혼합물, 및 혼성화 반응 혼합물을 포함한다.

[0087] "고체 지지체"는 분자의 고체상 지지체에 대해 당업계에 공지된 임의의 고체 기질을 나타내며, 예를 들면, "미세입자"는 유리 비드, 자성 비드, 중합체성 비드, 비중합체성 비드 등을 포함하지만, 이로써 제한되지 않는 본 발명의 화합물에 부착하기에 유용한 다양한 작은 입자 중 어느 하나를 나타낸다. 특정 양태에서, 미세입자는 폴리스티렌 비드를 포함한다.

[0088] "염기 쌍형성(pairing) 모이어티"는 수소 결합을 통해 상보적 헤테로사이클릭 모이어티와 혼성화할 수 있는 헤테로사이클릭 모이어티(예를 들면, 왓슨-크릭(Watson-Crick) 염기 쌍형성)를 나타낸다. 염기 쌍형성 모이어티는 천연 및 비천연 염기를 포함한다. 염기 쌍형성 모이어티의 비제한적 예는 RNA 및 DNA 염기, 예를 들면, 아데노신, 구아노신, 티미딘, 시토신 및 우리딘 및 이들의 유사체이다.

[0089] 본원에 개시된 발명의 양태는 또한 상이한 원자 질량 또는 질량수를 갖는 원자로 대체된 1개 이상의 원자를 가짐으로써 동위원소로 표지된 화학식 I 또는 화학식 II의 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.

[0090] 화학식 I, 화학식 II의 동위원소로 표지된 화합물은 일반적으로 당해 기술분야의 숙련자에게 공지된 통상적인 기법에 의해 또는 이하에 기재된 것들과 유사한 공정에 의해 및 이전에 사용된 비표지된 시약 대신에 적절한 동위원소로 표지된 시약을 사용한 하기 실시예에서 제조될 수 있다.

[0091] "안정한 화합물" 및 "안정한 구조"는 반응 혼합물로부터 유용한 정도의 순도로의 단리, 및 효과적인 치료제로의 제형화를 존속시키기에 충분히 견고한 화합물을 나타내고자 한다.

[0092] "임의의" 또는 "임의로"는 후속적으로 기재된 사건 또는 상황이 일어나거나 일어나지 않을 수 있고, 본 기재는 상기 사건 또는 상황이 일어나는 경우, 그리고 일어나지 않는 경우를 포함함을 의미한다. 예를 들면, "임의로 치환된 알킬"은 알킬 그룹이 치환될 수 있거나 치환되지 않을 수 있고, 본 기재는 치환된 알킬 그룹 및 치환되지 않은 알킬 그룹 둘 다를 포함함을 의미한다.

[0093] "염"은 산 및 염기 부가염 둘 다를 포함한다.

[0094] "산 부가염"은, 예를 들면, 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등이나 이에 제한되지 않는 무기 산, 및 예를 들면, 아세트산, 2,2-디클로로아세트산, 아디프산, 알긴산, 아스코르브산, 아스파르트산, 벤젠설폰산, 벤조산, 4-아세트아미도벤조산, 캄포르산, 캄포르-10-설폰산, 카프론산, 카프로산, 카프릴산, 탄산, 신남산, 시트르산, 사이클람산, 도데실설푸르산, 에탄-1,2-디설폰산, 에탄설폰산, 2-하이드록시에탄설폰산, 포름산, 푸마르산, 갈락타르산, 겐티스산, 글루코헵톤산, 글루콘산, 글루쿠론산, 글루탐산, 글루타르산, 2-옥소-글루타르산, 글리세로인산, 글리콜산, 히프루산, 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 등이나 이로써 제한되지 않는 유기 산으로 형성되는 이러한 염을 나타낸다.

[0095] "염기 부가염"은 유리 산에 무기 염기 또는 유기 염기를 첨가하여 제조되는 이러한 염을 나타낸다. 무기 염기로부터 유래된 염은 나트륨, 칼륨, 리튬, 암모늄, 칼슘, 마그네슘, 철, 아연, 구리, 망간, 알루미늄 염 등을 포함하지만, 이로써 제한되지 않는다. 유기 염기로부터 유래된 염은, 1급, 2급, 및 3급 아민, 자연 발생 치환된 아민을 포함한 치환 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, 벤자민, 에틸렌디아민, 글루코스아민, 메틸글루카민, 테오브로민, 트리에탄올아민, 트로메타민, 퓨린, 피페라진, 피페리딘, N-에틸피페리딘, 폴리아민 수지 등의 염을 포함하지만, 이로써 제한되지 않는다. 특히 바람직한 유기 염기는 이소프로필아민, 디에틸아민, 에탄올아민, 트리메틸아민, 디사이클로헥실아민, 콜린 및 카페인이다.

[0096] 결정화는 본원 명세서에 개시된 화합물들의 용매화물을 생성할 수 있다. 본 발명의 양태들은 기재된 화합물의 모든 용매화물을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "용매화물"은 용매의 하나 이상의 분자와 본 발명의 화합물의 하나 이상의 분자를 포함하는 집합체를 지칭한다. 용매는 물일 수 있으며, 이 경우에 용매화물은 수화물일 수 있다. 대안으로, 용매는 유기 용매일 수 있다. 따라서, 본 발명의 화합물은 일수화물, 이수화물, 반수화물, 세스퀴수화물, 삼수화물, 사수화물 등을 포함한 수화물, 뿐만 아니라 상응하는 용매화된 형태로서 존재할 수 있다. 본 발명의 화합물은 진정한 용매화물일 수 있으며, 한편 다른 경우에 본 발명의 화합물은 단지 외래성(adventitious) 물 또는 또 다른 용매를 보유하거나 물과 일부 외래성 용매의 혼합물일 수 있다.

[0097] 본 발명의 화합물의 양태들(예를 들어 화학식 I 또는 화학식 II의 화합물) 또는 이의 염, 토토머 또는 용매화물은 1개 이상의 비대칭 중심을 함유할 수 있고, 따라서 절대 입체화학의 면에서 (R)- 또는 (S)-로서, 또는 아미노산에 대해서는 (D)- 또는 (L)-로서 정의될 수 있는, 에난티오머, 부분입체 이성질체, 및 다른 입체 이성질체를 야기할 수 있다. 본 발명의 양태들은 모든 이러한 가능한 이성질체, 뿐만 아니라 이의 라세미 및 광학적으로 순수한 형태를 포함하고자 한다. 광학 활성 (+) 및 (-), (R)- 및 (S)-, 또는 (D)- 및 (L)-이성질체는 키랄 신포논 또는 키랄 시약을 사용하여 제조되거나, 통상적인 기법, 예를 들면, 크로마토그래피 및 분별 결정을 사용하여 분할될 수 있다. 개개 에난티오머의 제조/단리를 위한 통상적인 기법은 적합한 광학적으로 순수한 전구체로부터의 키랄 합성 또는 라세미체(또는 염 또는 유도체의 라세미체)의 분할(예를 들면, 키랄 고압 액체 크로마토그래피(HPLC)를 사용)을 포함한다. 본원에 기재된 화합물이 올레핀성 이중 결합 또는 기하학적 비대칭의 다른 중심을 함유한 경우, 그리고 달리 구체화되지 않는 한, 화합물은 E 및 Z 기하 이성질체 둘 다를 포함하는 것으로 의도된다. 마찬가지로, 모든 토토머 형태가 또한 포함되는 것으로 의도된다.

[0098] "입체 이성질체"는 동일 결합에 의해 결합된 동일 원자로 이루어지나 교체가능하지 않은 상이한 3차원 구조를 갖는 화합물을 나타낸다. 본 발명은 다양한 입체 이성질체 및 이들의 혼합물을 고려하고, 이 분자가 서로의 겹쳐질 수 없는 거울상인 두개의 입체 이성질체를 지칭하는 "에난티오머"를 포함한다.

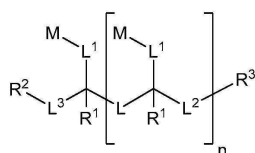
[0099] "토토머"는 분자의 한 원자에서 동일 분자의 또 다른 원자로의 양성자 이동을 나타낸다. 본 발명은 임의의 상기 화합물의 토토머를 포함한다. 화합물의 다양한 토토머 형태는 당해 기술분야의 숙련가에게 의해 용이하게 유래가능하다.

[0100] 본원에 사용된 화학 명명 프로토콜 및 구조 다이어그램은 ACD/명명(Name) 버전 9.07 소프트웨어 프로그램 및/또는 캠드로우(ChemDraw) 울트라 버전 11.0 소프트웨어 명명 프로그램(캠브릿지소프트(CambridgeSoft))을 이용하는, I.U.P.A.C. 명명법 시스템의 변형 형태이다. 당해 기술분야의 숙련가에게 친숙한 속명이 또한 사용된다.

[0101] 상기 언급된 바와 같이, 본 발명의 일양태에서, 다양한 분석 방법들에서 형광 및/또는 유색 염료로서 유용한 화합물이 제공된다. 다른 양태에서, 형광 및/또는 유색 염료로 유용한 화합물을 제조하기 위한 합성 중간체로 유용한 화합물이 제공된다. 일반적으로, 본 발명의 양태는 형광 및/또는 유색 모이어티의 이량체 및 고급 중합체에 관한 것이다. 형광 및/또는 유색 모이어티는 인-함유 연결에 의해 연결된다. 이론으로 결부시키고자 하는 것은 아니나, 링커는 형광 및/또는 유색 모이어티 사이의 충분한 공간적 거리를 유지시켜, 분자내 소광이 감소되거나 제거되도록 도와주며, 따라서 높은 몰 "휘도"(예를 들면, 높은 형광 발광)를 갖는 염료 화합물이 생성된다고 여겨진다.

[0102] 따라서, 일부 양태에서, 화합물은 화학식 A를 갖는다.

[0103] [화학식 A]



[0104]

[0105] 상기 화학식 A에서,

[0106] L은 1개 이상의 (예를 들어 각각의) M 그룹을 공간적 분리를 유지하여, 분자내 소광이 감소하거나 제거되기에 충분한 인-함유 연결이고,

[0107] R^1 , R^2 , R^3 , L^1 , L^2 , L^3 및 n은 화학식 I에 대해 정의된 바와 같다.

터 선택되는 하나 이상의 치환체로 임의로 치환된다.

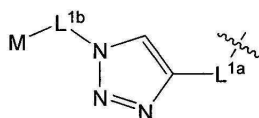
[0124] 링커 L^1 은 화합물의 잔여 부분에 대한 M 모이어티의 부착점으로 사용될 수 있다. 예를 들어, 일부 양태에서 화학식 I의 화합물에 대한 합성 전구체가 제조되고, 당해 기술 분야에 공지된 다양한 순쉬운 방법, 예를 들어 "클릭 화학(click chemistry)"으로 나타내는 방법을 사용하여 M 모이어티가 상기 합성 전구체에 부착된다. 이러한 목적을 위하여 신속하고 후속적으로 비가역적인 임의의 반응이 사용되어, M을 합성 전구체에 부착하여 화학식 I의 화합물을 형성할 수 있다. 예시적인 반응은, 트리아졸을 형성하기 위한 아지드 및 알킨의 구리 촉매화된 반응(후이스겐 1,3-쌍극성 부가환화), 디엔 및 친디엔체의 반응(딜스-알더), 변형 촉진된 알킨-니트론 부가환화, 변형된 알켄과 아지드, 테트라진 또는 테트라졸의 반응, 알켄 및 아지드 [3+2] 부가환화, 알켄 및 테트라진 역요구 딜스-알더, 알켄 및 테트라졸 광반응 및 다양한 치환 반응, 예를 들어 친전자성 원자에 대한 친핵성 공격에 의한 이탈 그룹의 치환을 포함한다. 일부 양태에서, L^1 을 형성하기 위한 반응이 수성 환경에서 실시될 수 있다.

[0125] 따라서, 일부 양태에서 L^1 은 상기 "클릭" 반응들 중 하나의 생성물인 관능성 그룹이다. 다양한 양태에서, L^1 의 하나 이상의 발생에 대하여 관능성 그룹은, 알데하이드, 옥심, 하이드라존, 알킨, 아민, 아지드, 아실아지드, 아실할라이드, 니트릴, 니트론, 설프히드릴, 디설파이드, 설포닐 할라이드, 이소티오시아네이트, 이미도에스테르, 황산화된 에스테르, 케톤, α, β -불포화 카보닐, 알켄, 말레이미드, α -할로이미드, 에폭사이드, 아지리딘, 테트라진, 테트라졸, 포스핀, 비오틴 또는 티란 관능성 그룹과 상보적인 반응성 그룹의 반응에 의해 형성될 수 있다.

[0126] 다른 양태에서, L^1 의 하나 이상의 발생에 대하여 관능성 그룹은 알킨과 아지드의 반응에 의해 형성될 수 있다.

[0127] 보다 많은 양태에서, L^1 의 하나 이상의 발생에 대하여 관능성 그룹은 알켄, 에스테르, 아미드, 티오에스테르, 디설파이드, 카보사이클릭, 헤테로사이클릭 또는 헤테로아릴 그룹을 포함한다. 일부 보다 특정일양태에서, L^1 의 하나 이상의 발생에 대하여 L^1 은 트리아졸릴 관능성 그룹을 포함하는 링커이다.

[0128] 다른 양태에서, L^1 의 하나 이상의 발생에 있어서, L^1 -M은 하기 화학식을 갖는다.

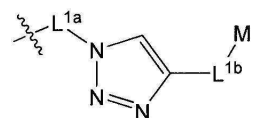


[0129]

[0130] 상기 화학식에서,

[0131] L^{1a} 및 L^{1b} 는 각각 독립적으로 임의의 링커이다.

[0132] 상이한 양태에서, L^1 의 하나 이상의 발생에 있어서, L^1 -M은 하기 화학식을 갖는다.



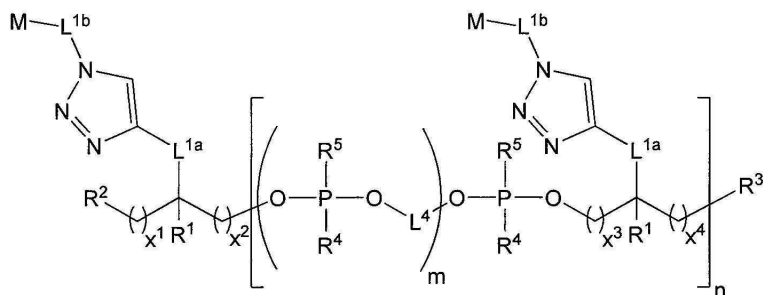
[0133]

[0134] 상기 화학식에서,

[0135] L^{1a} 및 L^{1b} 는 각각 독립적으로 임의의 링커이다.

[0136] 따라서, 일부 양태에서 상기 화합물은 화학식 IA를 갖는다.

[0137] [화학식 IA]



[0138]

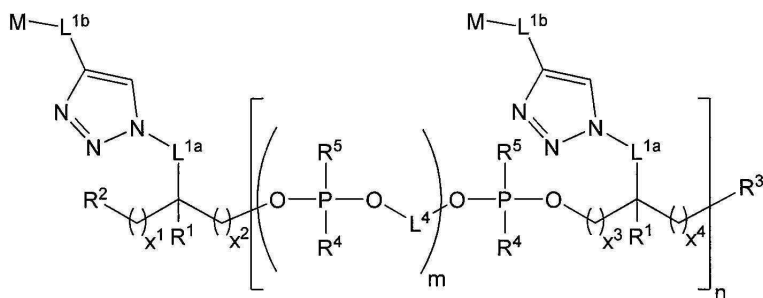
[0139] 상기 화학식 IA에서,

[0140] L^{1a} 및 L^{1b} 는, 각각의 발생 시, 독립적으로 임의의 링커이고;

[0141] x^1 , x^2 , x^3 및 x^4 는, 각각의 발생 시, 독립적으로 0 내지 6의 정수이다.

[0142] 상이한 양태에서, 상기 화합물은 화학식 IB를 갖는다.

[0143] [화학식 IB]



[0144]

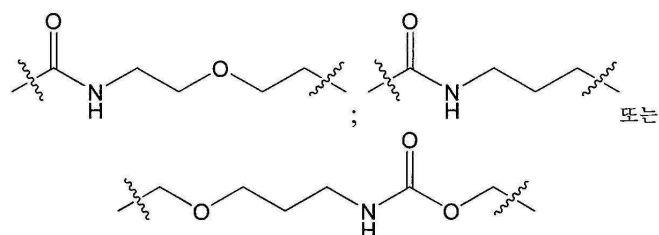
[0145] 상기 화학식 IB에서,

[0146] L^{1a} 및 L^{1b} 는, 각각의 발생 시, 독립적으로 임의의 링커이고;

[0147] x^1 , x^2 , x^3 및 x^4 는, 각각의 발생 시, 독립적으로 0 내지 6의 정수이다.

[0148] 상기 다양한 양태들에서, L^{1a} 또는 L^{1b} , 또는 둘 다 부재한다. 다른 양태에서, L^{1a} 또는 L^{1b} , 또는 둘 다 존재한다.

[0149] 일부 양태에서 L^{1a} 및 L^{1b} 가 존재하는 경우, 이들은 각각 독립적으로 알킬렌 또는 헥세로알킬렌이다. 예를 들어, 일부 양태에서 L^{1a} 및 L^{1b} 가 존재하는 경우, 이들은 독립적으로 하기 화학식들 중 하나를 갖는다.

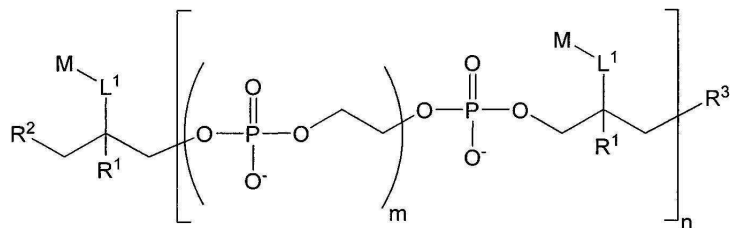


[0150]

[0151] 보다 많은 양태에서, L^2 , L^3 및 L^4 는, 각각의 발생 시, 독립적으로 C_1 - C_6 알킬렌, C_2 - C_6 알케닐렌 또는 C_2 - C_6 알키닐렌이다. 다른 양태에서, L^4 는, 각각의 발생 시, 독립적으로 C_1 - C_6 알킬렌, C_2 - C_6 알케닐렌 또는 C_2 - C_6 알키닐

렌이다. 예를 들어 일부 양태에서, 상기 화합물은 화학식 IC를 갖는다.

[화학식 IC]



상기 화학식 IC에서,

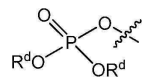
x^1 , x^2 , x^3 및 x^4 는, 각각의 발생 시, 독립적으로 0 내지 6의 정수이고;

y 는, 각각의 발생 시, 독립적으로 1 내지 6의 정수이다.

화학식 IC의 일부 양태에서, L^1 은, 각각의 발생 시, 독립적으로 트리아졸릴 관능성 그룹을 포함한다. 화학식 IC의 다른 양태에서, m 의 각각의 정수값에 대하여 y 는 2이다.

화학식 IC의 화합물의 특정 양태에서, x^3 및 x^4 는, 각각의 발생 시, 둘 다 2이다. 다른 양태에서, x^1 , x^2 , x^5 및 x^6 은, 각각의 발생 시, 각각 1이다. 상이한 양태에서, x^2 및 x^4 는 각각 0이고, x^3 은 1이다.

임의의 상기 화학식 I의 화합물의 다른 양태에서, R^4 는, 각각의 발생 시, 독립적으로 OH, O^- 또는 OR_d 이다. "OR_d" 및 "SR_d"는 양이온과 연관된 O^- 및 S^- 를 나타내는 것을 의도하는 것으로 이해된다. 예를 들어, 포스페이트 그룹의 이나트륨염이 다음과 같이 존재할 수 있다:



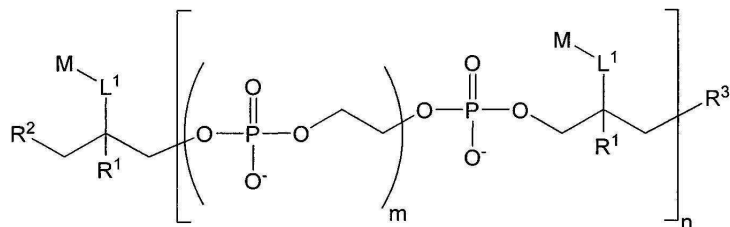
상기 화학식에서,

R_a 는 나트륨(Na^+)이다.

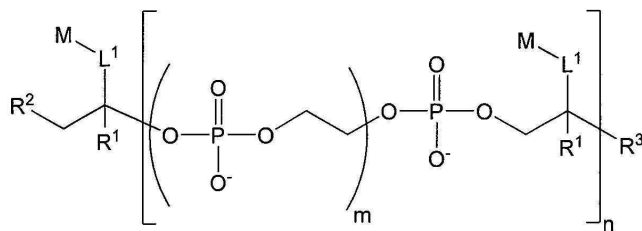
화학식 I의 임의의 화합물의 다른 양태에서, R^5 는, 각각의 발생 시, 옥소이다.

상이한 양태에서, 상기 화합물은 화학식 ID 또는 화학식 IE 중 하나를 갖는다.

[화학식 ID]



[0167] [화학식 IE]



[0168]

[0169] 화학식 ID 및 화학식 IE의 일부 특정 양태에서, L^1 은, 각각의 발생 시, 독립적으로 트리아졸릴 관능성 그룹을 포함한다.

[0170] 임의의 상기 화합물의 일부 상이한 양태에서, R^1 은 H이다.

[0171] 다른 다양한 양태들에서, R^2 및 R^3 은 각각 독립적으로 OH 또는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 이다. 일부 상이한 양태들에서, R^2 또는 R^3 은 OH 또는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 이고, R^2 또는 R^3 중 다른 하나는 Q이거나 또는 Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링커이다.

[0172] 다른 양태에서, Q는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 분석물 분자 또는 고체 지지체와 공유 결합을 형성할 수 있는 반응성 그룹을 포함하는 모이어티이다. 다른 양태에서, Q는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 상보적인 반응성 그룹 Q'와 공유 결합을 형성할 수 있는 반응성 그룹을 포함하는 모이어티이다. 예를 들어, 일부 양태에서 Q'는 화학식 I의 추가적인 화합물에 (예를 들어 R^2 또는 R^3 위치에) 존재하고, Q 및 Q'는 상보적인 반응성 그룹을 포함하여, 화학식 I의 화합물과 추가적인 화학식 I의 화합물의 반응이, 공유 결합된 화학식 I의 화합물의 이량체를 야기한다. 화학식 I의 다합체 화합물도 유사한 방식으로 제조할 수도 있으며, 본 발명의 양태의 범위에 포함된다.


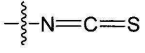
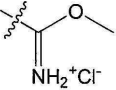
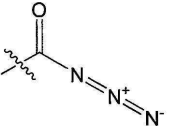
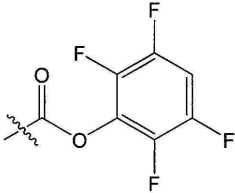
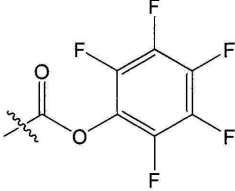
[0173] Q가 목적하는 결합을 형성하기에 적합한 반응성을 갖는 모이어티를 포함하는 경우, Q 그룹의 유형 및 화학식 I의 화합물의 나머지에 대한 Q 그룹의 연결은 제한되지 않는다.

[0174] 특정 양태에서 Q는, 수성 조건하에서 가수분해되기 어렵지만, 분석물 분자 또는 고체 지지체상에 상응하는 그룹과 결합을 형성하기에 충분히 반응성인 모이어티(예를 들어 아민, 아지드, 또는 알킨)이다.

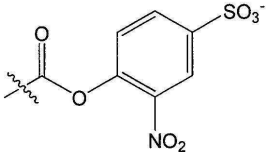
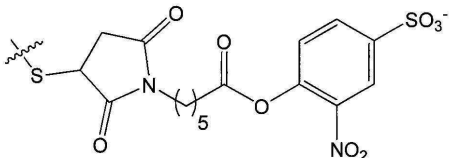
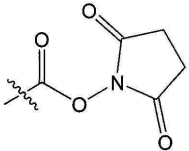
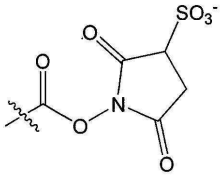
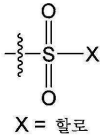
[0175] 화학식 I의 화합물의 특정 양태는 생체접합 분야에 통상적으로 사용되는 Q 그룹을 포함한다. 예를 들면 일부 양태에서, Q는 친핵성 반응성 그룹, 친전자성 반응성 그룹 또는 부가환화 반응성 그룹을 포함한다. 일부 보다 구체적인 양태에서, Q는 설프히드릴, 디설파이드, 활성화된 에스테르, 이소티오시아네이트, 아지드, 알킨, 알켄, 디엔, 친디엔체, 산 할라이드, 설포닐 할라이드, 포스핀, α -할로아미드, 비오틴, 아미노 또는 말레이미드 관능성 그룹을 포함한다. 일부 양태에서, 활성화된 에스테르는 N-석신이미드 에스테르, 이미도에스테르 또는 폴리플루오로페닐 에스테르이다. 다른 양태에서, 알킨은 알킬 아지드 또는 아실 아지드이다.

[0176] 예시적인 Q 모이어티는 하기 표 1에 제공된다.

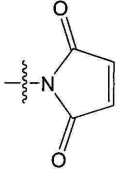
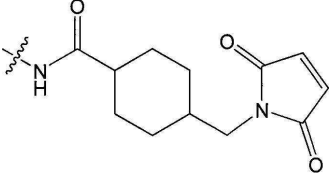
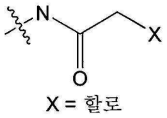
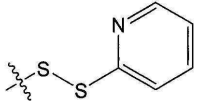
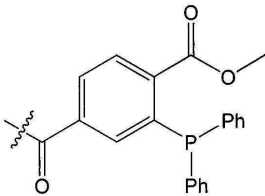


표 1

화학식	분류
	설프하이드릴
	이소티오시아네이트
	이미도에스테르
	아실 아지드
	활성화된 에스테르
	활성화된 에스테르

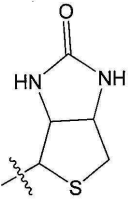
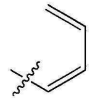

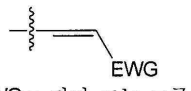
[0177]

화학식	분류
	활성화된 에스테르
	활성화된 에스테르
	활성화된 에스테르
	활성화된 에스테르
 <p>X = 할로</p>	설포닐 할라이드

[0178]

화학식	분류
	말레이미드
	말레이미드
 X = 할로	α -할로이미드
	디설파이드
	포스핀
	아지드
	알킨

[0179]

화학식	분류
	비오틴
	디엔
	알켄/친디엔체
 EWG = 전자 끄는 그룹	알켄/친디엔체
-NH ₂	아미노

[0180]

[0181]

Q가 SH인 일부 양태에서, SH 모이어티는 화학식 I의 또 다른 화합물 상에 또 다른 설프하이드릴 그룹과의 디설파이드 결합을 형성하는 경향이 있음을 주목해야 한다. 따라서, 일부 양태는 디설파이드 이량체 형태로 존재하는 화학식 I의 화합물을 포함하며 상기 디설파이드 결합은 SH Q 그룹으로부터 유도된다.

[0182]

일부 기타 양태에서, R² 또는 R³ 중 하나는 OH 또는 -OP(=R_a)(R_b)R_c이고, R² 또는 R³ 중 나머지는 분석물 분자에 대한 공유 결합을 포함하는 링커 또는 고체 지지체에 대한 공유 결합을 포함하는 링커이다. 예를 들면, 일부 양태에서, 분석물 분자는 핵산, 아미노산 또는 이의 중합체이다. 다른 양태에서, 분석물 분자는 효소, 수용체, 수용체 리간드, 항체, 당단백질, 앵타머 또는 프리온이다. 여전히 상이한 양태에서, 고체 지지체는 중합체성 비드 또는 비중합체성 비드이다.

[0183]

m에 대한 값은 바람직한 형광 및/또는 유색 강도에 기반하여 선택할 수 있는 또 다른 변수이다. 일부 양태에서, m은, 각각의 발생 시, 독립적으로 3 내지 10의 정수이다. 다른 실시 양태에서, m은, 각각의 발생 시, 독립적으로 7 내지 9의 정수이다. 다른 양태에서, m은, 각각의 발생 시, 독립적으로 1 내지 5의 정수, 예를 들어 1, 2, 3, 4 또는 5이다. 다른 양태에서, m은, 각각의 발생 시, 독립적으로 5 내지 10의 정수, 예를 들어 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이다. 다른 양태에서, 각각의 발생 시,의 m은 1 이상의 정수이다. 예를 들어, 일부 양태에서 각각의 발생 시,의 m은 2 이상 또는 3 이상의 정수이다.

[0184]

형광 강도는 상이한 n 값을 선택하여 조정할 수도 있다. 특정 양태에서, n은 1 내지 100의 정수이다. 다른 양태에서, n은 1 내지 10의 정수이다. 일부 양태에서, n은 1이다.

[0185]

M은 바람직한 광학 성질들에 기반하여, 예를 들면, 바람직한 색 및/또는 형광 발광 파장에 기반하여 선택된다. 일부 양태에서, M은 각각의 경우에 동일하지만, M의 각각의 경우는 동일한 M일 필요는 없고, 특정 양태는 M이 각각의 경우에 동일하지 않은 화합물을 포함함을 주목하는 것이 중요하다. 예를 들어, 일부 양태에서 각각의 M은 동일하지 않으며, 상이한 M 모이어티는 형광 공명 에너지 전이(FRET)법에 사용하기 위한 흡수 및/또는 방출을 갖는 것으로 선택된다. 예를 들어, 이러한 양태에서 상이한 M 모이어티가 선택되어, FRET 매커니즘에 의해 일 파장에서의 복사 흡수가 상이한 파장에서의 복사 방출을 유발한다. 예시적인 M 모이어티는 목적하는 최종 사용을 기준으로 하여 당해 기술 분야의 통상적인 숙련가에 의해 적합하게 선택될 수 있다. FRET법을 위한 예시적인 M 모이어티는 플루오레세인 및 5-TAMRA(5-카복시테트라메틸로드민, 석신이미딜 에스테르) 염료를 포함한

다.

- [0186] M은 M 상의 임의의 위치(즉, 원자)로부터 분자의 나머지에 부착될 수 있다. 당해 기술분야의 숙련가는 M을 분자의 나머지에 부착시키기 위한 수단으로 인식할 것이다. 예시적인 방법은 본원 명세서에 개시된 "클릭" 반응을 포함한다.
- [0187] 일부 양태에서, M은 형광 또는 유색 모이어티이다. 임의의 형광 및/또는 유색 모이어티가 사용될 수 있으며, 예를 들어 당해 기술분야에 공지되어 있으며 전형적으로 비색계, UV 및/또는 형광 분석에 사용되는 것이 사용될 수 있다. 본 발명의 다양한 양태에 유용한 M 모이어티들의 예는 다음을 포함하지만, 이로써 제한되지 않는다: 크산텐 유도체(예를 들면, 플루오레세인, 로다민, 오레곤 그립(Oregon green), 예오신 또는 텍사스 레드(Texas red)); 시아닌 유도체(예를 들면, 시아닌, 인도카보시아닌, 옥사카보시아닌, 티아카보시아닌 또는 메로시아닌); 세타(Seta), 세타우(SeTau) 및 스퀘어(Square) 염료를 포함하는 스쿠아레인 유도체 및 환-치환된 스쿠아레인; 나프탈렌 유도체(예를 들면, 단실 및 프로단 유도체); 쿠마린 유도체; 옥사디아졸 유도체(예를 들면, 피리딜옥사졸, 니트로벤즈옥사디아졸 또는 벤즈옥사디아졸); 안트라센 유도체(예를 들면, DRAQ5, DRAQ7 및 CyTRAK 오렌지(Orange)를 포함하는 안트라퀴논); 피렌 유도체, 예를 들면, 캐스케이드 블루(cascade blue); 옥사진 유도체(예를 들면, 나일 레드(Nile red), 나일 블루, 크레실 바이올렛, 옥사진 170); 아크리딘 유도체(예를 들면, 프로플라빈, 아크리딘 오렌지, 아크리딘 옐로우); 아릴메틴 유도체: 아우라민, 결정 바이올렛, 말라카이트 그린; 및 테트라피롤 유도체(예를 들면, 포르핀, 프탈로시아닌 또는 빌리루빈). M 모이어티들의 기타 예로 다음을 포함한다: 시아닌 염료, 크산테이트 염료(예를 들면, Hex, Vic, Nedd, Joe 또는 Tet); 야키마 옐로우(Yakima yellow); 레드몬드 레드(Redmond red); 탐라(tamra); 텍사스 레드 및 알렉사 플루오르(alexa fluor)® 염료.
- [0188] 상기 임의의 것 중 또 다른 양태에서, M은 3개 이상의 아릴 또는 헤테로아릴 환, 또는 이들의 조합, 예를 들면, 4개 이상의 아릴 또는 헤테로아릴 환, 또는 이들의 조합, 또는 5개 이상의 아릴 또는 헤테로아릴 환, 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, M은 6개의 아릴 또는 헤테로아릴 환, 또는 이의 조합을 포함한다. 추가의 양태에서, 환은 융합된다. 예를 들면, 일부 양태에서, M은 3개 이상의 융합된 환, 4개 이상의 융합된 환, 5개 이상의 융합된 환, 또는 심지어 6개 이상의 융합된 환을 포함한다.
- [0189] 일부 양태에서, M은 사이클릭이다. 예를 들면, 일부 양태에서 M은 카보사이클릭이다. 기타 양태에서, M은 헤테로사이클릭이다. 상기한 임의의 또 다른 양태에서, M은, 각각의 발생 시, 독립적으로 아릴 모이어티를 포함한다. 이들 양태의 일부에서, 아릴 모이어티는 멀티사이클릭이다. 기타 보다 구체적인 양태에서, 아릴 모이어티는, 예를 들면, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 심지어 4개 초과 아릴 환을 포함할 수 있는 융합된-멀티사이클릭 아릴 모이어티이다.
- [0190] 상기 화학식 I의 화합물 중 어느 하나의 다른 양태에서, M은, 각각의 발생 시, 독립적으로 적어도 하나의 헤테로 원자를 포함한다. 예를 들면, 일부 양태에서, 헤테로 원자는 질소, 산소 또는 황이다.
- [0191] 모든 상기한 것의 또 다른 양태에서, M은, 각각의 발생 시, 독립적으로 적어도 하나의 치환체를 포함한다. 예를 들면, 일부 양태에서, 치환체는 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도, 아미노, 알킬아미노, 아릴아미노, 하이드록시, 설프히드릴, 알콕시, 아릴옥시, 페닐, 아릴, 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 이소프로필, t-부틸, 카복시, 설포네이트, 아마이드, 또는 포릴 그룹이다.
- [0192] 상기의 일부 더 구체적인 양태에서, M은, 각각의 발생 시, 독립적으로 디메틸아미노스틸벤, 퀴나크리돈, 플루오로페닐-디메틸-BODIPY, his-플루오로페닐-BODIPY, 아크리딘, 테릴렌, 섹시페닐, 포르피린, 벤조피렌, (플루오로페닐-디메틸-디플루오로보라-디아자-인다센)페닐, (비스-플루오로페닐-디플루오로보라-디아자-인다센)페닐, 퀴터페닐, 바이-벤조티아졸, ter-벤조티아졸, 바이-나프틸, 바이-안트라실, 스쿠아레인, 스쿠아릴륨, 9,10-에티닐 안트라센 또는 ter-나프틸 모이어티이다. 다른 양태에서, M¹은, 각각의 발생 시, 독립적으로 p-테르페닐, 페릴렌, 아조벤젠, 페나진, 페난트롤린, 아크리딘, 티오크산트렌, 크리센, 루브렌, 코로넨, 시아닌, 페릴렌 이미드, 또는 페릴렌 아마이드 또는 이들의 유도체이다. 더 추가의 양태에서, M은, 각각의 발생 시, 독립적으로 쿠마린 염료, 레조루핀 염료, 디피로메텐보론 디플루오라이드 염료, 루테놀 바이피리딜 염료, 에너지 전달 염료, 티아졸 오렌지 염료, 폴리메틴 또는 N-아릴-1,8-나프탈이미드 염료이다.
- [0193] 모든 상기한 것의 또 다른 양태에서, M은, 각각의 경우에 동일하다. 다른 양태에서, 각각의 M은 상이하다. 더 추가의 양태에서, 하나 이상의 M은 동일하고 하나 이상의 M은 상이하다.
- [0194] 일부 양태에서, M은 피렌, 페릴렌, 페릴렌 모노이미드 또는 6-FAM 또는 이들의 유도체이다. 일부 기타 양태에

표 2

이름	화학식
I-1	
I-2	
I-3	
I-4	
I-5	
I-6	

[0198]

이름	화학식
I-7	
I-8	
I-9	
I-10	
I-11	
I-12	
I-13	

[0199]

이름	화학식
I-14	
I-15	
I-16	
I-17	

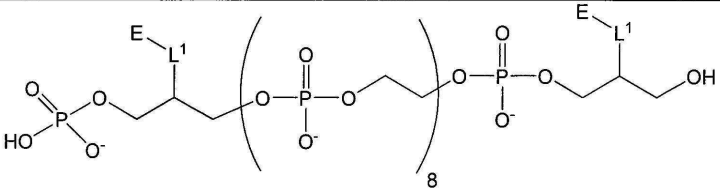
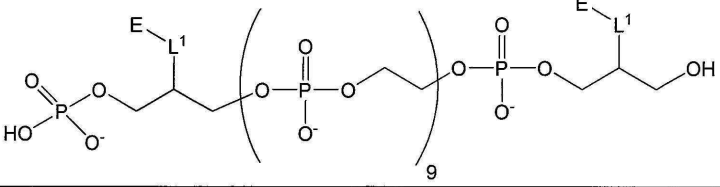
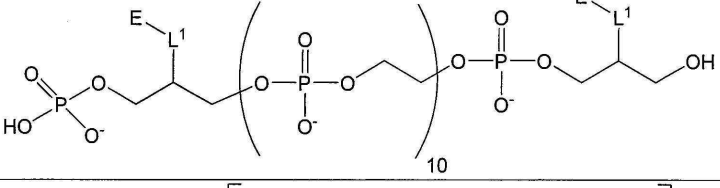
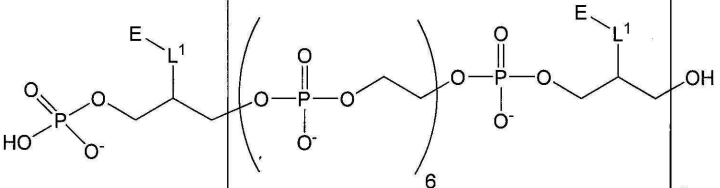
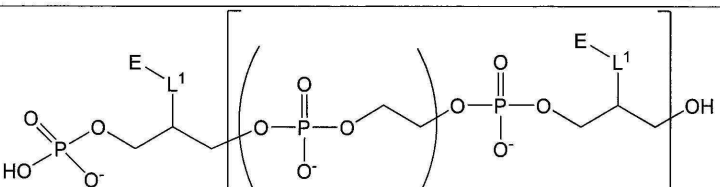
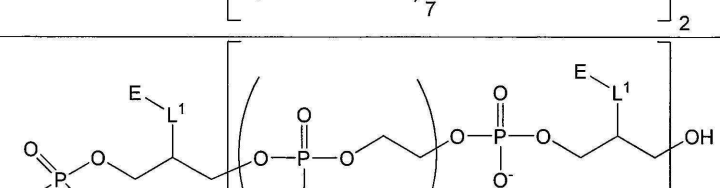
[0200]

이름	화학식
I-18	
I-19	
I-20	
I-21	

[0201]

이름	화학식
I-22	
I-23	
I-24	
I-25	
I-26	
I-27	

[0202]

이름	화학식
I-28	
I-29	
I-30	
I-31	
I-32	
I-33	

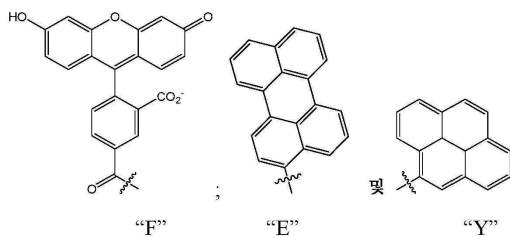
[0203]

이름	화학식
I-34	
I-35	
I-36	
I-37	
I-38	

[0204]

[0205]

표 2와 출원서 전반에 걸쳐 사용된 바와 같이, F, E 및 Y는 각각 플루오레세 인, 페릴렌 및 피렌 모이어티를 나타내며, 하기 구조를 갖는다:



[0206]

[0207]

표 2의 화합물 중의 L¹은, 화학식 I의 임의의 화합물에 대하여 본원 명세서에 정의된 바와 같다. 일부 특정 양태에서, 표 1의 화합물 중의 L¹은 트리아줄릴 그룹을 포함하는 모이어티이며, 상기 트리아줄릴은 알킨과 아지드의 반응에 의해 형성된다.

[0208]

현재 개시된 염료 화합물은 "조정가능"하며, 이는 상기 화합물 중 어느 하나의 변수의 적절한 선택에 의해, 당해 기술분야의 숙련가는 바람직한 및/또는 소정의 물 형광(물 휘도)을 갖는 화합물에 도달할 수 있음을 의미한다. 화합물의 조정가능성은 사용자가 특정 분석에서 또는 관심 있는 특정 분석물을 식별하기 위해 바람직한 형광 및/또는 색을 갖는 화합물에 쉽게 도달할 수 있도록 한다. 모든 변수들이 화합물의 물 형광에 대한 효과를 가질 수 있지만, M, m 및 n의 적절한 선택은 화합물의 물 형광에 있어 중요한 역할을 하는 것으로 여겨진다. 따라서, 하나의 양태에서 바람직한 물 형광을 갖는 화합물을 수득하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 공지된 형광을 갖는 M 모이어티를 선택하는 단계, M 모이어티를 포함하는 화학식 I의 화합물을 제조하는 단계 및 바람직

한 물 형광에 도달하기 위해 m 및 n 에 대한 적절한 변수를 선택하는 단계를 포함한다.

- [0209] 특정 양태에서 물 형광은 모 형광단(예를 들면, 단량체)의 형광 발광에 대한 배 증가 또는 감소로 표현될 수 있다. 일부 양태에서, 본 발명의 화합물의 물 형광은 모 형광단에 비해 1.1배, 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배 또는 그 이상이다. 다양한 양태는 m 및 n 의 적절한 선택에 의해 모 형광단에 비해 형광에서 바람직한 배 증가를 갖는 화합물의 제조를 포함한다.
- [0210] 설명을 용이하게 하기 위해, 인 모이어티들을 포함하는 다양한 화합물(예를 들면, 포스페이트 등)은 음이온 상태(예를 들면, $-OPO(OH)O^-$, $-OPO_3^{2-}$)로 도시된다. 당해 기술분야의 숙련가는 전하가 pH에 의존하고, 비전하(예를 들면, 양성자화된 또는 염, 예를 들면, 나트륨 또는 다른 양이온) 형태가 또한 본 발명 양태들의 범주에 포함됨을 용이하게 이해할 것이다.
- [0211] 상기 화합물 중 어느 하나 및 하나 이상의 분석물 분자(예를 들면, 생체 분자)를 포함하는 조성물이 다양한 다른 양태에서 제공된다. 일부 양태에서, 하나 이상의 분석물 분자를 검출하기 위한 분석 방법에서의, 이러한 조성물의 용도가 또한 제공된다.
- [0212] 또 다른 양태에서, 화합물은 다양한 분석 방법에서 유용하다. 예를 들면, 특정 양태에서 본 개시내용은 샘플을 염색하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 샘플을 적절한 파장에서 조사(illustrated)하는 경우 광학 반응을 유발하기에 충분한 양의 화학식 I의 화합물(여기서, 예를 들어 R^2 또는 R^3 중 하나는 분석물 분자(예를 들면, 생체 분자) 또는 미세입자에 대한 공유 결합을 포함하는 링커이고, R^2 또는 R^3 중 나머지는 H, OH, 알킬, 알콕시, 알킬에테르 또는 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 이다)을 상기 샘플에 첨가하는 단계를 포함한다.
- [0213] 상기 방법의 일부 양태에서, R^2 는 생체 분자와 같은 분석물 분자에 대한 공유 결합을 포함하는 링커이다. 예를 들면, 핵산, 아미노산 또는 이의 중합체(예를 들면, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드)이다. 또 다른 양태에서, 생체 분자는 효소, 수용체, 수용체 리간드, 항체, 당단백질, 앵타머 또는 프리온이다.
- [0214] 상기 방법의 또 다른 양태에서, R^2 는 미세입자와 같은 고체 지지체에 대한 공유 결합을 포함하는 링커이다. 예를 들면, 일부 양태에서, 미세입자는 중합체성 비드 또는 비중합체성 비드이다.
- [0215] 또 다른 양태에서, 상기 광학 반응은 형광 반응이다.
- [0216] 다른 양태에서, 상기 샘플은 세포를 포함하고, 일부 양태는 유동 세포계측법에 의해 상기 세포를 관찰하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0217] 또 다른 양태에서, 상기 방법은 형광 반응을, 검출가능하게 상이한 광학 성질들을 갖는 제2 형광의 형광 반응과 구별하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0218] 다른 양태에서, 본 개시내용은 생체 분자와 같은 분석물 분자를 시각적으로 검출하기 위한 방법이 제공되며, 상기 방법은
- [0219] (a) 화학식 I의 화합물(여기서, 예를 들어 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 $-OP(=R_a)(R_b)R_c$ 이다)을 제공하는 단계; 및
- [0220] (b) 상기 화합물을 이의 시각적 성질들에 의해 검출하는 단계
- [0221] 를 포함한다.
- [0222] 일부 양태에서, 분석물 분자는 핵산, 아미노산 또는 이의 중합체(예를 들면, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드)이다. 또 다른 양태에서, 분석물 분자는 효소, 수용체, 수용체 리간드, 항체, 당단백질, 앵타머 또는 프리온이다.
- [0223] 다른 양태에서, 생체 분자와 같은 분석물 분자를 시각적으로 검출하기 위한 방법이 제공되며, 상기 방법은
- [0224] (a) 상기 화합물 중 어느 하나를 하나 이상의 분석물 분자와 혼합하는 단계; 및
- [0225] (b) 상기 화합물을 이의 시각적 성질들에 의해 검출하는 단계
- [0226] 를 포함한다.

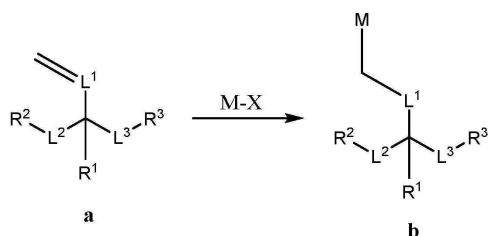
- [0227] 다른 양태에서, 다음 단계들을 포함하는 분석물 분자를 시각적으로 검출하기 위한 방법이 제공된다:
- [0228] (a) R^2 또는 R^3 이 Q이거나 또는 Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링커인 제1항에 개시된 화합물을 분석물 분자와 혼합하는 단계;
- [0229] (b) 상기 화합물과 상기 분석물 분자의 접합체를 형성하는 단계; 및
- [0230] (c) 이의 가시적 성질들에 의해 상기 접합체를 검출하는 단계.
- [0231] 일부 다른 상이한 양태에서, 화학식 I의 화합물은 세포 분석을 위한 다양한 방법에 사용될 수 있다. 예를 들면, 유동 세포계측법을 사용하여, 화합물은 생존 세포와 죽은 세포를 구별하고, 세포의 건강을 평가하고(예를 들면, 괴사 대 조기 아포토시스 대 후기 아포토시스 대 생존 세포), 세포 주기 동안 배수체와 유사분열을 추적하고, 세포 증식의 다양한 상태를 결정하기 위해 사용될 수 있다. 이론으로 결부시키고자 하는 것은 아니나, 화학식 I의 화합물의 양태는 양으로 하전된 모이어티와 우선적으로 결합한다고 여겨진다. 따라서, 일부 양태에서, 상기 화합물은 비-온전한 세포, 예를 들면, 괴사성 세포의 존재를 결정하기 위한 방법에 사용될 수 있다. 예를 들면, 세포를 함유하는 샘플을 화학식 I의 화합물과 혼합하는 단계 및 상기 혼합물을 유동 세포계측법으로 분석하는 단계에 의해 괴사성 세포의 존재를 결정할 수 있다. 화학식 I의 화합물은 괴사성 세포와 결합하고, 따라서 존재는 유동 세포계측법 조건하에 검출가능하다. 괴사성 세포에 결합하기 위해 아민 반응성 그룹을 필요로 하는 다른 염색 시약과는 달리, 화학식 I의 화합물을 사용하는 염색 방법의 양태는 단백질-비함유 배양 완충액을 필요로 하지 않으며, 따라서 상기 방법은 관련된 공지된 방법보다 수행하기에 보다 효율적이다.
- [0232] 다양한 기타 양태에서, 화합물은 온전한 또는 비-온전한 세포, 아포토시스성체, 탈분극된 막 및/또는 투과성 막에서 양으로 하전된 모이어티의 존재를 결정하기 위한 관련 방법에 사용될 수 있다.
- [0233] 상기 방법 이외에, 화학식 I의 화합물의 양태는 다음을 포함하지만 이에 제한되지 않는 다양한 학문분야 및 방법에서 유용성을 발견한다: 암성 및 기타 조직의 확인을 위한 내시경검사 절차의 영상화; 화합물의 죽은 세포로의 우선적 결합에 의한 괴사 조직의 동정; 단일-세포 및/또는 단일 분자 분석 방법, 예를 들면, 증폭이 거의 또는 전혀 없는 폴리뉴클레오타이드의 검출; 예를 들면, 암 세포에 우선적으로 결합하는 항체 또는 당 또는 기타 모이어티에 화학식 I의 화합물을 접합시킴에 의한 암 영상화; 수술 절차의 영상화; 각종 질병의 동정을 위한 히스톤의 결합; 예를 들면, 화학식 I의 화합물에서의 M 모이어티를 활성 약물 모이어티로 대체함에 의한 약물 전달; 및/또는 예를 들면, 화학식 I의 화합물을 다양한 식물 및/또는 유기체에 우선적으로 결합시킴에 의한 치료 작업 및 기타 절차에서의 조영제.
- [0234] 상기 서술된 바와 같은 화학식 I의 화합물의 임의의 양태, 및 상기 서술된 바와 같은 화학식 I의 화합물에서의 R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , L^1 , L^2 , L^3 , L^4 , M, m 및/또는 n 변수에 대해 본원에 서술된 임의의 구체적 선택이, 독립적으로 화학식 I의 화합물의 다른 양태 및/또는 변수와 조합되어 상기에서 구체적으로 서술되지 않은 본 발명의 양태를 형성할 수 있음이 이해된다. 또한, 선택의 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 , M, m 및/또는 n 변수에 대해 열거되어 있는 경우, 각각의 개별 선택은 특정 양태 및/또는 청구범위로부터 제거될 수 있고 나머지 선택 목록은 본 발명의 범주 내에 있는 것으로 간주될 것이라는 점이 이해된다.
- [0235] 본 개시내용에서, 도시된 화학식의 치환체 및/또는 변수의 조합은 이러한 기여가 안정한 화합물을 초래하는 경우에만 허용되는 것으로 이해된다.
- [0236] 또한, 본원에 기재된 공정에서 중간체 화합물의 관능성 그룹이 적합한 보호 그룹에 의해 보호될 필요가 있음을 당해 기술분야의 숙련가에 의해 인식될 것이다. 이러한 관능성 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 당해 기술분야의 숙련가에게 공지되고 본원에 기재된 바와 같이, 표준 기법에 따라서 첨가되거나 제거될 수 있다. 보호 그룹의 사용은 문헌[Green, T.W. and P.G.M. Wutz, *Protective group in Organic Synthesis* (1999), 3rd Ed., Wiley]에 상세히 기술되어 있다. 당해 기술분야의 숙련가가 인식할 수 있는 바와 같이, 보호 그룹은 또한 중합체 수지,

예를 들면, 왕(Wang) 수지, 링크(Rink) 수지 또는 2-클로로트리틸-클로라이드 수지일 수 있다.

[0237] 또한, 유리 염기 또는 산 형태로 존재하는 본 발명의 모든 화합물은 당해 기술분야의 숙련가에게 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.

[0238] 하기 반응식은 본 발명의 화합물을 제조하는 예시적 방법을 설명한다. 당해 기술분야의 숙련가에게 공지된 다른 방법을 조합함으로써 또는 유사한 방법에 의해 이들 화합물을 제조할 수 있음이 이해된다. 또한, 당해 기술분야의 숙련가가, 이하에 기재된 바와 유사한 방식으로, 필요에 따라 적절한 출발 성분을 사용하고 합성의 파라미터를 변경함으로써 이하에 구체적으로 설명되지 않은 화학식 I의 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 플루오로켄 유에스에이(Fluorochem USA) 등과 같은 공급처로부터 구입할 수 있거나, 당해 기술분야의 숙련가에게 공지된 공급처(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.

[0239] 반응식 I

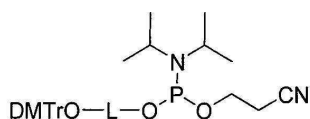


[0240]

[0241] 반응식 I은 화학식 I의 화합물을 제조하기에 유용한 중간체의 화합물의 예시적인 제조 방법을 설명한다. R^1 , L^1 , L^2 , L^3 , G 및 M이 상기 정의된 바와 같고, R^2 및 R^3 이 상기 정의된 바와 같거나 이의 보호된 변이체인 반응식 I을 참조로 하면, 구입하거나 익히 공지된 기술에 의해 제조할 수 있는 구조 a의 화합물을 M-G'와 반응시켜 구조 b의 화합물을 수득한다. 여기서, G 및 G'는 상보적인 반응성을 갖는 관능성 그룹(즉, 반응하여 공유 결합을 형성하는 관능성 그룹)을 나타낸다. G'는 M의 펜던트이거나 M의 구조 골격의 일부일 수 있다. G는 본원 명세서에 개시된 알킨과 같은 다양한 관능성 그룹일 수 있으며, G'는 다양한 관능성 그룹, 예를 들어 아지드일 수 있다.

[0242] 화학식 I의 화합물은, 화학식 c를 갖는 포스포아미다이트 화합물을 사용하는 널리 공지된 자동화된 DNA 합성 조건하에서의 반응에 이어, 화학식 b의 또 다른 화합물과의 반응에 의해, 화학식 b로부터 제조할 수 있다.

[0243] [화학식 c]



[0244]

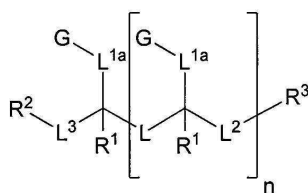
[0245] 상기 화학식 c에서,

[0246] L은 독립적으로 임의의 링커이다.

[0247] 화학식 I의 다합체 화합물은, DNA 합성 조건하에서 목적하는 수의 화학식 b의 화합물을 적합한 포스포아미다이트 시약과 순차적으로 반응시켜 제조된다.

[0248] 다르게는, 화학식 I의 화합물은, 일반적인 DNA 합성 조건하에서 우선 화학식 d를 갖는 이량체성 또는 올리고머성 화합물을 합성한 후, 상기 화학식 d의 화합물을 $M-L^{1b}-G'$ 와 반응시켜 제조하며, 여기서, M, L^{1b} 및 G'는 화학식 II의 화합물 및 연관된 방법에 대하여 본원 명세서에 정의된 바와 같다.

[0249] [화학식 d]



[0250]

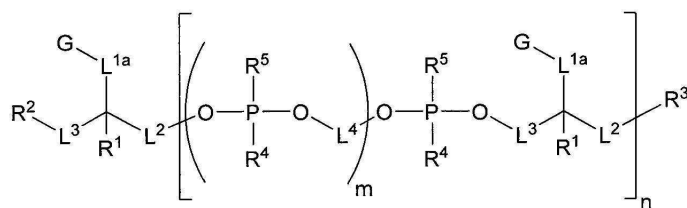
[0251] 상기 화학식 d에서,

[0252] G, L^{1a}, L², L³, R¹, R², R³ 및 n은 화학식 II의 화합물에 대하여 본원 명세서에 정의된 바와 같다.[0253] DNA 합성 방법은 당해 기술분야에 익히 공지되어 있다. 간단히 말해서, 2개의 알코올 그룹, 예를 들면, 중간체 b 또는 d에서 R² 및 R³이 디메톡시트리틸(DMT) 그룹 및 2-시아노에틸-N,N-디이소프로필아미노 포스포아미다이트 그룹 각각으로 관능화시킨다. 포스포아미다이트 그룹을 전형적으로 활성화제, 예를 들면, 테트라졸의 존재하에 알코올 그룹에 커플링시킨 후에, 인 원자를 요오드로 산화시킨다. 디메톡시트리틸 그룹을 산(예를 들면, 클로로아세트산)을 사용하여 제거하여 유리 알코올을 노출시키고, 이는 포스포아미다이트 그룹과 반응시킬 수 있다. 2-시아노에틸 그룹을 수성 암모니아로 처리함에 의해 올리고머화 후에 제거할 수 있다.[0254] 올리고머화 방법에서 사용되는 포스포아미다이트의 제조는 또한 당해 기술분야에 익히 공지되어 있다. 예를 들면, 1급 알코올(예를 들면, R³)은 DMT-Cl과의 반응에 의해 DMT 그룹으로서 보호될 수 있다. 이어서, 2급 알코올(예를 들면, R²)을 2-시아노에틸 N,N-디이소프로필클로로포스포아미다이트와 같은 적절한 시약과의 반응에 의해 포스포아미다이트로서 관능화시킨다. 포스포아미다이트의 제조 방법 및 포스포아미다이트의 올리고머화는 당해 기술분야에 익히 공지되어 있고 실시예에서 보다 상세히 기술된다.

[0255] 화학식 I의 화합물은 상기 개시된 널리 공지된 포스포아미다이트 화학에 따라 중간체 b의 올리고머화에 의해 제조된다. 목적하는 수의 m 및 n 반복 단위는 목적하는 횟수의 포스포아미다이트 커플링을 반복함으로써 상기 분자에 포함된다. 하기 개시하는 바와 같은 화학식 II의 화합물이 유사한 방식으로 제조될 수 있음이 자명할 것이다.

[0256] 다양한 다른 양태에서, 화학식 I의 화합물을 제조하기에 유용한 화합물이 제공된다. 상기 화합물은 단량체, 이량체 및/또는 올리고머 형태로 제조된 후, M 모이어티는 임의의 수의 합성 방법론(예를 들어 상기 개시된 "클릭" 반응)을 통해 상기 화합물에 공유 부착되어, 화학식 I의 화합물을 형성할 수 있다. 따라서, 다양한 양태에서 화학식 II를 갖는 화합물, 또는 이의 입체 이성질체, 염 또는 토토머가 제공된다.

[0257] [화학식 II]



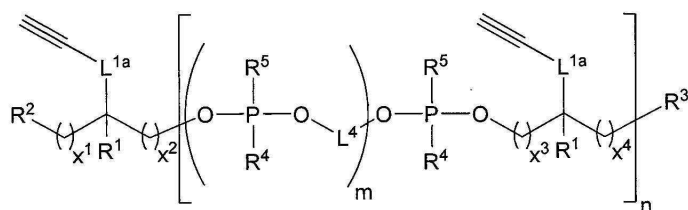
[0258]

[0259] 상기 화학식 II에서,

[0260] G는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 상보적인 반응성 그룹과 공유 결합을 형성할 수 있는 반응성 그룹을 포함하는 모이어티이고;

[0261] L^{1a}, L² 및 L³은, 각각의 발생 시, 독립적으로, 임의의 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌, 헤테로알킬렌, 헤테로알케닐렌, 헤테로알키닐렌 또는 헤테로원자성 링커이고;[0262] L⁴는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌, 헤테로알킬렌, 헤테로알케닐렌 또는 헤테로알키닐렌 링커이고;

- [0263] R^1 은, 각각의 발생 시, 독립적으로, H, 알킬 또는 알콕시이고;
- [0264] 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, 고체 지지체에 대한 공유 결합을 포함하는 링커, 또는 추가적인 화학식 II의 화합물에 대한 공유 결합을 포함하는 링커이며, 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 짝이온이며;
- [0265] R^4 는, 각각의 발생 시, 독립적으로, OH, SH, O^- , S^- , OR_d 또는 SR_d 이고;
- [0266] R^5 는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 옥소, 티옥소이거나 부재하고;
- [0267] Q은, 각각의 발생 시, 독립적으로, 분석물 분자, 고체 지지체 또는 상보적인 반응성 그룹 Q'와 공유 결합을 형성할 수 있는 반응성 그룹을 포함하는 모이어티이고;
- [0268] m은, 각각의 발생 시, 독립적으로, 0 이상의 정수이고;
- [0269] n은 1 이상의 정수이다.
- [0270] 일부 양태에서, 하나 이상의 발생에 있어서, m은 1 이상의 정수이다. 다른 양태에서, 하나 이상의 발생에 있어서, m은 2 이상의 정수이다. 상이한 양태에서, 하나 이상의 발생에 있어서, m은 3 이상의 정수이다.
- [0271] 화학식 II의 화합물 중의 G 모이어티는, M 모이어티상에 상보적인 그룹과 공유 결합을 형성하기 위하여 적합한 반응성 그룹을 갖는 그룹을 포함하는 임의의 모이어티로부터 선택될 수 있다. 예시적인 양태에서 G 모이어티는, 표 1에 제공된 특정 예를 포함하여 본원 명세서에 개시된 임의의 Q 모이어티로부터 선택될 수 있다. 일부 양태에서, G는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 다음을 포함하는 반응에 대하여 적합한 모이어티를 포함한다: 트리아졸을 형성하기 위한 아지드와 알킨의 구리 촉매화된 반응(후이스켄 1,3-쌍극성 부가환화), 디엔 및 친디엔체의 반응(딜스-알더), 변형 촉진된 알킨-니트론 부가환화, 변형된 알켄과 아지드, 테트라진 또는 테트라졸의 반응, 알켄 및 아지드 [3+2] 부가환화, 알켄 및 테트라진 역요구 딜스-알더, 알켄 및 테트라졸 광반응 및 다양한 치환 반응, 예를 들어 친전자성 원소에 대한 친핵성 공격에 의한 이탈 그룹의 치환.
- [0272] 일부 양태에서, G는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 알데하이드, 옥심, 하이드라존, 알킨, 아민, 아지드, 아실아지드, 아실할라이드, 니트릴, 니트론, 설프하이드릴, 디설파이드, 설포닐 할라이드, 이소티오시아네이트, 이미도 에스테르, 활성화된 에스테르, 케톤, α, β -불포화 카보닐, 알켄, 말레이미드, α -할로이미드, 에폭사이드, 아지리딘, 테트라진, 테트라졸, 포스핀, 비오틴 또는 티란 관능성 그룹을 포함하는 모이어티이다.
- [0273] 다른 양태에서, G는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 알킨 또는 아지드 그룹을 포함한다. 상이한 양태에서, G는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 상보적인 반응성 그룹과 반응 시, 알켄, 에스테르, 아마이드, 티오에스테르, 디설파이드, 카보사이클릭, 헤테로사이클릭 또는 헤테로아릴 그룹을 포함하는 관능성 그룹을 형성할 수 있는 반응성 그룹을 포함한다. 예를 들어 일부 양태에서 헤테로 아릴은 트리아졸릴이다.
- [0274] 일부 양태에서, 상기 화합물은 화학식 IIA를 갖는다.
- [0275] [화학식 IIA]



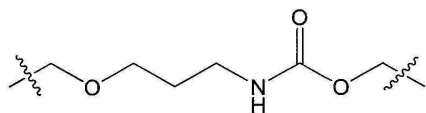
[0276]

[0277] 상기 화학식 IIA에서,

[0278] L^{1a} 및 L^{1b} 는, 각각의 발생 시, 독립적으로 임의의 링커이고;

[0279] x^1 , x^2 , x^3 및 x^4 는, 각각의 발생 시, 독립적으로 0 내지 6의 정수이다.

[0280] 화학식 II 및 화학식 IIA의 일부 특정 양태에서, 각각 L^{1a} 가 부재한다. 다른 양태에서 각각 L^{1a} 가 존재한다. 예를 들어, 일부 양태에서 L^{1a} 는, 각각의 발생 시, 독립적으로 헤테로알킬렌이다. 다른 양태에서, L^{1a} 는 하기 화학식을 갖는다:

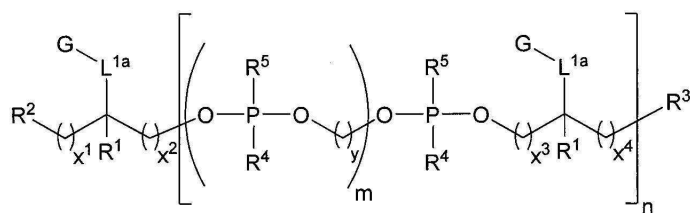


[0281]

[0282] 화학식 II의 화합물의 다양한 다른 양태에서, L^2 , L^3 , L^4 는, 각각의 발생 시, 독립적으로, C_1 - C_6 알킬렌, C_2 - C_6 알케닐렌 또는 C_2 - C_6 알키닐렌이다. 일부 다른 양태에서, L^4 는, 각각의 발생 시, 독립적으로, C_1 - C_6 알킬렌, C_2 - C_6 알케닐렌 또는 C_2 - C_6 알키닐렌이다.

[0283] 다른 양태에서, 상기 화합물은 화학식 IIB를 갖는다.

[0284] [화학식 IIB]



[0285]

[0286] 상기 화학식 IIB에서,

[0287] x^1 , x^2 , x^3 및 x^4 는, 각각의 발생 시, 독립적으로 0 내지 6의 정수이고;

[0288] y는 1 내지 6의 정수이다.

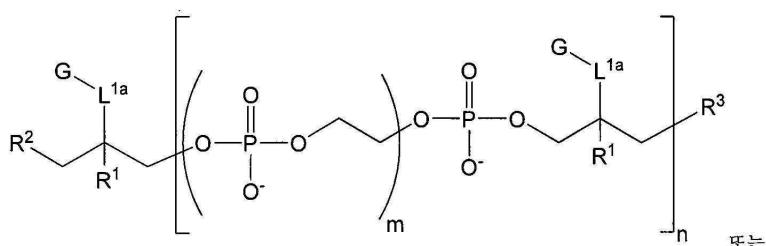
[0289] 상기 화학식 II의 다른 임의의 양태에서, G는, 각각의 발생 시, 독립적으로 $\text{---}\equiv$ 또는 $\text{---}\text{N}_3$ 이다.

[0290] 화학식 IIA의 화합물의 다양한 양태에서, x^3 및 x^4 는, 각각의 발생 시, 둘 다 2이다. 다른 양태에서, x^1 , x^2 , x^5 및 x^6 은, 각각의 발생 시, 각각 1이다. 다른 양태에서, y는 m의 각각의 정수값에 대하여 2이다.

[0291] 다른 양태에서, R^4 는, 각각의 발생 시, 독립적으로 OH, O^- 또는 OR_d 이고, 상이한 양태에서 R^5 는, 각각의 발생 시, 옥소이다.

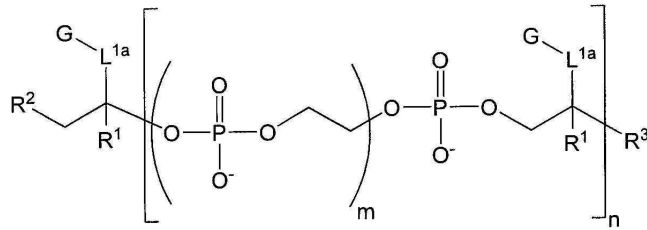
[0292] 일부 상이한 양태에서, 상기 화합물은 화학식 IID 또는 화학식 IIE 중 하나를 갖는다.

[0293] [화학식 IID]



[0294]

[0295] [화학식 IIE]



[0296]

[0297] 임의의 상기 화학식 II의 화합물의 일부 양태에서, G는, 각각의 발생 시, 독립적으로 $\text{---}\equiv$ 또는 $\text{---}\text{N}_3$ 이다.

[0298] 임의의 상기 화학식 II의 화합물의 일부 다른 상이한 양태에서, R¹은 H이다.

[0299] 화학식 II의 화합물의 다른 다양한 양태에서, R² 및 R³은 각각 독립적으로 OH 또는 -OP(=R_a)(R_b)R_c이다. 일부 상이한 양태에서, R² 또는 R³은 OH 또는 -OP(=R_a)(R_b)R_c이고, R² 또는 R³ 중 다른 것은 Q이거나 또는 Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링커이다.

[0300] 화학식 II의 다른 양태에서, Q는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 분석물 분자 또는 고체 지지체와 공유 결합을 형성할 수 있는 반응성 그룹을 포함하는 모이어티이다. 다른 양태에서, Q는, 각각의 발생 시, 독립적으로, 상보적인 반응성 그룹 Q'와 공유 결합을 형성할 수 있는 반응성 그룹을 포함하는 모이어티이다. 예를 들어 일부 양태에서, Q'는 화학식 II의 추가적인 화합물에 (예를 들어 R² 또는 R³ 위치에) 존재하고, Q 및 Q'는 상보적인 반응성 그룹을 포함하여, 화학식 II의 화합물과 화학식 II의 추가적인 화합물의 반응이 공유 결합된 화학식 II의 화합물의 이량체를 야기한다. 화학식 II의 다량체 화합물도 유사한 방식으로 제조될 수 있으며, 이는 본 발명의 양태의 범위 내에 포함된다.

[0301] Q가 목적하는 결합을 형성하기 위한 적합한 반응성을 갖는 모이어티를 포함하는 경우, Q 그룹의 유형 및 화학식 II의 화합물의 나머지 부분에 대한 Q 그룹의 연결은 제한되지 않는다.

[0302] 화학식 II의 화합물의 특정 양태에서 Q는, 수성 조건하에서 가수분해되기 어렵지만, 분석물 분자 또는 고체 지지체상에 상응하는 그룹과 결합을 형성하기에 충분히 반응성인 모이어티(예를 들어 아민, 아지드, 또는 알킨)이다.

[0303] 화학식 II의 화합물의 특정 양태는 이중 공액의 영역에서 일반적으로 사용되는 Q 그룹을 포함한다. 예를 들어 일부 양태에서, Q는 친핵성 반응성 그룹, 친전자성 반응성 그룹, 또는 부가환화 반응성 그룹을 포함한다. 일부 보다 특정일양태에서, Q는 설포하이드릴, 디설파이드, 활성화된 에스테르, 이소티오시아네이트, 아지드, 알킨, 알켄, 디엔, 친디엔체, 산 할라이드, 설포닐 할라이드, 포스핀, α-할로아미드, 비오틴, 아미노 또는 말레이미드 관능성 그룹을 포함한다. 일부 양태에서, 활성화된 에스테르는 N-석신이미드 에스테르, 이미도에스테르 또는 폴리플루오로페닐 에스테르이다. 다른 양태에서, 알킨은 알킬 아지드 또는 아실 아지드이다.

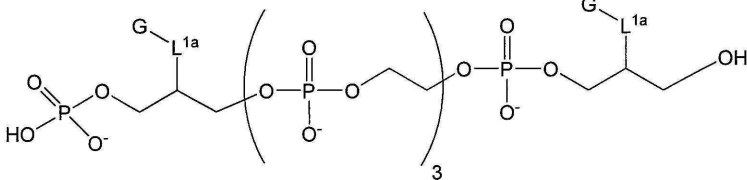
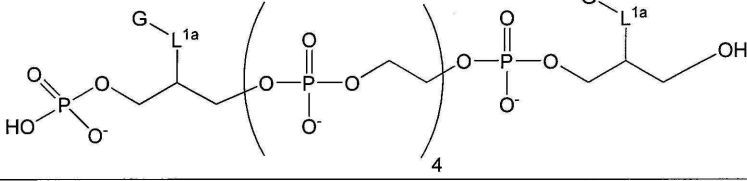
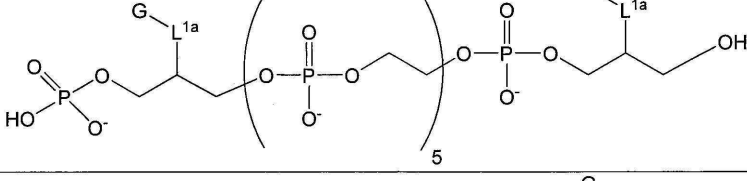
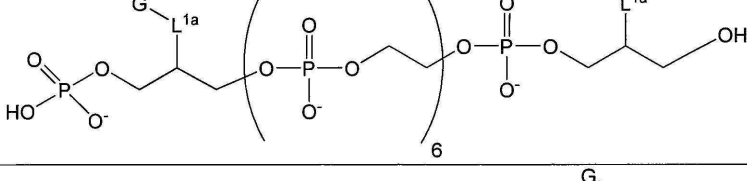
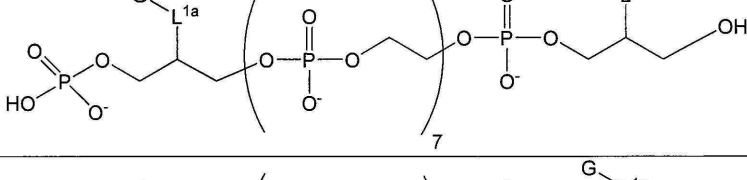
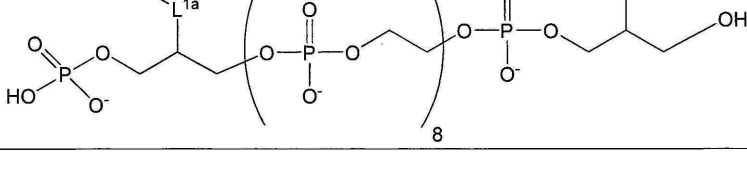
[0304] 화학식 II의 화합물에 대한 예시적인 Q 모이어티는 상기 표 1에 제공된다.

[0305] 화학식 I의 화합물에서와 같이, Q가 SH인 화학식 II의 화합물의 일부 양태에서, 상기 SH 모이어티는 또 다른 화학식 II의 화합물상의 또 다른 설포하이드릴 그룹과 디설파이드 결합을 형성하는 경향이 있다. 따라서, 일부 양태는, 디설파이드 결합이 SH Q 그룹으로부터 유도된 것인, 디설파이드 이량체 형태인 화학식 II의 화합물을 포함한다.

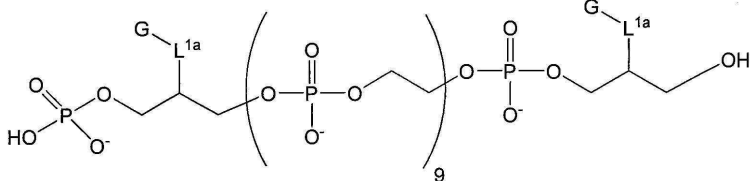
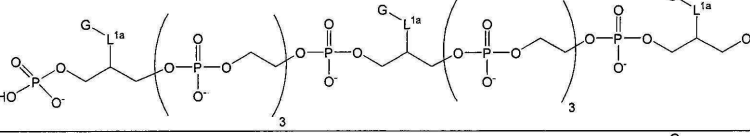
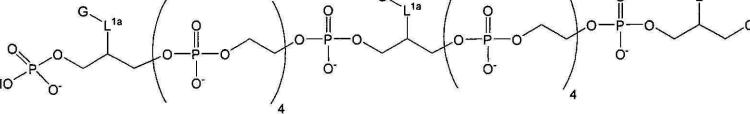
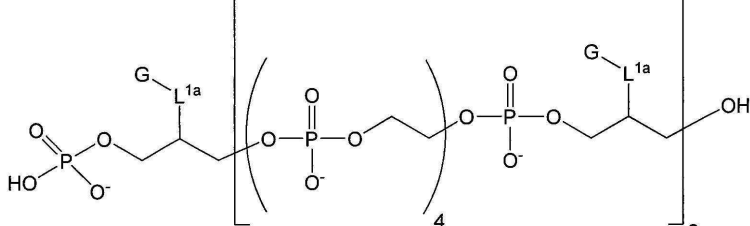
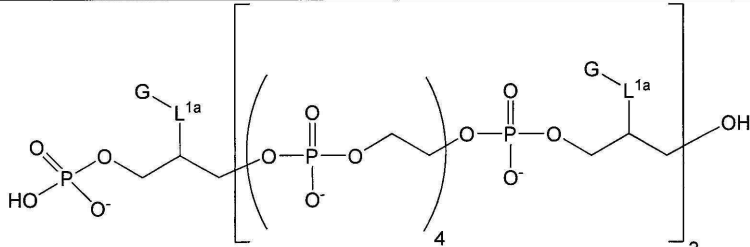
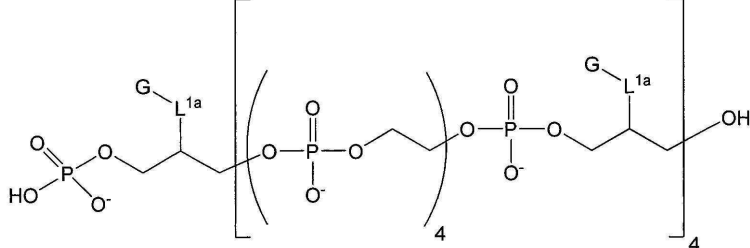
[0306] 화학식 II의 화합물의 일부 다른 양태에서, R² 또는 R³ 중 하나는 OH 또는 -OP(=R_a)(R_b)R_c이고, R² 또는 R³ 중 다른 하나는 분석물 분자에 대한 공유 결합을 포함하는 링커 또는 고체 지지체에 대한 공유 결합을 포함하는 링커이다. 예를 들어 일부 양태에서, 분석물 분자는 핵산, 아미노산, 또는 이들의 중합체이다. 다른 양태에서, 분석물 분자는 효소, 수용체, 수용체 리간드, 항체, 당단백질, 앵타머 또는 프리온이다. 다른 양태에서, 고체 지지체는 중합체성 비드 또는 비중합체성(nonpolymeric) 비드이다.

- [0307] 화학식 II의 화합물의 다른 양태에서, m은, 각각의 발생 시, 독립적으로 1 내지 10, 3 내지 10, 또는 7 내지 9의 정수이다. 다른 양태에서, m은, 각각의 발생 시, 독립적으로 1 내지 5의 정수이다. 다른 양태에서, 각각의 발생의 m은 1 이상의 정수이다. 예를 들어 일부 양태에서, 각각의 발생의 m은 2 이상 또는 3 이상의 정수이다.
- [0308] 화학식 II의 화합물의 상이한 양태에서, n은 1 내지 100의 정수이다. 예를 들어 일부 양태에서 n은 1 내지 10의 정수이다.
- [0309] 다른 상이한 양태에서, 화학식 II의 화합물은 표 3으로부터 선택된다.

표 3

이름	화학식
II-1	
II-2	
II-3	
II-4	
II-5	
II-6	

[0310]

이름	화학식
II-7	
II-8	
II-9	
II-10	
II-11	
II-12	

[0311]

이름	화학식
II-13	
II-14	
II-15	
II-16	

[0312]

이름	화학식
II-17	
II-18	
II-19	
II-20	

[0313]

이름	화학식
II-21	
II-22	

[0314]

[0315]

화학식 II의 화합물은 다양한 방법에서, 예를 들어 다음 단계들을 포함하는 분석물 분자를 표지하기 위한 방법이 제공되는 양태에서 사용될 수 있다:

- [0316] (a) R^2 또는 R^3 이 Q이거나 또는 Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링커인 임의의 개시된 화학식 I의 화합물을 분석물 분자와 혼합하는 단계;
- [0317] (b) 상기 화합물과 상기 분석물 분자의 접합체를 형성하는 단계; 및
- [0318] (c) 상기 접합체를 화학식 $M-L^{1b}-G'$ 의 화합물과 반응시켜, 하나 이상의 G와 하나 이상의 G'의 반응에 의해 1개 이상의 공유 결합을 형성하는 단계로서,
- [0319] 여기서,
- [0320] M은 2개 이상의 탄소-탄소 이중 결합 및 1 이상의 공액도를 포함하는 모이어티이고;
- [0321] L^{1b} 는 임의의 알킬렌, 헤테로알킬렌 또는 헤테로원자성 링커이고;
- [0322] G'는 G에 대해 상보적인 반응성 그룹인 단계.
- [0323] 상이한 양태는 다음 단계들을 포함하는 분석물 분자를 표지하기 위한 방법이다:
- [0324] (a) R^2 또는 R^3 이 Q이거나 또는 Q에 대한 공유 결합을 포함하는 링커인 본원 명세서에 개시된 화학식 II의 임의의 화합물을 화학식 $M-L^{1b}-G'$ 의 화합물과 혼합하여, G와 G'의 반응에 의해 1개 이상의 공유 결합을 형성하는 단계; 및
- [0325] (b) 단계 (a)의 생성물을 분석물 분자와 반응시켜, 단계 (a)의 생성물과 상기 분석물 분자의 접합체를 형성하는 단계로서,
- [0326] 여기서,
- [0327] M은 2개 이상의 탄소-탄소 이중 결합 및 1 이상의 공액도를 포함하는 모이어티이고;
- [0328] L^{1b} 는 임의의 알킬렌, 헤테로알킬렌 또는 헤테로원자성 링커이고;
- [0329] G'는 G에 대해 상보적인 반응성 그룹인 단계.
- [0330] 추가적으로, 상기 언급한 바와 같이, 화학식 II의 화합물은 화학식 I의 화합물의 제조에 있어 유용하다. 따라서, 일 양태에서 화학식 I의 화합물의 제조방법이 제공되며, 상기 방법은 화학식 II의 화합물을 화학식 $M-L^{1b}-G'$ 의 화합물과 혼합하여, G와 G'의 반응에 의해 1개 이상의 공유 결합을 형성하는 단계를 포함하며, 여기서,
- [0331] M은 2개 이상의 탄소-탄소 이중 결합 및 1 이상의 공액도를 포함하는 모이어티이고;
- [0332] L^{1b} 는 임의의 알킬렌, 헤테로알킬렌 또는 헤테로원자성 링커이고;
- [0333] G'는 G에 대해 상보적인 반응성 그룹인 단계.
- [0334] 예시의 목적으로 하기 실시예가 제공되지만, 제한의 목적은 아니다.
- [0335] 실시예
- [0336] **일반적인 방법**
- [0337] JEOL 400 MHz 분광계에서 1H NMR 스펙트럼을 획득했다. 1H 스펙트럼은 TMS에 대해 참조한 것이었다. 45°C에서 유지되는 2.1mm x 50mm Acquity BEH-C18 컬럼을 사용하는 Waters Acquity UHPLC 시스템을 사용하여 역상 HPLC 분석을 실시했다. MassLynx 4.1 입수 소프트웨어를 사용하는 Waters/Micromass Quattro micro MS/MS 시스템상에서 (MS 유일 모드에서) 질량 스펙트럼 분석을 실시했다. LC/MS에 대하여 사용한 이동상은 100mM 1,1,1,3,3,3-헥사플루오로-2-프로판올(HFIP), 8.6mM 트리에틸아민(TEA), pH 8이었다. 45°C에서 유지되는 2.1mm x 50mm Acquity BEH-C18 컬럼을 사용하고, 아세토니트릴/물 이동상 구배를 사용하는 Waters Acquity UHPLC 시스템을 사용하여 포스포아미다이트 및 전구체 분자도 분석했다. Waters/Micromass Quattro micro MS/MS 시스템상에서 (MS 유일 모드에서) 트로필륨 양이온 주입 향상된 이온화를 사용하여 단량체 중간체에 대한 분자량을 획득했다. Superdex 200 Increase 5/150 GL 분석 컬럼을 사용하여 크기 배제 크로마토그래피(SEC)를 완료했다. PBS 버퍼를 사용하고, 0.25mL/분의 유동 속도로 전체 실시 시간 17.5분간 등용매 용리를 실시했다. 494, 405, 280 및 260nm에서 검출했다. 생성물의 분획들을 수작업으로 수집하고, 연이은 실시동안 모았다.

100 μ l의 물에서 동결건조 및 환원시켰다. Thermo Scientific Nanodrop 2000 분광계에서 흡수 측정을 실시했다. Thermo Scientific Nanodrop 3300 형광 분광계에서 형광 측정을 실시했다.

[0338] 달리 언급되지 않는 한, 모든 반응을 질소 대기하에 오븐 건조된 유리 제품에서 수행하였다. 시판 DNA 합성 시약을 글렌 리서치(Glen Research)(버지니아주 스티어링)로부터 구입하였다. 무수 피리딘, 톨루엔, 디클로로메탄, 디이소프로필에틸 아민, 트리에틸아민, 아세트산, 피리딘, 및 THF를 알드리치로부터 구입하였다. 모든 다른 화합물질을 알드리치 또는 TCI로부터 구입하고 추가 정제 없이 그대로 사용하였다.

[0339] 고체상 합성

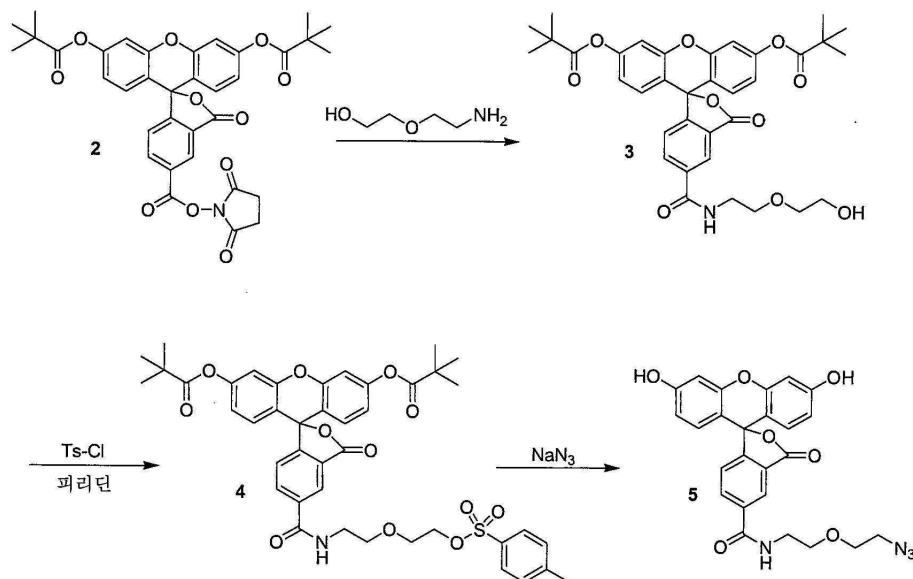
[0340] 모든 화학식 I의 화합물을 포스포아미다이트-기반 커플링 접근법에 관한 표준 프로토콜을 사용하여 ABI 394 DNA 합성장치 상에서 합성하였다. 올리고 뉴클레오타이드 포스포아미다이트 합성을 위한 쉘 어셈블리 사이클은 다음과 같았다: (i) 탈트리틸화(detritylation), 디클로로메탄 중 3% 트리클로로아세트산, 1분; (ii) 커플링, 아세트오니트릴 중 0.1M 포스포아미다이트 및 0.45M 테트라졸, 10분; (iii) 캡핑, THF/루티딘, 1/1, v/v 중 0.5M 아세트산 무수물, 15초; (iv) 산화, THF/피리딘/물, 10/10/1, v/v/v 중 0.1M 요오드, 30초.

[0341] 사이클 내에 화학적 단계 후에 아세트오니트릴 세척하고 0.2 내지 0.4분 동안 무수 아르곤으로 플러싱하였다. 지지체로부터의 절단 및 염기 및 포스포아미다이트 보호 그룹의 제거는 실온에서 1시간 동안 암모니아로 처리하여 달성하였다. 이어서, 화합물은 상기 기재된 바와 같이 역상 HPLC에 의해 분석하였다.

[0342] 화합물을 어플라이드 바이오시스템즈(Applied Biosystems) 394 DNA/RNA 합성장치 상에서 또는 GE AKTAE 10 올리고파일럿(OligoPilot) 상에서 1 μ mol 또는 10 μ mol 규모로 합성하고 3'-포스페이트 그룹을 프로세싱하였다. 화합물을 CPG 비드 상에서 또는 폴리스티렌 고체 지지체 상에서 직접 합성하였다. 화합물을 표준 고체상 DNA 방법에 의해 3'에서 5' 방향으로 합성하였다. 커플링 방법은 표준 β -시아노에틸 포스포아미다이트 화학 조건을 사용하였다. 모든 포스포아미다이트 단량체를 아세트오니트릴/디클로로메탄(0.1M 용액)에 용해시키고, 하기 합성 사이클을 사용하여 연속적인 순서로 첨가하였다: 1) 톨루엔 중 디클로로아세트산을 이용한 5'-디메톡시트리틸 보호 그룹의 제거, 2) 아세트오니트릴 중 활성화제 시약을 이용한 다음, 포스포아미다이트의 커플링, 3) 요오드/피리딘/물의 산화, 및 4) 아세트산 무수물/1-메틸이미다졸/아세트오니트릴을 이용한 캡핑. 확장 가능한 알킨(화합물 9 또는 Glen Research 10-1992) 포스포아미다이트(100mg)를 무수 아세트오니트릴(700 μ l) 및 디클로로메탄(300 μ l)에 용해시켰다. 상기 플라스크에 몇몇 시브를 가하고, 아르곤으로 뒤덮었다. 서열 분석기를 상기 개시된 바와 같이 활용했다. 5' 올리고플로로시드가 어셈블링될 때까지 합성 사이클을 반복하였다. 쉘 어셈블리의 말단에서, 모노메톡시트리틸(MMT) 그룹 또는 디메톡시트리틸(DMT) 그룹을 디클로로메탄 중 디클로로아세트산 또는 톨루엔 중 디클로로아세트산을 이용하여 제거하였다. 농축된 수성 수산화 암모늄을 사용하여 2 내지 4 시간 동안 실온에서 고체 지지체로부터 상기 화합물을 절단했다. 생성물을 진공에서 농축시키고, Sephadex G-25 컬럼을 사용하여 주된 생성물을 분리했다. 분자량을 측정하기 위한 질량 분석계에 연결된 RP-HPLC법을 사용하여 분석을 완료했다.

[0343] 실시예 1

[0344] 플루오레세인(FAM) 아지드 화합물의 제조



[0345]

[0346]

자성 교반 막대 및 투입 깔때기를 포함하는 250ml 둥근 바닥 플라스크에 FAM-NHS 에스테르 2(2.24g)를 배치한다. 디클로로메탄(35mL)을 상기 플라스크에 첨가하고, 교반을 개시하고, 플라스크를 질소하에 배치하고 얼음에서 냉각시켰다. 별도의 비커에, 2-(2-아미노에톡시)에탄올(420 μ L)을 디클로로메탄(35mL), 메탄올(7mL) 및 트리에틸아민(1.5mL)에 용해시키고, 생성된 용액을 투입 깔때기에 충전했다. 상기 아민 용액을 NHS 에스테르에 30분간 적가했다. 최종 용액을 1시간 동안 0°C에서 교반하고, 상기 플라스크를 얼음 욕조로부터 제거하고, 2시간 동안 실온에서 교반했다. 상기 반응 혼합물을 농축시키고, 조악한 생성물을 실리카겔 크로마토그래피로 정제했다. 생성물 분획들을 TLC 및 LC/MS로 조사하고, 모아서 1.6g(72%)을 제공했다.

[0347]

자성 교반 막대 및 투입 깔때기를 포함하는 250ml 둥근 바닥 플라스크에 FAM 알코올 3(1.5g) 및 클로로포름(25mL)을 배치했다. 상기 용액에 피리딘(470 μ L) 및 p-톨루엔설포닐 클로라이드(691mg)를 첨가했다. 상기 혼합물을 24시간 동안 TLC가 반응이 미완료되었음을 나타내는 지점에서 교반하고, 추가적인 p-톨루엔설포닐 클로라이드(1.4g) 및 피리딘(1.5mL)을 첨가하고, 상기 혼합물을 추가적인 24시간 동안 교반했다. 48시간 후 상기 반응의 TLC가 반응이 완료되었음을 나타냈다. 상기 혼합물을 분별 깔때기(extraction funnel) 중의 포화 중탄산나트륨(200mL) 및 디클로로메탄(100mL)에 붓고, 분배했다. 유기층을 유지하고, 수성층을 디클로로메탄(100mL)으로 추가적으로 2회 추출했다. 유기층을 모으고 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 및 농축시켰다. 조악한 생성물을 실리카겔 크로마토그래피로 정제했다. 생성물 분획들을 TLC로 확인하고, 모아서 목적하는 토실레이트 4(1.8g)를 제공했다.

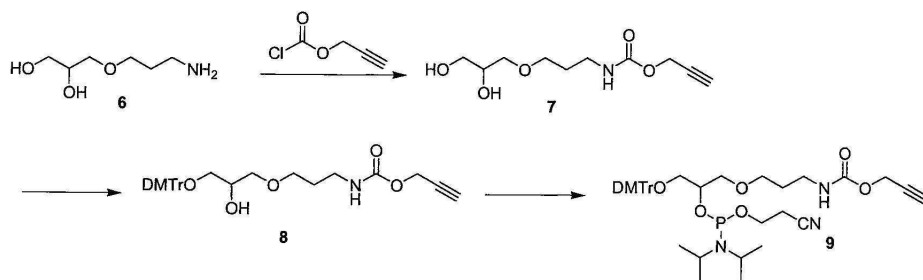
[0348]

자성 교반 막대를 포함하는 200ml 둥근 바닥 플라스크에 FAM-토실레이트 4(1.8g)를 배치하고, DMF(15mL)를 첨가하고, 상기 혼합물을 교반하여 효과적으로 용해시켰다. 여기에 나트륨 아지드(830mg)를 첨가하고, 상기 혼합물을 밤새 50°C로 가열하고 교반했다. 상기 혼합물을 분별 깔때기 중의 100mM 시트르산(150mL) 및 에틸 아세테이트(150mL)에 부었다. 층들을 분배하고 유기층을 유지했다. 수성층을 에틸 아세테이트로 추가적으로 2회 추출했다. 유기층들을 합치고, 황산나트륨으로 건조시켰다. 상기 용액을 여과하고, 회전 증발로 농축시켰다. 조악한 오일을 실리카겔 크로마토그래피로 정제하고, 생성물 분획들을 TLC로 확인하고 모았다. 상기 생성물을 진공하에서 농축시켜 황색 고체의 목적하는 FAM-아지드 5(0.82g)를 제공했다. LCMS를 상기 목적하는 생성물로 구성했다.

[0349]

실시예 2

[0350] 알킨 포스포아미다이트의 합성



[0351]

[0352]

투입 깔때기 및 자성 교반 막대를 포함하는 500ml 둥근 바닥 플라스크에 디클로로메탄(75mL) 중 프로파질 클로로포르메이트(1.3mL)를 배치했다. 상기 플라스크를 질소로 퍼지했다. 다른 비커에 디클로로메탄(60mL), 메탄올(10mL) 및 트리에틸아민(1.4mL) 중 아미노알코올 6(2.0g)을 배치했다. 상기 투입 깔때기를 아미노알코올 용액으로 충전하고, 30분간 적가했다. TLC가 반응이 완료됐음을 나타내는 지점에서 상기 플라스크를 2시간 동안 교반했다. 상기 반응을 회전 증발기에서 농축시키고, 고도의 진공하에서 추가적으로 건조시키고, 다음 단계에서 바로 사용했다.

[0353]

자성 교반 막대를 포함하는 500ml 둥근 바닥 플라스크에 카바메이트 7(~3.1g)을 배치했다. 상기 플라스크에 피리딘을 첨가하고(270mL), 교반을 개시했다. 상기 카바메이트가 용해됐을 때, 상기 용액을 얼음에 배치하고 질소하에서 15분간 교반했다. 디메톡시트리틸 클로라이드(5.9g)를 분말용 깔때기에 의해 단일 분획으로 상기 플라스크에 첨가했다. 상기 플라스크를 질소로 재퍼지하고 0℃에서 1시간 동안 교반했다. 상기 플라스크를 얼음으로부터 제거하고, 실온에서 밤새 교반했다. 메탄올을 첨가하고(10mL), 상기 혼합물을 10분간 교반했다. 상기 혼합물을 회전 증발기에서 농축시키고, 실리카겔 크로마토그래피로 정제했다. 생성물 분획을 TLC로 측정하고, 모으고, 최종 오일로 농축시켜 모노-보호된 디올 8(3.3g)을 제공했다.

[0354]

자성 교반 막대를 포함하는 100ml 둥근 바닥 플라스크에 모노-보호된 디올 8(500mg) 및 디클로로메탄(5mL)을 배치했다. 상기 혼합물을 교반하여 출발 물질이 용해되게 했다. 디이소프로필에틸아민(600mg) 및 2-시아노에틸-N,N-디이소프로필클로로포스포아미다이트(440mg)를 개별 시린지로 동시에 적가했다. TLC가 상기 반응이 완료됐음을 나타내는 지점에서 상기 혼합물을 1시간 동안 교반했다. 상기 물질을 중탄산나트륨 용액에 붓고, 디클로로메탄으로 추출했다. 유기층을 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 오일로 했다. 실리카겔 크로마토그래피, 5% 트리에틸아민을 포함하는 디클로로메탄으로 추가적인 정제를 완료했다. 생성물 분획들을 TLC로 확인하고, 모으고, 농축시켰다. 최종 생성물을 투명한 오일로 단리했다(670mg).

[0355]

실시예 3

[0356]

올리고머 염료의 제조 및 특성 확인

[0357]

3-mer, 5-mer 및 10-mer 폴리알킨 올리고머를 실시예 2의 포스포아미다이트로부터 제조했다. 대표적인 3-mer 염료를 다음과 같이 제조했다:

[0358]

500uL 미량 원심분리 튜브에 포스페이트 버퍼(31.5μL, 150mM, pH=7.4) 용액을 배치했다. 여기에 쿠마린 아지드 용액(22.5μL, DMSO중 10mM) 및 폴리알킨 용액(7.5μL, 물 중 1mM)을 첨가했다. 다른 200uL 미량 원심분리 튜브에 황산구리 용액(3.0μL, 50mM), 트리스(3-하이드록시프로필트리아졸릴메틸)아민 용액(THPTA, 3.0μL, 100mM) 및 아스코르브산 나트륨 용액(7.5μL, 100mM)을 배치했다. 상기 구리 용액을 혼합하고, 전체 내용물을 상기 쿠마린 아지드/폴리알킨 튜브에 첨가했다. 상기 반응을 혼합하고, 실온에서 밤새 항온배양되게 했다. 상기 혼합물을 물(75μL)로 희석하고, 크기 배제 크로마토그래피(Superdex 200 Increase 5/150 GL, PBS로 등용매 용리, 0.25mL/분, 405nm 및 260nm에서 검출)로 정제했다.

[0359]

각각 쿠마린 또는 플루오레세인 모이어티를 갖는 3-mer, 5-mer, 및 10-mer 염료를 유사한 방식으로 제조했다.

[0360]

쿠마린 및 플루오레세인 함유 화합물의 형광 스펙트럼을 측정했고, 이는 각각 도 1 및 도 2에 존재한다. 상기 데이터는, 아지드가 알킨과 커플링되어 화학식 I의 화합물을 형성함을 나타내는, 알킨 반응성 자리의 증가에 따른 형광의 증가를 보인다.

[0361]

본원 명세서에 언급된 미국 특허, 미국 특허 출원 공보, 미국 특허 출원, 외국 특허, 외국 특허 출원 및 비-특

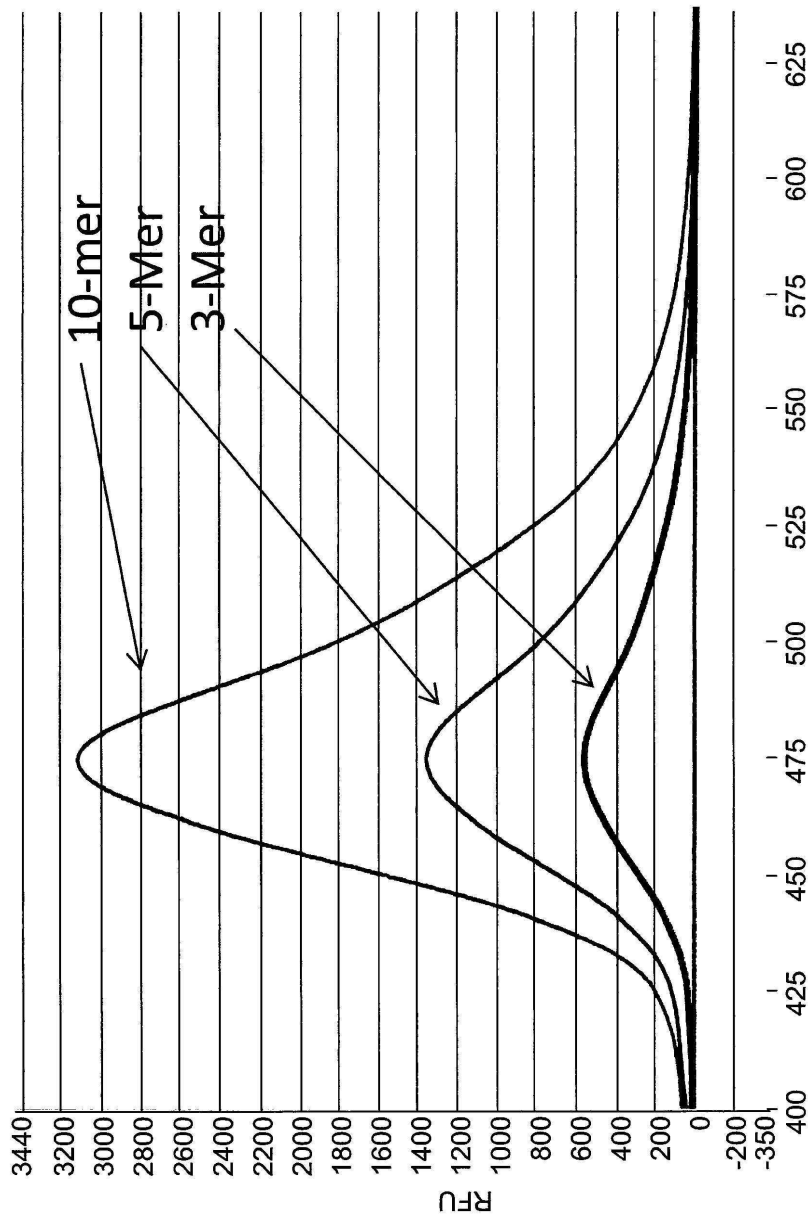
허 공보는 이들의 전문이 본원에 기재된 내용과 일관성이 없지 않은 정도까지 참조로 인용된다.

[0362]

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

도면

도면1



도면2

