



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104168827 A

(43) 申请公布日 2014. 11. 26

(21) 申请号 201380014029. 9

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2013. 02. 20

A61B 5/145(2006. 01)

(30) 优先权数据

G01N 33/66(2006. 01)

61/611, 239 2012. 03. 15 US

G01N 21/77(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 09. 12

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/GB2013/050407 2013. 02. 20

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/136044 EN 2013. 09. 19

(71) 申请人 灯船医药有限公司

地址 英国伦敦

(72) 发明人 威廉·帕特森 尼克·巴威尔

布鲁斯·卡伯特 巴里·科林·克兰

(74) 专利代理机构 北京派特恩知识产权代理有

限公司 11270

代理人 张颖玲 孟桂超

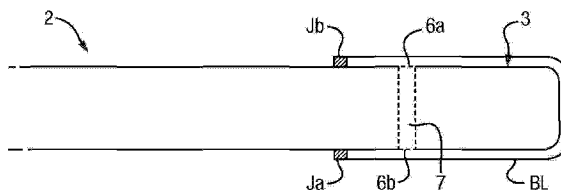
权利要求书2页 说明书17页 附图7页

(54) 发明名称

传感器

(57) 摘要

一种用于检测和 / 或定量样品中的分析物的量的传感器 (1), 所述传感器包含 : 感应区域 (3) ; 以及阻挡层 (BL), 所述阻挡层 (BL) 包含活性氧 (ROS) 淬灭的分析物渗透性膜, 所述活性氧 (ROS) 淬灭的分析物渗透性膜具有吸附在其上的 ROS 淬灭剂 ; 其中, 所述传感器适于使所述样品穿过所述阻挡层而进入所述传感器的感应区域。



1. 一种用于检测和 / 或定量样品中的分析物的量的传感器,所述传感器包括:  
感应区域;以及  
阻挡层,所述阻挡层包括活性氧 (ROS) 淬灭的分析物渗透性膜,所述活性氧 (ROS) 淬灭的分析物渗透性膜具有吸附在其上的 ROS 淬灭剂;  
其中,所述传感器适于使所述样品通过所述阻挡层而进入所述传感器的感应区域。
2. 根据权利要求 1 所述的传感器,其中,所述膜具有的 ROS 淬灭活性足以淬灭浓度为 10ppm 的  $H_2O_2$  溶液。
3. 根据权利要求 1 或 2 所述的传感器,其中,所述膜选择性淬灭 ROS。
4. 根据权利要求 3 所述的传感器,其中,所述膜基本上不引起分析物的损耗。
5. 根据前述权利要求中任一项所述的传感器,所述传感器为光学传感器,该光学传感器包括用于将入射光导向所述感应区域上的光波导。
6. 根据权利要求 5 所述的传感器,所述传感器为光学葡萄糖传感器,该光学葡萄糖传感器包括感应区域,该感应区域包括用于结合葡萄糖的硼酸受体和与所述受体相关联的荧光团。
7. 根据前述权利要求中任一项所述的葡萄糖传感器,其中,所述 ROS 淬灭剂为过渡金属、过渡金属化合物或酶。
8. 根据权利要求 7 所述的葡萄糖传感器,其中,所述 ROS 淬灭剂为周期表第 10 族或第 11 族的过渡金属,或者为含有周期表第 10 族或第 11 族的过渡金属的合金,并且优选地,所述 ROS 淬灭剂为铂。
9. 根据权利要求 8 所述的葡萄糖传感器,其中,所述 ROS 淬灭剂为纳米颗粒形式的铂。
10. 一种活性氧 (ROS) 淬灭的分析物渗透性膜,适用在检测和 / 或定量样品中的分析物的量的传感器中,所述膜具有的 ROS 淬灭活性足以淬灭浓度为 10ppm 的  $H_2O_2$  溶液。
11. 根据权利要求 10 所述的膜,其中,ROS 淬灭剂为权利要求 7 至 9 中任一项所述的 ROS 淬灭剂。
12. 根据权利要求 10 或 11 所述的膜,所述膜选择性淬灭 ROS。
13. 一种用于生产 ROS 淬灭的分析物渗透性膜的方法,所述 ROS 淬灭的分析物渗透性膜适用在检测和 / 或定量样品中的分析物的量的传感器中,所述方法包括:  
(iii) 使阻挡层与 ROS 淬灭前体和还原剂相接触;  
(iv) 使所述 ROS 淬灭前体被还原,以在所述阻挡层上或在所述阻挡层中形成 ROS 淬灭剂;以及  
可选地,重复步骤 (iii) 和步骤 (iv)。
14. 根据权利要求 13 所述的方法,在步骤 (iii) 之前,所述方法进一步包括:  
(i) 使阻挡层与 ROS 淬灭前体和初级还原剂相接触;  
(ii) 使所述 ROS 淬灭前体部分还原,以在所述阻挡层上或在所述阻挡层中形成 ROS 淬灭剂;以及  
可选地,重复步骤 (i) 至步骤 (iv)。
15. 根据权利要求 13 或 14 所述的方法,其中,所述分析物为葡萄糖。
16. 根据权利要求 13 至 15 中任一项所述的方法,其中,所述 ROS 淬灭前体为含第 10 族或第 11 族金属的离子的盐,并且所述 ROS 淬灭剂为第 10 族或第 11 族的金属。

17. 根据权利要求 16 所述的方法,其中,所述第 10 族或第 11 族金属为铂。
18. 根据权利要求 17 所述的方法,其中,所述 ROS 淬灭前体为四氯铂酸盐。
19. 根据权利要求 17 或 18 所述的方法,其中,所述铂为纳米颗粒的形式。
20. 根据权利要求 14 至 20 中任一项所述的方法,其中,所述初级还原剂为抗坏血酸。
21. 根据权利要求 14 至 20 中任一项所述的方法,其中,所述还原剂为肼。
22. 根据权利要求 13 和 15 至 19 中任一项所述的方法,其中,所述还原剂为甲酸。
23. 根据权利要求 13 至 22 中任一项所述的方法,进一步包括:提供包括感应区域的传感器,其中,所述传感器适用于检测和/或定量样品中的分析物的量;其中,所述 ROS 淬灭的分析物渗透性膜在所述感应区域的至少一部分上形成阻挡层,并且其中所述传感器适于使分析物通过所述阻挡层而进入所述传感器的感应区域。
24. 根据权利要求 23 所述的方法,其中,所述传感器为权利要求 2 至 9 中任一项所限定的传感器。
25. 一种通过权利要求 13 至 22 中任一项所述的方法而得到的膜。
26. 根据权利要求 1 所述的传感器,其中,所述 ROS 淬灭的分析物渗透性膜为权利要求 25 中所限定的膜。
27. 一种检测和/或定量样品中的分析物的量的方法,包括:将根据权利要求 1 至 9 或 26 中任一项所述的传感器插入到所述样品中,提供入射光到所述传感器的感应区域,以及检测荧光团的发射图案。

## 传感器

### 技术领域

[0001] 本公开涉及传感器,用于该传感器的膜,用于制作这种传感器和膜的方法,以及用于检测或测定样品中的葡萄糖的量的方法。

### 背景技术

[0002] 分子受体(诸如硼酸盐)可用在传感器中,用于检测和/或测量生物流体中的分析物。例如,传感器可包括葡萄糖受体(硼酸)和荧光团,其中荧光团用作信号的传送物质。能够容易地将这些化学指示剂(indicator chemistry)固定在合适直径的光学纤维上,该光学纤维随后能被放置在体液或组织中以测量分析物,诸如葡萄糖。

### 发明内容

[0003] 已经发现,活性氧(ROS)(诸如过氧化氢( $H_2O_2$ ))的水平在氧化应激下可能升高。氧化应激可能因缺血或败血症(例如因多器官衰竭)而产生,而且氧化应激参与到许多疾病(例如动脉粥样硬化、帕金森氏病、心脏衰竭、心肌梗塞、阿尔茨海默病、精神分裂症、双相障碍、X染色体脆折症、慢性疲劳综合症)中,从而使受试者的体液或组织中的ROS水平上升,其中受试者例如在重症监护环境中,可能需要监测他们的葡萄糖水平。因此,血液中的ROS可能会干扰传感器的指示化学过程。

[0004] 已经发现,在传感器中包含有ROS淬灭剂能够消除或减轻血液中的ROS对传感器化学过程的干扰影响。因此,用于测定和/或定量样品中分析物的量的传感器可包含:

[0005] 感应区域;以及

[0006] 阻挡层,所述阻挡层包含活性氧(ROS)淬灭的分析物渗透性膜,所述膜具有吸附其上的ROS淬灭剂;

[0007] 其中,所述传感器适于使所述样品通过所述阻挡层而进入所述传感器的感应区域。

[0008] 在传感器中存在ROS淬灭剂能够使分析物发生氧化(或者损耗分析物),这会对传感器的运行产生不利的影响。例如,葡萄糖可能被氧化成葡糖酸。因此,传感器能够包含一构件,以解决在包含ROS淬灭剂的传感器中分析物氧化的问题。因此,在一些实施方式中,传感器的膜能够选择性地淬灭分析物中的ROS。

[0009] 在一些实施方式中,传感器包含活性氧(ROS)淬灭的分析物渗透性膜,该膜适用于检测和/或定量样品中的分析物的量的传感器中,该膜具有的ROS淬灭活性足以淬灭浓度为100ppm或更低的 $H_2O_2$ 溶液。

[0010] 还描述了一种用于生产ROS淬灭的分析物渗透性膜的方法,该膜适用于检测和/或定量样品中的分析物的量的传感器中。所述方法包含:

[0011] (iii) 使阻挡层与ROS淬灭前体和还原剂相接触;

[0012] (iv) 使所述ROS淬灭前体还原,以在所述阻挡层上或在所述阻挡层中形成ROS淬灭剂;以及

- [0013] 可选地,重复步骤 (iii) 和步骤 (iv)。
- [0014] 还描述了通过该方法得到的或能够得到的膜。
- [0015] 在一个实施方式中,在步骤 (iii) 之前,该方法进一步包括:
- [0016] (i) 使阻挡层与 ROS 淬灭前体和初级还原剂相接触;
- [0017] (ii) 使所述 ROS 淬灭前体部分还原,以在所述阻挡层上或在所述阻挡层中形成 ROS 淬灭剂;以及
- [0018] 可选地,重复步骤 (i) 至步骤 (iv)。因此,在该实施方式中,该方法包含:
- [0019] (i) 使阻挡层与 ROS 淬灭前体和第一还原剂相接触;
- [0020] (ii) 使所述 ROS 淬灭前体部分还原,以在所述阻挡层上或在所述阻挡层中形成 ROS 淬灭剂;
- [0021] (iii) 使所述阻挡层与第二还原剂相接触;
- [0022] (ii) 使剩余的 ROS 淬灭前体完全还原,以在所述阻挡层上或在所述阻挡层中形成 ROS 淬灭剂;以及
- [0023] 可选地,重复步骤 (i) 至步骤 (iv)。还描述了通过该方法得到的或能够得到的膜。
- [0024] 本文所述的方法特别有利的是:实现了在膜的孔内而不是仅仅在膜的表面上沉积 ROS 淬灭剂。甚至在膜具有高的纵横比,例如至少 100 的纵横比,通常至少 150 或 200 的纵横比时,也能够实现这种孔内的沉积。穿过膜的流体由于其在孔中移动的所有时间内都将与 ROS 淬灭剂相接触,所以 ROS 淬灭剂在孔内的沉积使得膜淬灭 ROS 的能力得到提高。
- [0025] 还描述了一种检测和 / 或定量样品中的分析物的量的方法。该方法可包含将本文所述的传感器插入样品中,提供入射光到所述传感器的感应区域处,以及检测荧光团的发射图案。
- [0026] 在所附说明书和所附权利要求中描述了进一步优选的特征和实施方式。

#### 附图说明

- [0027] 图 1 和图 1a 示出了并入光学纤维的传感器和用于这种传感器的监测器。
- [0028] 图 2、图 3 和图 3a 示出了传感器的感应区域的多种实施方式。
- [0029] 图 4 示出了一装置的示意图,该装置可用于测定膜的 ROS 淬灭能力和 / 或分析物的损耗。
- [0030] 图 5 示出了实施例 2 的膜的 SEM 图像。
- [0031] 图 6 示出了传感器和未镀铂膜的相应传感器的体外测试的结果。
- [0032] 图 7 示出了实施例 4 的结果。
- [0033] 图 8 示出了用于生产 ROS 淬灭阻挡层的方法的示意图。
- [0034] 图 9 示出了传感器的体内测试的结果 (图 9b) 和未镀铂膜的相应传感器的体内测试的结果 (图 9a)。
- [0035] 图 10 示出了实施例 9 的结果。三种镀铂传感器的结果显示为 IB070-001、IB070-002 和 IB070-003。未镀铂对照的结果显示为 IB066-011。

#### 具体实施方式

- [0036] 如本文所使用的,ROS 淬灭的分析物渗透性阻挡层是如下的材料:通常通过催化

使 ROS 分解成不干扰传感器化学（如硼酸 / 荧光团化学）的化学物质，来允许分析物穿过该层，但是该层限制或者优选防止 ROS 穿过该层。

[0037] ROS 淬灭的分析物渗透性阻挡层被设想为与任何传感器一起使用。在一些实施方式中，传感器为葡萄糖传感器，优选为利用硼酸 / 荧光葡萄糖感应化学的光学葡萄糖传感器。传感器也可为是电化学传感器或 pH 传感器。

[0038] ROS 淬灭的分析物渗透性阻挡层可以与任何光学传感器一起使用，其中，该光学传感器具有将入射光导向传感器的感应区域上的光波导。例如，光学传感器可为光学纤维传感器。能够在体液诸如间质组织或血液中进行葡萄糖感应，但利用本文所述的传感器可以在任何水性溶液中进行感应。本文所述的具体实施方式被设想用作插入到血管中的侵入性传感器。然而，ROS 淬灭的分析物渗透性阻挡层的用途并不限于这样的侵入性传感器。体外使用的非侵入性传感器，可植入的传感器以及皮下传感器也可以包含有 ROS 淬灭的分析物渗透性阻挡层。

[0039] 如本文所使用的，词语“包含 (include)”和“含有 (contain)”及其变型如“包含 (includes)”、“含有 (contains)”、“包含 (including)”和“含有 (containing)”用于指包含的意义，即指定存在陈述的特征，但并不排除存在或附加进一步的特征。

#### [0040] 阻挡层

[0041] 阻挡层包括 ROS 淬灭的分析物渗透性膜，该膜具有吸附在其上的 ROS 淬灭剂。ROS 淬灭剂可被吸附到膜的表面上（例如，膜被涂覆有 ROS 淬灭剂），或者可被吸附到膜的孔中（例如，膜浸渍有 ROS 淬灭剂）。

[0042] 合适的分析物渗透性膜包含半渗透性膜，例如透析膜和微孔中空纤维膜，其中该分析物渗透性膜可被涂覆或者浸渍有 ROS 淬灭剂，并且用作传感器中的阻挡层。

[0043] 在一些实施例中，阻挡层是亲水性的。

[0044] 透析膜是半渗透性膜，凭借分子的大小、形状、水合和极性来分离分子。透析膜通常为中空纤维的形式，并且可利用诸如聚芳醚、聚酰胺、聚碳酸酯、聚丙烯腈、聚砜、聚醚砜、聚偏氟乙烯和纤维素材料，或它们的混合物或改性物。

[0045] 微孔中空纤维膜是本领域已知的，并且包含聚丙烯中空纤维膜。例如，聚丙烯中空纤维膜能够被涂覆或者浸渍有 ROS 淬灭剂，并且用作传感器的阻挡层，其中该聚丙烯中空纤维膜的孔径为 0.1 至 0.2  $\mu\text{m}$ ，约 40% 的表面具有多孔区，纤维的最小内直径为 416  $\mu\text{m}$  并且纤维的最大外直径为 510  $\mu\text{m}$ 。

[0046] 在该实施方式的一个方面，在膜的孔内存在聚合物，例如亲水性和 / 或带负电的聚合物。这能够通过单体混合物在膜孔内的原位聚合来实现，其中该单体混合物例如含有一种或多种亲水性单体和 / 或一种或多种带负电的单体。在国际专利申请号 PCT/GB2011/000209 中描述了适用的原位聚合技术，其内容通过引用而并入本文中。

[0047] 在其它实施方式中，膜不具有存在于其孔内的亲水性聚合物。

[0048] 在一些实施方式中，用于形成传感器中的阻挡层的膜是透析膜或聚丙烯中空纤维膜。

[0049] 通常，在阻挡层中使用的半渗透性膜的孔径大小为 1nm 到 1  $\mu\text{m}$ ，例如，1nm 至 20nm，或 0.1  $\mu\text{m}$  到 0.5  $\mu\text{m}$ 。通常，用于形成本发明传感器的阻挡层的聚丙烯中空纤维膜的孔径应为 0.1  $\mu\text{m}$  到 0.5  $\mu\text{m}$ ，例如 0.1  $\mu\text{m}$  至 0.3  $\mu\text{m}$ ，诸如约 0.2  $\mu\text{m}$ 。通常，用于形成本发明传感器

的阻挡层的透析膜的孔径应为 100nm 或更小。优选的孔径大小为 1nm 至 20nm, 优选 1nm 至 10nm, 例如约 6nm。

[0050] 在一些实施方式中, 膜的纵横比至少为 100, 优选至少 150, 例如至少 200 或至少 250。如本文所使用的, 纵横比为每孔的长度 (即膜的厚度) 除以孔的直径的比值。有利地, ROS 淬灭剂沿孔的长度分布, 即, 不仅是在孔的开口处或孔中邻近孔开口的部分。用于生产所述 ROS 淬灭膜的技术在促进 ROS 淬灭剂沿孔的长度分布中特别有效。膜的厚度通常为至少约 20  $\mu\text{m}$ , 例如至少约 30  $\mu\text{m}$ 。厚度可高达约 50  $\mu\text{m}$ , 例如高达约 40  $\mu\text{m}$ 。通常, 在该实施方式中, 膜是中空纤维聚丙烯膜。

[0051] 可获得具有不同孔径大小的半渗透性膜, 孔径大小与膜的截留分子量 (MWC0) 相关。截留分子量表示能够穿过膜孔的分子的最大分子量。在本发明传感器中使用的半渗透性膜具有使分析物能够穿过的 MWC0。通常, 在本发明传感器中使用的半渗透性膜是低 MWC0 材料, 该低 MWC0 材料不允许分子量为 6000 或更高的材料 (例如蛋白质) 通过, 但允许葡萄糖 (MW180) 通过。优选的膜具有至少 1000 且优选不超过 5000 的 MWC0。例如, MWC0 可为至少 1500 或至少 2000, 例如不超过 4000。

[0052] 通过原位聚合或 ROS 淬灭剂的负载, 在传感器中使用的最终阻挡层的有效孔径大小和 MWC0 (在本文中指“有效孔径大小”, “有效 MWC0”) 可能低于上述孔径大小和 MWC0。在 PCT/GB2011/000209 (上面引用的) 中描述了原位聚合对孔径大小的影响, 其内容通过引用而并入本文中。优选的, 最终膜的有效孔径大小为至少 1nm, 例如至少 2nm 或至少 4nm 并且不超过 20nm, 例如不超过 10nm。优选的, 有效 MWC0 为至少 1500 或至少 2000 并且不超过 6000, 例如不超过 5000, 优选不超过 4000。

[0053] 可通过技术人员已知的任何方法来测量孔径或有效孔径。通常, 孔径被设定为任何具体的膜的中间孔径大小。可通过附着有荧光分子的具有已知分子量的单分散性材料的扩散来测定 MWC0。使分子量逐渐增加的材料穿过膜, 并且利用荧光计作为检测器来测定扩散临界点。合适的单分散性材料的实例为购自希格玛-奥德里奇 (Sigma-Aldrich) 公司的具有各种分子量的荧光素标记的葡聚糖。通过制备最终膜以及通过常规方法测量孔径大小或 MWC0, 可测量有效的孔径大小或有效的 MWC0。

[0054] 为了提供可接受的响应时间 (例如用于连续测量葡萄糖的血管内传感器), 应优选选择阻挡层, 以使得传感器的 90% 的响应时间不超过 3 分钟, 优选不超过两分钟半。

[0055] 90% 的响应时间被测定为如下过程所花费的时间: 从将已知量的分析物加入到样品中至传感器响应达到分析物浓度的 90%。这可以通过以下过程来测定: 使传感器与零分析物水溶液相接触, 在时间  $t_0$  时加入已知量的分析物, 并且监测传感器随时间而变化的响应。传感器响应随着时间而增加, 并且在  $t_0$  后, 传感器读出的响应达到加入的分析物浓度的 90% 的时间被当作 90% 的响应时间。在该技术中, 加入分析物的方式使得水性溶液的浓度变化基本上是瞬时发生的, 因此不存在例如由于分析物的溶解而出现的时间延迟。因此, 通常在搅拌下以液体或浓缩液体的形式加入分析物。

[0056] ROS 淬灭剂

[0057] 在阻挡层中使用的 ROS 淬灭剂可为能够催化活性氧 (诸如  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 分解的任何物质。

[0058]  $\text{H}_2\text{O}_2$  通过歧化反应生成水和氧气, 从而能够分解成不干扰传感器化学 (如硼酸/荧光团化学物质) 的化学物质:

[0059]  $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

[0060] 能够催化 ROS (诸如  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 分解的合适物质包含过渡金属、过渡金属化合物和酶。

[0061] 通常,用作 ROS 淬灭剂的过渡金属是周期表第 10 族或第 11 族的金属,例如镍、钯、铂、铜、银或金。优选地,用作 ROS 淬灭剂的过渡金属是钯、铂、金或银。更优选地,用作 ROS 淬灭剂的过渡金属是铂。也可使用两种或两种以上金属的合金,诸如第 10 族或第 11 族的过渡金属与另一种金属的合金,或两种或两种以上第 10 族或第 11 族的过渡金属的合金。尤其设想金和银的合金。

[0062] 通常,用作 ROS 淬灭剂的过渡金属化合物是周期表中第 7 族的金属的化合物,例如第 7 族的氧化物,例如二氧化锰。

[0063] 通常,用作 ROS 淬灭剂的酶是过氧化氢酶或超氧化物歧化酶,优选过氧化氢酶。

[0064] 在优选的实施方式中,ROS 淬灭剂是周期表第 10 族或第 11 族的金属或含有这样的金属的合金。在特别优选的实施方式中,ROS 淬灭剂是第 10 族的金属或含有这样的金属的合金,更优选为铂或金 / 银合金,最优选铂。这些金属尤其用作 ROS 淬灭剂,因为它们装置中具有非常长的使用寿命并且不需担心它们被分解。该金属还可简单地吸附到膜上(或吸附到表面上,或优选吸附到孔内)。例如,不需要共价连接淬灭剂来进行固定。

[0065] 当 ROS 淬灭剂为过渡金属或过渡金属化合物时,它通常以纳米颗粒的形式存在于膜中,即为具有纳米级平均粒径的颗粒,通常为 1 至 100nm,例如至少为 5nm、10nm 或至少 20nm,并且例如高达 90nm,80nm 或 70nm。纳米颗粒的材料是有利的,因为它们被提供在膜的孔内而不是仅被提供在表面上。它们的小尺寸还有助于颗粒通过膜孔均匀分布,从而提高淬灭 ROS 的效率。

[0066] 在纳米颗粒的情况下,颗粒可以具有任何适当的形式或晶体结构。例如,

[0067] 铂纳米颗粒可以是四面体、立方体、八面体、截顶立方体、十四面体、截顶八面体、三角板、双锥、三脚架、十面体、棒状或线状或二十面体的形式。铂纳米颗粒也可以制备为球形颗粒、中空结构和枝晶(dendrite)。在 Zhenmeng Peng, Hong Yang, Nano Today, 2009, 4, 143-164 和本文所引用的文件中列了多种结构以及制备上述纳米颗粒的技术。在下面表 1 中列出了制备这些不同形式的简单细节:

[0068] 表 1 :Pt 纳米颗粒的晶体结构。

[0069]

前体	还原剂 <sup>a</sup>	表面活性剂 <sup>b</sup>	添加剂 <sup>c</sup>	条件 <sup>d</sup>	形状 <sup>e</sup>
K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub>	H <sub>2</sub>	Na[PA]	pH	RT, 12 h	C, T
K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub>	H <sub>2</sub>	丙烯酸	pH	RT, 12 h	C, T
K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub>	H <sub>2</sub>	PNIPA		LCST	C
K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub>	H <sub>2</sub>	PNEA		LCST	Tri
K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub>	H <sub>2</sub>	PVP, PNIPA, Na[PA]		RT	Tri, Sq, Hex
K <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	H <sub>2</sub>	Na[PA]		RT	C, TO
K <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	H <sub>2</sub>	PVP		25~45° C	T
H <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub> , K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub>	H <sub>2</sub>	PVP		RT, 过夜	T
K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub>	H <sub>2</sub>	Na <sub>3</sub> [Cit]	NaOH	RT	C, T, Hex
H <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	H <sub>2</sub>	PVP		RT, 过夜	Tri, SF
K <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	H <sub>2</sub>	PVP		RT	Tet
Na <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub>	PVP	PVP		80° C	Tri, SP
K <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	Na <sub>3</sub> [Cit]	Na[PA]		回流, 3.5 h	SP
K <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	NaBH <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> , AA	TTAB		50° C	C, CO, PP
H <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	NaBH <sub>4</sub>	CTAB	AgNO <sub>3</sub>	RT	C
K <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	NaBH <sub>4</sub>	CTAB	HCl	RT, 12 h	DD
H <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	EtOH	PNIPA		回流	SP
H <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	NaBH <sub>4</sub> , H <sub>2</sub>	普朗尼克 (Pluronic) L64		RT	SP
H <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	NaBH <sub>4</sub>	MSA			SP

## [0070]

K <sub>2</sub> [Pt(C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ]	H <sub>2</sub>	K <sub>2</sub> C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> , CaCl <sub>2</sub>		RT或55° C	C, Hex
K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub>					
K <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>					
K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub>	Cu 箔片 (foil)		Cu <sup>2+</sup>		C
Na <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	维生素B2	维生素B2		RT	SP
H <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	胍	AOT	异辛烷	RT	SP
K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub>	γ-射线	CTAB	己醇	RT	NR
H <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	胍	Berol 050	异辛烷	RT	SP
K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub>	UV, AA	SDS, Brij-35, DSPC	SnOEP, chol		SP
K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub>	AgNR				C/S
H <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	CoNP			95° C	Hol
H <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	H <sub>2</sub>	Et-HMM		200° C持续4 h	Nec
H <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	ED			RT	SP
K <sub>2</sub> PtCl <sub>4</sub>	ED	AA	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	RT	THH
K <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	ED		H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	RT	NH
Na <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	ED		HCl	RT	NW
K <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	ED		H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	RT	NT
H <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	γ-射线		MeOH	RT	SP
H <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	UV		MeOH	RT	NW
PtCl <sub>4</sub>	微波		α-葡萄糖		SP

## [0071] 表 1.

[0072] <sup>a</sup>PVP = 聚 (N- 乙基 -2- 吡咯烷酮) ; Na<sub>3</sub>[Cit] = 柠檬酸钠 ; AA = 抗坏血酸 ; EtOH = 乙醇 ; NR = 纳米棒 ; NP = 纳米颗粒 ; ED = 电沉积 .

[0073] <sup>b</sup>Na[PA] = 聚丙烯酸钠 ; PNIPA = 聚 (N- 异丙基丙烯酰胺) ; PNEA = 聚 (N- 乙基丙烯酰胺) ; TTAB = 十四烷基三甲基溴 ; CTAB = 十六烷基三甲基溴化铵 ; Pluronic L64 = EO<sub>13</sub>PO<sub>30</sub>EO<sub>13</sub> 三嵌段共聚物 ; MSA = 巯基丁二酸 ; AOT = 氢化双 (2- 乙基己基) 磺基琥珀酸钠 ; SDS = 十二烷基磺酸钠 ; DSPC = 1, 2 二硬脂酸 -3 磷脂酰乙醇胺 .

[0074] <sup>c</sup>MeOH = 甲醇 ; SnOEP = Sn (IV) 八乙基卟啉 ; chol = 胆固醇 .

[0075] <sup>d</sup>LCST = 低临界溶解温度 ; RT = 室温 .

[0076] °C = 立方体 ;T = 四面体 ;O = 八面体 ;THH = 四六面体 ;CO = 十四面体 ;TO = 截断八面体 ;SP = 球形颗粒 ;Tri = 三角形 ;Sq = 正方形 ;Tet = 四角形 ;Hex = 六角形 ;NR = 纳米棒 ;NW = 纳米线 ;NT = 纳米管 ;Nec = 项链结构 ;C/S = 核 / 壳结构 ;SF = 雪花状颗粒 ;DD = 枝晶 ;PP = 多孔颗粒 ;NH = 纳米角 ;Ho1 = 中空结构。

[0077] 铂纳米颗粒的优选形式包含立方体、十四面体、枝晶和球形颗粒。

[0078] 通常,当 ROS 淬灭剂为过渡金属或过渡金属化合物时,其以膜的 0.01 至 5wt%,优选 0.1 至 5wt%,更优选 0.5 至 3wt% 的负载存在。负载可由 ROS 淬灭剂的密度、未涂覆 / 未浸渍的膜和涂覆 / 浸渍的膜来计算。

[0079] 在一些实施方式中,ROS 淬灭剂存在于膜的表面上。在替代的实施方式中,ROS 淬灭剂存在于膜的孔内。

#### [0080] ROS 淬灭活性

[0081] 在一些实施方式中,在 ROS 淬灭阻挡层中使用的膜具有的 ROS 淬灭活性足以淬灭浓度为 10ppm 的  $H_2O_2$  溶液,即,它能够淬灭浓度至少为 10ppm 的  $H_2O_2$  溶液。该膜通常具有的 ROS 淬灭活性足以淬灭浓度为 20ppm,优选为 50ppm,且更优选为 70ppm、80ppm 或为 100ppm 的  $H_2O_2$  溶液。

[0082] 通常,测量  $H_2O_2$  的浓度精确到  $\pm 2$  至 5ppm。因此,如本文所使用的,当示出  $H_2O_2$  浓度时,则表明固定为  $\pm 5$ ppm 的精度。通过将 30% 的过氧化氢溶液 (133  $\mu$ l) 稀释在 UHP 水 (100ml) 中来制备 400ppm 的  $H_2O_2$  溶液。稀释该 400ppm 的溶液以获得所需浓度。因此,通过将 1ml 400ppm 的溶液稀释在 39ml 的 UHP 水中来得到 10ppm 的溶液。相似地,通过将 10ml 400ppm 的溶液稀释在 30ml 的 UHP 水中而得到 100ppm 的溶液。

[0083] 例如使用针状物 (如图 4 示意性示出的),通过使具有已知浓度 (例如 10ppm,其制备如上所述) 的至多 100  $\mu$  L (例如 100 $\mu$ l) 的  $H_2O_2$  溶液穿过中空纤维膜 (纤维:内直径约 410  $\mu$  m;外直径约 500  $\mu$  m,长度通常为 25mm),并且能够通过测量穿过膜一次的溶液的  $H_2O_2$  浓度来测定 ROS 淬灭活性。如果在穿过膜一次的溶液中的  $H_2O_2$  浓度小于约 0.5ppm,则认为溶液是被淬灭的。当利用本领域中已知的标准试剂条测量  $H_2O_2$  浓度时,检出限为约 0.5ppm,这样如果检测是利用这种标准试剂条来进行的,则淬灭溶液将具有不能检测到的  $H_2O_2$  浓度。

#### [0084] 分析物的氧化

[0085] 通常,ROS 淬灭膜能够催化 ROS 的分解,且基本上不氧化 (或损耗) 分析物 (如葡萄糖)。因此,优选的 ROS 淬灭剂选择性氧化 ROS (诸如  $H_2O_2$ ),而不氧化分析物。因此,在一些实施方式中,ROS 淬灭膜选择性淬灭 ROS。如本文所使用的,选择性淬灭 ROS 的膜通常具有的 ROS 淬灭活性足以淬灭浓度至少为 10ppm 的  $H_2O_2$  溶液,并且基本上不损耗分析物 (例如,当分析物通过膜时,具有的分析物损耗率为 1mmol/小时或更低,优选 0.05mmol/小时或更低,和 / 或损耗的分析物不超过 80%,优选不超过 95%)。

[0086] 利用针状物 (如图 4 示意性示出的),通过使具有已知浓度的分析物溶液 (如 100 至 500  $\mu$  l) 穿过膜壁 (纤维:内直径约 410  $\mu$  m;外直径约 500  $\mu$  m,长度通常为 25mm),并且能够通过测量穿过膜一次的溶液的分析物浓度来测定分析物损耗的程度。基本上不损耗分析物的膜通常会发生在穿过膜一次的溶液中分析物浓度为原始溶液中的分析物浓度的 80% 或更高,通常是 85% 或更高,优选 90% 或更高,更优选 95% 或更高,最优选 99% 或更高。

[0087] 可替代地,可以通过将膜放置在具有已知浓度的分析物溶液中并且定期测定分析

物的浓度,来测定损耗率。通常,在至少 24 小时,优选至少 48 小时的时段里定期(例如,每 8 小时)测定分析物浓度。在实施例 3 中描述了典型的测定葡萄糖损耗的过程。基本上不导致分析物损耗的膜通常提供不超过 0.1mmol 分析物/小时,优选不超过 0.08mmol/小时,更优选不超过 0.05mmol/小时的损耗率。

[0088] 在一些实施方式中,如上所述,通过选择适当的 ROS 淬灭剂来控制分析物的损耗程度或损耗率。

[0089] 在另一实施方式中,如上所述,通过选择适当的 ROS 淬灭活性来控制分析物的损耗程度或损耗率。

[0090] 在另一实施方式中,如下所述,通过选择适当的生产 ROS 淬灭剂的方法来控制分析物的损耗程度或损耗率。

[0091] 在另一实施方式中,如上所述,通过选择适当形式的纳米颗粒和/或通过选择适当的纳米颗粒大小来控制分析物的损耗程度或损耗率。

#### [0092] 传感器

[0093] 并入有光学纤维的传感器的实例如图 1 和图 1a 所示。该传感器 1 包括光学纤维 2,光学纤维 2 在其远端包含感应区域 3。在侵入性传感器的情况中,光学纤维 2 适用于插入到患者体内,例如通过套管插入到血管中。感应区域 3(在图 2 和图 3 中更详细地示出)含有室或腔 7,在室或腔 7 中含有化学指示剂。光学纤维通过电缆(cable)4 延伸到连接器 5,连接器 5 适于与适当的监控器 8 连接。监控器通常包含另外的光缆 4a,光缆 4a 与连接器在 5a 处连接且在另一端分叉连接到 (a) 适当的光传感器 9 的入射光源以及 (b) 返回信号 10 的检测器。

[0094] 在一些实施方式中,传感器是一次性传感器。传感器通常适于被连接到非一次性监控器上,该非一次性监控器包含光源 9 和检测器 10。

[0095] 如图 2 所示,感应区域 3 并入有室 7,室 7 为纤维内的腔的形式。该室可采取任何形式,只要它能使化学指示剂被容纳在由波导(在此是指纤维)导向的入射光的路径中。因此,该室可被附接至纤维或波导的远端,也可以以腔的形式处于具有任何所需形状的纤维内。

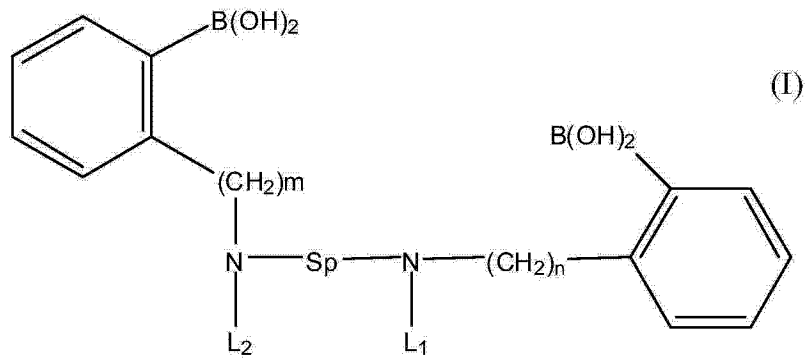
[0096] 室 7 容纳有化学指示剂。在葡萄糖传感器的情况中,该化学指示剂通常是硼酸受体,用于结合葡萄糖以及与受体相关联的荧光团。当分析物与允许光学检测葡萄糖的受体结合时,荧光团的发射模式(例如,波长、强度、寿命)发生改变。关于葡萄糖传感器,本文将给出传感器的详细描述。然而,应理解,该 ROS 淬灭的分析物渗透性阻挡层可以被施加到除了葡萄糖传感器之外的其它传感器中。

[0097] 当然有可能提供具有除了或不同于附图中所示的设计特征之外的其它设计特征的传感器,条件是这些传感器包含所需的感应区域和阻挡层。例如,也可使用在 W02008/141241、W02008/098087 和 W02011/113020 中描述和说明的那些传感器中。

[0098] 受体和荧光团可以彼此直接结合成受体-荧光基团构建体。在 W02010/116142(其内容通过引入而并入本文中)中描述了合适的荧光团的实例,该合适的荧光团的实例包含葱、芘及其衍生物。合适的硼酸受体的实例是具有至少一个、优选两个硼酸基团的化合物。

[0099] 在优选的实施方式中,该受体是式 (I) 的基团

[0100]



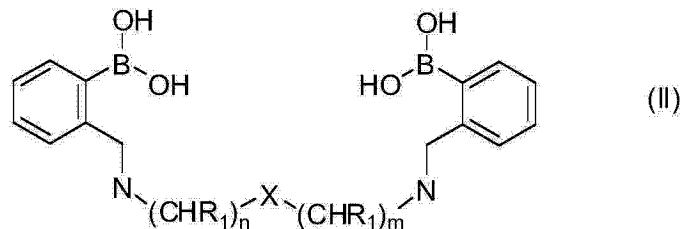
[0101] 其中,  $m$  和  $n$  是相同或不同的, 并且通常为 1 或 2, 优选为 1;  $Sp$  是脂肪族间隔基, 通常为亚烷基, 例如  $C_1$  至  $C_{12}$  亚烷基, 例如  $C_6$  亚烷基; 并且  $L_1$  和  $L_2$  表示与其它部分 (例如荧光团或水凝胶) 可能的连接点。例如,  $L_1$  和  $L_2$  可表示连接有官能团的亚烷基、亚烷基-亚芳基或亚烷基-亚芳基-亚烷基。当设想没有与另一部分连接时, 官能团是被保护的或被氢原子取代。通常,  $L_1$  和  $L_2$  的亚烷基是  $C_1$ - $C_4$  亚烷基, 例如亚甲基和亚乙基。通常, 亚芳基是亚苯基。官能团通常为能够与例如荧光团或水凝胶发生反应而形成键的任何基团, 例如酯、酰胺、醛或叠氮化物。

[0102] 使间隔基  $Sp$  的长度发生变化来改变受体的选择性。通常,  $C_6$ -亚烷基链提供了对葡萄糖具有良好选择性的受体。

[0103] 此类受体的进一步细节可参见 US6387672, 其内容通过引入而并入本文中。

[0104] 适用于传感器的受体的进一步实例包含式 (II) 的受体:

[0105]



[0106] 其中,  $X$  表示  $O$ 、 $S$ 、 $NR_2$  或  $CHR_3$ ;

[0107]  $n$  为 1 至 4;

[0108]  $m$  为 1 至 4, 并且  $n+m$  为 5;

[0109]  $R_2$  表示氢或  $C_{1-4}$  烷基;

[0110] 每个  $R_1$  是相同或不同的, 并且表示氢、 $C_{1-4}$  烷基或  $C_{3-7}$  环烷基;

[0111] 或者,  $R_1$  与相邻的  $R_1$ 、 $R_2$  或  $R_3$  基团及其附接的碳或氮原子一起形成  $C_{3-7}$  环烷基或 5 元杂环基或 6 元杂环基,

[0112] 其中, 当  $X$  表示  $CHR_3$  时,  $R_3$  与相邻的  $R_1$  基团及其附接的碳原子一起形成  $C_{3-7}$  环烷基。此类受体的进一步细节可参见 US61/431756, 其内容通过引入而并入本文中。

[0113] 如本文所用的, 术语烷基或亚烷基为直链或支链的烷基基团或部分。例如, 亚烷基可为其中存在 1 至 15 个碳原子的亚烷基, 诸如  $C_{1-12}$  亚烷基、 $C_{1-6}$  亚烷基或  $C_{1-4}$  亚烷基, 例如亚甲基、亚乙基、正亚丙基、异丙基、正丁基、异丁基和叔丁基。 $C_{1-4}$  烷基通常是甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基或叔丁基。为避免疑问, 当存在两个烷基或亚烷基时, 这两个烷基或亚烷基可以是相同或不同的。

[0114] 烷基或亚烷基可以是未取代的或取代的,例如,它可以带有选自卤素、羟基、氨基、(C<sub>1-4</sub>烷基)氨基、二(C<sub>1-4</sub>烷基)氨基和 C<sub>1-4</sub>烷氧基中的一种、两种或三种取代基。优选地,烷基或亚烷基是未取代的。

[0115] 如本文所用的,亚芳基是不饱和基团,其可以是单环、双环,或在其中可存在三个或四个稠合环。通常,亚芳基是亚苯基。亚芳基可以是未取代的或取代的。合适的取代基是 C<sub>1-4</sub>烷基,例如甲基和乙基。优选地,亚芳基是未取代的。

[0116] 如本文所用的,C<sub>3-7</sub>环烷基通常是环戊基或环己基。C<sub>3-7</sub>环烷基可以是未取代的或取代的。合适的取代基是 C<sub>1-4</sub>烷基,例如甲基和乙基。优选地,C<sub>3-7</sub>环烷基是未取代的。

[0117] 如本文所用的,5元或6元杂环基是5元或6元饱和环,其中存在一种或多种,通常一种或两种(例如一种)选自N、O和S的杂原子。优选的杂环基为其中存在氮原子的杂环基,例如哌啶基和吡咯烷基。杂环基可以是未取代的或取代的。合适的取代基是 C<sub>1-4</sub>烷基,例如甲基和乙基。优选地,杂环基是未取代的。

[0118] 受体和荧光团通常彼此结合,并且还进一步结合到聚合物基质(例如水凝胶)或树枝状聚合物上。合适的水凝胶和树枝状聚合物的实例是在 PCT/GB2011/000207 中描述的那些,其内容通过引入而并入本文中。

[0119] 可替代地,第一受体和第一荧光团可以不是彼此直接结合的(例如,它们可以不是彼此结合,或者它们可以仅经由聚合链结合,诸如经由水凝胶基质内含有的聚合物链结合)。应清楚的是,当第一受体和第一荧光团不是彼此直接结合时,它们必须仍然能够相互作用,以使得当指示剂系统暴露于葡萄糖时,第一荧光团的荧光行为发生改变。例如,第一荧光团和第二荧光团能够静电结合(例如,作为电荷对),该结合能够至少部分地被存在的葡萄糖所中断。合适的第一荧光团的实例包括羟基苾磺酸(HPTS)及其衍生物,诸如在 US2009/0177143 中公开的 HPTS 本身及其衍生物 HPTS-PEG、HPTS-MA、HPTS-CO<sub>2</sub>、HPTS-TriCys-MA 和 HPTS-LysM,其内容通过引用而整体并入本文中。进一步合适的第一荧光团可包含商购自分子探针公司(Molecular Probes)的 SNAF 和 SNAFL 染料。合适的第一受体的实例包含与共轭含氮的杂环芳族双-鎓结构共价结合的芳族硼酸(例如紫精)。US2009/0177143 中提供了这种第一受体的实例,其内容通过引用而整体并入本文中。一种特别合适的第一受体是 3, 3'-oBBV,如 US2009/0177143 中所述。

[0120] 葡萄糖传感器的感应区域 3 具有一个或多个开口 6a、6b,以使葡萄糖能够进入室中。阻挡层可被设置为横跨这些开口,以使得样品在测试时穿过阻挡层而进入室中。在图 2 和图 3 中,阻挡层被设置在感应区域 3 上。然而,可替代地,阻挡层也可以仅设置在感应区域的一部分上,例如仅横跨开口 6a 和开口 6b。

[0121] 通常,设计传感器,以使任何开口都覆盖有阻挡层,样品在测试时能够穿过该开口而进入感应区域。这样确保 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 进入感应区域的通道被限制或被阻挡。在一些实施方式中,整个感应区域,或者传感器在测试时与样品接触的整个表面都被涂覆或包覆有阻挡层。

[0122] 如图 2 所示,阻挡层 BL 可以直接施加在感应区域上,在本文中是施加在光学纤维的末端上。该实施方式适用于,例如,其中阻挡层是透析膜。在图 3 所示出的替代实施方式中,感应区域 3 被设置在独立支架 11 上。与阻挡层直接施加在感应区域相比,独立支架结构能够提供额外的强度,因此,该实施方式也适用于透析膜阻挡层。支架中设置有洞或孔,以使葡萄糖能够进入感应区域 3。合适的支架结构是聚合物管,该聚合物管例如通过激光消

融而贯穿有孔。微孔中空纤维提供了合适的支架结构以供光学传感器使用,其中微孔中空纤维通常用在医疗氧合器中并且具有直径约  $0.2\ \mu\text{m}$  的孔。替代的支架结构为聚合物材料或金属材料的织物套,诸如在 W02009/019470 中描述的那些,其内容通过引用而整体并入本文中。

[0123] 如图 3a 所示,在一些实施方式中,阻挡层本身可形成支架结构 (BL/11)。优选地,在该实施方式中,用于形成阻挡层的膜是微孔中空纤维膜。

[0124] 如果需要,阻挡层可附着在传感器的表面上,例如附着在光学纤维本身上,或在适当情况下,附着在独立支架结构上。这可以通过施加合适的粘附剂,例如氰基丙烯酸酯来实现。或者,当传感器表面和阻挡层的材料合适时,在阻挡层和传感器之间的接合点可例如在图 2 和图 3 中的 Ja、Jb 处被加热成型。

#### [0125] 制造方法

[0126] 通过如下过程来制造传感器:提供包含合适的化学指示剂的感应区域(例如,在葡萄糖传感器的情况下,与葡萄糖结合的硼酸受体以及与所述受体相关联的荧光团);

[0127] 以及,在感应区域的至少一部分上提供 ROS 淬灭的分析物渗透性阻挡层;并且其中,传感器适于使分析物通过所述阻挡层进入传感器的感应区域。在光学传感器的情况下,制造方法还包含提供光波导,用于将入射光导向到传感器上。

[0128] 在一些实施方式中,在 ROS 淬灭的分析物渗透性阻挡层中使用的膜通过气相沉积来形成。在该实施方式中,ROS 淬灭剂通常为金属或合金,并且该金属或合金在真空和低温下经溅射形成金属蒸气,该金属蒸汽能够被导向膜以沉积在膜表面上,其中膜表面包含在膜结构的孔内的膜表面。

[0129] 在替代实施方式中,在 ROS 淬灭的分析物渗透性阻挡层中使用的膜通过以下方法形成:(i) 如上所述,利用 ROS 淬灭剂涂覆或浸渍半渗透性膜,(ii) 洗涤膜,及 (iii) 使膜干燥。

[0130] 在一些实施方式中,步骤 (i) 包括在合适的水混溶性溶剂中润湿该膜,随后进行振荡。在该实施方式的优选实施例中,溶剂能够使膜的孔成溶剂化物。在该实施方式的一些实施例中,溶剂为极性非质子溶剂。在该实施方式的一些实施例中,溶剂是疏水性的,但是水溶性的。能够使膜的孔成溶剂化物的溶剂的具体实例包含 N-甲基吡咯烷酮 (NMP),二甲基亚砷 (DMSO) 和二甲基甲酰胺 (DMF)。在使 ROS 淬灭剂能够沿孔的长度分布时,利用能够使膜的孔成溶剂化物的溶剂使膜润湿是尤其有效的。

[0131] 在一些实施方式中,步骤 (i) 包括使膜浸渍在含有能够形成 ROS 淬灭剂的物质 (ROS 淬灭剂前体) 的溶液中,并且随后使膜经受这样的条件:使  $\text{H}_2\text{O}_2$ -淬灭剂形成在膜上或膜中。在该实施方式的优选实施例中,当  $\text{H}_2\text{O}_2$ -淬灭剂是铂时,步骤 (i) 包括将膜浸泡在含铂盐(诸如四氯铂酸盐或六氯铂酸盐,例如四氯铂酸钠或四氯铂酸钾,六氯铂酸钠或六氯铂酸钾)的溶液中,随后利用还原剂(诸如甲酸、抗坏血酸或肼,优选甲酸或抗坏血酸,更优选甲酸)将含铂盐还原至铂金属。当甲酸用作还原剂时,ROS 淬灭前体被还原以形成 ROS 淬灭剂,并且甲酸被氧化成二氧化碳气体。这样避免 ROS 淬灭剂在形成后,来自还原剂的任何残渣遗留在 ROS 淬灭剂上。

[0132] 在一些实施方式中,还原剂可以是抗坏血酸或肼,优选抗坏血酸。

[0133] 在一些实施方式中,步骤 (i) 包括在还原条件下,振荡和/或加热膜。因此,例如,

膜可以与还原剂相接触,并且振荡持续7天的时段,例如持续至少2小时,至少12小时或至少24小时。例如,振荡在200rpm或更高,例如高达400rpm下进行。这可以通过在回转式培养箱(orbital incubator)中以25mm的振幅来实现。

[0134] 振荡的同时可进行加热。可替代地,单独使用加热或振荡。当膜在还原条件下被加热时,通常加热在高达45°C的温度下持续7天的时段,例如持续至少2小时、至少12小时或至少24小时。

[0135] 步骤(i)可进一步包括洗涤步骤(独立于洗涤步骤(ii))。步骤(i)可以重复一次或多次,例如1、2或3次。当膜被浸渍在溶液中时,可施加超声以确保膜的充分润湿。

[0136] 通常在如上所述的洗涤步骤之后,步骤(i)可进一步包括第二还原。用于第二还原的合适的还原剂包含胍和第13族的氢化物盐的盐,诸如硼氢化盐和铝氢化盐,硼氢化钠和氢化铝锂,优选硼氢化钠。优选的第二还原剂为胍。

[0137] 通常,步骤(ii)包括将涂覆或浸渍的膜浸泡在水中。通常,膜被浸泡至少12小时,例如至少24小时或至少36小时。通常,水的温度是27~47°C,优选32~42°C,更优选36~38°C,且最优选约37°C。通常,步骤(ii)进一步包括将膜浸渍在有机溶剂中一次或多次,例如,1、2、3、4次或更多次。优选的,有机溶剂是脂肪族C1至C6醇,更优选为乙醇。

[0138] 在一些实施方式中,步骤(iii)在减压下,优选在真空条件下,进行1小时或更长时间。在替代的实施方式中,步骤(iii)在升高的温度下,优选在40~50°C(例如约45°C)进行2小时或更长时间。

[0139] 在一些实施方式中,上述方法包括使阻挡层与ROS淬灭前体和还原剂相接触;以及,还原ROS淬灭前体以在阻挡层上或在阻挡层中形成ROS淬灭剂。可选地,该过程可重复一次或多次(例如,1、2或3次),以提供更多的ROS淬灭剂层。

[0140] 在一些实施方式中,还原剂为甲酸。

[0141] 该实施方式的实例如下:

[0142] 通过加入合适的水混溶性溶剂(例如,N-甲基吡咯烷酮,NMP)使聚丙烯中空纤维膜完全润湿,随后进行振荡。从膜中除去溶剂,并且将新鲜溶剂(如NMP)加入至膜,随后进行振荡。可重复除去/更换/振荡的过程,例如重复三次或更多次。

[0143] 除去溶剂并加入下列物质,同时在各加入之间进行振荡:

[0144] • 合适的水混溶性溶剂

[0145] • UHP水

[0146] • 0.05至0.50mmol(例如0.1mmol)的含铂盐(如四氯铂酸盐或六氯铂酸盐,例如四氯铂酸钠或四氯铂酸钾,或六氯铂酸钠或六氯铂酸钾)

[0147] • 甲酸

[0148] 在溶液中,在升高的温度下(例如30至60°C,通常为40~50°C)振荡膜12至24小时。

[0149] 在适当的溶剂系统中重复洗涤膜,例如重复至少5次,其中适当的溶剂系统例如为水和水混溶性有机溶剂(通常是IPA)的混合物。

[0150] 在室温下,使膜在空气中干燥至少一小时。

[0151] 在一些实施方式中,上述方法包括使阻挡层与ROS淬灭前体和第一还原剂相接触;部分还原ROS淬灭前体以在阻挡层上或阻挡层中形成ROS淬灭剂;使阻挡层与第二还

原剂相接触；完全还原剩余的 ROS 淬灭前体以在阻挡层上或阻挡层中形成 ROS 淬灭剂。可选的，该过程可重复一次或多次（例如，1、2 或 3 次），以提供更多的 ROS 淬灭剂层。

[0152] 在一些实施方式中，第一还原剂为抗坏血酸，且第二还原剂为胼。在另一实施方式中，第一还原剂为抗坏血酸，且第二还原剂为硼氢化盐，例如硼氢化钠。

[0153] 该实施方式的实例如下：

[0154] 通过加入合适的水混溶性溶剂（例如，丙醇）使聚丙烯中空纤维膜完全润湿。从膜中除去溶剂，并加入水。重复该步骤，直到膜完全润湿在水中。

[0155] 将 0.05 ~ 0.10mmol（例如 0.06mmol）的含铂盐（例如四氯铂酸盐或六氯铂酸盐，例如四氯铂酸钠或四氯铂酸钾，或六氯铂酸钠或六氯铂酸钾）、抗坏血酸和浓缩的无机酸（如 HCl）加入到含有该膜的溶液中。在该溶液中，将膜保持在升高的温度（例如 30 ~ 60°C，通常 40 ~ 50°C）下至少 4 天（例如 4 ~ 7 天，通常约 6 天）。

[0156] 膜在适当的溶剂系统中被重复洗涤，例如重复洗涤至少 5 次，其中该适当的溶剂系统例如为水和水混溶性有机溶剂（通常是 IPA）的混合物。将 NaBH<sub>4</sub> 加入至在适当的溶剂系统中的膜，其中该适当的溶剂系统例如为水和水混溶性有机溶剂（通常是 IPA）的混合物。

[0157] 重复上面的步骤，不同之处在于：将在含 Pt 盐 / 抗坏血酸 / 无机酸溶液中的膜保持在升高的温度（例如 30 ~ 60°C，通常 40 ~ 50°C）下约 1 天。

[0158] 在室温下，使膜在空气中干燥至少一小时。

[0159] 该实施方式的另一实施例按照上述过程来进行，但除了首次加入的含铂盐为 0.10 ~ 0.20mmol（例如 0.12mmol），以及利用浓缩的无机酸（如 HCl）和胼的混合物来代替 NaBH<sub>4</sub> 之外。

[0160] 传感器的应用

[0161] 可通过如下过程来使用本传感器：将传感器插入到样品中，例如体液或组织的样品，例如血液；提供入射光到传感器的感应区域；以及，检测来自荧光团发射图案的荧光团发射图案。如上所述，当葡萄糖与受体结合时，荧光团的发射模式（例如，波长、强度、寿命）发生改变，从而能够检测和 / 或定量样品中的葡萄糖的量。

[0162] 实施例

[0163] 根据下文示出的方法来生产 ROS 淬灭膜。

[0164] 实施例 1

[0165] 第一施加 - 润湿

[0166] 通过加入丙醇 (3ml)，使得聚丙烯中空纤维膜（纤维内直径 416 μm，外直径 510 μm，长度 25mm）被完全润湿。从膜中除去溶剂，并加入 UHP 水 (3ml)。此步骤重复至少 5 次，直至膜完全润湿在 UHP 水 (3ml) 中。

[0167] 第一施加 - 第一还原剂

[0168] 从含有膜的小瓶中除去 UHP 水并且加入新鲜的 UHP 水 (2ml)，然后加入四氯铂酸钾 (50mg)、抗坏血酸 (300mg) 和 37% 的 HCl (0.25ml)。

[0169] 第一施加 - 第一还原

[0170] 将在铂 / 抗坏血酸溶液中的膜置于烘箱中，并在 45°C 下加热 6 天。

[0171] 第一施加 - 第二还原剂和第二还原

[0172] 膜在 IPA/UHP 水溶液 (70:30v/v, 7ml) 中洗涤至少 5 次。将  $\text{NaBH}_4$  (50mg) 加入至在 IPA/UHP 水溶液 (70:30v/v, 7ml) 中的膜。

[0173] 第一施加 - 洗涤

[0174] 膜在 IPA/UHP 水溶液 (70:30v/v, 7ml) 中洗涤至少 5 次。加入丙醇 (3ml) 使膜完全润湿。从膜中除去溶剂, 并加入 UHP 水 (3ml)。此步骤重复至少 5 次, 直至其中不再有丙醇。

[0175] 第二施加 - 第一还原剂

[0176] 从含膜的小瓶中除去 UHP 水并且加入新鲜的 UHP 水 (2ml), 然后加入四氯铂酸钾 (25mg)、抗坏血酸 (300mg) 和 37% 的 HCl (0.25ml)。

[0177] 第二施加 - 第一还原

[0178] 将在 Pt/ 抗坏血酸溶液中的膜置于烘箱中, 并在 45°C 下加热 1 天。

[0179] 第二施加 - 第二还原剂和第二还原

[0180] 膜在 IPA/UHP 水溶液 (70:30v/v, 7ml) 中洗涤至少 5 次。将  $\text{NaBH}_4$  (50mg) 加入到含有该膜的溶液中。

[0181] 第二施加 - 洗涤

[0182] 膜在 IPA/UHP 水溶液 (70:30v/v, 7ml) 中洗涤至少 5 次。在经水洗涤后, 将膜浸入在乙醇 (7ml) 中。

[0183] 干燥

[0184] 在室温和压力下, 使膜在空气中干燥至少 1 小时。

[0185] 实施例 2

[0186] 按照实施例 1 的程序来生产 ROS 淬灭膜, 但除了以下步骤之外:

[0187] (v) 对于第一施加 - 第一还原剂的步骤, 使用 50mg 的四氯铂酸钾; 以及

[0188] (vi) 对于第一施加 - 第二还原剂的步骤 - 第二还原剂和第二还原的步骤, 使用 37% 的盐酸 (0.5ml) 和肼 (1.5ml) 的混合物来代替在 IPA/UHP 水溶液 (70:30v/v, 7ml) 中的  $\text{NaBH}_4$ 。

[0189] 膜的 SEM 图像示于图 5 中。A 和 B 是表面图像, 而 C 和 D 是横截面图像。

[0190] 实施例 3

[0191] 按如下程序制备过氧化氢溶液 (10ppm):

[0192] 将 30% 的过氧化氢溶液 (133  $\mu$ l) 稀释在 UHP 水 (100ml) 中, 以得到 400ppm 的过氧化氢溶液。将 1ml 400ppm 的溶液稀释在 39ml 的 UHP 水中, 以得到 10ppm 的过氧化氢溶液。

[0193] 如图 4 所示意性示出的, 将由此制备的 100  $\mu$ l 10ppm 的溶液泵送穿过实施例 1 的膜的 25mm 长的壁。在已经过膜的溶液中未检测到过氧化物。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的检测利用过氧化物测试条来进行, 该过氧化物测试条能够检测 0.5ppm 或更高浓度的过氧化物 (例如 EM Quant™)。使用实施例 2 的膜重复相同的程序, 并且过氧化物水平在已经通过膜的溶液中低于检测水平 (0.5ppm)。

[0194] 按如下程序测试膜的葡萄糖损耗:

[0195] 在使用前, 制备 D- 葡萄糖溶液 (5mmol), 并允许端基异构体比率达到平衡 (40:60  $\alpha$  /  $\beta$  比率)。将待测定的 10 个长度的膜放置在 3.5mL 的小瓶中, 并且加入预制备

的 D- 葡萄糖溶液 (3ml)。将制备的 D- 葡萄糖溶液 (3ml) 加入到第二个空的 3.5mL 小瓶中作为对照。利用葡萄糖乳酸分析仪 (YSI2300Stat plus) 来测量两个小瓶中的 D- 葡萄糖浓度, 随后将样品孵育在 37°C 下。在 24 小时的最小周期中测量 D- 葡萄糖浓度至少 3 次。绘制时间相对于 D- 葡萄糖浓度的曲线图, 并测定 D- 葡萄糖的降解速率。

[0196] 实施例 4

[0197] 将根据实施例 2 的过程制备的 20 个长度 (每一长度为 25mm) 的膜放置在 4.2mM 的葡萄糖溶液 (3ml) 中。测量相对于时间的葡萄糖浓度。72 小时后, 葡萄糖浓度增加至 7.4mM。葡萄糖浓度的测量结果示于图 7 中。垂直箭头表示葡萄糖浓度的增加。

[0198] 该结果表明葡萄糖浓度没有下降, 这表明葡萄糖在膜的存在下是稳定的。

[0199] 实施例 5

[0200] 通过实施例 1 或实施例 2 的过程, 利用 Pt 的单一施加或 Pt 的两次施加来生产 ROS 淬灭膜。对于具有铂的单一施加的膜, 省略第二施加的步骤。通过测量 2.5cm 长度的膜放置在 30% 的过氧化氢溶液中时的氧气的释放速率, 来测定膜的 ROS 淬灭活性。结果示于下面的表 1 中。对于某些膜, 给出了铂负载。

[0201]

膜	Pt 负载/ wt%	释放的 O <sub>2</sub> / cm <sup>3</sup> .min <sup>-1</sup>	过程	备注
1	0.5	12.3	实施例 1	单一施加
2	1.67	19.4	实施例 1	两次施加
3	-	26.0	实施例 2	两次施加

[0202] 表 1

[0203] 实施例 6 : 体外测试

[0204] 利用根据实施例 2 制备的镀铂膜来构建具有指示剂系统的光学葡萄糖传感器, 以使得进入传感器的分析物通过膜, 其中指示剂系统包含二硼酸和与其相关联的荧光团。将传感器的感应部分插入到根据实施例 3 的程序制备的 10ppm 的过氧化氢溶液中。利用传感器连续监测葡萄糖浓度, 并且利用电化学葡萄糖传感器 (YSI2300stat) 每 5 分钟监测一次葡萄糖浓度。测试持续进行 60 分钟, 且结果示于图 6 中 (实线)。

[0205] 利用相同的传感器进行相应的实验, 但除了所使用的膜没有镀铂之外。结果也示于图 6 中 (虚线)。

[0206] 实施例 7 : 暴露于过氧化物的影响

[0207] 在暴露于 10ppm 的过氧化氢溶液之前或之后, 都对实施例 6 中所述的镀铂和未镀铂传感器进行葡萄糖的校准。结果示于下面的表 2 中。在镀铂传感器的两次传感器校准之间没有观察到显著的变化。与此相反, 在未镀铂传感器中看到了显著的下降。

[0208]

批次	灭菌		$I_0$	$I_\infty$	K	$\text{Mod}_{5\text{mM}}\%$
镀铂膜的传感器	是	之前	1.000	3.679	0.036	28.9
		之后	1.000	3.712	0.035	28.7
		+/-%	-0.3	0.6	-2.2	-0.5
未镀铂膜的传感器	是	之前	1.000	2.858	0.033	20.9
		之后	1.000	1.612	0.024	6.2
		+/-%	-22.7	-56.4	-26.2	-70.1

[0209] 表 1. 暴露于过氧化物之前或之后的校准常数。 $I_0$  和  $I_\infty$  已被标准化。

#### [0210] 实施例 8 : 体内测试

[0211] 利用根据实施例 2 制备的镀铂膜来构建具有指示剂系统的光学葡萄糖传感器, 使得进入传感器的分析物通过膜, 其中指示剂系统包含二硼酸和与其相关联的荧光团。将传感器的感应部分经由 18G 套管插入到患者的静脉中。连续记录通过传感器测定的葡萄糖浓度。在测试进行时, 每隔约 2 小时从患者抽取血液样品, 或根据需要, 且利用电化学葡萄糖传感器 (YSI2300stat) 来测定各样品的葡萄糖浓度。结果示于图 9b 中。

[0212] 利用相同的传感器进行相应的实验, 除了所使用的膜没有镀铂之外。结果示于图 9a 中。如从图中明显看到, 具有镀铂膜的传感器的结果很好地对应与 YSI stat 的结果, 而非镀铂传感器在测试时段没有显示出紧密对应于 YSI stat。

#### [0213] 实施例 9

[0214] 构建三种具有根据以下过程生产的膜的传感器:

[0215] 1. 将长度为 25mm 的聚丙烯中空纤维膜 (MPHF) 放置在 7ml 的小瓶中。

[0216] 2. 通过加入 NMP (2ml) 使该 MPHF 膜被完全润湿, 并且振荡小瓶。该润湿过程是瞬时发生的, 且膜在润湿时变的半透明。

[0217] 3. 除去小瓶中的溶剂, 并立即更换为 NMP (2ml)。振荡小瓶以洗涤膜。将该除去 / 更换和振荡过程重复至少三次。

[0218] 4. 从小瓶中除去 NMP 并且加入下列物质, 同时在各加入之间都进行振荡:

[0219] NMP (2ml)

[0220] UHP 水 (4ml)

[0221] 四氯铂酸钾 (II) (0.75ml 的 50mg. ml<sup>-1</sup> 溶液)

[0222] 甲酸 (0.1ml)

[0223] 5. 将小瓶放置在 45°C 下加热的振荡器中, 持续至少 12 小时并且最多 24 小时。

[0224] 6. 除去小瓶中的溶剂, 并更换为 70:30IPA/UHP 水溶液 (7ml)。该过程重复至少 5 次, 直至洗液是清澈的。

[0225] 7. 将膜从小瓶中移出, 并且在环境条件下干燥至少 1 个小时, 该膜被支撑在平直的丝线 (wire) 上以保持膜的平直。

[0226] 将传感器暴露于 10ppm 的过氧化氢溶液 1 小时, 同样对照的未镀铂传感器也暴露于 10ppm 的过氧化氢溶液 1 小时, 并且测量葡萄糖浓度。图 10 分别以 IB070-001、IB070-002 和 IB070-003 示出了镀铂传感器 1、2 和 3 的结果。未镀铂对照的结果以 IB066-011 来表示。

[0227] 在该测试的之前或之后, 对这些传感器进行校准。表 3 是这些校准的比较。

[0228]

传感器	1	2	3	对照
$I_0$	-0.4	-0.8	-1.1	-21.8
$I_\infty$	2.7	0.9	0.2	-49.0
K	-5.2	-3.0	-0.5	-16.4
$Mod_{5mM}$	-0.2	-0.1	1.0	-48.1

[0229] 表 3. 与未镀铂传感器（对照）相比，当暴露于 10ppm 的过氧化氢溶液时，含有根据实施例 9 的程序生产的膜的镀铂传感器（传感器 1 ~ 3）的校准常数的百分比变化。

[0230] 镀铂传感器显示出对过氧化氢溶液具有充分的稳定性，并且它们的校准常数在测试前后没有显著的变化。在 5mM 葡萄糖处的平均调幅由 27.47% 变化为 27.53%。

[0231] 在 10ppm 的  $H_2O_2$  中，利用实施例 3 的程序测定根据上述过程所生产的膜的 ROS 淬灭活性。在已通过膜的溶液中的过氧化物水平低于检出限 (0.5ppm)。

[0232] 已经参照多个具体实施方式和实施例来描述了本发明。然而，本发明并不限于这些特定的实施方式和实施例。

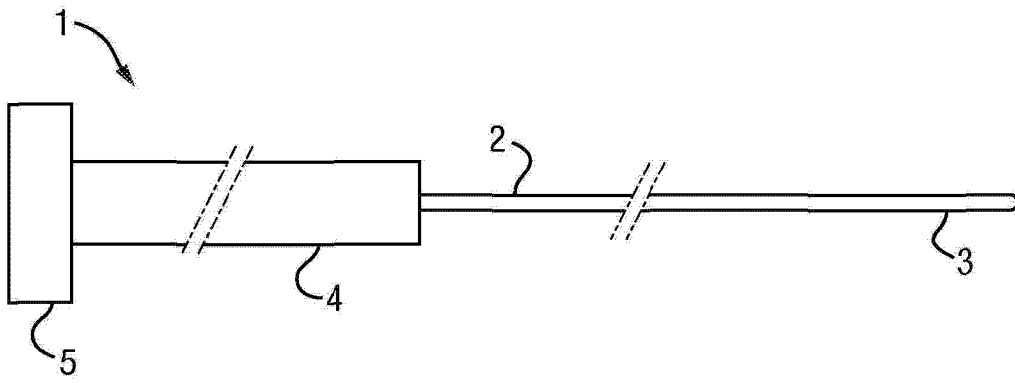


图 1

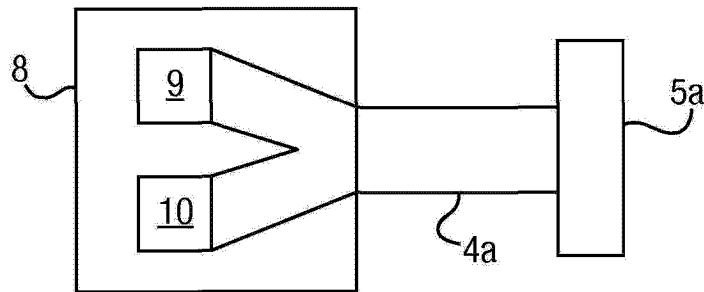


图 1a

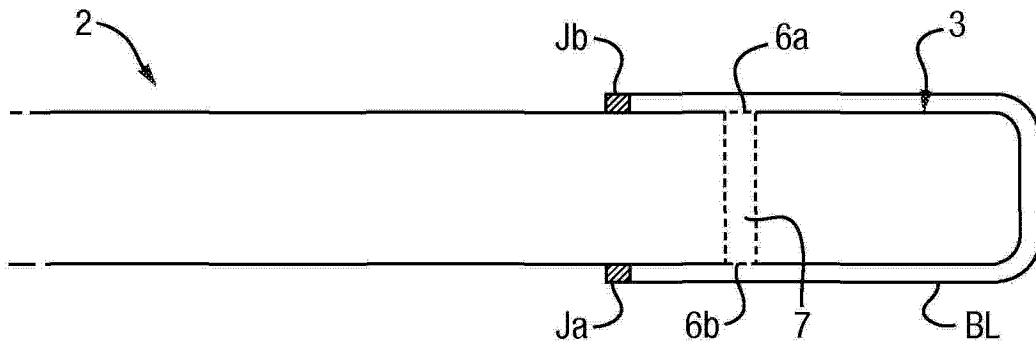


图 2

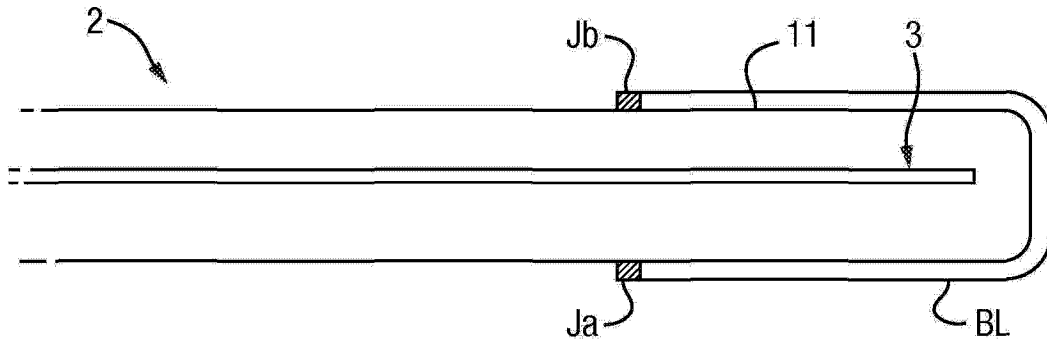


图 3

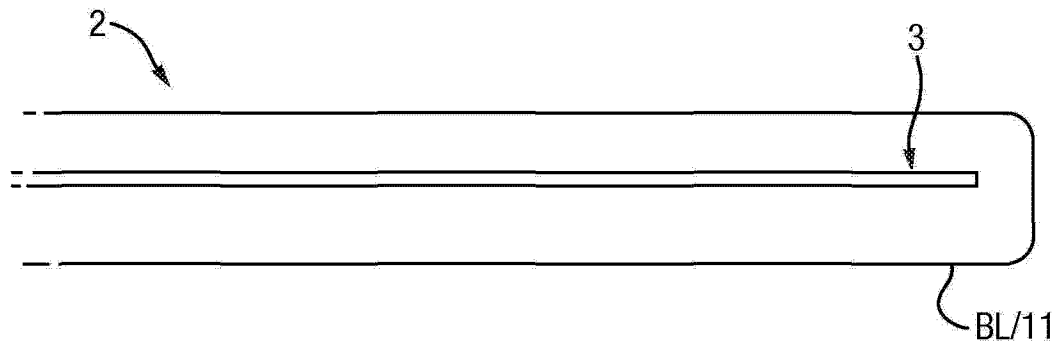


图 3a

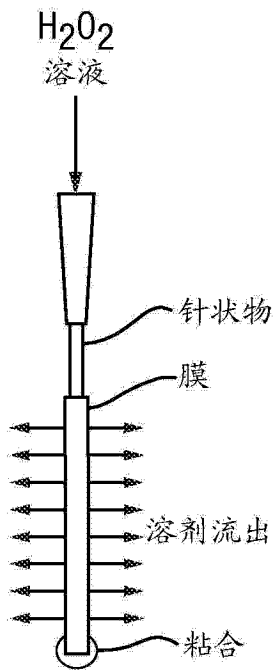


图 4

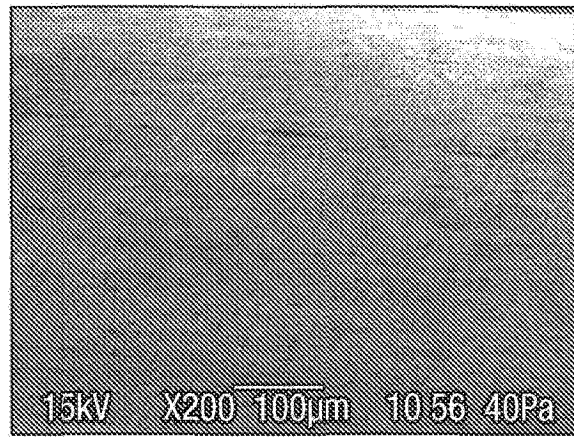


图 5A

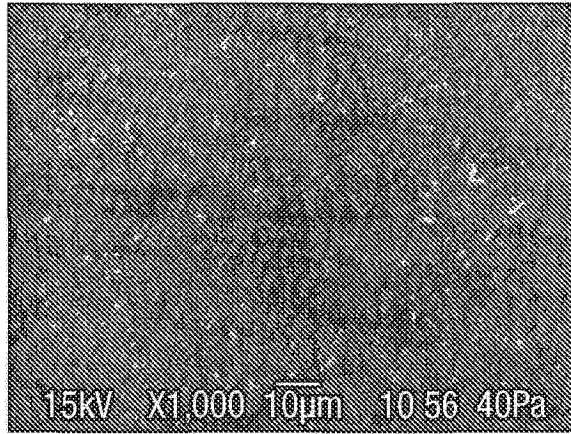


图 5B

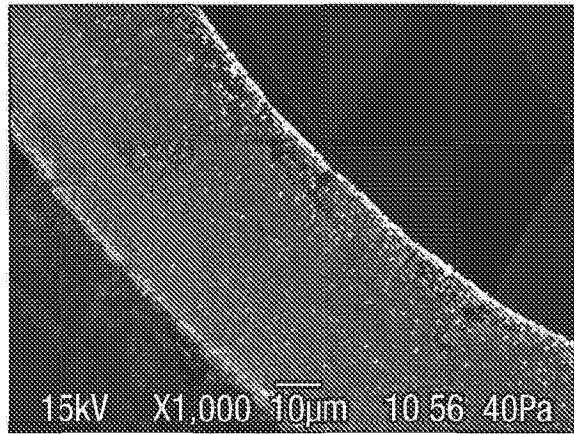


图 5C

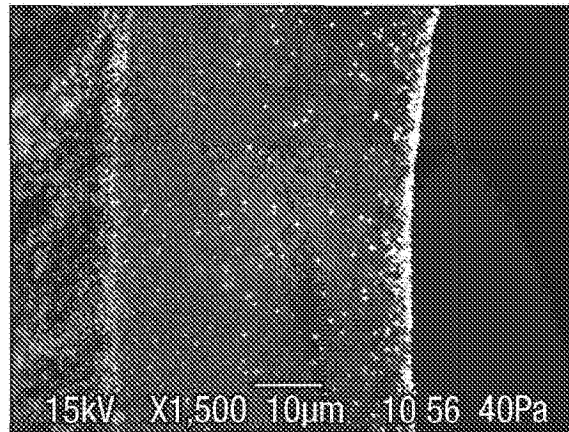
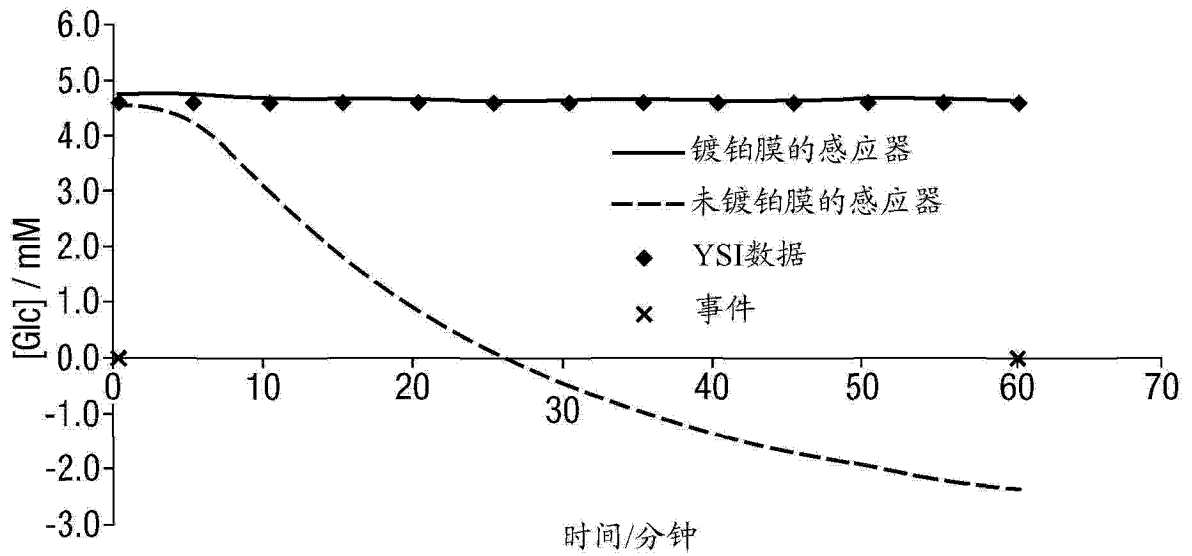


图 5D



时间/分钟	事件
0	将5-10ppm的H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 加入到室中
60	将新鲜的PBS加入到室中

图 6

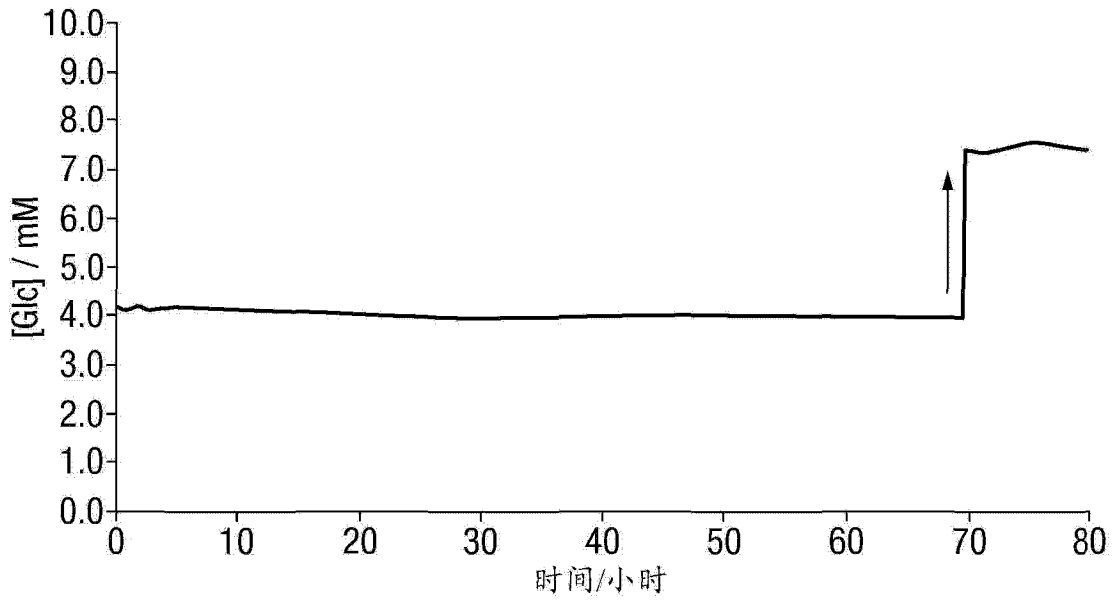


图 7

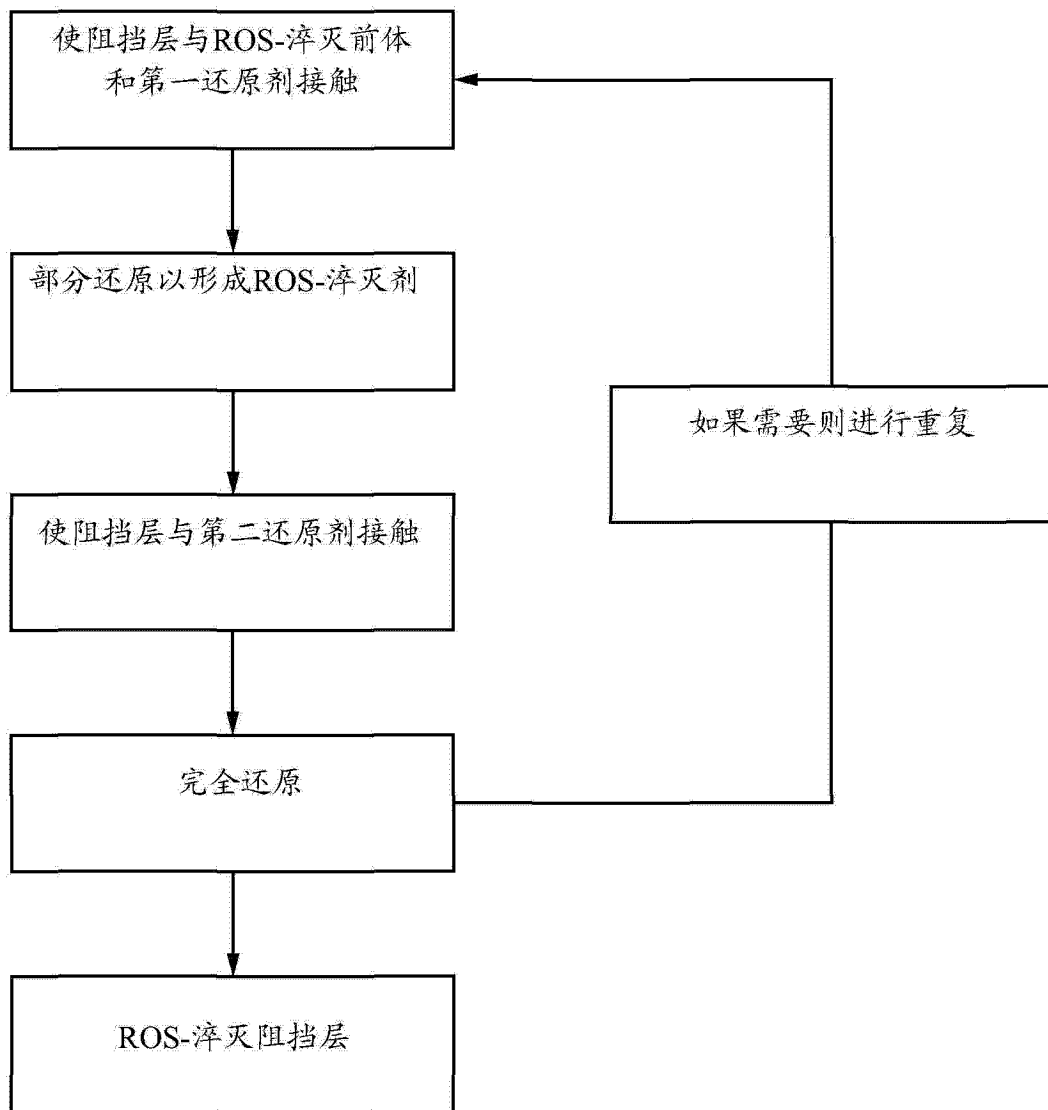


图 8

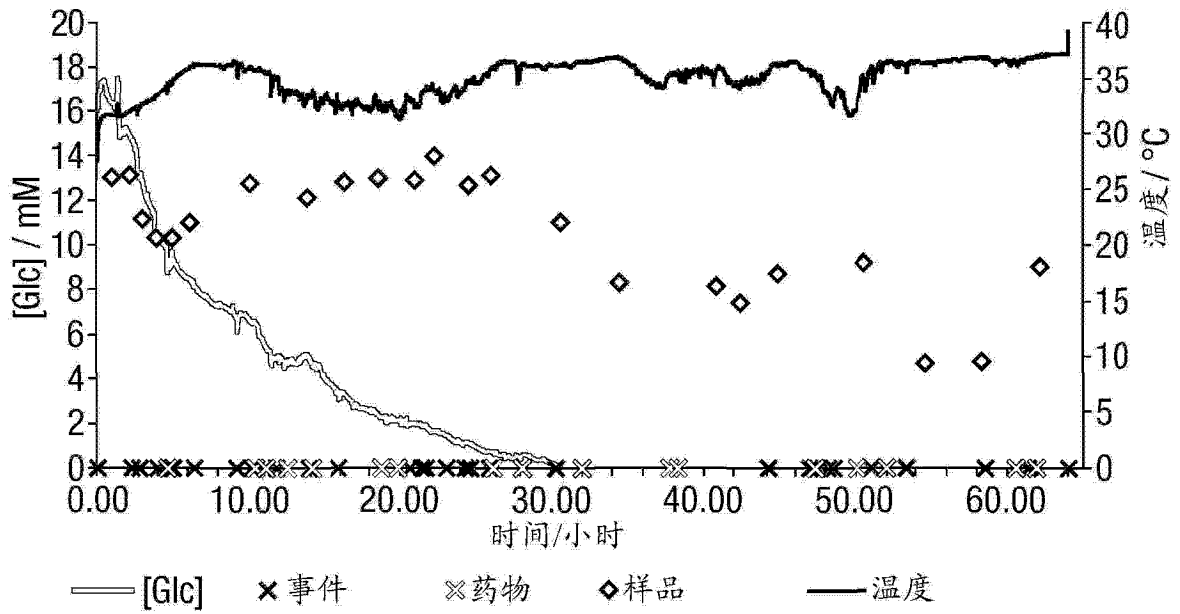


图 9a

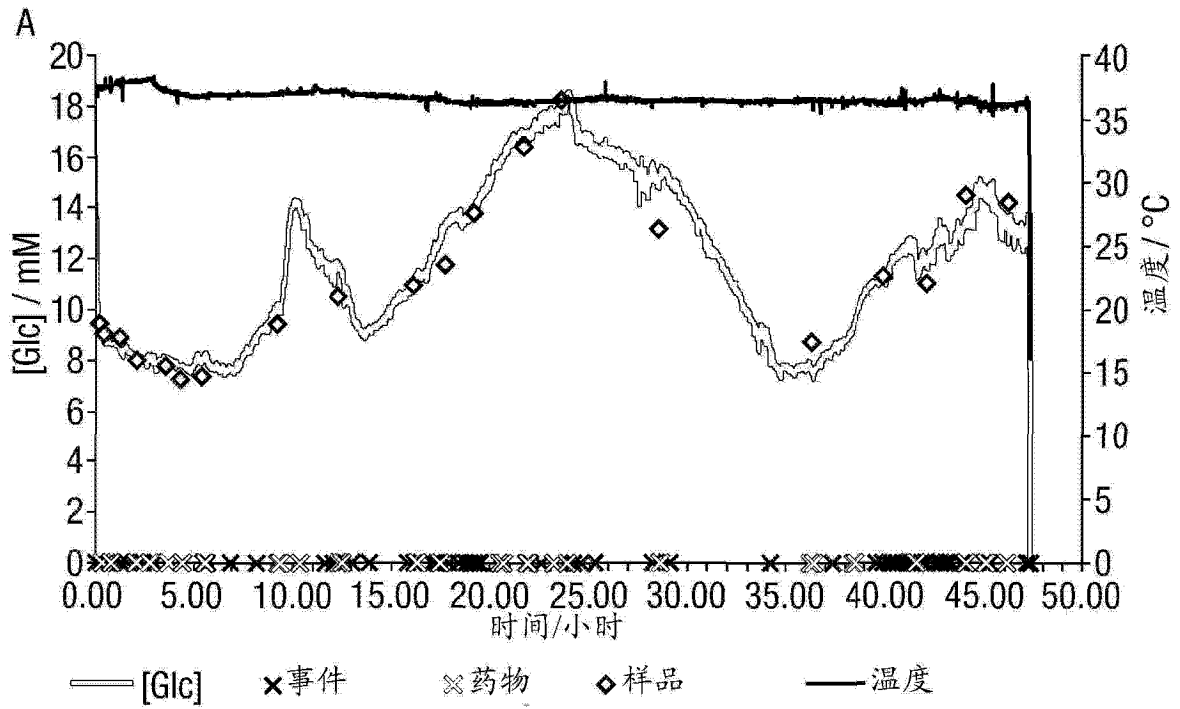


图 9b

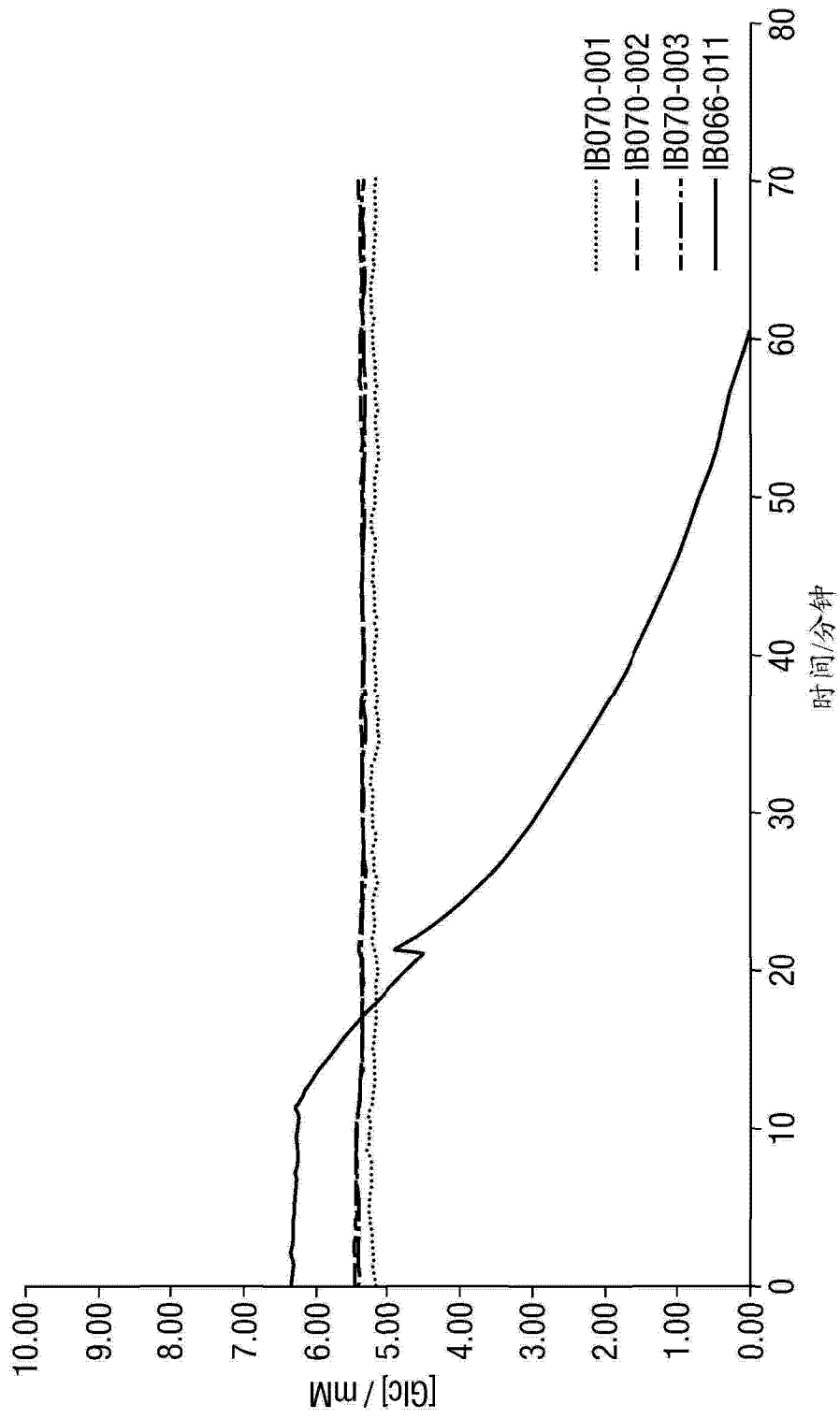


图 10