



(10) **DE 11 2014 001 792 T5** 2016.01.14

(12)

Veröffentlichung

der internationalen Anmeldung mit der
(87) Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2014/181662**
in deutscher Übersetzung (Art. III § 8 Abs. 2 IntPatÜG)
(21) Deutsches Aktenzeichen: **11 2014 001 792.2**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/JP2014/061051**
(86) PCT-Anmeldetag: **18.04.2014**
(87) PCT-Veröffentlichungstag: **13.11.2014**
(43) Veröffentlichungstag der PCT Anmeldung
in deutscher Übersetzung: **14.01.2016**

(51) Int Cl.: **G01N 33/53** (2006.01)
G01N 21/27 (2006.01)
G01N 21/41 (2006.01)
G01N 21/64 (2006.01)
G01N 33/543 (2006.01)

(30) Unionspriorität:
2013-100417 **10.05.2013** **JP**

(71) Anmelder:
HITACHI, LTD., Tokyo, JP

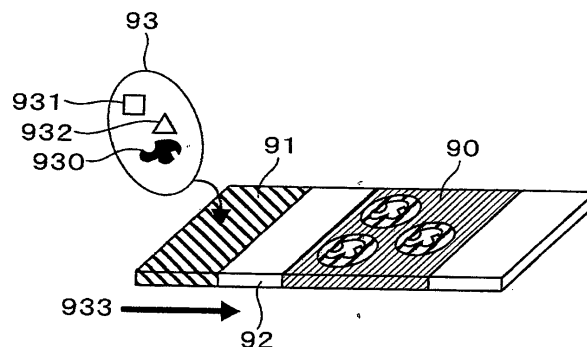
(74) Vertreter:
Patentanwälte Strehl, Schübel-Hopf & Partner,
80538 München, DE

(72) Erfinder:
Takeuchi, Toshifumi, Kobe-shi, Hyogo, JP;
Taniguchi, Shinichi, Tokyo, JP

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

(54) Bezeichnung: **Molekulare Matrize und Herstellungsverfahren dafür**

(57) Zusammenfassung: Molekularmatrizenpolymerteilchen für ein Steroidhormon, wobei die Molekularmatrizenpolymerteilchen ein Polymer enthalten, das mit dem Steroidhormon wechselwirkt. Die Polymerisationseinheit des Polymers enthält vorzugsweise mindestens zwei funktionelle Gruppen, die mit dem vorstehend genannten Steroidhormon Wechselwirken.



Beschreibung

TECHNISCHES GEBIET

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft eine molekulare Matrize und ein Herstellungsverfahren dafür sowie einen Apparat zum Nachweisen einer chemischen Substanz und ein Verfahren zum Nachweisen einer chemischen Substanz unter Verwendung der molekularen Matrize.

STAND DER TECHNIK

[0002] Chemische Substanzen, die beispielsweise auf dem Gebiet der klinischen Labortests, der Umwelt, der Hygiene und der Krankheitskontrolle zu handhaben sind, beziehen sich auf extrem unterschiedliche Gebiete, und es gibt so viele unterschiedliche Arten von solchen chemischen Substanzen. Beispiele solcher chemischer Substanzen umfassen: Ein Hormonmolekül, das als Stressstörungsmarker dient, Endocrinzersetzer auf dem Gebiet der Umwelthormone, Bodenverschmutzungssubstanzen in ehemaligen Fabriken, von Baumaterialien freigesetztes Asbest und chemische Substanzen, die schlechte Gerüche oder unangenehmen Geschmack verursachen, der von Essen oder Behältern davon herrührt, oder Apparate, die Nahrungsmittel und Behälter produzieren. Die meisten solcher chemischen Substanzen sind Moleküle mit geringem Molekulargewicht, und sie sind üblicherweise in extrem geringen Mengen in den gemessenen Gegenständen vorhanden. Ein rascher und hochsensibler Nachweis solcher chemischen Substanzen ist jedoch eine extrem wichtige Aufgabe bei der Sicherstellung der Sicherheit oder dergleichen in verschiedenen Gebieten.

[0003] Derzeitige Messtechniken ermöglichen die Analyse verschiedener chemischer Substanzen mit einer Genauigkeit im Bereich von ppt (ein Trillionstel) oder weniger als Ergebnis einer Kombination von beispielsweise ausgereiften Separationsverfahren, Konzentrationsverfahren und analytischen Verfahren. Der Fall einer solchen Analyse auf Spurenelementniveau erfordert üblicherweise verschiedene Stufen, wie die optische Abtrennung, die Konzentration, die qualitative Analyse und die quantitative Analyse, die so ausgewählt sind, dass sie vereinbar sind mit dem nachzuweisenden Gegenstand. Folglich erfordert eine solche Analyse von Spurenelementen viel Arbeits- und Zeitaufwand und somit hohe Analysekosten. Dementsprechend muss ein analytisches Verfahren, das eine solche große Anzahl von komplizierten Stufen erfordert, als Messverfahren in einem Labor spezialisiert werden, und das Verfahren ist nicht geeignet als ein Verfahren, das an tatsächlichen Messstellen eingesetzt werden kann.

[0004] Das Messverfahren, das an tatsächlichen Messstellen erforderlich ist, ist ein Messverfahren, das eine chemische Substanz vor Ort nachweisen kann. In der Sensortechnologie sind Techniken, die sich von einer Analysetechnik unterscheiden, auf der Grundlage solcher Erfordernisse entwickelt worden. Ein Sensorverfahren ermöglicht eine einfache und rasche Erfassung oder Überwachung von chemischen Substanzen, und das Verfahren kann zusätzlich in miniaturisierten Messapparaten eingesetzt werden.

[0005] Als Stand der Technik des genannten technischen Gebiets können Patentdokument 1 und Patentdokument 2 genannt werden. Patentdokument 1 beschreibt, dass Vorrichtungen, Verfahren und Ausrüstungen für die rasche und mühelose qualitative Bestimmung von Zielmolekülen, einschließlich kleinen Molekülen, Polypeptiden, Proteinen, Zellen und Agentien von infektiösen Krankheiten in flüssigen Proben eine Echtzeitmessung dieser Einheiten in flüssigen Proben ermöglichen, und diese hochselektiv, hochempfindlich, einfach in der Durchführung und mit geringen Kosten verbunden sowie tragbar sind. Die Vorrichtungen, Verfahren und Ausrüstungen stellen zumindest in einigen Beispielen die Verwendung von MIPs in einer Durchflussvorrichtung oder einer Lateralflussvorrichtung bereit (vergleiche Zusammenfassung). Der in Patentdokument 1 verwendete Ausdruck „MIP“ bedeutet ein Molekularmatrizenpolymer (molecularly imprinted polymer), und die Verfahren zum Synthetisieren von MIPs gemäß den aufzunehmenden chemischen Substanzen sind weithin bekannt. Patentdokument 2 enthält ebenfalls eine Beschreibung zur Herstellung von dem MIP.

ZITIERLISTE

PATENTDOKUMENTE

[0006]

Patentdokument 1: WO2009/083975 A2

Patentdokument 2: WO2013/046826 A1

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

DURCH DIE ERFINDUNG ZU LÖSENDE AUFGABEN

[0007] Anders als bei Analysetechniken sind derzeitige Sensortechniken nicht in der Lage, ein Molekül hochempfindlich zu analysieren. Die Messung startet jedoch üblicherweise von einem Zustand, in dem das Vorhandensein einer chemischen Substanz als zu messendes Subjekt in den vorstehend genannten verschiedenen Gebieten in einer Probe unklar ist. Selbst in dem Fall, dass sie vorhanden ist, ist die Menge jedoch im Allgemeinen sehr gering. Es ist für die Messung erforderlich, eine Konzentrierung oder Abtrennung in Kombination einzusetzen. Das Messverfahren, das einem solchen Verfahren unterworfen wird, unterscheidet sich jedoch nicht von einem analytischen Verfahren in einem wissenschaftlichen Labor, und es ist nicht geeignet als ein Verfahren, das an einer tatsächlichen Messstelle eingesetzt werden soll. Wie vorstehend beschrieben gibt es außerdem das Problem, dass das Verfahren technisch nicht mit der Analysekraft von derzeitigen Sensortechniken mithalten kann.

[0008] Um die vorstehend genannten Aufgaben zu lösen, haben sich die Erfinder der vorliegenden Erfindung auf eine Molekularmatrixtechnik konzentriert. Es wird die Entwicklung einer Sensortechnik zum Nachweisen einer chemischen Zielsubstanz bereitgestellt, indem eine chemische Substanz selektiv eingefangen wird, ohne das Verfahren, wie Konzentrieren und Abtrennen, erforderlich sind.

[0009] Ein Ziel der vorliegenden Erfindung ist es, ein Molekularmatrizenpolymer zum Einfangen einer chemischen Substanz in einem Gegenstand zum Nachweisen der Substanz, ein Verfahren zum Herstellen des Molekularmatrizenpolymers und ein Verfahren und einen Apparat zum raschen Nachweisen einer chemischen Substanz mit hoher Empfindlichkeit und bei geringen Kosten bereit zu stellen, wodurch die Identifizierung der chemischen Substanz unter Verwendung des Molekularmatrizenpolymers ermöglicht wird. Ein anderer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Bereitstellung eines Verfahrens und eines Apparates zum Nachweisen einer chemischen Substanz, das Ermöglichen des Nachweises der chemischen Substanz in dem zu untersuchenden Gegenstand bei ultrahoher Empfindlichkeit.

[0010] Anders ausgedrückt führt das Verfahren und der Apparat zum Nachweisen einer chemischen Substanz gemäß der vorliegenden Erfindung den Nachweis durch, indem die chemische Substanz mit einem Einfangkörper, hergestellt unter Verwendung des Molekularmatrizenpolymers, eingefangen wird. Die vorliegende Erfindung stellt einen chemischen Sensor bereit, der für den allgemeinen Verbraucher zu Hause sowie für medizinisches Personal (Ärzte, medizinische Techniker und Krankenschwestern) mühelos zu verwenden ist. Insbesondere ist ein Ziel der vorliegenden Erfindung die frühe Diagnose des Symptoms der Stressestörung durch Nachweisen eines Steroidhormons, wie Cortisol, das mit einer Stressestörung in engem Zusammenhang steht, mit hoher Empfindlichkeit, so dass damit ein Beitrag geleistet wird zur Prävention und frühen Behandlung von Stressestörungen.

LÖSUNGEN DER AUFGABEN

[0011] Für ein rasches, kostengünstiges und hochempfindliches Nachweisen eines Steroidhormons, wie Cortisol löst die vorliegende Erfindung das vorstehend genannte technische Problem, indem ein Molekularmatrizenpolymer (MIP) synthetisiert wird, das für ein Steroidhormon geeignet ist. Genauer gesagt wird die vorliegende Erfindung in den Patentansprüchen beschrieben. Die vorliegende Erfindung umfasst eine Vielzahl von Mitteln zum Lösen der vorstehend genannten Aufgabe. Ein Beispiel eines solchen Mittels ist das erfindungsgemäße Molekularmatrizenpolymer, das gekennzeichnet ist durch das Molekularmatrizenpolymer für Steroidhormon, wobei das Molekularmatrizenpolymer aus einem Polymer besteht, das mit dem Steroidhormon wechselwirkt.

[0012] Obwohl das Syntheseprinzip für ein Polymer seit den 1950er Jahren bekannt ist, ist es erforderlich, die Syntheseausgangsmaterialien, den Syntheseweg, die Reaktionsdauer und die Reaktionstemperatur herauszufinden, die für eine einzufangende chemische Substanz (Zielsubstanz) geeignet sind. Somit ist es möglich, als eine prinzipielle Struktur ein Polymer vorzuschlagen, wie es in dem vorstehend genannten Patentdokument 1 genannt wird. Für die praktische Herstellung eines Polymers, um eine Zielsubstanz mit hoher Empfindlichkeit einzufangen, sind jedoch eine ausgearbeitete Ausgestaltung, eine ausgefeilte Synthese und Reinigung erforderlich.

[0013] Patentdokument 2 offenbart außerdem das Molekularmatrizenpolymer für Cortisol, und das Verfahren zum Herstellen des Polymers ist eine Polymerisationsreaktion unter Verwendung von Cortisol und einem Ausgangsmaterialmonomer.

[0014] Ein Molekularmatrizenpolymer, das durch molekulares Prägen hergestellt wird, kann unter Verwendung verschiedener Matrizen konstruiert werden. Die Erfinder der vorliegenden Erfindung haben ein Polymer entdeckt, das in dem molekularen Prägen für das Molekül eines Steroidhormons, wie Cortisol oder von Derivaten von Cortisol, die mit einer Stresstörung in enger Beziehung stehen, einzusetzen ist.

[0015] In der vorliegenden Erfindung wird die Polymerisationsreaktion durchgeführt, indem Teilchen als ein Kern, modifiziertes Cortisol und ein Ausgangsmaterialmonomer verwendet werden. Dementsprechend ist die vorliegende Erfindung dadurch gekennzeichnet, dass das Molekularmatrizenpolymer mit hochfeiner Kugelform hergestellt wird.

[0016] Das erfindungsgemäße Molekularmatrizenpolymer ist als Matrix geeignet, die für das Prägen eines Steroidhormons eingesetzt werden kann, wobei die Netzwerkstruktur des Polymers eine geeignete Flexibilität aufweist, und das Netzwerk wird aufgequollen und geschrumpft in Abhängigkeit von einem Faktor wie dem Lösungsmittel oder der Umgebung. Anders ausgedrückt ist die Erkennungsstelle, die durch das Matrizenmolekül in dem Molekularmatrizenpolymer gebildet wird, notwendigerweise in einer Größe, die der Größe des Matrizenmoleküls entspricht. Andererseits ist für das Entfernen des Matrizenmoleküls nach der Polymerisation oder dem Zulassen der erneuten Bindung der chemischen Substanz (Zielsubstanz) an die Erkennungsstelle ein gewisser Raum erforderlich, um zu ermöglichen, dass das Molekül in die Netzwerkstruktur wandert. Die Erfinder der vorliegenden Erfindung haben ein Polymermaterial entdeckt, das solche widersprechenden Bedingungen erfüllt, und sie haben die Synthesebedingungen für das Polymermaterial entdeckt. Insbesondere hat ein Steroidhormon, wie Cortisol ein Steroidskelett, so dass das Molekül steif ist. Da außerdem das Steroidhormon, wie Cortisol, Gruppen, wie Hydroxylgruppen, aufweist, ist es in der Lage, Wechselwirkungen mit dem Ausgangsmaterial Monomer zu bilden, die zum Zeitpunkt des molekularen Prägens erforderlich sind. Insbesondere wird in der vorliegenden Erfindung unter Einsatz eines Dicarbonsäurederivats, das beispielsweise mit Cortisol an zwei Stellen eines Teils des Ausgangsmaterial Monomers Wechselwirken kann, eine Synthese eines Molekularmatrizenpolymers erzielt, die ein hocheffizientes Einfangen ermöglicht.

[0017] Gemäß der vorliegenden Erfindung wird außerdem ein methacroyliertes Cortisolderivat mit einer polymerisierbaren Substituentengruppe mit einer Modifizierung eines Teils eines Cortisolmoleküls an Stelle von Cortisol für die Synthese des Molekularmatrizenpolymers eingesetzt. Als Ergebnis wird ein kovalentes Monomermolekül als Ausgangsmaterial eines Molekularmatrizenpolymers gebildet, und somit wird die Synthese eines Molekularmatrizenpolymers erzielt, welches ein hocheffizientes Einfangen ermöglicht.

[0018] Somit ermöglicht das erfindungsgemäße Verfahren zum Nachweisen einer chemischen Substanz den hochempfindlichen Nachweis durch das Verfahren, bei dem die Nachweisempfindlichkeit für das eingefangene Steroidhormon erhöht wird.

WIRKUNGEN DER ERFINDUNG

[0019] Gemäß dem Verfahren und dem Apparat zum Nachweisen einer chemischen Substanz gemäß der vorliegenden Erfindung ist es möglich, ein nachzuweisendes Steroidhormon aufgrund des Molekularmatrizenpolymers, das aus einem spezifischen Polymer gebildet wird, selektiv nachzuweisen, ohne dass eine Konzentrierungsstufe oder Abtrennungsstufe erforderlich ist.

[0020] Außerdem ist es gemäß dem Apparat zum Nachweisen einer chemischen Substanz gemäß der vorliegenden Erfindung möglich, die Größe des Moleküleinfangteils, der dem wichtigsten Sensorteil entspricht, zu verringern, so dass es möglich ist, einen tragbaren Apparat zum Nachweisen einer chemischen Substanz bereit zu stellen.

KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

[0021] Fig. 1 ist ein Diagramm, das ein repräsentatives Verfahren zum Herstellen eines Molekularmatrizenpolymers schematisch veranschaulicht.

[0022] Fig. 2 ist eine Längs-/Querschnittsansicht zum Beschreiben des Konzepts eines Apparats zum Nachweisen einer chemischen Substanz gemäß der ersten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung.

[0023] Fig. 3A ist ein Diagramm, das ein Syntheschema des Molekularmatrizenpolymers gemäß der ersten Ausführungsform veranschaulicht.

[0024] Fig. 3B ist ein Diagramm, das ein Verfahren zum Herstellen von Molekularmatrizenpolymerteilchen schematisch veranschaulicht.

[0025] Fig. 4A ist ein Diagramm, das die Molekularstruktur von Cortisol schematisch veranschaulicht.

[0026] Fig. 4B ist Diagramm, das die Molekularstruktur von Itaconsäure schematisch veranschaulicht.

[0027] Fig. 5 ist ein Diagramm, das die Wechselwirkung zwischen Cortisol und Itaconsäure schematisch veranschaulicht.

[0028] Fig. 6 ist ein Diagramm, das die molekulare Struktur verschiedener Steroidhormone schematisch veranschaulicht.

[0029] Fig. 7 ist ein Konzeptdiagramm zum Beschreiben eines Wettbewerbsverfahrens gemäß einer zweiten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung.

[0030] Fig. 8 ist eine perspektivische Ansicht, die eine Ausführungsform eines Apparats zum Nachweisen einer chemischen Substanz gemäß einer dritten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung veranschaulicht.

[0031] Fig. 9 ist ein Diagramm, das die molekulare Struktur von methacroyliertem Cortisol gemäß Beispiel 1 veranschaulicht.

[0032] Fig. 10A ist ein Diagramm, das die molekulare Struktur des Cortisolderivats gemäß Beispiel 2 veranschaulicht.

[0033] Fig. 10B ist ein Diagramm, das die molekulare Struktur des Cortisolderivats gemäß Beispiel 2 veranschaulicht.

[0034] Fig. 11A ist ein Graph, der die Nachweisergebnisse für Cortisol des Beispiels 2 zeigt.

[0035] Fig. 11B ist ein Graph, der die Nachweisergebnisse für Cortisol des Beispiels 2 zeigt.

[0036] Fig. 12 ist ein Graph, der die Nachweisergebnisse für Cortisol des Beispiels 3 zeigt.

[0037] Fig. 13A ist ein Diagramm, das die molekulare Struktur nach Beispiel 4 zeigt.

[0038] Fig. 13B ist ein Diagramm, das die molekulare Struktur des Cortisolderivats nach Beispiel 4 zeigt.

AUSFÜHRUNGSFORM DER ERFINDUNG

[0039] Im Folgenden werden die Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung beschrieben. Die vorliegende Erfindung ist nicht auf diese Ausführungsformen beschränkt und kann auf verschiedene Weisen innerhalb eines Bereichs ausgeführt werden, der nicht vom Kern der vorliegenden Erfindung abweicht.

[0040] Eine Ausführungsform des Apparats zum Nachweisen einer chemischen Substanz gemäß der vorliegenden Erfindung umfasst ein Moleküleinfangteil, der auf seiner Oberfläche einen Einfangkörper aufweist, der ein Molekularmatrizenpolymer umfasst, welches gebildet wird, indem eine spezifische chemische Substanz verwendet wird, und ein Teil zum Messen der eingefangenen Menge für die quantitative Bestimmung der in dem Moleküleinfangteil eingefangenen chemischen Substanz. Der Einfangkörper kann die spezifische chemische Substanz (Zielsubstanz) in einer Probe auf eine Weise aufnehmen, die von der spezifischen Molekularstruktur der chemischen Substanz abhängt. Der Apparat zum Nachweisen einer chemischen Substanz gemäß der vorliegenden Ausführungsform führt die Molekülerkennung einer chemischen Substanz auf der Grundlage dieser Technik durch.

[0041] Fig. 1 veranschaulicht das repräsentative Herstellungsprinzip für ein Molekularmatrizenpolymer **22**, das in der vorliegenden Ausführungsform angewandt wird. Zuerst wird eine Polymerisationsreaktion in einem Gemisch durchgeführt, das aus einer einzufangenden Zielsubstanz **20**, einem Monomerausgangsmaterial A

201, einem Monomerausgangsmaterial **B 202** und einem Monomerausgangsmaterial **C 203** besteht, welche mit der Zielsubstanz **20** Wechselwirken, durchgeführt, so dass eine Erkennungsstelle **21** der Zielsubstanz **20** gebildet wird. Danach wird die Zielsubstanz **20** durch einen Vorgang, beispielsweise Waschen, entfernt, so dass das Molekularmatrizenpolymer (MIP) **22** mit einer Erkennungsstelle **21** hergestellt werden kann. Hier wird ein Beispiel gezeigt, bei dem die Zielsubstanz **20** als das Matrizenmolekül zur Bildung der Erkennungsstelle **21** verwendet wird. Anstelle der Zielsubstanz **20** können jedoch auch die Derivate und Analoga der Zielsubstanz **20** verwendet werden.

ERSTE AUSFÜHRUNGSFORM

[0042] Fig. 2 ist eine Längs-/Querschnittsansicht zum Beschreiben des Konzepts eines Apparats zum Nachweisen einer chemischen Substanz gemäß der ersten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung. Fig. 2 zeigt einen Apparat **1** zum Nachweisen einer chemischen Substanz gemäß der vorliegenden Ausführungsform, der eine oder mehrere Probenkammern **6**, einen Probeneinspritzteil **14**, einen Probenbeförderungsteil **15** und einen Auslassteil **16** umfasst. Die Probenkammer **6** hat einen Flüssigkeitenflusswegteil **7**, einen abnehmbaren Teil zum Verbinden des Flüssigkeitenflusswegteils **7** zu dem Probenbeförderungsteil **15** über einen Flusseinspritzport **8** und einen Flussentnahmeport **9**, einen Moleküleinfangteil **10**, der unter dem Flüssigkeitenflusswegteil **7** zur Verbindung mit dem Flüssigkeitenflusswegteil **7** vorhanden ist, und einen Teil zum Messen der eingefangenen Menge **11**. Wenn die Vielzahl der Probenkammern **6** in dem Apparat **1** zum Nachweisen einer chemischen Substanz eingebaut sind, kann eine Struktur vorhanden sein, bei der der Probenbeförderungsteil **15** sich in verschiedene Teile verzweigt. Für jede der Probenkammern **6**, die an den einzelnen verzweigten Probenbeförderungsteil **15** anzuschließen ist, ist außerdem jeweils ein abnehmbarer Teil mit einem Ventil vorgesehen, das dem Flusseinspritzport **8** und dem Flussentnahmeport **9** entspricht. Im Folgenden wird jede Ausführungsform eingehend beschrieben.

[0043] In den Probeneinspritzteil **14** wird eine Probe **17** eingespritzt. Die Probe **17** umfasst eine Zielsubstanz **170**, die nachgewiesen werden soll, eine fremde Substanz **A 171** und eine fremde Substanz **B 172**. Einige Proben umfassen keine Zielsubstanz **170** oder sie umfassen eine größere Anzahl von Arten der fremden Substanzen. Die Probe **17** wird in die Richtung eines Pfeils **111** oder eines Pfeils **112** befördert.

[0044] Der Moleküleinfangteil **10** besteht aus einem Einfangkörper **101** und einem Träger **102**. Der Einfangkörper **101** umfasst ein Molekularmatrizenpolymer **103** vor dem Einfangen der Zielsubstanz oder ein Molekularmatrizenpolymer **104** nach dem Einfangen der Zielsubstanz. Der Einfangkörper **101** ist auf der Oberfläche des Moleküleinfangteils **10** angeordnet und ist hauptsächlich aus einem Molekularmatrizenpolymer (MIP) zusammengesetzt. Der Träger **102** trägt den Einfangkörper **101**, und er ist ein Feststoff, der die Form des Moleküleinfangteils **10** hauptsächlich ausmacht. Das Material des Trägers **102** ist nicht besonders eingeschränkt, solange das Material eine vorbestimmte Form aufrechterhalten kann. Spezifische Beispiele des Materials des Trägers **102** umfassen: Kunststoff, Metall, Glas, synthetischen Kautschuk, Keramik, wasserfeste oder verstärkte Papiere oder Kombinationen davon. In dem Moleküleinfangteil **10** kann die Oberfläche mit dem Einfangkörper **101** eine Oberfläche sein, die den gesamten Moleküleinfangteil **10** oder einen Teil davon bedeckt.

[0045] Der Moleküleinfangteil **10** kann gebildet werden, indem die getrennt und unabhängig hergestellten Einfangkörper **101** und Träger **102** kombiniert werden. Der Träger **102** kann aus einer Mehrschichtstruktur bestehen, die aus verschiedenen Komponenten zusammengesetzt ist. Beispielsweise ist ein Fall denkbar, in dem der Träger **102** aus zwei Schichten zusammengesetzt ist, nämlich einem Glassubstrat und einem dünnen Film aus Gold (Au). Das Verfahren zum Kombinieren des Einfangkörpers **101** und des Trägers **102** ist nicht besonders eingeschränkt, solange der Moleküleinfangteil **10** so ausgestaltet ist, dass die Zielsubstanzeinfanginformation zu dem nachstehend beschriebenen Teil zum Messen der eingefangenen Menge **11** geliefert werden kann. Beispielsweise können der Einfangkörper **101** und der Träger **102** direkt miteinander kombiniert werden, oder sie können durch eine oder mehrere andere Verbindungssubstanzen, welche diese zwei Elemente verbinden, kombiniert werden. Der Moleküleinfangteil **10** kann auch ausgestaltet sein, so dass der Einfangkörper **101** und der Träger **102**, die aus demselben Material gemacht sind, eingebaut werden. Beispielsweise gibt es den Fall, bei dem ein Polymer als solches, welches ein Molekularmatrizenpolymer umfasst, auch die Rolle als Träger spielt.

[0046] Der Moleküleinfangteil **10** ist zumindest so ausgestaltet, dass die Oberfläche mit dem Einfangkörper **101** direkt mit der Probe **17** in Kontakt gebracht werden kann, so dass der Einfangkörper **101** die Zielsubstanz **170**, die nachgewiesen werden soll, einfangen kann. Hier bedeutet der Ausdruck „Probe“ eine Flüssigkeit oder einen Feststoff, die beziehungsweise der einer Messung unterzogen werden soll.

[0047] Das Einfangen bedeutet das Einfangen durch Binden oder Wechselwirkung. Das Einfangen ist ein Konzept, welches sowohl das direkte Einfangen als auch das indirekte Einfangen umfasst. Beispielsweise kann das Einfangen ein direktes Einfangen der Zielsubstanz **170**, die nachgewiesen soll, durch den Einfangkörper **101** des Moleküleinfangteils **10** sein, oder es kann ein indirektes Einfangen der nachzuweisenden Zielsubstanz durch einen zweiten Einfangkörper sein, der auf dem Moleküleinfangteil fixiert ist.

[0048] Der Einfangkörper **101** umfasst das Molekularmatrizenpolymer, das durch Verwendung eines spezifischen Matrizenmoleküls gebildet worden ist, und kann die chemische Substanz als eine Zielsubstanz in einer Weise einfangen, die von der spezifischen Molekularstruktur der Zielsubstanz abhängt. Das Material des Einfangkörpers **101** ist nicht besonders eingeschränkt, solange das Material die Funktion hat, mit der die Zielsubstanz in einer Weise eingefangen werden kann, die von der spezifischen Molekularfunktion abhängt. Beispielsweise kann das Material ein Protein, ein Polymer oder ein Metall sein. Genauer gesagt sind Beispiele davon Antikörper und Molekularmatrizenpolymere.

[0049] Das Verfahren zum Herstellen des in der vorliegenden Erfindung eingesetzten Molekularmatrizenpolymers ist Folgendes. Beispielsweise wird zuerst in Anwesenheit einer Zielsubstanz oder einer zielsubstanzähnlichen chemischen Substanz ein funktionales Monomer, das mit der Zielsubstanz oder der zielsubstanzähnlichen chemischen Substanz durch ionische oder Wasserstoffbindung wechselwirkt, mit anderen Monomerkomponenten, die bei Bedarf eingesetzt werden, copolymerisiert, so dass die Zielsubstanz oder die zielsubstanzähnliche chemische Substanz in dem Polymer fixiert wird. In diesem Fall wird das Copolymerisationsverhältnis zwischen dem funktionalen Monomer und den anderen Monomerkomponenten in Abhängigkeit von beispielsweise der Arten der einzelnen Monomerkomponenten variiert, und das Copolymerisationsverhältnis ist nicht besonders eingeschränkt. Es ist jedoch beispielsweise möglich, das Verhältnis festzulegen auf funktionales Monomer:Andere Monomerkomponenten = 1:16 bis 1:64 (molares Verhältnis). Insbesondere ist es wünschenswert, dass dieses Verhältnis 1:32 ist. Danach wird die Zielsubstanz aus dem Polymer durch Waschen entfernt. Der in dem Polymer verbleibende Hohlraum speichert die Form der Zielsubstanz, und er wird aufgrund des funktionalen Monomers, das in dem Hohlraum fixiert ist, mit der Fähigkeit zur chemischen Erkennung versehen.

[0050] In der vorliegenden Ausführungsform wird als die Zielsubstanz ein Beispiel eines Steroidhormons beschrieben. Beispiele der Zielsubstanz umfassen jedoch, ohne dass sie auf Steroidhormone beschränkt sind, verschiedene Substanzen, die unter normalem Druck und unter normaler Temperatur in einem Zustand vorhanden sind, in dem sie verdampft sind oder in einem Zustand, in dem sie flüssig sind (Beispiele davon umfassen die Auflösung der Substanz in einem Lösungsmittel). Beispielsweise sind flüchtige chemische Substanzen, Elektrolyten, Säuren, Basen, Kohlenhydrate, Flüssigkeiten und Proteine umfasst. Beispiele der Zielsubstanz umfassen auch die chemischen Substanzen, die nur unter normaler Temperatur und unter normalen Druck fest sind und die als Teilchen in Gasen oder in Flüssigkeiten vorhanden sein können. Die Zielsubstanzen, die Korrosionseffekte, Auflösungseffekt, Modifikationseffekte und dergleichen auf Moleküleinfangteil haben sind nicht geeignet.

[0051] Das Molekulargewicht der Zielsubstanz ist nicht besonders eingeschränkt, solange das Molekulargewicht ermöglicht, dass der Einfangkörper **101** die Zielsubstanz aufnimmt. In der vorliegenden Erfindung, in der das Hauptziel der Nachweis von chemischen Substanzen mit geringem Molekulargewicht ist, ist die Zielsubstanz vorzugsweise ein Molekül mit geringem Molekulargewicht mit einem Molekulargewicht in der Größenordnung von einigen zehn bis einigen hundert.

[0052] Der Moleküleinfangteil **10** kann in einer Weise ausgestaltet sein, dass er von dem Apparat **1** zum Nachweisen einer chemischen Substanz mit Hilfe eines abnehmbaren Teils abnehmbar ist. Dies dient dazu, dass ein optimaler Moleküleinfangteil in einer Vielzahl von Moleküleinfangteilen **10** beispielsweise gemäß der Messumgebung oder dem Zustand der Probe ausgewählt werden kann, oder es dient dazu, dass beim Waschen eines einmal verwendeten Moleküleinfangteils Arbeit und Zeit gespart wird, und es dient zusätzlich dazu, dass das Risiko einer Verunreinigung aufgrund der kontinuierlichen Verwendung ausgeschlossen wird. Der Moleküleinfangteil, der mit Hilfe des abnehmbaren Teils abgenommen wird, ist nicht notwendigerweise der gesamte Moleküleinfangteil, sondern die Probenkammer **6** ist beispielsweise mit einer Vielzahl von Einfangteilen **101** versehen, und nur einige von ihnen können abgenommen werden. Außerdem ist es auch möglich, dass jeder der Moleküleinfangteile **10** und der Teil zum Messen der eingefangenen Menge **11** der Probenkammer **6** so ausgeformt ist, dass ein Paar ausgebildet wird, oder ein oder mehrere Moleküleinfangteile oder ein oder mehrere Teile zum Messen der eingefangenen Menge werden unabhängig voneinander bereit gestellt, und ihre Kombination wird willkürlich modifiziert, um ein optimale Messung zu ermöglichen.

[0053] Der abnehmbare Teil kann beispielsweise ein Fixierelement zum Fixieren des Moleküleinfangteils **10** an den Apparat **1** zum Nachweisen einer chemischen Substanz und ein Endgerät zum Übermitteln von Information auf und zum Erhalten von Information aus dem Moleküleinfangteil **10** aufweisen. In dem Fall, in dem ein Apparat **1** zum Nachweisen einer chemischen Substanz eine Vielzahl von Moleküleinfangteilen **10** aufweist, kann eine Vielzahl von abnehmbaren Teilen vorhanden sein.

[0054] Der Teil zum Messen der eingefangenen Menge **11** ist so ausgestaltet, so dass die in dem Moleküleinfangteil **10** eingefangene chemische Substanz quantitativ bestimmt werden kann. Er ist beispielsweise mit einer dünnen Metallfolie für die Messung versehen. Der Ausdruck „quantitative Bestimmung einer chemischen Substanz“ bedeutet die Messung der Menge der Moleküle der chemischen Substanz, welche die Zielsubstanz ist und die durch den Einfangkörper **101** eingefangen ist, wenn die Probe **17** dem Moleküleinfangteil **10** während eines vorbestimmten Zeitraums ausgesetzt ist. Der „vorbestimmte Zeitraum“ bedeutet einen optionalen Zeitraum, der vor der quantitativen Bestimmung festgelegt wird. Beispielsweise kann der vorbestimmte Zeitraum eine Sekunde oder eine Minute sein. Bei der quantitativen Bestimmung wird die dynamische Änderung des Einfangkörpers **101**, wenn der Einfangkörper **101** die in der Probe **17** vorhandene Zielsubstanz **170** aufnimmt, in ein elektrisches Signal umgewandelt, und auf der Grundlage von beispielsweise der Intensität des elektrischen Signals kann die eingefangene Zielsubstanz gemessen werden. Das Verfahren zur quantitativen Bestimmung ist nicht besonders eingeschränkt, solange die dynamische Änderung des Einfangkörpers **101** in ein elektrisches Signal umgewandelt werden kann. Beispielsweise kann ein Oberflächenplasmonresonanz-Messverfahren, ein Quarzkristallmikrogleichgewichts-Messverfahren, ein elektrochemisches Impedanzverfahren, ein colorimetrisches Verfahren oder ein Fluoreszenzverfahren eingesetzt werden. Die quantitativen Bestimmungen auf der Grundlage dieser Verfahren können die Messung in einem Zeitraum von 100 ms (0,1 Sekunde) oder weniger durchführen.

[0055] Das Oberflächenplasmonresonanz-Messverfahren wird auch als SPR (surface plasmon resonance) Verfahren bezeichnet, und es ist ein Verfahren zum Messen einer Spurenmenge der eingefangenen Substanz auf einer dünnen Metallfolie mit hoher Empfindlichkeit, indem das Oberflächenplasmonresonanz-Phänomen eingesetzt wird, wobei mit der Änderung des Einfallswinkels eines Laserstrahls auf die dünne Metallfolie die reflektierte Lichtintensität abgeschwächt wird. Genauer gesagt wird das Molekularmatrizenpolymer der vorliegenden Erfindung in einem Lösungsmittel (Wasser oder ein organisches Lösungsmittel) suspendiert, und der Einfangkörper **101** wird auf eine dünne Metallfolie des Trägers **102** in der Probenkammer **6** rotationsbeschichtet, getrocknet und einer Messung unterzogen. Bei der Messung wird das Oberflächenplasmon auf der Oberflächenseite der dünnen Metallfolie erzeugt. Wenn die Wellenzahl einer schwindenden Welle und die Wellenzahl eines Oberflächenplasmons miteinander übereinstimmen, wird die Photonenenergie zum Anregen des Oberflächenplasmons durch Resonanz eingesetzt, wodurch ein Phänomen der Abschwächung des reflektierten Lichts verursacht wird. Dies kann als die Abschwächung der reflektierten Lichtintensität gefunden werden, welche die Variation des Einfallswinkels des Lasers begleitet, wenn der Einfallswinkel des Lasers variiert wird. Der Einfallswinkel (als Resonanzwinkel θ bezeichnet) wird, wenn das Intensitätsverhältnis des reflektierten Lichts, welches das Verhältnis der reflektierten Lichtintensität zu der Einfallslichtintensität ist, ein Minimum erreicht, durch die Wechselwirkung zwischen Substanzen, die auf der Metalloberfläche vorkommen, beeinflusst. Dementsprechend kann die Wechselwirkung zwischen den Substanzen als die Variation des Resonanzwinkels θ vor und nach der Wechselwirkung beobachtet werden. Wenn beispielsweise der Resonanzwinkel in dem Zustand, in dem das auf der dünnen Metallfolienoberfläche des Trägers **102** aufgebrachte Molekularmatrizenpolymer nichts mehr aufnimmt, als θ_0 dargestellt wird, wird der Resonanzwinkel zu θ_1 verändert, wenn das Molekularmatrizenpolymer die Zielsubstanz aufnimmt. In diesem Fall kann durch Beobachten des Wertes $\Delta\theta$ als die Differenz zwischen θ_1 und θ_0 die Menge der durch die Molekularmatrize eingefangenen Zielsubstanz quantitativ bestimmt werden. Entsprechend kann beispielsweise in der Probe einer Konzentration von 125 μM vorhandenes Cortisol quantitativ bestimmt werden. Wenn Rotationsbeschichten durchgeführt wird, ist es wichtig, die Folie des Einfangkörpers **101** innerhalb des Abstandes, über dem die Plasmonresonanz fortschreitet, zu bilden. Genauer gesagt ist es bevorzugt, die Folie des Einfangkörpers **101** mit einer Dicke von 100 nm oder weniger zu bilden.

[0056] Das Quarzkristallmikrogleichgewichts-Messungsverfahren wird auch als QCM (quartz crystal microbalance) Verfahren bezeichnet und ist ein Massenmessungsverfahren zur quantitativen Bestimmung einer ultrakleinen Menge einer Substanz, die an einem Quarzkristall anhaftet, auf der Grundlage der Variationsmagnitude der Resonanzfrequenz des Quarzkristalls aufgrund der Anhaftung der Substanz auf der Oberfläche des Quarzkristalls. Genauer gesagt wird das Molekularmatrizenpolymer der vorliegenden Erfindung in einem Lösungsmittel (Wasser oder ein organisches Lösungsmittel) suspendiert, und der Einfangkörper **101** wird auf den Sensor des Quarzkristalls rotationsbeschichtet, getrocknet und einer Messung unterworfen. Das Messverfahren ist ein bekanntes etabliertes Verfahren, so dass die Messung nach einem herkömmlichen Verfahren

durchgeführt werden kann und auf eine eingehende Beschreibung der Messung verzichtet werden kann. Um eine Reproduzierbarkeit der Messung zu erzielen, wird die Dicke des Films des Einfangkörpers **101**, gebildet auf dem Quarzkristall, vorzugsweise bei 1 µm oder weniger festgelegt.

[0057] Das elektrochemische Impedanzverfahren wird auch als Oberflächenpolarisationskontrolle-Verfahren bezeichnet und ist ein Verfahren, bei dem durch Kontrollieren der Oberflächenpolarisation eines Metalls durch das Elektrodenpotential die Wechselwirkung zwischen der Elektrodenoberfläche und der an die Elektrodenoberfläche anhaftenden Substanz variiert, und auf diese Weise wird Information über die anhaftende Substanz erhalten. Genauer gesagt werden die erfindungsgemäßen Molekularmatrizenpolymerteilchen in einem Lösungsmittel (Wasser oder einem organischen Lösungsmittel) suspendiert, der Einfangkörper **101** wird auf die Elektrodenoberfläche rotationsbeschichtet, getrocknet und einer Messung unterworfen. Das Messverfahren ist ein bekanntes etabliertes Verfahren, so dass die Messung gemäß herkömmlichen Techniken durchgeführt werden kann, so dass auf eine eingehende Beschreibung der Messung verzichtet werden kann. Um eine Reproduzierbarkeit der Messung zu erzielen, wird die Dicke des Films des Einfangkörpers **101**, der auf dem Quarzkristall gebildet ist, vorzugsweise auf 1 µm oder weniger festgelegt.

[0058] Das colorimetrische Verfahren und das Fluoreszenzverfahren unterscheiden sich nur in der Art des für den Nachweis eingesetzten Substrats, und hinsichtlich des verwendeten Prinzips sind sie fast identisch. In einem Fall, in dem das Substrat eine chromogene Substanz bildet, wird das betroffene Verfahren genauer gesagt als colorimetrisches Verfahren bezeichnet. In dem Fall, in dem das Substrat eine fluoreszierende Substanz bildet, wird das betroffene als Fluoreszenzverfahren bezeichnet. In jedem dieser Verfahren wird das Substrat oder dergleichen als Sonde für den Nachweis von dem Einfangkörper oder einem Mediator oder dergleichen getragen, die Farbstoffkonzentration oder die Fluoreszenzintensität auf der Grundlage des Substrats wird mit einem Absorptionsspektrophotometer oder einem Luminometer oder dergleichen gemessen, so dass die Bindung mit der Zielsubstanz quantitativ bestimmt wird.

[0059] Für einen Fall, in dem der Einfangkörper ein Antikörper ist, entsprechen diese Verfahren dem ELISA Verfahren und dergleichen. Das ELISA Verfahren wird auch als „enzyme linked immunosorbent assay method“ bezeichnet. Das Prinzip des ELISA Verfahrens ist, dass der primäre Antikörper, der an die Zielsubstanz gebunden ist, veranlasst wird, eine chromogene Substanz oder eine fluoreszierende Substanz durch die Wirkung des eingesetzten Enzyms zu produzieren, beispielsweise durch den sekundären Antikörper, der ein enzymmarkierter Mediator ist, und die Zielsubstanz wird auf der Grundlage der Farbkonzentration der chromogenen Substanz oder der Fluoreszenzintensität der fluoreszierenden Substanz quantitativ bestimmt.

[0060] Im Fall des Molekularmatrizenpolymers kann beispielsweise ein Molekularmatrizenpolymer mit einem funktionellen Monomer, das eine Substratsonde trägt, in dem Hohlraum eingesetzt werden. Das Einfangen der Zielsubstanz in das Molekularmatrizenpolymer ändert beispielsweise den Zustand der Substratsonde in dem Hohlraum, so dass eine Farbe entwickelt wird oder Fluoreszenz emittiert wird, und die Zielsubstanz kann auf der Grundlage der Farbkonzentration der entwickelten Farbe oder der Fluoreszenzintensität der emittierten Fluoreszenz quantitativ bestimmt werden.

[0061] Fig. 3A veranschaulicht ein Syntheschema der Molekularmatrizenpolymerteilchen. Die vorliegende Erfindung ist dadurch gekennzeichnet, dass die Teilchen zuerst synthetisiert werden, und in Anwesenheit der synthetisierten Teilchen eine Zielsubstanz und ein polymerisierbares Vinylmonomer einer Polymerisationsreaktion unterworfen werden, um die Teilchen eines Molekularmatrizenpolymers herzustellen. Danach können durch Durchführen des Zentrifugenverfahrens, Hydrolyseverfahrens und Waschverfahrens Teilchen eines Molekularmatrizenpolymers erhalten werden. Fig. 3B ist ein Diagramm, welches das Verfahren zum Herstellen von synthetisierten Molekularmatrizenpolymerteilchen auf der Grundlage dieses Syntheschemas schematisch veranschaulicht. Ein Teilchen **25** mit Feinkugelform wird durch ein Molekularmatrizenpolymer **26** über eine Zielsubstanz oder ein Zielsubstanzderivat geschichtet, welches die Matrice und das Ausgangsmaterial (Monomer) des Molekularmatrizenpolymers wird. Das beschichtete Molekularmatrizenpolymer mit Feinkugelform hat eine Zielsubstanzerkennungsstelle **261**. Wenn die Querschnittsansicht der Teilchen, die durch das Molekularmatrizenpolymer **26** mit Feinkugelform beschichtet sind, gezeigt wird, ist es offensichtlich, dass Teilchen **27** und ein Molekularmatrizenpolymer **28**, welches die Teilchen **27** überzieht, vorhanden sind. Da es ein Teilchen mit Zweischichtstruktur mit einem Nukleus (Kern) ist, stellen die Molekularmatrizenpolymerteilchen der vorliegenden Erfindung einen Kern-Mantel-Typ dar.

[0062] Die erhaltenen Molekularmatrizenpolymerteilchen haben eine Submikrometergröße und einen gleichmäßigen Teilchendurchmesser. Wenn die Molekularmatrizenpolymerteilchen oben auf einer Säule oder einer

flachen Platte angeordnet sind, wird somit ein dicht gefüllter Zustand bereitgestellt, so dass die Fähigkeit zur Zielsubstanzerkennung hoch ist.

[0063] Die Synthese von Molekularmatrizenpolymerteilchen für Cortisol, welches eine Art eines Steroidhormons ist, nach der vorstehend beschriebenen Reihenfolge wird im Folgenden beschrieben. Das nachstehend beschriebene Verfahren stellt ein Verfahren zum Herstellen eines Molekularmatrizenpolymers dar, das eine höhere Erkennungskraft für Cortisol aufweist, gemäß der Bildung einer kovalenten Bindung zwischen Cortisol und Teilen der Molekularmatrizenpolymerteilchen, welche das Cortisol umgeben. Solange ein Molekularmatrizenpolymer in der Anwesenheit von Teilchen gebildet wird, ist jedoch die Wechselwirkung zwischen Cortisol und dem umgebenden Vinylmonomer nicht auf eine kovalente Bindung beschränkt, und eine oder eine Kombination einer ionischen Bindung, Wasserstoffbindung, van der Waals Kraft und hydrophobe hydrophobe Bindung kann eingesetzt werden.

(Herstellung von Molekularmatrizenpolymerteilchen für Cortisol)

[0064] In Anwesenheit von Teilchen als Kern und Cortisol als Zielsubstanz wird die Polymerisation eines funktionalen Monomers, das mit Cortisolmonomer wechselwirkt, durchgeführt, und durch Waschen des durch die Polymerisationsreaktion erhaltenen Polymers ist es möglich, eine molekulare Matrice, die spezifisch Cortisol erkennt, im Inneren des Polymers zu erhalten. **Fig. 4A** veranschaulicht die molekulare Struktur von Cortisol. **Fig. 4B** veranschaulicht die molekulare Struktur von Itaconsäure. Wie **Fig. 4A** zeigt, kann, wenn das Kohlenstoffatom in dem terminalen fünfgliedrigen Ring in dem Cortisolskelett durch C4 bezeichnet wird, das Kohlenstoffatom neben C4 in der Carbonylgruppe als C3 bezeichnet werden, das Kohlenstoffatom neben C3 in der Methylengruppe kann als C2 bezeichnet werden, und das Sauerstoffatom neben C2 der Hydroxygruppe kann als O1 bezeichnet werden. Wenn angenommen wird, dass das Gerüst sich auf O1 erstreckt, werden die Bindungen von dem Ende des Steroidgerüsts durch zwei Kohlenstoffatome zu dem Sauerstoffatom gebildet.

[0065] In der Itaconsäure, die in **Fig. 4B** veranschaulicht ist, kann, wenn das Kohlenstoffatom der Carboxygruppe auf der linken Seite der Zeichnung als C1' bezeichnet wird, das Kohlenstoffatom neben C1' der Methylengruppe als C2 bezeichnet werden, das Kohlenstoffatom neben C2' der Vinylgruppe kann als C3' bezeichnet werden, und das Kohlenstoffatom neben C3' der Carboxygruppe kann als C4' bezeichnet werden.

[0066] Der wichtige Punkt bei der Herstellung des erfindungsgemäßen Molekularmatrizenpolymers ist die Stärke der Wechselwirkungskraft zwischen der Zielsubstanz und dem polymerisierbaren Monomer. Die Verwendung von Itaconsäure als Ausgangsmaterial für das Molekularmatrizenpolymer von Cortisol basiert auf dem Grund, dass Carboxygruppen an beiden Enden des Itaconsäuremoleküls angeordnet sind, der Abstand zwischen diesen Gruppen geeignet ist und dementsprechend Itaconsäure mühelos mit einem Rest von Cortisol wechselwirkt. **Fig. 5** veranschaulicht schematisch die Wechselwirkung zwischen Cortisol und Itaconsäure. Wie die gepunktete Linie **501** und die gepunktete Linie **502** zeigen, erlaubt die Verwendung von Itaconsäure die Wechselwirkung mit Cortisol an einer Vielzahl von Stellen. Auf diese Weise verbessert der Einbau eines Monomers mit zwei oder mehr funktionellen Gruppen, das mit einem Steroidhormon wie Cortisol wechselwirkt, in die Polymerisationseinheiten die Passgenauigkeit zwischen dem Steroidhormon und dem Monomer, so dass eine signifikante Eigenschaft als Molekularmatrizenpolymer erzielt werden kann.

[0067] Die „funktionelle Gruppe“ bedeutet hier eine Atomgruppe, die im Allgemeinen in einer Gruppe von chemischen Substanzen enthalten ist und allgemeine chemische Eigenschaften und Reaktivitäten in der Gruppe der chemischen Substanzen zeigt. Beispiele der funktionellen Gruppe umfassen: Eine Hydroxygruppe, eine Aldehydgruppe, eine Carboxygruppe, eine Carbonylgruppe, eine Nitrogruppe, eine Aminogruppe, eine Sulfonogruppe und eine Azogruppe. Wenn das Monomer, das mit einem Steroidhormon wechselwirkt, zwei oder mehr funktionelle Gruppen aufweist, sind die funktionellen Gruppen besonders bevorzugt Carbonylgruppen.

[0068] Für andere Steroidhormone als Cortisol können Molekularmatrizenpolymere synthetisiert werden, indem polymerisierbare Monomere eingesetzt werden, um vorzugsweise an einer Vielzahl von Stellen wechselzuwirken. Natürliche Steroidhormone werden im Allgemeinen aus Cholesterin in den Gonaden und in den Nebennieren synthetisiert. **Fig. 6** veranschaulicht die molekularen Strukturen von Cholesterin und repräsentativen Steroidhormonen. Wenn das vorstehend beschriebene Verfahren zum Synthetisieren der Molekularmatrizenpolymerteilchen für Cortisol verwendet wird, können Molekularmatrizenpolymerteilchen für andere Steroidhormone hergestellt werden. (A) in **Fig. 6** zeigt Cholesterin, und Aldosteron in (B) von **Fig. 6**, Estradiol in (C) der **Fig. 6** und Testosteron in (D) der **Fig. 6** werden mit Cholesterin als Grundgerüst metabolisch synthetisiert.

[0069] Wie vorstehend beschrieben wurde, wird Itaconsäure bevorzugt als das Ausgangsmaterial für das Molekularmatrizenpolymer für Cortisol verwendet, wobei dies ein Ergebnis des Auswählens des Ausgangsmaterials ist, wobei auf die Bildung von Wasserstoffbindungen an mehreren Stellen abgezielt wird. Ähnlich ist es möglich, eine Monomerstruktur, die für ein Steroidhormon mit einem Steroidgerüst einer hohen Planarität auszuwählen. Für Aldosteron in (B) der **Fig. 6** kann ein Monomerausgangsmaterial für ein Molekularmatrizenpolymer ausgewählt werden, indem auf zwei Punkte geachtet wird, nämlich auf die Hydroxygruppe (OH), die an einem Ende durch die Vermittlung einer Carbonylgruppe und einer Methylengruppe vorhanden ist, und die Aldehydgruppe (CHO), die direkt an das Gerüst gebunden ist. Es wird geraten, als Ausgangsmaterial für das Molekularmatrizenpolymer ein Monomermolekül mit einer Länge zu verwenden, welche die gleichzeitige Wechselwirkung mit einer solchen Vielzahl von funktionellen Gruppen wie vorstehend beschrieben erlaubt. Genauer gesagt wird geraten, ein Molekularmatrizenpolymer unter Einsatz eines Monomers, das ein Vinylmonomer ist, das zwei Carboxygruppen in seinem Gerüst aufweist und einen Abstand (einen Abstand von zwei oder drei, ausgedrückt als Methylgruppen) aufweist, der geeignet ist, zu dem Zielmolekül des Molekularmatrizenpolymers zu passen, als Polymerisationseinheit einzusetzen. Ähnlich wie bei dem Molekularmatrizenpolymer von Cortisol werden in Anwesenheit des Steroidhormons, das als Zielsubstanz dienen soll, das vorstehend genannte Vinylmonomer und andere Monomerkomponenten, wie Styrol und Divinylbenzol bei Bedarf zusammen mit einem Polymerisationsinitiator copolymerisiert, so dass ein Molekularmatrizenpolymer erhalten werden kann. Anstelle der Durchführung einer Copolymerisation kann das Vinylmonomer, das einer Wechselwirkung unterzogen werden soll, auch homopolymerisiert werden. Wenn das vorstehend beschriebene Vinylmonomer und andere Monomerkomponenten miteinander copolymerisiert werden, variiert das Copolymerisationsverhältnis zwischen diesen Monomeren in Abhängigkeit von den einzelnen Monomerkomponenten und der Art und dergleichen des Steroidhormons, und das Verhältnis ist nicht besonders eingeschränkt. Das Copolymerisationsverhältnis zwischen diesen Monomeren kann jedoch beispielsweise wie folgt spezifiziert werden: Vinylmonomer, welches mit dem Steroidhormon wechselwirkt: Andere Monomerkomponenten = 1:16 bis 1:64 (Molverhältnis). Das vorstehend genannte Verhältnis ist besonders bevorzugt 1:32.

[0070] Estradiol (C) der **Fig. 6** und Testosteron in (D) der **Fig. 6** haben jeweils funktionelle Gruppen, die räumlich voneinander getrennt sind, und dementsprechend ist es zum Zeitpunkt der Herstellung eines Molekularmatrizenpolymers nicht erforderlich, dass ein Monomer gleichzeitig an einer Vielzahl von Stellen wechselzuwirkt, und es ist ausreichend, eine Copolymerisation durchzuführen, indem eine Vielzahl von polymerisierbaren Monomeren, die jeweils die funktionellen Gruppen erkennen, in Anwesenheit der Zielsubstanz zusammen mit Styrol, Divinylbenzol, einem Polymerisationsinitiator und dergleichen einzusetzen.

[0071] In dem vorstehenden Beispiel wird ein Fall beschrieben, bei dem die Wechselwirkung aufgrund einer Wasserstoffbindung ausgebildet wird zwischen einem Steroidhormon und einem Monomer. In einer anderen Ausführungsform wird jedoch das Steroidhormon, das als Matrizenmolekül eingesetzt werden soll, in ein Derivat umgewandelt, und in das Derivat können funktionelle Gruppen eingeführt werden, um einer Polymerisationsreaktion mit dem Monomer unterworfen zu werden, wobei das Molekularmatrizenpolymer gebildet wird. Die Bildung der kovalenten Bindungen zwischen dem Steroidhormon und dem Monomer aufgrund der Copolymerisationsreaktion kann eine stärkere Wechselwirkung zwischen dem Steroidhormon und dem Monomer ergeben, es kann die Passgenauigkeit zwischen dem Steroidhormon und dem Monomer verbessert werden, und es können vorteilhafte Eigenschaften als Molekularmatrizenpolymer bereitgestellt werden. Als das mit dem Steroidhormon zu copolymerisierende Monomer können ähnlich wie vorstehend beschrieben Monomere mit zwei oder mehr funktionellen Gruppen wie Itaconsäure und eine Vielzahl von Arten von Monomeren in Kombination eingesetzt werden.

[0072] Außerdem umfassen Beispiele der funktionellen Gruppen, die in das Steroidhormonmolekül eingesetzt werden sollen und mit dem Monomer copolymerisiert werden sollen, polymerisierbare Substituentengruppen, wie ein Acryloylgruppe, eine Methacryloylgruppe, eine Vinylgruppe und eine Epoxygruppe. Unter diesen ist insbesondere eine Methacryloylgruppe bevorzugt.

ZWEITE AUSFÜHRUNGSFORM

[0073] Als eine zweite Ausführungsform der vorliegenden Erfindung kann der Moleküleinfangteil des Apparats zum Nachweisen einer chemischen Substanz so ausgestaltet sein, dass die Empfindlichkeit des Nachweises eines Steroidhormons mit Hilfe des Wettbewerbsverfahrens oder des Substitutionsverfahrens erhöht wird. Das „Substitutionsverfahren“ ist ein Verfahren, das die Konkurrenz in Bezug auf den Einfangkörper nutzt, welche zwischen einer chemischen Substanz mit einer spezifischen Molekularstruktur, die vorher durch den Einfangkörper eingefangen wurde, und der in der Probe nachzuweisenden Zielsubstanz auftritt. Wenn beispielsweise der Einfangkörper ein Antikörper ist, wird der Antikörper auf einem Träger fixiert, und ein Verbundantigen mit

einer spezifischen Molekularstruktur wird vorher durch den Antikörper eingefangen. Wenn die Probe, welche die nachzuweisende Zielsubstanz enthält, in diesem Zustand dem Moleküleinfangteil ausgesetzt wird, wird das Komplexantigen von dem Antikörper abgelöst, und die nachzuweisende Zielsubstanz in der Probe wird anstelle des Verbundantikörper durch den Antikörper eingefangen aufgrund des Unterschiedes in der Bindungsstärke. Durch die quantitative Bestimmung der Änderung aufgrund der Substitutionsreaktion kann das Zielmolekül mit hoher Empfindlichkeit quantitativ bestimmt werden. Wenn beispielsweise das Oberflächenplasmonresonanz Messverfahren verwendet wird, kann die Änderung des Resonanzwinkels θ aufgrund der Substitutionsreaktion beobachtet werden. Die Verstärkung der Nachweisempfindlichkeit aufgrund des Substitutionsverfahrens erlaubt den Nachweis, selbst wenn das Zielmolekül eine Konzentration auf ppt-Niveau hat.

[0074] Ein Beispiel unter Einsatz des Wettbewerbsverfahrens wird auf der Grundlage von **Fig. 7** beschrieben. **Fig. 7** zeigt, dass in einem Behälter **84** eine wässrige Suspension eines Molekularmatrizenpolymers **80** gegeben wird, und ein Feststoff oder eine wässrige Lösung der Probe **82** und eine markierte Zielsubstanz **83** werden in den Behälter **84** gegeben. Die Probe **82** umfasst eine Zielsubstanz **820**, eine fremde Substanz A **821** und eine fremde Substanz B **822**. Es muss nicht erwähnt werden, dass möglicherweise ein Fall auftritt, bei dem die Zielsubstanz **820** abwesend ist, oder ein Fall, bei dem eine große Anzahl von Arten von fremden Substanzen anwesend ist. Die markierte Zielsubstanz **83** ist aus einem Zielsubstanzrest **832** und einem Markierungsrest **831** zusammengesetzt. Die Zielsubstanz **820** und die markierte Zielsubstanz **83** werden mit dem Molekularmatrizenpolymer **80** eine Stunde bei Raumtemperatur umgesetzt, während die Zielsubstanz **820** und die markierte Zielsubstanz **83** miteinander konkurrieren, und dann wird der colorimetrische Ausschlag oder der Fluoreszenzausschlag des Markierungsrests **831** gemessen. Auf diese Weise kann die Zielsubstanzmenge in der Probe **82** abgeleitet werden. Anders ausgedrückt ist die Zielsubstanzmenge größer je geringer der colorimetrische Ausschlag oder der Fluoreszenzausschlag ist. Für die Ableitung der Zielsubstanzmenge in der Probe **82** kann eine getrennt abgeleitete colorimetrische Eichkurve oder Fluoreszenzzeichnkurve eingesetzt werden. Für diese Messung kann beispielsweise das in der Probe in einer Konzentration von 125 μM oder weniger enthaltene Cortisol auf dominante Weise quantitativ bestimmt werden.

[0075] In der vorstehend beschriebenen Ausführungsform ist das elektrische Signal, das in dem Teil zum Messen der eingefangenen Menge erhalten wird, in üblichen Fällen häufig schwach, so dass das elektrische Signal bei Bedarf amplifiziert werden kann. Die Amplifikation kann durchgeführt werden, indem beispielsweise ein Amplifizierer in dem Teil zum Messen der eingefangenen Menge angebracht wird. Wenn das erhaltene elektrische Signal ein analoges Signal ist, kann das analoge Signal bei Bedarf einer AD-Umwandlung unterworfen werden. Die AD-Umwandlung kann durchgeführt werden, indem ein AD-Konverter, beispielsweise ein Komparator, in den Teil zum Messen der eingefangenen Menge eingebaut wird.

[0076] Der Teil zum Messen der eingefangenen Menge ist außerdem so ausgestaltet, dass er die Messergebnisse zeigt. Das Ziel der Messergebnisse ist nicht besonders eingeschränkt. Beispielsweise können die gemessenen Ergebnisse auf einer externen Anzeigevorrichtung, beispielsweise einem Monitor angezeigt werden. Wenn die Messergebnisse gezeigt werden, ist die Ausgabe nicht besonders eingeschränkt. Es kann eine Anzeige durch direkte Verkabelung oder eine Anzeige durch ein Kabel mit einem Verbindungsendstück, beispielsweise einem USB-Endstück sein. Alternativ dazu können die Messergebnisse drahtlos übermittelt werden.

Dritte Ausführungsform

[0077] **Fig. 8** zeigt eine perspektivische Ansicht eines Apparats zum Nachweisen einer chemischen Substanz gemäß der dritten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung. Der Apparat zum Nachweisen einer chemischen Substanz der **Fig. 8** wird hergestellt durch Auftragen eines Molekularmatrizenpolymers auf ein Material, das hauptsächlich aus einem Harz, Glas, Kieselgel, Papier oder Metall besteht. Der Nachweisapparat besteht aus drei Teilen, nämlich einem Probeneinspritzteil **91**, einem Einfang/Nachweisteil **90** und einer Vorbehandlungsschicht **92**. In der Vorbehandlungsschicht **92** ist ein Vliesstoff zum Absorbieren von Proteinen, Flüssigkeiten und dergleichen in Speichel fixiert. Dementsprechend sind Proteine, Lipide und dergleichen, welche die Erfassung eines Steroidhormons, wie Cortisol, stören, daran gehindert, in den Einfang/Nachweisteil **90** zu gelangen. Das für die Vorbehandlungsschicht **92** eingesetzte Material ist nicht auf einen Vliesstoff beschränkt, und es kann ein Material, wie ein Harz, Glas, Kieselgel oder Papier sein. Auf den Einfang/Nachweisteil **90** wird das Molekularmatrizenpolymer aufgetragen. Wenn das Substitutionsverfahren eingesetzt wird, kann im Vorfeld eine gewisse Menge eines markierten Zielmoleküls immobilisiert werden. Dann wird eine Probe **93** auf den Probeneinspritzteil **91** aufgetragen. Die Probe **93** umfasst eine Zielsubstanz **930**, eine fremde Substanz A **931** und eine fremde Substanz B **932**. Wenn das Wettbewerbsverfahren verwendet wird, wird ein markiertes Zielmolekül in der Probe **93** vermischt, und das erhaltene Gemisch wird auf den Probeneinspritzteil **91** aufge-

tragen. Danach wandern die Probe **93** und das markierte Zielmolekül in die Richtung des Pfeiles **933**, und in der Vorbehandlungsschicht **92** wird eine Fraktion der fremden Substanzen oder die gesamten fremden Substanzen in der Probe **93** entfernt. Dann werden das Zielmolekül **930** und das markierte Zielmolekül in der Probe **93** durch das Molekularmatrizenpolymer des Einfang/Nachweisteil **90** eingefangen. Durch Verwendung eines Fluoreszenzmikroskops, durch visuelle Bestätigung, durch ein optisches Mikroskop oder dergleichen kann der Nachweis geführt werden, indem die entwickelte Farbe oder dergleichen beurteilt wird. Durch Verwendung dieses schnitzelförmigen Apparats zum Nachweisen einer chemischen Substanz kann beispielsweise ein Zielmolekül einer Konzentration von 50 µM oder weniger in der Probe nachgewiesen werden.

BEISPIELE

[0078] Als nächstes wird die vorliegende Erfindung auf der Grundlage der Beispiele eingehender beschrieben. Die folgenden Beispiele dienen jedoch nur als beispielhafte Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung, und die vorliegende Erfindung ist in keiner Weise auf diese Beispiele beschränkt.

Beispiel 1

[0079] Es wird ein Beispiel der Synthese von Molekularmatrizenpolymerteilchen unter Einsatz der kovalenten Bindungen zwischen einem Ausgangsmaterial und einem Zielmolekül sowie ein Zielmoleküleinfangtest beschrieben.

(Methacroylierung von Cortisol)

[0080] Zuerst wurde für die Synthese Cortisol als ein Matrizenmolekül in der folgenden Reihenfolge modifiziert, um ein Cortisolderivat zu synthetisieren.

[0081] Zuerst wurde in einer Stickstoffatmosphäre Cortisol (2,5 mmol, 907 mg) in trockenem THF (40 ml) gelöst, und Triethylamin (30 mmol, 4,2 ml) wurde zu der erhaltenen Lösung gegeben, und die Lösung wurde eisgekühlt. Zu der gekühlten Lösung wurde trockenes THF (40 ml), in das Methacryloylchlorid (15 mmol, 1,5 ml) aufgelöst worden war, langsam tropfenweise zugegeben, und die Lösung wurde 1 Stunde bei 0°C und dann 4 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde Ethylacetat zu der Reaktionsflüssigkeit gegeben, und die organische Phase wurde mit einer gesättigten wässrigen Lösung von Natriumhydrogencarbonat, Zitronensäure und einer wässrigen Lösung von Natriumchlorid unter Einsatz eines Scheidetrichters gewaschen. Danach wurde die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet. Dann wurde das Lösungsmittel mit einem Verdampfer abdestilliert, und der Extrakt wurde durch Kieselgelsäulenchromatographie (Kieselgel C-200, Entwicklungslösungsmittel: Ethylacetat/Hexan = 1:1) getrennt und gereinigt, wobei ein weißer Feststoff (65% Ausbeute) erhalten wurde. **Fig. 9** zeigt die Molekülstruktur des so erhaltenen methacroylierten Cortisols. Das in **Fig. 9** veranschaulichte methacroylierte Cortisol kann auch durch das folgende Verfahren erhalten werden. In einer Stickstoffatmosphäre in einem Zweihalskolben wurden Cortisol (2,5 mmol, 907 mg) und Dimethylaminopyridin (0,25 mmol, 30,5 mg) in trockenem THF (40 ml) gelöst, und die erhaltene Lösung wurde eisgekühlt. Danach wurden Triethylamin (30 mmol, 4,2 ml) und Methacrylsäureanhydrid (7,5 mmol, 1,2 ml) langsam tropfenweise zu der Lösung gegeben, und die Lösung 1 Stunde bei 0°C und dann 2 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Ethylacetat wurde zu der Reaktionsflüssigkeit gegeben, und die organische Phase wurde mit reinem Wasser drei Mal unter Einsatz eines Scheidetrichters gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde mit einem Verdampfer abdestilliert, und der Extrakt wurde durch Kieselgelsäulenchromatographie (Kieselgel C-200, Entwicklungslösungsmittel: Ethylacetat/Hexan = 1:1) abgetrennt und gereinigt, wobei ein weißer Feststoff (89% Ausbeute) erhalten wurde.

(Synthese von Teilchen als Kern)

[0082] Gemäß dem in Tabelle 1 gezeigten Rezept wurden 760 mg (7,3 mg) Styrol, 40 mg (0,31 mmol) Divinylbenzol (DVB), 79,2 g Wasser und 41,3 mg (0,15 mmol) V-50 (2,2'-Azobis (2-Methylpropionamidin)dihydrochlorid) in einen Zweihalskolben eingewogen. Nach Ersetzen der Atmosphäre durch Stickstoff wurde die Reaktion 48 Stunden bei 80°C durchgeführt. Die Lösung wurde dann in einem Eisbad rasch abgekühlt, und die Reaktion wurde durch Einspritzen von Sauerstoff beendet. Während des Reaktionsverfahrens wurde die Reaktionslösung mehrere Stunden nach der Reaktion weiß und trüb, und eine weiße trübe Emulsion wurde nach 48 Stunden erhalten. Als Ergebnis der Beobachtung unter einem Elektronenmikroskop wurde gefunden, dass der Teilchendurchmesser 125 nm war, was auf eine hohe Gleichförmigkeit des Teilchendurchmessers hindeutete.

[Tabelle 1]

Ausgangsmaterial für die Synthese von Teilchen

Ausgangsmaterial	Teilchen
Styrol	760 mg (7,3 mmol)
DVB	40 mg (0,31 mmol)
Wasser	79,2 g
V-50	41,3 mg (0,15 mmol)

(Synthese von Molekularmatrizenpolymerteilchen)

[0083] Durch die Verwendung des Cortisolderivats als ein Matrizenmolekül mit einer darin eingeführten Methacryloylgruppe, hergestellt durch eines der vorstehend beschriebenen Verfahren, wurden Molekularmatrizenpolymerteilchen gemäß der in Tabelle 2 gezeigten Ausgangsmaterialzusammensetzung synthetisiert. Eine Methacryloylgruppe hat eine ethylenisch ungesättigte Gruppe und ist polymerisationsreaktiv, so dass Cortisol mit einer darin eingeführten Methacryloylgruppe mit den in Tabelle 2 zugegebenen Polymeren copolymerisierbar ist. Folglich können das Ausgangsmaterial für das Molekularmatrizenpolymer und das Cortisolderivat stark aneinander binden und einander erkennen, so dass es möglich ist, ein Molekularmatrizenpolymer herzustellen, welches Cortisol mit hoher Selektivität einfangen kann.

[0084] Genauer gesagt wurde gemäß dem in Tabelle 2 gezeigten Rezept die Polymerisation des Nano-MIP1 und Nano-MIP2 als Molekularmatrizenpolymer durchgeführt.

(Verfahren zur Synthese von Nano-MIP1)

[0085] Die Polystyrolsuspension (3 Gewichtsprozent, 20 g/Wasser), die gemäß Tabelle 1 synthetisiert worden war, wurde in ein Fläschchen gegeben, und 3,9 mg (9 µmol) von methacroyliertem Cortisol, 4,7 mg (36 µmol) Itaconsäure und 39,0 mg (447,5 µmol) von Methylenbisacrylamid wurden in Suspension (THF) gegeben und aufgelöst. Dann wurden nach dem Transfer in ein Teströhrchen mit Ø18 × 180 mm 2,7 mg (9,85 µmol) V-50 (2,2'-Azobis (2-methylpropionamidin)dihydrochlorid), ein Polymerisationsinitiator, in der Lösung aufgelöst. Das Teströhrchen wurde mit einer Scheidewandkappe versiegelt, und die Luft in dem Teströhrchen wurde durch Stickstoff ersetzt, und dann wurde die Polymerisationsreaktion unter Bedingungen durchgeführt, die 80°C und 800 Umdrehungen pro Minute während 24 Stunden umfassen. Die erhaltene Polymerisationsflüssigkeit wurde gewonnen und in eine Zentrifuge gegeben, um den Überstand zu entfernen. Dann wurde sie 24 Stunden unter Einsatz von 50 ml einer 2 M wässrigen Lösung von Natriumhydroxid/Methanol = 1:1 einer Hydrolyse unterworfen. Danach wurde sie mehrere Stunden mit 50 ml 1 M Hydrochlorwasserstoffsäure/Methanol = 1:1 und 50 ml reines Wasser/Methanol = 1:1 gewaschen. Durch dieses Hydrolyseverfahren und Waschverfahren kann das Cortisolderivat, das in das Innere des Molekularmatrizenpolymers eingeführt worden war, aus dem Molekularmatrizenpolymer entfernt werden.

(Verfahren zur Synthese von Nano-MIP2)

[0086] Die Polystyrolsuspension (3 Gewichtsprozent, 20 g/Wasser), die gemäß Tabelle 1 hergestellt worden war, wurde in ein Fläschchen gegeben, und 3,9 mg (9 µmol) methacroyliertes Cortisol, 4,7 mg (36 µmol) Itaconsäure, 59,5 mg (457 µmol) Divinylbenzol (DVB) und 9,5 mg (91,2 µmol) Styrol wurden zugegeben. Dann wurden 3,2 mg (11,8 µmol) V-50 (2,2'-Azobis (2-methylpropionamidin)dihydrochlorid), ein Polymerisationsinitiator, in der Lösung aufgelöst. Das Teströhrchen wurde mit einer Scheidewandkappe versiegelt, und die Luft in dem Teströhrchen wurde durch Stickstoff ersetzt, und dann wurde eine Polymerisationsreaktion bei Bedingungen durchgeführt, die 80°C und 800 Umdrehungen pro Minuten während 24 Stunden umfassen. Die erhaltene Polymerisationsflüssigkeit wurde gewonnen und in eine Zentrifuge gegeben, um den Überstand zu entfernen. Dann wurde sie einer Hydrolyse während 24 Stunden unter Einsatz von 50 ml einer 2 M wässrigen Lösung von Natriumhydroxid/Methanol = 1:1 unterworfen. Danach wurde sie mehrere Stunden mit 50 ml 1 M Chlorwasserstoffsäure/Methanol = 1:1 und 50 ml reines Wasser/Methanol = 1:1 gewaschen. Durch dieses Hydrolyseverfahren und Waschverfahren kann das Cortisolderivat, das in das Innere des Molekularmatrizenpolymers eingeführt worden war, aus dem Molekularmatrizenpolymer entfernt werden. Durch das vorstehend genannte Verfahren können die Molekularmatrizenpolymerteilchen vom Kern-Mantel-Typ hergestellt werden, die Molekularmatrizenpolymerteilchen für ein Steroidhormon sind und eine Struktur aufweisen, in der das Mo-

lekularmatrizenpolymer, das aus einem Polymer besteht, das mit dem Steroidhormon wechselwirken kann, den Randbereich der Teilchen überzieht.

[Tabelle 2]

Ausgangsmaterial für das Synthetisieren von zwei Arten von Molekularmatrizenpolymerteilchen

Ausgangsmaterial	Nano-M1P1	Nana-M1P2
Suspension von Polystyrolteilchen	20 g	20 g
Methacroyliertes Cortisol	3,9 mg (9 µmol)	3,9 mg (9 µmol)
Itaconsäure	4,7 mg (36 µmol)	4,7 mg (36 µmol)
Methylenbisacrylamid	69,0 mg (447,5 µmol)	Keines
Styrol	Keines	9,5 mg (91,2 µmol)
DVB	Keines	59,5 mg (457 µmol)
V-50	2,7 mg (9,85 µmol)	3,2 mg (11,8 µmol)

Beispiel 2

(Fluoreszenzmarkierung von Cortisol: Einführung einer Dansylgruppe)

[0087] Zum Nachweisen von Cortisol mit hoher Empfindlichkeit wurde die Verwendung von fluoreszenzmarkiertem Cortisol in Betracht gezogen, und es wurde dementsprechend synthetisiert. Die Molekularstruktur des nachstehend synthetisierten Moleküls ist (E) bis (G) der **Fig. 10A** und (I) bis (F) der **Fig. 10B** gezeigt.

Reaktion (1): Epoxydierung einer ungesättigten Bindung und Einführung einer Amingruppe

[0088] In einen mit Stickstoff gefüllten Zweihalskolben wurden 1,82 g (5 mmol) Cortisol eingewogen und in 65 ml Methanol und 25 ml Ethanol teilweise gelöst. Nach dem Einstellen auf 0°C in einem Eisbad wurden 5 ml einer 10%igen wässrigen Natriumhydroxidlösung und 5 ml 30%iges Wasserstoffperoxid (H₂O₂) unter Verwendung einer Spritze eingespritzt und danach wurde ein Reaktion bei 0°C 3 Stunden durchgeführt. Die Reaktion wurde dann über Nacht bei Raumtemperatur fortgesetzt, wobei das Cortisolderivat (E) als Intermediat erhalten wurde. Danach wurde 1 ml 2-(Boc-amino)ethanthiol zugegeben, und danach wurde 6 Stunden bei Raumtemperatur eine Reaktion durchgeführt. Die Reaktionslösung wurde dann mit verdünnter Chlorwasserstoffsäure neutralisiert. Es wurden 30 ml gesättigte Kochsalzlösung zugegeben. Die Extraktion mit Ethylacetat wurde drei Mal durchgeführt, und die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter Verwendung eines Verdampfers abdestilliert. Das Rohprodukt wurde unter Einsatz von THF und Chloroform einer Lösungsmittelfraktionierung unterworfen, und das Filtrat wurde durch Säulenchromatographie (Entwicklungsschicht: Kieselgel C-200, Entwicklungslösungsmittel: Chloroform/Methanol/Triethylamin = 20/1/0,2) abgetrennt und gereinigt. Als Ergebnis wurde ein gelblich weißer Feststoff (Cortisolderivat F) erhalten (20% Ausbeute).

Reaktion (2): Entfernen der Boc-Schutzgruppe

[0089] Zu dem Cortisolderivat F (54 mg, 0,1 mmol), wurde 1 ml 0,5 M Chlorwasserstoffsäuremethanollösung gegeben. Die Reaktion wurde unter Schutz vor Sonnenlicht 4 Stunden bei Raumtemperatur durchgeführt, und danach wurde mit einer gesättigten wässrigen Lösung von Natriumhydrogencarbonat neutralisiert. Gesättigte Kochsalzlösung wurde zugegeben, und es wurde drei Mal eine Extraktion mit Ethylacetat durchgeführt, und danach wurde über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels wurde ein gelblich brauner Feststoff (Cortisolderivat G) erhalten (90% pro Ausbeute).

Reaktion (3): Dansylierung

[0090] Unter einer Stickstoffatmosphäre wurde Dimethylaminopyridin (10 mg) zu dem Cortisolderivat G (30 mg, 0,069 mmol) gegeben und in 3 ml destilliertem THF aufgelöst. Danach wurde das Gemisch in Triethylamin (0,1 ml) und 2 ml destilliertem THF aufgelöst. Nach Zugabe von Dansylchlorid (20 mg, 1,1 Äquivalente) als ein fluoreszierendes Molekül wurde die Reaktion über Nacht bei Raumtemperatur durchgeführt. Das Lösungsmittel wurde unter Einsatz eines Verdampfers abdestilliert. Es wurde eine gesättigte Kochsalzlösung zugegeben und die Extraktion mit Dichlormethan wurde drei Mal durchgeführt, und die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet. Durch das Entfernen des Lösungsmittels durch Destillation wurde ein viskoser gelber Feststoff erhalten. Das Rohprodukt wurde in THF aufgelöst, und durch das Abtrennen und Reinigen durch fraktionierende TLC (Entwicklungsschicht: Silicagel C-200, Entwicklungslösungsmittel: Chloroform/Methanol/Triethylamin = 20/1/0,2) wurde ein gelblich weißer Feststoff (Cortisolderivat H) erhalten.

(Fluoreszenzmessung von fluoreszenzmarkiertem Cortisolderivat (H))

[0091] Das fluoreszenzmarkierte Cortisolderivat (H) wurde in Chloroform aufgelöst, und das Fluoreszenzspektrum wurde unter Einsatz eines Fluoreszenzspektrophotometers gemessen. Als Ergebnis der Bestimmung des Fluoreszenzspektrums, wenn die Anregungswellenlänge 375 nm betrug, wurde ein maximaler Fluoreszenzpeak nahe 450 nm gefunden. Durch Einsatz des fluoreszenzmarkierten Cortisolderivats (H) wurde die Nachweiskraft der Molekularmatrizenpolymerteilchen (Nano-MIP1, Nano-MIP2) für Cortisol beurteilt.

(Cortisolnachweistest)

[0092] Die Cortisolabsorptionskraft von Nano-MIP1 und Nano-MIP2, die gemäß den vorstehend beschriebenen Verfahren hergestellt worden waren, wurde beurteilt. Eine Suspension von Nano-MIP1 und Nano-MIP2 wurde zentrifugiert, und dann wurde das Lösungsmittel entfernt und drei Mal mit Chloroform/Hexan = 4/1 ersetzt. Weil das Nano-MIP1 in Chloroform/Hexan = 4/1 aggregierte, war es nicht möglich, eine Fluoreszenzmessung durchzuführen. Deshalb wurde nur das Nano-MIP2 für den folgenden Titrationstest verwendet.

[0093] 3 ml einer 50 µM-Lösung des fluoreszenzmarkierten Cortisolderivats (H) (Chloroform/Hexan = 4/1) wurden in eine Fluoreszenzzelle eingewogen. Unter Rühren wurde das Nano-MIP2 in einer Menge von 100 µl alle 10 Minuten zugegeben, und die Fluoreszenz wurde bei einer Anregungswellenlänge von 375 nm gemessen. Das tropfenweise Zugabe und die Messung wurden wiederholt, bis die tropfenweise zugegebene Menge 400 µl war. Als Referenzbeispiel wurde nur das Lösungsmittel (Chloroform/Hexan = 4/1) (100 µl) tropfenweise zugegeben und die Fluoreszenz wurde bei einer Anregungswellenlänge von 375 nm gemessen.

[0094] Wenn die Suspension von Nano-MIP2 tropfenweise zugegeben wurde, wurde im Ergebnis die Wellenlänge mit einer maximalen Fluoreszenzintensität in Richtung längerer Wellenlängen verschoben, und die Fluoreszenzintensität wurde im Vergleich zu einem Fall, bei dem nur das Lösungsmittel zugegeben wurde, drastisch verringert. Die Ergebnisse sind in **Fig. 11A**, **Fig. 11B** und Tabelle 3 gezeigt. Im Graph der **Fig. 11A** stellt die horizontale Achse die Wellenlänge (nm) dar, und die vertikale Achse stellt die Fluoreszenzintensität (willkürliche Einheit) dar. Die durchgezogene Linie **950** in dem Graphen der **Fig. 11A** ist ein Spektrum vor der Zugabe der Molekularmatrizenpolymerteilchen. Die gestrichelte Linie **951** ist ein Spektrum nach der Zugabe von 400 µl der Molekularmatrizenpolymerteilchen. Die Fluoreszenzintensität (willkürliche Einheit) bei einer Wellenlänge von 450 nm ist gezeigt.

[0095] Außerdem stellt in dem Graphen der **Fig. 11B** die horizontale Achse die Wellenlänge (nm) dar, und die vertikale Achse stellt die Fluoreszenzintensität (willkürliche Einheit) dar. Die durchgezogene Linie **960** des Graphen der **Fig. 11B** ist ein Spektrum vor der Zugabe der Molekularmatrizenpolymerteilchen. Die gestrichelte Linie **962** ist ein Spektrum nach der alleinigen Zugabe von 400 µl eines Lösungsmittels. Es ist die Fluoreszenzintensität (willkürliche Einheit) bei einer Wellenlänge von 450 nm gezeigt.

[0096] In Tabelle 3 ist eine Veränderung der Fluoreszenzintensität (willkürliche Einheit), die durch das Zugabe der vorstehend beschriebenen Lösung verursacht wird, gezeigt. Wenn die Zugabemenge 0 µl war (vor der Zugabe), war die Fluoreszenzintensität 180 für beide Fälle der Zugabe von Nano-MIP2 und der alleinigen Zugabe eines Lösungsmittels. Durch die Zugabe von Nano-MIP2 war die Fluoreszenzintensität jedoch 160 bei einer Zugabemenge von 100 µl. Die Fluoreszenzintensität war bei einer Zugabemenge von 200 µl 150. Die Fluoreszenzintensität war 135 bei der Zugabemenge von 300 µl. Die Fluoreszenzintensität wurde bei einer Zugabemenge von 400 µl drastisch auf 125 verringert.

[0097] Wenn nur das Lösungsmittel zugegeben wurde, war die Fluoreszenzintensität 175 bei der Zugabemenge von 100 µl. Die Fluoreszenzintensität war 170 bei der Zugabemenge von 200 µl. Die Fluoreszenzintensität war 165 bei der Zugabemenge von 300 µl. Die Fluoreszenzintensität wurde bei der Zugabemenge von 400 µl auf 160 verringert.

[0098] Die vorstehenden Ergebnisse zeigen, dass im Vergleich zu einer einfachen Verdünnung, bei der nur das Lösungsmittel zugegeben wurde, die Fluoreszenzintensität deutlich verringert wird, wenn Nano-MIP2 zugegeben wird. Es wird angenommen, dass das fluoreszenzmarkierte Cortisol in das Innere der Molekularmatrixpolymerteilchen eingeführt wird und sich daraus eine Wechselwirkung unter den Molekülen ergibt, wodurch die Fluoreszenzintensität deutlich verringert wird. Da die Konzentration des fluoreszenzmarkierten Cortisols für diesen Fall 50 µM war, kann gemäß der vorliegenden Erfindung mindestens 50 µM Cortisol nachgewiesen werden. Obwohl dieses Nachweisverfahren auf einer direkten Messung der Fluoreszenzintensität basiert, kann ein Kompetitionsverfahren oder ein Substitutionsverfahren, wie vorstehend beschrieben, verwendet werden.

[Tabelle 3]

Durch die zugegebene Lösung verursachte Änderung der Fluoreszenzintensität (Wellenlänge: 450 nm)

	Fluoreszenzintensität (willkürliche Einheit)	
Zugegebene Menge	Zugabe von Nano-MIP2	Ausschließliche Zugabe eines Lösungsmittels
0 µl (vor der Zugabe)	180	180
100 µl	160	175
200 µl	150	170
300 µl	135	165
400 µl	125	160

Beispiel 3

(Fluoreszenzmarkierung von Cortisol: Einführung von Pyren)

[0099] Für den Nachweis von Cortisol mit hoher Empfindlichkeit wurde die Verwendung des fluoreszenzmarkierten Cortisols in Betracht gezogen, und es wurde dementsprechend synthetisiert. Vorstehend wurde ein Nachweisbeispiel unter Verwendung von Cortisol, in das eine Dansylgruppe eingeführt worden war, beschrieben. Im Folgenden wird ein Nachweisbeispiel unter Verwendung von Cortisol, in das Pyren eingeführt wurde, beschrieben.

Reaktion (5) Synthese von Pyrenaktivester

[0100] Unter einer Stickstoffatmosphäre wurde 1-Pyrenessigsäure (260,3 mg, 1 mmol) in destilliertem THF (5 ml) gelöst. Zu der Lösung wurden 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid (EDC) (212 µl, 1,2 ml) gelöst mit destilliertem THF (1 ml), und N-hydroxysuccinimid (138,1 mg, 1,2 mmol), gelöst in destilliertem THF (5 ml), gegeben, und das Gemisch wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt, während es vor Sonnenlicht geschützt wurde. Nach dem vollständigen Ablauf der Reaktion wurde die Reaktionslösung unter Verwendung eines Verdampfers abdestilliert, und es wurde eine Extraktion mit Methylenchlorid drei Mal nach Zugabe von reinem Wasser durchgeführt. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, und nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels durch einen Verdampfer wurde ein bräunlich roter Feststoff erhalten. Der erhaltene Feststoff wurde unter Einsatz von Ethylacetat dekantiert, und der Überstand wurde durch Säulenchromatographie (Entwicklungsschicht: C-200, Entwicklungslösungsmittel: Ethylacetat/Hexan = 1:1) getrennt und gereinigt, wobei ein gelber Feststoff (Pyrenderivat, Molekularstruktur I der **Fig. 10B**) erhalten wurde (83% Ausbeute).

Reaktion (6) Synthese von Pyren-markiertem Cortisol

[0101] Unter einer Stickstoffatmosphäre wurde das Cortisolderivat G (61 mg, 0,14 mmol) in Methylenchlorid (3 ml) gelöst, und N,N-dimethyl-4-aminopyridin (DMAP) (17,2 mg, 0,14 mmol), gelöst in Methylenchlorid (1 ml), wurde zugegeben. Danach wurde das Pyrenderivat (I: synthetisiert in dem vorstehenden Abschnitt 1.) (50

mg, 0,14 mmol), gelöst in Methylenchlorid (3 ml) zugegeben, und die Reaktion wurde über Nacht bei Raumtemperatur durchgeführt, während sie vor Sonnenlicht geschützt wurde. Nach dem vollständigen Ablauf der Reaktion wurde eine Extraktion mit Methylenchlorid drei Mal nach dem Zugabe von reinem Wasser durchgeführt. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, und durch Abdestillieren des Lösungsmittels durch einen Verdampfer wurde ein viskoser bräunlich roter Feststoff erhalten. Der erhaltene Feststoff wurde unter Einsatz von Ethylacetat dekantiert, und der Überstand wurde durch Säulenchromatographie (Entwicklungsschicht: C-200, Entwicklungslösungsmittel: Ethylacetat/Hexan = 1:4) abgetrennt und gereinigt, wobei ein gelber Feststoff erhalten wurde (Molekülstruktur J der Fig. 10B) (64% Ausbeute).

(Cortisolnachweistest)

[0102] Das Cortisol (j) in das Pyren eingeführt worden war, und das wie vorstehend beschrieben synthetisiert wurde, wurde in Chloroform gelöst, und das Fluoreszenzspektrum wurde bei einer Anregungswellenlänge von 359 nm gemessen. Es ergab sich ein Peak mit einer maximalen Fluoreszenz in der Nähe von 400 nm.

[0103] Danach wurde die Wechselwirkung mit einem Molekularmatrizenpolymer bestimmt. Eine Lösung (Chloroform/Hexan = 4/1) des Derivats (J) in einer Konzentration von 1 µmol/l wurde hergestellt, und 3 ml der Lösung wurden in eine Fluoreszenzzelle eingewogen. Dann wurde unter Rühren Nano-MIP2 tropfenweise in einer Menge von 0, 100, 200, 300, 400 oder 500 µl alle 10 Minuten zugegeben, und die Messung wurde bei einer Anregungswellenlänge von 350 nm durchgeführt. Eine Suspension des Nano-MIP2-Polymers wurde eingesetzt, nachdem sie hergestellt worden war, wobei die Feststoffkonzentration etwa 1 mg/ml war.

[0104] Das erhaltene Fluoreszenzspektrum ist in Fig. 12 gezeigt. In dem Graphen der Fig. 12 stellt die horizontale Achse die Wellenlänge (nm) dar, und die vertikale Achse stellt die Fluoreszenzintensität (willkürliche Einheit) dar. Das Ergebnis vor der Zugabe (0 µl) ist mit einer grauen durchgezogenen Linie gezeigt. Danach wurde durch Zugabe einer Suspension des Nano-MIP2-Polymers in einer Menge von 100 µl die Fluoreszenzintensität bei jeder Wellenlänge erhöht, was durch die Linie mit langen Strichen gezeigt wird. Außerdem wurde die Wellenlänge, bei der sich ein Peak mit der maximalen Fluoreszenzintensität zeigt, in Richtung kürzerer Wellenlängen im Wellenlängenbereich von 380 bis 600 nm verschoben. Danach wurde nach weiterer Zugabe einer Suspension des Nano-MIP2-Polymers in einer Menge von 100 µl (Gesamtzugabemenge von 200 µl) das Fluoreszenzspektrum mit einer grauen gestrichelten Linie gezeigt. Als Ergebnis zeigte sich, dass die Wellenlänge, bei der sich ein Peak mit der maximalen Fluoreszenzintensität zeigt, wie oben in Richtung kürzerer Wellenlängen verschoben wurde. Dann wurde wie oben nach der weiteren Zugabe einer Suspension des Nano-MIP2-Polymers in einer Menge von 100 µl (Gesamtzugabemenge von 300 µl) das Fluoreszenzspektrum mit einer schwarzen mittelstarken gestrichelten Linie angegeben. Dann wurde wie oben nach der weiteren Zugabe einer Suspension des Nano-MIP2-Polymers in einer Menge von 100 µl (Gesamtzugabemenge von 400 µl) das Fluoreszenzspektrum mit einer grauen feingestrichelten Linie angegeben. Dann wurde wie oben nach der weiteren Zugabe einer Suspension des Nano-MIP2-Polymers in einer Menge von 100 µl (Gesamtzugabemenge von 500 µl) das Fluoreszenzspektrum mit einer schwarzen durchgezogenen Linie angegeben.

[0105] Unter den vorstehend erhaltenen Fluoreszenzspektren werden innerhalb des Wellenlängenbereichs von 380 nm bis 600 nm die Wellenlänge, bei der sich die maximale Fluoreszenzintensität nach dem Zugabe einer Suspension des Nano-MIP2-Polymers in der jeweiligen Menge zeigt, und die Fluoreszenzintensität in Tabelle 4 gezeigt.

[Tabelle 4]

Wellenlänge mit einer maximalen Fluoreszenzintensität nach der Zugabe einer Suspension des Nano-MIP2-Polymers in der jeweiligen Zugabemenge und Fluoreszenzintensität (Wellenlängenbereich: 380 nm bis 600 nm)

Gesamtzugabemenge	Wellenlänge (nm)	Fluoreszenzintensität (willkürliche Einheit)
0 µl (vor der Zugabe)	409,5	48,33
100 µl	404,0	49,11
200 µl	401,0	52,29

300 µl	399,0	55,67
400 µl	402,0	60,15
500 µl	398,0	61,61

[0106] Aus den vorstehenden Ergebnissen wurde bestimmt, dass ein µmol/l Cortisol durch die MIP der vorliegenden Erfindung nachgewiesen werden kann, was sich durch die Änderung in dem Fluoreszenzspektrum zeigt. Es wurde auch bestätigt, dass der Nachweis auf ähnliche Weise für 10 µmol/l Cortisol durchgeführt werden kann.

Beispiel 4

[0107] Es werden Beispiele der Synthese von Molekularmatrizenpolymerteilchen unter Einsatz der kovalenten Bindung an zwei Punkten zwischen einem Ausgangsmaterial und einem Zielmolekül sowie ein Zielmoleküleinfangtest beschrieben.

(Synthese eines Cortisolderivats mit zwei polymerisierbaren Substituentengruppen)

Reaktion (7): Synthese eines synthetischen Intermediats

[0108] In einen 50 ml verzweigten Kolben wurden N-hydroxylphthalimid (Molekularstruktur K der **Fig. 13A**) (163 mg, 1 mmol), CuCl (I) (99 mg, 1 mmol), aktivierte Molekularsieve 4A (200 mg), 4-Vinylphenylborsäure (Molekularstruktur L der **Fig. 13A**) (296 mg, 2 mmol), und ein Rührfisch gegeben, und nach der weiteren Zugabe von 1,2-Dichlorethan (5 ml) wurde das Gemisch aufgelöst und suspendiert. Als Molekularsieve 4A wurden solche, die nach der Aktivierung unter Vakuum bei 150°C über Nacht erhalten wurden, eingesetzt. Pyridin (90 µl) wurde zugegeben und gerührt. Als Ergebnis wurde eine braune Suspension erhalten. Danach änderte die Reaktionslösung ihre Farbe nach grün. Nach dem vollständigen Ablauf der Reaktion wurde die Reaktionslösung auf Kieselgel adsorbiert, das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck direkt abdestilliert, und jeder Fleck wurde mit Ethylacetat eluiert. Danach wurde unter Einsatz einer Autosäule ein Versuch unternommen, das Zwischenproduktmolekül M (**Fig. 13A**) abzutrennen. Die Bedingungen für die Abtrennung waren wie folgt. Es wurde zugelassen, dass allein Hexan 12 Minuten floss, und der Gradientenfluss wurde 11 Minuten durchgeführt, wobei am Ende Hexan:Ethylacetat = 9:1 war.

[0109] Danach wurde zugelassen, dass die Flüssigkeit 20 Minuten mit dem Verhältnis von 9:1 floss. Die Menge des erhaltenen synthetisierten Zwischenproduktmoleküls M war 137 mg (0,51 mmol) mit einer Ausbeute von 52%.

Reaktion (8): Synthese von funktionellem Monomer (Molekül N)

[0110] In einen 50 ml verzweigten Kolben wurden das synthetisierte Zwischenproduktmolekül M (82,6 mg, 0,324 mmol), CHCl₃ (5 ml), hergestellt, so dass 10% MeOH enthalten war, und Hydrazinmonohydrat (47,5 µl, 0,972 mmol) zugegeben und bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Unmittelbar nach dem Beginn der Reaktion wurden weiße Niederschläge abgeschieden. Das Rühren wurde über Nacht durchgeführt. Danach wurden die Niederschläge direkt auf Kieselgel adsorbiert und durch Fließen einer Hexanlösung von 30% Ethylacetat durch 5 g Kieselgel gewaschen. Nicht umgesetztes Hydrazin wurde zu diesem Zeitpunkt entfernt. Die Reste, welche das funktionelle Monomer (Molekül N) enthielten, wurden für die folgende Stufe in ihrem Rohzustand eingesetzt.

Reaktion (9): Synthese eines Cortisolderivats mit zwei polymerisierbaren Substituentengruppen

[0111] Nach der Synthese wurde das funktionelle Monomer (Molekül N) für die folgende Reaktion in seinem Rohzustand verwendet. Das Lösungsmittel, das in der Lösung im Rohzustand enthalten war, wurde unter vermindertem Druck abdestilliert, und das Gemisch mit dem funktionellen Monomer (Molekül N) (0,63 mmol, Einspritzmenge des Synthesezwischenprodukts der Reaktion (8)), methacryloyliertes Cortisol (167,2 mg, 0,342 mmol) und NaOAc (0,68 mmol) wurden in 10 ml MeOH gelöst, und die Reaktion wurde 48 Stunden bei Raumtemperatur durchgeführt, wobei sie vor Sonnenlicht geschützt wurde. Nach dem vollständigen Ablauf der Reaktion änderte sich die Farbe der Reaktionslösung in eine bräunlich rote Farbe. Danach wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert, und durch Zugabe von CH₂Cl₂ wurde NaOAc abgeschieden und filtriert. Die Lösung wurde dann unter Einsatz einer Autosäule abgetrennt. Die abgetrennte Lösung wurde un-

ter vermindertem Druck abdestilliert und einer Identifizierung unter Einsatz von $^1\text{H-NMR}$ und MALDI-TOF-MS unterworfen. Als Ergebnis wurde das Molekül O in einer Menge von 8 mg und einer Ausbeute von 4% erhalten.

[0112] Durch die Verwendung des disubstituierten Cortisolderivats, das wie vorstehend beschrieben synthetisiert worden war, wurde ein Molekülmatrixpolymer gemäß dem Verfahren des Beispiels 1 bis Beispiel 3 synthetisiert. Außerdem wurde durch Einsatz des markierten Cortisols der Nachweis von Cortisol durchgeführt. Aus der Änderung in dem Fluoreszenzspektrum wurde bestätigt, dass das Cortisol bei 1 $\mu\text{mol/l}$ durch Einsatz von MIP auf der Grundlage von Beispiel 4 nachgewiesen werden konnte. Es wurde auch bestätigt, dass das Cortisol bei 10 $\mu\text{mol/l}$ auf ähnliche Weise nachgewiesen werden konnte.

[0113] Vorstehend wurden Ausführungsformen zum Durchführen der vorliegenden Erfindung beschrieben. Das Molekülmatrixpolymer weist Selektivität und eine Einfangeigenschaft auf, die ähnlich zu derjenigen eines Antikörpers als ein Biopolymer ist, und das Polymer ist hervorragend in seiner Umweltverträglichkeit und Temperaturbeständigkeit, weil es eine nicht natürliche synthetische Substanz ist. Dementsprechend hat es den Vorteil, dass Verwender MIP einsetzen könne, ohne dass sie sich beispielsweise über die Lagerung Gedanken machen müssen. Folglich ist es möglich, einen chemischen Sensor bereit zu stellen, der für den allgemeinen Verbraucher zu Hause sowie für medizinisches Personal (Ärzte, medizinische Techniker und Krankenschwestern) leicht zu verwenden ist. Da ein Steroidhormon, wie Cortisol, das in enger Beziehung zu Stressstörungen steht, mit hoher Empfindlichkeit nachgewiesen werden können, ist es besonders nützlich für die frühe Diagnose der Symptome einer Stressstörung, und somit kann es zu einer Prävention und zu einer frühen Behandlung von Stressstörungen beitragen.

[0114] Die vorliegende Erfindung sollte nicht auf die vorstehend beschriebenen Ausführungsformen beschränkt sein und kann verschiedene modifizierte Beispiele umfassen. Beispielsweise kann die Ausgestaltung einiger Ausführungsformen durch andere Ausführungsformen teilweise ersetzt werden, und die Ausgestaltung einiger Ausführungsformen kann weitere Ausführungsformen umfassen. Alternativ dazu können die Ausgestaltungen der jeweiligen Ausführungsformen teilweise modifiziert werden, indem andere Ausgestaltungen zugegeben oder gestrichen werden, oder indem sie durch andere Ausgestaltungen ersetzt werden.

Bezugszeichenliste

1	Apparat zum Nachweisen einer chemischen Substanz
10	Moleküleinfangteil
101	Einfangkörper
102	Träger
103	Molekülmatrixpolymer
104	Molekülmatrixpolymer
11	Teil zum Messen der eingefangenen Menge
111	Pfeil
112	Pfeil
14	Probeneinspritzteil
15	Probenbeförderungsteil
16	Entnahmeteil
17	Probe
170	Zielmolekül
171	Fremde Substanz A
172	Fremde Substanz B
20	Zielmolekül
201	Monomerausgangsmaterial A
202	Monomerausgangsmaterial B
203	Monomerausgangsmaterial C
21	Erkennungsstelle
22	Molekülmatrixpolymer
25	Teilchen
26	Molekülmatrixpolymer
261	Erkennungsstelle
27	Teilchen
28	Molekülmatrixpolymer
501	Gepunktete Linie
502	Gepunktete Linie

6	Probenkammer
7	Flüssigkeitsströmungswegteil
8	Strömungseinspritzport
80	Molekularmatrizenpolymer
82	Probe
83	Markiertes Zielmolekül
820	Zielmolekül
821	Fremde Substanz A
822	Fremde Substanz B
832	Zielmolekülrest
831	Markierungsrest
84	Behälter
9	Strömungsentnahmeport
90	Einfang/Nachweisteil
91	Probeneinspritzteil
92	Vorbehandlungsschicht
93	Probe
930	Zielmolekül
931	Fremde Substanz A
932	Fremde Substanz B
933	Pfeil
950	Durchgezogene Linie
951	Gestrichelte Linie
960	Durchgezogene Linie
961	Gestrichelte Linie

[0115] Die Veröffentlichungen, Patente und Patentanmeldungen, die in der vorliegenden Beschreibung zitiert werden, werden durch Bezugnahme in die vorliegende Beschreibung eingefangen.

Patentansprüche

1. Molekularmatrizenpolymerteilchen für ein Steroidhormon, die ein Polymer umfassen, das mit dem Steroidhormon wechselwirkt.
2. Molekularmatrizenpolymerteilchen nach Anspruch 1, wobei die Polymerisationseinheit des Polymers mindestens zwei funktionelle Gruppen aufweist, die mit dem Steroidhormon Wechselwirken.
3. Molekularmatrizenpolymerteilchen nach Anspruch 2, wobei die Polymerisationseinheit des Polymers mindestens zwei Carbonsäuregruppen als eine funktionelle Gruppe aufweist, die mit dem Steroidhormon wechselwirkt.
4. Molekularmatrizenpolymerteilchen nach Anspruch 3, wobei das Steroidhormon Cortisol oder ein Derivat davon ist und das Polymer Itaconsäure als Polymerisationseinheit umfasst.
5. Verfahren zum Herstellen von Molekularmatrizenpolymerteilchen, welches die folgenden Stufen umfasst: eine Stufe, in der in Anwesenheit eines Steroidhormons und von Teilchen eine Polymerisationsreaktion eines Monomers, das mit dem Steroidhormon wechselwirkt, durchgeführt wird; und eine Stufe, in der das Steroidhormon von dem Polymer entfernt wird, indem das durch die Polymerisationsreaktion erhaltene Polymer gewaschen wird.
6. Verfahren zum Herstellen von Molekularmatrizenpolymerteilchen nach Anspruch 5, wobei das Monomer ein Monomer mit mindestens zwei funktionellen Gruppen, die mit dem Steroidhormon Wechselwirken, umfasst.
7. Verfahren zum Herstellen von Molekularmatrizenpolymerteilchen nach Anspruch 6, wobei das Monomer mindestens zwei Carbonsäuregruppen als eine funktionelle Gruppe aufweist, die mit dem Steroidhormon wechselwirkt.
8. Verfahren zum Herstellen von Molekularmatrizenpolymerteilchen nach Anspruch 5, wobei das Monomer mindestens zwei Monomere umfasst, die eine funktionelle Gruppe aufweisen, die mit dem Steroidhormon wechselwirkt.

9. Verfahren zum Herstellen von Molekularmatrizenpolymerteilchen nach Anspruch 5, wobei das Steroidhormon eine funktionelle Gruppe aufweist, die eine Copolymerisationsreaktion mit dem Monomer erlaubt.
10. Verfahren zum Herstellen von Molekularmatrizenpolymerteilchen nach Anspruch 9, wobei die funktionelle Gruppe eine Methacryloylgruppe ist.
11. Verfahren zum Herstellen von Molekularmatrizenpolymerteilchen nach Anspruch 9 oder 10, wobei das Monomer ein Monomer umfasst, das mindestens zwei funktionelle Gruppen aufweist, die mit dem Steroidhormon Wechselwirken.
12. Verfahren zum Herstellen von Molekularmatrizenpolymerteilchen nach Anspruch 11, wobei das Monomer mindestens zwei Carbonsäuregruppen als eine funktionelle Gruppe aufweist, die mit dem Steroidhormon wechselwirkt.
13. Verfahren zum Herstellen von Molekularmatrizenpolymerteilchen nach Anspruch 9, wobei das Steroidhormon methacroyliertes Cortisol ist und das Monomer Itaconsäure ist.
14. Molekularmatrizenpolymerteilchen, in denen das Steroidhormon Cortisol oder ein Derivat davon ist, das Polymer die Molekularmatrizenpolymerteilchen nach Anspruch 1 sind und mit Polystyrol überzogen sind, und die Teilchen eine feine kugelförmige Form und einen gleichförmigen Teilchendurchmesser aufweisen.
15. Apparat zum Nachweisen einer chemischen Substanz, welcher umfasst:
ein Moleküleinfangteil, der einen Einfangkörper umfasst, der die Molekularmatrizenpolymerteilchen nach einem der Ansprüche 1 bis 4 enthält, und
einen Teil zum Messen der eingefangenen Menge für die Quantifizierung des eingefangenen Steroidhormons in dem Moleküleinfangteil.
16. Apparat zum Nachweisen einer chemischen Substanz nach Anspruch 15, wobei der Moleküleinfangteil so ausgestaltet ist, dass die Nachweisempfindlichkeit für das Steroidhormon auf der Grundlage eines Kompetitionsverfahrens oder eines Substitutionsverfahrens erhöht ist.
17. Apparat zum Nachweisen einer chemischen Substanz nach Anspruch 15 oder 16, wobei das Steroidhormon in dem Teil zum Messen der eingefangenen Menge quantifiziert wird, indem ein Oberflächen-Plasmon-Resonanzmessverfahren, ein Quarzkristall-Mikrogleichgewicht-Messverfahren, ein elektrochemisches Impedanzverfahren, ein colorimetrisches Verfahren oder ein Fluoreszenzverfahren eingesetzt wird.
18. Verfahren zum Nachweisen einer chemischen Substanz, wobei das Verfahren die folgenden Stufen umfasst:
eine Stufe, in der ein Steroidhormon auf einem Moleküleinfangteil eingefangen wird, indem der Moleküleinfangteil, der einen die Molekularmatrizenpolymerteilchen nach einem der Ansprüche 1 bis 4 umfassenden Einfangkörper aufweist, mit einer das Steroidhormon enthaltenden Probe kontaktiert wird; und
eine Stufe, in der das eingefangene Steroidhormon durch den Moleküleinfangteil quantifiziert wird.
19. Verfahren zum Nachweisen einer chemischen Substanz nach Anspruch 18, wobei der Moleküleinfangteil so ausgestaltet ist, dass die Nachweisempfindlichkeit für das Steroidhormon auf der Grundlage eines Kompetitionsverfahrens oder Substitutionsverfahrens erhöht ist.
20. Molekularmatrizenpolymerteilchen vom Kern-Mantel-Typ als Molekularmatrizenpolymerteilchen für ein Steroidhormon, die eine Struktur aufweisen, in der die Außenseite der Teilchen mit dem Molekularmatrizenpolymer überzogen ist, das ein mit dem Steroidhormon wechselwirkendes Polymer umfasst.
21. Cortisolderivat, das ein darin eingeführtes fluoreszierendes Molekül aufweist, und ein Verfahren zum Herstellen des Cortisolderivats.
22. Cortisolderivat, das eine darin eingeführte Dansylgruppe aufweist, und ein Verfahren zum Herstellen des Cortisolderivats.
23. Cortisolderivat, das ein darin eingeführtes Pyren aufweist, und ein Verfahren zum Herstellen des Cortisolderivats.

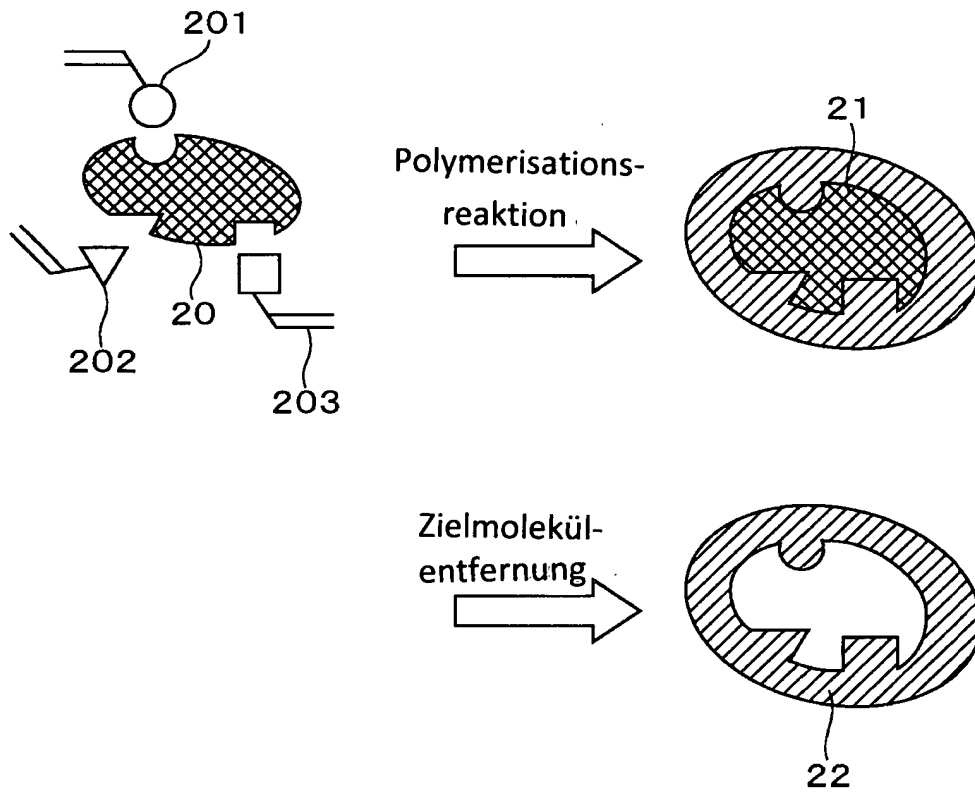
24. Cortisolderivat, das ein über ein Amin darin eingeführtes fluoreszierendes Molekül aufweist, und ein Verfahren zum Herstellen des Cortisolderivats.

25. Cortisolderivat, das ein über ein Schwefelatom darin eingeführtes fluoreszierendes Molekül aufweist, und ein Verfahren zum Herstellen des Cortisolderivats.

Es folgen 11 Seiten Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

F I G. 1



F I G. 2

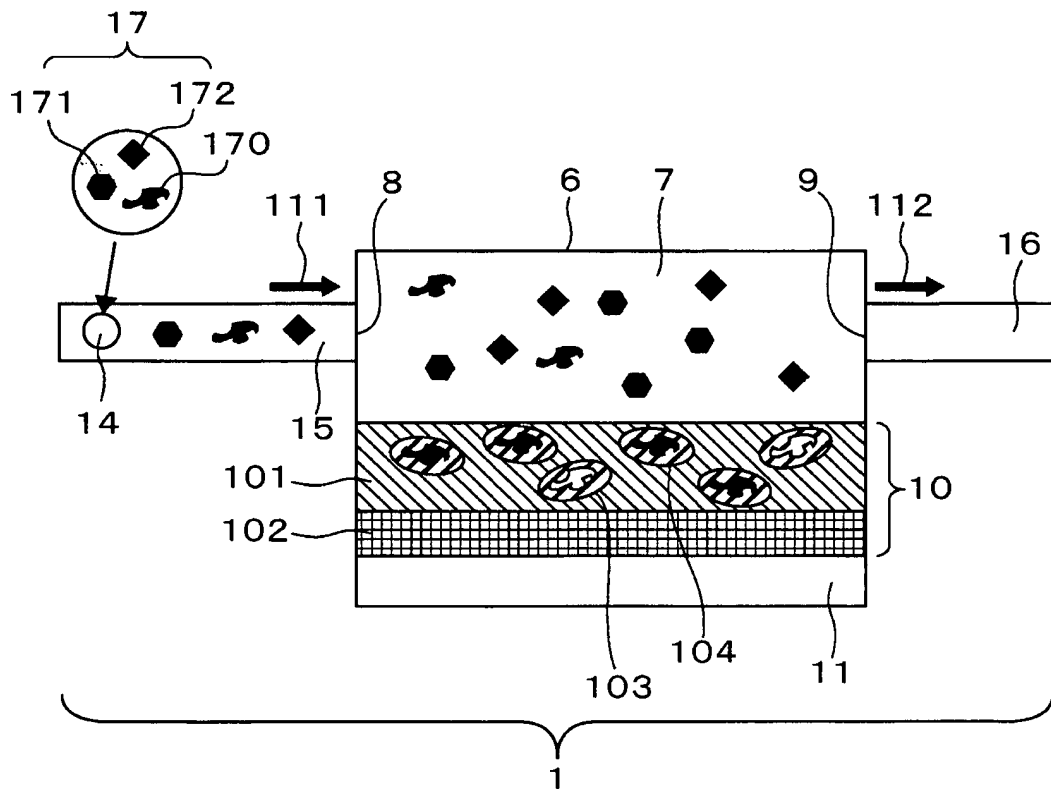


FIG. 3A

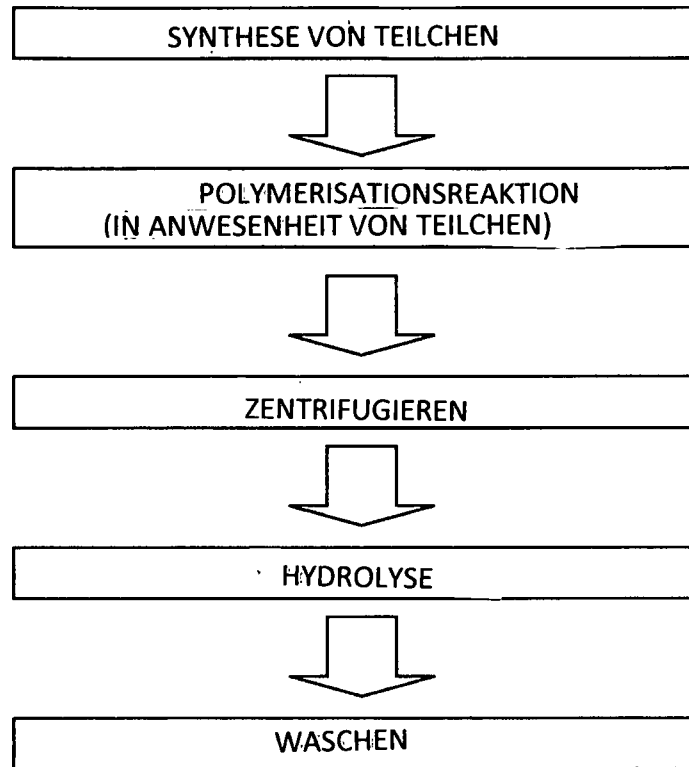


FIG. 3B

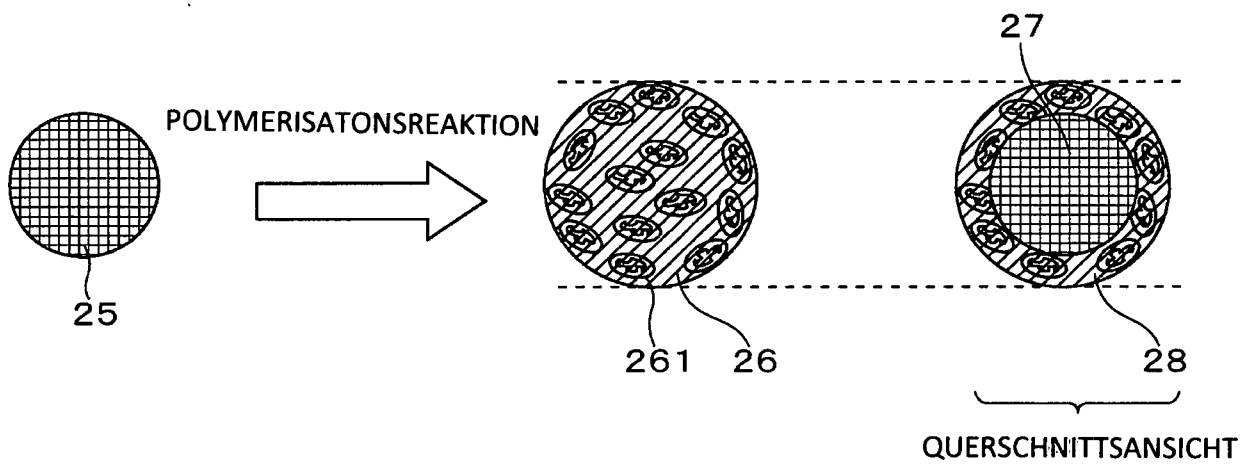


FIG. 4 A

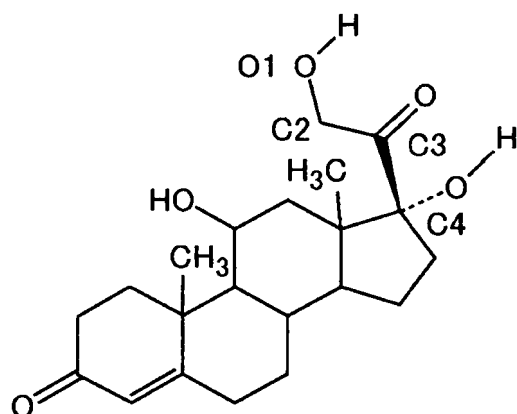


FIG. 4 B

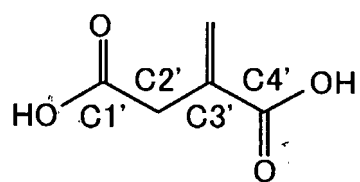
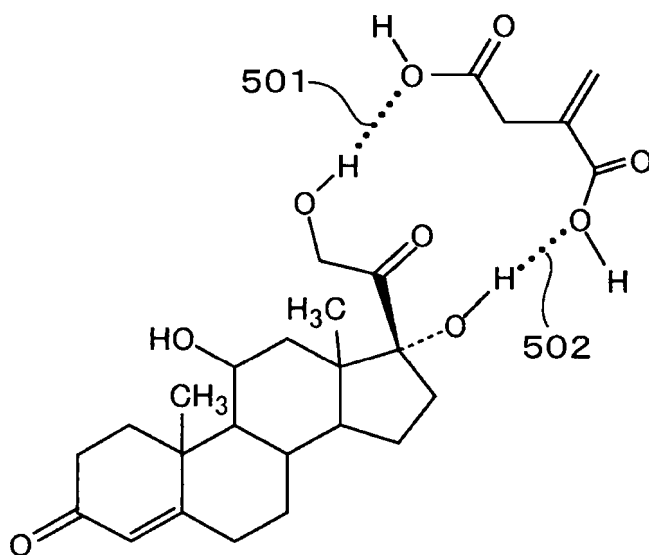
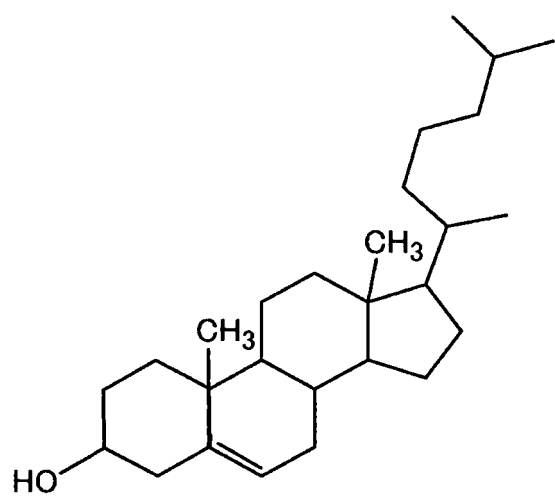


FIG. 5

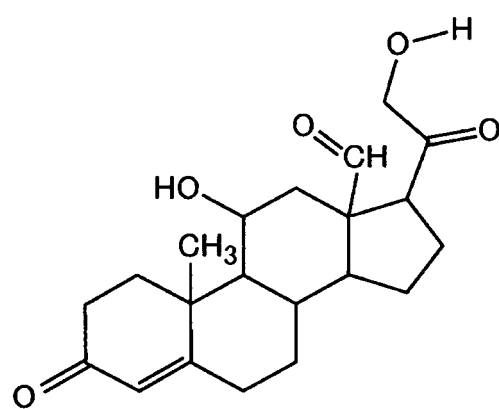


F I G . 6

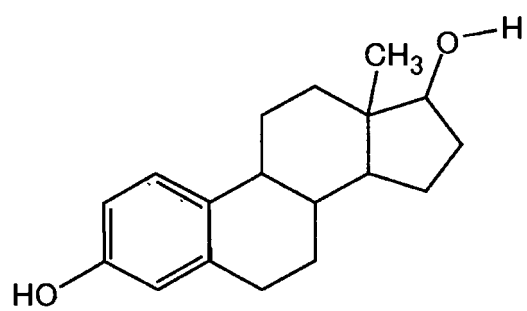
(A)



(B)



(C)



(D)

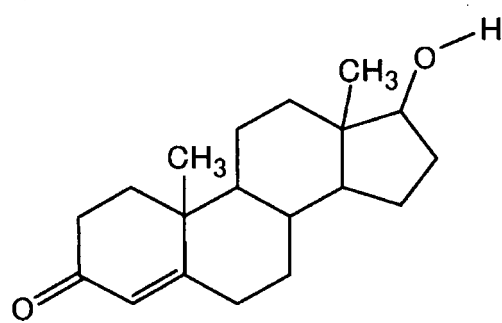


FIG. 7

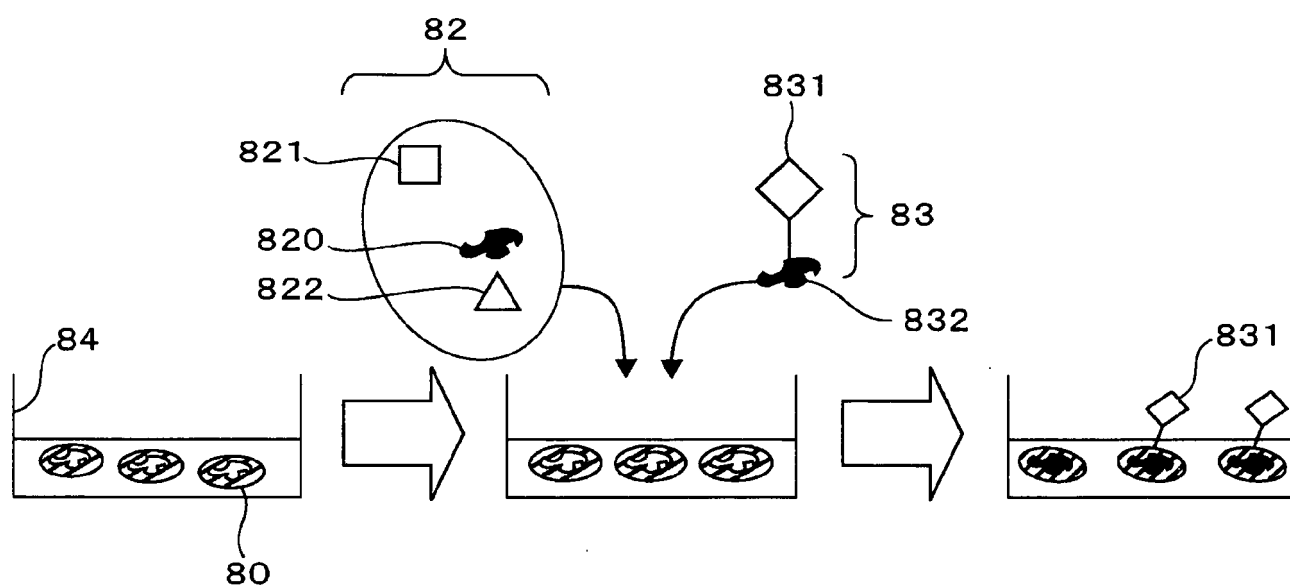


FIG. 8

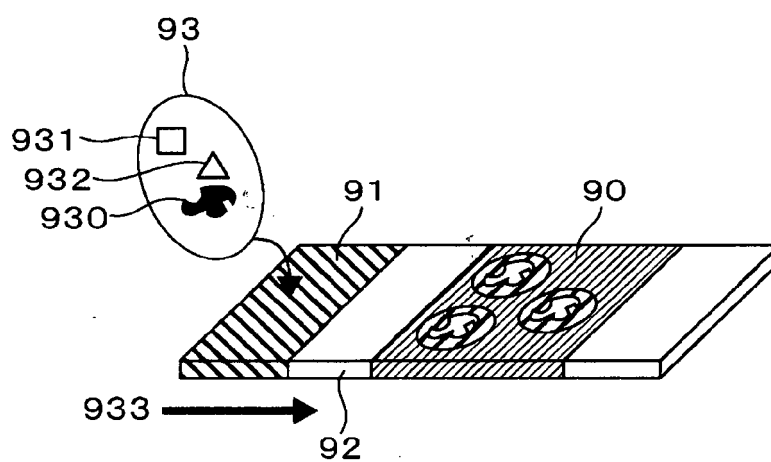


FIG. 9

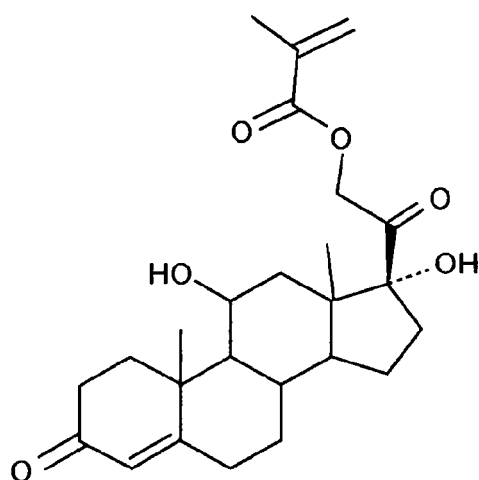


FIG. 10A

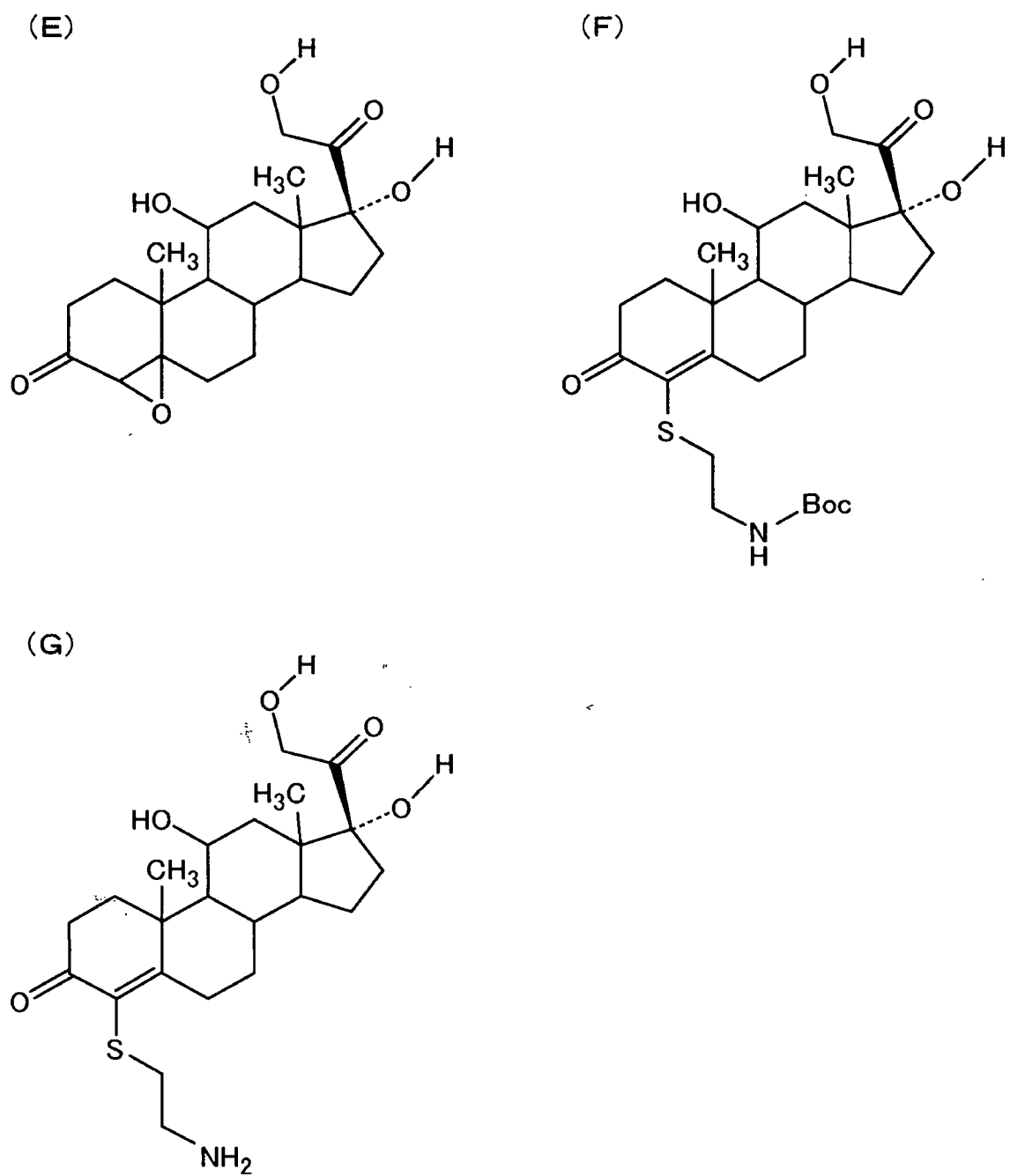


FIG. 10B

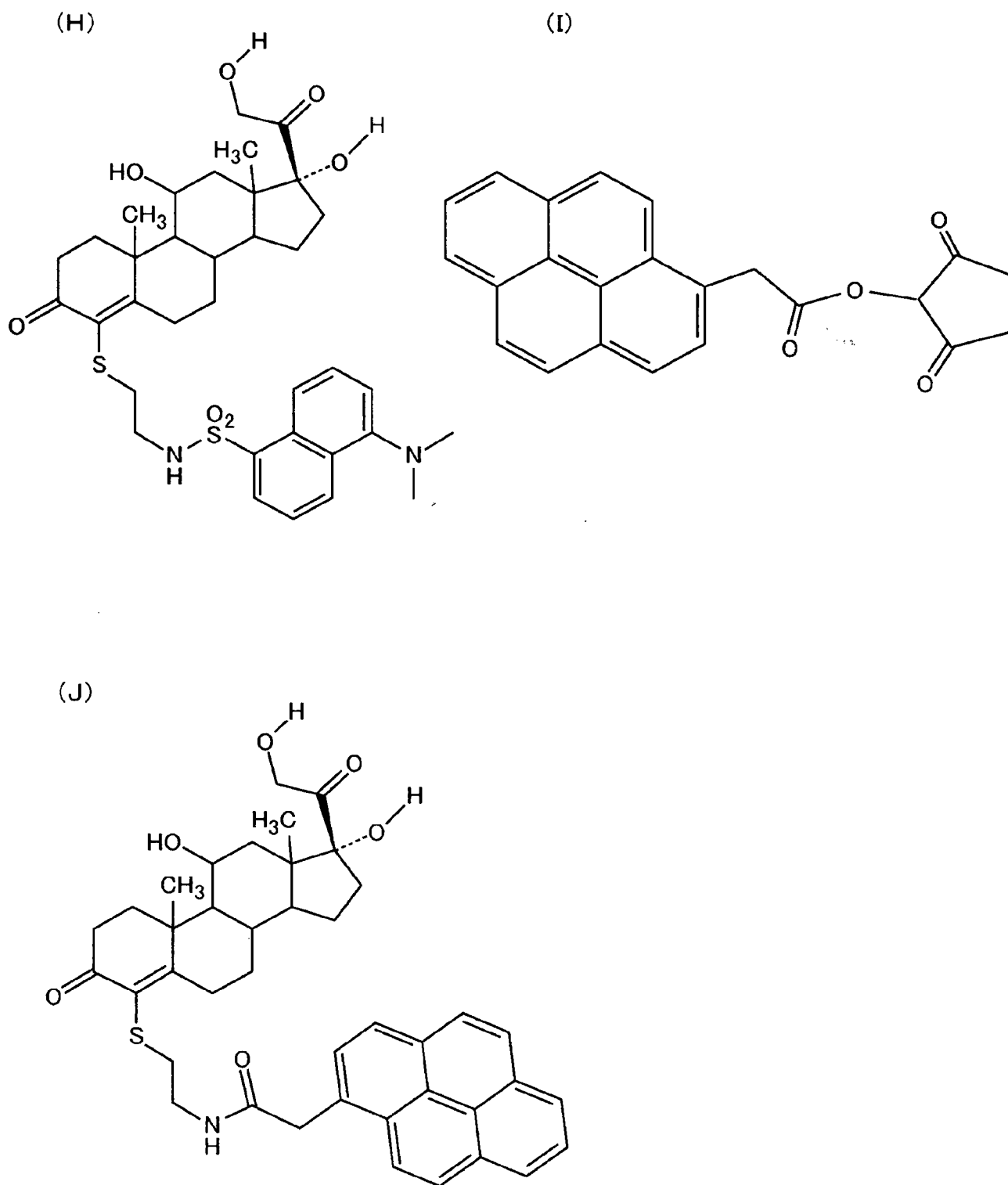


FIG. 11A

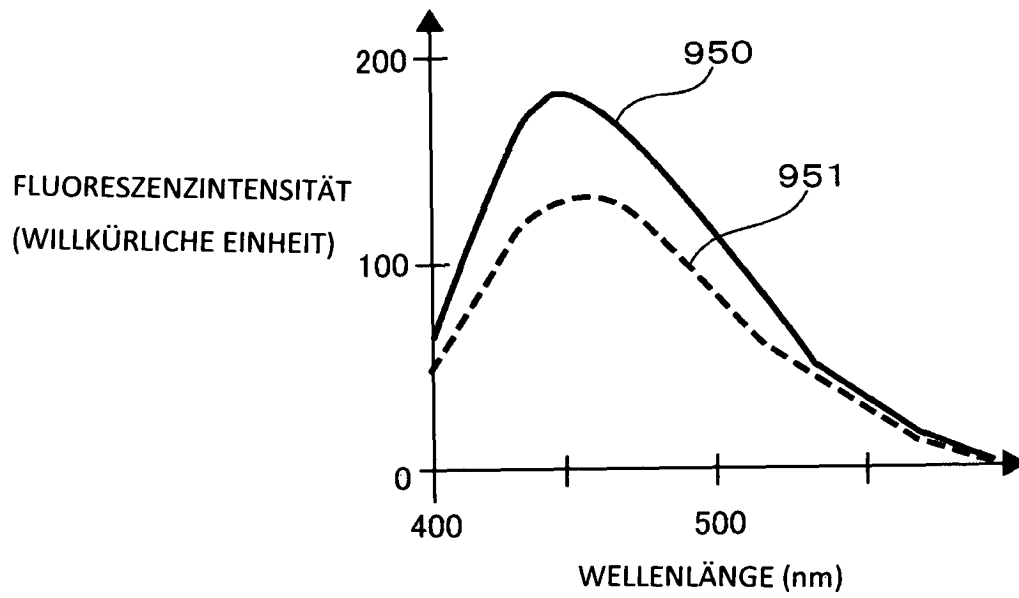


FIG. 11B

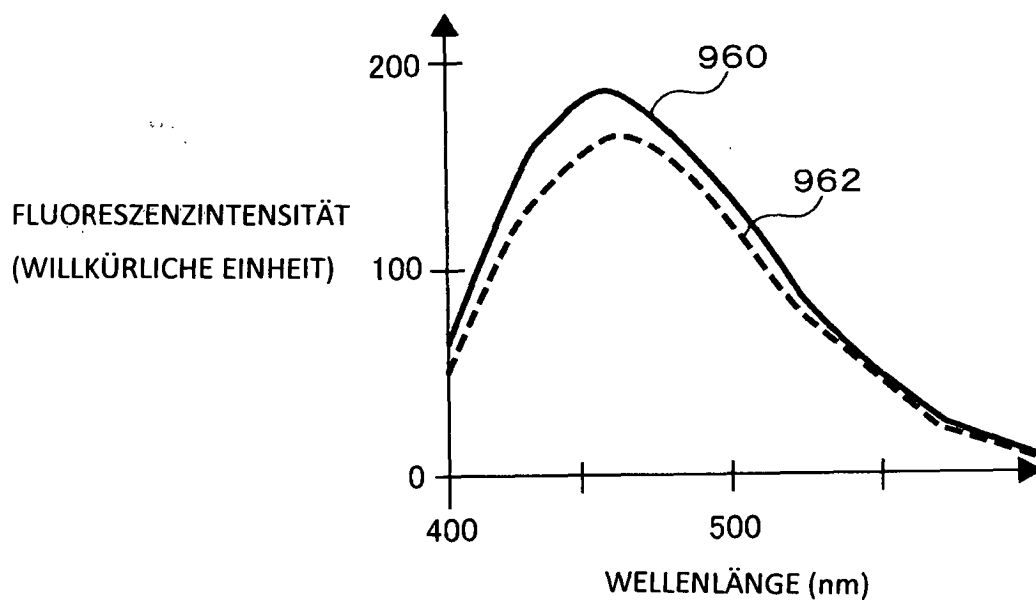
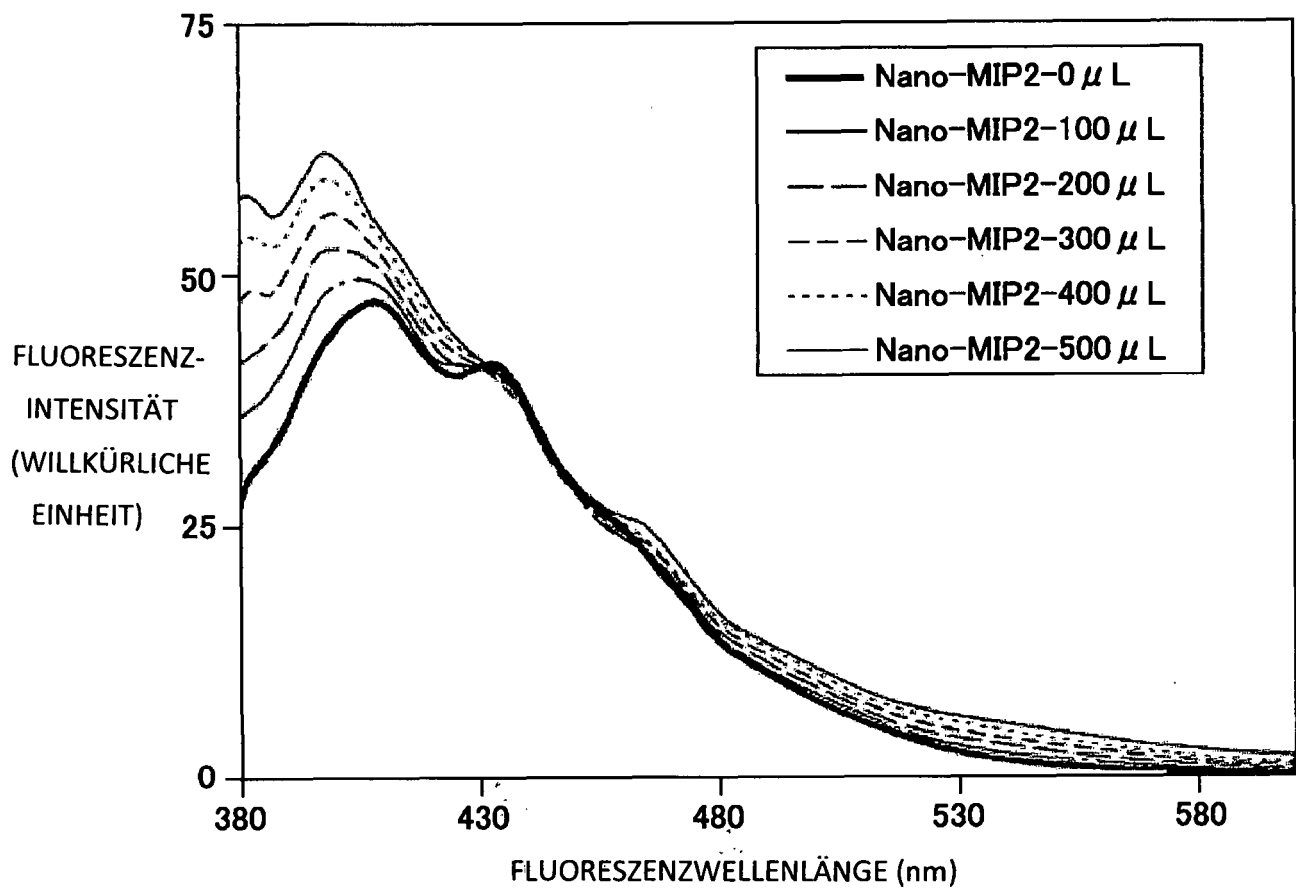
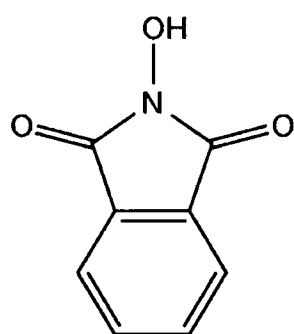


FIG. 12

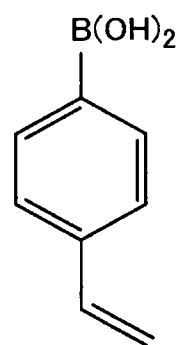


F I G. 1 3 A

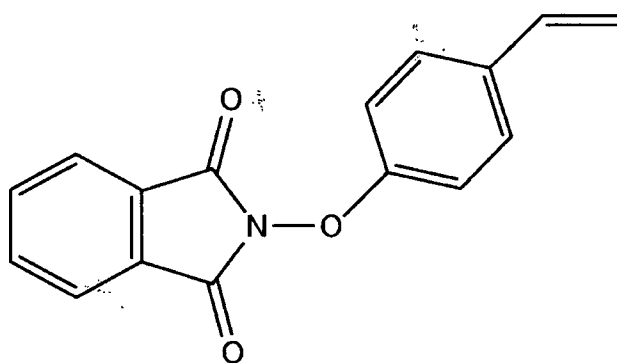
(K)



(L)



(M)



(N)

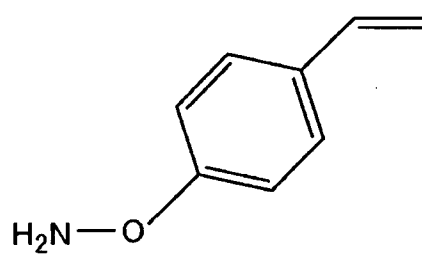


FIG. 13B

(O)

