

申請日期	86. 8. 25
案 號	861177P2
類 別	G01N 33/50

A4
C4

571097

(以上各欄由本局填註)

發 明 專 利 說 明 書		
一、發明 名稱	中 文	目測試條用之化學定時器
	英 文	Chemical timer for a visual test strip
二、發明 人	姓 名	1. 康恩特 Ernest J. Kiser 2. 度邁可 Michael F. Tomasco 3. 賴艾華 Edward G. Rice 4. 游 揚 Yeung S. Yu
	國 籍	1. — 4. 美國 1. 美國加州洛安度市克萊路1564號 1564 Clay Drive, Los Altos, CA 94024 U.S.A. 2. 美國加州庫皮諾市辰比路22528號 22528 Poppy Drive, Cupertino, CA 95014 U.S.A. 3. 美國加州帕若市若絲大廈827號 827 Ross Court, Palo Alto, CA 94303 U.S.A. 4. 美國加州布里頓市拜梭路3158號 3158 Paseo Robles, Pleasanton, CA 94566 U.S.A.
三、申請人	住、居所	
	代 表 人 姓 名	美商來富肯公司 LifeScan, Inc. 美國 美國加州密爾派塔市吉瑞大道1000號 1000 Gibraltar Drive, Milpitas, California 95035, U.S.A. 柯保羅 (Paul A. Coletti)

裝

訂

線

(由本局填寫)

承辦人代碼：
大 類：
I P C 分類：

A6
B6

本案已向：

美 國 (地 區) 申請專利，申請日期：西元1996年 案號：08/706,753，☒有 ☐無主張優先權
9月3日

有關微生物已寄存於：，寄存日期：，寄存號碼：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝 訂 線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 (1)

相關發明之對照參考

本申請案係相互關連之美國申請案序號411,238 (1995年3月27日申請) 之部分繼續申請。

發明背景

1. 發明領域

本發明係有關一種化學性測定時間間隔 (尤其是在一試條測定生物溶液中分析物濃度期間的間隔) 的裝置。

2. 相關技術之描述

許多目測裝置已被發展用來測定生物溶液中某些分析物的濃度。這些裝置已測定例如葡萄糖、膽固醇、蛋白質、酮類、苯丙胺酸或在血液、尿液或唾液中之酵素。

組合以酵素為底組成物之乾燥相試劑條已廣泛被用於臨床實驗室、醫師診所、醫院、及家庭中，以測試生物液體樣品中之葡萄糖濃度。事實上，試劑條對許多國家數百萬的糖尿病患而言，已成為每日的必需品。因為糖尿病患者血液化學上可能引起危險的異常狀況，其可能會造成失明、腎功能不全及其他嚴重的醫療影響。為降低這些影響的危險性，大多數的糖尿病患必須定期自我測試，然後據此調整他們的葡萄糖濃度，例如經由膳食控制及／或以胰島素注射的方式。某些病患必須每日測試他們的血糖濃度多至四次或更多次。

對必須控制飲食以調節糖份攝取及／或提供胰島素注射的病患，及對必須遵行頻繁的血糖濃度測試結果的病患而言，能有快速、便宜且正確之用於葡萄糖測定的試劑條尤

五、發明說明(2)

其重要。

試劑條已知包含一種可視被塗抹至試條上之生物液體中的葡萄糖濃度而轉變不同顏色色調的指示劑。雖然某些此種試條使用還原性化學劑，但通常他們係與一種可氧化的染料或染料偶合物有關。某些試條包括一種酵素，諸如葡萄糖氧化酶，其能氧化葡萄糖為葡萄糖酸和過氧化氫。他們亦含有一種可氧化染料和一種具有過氧化活性之物質，其能在過氧化氫的存在下，選擇性地催化可氧化染料之氧化作用（參見：例如美國專利案第5,306,623號）。

1976年6月22日頒給Hochstrasser之美國專利第3,964,871號案揭示一種可丟棄的指示條，供直接測量生物液體中之物質（如葡萄糖）。此種指示條指示物質之濃度者係藉由包括一種指示劑，當其與物質反應時，會被氧化及改變顏色；以及一種“拮抗劑”，其以某種方式避免被氧化的指示劑聚集，直到其完全被消耗掉為止。

1989年5月24日公開之歐洲專利申請案公開第0 317 070號中，Palmer等人揭示一種用於葡萄糖及其他分析物之“數位”定量檢測系統（亦參見1991年7月30日頒發之美國專利案第5,036,000號）。該系統測量生物液體中之有機化合物的濃度係先以一種基質專一性之氧化酵素氧化該化合物。該系統包括一種作為過氧化氫還原劑的發色體及一種具有較大還原能力之大氣安定的過氧化氫還原劑。較大還原能力可延緩任何發色團之可偵測的顏色變化，直到大氣安定之第一過氧化氫還原劑被消耗為止。所以，若被測

五、發明說明 (3)

量之過氧化氫低於相當於大氣安定之過氧化物還原劑濃度之預定程度，就沒有顏色的變化發生。因此，該系統定量地測量濃度，而與顏色變化的強度無關。

1987年3月10日頒給Ismail等人之美國專利第4,649,122號案，揭示一種活性(viability)試驗裝置，其可證實用於測定分析物濃度之試驗組成物的活性。此活性係藉由濕潤該裝置來測量。當試驗品被水濕潤時，會改變顏色或進行某些其他變化，讓使用者證實該試條為具活性的。

White-Stevens及Stover先生於臨床化學，28(4)，589-595 (1982)中，揭示抗壞血酸可能對診斷試驗造成干擾，因為抗壞血酸在以使用過氧化和氧化還原指示劑為主之試驗的顏色發展方面，會引起時間的延遲。

不論測試是在家中、醫師診所、門診或醫院中進行，葡萄糖測定之正確性及再現性是非常重要的。在顏色指示試劑條之情況中，所期望的是，被包含在生物液體中之化合物（葡萄糖除外），其顏色的變化為明顯的且對變化為不敏感的。在目視讀取之試劑條的情況中，使糖尿病人（其可能正患有視覺障礙）持有一種依葡萄糖濃度而有顯著顏色變化的測試試劑尤其重要；雖說在特定波長下由吸光度改變而呈現的顏色變化對於儀表讀取試條之正確性而言亦為重要的。

由於顏色變化涉及到一系列的化學反應，故其並不會瞬間發生。因此，使用者必須等候一段時間-典型為一分鐘或低於一分鐘-使反應發生。當儀表對試條讀值時，計時

五、發明說明(4)

電路會提供一個信號，表示反應完全了。然而，當試條係以目視讀取，而不是用儀表讀取時，使用者可能會低估所需要的時間，而過早讀取試條，且獲得不正確的結果。另一種情形是，使用者可能覺得在讀取試條前需要等候一超過的時間確使反應完全，反而造成不需要拖延和使用者的不滿意。因此需要一種"化學"定時器，亦即一種在試條上的組份，其不管樣品中之葡萄糖濃度（或其他有關的分析物）如何均會改變顏色，但其僅在足夠的時間經過，完成與樣品之顏色形成反應之後才會改變顏色。

發明概要

根據本發明，一種供測定生物液體中分析物濃度之目測試條用的化學定時器，可確使試條之使用者等待夠長的時間以獲得適當之讀數，而無須讓使用者等待不適當的長時間。定時器包括下列之乾燥塗覆物：

- a) 一種有顏色的指示劑組成物；
- b) 一種包含酵素的試劑，其當被水合時，能與葡萄糖反應而改變指示劑的顏色；
- c) 一種抑制劑，用以抑制指示劑顏色的變化；
- d) 葡萄糖；及
- e) 一種醛糖，其實質上不與試劑中之酵素反應；

其中在乾燥塗覆物中之抑制劑和葡萄糖濃度係經選擇，使葡萄糖在生物液體樣品被塗抹至試條之後，經過一預定時間能與試劑反應而改變指示劑的顏色。提到指示劑為"有顏色的"，吾等並非意味其非白色的；事實上，在一較佳

五、發明說明(5)

具體例中，白色為水合前指示劑的顏色。

在本發明之另一具體例中，一種製備供測定被塗至試條上之生物液體中分析物濃度之目測試條用化學定時時的方法，包括下列步驟：

- a) 將一種包含酵素試劑（其當被水合時，能與葡萄糖反應而形成反應產物）的溶液塗覆至多孔膜上；
- b) 乾燥塗覆物以形成第一層；及
- c) 塗抹第二層至第一層上，該第二層包含：
 - (i) 一種可與反應產物反應，引起顏色改變的指示劑；
 - (ii) 一種可抑制指示劑顏色變化的抑制劑；
 - (iii) 葡萄糖，及
 - (iv) 一種實質上不與試劑中之酵素反應的醛糖。

片語"實質上不與試劑中之酵素反應"，當被使用於說明書及申請專利範圍中時，意謂與酵素之反應遠低於與葡萄糖之反應；亦即低於葡萄糖反應性之約10%。

此種試條可對於被塗抹至試條之"樣品面"上之生物液體中所包含的分析物濃度提供一視覺指示。視覺指示出現在試條之反面（或"試驗面"）。當液體樣品被塗抹至樣品面時，及當對應之視覺指示（典型為顏色變化）出現在測試面時，兩個時點之間通常有延遲。因此，除非使用者在讀值之前等待至少一最小長度的時間，否則可能讀取不正確的數值。而且，適度之最小延遲時間可受到環境或試條化學性質的改變（例如周圍溫度或老化效應）所影響。本發明之化學定時器，當自液體樣品被塗抹至試條起，經過足

五、發明說明(6)

夠的時間時，可對使用者提供一視覺指示。

試條之化學組成，當然係視待測之分析物／生物液體而定。試條可被設計來偵測分析物，例如葡萄糖或其他糖類、酒精、膽固醇、蛋白質、酮類、尿酸、苯丙胺酸、或在生物液體如血液、尿液、及唾液中之酵素，以及水。一試劑試條之化學定時器一般適合於（但非必要）對和試劑試條本身相同的分析物／生物液體組合物起反應。舉例來說，如果試條被設計用來測定全血中之酒精時，則給化學定時器加上酒精和用於酒精和試條中的試劑之間形成顏色反應的抑制劑可能並不實際。於該情況中，定時器可包括葡萄糖、用來與葡萄糖反應形成明顯顏色之試劑、及對該反應之抑制劑。當血液被加至試條中時，定時器可被水合並在一段時間的延遲（此期間與抑制劑的濃度有關）之後改變顏色。當然，對於一適合用在"酒精試條"上之"葡萄糖定時器"而言，調整葡萄糖反應的時間為適合於酒精試條之時間為必要的。為方便和簡明起見，於此說明書中被詳細揭示之定時器及試劑試條乃偵測血液中之葡萄糖。一般熟悉此項技術之人能容易地採用本說明之資訊而用於偵測其他的分析物／生物液體組合物。

本發明之指示條提供血液中葡萄糖濃度之一種相當簡單且快速的測定法。試條包括具有樣品面和測試面之多孔基體。該基體通常為一種薄膜，而此兩個術語在本說明書及附隨之申請專利範圍中被交替使用。測試試劑被塗抹至基體上，且或多或少被浸漬於基體的孔洞中。為簡單說明起

五、發明說明 (7)

見，吾等在本說明書及附隨之申請專利範圍中描述在基體上之試劑為"塗覆物"，且發現到試劑塗覆物滲透基體至某種程度。基體係適合於接受被塗抹至樣品面上之未測定的全血樣品（其包含紅血球及葡萄糖）。基體的孔隙，藉由（例如）毛細管作用，允許液體由樣品面通過而到達測試面。因此，測試試劑可與血液中之葡萄糖反應，於接近或在測試面上引起顏色的變化。由於有強烈顏色的紅血球使偵測顏色的變化更加困難，故基體可具有尺寸成梯度地由樣品面上之大孔而縮至測試面上之較小孔的孔洞，藉此捕捉紅血球遠離測試面。許多物質可被用作本發明指示試條及定時器的各種組份。這些物質有一些被揭示於1994年4月26日頒給Kiser等人之U.S.專利第5,306,623號中，於此併入本文中作為參考。

測試試劑包括用於轉變葡萄糖為過氧化氫之成份，如葡萄糖氧化酶，及一或多種用於偵測由存在於樣品中之葡萄糖所產生過氧化氫的成份。偵測過氧化氫的成份可為一種過氧化酶（較佳為辣根過氧化酶）與一種在反應進行中改變顏色的指示劑。指示劑可為可氧化的染料或染料偶合物。過氧化酶在過氧化氫的存在下催化指示劑之氧化反應。試驗試條塗覆物之最後的組份為一種抑制指示劑之變色氧化反應的抑制劑。

在較佳具體例中，指示條被分段，即沿著其長度以一種相鄰片段具有不同指示劑／抑制劑平衡的方式來區分。吾等將此等區段指為"結果區段"。如果當足夠的葡萄糖存在

五、發明說明(8)

，先引起所有的抑制劑被用掉，然後再氧化指示劑並因此引起特徵的顏色變化時，僅有一特殊的結果區段會改變顏色。因此，在一特殊結果區段上的顏色變化證實了在原來血液樣品中之低限葡萄糖濃度。沿著試條之一特別的方向，每個連續的結果區段都具有相當於漸增低限葡萄糖濃度之一指示劑／抑制劑平衡；對此，若指示劑濃度對所有的區段為相同，且每個連續的區段都比前面一個區段具有漸增的抑制劑濃度者，即可達成。顯然地，其他的指示劑／抑制劑平衡亦為可能的。

若結果區段對一特殊的測試樣品具有適當範圍之指示劑／抑制劑濃度，則鄰近的區段會與分析物反應，致使一個結果區段有顏色而另一個則無。此結果顯示樣品中葡萄糖濃度為至少相等於改變一區段之顏色所需要的低限濃度，但並非與改變鄰近區段之顏色所需要的低限濃度一樣。定時器組份塗覆物包括指示條組份-一種具有測試試劑塗覆於其上之多孔基體-此外還有葡萄糖。較佳地，葡萄糖存在於定時器中之用量為超過克服抑制劑所需要的量。該該情況中，改變顏色所需要的時間（在樣品水合定時器塗覆物之後）為較長或較短，端視是否存在某種程度的抑制劑而定。在試條和在定時器中之顏色變化可直接以肉眼觀察，或以偵測反射率改變之光學儀器來觀察。

理想中，試劑之化學性質在乾燥狀態中十分安定，且不會被定時器組份塗覆物中之葡萄糖所活化。然而，如上所述，定時器並不是十分安定的，即使當其被維持在乾燥狀

五、發明說明 (9)

態時亦然；安定的化合物反而是在定時器中的葡萄糖和低分子量蛋白質之間，及或許在葡萄糖和塗覆物中之酵素之間所形成的。為避免葡萄糖被上述糖苷化反應所消耗，可添加一安定劑。安定劑之糖苷化較之葡萄糖者更有效，但其不與葡萄糖氧化反應。

定時器顯示所需要的時間係受到試條參數所影響，該參數為類似於影響葡萄糖濃度之可見指示出現所需的時間。因此，如果低的周圍溫度或試條成份之老化延長葡萄糖濃度之有效測定所需要的時間，則其亦會延長化學定時器指示的時間。最後，如果試條處理不當的話，例如曝露於濕氣中，則會在試條被使用前即引起表示化學定時器反應完全之顏色變化的產生，使用者將會知道該試條已無法正確表示而不再使用。

圖式之簡要說明：

圖 1 為本發明直讀式試劑試條之基體的透視圖。

圖 2 為本發明直讀式試劑試條之測試面的平面圖。

圖 3 為圖 2 試條之樣品面的平面圖。

發明之詳細說明：

本發明之定時器化學性地測量一預定時間的間隔。其特別適合於被包含在一目測試條上，供測量生物液體中分析物之濃度。此種試條包含一多孔基體，其結合有一種測試試劑，可對被塗抹至試條上之生物液體樣品中的分析物起反應，而產生顏色的改變。

基體可為均一之組成物或可為一種塗覆基質且可為各向

五、發明說明 (10)

同性或各向異性者。基體具有被樣品塗抹之樣品面，及一可觀察顏色改變之測試面。較佳地，基體為一種各向異性的薄膜；尤佳為一種具有大範圍孔徑大小的各向異性薄膜，例如，由約0.1微米至約150微米之梯式孔徑可延伸整個基體。在大孔徑端，孔徑大小較佳為在約30微米至約40微米之範圍。在孔徑最小之基體端，孔隙體積相當小，且薄膜的材質通常相當緻密，為在可構成20%薄膜厚度之一層內。在此一層內，孔徑大小較佳為在約0.1微米至約0.8微米之範圍，而標稱孔徑大小較佳為約0.3微米。當生物液體被塗抹至樣品面時，樣品在其滲透薄膜時會逐漸面臨較小的孔徑，最後，諸如紅血球細胞之固體達到薄膜上之一位置，到這他們就不能再進一步滲透了；而其餘的樣品（仍包含溶解的葡萄糖）則滲透到測試面。薄膜的各向異性性質及／或一種分離成份（如下討論）在基體中的使用，允許以相當快的流動速率通過薄膜，即使當固體的過濾作用發生時亦然。

當樣品通過基體時，其與試劑之反應即引起吸光染料被形成或分解於靠近測試面之空隙體積中，藉此實質地影響自基體而來的反射率。

聚酞及聚醯胺（耐綸）為適當的基體材料實例。其他具有相等特性的聚合物亦可被使用。聚合物可被改質，以導入其他提供帶電結構之官能基團，使得基體的表面可為中性、正電性、或負電性。

製造形成基體之多孔材料的較佳方法為鑄造無支撐核心

五、發明說明 (11)

的聚合物。此種基體，例如為各向異性聚砜薄膜，可得自 Memtec 公司，Timonium, MD。通常使用少於約 200 微米厚度之基體，以約 115 至 155 微米為較佳，最佳為約 130 至 140 微米之厚度，特別是當基體為耐綸或各向異性聚砜時。基體可視需要被附著至一支撐體上，以提供物理形式及剛性（雖然此非為必須的）。較佳地，可將基體插入於熱塑性片材之間而提供支撐。在樣品面上之片材包括一開口，樣品可被引導通過其間。在測試面上之片材則容許基體之測試面的顏色被觀察。

以試劑處理薄膜，可將薄膜浸入成份的混合物中，藉此飽和薄膜基體。過量的試劑可藉機械的方法，例如刮板或玻璃桿來去除，然後乾燥薄膜。

測試試劑包括 (i) 一種轉變葡萄糖為過氧化氫的成份，(ii) 一種偵測過氧化氫的成份，及 (iii) 一種成份，用以抑制偵測過氧化氫之成份。視需要，此試劑可進一步包括一分離成份，其可使固體（如紅血球細胞）被附著或陷入基體中，而有效地自生物液體中移除固體。如下文及實施例所述，其他的成份亦可被包括在內。

轉變葡萄糖成為過氧化氫之較佳的成份包括葡萄糖氧化酶，這是一種一般可自麴菌屬或青黴菌屬取得之酵素。葡萄糖氧化酶與葡萄糖和 氧化應，產生葡萄糖酸內酯和過氧化氫。最適化之葡萄糖氧化酶濃度係依指示劑系統之組成而定。例如，若指示劑系統為 MBTHSB-ANS（其被描述於下），則葡萄糖氧化酶在約 500-10,000 U/mL 範圍為適當

五、發明說明 (12)

的，較佳為約700-2000 U/mL，最佳為約1000 U/mL。一般而言，葡萄糖氧化酶之濃度愈高，引起反應的進行愈快；而愈低則愈慢。

如此所製得之過氧化氫可與偵測過氧化氫的成份反應；該成份包括一過氧化酶，選擇性催化過氧化氫和指示劑之間的反應。過氧化氫使用過氧化氫作為一種氧化劑，其能夠由各種基體中移除氫原子。一種適合的過氧化酶可包含高鐵原紫質，這是一種獲自植物之紅色的氯化氧化原血紅素。由動物（例如來自動物的甲狀腺）所獲得之過氧化酶亦為適合的。辣根過氧化酶(HRPO)尤宜作為偵測過氧化氫成份之構成要素。

過氧化氫（較佳為經過氧化酶所催化者）可直接或間接地反應，而形成或分解一可吸收預定波長範圍光線的指示劑染料。較佳地，指示劑染料可在一不同於測試試劑所強烈吸收的波長下強烈吸收。指示劑的氧化形式可為有顏色的、淡色的或無色的終產物，其證實了基體測試面的顏色改變。也就是說，測試試劑可藉有色區被漂白，或者，另一種方式，藉無色區產生顏色來指示樣品中分析物的存在。

可用於本發明之指示劑包括(a)3-甲基-2-苯駢噻唑啉酮脞氫氯化物(MBTH)與3,3-二甲基胺基苯甲酸(DMAB)之組合；(b)MBTH與3,5-二氫-2-羥苯-磺酸(DCHBS)之組合；(c)4-胺基安替吡啉(4-AAP)和5-氧-1-(p-磺苯基)-2-吡啶-3-羧酸(OPSP)；(d)4-AAP和N-(間-甲苯基)-二乙醇

五、發明說明 (13)

胺(NDA)；(e)2,2'-次偶氮基-二(3-乙基苯駢噻唑啉磺酸(ABTS)；(f)4-AAP和4-甲氧萘酚；(g)苯三酚紅(PGR)；(h)溴苯三酚紅(BPR)；(i)酸綠25 (AG)；或(j)[3-甲基-2-苯駢噻唑啉酮脞] N-磺醯基苯磺酸單鈉(MBTHSB)與8-苯胺基-1-萘磺酸銨(ANS)之組合。以MBTHSB-ANS為較佳者。其他有關MBTHSB-ANS之資料出現在共同繼續申請之PCT申請案序號第US95/12091號(1995年9月7日申請)，特併入本文作為參考。

抑制劑成份藉由(例如)還原過氧化氫或還原經氧化的染料而抑制過氧化氫和染料或染料先質之間的反應。大體上，一種抑制劑可有兩種不同的操作模式。第一，抑制劑可與指示劑競爭，因而減慢指示劑中顏色變化發生的速率。另一方面，抑制劑可為非競爭性的，致使大體上所有的抑制劑在指示劑中實質顏色變化發生之前被用掉。理想中，本發明之抑制劑可藉由後者之機制來操作。

屬於適宜之抑制劑者為2,3,4-三羥基苯甲酸；沒食子酸丙酯；3,4-二羥基桂皮酸；3,4-二羥基苯甲醛；沒食子酸；5,6-二胺基尿嘧啶；抗壞血酸；及異抗壞血酸。抗壞血酸為較佳的；然而，抗壞血酸會在水溶液中氧化。為降低氧化作用，可使用其他溶劑。較佳之溶劑為一級醇，如乙基、甲基、或異丙醇。乙醇為較佳的，尤其是濃溶液，亦即50%或更多乙醇之溶液。

雖然各向異性薄膜(其為較佳基體)可過濾出紅血球且使他們離開測試面，但視需要此測試試劑亦可包含一分離

五、發明說明 (14)

成份。分離成份應能由包含紅血球細胞之液體（如全血）中，藉分離基體中之紅血球，而產生相當澄清的無色液體。用於本發明之分離成份包括（但非受限於）聚乙二醇、聚（甲基乙烯醚／順丁烯二酸）酐、聚丙二醇、聚苯乙烯磺酸、聚丙烯酸、聚乙烯醇、及pH約為4.0-8.0之聚乙烯磺酸。此種分離成份存在於基體中之含量係依彼等之電荷及分子量、其他被包埋在基體中之成份、基體pH及孔徑大小、以及乾燥後基體之殘餘水份而改變。此等變數為熟悉此項技藝之人所易於測定者。例如，當聚丙二醇（如來自BASF, Wyandotte, MI之PPG-410）被用作分離成份時，其較佳之存在量為約2-30%重量對體積比(w/v)；尤佳為8-10% w/v。其他分離成份亦可以約2-30% w/v之濃度被應用。聚合性分離成份可被浸漬於或被包埋於基體中。某些水可溶鹽類亦可影響此種分離。鹽類中，適合用於分離血液成份者為檸檬酸鹽、甲酸鹽及硫酸鹽，還有某些酸類，如胺基酸、檸檬酸、植酸及順丁烯二酸（參見，例如1971年1月5日頒給M.C.Fetter之美國專利案3,552,928）。包含分離成份的優點為，隨著諸如紅血球細胞之固體實質地由生物液體中移除，在測試位置上會有較少的背景色來模糊由測試試劑所產生之顏色變化。

其他成份亦可被包埋於基體中以促進試劑條之著色及可讀性，且保持基體的均一及完整性。例如，測試試劑可包括鹽類及／或緩衝劑，以幫助基體中染料的分離。此種緩衝劑可包含例如檸檬酸，以約0.01M至約1.0M（較佳為約

五、發明說明 (15)

0.1M) 存在於溶液中。其他酸性緩衝劑亦可被使用。

使基體為親水性之化合物或可作用為安定劑之化合物，如水解蛋白質，亦可被使用。此種化合物包括（但非限制於）例如牛血清白蛋白、多肽及以CROTEIN SPA為名販售之低分子量蛋白質（CRODA公司，紐約，N.Y.）。此種化合物所使用的濃度，例如在約1.0mg/mL至約100.0mg/mL。若為CROTEIN，則以約20mg/mL為較佳。

其他的安定劑及防腐劑亦可被包含於基體的塗覆物中。例如四醋化乙二胺(EDTA)、五醋化二乙三胺(DTPA)及相關的化合物可在濃度(例如)約0.01mg/mL至約10mg/mL下被使用。保存劑之目的在於幫助安定抑制劑。

某些指示劑(如BPR)具有在基體中轉移之非所欲的傾向。當使用此種指示劑時，可包含一離子成對劑以避免此種轉移。例如，以POLYQUART(H)(Henkel公司，Ambler，PA)之名販售之聚乙二醇衍生物，特別能促進指示劑和其他基體替代物之間的離子成對。

當分析物之存在係由顏色形成（如MBTHSB-ANS）所指示時，可加入表面活性劑使顏色鮮明和提高與周遭的對比。

有機溶劑亦可被用於本發明之實施例中，且可被包括在基體之測試試劑的配方中，當然先決條件為它們可與基體及測試試劑組成物相容。可能適合的有機溶劑包括氯仿、丙酮、醇類、二氯甲烷、二乙醚和石油醚類、乙腈及彼等之混合物。於本發明之實施中，水中含70%乙醇尤佳。

被塗覆於或被浸漬於基體中的測試試劑並非均勻地覆在

五、發明說明 (16)

試條表面，該試劑反而較好是被塗抹在連續平行試條的基體上或"結果區段"上，其中鄰接"結果區段"之組成物增加（逐漸地）抑制劑濃度。因此，每個連續的區段需要（逐漸地）一較大的葡萄糖濃度於樣品中以引起此區段變色。

基體的定時器區段被塗覆或浸漬有一種組成物，其包括測試試劑，除此以外還有葡萄糖和不與試劑中之酵素反應的醛糖。添加葡萄糖係為使定時器區段於其被添加到試條之水性樣品所水合時，能經時改變顏色。添加醛糖係為安定定時器區段。雖然我們並不希望受制於任何特別的理論，但基於許多單醣與蛋白質的胺基形成安定之共價複合物的事實，我們相信對醛糖的需求會升高。因此，在定時器中之某些葡萄糖能與測試試劑中之低分子量蛋白質，或許是與酵素，反應而形成複合物。此方法（"糖苷基化"）係以兩步驟、非酵素性地進行。第一步驟（其為相當可逆的）為希夫鹼的形成；若為醛糖，則為醛亞胺。經過時間之後，其於不可逆的反應中轉變成高度安定的酮胺型。

為避免葡萄糖在糖苷基化反應中被消耗掉（我們相信此係於定時器中發生），我們採用作為安定劑的是一種糖，其為一種較有效的糖苷予體且可順利地與葡萄糖競爭蛋白質的胺基；很顯然的，其亦須使用不會與葡萄糖氧化酶反應的糖。

於Science, 213, 222 (1981年7月10日)中，Bunn和Higgins發現單醣類之糖苷化效率與溶液中呈直鏈醛組態之糖的比例有關。表1（採自他們的文章），提供許多醛

五、發明說明 (17)

糖 (其等全部不與葡萄糖氧化酶反應) 與血紅蛋白之反應速率(K)的列表。大體而言，K 值應儘可能地高，且在任何情況中為高於葡萄糖之K 值。事實上，安定劑必須較葡萄糖更容易與此部份(moieties)反應 (否則該部份即與葡萄糖反應並用掉葡萄糖)。因此，足夠的安定劑應存在，得與所有這些部份反應 (亦就是說安定劑至少與此部份等莫耳)。較佳地，可添加過量的安定劑，特別是若其K 值僅稍高於葡萄糖之K 值者。於該情況中，沒有可查覺的葡萄糖消耗。依上述標準，甘露糖和半乳糖業經測定為適合的安定劑，因為他們便宜且容易取得，故為較佳的。

表 1

醛 糖	反應速率(K)
D-葡萄糖	0.60
D-甘露糖	3.2
6-去氧-L-甘露糖(海藻糖)	0.7
D-阿洛糖	1.4
D-半乳糖	2.8
D-木糖	2.9
D-塔羅糖	5.2
D-阿卓糖	5.0
D-核糖	10.0
D-艾杜糖	55
5,6-二-O-甲基-D-葡萄糖	104

測試試劑之目的在於對葡萄糖起反應而改變顏色。因此

五、發明說明 (18)

，於定時器中組合葡萄糖與試劑而不引起顏色改變，需要一些注意。超過定時功能所需之抑制劑用量必須存在以補償此效應。於含葡萄糖之溶液被塗抹之後，定時器區段被乾燥的速率係受到控制。事實上，薄膜係先被含有緩衝劑和酵素之溶液塗覆，且乾燥該塗覆物以形成第一層；然後，第二種塗覆物通過塗抹一含有指示劑、抑制劑、葡萄糖和醛糖之溶液而形成第二層。變數，諸如覆網(web)速度、烘箱溫度及流速、及所沉積塗覆溶液的量，均為事先固定，且可視抑制劑及／或葡萄糖濃度作適度調整。取代被塗抹作為塗覆物之第二層，另一種選擇（非優先選擇的）涉及在分開的網狀物上形成第二塗覆物，然後將其積層在第一層上。

當一樣品被塗抹至試條上時，定時器區段組成物的水合容許形成顏色的反應進行。定時器區段改變顏色所需的時間係由溫度及測試試劑的特性，特別是抑制劑濃度、葡萄糖濃度、及水合度和氧擴散速率所決定。

定時器變色的時間可視樣品中葡萄糖的濃度而定，或可能地，無關該濃度。若組合相當過量的葡萄糖於定時器中，則時間大體上與樣品之葡萄糖濃度無關。若組合較少量的葡萄糖於定時器中，則時間即與樣品之葡萄糖有關；亦即，若樣品中之葡萄糖濃度愈大，則定時器變色愈快。較佳地，在定時器塗覆溶液中之葡萄糖濃度為大於約1500 mg/dL，其使定時器實質上與在所欲範圍約40-400mg/dL及在此範圍外之樣品的葡萄糖濃度無關。故定時器組成物與

五、發明說明 (19)

具有最高抑制劑濃度之結果區段（其相當於最高葡萄糖讀數）相比較，應包括至少一樣多，或更多，的抑制劑。

定時器亦提供一重要的品質控制功能，即當試條已受到曝露於濕氣所污染時，可將其顯現出來。試條必須保持乾燥直到其被使用時，這是因為轉變葡萄糖為過氧化氫的成分（通常為酵素）在曝露於濕氣時容易分解。

因此，若試條過早曝露於濕氣，其將變得不可靠。但試條之不可靠度對一使用者而言並不是明顯的，所以使用者可能會使用此一試條而獲得錯誤的結果。然而，若試條包括一定時器區段，則曝露於濕氣會引起定時器變色，其將警告使用者試條有害的事實。

現將參照圖式進一步描述本發明。圖 1 顯示本發明之一基體 10，用以測定生物液體中分析物的量。雖然係以弓形的位置顯示，但基體 10 為可撓性的，其當被使用時，通常為平面狀態。基體包括一樣品面 12，其為生物液體樣品所塗覆之處；及一測試面 14，於此處或接近此處之顏色變化乃指示分析物的存在。顏色改變係由分析物與浸漬於孔洞 16 中之試劑的交互作用所致。較佳地，為測量血液中葡萄糖的濃度，孔洞尺寸在接近樣品面 12 為相當大的，而在接近測試面 14 時則縮小尺寸。孔洞尺寸的梯度係用來捕捉接近樣品面 12 之紅血球細胞，致使他們的顏色不會干擾看見指示分析物存在之顏色變化的能力。

四個結果區段 a，b，c 及 d 係示意表示。每個連續的區段都具有較前一個區段逐漸增多的抑制劑。因此，舉例來說

五、發明說明 (20)

，如果一樣品引起區段a，b及c 變色，而d 不變（如圖 1 所示），此表示在該樣品中之葡萄糖濃度至少和用來消耗區段c 之抑制劑的量所需要者一樣大，但不足以克服區段d 中之抑制劑。一旦結果區段被校準，該結果即產生葡萄糖濃度之定量測定。區段t（定時器）除了被浸漬於結果區段中之測試試劑外，尚結合有高濃度之葡萄糖。區段t 中之抑制劑至少與結果區段一樣多，且消耗區段t 中之抑制劑所需要的時間至少相等於消耗在其他區段中之抑制劑所需要的時間。因此，當區段t 產生顏色改變時（如圖 1 所示），已經經過足夠的時間，以引起所有結果區段（彼等之抑制劑濃度夠低足以被樣品中之葡萄糖濃度所消耗）之顏色變化，並可作出正確的測定而無進一步的延遲。

於一真正的試條中，圖 1 之薄膜基體被夾於兩個表面片材（其可為此技藝中所習知之任何適當的熱塑性薄膜）之間。圖 2 和 3 各別為試條20上之樣品面22和測試面24之平面圖。使用時，血液樣品被塗抹至在樣品面22上之孔26。樣品藉由毛細管作用縱向地向試條之頂部及底部展開且滲透基體而至測試面24上。任意的孔洞28促使樣品沿著試條展開。樣品通過任意透明窗口30而出現，證實了充份的樣品已被提供用於測量。在測試面24上之指示圓圈讓顏色形成反應所需要的氧進入，且被標示以顯示血糖之濃度。當測試進行時，若樣品中之血糖濃度符合或超過相當於該圓圈的含量，則在測試面24上之指示圓圈即依序改變顏色。由此，圖 3 所述之結果指出樣品之葡萄糖濃度為至少120

五、發明說明 (21)

mg/dL，但低於150mg/dL。在定時器圓圈32變色之後的任一時間可讀取數值。注意在圖中藉與葡萄糖反應所造成的顏色變化係由白色到有顏色的。然而，此系統可另外以一指示劑染料來操作，該染料可被葡萄糖誘導的氧化反應所破壞，而有對應之由有色至白色的顏色變化。

為更加瞭解本發明，下列實施例進一步說明各種本發明之具體例，而實施例並非意欲在任何方面成為限制。

實施例1-BPR指示劑

製備下面的溶液：

酵素溶液

蒸餾水	83.5克	0.2M烏頭酸	27.0克
1%(w/w)EDTA Na ₂	23.8克	葡萄糖氧化酶	165,000U
烏頭酸	6.0克	HRPO	340,000U
NaOH (固體)	2.2克		
CROTEIN SPA	4.2克		
咪唑	0.6克		
甘露糖醇	3.0克		
5%(w/w)SURFACTOL Q1	3.0克		
調整PH至4.80			
乙醇	40.0克		
PPG-410	5.6克		
酵素溶液	28.0克		

Memtec BTSH 55薄膜被浸泡塗覆於此溶液中，且以玻璃桿將過量物刮除。將經塗覆的薄膜在一浮動乾燥機中，於180°F適度氣流下乾燥，使得網狀物在20秒內為大體上乾

五、發明說明 (22)

燥的。網狀物被捲繞以準備作第二層，描述如下。

製備下列的溶液：

抗壞血酸鹽(抑制劑)儲備溶液		稀釋劑
蒸餾水	190 克	370 克
1%EDTA Na ₂	55 克	107 克
BPR	0.36克	0.71克
POLYQUART® H	6 克	11.8 克
PPG-410	14.2 克	27.8 克
抗壞血酸	1.37克	--
乙醇	243 克	477 克

定時器溶液

稀釋劑 (每一上述配方)	120克
抗壞血酸	0.885克
葡萄糖溶液*	17.25 克

* 葡萄糖溶液為16,000mg/dL之葡萄糖水溶液，使其變旋24小時，冷藏貯存。

製備下面儲備溶液的稀釋劑：

0.0405:1, 0.108:1, 0.236:1, 0.369:1, 0.569:1, 1.260:1。抑制劑濃度之逐漸增加係相當於結果圓圈所報告之漸大葡萄糖濃度。這些溶液，連同定時器溶液，並排地被塗覆至裝有酵素之薄膜的大孔面上，致使每平方毫米的薄膜沉澱有大約 1×10^{-4} 毫升。薄膜在遭遇到如上述用於酵素塗覆步驟相同的乾燥條件之前，被濕潤大約15秒。結果顯示定時器在約70秒內反應，而約95%的結果落在64

五、發明說明 (23)

和79秒之間。

實施例 2 — MBTHSB-ANS指示劑

製備下面的溶液：

HPLC水	1500毫升
檸檬酸	16.92克
檸檬酸鈉	20.88克
甘露糖醇	15 克
EDTA二鈉	1.26 克
GANTREZ S95	6.75 克
Crotein SPA	36 克
葡萄糖氧化酶	1.69MU
HRPO	1.5MU
CARBOPOL 910*	75毫升
檸檬酸二鈉	225毫升

* 11%乙腈溶液

** 0.1M, pH 5.0

於一水槽中塗覆Memtec BTS 30，使大孔表面接觸塗覆溶液；如同前述，以玻璃桿將過量溶液除去。如實施例 1 將薄膜乾燥及捲繞。

製備下面的溶液：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 (24)

溶液 A (指示劑)

70%(v/v)乙醇 2819毫升

MBTHSB 2.98克

(NH₄)ANS 25.83克

溶液 B 205毫升

2% DTPA 51.25毫升

溶液 B (濕潤劑)

MAPHOS® 60A 41克

70%(v/v)乙醇 205毫升

溶液 C (抗壞血酸鹽儲液)

水 115毫升

抗壞血酸 4.58克

乙醇 267毫升

溶液 D (定時器)

水 53毫升

抗壞血酸 8.75克

乙醇 123毫升

以70% EtOH使體積

成爲 175毫升

葡萄糖溶液 40.5毫升

對每種抑制劑溶液，溶液 A 之體積固定在263毫升。對不同的結果圓圈而言，70% EtOH：溶液 C 之比例係由58.9至0.200作變動，致使被加至溶液 A 之70% EtOH+溶液 C 之體積對所有的抑制劑溶液為87.5毫升。在每個溶液中僅抑制劑的濃度可有效地被改變。包含漸增抑制劑濃度的溶液及定時器溶液（溶液 D）並排地被塗覆至薄膜的大孔面上。調整沉澱速率使每平方毫米薄膜達到 $\sim 8 \times 10^{-5}$ 毫升的抑制劑。如上述將薄膜乾燥，但在塗覆和乾燥之間延遲了1.6分鐘。結果顯示定時器在約60秒內反應，而血液之血液容積由30到55%或葡萄糖由78至420 mg/dL者有些許的

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂

五、發明說明 (25)

影響。

實施例 3－增進的定時器安定性

將一各向異性聚砜薄膜，Memtec BTS-30，以試劑 A 塗覆。形成的薄膜在一維持在56℃之氣流循環烘箱中乾燥10分鐘。然後將薄膜以試劑 B 塗覆且在上述條件下乾燥。然後將薄膜形成條狀供試驗。

試 劑 A

	重量(克)
水	3963
檸檬酸	45.12
檸檬酸三鈉	55.68
甘露糖醇	40
EDTA	3.36
GANTREZ S95	18
CROTEIN SPA	57.72
葡萄糖氧化酶 (126 U/mg)	37.6
辣根過氧化酶 (410 U/mg)	12.25
CARBOPOL 910於MeCN中(0.55mg/5ml)	177.18
0.1M 檸檬酸二鈉	598.3

試 劑 B

染料溶液：

乙醇 22.5毫升

五、發明說明 (26)

水 2.5毫升
MBTHSB 36.3毫克
(NH₄)ANS 472.5毫克

葡萄糖溶液：

- (1)16,000mg/dL D-葡萄糖於水中
- (2)16,000mg/dL D-葡萄糖 + 16,000 mg/dL半乳糖水溶液
- (3)16,000mg/dL D-葡萄糖 + 16,000 mg/dL核糖水溶液
- (4)16,000mg/dL D-葡萄糖 + 16,000 mg/dL甘露糖水溶液

	葡萄糖 (控制組)	葡萄糖+ 半乳糖	葡萄糖+ 核糖	葡萄糖+ 甘露糖
染料溶液	5 毫升	5 毫升	5 毫升	5 毫升
乙醇	4.5毫升	4.5毫升	4.5毫升	4.5毫升
水	0.06毫升	0.06毫升	0.06毫升	0.06毫升
溶液(1)	0.44毫升	---	---	---
溶液(2)	---	0.44毫升	---	---
溶液(3)	---	---	0.44毫升	---
溶液(4)	---	---	---	0.44毫升
抗壞血酸	40毫克	40毫克	40毫克	40毫克

全部四種組成物的試條被分成兩組貯存：

- 一組被貯存於56℃達7 天-加速老化
- 另一組被貯存於5℃達7 天-控制組

在7 天之後，以包含100 mg/dL葡萄糖、42.5%血球容積

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (27)

之全血試驗試條。

僅包含葡萄糖之"老化"試條較諸"新鮮"的試條(即貯存於5°C者)顯示需更長的時間產生濃顏色("反應終時")

。包括醛糖之試條顯示明顯較少的反應終時的延伸。

表 2 顯示此結果。

表 2

糖	反應終時的差異 (56°C vs. 5°C)
葡萄糖(控制組)	28 秒
半乳糖／葡萄糖	16 秒
核糖／葡萄糖	14 秒
甘露糖／葡萄糖	12 秒

在上述說明及實施例中，出現下列的商標：

CARBOPOL 910聚丙烯酸聚合物(B.F. Goodrich)

CROTEIN SPA水解膠原蛋白(Croda公司)

GANTREZ 595聚(甲基乙烯醚／順丁烯二酸)(國際特殊產品)

MAPHOS 60A複合有機磷酸酯(PPG工業)

POLYQUART H聚乙二醇-15牛脂多元胺(Henkel加拿大有限公司)

SURFACTOL Q1乙氧基化蓖麻油(Cas Chem公司)

熟悉此項技術者應了解前面的說明和實施例係用來說明本發明的實施而決非用以限制本發明。本文所提出之細節可在未偏離本發明之範疇與精神下加以變化。

四、中文發明摘要(發明之名稱:目測試條用之化學定時器)

一種直讀式試劑試條用的化學定時器，其在生物液體被塗抹至試條之後一預定時間會改變顏色。此試條測定液體中分析物的濃度。定時器為一種乾燥塗覆物，含有指示劑、一種含酵素的試劑（其當被水合時，能與葡萄糖反應而改變指示劑的顏色）、一種抑制指示劑顏色變化的抑制劑、葡萄糖、及視需要，一種實質上不與試劑中酵素反應之醛糖。較佳地，試劑和葡萄糖係以過量存在於塗覆物中，且定時器顏色變化所需的時間可為抑制劑濃度所控制。醛糖提供定時器之安定性，大概係藉由在乾燥態時干擾葡萄糖之糖苷化反應所致。

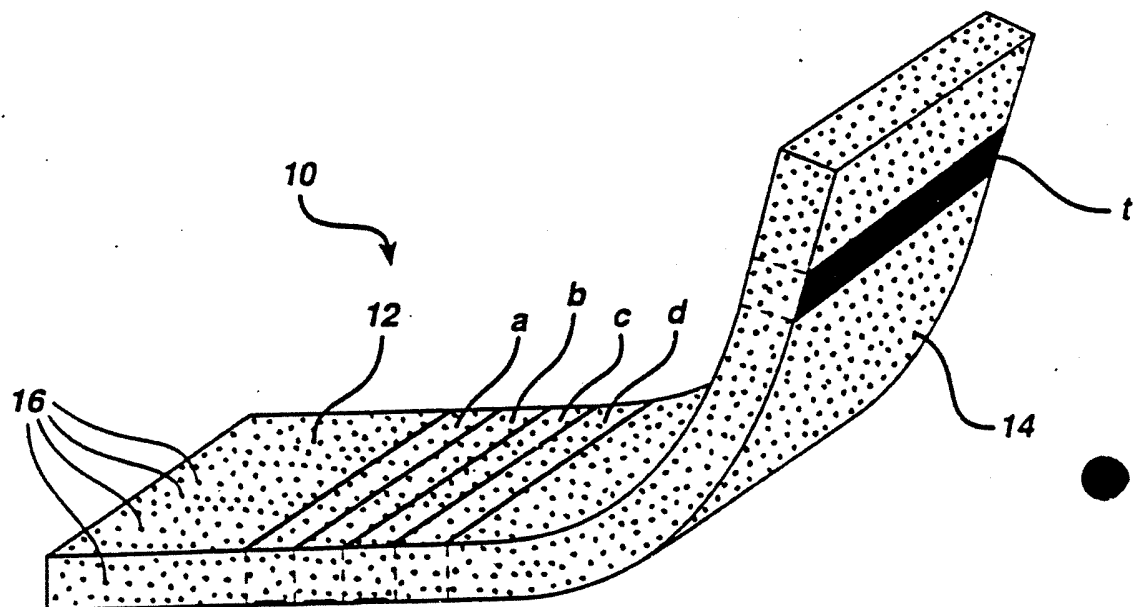
英文發明摘要(發明之名稱:Chemical timer for a visual test strip)

A chemical timer for a direct-reading reagent test strip changes color a predetermined time after a biological fluid is applied to the strip. The strip measures the concentration of an analyte in the fluid. The timer is a dry coating of an indicator, an enzyme-containing reagent that when hydrated can react with glucose to change the color of the indicator, an inhibitor to inhibit the change in color of the indicator, glucose, and optionally, an aldose that does not react with the enzyme in the reagent. Preferably, the reagent and glucose are present in excess in the coating, and the time it takes for the timer color to change can be controlled by the inhibitor concentration. The aldose provides timer stability, probably by interfering with glycosylation by the glucose in the dry state.

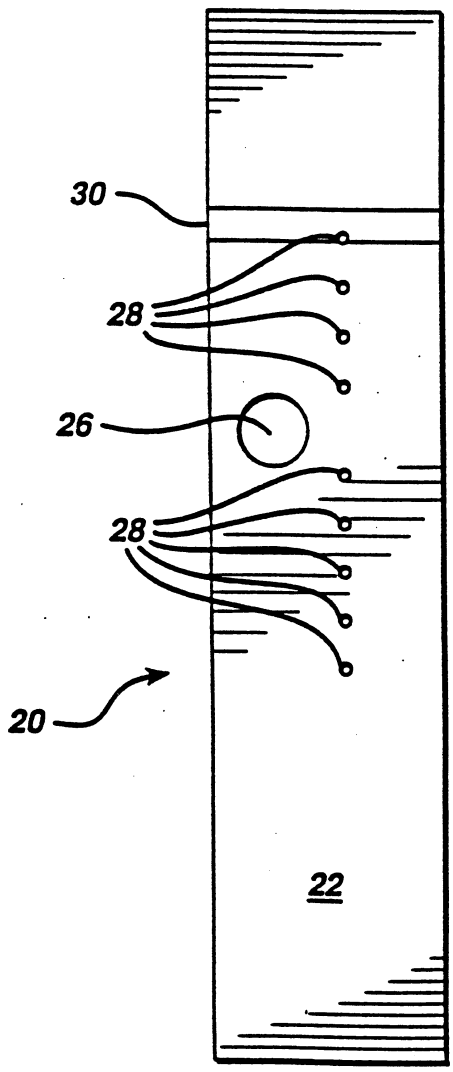




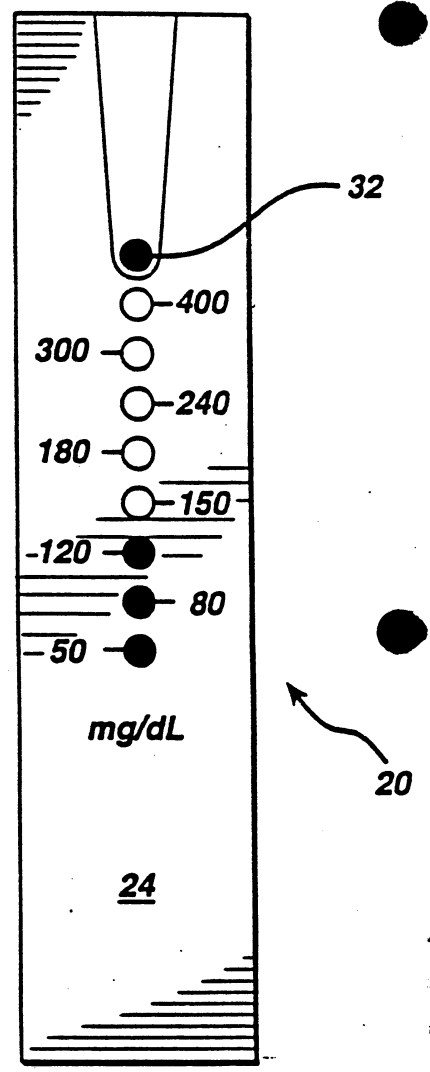
1



 **2**



 **3**



六、申請專利範圍

91. 4. 26
年 月 日 修正
補充

專利申請案第 86112792 號
ROC Patent Appln. No. 86112792
修正之申請專利範圍中文本-附件(一)
Amended Claims in Chinese – Encl. (I)
(民國 91 年 4 月 26 日 送呈)
(Submitted on April 26, 2002)

1. 一種供測定被塗至試條上之血液中葡萄糖濃度之目讀式試劑試條用之化學定時器，此定時器包括以下之乾燥塗覆物：

- a) 一種有顏色的指示劑組成物，
- b) 一種試劑，其當被水合時，能與葡萄糖反應而改變指示劑的顏色，且包含葡萄糖氧化酶，
- c) 一種抑制劑，用以抑制指示劑的顏色變化，及
- d) 葡萄糖；

其中在乾燥塗覆物中之抑制劑和葡萄糖濃度係經選擇，致使葡萄糖在血液被塗抹至試條之後，經過一預定時間與試劑反應而改變指示劑的顏色；該指示劑係選自 (a)3-甲基-2-苯駢噻唑啉酮脞氫氯化物(MBT)與 3,3-二甲基胺基苯甲酸(DMAB)之組合；(b)MBTB 與 3,5-二氫-2-羥苯-磺酸(DCHBS)之組合；(c)4-胺基安替吡啉(4-AAP)和 5-氧-1-(p-磺苯基)-2-吡啶啉-3-羧酸(OPSP)；(d)4-AAP 和 N-(間-甲苯)-二乙醇胺(NDA)；(e)2,2'-次偶氮基-二(3-乙基苯駢噻唑啉)磺酸(ABTS)；(f)4-AAP 和 4-甲氧苯酚；(g)苯三酚紅(PGR)；(h)溴苯三酚紅(BPR)；(i)酸綠 25(AG)；或(j)[3-甲基-2-苯駢噻唑啉酮脞]N-磺醯基苯磺酸單鈉(MBTHSB)與 8-苯胺基-1-萘磺酸銨(ANS)之組

六、申請專利範圍

- 合；及該抑制劑為抗壞血酸。
2. 根據申請專利範圍第 1 項之定時器，其中該染料為 MBTHSB-ANS。
 3. 一種供測定被塗至試條上之生物液體中分析物濃度之目讀式試劑試條，其包含根據申請專利範圍第 1 項之化學定時器。
 4. 一種製備根據申請專利範圍第 1 項之化學定時器的方法，包含下列步驟：
 - a) 將一種含試劑(其當被水合時，能與葡萄糖反應而形成反應產物)的溶液塗覆至多孔膜上，其中該試劑包含葡萄糖氧化酶；
 - b) 乾燥塗覆物以形成第一層；
 - c) 將第二層，其包含：
 - (i) 葡萄糖，
 - (ii) 一種可與反應產物反應而引起顏色改變的指示劑，及
 - (iii) 一種可抑制指示劑顏色變化之抑制劑，塗抹至第一層上。
 5. 一種測定生物液體中葡萄糖濃度的方法，包括下列步驟：
 - a) 塗抹液體至根據申請專利範圍第 3 項之試條上，該試條包含：
 - (i) 多數個結果區段，其中每個區段當與含有至少一種預定量葡萄糖(不同於引起其他區段顏色改變

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂線

六、申請專利範圍

- 之葡萄糖的量)之液體接觸時，會改變顏色；及
- (ii) 一定時器區段，其在一段時間之後(此期間實質上與液體中葡萄糖的量無關)，會改變顏色；及
- b) 當定時器區段改變顏色時，藉觀察最後變色之結果區段來測定葡萄糖濃度。
6. 一種供測定被塗至試條上之血液中分析物濃度之目測試條用之化學定時器，此定時器包括以下之乾燥塗覆物：
- a) 一種有顏色的指示劑組成物，
 - b) 一種含有酵素的試劑，其當被水合時，能與葡萄糖反應而改變指示劑的顏色，其中該試劑中之酵素包含一種氧化酶酵素。
 - c) 一種抑制劑，用以抑制指示劑的顏色變化，
 - d) 葡萄糖；及
 - e) 一種與試劑中酵素反應小於 10% 葡萄糖反應性的醛糖；其中指示劑係選自(a)3-甲基-2-苯駢噻唑啉酮脬氫氯化物(MBTH)與 3,3-二甲基胺基苯甲酸(DMAB)之組合；(b)MBTB 與 3,5-二氫-2-羥苯-磺酸(DCHBS)之組合；(c)4-胺基安替吡啉(4-AAP)和 5-氧-1-(p-磺苯基)-2-吡啶-3-羧酸(OPSP)；(d)4-AAP 和 N-(間-甲苯)-二乙醇胺(NDA)；(e)2,2'-次偶氮基-二(3-乙基苯駢噻唑啉)磺酸(ABTS)；(f)4-AAP 和 4-甲氧苯酚；(g)苯三酚紅(PGR)；(h)溴苯三酚紅(BPR)；(i)酸綠 25(AG)；或(j)[3-甲基-2-苯駢噻唑啉酮脬]N-磺醯基苯磺酸單鈉(MBTHSB)與 8-苯胺基-1-萘磺酸銨(ANS)之

六、申請專利範圍

組合；及該抑制劑為抗壞血酸。

7. 根據申請專利範圍第 6 項之定時器，其中醛糖係選自包括甘露糖和半乳糖之組群。
8. 根據申請專利範圍第 6 項之定時器，其中該分析物為葡萄糖。
9. 根據申請專利範圍第 6 項之定時器，其中該指示劑為 MBTHSB-ANS。
10. 根據申請專利範圍第 6 項之定時器，其中該氧化酶酵素為葡萄糖氧化酶。
11. 一種供測定被塗抹至試條上之生物液體中分析物濃度之目測試條，其包含根據申請專利範圍第 6 項之化學定時器。
12. 一種製備根據申請專利範圍第 6 項之化學定時器的方法，包含下列步驟：
 - a) 將一種含酵素試劑(其當被水合時，能與葡萄糖反應而形成反應產物)的溶液塗覆至多孔膜上，其中該酵素包含葡萄糖氧化酶；
 - b) 乾燥塗覆物以形成第一層；及
 - c) 將第二層，其包含：
 - i) 一種可與反應產物反應以引起顏色改變的指示劑；
 - ii) 一種抑制劑，以抑制指示劑顏色的變化，
 - iii) 葡萄糖，及
 - iv) 一種與試劑中酵素反應小於 10% 葡萄糖反應性

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

六、申請專利範圍

的醛糖，

塗抹至第一層上。

13. 根據申請專利範圍第 12 項之方法，其中該分析物為葡萄糖。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線