



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0026731

(51)⁷ C07K 14/605

(13) B

(21) 1-2015-04316

(22) 27/05/2014

(86) PCT/JP2014/002772 27/05/2014

(87) WO 2014/192284 A1 04/12/2014

(30) 2013-111893 28/05/2013 JP

(45) 25/12/2020 393

(43) 25/03/2016 336A

(73) Takeda Pharmaceutical Company Limited (JP)

1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku, Osaka-shi, Osaka 541-0045 Japan

(72) ASAMI, Taiji (JP); NIIDA, Ayumu (JP).

(74) Công ty TNHH một thành viên Sở hữu trí tuệ VCCI (VCCI-IP CO.,LTD)

(54) PEPTIT, THUỐC VÀ CHẾ PHẨM CHỨA PEPTIT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến peptit có hoạt tính hoạt hóa đối với thụ thể GLP-1 và thụ thể GIP. Cụ thể là, sáng chế đề cập đến peptit chứa trình tự một phần có công thức (I) hoặc muối của nó, thuốc và chế phẩm chứa peptit này.

P¹-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-A11-A12-A13-Leu-Asp-A16-A17-Ala-Gln-A20-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-A29

(I)

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến peptit có hoạt tính hoạt hóa đối với thụ thể GLP-1 và thụ thể GIP, thuốc và chế phẩm chứa peptit này và sử dụng peptit này làm thuốc.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Cả hai peptit-1 giống glucagon (GLP-1) và polypeptit kích thích insulin phụ thuộc glucoza (GIP) là các peptit được gọi là incretin. GLP-1 được tiết ra từ các tế bào ruột non L và GIP được tiết ra từ tế bào K.

GLP-1 hoạt động qua thụ thể GLP-1 và được biết là có hoạt tính kích thích insulin phụ thuộc glucoza và hoạt tính ức chế thức ăn. Mặt khác, GIP được biết là có hoạt tính kích thích insulin phụ thuộc glucoza qua thụ thể GIP, cho dù sự ảnh hưởng của nó đến thức ăn là chưa rõ ràng.

Việc cùng sử dụng liraglutit chủ vận thụ thể GLP-1 và N-Ac-GIP chủ vận thụ thể GIP đã được báo cáo là thúc đẩy hoạt tính làm tăng dung nạp glucoza và hoạt tính làm giảm thể trọng nhiều hơn là sử dụng riêng liraglutit (tài liệu phi sáng chế 1). Ngoài ra, peptit của đồng chủ vận thụ thể GLP-1/thụ thể GIP được báo cáo là có hoạt tính giảm đường huyết và hoạt tính làm giảm thể trọng hơn so với peptit của chủ vận thụ thể GLP-1 đơn lẻ (tài liệu sáng chế 1).

Đã có nhiều nghiên cứu về peptit có hoạt tính đồng chủ vận thụ thể GLP-1/thụ thể GIP hoặc hoạt tính ba chủ vận glucagon/thụ thể GLP-1/thụ thể GIP và đã phát triển các peptit này dưới dạng thuốc chữa bệnh béo phì hoặc thuốc điều trị bệnh đái tháo đường, trên cơ sở cấu trúc glucagon tự nhiên, GIP, hoặc GLP-1 (các tài liệu sáng chế từ 1 đến 8). Tuy nhiên không có tài liệu nào bộc lộ peptit theo sáng chế.

Danh sách tài liệu trích dẫn

Tài liệu sáng chế

Tài liệu sáng chế 1: WO2010/011439

Tài liệu sáng chế 2: WO2010/148089

Tài liệu sáng chế 3: WO2011/119657

Tài liệu sáng chế 4: W02012/088379

Tài liệu sáng chế 5: W02012/167744

Tài liệu sáng chế 6: WO2013/164483

Tài liệu sáng chế 7: WO2013/192129

Tài liệu sáng chế 8: WO2013/192130

Tài liệu phi sáng chế

Tài liệu phi sáng chế 1: Clinical Science 121, 107-117 (2011)

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật cần được giải quyết

Mục đích của sáng chế là đề xuất peptit có hoạt tính đồng chủ vận thụ thể GLP-1/thụ thể GIP, thuốc và chế phẩm chứa peptit này. Peptit theo sáng chế hữu ích dùng làm thuốc phòng hoặc điều trị bệnh béo phì và tương tự.

Cách thức giải quyết vấn đề

Các tác giả sáng chế đã tiến hành nghiên cứu chuyên sâu về peptit mới có hoạt tính đồng chủ vận thụ thể GLP-1/thụ thể GIP mạnh, và hữu ích làm thuốc để phòng hoặc điều trị bệnh béo phì và tương tự, và kết quả đã phát hiện ra peptit như được xác định ở điểm 1 có hoạt tính đồng chủ vận thụ thể GLP-1/thụ thể GIP mạnh, từ đó đã hoàn thành sáng chế.

Do đó, sáng chế đề cập đến:

[1] Peptit có công thức (I):

P¹-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-A11-A12-A13-Leu-Asp-A16-A17-Ala-Gln-A20-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-A29 (SEQ ID NO:1)

trong đó:

P¹ là nhóm có công thức:

$-R^{A1}$,
 $-CO-R^{A1}$,
 $-CO-OR^{A1}$,
 $-CO-COR^{A1}$,
 $-SO-R^{A1}$,
 $-SO_2-R^{A1}$,
 $-SO_2-OR^{A1}$,
 $-CO-NR^{A2}R^{A3}$,
 $-SO_2-NR^{A2}R^{A3}$, hoặc
 $-C(=NR^{A1})-NR^{A2}R^{A3}$

trong đó mỗi R^{A1} , R^{A2} và R^{A3} độc lập là nguyên tử hydro, nhóm hydrocarbon tùy ý được thế, hoặc nhóm dị vòng tùy ý được thế;

A11 là Aib hoặc Ala;

A12 là Ala, Ile, Lys, Phe hoặc Pya(4);

A13 là Aib, Cha, Leu, α MePhe hoặc α -MeTyr;

A16 là Lys hoặc Ser;

A17 là Gln hoặc Ile;

A20 là Ala hoặc Ser; và

A29 là Gln hoặc Gly; và có

trình tự axit amin là Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser- hoặc Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys- ở phía đầu tận cùng C của A29;

hoặc muối của nó.

hoặc peptit được chọn từ H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Lys-Tyr-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ hoặc muối của nó,

H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Lys-Tyr-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Gln-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ hoặc muối của nó, và

H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Lys-Tyr-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Gln-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-NH₂ hoặc muối của nó (dưới đây đôi khi được viết tắt là hợp chất (I));

[2] Peptit theo mục [1] nêu trên hoặc muối của nó, trong đó P¹ là nguyên tử hydro;

[3] Peptit theo mục [1] nêu trên hoặc muối của nó, trong đó A11 là Aib;

[4] Peptit theo mục [1] nêu trên hoặc muối của nó, trong đó A12 là Ile;

[5] Peptit theo mục [1] nêu trên hoặc muối của nó, trong đó A13 là Aib;

[6] Peptit theo mục [1] nêu trên hoặc muối của nó, trong đó A16 là Lys;

[7] Peptit theo mục [1] nêu trên hoặc muối của nó, trong đó A17 là Gln;

[8] Peptit theo mục [1] nêu trên hoặc muối của nó, trong đó A20 là Ala;

[9] Peptit theo mục [1] nêu trên hoặc muối của nó, trong đó A29 là Gly;

[10] Peptit theo mục [1] nêu trên hoặc muối của nó, có trình tự axit amin được thể hiện bởi Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys- ở phía đầu tận cùng C của A29;

[11] Peptit theo mục [1] nêu trên hoặc muối của nó, trong đó:

P¹ là nguyên tử hydro;

A11 là Aib;

A12 là Ile;

A13 là Aib;

A16 là Lys;

A17 là Gln;

A20 là Ala;

A29 là Gly; và

peptit có trình tự axit amin được thể hiện bởi Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys- ở phía đầu tận cùng C của A29;

[12] Peptit theo mục [1] nêu trên mà là H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Lys-Tyr-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ hoặc muối của nó;

[13] Peptit theo mục [1] nêu trên mà là H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ hoặc muối của nó;

[14] Peptit theo mục [1] nêu trên mà là H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Lys-Tyr-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Gln-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ hoặc muối của nó;

[15] Peptit theo mục [1] nêu trên mà là H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Lys-Tyr-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Gln-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-NH₂ hoặc muối của nó;

[16] Thuốc chứa peptit theo mục [1] nêu trên hoặc muối của nó;

[17] Thuốc theo mục [16] nêu trên, để sử dụng trong phòng hoặc điều trị bệnh béo phì hoặc đái tháo đường;

[18] Chế phẩm chứa peptit theo mục [1] nêu trên hoặc muối của nó và thuốc đồng phát;

[19] Peptit theo mục [1] nêu trên hoặc muối của nó để sử dụng trong phòng hoặc điều trị bệnh béo phì hoặc đái tháo đường.

Hiệu quả của sáng chế

Hợp chất (I) có hoạt tính đồng chủ vận thụ thể GLP-1/thụ thể GIP mạnh, và có hoạt tính làm giảm thể trọng và ức chế thức ăn mạnh *in vivo*. Ngoài ra, hợp chất (I) có độ rủi ro thấp về hoạt tính làm giảm đường huyết, và cũng hữu ích trong việc điều trị bệnh béo phì có liên quan đến đái tháo đường và tương tự, do hoạt tính chủ vận thụ thể glucagon thấp của nó. Hơn nữa, hợp chất (I) có khả năng hòa tan tuyệt vời, và cũng thuận lợi là hợp chất có thể dễ dàng được bào chế làm thuốc.

Mô tả chi tiết sáng chế

Định nghĩa của mỗi phần tử thể được sử dụng trong bản mô tả được mô tả chi tiết dưới đây. Trừ phi được quy định khác, mỗi phần tử thể có định nghĩa dưới đây.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nguyên tử halogen” gồm flo, clo, brom và i-ốt.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C₁₋₆ alkyl” gồm metyl, etyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, sec-butyl, tert-butyl, pentyl, isopentyl, neopentyl, 1-etylpropyl, hexyl, isohexyl, 1,1-dimetylbutyl, 2,2-dimetylbutyl, 3,3-dimetylbutyl và 2-etylbutyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C₁₋₆ alkyl tùy ý được halogen hóa” bao gồm nhóm C₁₋₆ alkyl tùy ý có từ 1 đến 7, tốt hơn là từ 1 đến 5, nguyên tử halogen. Các ví dụ cụ thể về chúng gồm metyl, clometyl, diflometyl, triclometyl, triflometyl, etyl, 2-bromoetyl, 2,2,2-trifloetyl, tetrafloetyl, pentafloetyl, propyl, 2,2-diflopropyl, 3,3,3-triflopropyl, isopropyl, butyl, 4,4,4-triflobutyl, isobutyl, sec-butyl, tert-butyl, pentyl, isopentyl, neopentyl, 5,5,5-triflopentyl, hexyl và 6,6,6-triflohexyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C₂₋₆ alkenyl” gồm etenyl, 1-propenyl, 2-propenyl, 2-metyl-1-propenyl, 1-butenyl, 2-butenyl, 3-butenyl, 3-metyl-2-butenyl, 1-pentenyl, 2-pentenyl, 3-pentenyl, 4-pentenyl, 4-metyl-3-pentenyl, 1-hexenyl, 3-hexenyl và 5-hexenyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C_{2-6} alkynyl” gồm etynyl, 1-propynyl, 2-propynyl, 1-butylnyl, 2-butylnyl, 3-butylnyl, 1-pentylnyl, 2-pentylnyl, 3-pentylnyl, 4-pentylnyl, 1-hexynyl, 2-hexynyl, 3-hexynyl, 4-hexynyl, 5-hexynyl và 4-metyl-2-pentylnyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C_{3-10} xycloalkyl” gồm xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl, xycloheptyl, xyclooctyl, bixyclo[2,2,1]heptyl, bixyclo[2,2,2]octyl, bixyclo[3,2,1]octyl và adamantyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C_{3-10} xycloalkyl tùy ý được halogen hóa” gồm nhóm C_{3-10} xycloalkyl tùy ý có từ 1 đến 7, tốt hơn là từ 1 đến 5, nguyên tử halogen. Các ví dụ cụ thể về chúng gồm xyclopropyl, 2,2-difloxycyclopropyl, 2,3-difloxycyclopropyl, xyclobutyl, difloxycyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl, xycloheptyl và xyclooctyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C_{3-10} xycloalkenyl” gồm xyclopropenyl, xyclobutenyl, xyclopentenyl, xyclohexenyl, xycloheptenyl và xyclooxtenyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C_{6-14} aryl” gồm phenyl, 1-naphtyl, 2-naphtyl, 1-anthryl, 2-anthryl và 9-anthryl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C_{7-16} aralkyl” gồm benzyl, phenetyl, naphtylmetyl và phenylpropyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C_{1-6} alkoxy” gồm metoxy, etoxy, propoxy, isopropoxy, butoxy, isobutoxy, sec-butoxy, tert-butoxy, pentyloxy và hexyloxy.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C_{1-6} alkoxy tùy ý được halogen hóa” gồm nhóm C_{1-6} alkoxy tùy ý có từ 1 đến 7, tốt hơn là từ 1 đến 5, nguyên tử halogen. Các ví dụ cụ thể về chúng gồm metoxy, diflometoxy, triflometoxy, etoxy, 2,2,2-trifloetoxy, propoxy, isopropoxy, butoxy, 4,4,4-triflobutoxy, isobutoxy, sec-butoxy, pentyloxy và hexyloxy.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C₃₋₁₀ xycloalkyloxy” gồm xyclopropyloxy, xyclobutyloxy, xyclopentyloxy, xyclohexyloxy, xycloheptyloxy và xyclooctyloxy.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C₁₋₆ alkylthio” gồm metylthio, etylthio, propylthio, isopropylthio, butylthio, sec-butylthio, tert-butylthio, pentylthio và hexylthio.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C₁₋₆ alkylthio tùy ý được halogen hóa” gồm nhóm C₁₋₆ alkylthio tùy ý có từ 1 đến 7, tốt hơn là từ 1 đến 5, nguyên tử halogen. Các ví dụ cụ thể về chúng gồm metylthio, diflometylthio, triflometylthio, etylthio, propylthio, isopropylthio, butylthio, 4,4,4-triflobutylthio, pentylthio và hexylthio.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C₁₋₆ alkyl-carbonyl” gồm axetyl, propanoyl, butanoyl, 2-metylpropanoyl, pentanoyl, 3-metylbutanoyl, 2-metylbutanoyl, 2,2-dimetylpropanoyl, hexanoyl và heptanoyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C₁₋₆ alkyl-carbonyl tùy ý được halogen hóa” gồm nhóm C₁₋₆ alkyl-carbonyl tùy ý có từ 1 đến 7, tốt hơn là từ 1 đến 5, nguyên tử halogen. Các ví dụ cụ thể về chúng gồm axetyl, cloaxetyl, trifloaxetyl, tricloaxetyl, propanoyl, butanoyl, pentanoyl và hexanoyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C₁₋₆ alkoxy-carbonyl” gồm metoxycarbonyl, etoxycarbonyl, propoxycarbonyl, isopropoxycarbonyl, butoxycarbonyl, isobutoxycarbonyl, sec-butoxycarbonyl, tert-butoxycarbonyl, pentyloxycarbonyl và hexyloxycarbonyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C₆₋₁₄ aryl-carbonyl” gồm benzoyl, 1-naphthoyl và 2-naphthoyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C₇₋₁₆ aralkyl-carbonyl” gồm phenylaxetyl và phenylpropionyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm heteroxyclylcarbonyl thơm có từ 5-14 cạnh” gồm nicotinoyl, isonicotinoyl, thenoyl và furoyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm heteroxyclylcarbonyl không thơm có từ 3-14 cạnh” gồm morpholinylcarbonyl, piperidinylcarbonyl và pyrrolidinylcarbonyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm mono- hoặc di- C_{1-6} alkyl-carbamoyl” gồm methylcarbamoyl, ethylcarbamoyl, dimethylcarbamoyl, diethylcarbamoyl và N-ethyl-N-methylcarbamoyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm mono- hoặc di- C_{7-16} aralkyl-carbamoyl” gồm benzylcarbamoyl và phenethylcarbamoyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C_{1-6} alkylsulfonyl” gồm methylsulfonyl, ethylsulfonyl, propylsulfonyl, isopropylsulfonyl, butylsulfonyl, sec-butylsulfonyl và tert-butylsulfonyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C_{1-6} alkylsulfonyl tùy ý được halogen hóa” gồm nhóm C_{1-6} alkylsulfonyl tùy ý có từ 1 đến 7, tốt hơn là từ 1 đến 5, nguyên tử halogen. Các ví dụ cụ thể về chúng gồm methylsulfonyl, diflormethylsulfonyl, triflormethylsulfonyl, ethylsulfonyl, propylsulfonyl, isopropylsulfonyl, butylsulfonyl, 4,4,4-triflobutylsulfonyl, pentylsulfonyl và hexylsulfonyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm C_{6-14} arylsulfonyl” gồm phenylsulfonyl, 1-naphtylsulfonyl và 2-naphtylsulfonyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “phần tử thế” gồm nguyên tử halogen, nhóm xyano, nhóm nitro, nhóm hydrocarbon tùy ý được thế, nhóm dị vòng tùy ý được thế, nhóm axyl, nhóm amino tùy ý được thế, nhóm carbamoyl tùy ý được thế, nhóm thiocarbamoyl tùy ý được thế, nhóm sulfamoyl tùy ý được thế, nhóm hydroxy tùy ý được thế, nhóm sulfanyl (SH) và nhóm silyl tùy ý được thế.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm hydrocarbon” (gồm “nhóm hydrocarbon” của “nhóm hydrocarbon tùy ý được thế”) gồm nhóm C_{1-6} alkyl, nhóm C_{2-6} alkenyl, nhóm C_{2-6} alkynyl, nhóm C_{3-10} xycloalkyl, nhóm C_{3-10} xycloalkenyl, nhóm C_{6-14} aryl và nhóm C_{7-16} aralkyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm hydrocarbon tùy ý được thế” gồm nhóm hydrocarbon tùy ý có (các) phần tử thế được chọn từ nhóm phần tử thế A dưới đây.

Nhóm phần tử thế A

- (1) nguyên tử halogen,
- (2) nhóm nitro,
- (3) nhóm xyano,
- (4) nhóm oxo,
- (5) nhóm hydroxy,
- (6) nhóm C₁₋₆ alkoxy tùy ý được halogen hóa,
- (7) nhóm C₆₋₁₄ aryloxy (như phenoxy, naphthoxy),
- (8) nhóm C₇₋₁₆ aralkyloxy (như benzyloxy),
- (9) nhóm heteroxyclyloxy thơm có từ 5-14 cạnh (như pyridyloxy),
- (10) nhóm heteroxyclyloxy không thơm có từ 3-14 cạnh (như morpholinyloxy, piperidinyloxy),
- (11) nhóm C₁₋₆ alkyl-carbonyloxy (như axetoxy, propanoyloxy),
- (12) nhóm C₆₋₁₄ aryl-carbonyloxy (như benzoyloxy, 1-naphthoyloxy, 2-naphthoyloxy),
- (13) nhóm C₁₋₆ alkoxy-carbonyloxy (như metoxycarbonyloxy, etoxycarbonyloxy, propoxycarbonyloxy, butoxycarbonyloxy),
- (14) nhóm mono- hoặc di-C₁₋₆ alkyl-carbamoyloxy (như methylcarbamoyloxy, ethylcarbamoyloxy, dimethylcarbamoyloxy, diethylcarbamoyloxy),
- (15) nhóm C₆₋₁₄ aryl-carbamoyloxy (như phenylcarbamoyloxy, naphthylcarbamoyloxy),
- (16) nhóm heteroxyclylcarbonyloxy thơm có từ 5-14 cạnh (như nicotinoyloxy),

- (17) nhóm heterocyclcarbonyloxy không thơm có từ 3-14 cạnh (như morpholinylcarbonyloxy, piperidinylcarbonyloxy),
- (18) nhóm C₁₋₆ alkylsulfonyloxy tùy ý được halogen hóa (như metylsulfonyloxy, triflometylsulfonyloxy),
- (19) nhóm C₆₋₁₄ arylsulfonyloxy tùy ý được thế bằng nhóm C₁₋₆ alkyl (như phenylsulfonyloxy, toluensulfonyloxy),
- (20) nhóm C₁₋₆ alkylthio tùy ý được halogen hóa,
- (21) nhóm dị vòng thơm có từ 5-14 cạnh,
- (22) nhóm dị vòng không thơm có từ 3-14 cạnh,
- (23) nhóm formyl,
- (24) nhóm carboxy,
- (25) nhóm C₁₋₆ alkyl-carbonyl tùy ý được halogen hóa,
- (26) nhóm C₆₋₁₄ aryl-carbonyl,
- (27) nhóm heterocyclcarbonyl thơm có từ 5-14 cạnh,
- (28) nhóm heterocyclcarbonyl không thơm có từ 3-14 cạnh,
- (29) nhóm C₁₋₆ alkoxy-carbonyl,
- (30) nhóm C₆₋₁₄ aryloxy-carbonyl (như phenyloxycarbonyl, 1-naphtyloxycarbonyl, 2-naphtyloxycarbonyl),
- (31) nhóm C₇₋₁₆ aralkyloxy-carbonyl (như benzyloxycarbonyl, phenetyloxycarbonyl),
- (32) nhóm carbamoyl,
- (33) nhóm thiocarbamoyl,
- (34) nhóm mono- hoặc di-C₁₋₆ alkyl-carbamoyl,
- (35) nhóm C₆₋₁₄ aryl-carbamoyl (như phenylcarbamoyl),
- (36) nhóm heterocyclcarbamoyl thơm có từ 5-14 cạnh (như pyridylcarbamoyl, thienylcarbamoyl),

- (37) nhóm heteroxyclylcarbamoyl không thơm có từ 3-14 cạnh (như morpholinylcarbamoyl, piperidinylcarbamoyl),
- (38) nhóm C₁₋₆ alkylsulfonyl tùy ý được halogen hóa,
- (39) nhóm C₆₋₁₄ arylsulfonyl,
- (40) nhóm heteroxyclylsulfonyl thơm có từ 5-14 cạnh (như pyridylsulfonyl, thienylsulfonyl),
- (41) nhóm C₁₋₆ alkylsulfinyl tùy ý được halogen hóa,
- (42) nhóm C₆₋₁₄ arylsulfinyl (như phenylsulfinyl, 1-naphtylsulfinyl, 2-naphtylsulfinyl),
- (43) nhóm heteroxyclylsulfinyl thơm có từ 5-14 cạnh (như pyridylsulfinyl, thienylsulfinyl),
- (44) nhóm amino,
- (45) nhóm mono- hoặc di-C₁₋₆ alkylamino (như metylamino, etylamino, propylamino, isopropylamino, butylamino, dimethylamino, diethylamino, dipropylamino, dibutylamino, N-etyl-N-methylamino),
- (46) nhóm mono- hoặc di-C₆₋₁₄ arylamino (như phenylamino),
- (47) nhóm heteroxyclylamino thơm có từ 5-14 cạnh (như pyridylamino),
- (48) nhóm C₇₋₁₆ aralkylamino (như benzylamino),
- (49) nhóm formylamino,
- (50) nhóm C₁₋₆ alkyl-carbonylamino (như axetylamino, propanoylamino, butanoylamino),
- (51) nhóm (C₁₋₆ alkyl)(C₁₋₆ alkyl-carbonyl)amino (như N-axetyl-N-methylamino),
- (52) nhóm C₆₋₁₄ aryl-carbonylamino (như phenylcarbonylamino, naphtylcarbonylamino),
- (53) nhóm C₁₋₆ alkoxy-carbonylamino (như metoxycarbonylamino, etoxycarbonylamino, propoxycarbonylamino, butoxycarbonylamino, tert-butoxycarbonylamino),

- (54) nhóm C_{7-16} aralkyloxy-carbonylamino (như benzyloxycarbonylamino),
- (55) nhóm C_{1-6} alkylsulfonylamino (như metylsulfonylamino, etylsulfonylamino),
- (56) nhóm C_{6-14} arylsulfonylamino tùy ý được thế bởi nhóm C_{1-6} alkyl (như phenylsulfonylamino, toluensulfonylamino),
- (57) nhóm C_{1-6} alkyl tùy ý được halogen hóa,
- (58) nhóm C_{2-6} alkenyl,
- (59) nhóm C_{2-6} alkynyl,
- (60) nhóm C_{3-10} xycloalkyl,
- (61) nhóm C_{3-10} xycloalkenyl và
- (62) nhóm C_{6-14} aryl.

Số lượng phần tử thế nêu trên trong “nhóm hydrocarbon tùy ý được thế” là từ, ví dụ, 1 đến 5, tốt hơn là từ 1 đến 3. Khi số lượng phần tử thế là hai hoặc hơn, các phần tử thế tương ứng có thể giống nhau hoặc khác nhau.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm dị vòng” (gồm “nhóm dị vòng” của “nhóm dị vòng tùy ý được thế”) gồm (i) nhóm dị vòng thơm, (ii) nhóm dị vòng không thơm và (iii) nhóm dị vòng bắc cầu có từ 7- 10 cạnh, mỗi nhóm chứa từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại được chọn từ nguyên tử nitơ, nguyên tử lưu huỳnh và nguyên tử oxy dưới dạng nguyên tử tạo vòng ngoài nguyên tử cacbon.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm dị vòng thơm” (gồm “nhóm dị vòng thơm có từ 5-14 cạnh”) gồm nhóm dị vòng thơm có từ 5-14 cạnh (tốt hơn là từ 5-10 cạnh), dưới dạng nguyên tử tạo vòng bên cạnh nguyên tử cacbon, chứa từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại được chọn từ nguyên tử nitơ, nguyên tử lưu huỳnh và nguyên tử oxy.

Các ví dụ được ưu tiên về “nhóm dị vòng thơm” gồm các nhóm dị vòng thơm đơn vòng có 5 hoặc 6 cạnh như thienyl, furyl, pyrolyl, imidazolyl, pyrazolyl, thiazolyl, isothiazolyl, oxazolyl, isoxazolyl, pyridyl, pyrazinyl,

pyrimidinyl, pyridazinyl, 1,2,4-oxadiazolyl, 1,3,4-oxadiazolyl, 1,2,4-thiadiazolyl, 1,3,4-thiadiazolyl, triazolyl, tetrazolyl, triazinyl và tương tự; và

các nhóm dị vòng thơm đa vòng ngưng tụ có từ 8-14 cạnh (tốt hơn là hai hoặc ba vòng) như benzothiophenyl, benzofuranyl, benzimidazolyl, benzoxazolyl, benzisoxazolyl, benzothiazolyl, benzisothiazolyl, benzotriazolyl, imidazopyridinyl, thienopyridinyl, furopyridinyl, pyrolopyridinyl, pyrazolopyridinyl, oxazolopyridinyl, thiazolopyridinyl, imidazopyrazinyl, imidazopyrimidinyl, thienopyrimidinyl, fuopyrimidinyl, pyrolopyrimidinyl, pyrazolopyrimidinyl, oxazolopyrimidinyl, thiazolopyrimidinyl, pyrazolotriazinyl, naphtho[2,3-b]thienyl, phenoxathiinyl, indolyl, isoindolyl, 1H-indazolyl, purinyl, isoquinolyl, quinolyl, phthalazinyl, naphthyridinyl, quinoxalinyl, quinazolinyl, xinolyl, carbazolyl, β -carbolinyl, phenanthridinyl, acridinyl, phenazinyl, phenothiazinyl, phenoxazinyl và tương tự.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm dị vòng không thơm” (gồm “nhóm dị vòng không thơm có từ 3-14 cạnh”) gồm nhóm dị vòng không thơm có từ 3-14 cạnh (tốt hơn là từ 4-10 cạnh), dưới dạng nguyên tử tạo vòng bên cạnh nguyên tử cacbon, chứa 1 đến 4 nguyên tử khác loại được chọn từ nguyên tử nitơ, nguyên tử lưu huỳnh và nguyên tử oxy.

Các ví dụ ưu tiên về “nhóm dị vòng không thơm” bao gồm các nhóm dị vòng thơm đơn vòng có từ 3-8 cạnh như aziridinyl, oxiranyl, thiiiranyl, azetidiny, oxetanyl, thietanyl, tetrahydrothienyl, tetrahydrofuranyl, pyrrolinyl, pyrrolidinyl, imidazolinyl, imidazolidinyl, oxazolinyl, oxazolidinyl, pyrazolinyl, pyrazolidinyl, thiazolinyl, thiazolidinyl, tetrahydroisothiazolyl, tetrahydrooxazolyl, tetrahydroisooxazolyl, piperidinyl, piperazinyl, tetrahydropyridinyl, dihydropyridinyl, dihydrothiopyranyl, tetrahydropyrimidinyl, tetrahydropyridazinyl, dihydropyranyl, tetrahydropyranyl, tetrahydrothiopyranyl, morpholinyl, thiomorpholinyl, azepanyl, diazepanyl, azepinyl, oxepanyl, azocanyl, diazocanyl và tương tự; và nhóm dị vòng không thơm đa vòng ngưng tụ có 9-14 cạnh (tốt hơn là có hai hoặc ba vòng) như dihydrobenzofuranyl, dihydrobenzimidazolyl, dihydrobenzoxazolyl,

dihydrobenzothiazolyl, dihydrobenzisothiazolyl, dihydronaphtho[2,3-b]thienyl, tetrahydroisoquinolyl, tetrahydroquinolyl, 4H-quinoliziny, indoliny, isoindoliny, tetrahydrothieno[2,3-c]pyridiny, tetrahydrobenzazepiny, tetrahydroquinoxaliny, tetrahydrophenanthridiny, hexahydrophenothiaziny, hexahydrophenoxaziny, tetrahydrophthalaziny, tetrahydronaphthyridiny, tetrahydroquinazoliny, tetrahydrocinnoliny, tetrahydrocarbazolyl, tetrahydro- β -carboliny, tetrahydroacrydiny, tetrahydrophenaziny, tetrahydrothioxanthenyl, octahydroisoquinolyl và tương tự.

Trong bản mô tả, các ví dụ được ưu tiên về “nhóm dị vòng bắc cầu có từ 7-10 cạnh” bao gồm quinuclidiny và 7-azabixyclo[2,2,1]heptanyl.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm dị vòng chứa nito” bao gồm “nhóm dị vòng” chứa ít nhất một nguyên tử nito dưới dạng nguyên tử tạo vòng.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm dị vòng tùy ý được thể” bao gồm nhóm dị vòng tùy ý có (các) phần tử thể được chọn từ nhóm phần tử thể A nêu trên.

Số lượng phần tử thể trong “nhóm dị vòng tùy ý được thể”, chẳng hạn, là từ 1 đến 3. Khi số lượng phần tử thể là hai hoặc nhiều hơn, các phần tử thể tương ứng có thể giống nhau hoặc khác nhau.

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm axyl” bao gồm nhóm formyl, nhóm carboxy, nhóm carbamoyl, nhóm thiocarbamoyl, nhóm sulfino, nhóm sulfo, nhóm sulfamoyl và nhóm phosphono, mỗi nhóm tùy ý có “1 hoặc 2 phần tử thể được chọn từ nhóm C₁₋₆ alkyl, nhóm C₂₋₆ alkenyl, nhóm C₃₋₁₀ xycloalkyl, nhóm C₃₋₁₀ xycloalkenyl, nhóm C₆₋₁₄ aryl, nhóm C₇₋₁₆ aralkyl, nhóm dị vòng thơm có từ 5-14 cạnh và nhóm dị vòng không thơm có từ 3-14 cạnh, mỗi nhóm có từ 1 đến 3 phần tử thể được chọn từ nguyên tử halogen, nhóm C₁₋₆ alkoxy tùy ý được halogen hóa, nhóm hydroxy, nhóm nitro, nhóm xyano, nhóm amino và nhóm carbamoyl”.

Các ví dụ về “nhóm axyl” cũng bao gồm nhóm hydrocarbon-sulfonyl, nhóm heteroxyclylsulfonyl, nhóm hydrocarbon-sulfinyl và nhóm heteroxyclylsulfinyl.

Ở đây, nhóm hydrocarbon-sulfonyl là nhóm sulfonyl liên kết với nhóm hydrocarbon, nhóm heteroxyclylsulfonyl là nhóm sulfonyl liên kết với nhóm dị vòng, nhóm hydrocarbon-sulfinyl là nhóm sulfinyl liên kết với nhóm hydrocarbon và nhóm heteroxyclylsulfinyl có nghĩa là nhóm sulfinyl liên kết với nhóm dị vòng.

Các ví dụ được ưu tiên về “nhóm axyl” bao gồm nhóm formyl, nhóm carboxy, nhóm C₁₋₆ alkyl-carbonyl, nhóm C₂₋₆ alkenyl-carbonyl (như crotonoyl), nhóm C₃₋₁₀ xycloalkyl-carbonyl (như xyclobutancarbonyl, xyclopentancarbonyl, xyclohexancarbonyl, xycloheptancarbonyl), nhóm C₃₋₁₀ xycloalkenyl-carbonyl (như 2-xyclohexencarbonyl), nhóm C₆₋₁₄ aryl-carbonyl, nhóm C₇₋₁₆ aralkyl-carbonyl, nhóm heteroxyclylcarbonyl thơm có từ 5-14 cạnh, nhóm heteroxyclylcarbonyl không thơm có từ 5-14 cạnh, nhóm C₁₋₆ alkoxy-carbonyl, nhóm C₆₋₁₄ aryloxy-carbonyl (như phenyloxycarbonyl, naphtyloxycarbonyl), nhóm C₇₋₁₆ aralkyloxy-carbonyl (như benzyloxycarbonyl, phenetyloxycarbonyl), nhóm carbamoyl, nhóm mono- hoặc di-C₁₋₆ alkyl-carbamoyl, nhóm mono- hoặc di-C₂₋₆ alkenyl-carbamoyl (như dialylcarbamoyl), nhóm mono- hoặc di-C₃₋₁₀ xycloalkyl-carbamoyl (như xyclopropylcarbamoyl), nhóm mono- hoặc di-C₆₋₁₄ aryl-carbamoyl (như phenylcarbamoyl), nhóm mono- hoặc di-C₇₋₁₆ aralkyl-carbamoyl, nhóm heteroxyclylcarbamoyl thơm có từ 5-14 cạnh (như pyridylcarbamoyl), nhóm thiocarbamoyl, nhóm mono- hoặc di-C₁₋₆ alkyl-thiocarbamoyl (như metylthiocarbamoyl, N-etyl-N-metylthiocarbamoyl), nhóm mono- hoặc di-C₂₋₆ alkenyl-thiocarbamoyl (như dialylthiocarbamoyl), nhóm mono- hoặc di-C₃₋₁₀ xycloalkyl-thiocarbamoyl (như xyclopropylthiocarbamoyl, xyclohexylthiocarbamoyl), nhóm mono- hoặc di-C₆₋₁₄ aryl-thiocarbamoyl (như phenylthiocarbamoyl), nhóm mono- hoặc di-C₇₋₁₆ aralkyl-thiocarbamoyl (như benzythiocarbamoyl, phenetylthiocarbamoyl), nhóm heteroxyclylthiocarbamoyl thơm có từ 5-14 cạnh (như pyridylthiocarbamoyl), nhóm sulfino, nhóm C₁₋₆ alkylsulfinyl (như metylsulfinyl, etylsulfinyl), nhóm sulfo, nhóm C₁₋₆ alkylsulfonyl, nhóm C₆₋₁₄ arylsulfonyl, nhóm phosphono và nhóm mono- hoặc di-C₁₋₆ alkylphosphono (như dimetylphosphono, dietylphosphono, diisopropylphosphono, dibutylphosphono).

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm amino tùy ý được thế” bao gồm nhóm amino tùy ý có “1 hoặc 2 phần tử thế được chọn từ nhóm C₁₋₆ alkyl, nhóm C₂₋₆ alkenyl, nhóm C₃₋₁₀ xycloalkyl, nhóm C₆₋₁₄ aryl, nhóm C₇₋₁₆ aralkyl, nhóm C₁₋₆ alkyl-carbonyl, nhóm C₆₋₁₄ aryl-carbonyl, nhóm C₇₋₁₆ aralkyl-carbonyl, nhóm heteroxyclylcarbonyl thơm có từ 5-14 cạnh, nhóm heteroxyclylcarbonyl không thơm có từ 3-14 cạnh, nhóm C₁₋₆ alkoxy-carbonyl, nhóm dị vòng thơm có từ 5-14 cạnh, nhóm carbamoyl, nhóm mono- hoặc di-C₁₋₆ alkyl-carbamoyl, nhóm mono- hoặc di-C₇₋₁₆ aralkyl-carbamoyl, nhóm C₁₋₆ alkylsulfonyl và nhóm C₆₋₁₄ arylsulfonyl, mỗi nhóm tùy ý có từ 1 đến 3 phần tử thế được chọn từ nhóm phần tử thế A”.

Các ví dụ được ưu tiên nhóm amino tùy ý được thế bao gồm nhóm amino, nhóm mono- hoặc di-(C₁₋₆ alkyl tùy ý được halogen hóa) amino (như metylamino, triflometylamino, dimethylamino, etylamino, diethylamino, propylamino, dibutylamino), nhóm mono- hoặc di-C₂₋₆ alkenylamino (như dialylamino), nhóm mono- hoặc di-C₃₋₁₀ xycloalkylamino (như xyclopropylamino, xyclohexylamino), nhóm mono- hoặc di-C₆₋₁₄ arylamino (như phenylamino), nhóm mono- hoặc di-C₇₋₁₆ aralkylamino (như benzylamino, dibenzylamino), nhóm mono- hoặc di-(C₁₋₆ alkyl tùy ý được halogen hóa)-carbonylamino (như axetylamino, propionylamino), nhóm mono- hoặc di-C₆₋₁₄ aryl-carbonylamino (như benzoylamino), nhóm mono- hoặc di-C₇₋₁₆ aralkyl-carbonylamino (như benzylcarbonylamino), nhóm heteroxyclylcarbonylamino thơm có mono- hoặc di-5-14 cạnh (như nicotinoylamino, isonicotinoylamino), nhóm heteroxyclylcarbonylamino không thơm có mono- hoặc di-3-14 cạnh (như piperidinylcarbonylamino), nhóm mono- hoặc di-C₁₋₆ alkoxy-carbonylamino (như tert-butoxycarbonylamino), nhóm heteroxyclylamino thơm có 5-14 cạnh (như pyridylamino), nhóm carbamoylamino, nhóm (mono- hoặc di-C₁₋₆ alkyl-carbamoyl)amino (như metylcarbamoylamino), nhóm (mono- hoặc di-C₇₋₁₆ aralkyl-carbamoyl)amino (như benzylcarbamoylamino), nhóm C₁₋₆ alkylsulfonylamino (như metylsulfonylamino, etylsulfonylamino), nhóm C₆₋₁₄ arylsulfonylamino (như phenylsulfonylamino), nhóm (C₁₋₆ alkyl)(C₁₋₆ alkyl-

carbonyl)amino (như N-axetyl-N-metyl-amino) và nhóm (C₁₋₆ alkyl)(C₆₋₁₄ aryl-carbonyl)amino (như N-benzoyl-N-metyl-amino).

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm carbamoyl tùy ý được thể” bao gồm nhóm carbamoyl tùy ý có “1 hoặc 2 phần tử thể được chọn từ nhóm C₁₋₆ alkyl, nhóm C₂₋₆ alkenyl, nhóm C₃₋₁₀ xycloalkyl, nhóm C₆₋₁₄ aryl, nhóm C₇₋₁₆ aralkyl, nhóm C₁₋₆ alkyl-carbonyl, nhóm C₆₋₁₄ aryl-carbonyl, nhóm C₇₋₁₆ aralkyl-carbonyl, nhóm heteroxyclylcarbonyl thơm 5-14 cạnh, nhóm heteroxyclylcarbonyl không thơm có từ 3-14 cạnh, nhóm C₁₋₆ alkoxy-carbonyl, nhóm dị vòng thơm có 5-14 cạnh, nhóm carbamoyl, nhóm mono- hoặc di-C₁₋₆ alkyl-carbamoyl và nhóm mono- hoặc di-C₇₋₁₆ aralkyl-carbamoyl, mỗi nhóm tùy ý có từ 1 đến 3 phần tử thể được chọn từ nhóm phần tử thể A”.

Các ví dụ được ưu tiên về nhóm carbamoyl tùy ý được thể bao gồm nhóm carbamoyl, nhóm mono- hoặc di-C₁₋₆ alkyl-carbamoyl, nhóm mono- hoặc di-C₂₋₆ alkenyl-carbamoyl (như dialylcarbamoyl), nhóm mono- hoặc di-C₃₋₁₀ xycloalkyl-carbamoyl (như xyclopropylcarbamoyl, xyclohexylcarbamoyl), nhóm mono- hoặc di-C₆₋₁₄ aryl-carbamoyl (như phenylcarbamoyl), nhóm mono- hoặc di-C₇₋₁₆ aralkyl-carbamoyl, nhóm mono- hoặc di-C₁₋₆ alkyl-carbonyl-carbamoyl (như axetylcarbamoyl, propionylcarbamoyl), nhóm mono- hoặc di-C₆₋₁₄ aryl-carbonyl-carbamoyl (như benzoylcarbamoyl) và nhóm heteroxyclylcarbamoyl thơm có từ 5-14 cạnh (như pyridylcarbamoyl).

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm thiocarbamoyl tùy ý được thể” bao gồm nhóm thiocarbamoyl tùy ý có “1 hoặc 2 phần tử thể được chọn từ nhóm C₁₋₆ alkyl, nhóm C₂₋₆ alkenyl, nhóm C₃₋₁₀ xycloalkyl, nhóm C₆₋₁₄ aryl, nhóm C₇₋₁₆ aralkyl, nhóm C₁₋₆ alkyl-carbonyl, nhóm C₆₋₁₄ aryl-carbonyl, nhóm C₇₋₁₆ aralkyl-carbonyl, nhóm heteroxyclylcarbonyl thơm có từ 5-14 cạnh, nhóm heteroxyclylcarbonyl không thơm có từ 3-14 cạnh, nhóm C₁₋₆ alkoxy-carbonyl, nhóm dị vòng thơm có từ 5-14 cạnh, nhóm carbamoyl, nhóm mono- hoặc di-C₁₋₆ alkyl-carbamoyl và nhóm mono- hoặc di-C₇₋₁₆ aralkyl-carbamoyl, mỗi nhóm có từ 1 đến 3 phần tử thể được chọn từ nhóm phần tử thể A”.

Các ví dụ được ưu tiên về nhóm thiocarbamoyl tùy ý được thể bao gồm nhóm thiocarbamoyl, nhóm mono- hoặc di- C_{1-6} alkyl-thiocarbamoyl (như methylthiocarbamoyl, ethylthiocarbamoyl, dimethylthiocarbamoyl, diethylthiocarbamoyl, N-etyl-N-methylthiocarbamoyl), nhóm mono- hoặc di- C_{2-6} alkenyl-thiocarbamoyl (như dialylthiocarbamoyl), nhóm mono- hoặc di- C_{3-10} xycloalkyl-thiocarbamoyl (như xyclopropylthiocarbamoyl, xyclohexylthiocarbamoyl), nhóm mono- hoặc di- C_{6-14} aryl-thiocarbamoyl (như phenylthiocarbamoyl), nhóm mono- hoặc di- C_{7-16} aralkyl-thiocarbamoyl (như benzylthiocarbamoyl, phenetylthiocarbamoyl), nhóm mono- hoặc di- C_{1-6} alkyl-carbonyl-thiocarbamoyl (như axetylthiocarbamoyl, propionylthiocarbamoyl), nhóm mono- hoặc di- C_{6-14} aryl-carbonyl-thiocarbamoyl (như benzoylthiocarbamoyl) và nhóm heteroxyclylthiocarbamoyl thơm có từ 5-14 cạnh (như pyridylthiocarbamoyl).

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm sulfamoyl” bao gồm sulfamoyl tùy ý có “1 hoặc 2 phần tử thể được chọn từ nhóm C_{1-6} alkyl, nhóm C_{2-6} alkenyl, nhóm C_{3-10} xycloalkyl, nhóm C_{6-14} aryl, nhóm C_{7-16} aralkyl, nhóm C_{1-6} alkyl-carbonyl, nhóm C_{6-14} aryl-carbonyl, nhóm C_{7-16} aralkyl-carbonyl, nhóm heteroxyclylcarbonyl thơm có từ 5-14 cạnh, nhóm heteroxyclylcarbonyl không thơm có từ 3-14 cạnh, nhóm C_{1-6} alkoxy-carbonyl, nhóm dị vòng thơm có từ 5-14 cạnh, nhóm carbamoyl, nhóm mono- hoặc di- C_{1-6} alkyl-carbamoyl và nhóm mono- hoặc di- C_{7-16} aralkyl-carbamoyl, mỗi nhóm tùy ý có từ 1 đến 3 phần tử thể được chọn từ nhóm phần tử thể A”.

Các ví dụ ưu tiên về nhóm sulfamoyl tùy ý được thể bao gồm nhóm sulfamoyl, nhóm mono- hoặc di- C_{1-6} alkyl-sulfamoyl (như metylsulfamoyl, etylsulfamoyl, dimethylsulfamoyl, diethylsulfamoyl, N-etyl-N-methylsulfamoyl), nhóm mono- hoặc di- C_{2-6} alkenyl-sulfamoyl (như dialylsulfamoyl), nhóm mono- hoặc di- C_{3-10} xycloalkyl-sulfamoyl (như xyclopropylsulfamoyl, xyclohexylsulfamoyl), nhóm mono- hoặc di- C_{6-14} aryl-sulfamoyl (như phenylsulfamoyl), nhóm mono- hoặc di- C_{7-16} aralkyl-sulfamoyl (như benzylsulfamoyl, phenethylsulfamoyl), nhóm mono- hoặc di- C_{1-6} alkyl-carbonyl-

sulfamoyl (như axetylsulfamoyl, propionylsulfamoyl), nhóm mono- hoặc di- C_{6-14} aryl-carbonyl-sulfamoyl (như benzoylsulfamoyl) và nhóm heteroxycylsulfamoyl thơm có từ 5-14 cạnh (như pyridylsulfamoyl).

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm hydroxy tùy ý được thể” bao gồm hydroxyl tùy ý có “phần tử thể được chọn từ nhóm C_{1-6} alkyl, nhóm C_{2-6} alkenyl, nhóm C_{3-10} xycloalkyl, nhóm C_{6-14} aryl, nhóm C_{7-16} aralkyl, nhóm C_{1-6} alkyl-carbonyl, nhóm C_{6-14} aryl-carbonyl, nhóm C_{7-16} aralkyl-carbonyl, nhóm heteroxycylcarbonyl thơm có từ 5-14 cạnh, nhóm heteroxycylcarbonyl không thơm có từ 3-14 cạnh, nhóm C_{1-6} alkoxy-carbonyl, nhóm dị vòng thơm có từ 5-14 cạnh, nhóm carbamoyl, nhóm mono- hoặc di- C_{1-6} alkyl-carbamoyl, nhóm mono- hoặc di- C_{7-16} aralkyl-carbamoyl, nhóm C_{1-6} alkylsulfonyl và nhóm C_{6-14} arylsulfonyl, mỗi nhóm tùy ý có từ 1 đến 3 phần tử thể được chọn từ nhóm phần tử thể A”.

Các ví dụ ưu tiên về nhóm hydroxy tùy ý được thể bao gồm nhóm hydroxy, nhóm C_{1-6} alkoxy, nhóm C_{2-6} alkenyloxy (như alyloxy, 2-butenyloxy, 2-pentenyl, 3-hexenyloxy), nhóm C_{3-10} xycloalkyloxy (như xyclohexyloxy), nhóm C_{6-14} aryloxy (như phenoxy, naphtyloxy), nhóm C_{7-16} aralkyloxy (như benzyloxy, phenetyloxy), nhóm C_{1-6} alkyl-carbonyloxy (như axetyloxy, propionyloxy, butyryloxy, isobutyryloxy, pivaloyloxy), nhóm C_{6-14} aryl-carbonyloxy (như benzoyloxy), nhóm C_{7-16} aralkyl-carbonyloxy (như benzylcarbonyloxy), nhóm heteroxycylcarbonyloxy thơm có từ 5-14 cạnh (như nicotinoyloxy), nhóm heteroxycylcarbonyloxy không thơm có từ 3-14 cạnh (như piperidinylcarbonyloxy), nhóm C_{1-6} alkoxy-carbonyloxy (như tert-butoxycarbonyloxy), nhóm heteroxycyloxy thơm có từ 5-14 cạnh (như pyridyloxy), nhóm carbamoyloxy, nhóm C_{1-6} alkyl-carbamoyloxy (như methylcarbamoyloxy), nhóm C_{7-16} aralkyl-carbamoyloxy (như benzylcarbamoyloxy), nhóm C_{1-6} alkylsulfonyloxy (như methylsulfonyloxy, etylsulfonyloxy) và nhóm C_{6-14} arylsulfonyloxy (như phenylsulfonyloxy).

Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm sulfanyl tùy ý được thể” bao gồm sulfanyl tùy ý có “phần tử thể được chọn từ nhóm C_{1-6} alkyl, nhóm C_{2-6} alkenyl,

nhóm C₃₋₁₀ xycloalkyl, nhóm C₆₋₁₄ aryl, nhóm C₇₋₁₆ aralkyl, nhóm C₁₋₆ alkyl-carbonyl, nhóm C₆₋₁₄ aryl-carbonyl và nhóm dị vòng thơm có từ 5-14 cạnh, mỗi nhóm tùy ý có từ 1 đến 3 phần tử thể được chọn từ nhóm phần tử thể A” và nhóm sulfanyl đã halogen hóa.

Các ví dụ ưu tiên về nhóm sulfanyl tùy ý được thể bao gồm sulfanyl (-SH), nhóm C₁₋₆ alkylthio, nhóm C₂₋₆ alkenylthio (như allylthio, 2-butenylthio, 2-pentenylthio, 3-hexenylthio), nhóm C₃₋₁₀ xycloalkylthio (như xyclohexylthio), nhóm C₆₋₁₄ arylthio (như phenylthio, naphthylthio), nhóm C₇₋₁₆ aralkylthio (như benzylthio, phenethylthio), nhóm C₁₋₆ alkyl-carbonylthio (như axetylthio, propionylthio, butyrylthio, isobutyrylthio, pivaloylthio), nhóm C₆₋₁₄ aryl-carbonylthio (như benzoylthio), nhóm heteroxyclylthio thơm có từ 5-14 cạnh (như pyridylthio) và nhóm thio đã halogen (như pentaflthio).

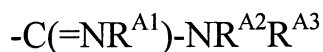
Trong bản mô tả, các ví dụ về “nhóm silyl tùy ý được thể” bao gồm silyl tùy ý có “1 đến 3 phần tử thể được chọn từ nhóm C₁₋₆ alkyl, nhóm C₂₋₆ alkenyl, nhóm C₃₋₁₀ xycloalkyl, nhóm C₆₋₁₄ aryl và nhóm C₇₋₁₆ aralkyl, mỗi nhóm tùy ý có từ 1 đến 3 phần tử thể được chọn từ nhóm phần tử thể A”.

Các ví dụ ưu tiên về nhóm silyl tùy ý được thể bao gồm nhóm tri-C₁₋₆ alkylsilyl (như trimetylsilyl, tert-butyl(dimetyl)silyl).

Định nghĩa của mỗi biểu tượng trong công thức (I) được mô tả chi tiết dưới đây.

P¹ là nhóm có công thức:

- R^{A1},
- CO-R^{A1},
- CO-OR^{A1},
- CO-COR^{A1},
- SO-R^{A1},
- SO₂-R^{A1},
- SO₂-OR^{A1},



trong đó mỗi R^{A1} , R^{A2} và R^{A3} độc lập là nguyên tử hydro, nhóm hydrocarbon tùy ý được thế, hoặc nhóm dị vòng tùy ý được thế.

P^1 tốt hơn là từ nguyên tử hydro.

A11 là Aib hoặc Ala.

A11 tốt hơn là Aib.

A12 là Ala, Ile, Lys, Phe hoặc Pya(4).

A12 tốt hơn là Ile.

Theo một phương án khác, A12 là tốt hơn là Lys.

A13 là Aib, Cha, Leu, αMePhe hoặc αMeTyr .

A13 tốt hơn là Aib.

A16 là Lys hoặc Ser.

A16 tốt hơn là Lys.

A17 là Gln hoặc Ile.

A17 tốt hơn là Gln.

A20 là Ala hoặc Ser.

A20 tốt hơn là Ala.

A29 là Gln hoặc Gly.

A29 tốt hơn là Gly.

Hợp chất (I) có thêm một trình tự peptit ở phía đầu tận cùng C (trình tự đầu tận cùng C) của A29 trong công thức (I).

Trình tự ở đầu tận cùng C là Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-
hoặc

Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-.

Trình tự cạnh có đầu tận cùng C đặc biệt tốt hơn là

Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-.

Hợp chất (I) có trình tự cạnh có đầu tận cùng C nêu trên có khả năng hòa tan cao.

Ngoài ra, hợp chất (I) có trình tự cạnh có đầu tận cùng C nêu trên có hoạt tính hoạt hóa chủ vận GLP-1 và chủ vận GIP cao *in vivo*.

Các ví dụ ưu tiên về hợp chất (I) gồm peptit dưới đây hoặc muối của nó.

Hợp chất A

Hợp chất (I) trong đó:

P¹ là nguyên tử hydro;

A11 là Aib;

A12 là Ile;

A13 là Aib;

A16 là Lys;

A17 là Gln;

A20 là Ala;

A29 là Gly; và

peptit có trình tự axit amin được thể hiện bởi Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys- ở phía đầu tận cùng C của A29.

Hợp chất (I) có thể được điều chế theo phương pháp tổng hợp peptit đã biết. Phương pháp tổng hợp peptit có thể là bất kỳ, ví dụ, quy trình tổng hợp pha rắn và quy trình tổng hợp pha lỏng. Tức là, peptit đích có thể được điều chế bằng cách lặp lại việc ngưng tụ peptit một phần hoặc axit amin có khả năng tạo thành hợp chất (I) và phần còn lại (mà có thể được tạo bởi hai hoặc nhiều axit amin) theo trình tự mong muốn. Khi sản phẩm có trình tự mong muốn có nhóm bảo vệ, peptit đích có thể được điều chế bằng cách loại bỏ nhóm bảo vệ. Các ví

dự về phương pháp ngưng tụ và phương pháp loại bỏ nhóm bảo vệ đã biết gồm các phương pháp được mô tả trong mục từ (1)-(5) dưới đây.

(1) M. Bodanszky and M.A. Ondetti: Peptid Synthesis, Interscience Publishers, New York (1966)

(2) Schroeder and Luebke: Peptid, Academic Press, New York (1965)

(3) Nobuo Izumiya, et al.: Peptid Gosei-no-Kiso to Jikken (Basics and experiments of peptid synthesis), do Maruzen Co. xuất bản (1975)

(4) Haruaki Yajima and Shunpei Sakakibara: Seikagaku Jikken Koza (Biochemical Experiment) 1, Tanpakushitsu no Kagaku (Chemistry of Proteins) IV, 205 (1977)

(5) Haruaki Yajima, ed.: Zoku Iyakuhin no Kaihatsu (A sequel to Development of Pharmaceuticals), Vol. 14, Peptid Synthesis, do Hirokawa Shoten xuất bản

Sau phản ứng, hợp chất (I) có thể được tinh chế và tách bằng cách sử dụng các phương pháp tinh chế thông thường, như chiết dung môi, chưng cất, sắc ký cột, sắc ký lỏng, tái kết tinh, v.v., hỗn hợp giữa chúng. Khi peptit thu được theo phương pháp nêu trên tồn tại ở dạng tự do, nó có thể được chuyển hóa thành muối thích hợp theo phương pháp đã biết; ngược lại, khi peptit thu được ở dạng muối, muối có thể được chuyển hóa thành dạng tự do hoặc muối khác theo phương pháp đã biết.

Hợp chất ban đầu cũng có thể là muối. Các ví dụ về muối này bao gồm các muối được lấy làm ví dụ là các muối của hợp chất (I) được đề cập dưới đây.

Để ngưng tụ axit amin hoặc peptit được bảo vệ, các thuốc thử hoạt tính khác nhau có thể sử dụng để tổng hợp peptit có thể được sử dụng, mà đặc biệt tốt hơn là các muối trisphosphoni, muối tetrametyluroni, carbodiimide và tương tự. Các ví dụ về muối trisphosphoni gồm benzotriazol-1-yl-oxyltris(pyrolizino)phosphonihexaflophosphat (PyBOP), bromotris(pyrolizino)phosphonihexaflophosphat (PyBroP), 7-azabenzotriazol-1-yl-oxyltris(pyrolizino)phosphonihexaflophosphat (PyAOP), các ví dụ về muối tetrametyluroni gồm 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-hexaflophosphat (HBTU),

2-(7-azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-hexaflorophosphat (HATU), 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametyluronitetrafloborat (TBTU), 2-(5-norbornan-2,3-dicarboxyimit)-1,1,3,3-tetrametyluronitetrafloborat (TNTU), O-(N-suximidyl)-1,1,3,3-tetrametyluronitetrafloborat (TSTU), và các ví dụ về carbodiimit gồm DCC, N,N'-diisopropylcarbodiimit (DIPCDI), N-etyl-N'-(3-dimetylaminopropyl)carbodiimit hydroclorua (EDCI·HCl) và tương tự. Để ngưng tụ sử dụng các muối này, tốt hơn là thêm chất ức chế raxemit (như HONB, HOBt, HOAt, HOObt v.v.). Dung môi được sử dụng để ngưng tụ có thể được chọn phù hợp từ các dung môi đã biết có thể sử dụng cho phản ứng ngưng tụ peptit. Ví dụ, các amit của axit như N,N-dimetylformamit khan hoặc chứa nước, N,N-dimetylaxetamit, N-metylpyrrolidon và tương tự, các hydrocarbon đã halogen hóa như metylen clorua, clorofom và tương tự, các rượu như trifloetanol, phenol và tương tự, các sulfoxit như dimetylsulfoxit và tương tự, các amin bậc ba như pyridin và tương tự, các ete như dioxan, tetrahydrofuran và tương tự, các nitril như axetonitril, propionitril và tương tự, các este như metyl axetat, etyl axetat và tương tự, các hỗn hợp thích hợp của các chất này và tương tự có thể được sử dụng. Nhiệt độ phản ứng được chọn phù hợp trong phạm vi đã biết có thể được sử dụng cho các phản ứng liên kết peptit, và thông thường được chọn trong khoảng từ -20°C đến 50°C. Dẫn xuất axit amin hoạt hóa thông thường được sử dụng quá từ 1,5 đến 6 lần. Trong quá trình tổng hợp phá, khi thử nghiệm sử dụng phản ứng ninhydrin đã bộc lộ rằng việc ngưng tụ là không đủ, có thể tiến hành ngưng tụ một cách đầy đủ bằng cách nhắc lại phản ứng ngưng tụ mà không loại bỏ nhóm bảo vệ. Nếu việc ngưng tụ không đủ thậm chí sau khi lặp lại phản ứng, axit amin không phản ứng có thể được axyl hóa bằng axetic anhydrit, axetylimidazol hoặc tương tự để có thể tránh bị ảnh hưởng đến các phản ứng tiếp theo.

Các ví dụ về các nhóm bảo vệ cho các nhóm amino của axit amin ban đầu gồm Z, Boc, tert-pentyloxycarbonyl, isobornyloxycarbonyl, 4-metoxybenzyloxycarbonyl, Cl-Z, Br-Z, adamantyloxycarbonyl, trifloaxetyl, phthaloyl, formyl, 2-nitrophenylsulphenyl, diphenylphosphinothietyl, Fmoc, trityl và tương tự.

Các ví dụ về nhóm bảo vệ carboxyl cho axit amin ban đầu gồm alyl, 2-adamantyl, 4-nitrobenzyl, 4-metoxymethyl, 4-clobenzyl, phenaxyl và benzyloxycarbonylhydrazit, tert-butoxycarbonylhydrazit, tritylhydrazit và tương tự, bổ sung vào nhóm C₁₋₆ alkyl nêu trên, nhóm C₃₋₁₀ xycloalkyl, nhóm C₇₋₁₄ aralkyl.

Nhóm hydroxyl của serin hoặc threonin có thể được bảo vệ, ví dụ, bằng este hóa hoặc ete hóa. Các ví dụ về nhóm thích hợp cho este hóa gồm các nhóm (C₂₋₄) alkanoyl bậc thấp như nhóm axetyl và tương tự, các nhóm aroyl như nhóm benzoyl và tương tự, và tương tự, và nhóm dẫn xuất từ axit hữu cơ và tương tự. Ngoài ra, các ví dụ về nhóm thích hợp cho ete hóa gồm benzyl, tetrahydropyranyl, tert-butyl(Bu^t), trityl (Trt) và tương tự.

Các ví dụ về nhóm bảo vệ cho nhóm hydroxyl phenolic chứa tyrosin gồm Bzl, 2,6-diclobenzyl, 2-nitrobenzyl, Br-Z, tert-butyl và tương tự.

Các ví dụ về nhóm bảo vệ cho imidazol chứa histidin gồm Tos, 4-metoxymethyl-2,3,6-trimethylbenzensulfonyl (Mtr), DNP, Bom, Bum, Boc, Trt, Fmoc và tương tự.

Các ví dụ về nhóm bảo vệ cho nhóm guanidino chứa arginin gồm Tos, Z, 4-metoxymethyl-2,3,6-trimethylbenzensulfonyl (Mtr), p-metoxymethylbenzensulfonyl (MBS), 2,2,5,7,8-pentamethylcroman-6-sulfonyl (Pmc), mesitylen-2-sulfonyl (Mts), 2,2,4,6,7-pentametyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl (Pbf), Boc, Z, NO₂ và tương tự.

Các ví dụ về nhóm bảo vệ cho nhóm amino mạch thẳng chứa lysin gồm Z, Cl-Z, trifloaxetyl, Boc, Fmoc, Trt, Mtr, 4,4-dimethyl-2,6-dioxocyclohexylideneyl (Dde) và tương tự.

Các ví dụ về nhóm bảo vệ cho indolyl chứa tryptophan gồm formyl (For), Z, Boc, Mts, Mtr và tương tự.

Các ví dụ về nhóm bảo vệ cho asparagin và glutamin gồm Trt, xantyl (Xan), 4,4'-dimetoxymethylbenzhydryl (Mbh), 2,4,6-trimetoxymethylbenzyl (Tmob) và tương tự.

Các ví dụ về nhóm carboxyl hoạt hóa trong nguyên liệu ban đầu gồm anhydrit của axit tương ứng, azit, este hoạt tính (este có rượu (như pentaclophenol, 2,4,5-triclophenol, 2,4-dinitrophenol, xyanometylruợu, paranitrophenol, HONB, N-hydroxysuximit, 1-hydroxybenzotriazol (HOBt), 1-hydroxy-7-azabenzotriazol(HOAt))) và tương tự. Các ví dụ về nhóm amino hoạt hóa trong nguyên liệu ban đầu gồm các amit phospho tương ứng.

Các ví dụ về phương pháp loại bỏ nhóm bảo vệ gồm việc khử xúc tác trong dòng hydro dưới sự có mặt của chất xúc tác như Pd-đen hoặc Pd-cacbon; xử lý axit sử dụng hydro florua khan, axit metansulfonic, axit triflometansulfonic, axit trifloaxetat, trimetylsilyl bromua (TMSBr), trimetylsilyl triflometansulfonat, axit tetrafloboric, axit tris(triflo)boric, bo tribromua, hoặc dung dịch hỗn hợp của chúng; xử lý bazơ sử dụng diisopropyletylamin, trietylamin, piperidin, piperazin hoặc tương tự; và việc khử bằng natri trong amoniac lỏng, và tương tự. Phản ứng loại bỏ bằng việc xử lý axit nêu trên thường được thực hiện ở nhiệt độ từ -20°C đến 40°C; việc xử lý axit được tiến hành hiệu quả bằng cách thêm chất chống muối cation như anisol, phenol, thioanisol, metacresol và paracresol; dimetylsulfua, 1,4-butandithiol, 1,2-etandithiol và tương tự. Ngoài ra, nhóm 2,4-dinitrophenyl được sử dụng dưới dạng nhóm bảo vệ của imidazol chứa histidin được loại bỏ bằng việc xử lý thiophenol; nhóm formyl được sử dụng dưới dạng nhóm bảo vệ của indol chứa tryptophan được loại bỏ bằng cách khử bảo vệ bằng cách xử lý axit dưới sự có mặt của 1,2-etandithiol, 1,4-butandithiol, hoặc tương tự, cũng như bằng cách xử lý kiềm bằng natri hydroxit loãng, amoniac loãng, hoặc tương tự.

Việc bảo vệ nhóm chức mà không cần tham gia vào phản ứng của nguyên liệu ban đầu và nhóm bảo vệ, loại bỏ nhóm bảo vệ, hoạt hóa nhóm chức tham gia vào phản ứng và tương tự có thể được chọn lựa phù hợp từ các nhóm bảo vệ đã biết và các phương thức đã biết.

Theo phương pháp bào chế amit của peptit, nó được hình thành bằng phương pháp tổng hợp pha rắn sử dụng nhựa cho việc tổng hợp amit, hoặc nhóm α -carboxyl chứa axit amin đầu chặn carboxy được amit hóa, và chuỗi peptit

được kéo dài đến độ dài mạch mong muốn về phía nhóm amino, sau đó peptit trong đó riêng nhóm bảo vệ cho nhóm α -amino đầu tận cùng N được loại bỏ và peptit trong đó duy nhất nhóm bảo vệ cho nhóm carboxyl đầu tận cùng C được loại bỏ khỏi chuỗi peptit được điều chế, và cả hai peptit được ngưng tụ trong dung môi hỗn hợp được mô tả trên đây. Chi tiết về phản ứng ngưng tụ, phương pháp như trên được áp dụng. Sau khi peptit bảo vệ thu được bằng ngưng tụ được tinh chế, tất cả các nhóm bảo vệ có thể bị loại bỏ bằng phương pháp được mô tả trên đây để điều chế polypeptit thô mong muốn. Bằng việc tinh chế peptit thô này sử dụng các loại phương pháp tinh chế đã biết, và làm khô lạnh phân đoạn chính, có thể điều chế được amit của peptit mong đợi.

Khi hợp chất (I) có mặt dưới dạng chất đồng phân cấu hình như chất đồng phân quang, chất đồng phân lập thể v.v., cấu dạng hoặc tương tự, chúng cũng bao hàm trong hợp chất (I) và mỗi chất này có thể được tách bằng phương pháp đã biết hoặc phương pháp tách và tinh chế nêu trên theo yêu cầu. Ngoài ra, khi hợp chất (I) có dạng racemat, nó có thể được tách thành các dạng S- và R bằng cách phân giải quang thông thường.

Khi hợp chất (I) gồm chất đồng phân lập thể, cả hai loại chất đồng phân đơn lẻ và hỗn hợp của từng chất đồng phân cũng bao hàm trong hợp chất (I).

Hợp chất (I) có thể biến đổi hóa học theo phương pháp đã biết và sử dụng polyetylen glycol. Ví dụ, hợp chất (I) có biến đổi hóa học có thể được điều chế bằng cách liên kết đôi polyetylen glycol với gốc Cys, gốc Asp, gốc Glu, gốc Lys và tương tự chứa hợp chất (I).

Hợp chất (I) được biến đổi bằng cách polyetylen glycol (PEG) sản sinh ra, ví dụ, các hiệu quả thúc đẩy hoạt tính sinh học, kéo dài thời gian lưu thông máu, giảm miễn dịch, tăng khả năng hòa tan, và tăng đề kháng cho việc trao đổi chất của peptit quan trọng về chuẩn đoán và điều trị bệnh.

Trọng lượng phân tử của PEG không bị giới hạn cụ thể và thường trong khoảng từ 1K đến 1000K dalton, tốt hơn là trong khoảng từ 10K đến 100K dalton, tốt hơn nữa là trong khoảng từ 20K đến 60K dalton.

Phương pháp đã biết trong lĩnh vực có thể được sử dụng như phương pháp biến đổi hợp chất (I) bằng PEG, và, ví dụ, phương pháp được mô tả dưới đây có thể được sử dụng.

(1) thuốc thử PEGyl hóa có este hoạt tính (như SUNBRIGHT MEGC-30TS (nhãn hiệu), NOF Corp.) được liên kết với nhóm amino chứa hợp chất (I).

(2) thuốc thử PEGyl hóa có aldehyt (như SUNBRIGHT ME-300AL (nhãn hiệu), NOF Corp.) được liên kết với nhóm amino chứa hợp chất (I).

(3) thuốc thử liên kết ngang hóa trị hai (như GMBS (Dojindo Laboratories), EMCS (Dojindo Laboratories), KMUS (Dojindo Laboratories), SMCC (Pierce)) được liên kết với hợp chất (I), mà sau đó liên kết với thuốc thử PEGyl hóa có nhóm thiol (như SUNBRIGHT ME-300-SH (nhãn hiệu), NOF Corp.).

(4) Nhóm thiol được đưa vào hợp chất (I) bằng một chất dẫn SH (như gốc D-xystein, gốc L-xystein, thuốc thử Traut's), và nhóm thiol này được cho phản ứng với thuốc thử PEGyl hóa có nhóm maleimit (như SUNBRIGHT ME-300MA (nhãn hiệu), NOF Corp.).

(5) Nhóm thiol được đưa vào hợp chất (I) bằng chất dẫn SH (như gốc D-xystein, gốc L-xystein, thuốc thử Traut's), và nhóm thiol này được cho phản ứng với thuốc thử PEGyl hóa có nhóm iodoaxetamit (như SUNBRIGHT ME-300IA (nhãn hiệu), NOF Corp.).

(6) Axit ω -aminocarboxylic hoặc axit α -amino được đưa vào nhóm amino đầu cuối mạch N chứa hợp chất (I) dưới dạng chất liên kết, và nhóm amino dẫn xuất từ chất liên kết này được cho phản ứng với thuốc thử PEGyl hóa có este hoạt tính (như SUNBRIGHT MEGC-30TS (nhãn hiệu), NOF Corp.).

(7) Axit ω -aminocarboxylic hoặc axit α -amino được đưa vào nhóm N-terminal amino chứa hợp chất (I) dưới dạng chất liên kết, và nhóm amino dẫn xuất từ chất liên kết này được cho phản ứng với thuốc thử PEGyl hóa có nhóm aldehyt (như SUNBRIGHT ME-300AL (nhãn hiệu), NOF Corp.).

Ngoài ra, hợp chất (I) có thể là solvat (như hydrat) hoặc không solvat (như không hydrat).

Hợp chất (I) có thể được đánh dấu bằng chất đồng vị (như ^3H , ^{14}C , ^{35}S , ^{125}I) hoặc tương tự.

Ngoài ra, hợp chất (I) có thể là dạng chuyển hóa đơteri trong đó ^1H được chuyển hóa thành $^2\text{H}(\text{D})$.

Hợp chất (I) được đánh dấu hoặc thế bằng chất đồng vị có thể được sử dụng dưới dạng, ví dụ, chất đánh dấu (chất đánh dấu PET) để sử dụng trong Positron Emission Tomography (PET), và hữu ích trong lĩnh vực chuẩn đoán y khoa và tương tự.

Đối với các peptit được đề cập ở đây, đầu bên trái là đầu tận cùng N (đầu tận cùng amino) và đầu bên phải là đầu tận cùng C (đầu tận cùng carboxyl) theo cách đánh dấu peptit thông thường. Đầu tận cùng C của peptit có thể là bất kỳ nhóm amit ($-\text{CONH}_2$), nhóm carboxyl ($-\text{COOH}$), carboxylat ($-\text{COO}^-$), alkylamit ($-\text{CONHR}^a$), và este ($-\text{COOR}^a$). Đặc biệt, amit ($-\text{CONH}_2$) được ưu tiên.

Hợp chất (I) có thể ở dạng muối. Các ví dụ về muối này gồm muối kim loại, muối amoni, muối có bazơ hữu cơ, muối có axit vô cơ, muối có axit hữu cơ, muối có axit amin có tính bazơ hoặc axit, và tương tự.

Các ví dụ ưu tiên về muối kim loại gồm muối kim loại kiềm như muối natri, muối kali và tương tự; muối kim loại kiềm thổ như muối canxi, muối magiê, muối bari và tương tự; muối nhôm và tương tự.

Các ví dụ ưu tiên về muối có bazơ hữu cơ gồm muối có trimetylamin, trietylamin, pyridin, picolin, 2,6-lutidin, etanolamin, dietanolamin, trietanolamin, xyclohexylamin, dixyclohexylamin, N,N-dibenzyletylendiamin và tương tự.

Các ví dụ ưu tiên về muối có axit vô cơ gồm muối có axit clohydric, axit bromhydric, axit nitric, axit sulfuric, axit phosphoric và tương tự.

Các ví dụ ưu tiên về muối có axit hữu cơ gồm muối có axit formic, axit axetic, axit trifloaxetic, axit phtalic, axit fumaric, axit oxalic, axit tartaric, axit maleic, axit xitric, axit suxinic, axit malic, axit metansulfonic, axit benzensulfonic, axit p-toluensulfonic và tương tự.

Các ví dụ ưu tiên về muối có axit amin có tính bazơ bao gồm muối có arginin, lyzin, ornitin và tương tự. Các ví dụ ưu tiên về muối có axit amin có tính axit bao gồm muối có axit aspartic, axit glutamic và tương tự.

Trong số các muối nêu trên, muối được dụng được ưu tiên. Ví dụ, khi hợp chất có nhóm chức có tính axit, muối vô cơ như muối kim loại kiềm (như muối natri, muối kali v.v.), muối kim loại kiềm thổ (như muối canxi, muối magiê, muối bari v.v.) và tương tự, muối amoni v.v., và khi hợp chất có nhóm chứa có tính bazơ, ví dụ, muối có axit vô cơ như axit clohydric, axit bromhydric, axit nitric, axit sulfuric, axit phosphoric và tương tự, hoặc muối có axit hữu cơ như axit axetic, axit phtalic, axit fumaric, axit oxalic, axit tartaric, axit maleic, axit xitric, axit suxinic, axit metansulfonic, axit p-toluensulfonic và tương tự được ưu tiên.

Hợp chất (I) có thể được sử dụng ở dạng tiền dược chất.

Tiền dược chất có nghĩa là hợp chất được chuyển hóa thành hợp chất (I) bằng một phản ứng do enzym, axit gastric, v.v. dưới điều kiện sinh lý trong cơ thể sống, tức là, hợp chất mà được chuyển hóa thành hợp chất (I) bằng oxy hóa, khử, thủy phân, v.v. theo một enzym; hợp chất mà được chuyển hóa thành hợp chất (I) bằng thủy phân v.v. do axit gastric, v.v..

Các ví dụ về tiền dược chất của hợp chất (I) bao gồm hợp chất trong đó amino chứa hợp chất (I) được axyl hóa, alkyl hóa hoặc phosphoryl hóa (như hợp chất trong đó amino chứa hợp chất (I) được eicosanoyl hóa, alanyl hóa, pentylaminocarbonyl hóa, (5-metyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl)metoxycarbonyl hóa, tetrahydrofuranyl hóa, pyrrolidylmetyl hóa, pivaloyloxymetyl hóa hoặc tert-butyl hóa, và tương tự); hợp chất trong đó hydroxy chứa hợp chất (I) được axyl hóa, alkyl hóa, phosphoryl hóa hoặc borat hóa (như hợp chất trong đó hydroxy chứa hợp chất (I) được axetyl hóa, palmitoyl hóa, propanoyl hóa, pivaloyl hóa, suxinyl hóa, fumaryl hóa, alanyl hóa hoặc dimethylaminometylcarbonylat hóa); hợp chất trong đó carboxy chứa hợp chất (I) được este hóa hoặc amit hóa (như hợp chất trong đó carboxy chứa hợp chất (I) được C₁₋₆ alkyl este hóa, phenyl este hóa, carboxymetyl este hóa, dimethylaminometyl este hóa, pivaloyloxymetyl

este hóa, etoxycarbonyloxyetyl este hóa, phtalidyl este hóa, (5-metyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl)metyl este hóa, xyclohexyloxycarbonyletyl este hóa hoặc metylamit hóa) và tương tự. Trong số các hợp chất khác, hợp chất trong đó carboxy chứa hợp chất (I) được este hóa bằng C_{1-6} alkyl như metyl, etyl, tert-butyl hoặc tương tự tốt hơn được sử dụng. Các hợp chất này có thể được điều chế từ hợp chất (I) bằng phương pháp đã biết.

Tiền dược chất của hợp chất (I) cũng có thể là tiền dược chất được chuyển hóa thành hợp chất (I) dưới điều kiện sinh lý, như các tiền dược chất được mô tả trong IYAKUHIN no KAIHATSU (Development of Pharmaceuticals), Vol,7, Design of Molecules, p,163-198, do HIROKAWA SHOTEN xuất bản (1990).

Trong bản mô tả, tiền dược chất có thể tạo thành muối. Các ví dụ về muối này gồm các tiền dược chất được lấy làm ví dụ dưới dạng muối của hợp chất (I).

Hợp chất (I) có thể là tinh thể. Các tinh thể có dạng tinh thể đơn hoặc hỗn hợp các dạng đa tinh thể cũng được bao hàm trong hợp chất (I). Các tinh thể có thể được điều chế bằng cách tinh thể hóa hợp chất (I) theo phương pháp tinh thể hóa đã biết.

Ngoài ra, hợp chất (I) có thể là đồng tinh thể dược dụng hoặc muối đồng tinh thể. Ở đây, đồng tinh thể hoặc muối đồng tinh thể có nghĩa là chất tái kết tinh gồm hai hoặc nhiều chất mà cụ thể là các chất rắn ở nhiệt độ trong phòng, mỗi chất có các đặc tính vật lý khác nhau (như cấu trúc, điểm nóng chảy, nhiệt độ nóng chảy, độ hút ẩm, khả năng hòa tan, tính ổn định v.v.). Đồng tinh thể và muối đồng tinh thể có thể được điều chế bởi đồng tinh thể hóa đã biết.

Tinh thể chứa hợp chất (I) nổi trội về các đặc tính hóa lý (như điểm nóng chảy, khả năng hòa tan, tính ổn định) và các đặc tính sinh lý (như dược động học (hấp thu, phân phối, trao đổi, bài tiết), biểu hiện hiệu quả), và vì thế nó đặc biệt hữu ích làm thuốc.

Hợp chất (I) và tiền dược chất của nó (dưới đây đôi khi được viết tắt là hợp chất theo sáng chế) có hoạt tính hoạt hóa trên thụ thể GLP-1 và thụ thể GIP.

Hợp chất theo sáng chế có hoạt tính hoạt hóa cao trên thụ thể GLP-1 và thụ thể GIP, cụ thể là, *in vivo*.

GLP-1 và GIP là các hormon dạ dày được gọi là incretin, và có hoạt tính thúc đẩy bài tiết insulin từ tuyến tụy. Vì incretin có liên quan mật thiết đến chuyển hóa glucoza nên hợp chất có hoạt tính hoạt hóa trên thụ thể GLP-1 và thụ thể GIP hữu ích để phòng hoặc điều trị các triệu chứng có liên quan đến rối loạn chuyển hóa glucoza, bao gồm bệnh béo phì.

Vì thế, hợp chất theo sáng chế có hoạt tính ức chế thức ăn, hoạt tính ức chế tăng cân và tương tự.

Ngoài ra, hợp chất theo sáng chế có khả năng hòa tan cao. Khả năng hòa tan của hợp chất theo sáng chế trong nước tốt hơn là từ 1mg/ml hoặc cao hơn, tốt hơn nữa là từ 10mg/ml hoặc cao hơn.

Hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng làm chất hoạt hóa của thụ thể GLP-1 và thụ thể GIP (đồng chủ vận thụ thể GLP-1/thụ thể GIP).

Theo sáng chế, chất hoạt hóa thụ thể GLP-1 và thụ thể GIP (đồng chủ vận thụ thể GLP-1/thụ thể GIP) là chất có cả hai hoạt tính hoạt hóa thụ thể GLP-1 (hoạt tính chủ vận thụ thể GLP-1) và hoạt tính hoạt hóa thụ thể GIP (hoạt tính chủ vận thụ thể GIP). Cụ thể là, chất hoạt hóa của thụ thể GLP-1 và thụ thể GIP (Đồng chủ vận thụ thể GLP-1/thụ thể GIP) là chất trong đó EC₅₀ kháng thụ thể GLP-1 và EC₅₀ kháng thụ thể GIP là 1:20 đến 20:1, tốt hơn là từ 1:5 đến 5:1.

Hợp chất theo sáng chế có hoạt tính hoạt hóa thụ thể glucagon thấp (chủ vận thụ thể glucagon), và vì thế có hoạt tính làm giảm đường huyết có liên quan. EC₅₀ chứa hợp chất theo sáng chế kháng thụ thể glucagon là 1/1000 hoặc thấp hơn, tốt hơn là từ 1/10000 hoặc thấp hơn, so với EC₅₀ chứa hợp chất theo sáng chế kháng thụ thể GLP-1 hoặc thụ thể GIP.

Hợp chất theo sáng chế có độc tố (như độc tố cấp tính, độc tố mạn tính, độc tố di truyền, độc tố sinh sản, độc tố hại tim, độc gây ung thư) thấp và ít tác dụng phụ và có thể được sử dụng an toàn cho động vật có vú (như người, bò,

ngựa, chó, mèo, khỉ, chuột, chuột nhắt) dưới dạng thuốc phòng hoặc điều trị nhiều loại bệnh được đề cập dưới đây và tương tự.

Hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng dưới dạng thuốc phòng hoặc điều trị nhiều loại bệnh bao gồm bệnh béo phì nhờ hoạt tính hoạt hóa trên thụ thể GLP-1 và thụ thể GIP nêu trên. Hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng dưới dạng thuốc phòng hoặc điều trị, ví dụ, bệnh béo phì triệu chứng, bệnh béo phì đơn thuần, trạng thái bệnh hoặc bệnh có liên quan đến béo phì, rối loạn thức ăn, đái tháo đường (như đái tháo đường typ 1, đái tháo đường typ 2, đái tháo đường thời kỳ thai nghén, đái tháo đường do béo phì), tăng lipid huyết (tăng triglycerit huyết như, tăng cholesterol huyết, LDL – cholesterol huyết cao, HDL – cholesterol huyết thấp, tăng lipid huyết sau ăn), cao huyết áp, suy tim, biến chứng đái tháo đường (như bệnh thần kinh, bệnh thận, bệnh võng mạc, bệnh cơ tim do đái tháo đường, đục thủy tinh thể, mạch máu lớn, thiếu xương, hôn mê do đái tháo đường, bệnh nhiễm trùng (như nhiễm trùng đường hô hấp, nhiễm trùng đường tiết niệu, nhiễm trùng đường ruột, nhiễm trùng mô da mềm, nhiễm trùng chi dưới), hoại tử do đái tháo đường, khô miệng, chứng giảm lực, rối loạn mạch máu não, rối loạn tuần hoàn máu ngoại vi), hội chứng chuyển hóa (các trạng thái bệnh từ 3 hoặc nhiều hơn các chứng tăng triglycerit(TG) huyết, HDL cholesterol(HDL-C) huyết thấp, huyết áp cao, béo phì bất thường và dung nạp glucoza bị suy giảm), thiếu cơ và tương tự.

Các ví dụ về triệu chứng béo phì gồm béo phì do nội tiết (như hội chứng Cushing, suy giáp, u insulin, đái tháo đường typ 2 do béo phì, giảm năng tuyến cận giáp giả, thiếu năng sinh dục), béo phì trung tâm (như béo phì ở vùng dưới đồi, hội chứng thùy trán, hội chứng Kleine - Levin), béo phì di truyền (như hội chứng Prader - Willi, hội chứng Laurence- moon- Biedl) , béo phì do thuốc (như steroid, phenothiazin, insulin, thuốc sulfonylurea (SU), béo phì do β - blocker) và tương tự.

Các ví dụ về trạng thái bệnh hoặc bệnh liên quan đến đái tháo đường bao gồm rối loạn dung nạp glucoza, đái tháo đường (cụ thể là đái tháo đường typ 2, đái tháo đường do béo phì), chuyển hóa lipid bất thường (đồng nghĩa với

tăng lipid huyết nêu trên), cao huyết áp, suy tim, tăng axit uric huyết.gút, gan nhiễm mỡ (bao gồm cả viêm gan nhiễm mỡ không do rượu), bệnh tim mạch vành (nhồi máu cơ tim, đau thắt ngực), nhồi máu não (não huyết khối, cơn thiếu máu não cục bộ tạm thời), bệnh xương/khớp (viêm xương khớp đầu gối, viêm xương khớp hông, viêm xương cột sống, đau lưng), hội chứng ngưng thở khi ngủ/hội chứng Pickwick, rối loạn kinh nguyệt (chu kỳ kinh nguyệt bất thường, bất thường của chu kỳ kinh nguyệt và xuất huyết, vô kinh, triệu chứng kinh nguyệt bất thường), hội chứng chuyển hóa và tương tự.

Các tiêu chí chẩn đoán mới được Hội đái tháo đường Nhật báo cáo năm 1999 về các tiêu chí chẩn đoán bệnh đái tháo đường.

Theo báo cáo này, đái tháo đường là tình trạng gia tăng mức glucoza huyết (nồng độ glucoza trong huyết tương tĩnh mạch) đến 126mg/dl hoặc cao hơn, trị số sau 2 giờ (nồng độ glucoza trong huyết tương tĩnh mạch) của 200mg/dl hoặc cao hơn trong thử nghiệm độ dung nạp glucoza qua đường miệng 75g (75g OGTT), và mức glucoza huyết thông thường (nồng độ glucoza trong huyết tương tĩnh mạch) là 200mg/dl hoặc cao hơn. Ngoài ra, tình trạng mà không áp dụng với bệnh đái tháo đường nêu trên, và không phải là tình trạng biểu hiện “mức tăng glucoza huyết (nồng độ glucoza trong huyết tương tĩnh mạch) ít hơn 110mg/dl hoặc trị số sau 2 giờ (nồng độ glucoza trong huyết tương tĩnh mạch) ít hơn 140mg/dl trong thử nghiệm độ dung nạp glucoza qua đường miệng 75g (75g OGTT)” (dạng bình thường) được gọi là “dạng ranh giới”.

Ngoài ra, tiêu chí chẩn đoán mới được Hiệp hội đái tháo đường Mỹ (American Diabetes Association-ADA) báo cáo năm 1997 và Tổ chức y tế thế giới (World Health Organization-WHO) báo cáo năm 1998 về các tiêu chí chẩn đoán bệnh đái tháo đường.

Theo các báo cáo này, đái tháo đường là trạng thái gia tăng mức glucoza huyết (nồng độ glucoza trong huyết tương tĩnh mạch) đến 126mg/dl hoặc cao hơn và trị số sau 2 giờ (nồng độ glucoza trong huyết tương tĩnh mạch) đến 200mg/dl hoặc cao hơn trong thử nghiệm độ dung nạp glucoza qua đường miệng 75g.

Theo các báo cáo nêu trên, dung nạp glucoza bị suy giảm là tình trạng gia tăng mức glucoza huyết (nồng độ glucoza trong huyết tương tĩnh mạch) ít hơn 126mg/dl và trị số sau 2 giờ (nồng độ glucoza trong huyết tương tĩnh mạch) là 140mg/dl hoặc cao hơn và ít hơn 200mg/dl trong thử nghiệm độ dung nạp glucoza qua đường miệng 75g. Theo báo cáo của ADA, tình trạng biểu hiện gia tăng mức glucoza huyết (nồng độ glucoza trong huyết tương tĩnh mạch) là 110mg/dl hoặc cao hơn và ít hơn 126mg/dl được gọi là IFG (Impaired Fasting Glucoza-giảm dung nạp glucoza lúc đói). Mặt khác, theo báo cáo của WHO, tình trạng IFG (Impaired Fasting Glucoza) biểu hiện trị số sau 2 giờ (nồng độ glucoza trong huyết tương tĩnh mạch) ít hơn 140mg/dl trong thử nghiệm độ dung nạp glucoza qua đường miệng 75g được gọi là IFG (Impaired Fasting Glycemia-tổn thương đường huyết lúc đói).

Hợp chất theo sáng chế cũng được sử dụng dưới dạng thuốc phòng hoặc điều trị đái tháo đường được xác định theo các tiêu chí chẩn đoán mới, đái tháo đường dạng ranh giới, dung nạp glucoza bị suy giảm, IFG (Impaired Fasting Glucoza) và IFG (Impaired Fasting Glycemia). Ngoài ra, hợp chất theo sáng chế có thể ngăn chặn sự tiến triển của dạng ranh giới, dung nạp glucoza bị suy giảm, IFG (Impaired Fasting Glucoza) hoặc IFG (Impaired Fasting Glycemia) thành bệnh đái tháo đường.

Hợp chất theo sáng chế có tác dụng ức chế tăng trọng lượng, và như vậy, có thể được sử dụng dưới dạng chất ức chế tăng trọng lượng cho động vật có vú. Động vật có vú mà cho sử dụng hợp chất theo sáng chế có thể là đối tượng mong muốn không bị tăng cân. Động vật có vú có thể là động vật có vú có rủi ro tăng cân do di truyền, hoặc động vật có vú bị nhiễm bệnh liên quan đến cách sống như đái tháo đường, cao huyết áp và/hoặc tăng lipit huyết. Tăng cân có thể do ăn quá nhiều hoặc khẩu phần ăn không cân bằng, hoặc có thể tăng cân do sử dụng thuốc đồng phát (như các chất làm nhạy insulin có hoạt tính giống chủ vận PPAR γ , như troglitazon, rosiglitazon, englitazon, ciglitazon, pioglitazon và tương tự). Một trường hợp khác, tăng cân có thể là tăng cân trước khi bị béo phì, hoặc có thể là tăng cân ở bệnh nhân béo phì. ở đây, béo phì được định nghĩa là

chỉ số khối cơ thể (BMI: thể trọng (kg) ÷ [chiều cao (m)]²) là 25 hoặc cao hơn (theo tiêu chí của Hiệp hội nghiên cứu về bệnh béo phì Nhật Bản) đối với người Nhật và BMI là 30 hoặc cao hơn (theo tiêu chí của WHO) đối với người phương tây.

Hợp chất theo sáng chế cũng hữu ích làm thuốc phòng và điều trị hội chứng chuyển hóa. Tỷ lệ mắc bệnh tim mạch cao đáng kể ở những bệnh nhân mắc hội chứng chuyển hóa, so với những bệnh nhân chỉ có bệnh liên quan đến lối sống. Như vậy, việc phòng hoặc điều trị hội chứng chuyển hóa là cực kỳ quan trọng đối với việc ngăn ngừa bệnh tim mạch. Các tiêu chí chẩn đoán hội chứng chuyển hóa được WHO công bố năm 1999 và NCEP công bố năm 2001. Theo tiêu chí chẩn đoán của WHO, người bị tăng insulin huyết hoặc dung nạp glucoza bất thường là một tiêu chí và có từ hai trong số bệnh béo phì nội tạng, rối loạn lipid huyết (TG cao hoặc HDL thấp) và cao huyết áp được chẩn đoán là bị hội chứng chuyển hóa (World Health Organization: Definition, Diagnosis and Classification of Diabete Mellitus and Its Complications. Part I: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, World Health Organization, Geneva, 1999). Theo tiêu chí chẩn đoán của Bảng điều trị cho người trưởng thành III của Chương trình giáo dục về cholesterol quốc gia (hướng dẫn về bệnh tim do thiếu máu cục bộ) tại Mỹ, một người có ít nhất ba trong số các bệnh béo phì nội tạng, tăng triglixerit huyết, HDL-cholesterol huyết thấp, cao huyết áp và dung nạp glucoza bất thường được chẩn đoán là bị hội chứng chuyển hóa (National Cholesterol Education Program: Executive Summary of the Third Report of National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adults Treatment Panel III). The Journal of the American Medical Association, Vol. 285, 2486-2497, 2001).

Hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng dưới dạng thuốc phòng và điều trị, ví dụ, loãng xương, suy mòn (như suy mòn do ung thư, suy mòn do lao, suy mòn do đái tháo đường, suy mòn liên quan đến bệnh máu, suy mòn

liên quan đến bệnh nội tiết, suy mòn liên quan đến bệnh truyền nhiễm hoặc suy mòn gây ra bởi hội chứng suy giảm miễn dịch), gan nhiễm mỡ, hội chứng buồng trứng đa nang, bệnh thận (như suy thận mãn tính, bệnh thận do đái tháo đường, viêm cầu thận, xơ cứng tiểu cầu thận, hội chứng thận hư, xơ cứng mạch thân do cao huyết áp, bệnh thận giai đoạn cuối), bệnh teo cơ, nhồi máu cơ tim, đau thắt ngực, rối loạn mạch máu não (như nhồi máu não, đột quỵ), bệnh Alzheimer, bệnh Parkinson, chứng lo âu, mất trí nhớ, hội chứng kháng insulin, hội chứng X, tăng insulin huyết, dị cảm do tăng insulin huyết, tiêu chảy mãn tính hoặc cấp tính, bệnh viêm (như viêm khớp dạng thấp mãn tính, viêm xương cột sống, viêm xương khớp, đau lưng, bệnh gút, viêm sau phẫu thuật hoặc chấn thương, đầy hơi, đau dây thần kinh, viêm thanh quản hầu, viêm bàng quang, viêm gan (bao gồm cả viêm gan nhiễm mỡ không do rượu), viêm phổi, viêm tụy, viêm ruột, viêm đại tràng (bao gồm cả viêm ruột già), viêm loét đại tràng, tổn thương niêm mạc dạ dày (bao gồm chấn thương niêm mạc dạ dày do dùng aspirin)), tổn thương niêm mạc ruột non, kém hấp thu, rối loạn chức năng tinh hoàn, hội chứng béo phì nội tạng và thiếu cơ.

Ngoài ra, hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng dưới dạng thuốc phòng hoặc điều trị các loại bệnh ung thư (cụ thể là, ung thư vú (như ung thư vú do ống dẫn sữa xâm lấn, ung thư vú do ống dẫn sữa không xâm lấn, ung thư vú do viêm, vv.), ung thư tuyến tiền liệt (ung thư tuyến tiền liệt phụ thuộc hormon, ung thư tuyến tiền liệt không phụ thuộc hormon, v.v.), ung thư tuyến tụy (như ung thư tuyến ống tụy, vv.), ung thư dạ dày (như ung thư tuyến nhú, ung thư tuyến nhầy, ung thư biểu mô tuyến vảy, vv.), ung thư phổi (ung thư phổi không tiểu tế bào, ung thư phổi tiểu tế bào, u trung biểu mô ác tính, vv.), ung thư ruột kết (như u mô đệm đường tiêu hóa, vv.), ung thư đại trực tràng (như ung thư ruột có tính chất gia đình, ung thư đại trực tràng di truyền không do polyp, u mô đệm đường tiêu hóa, vv.), ung thư ruột non (như u lymphô phi Hodgkin, u mô đệm đường tiêu hóa, vv.), ung thư thực quản, ung thư tá tràng, ung thư lưỡi, ung thư họng (như ung thư vòm họng, ung thư hầu họng, ung thư hypopharyngeal (phần họng trên ống dẫn thức ăn), vv.), ung thư tuyến nước bọt, u não (như u sao bào tủy, u sao bào pilocytic, u sao bào

khuếch tán, u sao bào không biệt hoá, vv.), neurilemmoma, ung thư gan (như ung thư gan nguyên phát, ung thư đường mật vùng rốn gan, vv.), ung thư thận (như ung thư tế bào thận, ung thư tế bào chuyển tiếp của chậu thận và niệu quản, vv.), ung thư ống mật, ung thư nội mạc tử cung, ung thư cổ tử cung, ung thư buồng trứng (như ung thư biểu mô buồng trứng, khối u tế bào mầm extragonadal, khối u tế bào mầm buồng trứng, khối u buồng trứng ác tính thấp, vv.), ung thư bàng quang, ung thư niệu đạo, ung thư da (như khối u ác tính nội nhãn (mắt), ung thư biểu mô tế bào Merkel, vv.), hemangioma, u lympho ác tính, khối u ác tính, ung thư tuyến giáp (như ung thư tuyến giáp dạng tuỷ, vv.), ung thư tuyến cận giáp, ung thư khoang mũi, ung thư xoang, khối u xương (như u xương ác tính, u Ewing, sarcoma tử cung, sarcoma mô mềm, vv.), angiofibroma, sarcoma của võng mạc, ung thư dương vật, ung thư tinh hoàn, khối u rắn nhi (như khối u Wilms, ung thư thận ở trẻ em, vv.), sarcoma Kaposi, sarcoma Kaposi do AIDS, ung thư xoang hàm trên, xơ histiocytoma, leiomyosarcoma, rhabdomyosarcoma, ung thư máu (như bệnh bạch cầu dòng tuỷ ác tính, bệnh bạch cầu lympho ác tính v.v.), v.v.).

Hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng để phòng hoặc ức chế sự tiến triển thứ yếu của các loại bệnh như nêu trên (như các biến cố tim mạch như nhồi máu cơ tim và tương tự). Ngoài ra, hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng như chất ức chế thèm ăn và chất ức chế tăng cân. Hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng kết hợp với liệu trình ăn kiêng (như liệu trình ăn kiêng cho bệnh đái tháo đường), và tập thể dục trị liệu.

Thuốc chứa hợp chất theo sáng chế có độc tố thấp được bào chế bằng cách sử dụng riêng hợp chất theo sáng chế hoặc kết hợp với một chất mang được dụng theo phương pháp đã biết (như phương pháp được mô tả trong Dược điển Nhật Bản) mà thông thường được sử dụng như các phương pháp bào chế dược phẩm, và an toàn sử dụng dưới dạng dược phẩm sử dụng đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa (như sử dụng cục bộ, qua trực tràng, trong tĩnh mạch, ví dụ, viên nén (gồm viên nén phủ đường, viên nén bao phim, viên nén ngậm dưới lưỡi, viên nén tan trong miệng), bột, hạt, viên nang (gồm viên

nang mềm, vi nang), chất lỏng, viên dẹt, xirô, nhũ tương, huyền phù, thuốc tiêm (như tiêm dưới da, tiêm tĩnh mạch, tiêm bắp, tiêm màng bụng vv.), chế phẩm dùng bên ngoài (như chế phẩm dùng qua mũi, chế phẩm da, thuốc mỡ), viên đạn (như viên đạn qua trực tràng, viên đặt âm đạo), viên đạn nhỏ, chế phẩm nhỏ mũi, chế phẩm dùng qua phổi (thuốc xông), chế phẩm truyền và tương tự.

Các chế phẩm này có thể là chế phẩm giải phóng có kiểm soát như chế phẩm giải phóng nhanh, chế phẩm giải phóng chậm và tương tự (như vi nang giải phóng chậm).

Hàm lượng của hợp chất theo sáng chế trong dược phẩm nằm trong khoảng từ 0,01 - 100% trọng lượng toàn bộ chế phẩm.

Chất mang dược dụng nêu trên có thể được lấy làm ví dụ là các nguyên liệu chất mang hữu cơ hoặc vô cơ mà thông thường được sử dụng dưới dạng nguyên liệu bào chế, ví dụ, tá dược, chất bôi trơn, chất dính và chất phân rã cho chế phẩm rắn; hoặc dung môi, chất hòa tan, chất tạo huyền phù, chất đồng notron, chất đệm, chất làm dịu và tương tự cho chế phẩm lỏng. Ngoài ra, nếu cần thiết, các chất phụ gia thông thường như chất bảo quản, chất chống oxy hóa, chất tạo màu, chất làm ngọt, chất hấp thu, chất tạo ẩm và tương tự cũng có thể được sử dụng một cách thích hợp theo một lượng phù hợp.

Các ví dụ về tá dược bao gồm lactoza, sucroza, D-manitol, tinh bột, tinh bột ngô, xenluloza tinh thể, axit silixic khan nhẹ và tương tự.

Các ví dụ về chất bôi trơn bao gồm magiê stearat, canxi stearat, đá tan, silica dạng keo và tương tự.

Các ví dụ về chất kết dính bao gồm xenluloza tinh thể, sucroza, D-manitol, dextrin, hydroxypropylxenluloza, hydroxypropylmetylxenluloza, polyvinylpyrrolidon, tinh bột, sucroza, gelatin, metylxenluloza, carboxymetylxenluloza natri và tương tự.

Các ví dụ về chất phân rã gồm tinh bột, carboxymetylxenluloza, carboxymetylxenluloza canxi, natri carboxymetyl tinh bột, L-hydroxypropylxenluloza và tương tự.

Các ví dụ về dung môi gồm nước cho dung dịch tiêm, rượu, propylen glycol, Macrogol, dầu vừng, dầu ngô, dầu ôliu và tương tự.

Các ví dụ về chất hòa tan gồm polyetylen glycol, propylen glycol, D-manitol, benzyl benzoat, etanol, trisaminometan, cholesterol, trietanolamin, natri carbonat, natri xitrat và tương tự.

Các ví dụ về chất tạo huyền phù gồm các chất nổi bề mặt như stearyl trietanolamin, natri lauryl sulfat, laurylaminopropionic, axit lexitin, benzalkoni clorua, benzetoni clorua, glyxerin monostearat và tương tự; các polyme ưa nước như rượu polyvinyl, polyvinylpyrrolidon, carboxymetylxenluloza natri, metyloxenluloza, hydroxymetylxenluloza, hydroxyetylxenluloza, hydroxypropylxenluloza và tương tự; và tương tự.

Các ví dụ về chất đẳng trương gồm glucoza, D-sorbitol, natri clorua, glyxerin, D-manitol và tương tự.

Các ví dụ về chất đệm gồm các dung dịch đệm như phosphat, axetat, carbonat, xitrat và tương tự.

Các ví dụ về chất làm dịu gồm rượu benzylic và tương tự.

Các ví dụ về chất bảo quản gồm các este của axit parahydroxybenzoic, clobutanol, rượu benzylic, rượu phenetyl, axit dehydroaxetic, axit sorbic và tương tự.

Các ví dụ về chất chống oxy hóa gồm các sulfit, axit ascorbic, α -tocopherol và tương tự.

Các ví dụ về chất tạo màu bao gồm các chất màu nước nhựa đường dùng cho thực phẩm tan trong nước (ví dụ, các chất màu thực phẩm như Màu đỏ thực phẩm số 2 và 3, màu vàng thực phẩm số 4 và 5, màu xanh thực phẩm số 1 và 2 và tương tự), chất nhuộm màu đỏ tía tan trong nước (ví dụ, như muối nhôm của

chất màu nhựa đường tan trong nước nêu trên) và thuốc nhuộm tự nhiên (ví dụ, β -caroten, clophyll, oxit sắt đỏ) và tương tự.

Các ví dụ về chất tạo ngọt gồm sacarin natri, dikali glyxyrizinat, chất tạo vị ngọt, stevia và tương tự.

Các ví dụ về chất hấp thu bao gồm tinh bột xốp, canxi silicat (nhãn hiệu: Florite RE), magiê alumino metasilicat (nhãn hiệu: Neusilin) và axit silic khan nhẹ (nhãn hiệu: Syllysia).

Các ví dụ về chất làm ẩm bao gồm propylen glycol monostearat, sorbitan monooleat, dietylen glycol monolaurat và polyoxyetylenlauryl ete.

Trong khi bào chế chế phẩm dùng qua đường miệng, có thể phủ nếu cần nhằm mục đích giấu vị, đặc tính tan trong ruột hoặc độ ổn định.

Ví dụ về nền phủ được sử dụng để phủ bao gồm nền phủ đường, nền phủ dạng màng tan trong nước, nền phủ dạng phim tan trong ruột và nền phủ dạng phim giải phóng kéo dài.

Với nền phủ đường, sucroza được sử dụng. Ngoài ra, một hoặc các loại được chọn từ bột talc, canxi cacbonat kết tủa, gelatin, gôm arabic, gôm pullulan, sáp cacnauba và tương tự có thể được sử dụng kết hợp.

Ví dụ về nền phủ dạng màng tan trong nước bao gồm xenluloza polyme như hydroxypropyl xenluloza, hydroxypropylmetyl xenluloza, hydroxyetyl xenluloza, metylhydroxyetyl xenluloza, v.v.; polyme tổng hợp như polyvinylaxetal dietylaminooxetat, aminoalkyl metacrylat copolyme E (Eudragit E (nhãn hiệu)), polyvinylpyrrolidon, v.v.; và polysacarit như pullulan, v.v..

Ví dụ về nền phủ dạng màng tan trong ruột bao gồm polyme xenluloza như hydroxypropylmetyl xenluloza phtalat, hydroxypropylmetyl xenluloza axetat suxinat, carboxymetyetyl xenluloza, xenluloza axetat phtalat, v.v.; polyme acrylic như copolyme axit metacrylic L (Eudragit L (nhãn hiệu)), copolyme axit metacrylic LD (Eudragit L-30D55 (nhãn hiệu)), copolyme axit metacrylic S (Eudragit S (nhãn hiệu)), v.v.; và các chất có trong tự nhiên như senlac, v.v..

Ví dụ về nền phủ dạng màng giải phóng kéo dài bao gồm polyme xenluloza như etyl xenluloza, v.v.; và polyme acrylic như copolyme aminoalkyl metacrylat RS (Eudragit RS (nhãn hiệu)), huyền phù copolyme etyl acrylat-metyl metacrylat (Eudragit NE (nhãn hiệu)), v.v..

Các nền phủ nêu trên có thể được sử dụng sau khi trộn với hai hoặc nhiều loại ở các tỷ lệ thích hợp. Để phủ, ví dụ, tác nhân chắn sáng như titan oxit, sắt đỏ (III) oxit và tương tự có thể được sử dụng.

Liều lượng hợp chất theo sáng chế thay đổi phụ thuộc đối tượng sử dụng, đường sử dụng, bệnh đích, các triệu chứng, v.v.. Ví dụ, khi hợp chất được sử dụng qua đường miệng ở bệnh nhân béo phì hoặc đái tháo đường (trọng lượng cơ thể 60kg), liều lượng hàng ngày của hợp chất theo sáng chế là khoảng 0,1 đến 100mg, tốt hơn là từ 1,0 đến 50mg, tốt hơn nữa là từ 1,0 đến 20mg. Khi hợp chất theo sáng chế được sử dụng ngoài đường tiêu hóa cho bệnh nhân béo phì hoặc đái tháo đường (trọng lượng cơ thể 60 kg), liều lượng hàng ngày của hợp chất theo sáng chế là khoảng từ 0,01 đến 30mg, tốt hơn là từ 0,1 đến 20mg, tốt hơn nữa là từ 0,5 đến 10mg. Lượng này có thể được sử dụng 1 đến vài phần mỗi ngày.

Hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng, ví dụ, mỗi ngày (một lần một ngày, hai lần một ngày, 3 lần một ngày, 4 lần một ngày, 5 lần một ngày, 6 lần một ngày), 2 ngày một lần, 3 ngày một lần, 4 ngày một lần, 5 ngày một lần, 6 ngày một lần, mỗi tuần một lần, 2 lần một tuần, mỗi tuần, 3 tuần một lần, mỗi tháng, 2 tháng một lần, 3 tháng một lần, 4 tháng một lần, 5 tháng một lần hoặc 6 tháng một lần.

Hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với các thuốc khác mà không gây ảnh hưởng bất lợi cho hợp chất theo sáng chế, nhằm mục đích, ví dụ, thúc đẩy hoạt tính của hợp chất theo sáng chế (điều trị hiệu quả bệnh béo phì, đái tháo đường và tương tự), làm giảm liều lượng hợp chất theo sáng chế, và tương tự.

Các ví dụ về thuốc mà có thể được sử dụng kết hợp với hợp chất theo sáng chế (sau đây được gọi là thuốc đi kèm) bao gồm thuốc chống béo phì,

thuốc điều trị bệnh đái tháo đường, thuốc điều trị các biến chứng đái tháo đường, thuốc điều trị tăng lipid huyết, thuốc chống tăng huyết áp, thuốc lợi tiểu, hóa trị liệu, miễn dịch trị liệu, thuốc chống viêm, thuốc chống đông máu, thuốc điều trị bệnh loãng xương, vitamin, thuốc chống chứng mất trí, thuốc điều trị rối loạn cương dương, thuốc điều trị chứng tiểu nhiều lần hoặc són tiểu, thuốc điều trị chứng bí tiểu và tương tự. Ví dụ cụ thể về thuốc đi kèm bao gồm các thuốc được đề cập dưới đây.

Các ví dụ về thuốc chống bệnh béo phì gồm chất ức chế hấp thu monoamin (như phentermin, sibutramin, mazindol, fluoxetin, tesofensin), chất chủ vận thụ thể serotonin 2C (như lorcaserin), đối kháng thụ thể serotonin 6, chất điều biến thụ thể histamin H3, chất điều biến GABA (như topiramate), chất đối kháng neuropeptid Y (như velneperit), chất kháng vận thụ thể cannabinoit (như rimonabant, taranabant), chất kháng vận grelin, chất kháng vận thụ thể grelin, chất ức chế enzym grelinaxyl hóa, chất kháng vận thụ thể opioit (như GSK-1521498), chất kháng vận thụ thể orexin, chất chủ vận thụ thể melanocortin 4, chất ức chế 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase (như AZD-4017), chất ức chế lipase tuyến tụy (như orlistat, cetilistat), chất chủ vận β 3 (như N-5984), chất ức chế diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1), chất ức chế acetylCoA carboxylase (ACC), các chất ức chế enzym không bão hòa stearoyl-CoA, chất ức chế protein chuyển giao microsomal triglycerit (như R-256918), chất ức chế đồng chủ vận Na-glucose (như JNJ-28431754, remogliflozin), chất ức chế NF κ (như HE-3286), chất chủ vận PPAR (như GFT-505, DRF-11605), chất ức chế phosphotyrosin phosphatase (như natri vanadat, Trodusquemine), chất chủ vận GPR119 (như PSN-821, MBX-2982, APD597), chất hoạt hóa glucokinase (như AZD-1656), leptin, dẫn xuất leptin (như metreleptin), CNTF (nhân tố thần kinh lông), BDNF (nhân tố thần kinh từ não), chất chủ vận cholecystokinin, chế phẩm amylin (như pramlintide, AC-2307), chất chủ vận neuropeptid Y (như PYY3-36, dẫn xuất của PYY3-36, obineltide, TM-30339, TM-30335), chế phẩm oxyntomodulin: chế phẩm FGF21 (như chế phẩm FGF21 động vật chiết từ tụy bò hoặc lợn; chế phẩm FGF21 người chế phẩm insulin

người được tổng hợp gen sử dụng *Escherichia coli* hoặc nấm men; phân đoạn hoặc dẫn xuất của FGF21), chế phẩm gây chán ăn (như P-57) và tương tự.

Ở đây, dưới dạng thuốc điều trị đái tháo đường, ví dụ, chế phẩm insulin (như chế phẩm insulin động vật được chiết từ tuyến tụy của bò hoặc lợn; chế phẩm insulin người được tổng hợp gen sử dụng *Escherichia coli* hoặc nấm men; insulin kẽm; insulin kẽm protamin; phân đoạn hoặc dẫn xuất của insulin (như INS-1), chế phẩm insulin dùng đường miệng), chất nhạy insulin (như pioglitazon hoặc muối của nó (tốt hơn là từ, hydroclorua), rosiglitazon hoặc muối của nó (tốt hơn là từ, maleat), Metaglidasen, AMG-131, Balaglitazon, MBX-2044, Rivoglitazon, Aleglitazar, Chiglitazar, Lobeglitazon, PLX-204, PN-2034, GFT-505, THR-0921, hợp chất được mô tả trong WO007/013694, WO2007/018314, WO2008/093639 hoặc WO2008/099794), α -chất ức chế glucosidaza (như vogliboza, acarboza, miglitol, emiglitat), biguanit (như metformin, buformin hoặc muối của nó (như hydroclorua, fumarat, suxinat)), chất kích thích bài tiết insulin (như sulfonylurea (như tolbutamit, glibenclamit, gliclazit, clorpropamit, tolazamit, axetohexamit, glycopyramit, glimepirit, glipizit, glybuzol), repaglinit, nateglinit, mitiglinit hoặc hydrat muối canxi của nó), chất ức chế dipeptidyl peptidaza IV (như Alogliptin hoặc muối của nó (tốt hơn là từ, benzoat), Vildagliptin, Sitagliptin, Saxagliptin, BI1356, GRC8200, MP-513, PF-00734200, PHX1149, SK-0403, ALS2-0426, TA-6666, TS-021, KRP-104, Trelagliptin hoặc muối của nó (tốt hơn là từ suxinat)), chất chủ vận β_3 (như N-5984), chất chủ vận GPR40 (như Fasiglifam hoặc hydrat của nó, hợp chất được mô tả trong WO2004/041266, WO2004/106276, WO2005/063729, WO2005/063725, WO2005/087710, WO2005/095338, WO2007/013689 hoặc WO2008/001931), chất ức chế SGLT2 (chất chuyển vận natri-glucoza 2) (như Depagliflozin, AVE2268, TS-033, YM543, TA-7284, Remogliflozin, ASP1941), chất ức chế SGLT1, chất ức chế 11β -hydroxysteroid dehydroaza (như BVT-3498, INCB-13739), adiponectin hoặc chất chủ vận của nó, chất ức chế IKK (như AS-2868), thuốc thúc đẩy kháng leptin, chất chủ vận thụ thể somatostatin, chất hoạt hóa glucokinaza (như Piragliatin, AZD1656, AZD6370, TTP-355, hợp chất được mô tả trong WO006/112549, WO007/028135, WO008/047821,

WO008/050821, WO008/136428 hoặc WO008/156757), chất chủ vận GPR119 (như PSN821, MBX-2982, APD597), FGF21, mô hình FGF, chất ức chế ACC2 và tương tự có thể được đề cập.

Dưới dạng thuốc điều trị các biến chứng đái tháo đường, chất ức chế andoza reductaza (như tolrestat, epalrestat, zopolrestat, fidarestat, CT-112, ranirestat (AS-3201), lidorestat), yếu tố dinh dưỡng thần kinh và thuốc tăng cường yếu tố này (như NGF, NT-3, BDNF, thuốc thúc đẩy bài tiết/tái tạo dây thần kinh được mô tả trong WO01/14372 (như 4-(4-clophenyl)-2-(2-metyl-1-imidazolyl)-5-[3-(2-metylphenoxy)propyl]oxazol), hợp chất được mô tả trong WO2004/039365), chất ức chế PKC (như ruboxistaurin mesylat), chất ức chế AGE (như ALT946, N-phenaxylthiazoli bromua (ALT766), EXO-226, Pyridorin, pyridoxamin), chất chủ vận thụ thể GABA (như gabapentin, pregabalin), chất ức chế tái hấp thu serotonin và noradrenalin (như duloxetine), chất ức chế kênh natri (như lacosamit), chất chống muối oxy hoạt tính (như axit thiocetic), chất dẫn mạch máu não (như tiapurit, mexiletin), chất chủ vận thụ thể somatostatin (như BIM23190), chất ức chế kinaza-1 điều chỉnh tín hiệu apoptosis (ASK-1) và tương tự có thể được đề cập.

Dưới dạng thuốc điều trị chứng tăng lipid huyết, chất ức chế HMG-COA reductaza (như pravastatin, simvastatin, lovastatin, atorvastatin, fluvastatin, rosuvastatin, pitavastatin hoặc muối của nó (như muối natri, muối canxi)), chất ức chế syntaza squalen (như hợp chất được mô tả trong WO97/10224, ví dụ, axit N-[[[(3R,5S)-1-(3-axetoxy-2,2-dimetylpropyl)-7-clo-5-(2,3-dimetoxypheyl)-2-oxo-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepin-3-yl]axetyl]piperidin-4-axetic), hợp chất fibrat (như bezafibrat, clofibrat, simfibrat, clonofibrat), nhựa trao đổi anion (như colestyramin), probucol, thuốc axit nicotinic (như nicomol, nixeritrol, niaspan), etyl icosapentat, phytosterol (như soysterol, gamma oryzanol (γ -oryzanol)), chất ức chế hấp thu cholesterol (như zechia), chất ức chế CETP (như dalcetrapib, anaxetrapib), chế phẩm axit béo ω -3 (như etyl este của axit béo ω -3 90 (etyl este của axit béo ω -3 90)) và tương tự có thể được đề cập.

Các ví dụ về thuốc chống tăng huyết áp gồm chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin (như captopril, enalapril, delapril, v.v.), chất kháng vận angiotensin II (như candesartan xilexetil, candesartan, losartan, losartan kali, eprosartan, valsartan, telmisartan, irbesartan, tasosartan, olmesartan, olmesartan medoxomil, azilsartan, azilsartan medoxomil, v.v.), chất kháng vận canxi (như manidipin, nifedipin, amlodipin, efonidipin, nicardipin, xilnidipin, v.v.), các chất chẹn β (như metoprolol, atenolol, propranolol, carvedilol, pindolol, v.v.), clonidin và tương tự.

Dưới dạng thuốc lợi tiểu, ví dụ, dẫn xuất xantin (như theobrom natri salixylat, theobrom canxi salixylat và tương tự), chế phẩm thiazit (như ethiazit, xyclopenthiazit, triclomethiazit, hydroclothiazit, hydroflumethiazit, benzylhydroclothiazit, penfluthiazit, poly5thiazit, metyclothiazit và tương tự), chế phẩm kháng andosteron (như spironolaxton, triamteren và tương tự), chất ức chế anhydraza cacbon (như axetazolamit và tương tự), thuốc clobenzensulfonamit (như chlortalidon, mefrusit, indapamit và tương tự), azosemit, isosorbit, axit etacrynic, piretanit, bumetanit, furosemit và tương tự có thể được đề cập.

Các ví dụ về hóa trị liệu gồm các chất alkyl hóa (như xyclophosphamit, ifosfamit), chất chống chuyển hóa (như metotrexat, 5-floraxil), thuốc kháng sinh chống ung thư (như mitomycin, adriamycin), thuốc chống ung thư chiết xuất từ thực vật (như vincristin, vindesin, Taxol), xisplatin, carboplatin, etoposit và tương tự. Trong số chúng, Furtulon dẫn xuất từ 5-floraxil hoặc Neofurtulon hoặc tương tự được ưu tiên.

Các ví dụ về miễn dịch trị liệu bao gồm các thành phần vi sinh vật hoặc vi khuẩn (như dẫn xuất muramyl dipeptit, Picibanil), polysacarit có hoạt tính tiềm năng miễn dịch (như lentinan, sizofiran, Krestin), xytokin thu được bằng kỹ thuật gen (như interferon, interleukin (IL)), yếu tố kích thích cụm khuẩn (như yếu tố kích thích cụm khuẩn bạch cầu hạt, erythropoietin) và tương tự. Trong số chúng, interleukin như IL-1, IL-2, IL-12 và tương tự được ưu tiên.

Các ví dụ về thuốc chống viêm bao gồm thuốc chống viêm không steroid như aspirin, axetaminophen, indometaxin và tương tự.

Dưới dạng thuốc chống đông máu, ví dụ, heparin (như heparin natri, heparin canxi, enoxaparin natri, dalteparin natri), warfarin (như warfarin kali), thuốc chống đông máu (như aragatroban, dabigatran), chất chống ức chế FXa (như rivaroxaban, apixaban, edoxaban, YM150, hợp chất được mô tả trong WO02/06234, WO2004/048363, WO2005/030740, WO2005/058823 hoặc WO2005/113504), thuốc làm tan cục huyết (như urokinaza, tisokinaza, alteplaza, nateplaza, monteplaza, pamiteplaza), chất ức chế đông cục tiểu huyết cầu (như ticlopidin hydroclorua, clopidogrel, prasugrel, E5555, SHC530348, xilostazol, etyl icosapentat, beraprost natri, sarpogrelat hydroclorua) và tương tự có thể được đề cập.

Các ví dụ về thuốc điều trị chứng loãng xương bao gồm alfacalxidol, calxitriol, elcatonin, calxitonin cá hồi, estriol, ipriflavin, pamidronat dinatri, alendronat natri hydrat, incadronat dinatri, risedronat dinatri và tương tự.

Các ví dụ về vitamin bao gồm vitamin B₁, vitamin B₁₂ và tương tự.

Các ví dụ về thuốc chống chứng mất trí bao gồm tacrin, donepezil, rivastigmin, galanthamin và tương tự.

Các ví dụ về điều trị rối loạn cương dương bao gồm apomorphin, sildenafil xitrat và tương tự.

Các ví dụ về thuốc điều trị chứng tiểu nhiều lần hoặc són tiểu bao gồm flavoxat hydroclorua, oxybutynin hydroclorua, propiverin hydroclorua và tương tự.

Các ví dụ về thuốc điều trị chứng bí tiểu bao gồm chất ức chế axetylcholin esteraza (như distigmin) và tương tự.

Ngoài ra, thuốc được xác nhận có hoạt tính cải thiện chứng suy mòn ở mẫu động vật hoặc về phương diện lâm sàng, ví dụ, chất ức chế xyclooxygenaza (như indomethaxin), dẫn xuất progesteron (như megestrol axetat), glucocorticoit (như dexametason), thuốc metoclopramit, thuốc tetrahydrocannabinol, thuốc cải

thiện chuyển hóa chất béo (như axit eicosapentaenoic), hormon tăng trưởng, IGF-1, hoặc kháng thể chống yếu tố gây chứng suy mòn TNF- α , LIF, IL-6 hoặc oncostatin M hoặc tương tự cũng có thể được sử dụng kết hợp với hợp chất theo sáng chế.

Ngoài ra, chất ức chế glycation (như ALT-711), thuốc thúc đẩy tái tạo tế bào thần kinh (như Y-128, VX853, prosaptit), thuốc chống trầm cảm (như desipramin, amitriptylin, imipramin), thuốc chống động kinh (như lamotrigin, Trileptal, Keppra, Zonegran, Pregabalin, Harkoserit, carbamazepin), thuốc chống chứng loạn nhịp tim (như mexiletin), phối tử thụ thể axetylcholin (như ABT-594), kháng vận thụ thể endothelin (như ABT-627), chất ức chế hấp thu monoamin (như tramadol), thuốc giảm đau gây nghiện (như morphin), chất chủ vận thụ thể GABA (như gabapentin, chế phẩm MR của gabapentin), chất chủ vận thụ thể α_2 (như clonidin), thuốc giảm đau cục bộ (như capsaicin), thuốc chống lo âu (như benzothiazepin), thuốc ức chế phosphodiesteraza (như sildenafil), chất chủ vận thụ thể dopamin (như apomorphin), midazolam, ketoconazol hoặc tương tự có thể được sử dụng kết hợp với hợp chất theo sáng chế.

Thời gian sử dụng hợp chất theo sáng chế và thời gian sử dụng thuốc đi kèm không bị giới hạn, và chúng có thể được sử dụng đồng thời hoặc theo cách đan xen ở đối tượng sử dụng.

Các ví dụ về phương thức sử dụng bao gồm:

(1) Sử dụng chế phẩm duy nhất thu được bằng cách kết hợp hợp chất theo sáng chế và thuốc đi kèm, (2) sử dụng đồng thời hai loại chế phẩm là hợp chất theo sáng chế và thuốc đi kèm, mà được sản xuất độc lập, theo một đường sử dụng, (3) sử dụng đồng thời hai loại chế phẩm là hợp chất theo sáng chế và thuốc đi kèm, mà được sản xuất độc lập, theo một đường sử dụng theo cách đan xen, (4) sử dụng đồng thời hai loại chế phẩm là hợp chất theo sáng chế và thuốc đi kèm, mà được sản xuất độc lập, bằng các đường sử dụng khác nhau, (5) sử dụng hai loại chế phẩm là hợp chất theo sáng chế và thuốc đi kèm, mà được sản xuất độc lập, bằng các đường sử dụng khác nhau theo cách đan xen (như sử

dụng theo thứ tự hợp chất theo sáng chế và thuốc đi kèm, hoặc theo thứ tự ngược lại) và tương tự.

Liều lượng thuốc đi kèm có thể được xác định phù hợp dựa trên liều lượng sử dụng trong lâm sàng. Tỷ lệ trộn giữa hợp chất theo sáng chế và thuốc đi kèm có thể được xác định phù hợp phụ thuộc vào đối tượng sử dụng, triệu chứng, phương pháp sử dụng, bệnh đích, hợp phần và tương tự. Khi đối tượng sử dụng là người, ví dụ, thuốc đi kèm có thể được sử dụng với lượng 0,01 - 100 phần trọng lượng tương ứng với 1 phần trọng lượng hợp chất theo sáng chế.

Bằng cách kết hợp hợp chất theo sáng chế và thuốc đi kèm, có thể đạt được như sau:

- (1) Liều lượng của hợp chất theo sáng chế hoặc thuốc đi kèm có thể giảm so với việc sử dụng duy nhất hợp chất theo sáng chế hoặc thuốc đi kèm,
- (2) Thuốc được sử dụng kết hợp với hợp chất theo sáng chế có thể được chọn phụ thuộc vào tình trạng của bệnh nhân (nhẹ, nặng và tương tự),
- (3) Thời gian điều trị có thể lâu hơn bằng cách chọn thuốc đi kèm có có hoạt tính và cơ chế khác với có hoạt tính và cơ chế của hợp chất theo sáng chế,
- (4) Hiệu quả điều trị có thể kéo dài bằng việc chọn thuốc đi kèm có có hoạt tính và cơ chế khác với có hoạt tính và cơ chế của hợp chất theo sáng chế,
- (5) Có thể đạt được hiệu ứng đồng vận bằng cách sử dụng kết hợp hợp chất theo sáng chế và thuốc đi kèm, và tương tự.

Ví dụ thực hiện sáng chế

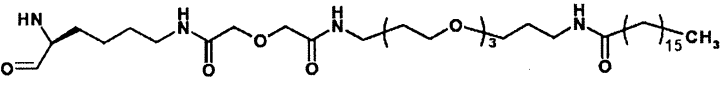
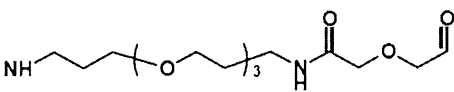
Các từ viết tắt được sử dụng trong bản mô tả thể hiện dưới đây (bảng 1-1 và bảng 1-2). Dấu nối trong các thuật ngữ như α -MePhe và tương tự được mô tả ở đây có thể được bỏ qua, và trường hợp bỏ qua thì cũng có cùng ý nghĩa.

Bảng 1-1

Aad	axit 2-aminoadipic
Abu	axit 2-aminobutyric
Abz(2)	axit 2-aminobenzoic
Ac	axetyl
Acp	axit 6-aminocaproic
Acpc	axit 1-aminoxyclopropanecarboxylic
Adc(12)	axit 12-aminododecanic
Aib	axit α -aminoisobutyric
Aipe	axit 3-aminobutyric
Ala(4Pip)	4-piperidinylalanin
Ala(cPr)	xyclopropylalanin
Alb	axit albizziin 2-amino-3-ureidopropionic
Ambz(4)	4-aminomethylbenzoyl
Aoc(8)	axit 8-aminocaprylic
Arg(Me)	N ω -methylarginin
Asn(Me)	N ω -methylasparagin
Aze(2)	axit azetidin-2-carboxylic
Aze(3)	axit azetidin-3-carboxylic
CC(Acp)	6-carboxypentylcarbamoyl
CC(β -Ala)	2-carboxyethylcarbamoyl
CC(GABA)	3-carboxypropylcarbamoyl
CC(Gly)	carboxymethylcarbamoyl
CC(Leu)	[(1S)-1-carboxy-3-methylbutyl]carbamoyl

CC(Ser)	[(1S)-1-carboxy-2-hydroxyethyl]carbamoyl
CC(Tyr)	[(1S)-1-carboxy-2-(4-hydroxyphenyl)ethyl]carbamoyl
Cha	cyclohexylalanine
cisHyp	cis-4-hydroxyproline
Cit	citrulline
cPrCO	cyclopropanecarbonyl
Dab	axit 2,4-diaminobutyric
Dap	axit 2,3-diaminopropionic
GABA	axit γ -aminobutyric
Gly(cPr)	cyclopropylglycine
Gly- ψ [(E)CH=CH]-Leu	liên kết -CONH- giữa Gly và Leu được thể bằng dạng alken dạng (E)
Har	homoarginine
homoLeu	homoleucine
Hse	homoserine
Hyp	trans-4-hydroxyproline
Iva	isovaline
Leu(Me)	γ -methylleucine
Lys(Ac)	N ϵ -acetyllysine
Lys(Hexyl)	N ϵ -hexyllysine
Lys(Me)	N ϵ -methyllysine
Lys(Me ₂)	N ϵ,ϵ -dimethyllysine

Bảng 1-2

Lys[Hexadecanoyl-(PEG2)]	
N(2-hydroxyethyl)Gly	N-(2-hydroxyethyl)glyxin
N(iBu)Gly	N-isobutylglyxin
Nal(1)	1-naphtylalanin
Nal(2)	2-naphtylalanin
Nar	Norarginin
Nle	Norleuxin
NmeAla	N α -metylalanin
NmeSer	N α -metylserin
NmePhe	N α -metylphenylalanin
Nva	Norvalin
Orn	ornithin
PEG2	
Phe(2,6-Me ₂)lat	2,6-dimetylphenylalanin
Phe(2F)	2-flophenylalanin
Phe(2Me)	2-metylphenylalanin
Phe(3F)	3-flophenylalanin
Phe(3Me)	3-metylphenylalanin
Phe(4Cl)	4-clophenylalanin
Phe(4F)	4-flophenylalanin
Phe(4Me)	4-metylphenylalanin
Phe(4NH ₂)	4-aminophenylalanin

Phg	phenylglyxin
Pic(2)	axit 2-piperidincarboxylic
Pic(4)	axit 4-piperidincarboxylic
Pya(2)	2-pyridylalanin
Pya(3)	3-pyridylalanin
Pya(4)	4-pyridylalanin
4-PyCO	4-pyridylcarbonyl
Ser(Me)	O-metylserin
Thp(4)	tetrahydro-2H-pyran-4-yl
Thr(Me)	O-metylthreonin
threo-PhSer	threo-3-phenylserin
Tic	axit 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carboxylic
Tyr(2F)	2-flotyrosin
Tyr(3F)	3-flotyrosin
Tyr(Me)	O-metyltyrosin
Z	benzyloxycarbonyl
α -MePhe	α -metylphenylalanin
α -MePro	α -metylprolin
β -Ala	β -alanin
β -HOAla	β -homoalanin

Trong bản mô tả, khi bazơ, axit amin, v.v. được biểu thị bằng mã, chúng dựa trên các mã thông thường của IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature hoặc các mã sử dụng chung trong lĩnh vực, các ví dụ về các mã này được thể hiện dưới đây. Đối với axit amin mà có thể có chất đồng phân quang, dạng L được biểu thị trừ phi được qui định khác (chẳng hạn, “Ala” là

dạng L của Ala). Ngoài ra, “D-” nghĩa là dạng D (chẳng hạn, “D-Ala” là dạng D của Ala), và “DL-” có nghĩa là raxemat của dạng D và dạng L (chẳng hạn, “DL-Ala” raxemat DL của Ala).

TFA : axit trifloaxetic

Gly hoặc G : glyxin

Ala hoặc A : alanin

Val hoặc V : valin

Leu hoặc L : leuxin

Ile hoặc I : isoleuxin

Ser hoặc S : serin

Thr hoặc T : threonin

Cys hoặc C : xystein

Met hoặc M : methionin

Glu hoặc E : axit glutamic

Asp hoặc D : axit aspartic

Lys hoặc K : lysin

Arg hoặc R : arginin

His hoặc H : histidin

Phe hoặc F : phenylalanin

Tyr hoặc Y : tyrosin

Trp hoặc W : tryptophan

Pro hoặc P : prolin

Asn hoặc N : asparagin

Gln hoặc Q : glutamin

pGlu : axit pyroglutamic

α -MeTyr : α -metyltirosin

Dưới đây, sáng chế được giải thích chi tiết bằng các ví dụ tham khảo, ví dụ, ví dụ thử nghiệm và ví dụ bào chế, đây chỉ là các cách thể hiện mà không được hiểu là bị giới hạn ở các ví dụ này. Ngoài ra, sáng chế có thể thay đổi trong phạm vi của sáng chế.

Thuật ngữ “nhiệt độ trong phòng” trong phần các ví dụ dưới đây biểu thị phạm vi thông thường từ khoảng 10°C đến khoảng 35°C. Đối với “%”, hiệu suất là % mol/mol, dung môi được sử dụng cho phép sắc ký là % thể tích và “%” khác là % trọng lượng.

THF: tetrahydrofuran

DMF: N,N-dimetylformamit

WSC: 1-(3-dimetylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimit hydroclorua

HOBt: 1-hydroxybenzotriazol monohydrat

Ví dụ tham khảo 1: Tổng hợp H-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (SEQ ID NO: 10)

Bổ sung nhựa Sieber amit (0,69 meq/g, 362mg) vào ống phản ứng mà sau đó được đưa vào bộ tổng hợp peptit. Axit amin được làm ngưng tụ liên tục theo quy trình Fmoc/DCC/HOBt. Ở bước cuối cùng, loại bỏ nhóm Fmoc đầu tận cùng N. Sau khi ngừng việc ngưng tụ, nhựa được rửa bằng MeOH, và làm khô dưới áp suất giảm. Kết quả thu được 1025mg (0,244 meq/g) nhựa peptit được bảo vệ.

Ví dụ tham khảo 2: Tổng hợp H- Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)- nhựa Sieber amit (SEQ ID NO: 11)

Bổ sung nhựa Sieber amit (0,69 meq/g, 362mg) vào ống phản ứng mà sau đó được đưa vào bộ tổng hợp peptit. Axit amin được làm ngưng tụ liên tục theo quy trình Fmoc/DCC/HOBt. Ở bước cuối cùng, loại bỏ nhóm Fmoc đầu tận

cùng N. Sau khi ngừng việc ngưng tụ, nhựa được rửa bằng MeOH, và làm khô dưới áp suất giảm. Kết quả thu được 1331mg (0,188 meq/g) nhựa peptit được bảo vệ.

Ví dụ tham khảo 3: Tổng hợp H-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (SEQ ID NO: 12)

Bổ sung nhựa Sieber amit (0,61 meq/g, 410mg) vào ống phản ứng mà sau đó được đưa vào bộ tổng hợp peptit. Axit amin được làm ngưng tụ liên tục theo quy trình Fmoc/DCC/HOBt. Thực hiện ghép đôi để kết hợp Ala vị trí 18 và vị trí 20 và Gln(Trt) vị trí 19. Ở bước cuối cùng, loại bỏ nhóm Fmoc đầu tận cùng N. Sau khi ngừng việc ngưng tụ, nhựa được rửa bằng MeOH, và làm khô dưới áp suất giảm. Kết quả thu được 1110mg (0,225 meq/g) nhựa peptit được bảo vệ.

Ví dụ 1: Tổng hợp H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ala-Ile-Aib-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 13)

H-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (0,244 meq/g, 41,0mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 1 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung lần lượt Fmoc-Ala-OH (31,1mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Gln(Trt), Ala, Gln(Trt), Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Aib, Ile*, Ala, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và

Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 83mg H-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Ala-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 83mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và việc rửa chất kết tủa được lặp lại ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 × 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 65/35-55/45 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 22,5mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, (M+H)⁺ 4267,4 (được tính: 4267,2)

Thời gian rửa giải: 7,1 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 2: Tổng hợp H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 14)

H-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber

amit (0,244 meq/g, 41,0mgmg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 1 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Ala-OH (31,1mgmg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Gln(Trt), Ala, Gln(Trt), Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Aib, Ile*, Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 84,5mgmg H-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 84,5mgmg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 $\times$ 20mm I.D.) [Dung dịch A: 0,1% TFA-nước, Dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 65/35-55/45 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 21,5mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, (M+H)⁺ 4281,5 (Được tính: 4281,2)

Thời gian rửa giải: 7,2 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 3: Tổng hợp H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ala-Ile-Aib-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ser-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 15)

H-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (0,244 meq/g, 41,0mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 1 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Ser(tBu)-OH (38,3mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Gln(Trt), Ala, Gln(Trt), Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Aib, Ile*, Ala, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 73,3mg H-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Ala-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ser(tBu)-Glu(OtBu)-Phe-Val-

Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 73,3mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 × 20mm I.D.) [Dung dịch A: 0,1% TFA-nước, Dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 65/35-55/45 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 17,1mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, (M+H)⁺ 4283,6 (Được tính: 4283,2)

Thời gian rửa giải: 7,1 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 4: Tổng hợp H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ser-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 16)

H-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (0,244 meq/g, 41,0mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 1 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Ser(tBu)-OH (38,3mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó

hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Gln(Trt), Ala, Gln(Trt), Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Aib, Ile*, Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 63mg H-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ser(tBu)-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 63mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 × 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 64/36-54/46 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 14,7mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, (M+H)⁺ 4297,8 (được tính: 4297,2)

Thời gian rửa giải: 7,2 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 5: Tổng hợp H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ala-Ile-Aib-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-NH₂ (SEQ ID NO: 17)

H-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)- nhựa Sieber amit (0,188 meq/g, 53,2mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 2 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Ala-OH (31,1mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Gln(Trt), Ala, Gln(Trt), Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Aib, Ile*, Ala, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 97mg H-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Ala-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 97mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bỏ

sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 × 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 63/37-53/47 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 25,2mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, $(M+H)^+$ 4139,2 (được tính: 4139,1)

Thời gian rửa giải: 7,3 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 6: Tổng hợp H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-NH₂ (SEQ ID NO: 18)

H-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)- nhựa Sieber amit (0,188 meq/g, 53,2mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 2 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Ala-OH (31,1mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó

một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Gln(Trt), Ala, Gln(Trt), Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Aib, Ile*, Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 78,1mg H-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 78,1mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 × 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 63/37-53/47 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 18,4mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, (M+H)⁺ 4152,9 (được tính: 4153,1)

Thời gian rửa giải: 7,4 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 7: Tổng hợp H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ala-Ile-Aib-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ser-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-NH₂ (SEQ ID NO: 19)

H-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)- nhựa Sieber amit (0,188 meq/g, 53,2mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 2 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Ser(tBu)-OH (38,3mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L, 0,1mmol) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Gln(Trt), Ala, Gln(Trt), Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Aib, Ile*, Ala, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 87mg H-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Ala-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ser(tBu)-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 87mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Phần cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 $\times$ 20mm

I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 65/35-55/45 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 17mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, $(M+H)^+$ 4154,8 (Được tính: 4155,1)

Thời gian rửa giải: 7,3 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 8: Tổng hợp H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ser-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-NH₂ (SEQ ID NO: 20)

H-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)- nhựa Sieber amit (0,188 meq/g, 53,2mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 2 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Ser(tBu)-OH (38,3mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Gln(Trt), Ala, Gln(Trt), Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Aib, Ile*, Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu),

Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 76,8mg H-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ser(tBu)-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 76,8mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 × 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 63/37-53/47 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 16,6mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, (M+H)⁺ 4169,2 (được tính: 4169,1)

Thời gian rửa giải: 7,4 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 9: Tổng hợp H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Lys-Aib-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 21)

H-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (0,225 meq/g, 44,4mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 3 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Gln(Trt)-OH (61,1mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Aib, Lys(Boc), Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 72,4mg H-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Lys(Boc)-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 72,4mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 $\times$ 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 67/33-57/43 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 13,9mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, $(M+H)^+$ 4295,8 (được tính: 4296,2)

Thời gian rửa giải: 6,9 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 10: Tổng hợp H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Ala-Aib-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 22)

H-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (0,225 meq/g, 44,4mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 3 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Gln(Trt)-OH (61,1mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Aib, Ala, Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 86,1mg H-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ala-Aib-Leu-Asp(OtBu)-

Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 86,1mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 × 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 66/34-56/44 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 16,2mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, (M+H)⁺ 4238,6 (được tính: 4239,2)

Thời gian rửa giải: 7,1 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 11: Tổng hợp H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr-αMePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Phe-Aib-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 23)

H-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (0,225 meq/g, 44,4mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 3 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Gln(Trt)-OH (61,1mg),

Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Aib, Phe, Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 76,4mg H-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Phe-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 76,4mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 $\times$ 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 65/35-55/45 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 4,7mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, (M+H)⁺ 4315,1 (được tính: 4315,2)

Thời gian rửa giải: 7,2 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 $\times$ 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 12: Tổng hợp H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Pya(4)-Aib-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 24)

H-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (0,225 meq/g, 44,4mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 3 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Gln(Trt)-OH (61,1mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Aib, Pya(4)*, Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)***, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: bổ sung 17,4 μ L chứa DIPEA trong khi cô đặc; **: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 78,4mg H-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Pya(4)-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 78,4mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 × 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 67/33-57/43 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 15,2mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, (M+H)⁺ 4316,2 (được tính: 4316,2)

Thời gian rửa giải: 6,9 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 13: Tổng hợp H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Ile- α MePhe-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 25)

H-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (0,225 meq/g, 44,4mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 3 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Gln(Trt)-OH (61,1mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử

nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, α MePhe, Ile, Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 69,1mg H-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile- α MePhe-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 69,1mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 × 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 64/36-54/46 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 14,4mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, (M+H)⁺ 4356,9(được tính: 4357,3)

Thời gian rửa giải: 7,4 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 14: Tổng hợp H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Ile-Cha-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 26)

H-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (0,225 meq/g, 44,4mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 3 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Gln(Trt)-OH (61,1mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Cha, Ile, Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 71,5mg H-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Cha-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 71,5mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ.

Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 × 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 63/37-53/47 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 16mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, (M+H)⁺ 4348,7 (được tính: 4349,3)

Thời gian rửa giải: 7,5 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 15: Tổng hợp H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Lys- α MePhe-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 27)

H-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (0,225 meq/g, 44,4mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 3 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Gln(Trt)-OH (61,1mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF

chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, α MePhe, Lys(Boc), Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 77,9mg H-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Lys(Boc)- α MePhe-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 77,9mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 × 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 65/35-55/45 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 13,4mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, (M+H)⁺ 4371,7 (được tính: 4372,3)

Thời gian rửa giải: 7,1 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 16: Tổng hợp H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Lys-Cha-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 28)

H-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (0,225 meq/g, 44,4mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 3 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Gln(Trt)-OH (61,1mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Cha, Lys(Boc), Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 75,1mg H-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Lys(Boc)-Cha-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 75,1mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 $\times$

20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 65/35-55/45 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 14,7mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, $(M+H)^+$ 4364,7 (được tính: 4364,3)

Thời gian rửa giải: 7,1 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 17: Tổng hợp H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Ile- α MeTyr-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 29)

H-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (0,225 meq/g, 44,4mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 3 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Gln(Trt)-OH (61,1mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, α MeTyr, Ile, Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu),

Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 56,2mg H-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile- α MeTyr-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 56,2mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 × 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 65/35-55/45 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 1,4mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, (M+H)⁺ 4373,8 (được tính: 4373,2)

Thời gian rửa giải: 7,2 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 18: Tổng hợp Ac-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 30)

H-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (0,253 meq/g, 39,5mg) được điều chế bằng một cách tiếp cận tương tự với ví dụ tham khảo 1 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Ala-OH (31,1mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Gln(Trt), Ala, Gln(Trt), Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Aib, Ile*, Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Tiếp theo, loại bỏ nhóm Fmoc đầu tận cùng N bằng việc xử lý piperidin, và sau đó bổ sung liên tiếp DMF (200 μ L), DIPEA (17,4 μ L) và Ac₂O (9,4 μ L) vào nhựa, và hỗn hợp được lắc trong 90 phút. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, nhựa được rửa bằng MeOH, và làm khô dưới áp suất giảm để thu được 43mg Ac-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 43mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 $\times$ 20mm

I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 62/38-52/48 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 7,8mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, $(M+H)^+$ 4323,4 (được tính: 4323,2)

Thời gian rửa giải: 7,5 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 19: Tổng hợp Benzoyl-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 31)

H-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (0,253 meq/g, 39,5mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 1 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Ala-OH (31,1mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Gln(Trt), Ala, Gln(Trt), Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Aib, Ile*, Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu),

Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Tiếp theo, loại bỏ nhóm Fmoc đầu tận cùng N bằng xử lý piperidin, và sau đó bổ sung liên tiếp axit benzoic (12,2mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và hỗn hợp được lắc qua đêm. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 54,8mg Benzoyl-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 54,8mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 $\times$ 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 60/40-50/50 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 10,1mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, (M+H)⁺ 4385,2 (được tính: 4385,2)

Thời gian rửa giải: 7,7 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 $\times$ 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 20: Tổng hợp 4PyCO-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 32)

H-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (0,253 meq/g, 39,5mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 1 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Ala-OH (31,1mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Gln(Trt), Ala, Gln(Trt), Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Aib, Ile*, Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Tiếp theo, loại bỏ nhóm Fmoc đầu tận cùng N bằng việc xử lý piperidin, và sau đó bổ sung liên tiếp axit 4-pyridincarboxylic (12,3mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và hỗn hợp được lắc qua đêm. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 62,9mg 4PyCO-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 62,9mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 × 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 62/38-52/48 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mong muốn thu được và được làm khô lạnh để thu được 13,3mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, (M+H)⁺ 4386,2 (được tính: 4386,2)

Thời gian rửa giải: 7,3 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 21: Tổng hợp cPrCO-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr-αMePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 33)

H-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (0,253 meq/g, 39,5mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 1 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Ala-OH (31,1mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200μL) và diisopropylcarbodiimide (15,9μL) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung

dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Gln(Trt), Ala, Gln(Trt), Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Aib, Ile*, Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Tiếp theo, loại bỏ nhóm Fmoc đầu tận cùng N bằng cách xử lý piperidin, và sau đó bổ sung liên tiếp axit xyclopropanecarboxylic (8,6mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và hỗn hợp được lắc qua đêm. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 61,8mg cPrCO-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 61,8mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 $\times$ 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 61/39-51/49 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 11,7mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, (M+H)⁺ 4349,2 (được tính: 4349,2)

Thời gian rửa giải: 7,6 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 22: Tổng hợp amidino-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 34)

H-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (0,253 meq/g, 39,5mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 1 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Ala-OH (31,1mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Gln(Trt), Ala, Gln(Trt), Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Aib, Ile*, Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Tiếp theo, loại bỏ nhóm Fmoc đầu tận cùng N bằng cách xử lý piperidin, và sau đó bổ sung liên tiếp DMF (200 μ L), N,N'-Bis(tert-butoxycarbonyl)-1H-pyrazolo-1-carboxamidin (31mg) và DIPEA (17,4 μ L) vào nhựa, và hỗn hợp được lắc qua đêm. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó bổ sung liên tiếp DMF (200 μ L), N,N'-Bis(tert-butoxycarbonyl)-1H-pyrazolo-1-carboxamidin (31mg) và DIPEA (17,4 μ L) vào nhựa, và hỗn hợp được lắc qua

đem một lần nữa. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 54,7mg BocNHC(=NBoc)-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 54,7mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 × 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 62/38-52/48 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 10,7mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, (M+H)⁺ 4323,2 (được tính: 4323,2)

Thời gian rửa giải: 7,3 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 23: Tổng hợp H-NMeTyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 35)

H-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (0,253 meq/g, 39,5mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 1 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Ala-OH (31,1mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Gln(Trt), Ala, Gln(Trt), Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Aib, Ile*, Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và NMeTyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 66,2mg H-NMeTyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA: m-cresol: thioanisol: etandithiol: H₂O: triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 66,2mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 $\times$ 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 63/37-53/47 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 9mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, $(M+H)^+$ 4295,1 (được tính: 4295,2)

Thời gian rửa giải: 7,2 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 24: Tổng hợp H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Lys-Tyr-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 36)

H-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (0,244 meq/g, 41,0mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 1 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Ala-OH (31,1mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Gln(Trt), Ala, Gln(Trt), Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Tyr(tBu), Lys(Boc)*, Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 66,8mg H-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Lys(Boc)-

Tyr(tBu)-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA:m-cresol:thioanisol:etandithiol:H₂O:triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 66,8mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 × 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 66/34-56/44 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 16,1mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, (M+H)⁺ 4374,6 (được tính: 4374,2)

Thời gian rửa giải: 6,9 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 25: Tổng hợp H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr-αMePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Lys-Tyr-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Gln-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ (SEQ ID NO: 37)

H-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit (0,244 meq/g, 41,0mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 1 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung Fmoc-Gln(Trt)-OH (61,1mg), Oxymapure 0,5M trong DMF

(200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Gln(Trt), Ala, Gln(Trt), Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Tyr(tBu), Lys(Boc)*, Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 55,0mg H-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Lys(Boc)-Tyr(tBu)-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Gln(Trt)-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA:m-cresol:thioanisole:ethanedithiol:H₂O:triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 55,0mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diethyl ether vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 $\times$ 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 66/34-56/44 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 13,7mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, (M+H)⁺ 4431,5 (được tính: 4431,3)

Thời gian rửa giải: 6,9 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 $\times$ 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ 26: Tổng hợp H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Lys-Tyr-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Gln-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-NH₂ (SEQ ID NO: 38)

H-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)- nhựa Sieber amit (0,188 meq/g, 53,2mg) được điều chế ở ví dụ tham khảo 2 được định lượng vào ống phản ứng, và được làm trương bằng DMF. Sau khi loại bỏ DMF bằng cách lọc, bổ sung liên tiếp Fmoc-Gln(Trt)-OH (61,1mg), Oxymapure 0,5M trong DMF (200 μ L) và diisopropylcarbodiimide (15,9 μ L) vào nhựa, và sau đó hỗn hợp được lắc trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 6 lần. Sau khi xác nhận âm tính trong thử nghiệm Kaiser, bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó, và hỗn hợp được lắc trong 1 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó bổ sung dung dịch DMF chứa 20% piperidin vào đó một lần nữa, và hỗn hợp được lắc trong 20 phút. Dung dịch được lọc ra, và sau đó nhựa được rửa bằng DMF 10 lần. Chu trình ngưng tụ axit amin Fmoc-loại bỏ nhóm bảo vệ Fmoc được lặp lại để ngưng tụ liên tiếp Gln(Trt), Ala, Gln(Trt), Lys(Boc), Asp(OtBu), Leu, Tyr(tBu), Lys(Boc)*, Aib, Tyr(tBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Thr(tBu), α MePhe, Thr(tBu)*, Gly, Glu(OtBu), Aib và Tyr(tBu) (*: phản ứng qua đêm). Nhựa được rửa bằng MeOH, và sau đó làm khô dưới áp suất giảm để thu được 95,4mg H-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Lys(Boc)-Tyr(tBu)-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Gln(Trt)-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)- nhựa Sieber amit.

Bổ sung 1ml TFA:m-cresol:thioanisol:etandithiol:H₂O:triisopropylsilan (80:5:5:5:2,5:2,5) vào 95,4mg nhựa thu được, và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ.

Bổ sung diethyl ete vào dung dịch phản ứng để thu được chất kết tủa, và chất kết tủa được rửa ba lần để loại bỏ chất nổi bề mặt sau khi quay ly tâm. Chất cặn được chiết bằng 50% dung dịch axit axetic nước, và loại bỏ nhựa bằng cách lọc, sau đó bằng HPLC điều chế sử dụng cột Daisopak SP-100-5-ODS-P (250 × 20mm I.D.) [dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, tốc độ dòng chảy 8ml/phút, A/B: 61/39-51/49 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (60 phút)]. Các phân đoạn chứa sản phẩm mục tiêu thu được và được làm khô lạnh để thu được 20,0mg bột trắng.

Phép đo phổ khối, $(M+H)^+$ 4303,0 (được tính: 4303,2)

Thời gian rửa giải: 7,1 phút

Điều kiện rửa giải:

Cột: Merck Chromolith Performance RP-18e (100 × 4,6mm I.D.)

Dung môi rửa giải hấp: sử dụng dung dịch A: 0,1% TFA-nước, dung dịch B: 0,1% TFA-chứa axetonitril, A/B: 95/5 - 35/65 rửa giải gradient nồng độ tuyến tính (10 phút)

Tốc độ dòng chảy: 3,0ml/phút

Ví dụ thử nghiệm 1: Đánh giá hoạt tính chủ vận kháng GIPR người, GLP-1R người và glucagon R người sử dụng tăng nồng độ cAMP nội bào dưới dạng chỉ số

(1) Cấu trúc plasmit biểu hiện gen GIPR người

Gen GIPR người có trình tự giống với trình tự của GenBank Accession số U39231 được nhân dòng vô tính vào vector pMSR α -neo để điều chế hGIPR/pMSR α -neo.

(2) Cấu trúc của tế bào biểu hiện plasmit báo cáo

Gen báo cáo luxiferaza có trình tự đáp ứng cAMP ngược chiều được đưa vào tế bào CHO-K1 để tạo thành tế bào CRE-LUC/CHO-K1.

(3) Cấu trúc plasmit báo cáo

Bốn bản sao của trình tự đáp ứng cAMP và gen kháng Zeocin được đưa vào pGL3(R2,2)-Basic Vector (Promega) để tạo thành plasmit báo cáo Cre-luc(Zeo).

(4) Đưa gen GIPR người vào tế bào CRE-LUC/CHO-K1 và việc đạt được tế bào biểu hiện

Plasmit hGIPR/pMSR α -neo thu được ở (1) được đưa vào tế bào CRE-LUC/CHO-K1 thu được ở (2) để tạo nên các chất chuyển hóa. Tiếp theo, dòng tế bào làm bộc lộ luxiferaza, tức là tế bào hGIPR/CRE-LUC/CHO-K1, được chọn từ các chất chuyển hóa đã thu được bằng cách bổ sung GIP.

(5) Cấu trúc plasmit biểu hiện gen GLP-1R người

Gen GLP-1R người có trình tự giống với trình tự của GenBank Accession số NM_002062 được nhân dòng vô tính vào vector pIRESneo3 để điều chế hGLP-1/pIRESneo3.

(6) Đưa gen GLP-1R và plasmit báo cáo vào tế bào CHO-K1 và việc tạo ra tế bào biểu hiện

Cre-luc(Zeo) thu được ở (3) và plasmit hGLP-1/pIRESneo3 thu được ở (5) được đưa vào tế bào CHO-K1 để thu được các chất chuyển hóa. Tiếp theo, dòng tế bào mà làm bộc lộ luxiferaza, tức là tế bào hGLP-1R/CRE-luc/CHO-K1, được chọn từ các chất chuyển hóa thu được bằng cách bổ sung GLP-1.

(7) Cấu tạo plasmit biểu hiện gen Glucagon R người

Gen glucagon R người có trình tự giống với trình tự GenBank Accession số NM_000160 được nhân dòng vô tính vào vector pMSR α -neo để điều chế hGlucagonR/pMSR α -neo.

(8) Đưa gen glucagon R người vào tế bào CRE-LUC/CHO-K1 và tạo ra tế bào biểu hiện

Plasmit hGlucagonR/pMSR α -neo thu được ở (7) được đưa vào tế bào CRE-LUC/CHO-K1 thu được ở (2) để thu được các chất chuyển hóa. Tiếp theo, dòng tế bào mà làm biểu hiện luxiferaza, tức là tế bào hGlucagonR/CRE-LUC/CHO-K1, được chọn từ các chất chuyển hóa thu được bằng cách bổ sung glucagon.

(9) Thử nghiệm báo cáo

Tế bào hGIPR/CRE-LUC/CHO-K1 được chủng ở mật độ tế bào là 25 $\mu\text{L/lỗ}$ (5×10^4 tế bào/lỗ) vào đĩa trắng 384 lỗ (Corning), và được nuôi cấy qua đêm ở môi trường Ham F12 chứa 10% huyết thanh bào thai bò, 100U/ml penixilin và 100 $\mu\text{g/ml}$ streptomycin trong lồng áp CO_2 ở 37°C . Bổ sung môi trường chứa hợp chất thử nghiệm ở nồng độ 5 $\mu\text{L/lỗ}$ vào tế bào, và tế bào thu được được nuôi cấy trong 4 giờ trong lồng áp CO_2 ở 37°C để thu được nồng độ đích 1 μM . Bổ sung PicaGene LT7,5 (Toyo Ink Co., Ltd.) vào đó ở nồng độ 30 $\mu\text{L/lỗ}$, và hỗn hợp được lắc đồng thời chắn ánh sáng. Sau 30 phút, hoạt tính luxiferaza được đo sử dụng đọc đĩa Envision (PerkinElmer). Hoạt tính luxiferaza dưới sự có mặt của 10nM GIP được xác định là 100%, và hoạt tính luxiferaza từ việc bổ sung DMSO thay vì hợp chất thử nghiệm được xác định là 0%. Hoạt tính chủ vận GIPR được tính cùng với việc tăng nồng độ cAMP nội bào dưới dạng chỉ số. Các kết quả được thể hiện ở bảng 2.

Hoạt tính chủ vận GLP-1R được thử nghiệm theo cùng một cách như nêu trên sử dụng tế bào hGLP-1R/CRE-luc/CHO-K1. Hoạt tính luxiferaza dưới sự có mặt của 10nM GLP-1 được xác định là 100%, và hoạt tính luxiferaza từ việc bổ sung DMSO thay vì hợp chất thử nghiệm được xác định là 0%. Hoạt tính chủ vận GLP-1R được tính cùng với việc tăng nồng độ cAMP nội bào dưới dạng chỉ số. Các kết quả được thể hiện ở bảng 2.

Hoạt tính chủ vận glucagon R được thử nghiệm theo cùng một cách giống như trên sử dụng tế bào hGlucagonR/CRE-LUC/CHO-K1. Hoạt tính luxiferaza dưới sự có mặt của 10nM glucagon được xác định là 100%, và hoạt tính luxiferaza từ việc bổ sung DMSO thay vì hợp chất thử nghiệm được xác định là 0%. Hoạt tính chủ vận glucagon được tính cùng với việc tăng nồng độ cAMP nội bào dưới dạng chỉ số. Các kết quả thu được ở bảng 2.

Như thể hiện ở bảng 2, hợp chất theo sáng chế có hoạt tính hoạt hoá mạnh trên thụ thể GLP-1 và thụ thể GIP. Ngoài ra, hợp chất theo sáng chế có hoạt tính hoạt hoá thụ thể glucagon thấp.

Bảng 2

Ví dụ	Hoạt tính chủ vận (EC ₅₀)		
	hGIPR	hGLP-1R	hGCGR
1	8,1E-12	1,2E-11	>1,0E-06
2	6,8E-12	1,6E-11	>1,0E-06
3	7,1E-12	1,3E-11	>1,0E-06
4	4,9E-12	9,9E-12	>1,0E-06
5	5,5E-12	7,2E-12	>1,0E-06
6	7,3E-12	1,6E-11	>1,0E-06
7	6,9E-12	8,8E-12	>1,0E-06
8	8,0E-12	1,4E-11	>1,0E-06
9	8,0E-12	1,5E-11	>1,0E-06
10	5,4E-12	8,3E-12	>1,0E-06
11	1,5E-11	2,2E-11	>1,0E-06
12	7,2E-12	1,4E-11	>1,0E-06
13	7,2E-12	1,1E-11	>1,0E-06
14	1,3E-11	2,1E-11	>1,0E-06
15	1,3E-11	1,5E-11	>1,0E-06
16	9,1E-12	1,5E-11	>1,0E-06
17	1,4E-11	1,8E-11	>1,0E-06
18	2,7E-11	1,3E-10	>1,0E-06
19	2,4E-11	3,7E-11	>1,0E-06
20	2,6E-11	1,3E-10	>1,0E-06
21	2,4E-11	5,5E-11	>1,0E-06
22	1,9E-11	3,5E-11	>1,0E-06
23	1,6E-11	1,6E-11	>1,6E-11
24	9,9E-12	1,1E-11	>1,0E-06
25	1,3E-11	1,4E-11	>1,0E-06
26	1,3E-11	1,5E-11	>1,0E-06

Ví dụ thử nghiệm 2: Thử nghiệm sử dụng tiêm dưới da liên tục 2 ngày

Hoạt tính ức chế thức ăn của hợp chất thử nghiệm được đánh giá theo phương pháp mô tả dưới đây.

Hòa tan hợp chất thử nghiệm trong dung môi (50% DMSO) để việc giải phóng kéo dài xảy ra ở mức 10 nmol/kg/ngày, và dung dịch được đổ đầy vào bơm Alzet (DURECT Corporation, model: 1003D). Bơm này được nạp đầy dung dịch cần sử dụng được ngâm trong nước muối sinh lý để bơm, và sau đó sử dụng. Bơm được gắn theo phương pháp dưới đây. Mỗi chuột đực C57BL/6J 8-9 tuần tuổi (20-26°C, cho ăn và uống nước ad libitum; chu trình 12 giờ sáng-12 giờ tối) được gây tê; da ở phía lưng trên được rạch ra, và bơm được gắn vào dưới da; vết rạch được khâu lại. Sau khi cân, chuột được đưa về lồng nuôi (nuôi riêng), và được cho ăn thức ăn đã được định lượng trước; đo lượng thức ăn sử dụng trong 2 ngày sau khi bắt đầu sử dụng. Tính lượng thức ăn sử dụng bằng cách trừ lượng thức ăn còn lại từ lượng thức ăn được cho ăn vào ngày bắt đầu sử dụng. Khi việc sử dụng thức ăn của nhóm đối chứng sử dụng riêng dung môi được xem là tỉ lệ ức chế 0%, hoạt tính ức chế thức ăn của mỗi hợp chất thử nghiệm được đánh giá trên cơ sở sử dụng thức ăn liên tiếp 2-ngày kể từ khi bắt đầu sử dụng. Tỉ lệ ức chế hấp thu thức ăn (%) của hợp chất thử nghiệm được xác định là (sử dụng thức ăn của nhóm đối chứng – sử dụng thức ăn của nhóm sử dụng hợp chất thử nghiệm) / sử dụng thức ăn của nhóm đối chứng $\times 100$.

Như thể hiện ở bảng 3, hợp chất theo sáng chế có hoạt tính ức chế sự hấp thu thức ăn mạnh.

Bảng 3

Ví dụ	Sự ức chế hấp thụ thức ăn (%)
1	42,68
2	64,80
3	46,49
4	57,01
5	60,99
6	65,20
8	48,34
9	45,23
10	62,04
11	49,99
12	55,07
13	57,12
14	47,47
15	58,80
16	54,24
17	55,42
19	34,79
22	35,51
23	52,62
24	54,18
25	53,12
26	53,06

Ví dụ thử nghiệm 3: Nghiên cứu sử dụng dưới da liên tục 2 tuần ở chuột DIO

Hoạt tính chống béo phì của hợp chất thử nghiệm được đánh giá theo phương pháp được mô tả dưới đây.

Chuột béo phì do ăn uống (Diet-induced obesity (DIO) được chuẩn bị bằng cách cho chuột đực C57BL/6J ăn chế độ chất béo cao (D12451: Research Diets, Inc.). Hòa tan hợp chất thử nghiệm trong dung môi (50% DMSO) để việc giải phóng kéo dài xảy ra ở 1 nmol/kg/ngày, và dung dịch được đổ vào bơm Alzet (DURECT Corporation, model: 1002). Bơm đã được đổ đầy dung dịch được sử dụng được ngâm trong nước muối sinh lý để bơm, và sau đó sử dụng. Bơm được gắn theo phương pháp dưới đây. Mỗi chuột đực DIO-C57BL/6J ở 35-37 tuần tuổi (20-26°C, cho ăn và uống nước ad libitum; chu trình 12 giờ sáng-12 giờ tối) được gây tê; da ở phía lưng trên được rạch ra, và bơm được gắn vào dưới da; vết rạch được khâu lại. Sau khi cân, chuột được đưa về lồng nuôi (nuôi riêng), và được cho ăn thức ăn đã được định lượng trước; đo lượng thức ăn sử dụng trong 2 ngày sau khi bắt đầu sử dụng; đo trọng lượng từng ngày cho đến 3 ngày sau khi bắt đầu sử dụng. Hoạt tính chống béo phì của mỗi hợp chất thử nghiệm được đánh giá trên cơ sở tỉ lệ giảm cân trong 2 tuần sau khi bắt đầu sử dụng, so với tỉ lệ giảm cân ở nhóm đối chứng tiếp nhận việc sử dụng riêng dung môi là 0%.

Như thể hiện ở bảng 4, hợp chất theo sáng chế có hoạt tính chống béo phì mạnh.

Bảng 4

Ví dụ	Thay đổi về trọng lượng cơ thể
2	-16,3
24	-11,1
25	-11,2
26	-16,2

Ví dụ thử nghiệm 4: Thử nghiệm khả năng hòa tan

Khả năng hòa tan của hợp chất được đánh giá theo phương pháp dưới đây.

Hợp chất thử nghiệm xấp xỉ 2mg được đo chính xác. Bổ sung các dung môi (10 μ L, 20 μ L hoặc 40 μ L) với pH khác nhau (chất đệm Britton-Robinson (pH 3, 5, 7, 9)) vào từng hợp chất thử nghiệm ở 25°C, và khả năng hòa tan được quan sát bằng mắt.

Như thể hiện ở bảng 5, tất cả các hợp chất thử nghiệm đã thể hiện khả năng hòa tan tốt ở mỗi pH.

Bảng 5

Ví dụ	Khả năng hòa tan (mg/ml)			
	pH 3	pH 5	pH 7	pH 9
2	> 100	> 100	> 50	> 50
24	> 200	> 200	> 200	> 200
25	> 200	> 200	> 200	> 200
26	> 200	> 200	> 200	> 200

Ví dụ bào chế 1:

(1) Hợp chất của ví dụ 1	10,0mg
(2) Lactoza	70,0mg
(3) Tinh bột ngô	50,0mg
(4) Tinh bột có thể hòa tan	7,0mg
(5) Magiê stearat	3,0mg

Hợp chất của ví dụ 1 (10,0mg) và magiê stearat (3,0mg) được tạo hạt với dung dịch tinh bột có thể hòa tan trong nước (0,07ml) (7,0mg dưới dạng tinh bột có thể hòa tan), được làm khô và trộn với lactoza (70,0mg) và tinh bột ngô (50,0mg). Hỗn hợp được nén để thu được viên nén.

Ví dụ bào chế 2:

- | | |
|--------------------------|---------------------|
| (1) Hợp chất của ví dụ 1 | 5,0mg |
| (2) Natri clorua | 20,0mg |
| (3) Nước chung cất | lượng tổng cộng 2ml |

Hòa tan hợp chất của ví dụ 1 (5,0mg) và natri clorua (20,0mg) trong nước chung cất, và bổ sung nước sao cho tổng lượng là 2,0ml. Dung dịch được lọc, và đổ đầy vào ống ampun 2ml dưới các điều kiện vô trùng. Ampun được khử trùng và gắn xi chặt để thu được dung dịch tiêm.

Khả năng ứng dụng trong công nghiệp

Hợp chất theo sáng chế có hoạt tính đồng chủ vận thụ thể GLP-1/thụ thể GIP mạnh, và hữu ích làm thuốc phòng hoặc điều trị nhiều loại bệnh có liên quan đến thụ thể GLP-1/thụ thể GIP, ví dụ, bệnh béo phì.

Danh mục trình tự

SEQ ID NO: 1: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (công thức (I)))

SEQ ID NO: 2: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (trình tự đầu cuối mạch C))

SEQ ID NO: 3: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (trình tự đầu cuối mạch C))

SEQ ID NO: 4: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (trình tự đầu cuối mạch C))

SEQ ID NO: 5: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (trình tự đầu cuối mạch C))

SEQ ID NO: 6: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (trình tự đầu cuối mạch C))

SEQ ID NO: 7: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (trình tự đầu cuối mạch C))

SEQ ID NO: 8: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (trình tự đầu cuối mạch C))

SEQ ID NO: 9: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (trình tự đầu cuối mạch C))

SEQ ID NO: 10: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ tham khảo 1))

SEQ ID NO: 11: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ tham khảo 2))

SEQ ID NO: 12: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ tham khảo 3))

SEQ ID NO: 13: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 1))
SEQ ID NO: 14: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 2))
SEQ ID NO: 15: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 3))
SEQ ID NO: 16: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 4))
SEQ ID NO: 17: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 5))
SEQ ID NO: 18: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 6))
SEQ ID NO: 19: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 7))
SEQ ID NO: 20: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 8))
SEQ ID NO: 21: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 9))
SEQ ID NO: 22: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 10))
SEQ ID NO: 23: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 11))
SEQ ID NO: 24: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 12))
SEQ ID NO: 25: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 13))
SEQ ID NO: 26: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 14))
SEQ ID NO: 27: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 15))
SEQ ID NO: 28: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 16))
SEQ ID NO: 29: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 17))
SEQ ID NO: 30: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 18))
SEQ ID NO: 31: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 19))
SEQ ID NO: 32: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 20))
SEQ ID NO: 33: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 21))
SEQ ID NO: 34: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 22))
SEQ ID NO: 35: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 23))
SEQ ID NO: 36: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 24))

SEQ ID NO: 37: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 25))

SEQ ID NO: 38: Trình tự nhân tạo (peptit tổng hợp (ví dụ 26))

Yêu cầu bảo hộ

1. Peptit có công thức (I):

P^1 -Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-A11-A12-A13-Leu-Asp-A16-A17-Ala-Gln-A20-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-A29

(I)

trong đó:

P^1 là nhóm có công thức:

$-R^{A1}$,

$-\text{CO}-R^{A1}$,

$-\text{CO}-\text{OR}^{A1}$,

$-\text{CO}-\text{COR}^{A1}$,

$-\text{SO}-R^{A1}$,

$-\text{SO}_2-R^{A1}$,

$-\text{SO}_2-\text{OR}^{A1}$,

$-\text{CO}-\text{NR}^{A2}\text{R}^{A3}$,

$-\text{SO}_2-\text{NR}^{A2}\text{R}^{A3}$, hoặc

$-\text{C}(=\text{NR}^{A1})-\text{NR}^{A2}\text{R}^{A3}$

trong đó mỗi R^{A1} , R^{A2} và R^{A3} độc lập là nguyên tử hydro, nhóm hydrocarbon tùy ý được thế, hoặc nhóm dị vòng tùy ý được thế;

A11 là Aib hoặc Ala;

A12 là Ala, Ile, Lys, Phe hoặc Pya(4);

A13 là Aib, Cha, Leu, α MePhe hoặc α MeTyr;

A16 là Lys hoặc Ser;

A17 là Gln hoặc Ile;

A20 là Ala hoặc Ser;

A29 là Gln hoặc Gly, và

trình tự axit amin được thể hiện bởi Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser- hoặc Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys- ở phía đầu tận cùng C của A29; hoặc muối của nó, hoặc peptit được chọn từ H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Lys-Tyr-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ hoặc muối của nó, H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Lys-Tyr-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Gln-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ hoặc muối của nó, và

H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Lys-Tyr-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Gln-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-NH₂ hoặc muối của nó.

2. Peptit theo điểm 1 hoặc muối của nó, trong đó P¹ là nguyên tử hydro.
3. Peptit theo điểm 1 hoặc muối của nó, trong đó A11 là Aib.
4. Peptit theo điểm 1 hoặc muối của nó, trong đó A12 là Ile.
5. Peptit theo điểm 1 hoặc muối của nó, trong đó A13 là Aib.
6. Peptit theo điểm 1 hoặc muối của nó, trong đó A16 là Lys.
7. Peptit theo điểm 1 hoặc muối của nó, trong đó A17 là Gln.
8. Peptit theo điểm 1 hoặc muối của nó, trong đó A20 là Ala.
9. Peptit theo điểm 1 hoặc muối của nó, trong đó A29 là Gly.
10. Peptit theo điểm 1 hoặc muối của nó, có trình tự axit amin được thể hiện bởi Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys- ở phía đầu tận cùng C của A29.
11. Peptit theo điểm 1 hoặc muối của nó, trong đó:
P¹ là nguyên tử hydro;

A11 là Aib;

A12 là Ile;

A13 là Aib;

A16 là Lys;

A17 là Gln;

A20 là Ala;

A29 là Gly; và

peptit có trình tự axit amin được thể hiện bởi Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys- ở phía đầu tận cùng C của A29.

12. Peptit hoặc muối theo điểm 1 mà là H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Lys-Tyr-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ hoặc muối của nó.

13. Peptit hoặc muối theo điểm 1 mà là H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Ala-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ hoặc muối của nó.

14. Peptit hoặc muối theo điểm 1 mà là H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Lys-Tyr-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Gln-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-Lys-NH₂ hoặc muối của nó.

15. Peptit hoặc muối theo điểm 1 mà là H-Tyr-Aib-Glu-Gly-Thr- α MePhe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Aib-Lys-Tyr-Leu-Asp-Lys-Gln-Ala-Gln-Gln-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-NH₂ hoặc muối của nó.

16. Thuốc chứa peptit theo điểm 1 hoặc muối của nó.

17. Chế phẩm chứa peptit theo điểm 1 hoặc muối của nó và thuốc đồng phát.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Takeda Pharmaceutical Company Limited
 <120> Hợp chất peptit và thuốc chứa hợp chất này
 <130> PT38-9002WO
 <150> JP2013-111893
 <151> 2013-05-28
 <160> 38
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit tổng hợp (Công thức (I))
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa là Aib
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> alpha-METYL HÓA
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa là Aib hoặc Ala
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa là Ala, Ile, Lys, Phe hoặc Pya(4)
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa là Aib, Cha, Leu, alpha-MePhe, hoặc alpha-MeTyr
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (16)..(16)

<223> Xaa là Lys hoặc Ser

<220>

<221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> Xaa là Gln hoặc Ile

<220>

<221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> Xaa là Ala hoặc Ser

<220>

<221> misc_feature

<222> (29)..(29)

<223> Xaa là Gln hoặc Gly

<220>

<221> NON_TER

<222> (29)..(29)

<400> 1

Tyr	Xaa	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Xaa	Xaa	Xaa	Leu	Asp	Xaa
1				5					10					15	

Xaa	Ala	Gln	Xaa	Glu	Phe	Val	Lys	Trp	Leu	Leu	Lys	Xaa
		20					25					

<210> 2

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit tổng hợp (Trình tự đầu tận cùng C)

<220>

<221> NON_TER

<222> (1)..(1)

<400> 2

Gly	Pro	Ser	Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
1				5					10	

<210> 3

<211> 4

<212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Trình tự đầu tận cùng C)

<220>
 <221> NON_TER
 <222> (1)..(1)

<400> 3

Gly Pro Ser Ser
 1

<210> 4
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Trình tự đầu tận cùng C)

<220>
 <221> NON_TER
 <222> (1)..(1)

<400> 4

Gly Pro Ser Ser Gly
 1 5

<210> 5
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Trình tự đầu tận cùng C)

<220>
 <221> NON_TER
 <222> (1)..(1)

<400> 5

Gly Pro Ser Ser Gly Ala

1

5

<210> 6

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit tổng hợp (Trình tự đầu tận cùng C)

<220>

<221> NON_TER

<222> (1)..(1)

<400> 6

Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro

1

5

<210> 7

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit tổng hợp (Trình tự đầu tận cùng C)

<220>

<221> NON_TER

<222> (1)..(1)

<400> 7

Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro

1

5

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit tổng hợp (Trình tự đầu tận cùng C)

<220>

<221> NON_TER

<222> (1)..(1)

<400> 8

Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro
1 5

<210> 9

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit tổng hợp (Trình tự đầu tận cùng C)

<220>

<221> NON_TER

<222> (1)..(1)

<400> 9

Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
1 5 10

<210> 10

<211> 20

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit tổng hợp (Ví dụ tham khảo 1)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Sự bảo vệ OtBu

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4, 5, 8, 20)..(4, 5, 8, 20)

<223> Sự bảo vệ Boc

<220>

<221> MOD_RES

<222> (12, 13, 19)..(12, 13, 19)

<223> Sự bảo vệ tBu

<400> 10

Gln Phe Val Lys Trp Leu Leu Lys Gly Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro
 1 5 10 15

Pro Pro Ser Lys
 20

<210> 11
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ tham khảo 2)

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Sự bảo vệ OtBu

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4, 5, 8)..(4, 5, 8)
 <223> Sự bảo vệ Boc

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12, 13, 19)..(12, 13, 19)
 <223> Sự bảo vệ tBu

<400> 11

Gln Phe Val Lys Trp Leu Leu Lys Gly Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro
 1 5 10 15

Pro Pro Ser

<210> 12
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ tham khảo 3)

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Sự bảo vệ Trt

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Sự bảo vệ OtBu

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7, 8, 11, 23)..(7, 8, 11, 23)
 <223> Sự bảo vệ Boc

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (15, 16, 22)..(15, 16, 22)
 <223> Sự bảo vệ tBu

<400> 12

Ala	Gln	Ala	Gln	Phe	Val	Lys	Trp	Leu	Leu	Lys	Gly	Gly	Pro	Ser	Ser
1				5					10					15	

Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
			20			

<210> 13
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 1)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)

<223> Xaa là Aib

<220>

<221> MOD_RES

<222> (40)..(40)

<223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 13

Tyr	Xaa	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ala	Ile	Xaa	Leu	Asp	Lys
1				5				10					15		

Gln	Ala	Gln	Ala	Glu	Phe	Val	Lys	Trp	Leu	Leu	Lys	Gly	Gly	Pro	Ser
		20					25					30			

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
	35					40	

<210> 14

<211> 40

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 2)

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa là Aib

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> alpha-METYL HÓA

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa là Aib

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa là Aib

<220>

<221> MOD_RES

<222> (40)..(40)

<223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 14

Tyr	Xaa	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Xaa	Ile	Xaa	Leu	Asp	Lys
1				5					10					15	

Gln	Ala	Gln	Ala	Glu	Phe	Val	Lys	Trp	Leu	Leu	Lys	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
		35					40

<210> 15

<211> 40

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 3)

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa là Aib

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> alpha-METYL HÓA

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa là Aib

<220>

<221> MOD_RES

<222> (40)..(40)

<223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 15

Tyr	Xaa	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ala	Ile	Xaa	Leu	Asp	Lys
1				5					10					15	

Gln Ala Gln Ser Glu Phe Val Lys Trp Leu Leu Lys Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
 35 40

<210> 16
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 4)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (40)..(40)
 <223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 16

Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Xaa Ile Xaa Leu Asp Lys
 1 5 10 15

Gln Ala Gln Ser Glu Phe Val Lys Trp Leu Leu Lys Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
35 40

<210> 17
<211> 39
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 5)

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> Xaa là Aib

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)..(6)
<223> alpha-METYL HÓA

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa là Aib

<220>
<221> MOD_RES
<222> (39)..(39)
<223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 17

Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ala Ile Xaa Leu Asp Lys
1 5 10 15

Gln Ala Gln Ala Glu Phe Val Lys Trp Leu Leu Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 18
<211> 39
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 6)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)..(39)
 <223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 18

Tyr	Xaa	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Xaa	Ile	Xaa	Leu	Asp	Lys
1				5					10					15	

Gln	Ala	Gln	Ala	Glu	Phe	Val	Lys	Trp	Leu	Leu	Lys	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser
						35

<210> 19
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 7)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)..(39)
 <223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 19

Tyr	Xaa	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ala	Ile	Xaa	Leu	Asp	Lys
1				5					10					15	

Gln	Ala	Gln	Ser	Glu	Phe	Val	Lys	Trp	Leu	Leu	Lys	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser
						35

<210> 20
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 8)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)..(39)
 <223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 20

Tyr	Xaa	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Xaa	Ile	Xaa	Leu	Asp	Lys
1				5					10					15	

Gln	Ala	Gln	Ser	Glu	Phe	Val	Lys	Trp	Leu	Leu	Lys	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser
			35			

<210> 21
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 9)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)

<223> Xaa là Aib

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa là Aib

<220>

<221> MOD_RES

<222> (40)..(40)

<223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 21

Tyr	Xaa	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Xaa	Lys	Xaa	Leu	Asp	Lys
1				5					10					15	

Gln	Ala	Gln	Ala	Glu	Phe	Val	Lys	Trp	Leu	Leu	Lys	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
		35					40

<210> 22

<211> 40

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 10)

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa là Aib

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> alpha-METYL HÓA

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa là Aib

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (40)..(40)
 <223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 22

Tyr	Xaa	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Xaa	Ala	Xaa	Leu	Asp	Lys
1				5					10					15	

Gln	Ala	Gln	Ala	Glu	Phe	Val	Lys	Trp	Leu	Leu	Lys	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
		35					40

<210> 23
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 11)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa là Aib

<220>

<221> MOD_RES
 <222> (40)..(40)
 <223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 23

Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Xaa Phe Xaa Leu Asp Lys
 1 5 10 15

Gln Ala Gln Ala Glu Phe Val Lys Trp Leu Leu Lys Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
 35 40

<210> 24
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 12)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa là Pya(4)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (40)..(40)
 <223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 24

Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Xaa Xaa Xaa Leu Asp Lys
 1 5 10 15

Gln Ala Gln Ala Glu Phe Val Lys Trp Leu Leu Lys Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
 35 40

<210> 25
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 13)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(13)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (40)..(40)
 <223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 25

Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Xaa Ile Phe Leu Asp Lys
1 5 10 15

Gln Ala Gln Ala Glu Phe Val Lys Trp Leu Leu Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
35 40

<210> 26

<211> 40

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 14)

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa là Aib

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> alpha-METYL HÓA

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa là Aib

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa là Cha

<220>

<221> MOD_RES

<222> (40)..(40)

<223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 26

Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Xaa Ile Xaa Leu Asp Lys

```

1              5              10              15

Gln Ala Gln Ala Glu Phe Val Lys Trp Leu Leu Lys Gly Gly Pro Ser
      20              25              30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
      35              40

<210>  27
<211>  40
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo

<220>
<223>  Peptit tổng hợp (Ví dụ 15)

<220>
<221>  misc_feature
<222>  (2)..(2)
<223>  Xaa là Aib

<220>
<221>  MOD_RES
<222>  (6)..(6)
<223>  alpha-METYL HÓA

<220>
<221>  misc_feature
<222>  (11)..(11)
<223>  Xaa là Aib

<220>
<221>  MOD_RES
<222>  (13)..(13)
<223>  alpha-METYL HÓA

<220>
<221>  MOD_RES
<222>  (40)..(40)
<223>  Amit hóa đầu tận cùng C

<400>  27

Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Xaa Lys Phe Leu Asp Lys
1              5              10              15

Gln Ala Gln Ala Glu Phe Val Lys Trp Leu Leu Lys Gly Gly Pro Ser

```

20

25

30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
 35 40

<210> 28
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 16)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa là Cha

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (40)..(40)
 <223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 28

Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Xaa Lys Xaa Leu Asp Lys
 1 5 10 15

Gln Ala Gln Ala Glu Phe Val Lys Trp Leu Leu Lys Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys

35

40

<210> 29
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 17)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(13)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (40)..(40)
 <223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 29

Tyr	Xaa	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Xaa	Ile	Tyr	Leu	Asp	Lys
1				5					10					15	

Gln	Ala	Gln	Ala	Glu	Phe	Val	Lys	Trp	Leu	Leu	Lys	Gly	Gly	Pro	Ser
		20					25						30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
		35					40

<210> 30

<211> 40
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 18)

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> N terminal (acetyl)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (40)..(40)
 <223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 30

Tyr	Xaa	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Xaa	Ile	Xaa	Leu	Asp	Lys
1				5					10					15	

Gln	Ala	Gln	Ala	Glu	Phe	Val	Lys	Trp	Leu	Leu	Lys	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
		35					40

<210> 31
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 19)

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> N terminal (benzoyl)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (40)..(40)
 <223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 31

Tyr	Xaa	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Xaa	Ile	Xaa	Leu	Asp	Lys
1				5					10					15	

Gln	Ala	Gln	Ala	Glu	Phe	Val	Lys	Trp	Leu	Leu	Lys	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
		35				40	

<210> 32
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 20)

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> N terminal (4-PyCO (4-pyridylcarbonyl))

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> N terminal (4-PyCO (4-pyridylcarbonyl))

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (40)..(40)
 <223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 32

Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Xaa Ile Xaa Leu Asp Lys
 1 5 10 15

Gln Ala Gln Ala Glu Phe Val Lys Trp Leu Leu Lys Gly Gly Pro Ser

20

25

30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
 35 40

<210> 33

<211> 40

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 21)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> N terminal (cPrCO (Cyclopropanecarbonyl))

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa là Aib

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> alpha-METYL HÓA

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa là Aib

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa là Aib

<220>

<221> MOD_RES

<222> (40)..(40)

<223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 33

Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Xaa Ile Xaa Leu Asp Lys
 1 5 10 15

Gln Ala Gln Ala Glu Phe Val Lys Trp Leu Leu Lys Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
 35 40

<210> 34
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 22)

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> N terminal (amidino)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (40)..(40)
 <223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 34

Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Xaa Ile Xaa Leu Asp Lys
 1 5 10 15

Gln Ala Gln Ala Glu Phe Val Lys Trp Leu Leu Lys Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
 35 40

<210> 35
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 23)

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> N-METYL HÓA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (40)..(40)
 <223> Amit hóa đầu tận cùng C

<400> 35

Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Xaa Ile Xaa Leu Asp Lys
 1 5 10 15

Gln Ala Gln Ala Glu Phe Val Lys Trp Leu Leu Lys Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
 35 40

<210> 36
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 24)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa là Aib

<400> 36

Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Xaa Lys Tyr Leu Asp Lys
 1 5 10 15

Gln Ala Gln Ala Glu Phe Val Lys Trp Leu Leu Lys Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
 35 40

<210> 37
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 25)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa là Aib

<400> 37

Tyr	Xaa	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Xaa	Lys	Tyr	Leu	Asp	Lys
1				5					10					15	

Gln	Ala	Gln	Gln	Glu	Phe	Val	Lys	Trp	Leu	Leu	Lys	Gly	Gly	Pro	Ser
			20					25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys
		35					40

<210> 38
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp (Ví dụ 26)

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa là Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> alpha-METYL HÓA

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> Xaa là Aib

<400> 38

Tyr	Xaa	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Xaa	Lys	Tyr	Leu	Asp	Lys
1				5					10					15	

Gln	Ala	Gln	Gln	Glu	Phe	Val	Lys	Trp	Leu	Leu	Lys	Gly	Gly	Pro	Ser
		20						25					30		

Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser
		35				