



(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)



1-0049238

(51)<sup>2020.01</sup> C07K 1/04; C07K 7/06; C07K 1/06

(13) B

(21) 1-2021-06808

(22) 04/05/2020

(86) PCT/FR2020/000158 04/05/2020

(87) WO2020/221970 05/11/2020

(30) 1904604 02/05/2019 FR

(45) 25/07/2025 448

(43) 25/02/2022 407A

(73) STRAINCHEM (FR)

Rue Emile Duclaux, Biopôle Clermont Limagne, 63360 SAINT-BEAUZIRE, France

(72) YOUTE TENDOUNG, Jean-Jacques (FR); SERRE, Audrey (FR).

(74) Công ty TNHH IPCELLS & Cộng Sự (IPCELLS & ASSOCIATED CO.,LTD)

(54) PHƯƠNG PHÁP TỔNG HỢP PEPTIT HOẶC PROTEIN HOẶC  
PEPTIDOMIMETIC

(21) 1-2021-06808

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình để tổng hợp peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic bằng cách kéo dài liên tục, với các đơn vị, của đầu thứ hai (chức amin bậc một hoặc chức amin bậc hai, chức hydroxyl hoặc chức thiol) của một chuỗi peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic, đặc trưng ở chỗ: các đơn vị nêu trên được chọn từ nhóm bao gồm: axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino, axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy và axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto (tự nhiên hoặc không tự nhiên hoặc tổng hợp), các phân tử có ít nhất hai nhóm chức; đầu thứ nhất của peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic nêu trên được liên kết bằng một liên kết cộng hóa trị với một phân tử liên kết mà có thể hòa tan trong dung môi hữu cơ như dung môi đã halogen hóa (metylen clorit, clorofom), etyl axetat, tetrahydrofuran, 2-metyltetrahydrofuran, isooctan, xyclohexan, hexan, metylxyclohexan hoặc metyl tert-butyl ete, hoặc dung môi thơm như benzen hoặc toluen, hoặc bất kỳ dung môi thích hợp nào khác.

### Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hóa học của peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic, và cụ thể hơn sáng chế đề cập đến việc tổng hợp hóa học các chất này từ các phân tử đa chức, và cụ thể là axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino và/hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy và/hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto.

Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến phương pháp tổng hợp peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic trong dung dịch. Phương pháp này không sử dụng các nhóm bảo vệ thông thường như tert-butoxycarbonyl (Boc) hoặc fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) trên chức amin của axit  $\alpha$ ,  $\beta$ , hoặc  $\gamma$ -amino. Tương tự như vậy, không cần thiết phải sử dụng các nhóm bảo vệ trên chức hydroxyl của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc trên chức thiol của axit,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto.

Phương pháp này dựa vào việc dùng tương ứng axit  $\alpha$ ,  $\beta$ , hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$ , hoặc  $\gamma$ -hydroxyl hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$ , hoặc  $\gamma$ -mercapto đã hoạt hóa ở dạng 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazolidin-5-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazinan-6-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazepan-7-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-dioxolan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-dioxan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-dioxepan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathiolan-5-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathian-6-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathiepan-7 hoặc các dẫn xuất của các chất này và của một họ phân tử liên kết, cụ thể là các dẫn xuất của polyolefin hoặc polyolefin oligome hoặc polyalken. Phân tử liên kết được liên kết với một phân tử có ít nhất hai nhóm chức ưa điện tử và/hoặc ưa nhân, và cụ thể là với axit  $\alpha$ ,  $\beta$ , hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$ , hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$ ,

hoặc  $\gamma$ -mercapto thứ nhất, sau đó các chất này sẽ là đối tượng của các bước kéo dài/lắp lại để dẫn đến peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic.

Phương pháp này cho phép thu được peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic một cách hiệu quả hơn (nghĩa là giảm số lượng các bước), theo cách nhanh hơn, tinh khiết hơn hoặc dễ tinh chế hơn so với các phương pháp hiện tại trên chất hỗ trợ rắn hoặc trong dung dịch. Phương pháp này rất dễ tự động hóa.

### **Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Sự phát triển vượt bậc trong sự phát triển của các peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic điều trị trong thập kỷ qua đã dẫn đến một lượng lớn các phân tử mới được chấp nhận trên thị trường (Xem ấn phẩm của J. Med. Chem., 2018, 22, 1382 -1414, Bioorg. Med. Chem., 2018, 26, 2700-2707); do vậy liệu pháp dựa vào peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic đã trở thành một trong các phần động nhất trong ngành dược phẩm. Ung thư, bệnh chuyển hóa và các bệnh của hệ thần kinh trung ương là các lĩnh vực điều trị chính thúc đẩy nhu cầu về peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic điều trị mới.

Tuy nhiên, một số trở ngại ngăn việc áp dụng rộng rãi peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic trong điều trị. Ví dụ, có thể đề cập đến chu kỳ phân nửa chuyển hóa ngắn và bản chất ưa nước của các chất này. Một yếu tố quan trọng khác và cho đến nay là quan trọng nhất, làm chậm sự phát triển của các ứng dụng điều trị của peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic là phương pháp tổng hợp các chất này.

Quá trình tổng hợp peptit pha lỏng thứ nhất được thực hiện hơn một thế kỷ trước bởi E. Fisher và E. Fourneau (Ber. Dtsch. Chem. Ges. 1901, 34, 2868-2879). Kể từ đó, nhiều nhà hóa học đã có những cải tiến; đây là trường hợp của Bodansky và du Vigneaud (J. Am. Chem. Soc., 1959, 51, 5688-5691) với Beyerman và Cộng sự (Rec. Trav. Chim., Hà Lan 1973, 92, 481-492), R. K.

Sharma và R. Jain (Synlett 2007, 603-606), Nodal và Cộng sự (Hóa học tự nhiên 2017, 9, 571-577), Liu và Cộng sự (Org. Lett., 2018, 20, 612-615), và với Muramatsu và Cộng sự. (ACS Catal., 2018, 8, 2181-2187).

Quá trình tổng hợp peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic đã sử dụng thường xuyên nhất liên quan đến việc bảo vệ tạm thời chức amin ( $N\alpha$ ) của axit amino. Ngày nay, các nhóm bảo vệ được sử dụng là nhóm tert-butoxycarbonyl, cách tiếp cận này thường được gọi là chiến lược “Boc”, và nhóm fluorenylmethoxycarbonyl, cách tiếp cận này thường được gọi là chiến lược “Fmoc”. Hai quá trình tổng hợp peptit này đã được biết đến bởi những người có trình độ trong lĩnh vực kỹ thuật tương ứng (Xem phần 7-5 của sổ tay “Hóa sinh” của D. Voet và J.G. Voet, tái bản lần thứ 2, Brussels 2005). Trên thực tế, axit amino được cấp ở trạng thái đã bảo vệ trên chức amin ( $N\alpha$ ) bởi nhóm Fmoc hoặc Boc, và được tham gia trực tiếp vào các phản ứng hoạt hóa/liên kết.

Các axit amino có thể được sử dụng trong các pha lỏng hoặc dạng chất hỗ trợ rắn; trong trường hợp thứ hai, axit amino được bảo vệ trên chức amin ( $N\alpha$ ) được gắn vào một loại nhựa không hòa tan trong dung môi hữu cơ, đây là sự tổng hợp của Merrifield (J. Am. Chem. Soc., 1963, 85, 2149 -2154). Đây là một phương pháp được kiểm soát tốt, tuy nhiên phương pháp này có một số nhược điểm sau: chất phản ứng được sử dụng có giá cao và thiếu sự đồng nhất của các peptit được tổng hợp. Hệ thống được cho là bị thoái hóa, nên phát sinh thêm chi phí để tinh chế bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu suất cao điều chế.

Trong quá trình tổng hợp peptit pha lỏng (LPPS), tất cả các phản ứng đều diễn ra trong dung dịch đồng nhất. Phương pháp luận này được mô tả bởi Bodansky và du Vigneaud (J. Am. Chem. Soc., 1959, 81, 5688-5691). Chức axit cacboxylic (đầu cuối-C) của axit amino ban đầu được bảo vệ ở dạng methyl este, và các axit amino sau được ngưng liên tiếp sau khi bảo vệ chức amin của chúng ( $N\alpha$ ) bằng nhóm cacbonxybenzyl (viết tắt là Cbz) theo sự hoạt hóa của chức axit cacboxylic của chúng (đầu cuối-C) bởi một nitrophenyl este. Tất cả

các chất trung gian tổng hợp được tinh chế bằng cách kết tủa hoặc làm sạch bằng bằng nước (chiết). Phương pháp tổng hợp peptit này là dài, tốn kém và tạo ra sản lượng peptit thấp. Ví dụ, đề cập đến việc tổng hợp ACTH với sản lượng tổng thể khoảng 7%, được mô tả bởi Schwyzer và Sieber (Helv. Chim. Acta 1966, 49, 134-158).

Một sửa đổi của phương pháp này được báo cáo bởi Beyerman và Cộng Sự (Rec. Trav. Chim. Hà Lan 1973, 92, 481-492). Nó bao gồm việc bảo vệ chức axit cacboxylic (đầu cuối-C) của axit amino hoặc một peptit ở dạng benzyl este và thực hiện phản ứng liên kết (hoặc ngưng) khi có dư anhydrit axit amino đã bảo vệ-N $\alpha$ , để nhằm nâng cao sản lượng. Cuối cùng, mặc dù tăng sản lượng của phản ứng liên kết, nhưng sẽ làm mất khả năng hòa tan của peptit trong pha hữu cơ khi sau đó đạt khoảng năm axit amino.

Các chiến lược khác cho phép hòa tan axit amino, để tạo điều kiện tổng hợp peptit, đã được phát triển. Có thể đề cập đến công trình của Narita (Bull. Chem. Soc. Jap., 1978, 51, 1477-1480), công trình của Bayer và Mutter ((Nature 1972, 237, 512-513) về polyetylen glycol như là một chất tá được hòa tan, và các Sáng chế EP 0 017 536 (Sanofi) và EP 2 612 845 A1 và US 2014/0296483 (Ajinomoto Co., Inc.) về sự hòa tan các phân tử liên kết.

Các chiến lược tổng hợp peptit cũng được biết đến với việc sử dụng các nhóm đa chức, nghĩa là các nhóm có khả năng kích hoạt đồng thời chức axit cacboxylic (đầu cuối-C) và bảo vệ chức amin (N $\alpha$ ) của axit amino, tạo thành cấu trúc vòng trung gian phản ứng cao. Đây là trường hợp N-cacboxyanhydrit (viết tắt là NCA) (xem Ber. Dtsch. Chem. Ges., 1906, 39, 857-861; Ber. Dtsch. Chem. Ges., 1907, 40, 3235-3249; Ber. Dtsch. Chem. Ges., 1908, 41, 1721-172; J. Am. Chem. Soc., 1957, 79, 2153-2159; J. Am. Chem. Soc., 1947, 69, 1551-1552). Các chất trung gian phản ứng được tổng hợp từ các axit amino và dẫn xuất diclodimetylsilan (xem S.H. van Leeuwen và Cộng sự., Tetrahedron Letters 2002, 43, 9203-9207 và WO 00/37484 A1). Các dẫn xuất axit amino

được kích hoạt bởi bo trifluorit eterat được phát minh để tổng hợp peptit (xem S.H. van Leeuwen và Cộng sự., Tetrahedron Letters 2005, 46, 653-3656). Sự hoạt hóa của axit amino khi có hexafluoroaxeton cũng được mô tả (xem Chem. Ztg., 1990, 114, 249-251 và J. Spengler và Cộng sự, Chem. Rev., 2006, 106, 4728-4746).

Tất cả các phương pháp tổng hợp peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic này, trong dung dịch hoặc trên chất hỗ trợ rắn, có ít nhất một hoặc nhiều nhược điểm sau đây: việc sử dụng các nhóm bảo vệ, sử dụng quá nhiều chất phản ứng, khả năng raxemic hóa, khả năng hòa tan của peptit thấp trong quá trình tổng hợp các dung môi hữu cơ, giới hạn về kích thước của peptit, quá trình tinh chế đắt và ô nhiễm môi trường, quy trình thí nghiệm phức tạp hoặc khả năng polime hóa. Nói chung, việc kiểm tra các tài liệu hiện có trong lĩnh vực tổng hợp peptit cho thấy còn có nhiều khó khăn trong việc tạo ra peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic có độ tinh khiết cao, sản lượng tốt, với chi phí thấp và dấu vết sinh thái học thấp hơn.

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Sáng chế này khắc phục các nhược điểm bằng cách đề xuất một phương pháp tổng hợp peptit mới hoặc protein hoặc peptidomimetic để loại bỏ những trở ngại liên quan đến việc tiếp cận và sản xuất các chất này còn tồn tại trong lĩnh vực kỹ thuật đã biết.

Theo sáng chế, các nhược điểm được khắc phục bằng một phương pháp tổng hợp peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic trong pha lỏng bao gồm sự kết hợp của hai đặc tính cơ bản được trình bày chi tiết dưới đây.

Mục đích đầu tiên của sáng chế là đề xuất phương pháp tổng hợp peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic bằng cách kéo dài liên tiếp đầu thứ hai của phân tử loại  $Q^a - E - Q^b$ , trong đó  $Q^a$  and  $Q^b$  có thể giống nhau hoặc khác nhau và là chức ưa điện tử và/hoặc ưa nhân, và E là một chất đệm. Đầu thứ hai nêu

trên có thể là một amin bậc một hoặc amin bậc hai, một hydroxyl hoặc một thiol, của axit  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  hoặc  $\delta$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  hoặc  $\delta$ -hydroxyl hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  hoặc  $\delta$ -mercapto hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic, đặc trưng ở chỗ các đơn vị nêu trên được chọn từ nhóm được tạo thành từ: (tự nhiên, hoặc không tự nhiên hoặc tổng hợp) axit  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  hoặc  $\delta$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  hoặc  $\delta$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  hoặc  $\delta$ -mercapto. Ngoài ra, đầu thứ nhất của phân tử loại  $Q^a - E - Q^b$  nêu trên (ví dụ, axit  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  hoặc  $\delta$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  hoặc  $\delta$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  hoặc  $\delta$ -mercapto) hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic nêu trên được gắn vào phân tử liên kết có thể hòa tan được trong dung môi hữu cơ cũng như dung môi halogen hóa (metylen clorit, clorofom), etyl axetat, tetrahydrofuran, 2-metyletetrahydrofuran, isooctan, xyclohexan, hexan, metylxyclohexan, metyl tert-butyl ete hoặc các dung môi thơm như benzen hoặc toluen hoặc bất kỳ dung môi thích hợp nào khác.

Đặc tính cơ bản thứ nhất là việc sử dụng một họ các phân tử liên kết cụ thể. Theo sáng chế, các phân tử liên kết là polyolefin hoặc polyolefin oligome hoặc polyalken. Phương pháp theo sáng chế đề xuất khả năng tiếp cận các peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic tinh khiết cao (tự nhiên hoặc không tự nhiên hoặc tổng hợp). Phương pháp này sẽ tiết kiệm được các bước và nguyên tử do không sử dụng các nhóm bảo vệ (trên chức amin, hydroxyl hoặc thiol của chuỗi chính) và các tác nhân liên kết và do vậy, tiết kiệm chi phí. Cuối cùng, phương pháp là bảo vệ môi trường.

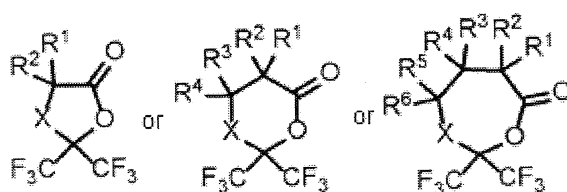
Đặc tính cơ bản thứ hai là việc sử dụng các phân tử loại  $Q^a - E - Q^b$  đa chức, trong đó các nhóm  $Q^a$  and  $Q^b$  có thể là giống nhau hoặc khác nhau, và được chọn từ nhóm ưa điện tử và/hoặc ưa nhân, và E là một chất đệm. Ưu điểm là,  $Q^a$  and  $Q^b$  được chọn từ nhóm được tạo thành từ các chức hóa học như: rượu, andehit, amin bậc một, amin bậc hai, azit, etynil, halogen, thiol, vinyl, và/hoặc chất đệm E được chọn từ nhóm được tạo ra từ các đơn vị cấu trúc như chuỗi

ankyl thơm, tạp sắc, bão hòa (có nhánh hoặc không), chuỗi ankyl không bão hòa (có nhánh hoặc không), glycol (và tốt hơn là polyetylen glycol).

Trong trường hợp thuận lợi, khi sử dụng, như một phân tử đa chức, của phân tử loại  $Q^a - E - Q^b$ , và axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto, những hợp chất này được sử dụng ở dạng hoạt tính của nó, cụ thể là 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazolidin-5-on hoặc hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazinan-6-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazepan-7-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-dioxolan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-dioxan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-dioxepan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathiolan-5-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathian-6-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathiepan-7-on hoặc các dẫn xuất của các chất này.

Sơ đồ 1 minh họa cấu trúc của các dạng đã hoạt hóa này. Loại thứ hai được điều chế từ các axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino tương ứng (công thức này có nghĩa ở đây là: axit  $\alpha$ -amino, axit  $\beta$ -amino hoặc axit  $\gamma$ -amino), hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto (công thức này có nghĩa ở đây là: axit  $\alpha$ -mercapto, axit  $\beta$ -mercapto hoặc axit  $\gamma$ -mercapto).

[Công thức 1]



$X = \text{NH}, \text{N-ankyl}, \text{N-aryl}, \text{O}, \text{S}$

$R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6 = \text{Ankyl hoặc Aryl}$

Sơ đồ 1: Cấu trúc của dạng đã hoạt hóa

Cho đến nay, khả năng điều chế trong dung dịch dễ dàng, peptit bao gồm nhiều hơn bốn axit amino, các loại này là khác nhau hoặc không khác nhau, sử

dùng các dẫn xuất axit amino đã hoạt hóa ở dạng 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazolidin-5-on, chưa bao giờ được chứng minh.

Chính xác mục đích của sáng chế là đề xuất việc sử dụng các axit đã hoạt hóa ở dạng 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazolidin-5-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazinan-6-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazepan-7-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-đioxolan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-đioxan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-đioxepan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathiolan-5-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathian-6-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathiepan-7-on hoặc các dẫn xuất của nó khi có mặt phân tử liên kết cho phép tạo ra peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic có độ tinh khiết cao, trong pha lỏng (hoặc dung dịch).

Phương pháp tổng hợp peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic theo sáng chế được tiến hành bằng cách kéo dài liên tục đầu thứ hai (amin bậc một hoặc amin bậc 2, hydroxyl hoặc thiol) của một chuỗi peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic mà đầu thứ nhất được gắn vào một liên kết phân tử hòa tan được trong dung môi hữu cơ. Phân tử liên kết nêu trên bao gồm một chuỗi polyolefin hoặc polyolefin hoặc polyalkene oligomer có ít nhất mười đơn vị monome, và tốt hơn là khoảng 15 đến 350 đơn vị monome.

Theo một phương án, chuỗi polyolefin nêu trên là một chuỗi polyisobuten (PIB). Cụ thể, phân tử liên kết nêu trên có thể là một polyolefin. Chuỗi polyolefin có thể được chức hóa ít nhất tại một đầu của nó. Ngoài ra, chuỗi polyolefin hoặc polyolefin hoặc polyalken oligome có thể bao gồm nhiều liên kết cacbon-cacbon không bão hòa không quá 5%, và tốt hơn là không quá 3% và/hoặc phân tử liên kết có thể có trọng lượng phân tử trung bình trong khoảng từ 600 đến 20000, và tốt hơn là trong khoảng từ 700 đến 15000.

Trong một phương án, phân tử liên kết nêu trên bao gồm một chuỗi polyolefin (hoặc một chuỗi polyolefin) kết thúc bởi ít nhất một nhóm được chọn từ nhóm gồm:

o Một chức  $X^a$ , trong đó  $X^a$  được chọn từ nhóm bao gồm:  $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-NHR^a$  ( $R^a$  = ankyl hoặc aryl),  $-SH$ ;

o Một chức  $-Y-C_6H_4X^b$ , trong đó

- $Y$  là  $O$ ,  $S$ ,  $CH_2$  hoặc không có,
- $X^b$  được chọn từ nhóm bao gồm:  $OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-NHR^a$ ,  $-SH$ ,  $-CX^aR^aR^b$ ,  $-C_6H_3R^c(CR^aX^a)$ ,

Trong đó:  $R^b$  được chọn từ nhóm bao gồm:  $-H$ ,  $-Aryl$ ,  $-Heteroaryl$ ,  $-Ankyl$ , và

$R^c$  được chọn từ nhóm gồm  $-H$ ,  $-Ankyl$ ,  $-O-Ankyl$ ,  $-Aryl$ ,  $-O-Aryl$ ,  $-Heteroaryl$ ,  $-O-Heteroaryl$ ;

o Chức  $-CR^d=CH-CHX^a$  hoặc chức  $-CR^dH-CH=CH-CHX^a$ , trong đó  $X^a$  có ý nghĩa được xác định trên đây, và  $R^d$  là metyl hoặc etyl.

Cụ thể,  $X^a$  có thể là một chức amin bậc một hoặc bậc hai, rượu, thiol hoặc phenol.

Theo một phương án, trọng lượng của phân tử trung bình theo trọng lượng của các phân tử liên kết, ngoài chức hóa đầu cuối (ví dụ  $-X^a$ ,  $-Z-C_6H_4X^b$  hoặc  $-CR^d=CH-CHX^a$  như được định nghĩa ở trên), bao gồm từ 600 đến 20000, và tốt hơn là từ 700 đến 15000. Trên trọng lượng phân tử trung bình là khoảng 20000, những phân tử này có thể có độ nhớt quá lớn, có nguy cơ giới hạn khả năng hòa tan của chúng trong các dung môi hữu cơ được sử dụng cho bước liên kết/kéo dài hoặc lặp lại.

Một vài dẫn xuất PIB được sử dụng trong bối cảnh của sáng chế là có sẵn trên thị trường, như là phối tử cho xúc tác đồng thể. Ví dụ, việc sử dụng có thể

được tạo từ 2-metyl-3-[polyisobutyl(12)]propanol (trọng lượng phân tử trung bình tính theo trọng lượng là 757, bao gồm chức hóa đầu cuối) hoặc 4-[polyisobutyl(18)]phenol (trọng lượng phân tử trung bình tính theo trọng lượng là 1104, bao gồm chức hóa đầu cuối) lần lượt được phân bổ, theo tài liệu tham khảo 06-1037 và 06-1048 bởi công ty Strem Chemicals. Hai phân tử này là các dẫn xuất polyisobuten có chuỗi được kết thúc tương ứng bởi nhóm  $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{H})-\text{CH}_2-\text{OH}$  (có nghĩa là isopropanol) và bởi một nhóm  $\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH}$  (có nghĩa là phenol).

Theo một khía cạnh của sáng chế, việc sử dụng một phân tử liên kết hòa tan trong dung môi hữu cơ như được mô tả trên đây (và cụ thể hơn là việc sử dụng polyolefin), là cũng có thể đóng vai trò như là chất mang lỏng hoặc một nhóm bảo vệ của chức axit cacboxylic (đầu cuối- C) hoặc của bất kỳ chức hóa học nào khác (chuỗi bên của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto, hoặc bất kỳ phân tử khác có ít nhất hai nhóm chức. Nó cũng cho phép hòa tan các peptit đã liên kết hoặc protein hoặc peptidomimetic và sự tổng hợp của các chất này trong dung dịch hữu cơ (dung môi halogen hóa và/hoặc dung môi không halogen hóa).

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, việc sử dụng phân tử liên kết hòa tan được trong dung môi hữu cơ như đã mô tả trên đây (và cụ thể hơn là sử dụng polyolefin), và không hòa tan được trong một vài dung môi phân cực (như nước và/hoặc etanol và/hoặc axetonitril), tạo điều kiện thuận lợi cho việc tinh chế axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic đã liên kết bằng cách chiết (làm sạch) hoặc lọc đơn giản bằng silic. Vì vậy, việc chiết đơn giản hoặc lọc đơn giản cho phép thu được các peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic đã liên kết với độ tinh khiết hóa học cao.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, việc sử dụng được tạo ra từ các phân tử liên kết sẵn có trên thị trường, hoặc các phân tử liên kết có thể được

tổng hợp đơn giản và trực tiếp từ các tiền chất có sẵn trên thị trường, cụ thể là một số dẫn xuất polyisobuten (PIB).

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto được phản ứng tương ứng ở dạng hoạt hóa của nó 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazolidin-5-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-dioxolan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathiolan-5-on hoặc (2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazinan-6-on, 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-dioxan-4-on, 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathian-6-on, 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazepan-7-on, 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-dioxepan-4-on, 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathiepan-7-on và các dẫn xuất của chúng, với sự có mặt của phân tử liên kết trong dung môi thích hợp (hoặc hỗn hợp dung môi), ở nhiệt độ trong khoảng từ  $-20^{\circ}\text{C}$  đến  $150^{\circ}\text{C}$ . Trong một phương án, phản ứng được thực hiện trong bất kỳ dung môi lỏng trơ nào (hoặc hỗn hợp) có khả năng hòa tan các chất phản ứng. Các dung môi có thể áp dụng bao gồm, nhưng không giới hạn ở các dung môi này, hydrocacbon đã halogen hóa hoặc không halogen hóa. Các dung môi được ưu tiên là tetrahydrofuran, etyl axetat, 2-metyltetrahydrofuran, propylen cacbonat, hoặc bất kỳ dung môi nào khác hoặc hỗn hợp dung môi có khả năng hòa tan hai loại hóa chất này.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, các phản ứng giữa các dẫn xuất PIB và các axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino đã hoạt hóa hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy đã hoạt hóa hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto đã hoạt hóa được thực hiện hóa học theo lô (cụ thể là trong bình hoặc bể chứa), nhưng tốt hơn là chúng được thực hiện hóa học theo dòng (còn gọi là hóa học dòng liên tục).

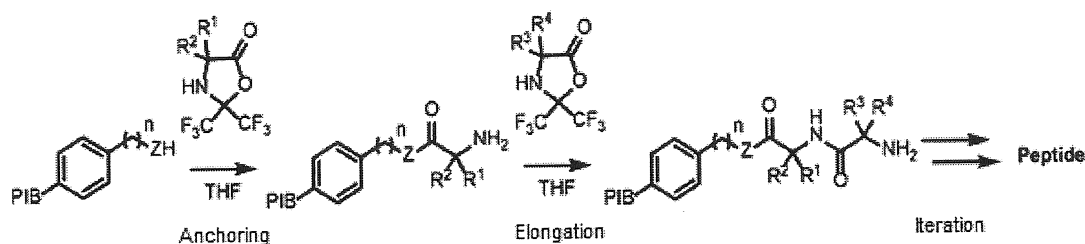
Theo một khía cạnh khác của sáng chế, axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto có các chuỗi bên không tương thích với các điều kiện phản ứng liên kết/kéo dài hoặc lặp lại, có thể bị che tạm thời bởi một nhóm bảo vệ thích hợp. Cụ thể, nó có thể được chọn từ nhóm bao gồm:

- tert-butoxycarbonyl (viết tắt là Boc),
- fluorenylmethoxycarbonyl (viết tắt là Fmoc),
- benzyl (viết tắt là Bzl),
- trityl (viết tắt là Trt),
- carboxybenzyl (viết tắt là Cbz),
- 2,2,4,6,7-pentamethylđihydrobenzofuran-5-sulfonyl (viết tắt là Pbf),
- 4-methoxy-2,3,6-trimethylbenzenesulphonyl (viết tắt là Mtr).

Cũng có thể sử dụng bất kỳ nhóm bảo vệ nào khác tương thích với các phương pháp hiện tại.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, các phân tử liên kết nêu trên phản với với axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc axit  $\gamma$ -mercapto đã hoạt hóa thứ nhất (sau đây viết tắt là AAA1), dẫn đến liên kết cộng hóa trị giữa axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto và các phân tử liên kết.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, chuỗi peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic nêu trên được tạo ra từ n đơn vị của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto; đầu thứ hai của nó là một đơn vị khác của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto, sau đây viết tắt là AAAn. Trong quá trình thực hiện phương pháp, chuỗi peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic kéo dài bằng cách kéo dài hoặc lặp lại liên tiếp, và trong mỗi bước này, đơn vị khác của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto đã hoạt hóa được thêm vào, sau đây viết tắt là AAA(n+1), vào đầu thứ hai nêu trên (amin bậc một hoặc amin bậc hai, rượu hoặc thiol tự do). Trình tự phản ứng được thể hiện trong sơ đồ phản ứng số 2 dưới đây.



[Công thức 2]

$Z = \text{NH}, \text{N-alkyl}, \text{N-aryl}, \text{O}, \text{S}$

$R^1, R^2, R^3, R^4 = \text{H}$  và/hoặc alkyl và/hoặc aryl

$n = 0, 1$

Sơ đồ phản ứng 2: phương pháp chung để thu được một peptit

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, có thể sử dụng trong chuỗi peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic nêu trên, tự nhiên và/hoặc không tự nhiên và/hoặc tổng hợp axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino và/hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy và/hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, có thể sử dụng trong chuỗi peptidomimetic nêu trên một hoặc nhiều đơn vị phân tử loại  $Q^a - E - Q^b$ , có ít nhất hai nhóm chức, giống nhau hoặc khác nhau, và được chọn từ nhóm ưa điện tử hoặc ưa nhân, và được tách bởi một đơn vị chất đệm E. Các nhóm  $Q^a$  và/hoặc  $Q^b$  có thể hoặc không thể là các nhóm đầu cuối. Chất đệm E có thể là thực thể được chọn từ nhóm bao gồm:

- chuỗi béo (phân nhánh hoặc không và không bão hòa hoặc không);
- Aryl hoặc dị vòng (được thay thế hoặc không).

Ưu điểm là, các phân tử của loại  $Q^a - E - Q^b$  mang chức đầu cuối được chọn từ nhóm gồm chức amin bậc một, chức amin bậc hai, chức hydroxyl hoặc chức thiol.

Có thể dễ dàng nhận thấy rằng axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino nêu trên, axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy nêu trên và axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto nêu trên là các trường hợp cụ thể của các phân tử đa chức của loại  $Q^a - E - Q^b$ . Điều tương tự cũng được áp dụng với axit  $\delta$ -amino nêu trên, axit  $\delta$ -hydroxy nêu trên và axit  $\delta$ -mercapto nêu trên, tuy nhiên, không nhất thiết phải tham gia vào phản ứng ở dạng hoạt hóa của nó, giống như các phân tử đa chức không phải là axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto.

Phân tử đa chức  $Q^a - E - Q^b$  có thể có một cấu trúc phân tử, được chọn cụ thể từ epoxit, aziridin, thiiran. Vì vậy, theo sáng chế, peptidomimetic bao gồm nhóm epoxy-suxinat, như peptit E-64, hoặc peptit azirido, như Miraziridin, có thể được điều chế.

Một số ví dụ được đưa ra dưới đây cho các phân tử loại  $Q^a - E - Q^b$  đa chức có thể được sử dụng trong bối cảnh của sáng chế: sarcosin, 2-(1-aminoethyl)-1,3-oxazole-4-axit cacboxylic và (2R,3R,4R)-3-hydroxy-2,4,6-trimethyl-axit heptanoic.

Phân tử đa chức  $Q^a - E - Q^b$  nêu trên đặc biệt có thể là một axit amino theo định nghĩa được đưa ra dưới đây. Nó cũng có thể là một peptit, ví dụ dipeptit, tripeptit, tetrapeptit, pentapeptit, hexapeptit, heptapeptit, octapeptit, nonapeptit, decapeptit, hoặc thậm chí là một peptit dài hơn.

Các phân tử đa chức có thể được đưa vào chuỗi peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic bằng các phản ứng hóa học đã biết. Chúng không mang một nhóm bảo vệ trên chức đầu cuối được chọn từ nhóm bao gồm chức amin bậc một, chức amin bậc hai, chức hydroxyl hoặc chức thiol. Ví dụ, nếu phân tử đa chức nêu trên là một axit amino hoặc một peptit, phân tử đa chức này không mang N-bảo vệ đầu cuối; nó có thể bảo vệ các chuỗi hoặc các chức bên của nó, không bị biến đổi trong quá trình kéo dài peptit.

Như đã mô tả trên đây, axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino nêu trên, axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy nêu trên và axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto nêu trên tốt hơn được sử dụng ở dạng hoạt hóa của nó.

Các đơn vị đã dẫn xuất từ các phân tử đa chức không được chọn từ nhóm axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino, axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto, có thể gắn thuận lợi vào đầu cuối-C của peptidomimetic nêu trên, hoặc trên đầu cuối (cụ thể là bằng chức hóa amin bậc một hoặc amin bậc hai, hydroxyl hoặc chức thiol), hoặc trên chuỗi bên (của ít nhất một axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto), hoặc giữa hai đơn vị được chọn từ nhóm axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto.

Theo một phương án, số lượng đơn vị tạo ra từ các phân tử đa chức không được chọn từ nhóm axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino, axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy và axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto không vượt quá 50% về số lượng, và tốt hơn là không vượt quá 25% về số lượng.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, ít nhất một bước trong đó chuỗi peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic nêu trên được gắn vào phân tử liên kết nêu trên và được tinh chế từ môi trường phản ứng bằng cách chiết trong dung môi hữu cơ (như xyclohexan, heptan hoặc bất kỳ dung môi thích hợp nào khác) không hòa tan với nước (hoặc nước/hỗn hợp etanol hoặc nước/hỗn hợp axetonitril) hoặc bằng cách lọc silic.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, cho phép thu được peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic có độ tinh khiết cao, sau khi khử bảo vệ các chuỗi bên (nếu cần), sau đó tách phân tử liên kết của nó sau bước lặp lại cuối cùng, được sử dụng theo điểm đến của nó, ví dụ như là thành phần hoạt tính cho các thử nghiệm lâm sàng, chăm sóc lâm sàng hoặc các ứng dụng khác.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, các phân tử liên kết có thể tái sử dụng (tái chế) theo phương pháp của sáng chế.

Mục đích thứ hai của sáng chế là đề xuất một phân tử có khả năng thu được bằng phương pháp theo sáng chế. Phân tử nêu trên bao gồm một axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic gắn vào các phân tử liên kết.

### **Mô tả chi tiết sáng chế**

#### **Các định nghĩa**

Theo ngữ cảnh của sáng chế, “axit amino” nghĩa là: axit amino tự nhiên và axit amino không tự nhiên hoặc axit amino tổng hợp. Axit amino “tự nhiên” bao gồm dạng L của axit amino protein gọi là axit amino protein tiêu chuẩn có thể được tìm thấy trong các protein có nguồn gốc tự nhiên, có nghĩa là alanin (Ala), arginin (Arg), asparagin (Asn), axit aspartic (Asp), cystein (Cys), glutamin (Gln), axit glutamic (Glu), glyxin (Gly), histidin (His), isoleuxin (Ile), leuxin (Leu), lizin (Lys), methionin (Met), phenylalanin (Phe), prolin (Pro), serin (Ser), threonin (Thr), tryptophan (Trp), tiroxin (Tyr) và valin (Val). Chúng cũng bao gồm các axit amino tạo protein, và cụ thể hơn là pyrrolysine và selenocystein.

Axit amino “không tự nhiên” bao gồm dạng D của axit amino tự nhiên được xác định trên đây, các dạng đồng nhất của axit amino tự nhiên nhất định (như: arginin, lizin, phenylalanin và serin), và các dạng cũng không phải là leuxin và valin.

Axit amino “không tự nhiên” cũng bao gồm tất cả các axit amino tổng hợp. Chúng cũng bao gồm các axit amino không tự nhiên, như:

Abu = axit 2-aminobutyric  $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}(\text{COOH})(\text{NH}_2)$ ;

iPr = isopropyl-lysine  $(\text{CH}_3)_2\text{C-NH-}(\text{CH}_2)_4\text{-CH}(\text{COOH})(\text{NH}_2)$ ;

Aib = axit 2-aminoisobutyric;

F-trp = N-formyl-tryptophan;

Orn = ornithin;

Nal(2') = 2-naphthylalanin.

Danh sách này rõ ràng là không đầy đủ.

Nó cũng có thể sử dụng axit amino  $\alpha$  và  $\beta$  không bão hòa tự nhiên hoặc không tự nhiên.

Theo sáng chế, thuật ngữ “Axit amino hoạt hóa” được sử dụng dưới đây để chỉ các axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino đã hoạt hóa ở dạng 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazolidin-5-on hoặc (2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazinan-6-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazepan-7-on hoặc các dẫn xuất của chúng, có khả năng hoặc không thuộc vào nhóm nào trên chuỗi bên.

Sáng chế cũng có thể áp dụng cho việc tổng hợp peptidomimetic. Các tiền chất được sử dụng cho quá trình tổng hợp này được định nghĩa như sau:

Thuật ngữ “Axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy” được sử dụng dưới đây theo các quy tắc thuật ngữ của IUPAC, được biết đến bởi những người có trình độ trong lĩnh vực kỹ thuật tương ứng. Ví dụ như các hợp chất như axit lactic, axit malic, axit tartaric, axit salixylic hoặc axit  $\gamma$ -hydroxybutyric, được tìm thấy trong tự nhiên. Trong ngữ cảnh của sáng chế, cũng có thể sử dụng tất cả các axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy “không tự nhiên” mà cũng bao gồm tất cả các axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy tổng hợp.

Thuật ngữ “axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy đã hoạt hóa” chỉ tất cả các axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy tự nhiên và/hoặc không tự nhiên và/hoặc tổng hợp, được hoạt hóa tương ứng ở dạng 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-dioxolan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-dioxan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-dioxepan-

4-on và các dẫn xuất của chúng, có khả năng hoặc không có khả năng của một nhóm bảo vệ trên chuỗi bên.

Thuật ngữ “Axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto” được sử dụng dưới đây theo quy tắc thuật ngữ của IUPAC, được biết đến bởi những người có trình độ trong lĩnh vực kỹ thuật tương ứng. Ví dụ các hợp chất như axit thioglycolic, axit 3-mercaptopropionic, axit mercaptobutanoic. Trong bối cảnh của sáng chế, cũng có thể sử dụng tất cả các axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto không tự nhiên cũng bao gồm tất cả các axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto tổng hợp.

Thuật ngữ “Axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto đã hoạt hóa” chỉ tất cả các hợp chất tạo ra từ sự hoạt hóa của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto (tự nhiên, không tự nhiên hoặc tổng hợp) ở dạng 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathiolan-5-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathian-6-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathiepan-7-on và các dẫn xuất của nó, có khả năng hoặc không có khả năng của một nhóm bảo vệ trên chuỗi bên.

Người có trình độ trong lĩnh vực kỹ thuật tương ứng biết rằng trong ngữ cảnh này, ký hiệu  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  và  $\delta$  đề cập đến vị trí của các cacbon được thay thế bởi amin (bậc một hoặc bậc hai) hoặc chức hydroxyl hoặc thiol liên quan đến cacbon của chức axit cacboxylic (đầu cuối-C).

Thuật ngữ “Peptidomimetic” được sử dụng trong lĩnh vực kỹ thuật tương ứng như là một thuật ngữ chức năng cho một phân tử có khả năng làm theo hoặc chặn một peptit liên quan đến sự tương tác của nó với thụ thể cụ thể. Đặc biệt, một peptidomimetic có thể bao gồm các đơn vị không phải là axit amino.

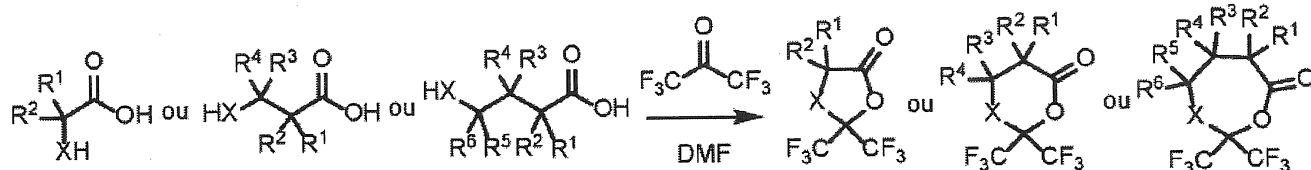
Các từ viết tắt “DMF”, “DMSO” và “THF” được các nhà hóa học biết đến, chỉ định lần lượt là dimethylformamit, dimethylsulfoxit và tetrahydrofuran.

Đặc tính cơ bản thứ nhất của phương pháp theo sáng chế là sử dụng tương ứng axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto đã hoạt hóa ở dạng 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazolidin-5-on

hoặc (2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazinan-6-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazepan-7-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-đioxolan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-đioxan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-đioxepan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathiolan-5-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathian-6-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathiepan-7-on và các dẫn xuất của nó, với sự có mặt của một phân tử liên kết trong dung môi hữu cơ. “Dung môi hữu cơ” dưới đây nghĩa là bất kỳ dung môi lỏng trơ nào (hoặc hỗn hợp) có khả năng (nóng và/hoặc lạnh) hòa tan các chất phản ứng. Các dung môi có thể áp dụng được bao gồm, nhưng không giới hạn trong các dung môi này, hydrocacbon đã halogen hóa hoặc chưa halogen hóa.

Axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto đã hoạt hóa lần lượt ở dạng 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazolidin-5-on hoặc (2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazinan-6-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazepan-7-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-đioxolan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-đioxan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-đioxepan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathiolan-5-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathian-6-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazepan-7-on và các dẫn xuất của các chất này, được điều chế theo các phương pháp đã biết, từ axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto, là tự nhiên hoặc không tự nhiên (có một chuỗi bên (được bảo vệ hoặc không được bảo vệ) và hexafluoroaxeton. Sơ đồ phản ứng 3 là sự hoạt hóa của các axit khác nhau, nó là một phản ứng được biết đến như sau:

[Công thức 3]



X = NH, N-alkyl, N-aryl, O, S

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup> = Alkyl hoặc Aryl

Sơ đồ phản ứng 3: Sự hoạt hóa của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto

Theo một khía cạnh của sáng chế, sẽ được mô tả chi tiết hơn dưới đây, các phân tử liên kết (hoặc nhóm bảo vệ hoặc các phân tử hòa tan) là các polyolefin hoặc cụ thể là các polyolefin oligome (polyolefin cũng được gọi là polyalken) và các dẫn xuất của các chất này, nghĩa là phân tử được chức hóa.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, phương pháp này để tổng hợp peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic (được bảo vệ hoặc không được bảo vệ trên các chuỗi bên của nó), trong pha lỏng, đặc trưng ở chỗ việc sử dụng được tạo ra từ một phân tử liên kết và axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto đã hoạt hóa tương ứng ở dạng 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazolidin-5-on hoặc (2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazinan-6-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazepan-7-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-dioxolan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-dioxan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-dioxepan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathiolan-5-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathian-6-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathiepan-7-on và dẫn xuất của các chất này. Sau đó một liên kết cộng hóa trị được tạo ra giữa hai loại phân tử này. Bước kéo dài/lặp lại bao gồm việc thêm hoặc cô đặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto đã hoạt hóa sau

đây, được bảo vệ tùy chọn trên các chuỗi bên của nó (ở dạng este, ete, thioeste, thioete hoặc bất kỳ chức hóa học nào khác tương thích với phương pháp hiện tại). Vì vậy, phân tử liên kết đóng vai trò như là một nhóm bảo vệ cho chức axit cacboxylic (đầu cuối-C) của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto thứ nhất.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, phương pháp này để tổng hợp peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic có thể được thực hiện bằng cách sử dụng một đoạn peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic được bảo vệ thích hợp và axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic, đã liên kết trên một phân tử PIB, cho phép, sau khi liên kết, thu được một peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic dài hơn.

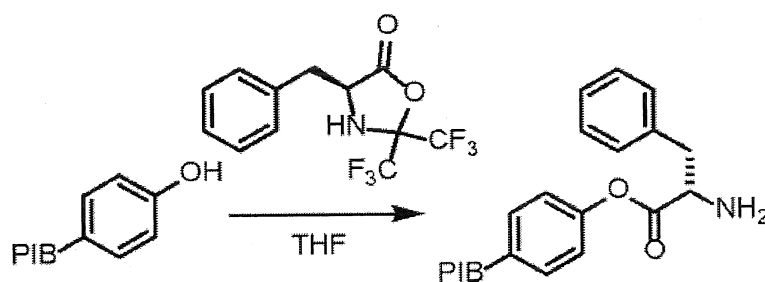
Theo một khía cạnh khác của sáng chế, phương pháp này để tổng hợp peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic có thể được thực hiện sử dụng các phân tử  $Q^a - E - Q^b$  có ít nhất hai nhóm chức  $Q^a$  and  $Q^b$ , hai nhóm này là giống nhau hoặc khác nhau, và được chọn từ chức hóa học ưa điện tử và/hoặc ưa nhân. Ví dụ về các cấu trúc này là oxit styren, aminothiophenole hoặc 1-azido-4-(bromometyl) benzen. Các phân tử này có thể được gắn trực tiếp vào các phân tử liên kết hoặc đưa vào trong quá trình tổng hợp trên chức amin (bậc một hoặc bậc hai) hoặc hydroxyl hoặc thiol, axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic đã liên kết.

Phương pháp theo sáng chế có thể được thực hiện trong bất kỳ dung môi lỏng trơ nào (hoặc hỗn hợp) có khả năng hòa tan (halogen hóa hoặc không halogen hóa) các chất phản ứng, ở nhiệt độ thường trong khoảng từ  $-20^\circ\text{C}$  đến  $150^\circ\text{C}$ , trong lò phản ứng (theo lô hoặc theo dòng).

Theo một đặc tính khác của sáng chế axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic được liên kết trên phân tử PIB là đặc trưng ở chỗ chức đầu cuối của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc protein hoặc peptidomimetic nêu trên hoặc bất kỳ phân tử nào khác có ít nhất hai nhóm chức được liên kết bởi một liên kết cộng hóa trị (este, ete, amit, thioeste hoặc bất kỳ chức hóa học nào khác), vì vậy, có khả năng hòa tan trong nước rất thấp (<30 mg/ml). Theo đó dẫn xuất PIB đóng vai trò như là một chất mang lỏng hoặc một phân tử hòa tan để tổng hợp peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic.

Bằng cách minh họa, sơ đồ phản ứng 4 minh họa phản ứng của một axit amino đã hoạt hóa ở dạng 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazolidin-5-on với một dẫn xuất polyisobuten (viết tắt là PIB) được kết thúc bởi một chức phenol. Trong trường hợp này, axit  $\alpha$ -amino là L-phenylalanin (Phe).

[Công thức 4]

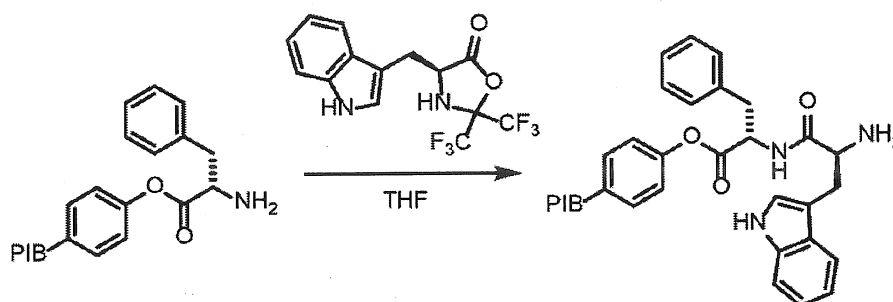


Sơ đồ phản ứng 4: Liên kết với chất mang lỏng

Vì vậy, axit  $\alpha$ -amino thứ nhất của peptit tương lai được gắn vào phân tử liên kết qua một liên kết cộng hóa trị dạng este.

Sơ đồ phản ứng 5 minh họa bước kéo dài hoặc lặp lại, nghĩa là việc gắn đơn vị axit amino bậc hai, với axit amino bậc một đã gắn vào phân tử liên kết. Trong trường hợp này, axit amino bậc hai là L-tryptophan (Trp).

[Công thức 5]



Sơ đồ phản ứng 5: Kéo dài

Có thể dễ dàng thấy rằng phương pháp này cho phép, bằng cách lặp lại liên tiếp, thêm các đơn vị của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto trên các axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto cuối cùng hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic đã gắn vào dẫn xuất PIB, trong quá trình tổng hợp, để thu được một peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic có trình tự mong muốn. Peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic được liên kết hóa học với phân tử liên kết, nó có thể được tách ra bất kỳ lúc nào và cụ thể là hơn là tách ra sau bước lặp lại cuối cùng, ra khỏi các sản phẩm phân cực bằng cách chiết trong dung môi hữu cơ như hexan hoặc xyclohexan và nước hoặc trong hỗn hợp nước/etanol hoặc nước/axetonitrile. Vào cuối trình tự lặp lại này, và tùy ý sau khi khử bảo vệ các chuỗi bên, peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic có thể được tách ra khỏi phân tử liên kết; vì vậy peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic mất khả năng hòa tan trong dung môi không phân cực, và có thể được tách ra khỏi phân tử liên kết, để sử dụng theo mục đích đã định.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, dẫn xuất (hoặc liên kết) của một axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic (được bảo vệ hoặc không được bảo vệ trên chuỗi bên) với một dẫn xuất PIB thật sự dẫn đến việc

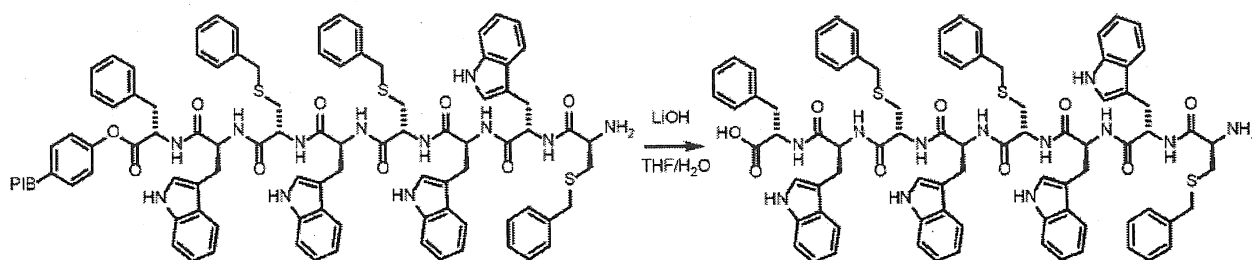
tăng đáng kể độ hòa tan của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc axit  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto nêu trên hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic đã liên kết trong các pha lỏng hữu cơ. Cụ thể hơn, những axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto này hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic đã liên kết trên một dẫn xuất PIB trở nên hòa tan trong dung môi hữu cơ, như dung môi đã halogen hóa (metylen clorit, clorofom), etyl axetat, tetrahydrofuan, 2-metyletetrahydrofuran, isooctan, xyclohexan, hexan, metylxyclohexan, metyl tert-butyl ete propylen cacbonat hoặc dung môi thơm như benzen hoặc toluen hoặc bất kỳ dung môi thích hợp nào khác. Vì vậy, axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic đã liên kết trên dẫn xuất PIB có hệ số phân chia với pha hữu cơ trong quá trình chiết/lắng cao, vì vậy cho phép tinh lọc đơn giản và nhanh. Đồng thời, khả năng hòa tan của nó trong dung môi như nước hoặc hỗn hợp nước/etanol hoặc nước/axetonitril là rất thấp.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, phản ứng giữa dẫn xuất PIB và axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto đã hoạt hóa bậc một, tùy chọn có một chuỗi bên bảo vệ hoặc không được bảo vệ (este, amit, thioeste hoặc bất kỳ chức hóa học nào khác), dẫn đến sản phẩm có khả năng hòa tan trong nước thấp (<30 mg/ml).

Vì vậy, khi một axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic được gắn vào dẫn xuất PIB, sau đó dẫn xuất này đóng vai trò như là một chất mang lỏng (hoặc phân tử liên kết hoặc phân tử hòa tan) vì sản phẩm của phản ứng này trở nên hòa tan trong các dung môi hữu cơ nhưng vẫn không hòa tan trong các dung môi như nước hoặc hỗn hợp nước/etanol hoặc nước/axetonitril; điều này cho phép tách ra khỏi hỗn hợp phản ứng bằng cách tách pha.

Sơ đồ phản ứng 6 minh họa một ví dụ về bước tách octapeptit có trình tự Phe-Trp-Cys(Bzl)-Trp-Cys(Bzl)-Trp-Trp-Cys(Bzl)-NH<sub>2</sub>, từ phân tử liên kết (dẫn xuất PIB kết thúc bằng một chức phenol), trên đó peptit được liên kết bằng chức axit cacboxylic (đầu cuối-C) của L-phenylalanin. Các chuỗi bên của gốc L-xystein được bảo vệ bởi một nhóm benzyl (Bzl). Peptit tự do là không hòa tan trong các dung môi vô cực (có nghĩa là xyclohexan, hexan), điều này cho phép các chuỗi bên được tách dễ dàng ra khỏi phân tử liên kết. Phân tử liên kết có thể được phục hồi để tái sử dụng trong phương pháp.

[Công thức 6]



Sơ đồ phản ứng 6: Tách octapeptit ra khỏi phân tử liên kết.

Peptit kết tủa trong các dung môi như: etyl ete, xyclohexan hoặc bất kỳ dung môi thích hợp nào khác. Sau đó peptit có thể được sử dụng theo mục đích đã định.

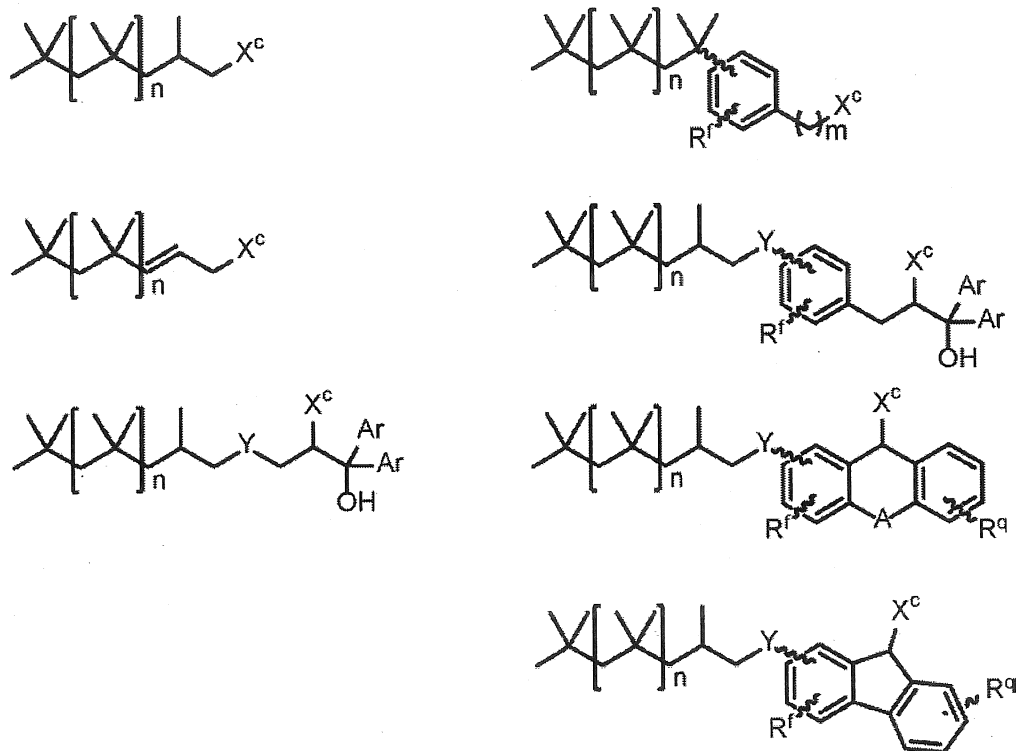
Đặc tính cơ bản thứ hai của phương pháp điều chế peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic theo sáng chế sẽ được mô tả, cụ thể là việc sử dụng các phân tử liên kết hòa tan được trong các dung môi hữu cơ như: etyl axetat, tetrahydrofuran, 2-metyletetrahydrofuran, isootan, xyclohexan, hexan, metylxyclohexan metyl tert-butyl ete hoặc các dung môi đã halogen hóa.

Ưu điểm là, phương pháp theo sáng chế sử dụng polyolefin hoặc cụ thể hơn là polyolefin oligome (polyolefin còn được gọi là polyalken) và các dẫn xuất của nó như là các phân tử liên kết hoặc chất mang lỏng hoặc nhóm bảo vệ, cho dù đối với chức axit cacboxylic (đầu cuối-C) của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic, hoặc của chuỗi bên của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic (ở dạng este, amit, ete, thioeste, thioeter hoặc bất kỳ dạng chức hóa hoặc phù hợp nào khác) trong pha lỏng. Phân tử Polyolefin bao gồm một chuỗi các nguyên tử cacbon liên kết với nhau bằng liên kết đơn. Chúng có thể bao gồm các nhánh được tạo ra từ các nhóm ankyl giống nhau hoặc khác nhau, nhưng tốt hơn là các nhóm ankyl giống nhau. Tốt hơn, các polyme bao gồm một số đơn vị monome của ít nhất 10 đơn vị hoặc tốt hơn là bao gồm trong khoảng từ 15-350 đơn vị. Tốt hơn là các polyme đồng nhất, nhưng copolyme (bão hòa hoặc không bão hòa) có thể được sử dụng. Trong trường hợp polyme hoặc copolyme không bão hòa, số lượng các liên kết không bão hòa trong chuỗi các nguyên tử cacbon có lợi không vượt quá 5%, và tốt hơn là không vượt quá 3%.

Tốt hơn, chúng là dẫn xuất của polyisobuten (PIB), một loại polyme đã biết từ những năm 1930 của thế kỷ trước, nhưng cũng có thể sử dụng các dẫn xuất của polypropylen.

Những phân tử liên kết này tốt hơn là được sử dụng trong phương pháp theo sáng chế ở dạng các dẫn xuất đã chức hóa, như sẽ giải thích chi tiết dưới đây. Sơ đồ 7 minh họa số lượng các dẫn xuất PIB với chức năng của chúng phù hợp với chất mang lỏng để thực hiện sáng chế.

[Công thức 7]



Sơ đồ 7: Cấu trúc chung của các phân tử liên kết.

Trong những công thức này:

- $X^c$  là một nhóm được chọn từ nhóm được tạo thành từ OH,  $-NH_2$ ,  $-NHR^a$  ( $R^a$ =ankyl hoặc aryl),  $-SH$ ;
- Ar là nhóm thơm hoặc dị thơm, được thay thế hoặc không;
- A vắng mặt hoặc một nhóm được chọn từ nhóm được tạo thành từ:  $CH_2$ ,  $CH_2-CH_2$ , S;
- $R^f$  là nhóm được chọn từ nhóm được tạo thành từ H, aryl, hetero-aryl, ankyl, O-ankyl, O-aryl, O-hetero-aryl;
- $R^g$  là nhóm được chọn từ nhóm được tạo thành từ H, ankyl, O-ankyl, aryl, hetero-aryl, O-aryl, O-hetero-aryl;
- số n là một số nguyên thường lớn hơn 10 và tốt hơn là trong khoảng từ 15 đến 350.

Số  $m$  là 0 hoặc 1. Trong đó, nhóm  $X^c$  có thể là một chức trong amin bậc một hoặc bậc hai, rượu, thiol hoặc phenol.

Theo sáng chế, những phân tử liên kết được liên kết với chức axit cacboxylic của một axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto (đầu cuối-C) hoặc tất cả các chức hóa học của một phân tử có ít nhất hai nhóm chức qua một liên kết cộng hóa trị. Điều này giả định rằng các phân tử liên kết được tham gia ở dạng chức hóa thích hợp, được gọi trong mô tả hiện tại là “các dẫn xuất PIB”. Thuật ngữ này cũng bao gồm các các dẫn xuất của các phân tử liên kết mà không phải là các dẫn xuất của polyisobuten, nhưng là các dẫn xuất của các polyolefin khác như đã định nghĩa trên đây; nó bao gồm các dẫn xuất cụ thể của polyolefin oligome. Chức năng hóa này của phân tử liên kết nói chung là chức năng hóa đầu cuối, tốt hơn là một trong các đầu của chuỗi các nguyên tử cacbon; chức năng này được mô tả dưới đây.

Theo sáng chế, axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic có thể được chức hóa trên các chuỗi bên của nó với các dẫn xuất PIB, ở dạng este, ete, thioete, thioeste, hoặc bất kỳ các chức hóa học tương thích với phương pháp hiện tại. Điều này dẫn đến việc cung cấp các dẫn xuất PIB như là vai trò của một nhóm bảo vệ của chuỗi bên của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto nêu trên hoặc peptin hoặc protein hoặc peptidomimetic.

Các chuỗi polyolefin hoặc polyolefin oligome hoặc polyalken được sử dụng như là các phân tử liên kết đặc trưng ở trọng lượng phân tử trung bình tính theo trọng lượng, nhưng cũng có thể để sử dụng các chuỗi polyolefin hoặc polyolefin oligome hoặc polyalkene đã biết như là chuỗi “đồng nhất” bao gồm các phân tử giống nhau với độ dài chuỗi nhất định.

Cụ thể hơn, phương pháp tổng hợp peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic, được bảo vệ tùy chọn trên các chuỗi bên của nó, trong pha lỏng (dung dịch) theo sáng chế, đặc trưng bởi thực tế là axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic được hòa tan trong một môi trường hữu cơ bởi một dẫn xuất PIB đã liên kết với chức axit cacboxylic của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic hoặc bất kỳ phân tử nào khác có ít nhất hai nhóm chức. Dẫn xuất PIB hoạt động như một nguyên tử liên kết (dưới đây gọi là “chất mang lỏng” hoặc “phân tử hòa tan” của axit cacboxylic của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic hoặc bất kỳ phân tử nào khác có ít nhất hai nhóm chức. Peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic được gắn vào phân tử liên kết này được tổng hợp bằng cách gắn liên tiếp axit cacboxylic của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc bất kỳ phân tử nào khác có ít nhất hai nhóm chức trên của axit cacboxylic của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc bất kỳ phân tử nào khác có ít nhất hai nhóm chức. Vì vậy, phân tử liên kết cũng hoạt động như là một nhóm bảo vệ cho các chức axit cacboxylic (đầu cuối-C) trong quá trình tổng hợp của peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic trong các lần lặp lại liên tiếp.

Chức axit cacboxylic (đầu cuối-C) của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic, được bảo vệ tùy chọn trên các chuỗi bên của nó, được liên kết bằng một liên kết cộng hóa trị của este, amit, thioeste, hoặc bất kỳ liên kết hóa học cộng hóa trị nào khác, với dẫn xuất PIB ưa béo, tạo ra độ hòa tan trong nước rất thấp (<30 mg/ml). Theo nghĩa này dẫn xuất PIB hoạt động như

là một chất mang lỏng hoặc một phân tử hòa tan để tổng hợp peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic.

Dẫn xuất này của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic (được bảo vệ hoặc không được bảo vệ trên các chuỗi bên của nó) với một dẫn xuất PIB làm tăng đáng kể độ hòa tan của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc peptit hoặc protentin nêu trên hoặc peptidomimetic đã liên kết, trong pha lỏng hữu cơ. Cụ thể hơn, những axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic đã liên kết trên dẫn xuất PIB trở nên hòa tan được trong các dung môi hữu cơ như: dung môi halogen hóa (metylen clorit, clorofom), etyl axetat, tetrahydrofuran, 2-metyletetrahydrofuran, isooctan, xyclohexan, hexan, metylxyclohexan, metyl tert-butyl ete hoặc dung môi thơm như benzen hoặc toluen hoặc bất kỳ dung môi thích hợp nào khác. Kết quả là, axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic được gắn vào một dẫn xuất PIB có một hệ số phân chia cho pha hữu cơ cao trong quá trình chiết/chất với sự có mặt của xyclohexan hoặc hexan và nước hoặc hỗn hợp nước/etanol hoặc nước/axetonitril, vì vậy cho phép tinh chế đơn giản và nhanh chóng.

Phương pháp tổng hợp peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic (được bảo vệ hoặc không được bảo vệ trên các chuỗi bên), trong pha lỏng theo một phương án của sáng chế, điểm gốc là một phân tử có ít nhất hai nhóm chức hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto đã hoạt hóa tương ứng ở dạng 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazolidin-5-on hoặc (2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazinan-6-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazepan-7-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-diioxolan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-diioxan-4-on hoặc 2,2-

bis(trifluorometyl)-1,3-đioxepan-4-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathiolan-5-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathian-6-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxathiepan-7-on hoặc các dẫn xuất của nó, sẽ được liên kết với một trong các phân tử liên kết như đã xác định trên đây, qua một liên kết cộng hóa trị, và được thêm vào hoặc ngưng tụ, bằng cách lặp lại liên tiếp, các phân tử có ít nhất hai nhóm chức hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto được hoạt hóa và bảo vệ tùy chọn trên các chuỗi bên của nó.

Phương pháp tổng hợp peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic theo sáng chế có thể được thực hiện bằng cách sử dụng một đoạn của peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic được bảo vệ thích hợp trên các chuỗi bên của nó và một dãy peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic được liên kết trên một phân tử PIB cho phép, sau đó ghép nối để thu được một peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic dài hơn.

Phương pháp tổng hợp peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic theo sáng chế có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các phân tử có ít nhất hai nhóm chức năng, cụ thể là nhóm  $Q^a$  và nhóm  $Q^b$ , hai nhóm này có thể giống nhau hoặc khác nhau, và được chọn từ nhóm ưa điện tử hoặc ưa nhân. Ví dụ, trong phương án thứ nhất  $Q^a$  có thể là một nhóm ưa điện tử, và  $Q^b$  có thể là một nhóm ưa nhân, hoặc theo cách khác, trong phương án thứ hai,  $Q^a$  có thể là một nhóm ưa điện tử thứ nhất và  $Q^b$  có thể là một nhóm ưa điện tử thứ hai, hoặc theo cách khác, trong phương án thứ ba,  $Q^a$  có thể là một nhóm ưa nhân thứ nhất và  $Q^b$  có thể là một nhóm ưa nhân thứ hai; trong các biến thể  $Q^a$  và  $Q^b$  có thể cũng được chỉ định cùng nhóm ưa điện tử, hoặc cùng nhóm ưa nhân. Những phân tử này có ít nhất hai nhóm chức có thể được liên kết trực tiếp trên phân tử liên kết hoặc đưa vào trong quá trình tổng hợp trên chức amin (bậc một hoặc bậc hai) hoặc hydroxy hoặc thiol, axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -

hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto hoặc peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic đã liên kết.

Ưu điểm là, lượng dư phân cực nhỏ của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto đã hoạt hóa được sử dụng trong mỗi bước liên kết, kéo dài và/hoặc lặp lại.

Các phân tử đa chức này có thể được đưa vào chuỗi peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic bằng các phản ứng hóa học đã biết. Nếu cần, các phân tử đa chức này có thể được bảo vệ hoặc che (trên chức ưa nhân của nó hoặc bất kỳ chức hóa học nào khác yêu cầu nó, bằng các phản ứng đã biết), và được hoạt hóa bằng các kỹ thuật đã biết.

Các đơn vị có nguồn gốc từ các phân tử đa chức không được chọn từ nhóm axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto có thể gắn dễ dàng vào đầu cuối-C của peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic nêu trên, hoặc trên đầu cuối N, O hoặc S (cụ thể bằng chức hóa của chức amin, hydroxyl hoặc thiol), hoặc trên chuỗi bên, hoặc ngoài ra là giữa hai đơn vị được chọn từ axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto.

Theo ưu điểm của sáng chế, số lượng các đơn vị có nguồn gốc từ các phân tử đa chức không được chọn từ nhóm axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto không vượt quá 50% số lượng đơn vị, và tốt hơn là không vượt quá 25% số lượng đơn vị, và thậm chí tốt hơn là không vượt quá 10% số lượng đơn vị.

Ví dụ, semaglutit, một peptidomimetic bao gồm một đơn vị axit  $\alpha$ -aminobutyric trên chuỗi bên, có thể được điều chế bằng cách sử dụng phương pháp theo sáng chế.

Danh sách các phân tử loại axit  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  hoặc axit  $\delta$ -amino dưới đây có thể được sử dụng như là các đơn vị trong ngữ cảnh của phương pháp theo sáng chế,

ngoài các axit amino đã đề cập trên đây: axit  $\delta$ -amino levulinic, axit  $\gamma$ -aminobutyric, axit  $\beta$ -aminobutyric (còn được gọi với chữ viết tắt là BABA),  $\beta$ -alanin,  $\beta$ -lyzin, axit  $\beta$ -aminoisobutyric,  $\beta$ -N-Metylamin-L-alanin, axit (2S,3S,8S,9S)-3-amino-9-methoxy-2,6,8-trimetyl-10-phenyldeca-4,6-đienoic (còn được gọi với chữ viết tắt là ADDA), axit (2R)-2-(metylamin)butanedioic (còn được gọi với chữ viết tắt là NMDA) và axit 4-amino-3-hydroxybutanoic.

Danh sách các phân tử loại axit  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  hoặc  $\delta$ -hydroxy được đưa ra dưới đây có thể được sử dụng như là các đơn vị trong ngữ cảnh của phương pháp theo sáng chế: axit 4-hydroxybutanoic, axit 2-(hydroxymetyl)-3-metylbutanoic và axit (2R,3R,4R)-3-hydroxy-2,4,6-trimetylheptanoic.

Danh sách của các phân tử của loại axit  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  hoặc  $\delta$ -mercapto được đưa ra dưới đây có thể được sử dụng như là các đơn vị trong ngữ cảnh của phương pháp theo sáng chế: axit 4-sulfanylbutanoic, axit 2-xyclopropyl-3-sulfanylpropanoic, axit 2-xyclobutyl-3-sulfanylpropanoic và axit 2-(2-sulfanylphenyl)butanoic.

Phương pháp theo sáng chế có nhiều ưu điểm.

Ưu điểm thứ nhất là cho phép sản xuất peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic (được bảo vệ hoặc không được bảo vệ trên các chuỗi bên) đã liên kết với phân tử liên kết trong pha lỏng hữu cơ.

Ưu điểm thứ hai là cho phép thu được các peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic đã liên kết (được bảo vệ hoặc không được bảo vệ trên các chuỗi bên của nó) có độ tinh khiết cao bằng cách làm sạch đơn giản (chiết) trong một dung môi hữu cơ phân cực và với nước hoặc trong một hỗn hợp nước/etanol hoặc nước/axetonitril hoặc bằng cách lọc, vì vậy loại bỏ các sản phẩm phụ (muối, axit hoặc bất kỳ dạng phân tử nào khác) không được liên kết với dẫn xuất của polyolefin hoặc polyolefin oligome hoặc polyalken như các chất phản ứng dư. Các dung môi hữu cơ như xyclohexan, heptan, hexan có điểm bốc cháy

$<15^{\circ}\text{C}$ , là thích hợp để hòa tan các dẫn xuất của polyolefin hoặc polyolefin oligome hoặc polyalken trong quá trình chiết hoặc làm sạch. Do vậy, phương pháp theo sáng chế cho phép giới hạn các bước tinh chế cần thiết theo các phương pháp trong lĩnh vực kỹ thuật đã biết.

Ưu điểm thứ ba, đặc biệt quan trọng, là phương pháp theo sáng chế cho phép tổng hợp peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic, bằng cách điều chỉnh độ dài dẫn xuất của polyolefin hoặc polyolefin oligome hoặc polyalken, có nghĩa là bằng cách làm cho chúng ưa béo hơn.

Ưu điểm thứ tư là có khả năng kiểm soát độ tinh khiết của peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic trong quá trình tổng hợp, bất kỳ lúc nào, bằng cách lấy phân ước sau đó phân tích bằng các kỹ thuật khác nhau bởi những người có trình độ trong lĩnh vực kỹ thuật tương ứng (như trắc khối phổ, sắc ký lỏng hiệu suất cao, cộng hưởng từ hạt nhân proton hoặc cacbon-13).

Ưu điểm thứ năm là không cần sử dụng một nhóm bảo vệ cho chức amin (bậc một hoặc bậc hai) hoặc hydroxyl hoặc thiol, tương ứng, axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto, nói chung, thêm chi phí cho hai bước (bảo vệ và khử bảo vệ). Nói chung, phương pháp theo sáng chế cho phép tối ưu chi phí của các nguyên tử vì nó không liên quan đến các nhóm bảo vệ cho chức amin (bậc một hoặc bậc hai) hoặc hydroxyl hoặc thiol của các axit tương ứng, hoặc các chất liên kết. Kinh tế nguyên tử và các bước này của phương pháp theo sáng chế tạo ra, trong thực tế công nghiệp, tiết kiệm chi phí đồng thời giảm phát sinh chất thải, đây là một yếu tố môi trường thuận lợi không giống như các phương pháp hiện tại.

Ưu điểm thứ sáu của sáng chế là thực tế sự hoạt hóa của chức axit cacboxylic (đầu cuối-C) là đồng phát với sự bảo vệ của chức amin (bậc một hoặc bậc hai) hoặc hydroxyl hoặc thiol, do vậy giảm số lượng các bước.

Ưu điểm thứ bảy của sáng chế là thu được các peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic có độ tinh khiết cao sau khi tách các nhóm bảo vệ của các chuỗi bên, sau đó là của phân tử liên kết. Điều này tránh làm tinh khiết peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic đã tổng hợp. Kết quả là, tiết kiệm chi phí hơn so với các phương pháp đã biết. Điều này giảm tác động thêm vào môi trường trong quá trình sản xuất peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic.

Ưu điểm thứ tám của sáng chế là khả năng tiếp cận các peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic có kích thước lớn hơn, bằng cách điều chỉnh kích thước của chất mang lỏng hoặc bằng cách đưa nó vào một hoặc nhiều chuỗi bên của các axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -hydroxy hoặc axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -mercapto đã hoạt hóa.

Các ưu điểm khác của sáng chế là khả năng tự động hóa phương pháp theo sáng chế và khả năng tái chế dung môi chiết và các phân tử liên kết (polyolefin hoặc polyolefin oligome hoặc polyalken). Thật vậy, khi hoàn thành chuỗi lặp lại để thu được trình tự của peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic mục tiêu, thì phần sau được khử bảo vệ từ các nhóm bảo vệ của chuỗi bên của nó và cuối cùng là của phân tử liên kết bằng một trong các phản ứng thường được sử dụng trong tổng hợp peptit, như thủy phân, xà phòng hóa, hydro phân hoặc bất kỳ phản ứng phù hợp nào khác với phương pháp hiện tại.

Nhờ độ tinh khiết cao, các peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic được tạo ra bằng phương pháp này có thể được sử dụng như là sản phẩm dược phẩm (thuốc và vắc xin), mỹ phẩm, sản phẩm kiểm dịch thực vật, sản phẩm thực phẩm hoặc làm chất trung gian để tổng hợp các sản phẩm như vậy.

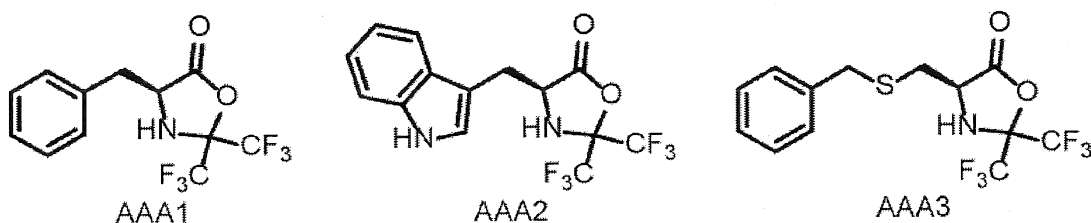
#### Ví dụ

Một octapeptit được điều chế bằng cách sử dụng phương pháp theo sáng chế.

Trong bước thứ nhất, axit amino sau đây được hoạt hóa: L-Phenylalanin đã hoạt hóa (được chỉ định dưới đây là AAA1), L-tryptophan đã hoạt hóa (được chỉ định dưới đây là AAA2) và L-xystein đã hoạt hóa (được bảo vệ bởi nhóm bảo vệ benzyl (Bzl) (được chỉ định dưới đây là AAA3). Phản ứng này tương ứng với sơ đồ phản ứng 3 trên đây.

Đối với dung dịch axit amino (10mmol) trong N-N-đimetylformamit (5 mL), ở nhiệt độ phòng, được trang bị một thiết bị ngưng khí đá khô và máy sục khí, hexafluoroaxeton được ngưng dư (> 2 tương đương). Sau mười sáu giờ khuấy ở nhiệt độ phòng, hỗn hợp phản ứng được cô đặc đến khô, và phần còn lại được làm khô lạnh. Sản phẩm thô thu được được hòa tan trong điclorometan, lọc sau đó loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm và làm khô lạnh (ba lần). 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazolidin-5-on hoặc axit amino đã hoạt hóa thu được ở dạng dầu hoặc rắn với sản lượng trong khoảng từ 80-90%. Công thức của chất này được đưa ra dưới đây theo sơ đồ 8.

[Công thức 8]



Sơ đồ 8: Cấu trúc của axit amino đã hoạt hóa

Trong bước hai, một axit amino đã hoạt hóa (L-phenylalanin đã hoạt hóa gọi là AAA1) được liên kết với phân tử liên kết, trong trường hợp này là một dẫn xuất PIB. Phản ứng này tương ứng với sơ đồ phản ứng 4 trên đây.

Dung dịch dẫn xuất PIB (31,1 mg, 0,028 mmol) và axit amino đã hoạt hóa (sau đây gọi là AAA1) (9,8 mg, 0,031 mmol) trong hỗn hợp tetrahydrofuran/hexafluoroisopropanol (2mL) được làm nóng đến nhiệt độ 50°C

trong 2 giờ, sau đó làm mát xuống nhiệt độ phòng. Thêm dung dịch natri hydrocacbonat bão hòa (2mL) vào môi trường phản ứng và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong ba mươi phút. Môi trường phản ứng được chiết ba lần bằng xyclohexan, làm sạch bằng nước muối, làm khô bằng natri sulfat, lọc và ngưng dưới áp suất giảm để dẫn đến dẫn xuất  $\text{H}_2\text{N-Phe-PIB}$ .

Trong bước ba, peptit được kéo dài bằng cách gắn với axit amino đã hoạt hóa khác (sau đây gọi là AAA2). Phản ứng này tương ứng với sơ đồ phản ứng 5 trên đây.

Dung dịch của dẫn xuất  $\text{H}_2\text{N-Phe-PIB}$  (tương đương 1) và các axit amino đã hoạt hóa sau đây (AAA2) (tương đương 1.1) trong tetrahydrofuran/hexafluoroisopropanol (2 mL, 9/1) được làm nóng đến  $50^\circ\text{C}$  trong 2 giờ sau đó làm mát xuống nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được xử lý như trước để dẫn đến dipeptit đã liên kết tương ứng ( $\text{H}_2\text{N-Trp-Phe-PIB}$ ) v.v. Trong trường hợp này, sự lặp lại được lặp lại với axit amino đã hoạt hóa AAA3 dưới cùng điều kiện để thu được tripeptit đã liên kết tương ứng ( $\text{H}_2\text{N-Cys(Bzl)-Trp-Phe-PIB}$ ).

Sau đó việc lặp lại tiếp theo được thực hiện cho đến khi thu được octapeptit đã liên kết của trình tự  $\text{H}_2\text{N-Cys(Bzl)-Trp-Trp-Cys(Bzl)-Trp-Cys(Bzl)-Trp-Phe-PIB}$ .

Trong bước cuối cùng, peptit được tách ra khỏi phân tử liên kết. Phản ứng này tương ứng với sơ đồ phản ứng 6 trên đây.

Dung dịch lithi hydroxit (1 M, 2 mL) được thêm vào một dung dịch của octapeptit đã liên kết ( $\text{H}_2\text{N-Cys(Bzl)-Trp-Trp-Cys(Bzl)-Trp-Cys(Bzl)-Trp-Phe-PIB}$ ) (8 mg) trong một hỗn hợp tetrahydrofuran/nước (8:2) (2 mL), ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Môi trường phản ứng được pha loãng với dung dịch đioxan/HCl và kết tủa được làm sạch bằng xyclohexan.

### **Yêu cầu bảo hộ**

1. Phương pháp tổng hợp peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic bằng cách kéo dài liên tục đầu thứ hai, đầu này có chức amin bậc một hoặc bậc hai của một peptit hoặc chuỗi protein hoặc peptidomimetic bởi các đơn vị, đặc trưng ở chỗ:

các đơn vị nêu trên được chọn từ nhóm bao gồm các phân tử loại  $Q^a$  - E -  $Q^b$ , trong đó  $Q^a$  và  $Q^b$  có thể là giống nhau hoặc khác nhau, và được chọn từ các nhóm ưa điện tử và nhóm ưa nhân, và E là một chất đệm;

đầu thứ nhất của peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic nêu trên được gắn bằng liên kết cộng hóa trị với một phân tử liên kết hòa tan được trong các dung môi hữu cơ như các dung môi đã halogen hóa (tốt hơn là metylen clorit hoặc clorofom), etyl axetat, tetrahydrofuran, 2-metyletetrahydrofuran, isootan, xyclohexan, hexan, metylxyclohexan, metyl tert-butyl ete hoặc các dung môi thơm như benzen hoặc toluen;

phương pháp nêu trên không liên quan đến các nhóm bảo vệ cho các chức amin bậc một hoặc amin bậc hai;

đơn vị  $Q^a$  - E -  $Q^b$  nêu trên được chọn từ nhóm bao gồm: axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino tự nhiên hoặc không tự nhiên hoặc tổng hợp;

đơn vị của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino nêu trên được thực hiện tương ứng ở dạng 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazolidin-5-on hoặc (2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazinan-6-on hoặc 2,2-bis(trifluorometyl)-1,3-oxazepan-7-on và trong đó phương pháp này không sử dụng chất hỗ trợ rắn.

2. Phương pháp theo điểm 1, đặc trưng ở chỗ các đơn vị nêu trên của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino được sử dụng ở dạng đã hoạt hóa.

3. Phương pháp theo điểm 1 hoặc 2, đặc trưng ở chỗ phân tử liên kết nêu trên bao gồm một chuỗi polyolefin hoặc là một chuỗi polyolefin hoặc polyolefin hoặc polyalken oligome, với ít nhất 10 đơn vị monome, và tốt hơn là trong khoảng từ 15 đến 350 đơn vị monome và tốt hơn là một chuỗi polyisobuten.

4. Phương pháp theo điểm 3, đặc trưng ở chỗ chuỗi polyolefin hoặc polyolefin hoặc polyalken oligome được chức hóa ít nhất tại một đầu của chuỗi.

5. Phương pháp theo điểm 3 hoặc 4, đặc trưng ở chỗ chuỗi polyolefin hoặc polyolefin hoặc polyalken oligome bao gồm lượng liên kết cacbon-cacbon không bão hòa không vượt quá 5%, và tốt hơn là không vượt quá 3%.

6. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 3 đến 5, đặc trưng ở chỗ phân tử liên kết có trọng lượng phân tử trung bình tính theo trọng lượng trong khoảng từ 600 đến 20000, và tốt hơn là trong khoảng từ 700 đến 15000.

7. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 1 đến 6, đặc trưng ở chỗ phân tử liên kết nêu trên bao gồm một chuỗi polyolefin (hoặc là một chuỗi polyolefin) hoặc polyolefin hoặc polyalken oligome được kết thúc bởi ít nhất một nhóm được chọn từ nhóm bao gồm:

- một chức  $-X^a$ , ở đó  $X^a$  được chọn từ nhóm gồm  $-\text{OH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{NHR}^a$  ( $R^a = \text{alkyl hoặc aryl}$ ),  $-\text{SH}$ ;

- một chức  $-\text{Y}-\text{C}_6\text{H}_4\text{X}^b$ , trong đó

- $\text{Y}$  là  $\text{O}$ ,  $\text{S}$ ,  $\text{CH}_2$  hoặc không có,

- $\text{X}^b$  được chọn từ nhóm gồm  $-\text{OH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{NHR}^a$ ,  $-\text{SH}$ ,  $-\text{CX}^a\text{R}^a\text{R}^b$ ,  $-\text{C}_6\text{H}_3\text{R}^c(\text{CR}^a\text{X}^a)$ ,

trong đó  $\text{R}^b$  được chọn từ nhóm gồm  $-\text{H}$ ,  $-\text{Aryl}$ ,  $-\text{Heteroaryl}$ ,  $-\text{Ankyl}$ , và  $\text{R}^c$  được chọn từ nhóm gồm  $-\text{H}$ ,  $-\text{Ankyl}$ ,  $-\text{O-Ankyl}$ ,  $-\text{Aryl}$ ,  $-\text{O-Aryl}$ ,  $-\text{Heteroaryl}$ ,  $-\text{O-Heteroaryl}$ ;

◦ một chức  $-\text{CR}^d=\text{CH}-\text{CHX}^a$  hoặc chức  $-\text{CR}^d\text{H}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CHX}^a$ , trong đó  $\text{X}^a$  được định nghĩa như được xác định ở trên và  $\text{R}^d$  là methyl hoặc etyl.

8. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 1 đến 7, đặc trưng ở chỗ:

đầu thứ nhất của chuỗi peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic là một đơn vị thứ nhất của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino,

chuỗi peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic nêu trên được tạo ra từ n đơn vị của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino, và

đầu thứ hai của chuỗi peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic nêu trên là đơn vị khác của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino.

9. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 1 đến 8, đặc trưng ở chỗ trong quá trình kéo dài liên tục nêu trên, đơn vị khác của axit  $\alpha$ ,  $\beta$  hoặc  $\gamma$ -amino được thêm vào đầu thứ hai nêu trên từ các dạng hoạt hóa tương ứng của nó.

10. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 1 đến 9, đặc trưng ở chỗ peptit nêu trên hoặc protein nêu trên hoặc peptidomimetic nêu trên thu được bằng cách ngưng tụ một peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic đã liên kết trên phân tử liên kết và một đoạn peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic được bảo vệ thích hợp trên các chuỗi bên của nó.

11. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 1 đến 10, bao gồm ít nhất một bước trong đó chuỗi peptit hoặc protein hoặc peptidomimetic nêu trên gắn vào phân tử liên kết nêu trên được tách ra từ môi trường phản ứng bằng cách tách trong một dung môi hữu cơ (như: cyclohexan, heptan, hexan), bằng cách tách hoặc làm sạch bằng nước hoặc hỗn hợp nước/etanol hoặc nước/axetonitril hoặc lọc đơn giản.

12. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 1 đến 11, bao gồm một bước trong đó peptit nêu trên hoặc protein nêu trên hoặc peptidomimetic nêu trên được tách ra khỏi phân tử liên kết.