



(12) **BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ**

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

(11) 
1-0020683

(51)⁷ **C11D 3/386, C07K 5/062, 5/08, 5/072,**
5/083, 5/087, 5/065

(13) **B**

(21) 1-2013-04130

(22) 29.06.2012

(86) PCT/EP2012/062760 29.06.2012

(87) WO2013/004636 10.01.2013

(30) 11172357.3 01.07.2011 EP

(45) 25.04.2019 373

(43) 25.04.2014 313

(73) NOVOZYMES A/S (DK)

Krogshoejvej 36, DK-2880 Bagsvaerd, Denmark

(72) MIKKELSEN, Lise, Munch (DK), PONZINI, Francesco (IT), BISACCIA, Roberto (IT), CANEVOTTI, Renato (IT)

(74) Công ty TNHH Tâm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) **CHẾ PHẨM CHỨA SUBTILISIN ĐƯỢC LÀM ỔN ĐỊNH, PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU CHẾ CHẾ PHẨM NÀY VÀ HỢP CHẤT ĐỂ SỬ DỤNG TRONG CHẾ PHẨM NÀY**

(57) Sáng chế đề cập đến sự chuyển hóa aldehyt peptit thành sản phẩm cộng hydrosulfit có thể được sử dụng để làm tăng độ tan trong nước trong quá trình tinh chế aldehyt peptit. Thuận lợi là, bản thân sản phẩm cộng hydrosulfit này có hiệu quả làm chất làm ổn định và chất ức chế subtilisin và cũng có thể làm ổn định enzym thứ hai nếu có mặt. Sản phẩm cộng hydrosulfit có hiệu quả làm chất ức chế subtilisin, và giữ lại được tác dụng ức chế và làm ổn định của nó trong chất tẩy rửa dạng lỏng trong quá trình bảo quản. Do đó, việc sử dụng sản phẩm cộng hydrosulfit có thể tránh được chi phí và thời gian để chuyển hóa nó ngược trở lại thành aldehyt peptit và có thể tiết kiệm được bước làm khô aldehyt peptit sau đó, và điều này có thể tránh được sự bất tiện của việc vận dụng aldehyt peptit ở dạng bột hoặc dưới dạng dung dịch nước rất loãng.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa subtilisin được làm ổn định bằng dẫn xuất aldehyt peptit. Sáng chế còn đề cập đến phương pháp điều chế chế phẩm này, và hợp chất để sử dụng trong chế phẩm này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

WO 98/13458, WO 94/04651, WO 98/13460, WO 95/25791 và WO 2009/118375 bộc lộ chất tẩy rửa dạng lỏng với proteaza dạng subtilisin được làm ổn định bằng aldehyt peptit. WO 2011/036153 bộc lộ rằng việc bổ sung aldehyt peptit vào chất tẩy rửa chứa subtilisin dạng hạt có thể cải thiện tính năng tẩy rửa.

Đã biết rõ rằng aldehyt có thể tạo thành sản phẩm cộng tan được với NaHSO_3 (các sản phẩm cộng bisulfit hoặc hydrosulfit) và đã biết rõ rằng aldehyt peptit có xu hướng ít tan trong nước.

WO 98/47523 và US 6,500,802 bộc lộ axit peptidyl-2-amino-1-hydroxyalkansulfonic và việc sử dụng chúng làm chất ức chế proteaza. US 5,436,229 bộc lộ sản phẩm cộng bisulfit của dẫn xuất L-arginin aldehyt và việc sử dụng chúng làm chất ức chế thrombin.

US 4,691,007 bộc lộ các sản phẩm cộng bisulfit của aldehyt tetrapeptit hữu dụng làm chất ức chế elastaza bạch cầu của người.

US 4,703,036, US 4,478,745 và US 5,578,574 bộc lộ phương pháp điều chế aldehyt peptit ở dạng khô.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Trong quá trình sản xuất chế phẩm subtilisin được làm ổn định ở quy mô lớn, đặc biệt ưu tiên việc vận dụng các nguyên liệu thô dạng lỏng, do cân nhắc cả về tính an toàn và về việc xử lý. Aldehyt peptit có xu hướng ít tan trong nước, điều này làm cho việc điều chế dung dịch nước dạng đặc trở nên khó khăn hoặc không khả thi và đòi hỏi phải sử dụng sản phẩm khô hoặc dung dịch nước rất loãng khi tạo ra dung dịch subtilisin được làm ổn định để sử dụng trong chế phẩm dạng lỏng hoặc để tạo hạt để tạo ra chế phẩm dạng hạt.

Sự chuyển hóa aldehyt peptit thành sản phẩm cộng hydrosulfit có thể được sử dụng để làm tăng độ tan trong nước trong quá trình tinh chế aldehyt peptit. Thuận lợi là, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng bản thân sản phẩm cộng hydrosulfit này có tác dụng làm chất làm ổn định và chất ức chế subtilisin và nó cũng có thể làm ổn định enzym thứ hai (không phải là subtilisin) nếu có mặt. Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng sản phẩm cộng hydrosulfit có hiệu quả làm chất ức chế subtilisin, và cũng đã phát hiện ra rằng nó giữ lại được tác dụng ức chế và làm ổn định của nó trong chất tẩy rửa dạng lỏng trong quá trình bảo quản. Do đó, việc sử dụng sản phẩm cộng hydrosulfit có thể tránh được chi phí và thời gian để chuyển hóa nó ngược trở lại thành aldehyt peptit và có thể tiết kiệm được bước làm khô aldehyt peptit sau đó, và điều này có thể tránh được sự bất tiện của việc vận dụng aldehyt peptit ở dạng bột hoặc dưới dạng dung dịch nước rất loãng. Ngoài ra, việc bổ sung sản phẩm cộng bisulfit của aldehyt peptit cũng có thể cải thiện tính năng tẩy rửa (hiệu suất giặt rửa) của chất tẩy rửa chứa subtilisin.

Theo đó, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa subtilisin và sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit, có công thức $X-B^1-NH-CHR-CHOH-SO_3M$. Các nhóm trong công thức này có nghĩa nêu dưới đây:

- a) M là H (hydro) hoặc kim loại kiềm, tốt hơn là Na hoặc K;
- b) R là nhóm sao cho $NH-CHR-CO$ là gốc L hoặc D-axit amin (dưới đây được thể hiện là B^0);
- c) B^1 là một gốc axit amin; và
- d) X bao gồm một hoặc nhiều gốc axit amin (tốt hơn là một hoặc hai), tùy ý chứa nhóm bảo vệ đầu N.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp điều chế chế phẩm này, phương pháp này bao gồm bước trộn subtilisin, dung dịch nước chứa sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit có công thức $X-B^1-NH-CHR-CHOH-SO_3M$ (trong đó M, R, B^1 và X được định nghĩa như trên), và tùy ý chất hoạt động bề mặt.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất hợp chất để sử dụng trong chế phẩm này, hợp chất này là sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit có công thức $X-B^1-NH-CHR-CHOH-SO_3M$. R có thể là p-hydroxy-benzyl, và M, B^1 và X được định nghĩa như trên.

Mô tả chi tiết sáng chế

Chế phẩm subtilisin được làm ổn định

Chế phẩm theo sáng chế chứa subtilisin và sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit, và nó có thể tùy ý chứa enzym thứ hai. Chế phẩm này có thể ở dạng lỏng hoặc dạng hạt. Nó có thể là chế phẩm tẩy rửa mà còn chứa thêm chất hoạt động bề mặt.

Trong chế phẩm như chất tẩy rửa dạng lỏng hoặc dạng hạt, lượng của mỗi enzym (subtilisin và enzym thứ hai tùy ý) thường sẽ nằm trong khoảng từ 0,04 đến 80micro-M (hoặc micro-mol/kg), cụ thể là nằm trong khoảng từ 0,2 đến 30micro-M, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 0,4 đến 20micro-M (thường là nằm trong khoảng từ 1 đến 2000mg/L hoặc mg/kg, cụ thể là nằm trong khoảng từ 5 đến 750mg/L, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 10 đến 500mg/L) được tính dưới dạng protein enzym tinh khiết. Trong chế phẩm như chất cô enzym, lượng của mỗi enzym thường sẽ nằm trong khoảng từ 0,01 đến 20mM, cụ thể là nằm trong khoảng từ 0,04 đến 10mM, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 0,1 đến 5mM (thường là nằm trong khoảng từ 0,3 đến 500g/L, cụ thể là nằm trong khoảng từ 1 đến 300g/L, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 3 đến 150g/L) được tính dưới dạng protein enzym tinh khiết.

Tỷ số mol giữa chất ức chế hoặc chất làm ổn định enzym theo sáng chế và subtilisin là ít nhất 1:1 hoặc 1,5:1, và tỷ số mol này nhỏ hơn 1000:1, tốt hơn nữa là nhỏ hơn 500:1, thậm chí tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 100:1 đến 2:1 hoặc nằm trong khoảng từ 20:1 đến 2:1, hoặc tốt nhất là, tỷ số mol này nằm trong khoảng từ 10:1 đến 3:1.

Aldehyt peptit

Sản phẩm cộng bisulfit được sử dụng trong phương pháp này có thể có nguồn gốc từ aldehyt peptit có công thức $X-B^1-B^0-H$ trong đó các nhóm được định nghĩa như trên với B^0 là gốc axit amin đơn lẻ có cấu hình L hoặc D có công thức: $NH-CHR-CO$.

$NH-CHR-CO$ (B^0) là gốc L hoặc D-axit amin, trong đó R có thể là mạch bên béo hoặc thơm, ví dụ, aralkyl như benzyl, trong đó R có thể được thể tùy ý. Cụ thể hơn, gốc B^0 có thể là lớn, trung tính, phân cực, kỵ nước và/hoặc thơm, được thể tùy ý. Các ví dụ là dạng D hoặc L của Tyr (*p*-tyrosin), *m*-tyrosin, 3,4-dihydroxyphenylalanin, Phe, Val, Met, norvalin (Nva), Leu, Ile hoặc norleuxin (Nle); đặc biệt là Tyr, *m*-tyrosin, 3,4-dihydroxyphenylalanin, Phe, Val, Met, Nva hoặc Nle.

Trong công thức nêu trên, $X-B^1-B^0-H$, gốc B^1 một cách cụ thể có thể là nhỏ, béo, kỵ nước và/hoặc trung tính. Các ví dụ là alanin (Ala), cystein (Cys), glyxin (Gly), prolin (Pro), serin (Ser), threonin (Thr), valin (Val), norvalin (Nva) và norleuxin (Nle); cụ thể là Ala, Cys, Gly, Ser, Thr, Val, Nva và Nle.

Một cách cụ thể, X có thể là một hoặc hai gốc axit amin có nhóm bảo vệ đầu N tùy ý (tức là hợp chất này là aldehyt tri- hoặc tetrapeptit có hoặc không có nhóm bảo vệ). Do đó, X có thể là B^2 , B^3-B^2 , $Z-B^2$, $Z-B^3-B^2$ trong đó mỗi B^3 và B^2 là một gốc axit amin, và Z là nhóm bảo vệ đầu N.

Một cách cụ thể, gốc B^2 có thể là nhỏ, béo và/hoặc trung tính, ví dụ, Ala, Gly, Thr, Arg, Leu, Phe hoặc Val; cụ thể là Gly, Thr hoặc Val.

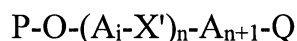
Một cách cụ thể, gốc B^3 có thể là lớn, kỵ nước, trung tính và/hoặc thơm, được thể tùy ý, ví dụ, Phe, Tyr, Trp, Phenylglyxin, Leu, Val, Nva, Nle hoặc Ile.

Nhóm bảo vệ đầu N Z (nếu có mặt) có thể được chọn từ formyl, axetyl (Ac), benzoyl, trifloaxetyl, flometoxy cacbonyl, metoxysuxinyl, nhóm bảo vệ uretan thơm và béo, benzyloxycarbonyl (Cbz), t-butyloxycarbonyl, adamantyloxycarbonyl, p-metoxybenzyl cacbonyl (MOZ), benzyl (Bn), p-metoxybenzyl (PMB) hoặc p-metoxyphenyl (PMP), metoxycarbonyl (Moc); metoxyaxetyl (Mac); metyl carbamat hoặc nhóm metylamino cacbonyl/metyl ure. Trong trường hợp aldehyt tetrapeptit có nhóm bảo vệ (tức là $X = Z-B^3-B^2$), Z tốt hơn là nhóm béo nhỏ, ví dụ, formyl, axetyl, flometoxy cacbonyl, t-butyloxycarbonyl, metoxycarbonyl (Moc); metoxyaxetyl (Mac); metyl carbamat hoặc nhóm metylamino cacbonyl/metyl ure. Trong trường hợp aldehyt tripeptit có nhóm bảo vệ (tức là $X = Z-B^2$), Z tốt hơn là nhóm thơm lớn như benzoyl, benzyloxycarbonyl, p-metoxybenzyl cacbonyl (MOZ), benzyl (Bn), p-metoxybenzyl (PMB) hoặc p-metoxyphenyl (PMP).

Các aldehyt peptit thích hợp được mô tả trong WO 94/04651, WO 95/25791, WO 98/13458, WO 98/13459, WO 98/13460, WO 98/13461, WO 98/13461, WO 98/13462, WO 2007/141736, WO 2007/145963, WO 2009/118375, WO 2010/055052 và WO 2011/036153. Cụ thể hơn, aldehyt peptit có thể là Z-RAY-H, Ac-GAY-H, Z-GAY-H, Z-GAL-H, Z-VAL-H, Z-GAF-H, Z-GAV-H, Z-GGY-H, Z-GGF-H, Z-RVY-H, Z-LVY-H, Ac-LGAY-H, Ac-FGAY-H, Ac-YGAY-H, Ac-FGAL-H, Ac-FGAF-H, Ac-FGVY-H, Ac-FGAM-H, Ac-WLVY-H, MeO-CO-VAL-H, MeNCO-VAL-H, MeO-CO-FGAL-H, MeO-CO-FGAF-H, MeSO₂-FGAL-H, MeSO₂-VAL-H, PhCH₂O(OH)(O)P-VAL-H, EtSO₂-

FGAL-H, PhCH₂SO₂-VAL-H, PhCH₂O(OH)(O)P-LAL-H, PhCH₂O(OH)(O)P-FAL-H hoặc MeO(OH)(O)P-LGAL-H. Ở đây, Z là benzyloxycarbonyl, Me là metyl, Et là etyl, Ac là axetyl, H là hydro, và các chữ cái còn lại đại diện cho các gốc axit amin được gọi theo quy định chữ cái đơn tiêu chuẩn (ví dụ, F = Phe, Y = Tyr, L = Leu).

Theo cách khác, aldehyt peptit có thể có công thức như được mô tả trong WO 2010/055052:



trong đó Q là hydro, CH₃, CX₃, CHX₂ hoặc CH₂X, trong đó X là nguyên tử halogen;

trong đó một X' là “nhóm chụp mũ N kép” CO, CO-CO, CS, CS-CS hoặc CS-CO, tốt nhất là urido (CO), và các X' còn lại không là gì,

trong đó n = 1-10, tốt hơn là 2-5, tốt nhất là 2,

trong đó mỗi trong số A_i và A_{n+1} là gốc axit amin có cấu trúc:

–NH-CR-CO- đối với gốc phía bên phải của X= –CO-, hoặc

–CO-CR-NH- đối với gốc phía bên trái của X= –CO-

trong đó R là H- hoặc nhóm alkyl hoặc alkylaryl được thể tùy ý mà có thể tùy ý bao gồm nguyên tử khác loại và có thể tùy ý được liên kết với nguyên tử N, và

trong đó P là hydro hoặc nhóm bảo vệ đầu C bất kỳ.

Các ví dụ về aldehyt peptit này bao gồm α-MAPI, β-MAPI, F-ure-RVY-H, F-ure-GGY-H, F-ure-GAF-H, F-ure-GAY-H, F-ure-GAL-H, F-ure-GA-Nva-H, F-ure-GA-Nle-H, Y-ure-RVY-H, Y-ure-GAY-H, F-CS-RVF-H, F-CS-RVY-H, F-CS-GAY-H, Antipain, GE20372A, GE20372B, Chymostatin A, Chymostatin B và Chymostatin C.

Các ví dụ khác về aldehyt peptit được bộc lộ trong WO 2010/055052 và WO 2009/118375, WO 94/04651, WO 98/13459, WO 98/13461, WO 98/13462, WO 2007/145963, (P&G).

Sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit

Sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit có thể có nguồn gốc từ các aldehyt peptit nêu trên.

Các ví dụ cụ thể là Cbz-RA-NHCH(CH₂C₆H₄OH)C(OH)(SO₃M)-H, Ac-GA-NHCH(CH₂C₆H₄OH)C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-GA-NHCH(CH₂C₆H₄OH)C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-GA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-VA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))-C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-GA-NHCH(CH₂Ph)C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-GA-NHCH(CH(CH₃)₂))-C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-GG-NHCH(CH₂C₆H₄OH)C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-GG-NHCH(CH₂Ph)C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-RV-NHCH(CH₂C₆H₄OH)C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-LV-NHCH(CH₂C₆H₄OH)C(OH)(SO₃M)-H, Ac-LGA-NHCH(CH₂C₆H₄OH)C(OH)(SO₃M)-H, Ac-FGA-NHCH(CH₂C₆H₄OH)C(OH)(SO₃M)-H, Ac-YGA-NHCH(CH₂C₆H₄OH)C(OH)(SO₃M)-H, Ac-FGA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, Ac-FGA-NHCH(CH₂Ph)C(OH)(SO₃M)-H, Ac-FGV-NHCH(CH₂C₆H₄OH)C(OH)(SO₃M)-H, Ac-FGA-NHCH(CH₂CH₂SCH₃))(SO₃M)-H, Ac-WLV-NHCH(CH₂C₆H₄OH)-C(OH)(SO₃M)-H, MeO-CO-VA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, MeNCO-VA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, MeO-CO-FGA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))-C(OH)(SO₃M)-H, MeO-CO-FGA-NHCH(CH₂Ph)C(OH)(SO₃M)-H, MeSO₂-FGA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, MeSO₂-VA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))-C(OH)(SO₃M)-H, PhCH₂O(OH)(O)P-VA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, EtSO₂-FGA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, PhCH₂SO₂-VA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, PhCH₂O(OH)(O)P-LA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))-C(OH)(SO₃M)-H, PhCH₂O(OH)(O)P-FA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, MeO(OH)(O)P-LGA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, và F-ure-RV-NHCH(CH₂C₆H₄OH)C(OH)(SO₃M)-H trong đó M=điện tích âm, H, Na hoặc K hoặc đối ion khác.

Subtilisin

Subtilisin là phân nhóm của serin proteaza. Serin proteaza là enzym xúc tác cho sự thủy phân các liên kết peptit, và trong đó có gốc serin thiết yếu tại vị trí hoạt động (White, Handler and Smith, 1973 "Principles of Biochemistry," Fifth Edition, McGraw-Hill Book Company, NY, pp. 271-272). Subtilisin bao gồm, tốt hơn là gồm có, các phân nhóm I-S1 và I-S2 như được định nghĩa trong các tài liệu Siezen et al., Protein Engng. 4 (1991) 719-737 và Siezen et al., Protein Science 6 (1997) 501-523. Do cấu trúc được bảo toàn ở mức độ cao của vị trí hoạt động của serin proteaza, subtilisin theo sáng chế có thể tương đương về mặt chức năng với phân nhóm được đề xuất được gọi là subtilaza trong tài liệu của Siezen và cộng sự (nêu trên).

Subtilisin có thể có nguồn gốc từ động vật, thực vật hoặc vi sinh vật, bao gồm các thể đột biến được cải biến về mặt hóa học hoặc về mặt di truyền (các biến thể được thiết kế protein). Các ví dụ về subtilisin bao gồm các subtilisin có nguồn gốc từ *Bacillus*, ví dụ, subtilisin Novo, subtilisin Carlsberg, subtilisin BPN', subtilisin 309, subtilisin 147 và subtilisin 168 (được mô tả trong WO 89/06279) và Protease PD138 (WO 93/18140). Các ví dụ được mô tả trong WO 98/020115, WO 01/44452, WO 01/58275, WO 01/58276, WO 03/006602 và WO 04/099401. Các ví dụ khác là các biến thể được mô tả trong WO 92/19729, WO 98/20115, WO 98/20116, WO 98/34946, WO 2011/036263 và hỗn hợp của các proteaza.

Các ví dụ về subtilisin có trên thị trường bao gồm Kannase™, Everlase™, Relase™, Esperase™, Alcalase™, Durazym™, Savinase™, Ovozyme™, Liquanase™, Coronase™, Polarzyme™, Pyrase™, Pancreatic Trypsin NOVO (PTN), Bio-Feed™ Pro và Clear-Lens™ Pro; Blaze (tất cả đều được bán bởi Novozymes A/S, Bagsvaerd, Đan Mạch). Các subtilisin có trên thị trường khác bao gồm Ronozyme™ Pro, Maxatase™, Maxacal™, Maxapem™, Opticlean™, Properase™, Purafast™, Purafect™, Purafect Ox™, Purafact Prime™, Excellase™, FN2™, FN3™ và FN4™ (được bán bởi Genencor International Inc., Gist-Brocades, BASF hoặc DSM). Các ví dụ khác là Primase™ và Duralase™. Blap R, Blap S và Blap X được bán bởi Henkel.

Enzym thứ hai

Ngoài subtilisin, chế phẩm tẩy rửa có thể tùy ý chứa enzym thứ hai như lipaza, cutinaza, amylaza, carbohydraza, xenlulaza, pectinaza, pectat lyaza, mannanaza, arabinaza, galactanaza, xylanaza, oxidaza, laccaza và/hoặc peroxidaza. Chế phẩm này có thể chứa một, hai hoặc nhiều enzym không phải là subtilisin.

Lipaza và cutinaza

Lipaza và cutinaza thích hợp bao gồm lipaza và cutinaza có nguồn gốc từ vi khuẩn hoặc nấm. Các thể đột biến được cải biến về mặt hóa học hoặc được thiết kế protein cũng được bao gồm. Các ví dụ bao gồm lipaza từ *Thermomyces*, ví dụ, từ *T. lanuginosus* (trước đây được đặt tên là *Humicola lanuginosa*) như được mô tả trong EP 258 068 và EP 305 216, cutinaza từ *Humicola*, ví dụ *H. insolens* như được mô tả trong WO 96/13580, lipaza của *Pseudomonas*, ví dụ, từ *P. alcaligenes* hoặc *P. pseudoalcaligenes* (EP 218 272), *P. cepacia* (EP 331 376), *P. stutzeri* (GB 1,372,034), *P. fluorescens*, *Pseudomonas sp.* chủng SD 705

(WO 95/06720 và WO 96/27002), *P. wisconsinensis* (WO 96/12012), lipaza của *Bacillus*, ví dụ, từ *B. subtilis* (Dartois *et al.*, 1993, *Biochemica et Biophysica Acta*, 1131: 253-360), *B. stearothermophilus* (JP 64/744992) hoặc *B. pumilus* (WO 91/16422).

Các ví dụ khác là các biến thể lipaza như các biến thể lipaza được mô tả trong WO 92/05249, WO 94/01541, EP 407 225, EP 260 105, WO 95/35381, WO 96/00292, WO 95/30744, WO 94/25578, WO 95/14783, WO 95/22615, WO 97/04079, WO 97/07202, WO 00/060063, WO 2007/087508 và WO 2009/109500.

Enzym lipaza có trên thị trường được ưu tiên bao gồm Lipolase™, Lipolase Ultra™, và Lipex™; Lecitase™, Lipolex™; Lipoclean™, Lipoprime™ (Novozymes A/S). Các lipaza có trên thị trường khác bao gồm Lumafast (Genencor Int Inc); Lipomax (Gist-Brocades/Genencor Int Inc) và lipaza của *Bacillus* sp từ Solvay.

Amylaza

Amylaza (α và/hoặc β) thích hợp bao gồm amylaza có nguồn gốc từ vi khuẩn hoặc nấm. Các thể đột biến được cải biến về mặt hóa học hoặc được thiết kế protein cũng được bao gồm. Amylaza bao gồm, ví dụ, α -amylaza được thu nhận từ *Bacillus*, ví dụ, chủng đặc biệt của *Bacillus licheniformis*, được mô tả chi tiết hơn trong GB 1,296,839.

Các ví dụ về amylaza hữu dụng là các biến thể được mô tả trong WO 94/02597, WO 94/18314, WO 96/23873 và WO 97/43424, đặc biệt là các biến thể có các đột biến thể ở một hoặc nhiều vị trí trong số các vị trí sau đây: 15, 23, 105, 106, 124, 128, 133, 154, 156, 181, 188, 190, 197, 202, 208, 209, 243, 264, 304, 305, 391, 408 và 444.

Các amylaza có trên thị trường là Stainzyme; Stainzyme Plus; Duramyl™, Termamyl™, Termamyl Ultra; Natalase, Fungamyl™ và BAN™ (Novozymes A/S), Rapidase™ và Purastar™ (từ Genencor International Inc.).

Lyaza

Pectat lyaza có thể là enzym kiểu đại có nguồn gốc từ *Bacillus*, cụ thể là *B. licheniformis* hoặc *B. agaradhaerens*, hoặc biến thể có nguồn gốc từ loài bất kỳ trong số này, ví dụ, như được mô tả trong US 6,124,127, WO 1999/027083, WO 1999/027084, WO 2002/006442, WO 2002/092741, WO 2003/095638. Pectat lyaza có trên thị trường là XPect, Pectawash và Pectaway (Novozymes A/S).

Mannanaza

Mannanaza có thể là mannanaza kiềm thuộc họ 5 hoặc 26. Nó có thể là kiểu đại từ *Bacillus* hoặc *Humicola*, cụ thể là *B. agaradhaerens*, *B. licheniformis*, *B. halodurans*, *B. clausii* hoặc *H. insolens*. Các mannanaza thích hợp được mô tả trong WO 1999/064619. Mannanaza có trên thị trường là Mannaway (Novozymes A/S).

Xenlulaza

Xenlulaza thích hợp bao gồm xenlulaza có nguồn gốc từ vi khuẩn hoặc nấm. Các thể đột biến được cải biến về mặt hóa học hoặc được thiết kế protein cũng được bao gồm. Xenlulaza thích hợp bao gồm xenlulaza từ chi *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Humicola*, *Fusarium*, *Thielavia*, *Acremonium*, ví dụ, xenlulaza của nấm được sản sinh từ *Humicola insolens*, *Myceliophthora thermophila* và *Fusarium oxysporum* được bộc lộ trong US 4,435,307, US 5,648,263, US 5,691,178, US 5,776,757 và WO 89/09259.

Các xenlulaza đặc biệt thích hợp là các xenlulaza kiềm hoặc trung tính có các lợi ích giữ màu. Các ví dụ về xenlulaza này là xenlulaza được mô tả trong EP 0 495 257, EP 0 531 372, WO 96/11262, WO 96/29397, WO 98/08940. Các ví dụ khác là các biến thể xenlulaza như được mô tả trong WO 94/07998, EP 0 531 315, US 5,457,046, US 5,686,593, US 5,763,254, WO 95/24471, WO 98/12307 và WO 99/01544.

Các xenlulaza có trên thị trường là Celluzyme, Celluclean; Endloase; Carezyme; Renozyme; whitezyme (Novozymes A/S).

Điều chế aldehyt peptit và sản phẩm cộng hydrosulfit/bisulfit

Aldehyt peptit có thể được chuyển hóa thành sản phẩm cộng hydrosulfit tan trong nước bằng phản ứng với natri bisulfit, như được mô tả trong các giáo trình, ví dụ March, J. Advanced Organic Chemistry, fourth edition, Wiley-Interscience, US 1992, p 895.

Phản ứng chuyển hóa thành sản phẩm cộng hydrosulfit là thuận nghịch (Ex J. Am. Chem. Soc. 1978, 100, 1228). Do đó, sản phẩm cộng có thể chuyển hóa ngược một phần hoặc hoàn toàn để giải phóng aldehyt peptit trong chất tẩy rửa dạng lỏng, trong chế phẩm subtilisin dạng lỏng, hoặc trong nước rửa.

Aldehyt peptit đang quan tâm có thể được điều chế bằng các phương pháp đã biết, ví dụ, như được mô tả trong US 4,703,036, US 4,478,745 hoặc US 5,578,574 bằng cách bỏ qua bước làm khô cuối cùng, hoặc nó có thể được điều chế bằng phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp được nêu trong ấn phẩm J. Pept. Sci. 2007; 13; 1-15 hoặc được nêu ví

dụ trong ấn phẩm Synthesis 1983, 676. Aldehyt peptit có thể là thô hoặc được tinh chế, được tách ra ở dạng chất rắn hoặc được giữ trong dung dịch bằng dung môi hữu cơ.

Dung dịch nước của sản phẩm cộng bisulfit có thể được điều chế bằng cách cho aldehyt peptit tương ứng phản ứng với dung dịch nước của natri bisulfit (natri hydro sulfit, NaHSO_3); kali bisulfit (KHSO_3) bằng các phương pháp đã biết, ví dụ, như được mô tả trong WO 98/47523; US 6,500,802; US 5,436,229; J. Am. Chem. Soc. 1978, 100, 1228; Org. Synth., Coll. Vol. 7: 361.

Chế phẩm tẩy rửa

Chất tẩy rửa có thể là chất tẩy rửa dạng hạt hoặc dạng lỏng. Chất tẩy rửa dạng lỏng là ở dạng vật lý không phải là dạng rắn (hoặc khí); có thể là chất lỏng có thể rót được, gel có thể rót được hoặc gel không thể rót được. Chất tẩy rửa này có thể là đẳng hướng hoặc có cấu trúc, tốt hơn là đẳng hướng. Chất tẩy rửa bao gồm chế phẩm hữu dụng cho việc giặt rửa trong máy giặt tự động hoặc cho việc giặt bằng tay. Chất tẩy rửa chứa ít nhất một chất hoạt động bề mặt. Chất tẩy rửa cũng có thể bao gồm chất tăng cường.

Chế phẩm tẩy rửa dạng hạt có thể là hạt hoặc bột, hoặc bột/hạt được nén thành viên nén, bánh. Chế phẩm này có thể ở dạng viên nén, thanh hoặc túi, bao gồm túi nhiều ngăn. Chế phẩm này có thể ở dạng bột, ví dụ bột chảy tự do, như dạng kết tụ, bột được sấy phun, dạng bao nang, dạng ép đùn, dạng kim, dạng sợi, dạng bông, hoặc tổ hợp bất kỳ của chúng.

Các thành phần chất tẩy rửa có thể được tách biệt với nhau về mặt vật lý bằng các ngăn trong túi tan được trong nước hoặc trong các lớp khác nhau của viên nén (xem phần Liều đơn vị dưới đây). Nhờ đó có thể tránh được tương tác bất lợi khi bảo quản giữa các thành phần. Các profin hòa tan khác nhau của mỗi ngăn cũng có thể gây ra sự hòa tan trễ của các thành phần được chọn trong dung dịch giặt rửa.

Túi có thể có dạng, hình dáng và vật liệu bất kỳ mà thích hợp để cầm nắm chế phẩm, ví dụ, mà không làm giải phóng chế phẩm ra khỏi túi trước khi tiếp xúc với nước. Túi được làm từ màng tan được trong nước và có thể tích bên trong. Thể tích bên trong này có thể được chia thành các ngăn của túi. Màng được ưu tiên là vật liệu dạng polyme, tốt hơn là polyme được tạo thành màng hoặc phiến. Polyme, copolyme hoặc dẫn xuất của chúng được ưu tiên là polyacrylat được chọn, và copolyme acrylat tan được trong nước, metyl xenluloza, carboxy metyl xenluloza, natri dextrin, etyl xenluloza, hydroxyetyl xenluloza, hydroxypropyl metyl xenluloza, malto dextrin, poly metacrylat, tốt nhất là copolyme rượu

polyvinyllic, và hydroxypropyl metyl xenluloza (HPMC). Tốt hơn là lượng polyme trong màng, ví dụ PVA, là ít nhất khoảng 60%. Phân tử lượng trung bình được ưu tiên thường sẽ nằm trong khoảng từ khoảng 20000 đến khoảng 150000. Màng cũng có thể là chế phẩm hòa trộn chứa các sản phẩm hòa trộn polyme có thể phân giải bằng cách thủy phân và tan được trong nước như polyactit và rượu polyvinyllic (được biết với số tham chiếu thương mại là M8630, được bán bởi Chris Craft In. Prod. Of Gary, Ind., Hoa Kỳ) cộng với chất dẻo hóa như glyxerol, etylen glyxerol, propylen glycol, sorbitol và hỗn hợp của chúng. Túi có thể chứa chế phẩm giặt sạch dạng rắn hoặc các thành phần và/hoặc chế phẩm làm sạch dạng lỏng hoặc các thành phần được tách biệt bằng màng tan được trong nước. Ngăn dùng để chứa các thành phần dạng lỏng có thể là khác về mặt thành phần cấu tạo so với ngăn chứa chất rắn (xem ví dụ, US 2009/0011970).

Việc lựa chọn các thành phần chất tẩy rửa có thể bao gồm, để chăm sóc vải, xem xét loại vải cần được làm sạch, loại và/hoặc mức độ vấy bẩn, nhiệt độ diễn ra quá trình làm sạch, và dạng bào chế của sản phẩm chất tẩy rửa. Mặc dù các thành phần được nêu dưới đây được phân loại theo tiêu đề chung dựa vào các nhóm chức cụ thể, nhưng không được hiểu là làm giới hạn sáng chế, vì một thành phần có thể chứa các nhóm chức bổ sung như sẽ được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực.

Theo một phương án, chế phẩm subtilisin được làm ổn định theo sáng chế có thể được bổ sung vào chế phẩm tẩy rửa với lượng tương ứng với 0,001-100mg protein, như 0,01-100mg protein, tốt hơn là 0,005-50mg protein, tốt hơn nữa là 0,01-25mg protein, thậm chí tốt hơn nữa là 0,05-10mg protein, tốt nhất là 0,05-5mg protein, và thậm chí tốt nhất là 0,01-1mg protein cho mỗi lít dịch rửa.

Liều đơn vị

Sản phẩm liều đơn vị là sản phẩm bao gói chứa liều đơn trong vật chứa không tái sử dụng được. Sản phẩm này được sử dụng ngày càng nhiều trong chất tẩy rửa dùng để giặt quần áo và rửa bát đĩa. Sản phẩm tẩy rửa liều đơn vị là sản phẩm bao gói (ví dụ, trong túi được làm từ màng tan được trong nước) chứa lượng chất tẩy rửa được sử dụng cho một lần giặt rửa.

Theo một khía cạnh, chế phẩm tẩy rửa ở dạng liều đơn vị. Sản phẩm tẩy rửa ở dạng liều đơn vị bao gồm viên nén, viên nang, bao, túi, v.v.. Theo một khía cạnh, viên nén được bọc bằng màng tan được trong nước và túi tan được trong nước được sử dụng. Trọng lượng

của chế phẩm tẩy rửa theo sáng chế nằm trong khoảng từ khoảng 10 đến khoảng 25 gam, từ khoảng 12 đến khoảng 24 gam hoặc thậm chí từ 14 đến 22 gam. Trọng lượng này rất thuận tiện cho việc điều chỉnh phân phối sản phẩm tẩy rửa bát đĩa tự động. Trong trường hợp sản phẩm liều đơn vị có vật liệu tan được trong nước bao bọc chế phẩm tẩy rửa, vật liệu tan được trong nước này không được xem là một phần của chế phẩm. Theo một khía cạnh, dạng liều đơn vị là túi tan được trong nước (tức là, màng tan được trong nước bao bọc chế phẩm tẩy rửa), theo một khía cạnh, túi nhiều ngăn có nhiều màng tạo thành nhiều ngăn. Cấu tạo này góp phần vào tính linh động và tính tối ưu của chế phẩm. Điều này cho phép tách biệt và giải phóng có kiểm soát các thành phần khác nhau. Theo một khía cạnh, một ngăn chứa chế phẩm tẩy rửa ở dạng rắn và ngăn khác chứa chế phẩm tẩy rửa ở dạng lỏng.

Theo một khía cạnh, phương án về túi nhiều ngăn với hai ngăn khác nhau có thể chứa hai chất làm sạch khác nhau. Theo một khía cạnh, màng của hai ngăn này có các profin hòa tan khác nhau, cho phép giải phóng các chất giống hoặc khác nhau tại các thời điểm khác nhau. Ví dụ, chất từ một ngăn (ngăn thứ nhất) có thể được đưa ra sớm trong quy trình giặt rửa để giúp loại bỏ vết bẩn và chất thứ hai từ ngăn khác (ngăn thứ hai) có thể được đưa ra muộn hơn ít nhất hai phút, hoặc thậm chí muộn hơn ít nhất năm phút so với chất từ ngăn thứ nhất.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất túi nhiều ngăn chứa hai ngăn kề sát nhau được chồng lên trên ngăn khác, trong đó ít nhất hai ngăn khác nhau chứa hai chế phẩm tẩy rửa khác nhau.

Bao gói nhiều ngăn được tạo thành bởi nhiều vật liệu bao bọc tan được trong nước mà tạo thành nhiều ngăn, một ngăn trong số các ngăn này sẽ chứa một số hoặc tất cả thành phần của chế phẩm tẩy rửa, ngăn khác có thể chứa chế phẩm dạng lỏng, chế phẩm dạng lỏng này có thể là dạng nước (tức là chứa nhiều hơn 10 phần trăm là nước tính theo trọng lượng của chế phẩm dạng lỏng) và ngăn này có thể được làm bằng vật liệu tan được trong nước ấm. Theo một phương án, một ngăn được làm bằng vật liệu tan được trong nước lạnh. Điều này cho phép tách biệt và giải phóng có kiểm soát các thành phần khác nhau. Theo các phương án khác, tất cả các ngăn đều được làm bằng vật liệu tan được trong nước ấm.

Bao gói thích hợp chứa ít nhất hai ngăn kề sát nhau được chồng (tức là được đặt trên) lên trên ngăn khác, đặc biệt thích hợp là túi. Cách sắp xếp này góp phần vào độ chặt, độ chắc chắn và độ bền của bao gói, ngoài ra còn giúp giảm tối thiểu lượng vật liệu tan được

trong nước cần đến. Cách này chỉ cần đến ba miếng vật liệu để tạo thành ba ngăn. Độ chắc chắn của bao gói cũng cho phép sử dụng màng rất mỏng mà không làm hỏng tính nguyên trạng vật lý của bao gói. Bao gói cũng rất dễ sử dụng vì các ngăn không cần phải được gấp lại để sử dụng được trong bộ phận phân phối của máy có dạng hình học cố định. Ít nhất hai trong số các ngăn của bao gói chứa hai chế phẩm tẩy rửa khác nhau. "Các chế phẩm khác nhau" trong bản mô tả này có nghĩa là các chế phẩm tẩy rửa khác nhau về ít nhất một thành phần.

Theo một khía cạnh, ít nhất một ngăn trong số các ngăn chứa chế phẩm tẩy rửa dạng rắn và ngăn khác chứa chế phẩm tẩy rửa dạng lỏng trong nước, các chế phẩm này thường có tỷ lệ trọng lượng giữa rắn và lỏng là nằm trong khoảng từ khoảng 20:1 đến khoảng 1:20, từ khoảng 18:1 đến khoảng 2:1 hoặc từ khoảng 15:1 đến khoảng 5:1. Loại bao gói này rất linh hoạt vì nó có thể chứa được các chế phẩm có phổ giá trị tỷ lệ rắn:lỏng rộng. Túi có tỷ lệ rắn:lỏng cao do có nhiều thành phần chất tẩy rửa là đặc biệt thích hợp để sử dụng ở dạng rắn, theo một khía cạnh là ở dạng bột. Tỷ lệ rắn:lỏng được định nghĩa trong bản mô tả này là mối quan hệ giữa trọng lượng của tất cả các chế phẩm dạng rắn và trọng lượng của tất cả các chế phẩm dạng lỏng trong bao gói.

Tỷ lệ trọng lượng rắn:lỏng thích hợp nằm trong khoảng từ khoảng 2:1 đến khoảng 18:1, hoặc từ khoảng 5:1 đến khoảng 15:1. Tỷ lệ trọng lượng này thích hợp trong các trường hợp trong đó hầu hết thành phần trong số các thành phần của chất tẩy rửa là ở dạng lỏng.

Theo một khía cạnh, hai ngăn kề sát nhau chứa các chế phẩm tẩy rửa dạng lỏng, các chế phẩm tẩy rửa này có thể là giống hoặc khác nhau và ngăn khác chứa chế phẩm tẩy rửa dạng rắn, ví dụ ở dạng bột, theo một khía cạnh là bột được làm tăng mật độ. Chế phẩm dạng rắn góp phần vào độ bền và độ chắc chắn của bao gói.

Vì các lý do về việc điều chỉnh phân phối, đặc biệt là trong máy rửa bát đĩa tự động, sản phẩm dạng liều đơn vị trong bản mô tả này có đáy hình vuông hoặc hình chữ nhật và độ cao nằm trong khoảng từ khoảng 1 đến khoảng 5cm, hoặc từ khoảng 1 đến khoảng 4cm. Theo một khía cạnh, trọng lượng của chế phẩm dạng rắn nằm trong khoảng từ khoảng 5 đến khoảng 20 gam, hoặc từ khoảng 10 đến khoảng 15 gam và trọng lượng của chế phẩm dạng lỏng nằm trong khoảng từ khoảng 0,5 đến khoảng 4 gam, hoặc từ khoảng 0,8 đến khoảng 3 gam. Theo một khía cạnh, ít nhất hai trong số các màng mà tạo thành các ngăn khác nhau có

độ tan khác nhau, trong cùng điều kiện. Điều này cho phép giải phóng các chế phẩm mà chúng bao bọc một phần hoặc toàn phần tại các thời điểm khác nhau.

Có thể đạt được sự giải phóng có kiểm soát các thành phần của túi nhiều ngăn bằng cách thay đổi độ dày của màng và/hoặc độ tan của vật liệu màng. Độ tan của vật liệu màng có thể được làm trễ bằng cách, ví dụ, liên kết ngang màng như được mô tả trong WO 2002/102955. Các màng tan được trong nước khác được thiết kế để giải phóng khi rửa được mô tả trong US 4,765,916 và US 4,972,017. Việc phủ sáp (xem US 5,453,216) lên màng có thể giúp cho việc giải phóng khi rửa. Cách giải phóng được kiểm soát bằng độ pH được mô tả trong US 5,453,216, cụ thể là polysacarit được amino-axetyl hóa có độ mức độ axetyl hóa chọn lọc.

Cách khác để thu được sự giải phóng trễ bởi túi nhiều ngăn với các ngăn khác nhau, trong đó các ngăn này được làm bằng các màng có độ tan khác nhau được bộc lộ trong US 6,727,215.

Chất hoạt động bề mặt

Chế phẩm tẩy rửa có thể chứa một hoặc nhiều chất hoạt động bề mặt, chất hoạt động bề mặt này có thể là dạng anion và/hoặc dạng cation và/hoặc dạng không ion và/hoặc dạng bán phân cực và/hoặc dạng ion lưỡng tính, hoặc hỗn hợp của chúng. Theo phương án cụ thể, chế phẩm tẩy rửa bao gồm hỗn hợp của một hoặc nhiều chất hoạt động bề mặt không ion và một hoặc nhiều chất hoạt động bề mặt anion nhưng cũng có thể được sử dụng một cách riêng rẽ.

(Các) chất hoạt động bề mặt thường có mặt với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 0,1% đến 60% trọng lượng, như từ khoảng 1% đến khoảng 40%, hoặc từ khoảng 3% đến khoảng 20%, hoặc từ khoảng 3% đến khoảng 10%. (Các) chất hoạt động bề mặt được lựa chọn dựa vào ứng dụng làm sạch mong muốn, và bao gồm (các) chất hoạt động bề mặt thông dụng bất kỳ đã biết trong tình trạng kỹ thuật. Chất hoạt động bề mặt bất kỳ đã biết trong tình trạng kỹ thuật để sử dụng trong chất tẩy rửa có thể được sử dụng.

Các ví dụ không giới hạn sáng chế về chất hoạt động bề mặt anion bao gồm sulfat và sulfonat, cụ thể là alkylbenzensulfonat mạch thẳng (LAS), chất đồng phân của LAS, alkylbenzensulfonat mạch nhánh (BABS), phenylalkansulfonat, alpha-olefinsulfonat (AOS), olefin sulfonat, alken sulfonat, alkan-2,3-diylbis(sulfat), hydroxyalkansulfonat và disulfonat, alkyl sulfat (AS) như natri dodexyl sulfat (SDS), sulfat rượu béo (FAS), sulfat rượu bậc một

(PAS), etesulfat rượu (AES hoặc AEOS hoặc FES, còn được gọi là etoxysulfat rượu hoặc ete sulfat rượu béo, bao gồm natri lauryl ete sulfat (SLES), xà phòng hoặc axit béo; alkansulfonat bậc hai (SAS), parafin sulfonat (PS), este sulfonat, glyxerol este axit béo đã được sulfon hóa, metyl este axit béo alpha-sulfo (alpha-SFMe hoặc SES) bao gồm metyl este sulfonat (MES), axit alkyl- hoặc alkenylsuxinic, axit dodexenyl/tetradexenyl suxinic (DTSA), dẫn xuất axit béo của axit amin, dieste và monoeste của axit sulfo-suxinic hoặc xà phòng, và các tổ hợp của chúng.

Khi được bao gồm trong chế phẩm, chất tẩy rửa sẽ thường chứa từ khoảng 1% đến khoảng 40% trọng lượng, như từ khoảng 5% đến khoảng 30%, bao gồm từ khoảng 5% đến khoảng 15%, hoặc từ khoảng 20% đến khoảng 25% là chất hoạt động bề mặt anion.

Các ví dụ không giới hạn sáng chế về chất hoạt động bề mặt không ion bao gồm etoxylat rượu (AE hoặc AEO), propoxylat rượu, rượu béo đã được propoxyl hóa (PFA), alkyl este axit béo đã được alkoxy hóa, như alkyl este axit béo đã được etoxyl hóa và/hoặc đã được propoxyl hóa, alkylphenol etoxylat (APE), nonylphenol etoxylat (NPE), alkylpolyglycosit (APG), amin đã được alkoxy hóa, monoetanolamit axit béo (FAM), dietanolamit axit béo (FADA), monoetanolamit axit béo đã được etoxyl hóa (EFAM), monoetanolamit axit béo đã được propoxyl hóa (PFAM), polyhydroxy alkyl amit axit béo, hoặc dẫn xuất N-axyl N-alkyl của glucosamin (glucamit, GA, hoặc glucamit axit béo, FAGA), cũng như sản phẩm có bán trên thị trường với tên thương mại là SPAN và TWEEN, và các tổ hợp của chúng.

Khi được bao gồm trong chế phẩm, chất tẩy rửa sẽ thường chứa từ khoảng 0,2% đến khoảng 40% trọng lượng là chất hoạt động bề mặt không ion, ví dụ từ khoảng 0,5% đến khoảng 30%, cụ thể là từ khoảng 1% đến khoảng 20%, từ khoảng 3% đến khoảng 10%, như từ khoảng 3% đến khoảng 5%, hoặc từ khoảng 8% đến khoảng 12%.

Chất tăng cường

Chế phẩm tẩy rửa có thể chứa từ khoảng 0 đến khoảng 65% trọng lượng là chất tăng cường tẩy rửa hoặc chất đồng tăng cường tẩy rửa, hoặc hỗn hợp của chúng. Trong chất tẩy rửa bát đĩa, lượng chất tăng cường thường nằm trong khoảng từ 40 đến 65%, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 50 đến 65%. Một cách cụ thể, chất tăng cường và/hoặc chất đồng tăng cường có thể là chất tạo chelat mà tạo thành phức tan được trong nước với Ca và Mg. Chất tăng cường và/hoặc chất đồng tăng cường bất kỳ đã biết trong tình trạng kỹ thuật để sử dụng

trong chất giặt tẩy có thể được sử dụng. Các ví dụ không giới hạn sáng chế về chất tăng cường bao gồm zeolit, diphosphat (pyrophosphat), triphosphat như natri triphosphat (STP hoặc STPP), axit nitrilotriaxetic, axit etylenđiamintetraaxetic (EDTA), axit dietylenetriaminpentaaxetic, axit alkyl- hoặc alkenylsuxinic, cacbonat như natri cacbonat, silicat tan được như natri metasilicat, silicat dạng lớp (ví dụ, SKS-6 từ Hoechst), etanolamin như 2-aminoetan-1-ol (MEA), iminodietanol (DEA) và 2,2',2''-nitrilotrietanol (TEA), và carboxymetylinulin (CMI), và các tổ hợp của chúng.

Chất tăng cường có thể là chất tăng cường mạnh như axit metyl glyxin diaxetic ("MGDA") hoặc muối tetranatri của axit N,N-dicarboxymetyl glutamic (GLDA), có thể là chất tăng cường trung bình như natri tri-poly-phosphat (STPP), hoặc có thể là chất tăng cường yếu như natri xitrat.

Hệ tẩy trắng

Chế phẩm tẩy rửa có thể chứa hệ tẩy trắng với lượng nằm trong khoảng từ 0 đến 50% trọng lượng. Hệ tẩy trắng bất kỳ đã biết trong tình trạng kỹ thuật để sử dụng trong chất giặt tẩy có thể được sử dụng. Các thành phần hệ tẩy trắng thích hợp bao gồm chất xúc tác tẩy trắng, chất tẩy trắng quang học, chất hoạt hóa tẩy trắng, nguồn hydro peroxit như natri percacbonat và natri perborat, peraxit đã tạo thành trước và hỗn hợp của chúng. Peraxit đã tạo thành trước thích hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, axit peroxycarboxylic và muối, axit percarbonic và muối, axit perimidic và muối, axit peroxymonosulfuric và muối, ví dụ, Oxon (R), và hỗn hợp của chúng. Các ví dụ không giới hạn sáng chế về hệ tẩy trắng bao gồm hệ tẩy trắng gốc peroxit, có thể chứa, ví dụ, muối vô cơ, bao gồm muối kim loại kiềm như muối natri của perborat (thường là mono- hoặc tetra-hydrat), percacbonat, persulfat, perphosphat, muối persilicat, ở dạng tổ hợp với chất hoạt hóa tẩy trắng tạo thành peraxit. Chất hoạt hóa tẩy trắng trong bản mô tả này có nghĩa là hợp chất phản ứng với chất tẩy trắng peroxy như hydro peroxit để tạo thành peraxit. Peraxit được tạo thành theo cách đó cấu thành chất tẩy trắng đã được hoạt hóa. Chất hoạt hóa tẩy trắng thích hợp được sử dụng trong bản mô tả này bao gồm chất tẩy trắng hoạt hóa thuộc lớp este amit, imit hoặc anhydrit. Các ví dụ thích hợp là tetraxetyl atylen diamin (TAED), natri 3,5,5 trimetyl hexanoyloxybenzen sulphonat, axit diperoxy dodecanoic, 4-(dodecanoyloxy)benzensulfonat (LOBS), 4-(decanoyloxy)benzensulfonat, 4-(decanoyloxy)benzoat (DOBS), 4-(3,5,5-trimethylhexanoyloxy)benzensulfonat (ISONOBS), tetraaxetyletylenđiamin (TAED) và 4-(nonanoyloxy)benzensulfonat (NOBS), và/hoặc các ví dụ được bộc lộ trong WO98/17767.

Họ chất hoạt hóa tẩy trắng cụ thể được quan tâm được bộc lộ trong EP624154 và được ưu tiên đặc biệt trong họ đó là axetyl trietyl xitrat (ATC). ATC hoặc triglyxerit mạch ngắn như Triaxin có ưu điểm là nó thân thiện với môi trường vì cuối cùng nó phân giải thành axit xitric và rượu. Ngoài ra, axetyl trietyl xitrat và triaxetin có độ ổn định thủy phân tốt trong sản phẩm khi bảo quản và là chất hoạt hóa tẩy trắng hiệu quả. Cuối cùng, ATC mang lại khả năng tăng cường tốt cho chất phụ gia giặt rửa. Theo cách khác, hệ tẩy trắng có thể chứa peroxyaxit thuộc loại, ví dụ, amit, imit hoặc sulfon. Hệ tẩy trắng cũng có thể chứa peraxit như axit 6-(phthaloylamino)percapronic (PAP). Hệ tẩy trắng cũng có thể bao gồm chất xúc tác tẩy trắng.

Các thành phần khác của chế phẩm tẩy rửa, tất cả đều đã được biết rõ trong tình trạng kỹ thuật, bao gồm chất tăng tan, chất tạo màu vải, chất chống tạo bọt, polyme giải phóng vết bẩn, chất chống lắng đọng v.v..

Phương pháp và chế phẩm

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa subtilisin và sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit có công thức $X-B^1-NH-CHR-CHOH-SO_3M$, trong đó:

- a) M là H (hydro) hoặc kim loại kiềm;
- b) R là nhóm sao cho $NH-CHR-CO$ là gốc L hoặc D-axit amin;
- c) B^1 là một gốc axit amin; và
- d) X bao gồm một hoặc nhiều gốc axit amin, tùy ý chứa nhóm bảo vệ đầu N.

Theo một phương án, R là nhóm sao cho $NH-CHR-CO$ là gốc L hoặc D-axit amin thuộc Tyr, m-tyrosin, 3,4-dihydroxyphenylalanin, Phe, Val, Met, Nva, Leu, Ile hoặc Nle.

Theo một phương án, B^1 là gốc thuộc Ala, Cys, Gly, Pro, Ser, Thr, Val, Nva, hoặc Nle.

Theo một phương án, X là B^2 , B^3-B^2 , $Z-B^2$ hoặc $Z-B^3-B^2$, trong đó mỗi B^2 và B^3 biểu thị một gốc axit amin, và Z là nhóm bảo vệ đầu N. Tốt hơn là, B^2 là gốc thuộc Val, Gly, Ala, Arg, Leu, Phe hoặc Thr. Tốt hơn là, B^3 là gốc thuộc Phe, Tyr, Trp, Phenylglyxin, Leu, Val, Nva, Nle hoặc Ile.

Theo một phương án, Z là benzyloxycarbonyl (Cbz), p-metoxymethyl carbonyl (MOZ), benzyl (Bn), benzoyl (Bz), p-metoxymethyl (PMB), p-metoxyphenyl (PMP), formyl, acetyl (Ac), methoxy hoặc methoxycarbonyl.

Theo một phương án, chế phẩm ở dạng lỏng hoặc dạng hạt. Tốt hơn là, chế phẩm là chất tẩy rửa chứa thêm chất hoạt động bề mặt.

Theo một phương án, chế phẩm còn chứa thêm enzym thứ hai, cụ thể là lipaza, cutinaza, amylaza, carbohydraza, xenlulaza, pectinaza, pectat lyaza, mannanaza, arabinaza, galactanaza, xylanaza, oxidaza, laccaza hoặc peroxidaza.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế chế phẩm theo sáng chế, như nêu trên, phương pháp này bao gồm bước trộn subtilisin, dung dịch nước chứa sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit có công thức $X-B^1-NH-CHR-CHOH-SO_3M$, như nêu trên, và tùy ý chất hoạt động bề mặt.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất để sử dụng trong chế phẩm theo sáng chế, hợp chất này là sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit có công thức $X-B^1-NH-CHR-CHOH-SO_3M$, trong đó M và X được định nghĩa như nêu trên, B^1 là gốc axit amin mà khác với prolin (Pro), và R là nhóm sao cho $NH-CHR-CO$ là gốc L hoặc D-axit amin thuộc Tyr, m-tyrosin, 3,4-dihydroxyphenylalanin, Phe, Val, Met, Nva hoặc Nle.

Theo một phương án, hợp chất là $Cbz-RA-NHCH(CH_2C_6H_4OH)C(OH)(SO_3M)-H$, $Ac-GA-NHCH(CH_2C_6H_4OH)C(OH)(SO_3M)-H$, $Cbz-GA-NHCH(CH_2C_6H_4OH)-C(OH)(SO_3M)-H$, $Cbz-GG-NHCH(CH_2C_6H_4OH)C(OH)(SO_3M)-H$, $Cbz-RV-NHCH(CH_2C_6H_4OH)C(OH)(SO_3M)-H$, $Cbz-LV-NHCH(CH_2C_6H_4OH)C(OH)(SO_3M)-H$, $Ac-LGA-NHCH(CH_2C_6H_4OH)C(OH)(SO_3M)-H$, $Ac-FGA-NHCH(CH_2C_6H_4OH)C(OH)(SO_3M)-H$, $Ac-YGA-NHCH(CH_2C_6H_4OH)C(OH)(SO_3M)-H$, $Ac-FGV-NHCH(CH_2C_6H_4OH)C(OH)(SO_3M)-H$, hoặc $Ac-WLV-NHCH(CH_2C_6H_4OH)-C(OH)(SO_3M)-H$, trong đó Ac là acetyl và Cbz là benzyloxycarbonyl.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất để sử dụng trong chế phẩm theo sáng chế, hợp chất này là sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit có công thức $X-B^1-NH-CHR-CHOH-SO_3M$, trong đó M, R và X được định nghĩa như nêu trên, và trong đó B^1 là gốc axit amin thuộc alanin (Ala), cystein (Cys), glyxin (Gly), serin (Ser), threonin (Thr), valin (Val), norvalin (Nva) và norleuxin (Nle).

Theo một phương án, hợp chất là Cbz-GA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-VA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-GA-NHCH(CH₂Ph)C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-GA-NHCH(CH(CH₃)₂)C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-GG-NHCH(CH₂Ph)C(OH)(SO₃M)-H, Ac-FGA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, Ac-FGA-NHCH(CH₂Ph)C(OH)(SO₃M)-H, Ac-FGA-NHCH(CH₂CH₂SCH₃)(SO₃M)-H, MeO-CO-VA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, MeNCO-VA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, MeO-CO-FGA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, MeO-CO-FGA-NHCH(CH₂Ph)C(OH)(SO₃M)-H, MeSO₂-FGA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, MeSO₂-VA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, PhCH₂O(OH)(O)P-VA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, EtSO₂-FGA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, PhCH₂SO₂-VA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, PhCH₂O(OH)(O)P-LA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, PhCH₂O(OH)(O)P-FA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, và MeO(OH)(O)P-LGA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, trong đó Ac là axetyl và Cbz là benzyloxycarbonyl.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất để sử dụng trong chế phẩm theo sáng chế, hợp chất này là sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit có công thức X-B¹-NH-CHR-CHOH-SO₃M; trong đó R và M được định nghĩa như nêu trên; B¹ biểu thị một gốc axit amin mà khác với prolin (Pro); X là B², B³-B², Z-B², Z-B³-B², trong đó mỗi B³ và B² biểu thị một gốc axit amin, và Z là nhóm bảo vệ đầu N; và trong đó B² là Gly, Thr hoặc Val.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất để sử dụng trong chế phẩm theo sáng chế, hợp chất này là sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit có công thức X-B¹-NH-CHR-CHOH-SO₃M; trong đó R và M được định nghĩa như nêu trên; B¹ biểu thị một gốc axit amin mà khác với prolin (Pro); X là B³-B², Z-B³-B², trong đó mỗi B³ và B² biểu thị một gốc axit amin, và Z là nhóm bảo vệ đầu N; và trong đó B³ là Phe, Tyr, Trp, Phenylglyxin, Leu, Val, Nva, Nle hoặc Ile.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các hóa chất được sử dụng làm chất đệm và cơ chất là các sản phẩm thương mại ít nhất là đạt tiêu chuẩn làm chất phản ứng (reagent grade).

Ví dụ 1

Điều chế sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit

Aldehyt peptit có công thức $X-B^1-B^0-H$, như nêu trên, được chuyển hóa thành sản phẩm cộng bisulfit tương ứng. Bổ sung 1,06mmol natri bisulfit (114mg) trong 6mL nước theo từng giọt vào huyền phù đã khuấy chứa 1mmol $X-B^1-B^0-H$ trong 8mL etyl axetat ở nhiệt độ môi trường xung quanh và sau đó khuấy phản ứng trong thời gian 2 giờ. Tách pha nước và rửa lớp hữu cơ bằng 2 x 2mL nước. Làm đông khô các pha nước gộp lại, tạo ra $X-B^1-NH-CHR-CHOH-SO_3Na$ (hiệu suất dự đoán 66%) dưới dạng chất bột màu trắng.

Ví dụ 2

Điều chế chế phẩm dạng lỏng của sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit

Hòa tan 4mmol $X-B^1-NH-CHR-CHOH-SO_3Na$ rắn trong 6g nước đã được khử khoáng và khuấy trong thời gian 30 phút ở nhiệt độ 35°C và tiếp đó làm nguội, thu được dung dịch nước 25% của $X-B^1-NH-CHR-CHOH-SO_3Na$. Theo cách khác, pha nước từ bước tổng hợp nêu trên có thể được sử dụng dễ dàng để làm ổn định enzym trong bước dưới đây và dung dịch này là xấp xỉ 3% (theo trọng lượng).

Ví dụ 3

Điều chế chế phẩm subtilisin được làm ổn định chứa subtilisin và sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit

Bổ sung $X-B^1-NH-CHR-CHOH-SO_3Na$ 0,9% bằng cách sử dụng 3,6% của dung dịch nước 25% nêu trên vào Savinase 16L™ có trên thị trường (Novozymes A/S, Bagsvaerd, Đan Mạch).

Ví dụ 4

Làm ổn định subtilisin bằng sản phẩm cộng hydrosulfit

Mô tả chung về thí nghiệm: Các chất tẩy rửa chứa subtilisin (Savinase 16L) và lipaza (Lipex 100L) cùng với hoặc không cùng với $X-B^1-NH-CHR-CHOH-SO_3Na$ (sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit có thể được bổ sung một cách riêng biệt vào chất tẩy rửa chứa subtilisin) được cho vào các cốc thủy tinh đóng kín ở nhiệt độ -18°C; 35°C và 40°C. Hoạt tính còn lại của proteaza và lipaza được đo sau các thời điểm khác nhau bằng các phương pháp phân tích tiêu chuẩn (proteaza bằng cách thủy phân N,N-dimethylcasein ở nhiệt độ 40°C, độ pH=8,3 và lipaza bằng cách thủy phân pNp-valerat ở nhiệt độ 40°C, độ pH=7,7). Có thể thực hiện các thử nghiệm tương tự bằng cách bổ sung subtilisin vào chất tẩy rửa đã

chứa lượng thích hợp của sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit. Có thể thu được các kết quả tương tự với tất cả các sản phẩm cộng bisulfit của aldehyt peptit đã nêu.

Chế phẩm được mô tả trong bảng 1 được tạo ra để làm ví dụ về chế phẩm tẩy rửa chứa subtilisin được làm ổn định.

Bảng 1. Chế phẩm tẩy rửa

Thành phần	% (theo trọng lượng)
Natri alkyletoxy sulphat (C9-15, 2EO)	6,0
Natri dodexyl benzen sulfonat	3,0
Natri toluen sulfonat	3,0
Axit oleic	2,0
Etoxylat rượu bậc một (C12-15, 7EO)	3,0
Etoxylat rượu bậc một (C12-15, 3EO)	2,5
Etanol	0,5
Monopropylen glycol	2,0
Tri-natri xitrat 2H ₂ O	4,0
Trietanol amin	0,4
Độ pH được điều chỉnh đến 8,5 bằng NaOH	
Chế phẩm Savinase được làm ổn định bằng X-B ¹ -NH-CHR-CHOH-SO ₃ Na; hoặc Savinase 16L để so sánh	0,5
Lipex 100L TM (có sẵn từ Novozymes A/S)	0,5
Nước	bổ sung đến 100%

Bảng 2 thể hiện các kết quả thu được với X= Cbz-Gly; B¹= Ala; R=-CH₂-p(C₆H₄)-OH; độ ổn định được đo sau một tuần ủ ở nhiệt độ 40°C trong chất tẩy rửa được mô tả trong bảng 1.

Bảng 2. Hoạt tính proteaza còn lại sau một tuần ủ ở nhiệt độ 40°C trong chất tẩy rửa được mô tả trong bảng 1

Lượng chất ức chế được bổ sung vào chất tẩy rửa	Độ ổn định của proteaza (hoạt tính còn lại)
không	12%
7ppm	52%
14ppm	77%
18ppm	80%

Các kết quả này chứng minh cho khả năng làm ổn định subtilisin bằng cách bổ sung sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit.

Ví dụ 5

Làm ổn định subtilisin và lipaza

Chế phẩm được mô tả trong bảng 3 được tạo ra để làm ví dụ về chế phẩm tẩy rửa chứa subtilisin được làm ổn định.

Bảng 3. Chế phẩm tẩy rửa

Thành phần	% (theo trọng lượng)
Natri dodexyl benzen sulfonat	6,0
NaOH	1,4
Axit béo của đậu tương (Edenor SJ)	3,0
Axit béo cacao (Radiacid 0631)	2,5
Etoxylat rượu bậc một (C13, 8EO)	5,0
Etanol	5,0
Monopropylen glycol	5,0
Tri-natri xitrat 2H ₂ O	0,5
Trietanol amin	2,0
Phosphonat - Dequest 2066 C2	3,0
Độ pH được điều chỉnh đến 8,4 bằng NaOH bổ sung nếu cần	
Subtilisin: Savinase, được làm ổn định bằng X-B ¹ -NH-CHR-CHOH-SO ₃ Na; hoặc cùng với axit 4-formylphenyl boronic; hoặc không cùng với chất làm ổn định để so sánh	0,75
Lipaza: Lipex 100L TM (có sẵn từ Novozymes A/S)	0,15
Nước	bổ sung đến 100%

Bảng 4 thể hiện các kết quả được đo sau hai tuần ủ ở nhiệt độ 35°C trong chất tẩy rửa được mô tả trong bảng 3.

Bảng 4. Hoạt tính còn lại của subtilisin (proteaza) và lipaza sau 2 tuần ủ ở nhiệt độ 35°C trong chất tẩy rửa được mô tả trong bảng 3.

Chất ức chế	Chất ức chế trong chất tẩy rửa	Subtilisin	Lipaza
Không	-	2%	1%
Axit 4-formylphenyl boronic (tình trạng kỹ thuật)	128ppm	8%	2%
X = Cbz-Gly; B ¹ = Ala; R = -CH ₂ -p(C ₆ H ₄)-OH	21ppm	63%	18%

Các kết quả này chứng minh rằng việc bổ sung sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit có thể làm ổn định subtilisin và enzym thứ hai (lipaza), và có hiệu quả hơn nhiều so với chất làm ổn định có trong tình trạng kỹ thuật.

Ví dụ 6

Làm ổn định subtilisin và lipaza

Chế phẩm được mô tả trong bảng 5 được tạo ra để làm ví dụ khác nữa về chế phẩm tẩy rửa chứa subtilisin được làm ổn định.

Bảng 5. Chế phẩm tẩy rửa.

Thành phần	% (theo trọng lượng)
Chất tẩy rửa không enzym thương mại. Cấp liều EU dạng lỏng 2x. Mua ở Anh, 2009	98,2
Subtilisin	1,4
Lipaza: Lipoclean 2000L (có sẵn từ Novozymes A/S)	0,4

Bảng 6 thể hiện các kết quả được đo sau 4 tuần ủ ở nhiệt độ 37°C, và sau 8 tuần ủ ở nhiệt độ 30°C, trong chất tẩy rửa được mô tả trong bảng 5.

Bảng 6. Hoạt tính còn lại của subtilisin (proteaza) và lipaza sau 4 tuần ủ ở nhiệt độ 37°C, hoặc sau 8 tuần ủ ở nhiệt độ 30°C trong chất tẩy rửa được mô tả trong bảng 5

Chất ức chế	Subtilisin	Lượng chất ức chế được bổ sung vào chất tẩy rửa	Subtilisin	Lipaza
			4 tuần ở nhiệt độ 37°C	8 tuần ở nhiệt độ 30°C
không	Coronase 48L	0	69%	28%
X = Cbz-Gly; B ¹ = Ala; R = -CH ₂ -p(C ₆ H ₄)-OH	Coronase 48L	59ppm	80%	61%
không	Liquanase 2,5L	0	43%	0%
X = Cbz-Gly; B ¹ = Ala; R = -CH ₂ -p(C ₆ H ₄)-OH	Liquanase 2,5L	34ppm	83%	27%

Các kết quả này xác nhận rằng việc bổ sung sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit có thể làm ổn định subtilisin và enzym thứ hai (lipaza) đối với các subtilisin khác nhau.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm chứa subtilisin và sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit có công thức $X-B^1-NH-CHR-CHOH-SO_3M$, trong đó:
 - a) M là H (hydro) hoặc kim loại kiềm;
 - b) R là nhóm sao cho $NH-CHR-CO$ là gốc L hoặc D-axit amin;
 - c) B^1 là một gốc axit amin; và
 - d) X bao gồm một hoặc nhiều gốc axit amin, tùy ý chứa nhóm bảo vệ đầu N.
2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó R là nhóm sao cho $NH-CHR-CO$ là gốc L hoặc D-axit amin thuộc Tyr, m-tyrosin, 3,4-dihydroxyphenylalanin, Phe, Val, Met, Nva, Leu, Ile hoặc Nle.
3. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó B^1 là gốc thuộc Ala, Cys, Gly, Pro, Ser, Thr, Val, Nva hoặc Nle.
4. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó X là B^2 , B^3-B^2 , $Z-B^2$ hoặc $Z-B^3-B^2$, trong đó mỗi B^2 và B^3 biểu thị một gốc axit amin, và Z là nhóm bảo vệ đầu N.
5. Chế phẩm theo điểm 4, trong đó B^2 là gốc thuộc Val, Gly, Ala, Arg, Leu, Phe hoặc Thr.
6. Chế phẩm theo điểm 4, trong đó B^3 là gốc thuộc Phe, Tyr, Trp, Phenylglyxin, Leu, Val, Nva, Nle hoặc Ile.
7. Chế phẩm theo điểm 4, trong đó Z là benzyloxycarbonyl (Cbz), p-metoxycarbonyl (MOZ), benzyl (Bn), benzoyl (Bz), p-metoxycarbonyl (PMB), p-metoxyphenyl (PMP), formyl, axetyl (Ac), metyloxy hoặc metyloxycarbonyl.
8. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này ở dạng lỏng hoặc dạng hạt.
9. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này là chất tẩy rửa còn chứa thêm chất hoạt động bề mặt.
10. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn chứa thêm enzym thứ hai, cụ thể là lipaza, cutinaza, amylaza, carbohydrazaza, xenlulaza, pectinaza, pectat lyaza, mannanaza, arabinaza, galactanaza, xylanaza, oxidaza, laccaza hoặc peroxidaza.
11. Phương pháp điều chế chế phẩm theo điểm 1, trong đó phương pháp này bao gồm bước trộn subtilisin, dung dịch nước chứa sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit có công

thức $X-B^1-NH-CHR-CHOH-SO_3M$, trong đó M, R, B^1 và X được định nghĩa như trong điểm 1, và tùy ý chất hoạt động bề mặt.

12. Hợp chất sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit có công thức $X-B^1-NH-CHR-CHOH-SO_3M$, trong đó M là H (hydro) hoặc kim loại kiềm và X bao gồm một hoặc nhiều gốc axit amin, tùy ý chứa nhóm bảo vệ đầu N, B^1 là gốc axit amin mà khác với prolin (Pro), và R là nhóm sao cho $NH-CHR-CO$ là gốc L hoặc D-axit amin thuộc Tyr, m-tyrosin, 3,4-dihydroxyphenylalanin, Phe, Val, Met, Nva hoặc Nle.

13. Hợp chất theo điểm 12, trong đó hợp chất này là Cbz-RA-NHCH(CH₂C₆H₄OH)-C(OH)(SO₃M)-H, Ac-GA-NHCH(CH₂C₆H₄OH)C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-GA-NHCH(CH₂C₆H₄OH)C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-GG-NHCH(CH₂C₆H₄OH)C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-RV-NHCH(CH₂C₆H₄OH)C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-LV-NHCH(CH₂C₆H₄OH)-C(OH)(SO₃M)-H, Ac-LGA-NHCH(CH₂C₆H₄OH)C(OH)(SO₃M)-H, Ac-FGA-NHCH(CH₂C₆H₄OH)C(OH)(SO₃M)-H, Ac-YGA-NHCH(CH₂C₆H₄OH)C(OH)(SO₃M)-H, Ac-FGV-NHCH(CH₂C₆H₄OH)C(OH)(SO₃M)-H, hoặc Ac-WLV-NHCH(CH₂C₆H₄OH)-C(OH)(SO₃M)-H, trong đó Ac là axetyl và Cbz là benzyloxycarbonyl.

14. Hợp chất sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit có công thức $X-B^1-NH-CHR-CHOH-SO_3M$, trong đó M là H (hydro) hoặc kim loại kiềm, R là nhóm sao cho $NH-CHR-CO$ là gốc L hoặc D-axit amin và X bao gồm một hoặc nhiều gốc axit amin, tùy ý chứa nhóm bảo vệ đầu N, và trong đó B^1 là gốc axit amin thuộc alanin (Ala), xystein (Cys), glyxin (Gly), serin (Ser), threonin (Thr), valin (Val), norvalin (Nva) và norleuxin (Nle).

15. Hợp chất theo điểm 14, trong đó hợp chất này là Cbz-GA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-VA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-GA-NHCH(CH₂Ph)C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-GA-NHCH(CH(CH₃)₂)C(OH)(SO₃M)-H, Cbz-GG-NHCH(CH₂Ph)C(OH)(SO₃M)-H, Ac-FGA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, Ac-FGA-NHCH(CH₂Ph)C(OH)(SO₃M)-H, Ac-FGA-NHCH(CH₂CH₂SCH₃)(SO₃M)-H, MeO-CO-VA-NHCH(CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, MeNCO-VA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, MeO-CO-FGA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, MeO-CO-FGA-NHCH(CH₂Ph)-C(OH)(SO₃M)-H, MeSO₂-FGA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, MeSO₂-VA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, PhCH₂O(OH)(O)P-VA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))-C(OH)(SO₃M)-H, EtSO₂-FGA-NHCH(CH₂CH(CH₃)₂))C(OH)(SO₃M)-H, PhCH₂SO₂-VA-

$\text{NHCH}(\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2)\text{C}(\text{OH})(\text{SO}_3\text{M})\text{-H}$, $\text{PhCH}_2\text{O}(\text{OH})(\text{O})\text{P-LA-NHCH}(\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2)\text{-C}(\text{OH})(\text{SO}_3\text{M})\text{-H}$, $\text{PhCH}_2\text{O}(\text{OH})(\text{O})\text{P-FA-NHCH}(\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2)\text{C}(\text{OH})(\text{SO}_3\text{M})\text{-H}$, và $\text{MeO}(\text{OH})(\text{O})\text{P-LGA-NHCH}(\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2)\text{C}(\text{OH})(\text{SO}_3\text{M})\text{-H}$, trong đó Ac là axetyl và Cbz là benzyloxycarbonyl.

16. Hợp chất sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit có công thức $\text{X-B}^1\text{-NH-CHR-CHOH-SO}_3\text{M}$; trong đó R là nhóm sao cho NH-CHR-CO là gốc L hoặc D-axit amin và M là H (hydro) hoặc kim loại kiềm; B^1 biểu thị một gốc axit amin mà khác với prolin (Pro); X là B^2 , $\text{B}^3\text{-B}^2$, Z-B^2 , $\text{Z-B}^3\text{-B}^2$, trong đó mỗi B^3 và B^2 biểu thị một gốc axit amin, và Z là nhóm bảo vệ đầu N; và trong đó B^2 là Gly, Thr hoặc Val.

17. Hợp chất sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit có công thức $\text{X-B}^1\text{-NH-CHR-CHOH-SO}_3\text{M}$; trong đó R là nhóm sao cho NH-CHR-CO là gốc L hoặc D-axit amin và M là H (hydro) hoặc kim loại kiềm; B^1 biểu thị một gốc axit amin mà khác với prolin (Pro); X là $\text{B}^3\text{-B}^2$, $\text{Z-B}^3\text{-B}^2$, trong đó mỗi B^3 và B^2 biểu thị một gốc axit amin, và Z là nhóm bảo vệ đầu N; và trong đó B^3 là Phe, Tyr, Trp, Phenylglyxin, Leu, Val, Nva, Nle hoặc Ile.

18. Chế phẩm chứa subtilisin và hợp chất sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit theo điểm 12.

19. Chế phẩm chứa subtilisin và hợp chất sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit theo điểm 14.

20. Chế phẩm chứa subtilisin và hợp chất sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit theo điểm 16.

21. Chế phẩm chứa subtilisin và hợp chất sản phẩm cộng hydrosulfit của aldehyt peptit theo điểm 17.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Novozymes A/S

<120> Chế phẩm chứa subtilisin được làm ổn định, phương pháp điều chế chế phẩm này và hợp chất để sử dụng trong chế phẩm này

<130> 11717-WO-PCT

<160> 9

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1

<211> 4

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Aldehyt peptit

<400> 1

Leu Gly Ala Tyr

1

<210> 2

<211> 4

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Aldehyt peptit

<400> 2

Phe Gly Ala Tyr

1

<210> 3

<211> 4

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Aldehyt peptit

<400> 3

Tyr Gly Ala Tyr

1

<210> 4

<211> 4

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Aldehyt peptit

<400> 4

Phe Gly Ala Leu

1

<210> 5

<211> 4

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Aldehyt peptit

<400> 5

Phe Gly Ala Phe

1

<210> 6

<211> 4

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Aldehyt peptit

<400> 6

Phe Gly Val Tyr

1

<210> 7

<211> 4

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Aldehyt peptit

<400> 7

Phe Gly Ala Met

1

<210> 8

<211> 4

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Aldehyt peptit

<400> 8

Trp Leu Val Tyr

1

<210> 9

<211> 4

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Aldehyt peptit

<400> 9

Leu Gly Ala Leu

1