



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107736079 A

(43)申请公布日 2018.02.23

(21)申请号 201680035965.1

(22)申请日 2016.06.16

(30)优先权数据

62/182,192 2015.06.19 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2017.12.19

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2016/037911 2016.06.16

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/205546 EN 2016.12.22

(71)申请人 蛋白质科技公司

地址 美国亚利桑那州

(72)发明人 亚历山大·S·沃德尔

大卫·W·里贝莱特

詹姆斯·P·卡安

(74)专利代理机构 中原信达知识产权代理有限
责任公司 11219

代理人 陆弋 安翔

(51)Int.Cl.

H05B 6/10(2006.01)

B01J 19/00(2006.01)

B01J 19/12(2006.01)

H05B 6/00(2006.01)

H05B 6/02(2006.01)

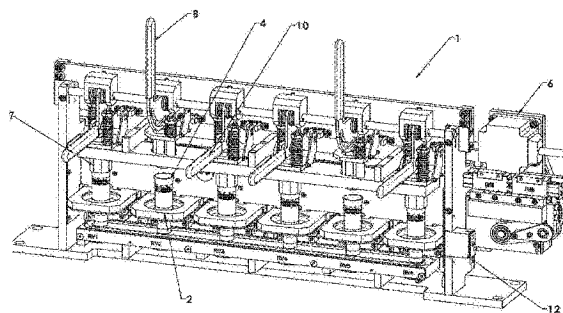
权利要求书2页 说明书4页 附图10页

(54)发明名称

化学反应容器及合成系统和方法

(57)摘要

利用感应加热能量来加热与化学合成相关联的设备的设备和方法,所述反应例如是涉及活化、去保护、偶联和裂解的肽合成反应。还描述了在加热期间对反应容器的内含物的彻底搅动、对温度和/或反应持续时间的实时监测和调节、对不同反应容器的独立控制以及可扩展性。



1. 一种化学合成反应加热平台,包括:

一个或多个反应容器;和感应加热能量源,所述感应加热能量源被构造成加热所述一个或多个反应容器的内含物,其中,所述一个或多个反应容器被涂覆有导热材料,并且所述平台被构造成在加热期间使所述一个或多个反应容器中的所述内容物摇动或混合。

2. 根据权利要求1所述的平台,其中,所述平台被构造成在加热期间以使得所述一个或多个反应容器不与所述感应加热能量源接触的方式通过运动使所述一个或多个反应容器摇动或混合。

3. 根据权利要求1所述的平台,其中,所述导热材料包括多个金属导体膏层。

4. 根据权利要求1所述的平台,其中,所述导热材料包括被烘烤到所述一个或多个反应容器上的三至五个DUPONT 7713导体膏层。

5. 根据权利要求1所述的平台,其中,所述平台还包括红外热温度传感器,并且所述一个或多个反应容器被构造成使红外辐射扩散并均匀化。

6. 根据权利要求5所述的平台,其中,所述一个或多个反应容器受到化学蚀刻、物理磨蚀、喷砂处理中的一种或多种,以使红外辐射扩散并均匀化。

7. 根据权利要求1所述的平台,还包括控制器,所述控制器被构造成独立地控制不止一个反应容器的温度。

8. 根据权利要求1所述的平台,还包括独立的控制器和功率放大器,所述独立的控制器和功率放大器被构造成控制一个或多个选定的反应容器的温度。

9. 根据权利要求1所述的平台,其中,所述感应加热能量源包括自由浮动式感应线圈,所述感应线圈和相关联的反应容器被构造成使得各自同步移动,从而维持所期望的场对准和距离参数。

10. 一种用于化学合成的方法,包括以下步骤:

在所述化学合成期间向反应容器施加感应加热能量,并且同时,使所述反应容器的内含物摇动或混合。

11. 根据权利要求10所述的方法,其中,所述摇动或混合是在加热期间通过所述反应容器的运动进行的,并且是以使得所述反应容器不与所述感应加热能量源接触的方式执行的。

12. 根据权利要求10所述的方法,进一步包括:实时监测所述反应容器中的温度,并将所述感应加热能量的输出调节到预定点。

13. 根据权利要求10所述的方法,进一步包括:控制所述感应加热能量和相关联的反应容器,以便使各自同步移动,从而维持所期望的场对准和距离参数。

14. 一种用于固相肽合成的仪器,包括:

一个或多个反应容器;和感应加热能量源,所述感应加热能量源被构造成加热所述一个或多个反应容器的内含物,其中,所述一个或多个反应容器被涂覆有导热材料,并且所述平台被构造成在加热期间使所述一个或多个反应容器的所述内含物摇动或混合;和

用于致动和控制肽合成所需的流体输送和加热的装置。

15. 根据权利要求14所述的仪器,其中,所述平台被构造成在加热期间以使得所述一个或多个反应容器不与所述感应加热能量源接触的方式通过运动使所述一个或多个反应容器摇动或混合。

16. 根据权利要求14所述的仪器,其中,所述导热材料包括多个金属导体膏层。

17. 根据权利要求14所述的仪器,其中,所述导热材料包括被烘烤到所述一个或多个反应容器上的三至五个DUPONT 7713导体膏层。

18. 根据权利要求14所述的仪器,其中,所述平台还包括红外热温度传感器,并且所述一个或多个反应容器被构造成使红外辐射扩散并均匀化。

19. 根据权利要求18所述的仪器,其中,所述一个或多个反应容器受到化学蚀刻、物理磨蚀或喷砂处理中的一种或多种,以使红外辐射扩散并均匀化。

20. 根据权利要求14所述的仪器,还包括控制器,所述控制器被构造成独立地控制不止一个反应容器的温度。

21. 根据权利要求14所述的仪器,还包括独立的控制器和功率放大器,所述独立的控制器和功率放大器被构造成控制一个或多个选定的反应容器的温度。

22. 根据权利要求14所述的仪器,其中,所述感应加热能量源包括自由浮动式感应线圈,所述感应线圈和相关联的反应容器被构造成使得各自同步移动,从而维持所期望的场对准和距离参数。

23. 一种用于固相肽合成的方法,包括:

在搅拌并且用感应加热能量源加热含有氨基酸和去保护试剂的反应容器的同时,执行去保护步骤;

在搅拌并且用感应加热能量源加热所述反应容器的同时,活化第二氨基酸并将所述第二氨基酸偶联到所述氨基酸的被去保护的胺上;以及

如上地执行相继的去保护步骤和偶联步骤,直到合成出期望的肽。

24. 根据权利要求23所述的方法,其中,在加热期间所述反应容器的所述搅拌是以使得所述反应容器不与所述感应加热能量源接触的方式执行的。

25. 根据权利要求23所述的方法,进一步包括:实时监测所述反应容器中的温度,并将所述感应加热能量的输出调节到预定点。

26. 根据权利要求23所述的方法,进一步包括:控制所述感应加热能量和相关联的反应容器,以便使各自同步移动,从而维持所期望的场对准和距离参数。

化学反应容器及合成系统和方法

背景技术

[0001] 典型地使用油浴、加热元件或微波的热应用已经作为自动化学合成工业中的工具出现了。由于能够迅速地使小体积物 (small volumes) 上升到升高的温度,微波加热近年来已经特别受欢迎地增长了。

[0002] 尽管微波提供了快速加热,但也有许多与该技术相关联的相当大的缺点。目前可用的所有商用单一模式微波反应器都只允许照射单个容器。因此不可能并行执行多个肽的微波合成。此外,微波合成器上可用的反应容器和混合选项的限制使得放大 (scale-up) 微波条件实际上很困难。

发明内容

[0003] 本公开涉及一种新颖的化学合成加热平台以及涉及感应加热能量的过程。与采用基于微波的系统进行加热不同,在感应加热平台的情况下并行合成是可能的,因为多个反应容器能够利用感应被同时加热,并且能够独立控制多个反应容器的温度。不同类型的混合也是可能的,例如氮注射或振荡涡旋混合,这确保了均匀的温度分布得以维持,从而使合成操作可靠且可扩展。

[0004] 根据说明书中的下面的描述,各种其它目的和优点将变得清楚。因此,本文描述的实施例包括在优选实施例的详细描述中、在下文全面描述并且在权利要求书中特别指出的特征。然而,这样的描述仅公开了实施例中的一些,并且可以实践所描述的实施例的各种方式。

附图说明

[0005] 图1是实施例的前透视图。

[0006] 图2是图1中的实施例的后透视图。

[0007] 图3A是单个反应容器组件的特写视图,更详细地示出了使红外辐射扩散的导电涂层和表面构造。

[0008] 图3B是沿着线A-A的、图3A的剖视图。

[0009] 图4描绘了用于实施例的基本电气和控制示意图。

[0010] 图5A描绘了图1所示的实施例的顶视图和进一步的细节。

[0011] 图5B描绘了沿着图5A所示的实施例的截面C-C的剖视图。

[0012] 图5C描绘了图1所示的实施例的正视图和进一步的细节。

[0013] 图5D描绘了沿着图5C所示的实施例的截面A-A的剖视图。

[0014] 图5E描绘了沿着图5C所示的实施例的截面B-B的剖视图。

[0015] 图6是例如能够用于肽合成并且能够被改造以包括本发明的加热平台的整个仪器的前透视图。

具体实施方式

[0016] 利用感应加热能量来加热与化学合成相关联的反应(例如涉及活化、去保护、偶联和裂解的肽合成反应)的设备和方法。还描述了在加热期间对反应容器的内含物的彻底搅动以及对温度和/或反应持续时间的实时监测和调节。

[0017] 转向图1和图2,描绘了化学合成反应加热平台1。该平台包括感应加热能量源2(例如自由浮动式感应线圈),该感应加热能量源2被构造成加热一个或多个反应容器4的内含物。此外,平台1被构造成在加热期间通过例如混合器驱动组件6使所述一个或多个反应容器4摇动或混合,该混合器驱动组件6包括偏心摇动器驱动联动装置(eccentric shaker drive linkage),该偏心摇动器驱动联动装置具有通过连接到可调节界面7(被示出为处于“打开”或断开状态8,或者处于“关闭”或连接状态10)来移动每个容器的阻尼轴承(damped bearing)。

[0018] 优选地,由混合器驱动组件6传送的运动是振荡谐波运动,该振荡谐波运动在反应容器内的液体中产生涡旋运动。然而,与此不同的混合方法和运动是可能的,用于每个容器的摇动或混合机构和/或所述界面的构造和附接点也是如此。而且,根据本实施例,容器4与界面7联接,使得在加热期间,一个或多个反应容器不与所述感应加热能量源接触。因此,在所描绘的自由浮动式感应线圈平台中,相关联的反应容器同步移动,从而维持所期望的场对准(field alignment)和距离参数。

[0019] 为了更好地控制对容器4的加热,可以将高温计12布置在附近。优选地,该高温计是红外(IR)传感器,它连接到控制器并由此提供温度调节。尽管为了简单起见仅在图1中示出了一个高温计,但每个容器4能够与图2所示的温度传感器配对,从而能够独立地控制每个容器的温度。

[0020] 转向图3A和图3B,以前立视图和沿着由A-A限定的轴线的剖视图描绘了反应容器20。为了通过感应而被加热,反应容器20涂覆有导热材料22。尽管这种材料优选是金属(能够使用其中几种),但是,被烘烤到玻璃容器上的DUPONT 7713导体膏在产生热量方面已经证明特别有效。该导热材料可以包括多个层,其中,本发明人发现在3-5层之间时更有效。

[0021] 结合所述高温计(例如红外热温度传感器),这些反应容器优选被构造成使红外辐射扩散并均匀化(homogenize)。这种构造例如可以通过化学蚀刻、物理磨蚀或各种玻璃珠喷砂(glass bead grit)24来实现,以使红外辐射扩散并均匀化。在本实施例中,每个容器20具有:底部26,在此情况下,该底部26的特征在于用于流体输送的细长开口27;和顶部28,该顶部28能够与界面7联接。

[0022] 因此,在本实施例中,反应容器20在弹簧力下在界面7与下容器座之间被保持到位(参见图5A-5E中的细节)。界面7和该下容器座可以包含用于通过开口27和/或通过容器20的顶部实现流体输送的通道、阀门等(参见图5A-5E中的细节)。

[0023] 如图4中示意性示出的,平台1优选还包括控制器,该控制器被构造成独立地控制多于一个的反应容器的温度。此外,被构造成控制一个或多个选定的反应容器的温度的独立控制器和功率放大器(参见提供多个控制器和功率放大器的图4示意图的“区段重复”部分)例如能够通过包含在计算机的非瞬态可读存储介质上的编程而被利用。当然,其它自动特征和功能也可以被编程。

[0024] 确实,上述平台实施例能够用在专门的仪器中,例如为固相肽合成(SPPS)而设计的仪器(图6)。这种仪器的部件和构造的实例请参见美国专利5203368或由Protein

Technologies, Inc., Tucson, AZ 销售的 Prelude[®] 自动肽合成仪。

[0025] 在一个实施例(图6)中,上述用于固相肽合成的仪器包括:用于一个或多个反应容器4的感应加热能量平台1;和感应加热能量源2,该感应加热能量源2被构造成加热所述一个或多个反应容器的内含物,其中,所述一个或多个反应容器被涂覆有导热材料,该平台被构造成在加热期间通过运动使所述一个或多个反应容器摇动或混合;以及被可操作地构造成用于致动和控制肽合成所需的流体输送的阀门、通道、软管等中的一个或多个。

[0026] 术语“肽”包括天然存在的肽的合成版本,以及类肽、肽-核酸和肽模拟物,肽模拟物包括非天然的(例如对映体)氨基酸、氨基酸衍生物(例如具有改性的侧链的分子)、β-氨基酸和其它类似的这种分子。

[0027] 还提供了使用感应加热能量进行化学合成的方法。在一个实施例中,该方法包括:在合成操作期间,在使反应容器摇动或混合(例如通过运动)的同时向反应容器施加感应加热能量,其中,优选以使反应容器不与感应加热能量源接触的方式来执行该加热。该方法可进一步包括:实时监测反应容器中的温度并将感应加热能量的输出调节到预定点。

[0028] 在用于固相肽合成的方法实施例中,执行以下步骤:在搅拌并且用感应加热能量源加热含有氨基酸和去保护试剂(deprotection reagents)的反应容器的同时,进行去保护(deprotection);在搅拌并且用感应加热能量源加热所述反应容器的同时,活化第二氨基酸并将第二氨基酸偶联到所述氨基酸的被去保护的胺上,以及,如上地执行相继的去保护步骤和偶联步骤,直到合成出期望的肽。

[0029] 非限制性实例

[0030] 用一定体积的水进行的测试表明:对于40ml反应容器,加热与微波加热一样快或者比微波加热更快。

[0031] 利用用于Jung-Redemann“JR 10-mer”WFTTLISTIM的感应加热能量的单肽合成:

[0032] 合成:使用Rink酰胺MBHA树脂(加载0.32mmol/g),在Prelude X[™]肽合成仪上以50μmol的规模合成JR 10-mer肽。在90°C下用20%哌啶的DMF执行去保护达到1分钟。在去保护之后,用DMF洗涤该树脂4×30秒。在90°C下使用0.25mmol AA(5当量)、0.25mmol HCTU(5当量)和0.5mmol NMM(10当量)的DMF执行偶联达到2分钟。在偶联之后不用洗涤。为了裂解,在室温下用95/2.5/2.5 TFA/TIS/H₂O处理该树脂2小时。在冰冷的乙醚中沉淀(precipitation)之后,将粗肽过夜干燥。

[0033] 分析:将得到的粗肽溶解于50/50水/乙腈溶液中,并且使用C18, 300Å, 5μm, 250×4.6mm柱(Microsorb-MV)在Shimadzu Prominence HPLC上以1.5mL/min的流量并使用5-95%B的梯度来分析所得到的粗肽超过60分钟,其中,缓冲液A是0.1%TFA的水,并且缓冲液B是0.1%TFA的乙腈。在214nm下检测。在装备有C18, 100Å, 2.6μm, 50×2.1mm柱(Phenomenex Kinetex)的Shimadzu LCMS-2020Single-Quad质谱仪上以1mL/min的流量并使用5-50%B的梯度来执行质量分析超过7分钟,其中,缓冲液A是0.1%甲酸的水,并且缓冲液B是0.1%甲酸的乙腈。

[0034] 结果:在Prelude X[™]肽合成仪上的去保护和偶联反应期间,使用快速感应加热合成了通常被称为JR 10-mer的肽。LC-MS和HPLC分析表明以66%的粗纯度获得了正确的肽。这是相对于在室温合成的情况下发现的结果的实质上改进,该室温合成在以其它方式等价的工艺条件(protocol)下以仅15%的粗纯度产生肽。这些结果是在合成诸如JR 10-mer的

困难的肽序列期间应用快速感应加热的益处的清楚证据。

[0035] 使用Jung-Redemann“JR10-mer”WFTTLISTIM的感应加热能量的并行肽合成：

[0036] 合成：使用三种工艺条件（室温，60℃进行去保护和偶联，90℃进行去保护和偶联）以50μmol规模在Prelude X™肽合成仪上在六个容器中并行合成双份的JR 10-mer肽。所使用的固态载体（support）是Rink酰胺MBHA树脂（加载0.32mmol/g）。在室温、60℃或90℃下用20%哌啶的DMF执行去保护达到1分钟。在去保护之后，用DMF洗涤该树脂4×30秒。使用0.25mmol AA（5当量）、0.25mmol HCTU（5当量）和0.5mmol NMM（10当量）的DMF在室温、60℃或90℃下执行偶联达到2分钟。在偶联之后不用洗涤。为了裂解，在室温下用95/2.5/2.5TFA/TIS/H₂O处理该树脂2小时。在冰冷的乙醚中沉淀之后，将粗肽过夜干燥。

[0037] 分析：将得到的粗肽溶解于50/50水/乙腈溶液中，并且使用C18, 300Å, 5μm, 250×4.6mm柱（Microsorb-MV）在Shimadzu Prominence HPLC上以1.5mL/min的流量并使用5-95%B的梯度来分析所得到的粗肽超过60分钟，其中，缓冲液A是0.1%TFA的水，并且缓冲液B是0.1%TFA的乙腈。在214nm下检测。在装备有C18, 100Å, 2.6μm, 50x2.1mm柱（Phenomenex Kinetex）的Shimadzu LCMS-2020Single-Quad质谱仪上以1mL/min的流量并使用5-50%B的梯度来执行质量分析超过7分钟，其中，缓冲液A是0.1%甲酸的水，并且缓冲液B是0.1%甲酸的乙腈。

[0038] 结果：在所述的温度下，在Prelude X™肽合成仪上进行去保护和偶联反应期间，在室温下并使用快速感应加热合成了通常被称为JR10-mer的肽。LC-MS分析表明在所有情况下获得了正确的肽，然而粗纯度实质上变化。在室温下，在两次重复运行中均获得仅15%的纯度。通过在去保护和偶联反应期间加热至60℃，在两个容器中将纯度提高到48%和46%。通过针对去保护和偶联将温度升高至90℃，观察到了最好的结果，从而为重复合成提供了66%和61%的粗纯度。这些结果是在合成诸如JR 10-mer的困难的肽序列期间应用快速感应加热的益处的清楚证据。

[0039] 已经在附图和说明书中公开了本发明的典型实施例。仅以描述性的意义采用特定的术语的使用，并且这些术语并不意味着限制在所附权利要求书中阐述的本发明的范围。在此引用的所有出版物都通过引用的方式由此并入。

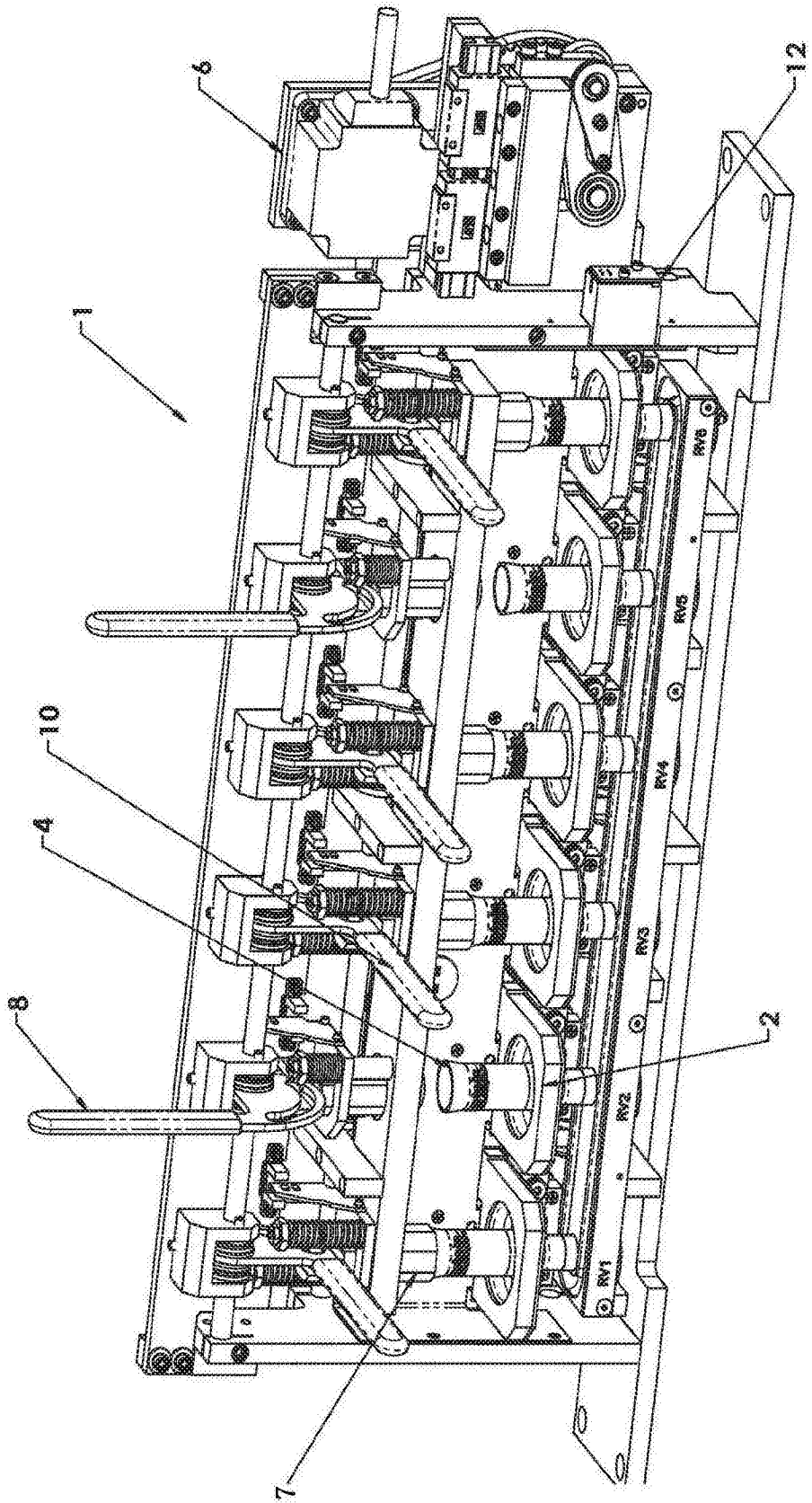


图1

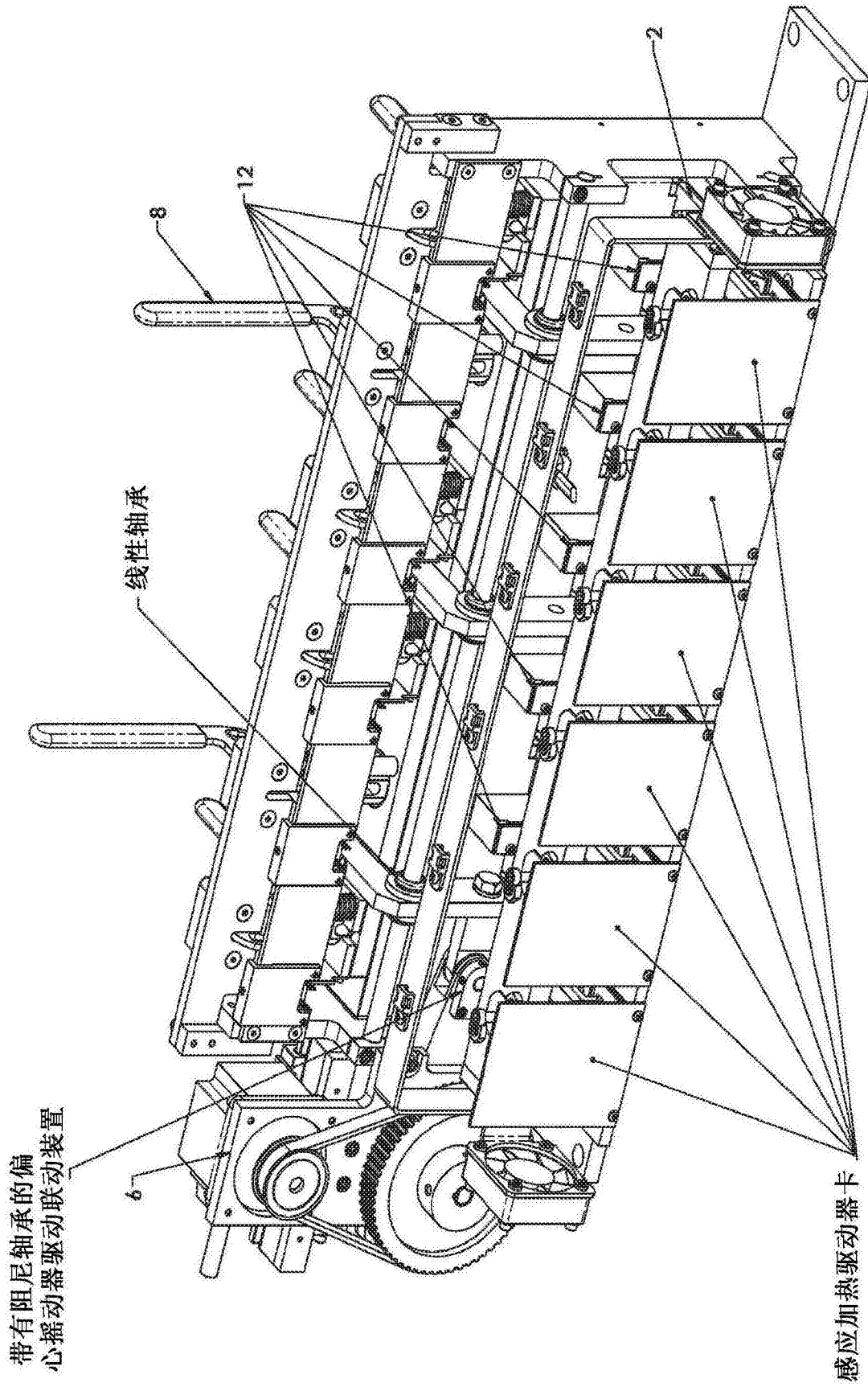


图2

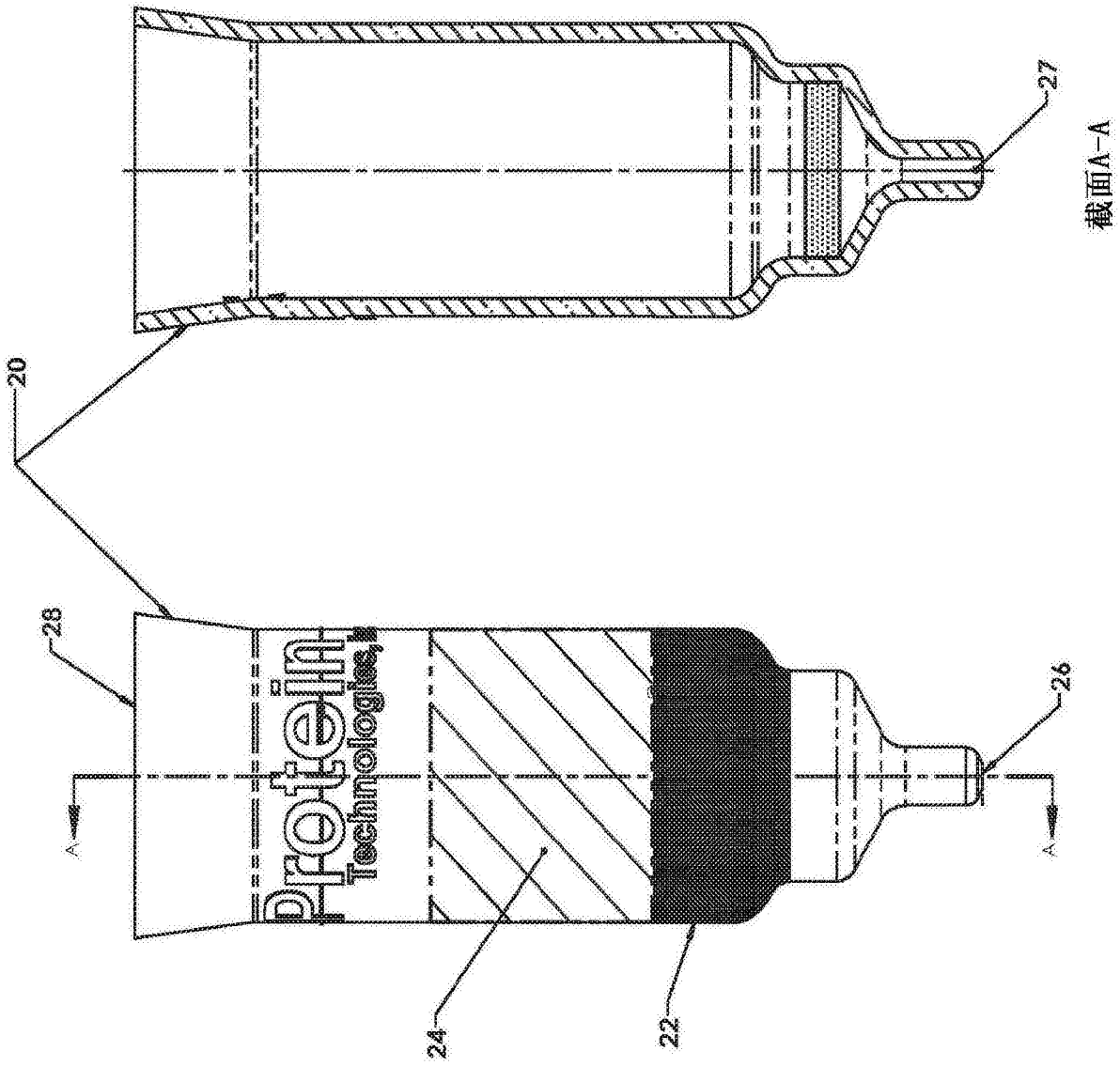


图3

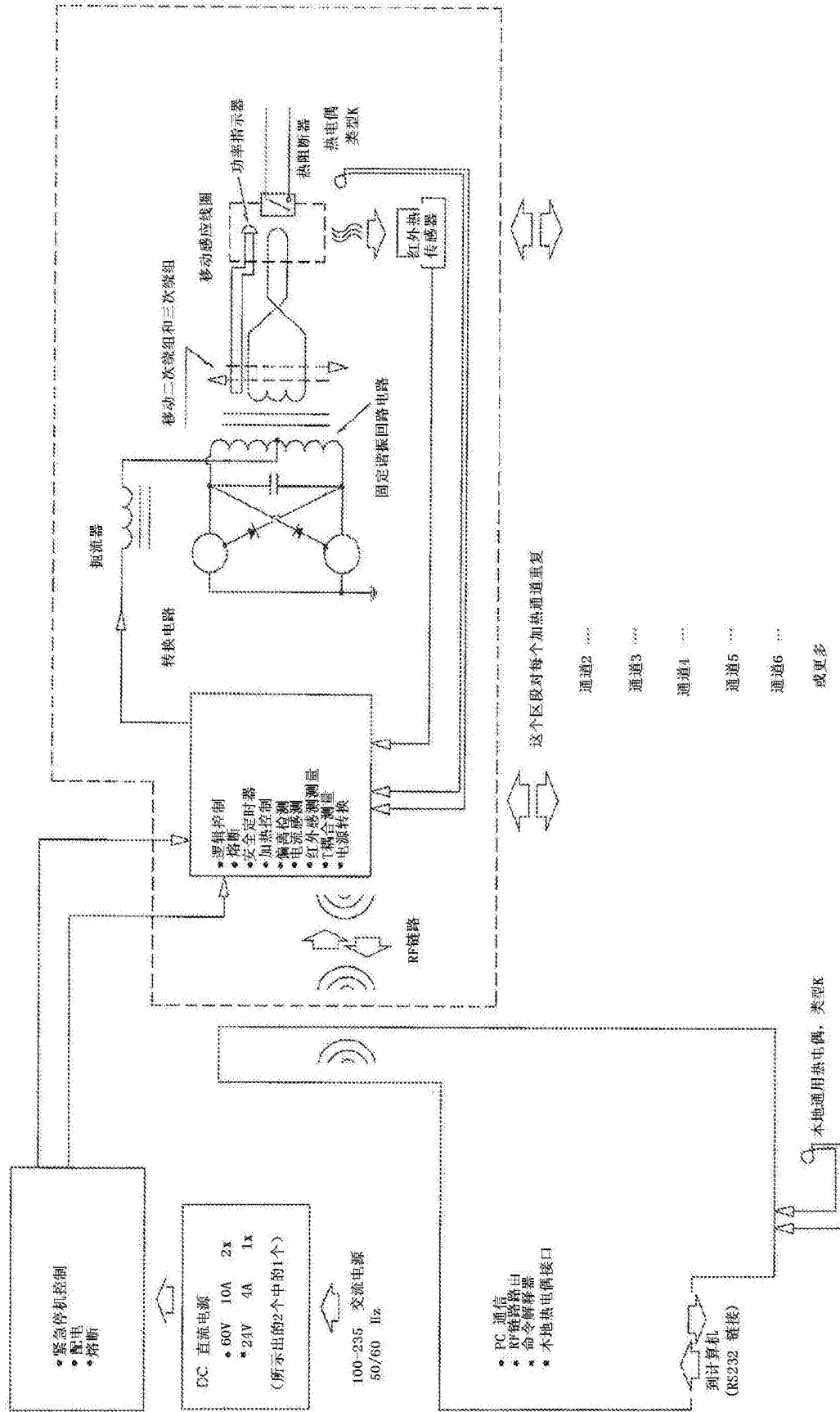


图4

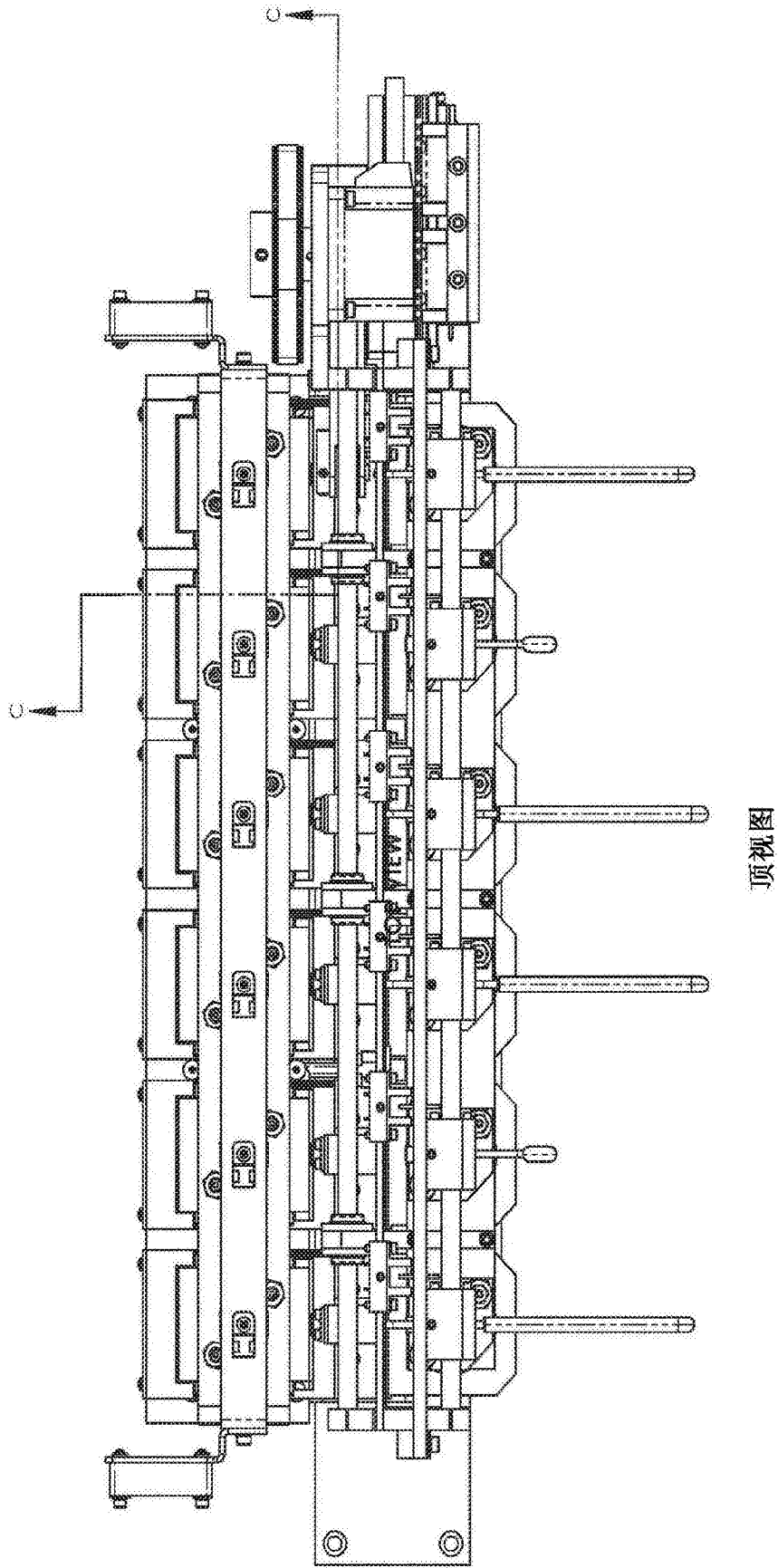
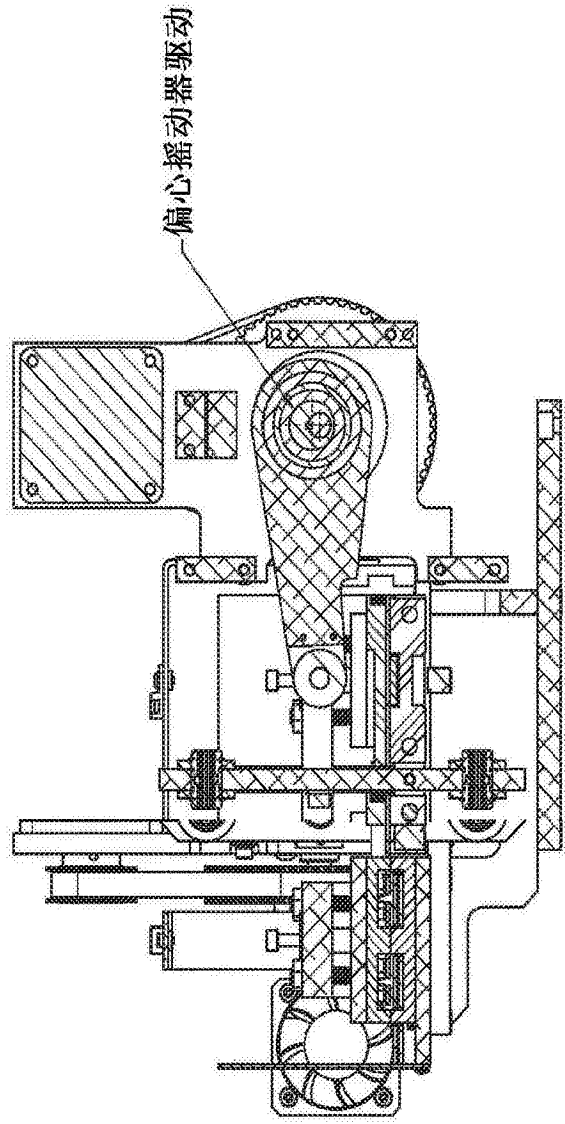


图5A



截面C-C
比例1:2

图5B

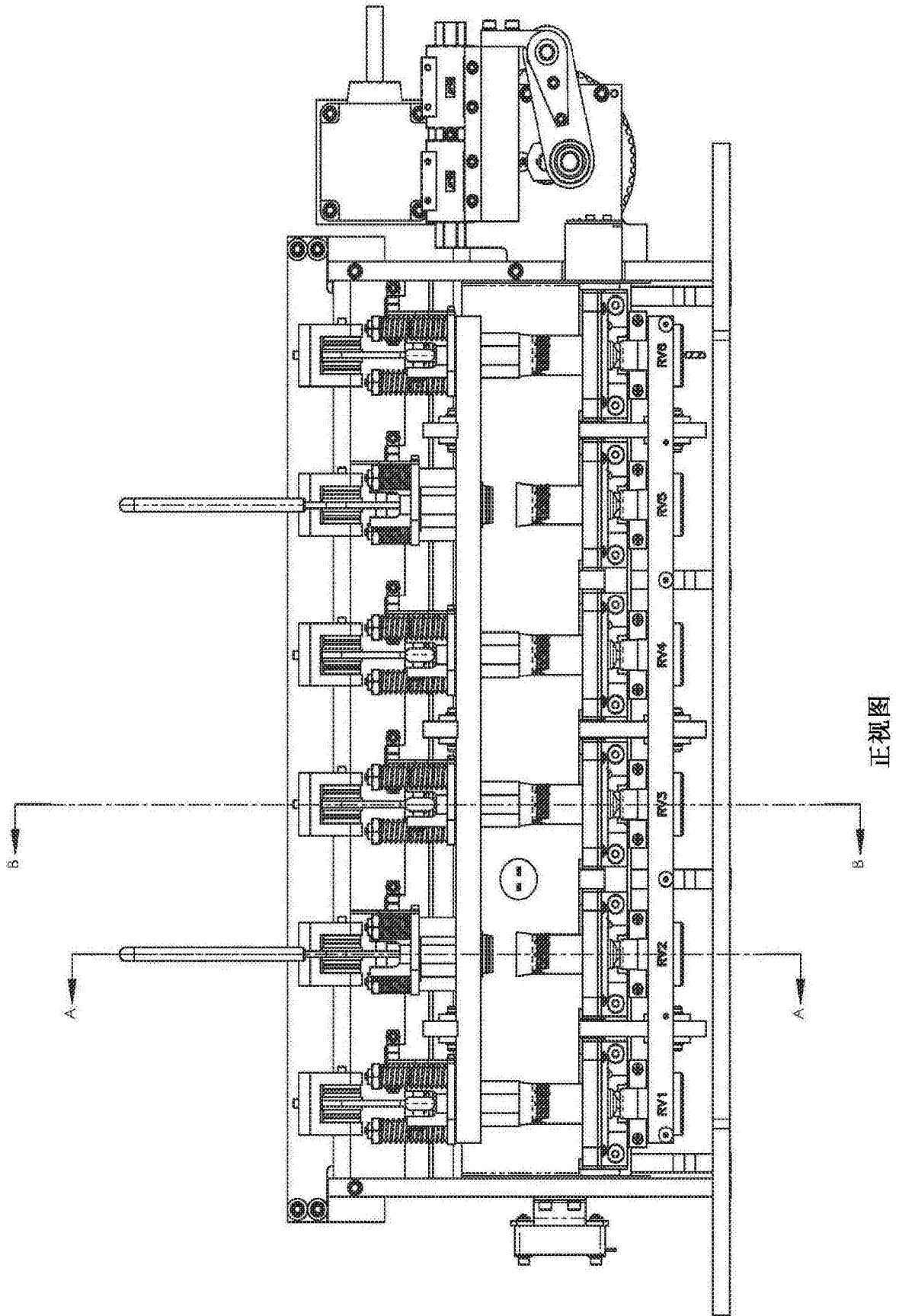


图5C

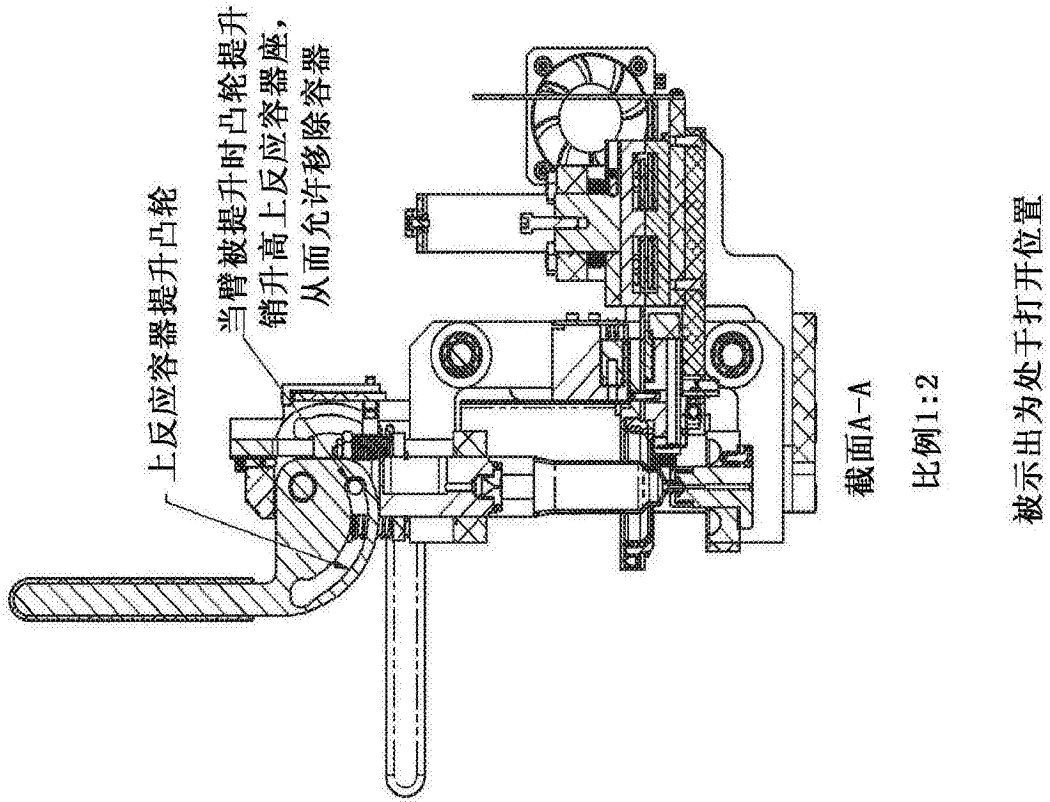
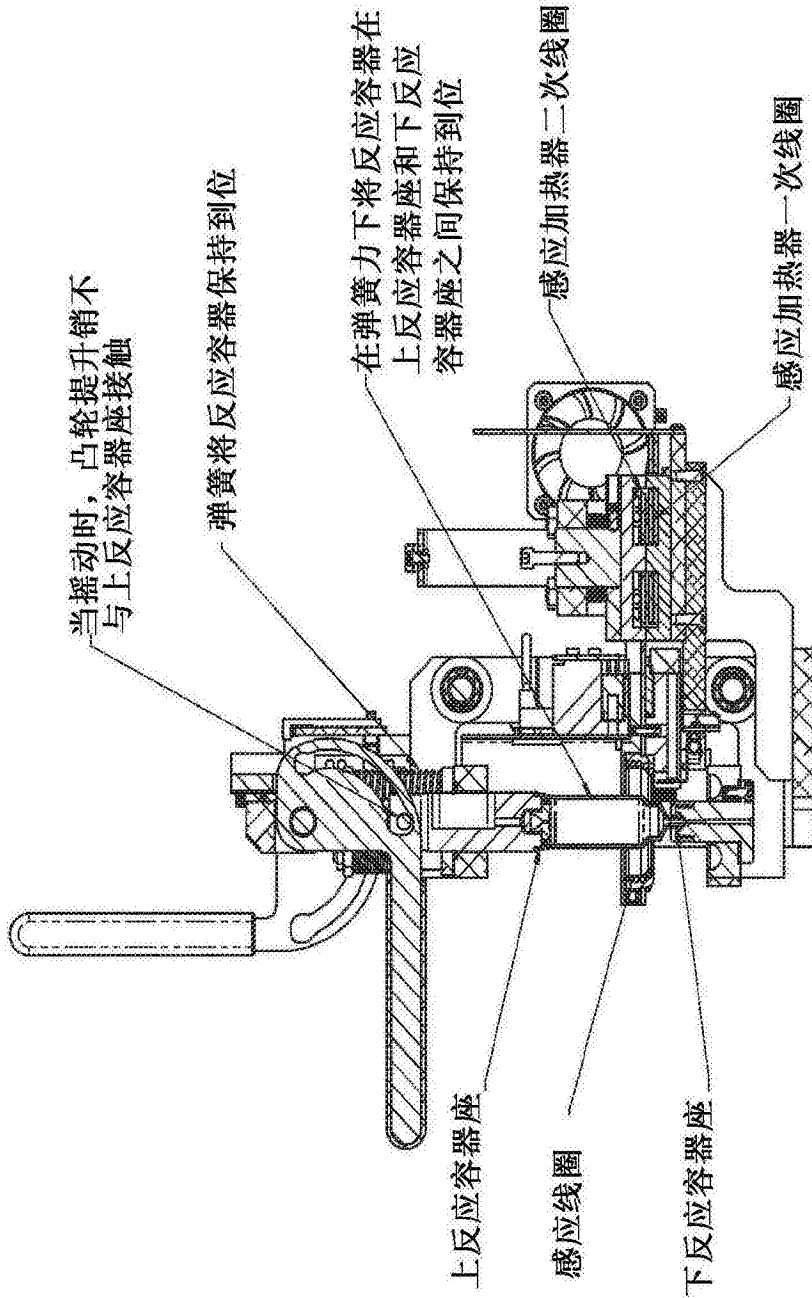


图5D



截面B-B
比例1:2

被示出为处于关闭位置

注意：当摇动时，上座、下座和二次感应线圈与反应器一起进行

图5E

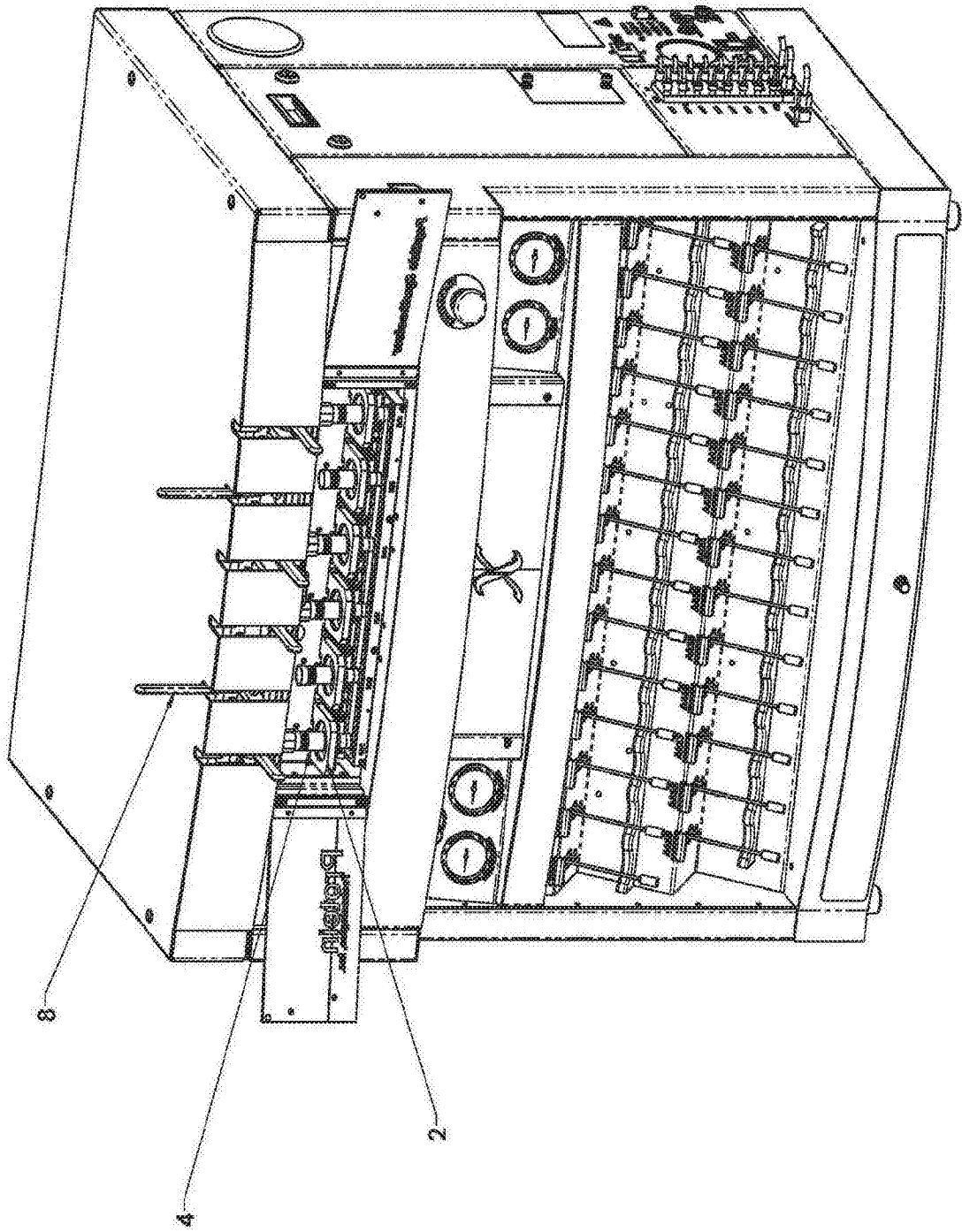


图6