

K I V O N A T

A találmány tárgya eljárás egyedi szilárd hordozók sokaságán végrehajtott reakciósorozatok reakció-történetének rögzítésére, ahol a reakciósorozat legalább két olyan lépésből áll, amely különböző ágenseket vagy különböző reakciókörülményeket foglal magában, és a fenti egyedi szilárd hordozók sokaságának különböző módosításait eredményezi, a különböző egyedi szilárd hordozókon nagyszámú különböző végterméket eredményez, amely eljárásban a fenti reakció-történet rögzítésére azonosítók kombinációját alkalmazzák, amely azonosítókra az jellemző, hogy meghatározzák a választott ágenszt vagy reakciókörülményeket és a reakciósorozaton belüli lépést, és a választás és a lépés szerinti elemzésre alkalmasak, oly módon, hogy a reakciósorozat első vagy köztes lépésében az egyedi szilárd hordozók minden csoportjában - amely csoport legalább egy egyedi szilárd hordozóból áll - különböző ágenszt használnak vagy a többi csoporttól különböző reakciókörülményt alkalmaznak, és azonosítók kombinációját használják, ahol az azonosítók kombinációja meghatározza az adott reakciósorozatban minden egyes egyedi szilárd hordozóra vonatkozóan a kiválasztott ágenszt és az adott lépést, az azonosítók mindegyike egyedileg, közvetlenül vagy közvetve, de nem egy korábbi azonosítón át kapcsolódik az egyedi szilárd hordozóhoz;

a fenti csoportokat egymással elegyítik, majd az egyedi szilárd hordozók sokaságát csoportok sokaságára osztják egy második köztitermék előállítására vagy a végtermék előállítására való felhasználáshoz, és

a fenti reagáltatást legalább még egyszer megismételik, így a különböző egyedi szilárd hordozókon különböző termékeket nyernek.

A találmány tárgyát képezik még a fenti eljárás révén nyert különböző termékek is, amelyek a hordozóról lehasítva vagy anélkül egy kívánt tulajdonság szerint ^{viszsgajelölés} ~~szkrin~~elhetők, és a kiválasztott részecskék előállításának reakció-története a címkék lehasítása és elemzése útján meghatározható.

...
...
...

...
...
...



Címkékkel kódolt komplex kombinatorikus kémiai könyvtárak

A találmány tárgyát a kombinatorikus kémia körébe tartozó olyan többlépcsős szintézisek képezik, amelyeknek minden lépésében számos különböző választási lehetőség áll fenn, s amelyek nagyszámú, különböző összetételű terméket eredményeznek.

Nagy érdeklődés mutatkozik olyan egyszerű szintézismódszerek kifejlesztése iránt, amelyek nagyszámú különböző molekulát eredményeznek, amelyek azután különféle lehetséges fiziológiai és egyéb aktivitásukra nézve vizsgálhatók (szkrínelhetők). Az ilyen szintézisek jellemzően egymást követő lépéseket tartalmaznak, melyeknek során az előző lépésben létrejött molekulát kémiai módon módosítják. E módosítás lehet egy egységnek, például egy monomer egységnek vagy szintonnak egy növekvő lánchoz való kapcsolása vagy egy funkciócsoport módosítása. Az olyan szintéziseknél, ahol a kémiai módosítás egy egység, például aminosavak, nukleotidok, cukrok, lipidek, illetve heterociklusos vegyületek kapcsolásában áll, ahol az egységek természetes eredetűek, szintetikusan előállítottak vagy ilyenek kombinációi, nagy számú vegyület hozható létre. Még akkor is nagy számú a választék, ha a szintézist a természetben előforduló egységekre vagy építő blokkokra korlátozzuk, hiszen így is 4 nukleotidot, 20 természetes aminosavat és lényegében megszámlálhatatlan cukormolekulát kell figyelembe vennünk.

Az ilyen, minden lépésben számos lehetőséget nyújtó szintézisek hátránya azonban, hogy a létrejövő sokfajta vegyület közül egy-egy csak igen kis mennyiségben van jelen. Míg egy adott vegyület jellegzetes fiziológiai aktivitása meghatározható, csaknem lehetetlen a molekula kémiai szerkezetének azonosítása.

Továbbá, eddig a fiziológiai hatást mutató vegyületeket általában nyers elegyek Edisoni vagy stochasztikus eljárásokkal való vizsgálatával fedezték fel, ahol egyszerre csak viszonylag csekély számú vegyületet teszteltek, vagy a

természetben előforduló fiziológiailag aktív vegyületek korlátozott számú, szerkezetileg hasonló homológját vizsgálták. Az ilyen nyers elegyek használata esetén két nagyobb nehézség jelentkezik, nevezetesen az egyes vegyületek tiszta formában való izolálása az elegyből, majd a tisztított vegyület szerkezetének időigényes meghatározása.

E hátrányok és problémák kiküszöbölésére számos megoldást fejlesztettek ki, melyeknek során szekvenciális kémiai szintézis keretében ellenőrzött, illetve véletlenszerű módon, lépésenként adagolják a különböző egyedi egységeket, hogy létrehozzák az adott szintézis egyes egymást követő lépéseinek különböző választási lehetőségeivel egyáltalán előállítható valamennyi molekulatípust vagy legalábbis azok nagy részét. E módszereknek sikerességükhöz azonban azt is lehetővé kell tenniük, hogy az érdeklődésre számot tartó molekulák hozzáférhetőek legyenek olyan módszerek számára, amelyekkel szerkezetük egyedileg is meghatározható.

Az egyik megoldás szerint [Fodor és munkatársai, *Science* **251**, 767 (1991)] egy lapkát alkalmaznak, amelyen fizikailag is elkülönített helyen végezhető el az egyes vegyületek analízise. Az egyes tartományokba egymást követően adagolt reagensek ismeretében az események lefolyása és így a reakciók száma feljegyezhető. A lapkát az adott kívánt jellemzőnek megfelelő szkrínelésnek alávetve, az adott jellemzőt mutató szegmensekben található molekulák szerkezete meghatározható.

Egy másik megoldás során a kívánt oligopeptidek szintézisével párhuzamosan, elméletileg szintetizálják a nekik megfelelő oligonukleotidokat is [Brenner és Lerner, *PNAS USA* **81**, 5381-5383 (1992)].

Az alábbi publikációkban további eljárásokat ismertetnek: Amoto, *Science* **257**, 330-331 (1992) a polipeptidekkel együtt szintetizált, a polipeptidek azonosítására szolgáló DNS címkék (label) alkalmazását ismerteti; Lam és munkatársai, *Nature* **354**, 82-84 (1991) módszert írnak le nagy peptid könyvtárak

szintézisére; Houghton és munkatársai [Nature 354, 84-86 (1991)] és Jung és Beck-Sickinger [Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 91, 367-383 (1992)] ugyancsak e témával foglalkoznak, Kerr és munkatársai [J. Amer. Chem. Soc., 115, 2529-31 (1993)] peptidláncokkal kódolt oligomer könyvtárak szintézisét írják le. Végül, a WO 91/17823 és WO 92/09300 számon közzétett PCT bejelentésekben kombinatórikai könyvtárakat ismertetnek.

A fent leírt módszerek azonban mind olyan esetekre vonatkoznak, amelyeknél szekvenciálisan adagolnak hasonló egységeket, bár igen fontos lenne módszerek kidolgozása olyan vegyületek előállítására is, amelyek nem korlátozódnak egymást követően adagolt hasonló egységekre. Ilyen módszerekkel lehetséges volna például szteroidok, antibiotikumok, cukrok, koenzimek, enzim-inhibitorok, ligandumok stb. módosítása, amely gyakran többlépéses szintézist jelent, ahol a reagensek és/vagy a reakciókörülmények gyakori változtatását kívánhatjuk meg, annak érdekében, hogy nagyszámú változatos molekulát nyerhessünk. Az ilyen reakciókban szerepelhetnek szerves vagy szervetlen reagensek, bevihetünk új funkciós csoportokat, illetve módosíthatjuk a meglévőket, oldallánc csoportok kapcsolhatók vagy eltávolíthatók, gyűrűk nyithatók vagy zárhatóak, a molekula sztereokémiája megváltoztatható, stb. [lásd például a Bunin és Ellman, JACS 114, 10997 (1992) szakirodalmi helyen]. Ahhoz, hogy egy ilyen módszer életképes legyen, természetesen megfelelő eljárás szükséges a különböző módosítások széles köréből keletkező nagyszámú molekula azonosítására. Módszert kell találni az egyes reakciók történetének rögzítésére. és célszerűen a keletkezett vegyületek szerkezetének azonosítására.

Végül, amint az ekként szintetizált vegyület könyvtárak mérete növekszik, a szerkezet felderítésére szolgáló ismert eljárások és termék elválasztási módszerek hatástalannak illetve bizonytalannak mutatkoznak, ami hátráltatja az érdeklődésre számot tartó azonosított molekulák szerkezetének pontos meghatározását. Ezért olyan új módszerekre van szükség, amelyek komplex

kombinatorikus kémiai könyvtárak szintézisét teszik lehetővé, ami könnyen megoldhatóvá teszi az érdeklődésre számot tartóként azonosított egyedi vegyületek pontos szerkezetének könyvtáron belüli meghatározását.

A fent leírt módszerek számos hátránya, valamint az általuk kielégítetlenül hagyott szükségletek vezettek az alább részletesen ismertetendő találmányhoz, amely az eddig leírt eljárásokhoz viszonyítva számtalan előnnyel bír.

A találmány tárgyát tehát olyan módszerek és kompozíciók képezik kódolt kombinatorikus könyvtárak létrehozására, amelyek a szintézis minden lépésében lehetővé teszik, hogy a hordozón, például egy részecskén végrehajtott szintéziseket egyedi "címkékkel" jelezzük a vegyület hordozón való szintetizálásával kapcsolatos egyedi - szokásosan kémiai - események meghatározására. A címkézés azonosító molekulák segítségével valósítható meg, amelyek jelzik azokat az egymást követő lépéseket, amelyeknek a hordozó részecske a szintézis során ki volt téve, és így a hordozón szintetizált vegyület reakció-történetét adják.

Az azonosító molekulák mindegyikére jellemző, hogy a szintézis körülményei között stabil; a szintézis során kötve marad a hordozóhoz; egyértelműen meghatároz egy a szintézis során lezajlott eseményt, ami a szintézis egy adott lépésében egy adott reakció megválasztását tükrözi, megkülönböztethető a vizsgálatban jelenlévő egyéb összetevőktől, és könnyen lehasítható róla a címke komponens, amely szokásos analitikai módszerekkel jól azonosítható.

A találmány szerinti azonosítók egymással kombinálva bináris vagy magasabbrendű rendszert alkothatnak, s így viszonylag csekély számú azonosítóval viszonylag nagy számú reakciótermék kódolása lehetséges. Bináris rendszer használata esetén például N db. azonosítóval akár 2^N különböző vegyület is kódolható.

Továbbá, a találmány szerinti azonosítókat nem kell sorozatban az előző azonosítóhoz kötni, hanem azok egyedileg, közvetlenül vagy a szintetizált végtermék-molekulák révén kapcsolódnak a szubsztráthoz.

Az azonosítók nem szekvenálhatók. Továbbá, az azonosítók egy lehasítható tagot vagy egységet tartalmaznak, ami egy könnyen elemezhető címke-komponens leválasztását teszi lehetővé.

Célszerűen a kombinatorikus szintézisekhez meghatározható szilárd hordozókat alkalmazunk, amelyeken a reakciók végbemennek, s amelyekhez az azonosítók kötődnek. A végterméket hordozó egyedi szilárd hordozók vagy szubsztrátok kívánt tulajdonság szerinti szkrínelésnek tehető ki, majd a kapcsolódó azonosító címkék segítségével meghatározható a reakciófolyamat.

A következőkben az ábrák rövid ismertetését adjuk.

Az 1. ábrán a 4 címke tömegspektroszkópiás elemzése látható. A 4. címkének megfelelően 2 jel észlelhető.

A 2. ábrán a 11 címke tömegspektrometriás elemzése látható. A 11 címkének megfelelően 3 jel észlelhető.

A 3. ábrán a 13 címke tömegspektroszkópiás elemzése látható. A 13. címkének megfelelően 2 jel észlelhető.

A 4. ábrán a 4., 11. és 13. címkék pozitív kémiai ionizációs tömegspektroszkópiás elemzése (PCIMS) látható az egyes címkék közel egyenlő mennyiségének elegyítésével. Könnyen megkülönböztethető az egyes külön címkék mindegyikének megfelelő 2-2 jel.

Az 5. ábrán csak a származékképzésnek ki nem tett d-7 minta MS és kromatográfiás vizsgálatának eredményei láthatók.

A 6. ábrán az MS és kromatogramok bemutatásával illusztráljuk a kromatografálás javulását a címkék származékképzése folytán, egy vegyes d-5 és d-7 mintát vizsgálunk.

A következőkben részletesen ismertetjük a találmányt.

A bejelentésben a "címke" vagy "T" jelölés olyan kémiai egységet jelent, amely két tulajdonsággal bír: egyrészt jól megkülönböztethető bármely más kémiai egységtől, másrészt 10^{-18} - 10^{-9} mól/l töménységben is jól detektálható. E két tulajdonságot egyetlen kémiai szerkezet is megvalósíthatja. Más megoldás szerint a két kívánt jellemző két külön, de egymással összekapcsolt szerkezeti részlethez is tartozhat. Ez utóbbi esetben a C-vel (vagy egynél több ilyen szerkezet esetén C, C', stb.-vel) jelölt szerkezeti részlet felelős a más címkéktől való megkülönböztethetőségért, míg a másik, E-vel jelölt kémiai szerkezet a detektálhatóságért, és adott esetben biztosítja a címkének a többi címkétől való elkülöníthetőségét.

A bejelentésben a "kapcsoló" vagy "L" jelölés olyan kémiai egységet jelent, amely az alábbi három tulajdonsággal rendelkezik: Először: egy szilárd hordozóhoz köthető. Másodszor: egy címkéhez köthető. Harmadszor: miután mindkettőhöz hozzákötődött, akként hasítható, hogy a címke elválasztható legyen a szilárd hordozótól. E három tulajdonság megvalósulhat egyetlen szerkezeti egységen, vagy - más módon - három egymással összekapcsolt kémiai szerkezetben is. Utóbbi esetben a kémiai szerkezetek egyike, például az F egység lehet felelős a kapcsolónak a szilárd hordozóhoz való kötődésért, a V jelű második kémiai szerkezet a kapcsoló lehasíthatóságáért, míg az A' jelű harmadik kémiai szerkezet a kapcsoló és a címke összekapcsolásáért. Kíváncos, hogy a V és A' kémiai szerkezetek egymással azonosak legyenek, ekkor ezt a V-A' szerkezeti részletet F²-vel jelölhetjük.

Az "azonosító" kifejezéssel egy címkét és kapcsolót is magában foglaló kémiai egységet jelölünk. Így a legáltalánosabban egy azonosító az L-T formulával jelölhető, míg az azonosító sajátos fajtái az alábbi jelölésekkel írhatók le: F¹-V-A'-T; F¹-V-A'-C-E (vagy F¹-V-A'-E-C); L-C-E (vagy L-E-C); és L-C-E-C'.

A bejelentésben a "kötött azonosító" kifejezés szilárd hordozóhoz kapcsolt azonosítót jelöl.

A "választék" kifejezéssel a kombinatorikus szintézis egy adott lépésénél szóba jöhető alternatív variációkat jelöljük, például a reaktánsokét, reagensekét, reakciókörülményekét, illetve ezek kombinációit. A "lépés" kifejezés a kombinatorikus szintézis kívánt végtermékéül szolgáló vegyület vagy ligandum szekvenciális szintézisének egy lépését jelenti.

Az "alkil" kifejezés egyenes, elágazó, vagy gyűrűs szerkezeteket és ezek kombinációit jelöl, így például metil-, etil-, propil-, izopropil-, butil-, szek- és terc-butil-, ciklopropil-, ciklobutil-, ciklopentil-, 2-metil-ciklopropil- és hasonló csoportokat. A "rövid szénláncú alkil" kifejezés 1 - 6 szénatomos alkilcsoportot jelöl. A "rövid szénláncú alkenil" kifejezés 2 - 6 szénatomos egyenes vagy elágazó láncú, gyűrűs vagy ezek kombinációjával jellemezhető szerkezetű alkenilcsoportot jelöl.

Ha más megjelölés nem szerepel, minden helyettesítő (például R^1 , R^2 , Z, stb.) jelentése a molekula egy adott helyén független a molekula más helyére vonatkozó definíciójától. Így $-NR^4R^4$ jelentése $-NHH$, $-NHCH_3$, $-NHCH_2CH_3$, $-N(CH_3)_2$, stb.

Az itt leírt vegyületek némelyike egy vagy több aszimmetria centrumot tartalmaz, így enantiomerek, diasztereoizomerek és más sztereoizomerek formájában fordulhat elő. A találmány ezen lehetséges sztereoizomerek mindegyikét, valamint racém és optikailag tiszta formáikat is felöleli. Optikailag aktív (R) és (S) izomerek előállíthatók királis szintonok és királis reagensek alkalmazásával vagy szokásos rezolválási eljárások alkalmazásával. Ha az itt szereplő vegyület kettőskötést tartalmaz, E és Z geometriai izomerjei is a találmány tartalmi körébe tartoznak.

Azokat az anyagokat, amelyeknek felületén a találmány szerinti kombinatorikus szintéziseket végrehajthatjuk, egymással felcserélhetően gyöngy, szilárd felület, (szilárd)szubsztrátum, részecske, hordozó, stb. kifejezésekkel jelöljük, amin az alábbiakat értjük:

- a) szilárd hordozók, például gyöngyök, szemcsék, lemezek, kapillárisok, üreges rostok, tűk, szilárd szálak, cellulózgyöngyök, porózus üveggyöngyök, szilikagélek, adott esetben divinil-benzollal térhálósított polisztirol-gyöngyök, ojtott kopolimer-gyöngyök, poliakrilamid-gyöngyök, latexgyöngyök, adott esetben N,N'-bisz(akriloil)-etilén-diaminnal térhálósított dimetil-akrilamid-gyöngyök, hidrofób polimerrel borított üvegrészecskék, stb. azaz olyan anyagok, amelyek merev vagy félmerev felülettel rendelkeznek; és
- b) oldható hordozók, mint például a keresztkötésekkel nem bíró kis molekula-tömegű polisztirol.

Ezen anyagoknak funkciós csoportokat kell tartalmazniuk, vagy funkciós csoportokkal elláthatóknak kell lenniük, hogy az azonosítók vagy a termék közti-termékei hozzájuk kapcsolhatók legyenek.

A leírásban használt rövidítések jelentése a következő:

AcOH	=	ecetsav
BSA	=	bisz(trimetil-szilil)-acetamid
CAN	=	cérium(IV)-ammónium-nitrát
DEAD	=	dietil-azo-dikarboxilát
DCM	=	diklór-metán
DIC	=	diizopropil-karbodiimid
DMF	=	N,N-dimetil-formamid
Fmoc	=	9-fluorenil-metoxi-karbonil
HOBt	=	1-hidroxi-benzotriazol
PhMe	=	toluol
szh.	=	szobahőmérséklet
TFA	=	trifluor-ecetsav
THF	=	tetrahidrofurán.

A találmány tárgyát olyan termék könyvtárak előállítása képezi, amelyeknél az egyes termékek, azaz vegyületek egymástól fizikailag elválaszthatók, és

a kívánt jellemzőre nézve akár a szilárd hordozóhoz kötötten, akár arról lehasítva szkrínélhetők. Sorozatszintézisekről lévén szó, ahol a szintézis minden egyes lépésében a köztermékeket igen sokféle módon kezelhetjük, nagyon nagy számú termék keletkezik, melyek mindegyike kis mennyiségben gyakran csak 100 pmól alatti, még többször 10 nmól alatti mennyiségben van jelen. Ezért az így előállított végtermékek azonosítása izolálást követő szerkezetmeghatározás útján általában nem lehetséges. Sőt, az olyan szekvenciális szintézisekben, amelyek nem hasonló egységek összekapcsolásából állnak, a jellemzően hozzáférhető végtermék mennyiség miatt az elemzés igen nehéz, ha ugyan nem lehetetlen. Ha azonban a sorozatszintézis minden választásához, vagy azok kombinációihoz (például "adjunk az elegyhez A reagenst", vagy "adjunk hozzá A reagenst, majd B reagenst, majd hevítsük 100 °C-ra két órán keresztül") hozzákapcsolunk egy azonosító kombinációt, amely meghatározza a választások, például reaktánsok, reagensek, reakciókörülmények vagy ezek kombinációi választékát, az azonosítókat használhatjuk minden meghatározható és elkülöníthető szubsztrát reakciótörténetének meghatározására. Az azonosítókról lehasított címkék elemzése lehetővé teszi a reakciófolyamat gyors meghatározását, még pikomoláris, vagy kisebb, akár femtomolárisnál alacsonyabb koncentrációk esetén is. Meghatározhatjuk egy szintézis termék jellemzőjét, szokásosan valamely kémiai vagy biológiai jellemzőjét, különböző szkrínelési módszerek segítségével, majd azonosíthatjuk a reakció történetét, és ebből meghatározhatjuk a kívánt tulajdonságokkal bíró termék szerkezetét a termékhez kötött címkék segítségével.

A fenti többszörös címkerendszer alkalmazásával elkerülhető a bonyolult együttes szintézis, amely csökkenti a kitermelést, és többszörös védőcsoportok alkalmazását teszi szükségessé, és nincs szükség szekvenálható címkék alkalmazására, amelyek kémiaiilag szükségképpen labilisak. A többszörös védőcsoport-alkalmazás kényszere és az összes ismert szekvenálható címke mole-

kula (például a nukleinsavak vagy peptid-oligomerek) belső instabilitása komolyan behatárolja a könyvtár elemeinél vagy ligandumainál felhasználható szintézis-kémiai lehetőségeket.

Továbbá, bináris vagy magasabb rendű, többszörös címkék alkalmazása nagymértékben lecsökkenti a szintézis bármely lépésében a reagens/reaktáns választék kódolásához szükséges címkék számát. Például, ha egy adott szintézis-lépésben 128 reagens-választási lehetőség van, a bináris rendszerben mindössze 7 címkére van szükség. Ez egy gyakorlatban alkalmazható és egy használhatatlan kódolórendszert különböztet meg, mivel a más rendszerek esetén szükséges nagy számú megkülönböztethető címke biztosítása és alkalmazása nem megoldható. A találmány szerinti bináris rendszer segítségével 30 megkülönböztethető címke áll rendelkezésre, ami elegendő több mint 10^9 különböző szintézis kódolására.

Igen fontos, hogy e módszernél a ligandumról vagy szilárd hordozóról lehasítható címkéket alkalmazunk a dekódolás céljából. A lehasíthatóság azt is lehetővé teszi, hogy a címkék többféle módon is megkülönböztethetők legyenek; közelebbről, elkülöníthetők (például kromatográfiás retenciós idő alapján), majd analizálhatók legyenek (például egy második tulajdonság vagy egy spektroszkópai jellemző, például tömegspektrum m/e vagy elektroforetikus mobilitás alapján). Az elkülönítés többféle alapon való lehetősége nagy mennyiségű információ kódolását teszi lehetővé csekély számú címkével.

A lehasítás azt is lehetővé teszi, hogy a címkéket már igen kis mennyiségben is észlelni lehessen, mivel a hordozó mátrixról illetve a szintetizált ligandumról való eltávolíthatóságuk kiküszöböli ez utóbbiak jelenlétét, ami a felesleges háttér jelek miatt zavaró (például fluoreszcenciát kioltó, stb.) hatású.

A lehasítható címkék alkalmazása lehetővé teszi az automatizált mintavevő rendszerekkel történő gyors analízist, valamint a funkciós csoportok detektálás céljára szolgáló szelektív funkcionális átalakítását, kiküszöbölve ezzel a

detektálásra szolgáló egység és a szintézis során alkalmazott reakciókörülmények közötti összeférhetetlenségeket.

Minden címkerendszernél alapvető követelmény, hogy a címkék és a bevitelükre szolgáló reakció kémiai jellemzői összeférhetőek legyenek a ligandum jellemzőivel és szintézisének lépéseivel, és viszont. A címkék előnye, hogy általában kevésbé reaktívak - mint ezt a helyettesített aril-oxi-polimetilén-származékok példáján alább bemutatjuk - így nagyobb számú kémiai átalakítás és kémiai funkcióképzés hajtható végre a ligandum szintézise során.

A találmány szerinti kémiailag stabil címkék további előnye, hogy gyors és kényelmes elválasztási és elemzési módszerek, mint például a gázkromatográfia, illetve a tömegspektroszkópia széles körével összeférhetőek. A találmány szerinti szerves címkék továbbá általában nem lépnek kölcsönhatásba a biológiai receptorokkal. Ezért a címkék általában nem szolgáltatnak hamis biológiai eredményeket, és általában az enzimek és egyéb biológiai molekulák nem módosítják őket.

Végül, a címkék kémiai stabilitása lehetővé teszi, hogy számos különböző lehasítási módszert alkalmazhassunk, ezzel is növelve a fent leírt elemzések érzékenységét.

A találmány módszereket és kompozíciókat ismertet olyan kombinatorikus szintézisek kódolására, amelyeknél minden szintézis-lépéshez egy vagy több azonosító kapcsolódik, amely a vegyület hordozón vagy részecskén végrehajtott szintézisének egy adott lépéséhez kötött eseményt kódol. Ez az esemény lehet egy reaktáns és/vagy reakciókörülmény kiválasztása az adott reakciólépésben, és minden ilyen lépésben szerepelhet egy vagy több azonos vagy különböző reaktáns, azonos vagy különböző reakciókörülmények között, például részreakciók, többszörös addíciók, addíciós arányok, különféle reagens kombinációk stb. Továbbá, a hordozó-részecskék egyes csoportjait a szekvenciális

szintézis folyamán bármikor elválaszthatjuk más csoportoktól, és eltérő kezelésnek vethetjük alá őket.

N darab azonosító esetén, amelyek mindegyikének M megkülönböztethető állapota van, M^N különböző szintézist lehet egyértelműen definiálni. $M = 2$ esetben, ahol a különböző állapotot az azonosító megléte vagy hiánya jelentheti, a szintézis 2-es alapon vagyis bináris kód alapján definiálható. $M = 3$ esetén, ahol a három állapotot például az azonosító két megkülönböztethető koncentrációja illetve a hiánya jelentheti, a szintézist 3-as alapú kód szerint lehet definiálni. A 2-nél nagyobb M értékeket magasabbrendű kódoknak nevezzük. Ezek előnye például a bináris kódokkal szemben, hogy kevesebb azonosító szükséges ahhoz, hogy a szintézisről ugyanannyi információt kapjunk. Az előállított termékek sorozatszintézisek eredményeként vannak meghatározva. Minden szintézis-lépésnél nagy számú reaktáns és/vagy reagens és/vagy körülmény áll rendelkezésre, ami a terméknek egy azonosítható és általában elkülöníthető egységhez, például címkéhez kapcsolódó tulajdonságában is jelentkeznek. Ami a reaktánsokat és a reagenseket illeti, a reaktánsok rendszerint beépülnek a végtermékbe - ilyenek például az aminosav, nukleotid, nukleofil, elektrofil, dién, alkilező vagy acilező ágens, diamín vagy bármely más szinton stb., míg a reagensek - például bázisok, savak, hő, oxidáló- vagy redukálószer - vagy beépülnek a végtermékbe vagy nem, a továbbiakban mindkettőt "ágens" néven említjük. A szintézisben részt vehetnek egyes egyedi reaktánsok, amelyek beépülnek a végtermékbe. Más módon, egy-egy szintézis-lépés egy vagy több reakcióból állhat, ami valamely köztitermék módosulását eredményezheti. Sokszor előfordul a fenti lehetőségek kombinációja.

2-es alapú vagy bináris kód ($M = 2$) és három azonosító ($N = 3$) használata esetén 8 (2^3) ágens kódolható egy szintézis egy adott lépésében. Ha az azonosítókat T1, T2, T3-mal, jelenlétüket vagy hiányukat pedig 0-val illetve 1-gyel jelöljük, a 8 ágens az alábbi táblázat szerint reprezentálható:

	1. ágens	2. ágens	3. ágens	4. ágens
T1, T2, T3	0, 0, 0	1, 0, 0	0, 1, 0	1, 1, 0
	5. ágens	6. ágens	7. ágens	8. ágens
T1, T2, T3	0, 0, 1	1, 0, 1	0, 1, 1	1, 1, 1

Több azonosítót használva hasonló módon még több információ kódolható a szintézisről. Például 9 azonosító ($N = 9$) és 2-es alapú kód ($M = 2$) esetén 512 (2^9) tagú ágens választék kódolható. 3-as alapú kód ($M = 3$) és három azonosító 27 (3^3) ágens kódolását engedi meg. Ha az azonosítókat T1, T2, T3-mal, hiányukat 0-val, 0,5 pmól/gyöngy koncentrációban való jelenlétüket 1-gyel, 1 pmól/gyöngy koncentrációjú jelenlétüket pedig 2-vel jelöljük, a 27 különböző ágens az alábbiak szerint reprezentálható:

	1. ágens	2. ágens	3. ágens	4. ágens
T1, T2, T3	0, 0, 0	1, 0, 0	2, 0, 0	0, 1, 0
	5. ágens	6. ágens		27. ágens
T1, T2, T3	1, 1, 0	2, 1, 0		2, 2, 2

A gyakorlatban az ilyen magasabbrendű kódrendszerek használata esetén célszerű a könyvtár minden egyes tagjához még egy további azonosítót is adni adott (például ≈ 1 pmól/gyöngy) mennyiségben, hogy ezt standardként használjuk fel a többi azonosító mennyiségének mérésénél. Az azonosítók mennyiségét gázkromatográfiás vagy HPLC eljárással határozhatjuk meg, különféle detektálási módszereket alkalmazva. HPLC alkalmazásakor a mennyiségek célszerűen szcintillációs számláló segítségével határozhatók meg, amennyiben radioaktívan (például tríciummal [^3H]) különböző mértékben jelzett azonosítókat alkalmazunk. Különösen előnyös a meghatározást a $^3\text{H} / ^{14}\text{C}$ arány mérésével végrehajtani, a ^{14}C -t használva standardként. Ekként akár a ^3H tízféle mennyisége is megkülönböztethető, így egy 10-es alapú - decimális - kódrendszer hozható lét-

re ($M = 10$), amelynek segítségével hatalmas mennyiségű információ kódolható csekély számú azonosító segítségével.

Termékek és szintézis stratégiák

A találmány szerinti eljárás termékeinek többsége szerves vegyület, amelyek előállításánál a sorozat szintézis, kémiai egységek beépítését vagy eltávolítását, egy vagy több funkciós csoport módosítását vagy bevitelét, gyűrű felnyitását, gyűrűzárást stb. foglalja magában. A kémiai egységek sokféle formájúak lehetnek, akár természetben előfordulóak, akár szintetikus úton előállítottak, például nukleofilek, elektrofilek, diének, alkilező- vagy acilezőszerek, diaminek, nukleotidok, aminosavak, cukrok, lipidek vagy ezek származékai, szerves monomerek, szintonok, valamint az előbbiek kombinációi. Más megközelítés szerint, olyan reakciók vehetnek részt a szintézisben, amelyek alkilezést, acilezést, nitrálást, halogénezést, oxidálást, redukálást, hidrolízist, szubsztitúciót, eliminációt, addíciót és hasonló átalakításokat eredményeznek. Ezek az eljárások rendkívül kis mennyiségű nem-oligomer, oligomer vagy ezek kombinációjaként létrejövő termékeket eredményeznek, ahol a reakció története és a termékek összetétele megfelelő esetekben a jelenlevő címkék révén határozható meg. A nem-oligomerek körébe a szerves molekulák széles köre tartozik, például heterogyűrűs, aromás, aliciklusos, alifás vegyületek, valamint ezek kombinációi, amelyek körébe szteroidok, antibiotikumok, enzim-inhibitorok, ligandumok, hormonok, drogok, alkaloidok, opioidok, terpének, porfirinek, toxinok, katalizátorok valamint ezek kombináció tartoznak. Az oligomerek körébe oligopeptidok, oligonukleotidok, oligoszacharidok, polilipidek, poliészterek, poliamidok, poliuretánok, polikarbamidok, poliéterek, poli(foszforszármazékok), például foszfátok, foszfonátok, foszforamidok, foszfonamidok, foszfitok, foszfinamidok és hasonlóak, poli(kénszármazékok), például szulfonok, szulfonátok, szulfitok, szulfonamidok, szulfénamidok, stb. tartoznak, ahol a

foszfor- és kénszármazékok esetén a megjelölt heteroatom többnyire C, H, N, O vagy S atomhoz kapcsolódik, valamint ezen vegyületek kombinációi.

A reakciók lehetnek módosítások egy központi molekulamag-szerkezet véletlenszerű helyein vagy egy adott helyen végrehajtott módosítások. Például egy policiklusos vegyület brómozható oly módon, hogy a brómozás több helyen valósul meg, vagy alkalmazható olyan brómozószer, amely fajlagos egy adott helyre, például az N-bróm-szukcinimid. Az esetek többségében a reakciók egyetlen helyre vagy ekvivalens helyekre irányulnak, például egy glikol egy vagy két hidroxilcsoportjára.

A találmány szerinti szintézis többnyire legalább két lépést foglal magában, ahol bifunkciótól eltérő vegyületeket kapcsolunk azonos kapcsoló funkció alkalmazásával, például aminosavakat és amid-kötéseket, nukleotidokat és foszfát-észter-kötéseket, vagy ezek mimetikus vegyületeit, például aminos-izocianátokat és karbamido-kötéseket.

A találmány szerinti eljárás a reakció minden lépésében variációs lehetőséget enged az ágensek és az alkalmazott körülmények megválasztásától függően. Így például aminosavak esetén számításba jöhet a 20 természetes aminosav, de egy jóval szélesebb választék áll rendelkezésre, ha más aminosavakat is alkalmazunk, például D-aminosavakat, vagy az α -helyzettől eltérő helyen álló aminocsoporttal bíró aminosavakat, az oldalláncon különböző helyettesítőket hordozó aminosavakat, vagy az aminocsoporton helyettesített aminosavakat és hasonlókat. A különböző nukleinsavak tekintetében általában a DNS-t vagy RNS-t felépítő 4 természetes nukleinsavat vesszük figyelembe, de jóval nagyobb számú nukleinsav áll rendelkezésre, ha nem ezeket a sajátos nukleinsavakat alkalmazzuk. Cukrok és lipidek esetén rendkívül nagyszámú különféle vegyület áll rendelkezésre, amelyek száma tovább növelhető különböző helyettesítők bevitelével, az ilyen vegyületek mindegyike alkalmazható a szintézisben. Az egyes szerves vegyületek választéka csillagászatian nagy számú. Ezen kí-

vül számításba vehetők a mimetikus analógok, ahol a peptidkötéseket karbamidok, uretánok, karbonil-metilén-csoportok és hasonlóak helyettesíthetik, a foszfátkötéseket különféle szerves és szervetlen csoportok helyettesíthetik, míg az éter kötésű oxigén helyére nitrogén- vagy kénkötések vihetők, vagy viszont.

A szintézis stratégia az előállítani kívánt termékek körének természetétől függően változó. Így a stratégia kialakításánál figyelembe kell venni a termék jellege lépésenkénti változtatásának lehetőségét, lehetővé téve emellett az előző lépések eredményeinek megőrzését és a következő lépésekben felmerülő kívánalmak előrevetítését. Ha a különböző egységek azonos vegyületcsoportba tartoznak, mint például a nukleotidok, aminosavak és cukrok, a szintézis stratégiai viszonylag jól kidolgozottak, gyakran szokásos kémiai megoldások alkalmazhatók. Így például nukleotidoknál foszforamidit vagy foszfit alkalmazásánál szokásos kémiai megoldások használhatók, oligopeptideknél, ha szokásos védőcsoportokat alkalmazunk, az Fmoc vagy Boc alkalmazásánál használatos kémiai módszerek használhatók, cukrok esetén a stratégia kevésbé szokásos, de poliszacharidok szintézisére nagyszámú védőcsoport alkalmazását, reakcióképes funkciós csoportokat és körülményeket dolgoztak ki. A kémia más területein az egyedi egység természetének figyelembevételével ismert szintézis-lehetőségek állnak rendelkezésre, vagy ezeket megfelelő módon ki kell fejleszteni.

Bizonyos esetekben szükséges lehet azonos vagy különböző blokkok bevitele azonos vagy különböző lépésekben. Például szükséges lehet, hogy egy szokásos peptid funkciós egységet, például egy fibronektint kötő egységet (RGDS), egy poliszacharidot, például Le^x , egy szerves csoportot, például egy laktámot, laktont, benzolgyűrűt, olefint, glikolt, tioétert, stb. vigyünk be a szintézis során. Ily módon olyan molekuláris környezet alakítható ki, amelyben a változtatás létrehozható. Előadódhat, hogy ilyen helyzet csak néhány, nagy számú választást lehetővé tevő lépésben áll fenn, ahol a termékek nagy száma állítha-

tó elő az adott funkciós egységre vonatkoztatva. Ez különös jelentőséggel bírhat akkor, ha egy érdeklődésre számot tartó jellemzővel bíró molekulamagból vagy egységből nagy számú származékot kívánunk előállítani.

A szintézis stratégiák kifejlesztésénél lehetőség van arra, hogy a kombinatorikus szintézis folyamán lehetségesen képződő termékek közül csak néhány vegyületet állítsunk elő. Szélsőséges példát véve, egy olyan szintézis során, amelyben szterikus gátlás, töltés és/vagy dipólus kölcsönhatások, alternatív reakcióutak és hasonlók fordulnak elő, a reakció körülményeit úgy optimalizálhatjuk, hogy az egyébként nem képződő vagy csak igen kis hozammal képződő vegyületek hozama megnövekedjen. Ily módon a kombinatorikus szintézis során különféle reakciókörülményeket valósíthatunk meg, beleértve ebbe az oldószerek, az alkalmazott hőmérséklet, időtartam, koncentrációk és hasonló tényezők különbözőségét. Továbbá, alkalmazhatjuk úgy a szintézis eljárást, hogy az adott termékből jóval nagyobb koncentrációt nyerjünk, mint a kombinatorikus szintézisnél, hogy elvégezhessük a vegyületek aktivitásának jellemzésére vonatkozó vizsgálatokat.

Hordozók: Kapcsolás és lehasítás

A szintézis lefolytatása szükségessé teszi, hogy nagy számú különböző reakciót folytassunk le, beleértve ebbe különböző reaktánsok alkalmazását, minnek eredményeként a szintézis minden lépésében igen nagy számú különböző köztiterméket nyerünk. Bár más lehetséges eljárások is léteznek, a fenti célt legcélszerűbben úgy érjük el, hogy kicsiny, meghatározható szilárd szubsztrátokat alkalmazunk, amelyek a kereskedelmi forgalomban gyöngyök formájában szerezhetők be, és amelyek gyorsan elegyíthetők, elválaszthatók és a szekvenciális szintézisek szilárd szubsztrátjaiként szolgálnak. A szilárd szubsztrátok lehetnek szilárdak, pórusosak, deformálhatóak vagy kemények, és bármely célszerű szerkezetet és alakot ölthetnek. Egyes esetekben hasznosak lehetnek a mágneses vagy fluoreszcens gyöngyök. A gyöngyök általában leg-

alább 10 - 2000 μm , szokásosan legalább 20 - 500 μm , még szokásosabban legalább 50 - 250 μm átmérőjűek.

Részecskék vagy gyöngyök céljára bármely alkalmas kompozíció használható, amely kompozíció gyöngyként megtartja mechanikai integritását az eljárás különböző lépései során, amelyre funkciós csoportok vihetők fel, funkciós csoportokkal bír vagy aktív anyagokkal való reagáltatással funkciós csoportokkal ellátható, felületén sorozatszintézisek végrehajthatók és azonosítók kapcsolhatók rá, könnyen elegyíthető és elválasztható, és a címék és termékek megfelelő lehasítását lehetővé teszi. Az alkalmas gyöngyök körébe tartoznak a cellulózgyöngyök, a szabályozott pórusméretű üveggyöngyök, szilika-gélgyöngyök, polisztirolgyöngyök, különösen a divinil-benzollal kialakított keresztkötéssel bíró polisztirol-gyöngyök, ojtott kopolimer gyöngyök, például polietilén-glikol/polisztirol gyöngyök, poliakrilamid-gyöngyök, latexgyöngyök, dimetil-akrilamid-gyöngyök, különösen N,N'-bisz(akrilóil)-etilén-diaminnal keresztkötéssé tett, N-(terc-butoxi)-karbonil- β -alanil-N'-akrilóil-hexametilén-diamin gyöngyök, kompozitok, mint például hidrofób polimerrel, például lineáris polisztirollal ojtott keresztkötéses polisztirollal vagy fluorozott etilén polimerrel bevont üvegrészecskék és hasonlóak. A szilárd hordozók (részecskék) általános áttekintése, amely magában foglalja a kovalensen kötött reakcióképes funkciós csoportokat is, megtalálható az Atherton és munkatársai, *Prospectives in Peptide Chemistry*, Karger, 101-117 (1981); Amamath és munkatársai, *Chem. Rev.* 77, 183-217 (1977); és Fridkin, *The Peptides*, 2. kötet, 3. fejezet, Academic Press, Inc., (1979), 333-363. oldal szakirodalmi helyeken.

A szintézis eljárás természetétől vagy a végtermék vizsgálati módjától függően a gyöngyök egyike vagy másika többé vagy kevésbé megfelelő. Ugyan a gyöngyök különösen kényelmesek, más szilárd hordozók is használhatók, például kapillárisok, üreges rostok, tűk, szilárd szálak, stb., ha a szilárd hordozó mérete lehetővé teszi a reakció-történet kívánt változatosságát. A szintézis ter-

mészetétől függően a gyöngyök különféle módokon funkciós csoportokkal elláthatók (funkcionalizálhatók), hogy a kiindulási reaktánsok rájuk kapcsolhatók legyenek. A kapcsolás történhet nem-labilis kötéssel, például észter-, amid-, amin- vagy éterkötéssel vagy kén-, szilícium- vagy szénatomon át történő kötéssel, attól függően, hogy el kívánjuk-e távolítani a terméket a gyöngyről. Célszerűen a gyöngyhez való kötés állandó, de a gyöngy és a termék között egy olyan kapcsolóegységet hozhatunk létre, amely hasítható, amint azt az 1. táblázatban bemutatjuk. A címkék és/vagy termékek különböző mértékű elengedésének biztosítására két vagy több különböző kötést alkalmazhatunk.

A részecskéhez kötött kapcsolóegység természetétől függően a gyöngyön nem minden esetben szükséges reakcióképes funkciós csoport jelenléte akkor, ha a kapcsolás módja egyszeres vagy kettőskötésekbe való beillesztést tesz lehetővé, amint az például a karbénknél és nitrénknél vagy más, igen reakcióképes egységeknél fennáll. Ebben az esetben a hasítható kötés abban a kapcsolóegységben van jelen, amely a címkét a gyöngyhez köti.

Ha a termék a gyöngyhez permanensen kötött, célszerűen a gyöngyhez való kapcsolást megnyújtjuk, hogy a gyöngy a szkrínelés során ne kerüljön térbeli összeütközésbe a termék kötésével. Különböző kapcsolóegységeket alkalmazhatunk, különösen hidrophil kapcsolóegységeket, például poli(etilén-oxid)-ot, szacharidot, poliolt, észtereket, amidokat, ezek kombinációit és hasonlókat.

A gyöngyön lévő funkciós csoportok lehetnek például hidroxil-, karboxil-, imino-halogenid-, amino- és tiocsoportok, aktív halogének (klór vagy bróm) vagy pszeudohalogének (például $-CF_3$, $-CN$, stb.) , karbonil-, szilil- és tozilcsoport, mezilátok, brozilátok, triflátok és hasonlóak. A funkciós csoportok megválasztásakor figyelemmel kell lenni arra a tényre, hogy az azonosítók szokásosan ugyancsak a gyöngyhez kötődnek. A megfontolás tárgyát képezi, hogy a terméket és az azonosítót azonos vagy különböző funkciós csoportok révén kell-e kapcsolni, valamint az, hogy a két funkciós csoport megfelelően kompatibilis le-

gyen a termék vagy az azonosító kapcsolási és címke lehasítási lépésével. A termék kapcsolására különböző kapcsolóegységek használhatók annak érdekében, hogy a termék szelektíven szabadabbá váljon. Egyes esetekben a részeske bírhat védett funkciós csoportokkal, amelyekről az egyes lépéseket megelőzően részben vagy teljesen eltávolítjuk a védőcsoportokat, és az utóbbi esetben újra védjük. Például egy aminocsoport ellátható benzil-oxi-karbonil védőcsoporttal, mint a polipeptid-szintézisnél, a hidroxilcsoport benzil-éterrel védhető, stb.

Ha a terméket le kívánjuk hasítani, számos funkciós csoportot és reaktánst használhatunk. Célszerűen étereket alkalmazhatunk, és a helyettesített benzil-étert vagy származékait, például benzhidril-étert, indanil-étert, stb. savas vagy enyhén redukzív körülmények mellett lehasíthatjuk. Más megoldás szerint alkalmazhatunk β -eliminációs reakciót is, ebben az esetben egy gyenge bázis szolgálhat a termék szabadabbá tételére. Az acetálok, köztük tio-analógjaik is alkalmazhatók, ezek lehasítását enyhén savas közegben végezzük, különösen egy karbonil-befogó-vegyület jelenlétében. Formaldehid, HCl és egy alkoholos egység kombinálásával egy α -klór-éter keletkezik. Ez azután a gyöngyön lévő hidroxil funkciós csoporttal kapcsolódva acetált képez. Használhatók különféle fotolabilis kapcsolóegységek is, például o-nitro-benzil-, 7-nitro-indanil-, 2-nitro-benzhidril-éterek vagy észterek, stb. Észterek és amidok szolgálhatnak kapcsolóegységként, ha félésztereket vagy amidokat állítunk elő, így különösen gyűrűs anhidridek esetén, ahol a gyöngyön lévő hidroxil- vagy aminocsoportokat például karbodiimid alkalmazásával reagáltatjuk. Peptideket alkalmazhatunk kapcsolóegységekként, ha a szekvenciát enzim hidrolízisnek tesszük ki, különösen olyan hidrolízisnek, amelynél az enzim felismer egy specifikus szekvenciát. Karbonátok és karbamátok karbonsavszármazékok, például foszgén, karbonil-diimidazol, stb. és egy gyenge bázis alkalmazásával állíthatók elő. A kötés savval, bázissal vagy erős redukálószerrel, például LiAlH_4 alkalmazásával ha-

sítható, különösen karbonát-észterek esetén. A hasítható kötések felsorolása például a Greene és Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, második kiadás, Wiley, 1991. szakirodalmi helyen található. A különféle kifejlesztett rendszerek variálhatósága a termékek és azonosítók kapcsolásának és a termékek és címkék differenciált lehasításának kívánt változatosságát lehetővé teszi.

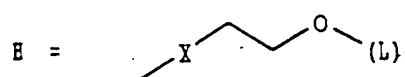
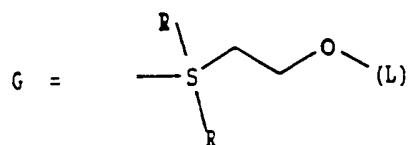
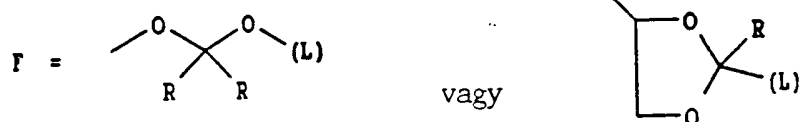
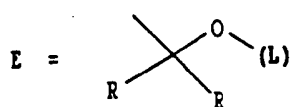
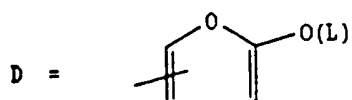
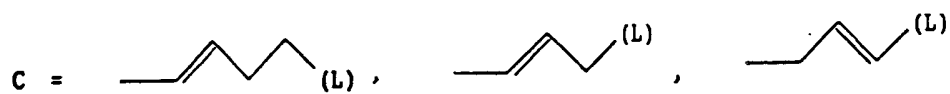
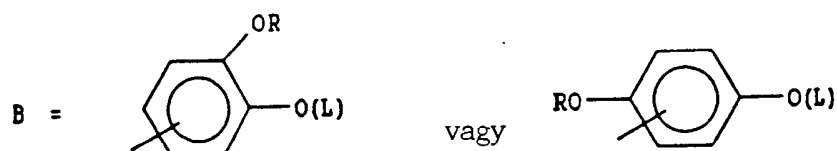
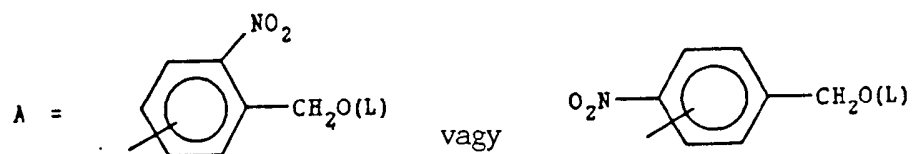
A következő táblázatban különféle kapcsolóegységeket [azaz az (I) képlet F^2 jelölésű egységét], valamint lehasíthatóságuk módját mutatjuk be.

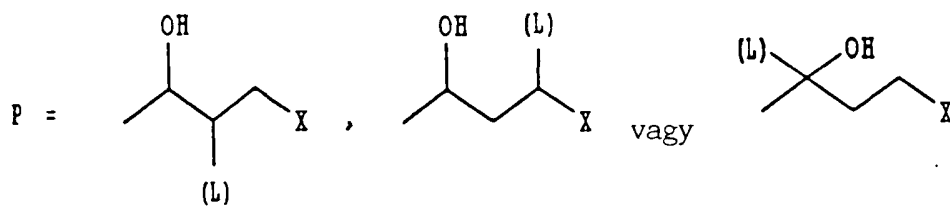
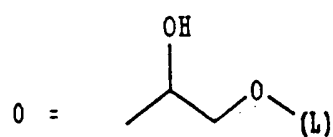
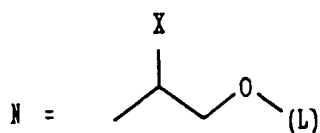
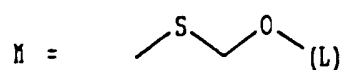
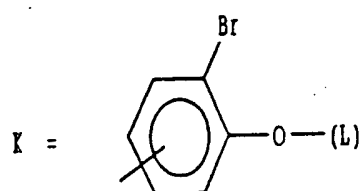
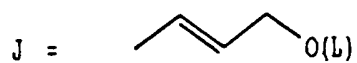
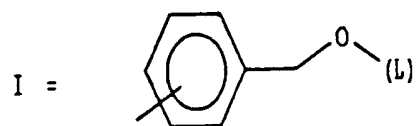
1. Táblázat

Különböző kapcsolóegységek és lehasításuk módja

Kapcsolóegység	Hasító reagens
szilil	fluorid vagy sav
A	hv
B	$Ce(NH_4)_2(NO_3)_6$
$-NCO_2(L)^*$	OH^- , H^+ vagy $LiAlH_4$
C	O_3 , OsO_4/IO_4^- vagy $KMnO_4$
D	1) O_2 vagy Br_2 , MeOH 2) H_3O^+
$-Si-(L)$	oxidáció, H^+ , Br_2 , Cl_2 , stb.
E	H_3O^+
F	H_3O^+
G	F^- vagy H^+
H x = keto, észter, amid, NO_2 , szulfid, szulfoxid, szulfon és más elektronszívó csoportok	bázis, OH^-
I	H_3O^+ vagy redukció (például Li/NH_3)
J	$(\phi P)_3RhCl(H)$
K	Li, Mg vagy BuLi
M	Hg^{+2}
N x = halogén vagy pszeudohalogén	Zn vagy Mg
O	oxidáció (például $Pb(OAc)_4$ vagy H_5IO_6)
P x = elektronszívó csoport	bázis

* Az (L) jelölés a termék illetve címke kapcsolódási helyét mutatja.





Az előbbi képletekben (L) jelentése a címke vagy termék, amely a megjelölt atomhoz közvetlenül kapcsolódhat, vagy közvetetten kötődhet egy kapcsolóegységen, például egy -C(O)O- egységen át, amely kapcsolóegység egy célszerű funkciós csoporttal bírhat.

R jelentése hidrogénatom vagy rövid szénláncú alkilcsoport.

Kapcsolóegység

A ligandum kötésére szolgáló kapcsolóegység megválasztása a szintézis stratégia része, mivel a kapcsolóegység a terméken egy maradék funkciós csoportot eredményezhet. Lehetőség van arra is, hogy a terméket a gyöngyről való lehasítást követően tovább módosítsuk. A szintézis stratégia megtervezésénél a terméken megőrzendő funkciós csoportokat a kapcsolóegységek kapcsolási pontjaiként alkalmazhatjuk. Más módon, ha a termék természete megengedi, alkalmazhatunk olyan hasítási vagy leválasztási eljárásokat, amelyek a kapcsoló funkciós csoportot eltávolítják, például egy aril-tio-éter vagy szilil csoport eltávolítására fém-hidridet vagy savat alkalmazhatunk. Mivel a szintézis stratégia számos esetben magában foglalhat egy a kapcsolásra szolgáló funkciós csoporttal bíró helyet, a kapcsolóegység megválasztásánál előnyös lehet a funkciós csoport. Egyes esetekben kívánatos lehet, hogy a terméknek a hordozóhoz való kapcsolási helyén különböző funkciós csoportok legyenek jelen, ez szükségessé teheti különféle kapcsolási módok alkalmazását, ezeknek a kapcsolási módoknak azonos vagy különböző lehasítási módokkal leválaszthatóknak kell lenniük, a leválasztást végezhetjük egyidejűleg vagy egymást követően, például fénnyel való besugárzással és savas hidrolízissel.

Az azonosítóknak a részecskékhez való kötése tekintetében különös érdeklődésre tarthatnak számot a karbénok és a nitrénok, amelyek egy szénatom és egy hidrogénatom közé beépülve kovalens kötést képeznek, olefines kötésbe beépülve ciklopropángyűrűt (karbénok esetén) vagy aziridingyűrűt (nitrénok esetén) képeznek.

A karbén vagy nitrén kapcsolóegységekkel különböző helyettesített benzo-
lok alkalmazhatók, ahol a benzol karbének vagy nitrének képzésére alkalmas
csoporttal bír, előbbiek esetére példaként említjük a $-\text{CHN}_2$, $-\text{COCHN}_2$,
 $-\text{SO}_2\text{CHN}_2$ csoportokat, utóbbiakéra az $-\text{N}_3$, $-\text{NO}_2$, $-\text{NO}$, $-\text{SO}_2\text{N}_3$ csoportokat. A
karbének előállíthatók diazoalkánszármazékokból fotolízissel, termolízissel
vagy alacsony vegyértékű átmenetifémek vegyületeivel való kezeléssel, például
 $\text{Rh}(\text{OAc})_2$ alkalmazásával. A nitrén azidokból, fotolízissel vagy termolízissel
hozható létre, továbbá nitro-, nitrozo- és azidszármazékokból tervalens foszfor-
-nitrozo együletekkel vagy alacsony vegyértékű átmenetifémek vegyületeivel.

Különös érdeklődésre méltó kapcsolóegységek ($\text{F}^1\text{-F}^2$ -) a következők: 2-
-nitro-4-benzil-oxi-karbonil-, 2-nitro-4-(diazo-acetil)-benzil-oxi-, 4- vagy 5-azido-
-metil-karbonil-2-metoxi-fenoxi- és 2-metoxi-4- vagy -5-karboxi-fenoxi-csoport.

A következő, példaként bemutatott vegyületek esetében T a címkét, Z a
karbén vagy nitrén prekuzort vagy egy karboxilcsoportot jelöl, R jelentése H
vagy rövid szénláncú alkilcsoport. Fotokémiai címkelehasításra (például mint-
egy 350 nm-es UV sugárzással): T-3-Z-2-nitro-benzil-éter, T-4-Z-2-nitro-benzil-
éter, T-5-Z-2-nitro-benzil-éter, T-6-Z-2-nitro-benzil-éter, T-2-Z-4-nitro-benzil-
éter, T-3-Z-4-nitro-benzil-éter, T-3-Z-2-nitro-benzil-karbonát, T-4-Z-2-nitro-
benzil-karbonát, T-5-Z-2-nitro-benzil-karbonát, T-6-Z-2-nitro-benzil-karbonát,
T-2-Z-4-nitro-benzil-karbonát és T-3-Z-4-nitro-benzil-karbonát. Oxidatív hasítás-
ra (például cérium-ammónium-nitráttal): 1-OT-2-OR-3-Z-benzol, 1-OT-2-OR-4-
-Z-benzol, 1-OT-2-OR-5-Z-benzol, 1-OT-2-OR-6-Z-benzol, 1-OT-4-OR-2-Z-
benzol és 1-OT-4-OR-3-Z-benzol.

Reduktív vagy alkilezéses hasításra (például lítium/ammóniával vagy me-
til-jodiddal): T-(2-Z-fenil)-tioéter, T-(3-Z-fenil)-tioéter és T-4-Z-(fenil)-tioéter,
Deszililezéses lehasításra (például tetrabutil-ammónium-fluoriddal vagy savval):
T-dialkil-(2-Z-fenil)-szilil-éter, T-dialkil-(3-Z-fenil)-szilil-éter, T-dialkil-(4-Z-fenil)-

-szilil-éter, T-dialkil-(2-Z-fenil)-szilán, T-dialkil-(3-Z-fenil)-szilán és T-dialkil-(4-Z-fenil)-szilán.

Kombinatorikus szintézis

A szintézis általában lépésenként legalább két választási lehetőséget, gyakran legalább négy választási lehetőséget, esetenként 10 vagy több választási lehetőséget foglal magában. Általában a lépésenkénti választási lehetőségek száma nem haladja meg a mintegy 100-at, gyakrabban a mintegy 50-et. A lépések száma általában legalább mintegy 3, gyakrabban legalább mintegy 4, gyakorta legalább 5, de nem több, mint mintegy 30, szokásosabban nem több, mint mintegy 25, előnyösen nem több, mint mintegy 20, még előnyösebben nem több, mint mintegy 10, gyakorta nem haladja meg a mintegy 8-at.

A választási lehetőségek és a lépések száma általában legalább olyan számú vegyületet eredményez, amely elegendő választékot biztosít ahhoz, hogy valószínű legyen legalább egy, az érdeklődésre számotartó jellemzővel bíró vegyület jelenléte. A találmány szerinti módszer lehetővé teszi több mint 25 000 vegyület, szokásosan több mint 50 000 vegyület, előnyösen több mint 200 000 vegyület, vagy akár millió vagy több vegyület előállítását. Ez szokásosan azt jelenti, hogy legalább 20 vegyületet nyerünk, de a vegyületek száma lehet 10^6 vagy több is.

Egyes szintéziseknél egy lépés csak egy vagy két választási lehetőséget foglal magában, ezt a helyzetet az előállítani kívánt vegyületek száma és az adott szintézis stratégia szabja meg. A stratégiák nagy részénél a korlátozott számú választási lehetőség, azaz 5-nél kevesebb, szokásosabban 2 vagy kevesebb választási lehetőség a szekvenciális szintézis lépéseinek több mint 40 %-ára vagy mintegy 2 lépésre, szokásosabban az összes lépés mintegy 20 %-ára korlátozódik.

Reakció eljárás

A szintézis kivitelezését kezdetül adott számú, szokásosan legalább 10^3 még szokásosabban 10^4 célszerűen legalább 10^5 számú gyönggyel, míg a gyöngyök száma általában nem haladja meg a 10^{15} , szokásosabban a 10^{10} értéket. Az első lépésben fennálló választási lehetőségek számától függően a részecskéket ezeknek megfelelő számú tartályba osztjuk szét. Alkalmazhatunk mikrotitráló lapokat, egyedi tartályokat, oszlopokat, géleket, Terasaki lapokat, lombikokat, Merrifield-féle szintézisedényeket, stb. A részecskéket szokásosan úgy osztjuk csoportokba, hogy a csoportok mindegyike legalább egy, szokásosan több, általában 1000 vagy ennél több részecskét tartalmazzon, de a részecskék és a lépésben érintett választási lehetőségek számától függően egy-egy csoport 10^5 vagy ennél több részecskét is tartalmazhat.

Ezután az egyedi tartályok mindegyikébe a megfelelő ágenszt adjuk, továbbá, azt az azonosítót, amely a reagenst és a lépést kódolja. Minden lépésben a kívánt reakció megy végbe. Ha a reakció(k) befejeződött, a gyöngyöket a reagensektől mentesre mossuk, majd az összes gyöngyöt egyetlen eleggyé egyesítjük, és a következő lépés választási lehetőségeinek számától függő csoportokra osztjuk. A gyöngyöknek ebből a szétosztásából, címkézéséből és szintézis lépésekből (vagy fordítva), majd a gyöngyök rekombinálásából álló folyamatot ismételjük a kombinatorikus szintézis befejezéséig.

Egyes esetekben két vagy több tartályban ugyanazt a reakciót hajthatjuk végre, hogy egy adott lépés adott reakciójában kapott termék arányát növeljük a többi választási lehetőség szerint kapotthoz képest. Más esetekben egy vagy több lépésben a gyöngyök egy részét félretesszük, semmiféle reakciónak nem tesszük ki, hogy fokozzuk a végtermék változatainak számát. További lehetőség, hogy a gyöngyök egyes adagjait különböző szintézisutaknak tehetjük ki.

A szintézis történetének a gyöngyökön való rögzítése és kódolása érdekében a gyöngyöket minden lépésben a lépésnek és a választási lehetőségnek

megfelelően saját egyedi azonosító kombinációval címkézzük. Más megoldás szerint alkalmazhatunk egyetlen címkét ennek a szintézis történetnek a rögzítésére vagy kódolására. Az adott kémiai folyamatoktól függően a címkézést az egyes választási lehetőségeknél lejátszódó reakciók előtt, után, vagy azokkal egyidejűleg végezhetjük. Továbbá, kontrollként minden lépésnél gyöngy-mintákat vehetünk ki, és ezek címkéinek egy részét lehasíthatjuk, a címkét eltávolíthatjuk annak igazolására, hogy a minta-gyöngyökhöz a megfelelő címkék kapcsolódtak.

Amint azt az előzőekben jeleztük, egyes esetekben a részecskék egy részét alcsoportokba különíthetjük, és minden alcsoportot különböző reakciósorozaton vihetünk át. Ezek az adagok bármikor ismét egyetlen eleggyé rekombinálhatók, és együtt vihetők a következő reakcióba. Például ha az egyik lépésben telítetlenséget viszünk a molekulába, két alcsoportot hozunk létre, az egyik alcsoportban a telítetlen kötést redukáljuk, míg a másik alcsoportban epoxidot képzünk. A két alcsoportot ezután különböző reakciósornak tehetjük ki.

A termék szintézisének befejezése után a ligandumnak a gyöngyről való lehasítását követően vagy anélkül szkríneljük a termékeket a kívánt tulajdonság szempontjából. Az utóbbi esetben a gyöngyöket például vizes pufferben inkubálhatjuk egér monoklonális Y antitesttel. Az inkubálást követően a gyöngyöket mossuk, majd egér antitestek ellen irányuló, lúgos foszfatázzal konjugált nyúl (vagy kecske) poliklonális antitestekkel inkubáljuk. Fluoreszcens csapadék-kifejlesztő reagens alkalmazásával a monoklonális antitesttel kapcsolódott fluoreszcens gyöngyöket azonosítjuk, és manuálisan elkülönítjük a tiszta, színezetlen gyöngyök többségétől. Más megoldás szerint a fluoreszcens gyöngyöket fluoreszcenciásan aktivált sejtválogató alkalmazásával különíthetjük el, azaz a megkötéssel, hogy a címkéknek a gyöngyökön kell maradni a válogatás körülményei mellett. A kiválogatott fluoreszcens gyöngyöket olyan körülmé-

nyeknek tesszük ki, amelyek mellett legalább a címkék egy része lehasad a gyöngyről.

Abban az esetben, ha a szintézis nem hasonló egységek lépésenkénti összekapcsolásában áll, vagy ha a reakció során melléktermékek képződnek, előfordulhat, hogy egyetlen gyöngyhez a vegyületek sokasága kapcsolódik, vagy hogy az aktív vegyület szerkezete nem ismerhető meg reakciótörténetéből. A találmány szerint a reakció történetének ismeretében a szintézis nagyobb léptékben megismételhető, úgy, hogy a termékből izolálható mennyiséget nyerjük, és szerkezetileg azonosíthassuk az aktív vegyületet.

A találmány szerinti módszereket különféle reakciósorokkal mutathatjuk be. Például barbiturátokat előállíthatunk egy aldehid vagy egy keton és egy acetát-észter kombinálásával Claisen kondenzáció körülményei mellett, így helyettesítő nélküli vagy 1 - 4 helyettesítőt hordozó krotonátot nyerünk. A krotonátot ezután Michael reakció körülményei mellett egy második acetáttal egyesítjük, így legfeljebb 6 helyettesítővel helyettesített glutarátot nyerünk. A glutarátot ezután ammóniával vagy egyszeresen helyettesített aminnal reagáltatva nyerjük a barbiturátot. Az aldehidek és ketonok, acetátok és aminok változtatásával a barbiturátok nagy választéka nyerhető. Ha egy vagy több helyettesítőn funkciós csoportok vannak jelen, például amino-, karboxil-, hidroxil-, tiol- és hasonló csoportok, ezek a csoportok kívánt módon védhetők vagy módosíthatók.

Egy másik, Bunin és Ellman [J. Am. Chem. Soc. 114, 10997 (1992)] által leírt példa szerint benzodiazepineket állíthatunk elő. A szintézist például egy 4'-oxi-csoport révén az egyedi részecskékhez kötött különböző, aminos-csoportjukon védett helyettesített 2-amino-benzofenonokból kiindulva kezdhetjük meg.

A részecskék különböző tartályokba szétosztott csoportjaihoz a védőcsoport eltávolítása után különböző Fmoc-védett α -aminosavakat adunk - amelyek

lehetnek természetesek vagy szintetikusak - peptidkötés képződésének körülményei mellett. A védőcsoportok eltávolítása után belső gyűrűzárás történik, ezt követően a nitrogénatomon alkilezőszerrel alkilezést végzünk. Ha csak három lépést alkalmazunk, akkor is nagy számú benzodiazepint nyerünk, és a könyvtárat trankvilláns és más aktivitások tekintetében szkrínélhetjük.

A fenti módon gyógyszeranalógok széles választéka állítható elő, például vérnyomáscsökkentő szerek, mint az enalapril; béta-blokkolók, mint a propanolol; fekélyellenes gyógyszerek (H_2 receptor antagonisták), mint a cimetidin és ranitidin; gombaölő szerek (koleszterin-demetiláz inhibitorok), mint az izokonazol; szorongásoldó szerek, mint a diazepam; analgetikumok, mint az aszpirin, fenacetamid és fentanil; antibiotikumok, mint a vancomicin, penicillin és cefalosporin; gyulladásgátlók, mint a kortizon; fogamzásgátlók, mint a progesztinek; vetélést kiváltó szerek, mint az RU-456; antihisztaminok, mint a klórfenamin; köhögés elleni szerek, mint a kodein; nyugtatók, mint a barbitol, stb.

Példaként a cimetidin analógok szintézisét bemutatva: ebben részt vehetnek hidroximetil szubsztituált hisztidinek és hasonló heterociklusos vegyületek, ahol a többi szén- és nitrogénatomok hordozhatnak további helyettesítőket vagy lehetnek szubsztituátlanok, α - ω -alkil-tiolok, és szubsztituált tioamidin-észterek, ahol a nitrogénen különböző csoportok lehetnek, mint például nitro-, ciano-, hidroxil- és alkilcsoport és ezek kombinációi, stb.

Azonosítók

A találmány szerinti azonosítók az (I) képlettel írhatók le:



ahol F^1-F^2 jelentése olyan kapcsolóegység, amely lehetővé teszi a címkének a hordozóra való rákapcsolását, illetve arról való lehasítását;

$\underline{C}-E-\underline{C}'$ pedig az elemzésre alkalmas megkülönböztethető címkét jelöli;

E a címke olyan komponense, amely (a) lehetővé teszi a detektálást, például egy elektroforézis csoport amely gázkromatográfiás, vagy tömegspektroszkópiás eljárással analizálható, vagy (b) detektálást és elkülönítést is lehetővé tesz;

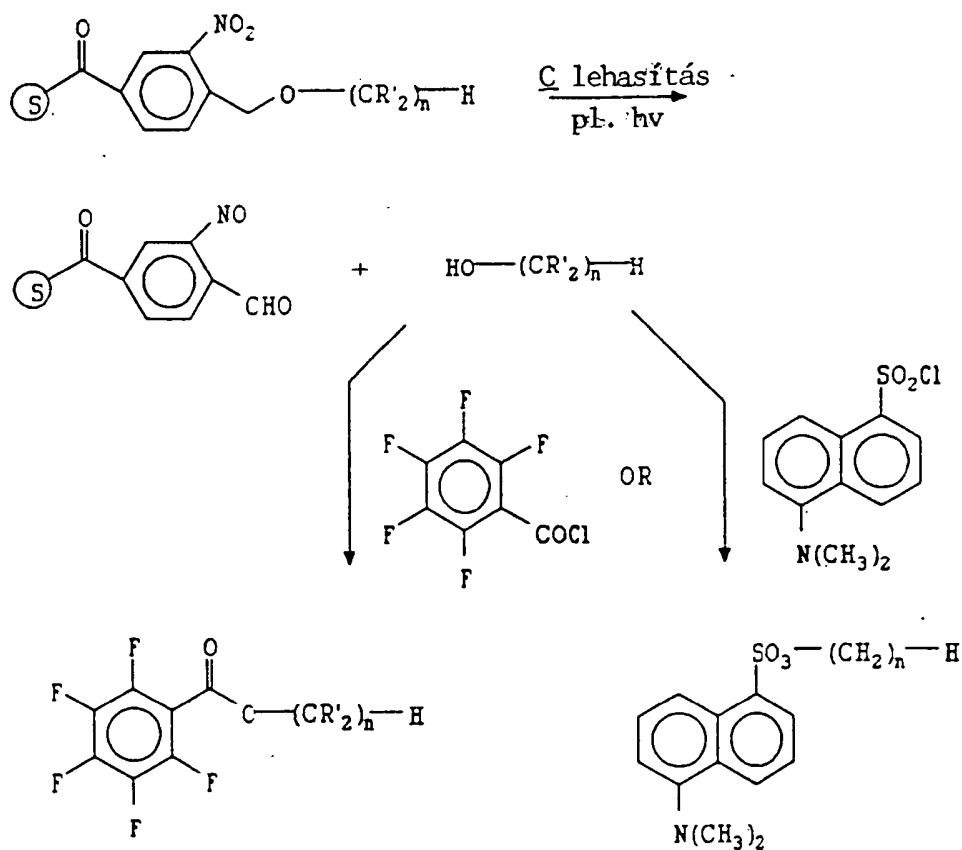
$\underline{C}$ és $\underline{C}'$ olyan címke komponensek, amelyek alkalmasak arra, hogy egyedileg megkülönböztessenek egy címkét bármely más címkétől, szokásosan lehetővé teszik az elkülönítést is változtatható lánchosszuk, illetve helyettesíthetőségük révén, például különböző kromatográfiás retenció idejük, illetve tömegspektroszkópiás m/e arányuk folytán.

F^2 egy kapcsolóegység, amely szelektíven hasítható a címke felszabadítására; és

F^1 olyan funkciós csoport, amely a hordozóhoz kapcsolódást biztosítja; vagy

F^2 vegyértékkötés, ha F^1 lehasítható csoport, például hidroxil- vagy karboxilcsoport.

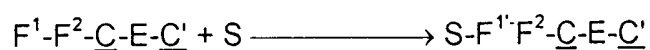
Míg az (I) képletű azonosítót jellemzően a kombinatórikus szintézis egyes megfelelő lépéseinél és választási lehetőségeinél adjuk az elegyhez, addig az E rész a szintézis végén, a szubsztrátról való lehasítás (előnyösen fotokémiai vagy oxidatív) előtt vagy után is adható. Például ha $\underline{C}$ -OH, -NHR⁴ vagy -SH funkciókat tartalmaz, E a lehasítás előtt kapcsolható $\underline{C}$ -hez. Más esetben, ha E-t a lehasítás után kapcsoljuk, a C-hez való kapcsolódási pont azonos lehet F^2 korábbi kapcsolási helyével. Erre mutatunk be példát az alábbi reakcióvázlatban.



ahol S = szubsztrát és

$n = 1-40$.

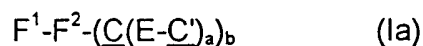
Az azonosítónak a szubsztráthoz való kapcsolását az alábbi vázlatban mutatjuk be:



ahol $\text{F}^1-\text{F}^2-\text{C}-\text{E}-\text{C}'$ jelenti a szubsztráthoz kötött azonosító egységet. Például, ha a gyöngyön amino-metil funkciós csoportok vannak, és F^1 jelentése $-\text{COOH}-$

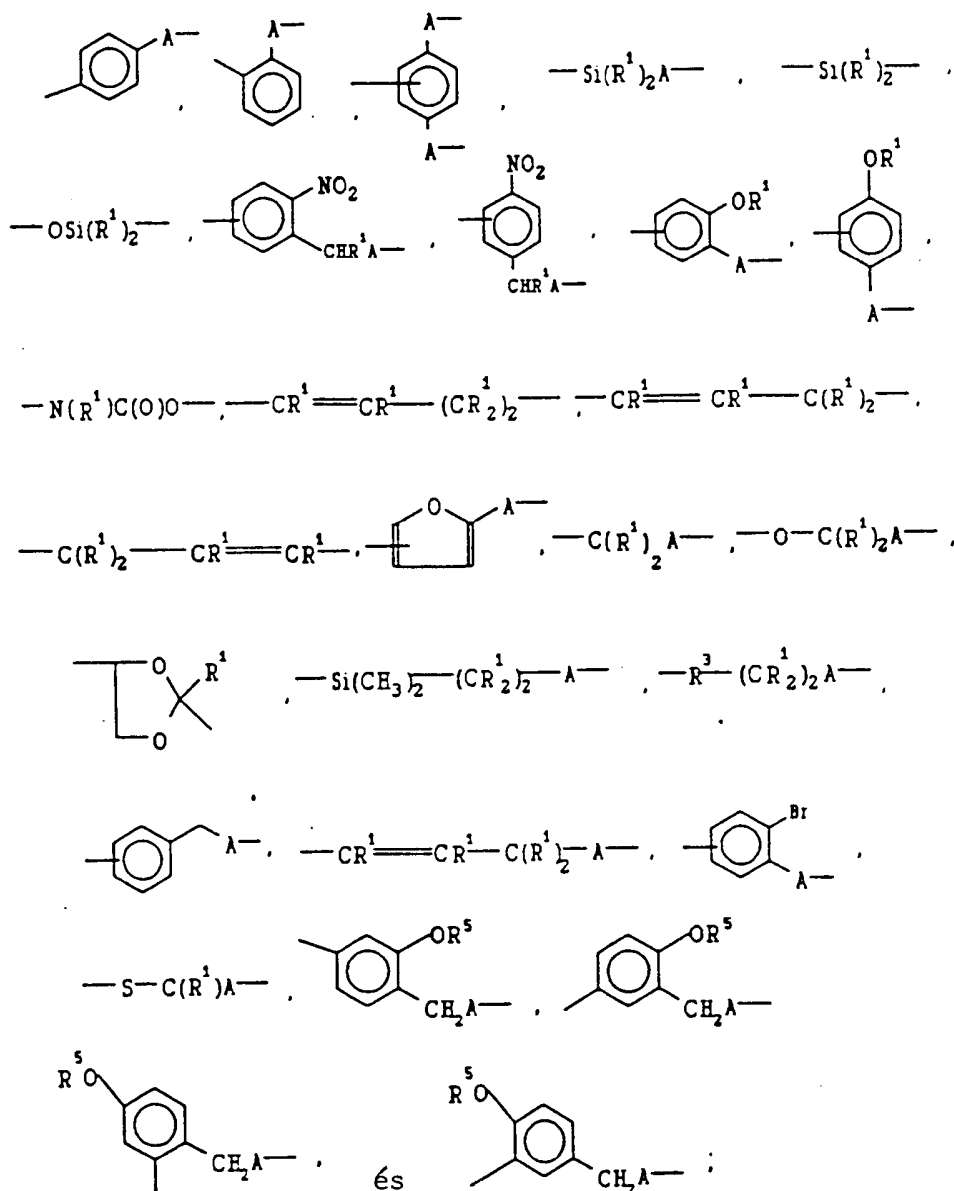
-csoport, akkor F^1 jelentése $-C(O)-$; ha a gyöngy telítetlen kötést tartalmaz, és F^1 jelentése $N_2CH-C(O)-$, akkor F^1 jelentése $=CH-C(O)-$ vagy $-CH_2-C(O)-$.

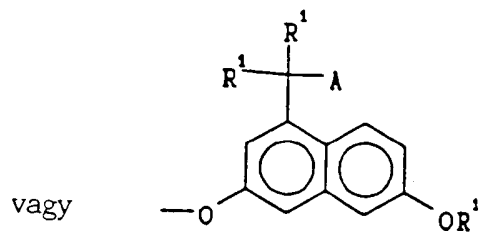
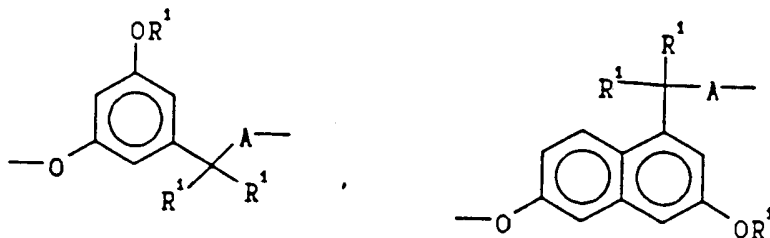
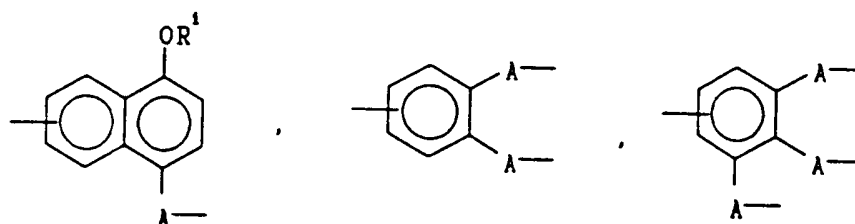
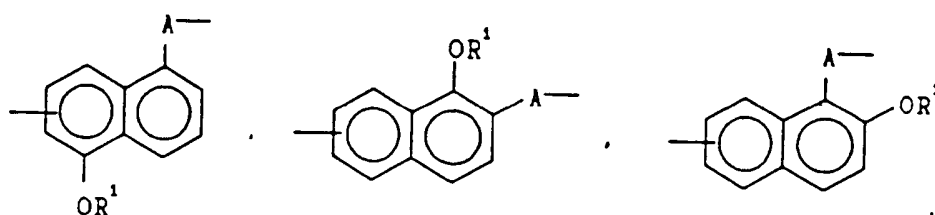
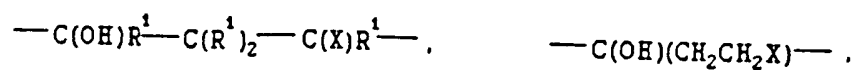
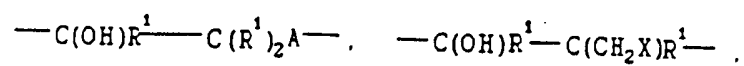
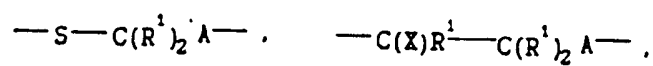
Az (I) képletű azonosítók közül különösen az (Ia) képletűek jelentősek:



ahol F¹ jelentése: -CO₂H, -CH₂X, -NR¹R¹, -C(O)R¹, -OH, -CHN₂, -SH, -C(O)CHN₂, -S(O₂)Cl, -S(O₂)CHN₂, -N₃, -NO₂, -NO, -S(O₂)N₃, -OC(O)X, -C(O)X, -NCO vagy -NCS; és

F² jelentése:





A jelentése -O-, -OC(O)O-, -OC(O)- vagy -NHC(O)-;

C jelentése vegyértékkötés, adott esetben 1 - 40 fluor-, klór- vagy bróm-atommal, 1 - 6 szénatomos alkoxicsoporthal, -NR⁴R⁴, -OR⁴ vagy -NHR⁴ csoporttal helyettesített 1 - 20 szénatomos alkilénecsoporthal vagy -[(C(R⁴)₂)_m-Y-Z-Y-(C(R⁴)₂)_nY-Z-Y]_p- általános képletű csoport, azzal a megkötéssel, hogy a C+C' egységben a szénatomok maximális száma előnyösen 20;

C' jelentése hidrogén-, fluor- vagy klóratom, adott esetben 1 - 40 fluor-, klór- vagy brómatommal, 1 - 6 szénatomos alkoxicsoporthal, -NR⁴R⁴, -OR⁴ vagy -NHR⁴ csoporttal helyettesített 1 - 20 szénatomos alkilcsoporthal vagy -[(C(R⁴)₂)_m-Y-Z-Y-(C(R⁴)₂)_nY-Z-Y]_p- általános képletű csoport;

E jelentése 1 - 20 fluor-, klór- vagy brómatommal helyettesített 1 - 10 szénatomos alkilcsoporthal, vagy Q-aril-csoport, ahol az arilcsoporthal 1 - 7 fluor- vagy klóratommal, nitrocsoporthal, -SO₂R⁵ általános képletű csoporttal vagy helyettesített fenilcsoporthal helyettesített, a fenilcsoporthal helyettesítői 1 - 5 fluor- vagy klóratom, nitrocsoporthal vagy -SO₂R⁵ általános képletű csoport;

E-C' jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoporthal vagy aminocsoporthal;

R¹ jelentése hidrogénatom vagy 1 - 6 szénatomos alkilcsoporthal;

R³ jelentése >C=O, -C(O)O-, -C(O)NR¹-, >S, >SO vagy >SO₂;

R⁴ jelentése hidrogénatom vagy 1 - 6 szénatomos alkilcsoporthal;

R⁵ jelentése 1 - 6 szénatomos alkilcsoporthal;

a értéke 1 - 5;

b értéke 1 - 3;

m és n mindegyikének értéke 0 - 20;

p értéke 1 - 7;

Q jelentése vegyértékkötés, O, S, -NHR⁴, >C=O, -C(O)NR⁵-, -NR⁵C(O)-, -C(O)O- vagy -OC(O)-;

X jelentése kilépőcsoporthal, például bróm- vagy klóratom, triflát, mezilát vagy tozilátcsoporthal vagy -OC(O)OR⁵- általános képletű csoport;

Y jelentése vegyértékkötés vagy O, S vagy NHR^4 általános képletű csoport;

Z jelentése vegyértékkötés, adott esetben helyettesített fenilénecsopott, ahol a helyettesítők 1 - 4 fluor-, klór- vagy brómatom, 1 - 6 szénatomos alkilcsoport, 1 - 6 szénatomos alkoxicsopott, 1 - 13 fluor- vagy klóratommal vagy 1 - 13 fluor-, klór- vagy brómatommal helyettesített 1 - 6 szénatomos alkil-oxi-csoporttal helyettesített 1 - 6 szénatomos alkilcsoport; vagy $[\text{C}(\text{R}^4)_2]_{1-20}$ általános képletű vagy $-(\text{CF}_2)_{1-20}$ képletű csoport; azzal a megkötéssel, hogy ha Z jelentése vegyértékkötés, akkor a hozzá kapcsolódó Y' helyettesítők egyike is vegyértékkötés; és

az arilcsoport egy mono- vagy biciklusos aromás, legfeljebb 10 szénatomot tartalmazó gyűrű, amelyben legfeljebb két heteroatom lehet, amely heteroatomok oxigén-, kén- vagy nitrogénatom lehetnek.

Az (Ia) általános képletben az F^2 ábra szerinti baloldali vegyértékkötése definíciószerűen az F^1 egységhez kapcsolódik.

Ugyancsak hasznos azonosítók az (Ia') általános képlet szerinti vegyületek:



ahol

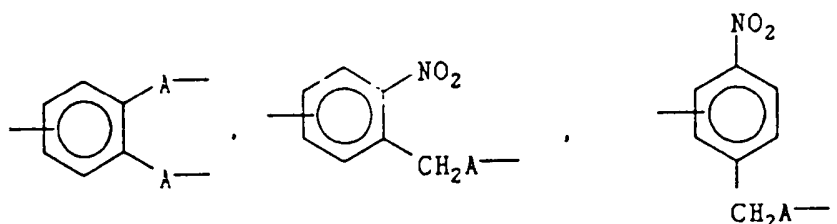
F^1 jelentése hidroxil- vagy karboxilcsoport és

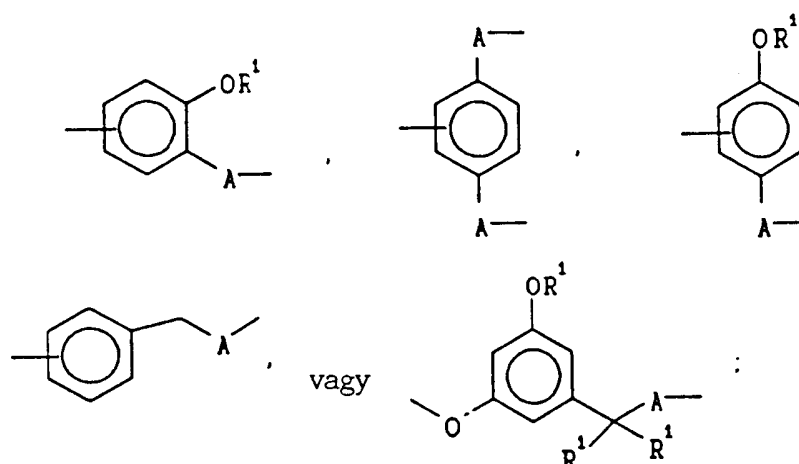
a többi helyettesítő jelentése az (Ia) általános képletre megadott.

Az (Ia) általános képletű vegyületek körén belül előnyösek azok, amelyekben

F^1 jelentése $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{OH}$, $-\text{CHN}_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{CHN}_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{X}$, $-\text{NCS}$ vagy $-\text{CH}_2\text{X}$;

F^2 jelentése





C és C' egymástól függetlenül 1 - 20 szénatomos alkilcsoport vagy 1 - 20 szénatomos alkilcsoport, amelyek adott esetben 1 - 40 fluor- vagy klór-atommal vagy $-\text{[O-(CH}_2\text{)}_{2-3}\text{]}_p$ csoporttal helyettesítettek lehetnek;

E jelentése 1 - 20 fluor- vagy klóratommal helyettesített 1 - 10 szénatomos alkilcsoport; Q-aril-csoport, ahol az arilcsoport egy 1 - 7 fluor- vagy klóratommal helyettesített biciklusos aromás gyűrű; vagy 1 - 5 fluor- vagy klóratommal, nitrocsoporttal vagy $-\text{SO}_2\text{R}^5$ általános képletű csoporttal helyettesített Q-fenil-csoport;

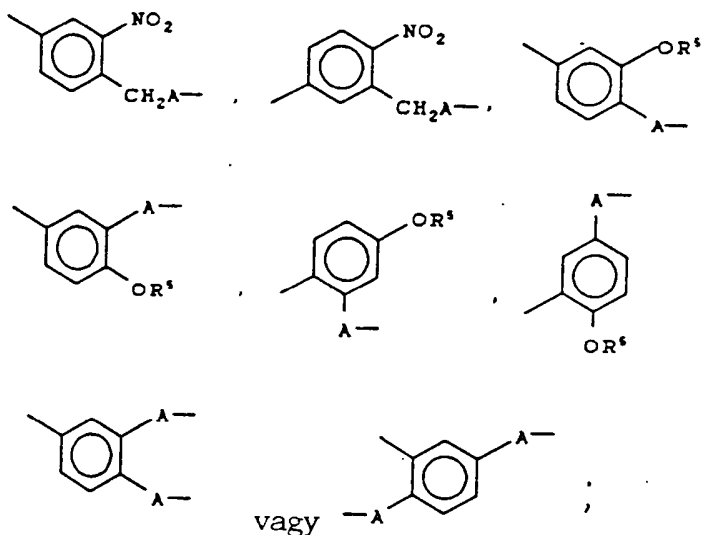
Q jelentése vegyértékkötés, oxigénatom, $-\text{NR}^5\text{C(O)-}$ vagy $-\text{OC(O)-}$.

Az (Ia) általános képletű vegyületek körén belül előnyösek azok, amelyekben

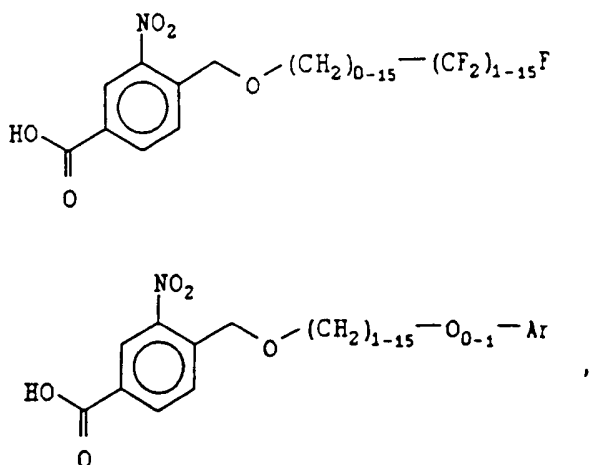
$-(\underline{\text{C}}(\underline{\text{E}}-\underline{\text{C}}))_a$ jelentése $-(\text{CH}_2)_{0-15}-(\text{CF}_2)_{1-15}\text{F}$, $-(\text{CH}_2)_{0-15}-(\text{CCl}_2)_{1-15}\text{Cl}$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O})_{1-5}\text{Ar}$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{1-5}\text{Ar}$ vagy $-(\text{CH}_2)_{1-12}-\text{O-Ar}$;

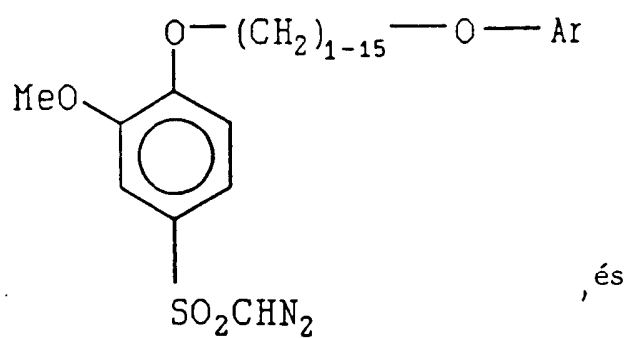
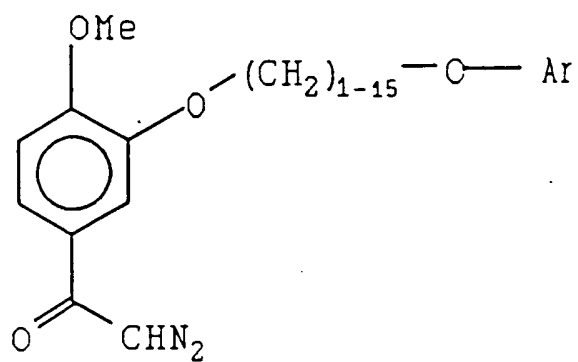
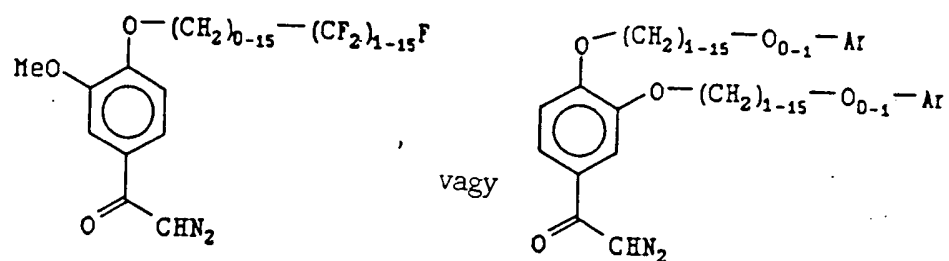
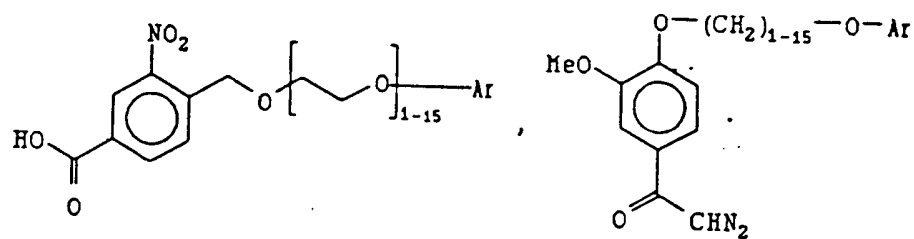
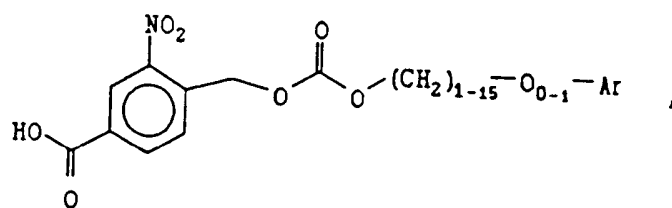
ahol Ar jelentése pentafluor-, pentaklór- vagy pentabrom-fenil-csoport, 2,3,5,6-tetrafluor-4-(2,3,4,5,6-pentafluor-fenil)-fenil-csoport, 2,4,6-triklór-fenil-csoport, 2,4,5-triklór-fenil-csoport, 2,6-diklór-4-fluor-fenil-csoport vagy 2,3,5,6-tetrafluor-fenil-csoport.

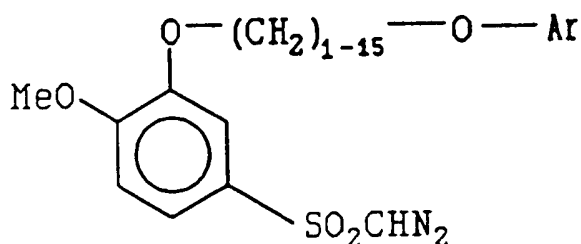
ahol F^2 jelentése



Az (Ia) általános képletű vegyületek körén belül előnyösek továbbá az alábbiak:



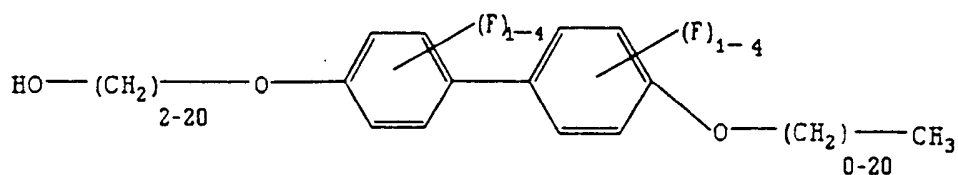




ahol Ar jelentése pentafluor-, pentaklór- vagy pentabrom-fenil-csoport, 2,3,5,6-tetrafluor-4-(2,3,4,5,6-pentafluor-fenil)-fenil-, 2,4,6-triklór-fenil-, 2,4,5-triklór-fenil-, 2,6-diklór-4-fluor-fenil- vagy 2,3,5,6-tetrafluor-fenil-csoport.

Az (Ia) általános képletű vegyületek körén belül előnyösek továbbá azok, amelyekben E-C' jelentése hidrogénatom, hidroxil- vagy aminocsoport. Az ilyen vegyületek különösen hasznosak a kombinatorikus szintézis végén egy E csoporttal, különösen fluoreszcenciásan vagy elektronbefogással kimutatható E csoporttal, például danzil-kloriddal vagy polihalogén-benzoil-halogeniddel való reagáltatás szempontjából.

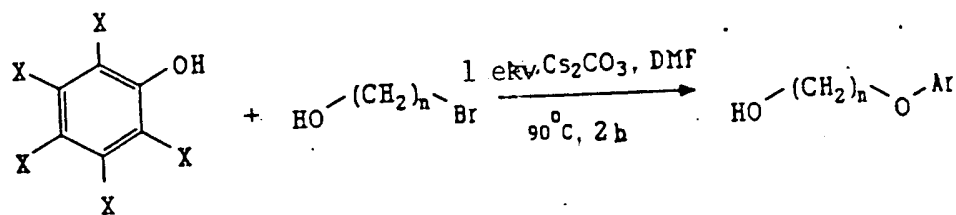
A találmány szerinti vegyületek egy másik megvalósítási módja az alábbi képlettel jellemezhető:



Az (I) általános képletű vegyületek előállíthatók az alábbi reakcióvázlatokban bemutatott módon vagy más, szakember számára ismert eljárásokkal.

1. Reakcióvázlat

Azonosító címke előállítása

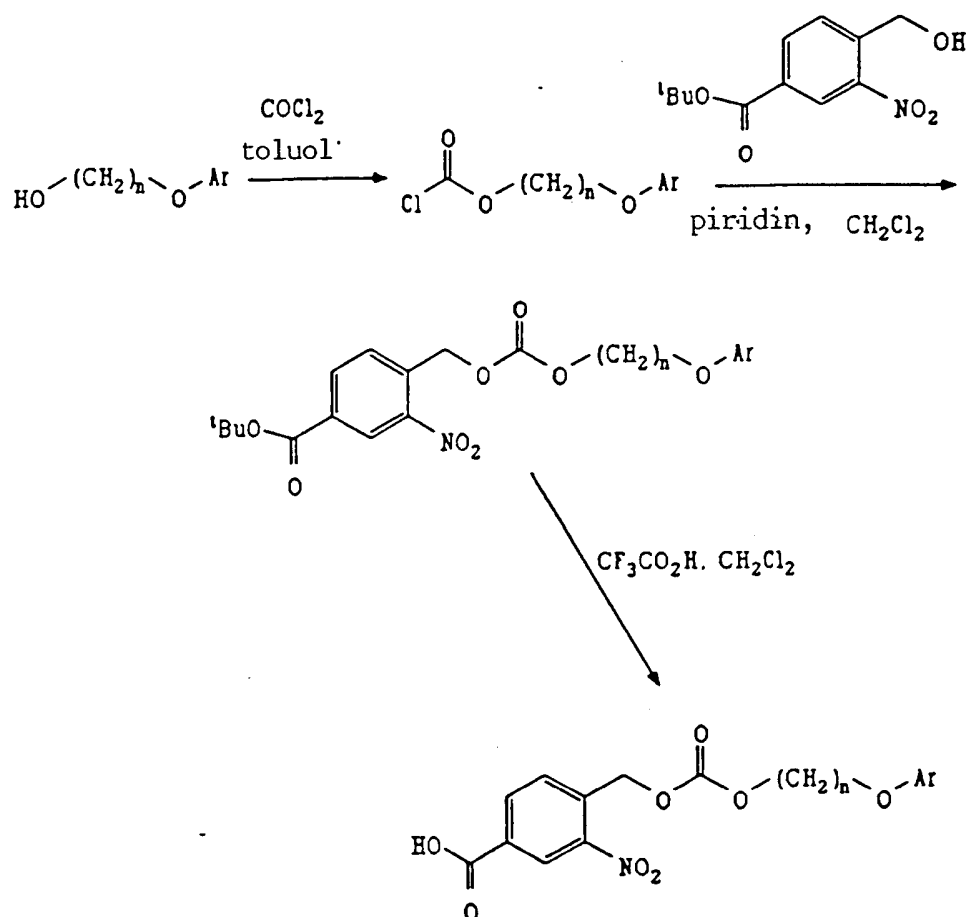


Elektrofór fenol; ArOH

X = Cl vagy F

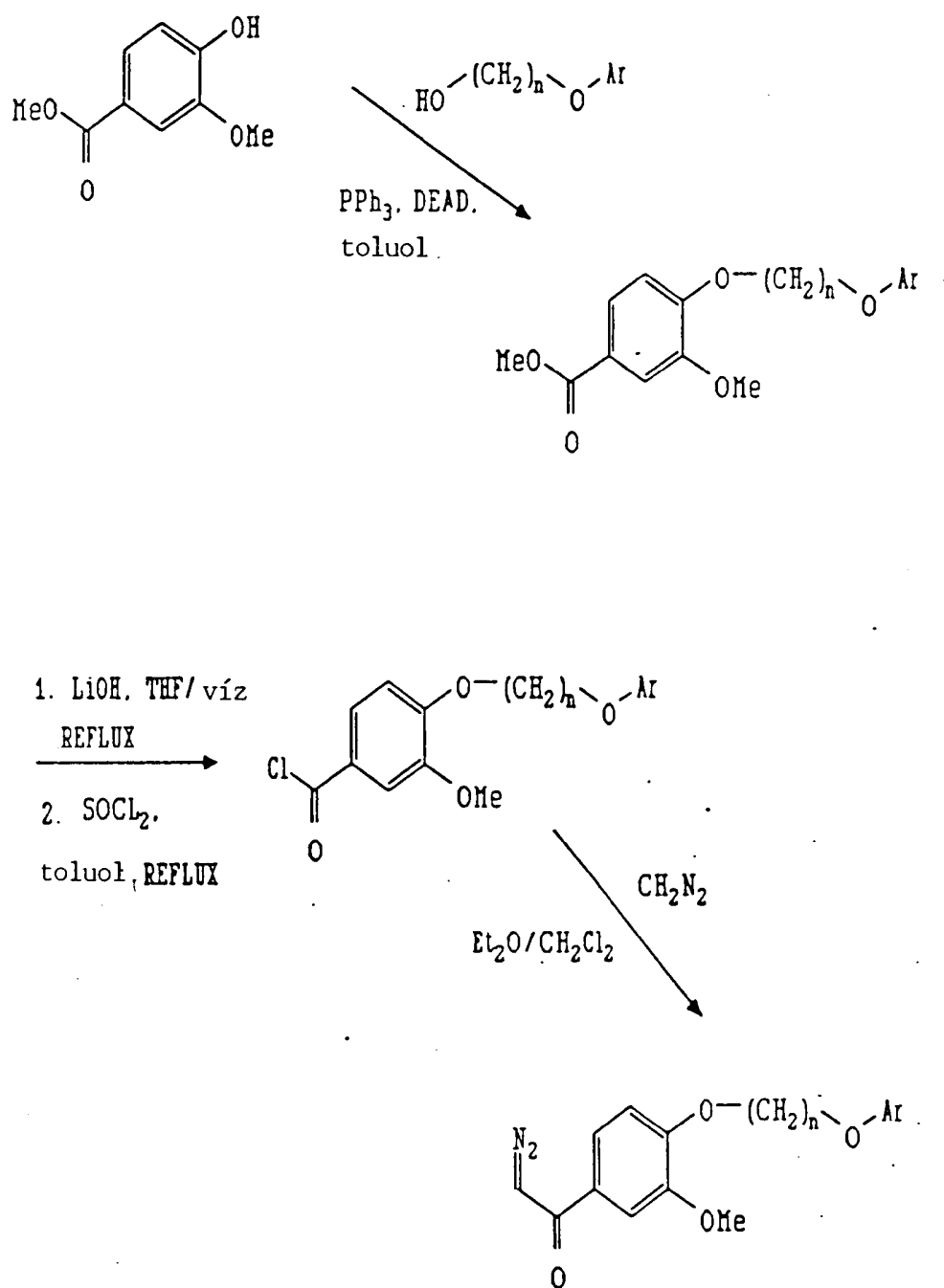
2. Reakcióvázlat

Fotolitikusan lehasítható kapcsolóegységekkel bíró azonosítók



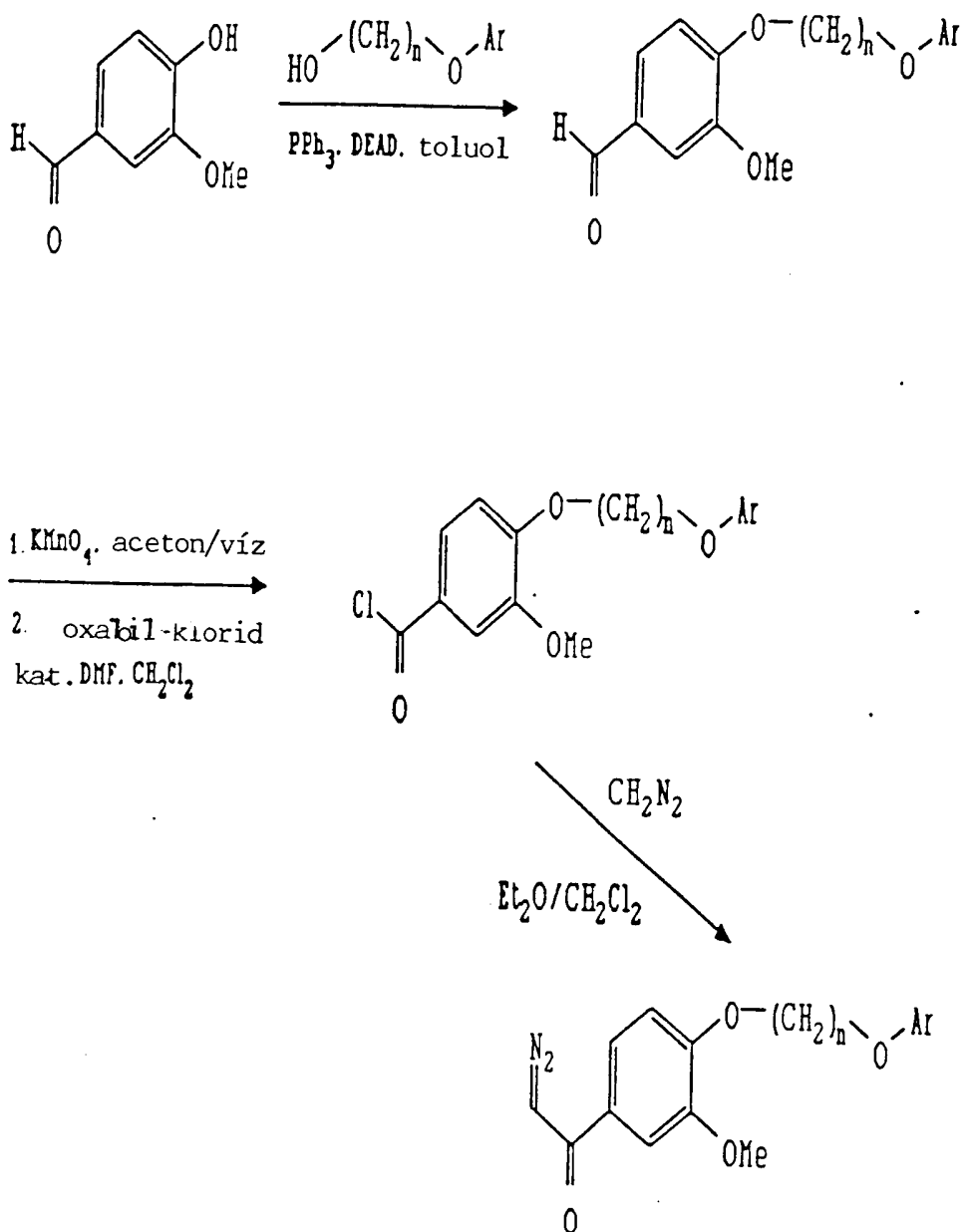
3. Reakcióvázlat

Oxidatív úton lehasítható kapcsolóegységekkel bíró azonosítók



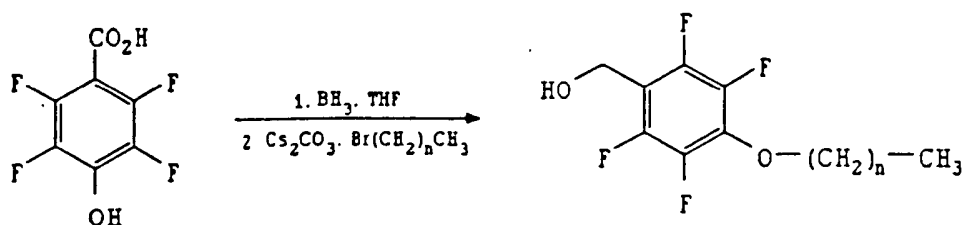
4. Reakcióvázlat

Különböző oxidatíván lehasítható kapcsolóegységekkel bíró azonosítók



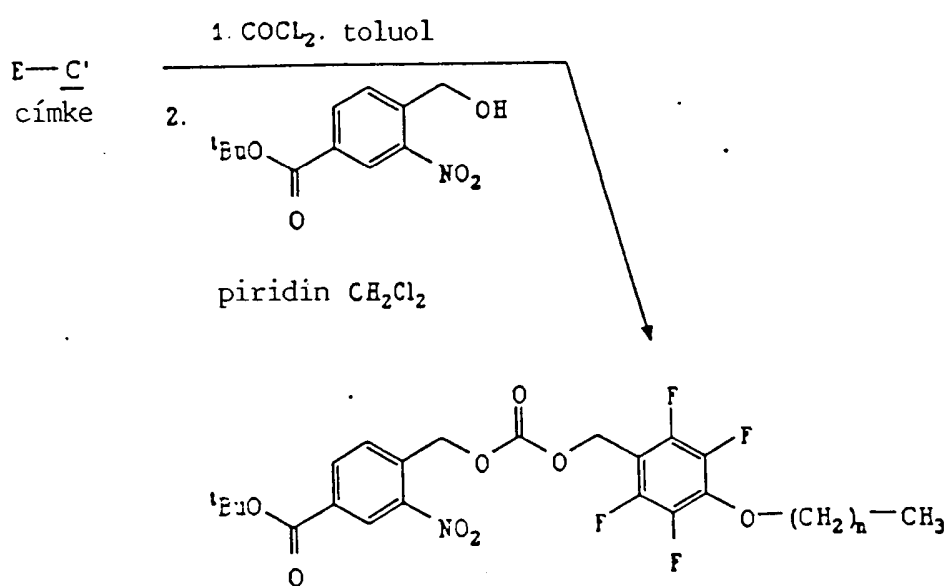
5. Reakcióvázlat

E-C' címkék



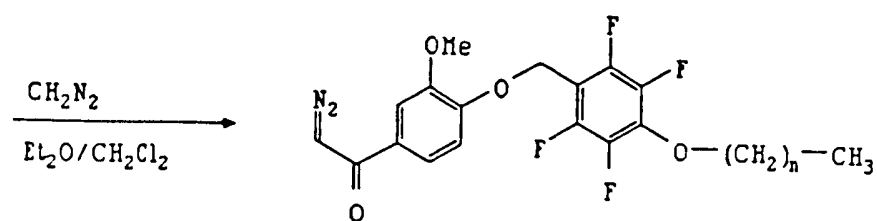
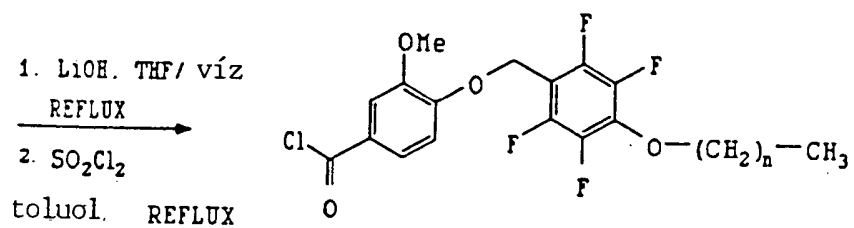
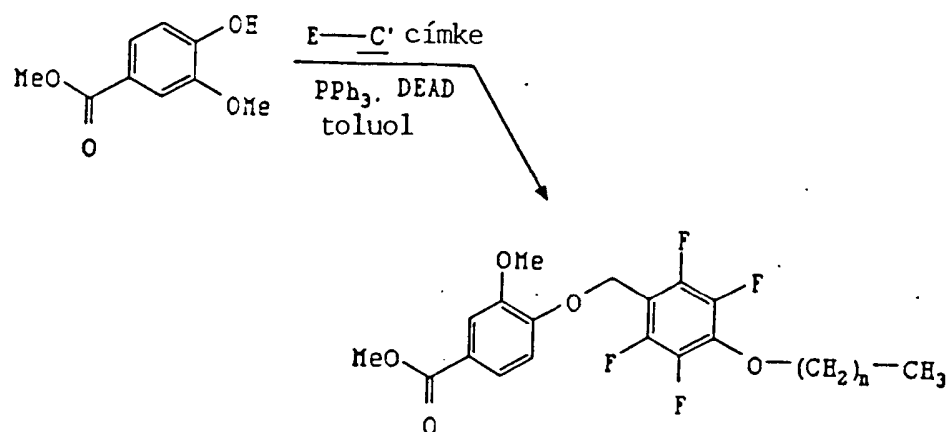
6. Reakcióvázlat

Fotolitikusan lehasítható kapcsolóegységekkel bíró azonosítók



7. Reakcióvázlat

Oxidatívan lehasítható kapcsolóegységekkel bíró azonosítók



Az azonosítók egy vagy több azonos címkét tartalmazhatnak. Az azonosító(k) egyedi kémiai vegyület(ek), egymástól megkülönböztethető(ek), és egyértelműen azonosítják a különböző választásokat és lépéseket. Ily módon igen nagy kombinatorikus könyvtár készíthető viszonylag kis számú azonosítóval, szokásosan 50-nél kevesebb címkével. Minden lépésben azonosítók kombinációját alkalmazzuk, amely meghatározza a lépést és a választást. Az egyes azonosítókat kovalensen vagy nem-kovalensen kötjük a gyöngyhöz vagy a termékhez, szokásosan a gyöngyhöz. Az azonosító kombinációit alkalmazzuk az egyes lépések bináris vagy más kódjainak létrehozására, ezáltal a választás és a lépés meghatározható. Az azonosítók kombinációi magukban foglalhatják a nulla vagy csak egyetlen azonosítót.

Címkék

Ami a címkéket (C-E-C') illeti, az alkalmazott címkéket a következő módon jellemezzük:

- a gyöngyről F^1 vagy F^2 természetétől függő módon, előnyösen hidrolízissel, fotolízissel vagy oxidálással eltávolíthatók;
- egyedileg megkülönböztethetőek, általában elválaszthatóak;
- a szintézis körülményei mellett stabilak;
- mind a lépést, mind a választási lehetőségeket kódolják, így egyedileg meghatározzák a szintézis minden egyes lépésében a választott ágenst;
- célszerűen könnyen megoldható a különböző címkék azonosítása, amelyek könnyen beszerezhető, egyszerűen működtethető berendezésekkel azonosíthatóak;
- a címkék viszonylag gazdaságosak és viszonylag kis számú molekula alapján erős jelet adnak; és
- elegendően érzékenyek ahhoz, hogy a címke megkülönböztethető legyen a címke meghatározás során jelenlévő egyéb komponensektől.

A címkék állhatnak egymással szerkezeti rokonságban vagy lehetnek eltérőek, mint például a homológ sorok, ismétlődő funkciós csoportok, a periódusos rendszer rokon elemei, különböző izotópok, ezek kombinációi és hasonlóak. A címkék használhatók mint egy bináris kód elemei, így egy címke két választást, két címke négy választást, három címke nyolc választást, 5 címke 32 választást, stb. határoz meg. Így a szintézis minden lépésében viszonylag kis számú címkével jóval nagyobb számú választási lehetőséget jelölhetünk. Az azonosítókat tartalmazó címkék a szintézis egyes lépéseinél a más lépésekben alkalmazott címkékkel lehetnek rokonságban vagy lehetnek azoktól eltérőek. A kombinatorikus szintézis minden címkéjének megkülönböztethetőnek kell lennie más címkéktől. Ily módon igen nagy kombinatorikus könyvtár készíthető viszonylag kis számú címkével, általában 60-nál kevesebb, szokásosabban mintegy 50-nél kevesebb címke elegendő.

Általában minden gyöngyre legalább 0,01 femtomól, gyakrabban 0,001 - 50 pmól mennyiség szükséges minden címkéből, bár speciális körülmények mellett ennél kisebb vagy nagyobb mennyiség is használható. A termék mennyiségének is legalább azonos tartományba kell esnie, a 10^4 vagy több molekula mennyisége szokásosan legalább 0,01 pmól, szokásosabban legalább 1,0 pmól, általában nem több, mint mintegy 10 nmól. A gyöngyök számától, a lépések számától és a lépésenkénti választási lehetőségek számától függően az előállított termékek száma általában meghaladja a 10^2 , szokásosabban a 10^3 , esetenként 10^{10} értéket, szokásosan nem több, mint mintegy 10^8 termék, előnyösen mintegy 10^4 - 10^8 termék, szokásosabban 10^5 - 10^8 termék.

A címkék többnyire szerves molekulák. Az egyes címkéket alkotó atomok száma általában 100 alatti, szokásosabban mintegy 80 alatti, általában mintegy 60 alatti, ebbe a számba a hidrogénatomokat bele nem értve, és kivéve azon kapcsolóegységek atomjainak számát, amelyek a címkének a gyöngyről való lehasításakor nem maradnak a címkén. A kapcsolóegységek mérete tetszés

szerinti, általában mintegy 30 atom alattiak, szokásosabban 20 atom alattiak, az atomok számába a hidrogénatomokat ismét nem beleszámítva. A kapcsolóegységek mérete nem kritikus, a célszerűség szabja meg. A címkék vegyületcsaládokat képezhetnek, amelyen belül minden vegyület hasonló természetű, vagy különböző vegyületcsaládok kombinációi lehetnek, ahol a vegyületek lehetnek alifások, aliciklusosak, aromásak, heterogyűrűsek vagy ezek kombinációi. A megkülönböztető jellemzők lehetnek az ismétlődő egységek száma, például a metilén-csoportok száma egy alkilegységben, az alkilén-oxi-csoportok száma egy poli(alkilén-oxi)-egységben, a halogénatomok száma egy polihalogén-származékban, α - és/vagy β -helyettesített etilének, ahol a helyettesítők jelentése alkil-, oxi-, karboxil- és aminocsoport, halogénatom vagy hasonló; izotópok; stb.

Címke analízis

A címkék az F^2 csoport természetétől függően redukív, oxidatív, termolitikus, hidrolitikus vagy fotolitikus körülmények mellett távolíthatók el a gyöngyről, például egy katechol éter esetén cérium-ammónium-nitrátos oxidálással vagy egy nitro-benzil-éter vagy -észter vagy -amid esetén fotolízissel, vagy más eljárásokkal, például az 1. táblázatban szereplőkkel.

A címkék megkülönböztethetők fizikai különbözőségük alapján is, például a címkék molekulatömege vagy gáz- vagy folyadékkromatográfiás eljárásban mért retenciós ideje alapján. A helyzeti izomerek különböző retenciós időkkel bírhatnak. Ha a helyzeti izomerek vagy sztereoizomerek fizikai jellemzők alapján nem választhatók el megfelelően, különböző számú helyettesítőt alkalmazhatunk, például halogénatomokat (mint a fluoratomok), metilcsoportokat, oxicsoportokat vagy más oldalláncokat, amelyek az egységek eltérő számával bírnak, például metilén-csoportokat vagy etilén-oxi-csoportokat, hogy a kívánt elválasztást végrehajthassuk. Ha a radioaktív izotópok egymástól eltérő emisszióval bírnak, például a ^{14}C és ^3H izotópok esetén, a radioizotópok arányát is

használhatjuk. A fizikai különbségek, különösen a tömegszám, információt nyújthatnak a lépésre és a választásra vonatkozóan.

A $^{14}\text{C}/^3\text{H}$ arányok helyett használhatjuk nem-radioaktív izotópok kombinációit is, például $-\text{CH}_m\text{D}_n-$ -t, ahol m értéke 0 - 3, és n értéke 3-m. Például különböző, 4-ig terjedő számú metilcsoportok jelenlétét tömegspektroszkópiás eljárással detektálva nagyszámú választási lehetőség határozható meg.

Ha E-C' jelentése hidrogénatom, a hordozóról való eltávolítás után kapott címkék egy aktív funkciós csoporttal bírnak, amely a jelző reagenssel reagáltatva egy kimutatható E címke-komponenst visz be az egységbe. Célszerűen ez a funkciós csoport lehet kettőskötés (különösen aktivált kettőskötés), hidroxil-, tio-, amino-, karboxilcsoport, stb. A címkét ezt követően feleslegben lévő jelző reagenssel reagáltatva nyerjük analízis céljára a terméket (E-CH). Így a jelző reagentsek nagy száma alkalmazható az azonosító-rendszer részeként, ezeknek nem kell az érdeklődésre számotartó termék szintézis stratégiájával összeférhetőnek lenniük. A kimutatásra alkalmazott jelző reagentsek körébe tartoznak halogénezett aromás vegyületek (például perfluor-benzil-bromid), fluoreszcens vegyületek (például danzil-klorid), radioizotópok, kemilumineszcens vegyületek, stb.

A fentiekben példaként mutattunk be néhány címkét és reakciót, nyilvánvaló, hogy számos további kombináció alkalmazható.

A címkék kémiai és fizikai természetétől függően megfelelő elválasztási eljárást választunk, célszerűen valamely kromatográfiás eljárást, ezen belül például gázkromatográfiás (GC), folyadékkromatográfiás (LC), különösen nagy nyomású folyadékkromatográfiás (HPLC), vékonyrétegekromatográfiás (TLC) eljárásokat, elektroforézist, stb. Kromatográfiás eljárás helyett a tömegszám szerinti elválasztásra alkalmazhatunk tömegspektrometriás eljárást is. A fenti elválasztási eljárásokhoz alkalmas címkék körébe tartoznak:

GC alkalmazásakor: azonos vagy különböző molekulatömegű, kémiaiilag inert szerves molekulák, köztük alkánok, alkének, arének, halogénezett szénhidrogének, éterek, alkoholok, szilánok, tioéterek, stb., különösen halogénezett vegyületek esetén, amelyek adott esetben további funkciós csoportokat tartalmazhatnak kapilláris GC elválasztással kombinált tömegspektrometriás meghatározás (MS) vagy elektronbefogásos kimutatással való meghatározás, és olyan vegyületek esetén, amelyek a szerves vegyületekben szokásosan elő nem forduló elemeket tartalmaznak (például Sn, Ge), GC kapilláris elválasztással kombinált atomemissziós detektálás;

LC, HPLC vagy TLC esetén: lásd fent a GC-nél, célszerűen szénhidrogének lineáris étereit, radioizotópos helyettesítéssel vagy radioizotópok kombinációjával az elválasztás utáni radiológiai kimutatásra vagy megfelelő fluoreszcens csoportokkal az elválasztást követő fluoreszcenciás kimutatásra;

elektroforézis esetén: lásd fent, különösen funkciós csoporttal ellátott töltött molekulák, például kationos vagy anionos molekulák, különösen szerves vagy szervetlen sav csoportok, ahol a molekula az elektroforézissel való kimutatáshoz további módosításként kimutatható radioizotópot vagy fluoreszcens csoportot tartalmazhat;

tömegspektroszkópia esetén: lásd fent, különösen a különböző izotópok miatt különböző tömegszámú csoportok, különböző számú azonos funkciós csoportot, vagy különböző funkciós csoportokat tartalmazó molekulák, homológ sorok különböző tagjai vagy ezek kombinációi.

A címkék egymástól való elválasztására egyedi technikákat vagy ilyen technikák kombinációit alkalmazhatjuk, például kromatográfiás eljárást és elektroforézist, gázkromatográfiás eljárást és tömegspektroszkópiát, stb.

A találmány szerinti címkéknek olyan tulajdonsággal kell bírniuk, ami lehetővé teszi igen alacsony mennyiségek kimutatását, ez a mennyiség szokásosan nem több mint nanomólnyi, előnyösen pikomólnyi vagy ennél kevesebb, még

előnyösebben femtomólnyi vagy kevesebb, ezen molekulák kimutatását más, jelentősen magasabb mennyiségben jelenlévő vegyületek jelenlétében kell lehetővé tennie. Ezért különleges atomokkal való helyettesítést is alkalmazhatunk a címkék könnyű kimutathatóságának biztosítására. Az ilyen helyettesítések körébe tartozik:

(a) elektronegatív elemekkel, például fluorral vagy klórral való helyettesítés kapilláris gázkromatográfiás eljárással kombinált elektronbefogásos kimutató vagy negatív-ion-tömegspektroszkópiás kimutató céljára;

(b) egy nem-szokásos elemmel való helyettesítés (a C, H és O kizárásával) atomemissziós meghatározáshoz, amelyet kapilláris gázkromatográfiás eljárással kapcsolunk össze;

(c) néhány nem-szokásos elemmel való helyettesítés atomemissziós meghatározásra az elemek arányának mérésére;

(d) egy radioaktív elemmel, például ^3H -val való helyettesítés autoradiográfiás meghatározáshoz vagy szcintillációs számláláshoz, amelyeket LC, TLC vagy elektroforézis eljárással kapcsolunk össze;

(e) különböző emisszióval bíró több radioaktív elemmel való helyettesítés, például ^3H és ^{14}C alkalmazása autoradiográfiás detektálásra vagy szcintillációs számlálásra különböző radioaktív elemek közötti arány meghatározására.

Egyetlen elemmel való helyettesítés esetén (a fenti a), b) és d) lehetőségek) egy A darab címkét tartalmazó elválasztható elegy alkalmazásával, amelynek egyszerű jelenléte vagy hiánya detektálható, 2^A különböző szintézis kódolható. Több elemmel való helyettesítésnél (lásd a fenti c) és e) lehetőségeket) A darab címke elválasztható elegye, amelyek mindegyikének B megkülönböztethető állapota van (például különböző $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ arányok, különböző Si/Sn arányok) B^A különböző szintézis kódolására képes.

Az izotópok széles köre ismert, amelyek jelenléte vagy aránya információt szolgáltat a lépés és a választási lehetőség tekintetében. Az izotópok lehet-

nek radioaktívak vagy nem-radioaktívak. Különös érdeklődésre számot tartó izotópok a deutérium, trícium, ^{14}C , ^{32}P , ^{131}I , stb.

Izotóposan módosított vegyületek keverékének alkalmazásával az egy címke-vegyületből, amelyet csak az izotópok jelenléte különböztet meg, a kapott információk mennyisége jelentősen megnövelhető. Például készíthetünk különböző hidrogén/deutérium arányú keverékeket, ahol a különböző arányok akár csak 10 %-kal különböznek egymástól.

A hidrogéneknek egy más atommal, például fluorral való helyettesítése révén változtathatjuk a hidrogének, deutériumok és fluorok elegyét, így nagy számú, különböző, megkülönböztethető címkét nyerünk.

További alkalmas csoportok az aromás gyűrűk, amelyek különböző módon helyettesítettek a helyzetet vagy a funkciós csoportot illetően. Így, ha egy olyan helyettesített benzolgyűrűvel bírnak, amelyben a helyettesítő helyzete és természete meghatározható, számos olyan molekulát nyerhetünk, amely megkülönböztethető, és a lépések számára és a választási lehetőségekre vonatkozó információt adhatnak. Például, ha C konstans, meghatározhatjuk, és megkülönböztethetjük E helyettesítési mintája révén, ha E egy polihalogénezett aromás gyűrű.

Arra is mód van, hogy fluoreszcens címkéket alkalmazzunk. Míg a fluoreszcens címkék önmagukban nem elegendők az állapotok jelentős számának és egyidejűleg a választási lehetőségek jelentős számának meghatározására, amelyekre az előzőekben utaltunk, ha azonban a fluoreszcens címke molekulákat C vagy C' variációi alapján választjuk szét, egyedileg meghatározhatjuk a címkéjüket fluoreszcenciájuk révén.

Az egy adott gyöngyhöz kapcsolódó címkék elegye lehasítható és elsődleges elválasztásnak tehető ki, majd célszerű az egyes címkék külön-külön való meghatározása. Ha a címkék csoportját már elkülönítettük, az egyes címkéket sajátos funkciós csoportjaik és megkülönböztető jellemzőik alapján elemezhet-

jük. Az adott címkék kimutatására különböző eljárások használhatók, köztük az autoradiográfiás eljárás vagy szcintillációs számlálás, elektronbefogásos detektálás, negatív- vagy pozitív-ion tömegspektroszkópia, infravörös spektroszkópia, ultraibolya spektroszkópia, elektron spin rezonancia spektroszkópia, fluoreszcenciás meghatározás és hasonló.

Egy másik kompozíció legalább hat különböző markerrel bírhat, amelyek egy kitben vagy egy közös közegben együtt szerepelnek, mindegyik marker egy megkülönböztethető egységgel bír, amelyik lényegében kémiaiilag inert, ezek egymástól molekulatömegükben különböznek, a markerek képlete:

$$(1) \Lambda - \{\Delta-(T)_\alpha \text{ vagy } (T)_\alpha-\Delta \text{ vagy } \Delta^1-(T)_\alpha-\Delta^2\}$$

ahol Λ egy kapcsolóegység, amely egy ezt az egységet a szilárd hordozóhoz kötő funkciós csoporttal, és egy a szilárd hordozótól való elválasztásra szolgáló funkciós csoporttal bír, amely utóbbi része lehet az előbbi, a kapcsolóegységet a szilárd hordozóhoz kötő funkciós csoportnak;

Δ egy megkülönböztethető csoport, amely lehetővé teszi, hogy az egyes markereket más markerektől a fluoreszcenciától eltérő, más fizikai jellemzőjük alapján különböztethessük meg, így egy marker készlet áll rendelkezésünkre, amely lehetővé teszi a többlépéses szintézis eljárás kódolását, és magában foglal minden olyan, a lehasítás után megmaradó funkciós csoportot, amely előzetesen a kapcsolóegységhez kötődött;

Δ^1 és Δ^2 a megkülönböztethető csoport részei, amelyek együtt egy megkülönböztethető csoportot határoznak meg, és ha egymással összekapcsolódnak, akkor Δ definíciójába esnek;

T jelentése kimutatható csoport, amely a megkülönböztethető csoporthoz kapcsolódva lehetővé teszi a marker alacsony mennyiségének kimutatását, ahol a kimutatható csoport a kitben a markeren van jelen, vagy később adható a

megkülönböztethető csoporthoz, és ha a kapcsolóegységhez kötődik, magában foglal minden, a lehasítás után visszamaradó funkciós csoportot, amely korábban a kapcsolóegységgel volt kapcsolatban;

és α értéke 0 vagy 1, jelölve, hogy a kimutatható csoport jelen van vagy nincs jelen;

$$(2) \text{ss}-(\Lambda'-\{\Delta-(T)_{\alpha} \text{ vagy } (T)_{\alpha}-\Delta \text{ vagy } \Delta^1-(T)_{\alpha}-\Delta^2\})_{\beta}$$

ahol a szimbólumok jelentése az előzőekben megadott a következők kivételével: ss jelentése szilárd hordozó; Δ^1 egy a hordozóhoz (ss) kovalensen kötött kapcsolóegység; és β egy minden szilárd hordozóhoz rendelt egész szám, és értéke legalább 6, szokásosan nem több, mint mintegy 30;

$$(3) \Lambda''-\{\Lambda''-(T)_{\alpha} \text{ vagy } (T'')_{\alpha} - \Delta \text{ vagy } \Delta^1 - (T)_{\alpha}-\Delta^2\}$$

ahol minden szimbólum jelentése az előzőekben megadott, kivéve a következőket:

Δ'' jelentése hidrogénatom vagy fotolitikus hasítás, elimináció vagy más, a szilárd hordozóról való lehasítást eredményező kémiai reakció után a kapcsolóegységből visszamaradó maradék;

Δ'' vagy Δ^1 jelentése Δ vagy Δ^1 vagy egy módosított Δ vagy Δ^1 , amelyek a markernek a szilárd hordozóról való lehasítása eredményei;

T'' jelentése T vagy módosított T , amely a markernek a szilárd hordozóról való lehasításának eredménye;

$$(4) T_{\alpha}-\Lambda'''-\{\Delta''-(T)_{\alpha} \text{ vagy } (T'')_{\alpha}-\Delta \text{ vagy } \Delta^1-(T)_{\alpha}-\Delta^2\}$$

ahol a szimbólumok jelentése az előzőekben megadott, és Λ''' jelentése vegyértékkötés vagy a kapcsolóegységnek T -hez való kapcsolódást követően megma-

radó része; azzal a további megkötéssel, hogy az α helyettesítők közül csak egynek lehet az értéke 1.

Vizsgálati módszerek

A termék érdeklődésre számottartó jellemzőinek meghatározására a vizsgálati módszerek és eljárások széles köre használható.

Gyakran a gyöngyök szkrínelésénél egyetlen gyöngyöt alkalmazunk vagy gyöngyök elegyeit vizsgáljuk, és meghatározzuk, hogy a gyöngy vagy az elegy mutat-e aktivitást. Így az elegy tartalmazhat 10, 100, 1000 vagy ennél több gyöngyöt. Ily módon a vegyületek nagy csoportja gyorsan szkrínelhető, és vegyületek kisebb csoportjaira osztható.

Az egyik eljárás az, amelyben azt vizsgáljuk, hogy az adott termék kötődik-e egy sajátos biomolekulához, például egy receptorhoz. A receptor lehet egyetlen molekula, egy mikroszómához vagy sejthez kötődő molekula vagy hasonló. Ha az agonista aktivitást vizsgáljuk, kívánatos lehet intakt organizmusok vagy sejtek alkalmazása, ahol a vizsgált termék kötődésére adott választ mérhetjük. Egyes esetekben célszerű lehet a terméknek a gyöngyről való lehasítása, különösen célszerű ez akkor, ha az érdeklődésre számottartó jellemző egy jel átvitelével kiváltott fiziológiás aktivitás. A sejt-válasz kimutatására különböző eszközök léteznek, például a mikrofiziométer, amely a Molecular Devices, Redwood City, CA, US terméke. Ha a kötődést vizsgáljuk, alkalmazhatunk jelzett receptort, ahol a jel egy fluoreszcens anyag, egy enzim, egy radioizotóp vagy hasonló, és a receptornak a gyöngyön lévő vegyülethez való kapcsolódását vizsgálhatjuk. Más megoldás szerint egy antitestet köthetünk a receptorhoz, ahol az antitest jelzett, miáltal a jel megsokszorozható, és elkerülhető az érdeklődésre számottartó receptor megváltozása, ami érinthetné az érdeklődésre számot tartó termékhez való kötődését. A kötődést vizsgálhatjuk egy a receptorhoz kötött ligandum kicserélésével is, ahol a ligandumot egy kimutatható jellel jelezzük.

Egyes esetekben végezhetünk kétlépéses szkrínélést is, ahol az első lépésben a kötődést alkalmazzuk mint elsődleges szkrínélést, majd másodlagos szkrínélésként egy élő sejt iránt való biológiai aktivitást vizsgáljuk. Rekombináns eljárások alkalmazásával nagymértékben változtathatjuk a sejtek genetikai eredetű képességeit. Ezáltal létrehozhatunk exogén géneket vagy exogén transzkripciós regulátor szekvenciákat, hogy egy felületi membrán proteinhez felületéhez való kötődés egy észlelhető szignált, például egy intracelluláris szignált adjon. Például bevihetünk egy leuko (színtelen) színezéket a sejtbe, ahol egy enzim a leuko színezéket egy színes terméké, különösen fluoreszcens terméké alakítja, amely enzim egy felületi membránhoz való megfelelő kötés révén fejeződik ki, mint például a β -galaktozidáz és a digalaktozidil-fluoreszcein. Ily módon, az adott sejtnek vagy sejteknek egy adott részecskével való kapcsolása révén a sejt fluoreszcens természete meghatározható FACS alkalmazásával, és így az aktív vegyületeket hordozó részecskék azonosíthatók. Különböző eljárásokat alkalmazhatunk annak biztosítására, hogy a részecske a sejthez kötött maradjon, még akkor is, ha a termék a részecskéről szabaddá válik. Például, alkalmazhatunk egy felületi membrán proteinnel szembeni antitesteket a részecskén, például köthetünk avidint a sejt felszínéhez és biotin lehet jelen a részecskén, stb.

A vizsgálatokat reakciólépésenként végezhetjük egyedi részecskék vagy részecskék csoportjai vagy ezek kombinációi alkalmazásával. Például kombinatórikus szintézis elvégzését követően mintegy 50 - 10 000 részecskét külön reakcióedényekbe különíthetünk el. Mindegyik edényben, azaz minden részecskéről a részecskén kötött termék egy részét szabaddá tesszük. A frakcionált lehasítás a termékeknek a részecskéhez való különböző kötődése folytán vagy korlátozott mennyiségű reagens alkalmazása révén, a körülmények megválasztása következtében vagy hasonló tényezők folytán valósítható meg, így a részecskénként szabaddá váló termék molekulák átlagos száma kisebb lesz,

mint a részecskékhez kötött termék molekulák összes száma. Így kis térfogatban nyerjük a termék elegyet. Ezt az elegyet ezután kötődési vizsgálatra használhatjuk, ahol a kötődés egy ismert kötődő ligandum receptorhoz való kötődésének gátlásában, egy sejt metabolikus folyamatának aktiválásában vagy gátlásában vagy hasonló jelenségekben nyilvánul meg. A kötési aktivitás kimutatására különböző vizsgálati körülményeket alkalmazhatunk, amint azt az alábbiakban ismertetjük. Ha egy csoport aktívnek bizonyul, az egyedi részecskéket szkrínelhetjük az előbbivel azonos vagy attól eltérő vizsgálati módszerrel. Természetesen végezhetünk három- vagy néglépéses eljárást is, ahol a nagy csoportokat kisebb csoportokra osztjuk, stb., és végül egyetlen részecskét szkrínelünk. Minden esetben a részecskékhez kötődött termékek egy részét tesszük szabaddá, és a kapott elegyet megfelelő eljárással vizsgáljuk. A vizsgálati eljárások lehetnek azonosak vagy különbözőek, a bonyolultabb és időigényesebb vizsgálatokat a későbbi vagy utolsó lépésben végezzük.

Méhsejtszerű (lyukacsos) térbeli elrendezést is alkalmazhatunk, ahol a részecskéket egy lyukacsos lemezen osztjuk el, az egyes lyukakba 0 vagy 1 részecskét helyezve.

A találmány szerinti módszer alkalmazható katalitikus jelleggel bíró vegyületek fellelésére, például hidrolitikus aktivitásúakéra, így például észteráz aktivitással bírókéra. Erre a célra gyöngyöket ágyazhatunk be olyan félszilárd mátrixba, amelyet diffúzióra képes teszt szubsztrátok vesznek körül. Ha a katalitikus aktivitást helyileg tudjuk kimutatni olyan eljárásokkal, melyek nem zavarják a mátrixot, például a lehasadt szubsztrát folytán megváltozó fényabszorpcióval vagy fluoreszcencia kimutatásával, a katalitikus aktivitással bíró zónában lévő gyöngyöket izoláljuk, és címkéiket dekódoljuk.

Katalitikus aktivitás helyett gátló vagy aktiváló aktivitással bíró vegyületek is kifejleszthetők. Kereshetünk olyan vegyületeket, amelyek egy enzimet gátlónak vagy aktiválóknak, vagy egy kötődési reakciót blokkolnak. Annak érdekében,

hogy az enzimgátló gyöngyöket, azaz a kívánt jellemzővel bíró termékkel kapcsolódó gyöngyöket kimutathassuk, előnyös, ha a terméket a gyöngyökről le tudjuk hasítani, és képessé tudjuk tenni ezeket arra, hogy a félszilárd mátrixba vagy a szűrőre diffundáljanak, ahol ez a gátlás, aktiválás vagy blokkolás észlelhető. Azokat a gyöngyöket, amelyek egy látható tett vagy másként kimutatott gátlási, aktiválási vagy blokkolási zónát képeznek, ezután kiemeljük, és címkéiket dekódoljuk. Ebben az esetben szükséges, hogy a szintetizált termék egy része lehasítható kötésekkel kapcsolódjon a gyöngyökhöz, előnyösen egy fotolabilis kötéssel, és emellett a címkék egy részének a gyöngyhez kapcsoltan kell maradniuk, majd a gyöngyök kiemelése után az előbbtől különböző eljárással lehasíthatóknak kell lenniük.

Alkalmazhatunk dialízis membránt, ahol a gyöngyök egy rétegét az izotóppal jelzett ligandum/receptor pár rétegétől elválasztjuk. A gyöngy-réteget ultrahibolya fénnel besugározhatjuk, és a gyöngyről szabaddá vált termék a ligandum/receptor pár rétegbe diffundál, ahol a radioaktív izotóppal jelzett ligandum a vegyületnek a receptor iránti affinitásával arányos mértékben szabaddá válik. Az izotóppal jelzett ligandum ezután visszadiffundál a gyöngy-rétegbe. Mivel az izotóp jelzés a gyöngy közelében lesz, a radioaktív sugárzást mutató gyöngyöket kell elemezni.

Különös érdeklődésre tart számot az olyan vegyületek fellelése, amelyek biológiai aktivitással bírnak. Esetenként olyan terméket kívánatos találni, amely élő sejtekre hat, például mikróbák szaporodását gátolja, vírusok szaporodását gátolja, gén kifejeződést gátol vagy aktivál. A gyöngyökön lévő ilyen vegyületek szkrínelése könnyen megvalósítható, például a gyöngyöknek egy félszilárd közegbe való beágyazásával, majd a termék molekulák könyvtárának a gyöngyökről való szabaddá tételével (miközben a gyöngyök visszamaradnak), és a vegyületeket a környező közegbe diffundáltatva. A hatás például mint összefüggő baktériumtenyészetben jelentkező plakk észlelhető. A szaporodás gátlási vagy

aktiválási vagy gén kifejeződésre való hatással jellemzett zónák láthatóvá tehető, és a zóna közepén elhelyezkedő gyöngyök kiemelhetők és elemezhetők.

Egy másik vizsgálati rendszerben géleket alkalmazunk, amelyekben az arra hatást gyakorló molekulák vagy rendszerek (például sejtek), amelyekre hatást kell kifejteni, lényegében homogén eloszlással vannak beágyazva. Különböző gélesítőszereket alkalmazhatunk, például poliakrilamidot, agarózt, zselatint, stb. A részecskéket ezután a gélen úgy terítjük el, hogy elegendően elkülönüljenek egymástól ahhoz, hogy egyedileg kimutathatók legyenek. Ha a kívánt termék hidrolitikus aktivitással bír, a gélben egy olyan szubsztrátot alkalmazunk, amely fluoreszcens terméket eredményez. A gél fluoreszcencia tekintetében szkrínéljük, és mechanikusan válogatjuk ki a fluoreszcens jelhez tartozó részecskéket.

A gélbe ágyazhatunk sejteket, hogy egy sejtenyészetet hozzunk létre. A részecskéket ezután a fent leírtak szerint terítjük el. Természetesen helyezhetünk egy rácsot a gélre, és ezzel meghatározhatunk olyan helyeket, amelyeken egy részecske van, vagy nincs részecske. Ha a kimutatandó tulajdonság a citotoxicitás, a terméket lehasítjuk, elegendő ideig inkubáljuk, majd a gélen olyan festéket oszlatunk el, amely az élő sejteket mutatja ki. Ezzel megkülönböztethetővé válnak a festéket abszorbeáló vagy nem abszorbeáló sejtek.

Amint azt az előzőekben ismertettük, sejteket géntechnikai eljárással úgy alakíthatunk át, hogy kimutassák, ha egy jel transzdukciója megtörtént. Számos olyan receptor van, amelyeknél ismert, mely gének kifejeződését aktiválják. Ha egy exogén gént egy olyan helyre inszertálunk, ahol a gén az ilyen receptorért felelős promotor transzkripciósz kontrollja alatt áll, egy olyan enzimet hozhatunk létre, amely kimutatható jelet, például fluoreszcens jelet ad. Ezután a fluoreszcens sejttel vagy sejtekkel kapcsolt részecske a reakció történetére nézve elemezhető.

Könyvtárak és kitek

A célszerűség kedvéért könyvtárakat és/vagy kiteket készíthetünk. A könyvtárak azokat a részecskéket tartalmazzák, amelyekhez termék és címke könyvtárak tartoznak, úgy, hogy a gyöngyhez kötött termékek szkrínélhetők legyenek, vagy a könyvtárak a gyöngyökről elkülönített termékeket tartalmazzák egyedileg vagy 10 és 100 vagy 1000 tagból állóan szkrínélés céljára. A kitek különböző olyan reagenseket tartalmaznak, amelyeket a könyvtár szintézis során címkeként alkalmazunk. A kitek általában legalább négy, szokásosan öt különböző vegyületből állnak, amelyeket különböző tartályokban tartunk, szokásosabban legalább 10 vegyületet tartalmaznak, de tartalmazhatnak 100 külön szerves vegyületet is, szokásosan nem tartalmaznak többet, mint mintegy 100 vegyületet, még szokásosabban nem tartalmaznak többet, mint mintegy 36 különböző vegyületet. A bináris meghatározásokhoz a kimutatás módja szokásosan azonos, mint az elemzésnél az ilyen vegyületekre használt, így ez lehet egy közös kromofór, egy közös kimutatható atom, stb. Minden azonosítót előre készítünk, mindegyik megkülönböztethető összetétellel bír, amelyek egy választási lehetőséget és egy lépést kódolnak, és amelyek fizikai méréssel meghatározhatók, és csoportokat foglalnak magukban vagy a vegyületek mindegyike legalább egy közös funkciós csoporttal bír.

Más módon, a kit olyan reaktánsokat tartalmazhat, amelyek kombinálásával különböző azonosítók nyerhetők. Ebben a helyzetben a kit több egymástól elkülönített első funkciós, gyakorta bifunkciós szerves vegyületet tartalmaz, általában négyet vagy többet, általában a szintézis minden lépéséhez egyet, a funkciós csoporttal bíró szerves vegyületeknek van egy azonos funkciós csoportjuk, és legalább egy meghatározó jellemző alapján megkülönböztethetők. Továbbá, legalább egy, szokásosan legalább két olyan második szerves vegyületet tartalmaznak, amely a funkciós csoporttal bíró szerves vegyület funkciós csoportjával reakcióra képes, és olyan elegyek képzésére képes, amelyek

megkülönböztethetők az egyes második szerves vegyületek mennyisége alapján. Például alkalmazhatunk egy glikolt, aminosavat vagy glikolsavat, ahol a különböző bifunkciós vegyületeket a jelenlévő fluor- vagy klóratomjaik száma alapján különböztetjük meg, és ezzel határozzuk meg a lépést, és alkalmazhatunk jód-metánt, ahol a jód-metánok egy része nem tartalmaz radioizotópot, egy másik része ^{14}C izotópot tartalmaz, míg egy további rész egy vagy több ^3H izotópot tartalmaz. Két- vagy többféle jód-metán alkalmazásával elegyek olyan változatait hozhatjuk létre, amelyeket radioaktív sugárzásuk alapján határozhatunk meg. Más módon, számos más második szerves vegyületet alkalmazhatunk, amelyek bináris kódban használhatók.

Amint azt az előzőekben ismertettük, a címkéket szabaddá tételük után egy olyan molekulával reagáltathatjuk, amely kimutatásukat lehetővé teszi. Ily módon a címkék egész egyszerűek lehetnek, ugyanazzal a funkciós csoporttal kapcsolódhatnak a részecskéhez, mint a kimutatható egységhez. Például, egy hidroxil-karboxil-csoporthoz való kötődés esetén a hidroxilcsoport szabaddá tehető, majd a detektálást lehetővé tevő molekulával észterezhető vagy éterezhető. Például fluor- és klór-alkil-csoportok kombinációinak alkalmazásával a bináris mód mellett a fluor- és/vagy klóratomok száma meghatározhatja a választási lehetőségeket, míg a szénatomok száma jelölheti a lépést.

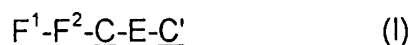
Az érdeklődésre számot tartó vegyületek körébe tartoznak olyan megkülönböztető csoportok, mint a C, amely egy helyettesített orto-nitro-benzil-oxi-csoporthoz, indanil-oxi- vagy fluorenil-oxi-csoporthoz vagy más olyan csoporthoz kapcsolódik, amely fotolitikus vagy más szelektív lehasítást tesz lehetővé. A megkülönböztető csoport lehet egy 2 - 20 szénatomos alkiléncsoport, poli(alkilén-oxi)-csoport, különösen 2 - 3 szénatomos alkilén-oxi-csoport, 4 - 8 szénatomos cikloalkilcsoport, 2 - 20 szénatomos halogénezett alkilcsoport, különösen fluor-alkil-csoport, egy vagy több aromás gyűrű és hasonló, ahol a

megkülönböztető csoport egységeinek és/vagy helyettesítőinek különböző számaival teszi lehetővé a különböző csoportok megkülönböztetését.

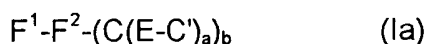
Egyes részecskék vagy részecskék sokasága kereskedelmileg forgalmazható, különösen ha a részecske (részecskék) érdeklődésre számot tartó jellemzővel bírnak. A kapcsolt címkék alapján a reakció története dekódolható. Ezután a termék nagyléptékben állítható elő. Ha a reakció történet egyértelműen meghatározza a szerkezetet, a termék nagyüzemi léptékben való előállítására azonos vagy analóg reakciósor alkalmazható. Ha a reakció történet nem határozza meg egyértelműen a szerkezetet, a reakció történet nagy léptékben megismételhető, és a kapott termék szerkezet elemzésre használható. Egyes esetekben előfordulhat, hogy a kombinatorikus szintézis reakciósora a termék nagy léptékű előállításánál nem az előnyös módszer.

A találmány egyik megvalósítási módja egy kit, amely egymástól elkülönített szerves vegyületek sokaságát tartalmazza, amelyek mindegyikére jellemző, hogy megkülönböztethető összetétellel bír, és legalább egy bit megkülönböztethető információt kódol, fizikai méréssel meghatározható, és minden vegyület legalább egy közös funkciós csoporttal bír. A kit egy előnyös megvalósítási módja szerint legalább négy különböző, funkciós csoporttal bíró szerves vegyületet tartalmaz.

Még előnyösebb az olyan kit, amelyben az említett, funkciós csoporttal bíró szerves vegyületek az



vagy az



általános képleteknek megfelelőek, ahol F^1-F^2 egy kapcsolóegység, amely lehetővé teszi a szilárd részecskehez való kapcsolást és arról való lehasítást; és $\underline{C}-E-\underline{C}'$ egy címke tag, amely egy fizikai méréssel meghatározható, különösen, ha

a fenti funkciós csoporttal bíró szerves vegyület a metilén-csoportok és/vagy halogénatomok, nitrogén- vagy kénatomok számában különbözik.

Ugyancsak előnyös, ha a kit egy $\underline{C-E-C'}$ résszel bír, amely fotokémiaiag eltávolítható, vagy ha a kit, amely egy $\underline{C-E-C'}$ résszel bír, amely oxidatív, hidrolitikus, termolitikus vagy redukzív úton eltávolítható.

A találmány egyik megvalósítási módja szerint egy olyan kompozícióra vonatkozik, amely legalább hat különböző komponenst tartalmaz, és minden komponens egy megkülönböztethető egységgel bír. A komponensekre az jellemző, hogy minden egység lényegében kémiaiilag stabil vagy inert, és mindegyik egy a többi egységtől megkülönböztethető, azonosítható jellemzővel bír. Minden egység egy aktív funkciós csoporttal bíró kapcsolóegységhez kötődik, amely a kapcsolóegységen át kovalens kötés képzésére képes az egyedileg elkülöníthető szilárd felületekkel, vagy egy olyan csoporthoz kapcsolódik, amely egy nmól alatti mennyiségben kimutatható, azzal a megkötéssel, hogy ha az egység a kapcsolóegységhez kapcsolódik, a komponensek fizikailag elválaszthatók. Előnyösen a szilárd hordozók gyöngyök. A találmány egyik megvalósítási módja szerint minden komponens különböző vegyületek molekuláit tartalmazza egyedi, elválasztható szilárd felületekhez kötve. Előnyösen a találmány szerinti egységek egy homológ sort és/vagy helyettesítési sorokat határoznak meg egy mag-molekulán.

A találmány tárgyát képezi továbbá egy legalább 100 egyedi szilárd hordozót tartalmazó vegyület könyvtár. Ebben a vegyület könyvtárban minden szilárd hordozó bír: (1) egy a szilárd hordozóhoz kötött egyedi vegyülettel, amely a hordozóhoz kötött legfőbb vegyület; és (2) számos címkével, például nem-szekvenálható címkékkel, ahol a címkék egyedi címkemolekulák, amelyek fizikailag megkülönböztethetőek és fizikailag elkülöníthetőek, és oly módon helyettesítettek, hogy nanomólnál kisebb mennyiségben is kimutathatóak, vagy egy olyan funkciós csoporttal bírnak, amely egy helyettesítőhöz kötődve mintegy

nanomól alatti mennyiséget is kimutathatóvá tesz. Előnyösen a vegyület-könyvtárban minden szilárd hordozó legalább mintegy 6 címkével bír. Egy másik megvalósítási mód szerint a vegyület-könyvtárban a címkék egy bináris kódot határoznak meg, amely a szilárd hordozón szintetizált vegyület előállítására alkalmazott szintézisutat kódolja.

A találmány tárgyát képezi továbbá egy olyan szintézisút meghatározására szolgáló eljárás, amelyet elkülöníthető, fizikailag különböző és egy bináris kódot meghatározó címkék sorozata kódol. Ennél a módszernél legalább két címkét alkalmazunk a szintézisút minden lépésének meghatározására, így legalább hat címke van jelen. Az eljárás lépései: a címkék fizikai különbözőségük alapján való elkülönítése és kimutatása. A szintézisutat a különböző címkék bináris kódja határozza meg.

A találmány szerinti vegyületek analgetikumokként és/vagy gyulladáscsökkentő megbetegedések kezelésére szolgálnak, különösen a neurokinin 1/bradikinin receptorok antagonistáiként ható azatriciklusos vegyületek esetén. A benzodiazepin könyvtár tagjai izomrelaxánsként és/vagy trankvillánsként és/vagy szedatívumként lehetnek hasznosak. A 23,5 millió vegyes amid könyvtár (6. példa) magas vérnyomás vagy Raynaud-szindróma kezelésében lehet hasznos endotelin antagonistaként való hatása révén.

1. Példa

Peptid könyvtár

Annak érdekében, hogy 10^9 különböző szintézist kódolhassunk, 30 különböző olyan azonosítót kell készíteni, amelyek egymástól például kapilláris gázkromatográfiás eljárással elválasztható egyedi címkéket hordoznak. Kisebb számú szintézis kódolására kevesebb azonosítót kell használni. A címkéket szokásosan kereskedelmi forgalomban kapható vegyszerekből készítjük, amint az az alábbi bemutatásból látható. Az ω -hidroxil-alkéneket, amelyekben a metilén-csoportok száma 1 és 5 közötti, egy jód-perfluor-alkánnal reagáltatjuk,

amelyben a -CF_2 -csoportok száma 3, 4, 6, 8, 10 és 12. Szabadgyökös katalizátor alkalmazásával a jód-perfluor-alkán a kettőskötésre adicionálódik, majd a jód hidrogénnel és egy katalizátorral vagy ón-hidriddel redukálható. Ily módon 30 különböző címkét állíthatunk elő. A kémiai eljárást Haszeldine és Steele [J. Chem. Soc. (London), 1199 (1953)] és Brace [J. Fluor. Chem., 20, 313 (1982)] ismertetik. Az erősen fluorozott címkéket könnyen kimutathatjuk elektronbefogás révén, gázkromatográfiás retenciós ideik különbözőek, így könnyen elválaszthatók kapilláris gázkromatográfiás eljárással, és fluorozott szénhidrogén jellegük folytán kémiaailag inerteek, mindegyik egy hidroxil funkciós csoportot hordoz, amely részecskékhez való közvetlen vagy közvetett kapcsolódásra alkalmassá teszi.

A címkéket (amelyeket a továbbiakban T1-T30 szimbólummal jelölünk) a vegyület prekursorokhoz való kapcsolást megelőzően oly módon aktiváljuk, ami megfelel a kombinatorikus szintézisben alkalmazandó kémiai köztitermékeknek. A "megfelelő" megjelölésen azt értjük, hogy olyan funkciós csoportot viszünk be, amely egy kémiai kötéssel való gyors kapcsolódást tesz lehetővé egy vegyület-prekursorhoz vagy magához a gyöngy mátrixhoz. Az aktiválási eljárást mind a 30 különböző címkénél elvégezzük, és hagyjuk, hogy ezek a címkék vagy közvetlenül, vagy közvetve a kombinatorikus vegyület szintézis köztitermékeihez kötődjenek. Például, kapcsolásra alkalmazhatunk egy karbonsavszármazékot, és aktiváláskor a kapott karboxilcsoport kötődik a részecskéhez.

Egy peptid természetű vegyület, vagy más, amidkötésű szerves fragmentumot tartalmazó szerkezet kombinatorikus szintézise esetén a kódolási eljárásnak karbonsavtartalmú kapcsolóegység hozzáadását kell magában foglalnia. Például, a címkét o-nitro-p-karboxi-benzil-bromid terc-butil-észteréhez kapcsoljuk nátrium-hidrid jelenlétében. Az észtert ezután híg trifluor-ecetsavval hidrolizáljuk.

A kombinatorikus vegyület szintézis minden lépésében aktivált azonosítókat kapcsolunk a köztitermékekhez. Az aktivált azonosító orto-nitro-benzil-éter részét hasznosítjuk a kombinatorikus szintézis befejezése és a legkívánatosabb vegyületek kiválasztása után a címkék fotokémiai lehasítására. A lehasított címkéket ezután elektronbefogásos detektálással egybekötött kapilláris gázromatográfiás eljárással dekódoljuk, így megkapjuk a kiválasztott vegyület előállításának szintézis lépései történetét.

Bár a vegyületek kombinatorikus könyvtárainak előállítására szinte korlátlan kémiai lépés és eljárás használható, a kódolási eljárás alkalmazásának példaként kombinatorikus peptid könyvtár előállítását mutatjuk be α -aminosavak kapcsolásának alkalmazásával. A bemutatásra kerülő példában pentapeptidek könyvtárának előállítását ismertetjük, amelyek 16 különböző aminosav minden kombinációját magukban foglalják az egységek mind az öt helyzetében. Az ilyen könyvtárak 16^5 tagúak. Ahhoz, hogy ennek a könyvtárnak minden tagját egyedileg kódoljuk, 20 - az előzőekben ismertetett - lehasítható címke (T1-T20) szükséges.

A kódolt könyvtár előállítására nagyszámú ($>10^6$) olyan típusú polimer gyöngyből indulunk ki, amelyet a Merrifield szilárdfázisú szintézisnél alkalmaznak, és ezeket szabad aminocsoportokkal funkcionalizáljuk. A gyöngyöket 16 egyenlő részre osztjuk, és az egyes részeket 16 különböző reakcióedénybe osztjuk (egy-egy edényt a különböző α -aminosavak adagolására). Ezután kis mennyiségű (például 1 mól%) azonosítót adunk az aminosavszármazékok (például Fmoc aminosavak) mindegyikéhez, amelyeket a kombinatorikus szintézis első lépésében kapcsolni kívánunk. Az alkalmazott azonosítókba beépített címkék sajátos kombinációja egy egyszerű bináris kódot képvisel, amely a szintézis első lépésében alkalmazott aminosavakat azonosítja. A beadagolt 16 aminosavat az 1 - 16 számokkal jelöljük, és minden ilyen számot az első négy címke (T1-T4) kombinációi kémiaiailag jellemeznek. A 2. és 3. táblázatokban egy

jellemző kódoló rendszert mutatunk be, amelyben a címke jelenlétét vagy hiányát 1, illetve 0 jelöli. A T betű jelölheti a címkét vagy egy azt magában foglaló azonosítót.

2. Táblázat

Egy jellemző kódolórendszer

Az első lépésben adagolt aminosav	T4	T3	T2	T1
# 1 (például glicin)	0	0	0	0
# 2 (például alanin)	0	0	0	1
# 3 (például valin)	0	0	1	0
# 4 (például szerin)	0	0	1	1
# 5 (például treonin)	0	1	0	0
# 16 (például triptofán)	1	1	1	1

Ezt követően szokásos diciklohexil-karbodiimides (DCC) peptidkapcsolást végzünk mind a 16 reakcióedényben, amelyben Fmoc aminosavakat alkalmazunk az előzőekben ismertetett kódoló aktivált azonosítók kis mennyiségével elegyítve. A kapcsolás során az aminosavak, valamint az azonosítók kis mennyisége (például 1 %) kémiaiilag kötődik a gyöngyökhöz kapcsolt köztitermékekkel.

Ezt követően a gyöngyöket gondosan elegyítjük, és ismét 16 részre osztjuk. Minden részt ismét külön-külön reakcióedénybe helyezünk. Megfelelő mennyiségű új azonosítókkal (T5-T8) elegyített második aminosavat adunk minden edénybe, és az előzőekben leírt módon DCC kapcsolást végzünk. A beépített címkék (T5-T8) adott elegye a kombinatorikus szintézisnek ebben a

második lépésében ismét egyszerű bináris kóddal képviseli a beépített aminosavakat.

3. Táblázat

Egy jellemző kódolórendszer

Az első lépésben adagolt aminosav	T8	T7	T6	T5
# 1 (például glicin)	0	0	0	0
# 2 (például alanin)	0	0	0	1
# 3 (például valin)	0	0	1	0
# 4 (például szerin)	0	0	1	1
# 5 (például treonin)	0	1	0	0
.				
.				
# 16 (például triptofán)	1	1	1	1

A 2. lépés 16 kapcsolásának befejezése után a gyöngyöket ismét elegyítjük, és újabb 16 részre osztjuk a szintézis harmadik lépésében való alkalmazáshoz. A 3. lépésben a T9-T12 címkéket alkalmazzuk a gyöngyökhöz kapcsolt harmadik aminosavak kódolására az 1. és 2. lépéseknél ismertetett módszer szerint. A harmadik kapcsolások befejezése után az eljárást még kétszer ismételjük meg, a negyedik aminosavaknál a T13-T16, az ötödik aminosavaknál a T17-T20 címkéket alkalmazva, így gyöngyökhöz kötve 1 048 576 különböző peptidből álló teljes könyvtárat nyerünk.

Bár a fenti gyöngyök vizuálisan nem megkülönböztethetőek, bármely gyöngyöt kiválaszthatunk (például a hozzájuk kötött peptidek vagy egyéb cél-molekulák érdeklődésre számot tartó kémiai vagy biológiai tulajdonságai alapján való kiválasztással), és ennek szintézistörténetét a hozzá kapcsolódó címkék lehasításával és dekódolásával ismerhetjük meg.

A címkék lehasításának pontos módja attól az adott kapcsolóegységtől függ, amelyet a címkének a célvegyület kombinatorikus szintézise köztermékéhez való kapcsolására alkalmaztunk. A fenti példában az orto-nitro-benzil-karbonát-kötéseket - amelyekről ismert, hogy ≈ 300 nm hullámhosszúságú fényenél instabilak [Ohtusaka és munkatársai, J. Am. Chem. Soc. 100, 8210 (1978)] a gyöngyök fotokémiai besugárzásával lehasítjuk. Ezután a címkéket a gyöngyökről szabad oldatba diffundáltatjuk, majd az oldatot érzékeny elektronbefogásos detektorral ellátott kapilláris gázkromatográfra injektáljuk. Mivel a címkék (T1-T20) gázkromatográfáról való lejövetelének sorrendjét és retenciós idejüket standard körülmények mellett előzetesen meghatároztuk, a T1-T20 címkék bármelyikének jelenlétét vagy hiányát közvetlenül meghatározhatjuk a gázkromatogramról a rájuk jellemző csúcs jelenléte vagy hiánya révén. Ha 1 és 0 a T1-T20-címkékre jellemző csúcsok jelenlétét vagy hiányát jelöli, a kromatogram egy 20-jegyű bináris számnak tekinthető, amely egyedileg képes jellemezni minden lehetséges szintézist, amely a peptid könyvtár egyes tagjainak létrejöttéhez vezet. A halogénezett szénhidrogén címkék alkalmazása biztonságos, gazdaságos, és pikomolnál kisebb koncentrációban is kimutatható elektronbefogásos detektálással, ezek a jellemzők ezt a kapilláris gázkromatográfiai eljárást a célnak különösen megfelelő kódolási módszerré teszik.

A kódolási módszernek a fenti pentapeptid könyvtár esetén való alkalmazása példaként egy adott gyöngyöt fénnel sugárzunk be a címkék lehasítására, az oldhatóvá tett címkéket kapilláris gázkromatográfra injektáljuk, és az alábbi kromatogramot nyerjük ("csúcs" = vonal):

Jel	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	GC injektálás
Csúcs																					
Bináris	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	
Lépés	—5—				—4—				—3—				—2—				—1—				
AA	Tryptofán				Treonin				Szerin				Alanin				Valin				

A "jel" vonalak ábrázolják a gázkromatogramot, amelyen a T20-T1 csúcsok (|) találhatóak (megjegyezzük, hogy a beinjektálást az ábra jobb oldalán jeleztük, így a kromatogramot jobbról balra kell leolvasni). A "csúcs" vonal a címkéknek (T20-T1) a kromatogramon csúcsként való jelenlétét jelzi. A "bináris" vonal a csúcs jelenlétét (1) vagy hiányát (0) jelöli bináris számként. A "lépés" vonal a bináris számokat öt külön részre osztja, amelyek a szintézis öt különböző lépését jelölik. Végül, az "AA" vonal azt az aminosavat azonosítja, amelyet az egyes adott lépésekben adagoltunk, és amelyeknek az előző "bináris" vonalon látható bináris kódot adtuk.

2. Példa

Radioaktívan jelzett címkék

A következő példában az alkalmazott címkék lineáris alkil- α,ω -diolok monometil-éterei. A diol szénatomszáma $N + 2$, ahol N jelöli a lépést. A metilcsoport egy radioaktívan jelzett reagens, amely a $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ arányok 1/1 és m/1 közötti változatainak bármelyikével bír, ahol m a választási lehetőségek száma. A kettős radioaktív jelzés a címkében jelenlévő trícium pontos mennyiségi meghatározását teszi lehetővé. Tíz különböző alkilén-csoport és tíz különböző radioaktív jelzés arány alkalmazásával 10^{10} darab egyedi tíztágú címke-készlet hozható létre. A címkéket úgy kapcsoljuk, hogy először aktiválószerrel reagáltatjuk, például foszgénnel klór-formiáttá alakítjuk, majd az $\text{F}^1\text{-F}^2$ komponenssel reagáltatjuk. Ebben az esetben az $\text{F}^1\text{-F}^2$ komponens terc-butil-észterként védett o-nitro-p-karboxi-benzil-alkohol. Minden szintézislépés kivitelezésénél dezészterezett azonosítót adunk közvetlenül a gyöngyhöz, amely kovalens kötésű amin- vagy hidroxilcsoportokkal bír, így az aktivált savval szokásos kémiai eljárással, például karbodiimid kapcsolási módszerrel amidok vagy észterek jönnek létre. A szekvenciális szintézis végén a gyöngyöket sajátos

jellemzőik meghatározására különféle receptorokkal vagy enzimekkel szkrínéljük. A kívánt jellemzőt mutató gyöngyöket elkülöníthetjük, címkéiket lehasítjuk, és HPLC eljárással elválasztjuk, így egy sor glikol-monometil-étert nyerünk, amelyeket szokásos radioizotóp vizsgálati módszerekkel radioaktivitásuk tekintetében megvizsgálunk. Például, ha a HPLC oszlopról elsőként és másodikként eluálódó címkék $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ arányai 5:1, illetve 7:1, akkor az aktivitást mutató termék az 5-ös számú reagenssel szintetizálódott az 1. lépésben, illetve a 7-es számú reagenssel a második lépésben.

3. példa

2401 tagú peptid könyvtár

Az alkalmazott azonosítók 2-nitro-4-karboxi-benzil, O-aril-helyettesített ω -hidroxi-alkil-karbonátok, ahol az alkilcsoport 3 - 12 szénatomos, és az arilcsoport (A) pentaklór-fenil-csoport, (B) 2,4,6-triklór-fenil-csoport, vagy (C) 2,6-diklór-4-fluor-fenil-csoport. A címkék jelölése NAr, ahol N a metilén-csoportok száma mínusz 2, és Ar az arilcsoport. Így a 2A címke egy a pentaklór-fenil-csoporthoz oxigénatomon át kapcsolt butilén-csoportot jelent. Ezek a címkék könnyen meghatározhatók mintegy 100 fmol mennyiségben elektronbefogásos detektálással végzett gázkromatográfiás eljárással.

Ebben az esetben az elemzésnél a címke molekulákat gázkromatográfiás elúciójuk sorrendjében rendezzük. Így azt a címkét, amely leghosszabb ideig tartózkodik a gázkromatográfiás oszlopon - jelölése T1 - a bináris szintézis kód-szám legkevésbé jelentős bitjéhez kapcsoljuk, az ezt követő leghosszabb tartózkodási idejű címkét jelöljük T2-vel, ez képviseli a fontosságban következő bináris bitet, és így tovább. 0,2 mm x 20 m-es metil-szilikon kapilláris GC oszlop alkalmazásával 18 jól elvált címkét nyerünk, ahol a T1 - T18 címke a 10A, 9A, 8A, 7A, 6A, 5A, 4A, 3A, 6B, 2A, 5B, 1A, 4B, 3B, 2B, 1B, 2C, és 1C komponenseknek felel meg.

2401 peptidet tartalmazó kódolt kombinatorikus könyvtárat állítunk elő. Ennek a könyvtárnak az aminosav-szekvenciája N-XXXXEEDLGGGG-gyöngy, ahol az X változó egység jelentése D, E, I, K, L, Q vagy S (egybetűs kód). A négy glicin térkitöltő elemként szolgál a kódolt aminosavszekvencia és a gyöngy között. A kombinatorikus könyvtár egyik tagja a H₂N-KLISEEDL szekvencia, ami része annak a 10 aminosavból álló epitópnak, amelyről ismert, hogy kötődik a 9E10-hez, amely egy humán C-myc gén termék ellen irányuló monoklonális antitest. Ennek a könyvtárnak a kódolására három bináris bit elegendő, amely minden lépésben hét alternatív reagenst képvisel. A kód a következő: 001 = S, 010 = I; 011 = K; 100 = L; 101 = Q; 110 = E; 111 = D.

A könyvtár szintetizálásakor először a könyvtár konstans H₂NEEDLGGGG-gyöngy szegmensét szintetizáljuk 1,5 g 50-90 µ-os polisztirol szintézis-gyöngyön, amelyet előzetesen 1,1 mekv/g amino-metil-csoporttal funkcionizáltunk szokásos szilárdfázisú eljárás alkalmazásával, amely az oldallánc terc-butil-csoporttal és a főlánc Fmoc csoporttal való védelmén alapszik [Stewart és Young, "Solid Phase Peptide Synthesis", 2. kiadás, Pierce Chemical Co., 1984]. Az Fmoc védőcsoportok dietil-aminnal való eltávolítását követően a gyöngyöket hét 200 mg-os frakcióra osztjuk, és az egyes frakciókat külön-külön Merrifield szintézisedényekbe helyezzük, amelyek egyetlen rázógépre vannak helyezve. A hét edényben lévő gyöngyöket egymástól elkülönítve dolgozzuk fel a következők szerint (lásd a 3-1. táblázatban). Ebben a példában a T betű a címkét vagy a címkét tartalmazó azonosítót jelöli.

3-1. Táblázat

Edény száma	1. lépés	2. lépés	3. lépés	4. lépés
1.	1% T1	DIC, mosás	Fmoc(tBu)S, Anh.	mosás
2.	1% T2	DIC, mosás	FmocI, Anh.	mosás
3.	1% T1, T2	DIC, mosás	Fmoc(Boc)K, Anh.	mosás

Edény száma	1. lépés	2. lépés	3. lépés	4. lépés
4.	1% T3	DIC, mosás	FmocL, Anh.	mosás
5.	1% T1,T3	DIC, mosás	Fmoc(tritil)Q, Anh.	mosás
6.	1% T2,T3	DIC, mosás	Fmoc(terc-butyl)E, Anh.	mosás
7.	1% T1,T2,T3	DIC, mosás	Fmoc(tBu)D, Anh.	mosás

A fenti eljárás szerint az első lépésben felsorolt azonosítókból elegendő mennyiséget kapcsolunk karbonsavcsoportjuk révén diizopropil-karbodiimid alkalmazásával a megfelelő reakcióedényben lévő összes gyöngy szabad aminosocsoportjainak mintegy 1 %-át kitevő címkéhez. A gyöngyökön szabadon maradó aminosocsoportokat a 3. lépésben N-védett aminosavanhidridekhez kapcsoljuk. Metilén-kloridos, izopropanolos és N,N-dimetil-formamidos mosást követően a hét edényben lévő gyöngyöket elegyítjük, és gondosan keverjük. Ezen a ponton a könyvtár hét taggal bír.

Az Fmoc védőcsoport eltávolítása után (diethyl-amin) a gyöngyöket ismét hét edénybe osztjuk el, és az előzőek szerint járunk el, azzal az eltéréssel, hogy az előzőekben alkalmazott azonosítók helyett a második lépésnek megfelelő azonosítókat (T4-6) alkalmazzuk. Az eljárás további két alkalommal való megismétlésekor a T7-9, majd a T10-12 azonosítókat alkalmazzuk az előzőekben leírt módon, így a teljes, egyedileg kódolt, $7^4=2401$ különböző peptidből álló könyvtárat mindössze 12 azonosító alkalmazásával készítjük el.

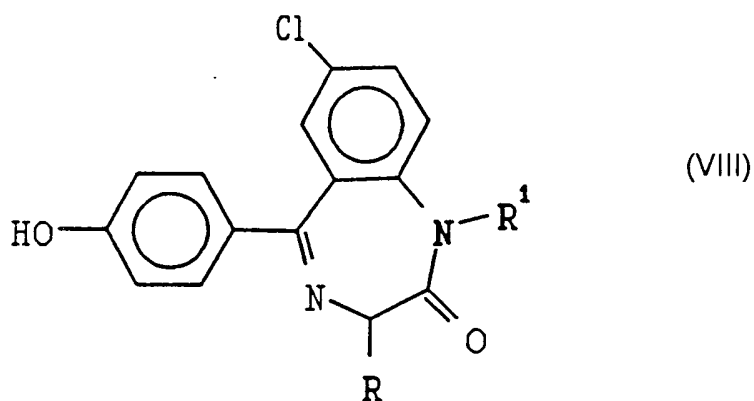
Ahhoz, hogy a szintézis kódot egyetlen kiválasztott gyöngyről leolvassuk, a gyöngyöt először kis centrifugacsőben 4 x 100 µl-es dimetil-formamid részletekkel mossuk, majd Pyrex kapilláris csőben 1 µl dimetil-formamidban ismét szuszpendáljuk. Rayonet 350 nm-es fényforrás alkalmazásával 2 órán át fotolízist végzünk, és a kötött azonosítókról szabaddá váló címkéket mintegy 0,1 µl bisz(trimetil-szilil)-acetamid alkalmazásával szililezzük, és az oldatot 0,2 mm x 20 m-es metil-szilikonnal kezelt szilícium-dioxid kapilláris oszloppal és

elektronbefogásos detektorral ellátott Hewlett Packard kapilláris gázkromatográfra injektáljuk. A kiválasztott gyöngy bináris szintézis kódját közvetlenül a címkék kromatogramjáról határozzuk meg.

4. Példa

Benzodiazepin könyvtár

30-tagú, a (VIII) általános képlettel jellemezhető vegyületekből álló kombinatorikus benzodiazepin könyvtárat készítünk:

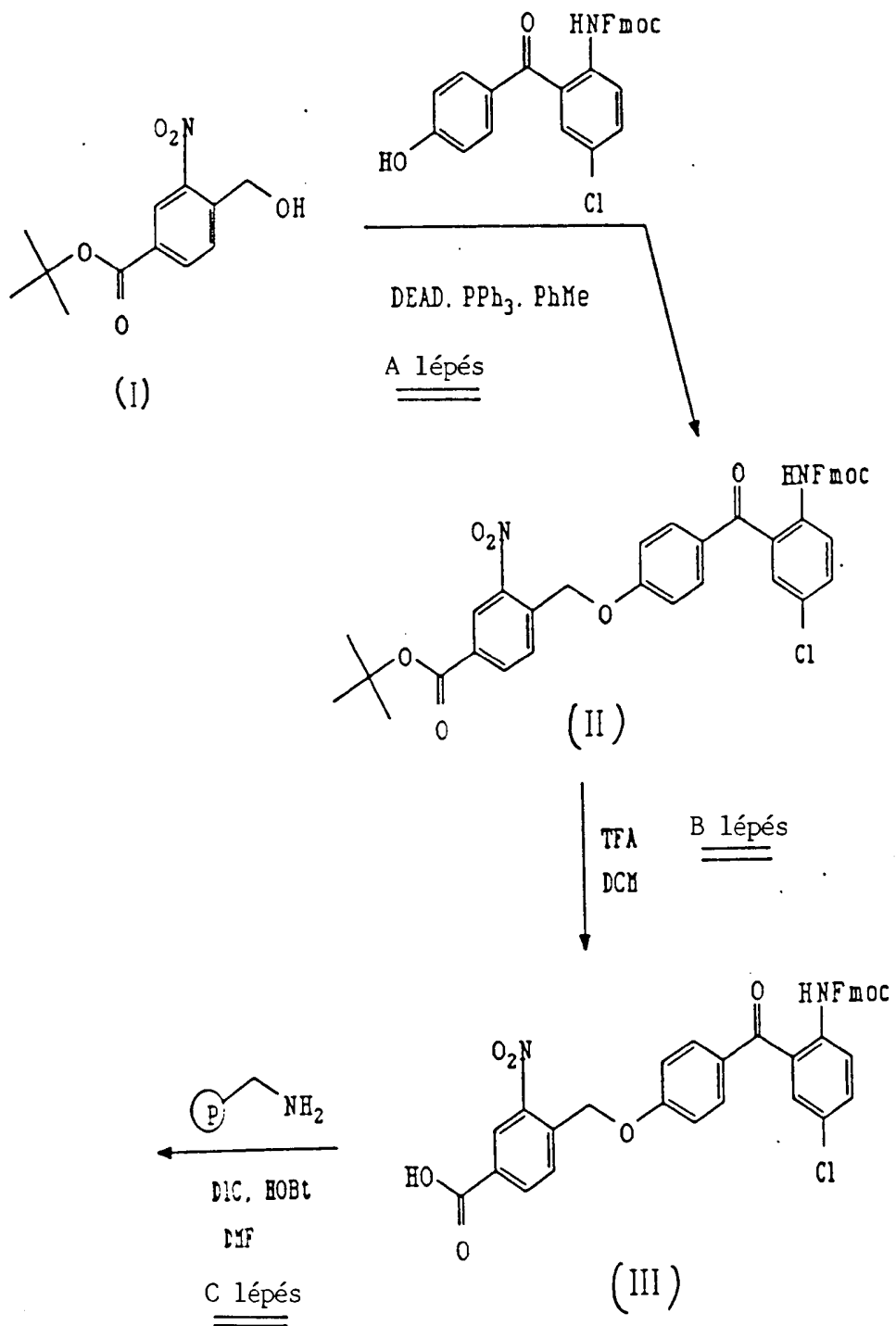


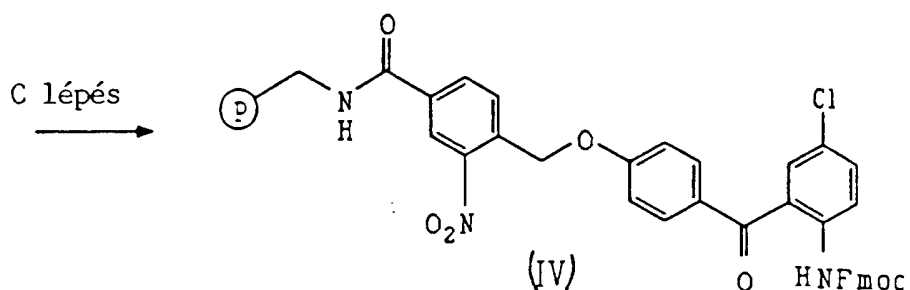
ahol:

R jelentése $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_4\text{-NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$ vagy $-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ és

R^1 jelentése H, $-\text{CH}_3$, $-\text{C}_2\text{H}_5$, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ vagy $-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$.

Az előállítási eljárást az alábbi reakcióvázlatban mutatjuk be:

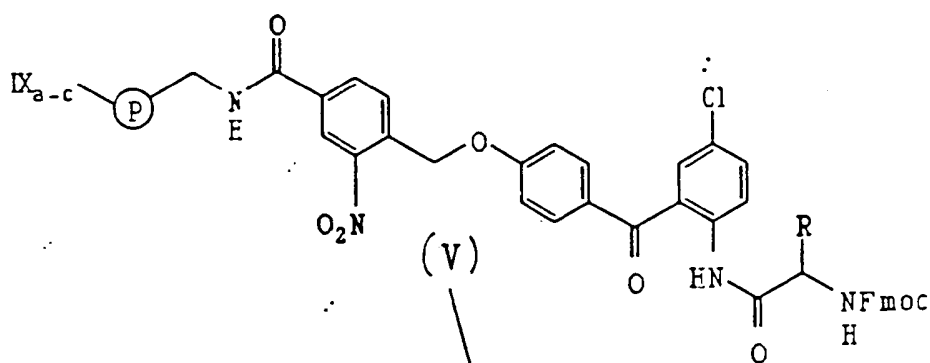




(P) = Polisztirol gyanta

D lépés

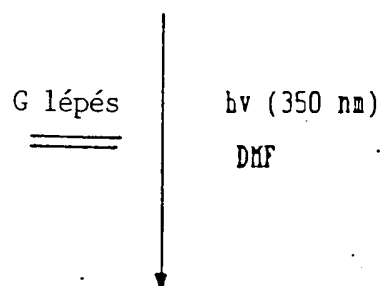
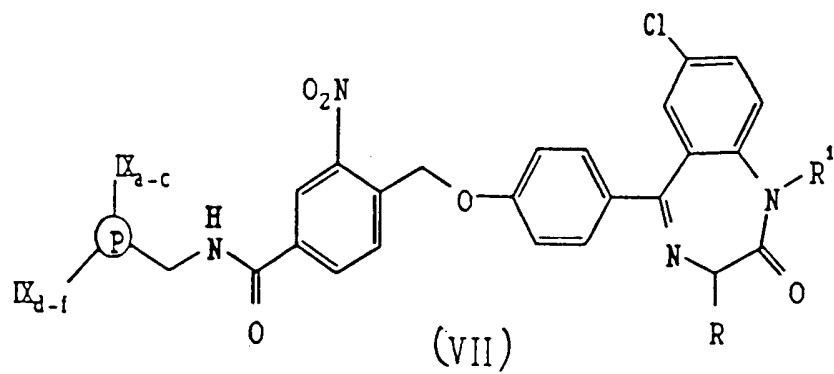
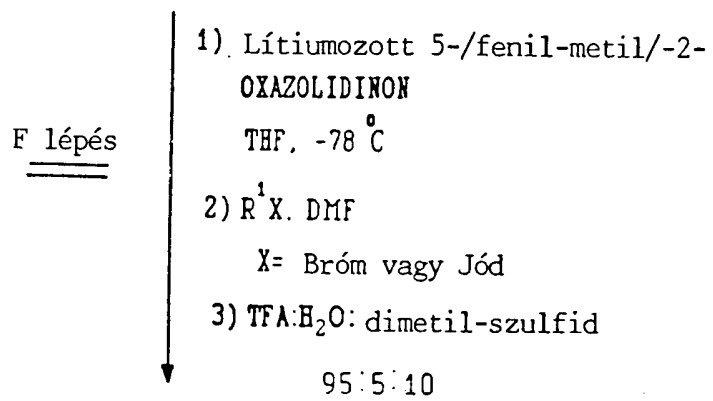
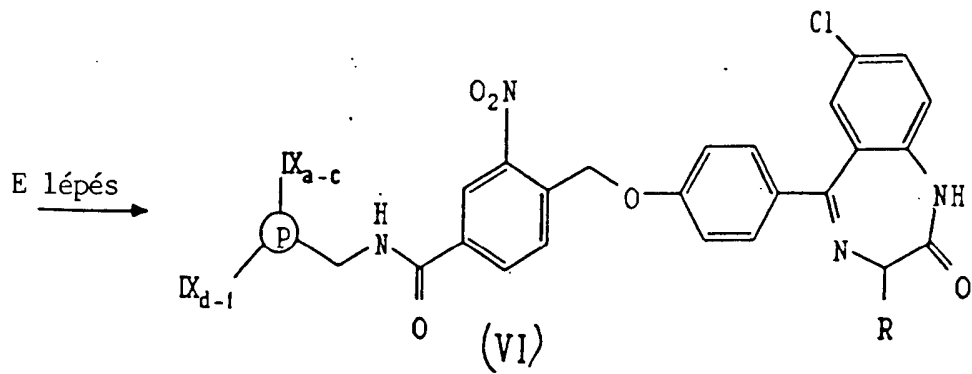
- 1) IX_{a-c} címkék
- 2) 20% PIPERIDIN DMF-ban
- 3)

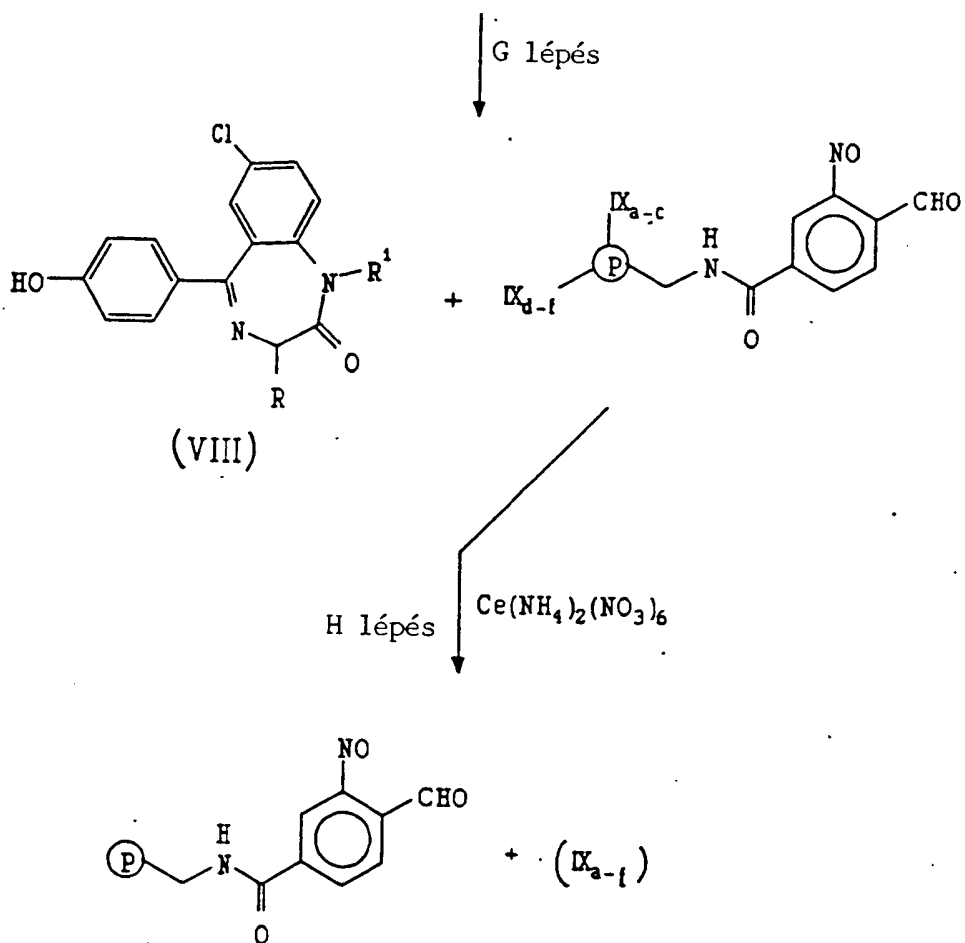


- 1) (IX_{d-f}) címkék
- 2) 20% PIPERIDIN / DMF
- 3) 5 AcOH/DMF

60 °C

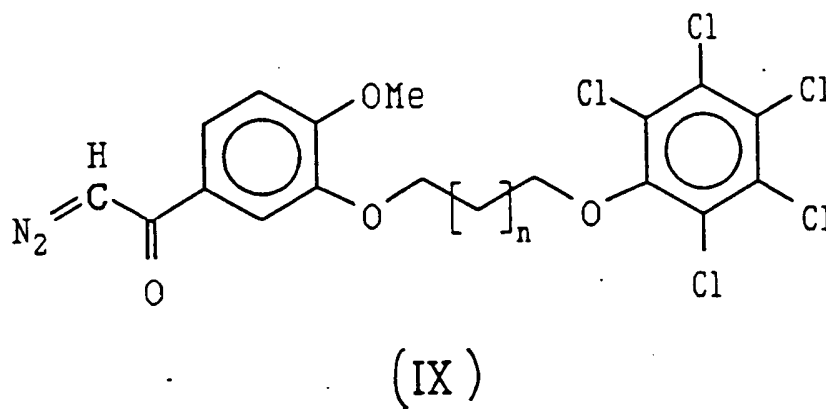
E lépés





A (VIII) általános képletű benzodiazepineket Bunin és Ellman módszeréhez hasonlóan [JACS 114, 10997-10998 (1992)] polisztirol gyöngyökön hozzuk létre, azzal az eltéréssel, hogy egy fotolabilis kapcsolóegységet építünk be a gyöngy és a benzodiazepin közé (lásd az A, B és C lépéseket), így lehetővé tesszük, hogy a G lépésben a benzodiazepint nem-hidrolitikus úton, UV fénynek kitéve (DMF-ban 10 perc és 12 óra közötti időtartamon át 350 nm hullámhosszúságú fény) távolítsuk el. Továbbá, a D és E lépésekben bináris kódot vezetünk be, ami a 6 R és 5R¹ helyettesítők bevitelére alkalmazott reakciósor pontos meghatározását teszi lehetővé. A címkék H lépés szerinti eltávolítása és gázkromatográfiás elválasztást követő elektronbefogásos detektálás után az egyes R és R¹ csoportok természetét meghatározzuk.

A D, E és F lépésekben lényegében Bunin és Ellman eljárását követjük, a D lépésben a IXa-c, az E lépésben a IXd-f azonosítókat építjük be. Az azonosítók mindegyike a (IX) általános képlettel jellemezhető



ahol:

a (IX_a) képletben n = 6;

a (IX_b) képletben n = 5;

a (IX_c) képletben n = 4;

a (IX_d) képletben n = 3;

a (IX_e) képletben n = 2; és

a (IX_i) képletben n = 1.

Az R és R¹ helyettesítők kódjait a 4-1. táblázatban mutatjuk be:

4-1. Táblázat

IX	R
a	-CH ₃
b	-CH(CH ₃) ₂
a, b	-CH ₂ CO ₂ H
c	-(CH ₂) ₄ NH ₂
a, c	-CH ₂ -C ₆ H ₄ -4-OH
b, c	-CH ₂ C ₆ H ₅
IX	R ¹
d	H
e	-CH ₃
d, e	-C ₂ H ₅
f	-CH ₂ CH=CH ₂
d, f	-CH ₂ C ₆ H ₅

A Lépés

1 ekvivalens (I) általános képletű vegyület 0,5 mól/literes toluolos oldatához 1,3 ekvivalens Fmoc-védett 2-amino-5-klór-4'-hidroxi-benzofenont, 1,3 ekvivalens dietil-aza-dikarboxilátot és 1,3 ekvivalens trifenil-foszfint adunk. Az elegyet szobahőmérsékleten 24 órán át keverjük, majd az oldószert vákuumban eltávolítjuk, és a visszamaradó anyagot éterrel dörzsöljük el, majd szűrjük, és az oldószert vákuumban eltávolítjuk. A visszamaradó (II) általános képletű terméket szilikagélen kromatografálva tisztítjuk.

B Lépés

A (II) képletű vegyület 0,2 mól/literes DCM-es oldatához szobahőmérsékleten 3 ekvivalens trifluor-ecetsavat (TFA) adunk, és az oldatot 12 órán át keverjük. Ezután az oldatot vákuumban szárazra pároljuk, a visszamaradó anyagot DCM-ban oldjuk, sóoldattal egyszer mossuk, majd nátrium-szulfáton szárítjuk. Szűrés és az oldószer lepárlása után a (III) képletű vegyületet nyerjük.

C Lépés

1 % divinil-benzol-tartalmú (DVB) keresztkötéses polisztirol gyöngyöket (50 μ méretűek) 1,1 milliekvivalens/g amino-metil-csoporttal funkcionálizálunk, és egy peptid reakcióedényben (Merrifield edényben) dimetil-formamidban szuszpendáljuk. Az edénybe 2 ekvivalens (III) képletű vegyületet és 3 ekvivalens HOBt-t adunk dimetil-formamidban, és az edényt 10 percig rázzuk. Ezután az edénybe 3 ekvivalens DIC-t adunk, és addig rázzuk, míg a reakció teljességét negatív ninhidrin teszt jelzi, ez 12 óra elteltével következik be.

A dimetil-formamidot eltávolítjuk, majd a gyantát még ötször mossuk dimetil-formamid, és további ötször DCM alkalmazásával, majd vákuumban szárítjuk.

D Lépés

A száraz gyantát hat reakcióedénybe osztjuk, és DCM-ban szuszpendáljuk. A lombikokba a IX_{a-c} azonosítók (lásd a 4-1. táblázatban) megfelelő kombinációit adjuk, és a lombikokat 1 órán át rázzuk. Minden lombikba 1 mól% Rh (TFA)₂ katalizátort adunk, és további 2 órán át rázzuk. Ezután az oldószert leöntjük, és a gyantát DCM alkalmazásával ötször mossuk. Ezután a gyantát 0,01 mól/literes DCM-es trifluor-ecetsav-oldattal kezeljük, 30 percig rázzuk, majd DCM alkalmazásával háromszor, dimetil-formamid alkalmazásával kétszer mossuk. A gyantához 20 %-os dimetil-formamidos piperidinoldatot adunk, 30 percig rázzuk, majd háromszor DMF és háromszor DCM alkalmazásával mossuk. Minden edénybe 3 ekvivalens megfelelő, Fmoc-védett amino-acil-fluoridot

adunk, kívánt esetben az oldallánc funkciós csoportokat védjük, Asp esetén terc-butil-észter, Tyr esetén terc-butil-éter, Lys esetén terc-butil-oxi-karbonil-csoporttal) és 10 ekvivalens 2,6-di(terc-butil)-4-metil-piperidint adunk hozzá, és a lombikokat éjszakán át rázzuk negatív ninhidrin teszt eléréséig. A gyantát diklór-metánnal egyszer mossuk, majd a hat adagot egyesítjük, és diklór-metánnal még ötször mossuk, majd vákuumban szárítjuk.

E Lépés

A száraz gyantát öt reakcióedénybe szétosztjuk, és DCM-ban szuszpendáljuk. A IX_{d-f} azonosítók (lásd a 4-1. táblázatban) megfelelő kombinációit adjuk a lombikokba, majd a lombikokat 1 órán át rázzuk. Minden lombikba 1 mól% Rh(TFA)₂ katalizátort adunk, és további 2 órán át rázzuk. Ezután a lombikokról az oldószert leöntjük, és a gyantát DCM alkalmazásával ötször mossuk. Ezután a gyantát 0,01 mól/literes DCM-es trifluor-ecetsav-oldattal kezeljük, és 30 percig rázzuk, majd háromszor dimetil-formamid és háromszor DCM alkalmazásával mossuk.

Minden egyes lombikba 5 %-os dimetil-formamidos ecetsavoldatot adunk, és az elegyet 60 °C hőmérsékleten tartjuk és rázzuk éjszakán át. Ezután az oldószert leöntjük, és a gyantát ötször mossuk dimetil-formamid alkalmazásával.

F lépés

A gyanta minden egyes adagját THF-ban szuszpendáljuk, és a lombikokat -78 °C hőmérsékletre hűtjük. A lombikokba 2 ekvivalens tetrahidrofurános 5-(fenil-metil)-2-oxazolidinon-lítium-származék oldatot adunk, és az elegyet -78 °C hőmérsékleten 1 órán át rázzuk. Ezután minden egyes reakcióedénybe 4 ekvivalens megfelelő alkilezőszert adunk (4-2. táblázat), majd katalitikus mennyiségű dimetil-formamidot adunk hozzá, és az edényeket hagyjuk környezeti hőmérsékletre melegedni, majd ezen a hőmérsékleten 5 órán át rázzuk. Az oldószert szűrőssel eltávolítjuk, a gyantát tetrahidrofuránnal egyszer mossuk, majd vákuumban szárítjuk. A gyanták adagjait ezután elegyítjük, tetrahidrofurán

alkalmazásával kétszer, majd DCM alkalmazásával kétszer mossuk, és az egyesített gyanta tételt az oldallánc-védőcsoportok eltávolítására 2 órán át trifluor-ecetsav, víz és dimetil-szulfid 95:5:10 arányú elegyével kezeljük.

4-2. Táblázat

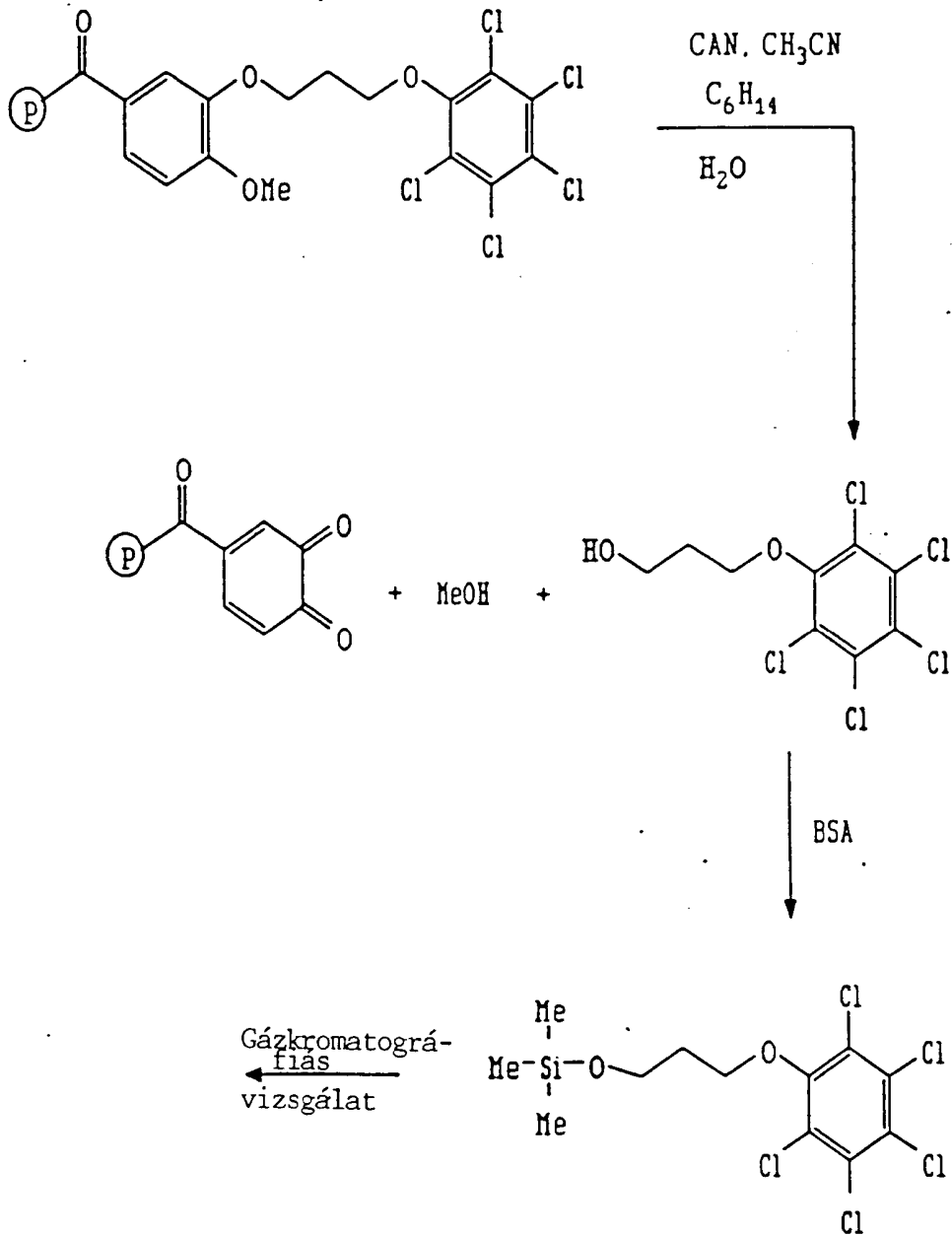
Azonosító	Alkilezőszer
e	metil-jodid
d, e	C_2H_5Br
f	$BrCH_2-CH=CH_2$
d, f	$BrCH_2C_6H_5$

G Lépés

A kapott benzodiazepint a polisztirol gyöngyről a gyöngynek dimetil-formamidban való szuszpendálásával és 350 nm hullámhosszúságú UV fénnel 12 órán át való besugárzásával hasítjuk le.

H Lépés

Az érdeklődésre számotartó gyöngyöt üveg kapilláriscsőbe helyezünk. A csőbe 1 μ l 1 mól/literes vizes cérium(IV)-ammónium-nitrát (CAN) oldatot, 1 μ l acetonitrilt és 2 μ l hexánt fecskendezünk. Ezután a csövet lánggal leforrasztjuk, és centrifugálással biztosítjuk, hogy a gyöngy bemerüljön a reagensekbe. Ezután a csövet ultrahang-fürdőbe helyezünk, és 1 - 10 órán át, előnyösen 2 - 6 órán át ultrahanggal kezeljük. Ezt követően a csövet feltörjük, a felső hexános réteg mintegy 1 μ l-nyi mennyiségét mintegy 0,2 μ l bisz(trimetil-szilil)-acetamiddal (BSA) elegyítjük, majd gázkromatográfra injektáljuk. Az egyes címkéket elektronbefogásos detektálással határozzuk meg. Az ismertetett eljárást az alábbi reakcióvázlatban mutatjuk be:



5. Példa

117 649 tagú peptid könyvtár

117 649 tagú kódolt peptid könyvtárat készítünk. Ez a könyvtár a H_2N -XXXXXXEEDLGGGG-gyöngy szekvenciával bír, ahol az X változó egység jelentése D, E, I, K, L, Q vagy S. Ezt a könyvtárat a 3. példa szerinti 18 címkével kódoljuk, három bináris bit elegendő az egyes lépésekben használt hét aminosav kódolására. A kódok: 001 = S, 010 = I; 011 = K; 100 = L; 101 = Q; 110 = E és 111 = D, ahol 1 jelentése a címke jelenléte, 0 jelentése a címke hiánya.

A címke $H_2NEEDLGGGG$ -gyöngy konstans szegmensét 1,5 g 1,1 mekv/g amino-metil-csoporttal funkcionalizált, 50-80 mikronos Merrifield polisztirol szintézis gyöngyön szintetizáljuk szilárdfázisú eljárás alkalmazásával, terc-butil oldallánc és Fmoc főlánc védelem mellett. Az N-terminális Fmoc védőcsoport dietil-aminnal való eltávolítását követően a gyöngyöket hét darab 200 mg-os részre osztjuk, és az egyes részeket külön Merrifield szintézisedényekbe helyezzük, az edényeket közös rázógépre helyezzük.

A hét edényben lévő gyöngyöket a 3-1. táblázat szerint kezeljük a T1-T3 azonosító készletek és a megfelelő aminosav kapcsolására, azzal az eltéréssel, hogy aktiválásra DIC helyett izobutil-klór-formiátot alkalmazunk.

Ebben az eljárásban először kevés azonosítót kapcsolunk kémiai karboxilcsoportján át a szintézis gyöngyökhöz. Ezt a kapcsolást úgy érjük el, hogy a kapcsolóegység karboxilcsoportjait izobutil-klór-formiát alkalmazásával vegyes karbonsavanhidridekként aktiváljuk, majd a szabad aminocsoportok 1 %-ának megfelelő aktivált azonosítót kapcsolunk a gyöngyökhöz. Így minden alkalmazott azonosítóval a gyöngyök szabad aminocsoportjainak mintegy 1 %-át zárjuk le. A maradék szabad aminocsoportot ezután szokásos módon a megfelelő védett, szimmetrikus anhidridjeként aktivált aminosavval kapcsoljuk.

Mosást követően a hét gyöngy-adagot egyesítjük, az Fmoc védőcsoportot az aminocsoportokról dietil-aminos kezeléssel eltávolítjuk. Ezután a gyöngyöket

ismét hét részre osztjuk, és az előzőek szerint dolgozzuk fel, azzal az eltéréssel, hogy a T4, T5 és T6 címkéket hordozó megfelelő azonosítókat adagoljuk a reakcióedényekbe.

Az elosztás, jelzés, aminosavval való kapcsolás, főlánc védőcsoport eltávolítás eljárásort összesen hatszor hajtjuk végre a T1 - T18 címkéket hordozó különböző azonosítók alkalmazásával, így 117 649 különböző tagból álló peptid könyvtárat kódolunk.

Jellemző azonosító szintézis

0,91 g, 4,35 mmol 8-bróm-1-oktanoil és 1,03 g, 5,22 mmol 2,4,6-triklór-fenol 5 ml dimetil-formamidban készült oldatához 1,70 g, 5,22 mmól cézium-karbonátot adunk, ami gázfejlődéssel jár, és fehér, szilárd anyag csapódik ki. Az elegyet 2 órán át 80 °C hőmérsékleten keverjük, majd 50 ml toluollal hígítjuk, választótölcsérbe öntjük, és 2 x 50 ml 0,5 n nátrium-hidroxiddal, 2 x 50 ml 1 n hidrogén-kloriddal és 50 ml vízzel mossuk, majd a szerves fázist elválasztjuk, és magnézium-szulfáton szárítjuk. Az oldatból az oldószert lepárolva 87 %-os hozammal 1,24 g címkét nyerünk tiszta olaj formájában.

0,81 g, 2,5 mmol fenti címkét 15 ml 2 mól/literes toluolos foszgénoldathoz adunk, és az elegyet szobahőmérsékleten 1 órán át keverjük. Ezután a felesleges foszgént és a toluolt lepároljuk, és a visszamaradó nyers klór-formiátot 5 ml DCM-ban és 0,61 ml, 7,5 mmól piridinben oldjuk. Az oldathoz 0,5 g, 1,98 mmól terc-butil-4-hidroxi-metil-3-nitro-benzoátot [Barany és Albericio, J. Am. Chem. Soc., (1985), 107, 4936-4942] adunk, és az elegyet szobahőmérsékleten 3 órán át keverjük. Ezután az oldatot 75 ml etil-acetáttal hígítjuk, és választótölcsérbe töltjük. Az oldatot 3 x 35 ml 1 n hidrogén-kloriddal, 2 x 35 ml telített nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal és 35 ml sóoldattal mossuk, majd a szerves fázist magnézium-szulfáton szárítjuk, és lepároljuk róla az oldószert. A visszamaradó anyagot szilikagélen kromatografálva tisztítjuk (5 - 7,5 % között növekvő kon-

centrációjú petroléteres etil-acetát alkalmazásával), 79 %-os hozammal 0,95 g azonosítót nyerünk terc-butil-észtere formájában tiszta olajként.

0,95 g, 1,57 mmól terc-butil-észter formájú azonosító 30 ml DCM-ban készült oldatához 3 ml trifluor-ecetsavat adunk a kapcsoló sav [azaz az (I) képlet F^1-F^2 egységének] védőcsoporttól való megfosztására, és az oldatot szobahőmérsékleten 7 órán át keverjük. Ezután az elegyet szárazra pároljuk, és a visszamaradó anyagot 30 ml DCM-ban oldjuk. Az oldatot ezután 20 ml sóoldattal mossuk, és a szerves fázist magnézium-szulfáton szárítjuk. Az oldatról az oldószert lepároljuk, így 87 %-os hozammal 0,75 g 6B azonosítót nyerünk halvány-sárga szilárd anyag formájában. (A címke jelölések a 3. példában megadottal azonosak).

Jellemző kódolt könyvtár szintézislépés

$N\alpha$ -Fmoc-E(tBu)-E(tBu)-D(tBu)-L-G4-NH-gyantát 20 ml dimetil-formamidban szuszpendálunk és 2 percig rázunk. Ezután az elegyet szűrjük, a gyantához 40 ml 1:1 arányú dietil-amin/DMF elegyet adunk az Fmoc védőcsoport eltávolítására, majd a gyantát 1 órán át rázzuk. Ezután a gyantát szűréssel elkülönítjük, 2 x 20 ml DMF alkalmazásával alkalmanként 2 percig, 2 x 20 ml 2:1 arányú dioxán/víz eleggyel alkalmanként 5 percig, 3 x 20 ml DMF alkalmazásával alkalmanként 2 percig, 3 x 20 ml DCM alkalmazásával alkalmanként 2 percig mossuk, majd 25 °C hőmérsékleten vákuumban szárítjuk (a gyanta pikrinsavas titrálás szerint ebben a lépésben 0,4 mmól/g aminocsoportot tartalmaz).

A gyanta 150 mg-os részleteit hét Merrifield edénybe helyezzük, és edényenként 5 ml DCM-ban szuszpendáljuk. A megfelelő azonosítókat acil-karbonátjaikként aktiváljuk a következő módon (az első kapcsoláshoz): 6,6 mg, 0,0098 mmól T1-t 2 ml vízmentes éterben oldunk, és 10 μ l piridint adunk hozzá. Ezután az elegyhez 1,3 μ l, 0,0096 mmól izobutil-klór-formiátot adunk 0,1 ml vízmentes éterben készült oldata formájában. A kapott elegyet 25 °C hőmérsékleten 1 órán át keverjük, ez idő alatt finom, fehér csapadék képződik. A keverést

leállítjuk, és a csapadékot 30 percig ülepedni hagyjuk. Azonos módon készítjük el a T2 és T3 acil-karbonátok oldatait is. Az aktivált azonosítók felülúszójából 0,25 ml-es alikvot részeket elegyítünk, hogy a megfelelő 3 bites bináris címke kódot nyerjük, és az azonosítók megfelelő kódoló elegyeit a hét szintézisedény mindegyikébe beadagoljuk. Az edényeket ezután sötétben 12 órán át rázzuk, mindegyiket 4 x 10 ml DCM alkalmazásával alkalmanként 2 percig mossuk. Ezután a megfelelően kódolt gyantatételekhez 10 ml, 3 ekvivalens DCM-es N- α -Fmoc-aminosav szimmetrikus anhidrid oldatot adunk, és az elegyet 20 percig rázzuk. Ezután az elegybe 1 ml 5 %-os DCM-es N,N-diizopropil-etil-amint adunk, és az elegyet negatív Kaiser teszt eléréséig rázzuk.

A gyanta tételeket ezután szűrjük, és elegyítjük, majd 4 x 20 ml DCM alkalmazásával alkalmanként 2 percig, 2 x 20 ml izopropanollal alkalmanként 2 percig, majd 4 x 20 ml DCM alkalmazásával alkalmanként 2 percig mossuk. A következő jelölés/kapcsolás ciklust az Fmoc védőcsoport előzőekben leírt módon való eltávolításával kezdjük meg.

Miután a peptid utolsó helyzetében lévő egységről lehasítottuk az Fmoc védőcsoportot, az oldallánc funkciós csoport védőcsoportját távolítjuk el oly módon, hogy a gyantát 10 ml DCM-ban szuszpendáljuk, 2 ml tioanizolt, 0,5 ml etánditiolt és 10 ml trifluor-ecetsavat adunk hozzá, majd 1 órán át 25 °C hőmérsékleten rázzuk. Ezután a gyantát 6 x 20 ml DCM alkalmazásával, alkalmanként 2 percig mossuk, majd szárítjuk.

A kód elektronbefogásos gázkromatográfiás leolvasása

Egyetlen kiválasztott gyöngyöt Pyrex kapilláris csőbe helyezünk és 5 x 10 μ l DMF alkalmazásával mosunk. A gyöngyöt ezután 1 μ l DMF-ban szuszpendáljuk, és a kapillárist leforrasztjuk. A szuszpendált gyöngyöt 3 órán át 366 nm hullámhosszúságú fénnel sugározzuk be, hogy szabaddá tegyük a címke-alkoholokat, majd a kapilláris csövet 2 órára 90 °C hőmérsékletű homokfürdőbe helyezzük. Ezután a csövet felnyitjuk, és a címke-alkoholok trimetil-szililezésére

0,1 ml bisz(trimetil)-szilil-acetamidot adunk a csőbe. A csövet 2 percig centrifugáljuk, majd a gyöngy fölött lévő 1 μ l címke oldatot közvetlenül elektronbefogásos detektálással bíró kapilláris gázkromatográfra injektáljuk elemzés céljára. A gázkromatográfiás elválasztást 0,2 mm x 20 m-es, metil-szilikonnal kezelt szilícium-dioxid kapilláris oszloppal és elektronbefogásos detektorral ellátott Hewlett Packard Series II Model 5890 gázkromatográfon végezzük. A fotolízis reakciókat 366 nm hullámhosszúságú fényt sugárzó UVP "Black Ray" model UVL 56 kézi UV lámpával valósítjuk meg.

Antitest affinitási vizsgálati módszerek

Ascites folyadékból anti-C-myc peptid monoklonális antitest 9E10-t készítenk az Evans és munkatársai., Mol. Cell Biol. 5, 3610-3616 (1985) és Munro és Pelham, Cell, 48, 899-907 (1987) szakirodalmi helyeken leírt módon. A gyöngyöknek 9E10-hez való kötődése vizsgálatára a gyöngyöket 1 % marha szérum albumint (BSA) tartalmazó TBST-ben [20 mmól/literes, Trisz-HCl (pH = 7,5), 500 mmól/liter NaCl és 0,05 % Tween-20] inkubáljuk a nem-fajlagos proteinkötő helyek blokkolására. Ezután a gyöngyöket centrifugáljuk, 9E10 ascites folyadék TBST + 1 % BSA-ban készült 1:200 arányú hígításában szuszpendáljuk, majd éjszakán át 4 °C hőmérsékleten inkubáljuk. Ezután a gyöngyöket TBST-ben háromszor mossuk, és 90 percig szobahőmérsékleten lúgos foszfátazzal kapcsolt kecske anti-egér IgG antitestekkel (Bio-Rad Laboratories) inkubáljuk, ahol az utóbbi reagens 1:3000 arányú hígításban van jelen TBST + 1 % BSA hígítószerrel hígítva. A gyöngyöket TBST-vel kétszer, és foszfátázpufferrel egyszer (100 mmól/liter Trisz-HCl, pH = 9,5, 100 mmól/liter NaCl és 5 mmól/liter $MgCl_2$) mossuk, majd a gyöngyöket 1 órán át szobahőmérsékleten inkubáljuk az AP Color Reagents A & B (Bio-Rad Laboratories) mindegyikéből egy-egy századrészt tartalmazó foszfátázpufferben. A reakció leállítására a gyöngyöket 20 mmól/literes, pH = 7,4-es nátrium-EDTA alkalmazásával kétszer mossuk. Ezután meghatározzuk az oldat fázis affinitását 9E10 és különböző peptidek között, a megha-

tározást Harlow és munkatársai által leírt [Antibodies: a Laboratory Manual, 570-573, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y.] kompetitív ELISA teszt eljárás módosításával végezzük.

A kombinatórikus peptid könyvtár 30 mg-os mintájából 40 olyan egyedi gyöngyöt azonosítunk, amelyek anti-C-myc monoklonális antitestnek kitéve festődnek. Ezen pozitívan reagáló gyöngyök dekódolásával myc epitópként (EQKLISEEDL) határozzuk meg a ligandumok reakciósorát, vagy az attól a három N-terminális egységben egy vagy két helyettesítőben eltérő szekvenciákat.

6. Példa

23 540 625 tagú vegyes amidkönyvtár

A kódolási eljárást tovább vizsgáljuk egy 23 540 625 tagú, peptidekből és más amidszármazékokból álló kombinatórikus könyvtár készítésével.

A szintézist 15 különböző reagens öt lépésben és 31 különböző reagens hatodik lépésben való alkalmazásával végezzük. Az első öt lépés mindegyikében 4-4 azonosítót alkalmazunk a 15 alkalmazott reagenshez, a hatodik, utolsó lépésben a 31 reagenshez öt azonosítót alkalmazunk. Ezért egy 25 azonosítóból álló jel-készletet készítünk. Olyan 2-nitro-4-benzil-oxi-karbonil, O-aril helyettesített ω -hidroxikarbonát azonosítókat alkalmazunk, amelyeknek címke komponense 3 - 12 szénatomos alkilcsoport, és aril egységei (A) pentaklór-fenil-, (B) 2,4,5-triklór-fenil-, (C) 2,4,6-triklór-fenil- vagy (D) 2,6-diklór-4-fluor-fenil-csoport. A, B, C vagy D egységet tartalmazó, megfelelő alkilcsoport hosszúságú 25 címkéből álló készletet készítünk, amelynek tagjai 0,2 mm x 25 m-es metil-szilikon gázkromatográfiás oszlopon elválaszthatók. A T1 - T25 címkék kémiai összetételét az alábbiakban adjuk meg (T1 jelentése a leghosszabb retenciós idejű, T25 a legrövidebb retenciós idejű címke):

T1	10A	T6	10C	T11	7B	T16	5C	T21	2B
T2	9A	T7	9B	T12	7C	T17	4B	T22	2C
T3	8A	T8	9C	T13	6B	T18	4C	T23	1B
T4	7A	T9	8B	T14	6C	T19	3B	T24	1C
T5	10B	T10	8C	T15	5B	T20	3C	T25	2D

A 10A, 9A, stb. jelölések jelentése a 3. példában megadott.

Az első öt lépésben alkalmazott tizenöt reagens és az ezeket azonosító kódok az alábbi táblázatban szerepelnek, a kódokban 1 a címke jelenlétét, 0 a hiányát jelenti.

Reagens	Kód
L-szerin	(0001)
D-szerin	(0010)
L-glutaminsav	(0011)
D-glutaminsav	(0100)
L-glutamin	(0101)
D-glutamin	(0110)
L-lizin	(0111)
D-lizin	(1000)
L-prolin	(1001)
D-prolin	(1010)
L-fenilalanin	(1011)
D-fenilalanin	(1100)
3-amino-benzoészav	(1101)
4-amino-fenilecetsav	(1110)
3,5-diamino-benzoészav	(1111)

A hatodik lépésben alkalmazott 31 reagens és az ezeket azonosító kódok az alábbi táblázatban szerepelnek, a kódokban 1 a címke jelenlétét, 0 a hiányát jelenti.

Reagens	Kód
L-szerin	(00001)
D-szerin	(00010)
L-glutaminsav	(00011)
D-glutaminsav	(00100)
L-glutamin	(00101)
D-glutamin	(00110)
L-lizin	(00111)
D-lizin	(01000)
L-prolin	(01001)
D-prolin	(01010)
L-fenilalanin	(01011)
D-fenilalanin	(01100)
3-amino-benzoészav	(01101)
4-amino-fenilecészav	(01110)
3,5-diamino-benzoészav	(01111)
Borostyánkőszavanhidrid	(10000)
Tiglinsav	(10001)
2-pirazinkarbonsav	(10010)
(±)tiooktáészav	(10011)
1-piperidin-propionsav	(10100)
piperonilsav	(10101)
6-metil-nikotinsav	(10110)
3-(2-tienil)-akrilsav	(10111)
metil-jodid	(11000)
tozil-klorid	(11001)
p-toluolszulfonil-	(11010)

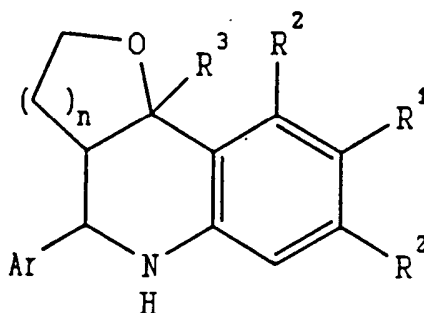
Reagens	Kód
-izocianát	
3-ciano-benzoészav	(11011)
ftálsavanhidrid	(11100)
ecetsavanhidrid	(11101)
etil-klór-formiát	(11110)
mezil-klorid	(11111)

Egy hat glicin egységből álló térkitöltő elemet készítünk a gyöngyökön szokásos eljárásokkal. A változó régiót butil oldallánc-védelem és Fmoc származékként védett aminosavak alkalmazásával építjük fel. Az amidkötéseket a karbonsavnak DIC és HOBt alkalmazásával való aktiválásával hozzuk létre.

7. Példa

Hetero-Diels-Alder könyvtár

42 tagú kombinatorikus hetero Diels-Alder könyvtárat készítünk, amelynek tagjai az alábbi általános képlettel jellemezhetők:

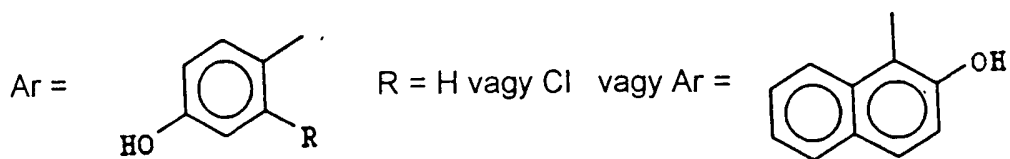


ahol

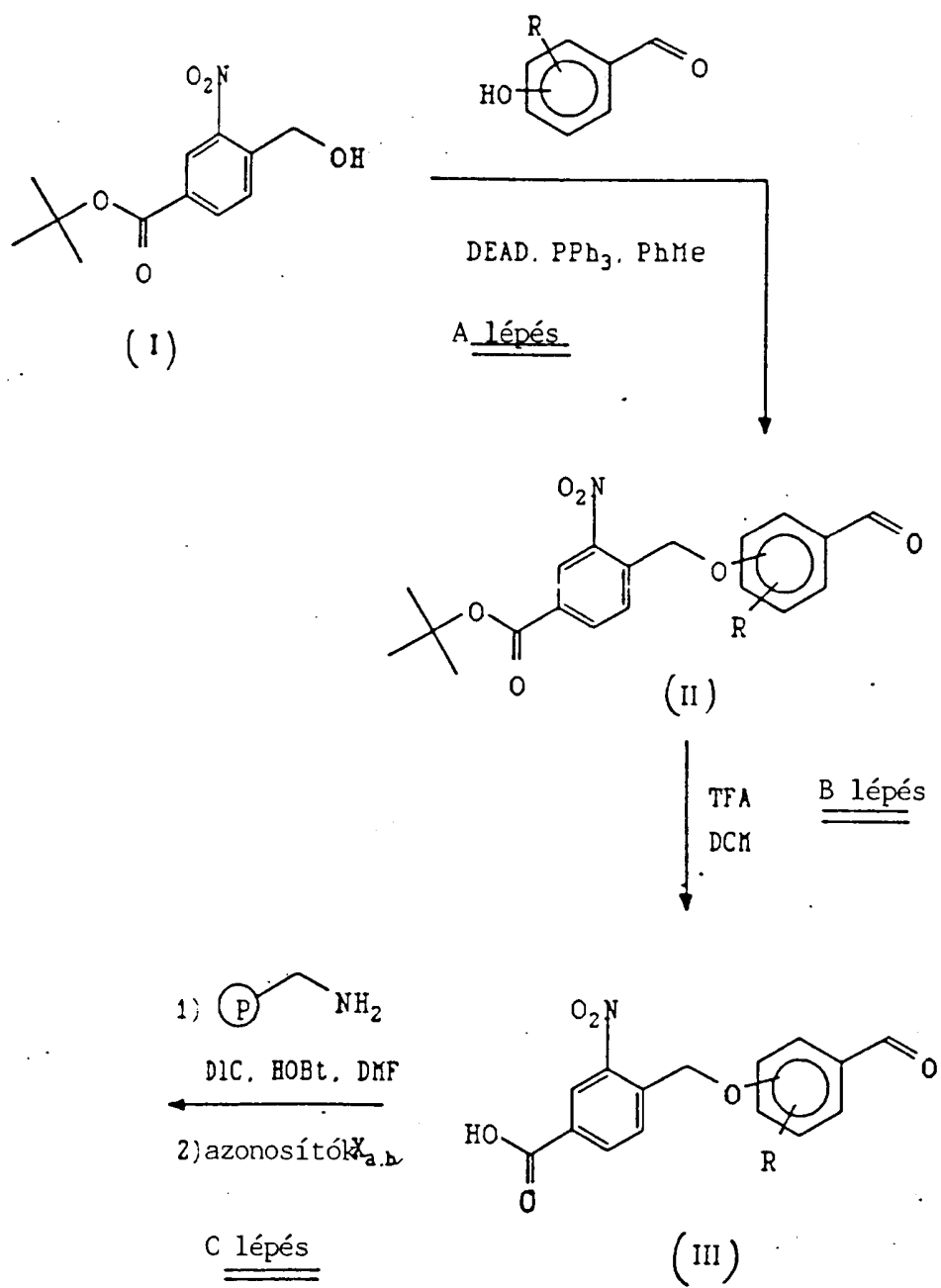
R^1 jelentése H, $-CH_3O$, $-F_3C$, $-F_3CO$, $-H_5C_6O$, vagy $-C_6H_{11}$;

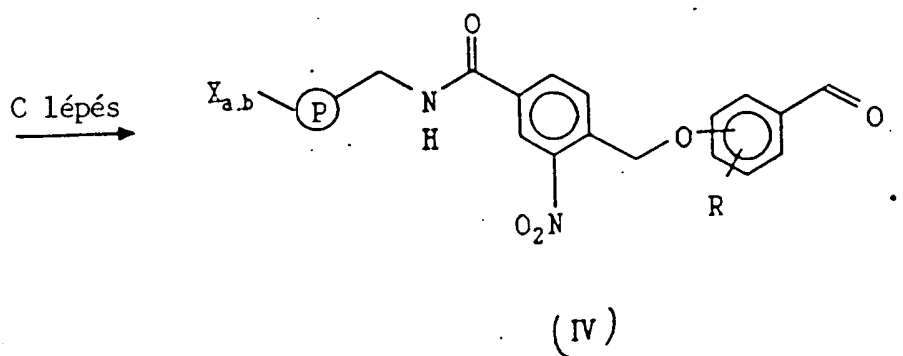
R^2 jelentése H, $-CH_3$ vagy $-CH_3O$;

R^3 jelentése H (ha $n = 2$) vagy $-CH_3$ (ha $n = 1$); és

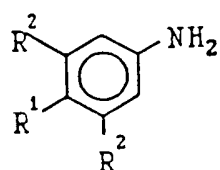


A vegyületeket az alábbi reakcióvázlat szerint állítjuk elő:

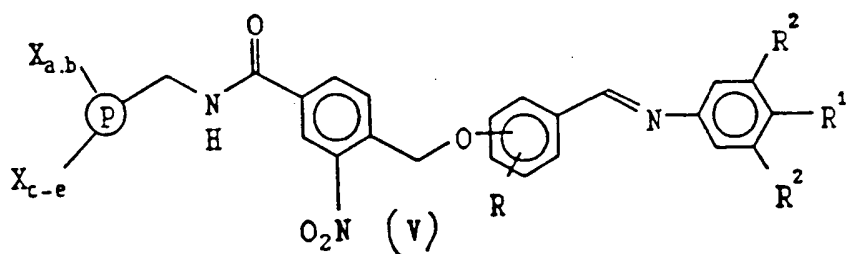




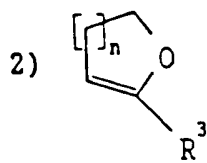
1) toluol
 $\triangle$
 2) azonosítók X_{c-e}



D lépés



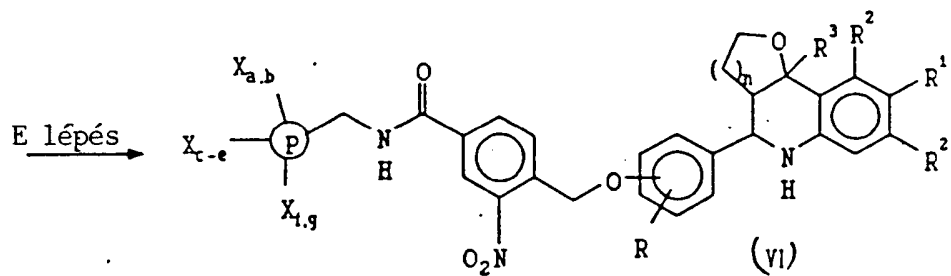
1) azonosítók ($X_{t,g}$)



$BF_3 \cdot Et_2O$

DCM

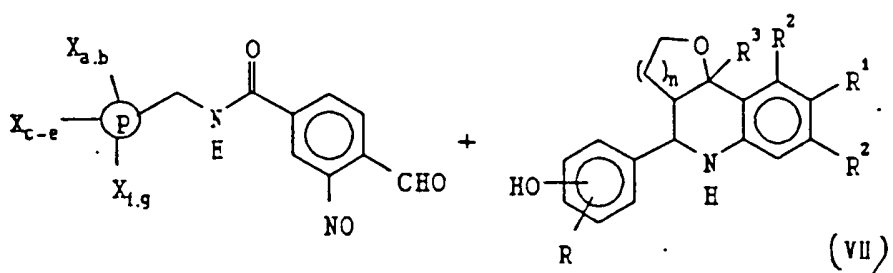
E lépés



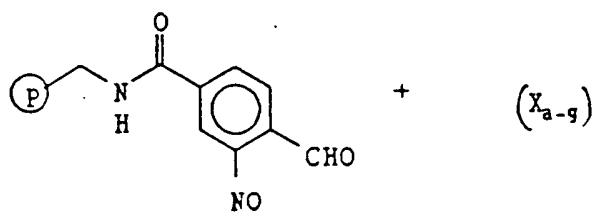
$h\nu$ (350 nm)

DMF

F lépés

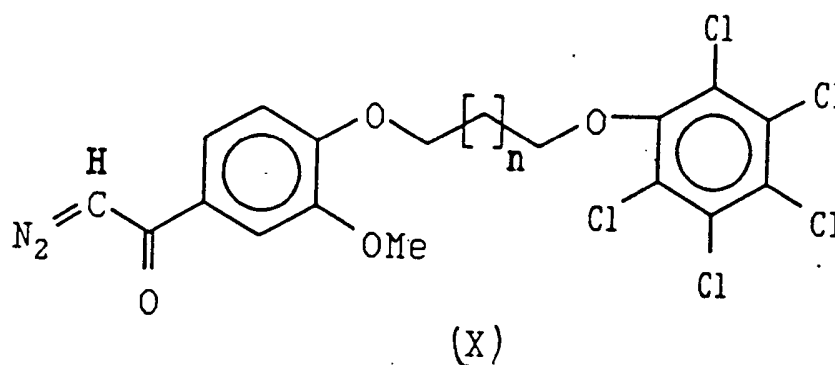


G lépés $\text{Ce}(\text{NH}_4)_2(\text{NO}_3)_6$



A (VI) általános képletű aza-triciklusos termékeket polisztirol gyöngyökön hozzuk létre, és a gyöngyökhöz fénnel hasítható kapcsolóegységgel kötjük, amely lehetővé teszi, hogy a (VII) általános képletű aza-triciklusos vegyületet a gyöngyről UV fénnel (350 nm-es, DMF-ban) lehasítsuk. A C, D és E lépésekbe bevitt bináris kódok az ArR, R¹, R² és R³ bevitelére szolgáló reakció szekvencia egyedi meghatározását teszik lehetővé. A kódoló címkéket a G lépésben leírt módon távolítjuk el, és gázkromatográfiás elválasztást követően elektronbefogásos detektálással elemezzük.

Az ebben a reakcióvázlatban alkalmazott azonosítók a (X) általános képlettel jellemezhetők:



ahol

a (X_a) képletben n = 10;

a (X_b) képletben n = 9;

a (X_c) képletben n = 8;

a (X_d) képletben n = 7;

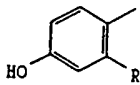
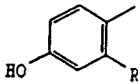
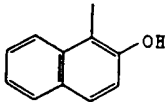
a (X_e) képletben n = 6;

a (X_f) képletben n = 5;

a (X_g) képletben n = 4.

R, R¹, R², R³ kódjai a következők:

7-1. Táblázat

X	Ar = 	R = H
a	Ar = 	R = Cl
b	Ar = 	
a, b		
c	R ¹ = H	R ² = H
d	R ¹ = H	R ² = -CH ₃
d, c	R ¹ = -OCH ₃	R ² = -OCH ₃
e	R ¹ = -CF ₃	R ² = H
e, c	R ¹ = C ₆ H ₅ O-	R ² = H
e, d	R ¹ = F ₃ CO-	R ² = H
e, d, c	R ¹ = -C ₆ H ₁₁	R ² = H
f	R ³ = -CH ₃	n = 1
g =	R ³ = H	n = 2

A Lépés

2,03 g, 8 mmól (I) képletű vegyület, 1,17 g, 9,6 mmól 4-hidroxi-benzaldehyd és 2,73 g, 10,4 mmól trifenil-foszfin 20 ml toluolban készült oldatát 0 °C hőmérsékleten keverjük, és eközben 30 perc alatt dietil-azo-dikarboxilátot adunk hozzá. Az oldatot hagyjuk szobahőmérsékletre melegedni, és ennek elérése után még 1 órán át keverjük. Ezután az oldatot vákuumban mintegy térfogatának felére sűrítjük be, majd éterrel eldörzsöljük. Az elegyet szűrjük, a visszamaradó anyagot éterrel gondosan mossuk, majd az oldószert vákuumban eltávolítjuk, és a visszamaradó anyagot szilikagélen kromatográfiás eljárással

tisztítjuk. 15 % etil-acetátot tartalmazó hexánt alkalmazunk, így 47 %-os hozammal 1,3 g (IIa) képletű étert nyerünk.

2-klór-4-hidroxi-benzaldehidet és 2-hidroxi-1-naftaldehidet kapcsolunk (I) képletű vegyületté a fentivel analóg módon, így a (IIb) és (IIc) képletű étereket nyerjük 91, illetve 67 %-os hozammal.

B lépés

0,407 g, 1,14 mmól (IIa) képletű éter 20 ml DCM-ban készült oldatát szobahőmérsékleten keverjük, és 8 ml TFA-t adunk hozzá. Az oldatot 6 órán át keverjük, majd vákuumban szárazra pároljuk, így 100 %-os hozammal 0,343 g (IIIa) képletű savat nyerünk. A (IIb) és (IIc) képletű étereket analóg módon védőcsoportjuktól megfosztjuk, így a (IIIb) és a (IIIc) képletű savakat nyerjük 92, illetve 100 %-os hozammal.

C lépés

Egy peptid reakcióedénybe (Merrifield reakcióedény) 200 mg 50-80 mikron méretű, 1,1 milliekvivalens/g amino-metil-csoporttal funkcionizált, 1 % DVB (divinil-benzol) tartalmú keresztkötéses polisztirol gyöngyöt viszünk be. A gyöngyöket 2 ml dimetil-formamidban szuszpendáljuk, és 20 percig rázzuk. Az elegyhez 38 mg, 2 ekvivalens (IIIa) képletű savat, 40 mg, 2 ekvivalens 1-hidroxi-benzotriazolt és 38 mg, 2 ekvivalens diizopropil-karbodiimidet adunk, és az elegyet negatív ninhidrin teszt eléréséig rázzuk, ez mintegy 22 órát vesz igénybe. Az oldatot szűréssel elkülönítjük, a gyantát 8 x 10 ml DCM alkalmazásával mossuk.

A gyantát 5 ml DCM-ban újra szuszpendáljuk, 15 mg Xa azonosítót adunk hozzá, és a lombikot 1 órán át rázzuk. Ezután a lombikba 1 mól% Rh(TFA)₂ katalizátort adunk, és a lombikot 2 órán át rázzuk. Ezután az oldószert szűréssel elkülönítjük, a gyantát 5 ml DCM-ban újra szuszpendáljuk. Az edénybe 1 csepp trifluor-ecetsavat adunk, és 20 percig rázzuk. Ezután az oldószert a szűrletből eltávolítjuk, és a gyantát 8 x 10 ml DCM-nal mossuk.

Analóg módon kapcsoljuk a gyantához a (IIIb) és (IIIc) savakat, és ezeket a megfelelő azonosítókkal kódoljuk, azaz a (IIIb) sav esetén a Xb, a (IIIc) képletű sav esetén a Xa és Xb képletű azonosítókat alkalmazzuk. A három adag gyantát elegyítjük, keverjük, mossuk és szárítjuk.

D Lépés

A száraz gyantát hét egyenlő, 87 mg-os részletre osztjuk, ezeket hét peptid reakcióedénybe (Merrifield edény) helyezzük, és ezeket fűtőszalaggal betekerjük. Az egyes edényekben lévő gyantát 10 ml toluolban szuszpendáljuk, és 20 percig rázzuk. Ezután a 7-2. táblázat szerinti megfelelő anilin megfelelő mennyiségét adjuk az egyes lombikokba.

7-2. Táblázat

Lombik	Anilin	Adagolt mennyiség
1.	anilin	3 ml
2.	3,5-dimetil-anilin	3 ml
3.	3,4,5-trimetoxi-anilin	2 g
4.	4-trifluor-metil-anilin	3 ml
5.	4-fenoxi-anilin	2 g
6.	4-trifluor-metoxi-anilin	3 ml
7.	4-ciklohexil-anilin	2 g

A fűtőszalagot bekapcsoljuk, és a reakcióelegyet 70 °C hőmérsékleten 18 órán át rázzuk. Ezután a hűtőszalagot kikapcsoljuk, és az oldószert szűréssel elkülönítjük, majd az egyes gyanta-adagokat 4 x 10 ml DCM, 10 ml éter, 10 ml toluol, és 2 x 10 ml DCM alkalmazásával mossuk. Az adagok mindegyikét 5 ml DCM-ban szuszpendáljuk, és minden lombikba 15 mg megfelelő azonosítót vagy azonosító-kombinációt (Xc-e) adunk (lásd a 7-1. táblázatban). A lombikokat 1 órán át rázzuk, majd minden lombikba 1 mól% Rh(TFA)₂-t adunk, és további 2 órán át rázzuk.

Ezután az oldószert minden adag gyantáról eltávolítjuk, 5 ml DCM-ban újra szuszpendáljuk, majd 1 csepp trifluor-ecetsavat adunk hozzá. Az elegyet 20 percig rázzuk, majd az oldószert szűréssel elkülönítjük. A gyanták egyes adagjait 1 x 10 ml DCM alkalmazásával mossuk, majd a gyantákat egyesítjük, ismét 3 x 10 ml DCM alkalmazásával mossuk, majd vákuumban gondosan szárítjuk.

E Lépés

A szárított gyantát két egyenlő, egyenként 0,3 g-os részre osztjuk, és mindegyik részt egy peptid reakcióedénybe helyezzük. A gyanta adagokat 2 x 10 ml DCM alkalmazásával mossuk, majd 5 ml DCM-ban szuszpendáljuk. Az egyik lombikba 15 mg Xf azonosítót, a másikba 15 mg Xg azonosítót adunk. A lombikokat 1 órán át rázzuk, majd 1 mól% Rh(TFA)₂ katalizátort adunk hozzájuk. Ezután a lombikokat további 2 órán át rázzuk, majd az oldószert szűréssel eltávolítjuk, és az egyes gyanta-adagokat 3 x 10 ml DCM alkalmazásával mossuk, majd 5 ml DCM-ban szuszpendáljuk.

A lombikokba 1 ml megfelelő enol-étert adunk (lásd a 7-1. táblázatban), és a lombikokat 30 percig rázzuk. Ezután minden lombikba 0,5 ml 5 %-os DCM-os BF³·OEt₂ oldatot adunk, és a lombikokat 24 órán át rázzuk. Ezután az oldószert szűréssel eltávolítjuk, majd a gyantát 10 ml DCM alkalmazásával mossuk, és a gyanta-adagokat egyesítjük. A gyöngyöket további 5 x 10 ml DCM, 2 x 10 ml dimetil-formamid, 2 x 10 ml metanol és 2 x 10 ml DCM alkalmazásával mossuk. Ezután a gyantát vákuumban gondosan szárítjuk.

F lépés

A hetero-Diels-Alder könyvtárban előállított termékek azonosságának igazolására egy példát nagyléptékben hajtunk végre, hogy spektroszkópiás eljárással azonosíthassuk a szerkezetet. Az eljárást lényegében a kombinatórikus könyvtárnál leírt módon hajtjuk végre. Az A lépésben hidroxibenzaldehidet kapcsolunk a fotolabilis csoporttal. A D lépésben anilint kondenzálunk aldehiddel. Az E lépésben az enol-étert 4,5-dihidro-2-metil-furánnal alakítjuk ki.

Az F lépésben a vegyület fotolízisét 100 mg gyöngy 0,3 ml dimetil-formamidban való szuszpendálásával, majd a gyöngyöknek UVP "Black Ray" model UVL 56 típusú, 366 nm hullámhosszú fényt kibocsátó kézi UV lámpával 16 órán át besugározzuk. A DMF-t pipettával eltávolítjuk, és a gyöngyöket további 2 x 3 ml dimetil-formamid alkalmazásával öblítjük. Az eredeti oldatot és a mosófolyadékokat egyesítjük, és az oldószert vákuumban eltávolítjuk az oldatról. A reakcióelegy NMR analízise az autentikus mintával összehasonlítva a kívánt aza-triciklusos vegyület jelenlétét mutatja.

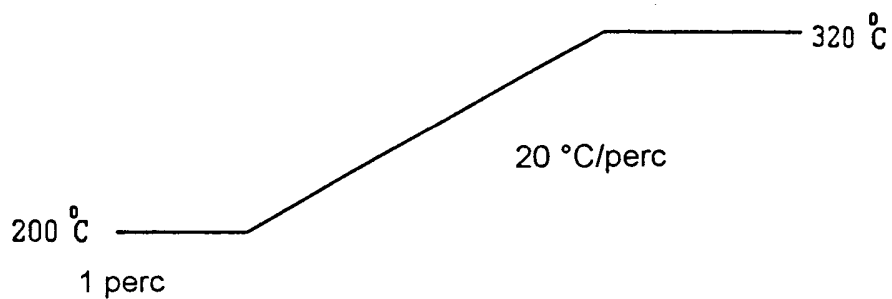
G Lépés

Az érdeklődésre számot tartó gyöngyöket egy Pyrex kapilláris üvegcsőbe visszük, és az üvegcsövet egyik végén leforrasztjuk. A csőbe 1 μ l 1 mól/literes vizes cérium(IV)-ammónium-nitrát és acetonitril 1:1 arányú elegyét fecskendezzük, és a csövet centrifugáljuk, hogy a gyöngy a kapilláris aljára süllyedjen, és a reagensoldatba teljesen belemerüljön. Ezután a csőbe fecskendővel 2 μ l hexánt adunk, és ismét centrifugáljuk. A kapilláris nyitott végét lánggal leforrasztjuk, és a kapillárist 4 órára ultrahang fürdőbe helyezzük. Ezután a kapillárist fordítva helyezzük a centrifugába, és megforgatjuk, hogy a vizes fázist átkényszerítsük a hexános fázison a cső aljára. Ezt az extrakciós eljárást három-négyszer megismételjük, majd a csövet felnyitjuk. A hexános réteget (1,5 μ l) fecskendővel eltávolítjuk, és egy másik, 0,2 ml BSA-t tartalmazó kapillárisba visszük. Ezt a csövet leforrasztjuk, és a reagensek alapos elegyedéséig centrifugáljuk. Az oldatból mintegy 1 μ l-t eltávolítunk, és 25 m x 0,2 mm-es, metil-szilíciummal kezelt szilícium-dioxid oszloppal és elektronbefogásos detektálással bíró gázkromatográfra visszük a címke molekulák elválasztása és azonosítása céljából.

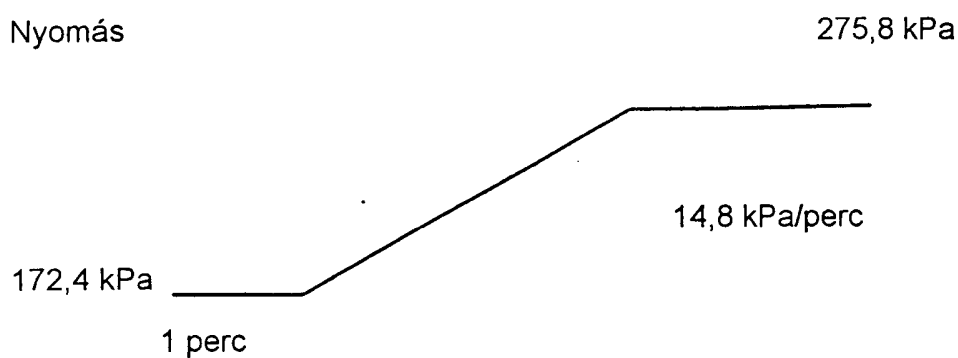
A mintát 200 °C hőmérsékletű oszlopra injektáljuk 172,4 kPa He₂ hordozógáz nyomás mellett. 1 perc múlva a hőmérsékletet 20 °C/perc sebességgel 320 °C-ra emeljük, és a nyomást 14,8 kPa/perc sebességgel növeljük 275,8 kPa értékig. Ezeket a körülményeket az alábbi diagramon mutatjuk be:

A gázkromatográfiás vizsgálat körülményei:

Hőmérséklet



Nyomás



Véletlenszerűen kiválasztott gyöngyökkel az alábbi eredményeket kapjuk:

1. Gyöngy

	Kimutatott címke		
	Xf	Xe Xd Xc	Xb Xa
Ar			2-hidroxi-naftil
R ¹		-C ₆ H ₁₁	
R ²		H	
R ³	-CH ₃ (n = 1)		

2. Gyöngy

	Kimutatott címke		
	Xg	Xe Xd Xc	Xb
Ar			2-klór-4-hidroxi-fenil
R ¹		-C ₆ H ₁₁	
R ²		H	
R ³	H (n = 2)		

3. Gyöngy

	Kimutatott címke		
	Xg	Xe Xd	Xb Xa
Ar			2-hidroxi-naftil
R ¹		F ₃ CO-	
R ²		H	
R ³	H (n = 2)		

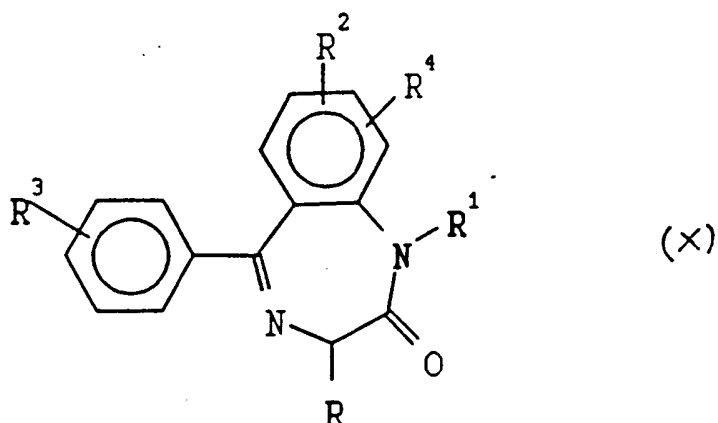
4. Gyöngy

	Kimutatott címke		
	Xf	Xe Xd	Xb
Ar			2-klór-4-hidroxi-fenil
R ¹		F ₃ CO-	
R ²		H	
R ³	-CH ₃ (n = 1)		

8. Példa

Benzodiazepin könyvtár

A 4. példa szerinti eljárást követve állítjuk elő a (X) általános képletű vegyületeket felölelő kombinatorikus könyvtárat.



ahol

R jelentése egy természetes előfordulású D- vagy L-aminosav csoport,

R¹ jelentése hidrogénatom, 1 - 6 szénatomos alkil-, rövid szénláncú alkenil-, 1 - 6 szénatomos alkil-amino-, karboxi-(1-6 szénatomos alkil)- vagy fenil-(1-6 szénatomos alkil)-csoport, ahol a fenilcsoport adott esetben rövid szénláncú alkilcsoporttal, fluor-, klór- vagy brómatommal, hidroxil-, amino-, karboxil- vagy O-(rövid szénláncú alkil)-csoporttal helyettesített lehet;

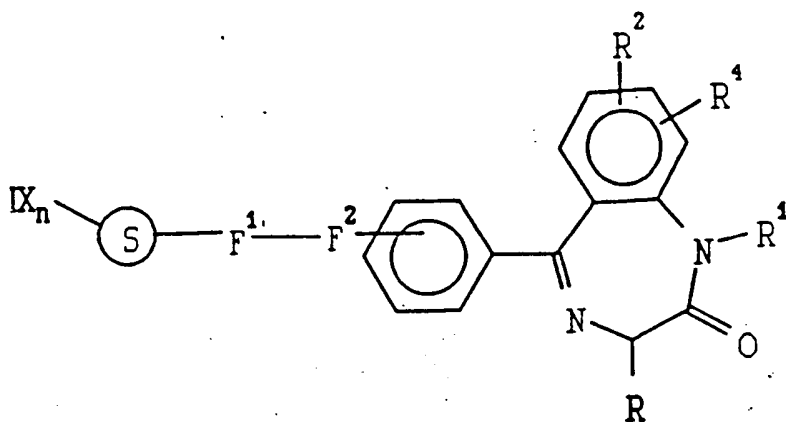
R² jelentése hidrogénatom vagy karboxilcsoport,

R³ jelentése hidrogénatom vagy hidroxilcsoport;

R⁴ jelentése hidrogén- vagy klóratom,

azzal a megkötéssel, hogy ha R³ jelentése hidroxilcsoport, akkor R² jelentése hidrogénatom, és ha R² jelentése karboxilcsoport, akkor R³ jelentése hidrogénatom.

Ezt a könyvtárat az alábbi általános képletű kódolt gyöngyök sokaságától tesszük szabaddá:



ahol

IX_n jelentése (Ia) képletű azonosítók sokasága, ahol az említett sokaság egy kódolt rendszert jelöl,

S jelentése egy szubsztrát,

F^1 - F^2 jelentése az (Ia) képletű kapcsolóegység maradéka, és

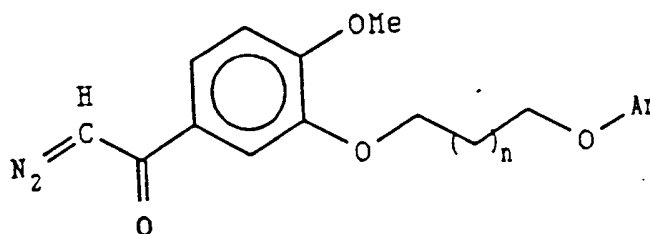
R, R^1 , R^2 és R^4 jelentése a (X) általános képletre megadott.

9. Példa

Jellemző azonosító előállítás

A gyantához karbénképződés révén kapcsolódó diazoszármazék azonosítók az alábbi példákban bemutatott módon állíthatók elő.

Az



általános képletű vegyületek - a képletben

n értéke 0 - 10 és

Ar jelentése pentaklór-fenol-, 2,4,6-triklór-fenol, 2,4,5-triklór-fenol vagy 2,6-diklór-4-fluor-fenol -

az alábbi módon állíthatók elő.

0,38 g, 1,5 mmól 1-hidroxi-4-(2,6-diklór-4-fluor-fenoxi)-bután, 0,228 g, 1,5 mmól izovanillin és 0,393 g, 1,5 mmól trifenil-foszfín 8 ml tetrahidrofuránban készült oldatához 0,287 g, 1,7 mmól dietil-azo-dikarboxilátot adunk. Az oldatot 36 órán át szobahőmérsékleten keverjük, majd az oldószert vákuumban eltávolítjuk, és a visszamaradó anyagot szilikagélen kromatografálva tisztítjuk, 20 % etil-acetát és 80 % petroléter elegyét alkalmazzuk a kromatografálásnál. Így 77 %-os hozammal 0,45 g aldehidet nyerünk.

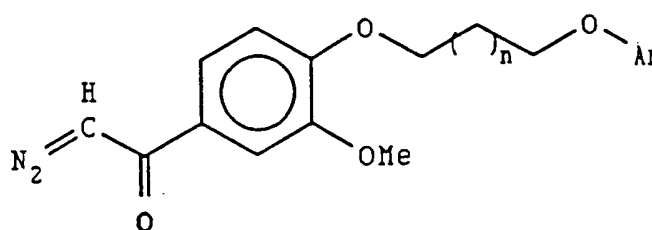
100 mg, 0,26 mmól aldehidet 8 ml acetonban oldunk, és 61 mg, 0,39 mmól KMnO_4 4 ml acetonban és 4 ml vízben készült oldatával reagáltatjuk. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten 13 órán át keverjük, majd 100 ml etil-acetáttal és 50 ml vízzel hígítjuk, és a fázisokat elválasztjuk. A vizes fázist további 2 x 100 ml etil-acetáttal extraháljuk, az egyesített szerves fázisokat 50 ml vízzel mossuk, és magnézium-szulfáton szárítjuk. Az oldószert eltávolítása után 93 %-os hozammal 109 mg benzoésavat nyerünk.

76 mg, 0,188 mmól fenti sav 2 ml metilén-kloridban készült oldatához 36 mg, 0,28 mmól oxalil-kloridot és katalitikus mennyiségű dimetil-formamidot adunk. Az elegyet 10 percig szobahőmérsékleten lassan keverjük, állandó gázfejlődést észlelünk. Az elegyet további 2 órán át keverjük, majd 15 ml diklór-metánnal (DCM) hígítjuk, és 5 ml telített vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal mossuk. A fázisokat elválasztjuk, a szerves fázist nátrium-szulfáton szárítjuk, és az oldószert lepároljuk. Így halványsárga kristályok formájában nyerjük a benzoil-kloridot.

A fenti benzoil-kloridot 5 ml metilén-kloridban oldjuk, és az oldatot $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ hőmérsékleten, keverés mellett feleslegben lévő diazo-metán éteres oldatához adjuk. A hűtőfürdőt hagyjuk felmelegedni, és az elegyet 5 órán át szobahőmér-

sékleten keverjük, majd az oldószert és a feleslegben lévő diazo-metánt vákuumban eltávolítjuk, és a visszamaradó anyagot szilikagélén kromatografálva tisztítjuk, eluensként etil-acetát 10 és 40 % között növekvő gradiensét alkalmazzuk hexánban. Így 60 %-os hozammal 48 mg diazoszármazékot nyerünk.

A



általános képletű vegyületeket - a képletben

n értéke 0 - 10 és

Ar jelentése pentaklór-fenol, 2,4,6-triklór-fenol, 2,4,5-triklór-fenol vagy 2,6-diklór-4-fluor-fenol -

az alábbi módon állítjuk elő.

0,729 g, 4,0 mmól metil-vanillátot, 1,634 mg, 4,0 mmól 2,3,4,5,6-pentaklór-fenoxi)-nonánt és 1,259 g, 4,8 mmól trifenil-foszfint argongáz atmoszférában 20 ml száraz toluolban oldunk. 0,76 ml, 0,836 g, 4,8 mmól DEAD-t csepegtetünk hozzá, és az elegyet 25 °C hőmérsékleten 1 órán át keverjük. Ezután az oldatot térfogatának felére sűrítjük, és flash-kromatográfiás eljárással tisztítjuk, eluensként DCM-t alkalmazunk. 43 %-os hozammal 1,0 g, 1,7 mmól terméket nyerünk fehér, kristályos szilárd anyag formájában.

1,0 g, 1,7 mmól fenti metil-észtert 50 ml tetrahidrofuránban oldunk, 2 ml vizet, majd 1,2 g, 50 mmól lítium-hidroxidot adunk hozzá. Az elegyet 25 °C hőmérsékleten 1 órán át keverjük, majd 5 órán át visszafolyatós hűtő alatt forraljuk. Ezután az elegyet 25 °C hőmérsékletre hűtjük, és 200 ml etil-acetátba öntjük,

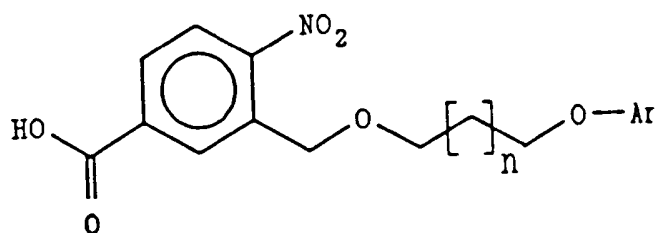
majd 3 x 50 ml 1 mól/literes hidrogén-kloriddal, ezután 1 x 50 ml telített vizes nátrium-klorid-oldattal mossuk, és nátrium-szulfáton szárítjuk. Az oldatról az oldószert eltávolítjuk, és a kapott nyers savat azeotróp desztillálásnak tesszük ki toluol jelenlétében.

A fenti nyers anyagot 100 ml toluolban oldjuk, 10 ml, 1,63 g, 14 mmól tionil-kloridot adunk hozzá, és az elegyet visszafolyató hűtő alatt 90 percig forraljuk. Ezután az oldat térfogatát mintegy 30 ml-re szűkítjük be desztillálással, majd a visszamaradó toluolt vákuumban lepároljuk. A nyers sav-kloridot 20 ml száraz DCM-ban oldjuk, -78 °C hőmérsékletre hűtjük argongáz atmoszférában, és mintegy 10 mmól diazo-metán 50 ml vízmentes éterben készült oldatát adjuk hozzá. Az elegyet ezután szobahőmérsékletre melegítjük, és 90 percig keverjük. Az oldaton 10 percig argongázt buborékoltatunk át, majd az oldószereket vákuumban lepároljuk, és a kapott nyersterméket flash-kromatográfiás eljárással tisztítjuk, eluensként 10 - 20 % etil-acetátot tartalmazó hexánt alkalmazunk. A három lépés össz-hozama 82 %, 0,85 g, 1,4 mmól diazo-ketont nyerünk halvány-sárga, szilárd anyag formájában.

Az alábbi azonosítókat az előzőekben leírt módon állítjuk elő:

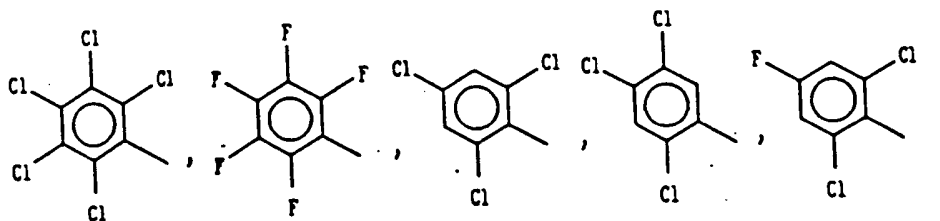
Fotolabilis hasítás

50 alábbi általános képletű azonosítót állítunk elő:



ahol

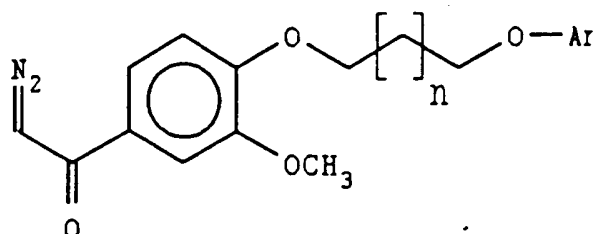
Ar jelentése



és n értéke 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 és 10.

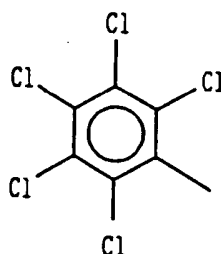
Oxidatív hasítás I típus

7 alábbi általános képletű azonosítót készítünk:



ahol

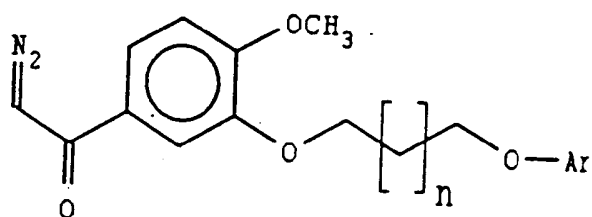
Ar jelentése



és n értéke 4, 5, 6, 7, 8, 9 és 10.

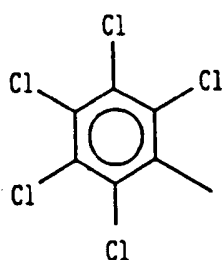
Oxidatív hasítás II típus

13 alábbi általános képletű azonosítót készítünk:



ahol

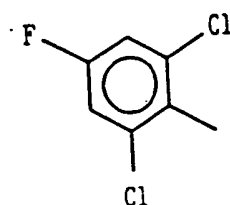
Ar jelentése



és n értéke 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 és 10,

és ahol

Ar jelentése



és n értéke 0, 3 és 9.

10. Példa

Tömegspektroszkópiásan leolvasható címkékkel ellátott kódolt kombinatórikus könyvtárak

A 8. reakcióvázlatban szereplő (4), (11) és (13) címkékével azonos szerkezetű, de ezektől különböző deutérium helyettesítettség folytán eltérő molekulatömegű címkéket szintetizálunk (9. és 10. reakcióvázlat), és ezeket egyenként tömegspektroszkópiásan (MS) analizáljuk. Az MS eljárások közül a pozitív kémiai ionizációs tömegspektroszkópiás eljárás (PCIMS) a címkék minimális fragmentálódását okozta, így csak az $[M+NH_4]^+$ és egy másik, az $[MH-H_2O]^+$ képlettel leírható fragmentum volt nyilvánvaló (1., 2. és 3. ábra). Ez lehetővé teszi, hogy egy címke jelenlétét vagy hiányát két jel észlelése alapján határozzuk meg, ami minden lehetséges kétséget kizár, ha egy komplexebb elegyet vizsgálunk. Ezután a három címkéből közelítőleg azonos mennyiséget elegyítünk, és analizálunk PCIMS révén (5. ábra). A különböző címkék mindegyikének megfelelő két jel ismét könnyen megkülönböztethető.

A (4) címkét ezután a 9. reakcióvázlatban szereplő (8) diazoketon prekursorra alakítjuk, ezután Tentagel gyantához kötjük, ez a termék a 11. reakcióvázlat (9) képletű anyagként látható. Egy (9) gyöngyöt ezután eltávolítunk, és cérium-ammónium-nitrát alkalmazásával a (4) képletű címkét oxidatív

úton szabaddá tesszük. Az ismét elvégzett PCIMS elemzés ismét tisztán mutatja a (4) címke jelenlétét.

Összegezve, az azonos szerkezettel, de egymástól eltérő molekulatömeggel bíró (4), (11) és (13) címkéket állítjuk elő, ezek elegyeikből egyidejűleg könnyen meghatározhatók PCIMS révén. A kombinatorikus könyvtár szintézisében alkalmazott egyetlen pentagél gyanta gyöngyről szabaddá tett kis mennyiségű 4 címke PCIMS révén kimutatható. Az MS egy életképes és érzékeny kimutatási módszer a címkék kimutatására, használható a kombinatorikus könyvtár kódoló rendszerének kimutatására.

A (4), (11) és (13) PCIMS révén való elemzését 1 % ammóniát tartalmazó metán reagens gáz elegyben végezzük.

(2) 11,1 ml, 125 mmól, 5,00 ekvivalens 1,4-butándiol (1), 6,97 ml, 50,0 mmól, 2,00 ekvivalens Et_3N és 0,153 g, 1,25 mmól, 0,05 ekvivalens 4-dimetil-amino-piridin 100 ml diklór-metánban készült oldatához 0 °C hőmérsékleten, argongáz atmoszférában hozzáadunk 3,88 g, 25,0 mmól, 1,00 ekvivalens 97 %-os terc-butil-dimetil-szilil-kloridot. A kapott oldatot 0 °C hőmérsékleten 15 percig, majd 25 °C hőmérsékleten 16 órán át keverjük. Az elegyet ezután 250 ml diklór-metánnal hígítjuk, 100 ml 1 mól/literes hidrogén-klorid-oldattal, 100 ml telített vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal és 100 ml vízzel mossuk, majd magnézium-szulfáton szárítjuk. Az illékony anyagok vákuumban való eltávolításával nyerjük a (2) nyersterméket olaj formájában.

(3) Mintegy 10 mmól nyers (2) alkohol, 1,93 g, 10,5 mmól, 1,05 ekvivalens pentafluor-fenol és 2,89 g, 11,0 mmól, 1,10 ekvivalens trifetil-foszfín 40 ml száraz diklór-metánban készült oldatához 0 °C hőmérsékleten, argongáz atmoszférában 1,73 ml, 11,0 mmól, 1,10 ekvivalens dietil-azo-dikarboxilátot adunk. A kapott narancsszínű oldatot 0 °C hőmérsékleten 5 percig, majd 25 °C hőmérsékleten 15 órán át keverjük. Az elegyet ezután 250 ml diklór-metánnal hígítjuk, 100 ml telített vizes nátrium-karbonát-oldattal, 100 ml telített vizes ammónium-klorid-

-oldattal és 100 ml vízzel mossuk, majd magnézium-szulfáton szárítjuk. Az illékony anyagok vákuumban való eltávolítása után visszamaradó anyagot flash-kromatográfiás eljárással tisztítjuk, eluensként 0 és 20 % között növekvő koncentrációjú hexános etil-acetát-oldatot alkalmazunk, így a (3) terméket olaj formájában nyerjük.

(4) 1,85 g, 5,00 mmól, 1,00 ekvivalens szililcsoporttal védett (3) alkohol 20 ml tetrahidrofuránban készült oldatához 25 °C hőmérsékleten 10 ml, 10,0 mmól, 2,00 ekvivalens 1,0 mól/literes tetrahidrofurános tetrabutyl-ammonium-fluorid-oldatot adunk. A kapott narancsszínű oldatot 25 °C hőmérsékleten 4 órán át keverjük, majd az illékony anyagokat vákuumban eltávolítjuk, és a visszamaradó anyagot flash kromatográfiás eljárással tisztítjuk, eluensként 20 - 40 % etil-acetátot tartalmazó hexánt alkalmazunk. 86 %-os hozammal 1,10 g (4) terméket nyerünk olajként.

(5) 0,800 g, 3,125 mmól, 1,00 ekvivalens (4) alkohol, 0,569 g, 3,125 mmól, 1,00 ekvivalens metil-vanillát és 0,984 g, 3,75 mmól, 1,20 ekvivalens trifenil-foszfín 20 ml száraz diklór-metánban készült oldatához 0 °C hőmérsékleten, argongáz atmoszférában 0,591 ml, 3,75 mmól, 1,20 ekvivalens dietil-azodikarboxilátot adunk. A kapott halványsárga oldatot 0 °C hőmérsékleten 5 percig, majd 25 °C hőmérsékleten 19 órán át keverjük. Az elegyet ezután 100 ml diklór-metánnal hígítjuk, 50 ml 1 mól/literes nátrium-hidroxid-oldattal, 50 ml telített vizes ammónium-klorid-oldattal és 50 ml vízzel mossuk, majd magnézium-szulfáton szárítjuk. Az illékony anyagok vákuumban való eltávolítása és flash-kromatográfiás eljárással való tisztítás után, amelyet 20 % etil-acetátot tartalmazó hexán alkalmazásával végzünk, olaj formájában nyerjük az (5) terméket.

(6) 3,125 mmól (5) észter 12 ml tetrahidrofuránban készült oldatához 1,31 g, 31,3 mmól, 10,0 ekvivalens lítium-hidroxid-monohidrátot adunk. A kapott szuszpenzióhoz 24 ml metanolt adunk, majd az így kapott oldatot 25 °C hőmérsékleten 1 órán át keverjük, ezután 1 napon át visszafolyatós hűtő alatt forraljuk.

Az illékony anyagokat vákuumban eltávolítjuk, majd 1 mól/literes hidrogén-klorid adagolásával az oldat pH-ját 1-re állítjuk be. A képződött fehér csapadék formájú terméket összegyűjtjük, és szárítjuk. 76 %-os hozammal (a két lépésre számítva) 0,968 g (6) terméket nyerünk.

(7) 0,968 g, 2,38 mmól, 1,00 ekvivalens (6) karbonsavhoz argongáz atmoszférában 2,43 ml tionil-kloridot adunk. A kapott szuszpenziót visszafolyató hűtő alatt 1,5 órán át forraljuk, ezalatt sárga folyadék képződik. A folyadékból az illékony anyagokat vákuumban eltávolítjuk, a visszamaradó anyagot toluollal háromszor azeotróp desztillálásnak tesszük ki, így a (7) terméket szintelen kristályok formájában nyerjük.

(8) 2,38 mmól (7) sav-klorid 20 ml 1:1 arányú THF/MeCN elegyben készült oldatához 0 °C hőmérsékleten, argongáz atmoszférában 1,16 ml, 8,33 mmól, 3,50 ekvivalens Et₃N-t, majd 7,14 mmól, 3,00 ekvivalens 2,0 mól/literes hexános (trimetil-szilil)-diazó-metán-oldatot adunk. A kapott sárga oldatot 0 °C hőmérsékleten 1 órán át, majd 25 °C hőmérsékleten 1 napon át keverjük. Az elegyet 150 ml etil-acetáttal hígítjuk, majd 2 x 75 ml telített nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal, majd 2 x 75 ml telített vizes nátrium-klorid-oldattal mossuk, és magnézium-szulfáton szárítjuk. Az illékony anyagokat vákuumban eltávolítva a (8) nyersteget olajként nyerjük.

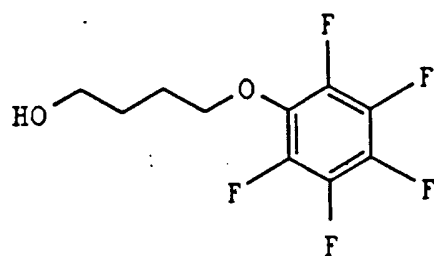
(11) Kereskedelmi forgalomban kapható (10) 1,4-butándiol-2,2,3,3-d₄-t használunk az előbbi eljárás (1) vegyülete helyett, és az (1) képletű vegyület (4) képletű vegyületté történő átalakítási lépéseiben leírttal analóg módon járunk el, így a (11) vegyületet a három lépés összesített eredményeként 41 %-os hozammal nyerjük.

Az (1) vegyület helyett kereskedelmi forgalomban kapható (10) 1,4-butándiol-2,2,3,3,4,4-d₆-t alkalmazva az 1-4 átalakítási lépésekkel analóg eljárással állítjuk elő a (13) vegyületet, amelyet a három lépés összesített hozamként 42 %-os eredménnyel kapunk.

A (4) címkét a szilárd hordozóra a gyanta tömegére számítva 5 - 50 tömeg% (8) diazo-ke-ton prekursor mennyiségben visszük be, így lényegében a 4. példa szerinti eljárással nyerjük a (9) vegyületet a hetero Diels-Alder könyvtárat. Ezután a (4) címkét a (9) vegyületről lényegében a 4. példa G lépésében ismertett módon távolítjuk el.

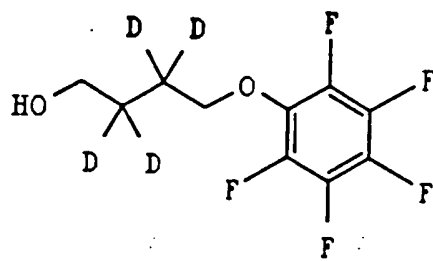
A (11) és (13) címkéknek megfelelő diazo-ke-tonokat alkalmazzuk ezen címkék szilárd hordozóra való felvitelére, így ezek a (8) címkével egy bináris kódoló készlet tagjaivá lesznek.

8. Reakcióvázlat



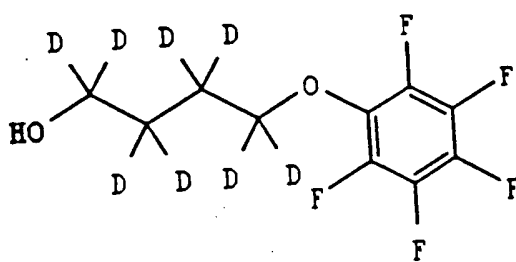
(4)

M = 256



(11)

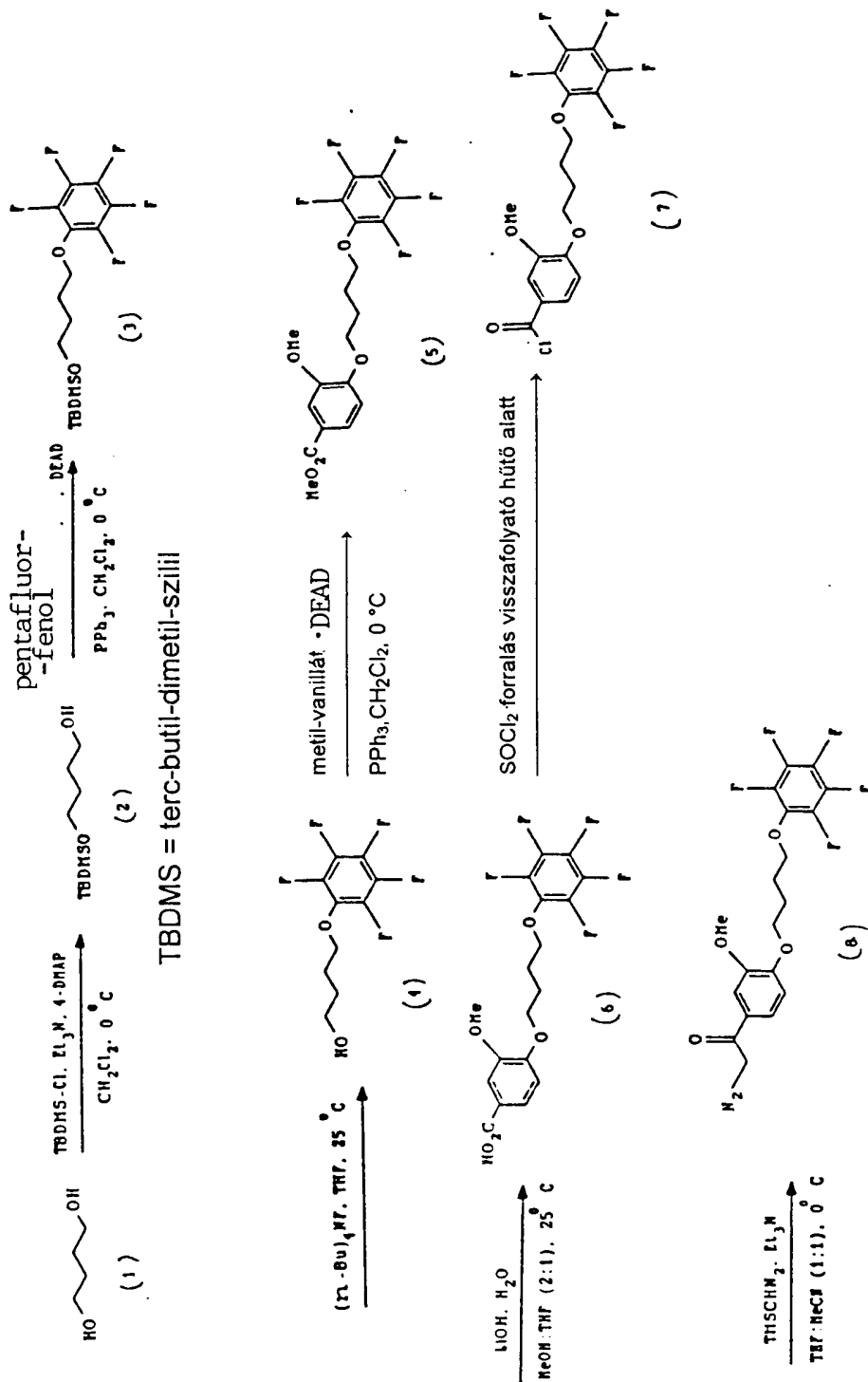
M = 260



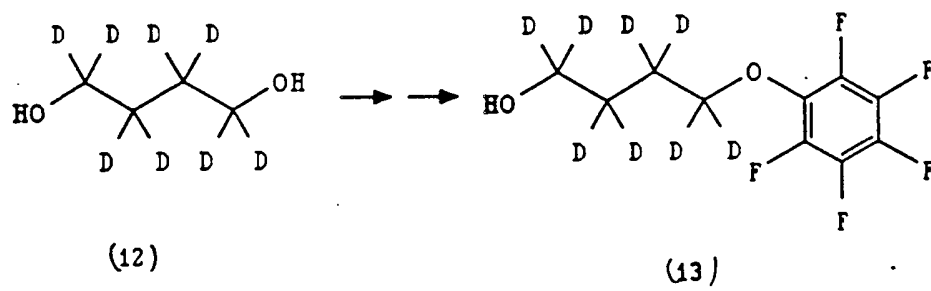
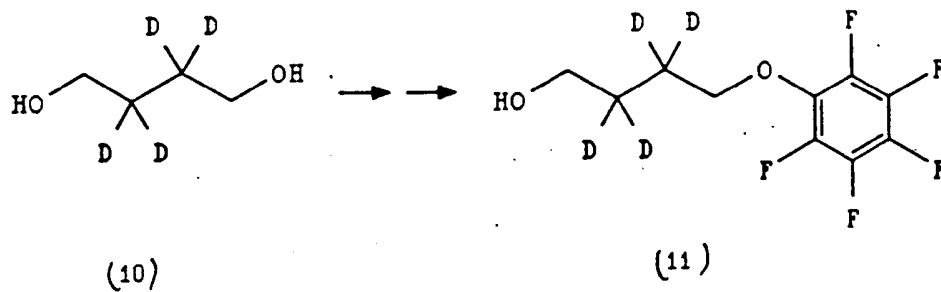
(13)

M = 264

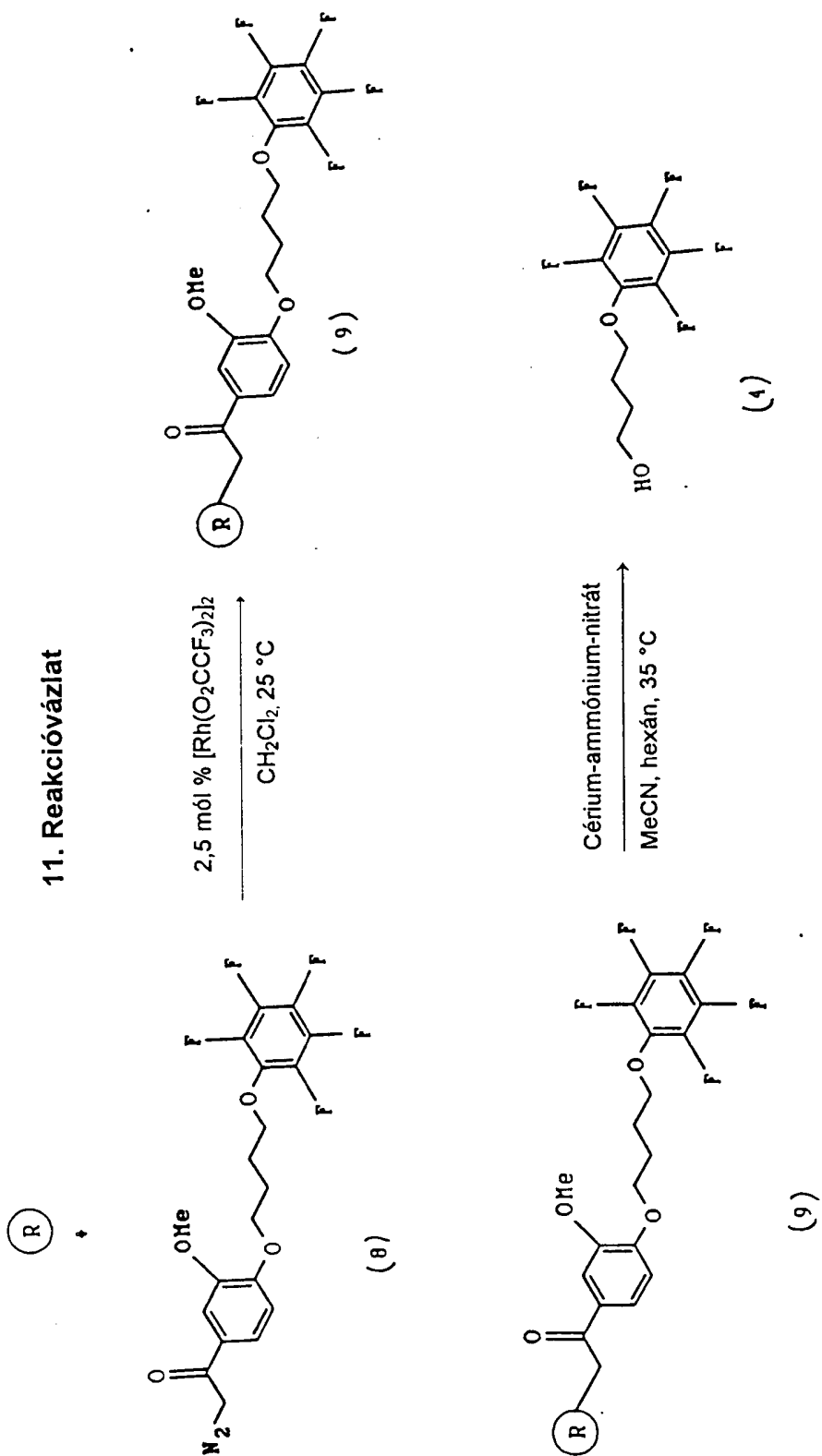
9. Reakcióvázat



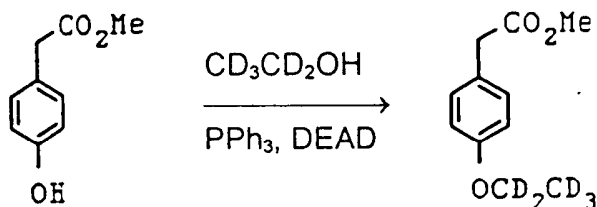
10. Reakcióvázlat



11. Reakcióvázatlat



Deutériummal jelzett címkék készítése



3,2 g, 12,1 mmól PPh_3 30 ml tetrahidrofuránban készült oldatához 0 °C hőmérsékleten hozzáadunk 1,9 ml, 12 mmól dietil-azo-dikarboxilátot. Az elegyet 10 percig 0 °C hőmérsékleten tartjuk, majd hozzáadjuk 1,66 g, 10 mmól metil-4-hidroxi-fenil-acetát és 800 μl , 12,3 mmól d_5 -etanol 10 ml tetrahidrofuránban készült oldatát. Az elegyet 2 órán át 25 °C hőmérsékleten keverjük, majd besűrítjük, és flash-kromatográfiás eljárással tisztítjuk. 93 %-os hozammal 1,86 g metil-4- d_5 -etoxi-fenil-acetátot nyerünk színtelen olajként.



1 g, 5 mmól 4- d_5 -etoxi-fenil-acetát száraz etil-éterben készült 0 °C hőmérsékletű oldatához 380 mg, 10 mmól lítium-alumínium-hidridet adunk. Az elegyet 25 °C hőmérsékleten 8 órán át keverjük, majd hideg, 3 mól/literes hidrogén-kloridba öntjük. A vizes oldatot ezután etil-éterrel kétszer extraháljuk, a szerves fázisokat egyesítjük, sóoldattal mossuk és magnézium-szulfáton szárítjuk. Az oldószer eltávolítása után 100 %-os hozammal 850 mg 4- d_5 -etoxi-fenetil-alkoholt nyerünk fehér, szilárd anyagként.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 2,79 (2H, t, $J = 6,6$ Hz), 3,80 (2H, t, $J = 6,5$ Hz), 6,83 (2H, d, $J = 8,6$ Hz), 7,12 (2H, d, $J = 8,6$ Hz).

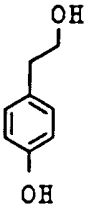
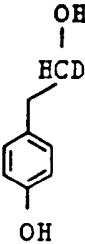
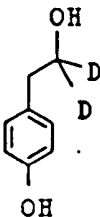
800 mg, 4 mmól 4- d_5 -etoxi-fenil-acetát száraz éterben készült 0 °C hőmérsékletű oldatához 340 mg, 8 mmól lítium-alumínium-deuteridet adunk. Az elegyet 25 °C hőmérsékleten 8 órán át keverjük, majd hideg 3 mól/literes hidrogén-kloridba öntjük. A vizes oldatot ezután etil-éterrel kétszer extraháljuk, a szerves fázisokat egyesítjük, sóoldattal mossuk, és magnézium-szulfáton szárítjuk. Az oldószer eltávolítása után 98 %-os hozammal 680 mg 4- d_5 -etoxi- d_2 -fenetil-alkoholt nyerünk fehér, szilárd anyagként.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 2,79 (2H, s), 6,85 (2H, d, $J = 8,5$ Hz), 7,13 (2H, d, $J = 8,5$ Hz).

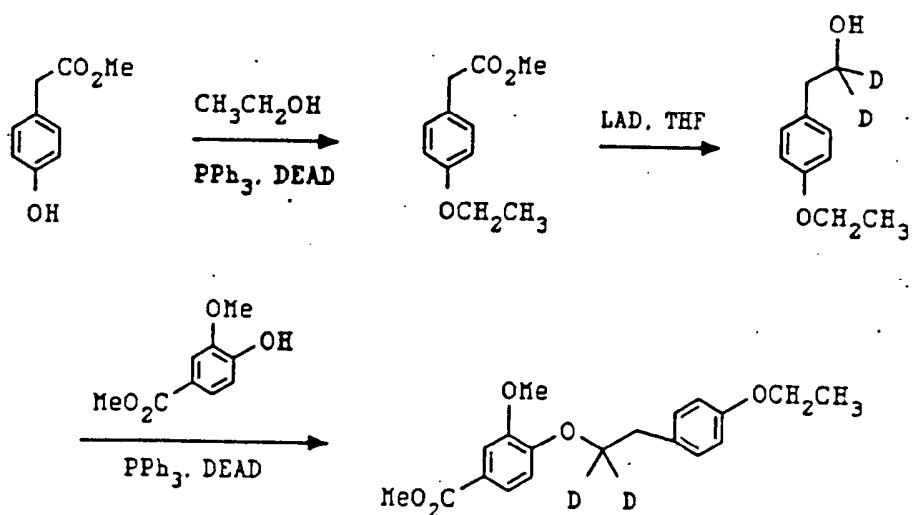
A 12. reakcióvázlat egy táblázat, amelyben hét különböző címkét mutatunk be a vízszintes sorokban lévő vegyületek és a függőleges oszlopokban lévő vegyületek kombinációjaként.

12. Reakcióvázlat

Tömeg-címke

	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	$\text{CD}_3\text{CH}_2\text{OH}$	$\text{CD}_3\text{CD}_2\text{OH}$
	0	3	5
	1	4	6
	2	5	7

Szintézis



Tömeg = M+2

d-7 vagy d-5 deutérium minták értékelése



Az érzékenység szükségessé teszi, hogy a mintákból bisz(trimetil-szilil)-trifluor-acetamid (BSTFA) származékot képző szerrel kvantitatívan szobahőmérsékleten 30 perc alatt trimetil-szilil-észter-származékokat képezzünk. A reagenst és az oldószert szobahőmérsékleten, nitrogéngáz áramban távolítjuk el. A mintát etil-acetáttal rezolváljuk, és pozitív kémiai ionizációs tömegspektrometriával való elemzéshez oszlopra injektáljuk. A d-7 és d-5 komponensek gázkromatográfiásan nem választhatók el, de tömegspektrometriásan meghatározható a két jelenlévő komponens aránya, ha mintegy 20 ng mennyiséget injektálunk Hewlett-Packard GC/MS készülék oszlopára. A származékká alakított d-5 és d-7 minták tömegspektrumán a 6. ábrán szereplő $(M+NH_4)^+$ ion $m/z = 263$ értékű a d-7 származéknál, illetve $m/z = 261$ a d-5 származéknál, ami a számított aránnyal megegyezik. Ugyancsak megfigyelhetők a p-etoxi-benzil-kation fragmentumai a 6. ábrán $m/z = 156$ értéknél a d-7 minta és $m/z = 154$ értéknél a d-6 minta esetén. Az érzékenység 1 ng vagy annál kisebb oszlopra injektált mennyiségig növelhető, ha nagyobb érzékenységű JEOL SX-102 nagy felbontású tömegspektrométert alkalmazunk. A JEOL SX-102 mintegy két nagyságrenddel érzékenyebb, mint a Hewlett-Packard rendszer. A 6. ábrán spektrumokat és kromatogramokat mutatunk be, amelyek a kromatográfiás elválasztás származékképzés folytán való javulását mutatják. Az 5. ábrán a származékká nem alakított d-7 minta tömegspektrumát és kromatogramját mutatjuk be.

A fenti leírásból nyilvánvaló, hogy a találmány rugalmas, egyszerű módszer nyújt vegyületek azonosítására olyan esetekben, amikor a vegyületek mennyisége nem teszi lehetővé, hogy reakció-történetüket pontosan meghatározhassuk. A módszer rendkívül nagyszámú és különböző termékek előállítását teszi lehetővé, amelyek közül a szkrínelési eljárások nagy választékával határozhatjuk meg a biológiai vagy más aktivitás tekintetében érdeklődésre számottartó vegyületeket. Az eljárás körülményei mellett kémiaiailag inert címkék alkalmazása nagy rugalmasságot tesz lehetővé számos olyan környezetben, amely az érdeklődésre számottartó vegyületek különféle szintézisutakon való előállítása során előáll. A címkék könnyen szintetizálhatók, pontos analízist tesznek lehetővé, így pontosan meghatározható a termékek összetétele.

A leírásban hivatkozott minden közleményt és szabadalmi leírást referenciaként építünk bejelentésünkbe éppúgy, mintha a hivatkozott helyeken egyenként jelöltük volna meg, hogy ezeket referenciaként a leírásba beépítjük.

Az előzőekben a találmány egyes részleteit ismertettük a bemutatás és a példa kedvéért, a megértés megkönnyítése céljából, nyilvánvaló azonban, hogy szakember számára a leírásban adott kitanítás ismeretében bizonyos változtatások és módosítások kézenfekvőek, ezek a találmány oltalmi körébe tartoznak.

Szabadalmi igénypontok

1. Eljárás egyedi szilárd hordozók sokaságán végrehajtott reakciósorozatok reakció-történetének rögzítésére, ahol a reakciósorozat legalább két olyan lépésből áll, amely különböző ágenseket vagy különböző reakciókörülmények alkalmazását foglalja magában, és a fenti egyedi szilárd hordozók sokaságának különböző módosításait eredményezi, a különböző egyedi szilárd hordozókon nagyszámú különböző végterméket eredményez, amely eljárásban a fenti reakció-történet rögzítésére azonosítók kombinációját alkalmazzuk, amely azonosítókra az jellemző, hogy meghatározzák a választott ágenszt vagy reakciókörülményeket és a reakciósorozaton belüli lépést, és a választás és a lépés szerinti elemzésre alkalmasak, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy

a reakciósorozat első vagy köztes lépésében az egyedi szilárd hordozók minden csoportjában - amely csoport legalább egy egyedi szilárd hordozóból és azonosítók kombinációjából áll - különböző ágenszt használunk vagy különböző reakciókörülményeket alkalmazunk a többi csoportétól, ahol az azonosítók kombinációja meghatározza az adott reakciósorozatban minden egyes egyedi szilárd hordozóra vonatkozóan a kiválasztott ágenszt és az adott lépést, az azonosítók mindegyike egyedileg, közvetlenül vagy közvetve, de nem egy korábbi azonosítón át kapcsolódik az egyedi szilárd hordozóhoz;

a fenti csoportokat egymással elegyítjük, majd az egyedi szilárd hordozók sokaságát csoportok sokaságára osztjuk egy második köztitermék előállítására vagy a végtermék előállítására való felhasználáshoz, és

a fenti reagáltatást legalább még egyszer megismételjük több végtermék nyerése érdekében, így a különböző egyedi szilárd hordozókon különböző termékeket nyerünk.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy legalább 100 egyedi szilárd hordozót és legalább 2 csoportot alkalmazunk minden reakcióban.

3. Az 1. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy további lépésként magában foglalja az egyedi szilárd hordozókon lévő végtermékek szkrínelését egy érdeklődésre számottartó jellemző tekintetében, és a reakció-történet azonosítását legalább egy érdeklődésre számottartó végtermék tekintetében.

4. Az 1. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a végterméket lehasítjuk a szilárd hordozóról, és szkríneljük.

5. Az 1. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy az azonosítókat a címke komponensnek a szilárd hordozóktól való elválasztására alkalmas módon kezeljük, és a kapott címke komponenseket olyan csoporttal reagáltatjuk, amelyek fluoreszcens vagy elektronbefogásos detektálásra megfelelőek.

6. Az 5. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a címke lehasítását fotokémiai vagy oxidatív úton végezzük, és a címkéből danzil-kloriddal vagy polihalogén-benzoil-halogeniddel képezünk kimutatható egységet.

7. Az 1. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy az azonosító olyan címke komponenst tartalmaz, amelynek két jellemzője van, az egyik jellemző az elválasztásra, a másik a kimutatásra teszi alkalmassá.

8. A 7. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a kimutatást lehetővé tevő jellemző az elektronbefogásos detektálásra való alkalmasság.

9. A 7. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a kimutatást lehetővé tevő jellemző a tömegspektroszkópiás úton való kimutathatóság.

10. A 9. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy tömegspektroszkópiásan deutérium atomok jelenlétét mutatjuk ki.

11. A 7. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy kimutatható jellemzőként a radioaktivitást detektáljuk.

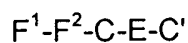
12. A 7. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy kimutatható jellemzőként a fluoreszcenciát detektáljuk.

13. A 7. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a címkét kromatográfiás úton elválasztjuk.

14. Egy kit, amely különböző elkülönített szerves vegyületek sokaságát tartalmazza, amely vegyületek mindegyikére az jellemző, hogy megkülönböztethető összetétellel bírnak, legalább egy bit különböző információt kódolnak, amely fizikai mérési módszerrel meghatározható, és legalább egy közös funkciós csoportot tartalmaznak.

15. A 14. igénypont szerinti kit, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy legalább négy különböző funkciós szerves vegyületet tartalmaz.

16. A 14. igénypont szerinti kit, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a funkciós szerves vegyület az



általános képlettel jellemezhető, ahol F^1-F^2 egy kapcsolóegység, amely a szilárd részecskéhez való kapcsolódást, illetve az arról való lehasítást teszi lehetővé, és $\underline{C}-E-\underline{C}'$ egy olyan címke, amely fizikai méréssel meghatározható.

17. A 16. igénypont szerinti kit, ahol a funkciós szerves vegyületek a metilénecsoportok számában és/vagy a halogénatomok, nitrogénatomok vagy kénatomok számában különböznek egymástól.

18. A 16. igénypont szerinti kit, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy $\underline{C}-E-\underline{C}'$ egysége fotokémiai úton távolítható el.

19. A 16. igénypont szerinti kit, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy $\underline{C}-E-\underline{C}'$ egysége oxidatív, hidrolitikus, termolitikus vagy redukzív úton távolítható el.

20. Szilárd hordozó, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy egy ligandum, vala-
mint azonosítók kombinációja kötődik hozzá.

21. A 20. igénypont szerinti szilárd hordozó, a z z a l j e l l e m e z v e ,
hogy a hozzá kötődő ligandum egy oligomer, amely lehet oligopeptid,
oligonukleotid, oligoszacharid, polilipid, poliészter, poliamid, poliuretán,
polikarbamid, poliéter, poli(foszforszármazék), mint egy foszfát, foszfonát,
foszforamid, foszfonamid, foszfit vagy foszfinamid, poli(kénszármazék), mint egy
szulfon, szulfonát, szulfít, szulfonamid vagy szulfénamid, ahol a foszfor- és kén-
származékok esetében a megjelölt heteroatom az esetek többségében C, H, N,
O vagy S atomokhoz és ezek kombinációihoz kötődik.

22. A 20. igénypont szerinti szilárd hordozó, a z z a l j e l l e m e z v e ,
hogy a ligandum egy nem-oligomer, amely heterogyűrűs, aromás, aliciklusos,
alifás vagy ezek kombinációja.

23. A 22. igénypont szerinti szilárd hordozó, a z z a l j e l l e m e z v e ,
hogy a nem-oligomer egy diazabiciklusos, azatriciklusos vagy elágazó láncú
amid vegyület.

24. A 20. igénypont szerinti szilárd hordozó, a z z a l j e l l e m e z v e ,
hogy a ligandum a hordozóhoz egy nem-labilis kötéssel kapcsolódik.

25. A 20. igénypont szerinti szilárd hordozó, a z z a l j e l l e m e z v e ,
hogy a ligandum a hordozóhoz egy hasítható kötéssel kapcsolódik.

26. A 20. igénypont szerinti szilárd hordozó, a z z a l j e l l e m e z v e ,
hogy az azonosító címkéket tartalmaz, amely címkék radioizotópok vagy halo-
génezett alkilcsoportot vagy halogénezett aril-allil-csoportot tartalmazó vegyüle-
tek.

27. A 20. igénypont szerinti szilárd hordozó, a z z a l j e l l e m e z v e ,
hogy a hordozó mintegy 10 - 2000 μm átmérőjű gyöngy, és az azonosítók olyan
címke komponenseket tartalmaznak, amelyek a gyöngyről való lehasítást köve-
tően gázkromatográfiás és/vagy folyadékkromatográfiás eljárással elválasztha-

tók, elektronbefogásos, tömegspektroszkópiás, fluoreszcenciás és atom-emissziós eljárásokkal kimutathatók.

28. Egy könyvtár, amely a 23. igénypont szerinti szilárd hordozók sokaságát tartalmazza.

29. A 28. igénypont szerinti könyvtár, ahol a végtermékek a szilárd hordozóról lehasított formában vannak jelen.

30. A 29. igénypont szerinti könyvtár, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a végtermékek diazabiciklusos, azatriciklusos vagy elágazó láncú amid vegyületek.

31. Eljárás egy érdeklődésre számottartó jellemzővel bíró vegyületek előállítására, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a 28. igénypont szerinti könyvtárat szkrínéljük.

32. A 31. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a vegyületek a szilárd felületről lehasítottak.

33. A 32. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a vegyület diazabiciklusos, azatriciklusos vagy elágazó láncú amid vegyület.

34. Eljárás egy ligandum előállítására, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy egyedi szilárd hordozók sokaságán reakciósorozatot hajtunk végre és ennek történetét rögzítjük, ahol a reakciósorozat egy legalább kétlépéses eljárást foglal magában, amelynek végrehajtásához különböző ágensek és/vagy reakciókörülmények szükségesek, és amely a fenti egyedi szilárd hordozók sokaságának különböző módosításait eredményezi, ami a különböző egyedi szilárd hordozókon különböző végtermékek sokaságát eredményezi, a reakció-történet rögzítésére azonosítók kombinációit alkalmazzuk, amely azonosítókra az jellemző, hogy meghatározzák a reakciósorozat egyes lépéseiben kiválasztott ágenseket vagy reakciókörülményeket és a lépést, és analizálhatók a választás és a lépés szerint, az eljárás abban áll, hogy a sorozat első vagy köztes lépésében az egyedi szilárd hordozók egyes csoportjaival különböző ágenszt reagáltatunk

vagy eltérő reakciókörülményeket alkalmazunk, és ezek a csoportok legalább egy egyedi szilárd hordozót és azonosítók kombinációját tartalmazzák, ahol az azonosítók kombinációja meghatározza az ágens megválasztását és a sorozatbeli lépés számát az egyedi szilárd hordozók minden csoportja tekintetében, a fenti azonosítók mindegyike egyedileg kötődik a fenti egyedi szilárd hordozóhoz közvetlenül vagy egy korábbi azonosítón át való kapcsolódástól eltérő kapcsolódási móddal;

az egyedi szilárd hordozók csoportjait ezután elegyítjük, majd egy második köztes lépés vagy végső lépés végrehajtásához az így elegyített egyedi szilárd hordozók sokaságát csoportok sokaságára osztjuk egy második közti lépésben vagy az utolsó lépésben való felhasználáshoz, és a fenti reagáltatást legalább még egyszer megismételjük, így ligandumok sokaságát nyerjük, amelyek a különböző egyedi szilárd hordozók felületén különböző termékekkel bírnak, és a fenti azonosító-kombináció révén legalább egy kiválasztott egyedi szilárd hordozón azonosítjuk a reakció-történetet.

35. A 34. igénypont szerinti ligandum, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy az azonosítás a ligandumoknak egy érdeklődésre számottartó jellemző tekintetében való szkrínelését foglalja magában.

36. Eljárás egy ligandum előállítására, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy egyedi szilárd hordozók sokaságán reakciósorozatot hajtunk végre, és ennek történetét rögzítjük, ahol a reakciósorozat egy legalább kétlépéses eljárást foglal magában, amelynek végrehajtásához különböző ágensek és/vagy reakciókörülmények szükségesek, amelyek az egyedi szilárd felületek sokaságának mindegyikén különböző módosulásokat eredményeznek, és amelyek révén különböző ligandumok sokaságát nyerjük különböző egyedi szilárd felületeken, azonosítók kombinációit használjuk a reakció-történet rögzítésére, ahol az azonosítók kombinációit az jellemzi, hogy meghatározzák az ágens és/vagy reak-

ciókörülmények megválasztását és a reakciósorozat egy lépését, továbbá a választás és a lépés tekintetében elemezhetők, az eljárás abban áll, hogy

a sorozat egy első vagy köztes lépésében különböző ágenszt reagáltatunk és/vagy különböző reakciókörülményeket alkalmazunk az egyedi szilárd felületek minden csoportjánál, ahol az említett csoport legalább egy egyedi szilárd felületet tartalmaz, és egy azonosító-kombinációt, ahol az azonosító-kombináció meghatározza az egyedi szilárd felületek minden csoportja vonatkozásában az ágenszt választását és a sorozatban való lépést, és az azonosítók egyedileg kötődnek az említett egyedi szilárd felületekhez lehasítható kötéssel, más kötődési móddal, mint egy korábbi azonosítón át való kötődés;

a csoportokat egymással elegyítjük, majd az egyedi szilárd felületek sokaságát egy második köztes vagy végső lépés végrehajtásához csoportok sokaságára osztjuk, és a reagáltatást megismételjük, hogy ligandumok sokaságát nyerjük oly módon, hogy az egyedi szilárd felületeken különböző ligandumokat nyerjünk, majd

az egyedi szilárd felületek csoportjainak sokaságából származó ligandumokat egy érdeklődésre számottartó jellemző tekintetében szkríneljük, és

azonosítjuk a reakció-történetet legalább egy olyan, az érdeklődésre számottartó jellemzővel bíró ligandum tekintetében, amely az egyedi szilárd hordozóhoz kötődött, oly módon, hogy a címke-tagokat lehasítjuk az egyedi szilárd felületről, és különböző jellemzők révén azonosítjuk az említett címke-tagokat.

37. A 36. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a címkek egy homológ soron belül különbözőek, és kimutatásuk elektronbefogásos gáz-kromatográfiás eljárással vagy tömegspektroszkópián történik.

38. Egy (I) általános képletű vegyület



ahol F^1 - F^2 jelentése olyan kapcsolóegység, amely lehetővé teszi a címkének a hordozóra való rákapcsolását, illetve arról való lehasítását;

$\underline{C}$ - $\underline{C}'$ pedig az elemzésre alkalmas megkülönböztethető címkét jelöli;

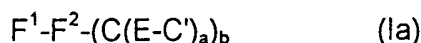
E egy olyan címke, amely lehetővé teszi a kimutatást, vagy lehetővé teszi a kimutatást és eltérő helyettesíthetősége folytán az elkülönítést;

$\underline{C}$ és $\underline{C}'$ olyan címke komponens, amely az egyedi címke kimutatást teszi lehetővé;

F^2 egy kapcsolóegység, amely szelektíven hasítható a címke felszabadítására; és

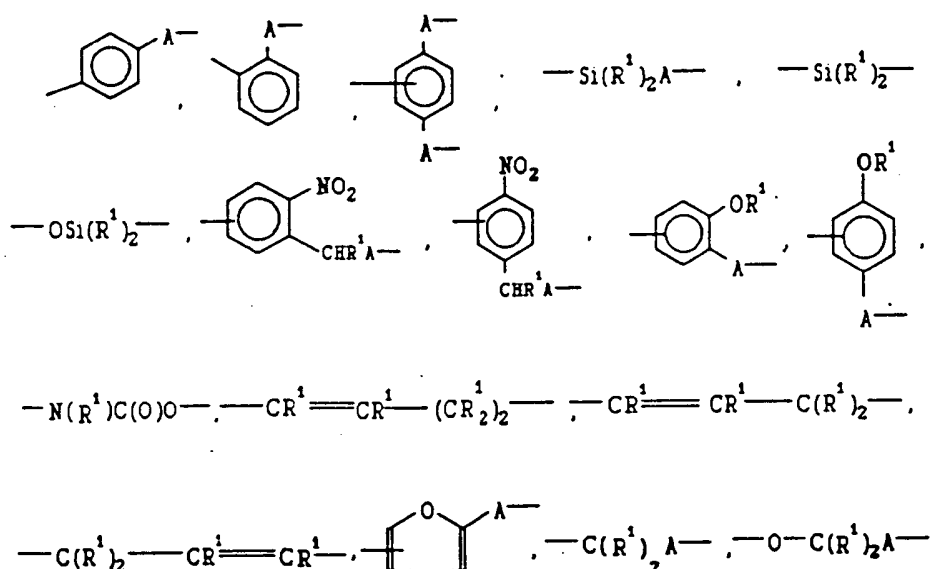
F^1 olyan funkciós csoport, amely a vegyületnek a hordozóhoz való gyors kapcsolódását biztosítja.

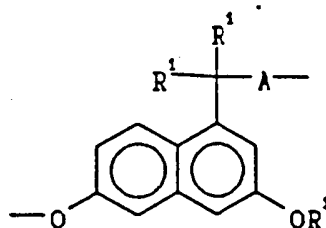
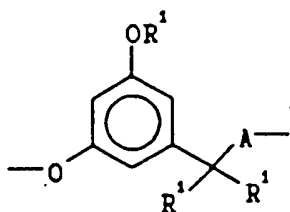
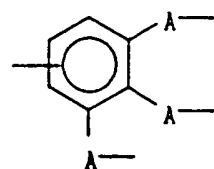
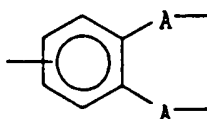
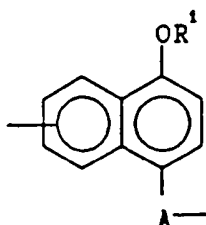
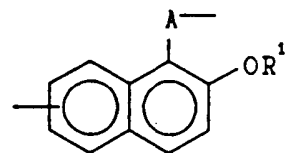
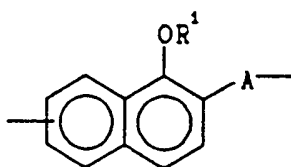
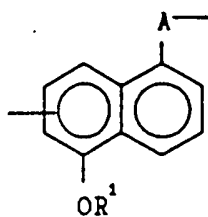
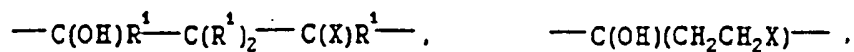
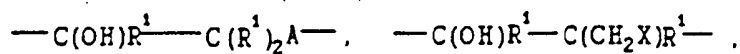
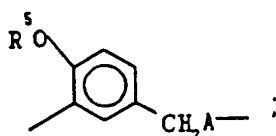
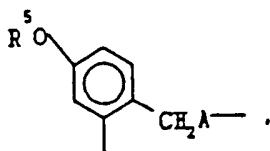
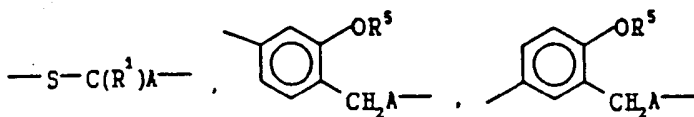
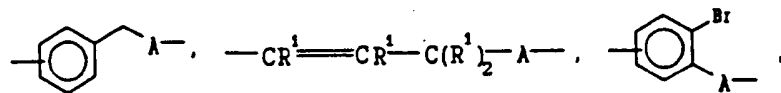
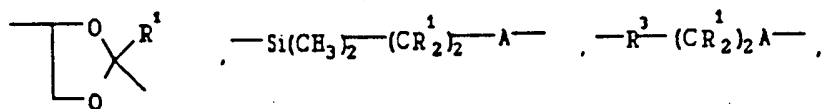
39. Egy a 38. igénypont szerinti vegyületek körébe tartozó (Ia) általános képletű vegyület

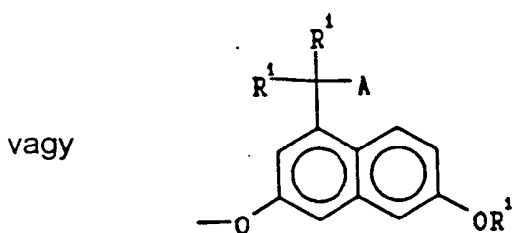


ahol F^1 jelentése: $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CH}_2\text{X}$, $-\text{NR}^1\text{R}^1$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^1$, $-\text{OH}$, $-\text{CHN}_2$, $-\text{SH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{CHN}_2$, $-\text{S}(\text{O}_2)\text{Cl}$, $-\text{S}(\text{O}_2)\text{CHN}_2$, $-\text{N}_3$, $-\text{NO}_2$, $-\text{NO}$, $-\text{S}(\text{O}_2)\text{N}_3$, $-\text{OC}(\text{O})\text{X}$, $-\text{C}(\text{O})\text{X}$, $-\text{NCO}$ vagy $-\text{NCS}$; és

F^2 jelentése







azzal a megkötéssel, hogy ha F^2 vegyértékkötés, F^1 jelentése -OH vagy -COOH;

A jelentése -O-, -OC(O)O-, -OC(O)- vagy -NHC(O)-;

$\underline{C}$ jelentése vegyértékkötés, adott esetben 1 - 40 fluor-, klór- vagy brómatommal, 1 - 6 szénatomos alkoxicsoporttal, -NR⁴R⁴, -OR⁴ vagy -NR⁴ csoporttal helyettesített 1 - 20 szénatomos alkilénecsoport vagy $-\{[C(R^4)_2]_m-Y-Z-Y-[C(R^4)_2]_n-Y-Z-Y\}_p$ általános képletű csoport, azzal a megkötéssel, hogy a $\underline{C}+\underline{C}'$ egységben a szénatomok maximális száma előnyösen 20;

$\underline{C}'$ jelentése hidrogén-, fluor- vagy klóratom, adott esetben 1 - 40 fluor-, klór- vagy brómatommal, 1 - 6 szénatomos alkoxicsoporttal, -NR⁴R⁴, -OR⁴ vagy -NR⁴ csoporttal helyettesített 1 - 20 szénatomos alkilcsoport vagy $-\{[C(R^4)_2]_m-Y-Z-Y-[C(R^4)_2]_n-Y-Z-Y\}_p$ általános képletű csoport, azzal a megkötéssel, hogy a $\underline{C}+\underline{C}'$ egység szénatomjainak száma legfeljebb 20;

E jelentése 1 - 20 fluor-, klór- vagy brómatommal helyettesített 1 - 10 szénatomos alkilcsoport, vagy Q-aril-csoport, ahol az arilcsoport 1 - 7 fluor- vagy klóratommal, nitrocsoporttal, -SO₂R⁵ általános képletű csoporttal vagy helyettesített fenilcsoporttal helyettesített, a fenilcsoport helyettesítői 1 - 5 fluor- vagy klóratom, nitrocsoport vagy -SO₂R⁵ általános képletű csoport;

E- $\underline{C}'$ jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoport vagy aminocsoport;

R¹ jelentése hidrogénatom vagy 1 - 6 szénatomos alkilcsoport;

R³ jelentése >C=O, -C(O)O-, -C(O)NR¹-, >S, >SO vagy >SO₂;

R⁴ jelentése hidrogénatom vagy 1 - 6 szénatomos alkilcsoport;

R⁵ jelentése 1 - 6 szénatomos alkilcsoport;

a értéke 1 - 5;

b értéke 1 - 3;

m és n mindegyikének értéke 0 - 20;

p értéke 1 - 7;

Q jelentése vegyértékkötés, O, S, $-NR^4$, $>C=O$, $-C(O)NR^5$, $-NR^5C(O)-$, $-C(O)\ddot{O}-$ vagy $-OC(O)-$;

X jelentése kilépőcsoport, például bróm- vagy klóratom, triflát, mezilát vagy tozilátcsoport vagy $-OC(O)OR^5$ - általános képletű csoport;

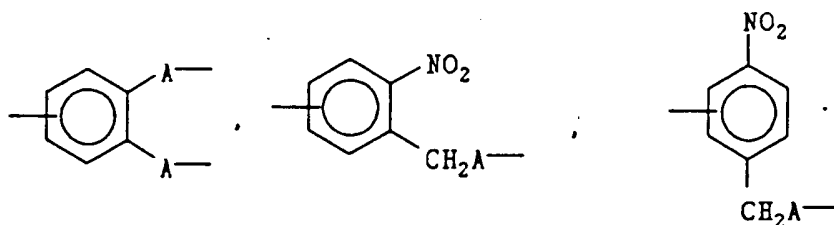
Y jelentése vegyértékkötés vagy O, S vagy $-NR^4$ általános képletű csoport;

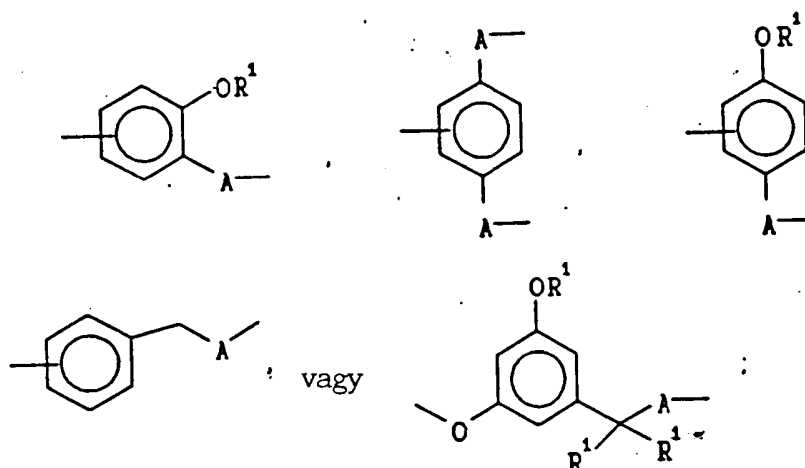
Z jelentése vegyértékkötés, adott esetben helyettesített feniléncsoport, ahol a helyettesítők 1 - 4 fluor-, klór- vagy brómatom, 1 - 6 szénatomos alkilcsoport, 1 - 6 szénatomos alkoxics csoport, 1 - 13 fluor- vagy klóratommal vagy 1 - 13 fluor-, klór- vagy brómatommal helyettesített 1 - 6 szénatomos alkil-oxi-csoporttal helyettesített 1 - 6 szénatomos alkilcsoport; vagy $[C(R^4)_2]_{1-20}$ általános képletű vagy $-(CF^2)_{1-20}$ csoport; azzal a megkötéssel, hogy ha Z jelentése vegyértékkötés, akkor a hozzá kapcsolódó Y' helyettesítők egyike is vegyértékkötés; és az arilcsoport egy mono- vagy biciklusos aromás, legfeljebb 10 szénatomot tartalmazó gyűrű, amelyben legfeljebb két heteroatom lehet, amely heteroatomok oxigén-, kén- vagy nitrogénatom lehetnek.

40. A 39. igénypont szerinti vegyület, a z z a l j e l l e m e z v e , h o g y

F¹ jelentése $-CO_2H$, $-OH$, $-CHN_2$, $-C(O)CHN_2$, $-C(O)X$, $-NCS$ vagy $-CH_2X$;

F² jelentése



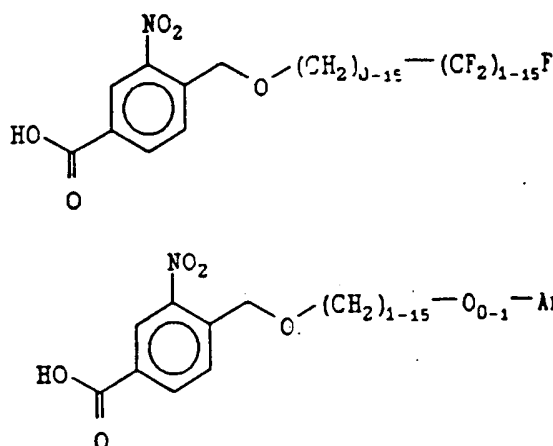


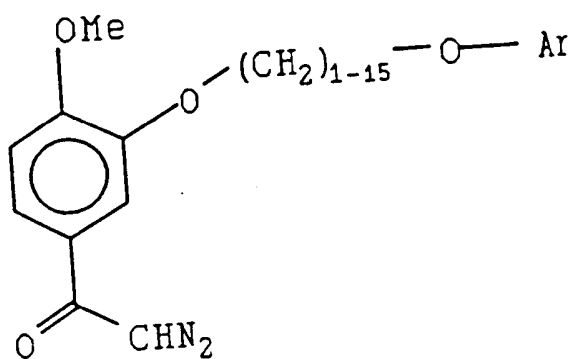
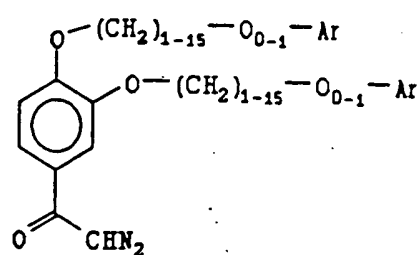
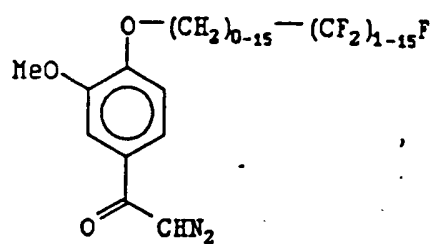
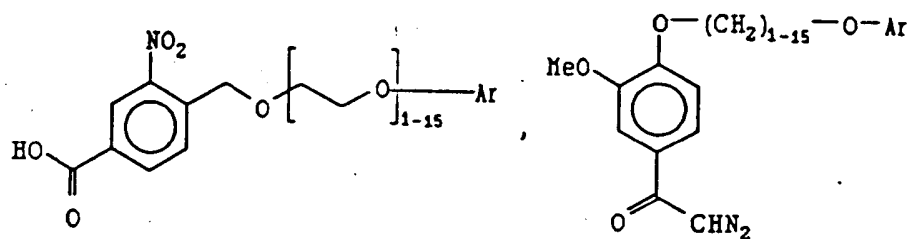
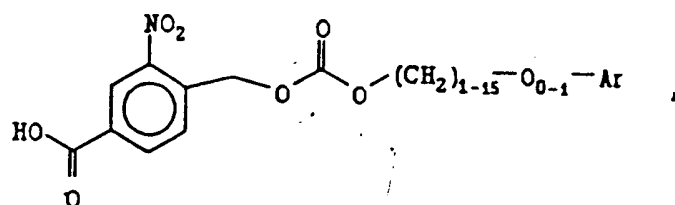
C és C' egymástól függetlenül 1 - 20 szénatomos alkiléncsoport; amely adott esetben 1 - 40 fluor- vagy klóratommal vagy $-\text{O}-(\text{CH}_2)_{2-3}_p$ csoporttal helyettesített lehet;

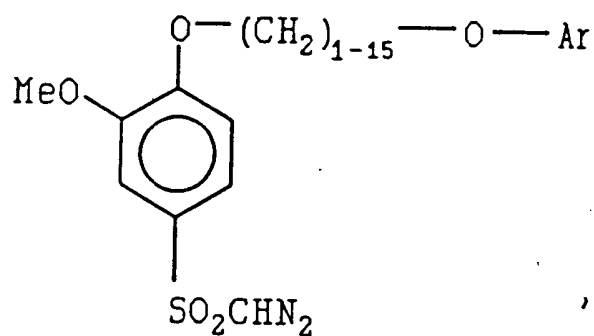
E jelentése 1 - 20 fluor- vagy klóratommal helyettesített 1 - 10 szénatomos alkilcsoport; Q-aril-csoport, ahol az arilcsoport egy 1 - 7 fluor- vagy klóratommal helyettesített biciklusos aromás gyűrű; vagy 1 - 5 fluor- vagy klóratommal, nitrocsoporttal vagy $-\text{SO}_2\text{R}^5$ általános képletű csoporttal helyettesített Q-fenil-csoport;

Q jelentése vegyértékkötés, oxigénatom, $-\text{NR}^5\text{C}(\text{O})-$ vagy $-\text{OC}(\text{O})-$.

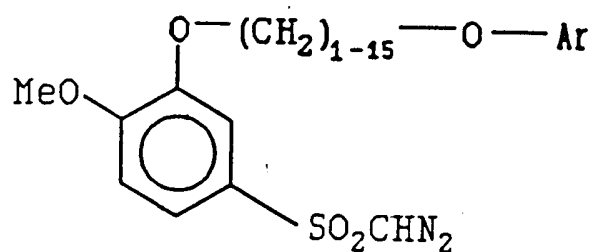
41. Egy a 39. igénypont szerinti vegyület, amelynek képlete







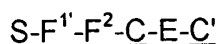
és



ahol Ar jelentése pentafluor-, pentaklór- vagy pentabrom-fenil-csoport, 2,3,5,6-tetrafluor-4-(2,3,4,5,6-pentafluor-fenil)-fenil-, 2,4,6-triklór-fenil-, 2,4,5-triklór-fenil-, 2,6-diklór-4-fluor-fenil- vagy 2,3,5,6-tetrafluor-fenil-csoport.

42. Egy a 39. igénypont szerinti vegyület, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy E-C' jelentése H, -OH vagy -NH₂.

43. Egy



általános képletű kompozíció, ahol

S jelentése oldható vagy szilárd hordozó,

$\underline{C}-E-\underline{C}'$ a címke, amely elemzésre alkalmas, ahol E egy olyan címke komponens, amely (a) lehetővé teszi a detektálást, például egy elektroforetikus csoport, amely gázkromatográfiásan vagy tömegspektroszkópiásan elemezhető, vagy (b) lehetővé teszi különböző helyettesítettségé folytán a kimutatást és az elválasztást;

$\underline{C}$ és $\underline{C}'$ címke komponensek, amelyek lehetővé teszik az egyik címkének az összes többi címkétől való megkülönböztetését, szokásosan különböző hosszúságuk vagy helyettesítettségük alapján teszik lehetővé az egymástól való elválasztást, például kromatográfiás retenciós idejük vagy tömegspektroszkópiás Z/e arányuk alapján;

F^2 egy olyan kapcsolóegység, amely a címke szabadonengedésére selektíven hasítható; és

F^1 egy funkciós csoport, amely a hordozóhoz való kapcsolást hozza létre.

44. Egy a 43. igénypont szerinti kompozíció, ahol

S egy kapilláris, üreges szál, tű, szilárd rost, cellulózgyöngy, pórusos üveggyöngy, szilikagél, polisztirol gyöngy, amely adott esetben divinil-benzollal térhálósított, ojtott kopolimer gyöngy, poliakrilamid gyöngy, latex gyöngy, adott esetben N,N'-bisz(akrilóil)-etilén-diaminnal keresztkötéssé tett dimetil-akrilamid-gyöngy, hidrofób polimerrel bevont üvegrészecskék vagy alacsony molekulatömegű, nem-keresztkötéses polisztirol; és

$F^1-F^2-\underline{C}-E-\underline{C}'$ az (I) képlet S hordozóhoz kötődő maradéka.

45. Egy az 1. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy az azonosítók kombinációja egy bináris kódrendszert határoz meg.

46. Az 1. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a 38. igénypont szerinti azonosítókat alkalmazzuk.

47. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a 39. igénypont szerinti azonosítókat alkalmazzuk.

48. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a 40. igénypont szerinti azonosítókat alkalmazzuk.

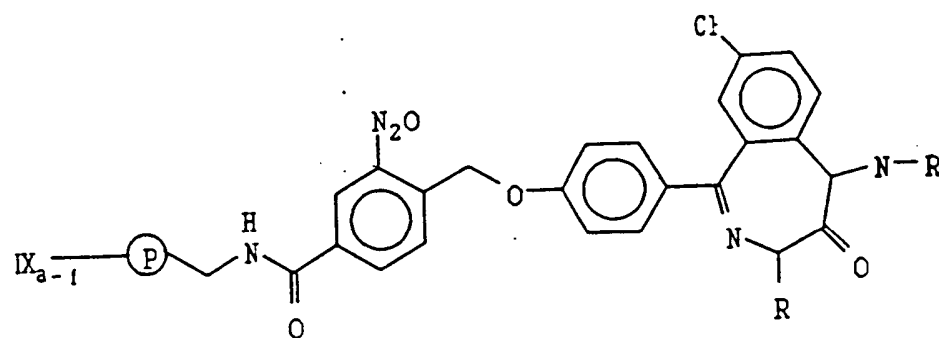
49. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a 42. igénypont szerinti azonosítókat alkalmazzuk.

50. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal a további lépéssel jellemezve, hogy az egyedi szilárd felületekről a címke tagokat lehasítjuk.

51. Az 50. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a címke tagokat fotokémiai, oxidatív, hidrolitikus, termolitikus vagy redukzív úton hasítjuk le.

52. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az egyedi szilárd felületekről fotokémiai úton nem-oligomer ligandumokat hasítunk le.

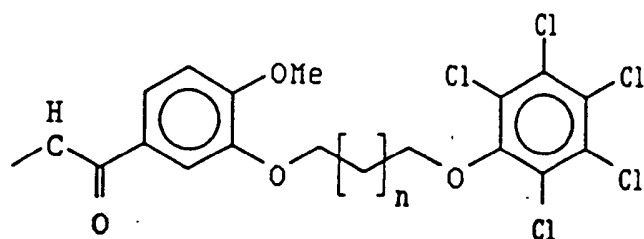
53. Egy



általános képletű vegyület, ahol

P jelentése polisztirol gyanta,

IX_{a-f} az



általános képletű vegyületek sokasága, a képletben

n értéke 1 - 6,

R jelentése $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH}$ vagy $-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$; és

R^1 jelentése H , $-\text{CH}_3$, $-\text{C}_2\text{H}_5$, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ vagy $-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$.

54. Eljárás kémiai vegyületek olyan módon való szintetizálására, amely mellett szerkezetük gyorsan meghatározható, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a vegyületet egy szilárd hordozó felületén szintetizáljuk olyan körülmények mellett, hogy a szilárd hordozó a hozzá kötött vegyület szintézisének befejezését követően azonosítók sokaságát hordozza, amelyek az adott vegyület szintézisével kapcsolatos reakciólépéseket kódolják.

55. Eljárás kémiai vegyületeket tartalmazó könyvtár olyan módon való szintetizálására, amely mellett a könyvtárban lévő egyes vegyületek szerkezete gyorsan meghatározható, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy az egyes vegyületeket egy egyedi szilárd hordozó felületén szintetizáljuk olyan körülmények mellett, hogy a vegyület-könyvtár szintézisének befejezése után az egyedi hordozóhoz azonosítók sokasága kötődik, amelyek a szilárd hordozón szintetizált vegyület szintézisével kapcsolatos reakciólépéseket kódolják.

56. Eljárás egy kémiai vegyület szerkezetének meghatározására, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a vegyületet az 54. vagy 55. igénypont szerinti módon szintetizáljuk, a szilárd hordozót, amelyen a vegyületet szintetizáltuk, elkülönítjük, majd az elkülönített szilárd hordozó kezelésével a szilárd hordozóhoz kötött azonosítók mindegyikének címke komponensét szabaddá tesszük, meghatá-

rozzuk az így szabaddá tett címke komponensek mindegyikének minőségét vagy mennyiségét vagy mindkettőt, és a vegyület szerkezetét az ilyen címke komponensek minősége vagy mennyisége vagy mindkettő alapján meghatározzuk.

57. Eljárás egy kívánt jellemzőkkel bíró vegyület meghatározására, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy az 55. igénypont szerinti eljárással kémiai vegyületek könyvtárát szintetizáljuk, a kapott könyvtár minden vegyületét külön vizsgáljuk a kívánt jelmezővel bíró vegyület azonosítására szolgáló vizsgálattal, így a könyvtárban belül azonosítjuk a kívánt jellemzővel bíró valamennyi vegyületet.

58. Az 57. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy az azonosított vegyület szerkezetét is meghatározzuk.

59. Egy kémiai vegyület könyvtár, amelyben minden vegyület egy egyedi szilárd hordozóhoz kötött, és minden szilárd hordozóhoz azonosítók sokasága kötődik, amelyek a szilárd hordozóhoz kötött vegyület szintézisével kapcsolatos reakciólépéseket kódolják.

60. Az 59. igénypont szerinti könyvtár, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a könyvtár vegyületei diaza-biciklusos vegyületek.

61. Az 59. igénypont szerinti könyvtár, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a könyvtár vegyületei aza-triciklusos vegyületek.

62. Az 59. igénypont szerinti könyvtár, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a könyvtár vegyületei elágazó láncú amid vegyületek.

63. Az 59. igénypont szerinti könyvtár, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a könyvtár vegyületei peptidek.

64. Eljárás egy kívánt jellemzővel bíró vegyület azonosítására, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy kémiai vegyületek könyvtárát az 58. igénypont szerinti eljárással vizsgáljuk a kívánt jellemzőkkel bíró vegyületek azonosítására, így a könyvtárban előforduló, a kívánt jellemzővel bíró minden vegyületet azonosítunk.

65. A 64. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy az azonosított vegyület szerkezetét is meghatározzuk.

66. Egy a 64. igénypont szerinti eljárással azonosított vegyület.

67. A 64. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a kívánt jellemző humán neurokinin 1/bradikinin receptor iránti antagonizmus, és a kémiai vegyület könyvtár aza-triciklusos vegyületekből áll.

68. A 64. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a kívánt jellemző izomrelaxánsként, trankvillánsként vagy szedatívumként való használhatóság, a kémiai vegyület könyvtár pedig benzodiazepineket foglal magában.

69. A 64. igénypont szerinti eljárás, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a kívánt jellemző magas vérnyomás vagy Raynaud szindróma kezelésére való használhatóság, és a kémiai vegyületek könyvtára elágazó láncú amidokat foglal magában.

70. Egy kompozíció, amely legalább hat különböző komponenst foglal magában, ahol a komponensek egy kit-ben vagy egy közös közegben együtt szerepelnek, mindegyik komponens egy megkülönböztethető egységgel bír, amely komponensekre jellemző, hogy:

minden megkülönböztethető egység lényegében kémiailag inert, molekula-tömegében különbözik, és az összes többi megkülönböztethető egységtől különböző, a fényemissziótól eltérő megkülönböztethető jellemzővel bír;

minden egység egy kapcsolóegységhez kötődik, amely kovalens kötés képzésére képes aktív funkciós csoporttal bír, a kapcsolódás egy kötőegységen át történik az egyedileg elkülöníthető szilárd felületekhez, vagy egy 1 nmól-nál kisebb mennyiségben kimutatható csoporthoz kötött,

azzal a megkötéssel, hogy ha a fenti egységek a fenti kapcsolóegységekhez kötődnek, a fenti komponensek fizikailag elkülönítettek.

71. Egy a 70. igénypont szerinti kompozíció, a z z a l j e l l e m e z v e ,
 hogy a szilárd hordozók gyöngyök.

72. Egy a 70. igénypont szerinti kompozíció, a z z a l j e l l e m e z v e ,
 hogy minden komponens molekulákat vagy különböző vegyületeket tartalmaz
 egyedi elkülöníthető szilárd felületekhez kötve, ahol a megkülönböztethető egy-
 ségek a szilárd felületen lévő molekulák szintézisének használt szintézis sort
 kódolják.

73. A 70. igénypont szerinti kompozíció, a z z a l j e l l e m e z v e , hogy a
 megkülönböztethető egységek egy homológ sort és/vagy egy mag-molekulán
 lévő helyettesítő-sort határoznak meg.

74. Egy kompozíció, amely legalább hat különböző markerrel bír,
 amelyek egy kitben vagy egy közös közegben együtt szerepelnek, mind-
 egyik marker egy megkülönböztethető egységgel bír, amelyik lényegében ké-
 miaiilag inert, ezek egymástól molekulatömegükben különböznek, a markerek
 képlete:

$$(1) \quad \Lambda - \{ \Delta - (T)_{\alpha} \text{ vagy } (T)_{\alpha} - \Delta \text{ vagy } \Delta^1 - (T)_{\alpha} - \Delta^2 \}$$

ahol Λ egy kapcsolóegység, amely egy ezt az egységet a szilárd hordozóhoz
 kötő funkciós csoporttal, és egy a szilárd hordozótól való elválasztásra szolgáló
 funkciós csoporttal bír, amely utóbbi része lehet az előbbi, a kapcsolóegysé-
 get a szilárd hordozóhoz kötő funkciós csoportnak;

Δ egy megkülönböztethető csoport, amely lehetővé teszi, hogy az egyes
 markereket más markerektől a fluoreszcenciától eltérő, más fizikai jellemzőjük
 alapján különböztethessük meg, így egy marker készlet áll rendelkezésünkre,
 amely lehetővé teszi a többlépéses szintézis eljárás kódolását, és magában
 foglal minden olyan, a lehasítás után megmaradó funkciós csoportot, amely
 előzetesen a kapcsolóegységhez kötődött;

Δ^1 és Δ^2 a megkülönböztethető csoport részei, amelyek együtt egy megkülönböztethető csoportot határoznak meg, és ha egymással összekapcsolódnak, akkor Δ definíciójába esnek;

T jelentése kimutatható csoport, amely a megkülönböztethető csoporthoz kapcsolódva lehetővé teszi a marker alacsony mennyiségének kimutatását, ahol a kimutatható csoport a kitben a markeren van jelen, vagy később adható a megkülönböztethető csoporthoz, és ha a kapcsolóegységhez kötődik, magában foglal minden, a lehasítás után visszamaradó funkciós csoportot, amely korábban a kapcsolóegységgel volt kapcsolatban;

és α értéke 0 vagy 1, jelölve, hogy a kimutatható csoport jelen van vagy nincs jelen;

$$(2) \quad ss-(\Delta'-(\Delta-(T)_\alpha \text{ vagy } (T)_\alpha-\Delta \text{ vagy } \Delta^1-(T)_\alpha-\Delta^2))_\beta$$

ahol a szimbólumok jelentése az előzőekben megadott a következők kivételével:

ss jelentése szilárd hordozó;

Δ' egy a hordozóhoz (ss) kovalensen kötött kapcsolóegység; és

β egy minden szilárd hordozóhoz rendelt egész szám, és értéke legalább 6, szokásosan nem több, mint mintegy 30;

$$(3) \quad \Delta''-(\Delta''-(T)_\alpha \text{ vagy } (T'')_\alpha - \Delta \text{ vagy } \Delta^1 - (T)_\alpha-\Delta^2\}$$

ahol minden szimbólum jelentése az előzőekben megadott, kivéve a következőket:

Δ'' jelentése hidrogénatom vagy fotolitikus hasítás, elimináció vagy más, a szilárd hordozóról való lehasítást eredményező kémiai reakció után a kapcsolóegységből visszamaradó maradék;

Δ'' vagy Δ'^1 jelentése Δ vagy Δ^1 vagy egy módosított Δ vagy Δ^1 , amelyek a markernek a szilárd hordozóról való lehasítása eredményei;

T'' jelentése T vagy módosított T , amely a markernek a szilárd hordozóról való lehasításának eredménye;

$$(4) \quad T_{\alpha}-\Lambda'''-\{\Delta''-(T)_{\alpha} \text{ vagy } (T'')_{\alpha}-\Delta \text{ vagy } \Delta'^1-(T)_{\alpha}-\Delta^2\}$$

ahol a szimbólumok jelentése az előzőekben megadott, és Λ''' jelentése vegyértékkötés vagy a kapcsolóegységnek T -hez való kapcsolódást követően megmaradó része;

azzal a további megkötéssel, hogy az α helyettesítők közül csak egynek lehet az értéke 1.

75. Egy a 74. igénypont szerinti kompozíció, azzal jellemezve, hogy markerei az (1) képletnek megfelelőek.

76. Egy a 74. igénypont szerinti kompozíció, azzal jellemezve, hogy markerei a (2) képletnek megfelelőek.

77. Egy a 74. igénypont szerinti kompozíció, azzal jellemezve, hogy markerei a (3) képletnek megfelelőek.

78. Egy a 74. igénypont szerinti kompozíció, azzal jellemezve, hogy markerei a (4) képletnek megfelelőek.

79. Egy a 74. igénypont szerinti kompozíció, azzal jellemezve, hogy Δ Λ -hoz kötött.

80. Egy vegyület könyvtár, amely legalább száz egyedi szilárd hordozót tartalmaz, azzal jellemezve, hogy minden szilárd hordozó bír,

(1) egy a szilárd hordozóhoz fő-vegyületként kötött egyedi vegyülettel; és

(2) nem-szekvenálható markerek sokaságával, ahol az említett markerek egyedi molekulák, amelyek fizikailag megkülönböztethetők annyiban, hogy fizikailag elkülöníthetők, molekulatömegükben különbözőek, és egy a

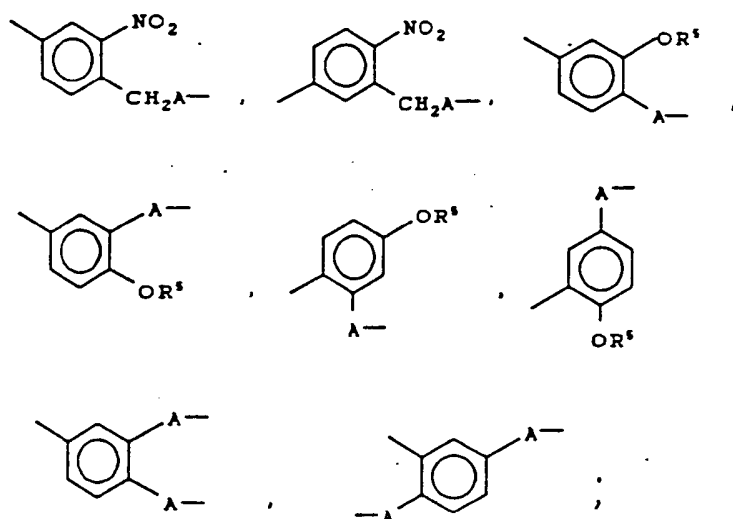
fluoreszcenciától eltérő jellemzőjük alapján megkülönböztethetők, és helyettesítettek, így mintegy nanomól mennyiség alatti mennyiségben kimutathatóak, vagy a mintegy nanomól mennyiség alatti mennyiségben kimutatható helyettesítőhöz való kötésre szolgáló funkciós csoporttal bírnak.

81. Egy a 80. igénypont szerinti vegyület könyvtár, azzal jellemezve, hogy minden szilárd hordozó legalább hat markerrel bír.

82. A 80. igénypont szerinti vegyület könyvtár, azzal jellemezve, hogy a markerrek egy bináris vagy magasabbrendű kódot határoznak meg, amely a szilárd hordozón szintetizált vegyület előállítására alkalmazott szintézis folyamatot kódolja.

83. Egy a 38. igénypont szerinti vegyület, ahol F^1 jelentése $-\text{CHN}_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{CHN}_2$, $-\text{S}(\text{O}_2)\text{CHN}_2$, $-\text{N}_3$, $-\text{NO}_2$ vagy $-\text{SO}_2\text{N}_3$.

84. Egy a 38. igénypont szerinti vegyület, ahol F^1 jelentése $-\text{COOH}$, $-\text{CHN}_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{CHN}_2$, $-\text{S}(\text{O}_2)\text{CHN}_2$, $-\text{COCl}$, $-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $-\text{CH}_2\text{X}$ vagy $-\text{NHR}^1$, ahol F^2 jelentése



ahol A jelentése $-\text{O}-$ vagy $-\text{OC}(\text{O})\text{O}-$;

$\underline{\text{C}}(\text{E}-\underline{\text{C}})_a$ jelentése $-(\text{CR}^4_2)_{1-15}-(\text{O})_{0-1}-\text{Ar}$, $-(\text{CR}^4_2)_{0-15}-(\text{CF}^2)_{1-15}-\text{F}$, $-(\text{CR}^4_2)_{0-15}-(\text{CF}^2)_{1-15}-(\text{CR}^4_2)_{0-15}-\text{H}$ vagy $-(\text{CH}_2)_{1-20}-((\text{O})_{0-1}-(\text{CH}_2)_{1-19})_{0-24}-(\text{CH}_2)_{0-24}-(\text{O})_{0-1}-\text{Ar}$,

ahol Ar jelentése pentafluor-, pentaklór- vagy pentabrom-fenil-csoport, 2,3,5,6-tetrafluor-4-(2,3,4,5,6-pentafluor-fenil)-fenil-, 2,4,6-triklór-fenil-, 2,4,5-triklór-fenil-, 2,6-diklór-4-fluor-fenil- vagy 2,3,5,6-tetrafluor-fenil-csoport.

A meghatalmazott:

Danubia Szabadalmi és

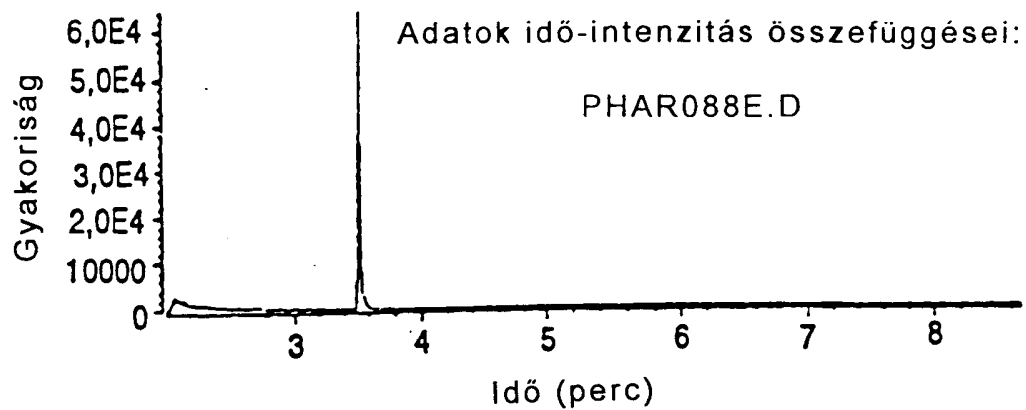
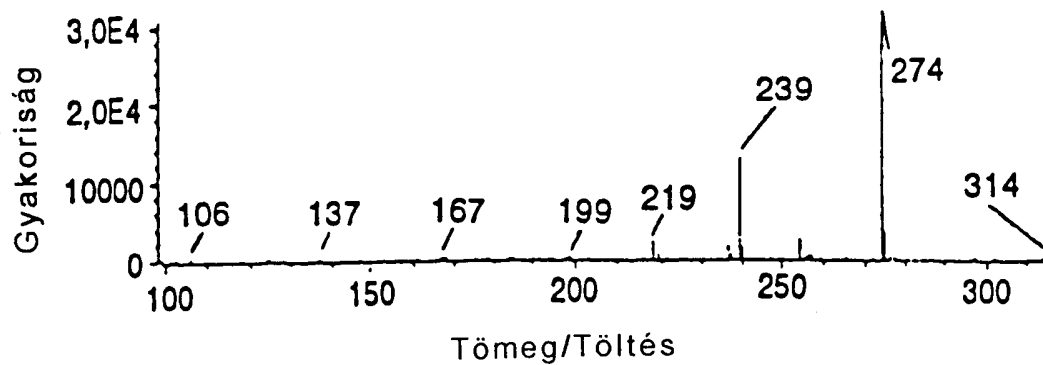
Védjegy Iroda Kft.



Válas Györgyné dr.

szabadalmi ügyvivő

Adatok letapogatása: 131 (3,513 perc), PHAR088E.D

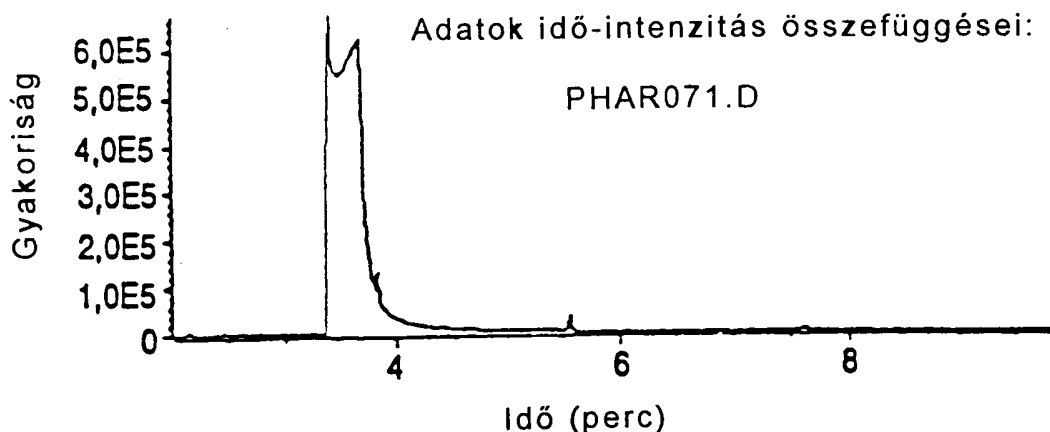
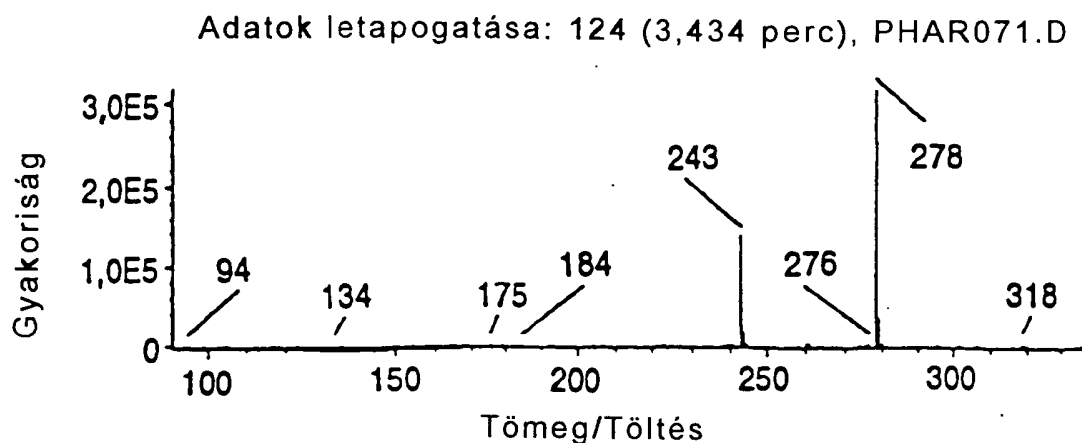


Adatok letapogatása: 131 (3,513 perc), PHAR088E.D

Pharmacopeia GC/CIMS $\text{CH}_4\text{NH}_3(\text{g})$ 90/350 A/D=1

m/z	gyako- riság	m/z	gyako- riság	m/z	gyako- riság	m/z	gyako- riság
203,30	2	237,05	17	255,20	12	272,05	11
216,20	4	239,05	411	255,45	12	274,05	1000
218,05	70	240,05	48	256,20	23	275,05	111
219,20	25	241,20	4	257,05	15	276,20	11
221,20	5	247,30	5	259,05	6	277,20	3
233,95	2	254,20	84	265,05	8	297,15	4
236,20	52						

1. ábra



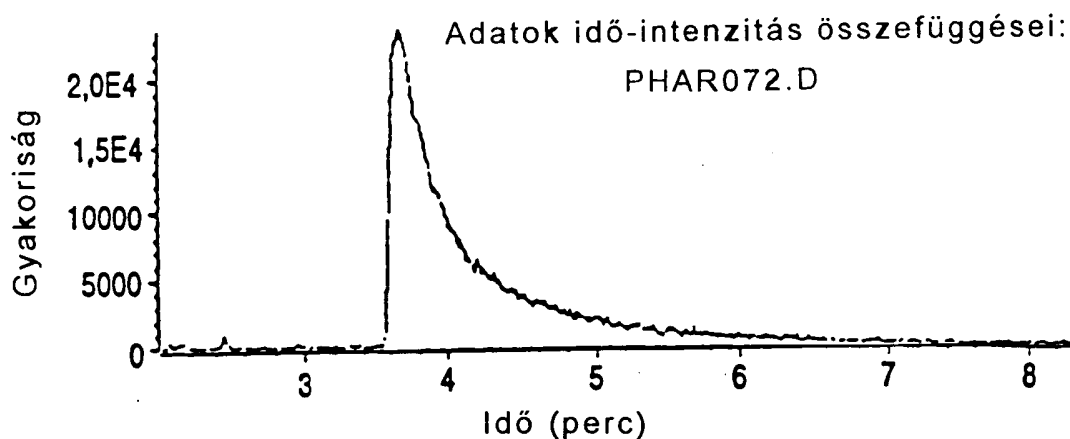
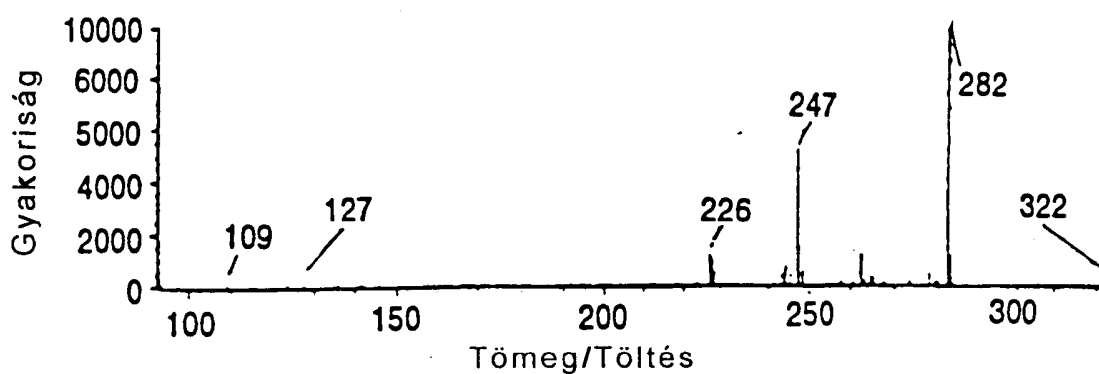
Adatok letapogatása: 124 (3,434 perc), PHAR071.D

Pharmacopeia GC/CIMS CH₄NH₃(g) 90/350 A/D=1

m/z	gyako- riság	m/z	gyako- riság	m/z	gyako- riság	m/z	gyako- riság
203,05	1	238,05	1	260,20	11	279,05	113
210,20	1	239,20	2	261,05	13	280,05	10
213,20	1	240,20	8	262,20	2	281,05	1
220,20	1	241,20	7	263,20	1	289,20	1
222,05	8	243,05	429	269,05	1	290,05	2
223,05	3	244,05	47	274,05	2	291,05	1
224,20	1	245,05	3	275,30	4	292,05	1
224,55	1	251,20	1	276,20	13	295,15	3
225,30	1	258,20	9	278,05	1000		

2. ábra

Adatok letapogatása: 143 (3,648 perc), PHAR072.D



Adatok letapogatása: 143 (3,648 perc), PHAR072.D

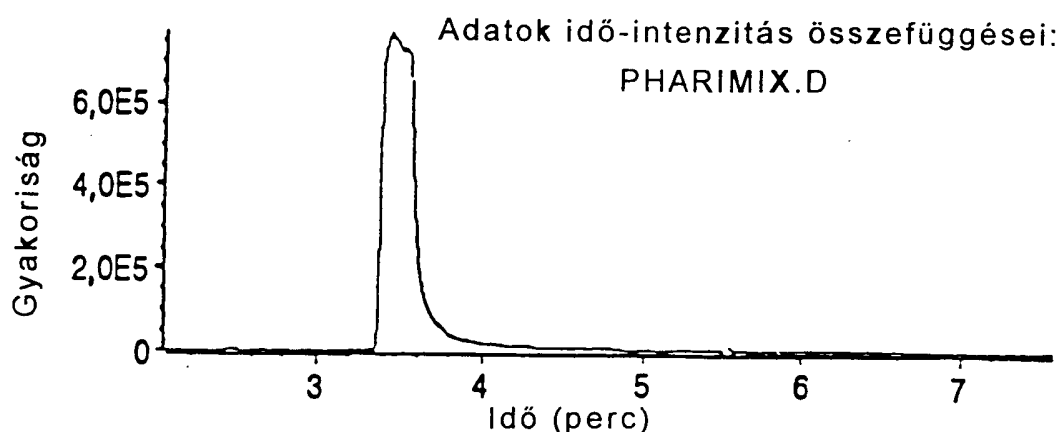
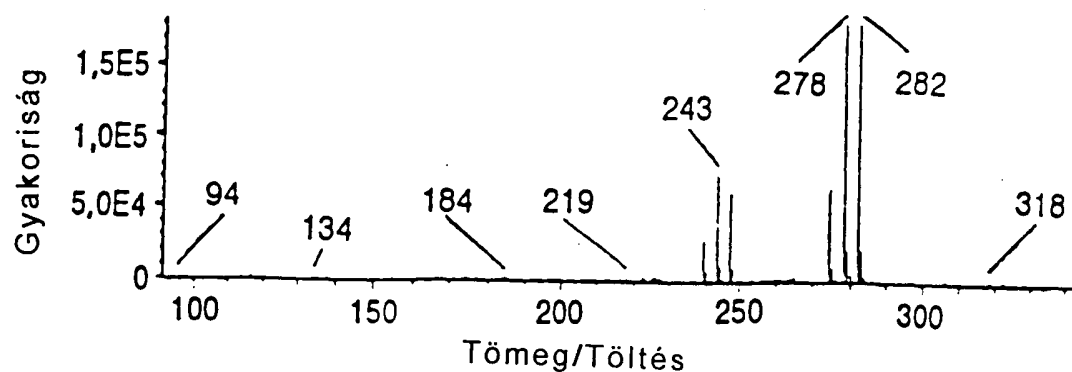
Pharmacopeia GC/CIMS $\text{CH}_4\text{NH}_3(\text{g})$ 90/350 A/D=1

m/z	gyako- riság	m/z	gyako- riság	m/z	gyako- riság	m/z	gyako- riság
208,20	7	244,05	66	262,20	124	278,20	39
223,20	7	245,20	35	263,05	18	279,20	13
226,20	102	247,20	493	264,05	25	280,20	11
227,30	42	248,20	49	265,20	21	282,20	1000
241,20	9	257,95	12	267,20	7	283,20	115
242,95	34	260,55	13	273,20	12	284,20	9

3. ábra

Adatok letapogatása: 124 (3,434 perc), PHARIMIX.D

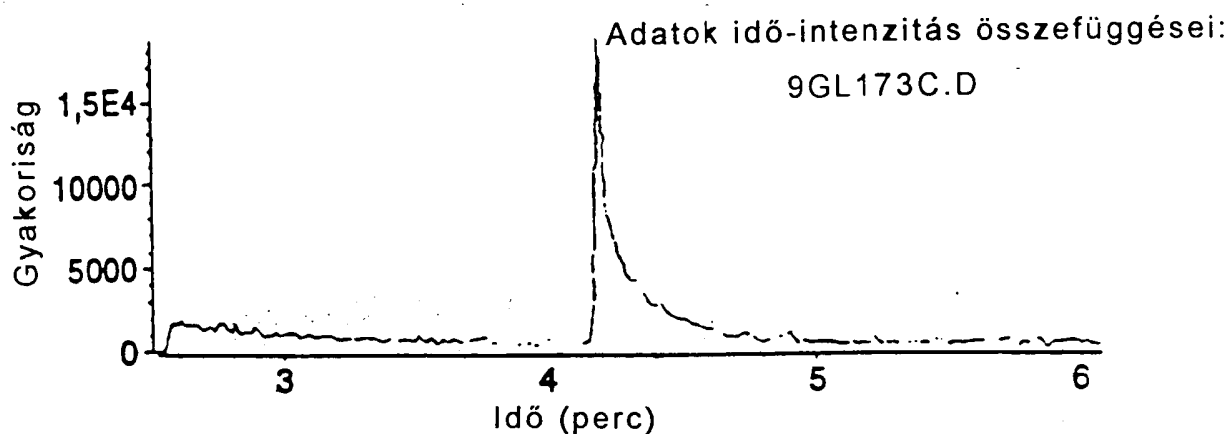
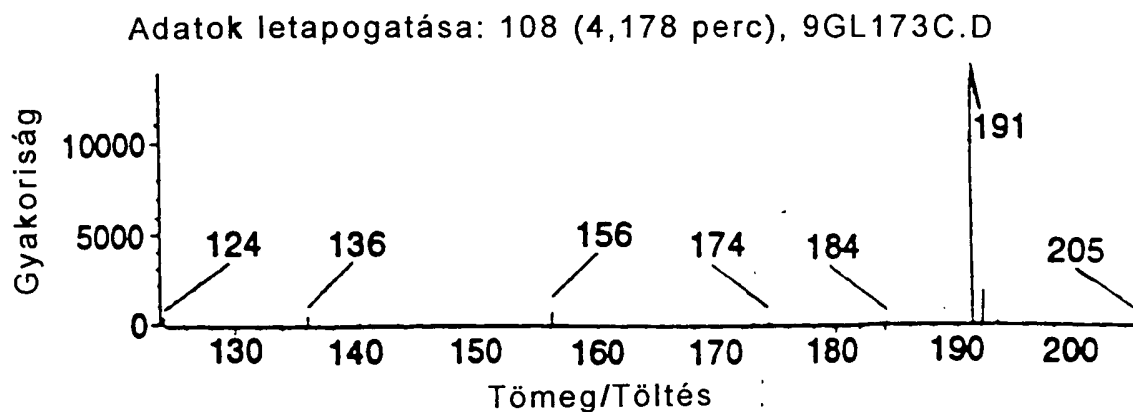
4/6



Adatok letapogatása: 124 (3,434 perc), PHARIMIX.D

Pharmacopeia GC/CIMS CH₄NH₃(g) 90/350 A/D=1

m/z	gyako- riság	m/z	gyako- riság	m/z	gyako- riság	m/z	gyako- riság
203,05	1	237,20	2	261,05	13	283,20	112
206,95	1	239,05	178	262,05	9	284,05	11
210,30	1	240,05	27	263,20	3	285,05	1
213,05	1	241,05	8	264,20	12	285,95	1
213,95	1	243,05	409	265,20	13	288,30	1
218,05	4	244,05	49	266,05	2	290,05	1
219,20	2	245,05	7	267,20	1	291,20	2
220,05	1	247,05	402	268,30	1	292,05	2
222,05	9	248,05	44	269,05	1	293,40	1
223,05	3	249,20	4	274,05	432	293,75	1
224,20	2	251,20	1	275,05	51	294,40	2
225,20	2	254,05	5	276,05	18	295,25	3
226,20	9	256,20	6	278,05	996	296,25	2
227,05	3	257,05	7	279,05	112	297,25	2
228,20	1	258,20	12	280,20	18	298,15	1
229,20	1	259,20	3	282,20	1000	299,25	4
236,05	2	260,20	10				

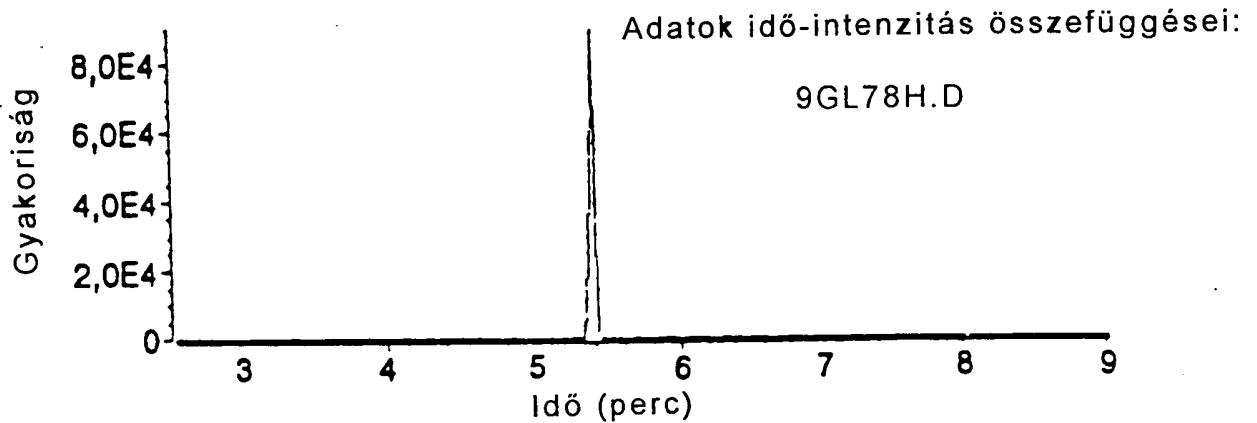
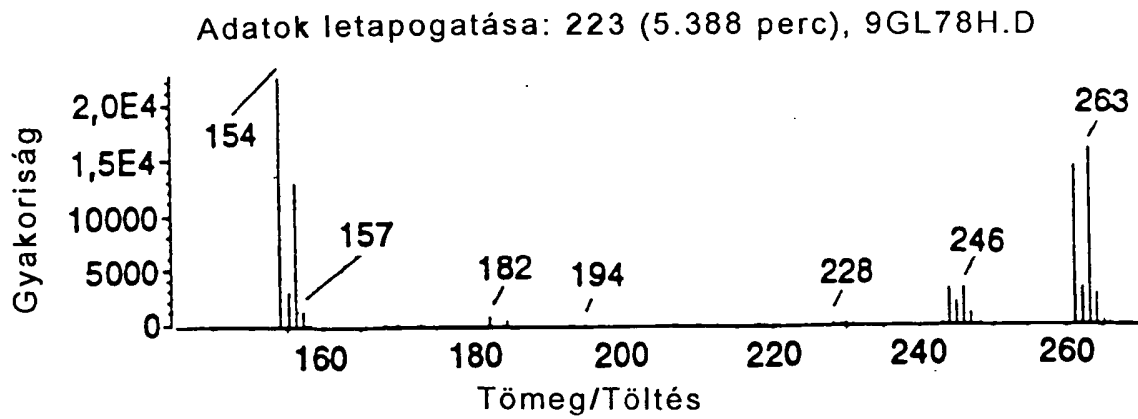


Adatok letapogatása: 108 (4,178 perc), 9GL173C.D

GE LI # 1 (DIL) GC/CIMS $\text{CH}_4\text{NH}_3(\text{g})$ 90/350 A/D=3

m/z	gyako- riság	m/z	gyako- riság	m/z	gyako- riság	m/z	gyako- riság
124,15	20	156,15	64	174,25	22	192,20	125
136,15	32	157,25	12	184,20	9	183,30	14
140,15	12	173,15	17	191,20	1000	205,20	4
141,00	6						

5. ábra



Adatok letapogatása: 223 (5.388 perc), 9GL78H.D

GE LI GC/CIMS CH₄NH₃(g) 145/270 A/D=3

m/z	gyako- riság	m/z	gyako- riság	m/z	gyako- riság	m/z	gyako- riság
154,15	1000	182,20	27	230,95	3	261,20	631
155,15	139	184,30	19	243,20	38	262,30	157
156,15	571	194,30	6	244,20	136	263,20	699
157,15	58	196,30	5	245,20	82	264,20	142
156,25	5	228,05	18	246,20	138	265,20	35
168,15	6	229,30	4	247,05	55	265,95	6
170,25	3	230,05	15	248,20	10	266,20	8
173,00	4						

6. ábra