

Készítmény és eszköz leukociták vizeletben történő kimutatására

Kivonat

A találmány szerinti vegyületek (I), (II) és (III) általános képletében

A jelentése nitrogénatomján védett aminosavmaradék vagy nitrogénatomján védett peptidlánc,

R₁ jelentése adott esetben szubsztituált heteroarilcsoport, adott esetben szubsztituált arilcsoporttal szubsztituált alkenilcsoport vagy adott esetben szubsztituált heteroarilcsoporttal szubsztituált alkenilcsoport,

R₂ jelentése adott esetben szubsztituált fuzionált szénhidrogéngyűrű, amely legalább egy aromás gyűrűt tartalmaz,

R₃ és R₄ jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom, adott esetben szubsztituált arilcsoport, adott esetben szubsztituált heteroarilcsoport, adott esetben szubsztituált alkilcsoport, adott esetben szubsztituált alkenilcsoport, adott esetben szubsztituált alkoxics csoport, aminocsoport, adott esetben szubsztituált acilcsoport, halogénatom, nitrocsoport, cianocsoport, -SO₃H képletű csoport vagy hidroxilcsoport,

azzal a megszorítással, hogy R₃ és R₄ közül legalább az egyik jelentése hidrogénatomtól eltérő.

A találmány kiterjed a fenti vegyületeket tartalmazó készítményekre és leukociták vizeletben történő kimutatására alkalmas eszközre és eljárásra.

P0105041

**Készítmény és eszköz leukociták vizeletben történő
kimutatására**

A találmány leukociták vizeletben történő kimutatására alkalmas vegyületekre, készítményekre, diagnosztikai eszközökre és eljárásokra vonatkozik, ahol a leukociták kimutatása a vizeletben található leukocita észterázok és proteínázok aktivitásán alapszik.

A leukociták jelenléte a humán vizeletben fertőzésre vagy a vese vagy a vizeletelvezető rendszer hibás működésére utal. A pontos kimutatás ezért alapvető jelentőségű a beteg fiziológiai kezelése vagy diagnosztizálása szempontjából.

A vizeletben található leukociták mikroszkóp alatt történő megszámlálásán alapuló módszer a legtöbb esetben széles körben alkalmazható. A módszer hátránya azonban,

hogy időigényes, és komoly költséget jelent a megfelelő készülékek beszerzése és felállítása. Ezen kívül, téves negatív eredmény kapható, ha a mintákat az analízis előtt túl sok ideig hagyjuk ülepedni.

Kutatásokat végeztek más módszerek, így indikátoros vizsgálatok kidolgozására, amelyek lehetővé teszik a leukociták könnyebb, kényelmesebb és pontosabb kimutatását. Az indikátoros vizsgálatok általában egy specifikus kémiai anyagot (például szubsztrátumot) alkalmaznak, amely elbomlik a leukocitákban található egy vagy több enzim hatására, és látható színváltozást kiváltó vegyületet termelnek.

Ilyen leukocita vizsgálatot ismertet az US 3 087 794 számú irat, mely szerint a granuláris leukocitákban (granulocitákban) található peroxidázt alkalmazzák. A vizsgálatban hidrogénperoxiddal vagy *o*-tolidinnel megfestett szűrőpapírt használnak, amely leukocitákkal érintkezve színes oxidációs terméket mutat. A megoldás hátránya, hogy a peroxidáz veszélyes lehet, és a vizeletben található redukzív anyagok miatt a gyakorlati alkalmazás nem előnyös.

Kidolgoztak olyan módszereket is, amelyek a leukocitákban található észterázok és proteínázok jelenlétét mutatják ki. Az egyik módszernél például színtelen vagy halvány színű észtervegyületet alkalmaznak szubsztrátumként, amelyeket az észterázok színtelen savra és alkoholra bontanak. Ezután diazotálással vagy oxidálással az alkoholt egy második, élénk színű terméké alakítják. Ez a módszer azon a folyamaton alapszik, amelyben a naftol-AS-D-klór-

acetát szubsztrátum enzimatis bomlás hatására klóracetát és naftol-AS termékekké alakul. A naftol-AS terméket diazóniumsóval reagáltatva színes azo vegyület képződik.

Ezzel a módszerrel a leukocita koncentráció pusztán szemmel meghatározható. A módszer hátránya azonban, hogy a diazóniumsó reakcióba léphet a vizeletben található urobilinogénnel vagy bilirubinnal. Ennek következtében gyakran 500 sejt/ μ l értéknél nagyobb leukocita koncentrációra van szükség a hamis negatív eredmény elkerülése érdekében.

Az UK 1 128 371 számú irat további lehetséges szubsztrátumokat, vagyis szintelen indoxil- vagy tioindoxil-észtereket ismertet. Ezek a szubsztrátumok észterázok hatására indoxilra vagy tioindoxilra bomlanak. A levegő oxigénje hatására vagy oxidálószerrel ezután színes indigó vagy tioindigó állítható elő. A módszer hátránya, hogy nem eléggé érzékeny, és 10.000 sejt/ μ l alatti leukocita koncentráció kimutatására nem alkalmas.

Az US 4 278 763 számú irat szintén indoxil-típusú szubsztrátumokat ismertet, mivel indoxil- vagy tioindoxil-aminosav-észterek alkalmazásán alapuló módszert ír le.

Szubsztrátumként alkalmazhatók továbbá pirrolszármazékok. Így például, az US 4 704 460 számú irat egy pirrolszármazék aminosav-észterének alkalmazását ismerteti. Ez a származék diazóniumsó jelenlétében sötét lila színt eredményez. A reakcióráta nukleofil alkohol, így dekanol alkalmazásával nagymértékben elősegíthető, és így lehetővé válik 10 sejt/ μ l leukocita koncentrációk kimutatása 90

másodperc alatt. A módszer hátránya, hogy a két szubsztrátum szintézise nagyon bonyolult.

Összefoglalva megállapítható, hogy az ismert módszerek számos hátránnyal rendelkeznek. Ezekre a hátrányokra példaként említhető a hamis negatív detektálás, a reakció urobilinogénnel vagy bilirubinnal, az érzékenység hiánya, és hátrányos tulajdonságokkal rendelkező szubsztrátumok alkalmazása. Szükség van ezért új vegyületek és módszerek kidolgozására, amelyek lehetővé teszik a leukociták vizeletben történő kimutatását.

A találmány leukociták vizeletben történő kimutatására alkalmas tiazolészter-származékokra, ezeket tartalmazó készítményekre, leukociták vizeletben történő kimutatására alkalmas diagnosztikai eszközökre és módszerekre vonatkozik, a tiazolészterek vagy ezeket tartalmazó készítmények alkalmazásával.

A találmány tárgyát képezik tehát az új tiazolészter-származékok.

A találmány szerinti tiazolészter-származékok egyik csoportja az (I) általános képlettel ábrázolható, a képletben

A jelentése nitrogénatomján védett aminosav maradék vagy nitrogénatomján védett peptidlánc, előnyösen nitrogénatomján védett alanin vagy nitrogénatomján védett polialanin,

R₁ jelentése adott esetben szubsztituált heteroarilcsoport, adott esetben szubsztituált arilcsoporttal szubsztituált alkenilcsoport vagy adott esetben szubsztituált heteroarilcsoporttal szubsztituált alkenilcsoport, R₁ előnyös

jelentése tienilcsoport, piridilcsoport, furilcsoport, sztirilcsoport, pirrolilcsoport vagy indolilcsoport.

A találmány kiterjed a fenti vegyületek sóira vagy szolvatált sóira.

A találmány szerinti tiazolészter-származékok másik csoportja a (II) általános képlettel ábrázolható, a képletben

A jelentése nitrogénatomján védett aminosav maradék vagy nitrogénatomján védett peptidlánc, előnyösen nitrogénatomján védett alanin vagy nitrogénatomján védett polialanin,

R₂ jelentése adott esetben szubsztituált fuzionált szénhidrogéngyűrű, amely legalább egy aromás gyűrűt tartalmaz, R₂ előnyös jelentése naftilcsoport vagy antrilcsoport.

A találmány kiterjed a fenti vegyületek sóira vagy szolvatált sóira.

A találmány szerinti tiazolészter-származékok másik csoportja a (III) általános képlettel ábrázolható, a képletben

A jelentése nitrogénatomján védett aminosav maradék vagy nitrogénatomján védett peptidlánc, előnyösen nitrogénatomján védett alanin vagy nitrogénatomján védett polialanin,

R₃ és R₄ jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom, adott esetben szubsztituált arilcsoport, adott esetben szubsztituált heteroarilcsoport, adott esetben szubsztituált alkilcsoport, adott esetben szubsztituált alkenilcsoport, adott esetben szubsztituált alkoxics csoport,

aminocsoport, adott esetben szubsztituált acilcsoport, halogénatom, nitrocsoport, cianocsoport, $-SO_3H$ képletű csoport vagy hidroxilcsoport, azzal a megszorítással, hogy R_3 és R_4 közül legalább az egyik jelentése hidrogénatomtól eltérő.

A találmány kiterjed a fenti vegyületek sóira vagy szolvatált sóira.

A találmány tárgya továbbá készítmény, amely (I), (II) vagy (III) általános képletű tiazolészter-származékot tartalmaz. A találmány szerinti készítmény további komponensként diazóniumsót, így 2-metoxi-4-morfolinobenzoldiazónium-klorid-cinkklorid kettős sót tartalmazhat.

A találmány tárgya továbbá diagnosztikai eszköz, amely találmány szerinti vegyületet vagy készítményt tartalmaz. A találmány szerinti diagnosztikai eszköz deponált formában (I), (II) vagy (III) általános képletű tiazolészter-származékot tartalmazó szubsztrátumból áll.

A találmány szerinti vegyületek, készítmények és diagnosztikai eszközök felhasználhatók leukociták vizeletben történő kimutatására. Leukociták vizeletben történő kimutatásához a vizelet mintát találmány szerinti tiazolészter-származékkal és egy diazóniumsóval kezeljük.

A találmány szerinti diagnosztikai eszközben és eljárásban előnyösen farmakológiailag alkalmazható vegyületet és készítményt használunk.

A találmány szerinti készítmények, diagnosztikai eszközök és eljárások előnyösen gyorsító sótól mentesek.

Mint fent említettük, a találmány leukociták vizeletben történő kimutatására vonatkozik. A leukociták jelenlétének

kimutatása általában a leukocitákkal együtt előforduló enzimek, így leukocita észterázok és leukocita proteinázok kimutatásán alapszik.

A találmány szerinti vegyületek olyan tiazolészter-származékok, amelyek egy észter funkciós csoportot tartalmaznak, amely a vizeletben található leukociták hatására hidrolizálódik. A találmány szerinti tiazolészter-származékok észter csoportjának hidrolizálása előnyösen alkalmazható a kimutatáshoz, mivel a tiazolilcsoport egy diazóniumsóval reagálva azo festéket eredményez.

A találmány szerinti tiazolészter-származékok előnyösen alkalmazhatók leukociták vizeletben történő kimutatására alkalmas készítményekben, diagnosztikai eszközökben és eljárásokban.

A találmány szerinti készítményekben és eljárásokban alkalmazható tiazolészter-származékok egyik csoportját képezik az (I) általános képletű vegyületek és ezek sói vagy szolvatált sói, a képletben

A jelentése nitrogénatomján védett aminosav maradék vagy nitrogénatomján védett peptidlánc, előnyösen nitrogénatomján védett alanin vagy nitrogénatomján védett polialanin, (például alanin-alanin, alanin-alanin-alanin vagy hasonló), amely aminoterminális végén ismert védőcsoporttal van blokkolva. Védőcsoportként alkalmazható például benziloxikarbonilcsoport, terc-butoxikarbonilcsoport vagy p-toluol-szulfonilcsoport. Az (I) általános képletben

R₁ jelentése adott esetben szubsztituált heteroarilcsoport, adott esetben szubsztituált arilcsoporttal szubsztituált

alkenilcsoport vagy adott esetben szubsztituált heteroarilcsoporttal szubsztituált alkenilcsoport.

A heteroarilcsoport előnyösen heterociklusos aromás csoport, amely legalább egy heteroatomot, például nitrogénatomot, oxigénatomot, foszforatomot vagy kénatomot tartalmaz. Példaként említhető a furilcsoport, pirrolilcsoport, tienilcsoport, oxazolilcsoport, piridilcsoport, imidazolilcsoport, izotiazolilcsoport, izoxazolilcsoport, pirazolilcsoport vagy izotiazolilcsoport. A heteroarilcsoport előnyösen legalább egy aromás gyűrűt tartalmazó fuzionált gyűrűrendszer, melyre példaként említhető az indolilcsoport, furinilcsoport, benzofurilcsoport, benzotienilcsoport, kinolilcsoport, 4,5,6,7-tetrahidro-1*H*-indolilcsoport. A heterociklusos gyűrűvel fuzionált szénhidrogéngyűrűnél, például benzotienilcsoportnál és indolilcsoportnál a fuzionált gyűrűk akár a szénhidrogéngyűrűn, akár a heterociklusos gyűrűn keresztül kapcsolódhatnak a tiazolilcsoportoz. A heteroarilgyűrű előnyösen 5- vagy 6-tagú gyűrű.

Az adott esetben szubsztituált heteroarilcsoport szubsztituense például arilcsoport, heteroarilcsoport, alkilcsoport, alkenilcsoport, alkoxics csoport, aminocsoport, acilcsoport, halogénatom, nitrocsoport, cianocsoport, -SO₃H képletű csoport vagy hidroxilcsoport, mely szubsztituensek önmagukban adott esetben arilcsoporttal, heteroarilcsoporttal, alkilcsoporttal, alkenilcsoporttal, alkoxics csoporttal, aminocsoporttal, acilcsoporttal, halogénatommal, nitrocsoporttal, cianocsoporttal, -SO₃H képletű csoporttal vagy hidroxilcsoporttal szubsztituálva lehetnek. A heteroarilcsoport szubsztituenseként előforduló alkilcsoportra pél-

daként említhető a metilcsoport, etilcsoport, propilcsoport vagy butilcsoport. A heteroarilcsoport szubsztituenseként előforduló alkoxicsoportra példaként említhető a metoxicsoport, etoxicsoport, propoxicsoport és butoxicsoport. A heteroarilcsoport szubsztituense lehet továbbá arilcsoport vagy heteroarilcsoport.

Az arilcsoport aromás szénhidrogéncsoportot jelent, amire példaként említhető a fenilcsoport. Az arilcsoport ezenkívül fuzionált aromás gyűrűt jelent, amire példaként említhető a naftilcsoport és antrilcsoport.

Az alkilcsoport előnyösen 1-4 szénatomos egyenes vagy elágazó szénláncú telített alifás szénhidrogéncsoport. Példaként említhető a metilcsoport, etilcsoport, propilcsoport, izopropilcsoport, 1-metil-etil-csoport, butilcsoport, terc-butilcsoport és 1,1-dimetil-etilcsoport.

Az alkenilcsoport 2-4 szénatomos telítetlen alifás szénhidrogéncsoport. Példaként említhető az etenilcsoport, 1-propenilcsoport, 2-propenilcsoport, 1-butenilcsoport és 2-metil-1-propenilcsoport.

A fenti alkilcsoportok vagy alkenilcsoportok szénláncá adott esetben heteroatomot, például nitrogénatomot vagy oxigénatomot tartalmazhat, és így alkilaminoalkilcsoportot vagy alkoxialkilcsoportot, például metilaminoetilcsoportot vagy metoximetilcsoportot képezhet.

Az alkoxicsoport oxigénatomon keresztül kapcsolódó 1-4 szénatomos egyenes vagy elágazó szénláncú alkilcsoportot jelent. Példaként említhető a metoxicsoport, etoxicsoport, propoxicsoport, izopropoxicsoport, (1-metil-e-

toxi)csoport, butoxicsoport és terc-butoxicsoport (1,1-dimetiletoxicsoport).

Az aminocsoport $-N(R_5)_2$ általános képletű csoportot jelent, ahol R_5 jelentése az egyes előfordulási helyeken egymástól függetlenül hidrogénatom vagy alkilcsoport. Az alkilcsoport valamely fent definiált alkilcsoport.

Az adott esetben szubsztituált arilcsoporttal szubsztituált alkenilcsoport vagy adott esetben szubsztituált heteroarilcsoporttal szubsztituált alkenilcsoport olyan fent definiált alkenilcsoportot jelent, amely adott esetben szubsztituált arilcsoporttal vagy adott esetben szubsztituált heteroarilcsoporttal van szubsztituálva. Az arilcsoport és a heteroarilcsoport fent definiált csoport. Az ilyen szubsztituált alkenilcsoportokra példaként említhető a sztirilcsoport, cinnamilcsoport, furiletencilcsoport, piridiletencilcsoport és tienilpropencilcsoport.

Az adott esetben szubsztituált arilcsoporttal szubsztituált alkenilcsoport előnyösen adott esetben fenilcsoporttal szubsztituált alkenilcsoport. Ez a fenilcsoport szubsztituensként előnyösen alkoxicsoportot, így metoxicsoportot, etoxicsoportot, propoxicsoportot vagy butoxicsoportot hordoz. Az adott esetben szubsztituált heteroarilcsoporttal szubsztituált alkenilcsoport előnyösen nitrogéntartalmú gyűrűvel, oxigéntartalmú gyűrűvel vagy kéntartalmú gyűrűvel szubsztituált alkenilcsoport.

Az R_1 csoport előnyös jelentése 2-tienilcsoport, 4-piridilcsoport, 2-furilcsoport, β -sztirilcsoport, 1,2-dimetil-4-pirrolilcsoport vagy 3-indolilcsoport. Szakember számá-

ra nyilvánvaló, hogy a heteroatom a gyűrű tetszőleges helyzetében állhat.

A találmány szerinti készítményekben és eljárásokban alkalmazható tiazolészter-származékok másik csoportját képezik a (II) általános képletű vegyületek és ezek sói vagy szolvatált sói, a képletben

A jelentése nitrogénatomján védett aminosavmaradék vagy nitrogénatomján védett peptidlánc, előnyösen nitrogénatomján védett alanin vagy nitrogénatomján védett polialanin (például alanin-alanin, alanin-alanin-alanin és hasonló), amely aminoterminális végén védőcsoporttal van blokkolva. A védőcsoport például benziloxikarbonilcsoport, terc-butoxikarbonilcsoport vagy p-toluolkarbonilcsoport.

R₂ jelentése adott esetben szubsztituált fuzionált szénhidrogéngyűrű, amely legalább egy aromás gyűrűt tartalmaz.

A fuzionált szénhidrogéngyűrű legalább két szénhidrogéngyűrűt tartalmaz, amelyek legalább egy közös kötést hordoznak. Példaként említhető a naftilcsoport, antrilcsoport, 5,6,7,8-tetrahidronaftilcsoport, fenantrenilcsoport, trifenililcsoport és 1H-fluorenilcsoport. A fuzionált szénhidrogéngyűrű szubsztituensére példaként említhető az arilcsoport, heteroarilcsoport, alkilcsoport, alkenilcsoport, alkoxicssoport, aminocsoport, acilcsoport, halogénatom, nitrocsoport, cianocsoport, -SO₃H képletű csoport vagy hidroxilcsoport, amelyek adott esetben önmagukban arilcsoporttal, heteroarilcsoporttal, alkilcsoporttal, alkenilcsoporttal, propoxicssoporttal, aminocsoporttal, acilcso-

porttal, halogénatommal, nitrocsoporttal, cianocsoporttal, -SO₃H képletű csoporttal vagy hidroxilcsoporttal szubsztituálva lehetnek.

A fuzionált szénhidrogéngyűrű előnyösen legalább egy 5- vagy 6-tagú gyűrűt tartalmaz. A fuzionált szénhidrogéngyűrű előnyösen legalább egy gyűrűjén alkilcsoporttal, így metilcsoporttal, etilcsoporttal, propilcsoporttal vagy butilcsoporttal, vagy alkoxicsoporttal, így metoxicsoporttal, etoxicsoporttal, propoxicsoporttal vagy butoxicsoporttal szubsztituálva van.

R₂ előnyös jelentése 1-naftilcsoport.

A találmány szerinti készítményekben és eljárásokban alkalmazható tiazolészter-származékok másik csoportját képezik a (III) általános képletű vegyületek és ezek sói vagy szolvatált sói. A képletben

A jelentése nitrogénatomján védett aminosav maradék vagy nitrogénatomján védett peptidlánc, előnyösen nitrogénatomján védett alanin vagy nitrogénatomján védett polialanin (például alanin-alanin, alanin-alanin-alanin és hasonló), amelyek aminoterminális végükön védőcsoporttal vannak blokkolva. A védőcsoportra példaként említhető a benziloxikarbonilcsoport, terc-butoxikarbonilcsoport és p-toluolszulfonilcsoport.

R₃ és R₄ jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom, adott esetben szubsztituált arilcsoport, adott esetben szubsztituált heteroarilcsoport, adott esetben szubsztituált alkilcsoport, adott esetben szubsztituált alkenilcsoport, adott esetben szubsztituált alkoxicsoport, aminocsoport, adott esetben szubsztituált acilcsoport,

halogénatom, nitrocsoporth, cianocsoport, $-\text{SO}_3\text{H}$ képletű csoport vagy hidroxilcsoport, azzal a megszorítással, hogy R_3 és R_4 közül legalább az egyik jelentése hidrogénatomtól eltérő.

Bármely szubsztituált R_3 és R_4 csoport további szubsztituensként arilcsoportot, heteroarilcsoportot, alkilcsoportot, alkenilcsoportot, alkoxicsoporth, aminocsoportot, acilcsoportot, halogénatomot, nitrocsoporth, cianocsoportot, $-\text{SO}_3\text{H}$ képletű csoportot vagy hidroxilcsoportot hordozhat.

Az arilcsoport, heteroarilcsoport, alkilcsoport, alkenilcsoport, alkoxicsoporth és aminocsoport valamely fent definiált csoport.

Előnyösek azok a (III) általános képletű vegyületek, melyek képletében

R_3 és R_4 közül legalább az egyik jelentése metoxicsoporth, etoxicsoporth, propoxicsoporth vagy butoxicsoporth,

A jelentése nitrogénatomján védett alanin.

Előnyösek továbbá azok a (III) általános képletű vegyületek, melyek képletében

R_3 jelentése hidrogénatom,

R_4 jelentése metoxicsoporth, etoxicsoporth, propoxicsoporth vagy butoxicsoporth.

A metoxicsoporth előnyösen orto-helyzetben található (IIIa képlet).

Alternatív módon, a metoxicsoporth para- vagy meta-helyzetben található (például IIIb képletű vegyület).

A találmány szerinti készítmény (I), (II) vagy (III) általános képletű tiazolészter-származékokat tartalmaz. A ké-

szítmény további komponensként adott esetben diazóniumsót, így 2-metoxi-4-morfolinobenzoldiazónium-klorid-cinkklorid kettős só tartalmaz.

A találmány szerinti készítmény mentes a hatás gyorsítására alkalmas ismert sóktól. A hatás gyorsítására alkalmas sókra példaként említhetők az egy- vagy kétértékű kationok, így alkálifémek és alkáliföldfémek, például Li^+ , Na^+ , K^+ és Mg^{++} , és ezekhez tartozó jellemző anionok sói.

A leukociták vizeletben történő kimutatására alkalmas diagnosztikai eszköz a találmány szerinti tiazolészter-származék hordozására alkalmas szubsztrátumot tartalmaz, amelyre példaként említhető a szűrőpapír, szűrőmembrán és más inert hordozóanyag. Ezek a szubsztrátumok szakember számára ismertek. A diagnosztikai eszköz ezen kívül egy vagy több (I), (II) vagy (III) általános képletű tiazolészter-származékot tartalmaz. A vegyület felvihető a szubsztrátumra például úgy, hogy a tiazolészter-származékot a szubsztrátumra ülepítjük.

A találmány szerinti diagnosztikai eszköz előállítása során eljárhatunk például úgy, hogy a tiazolészter-származékot egy gyorsítóval és egy diazóniumsóval kombináljuk. A találmány szerinti készítményekben és eljárásokban alkalmazható gyorsítók ismertek, példaként említhető az oktándiol és dekanol.

A találmány szerinti készítményekben és eljárásokban alkalmazható diazóniumsók ismertek, és példaként említhetők a színes reakciókhoz alkalmazott vegyületek. Ilyen az 1-diazo-8-naftol-3,6-diszulfonsav-klorid-cinkklorid kettős só, 6-diazo-1-naftol-3-szulfonsav-klorid kettős só és 2-

-metoxi-4-morfolinobenzoldiazónium-klorid-cinkklorid kettős só. A találmány értelmében előnyösen olyan diazóniumsót alkalmazunk, amely nem lép reakcióba az urobilinogénnel és/vagy bilirubinnal.

A találmány szerinti diagnosztikai eszközt a szokásos módszerekkel állítjuk elő. Előnyösen úgy járunk el, hogy a szubsztrátumra, így szűrőpapírra először bórsavat és polivinilpirrolidont tartalmazó oldatot deponálunk. Ezután a szubsztrátumra találmány szerinti tiazolészter-származékot és diazóniumsót, így 2-metoxi-4-morfolinobenzoldiazónium-klorid-cinkklorid kettős sót tartalmazó második oldatot deponálunk. A szubsztrátumra deponált oldatok általában mentesek a technika állásából a fenti reakciók gyorsítására ismert sóktól.

A találmány szerinti tiazolészter-származékok előállítására például egy tiazolon-származékot alaninnal vagy polialanin-származékkal reagáltatunk. A tiazolon-származék előállítható karboximetiltiobenzimidát-hidrobromid és piridin reakciójával.

A találmány szerinti tiazolészter-származékok előállíthatók például egy (IV) általános képletű tiazolon-származék és egy (V) általános képletű aminosavklorid reakciójával az A reakcióvázlat szerint.

A kiindulási anyagokat oldószerben oldjuk, és a kapott oldatokat lehűtjük, és lassan összekeverjük. A reakcióelegyet kevertetjük, majd néhány órán keresztül szobahőmérsékleten állni hagyjuk. A reakcióelegyet ezután mossuk, szárítjuk, szűrjük, és csökkentett nyomáson bepároljuk. A kapott szilárd anyagot acetonban oldjuk, és hexánnal hígít-

juk. A kapott félig szilárd szennyezőanyagok eltávolításához a reakcióelegyet mintegy 1 órán keresztül alacsony hőmérsékleten állni hagyjuk. Ezután újabb adag hexánnal hígítjuk a maradékot, és az elegyet 10 órán keresztül hűtőszekrényben tároljuk. A kívánt terméket végül szűrjük, és szárítjuk.

A tiazolon-származékok általában erősen reakcióképes vegyületek, amelyek hajlamosak a dimerizálódásra vagy multimerizálódásra, akár az átkristályosítás során. Ez a kitermelés csökkenéséhez vezet. A találmány értelmében ezért előnyösen úgy járunk el, hogy a tiszta anyagot a tiazolészter-származék szintézisének végtermékéből izoláljuk, a (IV) általános képletű tiazolon-származék tisztítása nélkül. Ez a megoldás növeli a találmány szerinti vegyületek kitermelését.

Ezzel ellentétben, a fent említett indol- vagy pirrol-származékok számos hátránnyal rendelkeznek. A köztitermékek előállítása során több mellékreakció játszódik le. Emellett, a reakciómechanizmus nagyon összetett, és az indol- vagy pirrol-származék kitermelése alacsony. A találmány szerinti tiazolészter-származékok azonban nagy mennyiségben előállíthatók viszonylag rövid időn belül. Emellett, a találmány szerinti tiazolészter-származékok szintézise viszonylag egyszerű, ezért ipari méretekben könnyen megvalósítható.

A találmány tárgya továbbá eljárás leukociták vizeletben történő kimutatására. Leukociták vizeletben történő kimutatásához a vizeletmintát a találmány szerinti tiazolészter-származékkal és egy diazóniumsóval érintkeztetjük

egy gyorsító jelenlétében. Ha a mintában leukociták vannak jelen, akkor a tiazolilcsoport és a só közötti reakció lila színű azo festéket eredményez.

Ennek során előnyösen úgy járunk el, hogy a vizeletmintát olyan szubsztrátummal, például szűrőpapírral érintkeztetjük, amely deponált formában bórsavból és polivinilpirrolidonból álló első oldatot és (I), (II) vagy (III) általános képletű tiazolészter-származékot, diazóniumsót és gyorsítót tartalmazó második oldatot tartalmaz. Az eljárás megvalósítható gyorsító só alkalmazása nélkül. A leukocitákat tartalmazó vizeletmintának a szubsztrátummal történő érintkeztetése során lila szín jelentkezik a szubsztrátumon.

A találmányt közelebbről az alábbi példákkal mutatjuk be anélkül, hogy az oltalmi kör a példákra korlátozódna.

1. példa

N-(*p*-toluolszulfonil)-alanin (1. képlet)

A védett N-alanincsoportot tartalmazó kiindulási anyag előállításához először N-(*p*-toluolszulfonil)-alanint állítunk elő.

50,0 g *p*-toluolszulfonil-kloridot adagolunk 100 ml 90°C hőmérsékletű toluolhoz kevertetés közben. A *p*-toluolszulfonil-klorid toluolban felvett oldatát lassan 25,0 g L-alanin 500 ml 1N nátriumhidroxid oldatban felvett és 5°C hőmérsékletre lehűtött oldatához adagoljuk, és 24 órán keresztül kevertetjük. A kapott vizes fázist elválasztjuk, 5°C alatti hőmérsékletre hűtjük, és koncentrált sósavval pH=1,5 értékre állítjuk. Az elegyet 3-4 órán keresztül hű-

tűszekrényben állni hagyjuk, majd a kapott fehér szilárd kristályokat szűrjük, kétszer vízzel mossuk, és szárítjuk.

2. példa

N-tozil-L-alanil-klorid (2. képlet)

A védett kiindulási anyag előállításához ezután N-(*p*-toluolszulfonil)-alanint oxalilkloriddal reagáltatunk.

30,0 g N-(*p*-toluolszulfonil)-alanin és 6-7 csepp dimetilformamid (DMF) 100 ml diklórmétánban felvett oldathoz 5 ml oxalilkloridot csepegtetünk. Az elegyet 3 órán keresztül szobahőmérsékleten kevertetjük, majd bepároljuk, és a maradékot 100 ml diklórmétánban oldjuk. A diklórmétánt ismét eltávolítjuk, és a maradékot 50 ml diklórmétánban oldjuk, majd 100 ml hexánnal hígítjuk. 1 éjszakán keresztül hűtőszekrényben állni hagyjuk, majd a kapott kristályokat szűrjük, és szárítjuk.

3. példa

2-(4-piridil)-4-tiazol (3. képlet)

Hidrogénklorid gázt vezetünk 10 g 4-cianopiridin és 50 g merkaptocetsav mintegy 20 ml éter és 30 ml kloroformban felvett oldatába 24 órán keresztül. A reakcióelegyet közben 30 ml éterrel és 50 ml kloroformmal hígítjuk. A kapott kristályos terméket szűrjük, éter/kloroform 1:1 eleggyel mossuk, és szárítjuk.

4. példa

2-(2-tienil)-4-tiazol (4. képlet)

Hidrogénklorid gázt vezetünk 10 g 3-tiofénkarbonitril és 35 g merkaptocetsav mintegy 50 ml éterben felvett oldatába 24 órán keresztül. A kapott kristályos terméket szűrjük, 200 ml éterrel mossuk, és szárítjuk.

5. példa

2-(1-naftil)-4-tiazol (5. képlet)

Hidrogénklorid gázt vezetünk 25 g 1-naftonitril és 25 g merkaptocetsav mintegy 150 ml kloroformban felvett oldatába 24 órán keresztül. A kapott kristályos terméket szűrjük, 200 ml kloroformmal mossuk, és szárítjuk.

6. példa

2-(1,2-dimetil-4-pirrolil)-4-tiazol (6. képlet)

Hidrogénklorid gázt vezetünk 5 g 1,5-dimetil-2-pirrol-karbonitril és 5 g merkaptocetsav mintegy 50 ml éter/kloroform 1:1 elegyben felvett oldatába 24 órán keresztül. A kapott kristályos terméket szűrjük, 100 ml éter/kloroform 1:1 eleggyel mossuk, és szárítjuk.

7. példa

2-(3-indolil)-4-tiazol (7. képlet)

Hidrogénklorid gázt vezetünk 5 g 3-cianoindol és 5 g merkaptocetsav mintegy 50 ml éter/kloroform 1:1 elegyben felvett oldatába 24 órán keresztül. A kapott kristályos terméket szűrjük, 100 ml éter/kloroform 1:1 eleggyel mossuk, és szárítjuk.

8. példa

2-(2-furil)-4-tiazol (8. képlet)

Hidrogénklorid gázt vezetünk 5 g 2-furonitril és 5 g merkaptocetsav mintegy 50 ml éter/kloroform 1:1 elegyben felvett oldatába 24 órán keresztül. A kapott kristályos terméket szűrjük, 100 ml éter/kloroform 1:1 eleggyel mossuk, és szárítjuk.

9. példa

2-(β -sztiril)-4-tiazol (9. képlet)

Hidrogénklorid gázt vezetünk 25 g cinnamonitril és 25 g merkaptocetsav mintegy 150 ml éter/kloroform 1:1 elegyben felvett oldatába 24 órán keresztül. A kapott kristályos terméket szűrjük, 200 ml éter/kloroform 1:1 eleggyel mossuk, és szárítjuk.

10. példa

2-(3-metoxifenil)-4-tiazol (10. képlet)

Hidrogénklorid gázt vezetünk 11 g 3-metoxibenzonitril és 10 g merkaptocetsav mintegy 75 ml éterben felvett oldatába 24 órán keresztül. A kapott kristályos terméket szűrjük, 200 ml éterrel mossuk, és szárítjuk.

11. példa

2-(2-metoxifenil)-4-tiazol (11. képlet)

A 10. példában megadott módon, 2-metoxibenzonitrilt merkaptocetsavval reagáltatunk.

12. példa

2-(4-piridil)-4-(N-tozil-L-alaniloxi)tiazol (12. képlet)

5,0 g 2-(4-piridil)-4-tiazol 100 ml diklórmétán és 10 ml piridin elegyében felvett oldatát 5°C hőmérsékletre hűtjük. Ezután 15,0 g N-tozil-L-alanil-klorid 50 ml diklórmétában felvett oldatát csepegtetjük hozzá. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten kevertetjük a reakció befejeződéséig. Az oldatot ezután 1N sósavval, vízzel, telített nátriumhidrogénkarbonát oldattal és telített nátriumklorid oldattal mossuk, magnéziumsulfáton szárítjuk, szűrjük, és csökkentett nyomáson bepároljuk. A kapott maradékot 100 ml acetonban oldjuk, és 100 ml hexánnal hígítjuk. Ezután 1 órán keresztül hűtőszekrényben állni hagyjuk, majd a sötét, félig szilárd szennyezőanyagokat dekantáljuk, és a ma-

radék oldószert eltávolítjuk. A kapott amorf szilárd anyagot minimális mennyiségű etilacetátban oldjuk, és az oldatot szilikagélen etilacetát/hexán 1:1 eleggyel eluálva oszlopkromatográfiásan tisztítjuk. A kívánt terméket tartalmazó frakciókat egyesítjük, az oldószert eltávolítjuk, és a maradékot 20 ml acetonban oldjuk. Ezután 50 ml hexánnal hígítjuk, hűtőszekrényben állni hagyjuk, majd a kapott szilárd anyagot szűrjük, és szárítjuk.

13. példa

2-(2-tienil)-4-(N-tozil-L-alaniloxi)thiazol (13. képlet)

5,0 g 2-(3-tienil)-4-thiazol, 100 ml diklórmétán és 10 ml piridin elegyében felvett oldatát 5°C hőmérsékletre hűtjük. Az oldathoz 15,0 g N-tozil-L-alanil-klorid 50 ml diklórmétánban felvett oldatát csepegtetjük. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten kevertetjük a reakció befejeződéséig. Az oldatot ezután 1N sósavval, vízzel, telített nátriumhidrogénkarbonát oldattal, majd telített nátriumklorid oldattal mossuk, magnéziumsulfáton szárítjuk, szűrjük, és csökkentett nyomáson bepároljuk. A kapott csapadékot 100 ml acetonban oldjuk, és 100 ml hexánnal hígítjuk. Ezután 1 órán keresztül hűtőszekrényben állni hagyjuk, majd a sötét, félig szilárd szennyezőanyagokat dekantáljuk, és a maradék oldószert eltávolítjuk. A kapott amorf szilárd anyagot minimális mennyiségű etilacetátban oldjuk, és az oldatot szilikagélen etilacetát/hexán 2:1 eleggyel eluálva oszlopkromatográfiásan tisztítjuk. A kívánt terméket tartalmazó frakciókat egyesítjük, az oldószert eltávolítjuk, a maradékot 20 ml acetonban oldjuk, és 50 ml hexánnal hí-

gítjuk. Ezután hűtőszekrényben állni hagyjuk, majd a kapott szilárd anyagot szűrjük, és szárítjuk.

A terméket proton NMR-analízissel azonosítjuk. 19 mg terméket 0,7 ml acetone- d_6 oldószerben oldunk, és a proton spektrumot AMRI SOP INS-041 berendezésen Bruker 300 MHz NMR spektrométerrel (Bruker-Physik AG, Németország) vesszük fel.

A termék azonosságát ezenkívül infravörös spektroszkópiásan ellenőrizzük, amelyhez először 263 mg káliumbromidot elkeverünk 1,7 mg termékkel, majd Wig L Bug berendezésben (Crescent Dental Manufacturing Co., Illinois, USA) őröljük. Az őrölt elegyből lemezt préselünk, és az infravörös spektrumot Spectrum 1000 IR spektrométeren, majd AMRI SOP INS-026 berendezésben vesszük fel. A mintát $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ tartományban vizsgáljuk.

14. példa

2-(1-naftil)-4-(N-tozil-L-alaniloxi)thiazol (14. képlet)

5,0 g 2-(1-naftil)-4-thiazol 100 ml diklórmétán és 10 ml piridin elegyében felvett oldatát 5°C hőmérsékletre hűtjük. Az oldathoz 15,0 g N-tozil-L-alanil-klorid 50 ml diklórmétánban felvett oldatát csepegtetjük. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten kevertetjük a reakció befejeződéséig. Az elegyet ezután 1N sósavval, vízzel, telített nátriumhidrogénkarbonát oldattal és telített nátriumkloriddal mossuk, magnéziumsulfáton szárítjuk, szűrjük, és csökkentett nyomáson bepároljuk. A kapott maradékot 100 ml acetonban oldjuk, és 100 ml hexánnal hígítjuk. Ezután 1 órán keresztül hűtőszekrényben állni hagyjuk, majd a sötét, félig szilárd szennyezőanyagokat dekantáljuk, és az oldó-

szert eltávolítjuk. A kapott amorf szilárd anyagot minimális mennyiségű etilacetátban oldjuk, és az oldatot szilikagélen etilacetát/hexán 2:1 eleggyel eluálva oszlopkromatográfiásan tisztítjuk. A kívánt terméket tartalmazó frakciókat egyesítjük, az oldószert eltávolítjuk, a maradékot 20 ml acetonban oldjuk, és 50 ml hexánnal hígítjuk. Ezután hűtőszekrényben állni hagyjuk, majd a kapott szilárd anyagot szűrjük, és szárítjuk.

15. példa

2-(1,2-dimetil-4-pirrolil)-4-(N-tozil-L-alaniloxi)thiazol

(15. képlet)

5,0 g 2-(1,2-dimetil-4-pirrolil)-4-thiazol 100 ml diklórmétán és 10 ml piridin elegyében felvett oldatát 5°C hőmérsékletre hűtjük. Az oldathoz 15,0 g N-tozil-L-alanil-klorid 50 ml diklórmétánban felvett oldatát csepegtetjük. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten kevertetjük, a reakció befejeződéséig. Az oldatot ezután 1N sósavval, vízzel, telített nátriumhidrogénkarbonát oldattal, majd telített nátriumklorid oldattal mossuk, magnéziumszulfáton szárítjuk, szűrjük, és csökkentett nyomáson bepároljuk. A kapott maradékot 100 ml acetonban oldjuk, és 100 ml hexánnal hígítjuk. Ezután 1 órán keresztül hűtőszekrényben állni hagyjuk, majd a sötét, félig szilárd szennyezőanyagokat dekantáljuk, és az oldószert eltávolítjuk. A kapott amorf szilárd anyagot minimális mennyiségű etilacetátban oldjuk, és az oldatot szilikagélen etilacetát/hexán 2:1 eleggyel eluálva oszlopkromatográfiásan tisztítjuk. A kívánt terméket tartalmazó frakciókat egyesítjük, az oldószert eltávolítjuk, a maradékot 20 ml acetonban oldjuk, és 50 ml

hexánnal hígítjuk. Ezután hűtőszekrényben állni hagyjuk, majd a szilárd anyagot szűrjük, és szárítjuk.

16. példa

2-(3-indolil)-4-(N-tozil-L-alaniloxi)thiazol (16. képlet)

5,0 g 2-(3-indolil)-4-thiazol 100 ml diklórmétán és 10 ml piridin elegyében felvett oldatát 5°C hőmérsékletre hűtjük. Az oldathoz 15,0 g N-tozil-L-alanilklorid 50 ml diklórmétánban felvett oldatát csepegtetjük. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten kevertetjük a reakció befejeződéséig. Az oldatot ezután 1N sósavval, vízzel, telített nátriumhidrogénkarbonát oldattal, majd telített nátriumklorid oldattal mossuk, magnéziumsulfáton szárítjuk, szűrjük, és csökkentett nyomáson bepároljuk. A kapott maradékot 100 ml acetonban oldjuk, és 100 ml hexánnal hígítjuk. Ezután 1 órán keresztül hűtőszekrényben állni hagyjuk, majd a sötét, félig szilárd szennyezőanyagokat dekantáljuk, és az oldószert eltávolítjuk. A kapott amorf szilárd anyagot minimális mennyiségű etilacetátban oldjuk, és az oldatot szilikagélen etilacetát/hexán 2:1 eleggyel eluálva oszlopkromatográfiásan tisztítjuk. A kívánt terméket tartalmazó frakciókat összegyűjtjük, az oldószert eltávolítjuk, a maradékot 20 ml acetonban oldjuk, és 50 ml hexánnal hígítjuk. Ezután hűtőszekrényben állni hagyjuk, majd a kapott szilárd anyagot szűrjük, és szárítjuk.

17. példa

2-(2-furil)-4-(N-tozil-L-alaniloxi)thiazol (17. képlet)

5,0 g 2-(2-furil)-4-thiazol 100 ml diklórmétán és 10 ml piridin elegyében felvett oldatát 5°C hőmérsékletre hűtjük. Az oldathoz 15,0 g N-tozil-L-alanil-klorid 50 ml diklórmé-

tánban felvett oldatát csepegtetjük. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten kevertetjük a reakció befejeződéséig. Az oldatot ezután 1N sósavval, vízzel, telített nátriumhidrogénkarbonát oldattal, majd telített nátriumklorid oldattal mossuk, magnéziumszulfáton szárítjuk, szűrjük, és csökkentett nyomáson bepároljuk. A kapott maradékot 100 ml acetonban oldjuk, és 100 ml hexánnal hígítjuk. Ezután 1 órán keresztül hűtőszekrényben állni hagyjuk, majd a sötét, félig szilárd szennyezőanyagokat dekantáljuk, és az oldószert eltávolítjuk. A kapott amorf szilárd anyagot minimális mennyiségű etilacetátban oldjuk, és az oldatot szilikagélen etilacetát/hexán 2:1 eleggyel eluálva oszlopkromatográfiásan tisztítjuk. A kívánt terméket tartalmazó frakciókat egyesítjük, az oldószert eltávolítjuk, a maradékot 20 ml acetonban oldjuk, és 50 ml hexánnal hígítjuk. Ezután hűtőszekrényben állni hagyjuk, majd a kapott szilárd anyagot szűrjük, és szárítjuk.

18. példa

2-(β -sztiril)-4-(N-tozil-L-alaniloxi)thiazol (18. képlet)

5,0 g 2-(β -sztiril)-4-thiazol 100 ml diklórmétán és 10 ml piridin elegyében felvett oldatát 5°C hőmérsékletre hűtjük. Az oldathoz 15,0 g N-tozil-L-alanil-klorid 5 ml diklórmétánban felvett oldatát csepegtetjük. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten kevertetjük a reakció befejeződéséig. Ezután 1N sósavval, vízzel, telített nátriumhidrogénkarbonát oldattal, majd telített nátriumklorid oldattal mossuk, magnéziumszulfáton szárítjuk, szűrjük, és csökkentett nyomáson bepároljuk. A kapott maradékot 100 ml acetonban oldjuk, és 100 ml hexánnal hígítjuk. Ezután 1

órán keresztül hűtőszekrényben állni hagyjuk, majd a sötét, félig szilárd szennyezőanyagokat dekantáljuk, és az oldószert eltávolítjuk. A kapott amorf szilárd anyagot minimális mennyiségű etilacetátban oldjuk, és az oldatot szilikagélen, etilacetát/hexán 2:1 eleggyel eluálva oszlop-kromatográfiásan tisztítjuk. A kívánt terméket tartalmazó frakciókat egyesítjük, az oldószert eltávolítjuk, a maradékot 20 ml acetonban oldjuk, és 50 ml hexánnal hígítjuk. Ezután hűtőszekrényben állni hagyjuk, majd a szilárd anyagot szűrjük, és szárítjuk.

19. példa

2-(3-metoxifenil)-4-(N-tozil-L-alaniloxi)tiazol

(19. képlet)

5,0 g 2-(3-metoxifenil)-4-tiazol 100 ml diklórmétán és 10 ml piridin elegyében felvett oldatát 5°C hőmérsékletre hűtjük. Az oldathoz 15,0 g N-tozil-L-alanil-klorid diklórmétánban felvett oldatát csepegtetjük. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten kevertetjük a reakció befejeződéséig. Az oldatot ezután 1N sósavval, vízzel, telített nátrium-hidrogénkarbonát oldattal, majd telített nátriumklorid oldattal mossuk, magnéziumsulfáton szárítjuk, szűrjük, és csökkentett nyomáson bepároljuk. A kapott maradékot 100 ml acetonban oldjuk, és 100 ml hexánnal hígítjuk. Ezután 1 órán keresztül hűtőszekrényben állni hagyjuk, majd a sötét, félig szilárd szennyezőanyagokat dekantáljuk, és az oldószert eltávolítjuk. A kapott amorf szilárd anyagot minimális mennyiségű etilacetátban oldjuk, és az oldatot szilikagélen etilacetát/hexán 2:1 eleggyel eluálva oszlop-kromatográfiásan tisztítjuk. A kívánt terméket tartalmazó

frakciókat egyesítjük, az oldószert eltávolítjuk, a maradékot 20 ml acetonban oldjuk, és 50 ml hexánnal hígítjuk. Ezután hűtőszekrényben állni hagyjuk, majd a kapott fehér kristályokat szűrjük, és szárítjuk.

A terméket proton NMR-analízissel azonosítjuk, amelyhez 15 mg terméket 0,7 ml aceton- d_6 oldószerben oldunk, és a proton spektrumot AMRI SOP INS-041 berendezéssel Bruker 300 MHz NMR spektrométer (Bruker-Physik AG, Németország) alkalmazásával felvesszük.

A terméket ezenkívül infravörös spektroszkópián azonosítjuk. Ehhez 204 mg káliumbromidot elkeverünk 1,3 mg termékkel, majd Wig L Bug berendezésben (Crescent Dental Manufacturing Co., Illinois, USA) őröljük. Az őrölt keverékből lemezt préselünk, és az infravörös spektrumot Spectrum 1000 IR spektrométerrel és AMRI SOP INS-026 berendezéssel felvesszük. A mintát $4000-400\text{ cm}^{-1}$ tartományban vizsgáljuk.

20. példa

2-(2-metoxifenil)-4-(N-tozil-L-alaniloxi)thiazol

(20. képlet)

5,0 g 2-(2-metoxifenil)-4-thiazol 100 ml diklórmétán és 10 ml piridin elegyében felvett oldatát 5°C hőmérsékletre hűtjük. Az oldathoz 15,0 g N-tozil-L-alanilklorid diklórmétánban felvett oldatát csepegtetjük. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten kevertetjük 4 órán keresztül vagy a reakció befejeződéséig. Az oldatot ezután 1N sósavval, vízzel, telített nátriumhidrogénkarbonát oldattal, majd telített nátriumklorid oldattal mossuk, magnéziumsulfáton szárítjuk, szűrjük, és csökkentett nyomáson bepároljuk. A

kapott maradékot 100 ml acetonban oldjuk, és 100 ml hexánnal hígítjuk. Ezután 1 órán keresztül hűtőszekrényben állni hagyjuk, majd a sötét, félig szilárd szennyezőanyagokat dekantáljuk, és az oldószert eltávolítjuk. A kapott amorf szilárd anyagot minimális mennyiségű etilacetátban oldjuk, és az oldatot szilikagélen etilacetát/hexán 2:1 eleggyel eluálva oszlopkromatográfiásan tisztítjuk. A kívánt terméket tartalmazó frakciókat egyesítjük, az oldószert eltávolítjuk, a maradékot 20 ml acetonban oldjuk, és 50 ml hexánnal hígítjuk. Ezután hűtőszekrényben állni hagyjuk, majd a kapott fehér kristályokat szűrjük, és szárítjuk.

A terméket két proton NMR-analízissel azonosítjuk. Az első analízishez 11 mg terméket 0,7 ml aceton- d_6 oldószemben oldunk, és a proton spektrumot AMRI SOP INS-041 berendezésben és Bruker 300 MHz NMR-spektrométerben (Bruker-Physik AG, Németország) felvesszük. A második analízishez a proton-spektrumot Bruker 500 MHz NMR-spektrométeren vesszük fel.

A terméket ezenkívül infravörös spektroszkópiásan azonosítjuk. Ehhez 235 mg káliumbromidot elkeverünk 2,4 mg termékkel, majd Wig L Bug berendezésben (Crescent Dental Manufacturing Co., Illinois, USA) őröljük. Az őrölt termékből lemezt préselünk, és az infravörös spektrumot Spectrum 1000 IR spektrométerrel és AMRI SOP INS-026 berendezéssel felvesszük. A mintát $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ tartományban vizsgáljuk.

21. példa

Leukocita diagnosztizáló eszköz előállítása

Leukociták vizeletben történő kimutatásához találmány szerinti vegyületet tartalmazó teszt csíkot állítunk elő. Szabályos négyzet-alakú kisméretű teszt papírt illesztünk egy polisztirol csík végéhez, majd egymás után a következő két oldatot visszük fel rá, és megszáritjuk. Az első oldat 100 ml vizes oldat, amely 5 vegyes% bórsavat ($\text{pH}=5,7$) és 2 vegyes% polivinilpirrolidont (K-10) tartalmaz. A kezelt papírt 10 percen keresztül 60°C hőmérsékleten szárítjuk. A második oldat 100 ml acetonos oldat, amely 0,06 vegyes% 2-(2-tienil)-4-(N-tozil-L-alaniloxi)tiázolt vagy 2-(β -sztiril)-4-(N-tozil-L-alaniloxi)tiázolt, 0,05 vegyes% 2-metoxi-4-morfolinobenzoldiazónium-klorid-cinkklorid kettős só és 1,0 vegyes% n-dekanolt tartalmaz. A kezelt papírt 5 percen keresztül 50°C hőmérsékleten szárítjuk.

Sikeres leukocita vizsgálat (vagyis a vizeletben található leukociták jelenlétét pontosan azonosító vizsgálat) végezhető el a példában említett tiazolészter-származékok valamelyikét tartalmazó diagnosztikai eszközzel.

A vizsgálatokhoz a fent leírt módon előállított tesztcsíkot vizeletmintával érintkeztetjük. Ha a vizeletminta leukocitát tartalmaz, akkor a tesztcsík látható lila színt mutat. A lila szín kezdeti halvány árnyalata mintegy 10 másodpercen belül megjelenik, és fokozatosan sötétedik a reakció befejeződéséig, ami mintegy 1 percet igényel. A teljes reakcióval kiváltott színváltozás mértéke nemcsak annak azonosítására alkalmas, hogy a vizeletmintában található-e leukociták, hanem lehetővé teszi a jelenlévő le-

ukociták koncentrációjának szemikvantitatív meghatározását.

22. példa

Leukocita diagnosztizáló eszköz előállítás

Leukociták vizeletmintában történő kimutatásához táblalmány szerinti készítményt tartalmazó tesztcsíkot állítunk elő. Egy szabályos négyzet-alakú, kisméretű teszt papírt illesztünk egy polisztirol csík végéhez, és egymás után a következő két oldattal kezeljük, és szárítjuk. Az első oldat 100 ml vizes oldat, amely 5 vegyes% bórsavat ($\text{pH}=7,7$) és 2 vegyes% polivinilpirrolidont (K-10) tartalmaz. A kezelt papírt 10 percen keresztül 60°C hőmérsékleten szárítjuk. A második oldat 100 ml acetonos oldat, amely 0,06 vegyes% 2-(4-piridil)-4-(N-tozil-L-alaniloxi)tiázolt, 2-(1-naftil)-4-(N-tozil-L-alaniloxi)tiázolt, 2-(1,2-dimetil-4-pirrolil)-4-(N-tozil-L-alaniloxi)tiázolt, 2-(2-furil)-4-(N-tozil-L-alaniloxi)tiázolt vagy 2-(3-indolil)-4-(N-tozil-L-alaniloxi)tiázolt, 0,05 vegyes% 2-metoxi-5-morfolinobenzoldiazónium-klorid-cinkklorid kettős só és 1,0 vegyes% n-dekanolt tartalmaz. A kezelt papírt 5 percen keresztül 50°C hőmérsékleten szárítjuk.

A fent leírt módon előállított tesztcsíkot vizeletmintával érintkeztetve vizsgálatot végzünk. Ha a vizeletminta leukocitákat tartalmaz, a tesztcsík látható lila színt mutat. A lila szín kezdeti árnyalata mintegy 10 másodpercen belül megjelenik, és fokozatosan sötétedik a reakció befejeződéséig, ami mintegy 1 percet igényel. A befejezett reakció olyan mértékű színváltozást eredményez, ami nemcsak azt teszi lehetővé, hogy megállapítsuk, hogy leukociták van-

nak jelen a vizeletmintában, hanem lehetővé teszi a leukociták koncentrációjának szemikvantitatív meghatározását is.

23. példa

Leukocata diagnosztizáló eszköz előállítás

Leukociták vizeletben történő kimutatásához tesztcsíkot állítunk elő, amely találmány szerinti vegyületet tartalmaz. Egy szabályos négyzet-alakú, kisméretű teszt papírt illesztünk egy polisztirol csík végéhez, majd egymás után a következő két oldattal kezeljük, és szárítjuk. Az első oldat 100 ml vizes oldat, amely 5 vegyes% bórsavat ($\text{pH}=7,7$) és 2 vegyes% polivinilpirrolidont (K-10) tartalmaz. A kezelt papírt 10 percen keresztül 60°C hőmérsékleten szárítjuk. A második oldat 100 ml acetonos oldat, amely 0,06 vegyes% 2-(3-metoxifenil)-4-(N-tozil-L-alaniloxi)thiazolt vagy 2-(2-metoxifenil)-4-(N-tozil-L-alaniloxi)thiazolt, 0,05 vegyes% 2-metoxi-4-morfolinobenzoldiazónium-klorid-cinkklorid kettős só és 1,0 vegyes% n-dekanolt tartalmaz. A kezelt papírt 5 percen keresztül 50°C hőmérsékleten szárítjuk.

A példában felsorolt thiazolészter-származékokat tartalmazó diagnosztizáló eszközök mindegyikével sikeres leukocita vizsgálat (vagyis a vizeletben található leukociták jelenlétének pontos azonosítását lehetővé tevő vizsgálat) végezhető.

A vizsgálatok elvégzéséhez a fent leírt módon előállított vizsgálati csíkot vizeletmintával érintkeztetjük. Ha a vizeletminta leukocitákat tartalmaz, akkor a vizsgálati csík látható lila színt mutat. A lila szín kezdeti árnyalata mint-

egy 10 másodpercen belül megjelenik, és fokozatosan sötétedik a reakció befejeződésével, ami mintegy 1 percet igényel. A teljes reakció olyan mértékű színváltozást mutat, ami nemcsak annak meghatározását teszi lehetővé, hogy leukociták vannak jelen a vizeletmintában, hanem lehetővé teszi a jelenlévő leukociták koncentrációjának szemikvantitatív meghatározását.

Szabadalmi igénypontok

1. (I) általános képletű vegyületek vagy ezek sói vagy szolvatált sói, a képletben

A jelentése nitrogénatomján védett aminosavmaradék vagy nitrogénatomján védett peptidlánc,

R₁ jelentése adott esetben szubsztituált heteroarilcsoport, adott esetben szubsztituált arilcsoporttal szubsztituált alkenilcsoport vagy adott esetben szubsztituált heteroarilcsoporttal szubsztituált alkenilcsoport.

2. Az 1. igénypont szerinti vegyületek, melyek képletében R₁ jelentése alkilcsoporttal, alkoxicssoporttal, alkenilcsoporttal, aminocsoporttal, acilcsoporttal, halogén-atommal, nitrocssoporttal, cianocsoporttal, hidroxilcsoporttal vagy -SO₃H képletű csoporttal szubsztituált heteroarilcsoport.

3. Az 1. igénypont szerinti vegyületek, melyek képletében R₁ jelentése adott esetben szubsztituált 5- vagy 6-tagú heteroarilcsoport.

4. Az 1. igénypont szerinti vegyületek, melyek képletében R₁ jelentése adott esetben szubsztituált heteroarilcsoport, amely nitrogéntartalmú gyűrűt, oxigéntartalmú gyűrűt vagy kéntartalmú gyűrűt tartalmaz.

5. Az 1. igénypont szerinti vegyületek, melyek képletében R₁ jelentése etenilcsoport, propenilcsoport és bu-

tenilcsoport közül megválasztott alkenilcsoport, amely adott esetben szubsztituált arilcsoporttal vagy adott esetben szubsztituált heteroarilcsoporttal szubsztituálva van.

6. Az 1. igénypont szerinti vegyületek, melyek képletében R_1 jelentése adott esetben szubsztituált fenilcsoporttal szubsztituált alkenilcsoport.

7. A 6. igénypont szerinti vegyületek, ahol a fenilcsoport szubsztituense alkilcsoport, alkenilcsoport, alkoxics csoport, aminocsoport, acilcsoport, halogénatom, nitrocsoport, cianocsoport, hidroxilcsoport vagy $-SO_3H$ képletű csoport.

8. Az 1. igénypont szerinti vegyületek, melyek képletében R_1 jelentése szubsztituált heteroarilcsoporttal szubsztituált alkenilcsoport, ahol a heteroarilcsoport szubsztituense alkilcsoport, alkoxics csoport, alkenilcsoport, aminocsoport, acilcsoport, halogénatom, nitrocsoport, cianocsoport, hidroxilcsoport vagy $-SO_3H$ képletű csoport.

9. Az 1. igénypont szerinti vegyületek, melyek képletében R_1 jelentése 5- vagy 6-tagú heteroarilcsoporttal szubsztituált alkenilcsoport.

10. Az 1. igénypont szerinti vegyületek, melyek képletében R_1 jelentése heteroarilcsoporttal szubsztituált alkenilcsoport, ahol a heteroarilcsoport nitrogéntartalmú

gyűrűt, oxigéntartalmú gyűrűt vagy kéntartalmú gyűrűt tartalmaz.

11. Az 1. igénypont szerinti vegyületek, melyek képletében R_1 jelentése alkilcsoporttal vagy alkoxicssoporttal szubsztituált heteroarilcsoport.

12. (II) általános képletű vegyületek vagy ezek sói vagy szolvatált sói, a képletben

A jelentése nitrogénatomján védett aminosav maradék vagy nitrogénatomján védett peptidlánc,

R_2 jelentése adott esetben szubsztituált fuzionált szénhidrogéngyűrű, amely legalább egy aromás gyűrűt tartalmaz.

13. A 12. igénypont szerinti vegyületek, a képletben R_2 jelentése naftilcsoport, tetrahidronaftilcsoport vagy antrilcsoport.

14. A 12. igénypont szerinti vegyületek, ahol a fuzionált szénhidrogéngyűrű legalább egyik gyűrűjében alkilcsoporttal, alkoxicssoporttal, alkenilcsoporttal, aminocsoporttal, acilcsoporttal, halogénatommal, nitrocsoporttal, cianocsoporttal, hidroxilcsoporttal vagy $-SO_3H$ képletű csoporttal szubsztituálva van.

15. A 12. igénypont szerinti vegyületek, ahol a fuzionált szénhidrogéngyűrű legalább egy 5- vagy 6-tagú gyűrűt tartalmaz.

16. A 12. igénypont szerinti vegyületek, ahol a fuzionált szénhidrogénygyűrű legalább egy gyűrűjében alkilcsoporttal vagy alkoxicsoporttal szubsztituálva van.

17. (III) általános képletű vegyületek vagy ezek sói vagy szolvatált sói, a képletben

A jelentése nitrogénatomján védett aminosav maradék vagy nitrogénatomján védett peptidlánc,

R₃ és R₄ jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom, adott esetben szubsztituált arilcsoport, adott esetben szubsztituált heteroarilcsoport, adott esetben szubsztituált alkilcsoport, adott esetben szubsztituált alkenilcsoport, adott esetben szubsztituált alkoxicsoport, aminocsoport, adott esetben szubsztituált acilcsoport, halogénatom, nitrocsoport, cianocsoport, -SO₃H képletű csoport vagy hidroxilcsoport,

azzal a megszorítással, hogy R₃ és R₄ közül legalább az egyik jelentése hidrogénatomtól eltérő,

ahol a vegyületet gyorsító sótól mentes készítményben alkalmazzuk.

18. A 17. igénypont szerinti vegyületek, melyek képletében R₃ és R₄ közül legalább az egyik jelentése metoxicsoport, etoxicsoport, propoxicsoport vagy butoxicsoport.

19. A 17. igénypont szerinti vegyületek, melyek képletében R₃ jelentése hidrogénatom, R₄ jelentése metoxicsoport, etoxicsoport, propoxicsoport vagy butoxicsoport.

20. A 19. igénypont szerinti vegyületek, ahol R_4 *meta*- vagy *orto*-helyzetben található a tiazolilcsoporthoz képest.

21. Az 1-20. igénypontok bármelyike szerinti vegyületek, melyek képletében A jelentése nitrogénatomján védett alanin vagy nitrogénatomján védett polialanin.

22. Készítmény, amely 1-21. igénypontok bármelyike szerinti vegyületet és egy diazóniumsót tartalmaz.

23. A 22. igénypont szerinti készítmény, ahol a diazóniumsó 1-diazo-8-naftol-3,6-diszulfonsav-klorid-cinkklorid kettős só, 6-diazo-1-naftol-3-szulfonsav-klorid kettős só vagy 2-metoxi-4-morfolinobenzoldiazónium-klorid-cinkklorid kettős só.

24. A 22. igénypont szerinti készítmény, amely gyorsító sótól mentes.

25. Diagnosztikai eszköz leukociták vizeletben történő kimutatására, amely inert hordozóra deponált 1-21. igénypontok bármelyike szerinti vegyületet tartalmaz.

26. A 25. igénypont szerinti eszköz, ahol az inert hordozó deponált formában diazóniumsót tartalmaz.

27. A 26. igénypont szerinti eszköz, ahol a diazóniumsó 1-diazo-8-naftol-3,6-diszulfonsav-klorid-cinkklorid kettős só, 6-diazo-1-naftol-3-szulfonsav-klorid kettős só vagy

2-metoxi-4-morfolinobenzol-diazónium-klorid-cinkklorid
kettős só.

28. A 25. igénypont szerinti eszköz, ahol az inert hordozó szűrőpapír.

29. A 25. igénypont szerinti eszköz, amely gyorsító sótól mentes.

30. Eljárás leukociták vizeletben történő kimutatására, *azzal jellemezve*, hogy egy vizeletmintát egy diazónium-sóval és 1-21. igénypontok bármelyike szerinti vegyülettel érintkeztetünk.

31. A 30. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy diazóniumsóként 1-diazo-8-naftol-3,6-diszulfonsav-klorid-cinkklorid kettős sót, 6-diazo-1-naftol-3-szulfonsav-klorid kettős sót vagy 2-metoxi-4-morfolinobenzol-diazónium-klorid-cinkklorid kettős sót alkalmazunk.

32. A 30. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy gyorsító sótól mentes körülmények között dolgozunk.

38+4 = 42 oldal

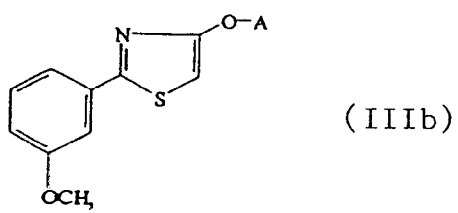
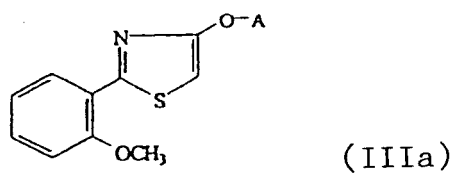
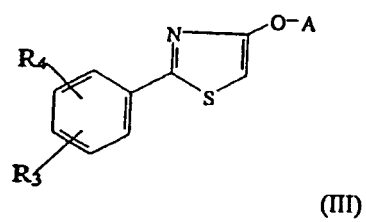
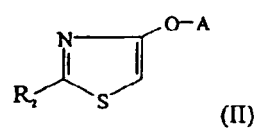
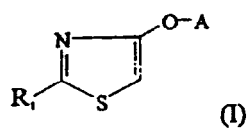
2012. 01. 08.

A meghatalmazott:

DANUBIA
Szabadalmi és Védjegy iroda Kft.


Schläfer László

szabadalmi ügyvivő



A reakcióvázlat

