



ESPAÑA

PATENTE DE INVENCION

10 ES 11	NUMERO	10 A 1
21	453442	
22	FECHA DE PRESENTACION	
	18-11-76	

P.- 64.332

SB. vs. 1884/
BB. 26480

A1 453.442 771116 G01N 33/16

30 PRIORIDADES:	32 FECHA	33 PAIS
31 NUMERO		
140428/75	21-11-75	Japón

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C07D	

54 TITULO DE LA INVENCION
"PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR UNA TIRA DE ENSAYO PARA SANGRE OCULTA EN EXCRETA O FLUIDOS DEL CUERPO"

71 SOLICITANTE (S)
SHIONOGI & CO., LTD.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE
12, 3-chome, Dosho-machi, Higashi-ku, Osaka, Japón

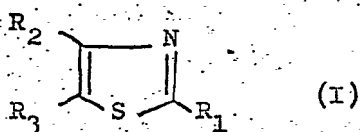
72 INVENTOR (ES)
Yasunao Ogawa y Yukio Yonetani

73 TITULAR (ES)

74 REPRESENTANTE
D. OSCAR DE ELZABURU FERNANDEZ

Fundamentos de la invenciónCampo de la invención

La presente invención se refiere a una tira de ensayo para detección de sangre oculta en excreta, que comprende un cromógeno, un hidroperóxido y, como sensibilizador, un compuesto de tiazol. Más en particular, la presente invención se refiere a una tira de ensayo para detección de sangre oculta en excreta tal como orina o heces, que comprende un cromógeno, un hidroperóxido y, como sensibilizador, un compuesto de tiazol (I) de fórmula:



donde R_1 es un alquililo, un aralquenilo sustituido o no sustituido, o un aralcoholo sustituido o no sustituido; R_2 y R_3 son, cada uno, un hidrógeno o un alcoholo; y R_2 y R_3 , cuando se consideran junto con los átomos de carbono adyacentes, pueden formar un anillo de benceno.

La tira de ensayo según la presente invención se puede usar para la detección de sangre oculta en excreta (p. ej. orina, heces), vómito, sustancias del estómago o fluido espinal. Se reconoce que tal hemorragia es causada por cáncer, úlcera, hemorroides, tifus, escorbuto, púrpura, insuficiencia renal, piedras de la vejiga, piedras del riñón, y similares. La hemorragia que resulta de tales enfermedades tiene lugar usualmente en muy pequeña cantidad, y por tanto no se puede examinar con el ojo desnudo o a través de un microscopio. Según la tira de ensayo de la invención, la sangre oculta se puede detectar fácilmente y con confianza, con gran sensibilidad. Así,

la tira de ensayo de la invención es útil en la diagnosis precoz de las enfermedades antes mencionadas.

Descripción de la técnica anterior

5 El principio de la detección de sangre oculta es bien conocido, es decir, la hemoglobina en la sangre cataliza para descomponer un hidroperóxido, y el oxígeno liberado se transfiere a un cromógeno que se oxida, dando una sustancia coloreada que indica la presencia de sangre oculta. Sin embargo, una tira de ensayo que se
10 prepare por aplicación directa de este principio no da resultado satisfactorio en la detección de una cantidad muy pequeña de sangre. Además, la tira de ensayo así preparada tiene el inconveniente de su estabilidad insuficiente durante el almacenamiento.

15 Como tira de ensayo que comprende un sensibilizador, además del cromógeno, para detección de sangre oculta se ha conocido antes de ahora. Una tira de ensayo que usa quinina (patente japonesa n.º 473.315) y una tira de ensayo que usa una fenantridina (patente de los EE.UU. n.º 3.853.472). Sin embargo, la primera no tiene sensibilidad suficiente, y la segunda tiene el inconveniente de que contiene como sensibilizador una sustancia carcinógena. La sensibilidad suficiente del ensayo rápido para la
20 sangre oculta tiene una importancia decisiva, y se ha de considerar la falta de riesgo en su manipulación. Se reconoce en la técnica que, en vista de la aplicación clínica práctica, se requiere una sensibilidad para detectar sangre con una concentración de más de 1:200.000 de dilución. Además, los médicos implicados han señalado que no es deseable una sensibilidad excesiva en tal tira de ensayo, de
25
30

bido a que puede tener lugar una falsa reacción de color positiva.

Aparte de esta técnica anterior, se ha propuesto recientemente el uso de derivados de piridina, como se expone, por ejemplo, en la patente de los EE.UU. nº 3.917.452. Aunque esta propuesta afirma que puede detectar sangre en dilución de 1:1.000.000, no se ha explotado comercialmente y, por tanto, no se ha hecho todavía una determinación exacta de las ventajas reales en el refuerzo de la sensibilidad de la diagnosis.

Resumen de la invención

Los autores de la presente invención, que habían estado estudiando durante mucho tiempo el refuerzo de la sensibilidad de la tira de ensayo para la sangre oculta, han descubierto ahora que un compuesto de tiazol (I), según se ha mencionado antes, tiene propiedades de activación adecuadas para la detección de sangre oculta. La presente invención se ha completado en base a estos descubrimientos.

Por tanto, un objeto primordial de la invención es proporcionar una tira de ensayo para detectar la presencia de sangre oculta, fácilmente y con confianza.

Otro objeto de la invención es proporcionar un método simple, rápido y conveniente para detectar sangre oculta en excreta o fluidos del cuerpo, particularmente en orina.

Según la presente invención, se proporciona una tira de ensayo para detección de sangre oculta, que contiene como sensibilizador un compuesto de tiazol (I) de fórmula:

tiazol, 2-(p-bromoestiril)-tiazol, 2-(p-fluoroestiril)-
tiazol, 2,4-dimetil-tiazol, 1-fenil-2-(2-tiazol)-etano,
y similares.

Desde luego, es evidente que no todos los com-
puestos que caen dentro del ámbito de la fórmula general
(I) poseen propiedades sensibilizadoras en el mismo grado.
Así, se puede ajustar la sensibilidad de, por ejemplo, un
ensayo de sangre, según los requisitos prácticos. Por ejem-
plo, se obtienen tiras de ensayo de actividad en aumento
cuando se usan como sensibilizadores los compuestos ex-
puestos en el orden siguiente dado: 2-estiril-4-metiltia-
zol, 2-(p-metoxiestiril)-tiazol, 2-(p-metoxiestiril)-4-me-
tiltiazol, 2-estiriltiazol, 2-(p-metoxiestiril)-tiazol,
1-fenil-4-tiazolil-(2)-butadieno, 2-(p-metoxiestiril)-ben-
zotiazol, 2,4-dimetiltiazol, 1-fenil-2-(2-tiazol)-etano,
2-(p-cloroestiril)-tiazol, (2-estiril)-benzotiazol.

La tira de ensayo de la invención se puede pre-
parar, por ejemplo, impregnando un material absorbente con
todos los reactivos necesarios para la reacción de color.
Este procedimiento de impregnación puede comprender prefe-
riblemente dos etapas. Primero se impregna un material
absorbente con una emulsión que contiene hidroperóxido,
emulgente, agente adhesivo, tampón, pigmento, y estabiliza-
dor del hidroperóxido. Luego se seca el material impreg-
nado y se impregna con una solución de sensibilizador (I)
y cromógeno.

El material absorbente así obtenido se seca, pa-
ra dar una tira de ensayo deseada. Aunque el método ante-
rior es el preferido, el orden del procedimiento de impreg-
nación no es necesariamente crítico, y puede comprender mu-

chas variaciones.

El sensibilizador (I) puede ser cualquier sustancia de las antes mencionadas, y preferiblemente se usa en cantidad de aproximadamente 0,5-10 veces en peso respecto al cromógeno usado.

Los ejemplos del material absorbente pueden ser papel de filtro, papel de celulosa para intercambio de iones, fibra, y material que tenga unas propiedades absorbentes equivalentes.

Los hidroperóxidos incluyen, por ejemplo, el hidroperóxido de cumeno, hidroperóxido de p-mentano, hidroperóxido de tetralina, hidroperóxido de terc-butilo, 2,5-dimetilhexano-2,5-dihidroperóxido e hidroperóxido de diisopropil-benceno. Se pueden usar análogamente otros hidroperóxidos que liberen oxígeno en presencia de sangre y catalicen la oxidación del cromógeno, con lo que tiene lugar un cambio de color detectable. Estos hidroperóxidos se emplean en cantidad suficiente para oxidar un cromógeno en presencia de sangre, produciendo así un material coloreado, pero usualmente se utilizan en cantidad en exceso.

Como emulgente se ejemplifican la goma arábiga y el polialcohol vinílico, y se utilizan usualmente a concentración de 12,5-25% (p/v). Además, se emplea preferiblemente lauril-sulfato sódico a aproximadamente 5% (p/v) como estabilizador de los hidroperóxidos usados.

La gelatina es eficaz para microcapsulación de los hidroperóxidos usados. Se prefiere usar gelatina a aproximadamente 10% (p/v) de concentración.

Son ejemplos de tampón un citrato, fosfato, ftalato, oxalato, carbonato, y ácido orgánico o inorgánico-

morfolina (o un derivado de ella, p.ej. N-etil-morfolina). Estos tampones se usan para mantener la solución de impregnación a pH 5-7, preferiblemente a pH 5-6.

El cromógeno se puede ejemplificar como derivados de diaminodifenilo, que incluyen, entre otros, la ben-
5 cidina, o-tolidina, m-tolidina, dianisidina, 3,3',5,5'-tetrametilbencidina, y sales de ellas con un ácido mineral (p.ej. ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico o ácido sulfúrico). Además de estos, también puede es-
10 tar disponible el guayaco, en forma de sus extractos en cloroformo. Entre estos, los más preferidos desde el punto de vista práctico son la o-tolidina y sus derivados N-alcohólicos.

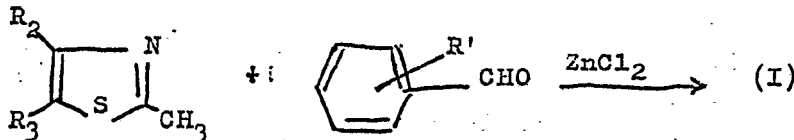
Un pigmento tal como tratrazina se puede añadir
15 como colorante de ajuste de fondo, para facilitar la determinación del resultado del desarrollo de color. Para preparar la solución de impregnación se usa agua, etanol, cloroformo y tolueno como disolvente.

La tira de ensayo de la invención puede detectar
20 tar sangre a una concentración de 1:500.000 ~ 1:1.000.000 de dilución. La sensibilidad de la tira de ensayo que no contiene sensibilizador puede detectar sangre solo a una concentración de 1:10.000 ~ 1:30.000 de dilución. Así la tira de ensayo que tiene baja sensibilidad no se puede
25 aplicar a ensayos clínicos. La tira de ensayo de la invención puede detectar sangre oculta en excreta o fluidos del cuerpo, particularmente en orina.

El concepto de la invención se puede aplicar a una composición tanto como a una tira de ensayo. La composición se puede preparar de una manera usual que se adop-
30

ta en el campo de la ciencia farmacéutica. Sin embargo, en vista de su estabilidad y manipulación, se emplea preferiblemente en forma de tira de ensayo.

El compuesto de tiazol (I) se puede preparar por la siguiente ecuación:



donde R_2 , R_3 y R' tienen, cada uno, el mismo significado que se ha definido antes. Concretamente, el compuesto I se puede preparar haciendo reaccionar un 2-metiltiazol correspondiente con un aldehído correspondiente, bajo calentamiento, en presencia de ácido de Lewis (p.ej. cloruro de cinc).

Descripción de las realizaciones preferidas

Se presentan a continuación ejemplos de trabajo para ilustrar las realizaciones de la presente invención, y se considera que el ámbito técnico de la invención no está limitado por los ejemplos dados.

EJEMPLO 1

Un papel de filtro (papel de filtro Toyo nº 131) se impregna con una emulsión que comprende:

(Primera solución)

goma arábica al 25% (p/v)	10 ml
laurilsulfato sódico al 5% (p/v)	2 ml
hidroperóxido de cumeno	1 ml
gelatina al 10% (p/v)-tampón de citrato 0,2M (pH 5,0)	5 ml
tartrazina al 1% (p/v)/etanol acuoso	0,5 ml
ácido cítrico 2M-N-etilmorfolina (pH 5,5)	20 ml

El papel se saca de la solución y se seca a

60-80°C durante 5-10 horas. Luego se impregna el papel con la segunda solución, que comprende:

(Segunda solución)

5	o-tolidina	50 mg
	2-estiril-4-metiltiazol	50 mg
	cloroformo	10 ml

10 El papel se retira y se seca durante 30 minutos bajo presión reducida, en un sitio oscuro. Luego se corta el papel a un tamaño adecuado y se adhiere sobre una hoja de poli(cloruro de vinilo), para conveniencia de uso. Dado que no hubo diferencia en las reacciones de color preliminares usando sangre humana y sangre de rata, la reacción de color de ensayo se efectuó usando sangre de rata. La sangre se sometió a una dilución de 100 veces con agua, y luego más con orina de adulto normal.

15 Cuando la tira de ensayo de la invención se sumergió en muestras con diversas concentraciones de sangre diluidas, la sangre a 1:100,000 se pudo detectar, aunque la reacción de color es algo débil. La determinación se hizo 30

20 segundos tras la impregnación. La tira de ensayo (amarilla) de la invención se volvió de un color amarillo verdoso-verde-azul oscuro, dependiendo de la concentración diluida de sangre.

25 La tira de ensayo antes obtenida muestra buena sensibilidad a la sangre oculta, y los resultados del ensayo se muestran en la tabla siguiente, en la que se usó Labstix como comparación. Labstix es una tira de ensayo de la que se dispone en el comercio, para detección de sangre oculta, y contiene hidroperóxido de cumeno, o-toluidina y tampón de citrato.

30

Tabla 1: Sensibilidad de la tira de ensayo para la sangre oculta en orina

Concentración de sangre diluída en orina	Labstix	Tira de ensayo de la invención
0	-	T - C/S [±] 10Y-9/6
1/400.000	±	7,5GY-8/6
1/200.000	±	10GY-8/6
1/100.000	+	5G-6/6
1/50.000	++	5BG-5/6
1/10.000	++~+++	2,5B-4/6

Nota: T-C/S[±] significa tono-claridad/saturación, respectivamente, y la reacción de color se expresa según la pastilla de color patrón (JIS (Norma industrial japonesa) Z 8721-1964). La reacción de color con Labstix se expresa en términos de la pastilla de color patrón acompañada. -: reacción negativa, ±: reacción muy débil, +, ++, +++: reacción de color positiva. La reacción de color se determinó 30 segundos después de la impregnación de la tira de ensayo con la muestra de ensayo. Y = amarillo, GY = amarillo verdoso, G = verde, BG = verde azul, B = azul.

Como es evidente por la tabla anterior, la tira de ensayo de la invención puede detectar con confianza sangre oculta urinaria que tiene una concentración de 1:400.000 de dilución. Una sangre diluída a 1:1.000.000 es detectable por la tira de ensayo de la invención, pero la intensidad de color es algo débil. Sin embargo, la detección de sangre diluída a 1:400.000 es suficiente para aplicaciones clínicas.

Se examinaron la sensibilidad y estabilidad de tiras de ensayo que contienen diversos sensibilizadores, durante su almacenamiento bajo diversas condiciones, y los resultados del ensayo se muestran en la tabla siguiente:

Tabla 2: Sensibilidad y estabilidad de tiras de ensayo con diversos sensibilizadores

10	Sensibilizador	Grado de sangre oculta (detectado por Labstix)	Recientemente preparada	Almacenadas durante un mes a	
				4°C	Temp. amb.
			T-C/S (JIS Z 8721-1964)		
15	2-(estiril)-4-metil-tiazol	-	10Y-9/6	5Y-9/6	5Y-8/5
		+	10GY-7/6	5GY-8/6	5Y-7/7
		++	5G-7/4	2,5G-7/6	10Y-8/4
20	2-(p-metoxiestiril)-tiazol ^{XX}	-	7,5Y-9/4	5Y-9/6	5Y-8/5
		+	5GY-9/6	10Y-9/6	5Y-8/6
		++	2,5G-7/6	7,5GY-8/6	2,5GY-8/6
25	2-(p-metoxiestiril)-4-metil-tiazol ^{XX}	-	10Y-9/6	5Y-9/6	5Y-8/5
		+	2,5GY-9/8	10Y-9/6	5Y-8/6
		++	5GY-8/3	7,5GY-8/6	2,5GY-8/6

Nota: Todos los símbolos tienen, cada uno, el mismo significado definido en la tabla 1. ⁺, ^{XX}: la tira de ensayo que contenía estos sensibilizadores se prepara según el método descrito en el Ejemplo 2.

Por la anterior tabla está claro que las tiras de ensayo que contienen compuestos de tiazol de la invención muestran buena estabilidad durante el almacenamiento a 4°C durante un mes. Particularmente, la tira de ensayo

que contiene 2-(estiril)-4-metiltiazol posee buena estabilidad. Sin embargo, la estabilidad de las tiras de ensayo de la invención se reduce algo cuando se almacenan a temperatura ambiente.

5

Se efectuó un ensayo de estabilidad de las tiras de ensayo que contienen diversos cromógenos, y los resultados del ensayo se muestran en la tabla siguiente:

10

15

20

25

30

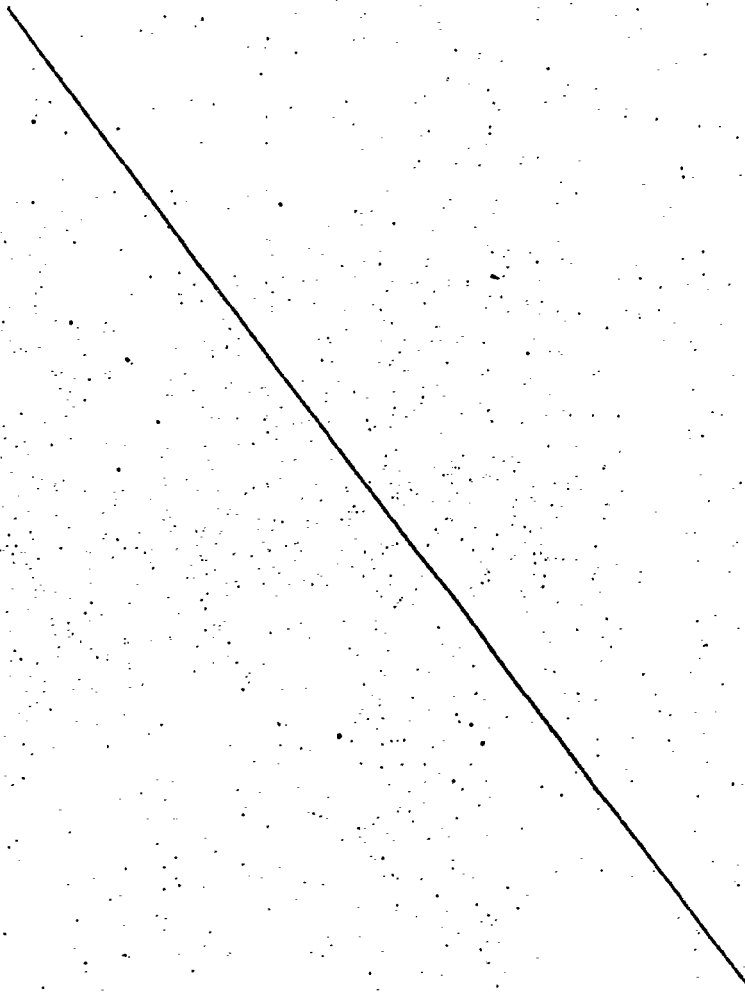


Tabla 3: Efecto de los cromógenos sobre la reacción de color de tiras de ensayo, tras su almacenamiento

Preparación	Condiciones de conservación	Concentración de sangre en orina			
		-	+	++	+++
I ^{xx}	Recientemente preparadas	(T-C/S)	(JIS 2 3721-1964)		
	13 días, 4°C	10Y-9/6	10GY-8/5	7,5G-6/5	2,5B-4/8
	13 días, temp. amb.	7,5Y-9/8	2,5G-6/6	5BG-5/6	5B-3/4
	23 días, 4°C	5Y-9/6	10GY-7/6	10G-5/6	5B-3/4
	23 días, temp. amb.	10Y-9/6	7,5G-6/6	7,5BG-5/7	5B-5/7
	34 días, 4°C	7,5Y-9/6	10GY-8/5	10G-5/6	2,5B-4/8
	34 días, temp. amb.	10Y-9/6	2,5G-7/6	2,5BG-5/6	5B-4/6
		5Y-8/6	10Y-8/6	10G-6/6	7,5G-4/6
		10Y-9/6	7,5Y-8/6	2,5G-7/8	2,5B-4/6
		10Y-9/6	7,5GY-8/6	7,5G-6/6	10BG-4/8
II ^{xx}	Recientemente preparadas				
	13 días, 4°C	10Y-9/6	7,5GY-8/6	2,5G-7/6	7,5BG-4/6
	13 días, temp. amb.	10Y-9/6	5GY-8/6	2,5G-7/6	7,5BG-5/6
	23 días, 4°C	10Y-9/6	7,5GY-8/6	2,5BG-5/7	7,5GY-8/5
	23 días, temp. amb.	10Y-9/6	10Y-9/6	2,5GY-9/6	5BG-5/5
	34 días, 4°C	10Y-9/6	5GY-8/6	5G-6/6	2,5GY-9/6
	34 días, temp. amb.	10Y-9/6	10Y-9/6	10Y-9/6	2,5GY-9/6

Notas: ^{xx} La preparación I contiene o-tolidina como cromógeno, y la preparación II contiene 5,5'-tetrametilbencidina. La preparación II se obtiene de la misma manera que se ha descrito antes.

La sangre oculta de pacientes está contenida como sangre hemolítica o sangre no hemolítica intacta, y la proporción de ambas en la orina no está definida. En general, la proporción de sangre hemolítica en la muestra de orina aumenta con el lapso de tiempo. Por tanto, es significativo examinar la reacción de color usando ambas muestras de orina. Los resultados de ensayo se muestran en la tabla siguiente.

10

15

20

25

30

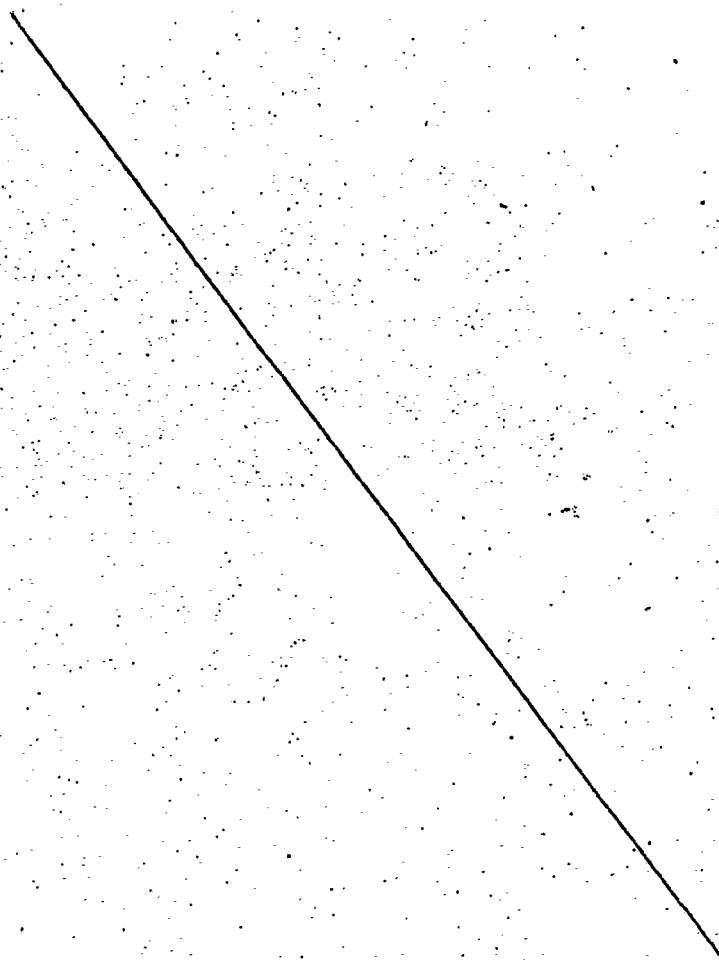


Tabla 4: Reacción de color de una tira de ensayo frente a sangre hemolítica y sangre intacta en orina.

Muestra de Ensayo	Tiempo (seg)	Número de eritrocitos en la muestra de orina (número/ μ l)			
		0	5	10	50
I	30	7,5Y-9/8	10Y-8/7	2,5GY-8/5	5GY-8/6
	60	7,5Y-9/8	10Y-8/6	5GY-8/5	7,5GY-8/5
II	30	7,5Y-9/8	7,5Y-9/8	10Y-9/6	7,5GY-8/6
	60	7,5Y-9/8	10Y-9/6	2,5GY-8/6	10GY-7/6
III	30	5Y-9/6	5Y-9/6	7,5Y-8/6	10Y-8/6
	60	5Y-9/6	5Y-9/6	10Y-8/6	2,5GY-8/6
IV	30	5Y-9/6	5Y-9/6	5Y-9/6	7,5Y-8/6
	60	5Y-9/6	5Y-9/6	5Y-9/6	10Y-8/6

Nota: I: diluida con agua destilada (sangre hemolítica)

II: diluida con una solución isotónica (sangre intacta)

III: diluida a 1:100 con agua, y diluida luego otra vez con orina (sangre hemolítica).

IV: diluida con orina (sangre intacta)

La suspensión de eritrocitos se preparó a partir de sangre de rata, por lavado con una solución isotónica. La reacción de color se determinó 30 o 60 segundos después de la impregnación de la tira de ensayo obtenida en el Ejemplo 1.

Se ve por la tabla que la tira de ensayo de la invención es más sensible a la sangre hemolítica en la orina que a la sangre no hemolítica.

EJEMPLO 2

5 Se emplea 2-(p-metoxiestiril)-tiazol, 2-(p-metoxiestiril)-4-metiltiazol, 2-estiriltiazol, 1-fenil-4-tiazolil-(2)-butadieno, 2-(p-metilestiril)-tiazol, 2-(p-metoxiestiril)-benzotiazol, 2-(estiril)-benzotiazol, 2-(p-cloroestiril)-tiazol, 2,4-dimetiltiazol o 1-fenil-2-(2-tiazol)-etano, como sustitutos del 2-estiril-4-metil-10 tiazol del Ejemplo 1. Se repiten los métodos de forma similar a los descritos en el Ejemplo 1, dando tiras de ensayo, cada una de las cuales muestra la misma reacción de color que la obtenida en el Ejemplo 1.

15 EJEMPLO 3

Se sumerge papel de dietilaminoetil celulosa (DE-81, producto de Whatman Co.) en la siguiente solución (primera solución).

(Primera solución)

20	Poli(alcohol vinílico) al 10% (p/v)	10 ml
	Laurilsulfato sódico al 5% (p/v)	4 ml
	Hidroperóxido de cumeno	3 ml
	Albúmina al 10%-tampón de citrato 0,2M (pH 5,0)	10 ml
25	Tartrazina al 1% (p/v)-etanol acuoso	0,5 ml
	Mezcla de ácido cítrico	20 ml
	2M-morfolina (pH 5,5)	20 ml

El papel impregnado se retira, se seca a 60-80°C durante 5-10 horas, y se impregna en la segunda solución siguiente.

30 (Segunda solución)

o-tolidina	100 mg
2-(p-metoxiestiril)-tiazol	50 mg
tolueno	10 ml

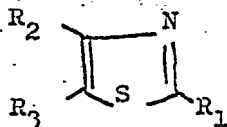
5 El papel impregnado se retira y se seca en sitio oscuro durante 30 minutos bajo presión reducida, dando una tira de ensayo deseada. Esta tira de ensayo muestra la misma sensibilidad al ensayo de sangre en orina que la de la tira de ensayo del Ejemplo 1.

10 Cambiando el ácido cítrico-N-etilmorfolina por ácido cítrico-morfolina, y aumentando la cantidad de o-tolidina a 100 mg en el Ejemplo 1, se efectúa el mismo método, dando una tira de ensayo de gran sensibilidad.

15 REIVINDICACIONES

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

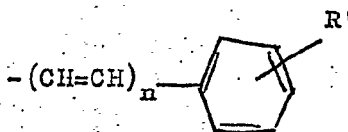
20 1ª.- Procedimiento para preparar una tira de ensayo para sangre oculta en excreta o fluidos del cuerpo, que comprende impregnar un material absorbente poroso o que embebe, con una solución que contiene esencialmente
25 un cromógeno, un hidroperóxido y, como sensibilizador, un compuesto de tiazol (I) de fórmula:



donde R_1 es un alcoholilo inferior, un aralquenilo sustituido o no sustituido, o un aralcoholilo sustituido o no sustituido; R_2 y R_3 son, cada uno, un hidrógeno o un alcoholilo inferior; y R_2 y R_3 , cuando se consideran junto con los átomos de carbono adyacentes, pueden formar un anillo de benceno.

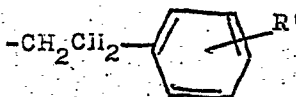
2^a.- Procedimiento según la reivindicación 1^a, donde R_1 es un alcoholilo C_1-C_3 , un aralquenilo sustituido o no sustituido de fórmula:

10



donde n es un entero de 1-2 y R' es un miembro elegido del grupo que consta de hidrógeno, un halógeno, un grupo alcoholilo C_1-C_3 , y un alcoxi C_1-C_3 , o un grupo aralcoholilo sustituido o no sustituido, de fórmula:

15



donde R' tiene el mismo significado antes definido; R_2 y R_3 son, cada uno, un hidrógeno o un alcoholilo C_1-C_3 ; y R_2 y R_3 , cuando se consideran junto con los átomos de carbono adyacentes, pueden formar un anillo de benceno.

20

3^a.- Procedimiento según la reivindicación 1^a,

donde el compuesto de tiazol (I) es un miembro elegido del grupo que consta de 2-estiril-4-metiltiazol, 2-(p-metoxiestiril)-tiazol, 2-(p-etoxiestiril)-tiazol, 2-(p-metoxiestiril)-4-metiltiazol, 2-estiriltiazol, 1-fenil-4-tiazolil-(2)-butadieno, 2-(p-metilestiril)-tiazol, 2-(p-metoxiestiril)-benzotiazol, 2-(estiril)-benzotiazol, 2-(p-cloroestiril)-tiazol, 2-(p-bromoestiril)-tiazol, 2-(p-fluoroestiril)-

25

30

1 tiazol, 2,4-dimetiltiazol y 1-fenil-2-(2-tiazol)-etano.

4ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª,
donde el cromógeno es un miembro elegido del grupo que consta de derivados de diaminodifenilo (bencidina, o-tolidina,
5 m-tolidina, 3,3',5,5'-tetrametilbencidina, y sales de los mismos), y guayaco y extracto del mismo.

5ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª,
donde el hidroperóxido es un miembro elegido del grupo que consta de hidroperóxido de cumeno, hidroperóxido de p-mentano,
10 no, hidroperóxido de tetralina, hidroperóxido de tercbutilo, 2,5-dimetilhexano-2,5-dihidroperóxido, e hidroperóxido de diisopropil-benceno.

6ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª,
que comprende impregnar un material absorbente que embebe o
15 poroso, con una emulsión que está compuesta por goma arábiga al 25% (p/v), lauril-sulfato sódico al 5% (p/v), hidroperóxido de cumeno, gelatina al 10% (p/v)-tampón de citrato 0,2M (pH 5,0), tartrazina al 1%(p/v)-etanol acuoso, y ácido cítrico 2M-N-etilmorfolina (pH 5,5); secar el material impregnado
20 y absorbida; impregnar dicho material con una solución que está compuesta por o-tolidina, 2-estiril-4-metiltiazol y cloroformo; y secar el material resultante, para dar la tira de ensayo deseada.

7ª.- Procedimiento para preparar una tira de
25 ensayo para sangre oculta en excreta o fluidos del cuerpo.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y para los fines que se han especificado.

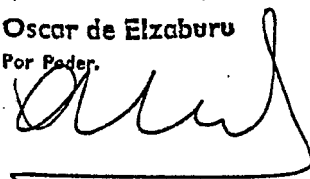
1

Esta Memoria consta de veintiuna hojas escritas a máquina por una sola cara.

MADRID, 26. MAY 1977

5

Oscar de Elzaburu
P.A. Por Poder.



10

15

20

25

30

CGD.

19057