



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0036277

(51)<sup>2006.01</sup> C09B 31/068; C10L 1/00; C10N 40/00; (13) B  
C10M 133/28; C10M 171/00; C09B  
67/40; C10L 1/226

- 
- (21) 1-2019-00754 (22) 14/07/2017  
(86) PCT/US2017/042096 14/07/2017 (87) WO 2018/013904 18/01/2018  
(30) 62/362,975 15/07/2016 US  
(45) 25/07/2023 424 (43) 25/07/2019 376A  
(73) UNITED COLOR MANUFACTURING, INC. (US)  
660 Newton-Yardley Road, Newton, PA 18940, US  
(72) DOSHI, Haresh (US); FRISWELL, Michael (US); NOWAKOWSKI, Thomas, E.  
(US).  
(74) Văn phòng Luật sư Ân Nam (ANNAM IP & LAW)
- 

- (54) CHẾ PHẨM VÀ PHƯƠNG PHÁP ĐÁNH DẤU CHẾ PHẨM HYDROCACBON  
BẰNG THUỐC NHUỘM KHÔNG GÂY ĐỘT BIẾN  
(57) Sáng chế đề cập đến thuốc nhuộm dùng để đánh dấu chế phẩm hydrocacon. Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến thuốc nhuộm không gây đột biến dùng để đánh dấu chế phẩm hydrocacbon.

### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến thuốc nhuộm để đánh dấu chế phẩm hydrocacbon. Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến thuốc nhuộm không gây đột biến dùng để đánh dấu chế phẩm hydrocacbon.

### **Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Thuốc nhuộm thường được sử dụng để tạo màu các sản phẩm dầu mỏ như dầu diesel, dầu hỏa, dầu bôi trơn, dầu nhờn, dầu hộp số tự động và sản phẩm từ nhựa. Màu đỏ là một thuốc nhuộm dầu mỏ vô cùng quan trọng được sử dụng trong nhiều ứng dụng khác nhau. Chẳng hạn như, các quy định của cục thuế nội địa Hoa Kỳ, đòi hỏi việc sử dụng thuốc nhuộm màu đỏ để nhận biết dầu diesel dành cho xe địa hình. Tuy nhiên, có một mối quan tâm rằng một vài thuốc nhuộm màu đỏ hiện tại được sử dụng trong công nghiệp, cụ thể là các thuốc nhuộm màu đỏ có nguồn gốc từ amino-azo benzen, tiềm ẩn những nguy hại cho sức khỏe do chúng có thể gây đột biến hoặc gây ung thư. Hơn nữa, việc sản xuất các vật liệu này đòi hỏi xử lý các vật liệu gây đột biến, gây ung thư và các sản phẩm trung gian. Việc xử lý các thuốc nhuộm hoặc các sản phẩm chứa thuốc nhuộm này, có thể mắc phải mức nguy hại sức khỏe nào đó do đặc tính có thể gây đột biến của thuốc nhuộm.

Thuốc nhuộm azo màu đỏ dùng để nhuộm sản phẩm dầu mỏ đã được bán trên thị trường trong nhiều năm. Ví dụ, các bằng sáng chế Mỹ số 3,690,809 và 3,704,106 mô tả thuốc nhuộm lỏng, một vài trong số chúng rất có ích trong việc tạo màu sản phẩm dầu mỏ, và, chẳng hạn như chất dẻo. Mặc dù, các thuốc nhuộm này có thể là các chất màu hiệu quả, nguyên liệu thô và các sản phẩm trung gian được sử dụng trong quá trình sản xuất của chúng có thể gây hại cho sức khỏe nếu không được xử lý đúng cách. Một vài hợp chất được sử dụng rộng rãi, chẳng hạn như C. I. Solvent Reds 24 và 164, toàn bộ hoặc một phần có nguồn gốc từ 2-metylanilin, bị tình nghi là một chất gây ung thư ở người. Cụ thể là, để sản xuất thuốc nhuộm màu đỏ đã nêu, 2-metylanilin bị chuyển hóa, toàn bộ hoặc một phần, thành 1-amino 2,2' dimetyl-4-azobenzen, chất này cũng được biết đến là chất gây ung thư. Hợp chất azobenzen đôi khi được tách ra, sau đó được chuyển hóa thành hợp chất diazo, là azo bắt cặp với 2 naphtalenol, hoặc dẫn xuất alkyl

của nó, để tạo ra thuốc nhuộm màu đỏ. Thuốc nhuộm màu đỏ thường được bán dưới dạng dòng cô đặc, nhưng cũng được điều chế và sử dụng dưới dạng chất rắn không solvat. Ngoài những mối quan tâm về sức khỏe liên quan đến các sản phẩm thuốc nhuộm cuối cùng và tiền chất, các thuốc nhuộm azo màu đỏ thông thường này có phần hơi không ổn định ở chỗ chúng có thể bị phân hủy dưới điều kiện nhiệt độ quá cao hoặc bởi tiếp xúc với axit hoặc chất khử hóa học. Trong quá trình phân hủy, ví dụ, Solvent Reds 24 và 164 tạo thành 1-amino-2,2'-dimetyl-4-azobenzen và/hoặc các chất đồng đẳng của nó, là những chất cũng bị tình nghi là có hoạt tính gây ung thư.

Bằng sáng chế Mỹ số 5,676,708 ("sáng chế '708") mô tả thuốc nhuộm diazo có mức độ gây đột biến không thể đoán trước được. Ví dụ, các dẫn xuất 2,2'-dimetylaminoazobenzen được tạo ra trong ví dụ 1 cho thấy phản ứng gây đột biến mạnh trong "thử nghiệm Ames". Mặt khác, dẫn xuất 2,2'-dimetylaminoazobenzen được tạo ra trong ví dụ 2 và dẫn xuất 2-2'-di(1-metyletyl)aminoazobenzen được tạo ra trong ví dụ 6 sử dụng cùng một quy trình được sử dụng trong ví dụ 1 cho thấy không có phản ứng gây đột biến dương tính sử dụng cùng một Thử nghiệm Ames. Để so sánh, chỉ thay đổi một chút hai nhóm  $R_2$  từ methyl thành ethyl hoặc isopropyl loại bỏ hoàn toàn khả năng gây đột biến mạnh trong thuốc nhuộm trong sáng chế '708.

Thuốc nhuộm azo trong sáng chế '708 được tạo cấu hình ở dạng cấu hình "ortho-ortho" (tức là, nhóm  $R_1$  trong công thức I trong sáng chế '708 ở vị trí ortho). Nói chung, người ta mong đợi rằng các thuốc nhuộm diazo có cấu hình "meta-meta" (tức là nhóm R trong công thức I trong sáng chế '708 ở vị trí meta) cũng gây đột biến như đồng đẳng ortho-ortho và/hoặc có giá trị màu thấp hơn so với đồng đẳng ortho-ortho của chúng. Nói cách khác, thuốc nhuộm diazo meta-meta được xem là kém hơn so với đồng đẳng ortho-ortho của chúng. Như vậy, tương đối ít quan tâm đến việc nghiên cứu phát triển chúng. Mặc dù, thuốc nhuộm diazo ortho-ortho trong sáng chế '708 được mô tả trong bằng sáng chế được cấp năm 1997, các tác giả của sáng chế không nhận thấy bất kỳ tìm hiểu nào về thuốc nhuộm diazo meta-meta. Điều này được nghi ngờ là do người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật tin rằng thuốc nhuộm diazo meta-meta có sự thay thế tương tự như thuốc nhuộm diazo ortho-ortho trong sáng chế '708 có tính gây đột biến tương tự, giá trị màu thấp hơn hoặc cả hai.

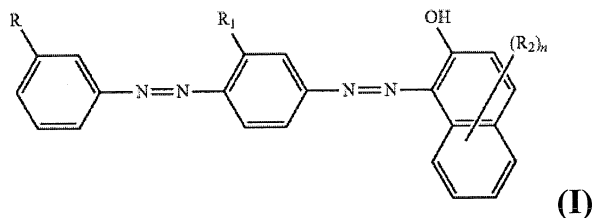
Việc sản xuất thuốc nhuộm và chế phẩm có nguy cơ gây ung thư thấp hơn là mục

tiêu kỳ vọng, mà có thể làm giảm nguy hại về sức khỏe cho người sản xuất thuốc nhuộm và người tiêu dùng. Không giống như Solvent Red 164 gây đột biến đã biết, phân tử và/hoặc hợp phần thuốc nhuộm và/hoặc chế phẩm cho kết quả thử nghiệm Ames âm tính cho thấy rằng thuốc nhuộm không gây đột biến, trong khi có các đặc tính tương đương (độ bền màu, sắc thái, độ ổn định, v.v.) với Solvent Red 164 gây đột biến. Các nguyên liệu ban đầu, các chất trung gian, và sản phẩm phân hủy trong sáng chế, cũng làm giảm nguy cơ gây đột biến.

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Sáng chế đề xuất phân tử và/hoặc thuốc nhuộm và/hoặc chế phẩm thuốc nhuộm khắc phục được những nhược điểm đã đề cập ở trên. Phân tử và/hoặc thuốc nhuộm và/hoặc chế phẩm thuốc nhuộm tạo ra các đặc tính gây đột biến thấp hơn, điều này rất có lợi cho việc nhuộm màu và/hoặc đánh dấu chế phẩm hydrocacbon, đồng thời tăng độ tinh sạch và độ ổn định bảo quản lạnh và nóng. Thuốc nhuộm và/hoặc các hợp chất được mô tả tạo ra đặc tính không ngờ và kinh ngạc. Chế phẩm thuốc nhuộm được bộc lộ ở đây mang lại sự thay thế an toàn hơn cho chế phẩm thuốc nhuộm đã biết.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất chế phẩm và/hoặc hợp phần thuốc nhuộm và/hoặc hợp chất có công thức:



trong đó R là nhóm methyl, nhóm ethyl, hoặc nhóm isopropyl, và R<sub>1</sub> là nhóm methyl, nhóm ethyl, hoặc nhóm isopropyl và R<sub>2</sub> là nhóm alkyl chứa từ 3 đến 12 nguyên tử cacbon và n là số nguyên từ 1 đến 3.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất chế phẩm dùng để đánh dấu chế phẩm hydrocacbon. Chế phẩm có thể bao gồm hợp chất có công thức (I) và dung môi. Hợp chất có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,1% đến 70% trọng lượng. Dung môi có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 30% đến 99,9%.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất chế phẩm hydrocacbon được đánh dấu. Chế phẩm hydrocacbon được đánh dấu bao gồm chất lỏng hydrocacbon và

hợp chất có công thức (I). Hợp chất có công thức (I) có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 ppm đến 500 ppm.

Các khía cạnh đã nêu và các khía cạnh khác và ưu điểm của sáng chế sẽ xuất hiện từ những mô tả sau đây. Trong khi mô tả, tiến hành tham khảo các hình vẽ đính kèm, hình vẽ này tạo thành một phần của sáng chế, và trong đó được thể hiện bằng cách minh họa một phương án được ưu tiên trong sáng chế. Phương án này không nhất thiết phải thể hiện đầy đủ phạm vi của sáng chế, tuy nhiên, tiến hành tham chiếu đến yêu cầu bảo hộ và trong tài liệu này để hiểu phạm vi bảo hộ của sáng chế.

### **Mô tả chi tiết sáng chế**

Trước khi bắt đầu mô tả chi tiết sáng chế, cần phải hiểu rằng, sáng chế này không bị giới hạn bởi các phương án cụ thể đã mô tả. Cũng cần hiểu rằng, các thuật ngữ được sử dụng trong sáng chế chỉ được dùng với mục đích mô tả các phương án cụ thể, và không nhằm mục đích giới hạn sáng chế. Phạm vi của sáng chế sẽ chỉ được giới hạn bởi các yêu cầu bảo kèm theo. Như được sử dụng ở đây, mạo từ dạng số ít "a", "an", và "the" gồm cả dạng số nhiều trừ khi được chỉ rõ trong ngữ cảnh khác.

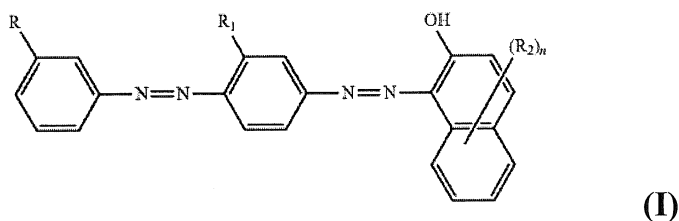
Rõ ràng với những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật rằng những biến đổi bổ sung bên cạnh những cái đã được mô tả có thể không xuất phát từ khái niệm sáng tạo. Theo giải thích tiết lộ này, tất cả các thuật ngữ nên được hiểu theo nghĩa rộng nhất có thể phù hợp với bối cảnh. Những biến thể của thuật ngữ "bao gồm", "có chứa" hoặc "có" nên được hiểu là dùng để chỉ các phần tử, thành phần, hoặc các bước theo cách không riêng biệt, sao cho các phần tử, thành phần hoặc các bước có thể kết hợp với các phần tử, thành phần hoặc các bước khác không được tham chiếu rõ ràng. Các phương án được tham chiếu là "bao gồm", "có chứa" hoặc "có" các thành phần nhất định cũng được dự tính là "gần như chỉ chứa" và "chỉ bao gồm" những thành phần này, trừ khi được chỉ ra khác. Cũng cần hiểu rằng, các khía cạnh của sáng chế được mô tả liên quan đến hệ thống có thể áp dụng được cho các phương pháp và ngược lại, trừ khi được chỉ định rõ ràng khác.

Khoảng giá trị được đề cập đến ở đây bao gồm cả các điểm đầu nút của chúng. Ví dụ, khoảng giá trị từ 1 đến 10 bao gồm cả giá trị 1 và 10. Khi một loạt các khoảng giá trị được đề cập đến dưới dạng giá trị cho trước, sáng chế chỉ để dự tính các khoảng giá trị bao gồm tất cả mọi sự kết hợp của giới hạn trên và dưới của các khoảng giá trị

này. Ví dụ, khoảng giá trị từ 1 đến 10 hoặc từ 2 đến 9 được dự định để bao gồm các khoảng giá trị từ 1 đến 9 và từ 2 đến 10.

Như được sử dụng ở đây, “nhóm alkyl” dùng để chỉ alkan thiếu đi một hydro và bao gồm các nhóm alkyl mạch thẳng và phân nhánh. Để rõ ràng hơn, như được sử dụng ở đây, nhóm propyl bao gồm nhóm isopropyl, trừ khi được chỉ ra rõ ràng khác, và điều tương tự cũng đúng với các nhóm alkyl khác.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất chế phẩm và/hoặc thành phần thuốc nhuộm và/hoặc hợp chất có công thức:



trong đó R là nhóm methyl, nhóm ethyl, hoặc nhóm isopropyl,  $R_1$  là nhóm methyl, nhóm ethyl, hoặc nhóm isopropyl,  $R_2$  là nhóm alkyl chứa từ 3 đến 12 nguyên tử cacbon, n là số nguyên từ 1 đến 3.

Theo khía cạnh nhất định, R là nhóm methyl và  $R_1$  là nhóm methyl.

Theo một khía cạnh nhất định, R là nhóm ethyl hoặc nhóm isopropyl và  $R_1$  là nhóm ethyl hoặc nhóm isopropyl.

Theo khía cạnh nhất định,  $R_2$  là nhóm heptyl, nhóm octyl hoặc nhóm nonyl.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó R là methyl,  $R_1$  là methyl,  $R_2$  là heptyl, octyl, hoặc nonyl, và n là số nguyên từ 1 đến 3. Theo một khía cạnh, R là methyl,  $R_1$  là methyl,  $R_2$  là heptyl, và n bằng 1. Theo một khía cạnh, R là methyl,  $R_1$  là methyl,  $R_2$  là octyl, và n bằng 1. Theo một khía cạnh, R là methyl,  $R_1$  là methyl,  $R_2$  là nonyl, và n bằng 1. Cần phải hiểu rằng tính không gây đột biến của khía cạnh này là vô cùng bất ngờ, vì thuốc nhuộm ortho-ortho được thể bằng methyl-methyl từ sáng chế '708 thể hiện phản ứng gây đột biến mạnh.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) trong đó R là ethyl hoặc isopropyl,  $R_1$  là ethyl hoặc isopropyl,  $R_2$  là heptyl, octyl, hoặc nonyl, và n là số nguyên từ 1 đến 3.

Các thuốc nhuộm bậc lộ hiện đang được điều chế để tạo ra độ hấp thụ cực đại tại 520 đến 540 nm của ít nhất 0,5 đơn vị hấp thụ, ít nhất 0,55 đơn vị hấp thụ, ít nhất 0,6 đơn vị hấp thụ, ít nhất 0,608 đơn vị hấp thụ khi được đo tại nồng độ 40 mg/l trong xylen trên 1cm chiều dài. Đơn vị hấp thụ được đo bằng công thức sau:  $A = \log_{10} I_i/I_t$ , trong đó A là độ hấp thụ,  $I_i$  là cường độ của chùm tia sáng, và  $I_t$  là cường độ của tia truyền.

Liên quan đến độ tinh sạch, nồng độ xylen không hòa tan là tương đương, hoặc cao hơn so với các hợp chất đã biết.

Các thuốc nhuộm theo sáng chế có thể được điều chế dưới dạng chất lỏng hoặc dạng rắn (nhựa đường hoặc bột khô). Do mong muốn của người dùng sản phẩm để thuận tiện và dễ dàng buôn bán, dạng chất lỏng cô đặc thường được ưu tiên hơn, đặc biệt là tại Mỹ. Khi sử dụng dạng chất lỏng cô đặc, hợp phần thuốc nhuộm thường chiếm khoảng 30-70% chất lỏng cô đặc. Tuy nhiên, các mức độ pha loãng khác, có thể được sử dụng, như được mô tả bên dưới. Phần còn lại của chất lỏng cô đặc của thuốc nhuộm sẽ là dung môi chẳng hạn như alkyl benzen, xylen, alkyl naphtalen hoặc các hydrocacbon khác, este, xeton, axit béo chuỗi dài, v.v., phù hợp với mục đích sử dụng cuối cùng, bao gồm những cái được mô tả bên dưới.

Các thuốc nhuộm theo sáng chế có thể được điều chế bằng một vài kỹ thuật tổng hợp quen thuộc với những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Thông thường, để điều chế chất lỏng cô đặc hòa tan dầu mỡ chứa thuốc nhuộm của chủ đơn, có ba bước chính: 1) điều chế “nền màu đỏ” bằng cách bắt cặp các amin thơm để tạo thành hợp chất amino-azo; 2) điều chế alkyl beta-naphtol; và 3) bắt cặp nền màu đỏ được diazo hóa với alkyl beta naphtol để tạo thành thuốc nhuộm azo màu đỏ. Phương pháp sản xuất thuốc nhuộm theo sáng chế đã có trong bằng sáng chế Mỹ số 3,690,809 và 3,704,106, các tài liệu này được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn trong toàn bộ tài liệu này. Có thể sử dụng nhiều quy trình khác nhau, tuy nhiên, tùy thuộc vào khả năng của điều kiện sản xuất sẵn có.

Trong bước điều chế nền màu đỏ để tạo ra hợp chất có công thức I, quá trình diazo hóa 3,3'-dimetyl-, 3,3'-dietyl-, 3,3'-di-(1-metyletyl)-, 3-metyl-3'-etyl- 3-metyl-3'-(1-metyletyl)-, 3-etyl-3'-metyl-, 3-etyl-3'-(1-metyletyl)-, 3-(1-metyletyl)-3'-metyl-, hoặc 3-(1-metyletyl)-3'-etyl-aminoazobenzen, hoặc tổ hợp của chúng, diễn ra sau khi azo của chúng bắt cặp với 2-naphtalenol được thế bằng alkyl. Các dẫn xuất aminoazobenzen có

thể được tổng hợp, ví dụ, bằng phương pháp được mô tả trong bằng sáng chế Mỹ số 2,538,431 hoặc báo cáo FIAT 1313, quyển 2, trang 376, tài liệu này được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn. Các khía cạnh khác của việc điều chế nền màu đỏ được mô tả trong Zollinger, "Color Chemistry" (1987); bằng sáng chế Mỹ số 4,000,985; Groggins, "Unit Processes In Organic Synthesis," (1938); và bằng sáng chế Mỹ số 3.793.305, các tài liệu này được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn.

Các alkyl naphthalenol có thể được tổng hợp bằng phản ứng alkyl hóa Friedel-Crafts cổ điển, ví dụ, theo như các phương pháp được gợi ý trong bằng sáng chế Mỹ số 2,090,938, và bằng sáng chế Anh số 688,000, và đơn sáng chế Mỹ số 468,551 (được nộp ngày 6 tháng 6 năm 1965), toàn bộ tài liệu này cũng được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn. Nhìn chung, chất trung gian alkyl beta-naphthol thô có thể được điều chế bằng cách alkyl hóa beta-naphthol với alken với sự có mặt của các chất xúc tác như kẽm clorua, bo triflorua, hoặc nhựa trao đổi ion thích hợp, tùy ý cùng với axit chẳng hạn như axit clohydric hoặc axit bromhydric. Các alken, được sử dụng để alkyl hóa gốc naphthol bao gồm propen, hepten, octen và nonen, là những hóa chất bán sẵn trên thị trường và thường chỉ chứa hỗn hợp của isome. Ngoài ra, alkyl naphthol có thể được điều chế bằng cách cô đặc alcohol cùng với naphthol với sự có mặt của chất xúc tác Friedel-Crafts.

Nền màu đỏ và alkyl beta naphthol được bắt cặp với nhau bằng các kỹ thuật đã nêu hoặc được đề cập trong các tài liệu tham khảo ở trên. Chúng có thể được bắt cặp với sự có mặt của bazơ hoặc với sự có mặt của axit (thỉnh thoảng còn được gọi là bắt cặp ngược). Bắt cặp ngược được minh họa, ví dụ, trong bằng sáng chế Mỹ số 921,546, 1,947,029 và 2,016,495, các tài liệu này bằng cách viện dẫn trong toàn bộ tài liệu này. Nhìn chung, nếu muốn thu được chế phẩm thuốc nhuộm dạng lỏng tan trong dầu mỡ, có thể tiến hành bắt cặp với sự có mặt của dung môi mong muốn, chẳng hạn như xylen.

Theo phương pháp trong sáng chế, chế phẩm 2-naphthalenol được alkyl hóa, và các dẫn xuất alkyl của nó, chứa không quá 15% trọng lượng và tốt hơn nếu không quá 10% trọng lượng không chứa 2-naphthalenol không được alkyl hóa. Quá trình này tạo ra thuốc nhuộm trong đó ít nhất một nguyên tử hydro trong nhân naphthalen được thế bằng nhóm alkyl. Điều này là rất quan trọng do 2-naphthalenol không được alkyl hóa và các dẫn xuất đồng đẳng gây đột biến yếu. Việc giảm sự có mặt của các đồng đẳng này càng nhiều càng tốt, tuy nhiên, mong muốn giảm hơn nữa nguy cơ gây đột biến do thuốc nhuộm.

Các đặc tính gây đột biến của hóa chất, bao gồm thuốc nhuộm màu đỏ được thảo luận ở trên, được đánh giá bằng cách sử dụng một thử nghiệm thông thường và được công nhận hiện nay được gọi là "Thử nghiệm Ames". Thử nghiệm thường được mô tả trong L. J. Watkins, et al. "Molecular Biology of the Gene," 4th Ed., Vol. I, (1987) p. 355-357; và Ames, B. 1979 "Identifying Environmental Chemicals Causing Mutations and Cancer. "Science 204:587-593, các tài liệu này được kết hợp bằng cách viện dẫn. Kết quả thử nghiệm Ames dương tính chỉ ra rằng hợp chất gây đột biến. Do đó, kết quả thử nghiệm Ames dương tính cũng chỉ ra rằng hợp chất được thử nghiệm có thể có hoạt tính gây ung thư. Do đó, khả năng gây ung thư của hợp chất có thể được dự đoán dựa trên kết quả của thử nghiệm Ames.

Nhìn chung, thử nghiệm Ames là thử nghiệm đảo ngược *S. Typhimurium*. Histidin auxotrophs của *S. Typhimurium* đã được lựa chọn bị kìm hãm tăng trưởng bình thường do đột biến ở gen cần thiết để tạo ra axit amin thiết yếu histidin. Trong môi trường không có nguồn histidin bên ngoài, các tế bào không thể sinh trưởng để tạo thành khuẩn lạc trừ khi xảy ra đột biến ngược lại cho phép sản xuất ra histidin. Khi đột biến đảo ngược tự sinh xảy ra với mỗi chủng, thường xảy ra tại mức độ thấp (ngoại trừ chủng được gọi là TA 100). Tuy nhiên, các tác nhân hóa học có thể tạo ra phản ứng gây đột biến sao cho số lượng khuẩn lạc đột biến ngược lại cao hơn so đáng kể so với mức độ đột biến ngược tự phát. Thử nghiệm bao gồm phân tích số lượng khuẩn lạc đột biến ngược thu được với mỗi chủng khi có mặt và không có mặt các tác nhân hóa học. Do đáp ứng gây đột biến của công thức có thể thay đổi với nồng độ, vật liệu thử nghiệm được định liều hằng ngày trên khoảng nồng độ thích hợp. Theo quy trình được chuẩn hóa, một ma trận đầy đủ các đối chứng âm và dương được bao gồm trong thử nghiệm, và được cấy lên đĩa để nhân lên với tất cả các chủng được thử nghiệm. Aroclor™ 1254 cảm ứng vi lap thể gan của chuột được đưa vào để mô phỏng hoạt động in vivo của các enzym gan trong việc kích hoạt một vài tác nhân gây đột biến thành trạng thái gây đột biến. Quy trình để thực hiện thử nghiệm Ames thiết lập và được thực hiện bởi một số tổ chức kiểm nghiệm chẳng hạn như Eurofins BioPharma Product Testing Munich, GmbH, ở Munich, Germany.

Tiêu chuẩn để xác định xem liệu một mẫu là gây đột biến thường là như sau: 1. Đối với thử nghiệm Ames âm tính (không gây đột biến), tổng lượng đột biến đảo ngược ở một chủng bất kỳ tại nồng độ bất kỳ không được bằng hoặc lớn hơn 3 lần ban đầu, có

hoặc không có hoạt động chuyển hóa. 2. Đối với thử nghiệm Ames dương tính (có gây đột biến), hai hoặc nhiều điểm liên tiếp bắt buộc phải bằng hoặc lớn hơn hai lần ban đầu trong cùng một chủng có hoặc không có hoạt động chuyển hóa. Một dấu hiệu rõ ràng về khả năng gây đột biến thu được khi mẫu vượt quá 3 lần background tại nồng độ bất kỳ. 3. Khi ban đầu đang ở mức thấp (ví dụ, 6 khuẩn lạc hoặc ít hơn) và thu được phản ứng mạnh với đối chứng dương, khi số lượng đột biến đảo ngược nên vượt quá 20 khuẩn lạc/đĩa đối với các mẫu được ghi là gây đột biến.

Sáng chế cũng đề xuất chế phẩm để đánh dấu chất lỏng hydrocacbon. Chế phẩm để đánh dấu chất lỏng hydrocacbon có thể bao gồm hợp chất có công thức (I), bao gồm khía cạnh bất kỳ và tất cả mọi khía cạnh được mô tả ở trên cùng với bất kỳ thay thế nào hoặc tất cả mọi thay thế đã mô tả ở trên, và dung môi. Hợp chất có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,1% đến 70% trọng lượng. Dung môi có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 30% đến 99,9%.

Ngoài hợp chất và dung môi, chế phẩm có thể chứa nhiều chất phụ gia khác mà không xuất phát từ bộ lọc sáng chế. Các chất phụ gia có thể có mặt với lượng ít hơn 10% trọng lượng, ít hơn 5% trọng lượng hoặc ít hơn 1% trọng lượng. Ví dụ về chất phụ gia bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, nhiều loại glycol ete được bán dưới tên nhãn hiệu “Dowanols”, alcol chẳng hạn như benzyl alcohol, chất tăng độ nhớt, chất chống ăn mòn, chất phụ gia hao mòn ổn định, và chất tương tự. Các dung môi thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dung môi thơm, dung môi phân cực aprotic và dung môi tương tự. Các dung môi thơm thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở alkyl benzen, chẳng hạn như toluen hoặc xylen, và alkyl naphthalen; các dầu hydrocacbon chẳng hạn như dầu naphthen, dầu khoáng, và những chất tương tự; alcol thơm, chẳng hạn như benzyl alcohol và phenol glycol ete; và các chất tương tự. Dung môi phân cực aprotic thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở focmamit, N,N-dimetylfocmamit, N,N-dimetyl axetamit, 1-alkyl-2-pyrrolidon, và các chất tương tự. Các dung môi thích hợp khác bao gồm xeton chẳng hạn axeton và etylmetyl xeton, este chẳng hạn như etyl axetat và este của axit béo chuỗi dài chẳng hạn như methyl soyat, este dầu ngô, và các chất tương tự. Ngoài ra, chất lỏng hydrocacbon được liệt kê bên dưới, chính chúng có thể đóng vai trò làm dung môi.

Sáng chế cũng đề xuất chế phẩm hydrocacbon được đánh dấu. Chế phẩm hydrocacbon được đánh dấu có thể bao gồm chất lỏng hydrocacbon và hợp chất có công

thức (I), bao gồm mọi khía cạnh và khía cạnh bất kỳ được mô tả ở trên cùng với sự thay thế bất kỳ hay tất cả sự thay thế đã mô tả ở trên.

Chất lỏng hydrocacbon có thể là nhiên liệu, chẳng hạn như dầu diesel, dầu hỏa, xăng sinh học, dầu hỏa, hoặc tương tự; dẫn xuất dầu thô, dầu thực phẩm chẳng hạn như dầu thực vật, dầu oliu, hoặc tương tự; chế phẩm sáp; hoặc chất lỏng hydrocacbon khác đã biết đối với những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật để đánh dấu với thuốc nhuộm đã mô tả ở trên có thể là mong muốn.

Trong một vài trường hợp, chất lỏng hydrocacon đã đánh dấu có thể bao gồm hợp chất có công thức (I) với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,01 ppm đến 500ppm.

Người ta hình dung rằng chế phẩm thuốc nhuộm có thể chứa hỗn hợp gồm các hợp chất trong sáng chế. Theo một vài phương án, hỗn hợp của các thuốc nhuộm có thể cho phép người dùng điều chỉnh sắc thái màu của chế phẩm thuốc nhuộm. Người ta hình dung rằng thuốc nhuộm theo sáng chế cũng có thể được trộn với các chất màu khác, chẳng hạn như, nhưng không chỉ giới hạn ở, thuốc nhuộm màu vàng và màu xanh. Người ta cũng hình dung rằng hydrocacbon được bộc lộ, có thể là, nhưng không chỉ giới hạn ở, sản phẩm dầu mỏ, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở sáp.

### **Ví dụ thực hiện sáng chế**

#### **Ví dụ 1**

45,0 gam 3,3'-dimethylamino-azobenzen được trộn với 400 gam nước tại nhiệt độ 30°C. 52,0 gam axit clohydric 37%, sau đó được nhỏ từng giọt vào bột nhão azobenzen được trộn kỹ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 30 phút và sau đó làm lạnh xuống 10°C. Thêm từng giọt dung dịch gồm 15,0 gam natri nitrit được hòa tan trong 30,0 gam nước trong khi vẫn giữ nguyên nhiệt độ của hỗn hợp phản ứng là từ 10 đến 15°C, bằng cách thêm đá, nếu cần. Sau một khoảng thời gian khuấy ngắn, thu được một dung dịch màu nâu đậm của diazonium clorua tương ứng. Lượng nitrit dư sau đó được loại bỏ bằng cách thêm axit sulfamic.

Trong một bình riêng biệt, 0,21 mol X-heptyl-2-naphtol được hòa tan trong 175,0 gam toluen và 30 gam natri cacbonat được thêm vào. Bây giờ diazonium clorua được thêm từ từ vào hỗn hợp 2-naphtol được khuấy kỹ. Bắt cặp azo diễn ra nhanh và kết quả là tạo ra dung dịch thuốc nhuộm màu đỏ. Hỗn hợp phản ứng sau đó được đun nóng đến

60°C và được chuyển vào phễu chiết nơi mà các pha được phép tách ra. Pha nước bên dưới được loại bỏ trong khi dung dịch toluen của thuốc nhuộm được chuyển vào bình Erlenmeyer. Điều này cho phép nó làm khô trên natri sulat khan và sau đó được lọc vào bình chưng cất. Bình được làm nóng dần đến nhiệt độ 120°C dưới điều kiện áp suất giảm để loại bỏ tất cả những nguyên liệu dễ bay hơi dưới những điều kiện này. Các mẫu thuốc nhuộm sau khi tiến hành “thử nghiệm Ames” mang kết quả âm tính cho thấy rằng thuốc nhuộm không gây đột biến.

Thuốc nhuộm được tạo ra trong ví dụ 1 được làm thành công thức để tạo ra độ hấp thụ xấp xỉ 0,608 đơn vị hấp thụ tại  $521 \pm 3$  nm khi được đo tại nồng độ 40 mg/l trong xylen đi qua 1 cm chiều rộng. Liên quan đến độ tinh khiết, nồng độ xylen không hòa tan tương đương hoặc, theo một vài phương án, cao hơn các hợp chất đã biết.

#### Ví dụ so sánh 2

Lặp lại quy trình trong ví dụ 1, thay X-octyl-2-naphtol bằng X-heptyl-2-naphtol. Thuốc nhuộm thu được được kỳ vọng là có đặc tính tương tự và được kỳ vọng là thu được kết quả âm tính trong thử nghiệm Ames, chỉ ra rằng thuốc nhuộm không gây đột biến.

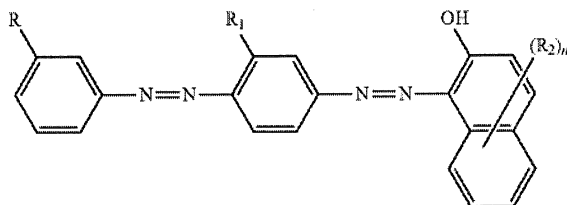
#### Ví dụ so sánh 3

Lặp lại quy trình trong ví dụ 1, thay X-nonyl-2-naphtol bằng X-heptyl-2-naphtol. Thuốc nhuộm thu được được kỳ vọng là có đặc tính tương tự và được kỳ vọng là thu được kết quả âm tính trong thử nghiệm Ames, chỉ ra rằng thuốc nhuộm không gây đột biến.

Sáng chế đã được mô tả theo một hoặc nhiều phương án được ưu tiên, và nên hiểu rằng những cái tương đương, thay thế, biến thể, và sửa đổi, ngoài những cái được nêu rõ ràng, đều có thể và nằm trong phạm vi của sáng chế.

## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất chứa công thức:



trong đó R là nhóm methyl,  $R_1$  là nhóm methyl,  $R_2$  là nhóm alkyl chứa từ 7 đến 12 nguyên tử cacbon,  $R_2$  là nhóm heptyl, nhóm octyl hoặc nhóm nonyl, và n là số nguyên từ 1 đến 3, trong đó hợp chất tạo ra kết quả thử nghiệm Ames âm tính.

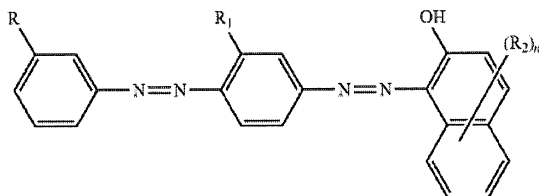
2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó n là 1.

3. Hợp chất theo điểm 1, trong đó  $R_2$  là nhóm heptyl.

4. Hợp chất theo điểm 3, trong đó n là 1.

5. Chế phẩm để đánh dấu chất lỏng hydrocacbon, chế phẩm này bao gồm:

từ 0,1% đến 70% trọng lượng là hợp chất có công thức:



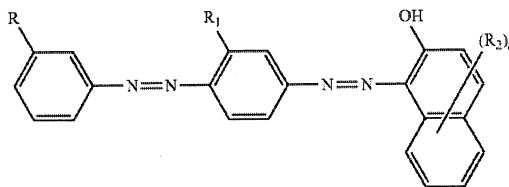
trong đó R là nhóm methyl,  $R_1$  là nhóm methyl,  $R_2$  là nhóm alkyl chứa từ 7 đến 12 nguyên tử cacbon,  $R_2$  là nhóm heptyl mạch thẳng, nhóm octyl mạch thẳng, hoặc nhóm nonyl mạch thẳng, và n là số nguyên từ 1 đến 3, trong đó hợp chất tạo ra kết quả thử nghiệm Ames âm tính; và

từ 30% đến 99,9% trọng lượng là dung môi.

6. Chế phẩm hydrocacbon được đánh dấu bao gồm:

chất lỏng hydrocacbon; và

từ 0,1 ppm đến 500 ppm là hợp chất có công thức:



trong đó R và R<sub>1</sub> là nhóm metyl, R<sub>2</sub> là nhóm alkyl chứa từ 7 đến 12 nguyên tử cacbon, R<sub>2</sub> là nhóm heptyl, nhóm octyl, hoặc nhóm nonyl, và n là số nguyên từ 1 đến 3, trong đó hợp chất tạo ra kết quả thử nghiệm Ames âm tính.

7. Chế phẩm theo điểm 5, trong đó R<sub>2</sub> là nhóm heptyl.

8. Chế phẩm hydrocacbon được đánh dấu theo điểm 6, trong đó R<sub>2</sub> là nhóm heptyl.