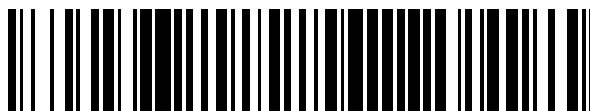


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 416 207**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/00 (2006.01)

C07F 7/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.11.2005** **E 05822787 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.03.2013** **EP 1817425**

54 Título: **Molécula de triclorosilil alquil isocianato y sustrato mineral modificado en la superficie**

30 Prioridad:

29.11.2004 US 631141 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.07.2013

73 Titular/es:

**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (50.0%)
3, rue Michel Ange
75016 Paris, FR y
UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER II (50.0%)**

72 Inventor/es:

**DURAND, JEAN-OLIVIER;
PERZYNA, AURORE;
ARDES-GUISOT, NICOLAS;
RIOU, EMMANUELLE y
GRANIER, MICHEL**

74 Agente/Representante:

DURÁN MOYA, Luis Alfonso

ES 2 416 207 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Molécula de triclorosilil alquil isocianato y sustrato mineral modificado en la superficie

La presente invención se refiere a nuevas moléculas de triclorosilil alquil isocianato, a su utilización para la preparación de un dispositivo que comprende un sustrato mineral con grupos isocianato unidos a su superficie. Dicho dispositivo y su utilización para la inmovilización en su superficie de moléculas que contienen la función nucleófila, preferentemente moléculas que contienen grupos amino, hidroxilo o tiol, son otro objetivo de la presente invención, así como su utilización para la detección de una molécula diana y/o el cribado de la interacción con otras moléculas.

En los últimos años, se ha convertido en una práctica común utilizar agentes de acoplamiento inorgánicos/orgánicos para construir una capa intermedia entre un sustrato inorgánico y una matriz orgánica con el objetivo de preparar un dispositivo que tiene moléculas inmovilizadas en su superficie, tales como ácidos nucleicos o proteínas. Dichos dispositivos son útiles para la detección de moléculas diana en una muestra.

Son conocidos diferentes procedimientos para unir una capa orgánica a la superficie de un sustrato de sílice: organización de la capa por fisisorción, tal como por ejemplo, utilizando el procedimiento muy conocido de Langmuir-Blodgett (G. Nonglaton, I.O. Benítez, I. Guisle, M. Pipelier, J. Léger, D. Dubreuil, C. Tellier, D.R. Talham, B. Bujoli, J. Am. Chem. Soc., 2004, 126, 1497), organización de la capa por quimisorción; unión de un grupo alquilo sobre un sustrato de platino a partir de una función de alcohol o amino o la unión de un alquiltiol en un sustrato de oro o plata, o sobre un sustrato de alúmina a partir de una función de ácido carboxílico; unión de moléculas orgánicas sobre una superficie que tiene grupos hidroxilo libres mediante la construcción de un enlace covalente, a partir de organosilanos, tales como alquilalcoxisilanos o alquilaminosilanes (A. Ulman y otros, Chem. Rev., 1996, 96, 1533-1554). También se conoce cómo hacer reaccionar organosilanos con moléculas que tienen un hidrógeno como grupo reactivo tales como ácidos, alcoholes y tioles, de E. Lukevics y otros, J. Am. Chem. Soc., 1999, 121, 12184. Este proceso, sin embargo, requiere la utilización de un catalizador tal como una base de Lewis, o un disolvente nucleófilo.

También se conoce del documento WO 2003/006676, cómo hacer reaccionar un organotrialcóxisilano que comprende un grupo terminal de isocianato con una superficie que tiene grupos hidroxilo libres. Sin embargo, un trialcóxisilano, cuando se hace reaccionar sobre dicha superficie tiene una reactividad reducida, requiere condiciones de reacción severas. Dicho reactivo también puede conducir a la producción de agregados, que dan resultados no reproducibles en una aplicación de cribado adicional.

Así, se ha demostrado por AFM en O. Melnyk y otros, Bioconjug. Chem., 2004, 15, 317-325, que el aminopropil trietoxisilano, cuando se une sobre una placa de vidrio, produce aproximadamente dos capas de unión.

No hay ninguna información relacionada con la homogeneidad de unión en el documento WO 2003/006676. Sin embargo, es evidente de este documento que la unión es tridimensional. Por otra parte, la catálisis ácida en un disolvente prótico, tal como el procedimiento descrito en este documento, puede dar lugar a una hidrólisis parcial de la función de isocianato y a otras reacciones secundarias.

Es un objetivo de la presente invención resolver los inconvenientes de la técnica anterior y en particular: preparar una molécula que puede reaccionar con una superficie mineral para producir una monocapa bidimensional autoorganizada de tipo isocianato de alquilo que puede crear un enlace covalente cuando se hace reaccionar con un grupo nucleófilo, tal como una función de hidroxilo o tiol, preferentemente con una función de amino.

Se ha demostrado que el grupo isocianato es particularmente importante como agente de acoplamiento en una amplia área de la química, de la ingeniería de materiales a la ciencia biomoléculas (A.R. Katritsky, C.W. Rees, O. Meth-Cohn, Comprehensive Organic Functional Group Transformations 1995, Pergamon). A pesar de la importancia de este grupo, se han descrito muy pocos ejemplos de sustratos de sílice funcionalizados con un isocianato en la superficie, porque este grupo se hidroliza y se condensa fácilmente. Hasta el momento se han descrito dos estrategias.

La primera de ellas se ha descrito en el documento WO 2003/006676 y está asociada con los inconvenientes descritos anteriormente.

La segunda consiste en hacer reaccionar diisocianatos con los grupos hidroxilo en la superficie del portaobjetos de vidrio (Chun Y.S., Ha K., Lee Y.J., Lee J.S., Kim H.S., Park Y.S., Yoon K.B., Chem. Com. 2002, 1846), pero las dos funciones de isocianato pueden ser unidas, y se informó de condiciones severas (tolueno, 110 °C) que limitan la utilización de este procedimiento.

Los triclorosilanos han demostrado superior reactividad y una mejor organización que los trialcóxisilanos (Gauthier S., Aimé J.P., Bouhacian T., Attias A.J., Desbat B., Langmuir, 1996, 12, 5126; Ulman A., Chem. Rev., 1996, 96, 1533) para la preparación de monocapas autoensambladas.

Sin embargo, los triclorosilano alquil isocianatos son casi desconocidos. Sólo tres patentes (US 4097511; US 3511866; DE 1938743) describen la síntesis de triclorosililpropil isocianato, se informa brevemente su utilización en la química de polímeros, y sólo una publicación de los años sesenta (Fan Y.L. y otros, J. Org. Chem., 1973, 38, 2410) se refiere a este compuesto para la preparación de sililalquil peróxido isocianato.

No era predecible a la vista de estos documentos que se podrían utilizar los triclorosilano alquil isocianatos para la unión sobre un sustrato mineral y podrían producir una monocapa autoensamblada, con una estructura bidimensional, evitando al mismo tiempo reacciones secundarias y degradación de la función de isocianato.

Un primer objetivo de la presente invención es una molécula que responde a la fórmula (I):



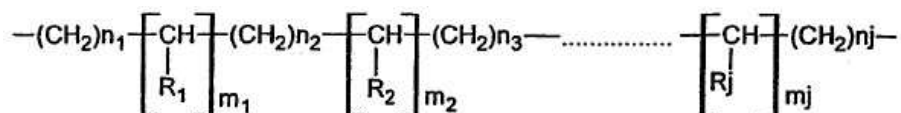
en la que:

X representa la función de isocianato -N=C=O ,

E representa una cadena de alquilo, lineal, ramificado o cíclico, que comprende de 4 a 30 átomos de carbono y en la que X y SiCl_3 están separados por una cadena, como mínimo, de 4, y preferentemente de 10, átomos de carbono.

Esta definición pretende abarcar:

- cadenas de n-alquilo del tipo $\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-}$ en la que $30 \geq n \geq 4$,
- cadenas ramificadas o cíclicas del tipo:



en la que:

- j representa un número entero seleccionado del grupo que comprende 1 ... 50;
- $n_1, n_2, \dots, n_j$ representan independientemente un número entero seleccionado del grupo que comprende de 0 a 50;
- $m_1, \dots, m_j$ son números enteros seleccionados independientemente de 0, 1;
- $\text{R}_1, \dots, \text{R}_j$ representan independientemente un grupo alquilo $\text{C}_1\text{-C}_3$, y dos grupos R_i consecutivos pueden formar juntos un cicloalquilo;

$$-\sum_{i=1}^j n_i + \sum_{i=1}^j m_i \geq 4, \text{ preferentemente } \sum_{i=1}^j n_i + \sum_{i=1}^j m_i \geq 8.$$

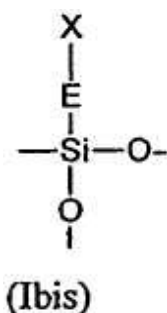
Además, esta cadena E de alquilo puede comprender una función de puente seleccionada del grupo que comprende: -O- , -S- , -NH- , -COO- , arilo.

Según una realización preferente de la presente invención, E es una cadena de n-alquilo del tipo $\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-}$ en la que $30 \geq n \geq 4$.

Preferentemente, $30 \geq n \geq 8$. Aún más preferentemente, $25 \geq n \geq 10$.

El organotriclorosilano de fórmula (I) se puede preparar según el siguiente procedimiento: se hace reaccionar triclorosilano con un 1-alquénil isocianato en presencia de un catalizador organometálico, tales como Rh, Pd, Pt, catalizador de Karstedt, catalizador de Speier. Dicha reacción se muestra en detalle en la parte experimental. Con el catalizador de Karstedt se obtienen los mejores resultados y es el catalizador preferente para llevar a cabo esta reacción. El producto resultante (I) es estable durante meses en atmósfera inerte y es fácil de manipular.

En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de un dispositivo que comprende un soporte mineral (MS) y unido al mismo una monocapa autoensamblada (SAM) de moléculas de la fórmula (Ibis):



en la que:

- 5 X y E tienen la misma definición que en (I), y en la que X y Si están separados por una cadena, como mínimo, de 4 átomos de carbono.

Dicho procedimiento se lleva a cabo preferentemente de la siguiente manera:

- 10 Se hace reaccionar un sustrato mineral que comprende funciones de hidroxilo en su superficie, preferentemente funciones silanol, con una molécula de fórmula (I) en un disolvente aprótico, preferentemente en presencia de una base de Lewis.

- 15 Entre los disolventes apróticos que se pueden utilizar en el procedimiento de la presente invención se pueden encontrar: tetracloruro de carbono, tricloroetileno, tolueno y otros disolventes débilmente higroscópicos. Se pueden utilizar trietilamina o diisopropiletilamina como una base de Lewis para esta reacción.

- 20 Como un sustrato mineral que comprende funciones de hidroxilo, y preferentemente de silanol, en su superficie se puede utilizar: silicio de tipo oblea cubierto por una capa de sílice o un trozo de vidrio. Otros tipos de sustratos son superficies con silicona, superficies de germanio, mica, guías de onda, nylon y superficies de cristal de dióxido de silicio. Un sustrato de silicio de tipo oblea se puede obtener según varios procedimientos:

- 25 Un primer procedimiento comprende la eliminación de la capa de sílice nativa mediante inmersión del sustrato de silicio en una solución acuosa de HF con una concentración de HF, como mínimo, del 10%, a la vez que se somete a tratamiento por ultrasonidos, lavar con agua seguido de tratamiento con ozono bajo UV. Dicho tratamiento preferente se describe en J.R. Vig, J. Vac. Sci. Technol., 1985, 3, 1027-1034.

- 30 Otro procedimiento comprende someter el sustrato de silicio a un flujo de oxígeno a una temperatura elevada tal como, por ejemplo, 1 150 °C, tal como se describe por D.L. Angst, Langmuir, 1991, 7, 2236-2242.

- 35 Un tercer procedimiento comprende someter el sustrato de silicio a una oxidación química básica: después de limpiar la superficie del sustrato con un disolvente y con aplicación de ultrasonido, el sustrato se deja en una mezcla de H₂O, NH₄OH, H₂O₂: 5/1/1, a continuación, se lava con agua desionizada, se seca y se rehidrata, tal como se describe en LeGrange J.D. y otros, Langmuir, 1993, 9, 1749-1753.

- Según otro procedimiento, el sustrato de silicio se somete a una oxidación química ácida: el sustrato se lava con una solución básica, a continuación se sumerge en una mezcla ácida tal como H₂SO₄/H₂O₂, tal como se da a conocer en A.K. Kakka y otros, Langmuir, 1998, 14, 6941-6947.

- 40 Los mismos tratamientos se pueden aplicar al sustrato de vidrio cuando se utiliza dicho sustrato. Una oxidación química ácida es el tratamiento preferente a ser aplicado a un sustrato de vidrio.

- 45 Cualquier tipo de superficie de sílice se puede utilizar como sustrato, incluyendo las placas o partículas de vidrio, siempre que su superficie esté cubierta por una capa de sílice que se ha depositado mediante cualquier tratamiento adecuado. En el caso de partículas de sílice, se puede hacer referencia, por ejemplo, al procedimiento descrito en: B.L. Cushing, V.L. Koleshnichenko, C.J. O'Connor, Chem. Rev., 2004, 104, 3893.

La reacción de unión en sí se lleva a cabo en las siguientes condiciones:

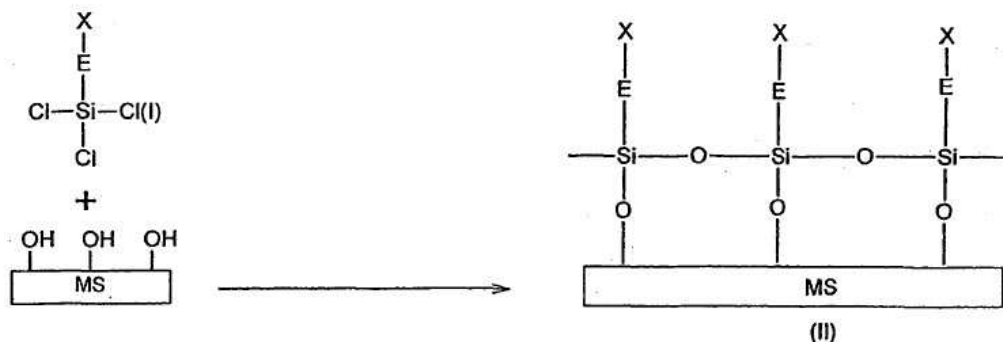
- 50 La solución de organotriclorosilano (I) se pone en contacto con el sustrato mineral. El organotriclorosilano se solubiliza en un disolvente aprótico con una concentración preferentemente comprendida entre 10⁻³ y 10⁻¹ mol/l. Son preferentes soluciones con una concentración comprendida entre 0,5.10⁻² mol/l y 5.10⁻² mol/l.

- 55 La utilización de una amina secundaria o terciaria, tal como preferentemente diisopropiletilamina (DIEA), en una cantidad de 10 equivalentes molares con respecto a la cantidad de organotriclorosilano (I) evita reacciones secundarias. En un procedimiento preferente, el sustrato se sumerge durante un periodo de tiempo de 15 minutos a

3 horas en la solución de organotriclorosilano que comprende DIEA, preferentemente de 30 minutos a 2 horas.

Durante la reacción de unión, la solución de organotriclorosilano debe mantenerse bajo condiciones de temperatura controlada. La temperatura adecuada depende del número de átomos de carbono de la molécula (I). Por ejemplo, si E es $C_{18}H_{36}$ la temperatura debe mantenerse por debajo de 30 °C y si E es $C_{12}H_{24}$ la temperatura debe mantenerse por debajo de 10 °C. Se dan indicaciones para seleccionar la mejor temperatura adecuada en Brzoska y otros, Langmuir, 1994, 10, 4367.

Preferentemente, la unión debe realizarse en atmósfera inerte. La reacción de un organotriclorosilano de fórmula (I) con un sustrato mineral que comprende funciones de hidroxilo en su superficie puede ser descrita mediante el esquema 1 a continuación:



Esquema 1

en el que X y E responden a la definición que se ha dado anteriormente y MS representa un sustrato mineral tal como se ha descrito anteriormente.

La monocapa bidimensional que une un alquilsilano con funciones de isocianato sobre un sustrato mineral es nueva. En consecuencia, el sustrato unido a la monocapa autoensamblada que responde a la fórmula (II) es otro objetivo de la presente invención. La formación de la SAM en la superficie de placas de vidrio o de obleas de silicio oxidadas se demuestra sobre la base de los métodos de análisis de superficie, tales como experimentos de ángulo de contacto, Microscopía de Fuerza Atómica (AFM), elipsometría, Espectroscopía Infrarroja Transformada de Fourier de Reflexión Total Atenuada (FTIR ATR). Las características y los parámetros de estas mediciones para una cobertura de monocapa, en dependencia del silano y de la superficie, están bien definidos en la literatura, tales como Ulman A. "Una introducción a las películas orgánicas ultrafinas de Langmuir-Blodgett a Autoensamblaje", Academic Press, Londres, 1991; o Ulman A., Chem. Rev., 1996, 96, 1533.

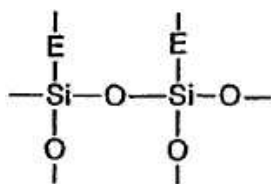
En relación a los soportes de partículas de sílice, la existencia de una monocapa se demuestra sobre la base de métodos de análisis del estado sólido tales como experimentos de microanálisis, BET, RMN de estado sólido y FTIR.

El procedimiento descrito anteriormente es reproducible.

Preferentemente, se observa que la rugosidad es inferior o igual a 0,5 nm, incluso más preferentemente inferior o igual a 0,3 nm, y ventajosamente inferior o igual a 0,2 nm.

Con respecto a los procedimientos de la técnica anterior que describen la preparación de sustratos minerales unidos mediante un organosilano que comprende isocianato, el procedimiento de la presente invención tiene las siguientes ventajas: la unión es bidimensional: se crea un enlace Si-O-Si grupos silano vecinos; se evita la formación de agregados, no es necesario un catalizador.

El sustrato de fórmula (II) tiene funciones O=C=N unidas al sustrato mineral (MS) mediante la intermediación de enlaces



Las funciones O=C=N se distribuyen uniformemente sobre la superficie del sustrato y son igualmente accesibles.

Otro objetivo de la presente invención es la utilización de un sustrato de fórmula (II) para la unión adicional de una molécula que comprende una función de nucleófilo, tal como una función de amina o de tiol o de hidroxilo.

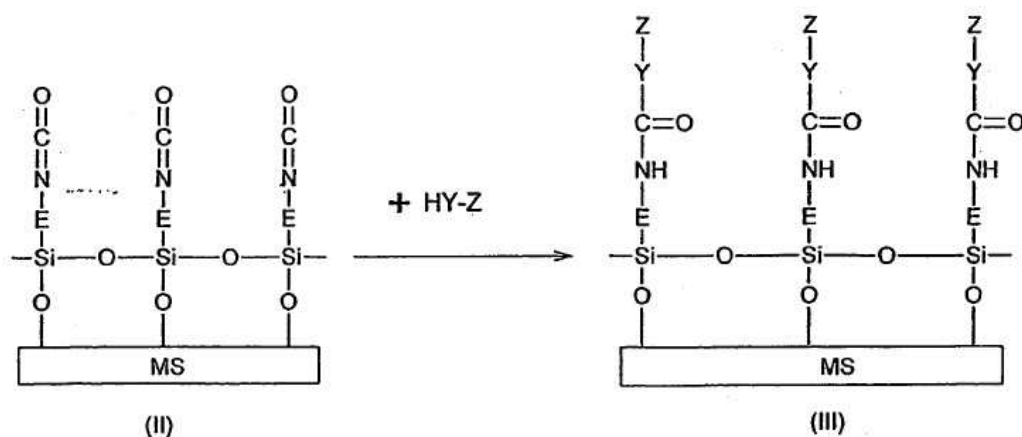
- 5 Dicha unión adicional se hace funcionar poniendo en contacto el sustrato unido (II) con una solución de una molécula de fórmula HY-Z (III) en un disolvente, en la que HY es una función que es reactiva con funciones de isocianato y Z no lo es.

10 Por ejemplo HY se puede seleccionar entre una función de amino $-NH_2$, una función de tiol $-SH$, una función de hidroxilo $-OH$. Z puede ser cualquier grupo químico seleccionado de tal manera que confiera al sustrato sobre el que se une las propiedades físico-químicas que se desean obtener. Por ejemplo, Z puede ser un grupo aromático con una selección de sustituyentes, una cadena alifática, sustituida o no. Z puede tener funciones reactivas que están protegidas por un grupo protector lábil para su posterior desenmascaramiento.

15 Por ejemplo, Z puede ser un grupo parabromofenilo, un grupo paratolilo, una cadena de dodecilo, un grupo protector t BOC (terc-butiloxycarbonilo), o un grupo Fmoc (fluorenometiloxycarbonilo). Preferentemente, la unión de Y-Z sobre el sustrato unido (II) se lleva a cabo en un disolvente inerte, tal como, por ejemplo, tricloroetileno o dimetil formamida.

Dicha unión puede ser representada por el esquema 2:

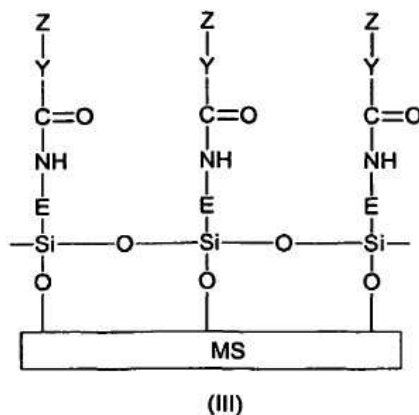
20



Esquema 2

Otros objetivos de la presente invención son los que se definen en las reivindicaciones adjuntas.

- 25 También se da a conocer un sustrato unido a monocapa autoensamblada que responde a la fórmula (III), en la que Y es tal que HY es una función que es reactiva con las funciones de isocianato y Z no lo es:



- 30 Preferentemente, dicha unión se lleva a cabo en una solución de HY-Z en un disolvente apropiado, a una concentración de HY-Z comprendida entre 10^{-2} mol/l y 1 mol/l, preferentemente entre 0,05 y 0,5 mol/l.

La puesta en contacto del sustrato (II) con la solución de HY-Z reactivo tiene lugar entre $\frac{1}{2}$ hora y 8 horas, preferentemente entre 1 hora y 6 horas, aún más preferentemente entre 2 horas y 4 horas.

Dicha reacción se lleva a cabo preferentemente a una temperatura controlada entre 0 y 5 °C y en atmósfera inerte. Dicha reacción tiene la ventaja de que se puede llevar a cabo sin la ayuda de ningún catalizador.

- 5 La unión de una molécula de Y-Z sobre el sustrato de fórmula (II) da un sustrato cubierto con una monocapa que tiene propiedades fisicoquímicas seleccionadas correspondientes a Y-Z. La regularidad de la unión ha sido controlada por AFM, ATR FTIR, método de ángulo de contacto y elipsometría.

Después de la unión de la molécula Y-Z a la superficie, el sustrato unido (III) se puede utilizar en ensayos para fines de detección, en los que la molécula Y-Z es una sonda. Ejemplos adecuados de sondas, que no constituyen limitación, incluyen una proteína, un péptido, un ácido nucleico, un aminoácido, un ácido nucleico péptido, un ácido nucleico unido, un trifosfato de nucleósido, un hidrato de carbono, un lípido, una proteína unida a lípidos, un aptámero, un virus, un fragmento de célula o una célula entera. La sonda puede tener uno o más grupos amino tiol o hidroxilo reactivos de forma inherente como parte de su estructura o puede ser derivatizado por cualquier medio adecuado para que incluya uno o más de estos grupos reactivos. En los casos en los que se utilizó un oligonucleótido que contiene amino para preparar un dispositivo utilizando el procedimiento anterior, los oligonucleótidos inmovilizados resultantes se pueden utilizar en reacciones de hibridación con otros ácidos nucleicos. Las sondas de oligonucleótidos inmovilizados de la manera descrita anteriormente retienen la capacidad de reconocer específicamente y de unirse a ADN dianas que tienen secuencias de nucleótidos complementarias.

Las moléculas Y-Z inmovilizadas unidas a la superficie de la sílice pueden incluir un grupo funcional, por ejemplo, un resto de carboxilo. Este grupo funcional se puede utilizar para acoplarse con una segunda molécula o sonda. Por lo tanto, la molécula Y-Z inmovilizada puede actuar como un espaciador o un enlazador para unir una segunda molécula o sonda a la superficie de la sílice. La segunda molécula incluye un segundo grupo funcional, por ejemplo, una función de amino, lo que le permite reaccionar directa o indirectamente con las moléculas inmovilizadas.

En la práctica de la presente invención, cualquier molécula Y-Z deseada se puede utilizar como un enlazador o espaciador, siempre que tenga parte de la funcionalidad que permite que la molécula se una covalentemente a otra molécula, sola o en presencia de uno o más agentes de acoplamiento. Cualquier concentración adecuada de las segundas moléculas se puede utilizar en cualquier disolvente o mezcla de disolvente adecuados tal como se describió anteriormente. Del mismo modo, se puede utilizar cualquier procedimiento adecuado de aplicación de la solución que incluya las segundas moléculas tal como se describió anteriormente.

PARTE EXPERIMENTAL

A - Preparación de 10-isocianatodeciltriclorosilano:

A una solución de 5,10 g de 10-decenilisocianato en 5,60 ml de triclorosilano se añadieron gota a gota, en atmósfera inerte 300 µl de catalizador de Karstedt con agitación. La reacción es exotérmica y la mezcla tomó un color amarillo. Después de 2 horas, se evaporó el exceso de triclorosilano, y el residuo se destiló al vacío.

Se obtuvieron 8,4 g (94% de rendimiento) de 10-isocianatodeciltriclorosilano.

¹H RMN (200 MHz, CDCl₃): 1,34-1,47 (m, 14H); 1,54-1,71- (m, 4H); 3,31 (t, 3J = 6,5 Hz, 2H).
¹³CRMN (50 MHz, CDCl₃): 22,29 (t, 1C, CH₂); 24,70 (t, 1C, CH₂); 26,82 (t, 1C, CH₂); 29,31 (t, 1C, CH₂); 29,36 (t, 1C, CH₂); 29,62 (t, 1C, CH₂); 29,79 (t, 1C, CH₂); 31,70 (t, 1C, CH₂); 32,17 (t, 1C, CH₂); 43,38 (t, 1C, CH₂); 122,36 (s, 1C, N=C=O).
 IR (CH₂Cl₂): 2930 (v CH), 2856 (v CH), 2225 (v N=C=O), 1488, 1466, 1056.
 Masa de alta resolución: (M⁺ HCl)⁺: C₁₁H₂₂ O N Cl₄Si: calc: 352,0275.

B- Sustratos de silicio unidos:

Se preparó un conjunto de sustratos de silicio cubiertos con una capa orgánica mediante tratamiento con isocianatodeciltriclorosilano y unión adicional con varias moléculas orgánicas.

Ejemplo 1 – Unión con p-toluidina:

Sustrato: discos de silicio (1, 0, 0) cortados para obtener placas rectangulares de dimensión 1x2 cm².

Proceso: en una primera etapa cada placa se sumergió en una solución de HF concentrado durante unos pocos segundos, hasta que la superficie se volvió hidrófoba. A continuación, cada placa se enjuagó con agua ultrapura y se trató con ozono bajo UV.

Cada placa se introdujo en un tubo de Schlenk que comprende 20 ml de una solución de isocianato deciltriclorosilano 10⁻² M y de diisopropiletilamina 10⁻¹ M en tricloroetileno. El conjunto se mantuvo a 0 °C durante 1 hora en ausencia de agitación en atmósfera de argón.

Después de 1 hora, la solución se eliminó y las placas se lavaron dos veces con tricloroetileno durante 5 minutos a una temperatura de 0 °C en atmósfera de argón. A continuación, se añadió en el tubo una solución 10^{-1} M de p-toluidina en tricloroetileno que comprendía 0,1 ml de etanol. La placa permaneció allí durante 3 horas a una temperatura de 0 °C en la ausencia de agitación, en atmósfera de argón.

Después de 3 horas, las placas se retiraron del tubo, se lavó con tricloroetileno, a continuación con etanol y además con cloroformo, cada lavado se realizó con tratamiento con ultrasonidos durante aproximadamente 5 minutos. Las placas obtenidas de este modo se pueden mantener en una atmósfera ambiental sin ningún tipo de degradación.

El ángulo de contacto en la superficie de las placas, medido por el procedimiento de la gota en equilibrio es de $83 \pm 1^\circ$, lo que demuestra que la superficie es homogénea e hidrófoba.

Una espectroscopia infrarroja ATR muestra una banda de vibración a $2\,273\text{ cm}^{-1}$, característica de la función isocianato. Esta señal desaparece 30 minutos después de la introducción de p-toluidina. Durante la unión de clorosilano, se pueden observar vibraciones que son características de la cadena alifática:

	OCN-C ₁₀ H ₂₀ -SiCl ₃ unido	OCN-C ₁₀ H ₂₀ -SiCl ₃ en solución
$\nu_{\text{as}} \text{CH}_2$	2925 cm^{-1}	2931 cm^{-1}
$\nu_{\text{as}} \text{CH}_2$	2854 cm^{-1}	2858 cm^{-1}

La transferencia de la señal alifática demuestra una unión organizada en la superficie de la placa.

Las imágenes de AFM muestran una superficie homogénea con rugosidad reducida de aproximadamente 0,14 nm.

El grosor de las capas obtenidas mediante el procedimiento de la presente invención se ha determinado por elipsometría mediante la utilización de $n = 1,45$ como índice de refracción. Este grosor es de aproximadamente 2,3 nm.

Ejemplos 2 a 7:

Se repitió el mismo protocolo con otras placas y utilizando la siguiente unión en sustitución de p-toluidina:

- ejemplo 2: p-anisidina,
- ejemplo 3: terc-butilcarbazonato,
- ejemplo 4: Fmoc-hidrazina,
- ejemplo 5: 1-dodecanotiol (el etanol ha sido sustituido por trietilamina),
- ejemplo 6: p-bromotiofenol (se ha utilizado trietilamina en lugar de etanol),
- ejemplo 7: p-metoxifenol

Se realizó el mismo análisis en las placas resultantes. Los resultados correspondientes se recogen en las tablas 1 y 2 a continuación:

Tabla 1

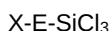
Y-Z	Ángulo de contacto	Rugosidad	Grosor de la capa
Ejemplo 1 p-toluidina	$83^\circ \pm 1$	0,14 nm	2,3 nm
Ejemplo 2 p-anisidina	$77^\circ \pm 2$	0,17 nm	2,3 nm
Ejemplo 3 NH ₂ -NH-BOC	$80^\circ \pm 1$	0,17 nm	1,8 nm
Ejemplo 4 NH ₂ -NH-Fmoc	$83^\circ \pm 1$	0,23 nm	2,2 nm
Ejemplo 5 1-dodecanotiol	$89^\circ \pm 1$	0,16 nm	2,5 nm
Ejemplo 6 p-bromotiofenol	$83^\circ \pm 1$	0,19 nm	2,2 nm
Ejemplo 7 p-metoxifenol	$78^\circ \pm 2$	0,17 nm	2,2 nm

Tabla 2

Y-Z	Tiempo de desaparición de la señal NOC	Característica de la señal de vibración de Y-Z	Característica de la señal de vibración de N-(CO)-Y
Ejemplo 1 p-toluidina	30 min	---	$\nu \text{ N-(CO)-N} = 1\,645\text{ cm}^{-1}$
Ejemplo 2 p-anisidina	15 min	---	$\nu \text{ N-(CO)-N} = 1\,646\text{ cm}^{-1}$
Ejemplo 3 NH ₂ -NH-BOC	10 min	$\nu \text{ N-(CO)-O} = 1\,725\text{ cm}^{-1}$ $\nu \text{ CH}_3 = 2\,962\text{ cm}^{-1}$	$\nu \text{ N-(CO)-N} = 1\,646\text{ cm}^{-1}$
Ejemplo 4 NH ₂ -NH-Fmoc	15 min	---	---
Ejemplo 5 1-dodecanotiol	45 min	$\nu \text{ CH}_3 = 2\,962\text{ cm}^{-1}$ $\nu \text{ CH}_3 = 2\,875\text{ cm}^{-1}$	$\nu \text{ N-(CO)-S} = 1\,650\text{ cm}^{-1}$
Ejemplo 6 p-bromotiofenol	3 min	---	$\nu \text{ N-(CO)-S} = 1\,669\text{ cm}^{-1}$
Ejemplo 7 p-metoxifenol	20 min	$\nu \text{ CH}_3 = 2\,969\text{ cm}^{-1}$	$\nu \text{ N-(CO)-O} = 1\,707\text{ cm}^{-1}$

REIVINDICACIONES

1. Molécula que responde a la fórmula (I):



en la que:

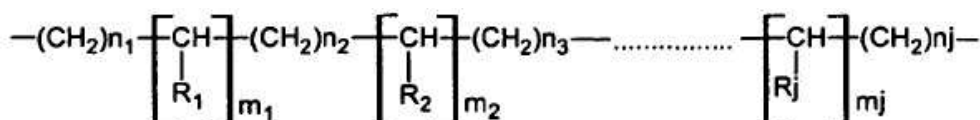
X representa la función de isocianato $-N=C=O$,

E representa una cadena de alquilo, lineal, ramificado o cíclico, que comprende de 4 a 30 átomos de carbono, E puede comprender una función de puente seleccionada del grupo que comprende: $-O-$, $-S-$, $-NH-$, $-COO-$, arilo,

y en la que X y $SiCl_3$ están separados por una cadena, como mínimo, de 4 átomos de carbono.

2. Molécula, según la reivindicación 1, en la que E se selecciona del grupo que comprende:

- cadenas de n-alquilo del tipo $-(CH_2)_n-$ en la que $30 \geq n \geq 4$,
- cadenas ramificadas o cíclicas del tipo:



en la que:

- j representa un número entero seleccionado del grupo que comprende 1 ... 50;
- $n_1, n_2, \dots, n_j$ representan independientemente un número entero seleccionado del grupo que comprende de 0 a 50;
- $m_1, \dots, m_j$ son números enteros seleccionados independientemente de 0, 1;
- $R_1, \dots, R_j$ representan independientemente un grupo alquilo C_1-C_3 , y dos grupos R_i consecutivos pueden formar

juntos un cicloalquilo;

$$-\sum_{i=1}^j n_i + \sum_{i=1}^j m_i \geq 4.$$

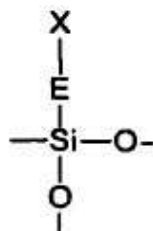
3. Molécula, según la reivindicación 1, en la que:

E es una cadena de n-alquilo del tipo $-(CH_2)_n-$ en la que $30 \geq n \geq 4$.

4. Molécula, según la reivindicación 3, en la que:

$$30 \geq n \geq 8.$$

5. Procedimiento para la preparación de un dispositivo que comprende un soporte mineral (MS) y unido al mismo una monocapa autoensamblada (SAM) de moléculas que responden a la fórmula (Ibis):



(Ibis)

en la que:

X representa la función de isocianato $-N=C=O$,

E representa una cadena de alquilo, lineal, ramificado o cíclico, que comprende de 4 a 30 átomos de carbono, E puede comprender una función de puente seleccionada del grupo que comprende: $-O-$, $-S-$, $-NH-$, $-COO-$, arilo,

y en la que X y Si están separados por una cadena, como mínimo, de 4 átomos de carbono,

comprendiendo dicho procedimiento las etapas que comprenden: hacer reaccionar un sustrato mineral (MS) que comprende funciones de hidroxilo sobre su superficie con una molécula de fórmula (I):



en un disolvente aprótico.

6. Procedimiento, según la reivindicación 5, en el que la reacción se lleva a cabo en presencia de una base de Lewis.

7. Procedimiento, según la reivindicación 6, en el que la base de Lewis se selecciona del grupo que comprende: trietilamina y diisopropiletilamina.

8. Procedimiento, según la reivindicación 5, en el que las funciones de hidroxilo son funciones de silanol.

9. Procedimiento, según la reivindicación 5, en el que el disolvente aprótico se selecciona del grupo que comprende: tetracloruro de carbono, tricloroetileno, tolueno.

10. Procedimiento, según la reivindicación 5, en el que el sustrato mineral que comprende funciones de hidroxilo sobre su superficie se selecciona del grupo que comprende: silicio de tipo oblea cubierto por una capa de sílice o un trozo de vidrio.

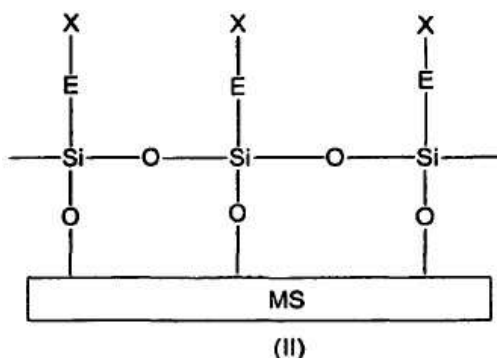
11. Procedimiento, según la reivindicación 10, en el que el sustrato mineral se somete a un tratamiento seleccionado del grupo que comprende:

- sumergir el sustrato en una solución acuosa de HF con una concentración de HF, como mínimo, del 10%, a la vez que se somete a tratamiento por ultrasonidos, lavar con agua seguido de tratamiento con ozono bajo UV;
- someter el sustrato a un flujo de oxígeno a una temperatura elevada;
- someter el sustrato a una oxidación química básica;
- someter el sustrato a una oxidación química ácida.

12. Procedimiento, según la reivindicación 5, en el que el organotriclorosilano se solubiliza en un disolvente aprótico con una concentración comprendida de 10^{-3} a 10^{-1} mol/l.

13. Procedimiento, según la reivindicación 7, en el que el sustrato se sumerge durante un periodo de tiempo de 15 minutos a 3 horas en la solución de organotriclorosilano que comprende DIEA, bajo condiciones de temperatura controlada y en atmósfera inerte.

14. Sustrato unido a monocapa autoensamblada que responde a la fórmula (II):



en la que:

X representa una función de isocianato -N=C=O ,

E representa una cadena de alquilo, lineal, ramificado o cíclico, que comprende de 4 a 30 átomos de carbono y en la que X y Si están separados por una cadena, como mínimo, de 4 átomos de carbono

MS representa un sustrato mineral que comprende funciones de hidroxilo sobre su superficie.

15. Sustrato, según la reivindicación 14, en el que:

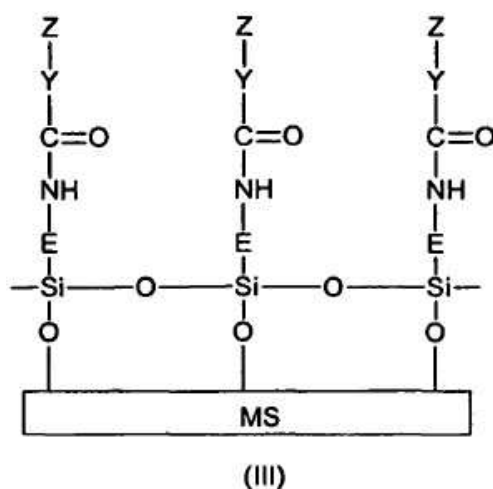
- E es una cadena de n-alquilo del tipo $-(CH_2)_n$, en la que $30 \geq n \geq 8$

- MS se selecciona del grupo que comprende: silicio de tipo oblea cubierto por una capa de sílice o un trozo de vidrio;

5 16. Utilización de un sustrato de fórmula (II), según la reivindicación 14, para la unión adicional de una molécula -Y-Z, en el que dicha unión se hace funcionar poniendo en contacto el sustrato unido (II) con una solución de una molécula de fórmula HY-Z (III) en un disolvente, en la que HY es una función que reacciona con las funciones de isocianato y Z no reacciona.

10 17. Utilización, según la reivindicación 16, en el que dicha unión se lleva a cabo en una solución de HY-Z en un disolvente, a una concentración de HY-Z comprendida entre 10^{-2} mol/l y 1 mol/l, la puesta en contacto del sustrato (II) con la solución de reactivo HY-Z tiene una duración entre ½ hora y 8 horas, dicha reacción se lleva a cabo a una temperatura controlada y en atmósfera inerte.

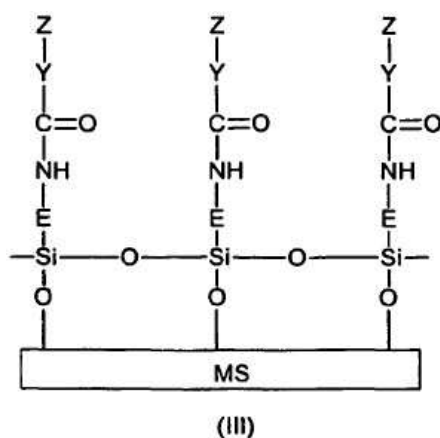
15 18. Sustrato unido a monocapa autoensamblada a que responde a la fórmula (III)



en la que:

- 20
- Y-Z se selecciona del grupo que comprende: p-toluidina, p-anisidina, terc-butilcarbazato, Fmoc-hidracina, 1-dodecanotiol y p-bromotiofenol;
 - MS es un disco de silicio
 - E es n-decilo.

25 19. Utilización de un sustrato unido (III) que responde a la fórmula (III).



30 en ensayos para la detección de una molécula diana y/o la detección de la interacción con otras moléculas.