

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 661 963**

51 Int. Cl.:

**C09B 57/02** (2006.01)

**C09B 69/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.09.2010 PCT/EP2010/064181**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.03.2011 WO11036269**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.09.2010 E 10757211 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.12.2017 EP 2480609**

54 Título: **Polímeros fluorescentes de compuestos de la 7-hidroxycumarina, captadores químicos que los comprenden y compuesto fluorescente polimerizable de la 7-hidroxycumarina**

30 Prioridad:

**25.09.2009 FR 0956656**

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

**04.04.2018**

73 Titular/es:

**COMMISSARIAT À L'ÉNERGIE ATOMIQUE ET  
AUX ÉNERGIES ALTERNATIVES (100.0%)  
25, Rue Leblanc, Bâtiment "Le Ponant D"  
75015 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**BUVAT, PIERRICK;  
MALOSSE, LUCIE;  
SIOVE, ALAIN y  
ADES, DOMINIQUE**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

ES 2 661 963 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**

Polímeros fluorescentes de compuestos de la 7-hidroxicumarina, captadores químicos que los comprenden y compuesto fluorescente polimerizable de la 7-hidroxicumarina

**Ámbito técnico**

La invención concierne a polímeros fluorescentes susceptibles de ser obtenidos mediante la polimerización de compuestos fluorescentes, polimerizables de la 7-hidroxicumarina, y más particularmente del umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato.

De forma más precisa, la invención concierne a polímeros de derivados fluorescentes, particularmente polares e hidrófobos de la 7-hidroxicumarina que comprenden en la posición 4 un sustituyente polimerizable que no modifica, o que no modifica de manera sustancial, las propiedades electrónicas y la fotoluminiscencia del núcleo de cumarina.

La invención trata igualmente de un nuevo compuesto fluorescente polimerizable de la 7-hidroxicumarina y de su preparación.

La invención, además, trata de capturadores que comprenden estos polímeros fluorescentes como material sensible, particularmente para la detección y/o la cuantificación de compuestos nitrados u organofosforados, de explosivos y de compuestos tóxicos.

La invención trata finalmente de la utilización de estos polímeros fluorescentes para la realización de sondas fluorescentes, de marcadores biológicos y de materiales fluorescentes, fotoluminiscentes y/o radioluminiscentes y/o catodoluminiscentes.

El ámbito técnico de la invención puede definirse así, de forma general, como el de los polímeros fluorescentes.

**Estado de la técnica anterior**

Actualmente estamos asistiendo a una demanda creciente de polímeros fluorescentes en unos sectores muy diversos. Así, en el ámbito de la seguridad, el marcaje fluorescente presenta un interés para luchar contra la falsificación [1]. En el ámbito criminalístico, se utilizan en las investigaciones policiales [2]. Los polímeros fluorescentes también se utilizan en los capturadores químicos para la detección de contaminantes o de compuestos tóxicos en el agua o en el aire [3] [4] [5] y [6].

En el ámbito de la obtención de imágenes, particularmente mediante microscopía confocal [7] o microscopía de fluorescencia, los polímeros fluorescentes pueden encontrar igualmente aplicaciones.

En los ámbitos terapéuticos o farmacéuticos, los polímeros fluorescentes pueden ser acoplados a un ligando biológico y utilizados así en ensayos de detección de moléculas diana [8].

En el ámbito de las artes gráficas, pueden ser utilizados en pinturas, en tintas de impresión sobre textil o para el grabado [9].

En la bibliografía se recogen igualmente otras aplicaciones originales de polímeros fluorescentes tales como la descrita por Uchiyama et al. [10] que han desarrollado unos termómetros moleculares fluorescentes acoplado la poli(N-isopropilacrilamida), conocida por experimentar una transición de fase en solución acuosa hacia los 32 °C, con un derivado fluorescente de tipo benzofurazano, cuya fluorescencia depende de la polaridad del disolvente.

Si nos interesamos ahora por las cumarinas, la umbeliferona (o 7-hidroxicumarina) presenta una emisión de fluorescencia azul (300, 305 y 325 nm) cuando es excitada por una radiación situada en el ultravioleta. Un gran número de sus derivados tiene una gran importancia en la física, la química, la biología y la medicina, y se han utilizado para diversas aplicaciones [11].

En particular, las propiedades fotoquímicas y fotofísicas en el estado excitado de la 4-metilumbeliferona (4MU) se conocen desde hace tiempo, y este fluoróforo se ha utilizado como sonda de pH y como colorante láser [12] [13] y [14].

En el ámbito biomédico, la 4MU ha revelado ser igualmente un inhibidor de la síntesis del ácido hialurónico [16] [17] [18], que es uno de los principales componentes de la matriz extracelular que contribuye de forma significativa a la proliferación y a la migración de las células, y que se encuentra así implicado en la progresión de ciertos tumores malignos. Una revisión reciente de Yu et al. [19] describe además el estudio de más de 150 derivados de tipo cumarina y su eficacia como agentes anti-VIH. En lo que respecta a la 4-heptadecil-7-hidroxicumarina, lipófila, se ha utilizado como sonda para estudiar las propiedades de bicapas fosfolipídicas en la interfase de agua/lípido, o para medir diferencias de pH en las interfases membranales [20].

Fáciles de acoplar con otras entidades a través de una química convencional, las cumarinas son atractivas por sus propiedades originales, a saber, particularmente la absorción y la emisión de luz modulables y la fotodimerización reversible. La idea de utilizarlas en polímeros, para sintetizar arquitecturas macromoleculares con unas propiedades específicas, ha aparecido por lo tanto rápidamente [11].

5 Por ejemplo, las propiedades de fotodimerización y de fotoescisión de las cumarinas se han explotado para fabricar polímeros de cristales líquidos y polipéptidos biodegradables. Otras utilidades han tenido por objeto la obtención de polímeros « electroluminiscentes, o incluso de recoger y transferir la energía solar

10 Para obtener polímeros fluorescentes existen varios procedimientos. El más simple consiste en dispersar las moléculas fluorescentes en una matriz de tipo polímero. Campbell y Barlett [7] han sintetizado así esferas de poli(metilmacrilato) (PMMA) monodispersadas mediante la copolimerización de metacrilato de metilo y de ácido metacrílico en presencia de un colorante no polimerizable. Así se han obtenido coloides de PMMA muy fluorescentes.

15 Molecular Probes® [21] comercializa microesferas de poliestireno de diversos tamaños y de colores diferentes dependiendo de la naturaleza del colorante que está dispersado en ellas (FluoSpheres®). Estas bolitas fluorescentes se han utilizado como trazadores de células microinyectables, como marcadores de antígenos, para la citometría de flujo o incluso para estudiar los fenómenos de fagocitosis o cuantificar el flujo sanguíneo en los tejidos. Aunque estas microesferas presentan un gran brillo y no parecen experimentar un fotoblanqueamiento notable, el hecho de que el colorante no esté fijado de una forma covalente a la matriz implica una heterofase y un riesgo de liberación del colorante en el medio biológico. El injerto covalente de un fluoróforo es por lo tanto preferible para evitar estos inconvenientes.

25 Otro procedimiento recogido consiste por lo tanto en « post-funcionalizar » cadenas de polímeros no fluorescentes a partir de sustituyentes que permiten un acoplamiento reactivo con un fluoróforo. Saegusa [22] ha descrito así la síntesis de poli-oxazolininas mediante la polimerización de 2-metil-2-oxazolina con una apertura del ciclo, y después una funcionalización del polímero mediante la hidrólisis de grupo metilo lateral, seguida de un acoplamiento con el ácido 7-cumariloxiacético.

30 Igualmente, el documento de Rhum y Matthews [23] se refiere a la copolimerización de hidroxietilmetacrilato (HEMA) y de metilmacrilato (MMA), seguido del acoplamiento del grupo hidroxilo del HEMA con la 4-carboximetilumbeliferona, proporcionando así un indicador de pH no hidrosoluble.

35 Dicho de otro modo, el documento [23] (US-A-5,019,350) describe polímeros fluorescentes que son útiles como indicadores para la determinación de la concentración de las sustancias disueltas en un medio acuoso.

40 En particular, este documento describe la síntesis de un polímero fluorescente a partir del ácido umbeliferon-4-acético (CMU) y del polímero poli(HEMA-MMA) en el que el HEMA es el metacrilato de hidroxietilo y el MMA es el metacrilato de metilo.

De forma similar, el documento de Bouma y Celebuski [24] concierne a derivados de la 7-hidroxicumarina que tienen unos sustituyentes en la posición 4.

45 Estos sustituyentes comprenden grupos funcionales que permiten acoplarlos a moléculas biológicas, se trata normalmente de sustituyentes con una terminación -OH, -SH o -NH<sub>2</sub>.

50 No obstante, este procedimiento de « post-funcionalización » sólo se aplica a un número restringido de polímeros que tienen los grupos funcionales adecuados, tales como -COOH, -OH, -SH, -NH<sub>2</sub> o -NCO, y no permite el control ni del índice ni de la repartición del injerto de fluoróforo en el polímero.

Debe destacarse que estos grupos funcionales no son grupos que se puedan calificar de grupos polimerizables.

55 Los fluoróforos que pueden ser utilizados directamente como monómero o comonómero presentan la ventaja de resolver los inconvenientes indicados más arriba. Pitschke et al. [25] describen la síntesis de un monómero derivado de la 7-aminocumarina, sustituido en la posición 3 por un grupo polimerizable estirénico (la fórmula de más abajo). Sin embargo, la sustitución del núcleo de cumarina en la posición 3 es conocida por modificar profundamente las propiedades electrónicas del núcleo de cumarina de original [23].

60 Rathbone et al. [26] describen por su parte la utilización del monómero de 7-hidroxi-4-metilcumarina acrilato (la fórmula 1b de más abajo) para la síntesis de polímeros fluorescentes de huella molecular. No obstante, el bloqueo de la función fenol en la posición 7 por parte del grupo acrilato provoca la pérdida de un sitio de interacción por puentes de hidrógeno esencial para numerosas aplicaciones, tales como particularmente las mediciones de pH.



El compuesto según la invención puede definirse como un derivado fluorescente polimerizable, polar, de la 7-hidroxicumarina que comprende en la posición 4 un sustituyente polimerizable que no modifica, o que no modifica de forma sustancial, las propiedades electrónicas y la fotoluminiscencia del núcleo de cumarina de base.

5 El compuesto según la invención puede considerarse en particular como un derivado de la 4-metilumbeliferona, denominada también 7-hidroxi-4-metilcumarina.

10 El compuesto según la invención no presenta los inconvenientes de los fluoróforos a base de cumarina conocidos, descritos más arriba, y aporta una solución a los problemas presentados por estos fluoróforos a base de cumarina conocidos.

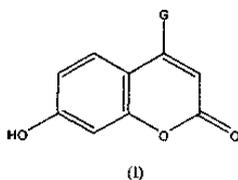
15 Así, en el compuesto según la invención, por un lado, se conservan las propiedades electrónicas y de fotoluminiscencia del fluoróforo de origen, a saber, la 7-hidroxicumarina, gracias a la funcionalización del núcleo de cumarina específicamente en la posición 4, y por otro lado se preserva la accesibilidad de la función fenol de origen en la posición 7.

20 Es extremadamente importante que esta función sea conservada en el compuesto monómero según la invención, ya que es esencial para las mediciones de pH o para generar interacciones por puentes de hidrógeno con otros sustratos o moléculas para aplicaciones en el ámbito de la detección, por ejemplo.

25 En conclusión, según la invención, proporcionamos por primera vez compuestos de cumarina modificados químicamente para que sean directa y fácilmente polimerizables y que, de forma sorprendente, todavía presentan todas las propiedades ventajosas de la cumarina de base, tal como la 7-hidroxicumarina.

30 La invención concierne, además, a un procedimiento de preparación del umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato, en el que se hace reaccionar el ácido umbeliferon-4-acético con un compuesto, que es el metacrilato de 2-hidroxietilo, que comprende por un lado una función hidroxil susceptible de reaccionar con el grupo ácido carboxílico del ácido umbeliferon-4-acético, y por otro lado un grupo químico polimerizable R que es un grupo metacrilato, por medio de lo cual se produce un acoplamiento del grupo ácido carboxílico del ácido umbeliferon-4-acético con dicha función hidroxil para formar el umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato.

35 La invención concierne igualmente a un polímero fluorescente susceptible de ser obtenido mediante la polimerización de un compuesto monómero fluorescente polimerizable de la 7-hidroxicumarina que responde a la siguiente fórmula (I):



40 en la que G es un sustituyente que comprende un grupo químico polimerizable R; y eventualmente al menos otro monómero polimerizable (IV).

45 Por grupo químico polimerizable en el sentido de la invención, se entiende cualquier grupo susceptible de experimentar una reacción de polimerización.

El grupo químico polimerizable R se elige entre los grupos vinílicos, estirénicos, diénicos, acrílicos y metacrílicos.

Entre los compuestos de fórmula (I), el umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato es un compuesto nuevo.

50 Los compuestos de fórmula (I) pueden definirse como derivados fluorescentes polimerizables, polares, de la 7-hidroxicumarina que comprenden en la posición 4 un sustituyente polimerizable que no modifica, o que no modifica de forma sustancial, las propiedades electrónicas y la fotoluminiscencia del núcleo de cumarina de base.

Los compuestos de fórmula (I) pueden considerarse en particular como derivados de la 4-metilumbeliferona, denominada también 7-hidroxi-4-metilcumarina.

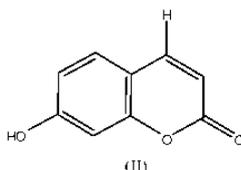
55 En los compuestos de fórmula (I) por un lado se conservan las propiedades electrónicas y de fotoluminiscencia del fluoróforo de origen, a saber, la 7-hidroxicumarina, gracias a la funcionalización del núcleo de cumarina específicamente en la posición 4, y por otro lado se preserva la accesibilidad de la función fenol de origen en la posición 7.

60

Es extremadamente importante que esta función sea conservada en el compuesto monómero de fórmula (I), ya que es esencial para las mediciones de pH o para generar interacciones por puentes de hidrógeno con otros sustratos o moléculas para aplicaciones en el ámbito de la detección, por ejemplo.

5 En conclusión, los compuestos de fórmula (I) son compuestos de cumarina modificados químicamente para que sean directa y fácilmente polimerizables y que, de forma sorprendente, todavía presentan todas las propiedades ventajosas de la cumarina de base, tal como la 7-hidroxycumarina.

10 Los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse mediante un procedimiento en el que se hace reaccionar un compuesto de fórmula (II):



15 en la que H es un sustituyente que comprende una función reactiva A, con un compuesto (III) que comprende por un lado, una función reactiva B susceptible de reaccionar con la función reactiva A, y por otro lado, un grupo químico polimerizable R, por medio de lo cual se produce un acoplamiento de la función reactiva A con la función reactiva B para formar el sustituyente G que comprende el grupo químico polimerizable R.

20 Este procedimiento puede definirse como un procedimiento de síntesis de un monómero polimerizable fluorescente perteneciente a la familia de las cumarinas.

25 De forma más exacta, este procedimiento consiste en acoplar una cumarina (II), cuyo sustituyente del núcleo aromático en la posición 4 comprende una función reactiva A, con un compuesto, que también se puede denominar monómero polimerizable, que por su parte comprende una función reactiva B susceptible de reaccionar con la función reactiva A.

30 El acoplamiento de los dos compuestos, las entidades (II) y (III) por la intermediación de dos funciones compatibles A y B se realiza sin que las propiedades de la cumarina de origen, particularmente las propiedades de emisión de la cumarina de origen, se vean afectadas, y dejando intacto el grupo polimerizable R.

35 Además, en este procedimiento, la importante función -OH en la posición 7 del núcleo de cumarina no se ve afectada por el acoplamiento, mientras que la cumarina está provista en la posición 4 (alejada de la posición 7) de un grupo polimerizable R que no afecta a las propiedades fundamentales del núcleo de cumarina y que permite la polimerización de compuesto fluorescente de una manera fácil.

40 Ventajosamente, la función reactiva A y la función reactiva B pueden elegirse entre los grupos amino, hidrazina, hidrazona, azida, isocianato, isotiocianato, alcoxiamina, aldehído, epoxi, nitrilo, maleimida, halógeno, hidroxilo, tiol, anhídrido, ácido carboxílico, cloruro de ácido, tal como cloruro de acilo.

45 Bien entendido, A y B se eligen generalmente de forma que sean compatibles, es decir, de forma que puedan reaccionar entre sí para formar un enlace covalente.

La función reactiva A puede estar unida directamente al núcleo de cumarina, o bien puede estar unida al núcleo de cumarina por un brazo separador tal como un grupo alquileo, preferiblemente un grupo alquileo de entre 1 y 10 átomos de carbono, más preferiblemente de entre 1 y 4 átomos de carbono, que puede estar eventualmente interrumpido por uno o varios grupo(s) elegido(s) entre -O-; -CO-; -S-; y -N-.

El conjunto de la función reactiva A y del brazo separador forman entonces el sustituyente H del compuesto (II).

50 El grupo químico polimerizable R puede elegirse entre los grupos vinílicos, estirénicos, diénicos, acrílicos y metacrílicos.

55 Ventajosamente, el compuesto (III) puede elegirse entre alquilacrilatos, alquilmetacrilatos, alquillacrilamidas, alquilmetacrilamidas, ésteres vinílicos, estireno y dienos, que comprenden una función reactiva B.

En particular, la una entre la función reactiva A y la función reactiva B puede ser un grupo ácido carboxílico, y la otra entre la función reactiva A y la función reactiva B puede ser una función hidroxilo, y el acoplamiento de la función reactiva A con la función reactiva B puede producirse entonces según una reacción de esterificación.

60 Ventajosamente, el compuesto (II) puede ser el ácido umbeliferon-4-acético, y el compuesto (III) puede ser un compuesto con una función reactiva B, que es una función hidroxilo tal como metacrilato de 2-hidroxietilo, y así se

prepara el nuevo compuesto umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato.

5 El polímero fluorescente según la invención comprende por lo tanto motivos repetitivos procedentes del compuesto monómero fluorescente de fórmula (I) y eventualmente motivos repetitivos procedentes de al menos otro monómero polimerizable (IV).

10 Al igual que en el compuesto de fórmula (I), las propiedades de la cumarina de origen, particularmente las propiedades de emisión de la cumarina de origen, no se ven afectadas y están íntegramente conservadas en el polímero según la invención.

Además, en el polímero según la invención, la importante función -OH en la posición 7 del núcleo de cumarina no se ve afectada por la polimerización y permanece libre, disponible.

15 El polímero según la invención se beneficia por lo tanto de todas las propiedades ventajosas del monómero de fórmula (I) del que procede.

El polímero según la invención puede ser un homopolímero susceptible de ser obtenido mediante la polimerización de un compuesto monómero fluorescente de fórmula (I).

20 Dicho homopolímero no ha sido descrito o sugerido jamás en la técnica anterior.

Preferentemente, este homopolímero es susceptible de ser obtenido mediante la polimerización del umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato.

25 O bien, el polímero según la invención puede ser un copolímero estadístico, alterno o secuencial (en bloque) susceptible de ser obtenido mediante la polimerización de al menos un compuesto monómero fluorescente de fórmula (I) y de al menos otro monómero copolimerizable.

30 Ventajosamente, este otro monómero copolimerizable se elige entre monómeros acrílicos, monómeros estirénicos y monómeros vinílicos.

35 Los copolímeros preferidos son el copolímero, preferiblemente estadístico, susceptible de ser obtenido mediante la copolimerización del umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato, el metacrilato de 2-hidroxiethyl y el divinilbenceno, y el copolímero, preferiblemente estadístico, susceptible de ser obtenido mediante la copolimerización del umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato, la 4-vinilpiridina y el divinilbenceno.

El polímero según la invención puede presentarse ventajosamente en forma de esferas, particularmente de microesferas con un diámetro de entre 0,1 y 500  $\mu\text{m}$ , preferiblemente de entre 0,1 y 200  $\mu\text{m}$ .

40 El polímero según la invención puede presentarse en forma de una película fina depositada sobre al menos una superficie de un sustrato, o de una película gruesa.

La invención trata, además, de un captador que comprende el polímero según la invención como material sensible.

45 La utilización de los polímeros según la invención en dichos capturadores no ha sido descrita o sugerida jamás en la técnica anterior.

50 Ventajosamente, este captador es un captador óptico cuyo funcionamiento se basa en la cuantificación de las variaciones en la intensidad de la fluorescencia emitida por el polímero.

La invención concierne además a la utilización de los capturadores tales como los definidos más arriba para la detección y/o la cuantificación de uno o varios compuestos o moléculas, diana.

55 Preferentemente, este(os) compuesto(s) está(n) en fase de vapor, en forma gaseosa.

Estos compuestos que se van a detectar y/o a cuantificar pueden elegirse particularmente entre los compuestos nitrados y los compuestos organofosforados.

60 Los compuestos nitrados pueden elegirse entre compuestos nitroaromáticos, nitraminas, nitrosaminas y ésteres nítricos.

De forma preferida, el polímero fluorescente según la invención, y por lo tanto, el captador que comprende este polímero, pueden utilizarse para la detección y/o la cuantificación de explosivos o de compuestos, particularmente de gas, tóxicos, en particular neurotóxicos.

65

La invención concierne finalmente a la utilización de los polímeros según la invención para la realización de sondas fluorescentes, para la realización de marcadores biológicos, para la realización de materiales fluorescentes, fotoluminiscentes y/o radioluminiscentes y/o catodoluminiscentes.

- 5 Otras características y ventajas de la invención surgirán mejor tras la lectura de la descripción que sigue, proporcionada a título ilustrativo y no limitante, y que se hace con referencia a los dibujos adjuntos, en los cuales:

**Breve descripción de los dibujos**

- 10 - La figura 1 es un gráfica que muestra los espectros de emisión de soluciones de 4MU (curva A) y de U4AEMA (curva B) a 0,01 g en etanol puro, de una solución de 4MU a 0,01 g/l en etanol puro con la adición de 2 ppm de PMP (curva C) y de una solución de U4AEMA a 0,01 g/l en etanol puro con la adición de 2 ppm de PMP (curva D), para una longitud de onda de excitación  $\lambda_x$  de 370 nm. Los espectros de la 4MU y del U4AEMA han sido normalizados a la misma intensidad.

15 En ordenadas se indica la intensidad de la fluorescencia (en u.a.) y en abscisas se indica la longitud de onda (en nm).

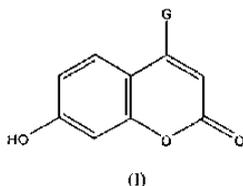
- 20 - La figura 2 es una vista en perspectiva de una cubeta de cuarzo para la cuantificación de la fluorescencia aumentada para una cuantificación en una atmósfera estática a una presión de vapor saturante de nitrobenzeno.

- 25 - La figura 3 es una gráfica que proporciona la variación en la intensidad de la fluorescencia de depósitos de un copolímero fluorescente a base de umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato, de 4-vinilpiridina y de divinilbenceno, en presencia de vapores estáticos de nitrobenzeno (curva A), de etanol (curva B), de tolueno (curva C), de acetona (curvas D1 y D2) y de Metil-Etil-Cetona (MEK) (curva E) (longitud de onda de excitación  $\lambda_x$  = 320 nm, longitud de onda de emisión  $\lambda_M$  = 390 nm, hendidura = 0,1 nm, frecuencia =  $10 \text{ s}^{-1}$ ).

30 En ordenadas se indica la variación en la intensidad de la fluorescencia (en % del valor en  $t = 0$ ) y en abscisas se indica el tiempo (en minutos).

**Exposición detallada de los modos de realización particulares**

35 Los compuestos o monómeros fluorescentes, polimerizables, de la 7-hidroxycumarina que pueden ser utilizados para la preparación de los polímeros según la invención, responden a la siguiente fórmula (I):



40 en la que G es un sustituyente que comprende un grupo químico polimerizable R. R es generalmente un grupo que comprende un doble enlace carbono - carbono insaturado etilénicamente.

Otros grupos químicos polimerizables son los grupos que permiten reacciones de condensación, o los grupos que permiten reacciones de acoplamiento organometálico u oxidante.

45 Entre los grupos R que comprenden un doble enlace carbono - carbono insaturado etilénicamente, se pueden citar los grupos vinílicos, estirénicos, diénicos, acrílicos y metacrílicos.

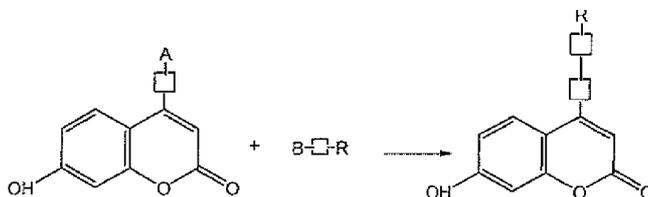
50 El grupo R puede estar unido directamente al núcleo de cumarina en la posición 4 de éste, o bien puede estar unido al núcleo de cumarina por la intermediación de un grupo de enlace tal como un grupo alquileo, que comprende generalmente entre 1 y 10 C, preferiblemente entre 1 y 4 C, que puede estar eventualmente interrumpido por uno o varios grupos elegidos entre -O-; -CO-; -S-; y -N-.

Entre estos compuestos fluorescentes, algunos son nuevos, de los cuales en particular el umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato.

55 La invención concierne por lo tanto también al umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato como compuesto nuevo.

60 El procedimiento de preparación de los compuestos de fórmula (I) consiste en acoplar según el esquema 1 una 7-hidroxycumarina cuyo sustituyente de núcleo aromático en la posición 4 comprende una función reactiva A, con un monómero polimerizable que comprende un grupo polimerizable R y una función reactiva B, susceptible de reaccionar con la función reactiva A.

El acoplamiento de estas dos entidades, a saber, por un lado, la 7-hidroxicumarina y por otro lado el monómero polimerizable, no afecta a las propiedades de emisión de la 7-hidroxicumarina de partida.



5

Esquema 1: principio de síntesis de los derivados de la cumarina polimerizables de fórmula (I).

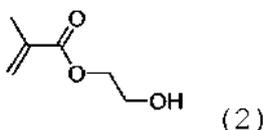
10 La función reactiva A y la función reactiva B pueden elegirse entre los grupos amino, hidrazina, hidrazona, azida, isocianato, isotiocianato, alcoxiamia, aldehído, epoxi, nitrilo, maleimida, halógeno, hidroxil, tior, anhídrido, ácido carboxílico, cloruro de ácido, tal como cloruro de acilo.

En el esquema 2, R representa cualquier tipo de grupo químico polimerizable, tal como el definido más arriba.

15 Cualquier monómero que comprenda al menos una función reactiva B capaz de reaccionar con la función reactiva A y un grupo polimerizable R distinto a dicha función reactiva B puede ser conveniente para llevar a cabo la síntesis de un compuesto polimerizable de fórmula (I) mediante el procedimiento expuesto más arriba.

20 En este monómero polimerizable, la función reactiva B y el grupo polimerizable R pueden estar unidos directamente, pero generalmente están separados por un grupo de unión tal como grupo alqueno, que comprende generalmente entre 1 y 10 C, preferiblemente entre 1 y 4 C, que puede estar eventualmente interrumpido por uno o varios grupos elegidos entre -O-; -CO-; -S-; y -N-.

25 Un monómero particularmente adaptado, cuya estructura se representa a continuación (fórmula (2)), es el metacrilato de 2-hidroxietilo, que posee como función reactiva B, una función alcohol reactiva, y como grupo polimerizable R, un grupo metacrilo, estando R y B unidos por una cadena -(CO)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-OH.

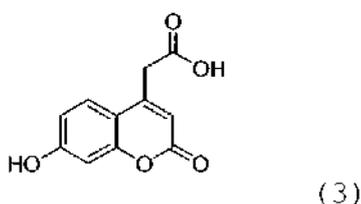


30 Otros ejemplos no limitantes de monómeros apropiados para la síntesis del compuesto monómero fluorescente polimerizable de fórmula (I) son los derivados funcionales de monómeros tales como alquilacrilatos, alquilmetacrilatos, alquilacrilamidas, alquilmetacrilamidas, ésteres vinílicos, estirenos y dienos. Por derivados funcionales, se entiende que estos compuestos, además de un grupo polimerizable tal como un grupo metacrilo, acrilo, vinilo, comprenden una función reactiva B tal como la definida más arriba.

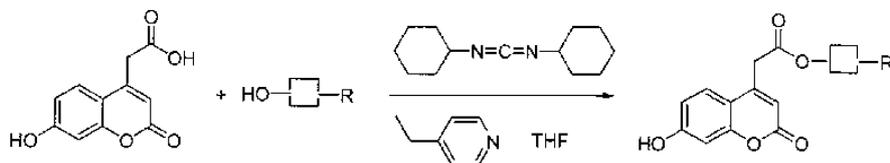
35 El experto en la materia sabrá elegir entre las funciones A y las funciones B aquellas que puedan proporcionar las reacciones de acoplamiento adecuadas, y sabrá determinar fácilmente las condiciones de estas reacciones, particularmente con el fin de que el grupo hidroxil de la posición 7 no se vea afectado.

40 En particular, la reacción de acoplamiento entre la función reactiva A y la función reactiva B puede ser una reacción de esterificación entre un alcohol y un ácido carboxílico, pudiendo ser el ácido carboxílico indistintamente la función reactiva A o la función reactiva B.

45 Según un modo de realización preferido de la invención, se podrá partir por lo tanto del ácido umbeliferon-4-acético, que es un derivado de la 7-hidroxicumarina sustituida en la posición 4 por un grupo ácido acético y que responde a la siguiente fórmula (3):



La preparación del derivado de la 7-hidroxycumarina, fluorescente sustituido en la posición 4 por un grupo polimerizable se lleva a cabo según el esquema de síntesis 2.

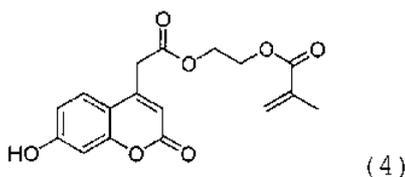


5 Esquema 2: síntesis de un monómero fluorescente derivado de la 7-hidroxycumarina (R: el grupo porta una función polimerizable).

El acoplamiento se realiza según una reacción de esterificación entre el compuesto representado en la figura 4 y un alcohol portador de un grupo polimerizable R en presencia de dicitohexilcarbodiimida y de una base nitrogenada tal como la etil piridina en un disolvente tal como THF.

Así se obtiene un monómero fluorescente polimerizable, derivado de la 7-hidroxycumarina, que porta una función polimerizable R que comprende, por ejemplo, un doble enlace carbono-carbono insaturado etilénicamente.

15 Un compuesto monómero fluorescente polimerizable preferido, nuevo según la invención, cuya síntesis se puede llevar a cabo mediante el procedimiento descrito más arriba, es el umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato de fórmula (4).



20 Este compuesto puede ser preparado mediante una reacción de esterificación del compuesto de fórmula (3) con el metacrilato de 2-hidroxietilo representado por la fórmula (2).

25 Según la invención, los polímeros, los homopolímeros y los copolímeros pueden ser preparados mediante la polimerización de los monómeros fluorescentes polimerizables de fórmula (I) descritos más arriba y cuya síntesis se ha descrito igualmente más arriba.

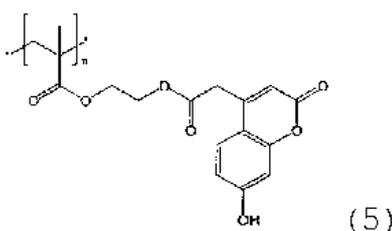
30 El polímero según la invención puede ser un homopolímero, es decir, que se prepara a partir de un único compuesto monómero de fórmula (I). En otros términos, está constituido por un único motivo repetitivo procedente de un compuesto, el monómero de fórmula (I).

35 Dicho homopolímero puede ser preparado mediante cualquier procedimiento de polimerización conocido. Sin embargo, preferiblemente, este homopolímero se prepara mediante un procedimiento de polimerización radicalaria, controlada o no.

Un homopolímero según la invención tiene generalmente un grado de polimerización n de entre 1 y 10000, preferiblemente de entre 5 y 100.

40 En particular, la invención concierne a los homopolímeros susceptibles de ser preparados mediante la polimerización del compuesto de fórmula (6), el umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato.

Estos homopolímeros están representados por la fórmula (5):



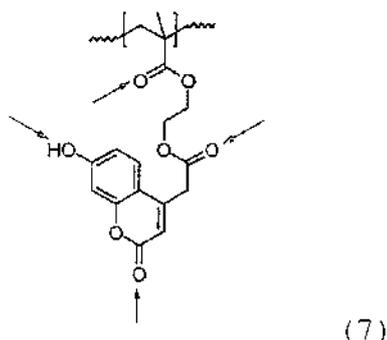
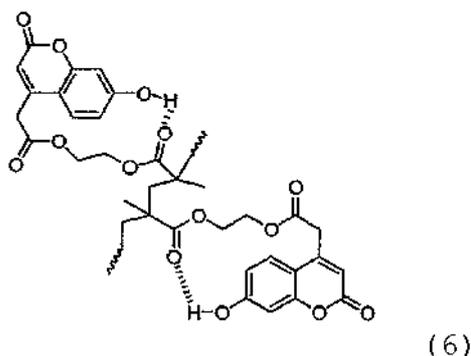
45 en la que n es un número entero entre 1 y 10000, preferiblemente entre 5 y 100.

Se ha puesto en evidencia que el homopolímero de la fórmula (5), preparado a partir del umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato, presenta de forma inesperada unas propiedades singulares.

5 En efecto, se ha constatado que el homopolímero correspondiente a un grado de polimerización de  $n \sim 120$ , presenta una transición en la temperatura de tipo LCST (« Lower Critical Solution Temperature » en inglés) cuando es solubilizado en tetrahidrofurano (THF).

10 Así, a la temperatura ambiente, la solución del polímero en el THF es monofásica. Cuando la solución se calienta, se observa una separación de fases y una mezcla bifásica. El fenómeno es perfectamente reversible y se recupera una solución límpida si se deja que la muestra vuelva a la temperatura ambiente.

15 El grupo lateral de cumarinilo puede formar en efecto un enlace de H «intramotivo» (Fórmula 6) o « intermotivo/intercadena » (Fórmula 7) que puede justificar la existencia de esta transición. Esta propiedad original podría así ser explotada para la fabricación de termómetros fluorescentes, por ejemplo.



20 Por consiguiente, otra innovación interesante relacionada con la síntesis de este tipo de monómero fluorescente es la posibilidad de formar un enlace de hidrógeno intramolecular, que le confiere unas propiedades singulares a los polímeros que se obtienen.

25 En una variante, el polímero según la invención puede ser un copolímero, es decir, que se prepara entonces mediante la polimerización de varios monómeros según la invención que responden todos a la fórmula (I), o mediante la polimerización de uno o varios monómeros de fórmula (I) según la invención y de uno o varios de otros monómeros polimerizables.

30 Este o estos otro(s) monómero(s) copolimerizable(s) puede(n) elegirse entre monómeros (met)acrílicos, monómeros estirénicos y monómeros vinílicos.

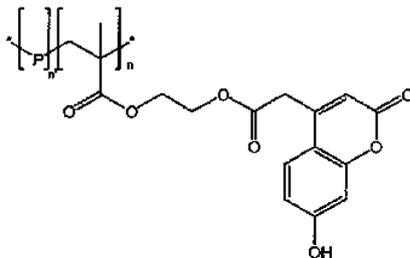
Algunos ejemplos de estos otros monómeros copolimerizables son acrilato de metilo, metacrilato de metilo, cianoetilacrilato, metacrilato de 2-hidroxietilo, divinilbenceno, 4-vinilpiridina.

35 Los copolímeros fluorescentes según la invención pueden ser copolímeros estadísticos, alternos o secuenciales (en bloque) según las proporciones de reactividad de los comonómeros.

40 Los copolímeros preferidos son los copolímeros susceptibles de ser obtenidos mediante la copolimerización del umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato, del metacrilato de 2-hidroxietilo y del divinilbenceno y los copolímeros susceptibles de ser obtenidos mediante la copolimerización del umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato, de la 4-vinilpiridina y del divinilbenceno.

En los copolímeros según la invención preparados a partir de un monómero fluorescente de fórmula (I) según la invención y de un otro monómero polimerizable, el grado de polimerización  $n$  del monómero fluorescente de fórmula (I) según la invención es generalmente de entre 1 y 10000, preferiblemente de entre 5 y 100, y el grado de polimerización  $n'$  del otro monómero es generalmente de entre 1 y 10000, preferiblemente de entre 5 y 100.

La fórmula (8) representa como ejemplo un copolímero fluorescente procedente de la copolimerización de un monómero fluorescente polimerizable de fórmula (I) según la invención, a saber, el umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato y de otro monómero polimerizable P.



(8)

El copolímero representado en esta fórmula (8) en la que  $n$  y  $n'$  son tal como los definidos más arriba, puede ser también un copolímero estadístico, tal como un copolímero alterno, un copolímero secuencial.

Además, los copolímeros según la invención pueden ser hidrosolubles o solubles en disolventes orgánicos, mientras que los homopolímeros generalmente son únicamente organosolubles. Esta solubilidad de los polímeros según la invención ha demostrado ser particularmente interesante para la preparación de películas finas a partir de estos polímeros.

Su solubilidad, particularmente en agua, puede ser fácilmente controlada por el experto en la materia ajustando la naturaleza y la proporción de cada uno de los comonómeros. Así, si se desea que el copolímero sea soluble en agua, el otro monómero polimerizable se elegirá entre los monómeros hidrófilos conocidos por el experto en la materia en una proporción tal que se obtenga la solubilidad buscada.

Los copolímeros según la invención pueden ser preparados mediante cualquier procedimiento de polimerización conocido. Sin embargo, preferiblemente estos copolímeros se preparan mediante un procedimiento de polimerización radicalaria, controlada o no. Como se ha precisado más arriba, según la proporción de reactividad de los comonómeros, los copolímeros obtenidos podrán ser estadísticos, alternos o en bloque, y la solubilidad de los polímeros podrá ser controlada por el experto en la materia eligiendo de forma adecuada la naturaleza y la proporción de cada uno de los comonómeros.

El polímero según la invención puede presentarse en cualquier forma.

El polímero según la invención puede presentarse ventajosamente en forma de esferas, particularmente de microesferas con un diámetro de entre 0,1 y 500  $\mu\text{m}$ , preferiblemente de entre 0,1 y 200  $\mu\text{m}$ .

Los polímeros según la invención pueden presentarse en forma de un monolito, por ejemplo, de un cilindro que presenta preferiblemente una cierta porosidad, de forma que sea accesible la totalidad del polímero a los compuestos que se van a detectar o a cuantificar.

Los polímeros según la invención también pueden presentarse en forma de películas.

Estas películas pueden ser películas finas, generalmente depositadas sobre al menos una superficie de un sustrato. En el caso de un sustrato plano, esta película fina puede recubrir una o ambas caras del sustrato.

Cuando el polímero según la invención se presenta en forma de una película fina, ésta tiene generalmente un espesor de entre 10 Angstroms y 100 micrómetros.

Dicha película puede ser preparada mediante cualquier procedimiento conocido por el experto en la materia para la preparación de una película fina sobre la superficie de un sustrato, por ejemplo:

- mediante una pulverización, un recubrimiento centrífugo (« spin coating ») o una deposición por goteo (« drop coating »);
- mediante un recubrimiento por inmersión (« dip-coating »);
- mediante la técnica de Langmuir-Blodgett;
- mediante un depósito electroquímico;
- mediante una polimerización *in situ*, es decir, directamente sobre la superficie del sustrato.

Los polímeros según la invención presentan generalmente una solubilidad en disolventes orgánicos tales como acetona, cloroformo, THF, DMF, DMSO, NMP, que los hace particularmente aptos para ser utilizados en los procedimientos de preparación de capas finas en solución.

5 El polímero según la invención también puede presentarse en forma de una película gruesa, generalmente autosoportada.

10 Dicha película gruesa tiene generalmente un espesor de desde 100  $\mu\text{m}$  hasta uno o varios mm (por ejemplo, 2, 3, 4, 5 mm) y puede ser preparada mediante pulverización, polimerización *in situ*, dispersión manual (« hand coating »), prensado en caliente, extrusión.

La invención trata, además, de capturadores que comprenden dicho polímero en cualquier forma que sea como material sensible.

15 Estos capturadores que comprenden, por ejemplo, el polímero en forma de una capa fina o bien de microesferas, pueden ser particularmente capturadores ópticos cuyo funcionamiento se basa en la medición de variaciones en la intensidad de la fluorescencia emitida por el polímero.

20 El principio de funcionamiento de los capturadores ópticos a base de fluorescencia ha sido descrito particularmente por B. Valeur en *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*, 2002, Ed. WILEY VCH, New York. Generalmente, estos capturadores comprenden un sustrato de vidrio de calidad óptica en el que una de las caras está recubierta por una película fina del material sensible. La intensidad de la fluorescencia emitida por el material sensible puede ser medida en el conjunto del espectro de emisión de este material. Sin embargo, es preferible realizar las mediciones de la intensidad de la fluorescencia a la longitud de onda de emisión que proporciona los valores de intensidad máximos para la longitud de onda de excitación que da lugar a la mejor proporción de señal/ruido para la adquisición de las intensidades de fluorescencia.

25 Se revelan capturadores que comprenden un polímero tal como el definido previamente, como material sensible, que presentan numerosas ventajas, particularmente:

- 30
- \* una aptitud para detectar específicamente los compuestos nitrados, y en particular los compuestos nitroaromáticos, así como los compuestos organofosforados, con una gran sensibilidad, ya que son capaces de detectar la presencia a unas concentraciones inferiores a ppm (partes por millón) e incluso de décimas de ppm, el doble de la especificidad con respecto a estos compuestos,
  - 35 \* una rapidez de respuesta y una reproductibilidad de esta respuesta,
  - \* una estabilidad del comportamiento con el tiempo y, por lo tanto, una vida útil muy satisfactoria,
  - \* una aptitud para funcionar de forma continua,
  - \* un coste de fabricación compatible con una producción de capturadores en serie, siendo necesaria una muy baja cantidad de polímero (es decir, en la práctica algunos mg) para la fabricación de un capturador, y
  - 40 \* la posibilidad de ser miniaturizados, y por lo tanto, de ser fácilmente transportables y manipulables en cualquier tipo de sitio.

45 Estos capturadores pueden ser utilizados particularmente para la detección y/o la cuantificación de uno o de varios compuestos o moléculas, diana.

Estos compuestos diana pueden presentarse en forma sólida, líquida o gaseosa (vapor), pero preferiblemente estos compuestos están en fase de vapor, en forma gaseosa.

50 En otros términos, en el ámbito de la detección química, los polímeros fluorescentes según la invención se han revelado capaces de señalar la presencia de moléculas diana en fase de vapor. La detección se basa en la medición de las variaciones en la fluorescencia del polímero, por ejemplo, en forma de una película, cuando es expuesto a los vapores de la molécula diana.

55 La calidad, definida por la sensibilidad, la selectividad y la reversibilidad de la detección, está en gran parte condicionada por las propiedades de la capa sensible, y se ha demostrado que los polímeros fluorescentes según la invención poseen unas propiedades de fotoluminiscencia particularmente interesantes para este tipo de aplicaciones con objeto de la detección y/o de la cuantificación de compuestos.

60 Los compuestos que se van a detectar y/o a cuantificar pueden elegirse particularmente entre compuestos nitrados y compuestos organofosforados.

Los compuestos nitrados pueden elegirse entre compuestos nitroaromáticos, nitraminas, nitrosaminas y ésteres nítricos.

65 Como ejemplos de compuestos nitroaromáticos, se pueden mencionar nitrobenceno, dinitrobenceno, trinitrobenceno, nitrotolueno, dinitrotolueno, trinitrotolueno, dinitrofluorobenceno, dinitrotrifluorometoxibenceno, aminodinitrotolueno,

dinitrotrifluorometilbenceno, clordinitrotrifluorometilbenceno, hexanitroestilbeno o incluso trinitrofenol (o ácido pícrico).

5 Como ejemplos de nitraminas, se pueden mencionar ciclotetrametilentanitramina (u octogeno), ciclotrimetilnitrinamina (u hexogeno) y trinitrofenilmetilnitramina (o tetrilo), mientras que las nitrosaminas son, por ejemplo, la nitrosodimetilamina.

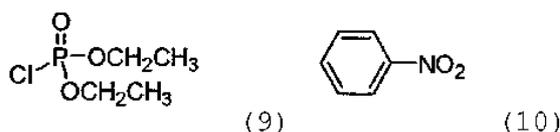
10 Como ejemplo de ésteres nítricos, se pueden mencionar pentrita, dinitrato de etilenglicol, dinitrato de dietilenglicol, nitroglicerina o nitroguanidina.

15 Como ejemplos de compuestos organofosforados, se pueden mencionar el Sarin, el VX, el Tabun, el Soman, el Ciclosarin, el diisopropil fluoro fosfonato (DFP), la Amiton o VG, el Paration, el Dimetoxi metilfosfonato (DMMP).

20 De forma preferida, el polímero fluorescente según la invención, y por lo tanto el captador que comprende este polímero, pueden ser utilizados para la detección y/o la cuantificación de explosivos o de compuestos, particularmente de gas, de tóxicos, en particular neurotóxicos, estando comprendidos los pesticidas organofosforados.

25 Como ejemplo, una película de polímero obtenida mediante la copolimerización del monómero fluorescente de umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato, de 2-hidroxietilmetacrilato y de divinilbenceno (véase el ejemplo 5), presenta de forma inesperada un aumento en su intensidad de fluorescencia a 390 nm en presencia de vapores de dietilclorofosfato (Fórmula 9), un semejante de los gases neurotóxicos organofosforados. Por otro lado, una película de un polímero obtenido mediante la copolimerización del monómero fluorescente de umbelliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato, de 4-vinilpiridina y de divinilbenceno, ha presentado una atenuación de la fluorescencia a 390 nm en presencia de vapores de nitrobenceno (Fórmula 10), un semejante de los explosivos nitroaromáticos (véase el ejemplo 5).

30 Así, los polímeros fluorescentes de esta invención presentan unas propiedades de emisión de fluorescencia explotables para la detección química.



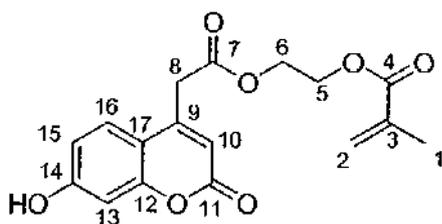
35 Además de su utilización como material sensible en capturadores, los polímeros según la invención pueden ser utilizados para la realización de sondas fluorescentes, para la realización de marcadores biológicos, para la realización de materiales fluorescentes, fotoluminiscentes y/o radioluminiscentes y/o catodoluminiscentes. Dichos materiales encuentran aplicación particularmente en la realización de dispositivos de obtención de imágenes y de láseres orgánicos totalmente sólidos.

40 Así, en un dispositivo de obtención de imágenes, el polímero fluorescente depositado sobre un sustrato capta fotones, electrones, radiaciones... que lo hacen fluorescer. La luz emitida es recuperada por la intermediación de una cámara CCD que permite realizar un análisis espaciotemporal.

45 En un láser orgánico sólido, la fuente fluorescente líquida, tal como la cumarina en solución, es sustituida por el polímero.

La invención se describirá a continuación en referencia a los siguientes ejemplos, proporcionados a título ilustrativo y no limitante.

50 Ejemplo 1: síntesis del monómero de umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato (U4AEMA).



C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>O<sub>7</sub>  
 332,31 g/mol  
 Cristales de color amarillo pálido  
 Punto de fusión  
 P<sub>F</sub> = 132,2 °C determinado mediante (DSC)

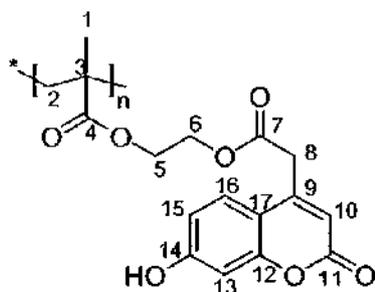
En un matraz se introducen 1 g (4,5 mmol) de ácido umbeliferon-4-acético y 40 ml de tetrahidrofurano anhidro no estabilizado, proporcionando una solución límpida de color amarillo. Después se añaden a la solución 0,48 g (4,5 mmol) de etilpiridina, 2,96 g (22,5 mmol) de 2-hidroxietilmetacrilato y 0,94 g (4,5 mmol) de diciclohexilcarbodiimida previamente disueltos en 35 ml de tetrahidrofurano anhidro no estabilizado, protegidos de la luz. La mezcla se agita a la temperatura ambiente durante 5 horas. Después de eliminar el precipitado de diciclohexilurea mediante una filtración, el disolvente se evapora protegido de la luz. El producto se purifica en una columna de gel de sílice eluida con una mezcla de heptano/acetona (3:1, v/v). Después de la evaporación del disolvente se obtiene el producto puro en forma de un sólido de color amarillo pálido. Después de secar se obtiene un rendimiento del 68 %.

10	<b>RMN <sup>1</sup>H</b> (200 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ (ppm):	1.91 (3H, t, J = 1.5 Hz, -CH <sub>3</sub> : H <sup>1</sup> ), 3.78 (2H, s, CH <sub>2</sub> COO, H <sup>8</sup> ), 4.40 (4H, m, O(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> O: H <sup>5,6</sup> ), 5.59 (1H, m, =CH <sub>2</sub> trans, H <sup>2</sup> ), 6.06 (1H, m, =CH <sub>2</sub> cis, H <sup>2</sup> ), 6.24 (1H, s, H <sup>10</sup> ), 6.83 (1H, dd, J = 2.4/8.6 Hz, H <sup>15</sup> ), 6.89 (1H, d, J = 2.4 Hz, H <sup>13</sup> ), 6.99 (1H, s, OH), 7.46 (1H, d, J = 8.6 Hz, H <sup>16</sup> ).
15	<b>RMN <sup>13</sup>C</b> (200 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ (ppm):	18.19 (C <sup>1</sup> ), 38.06 (C <sup>8</sup> ), 63.35 (C <sup>5,6</sup> ), 103.58 (C <sup>13</sup> ), 112.28 (C <sup>10</sup> ), 113.53 (C <sup>15</sup> ), 125.87 (C <sup>2</sup> ), 126.45 (C <sup>16</sup> ), 136.22 (C <sup>3</sup> ), 148.27 (C <sup>14</sup> ), 154.83 (C <sup>9</sup> ), 155.62 (C <sup>17</sup> ), 160.00 (C <sup>11</sup> ), 161.57 (C <sup>12</sup> ), 167.51 (C <sup>4</sup> ), 168.69 (C <sup>7</sup> ).
20	<b>IR</b> (pastilla de KBr) ν (cm <sup>-1</sup> ):	3210 (m), 2959 (f), 1744 (F), 1704 (F), 1686 (F), 1621 (F), 1609 (F), 1566 (F), 1510 (f), 1453 (f), 1403 (m), 1374 (m), 1341 (m), 1321 (F), 1277 (m), 1235 (f), 1208 (f), 1185 (m), 1157 (F), 1141 (m), 1068 (f), 1052 (f), 1035 (f), 962 (f), 950 (f), 935 (f), 894 (f), 876 (f), 843 (f), 821 (f), 744 (f), 717 (f), 698 (f), 653 (f), 610 (f), 593 (f), 484 (f), 455 (f).
	<b>Fluorescencia</b> (EtOH) λ <sub>máx</sub> (nm)	464 (λ <sub>x</sub> = 370).

Con el fin de verificar que la funcionalización del fluoróforo efectivamente no tiene consecuencias sobre sus propiedades de fluorescencia, hemos comparado los espectros de emisión de soluciones de 4-metilumbeliferona (4MU) y de umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato (U4AEMA) en etanol (0,01 g/l). La figura 1 presenta los resultados obtenidos, así como el efecto de la adición de una solución de un ácido fosfónico (el pinacolil metilfosfonato o PMP, a 2 ppm).

La figura 1 muestra que la funcionalización de la 4MU se traduce en el espectro de emisión en un decalaje batocromo de 10 nm, demostrando así que sus propiedades electrónicas no se han visto modificadas de forma apreciable. El fluoróforo así funcionalizado sigue siendo sensible a la presencia de un ácido en el medio y experimenta una atenuación de la fluorescencia a 460 nm.

**Ejemplo 2:** síntesis del homopolímero de poli(umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato) (poli(U4AEMA))



Sólido de color amarillo  
Temperatura de transición vítrea,  
T<sub>g</sub> = 105 °C

En un matraz tricol se disuelven 300 mg (0,9 mmol) de U4AEMA y 6 mg (~ 2 % en peso) de azobisisobutironitrilo (AIBN) como cebador, en 12 ml de tetrahidrofurano (THF) anhidro no estabilizado, proporcionando una solución límpida de color amarillo. La mezcla se coloca 5 minutos en un baño de ultrasonidos al abrigo de la luz. Al matraz se le acopla a continuación un refrigerante y se coloca en un baño de hielo mientras se efectúa una burbuja de argón durante 10 minutos en la solución. La mezcla de reacción se calienta a 60 °C durante 20 horas con agitación magnética y un ligero barrido de argón.

El polímero formado se precipita en 200 ml de éter. El precipitado se filtra a continuación, y después se lava. El sólido obtenido se recoge en THF, y después se precipita de nuevo en éter. Después de la filtración y el lavado, el sólido se seca hasta una masa constante. El polímero se recupera en forma de un sólido de color amarillo fluorescente con un rendimiento del 52 %.

50	<b>GPC</b> (patrones de PS en DMF)	M <sub>w</sub> = 107300; M <sub>n</sub> = 38900; M <sub>w</sub> /M <sub>n</sub> = 2.8
	<b>RMN <sup>1</sup>H</b> (200 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ (ppm):	0.84 (5H, H <sup>1,2</sup> ), 3.81 (2H, H <sup>8</sup> ), 4.17 (4H, H <sup>5,6</sup> ), 6.11 (1H, H <sup>10</sup> ), 6.61 (2H, H <sup>13,15</sup> ), 7.37 (1H, H <sup>16</sup> ), 10.54 (1H, OH).
55	<b>IR</b> (pastilla de KBr) ν (cm <sup>-1</sup> ):	3362 (m), 2944 (m), 2803 (f), 2584 (f), 1720 (F), 1609 (F), 1566 (m), 1515 (f), 1445 (m), 1394 (m), 1317 (m), 1267 (m), 1237 (m), 1148 (F), 1138 (F), 1053 (m), 998 (m), 947 (f), 847 (m), 817 (f), 742

**Fluorescencia** (película sobre cuarzo) (f), 700 (f), 634 (f), 600 (f), 586 (f).  
 $\lambda_{\text{máx}}$  (nm) 435 ( $\lambda_x = 375$ ).

5 Ejemplo 3: síntesis del copolímero de poli(umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato-co-estireno).

En un matraz tricol perfectamente seco acoplado a un refrigerante se disuelven 5 mg (15  $\mu\text{mol}$ ) de U4AEMA y 20 mg (~ 2 % en peso) de AIBN en 20 ml de tetrahidrofurano (THF) anhidro no estabilizado, introducido bajo argón. Después se añade bajo argón 1 g (9,6 mmol) de estireno. A continuación, el matraz se coloca en un baño de hielo mientras se efectúa una burbuja de argón durante 20 minutos en la solución. La mezcla de reacción, bajo una atmósfera inerte, se calienta a 60 °C durante 40 horas con agitación magnética. El polímero formado se precipita en 200 ml de metanol. El precipitado se filtra a continuación, y después se lava. El sólido obtenido se recoge en THF, después se precipita de nuevo en metanol. Después de la filtración y el lavado, el sólido se seca hasta una masa constante. El polímero se recupera en forma de un sólido de color blanco fluorescente con un rendimiento del 2 %.

15 **GPC** (patrones de PS en THF)  $M_w = 6437$ ;  $M_n = 5028$ ;  $M_w/M_n = 1.28$

20 **IR** (pastilla de KBr)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3433 (f), 3100 (f), 3081 (m), 3060 (m), 3025 (F), 3000 (f), 2922 (F), 2847 (m), 1941 (f), 1869 (f), 1800 (f), 1731 (f), 1600 (m), 1582 (f), 1492 (F), 1452 (F), 1368 (f), 1324 (f), 1260 (f), 1180 (f), 1154 (f), 1066 (m), 1028 (m), 976 (f), 961 (f), 938 (f), 904 (f), 837 (f), 801 (f), 756 (F), 700 (F), 668 (f), **538 (m)**.

25 **Fluorescencia** (película sobre cuarzo) 439 ( $\lambda_x = 375$ ).  
 $\lambda_{\text{máx}}$  (nm)

30 Ejemplo 4: síntesis por precipitación de microesferas fluorescentes mediante la copolimerización del umbeliferon-4-acetato-2-metacrilato, de divinilbenceno y de 2-hidroxietil metacrilato.

En un matraz de un cuello se introduce una mezcla de acetonitrilo/tolueno (3:1, v/v). A continuación, se introducen 2-hidroxietil metacrilato y divinilbenceno en una proporción molar de 1:5 respectivamente y de forma que la mezcla de disolventes represente un porcentaje en volumen del 96,5 %. El monómero fluorescente se añade a razón de 1 mol % con respecto a los otros monómeros. Una vez añadido el cebador (AIBN, 2 % en peso), la mezcla de síntesis se coloca durante 5 minutos en un baño de ultrasonidos. Se opera una burbuja de argón de 10 minutos seguido de un barrido de 5 minutos, mientras que la mezcla se mantiene en un baño de hielo. El matraz se fija a continuación sobre un brazo rotatorio que permite hacer girar el matraz siguiendo un eje a 45 °C aproximadamente, mientras se sumerge en un baño de aceite. Entonces se aplica una rampa de temperatura de forma que se lleve la temperatura del baño de aceite desde 20 hasta 60 °C en un periodo de 2 horas. El medio de reacción se calienta a continuación a 60 °C durante 18 horas con una rotación del matraz a 10 rpm.

40 Las partículas esféricas formadas se recuperan bien mediante una filtración a vacío a través de una membrana millipore de 0,45  $\mu\text{m}$ , o bien mediante una centrifugación a 11000 rpm durante 10 minutos (centrifugadora Sigma 6K15, Fischer Bioblock Scientific).

45 La extracción de los monómeros que no hayan reaccionado se realiza mediante una extracción Soxhlet con la ayuda de una mezcla de metanol/ácido acético (9:1, v/v) durante una noche (con un vaciado del extractor cada 20 minutos aproximadamente). Después los materiales se lavan con metanol hasta alcanzar un pH neutro. Se realiza un último lavado con acetona, antes de secar durante una noche a 40 °C bajo un vacío dinámico.

50 Finalmente se obtiene un polvo de color blanco (rendimiento del 25 %) constituido por partículas de 2  $\mu\text{m}$  de diámetro.

Ejemplo 5:

55 Se sintetizan microesferas fluorescentes siguiendo el protocolo descrito en el ejemplo 4, simplemente sustituyendo el 2-hidroxietilmetacrilato por 4-vinilpiridina.

60 Se realiza un depósito de estas microesferas fluorescentes sobre un adhesivo de doble cara que se coloca sobre un sustrato de cuarzo (2) antes de ser introducido en una cubeta de cuarzo para la fluorescencia (1) que contiene nitrobenzoceno líquido (4), como se esquematiza en la figura 2. El sustrato de cuarzo (2) está soportado por un portamuestras (3). La cubeta cerrada está así a una presión de vapor saturante de nitrobenzoceno (180 ppm).

65 La figura 3 representa la evolución de la intensidad de la fluorescencia de las microesferas con el tiempo, medida a 390 nm para una longitud de onda de excitación de 320 nm, y desde la introducción de la muestra en la cubeta. A continuación, se realiza el mismo experimento con las microesferas fluorescentes en presencia de vapores estáticos de diferentes disolventes volátiles, a saber, etanol, tolueno, acetona y metiletilacetona. Así se constata que, al cabo de una hora, la fluorescencia del polímero se ha extinguido prácticamente en su totalidad en presencia de los

vapores estáticos de nitrobenzeno, mientras que la fluorescencia no varía más que un  $\pm 10\%$  en presencia de vapores de los disolventes orgánicos habituales, cuyas presiones de vapor saturantes son por lo tanto mucho más elevadas. Además, la atenuación de la fluorescencia por los vapores de nitrobenzeno es muy rápida. La señal cae instantáneamente cuando se introduce el depósito en la cubeta, y el 50 % de la fluorescencia inicial se extingue en 5 minutos. Las microesferas fluorescentes descritas son por lo tanto capaces de señalar la presencia de vapores de un compuesto nitroaromático y de servir para aplicaciones de detección química.

## Referencias

- [1] Monfort-Windels, F., *Lumière et matière: des interactions au service de la lutte contre la contre-façon*. L'Actualité Chimique 2007, 308-309, 108-110.
- [2] Théry, E., *La trace mise en lumière dans l'enquête policière*. L'Actualité Chimique 2007, 308-309, 111-112.
- [3] Obert, E.; LeBarny, P. *Polímero fluorescent pour capteur physico-chimique*. Documento FR-A1-2900408, 2006.
- [4] Jenkins, A. L.; Uly, O. M.; Murray, G. M., *Polymer-based lanthanide luminescent sensor for detection of the hydrolysis product of the nerve agent Soman in water*. Anal. Chem. 1999, 71, 373-378.
- [5] Jenkins, A. L.; Yin, R.; Jensen, J. L., *Molecularly imprinted polymer sensors for pesticide and insecticide detection in water*. Analyst 2001, 126, 798-802.
- [6] Hairault, L.; Pasquinet, E.; Montméat, P.; Moreau, J.; Lère-Porte, J.-P.; Wakim, S.; Serein-Spirau, F. *Chemical sensors comprising fluorescent conjugated polymers as sensitive materials, and the use of thereof for the detection or dosage of nitrated compounds*. Solicitud WO-A-2005103653, 2005.
- [7] Campbell, A. I.; Bartlett, P., *Fluorescent Hard-Sphere Polymer Colloids for Confocal Microscopy*. Journal of Colloid and Interface Science 2002, 256, 325-330.
- [8] Charreyre, M.-T.; Mandrand, B.; Martinho, J. M. G.; Relogio, P.; Sequeira, F. J. P. *Polímeros fluorescentes en solution aqueuse et procédé de préparation de polymères fluorescents solubles en solution aqueuse*. Documento FRA1-2887892, 2005.
- [9] Waters, J., F. *Aqueous dispersion of fluorescent pigments*. Solicitud WO-A-1996/031565, 1996.
- [10] Uchiyama, S.; Matsumura, Y.; Silva, A. P. d.; Iwai, K., *Fluorescent molecular thermometers based on polymers showing temperature-induced phase transitions and labeled with polarity-responsive benzofurazans*. Analytical Chemistry 2003, 75, 5926-5935.
- [11] Trenor, S. R.; Schultz, A. R.; Love, B. J.; Long, T. E., *Coumarins in polymers: From light harvesting to photocrosslinkable tissue scaffolds*. Chemical Reviews 2004, 104, (3059-3077).
- [12] Bardez, E.; Boutin, P.; Valeur, B., *Photoinduced biprotonic transfer in 4-methylumbelliferone*. Chemical Physics Letters 1992, 191, 142-148.
- [13] Cohen, B.; Ruppert, D., *Excited state proton-transfer reactions of coumarin 4 in protic solvents*. Journal of Physical Chemistry A 2001, 105, 7157-7164.
- [14] Schulman, S. G.; Rosenberg, L. S., *Tautomerization kinetics of 7-hydroxy-4-methylcoumarin in the lowest excited singlet state*. Journal of Physical Chemistry 1979, 83, 447-451.
- [15] Abdel-Mottaleb, M. S. A.; El-Sayed, B. A.; Abo-Aly, M. M.; El-Kady, M. Y., *Fluorescence properties and excited state interactions of 7-hydroxy-4-methylcoumarin laser dye*. Journal of Photochemistry and Photobiology, A: Chemistry 1989, 46, 379-390.
- [16] Kudo, D.; Kon, A.; Yoshihara, S.; Kakizaki, I.; Sasaki, M.; Endo, M.; Takagaki, K., *Effect of a hyaluronan synthase suppressor, 4-methylumbelliferone, on B16F-10 melanoma cell adhesion and locomotion*. Biochemical and Biophysical Research Communications 2004, 321, 783-787.
- [17] Nakamura, R.; Kuwabara, H.; Yoneda, M.; Yoshihara, S.; Ishikawa, T.; Miura, T.; Nozaka, H.; Nanashima, N.; Sato, T.; Nakamura, T., *Suppression of matrix metalloproteinase-9 by 4-methylumbelliferone*. Cell Biology International 2007, 31, 1022-1026.
- [18] Yoshihara, S.; Kon, A.; Kudo, D.; Nakazawa, H.; Kakizaki, I.; Sasaki, M.; Endo, M.; Takagaki, K., *A hyaluronan synthase suppressor, 4-methylumbelliferone, inhibits liver metastasis of melanoma cells*. FEBS Letters 2005, 579, 2722-2726.
- [19] Donglei Yu, M. S. L. X. S. L. M.-N. K.-H. L., *Recent progress in the development of coumarin derivatives as potent anti-HIV agents*. Medicinal Research Reviews 2003, 23, (3), 322-345.
- [20] Pal, R.; Jr., W. A. P.; Ben-Yashar, V.; Wagner, R. R.; Barenholz, Y., *Characterization of the fluorophore 4-heptadecyl-7-hydroxycoumarin: a -S-; -N- probe for the head-group region of lipid bilayers and biological membranes*. Biochemistry 1985, 24 (3), 573-581.
- [21] *MolecularProbes. FluoSpheres and TransFluoSpheres Microspheres for Tracing*.
- [22] Chujo, Y.; Sada, K.; Saegusa, T., *Polyoxazoline having a coumarin moiety as a pendant group. Synthesis and photogelation*. Macromolecules 1990, 23, (10), 2693-2697.
- [23] Rhum, D.; Matthews, R. S. *Fluorescent polymers*. US-A-5019350, 1991.
- [24] Bouma, S. R.; Celebuski, J. E. *7-Hydroxy coumarins having substitutions in the 4 position*. Documento US-A-

5208350, 1993.

[25] Pitschke, M.; Fels, A.; Schmidt, B.; Heiliger, L.; Kuckert, E.; Riesner, D., Polymeric fluorescent dyes for labeling of proteins and nucleic acids. *Colloid and Polymer Science* 1995, 273, 740-752.

[26] Rathbone, D. L.; Su, D.; Wang, Y.; Billington, D. C., Molecular recognition by fluorescent imprinted polymers. *Tetrahedron Letters* 2000, 41, 123-126.

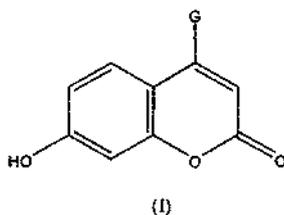
5

## REIVINDICACIONES

1. Compuesto fluorescente polimerizable de la 7-hidroxicumarina que es el umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato.

2. Procedimiento de preparación del compuesto según la reivindicación 1, en el que se hace reaccionar ácido umbeliferon-4-acético con un compuesto, que es metacrilato de 2-hidroxi etilo, que comprende por un lado una función hidroxil susceptible de reaccionar con el grupo ácido carboxílico del ácido umbeliferon-4-acético, y por otro lado un grupo químico polimerizable R que es un grupo metacrilato, por medio de lo cual se produce un acoplamiento del grupo ácido carboxílico del ácido umbeliferon-4-acético con dicha función hidroxil para formar el umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato.

3. Polímero susceptible de ser obtenido mediante la polimerización de un compuesto monómero fluorescente polimerizable de la 7-hidroxicumarina que responde a la siguiente fórmula (I):



en la que G es un sustituyente que comprende un grupo químico polimerizable R elegido entre los grupos vinílicos, estirénicos, diénicos, acrílicos y metacrílicos; y eventualmente al menos otro monómero polimerizable (IV).

4. Polímero según la reivindicación 3, en el que el compuesto de fórmula (I) es el umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato.

5. Polímero según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 4, que es un homopolímero, susceptible de ser obtenido mediante la polimerización de un compuesto monómero fluorescente de fórmula (I).

6. Polímero según la reivindicación 5, que es un homopolímero susceptible de ser obtenido mediante la polimerización del umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato.

7. Polímero según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 4 que es un copolímero estadístico, alterno o secuencial, susceptible de ser obtenido mediante la polimerización de al menos un compuesto monómero fluorescente de fórmula (I) y de al menos otro monómero copolimerizable.

8. Polímero según la reivindicación 7, en el que el otro monómero copolimerizable se elige entre los monómeros acrílicos, los monómeros estirénicos y los monómeros vinílicos.

9. Polímero según la reivindicación 8, que es un copolímero, preferiblemente un copolímero estadístico, susceptible de ser obtenido mediante la copolimerización del umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato, de metacrilato de 2-hidroxi etilo y de divinilbenceno, o un copolímero, preferiblemente un copolímero estadístico, susceptible de ser obtenido mediante la copolimerización del umbeliferon-4-acetato de etil-2-metacrilato, de la 4-vinilpiridina y de divinilbenceno.

10. Polímero según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 9, que se presenta en forma de esferas, particularmente de microesferas con un diámetro de entre 0,1 y 500  $\mu\text{m}$ , preferiblemente de entre 0,1 y 200  $\mu\text{m}$ .

11. Polímero según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 10, que se presenta en forma de una película fina depositada sobre al menos una superficie de un sustrato, o de una película gruesa.

12. Captador que comprende el polímero según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 11 como material sensible.

13. Captador según la reivindicación 12, que es un captador óptico cuyo funcionamiento se basa en la medición de las variaciones en la intensidad de la fluorescencia emitida por el polímero.

14. Utilización del captador según las reivindicaciones 12 o 13 para la detección y/o la cuantificación de uno o de varios compuestos o moléculas, diana.

15. Utilización según la reivindicación 14 en la que dicho(s) compuesto(s) diana está(n) en fase de vapor, en forma gaseosa.

16. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 14 a 15 en la que el (los) compuesto(s) diana se elige(n) entre compuestos nitrados y compuestos organofosforados.

5 17. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 14 a 16 para la detección y/o la cuantificación de explosivos o de compuestos tóxicos, en particular neurotóxicos.

10 18. Utilización del polímero según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 11 para la realización de sondas fluorescentes, para la realización de marcadores biológicos, para la realización de materiales fluorescentes, fotoluminiscentes y/o radioluminiscentes y/o catodoluminiscentes.

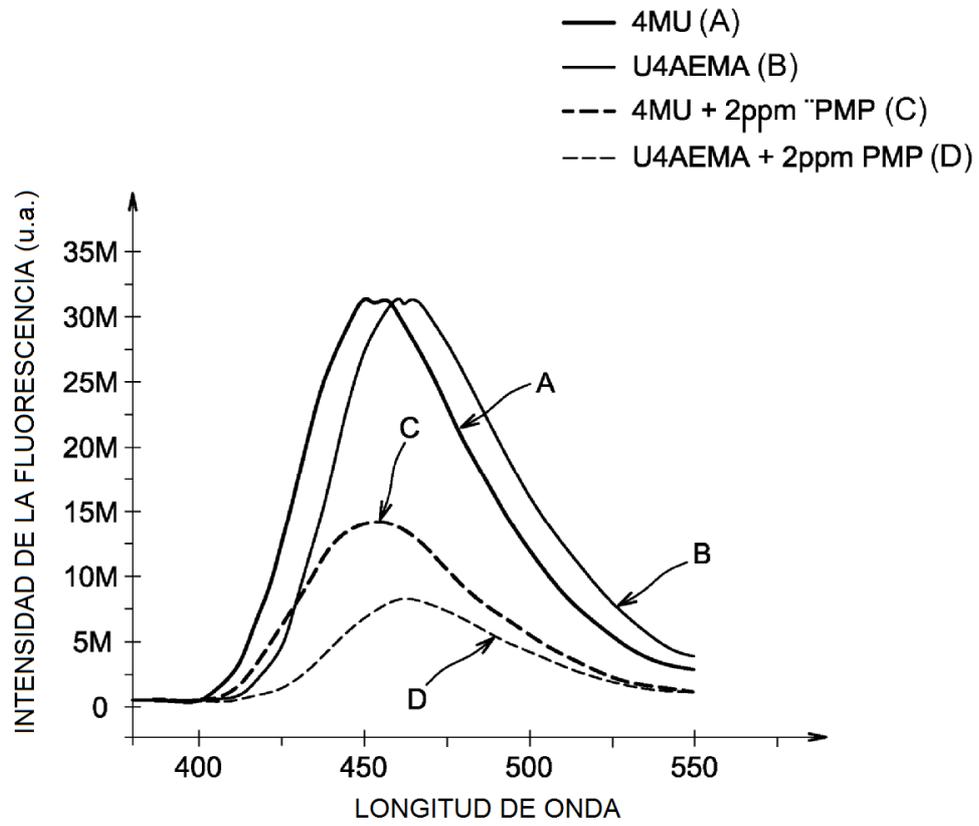


FIG. 1

FIG. 2

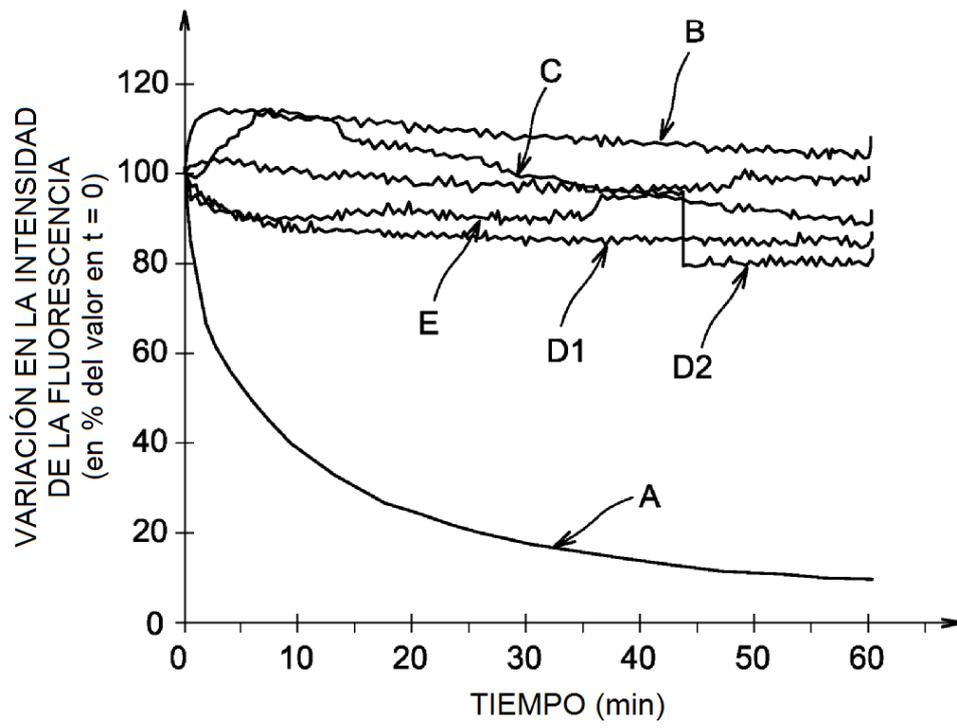
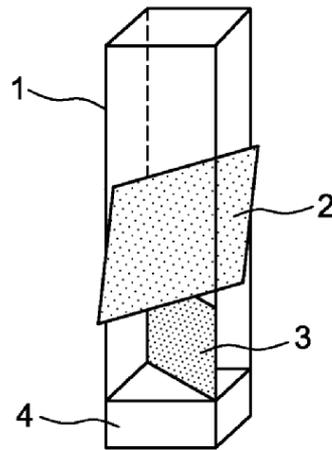


FIG. 3