

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 695 246**

21 Número de solicitud: 201730844

51 Int. Cl.:

C08F 259/04 (2006.01)
C08F 214/00 (2006.01)
C07D 215/20 (2006.01)
G01N 33/18 (2006.01)
G01N 33/48 (2006.01)
G01N 33/52 (2006.01)
G01N 21/64 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

27.06.2017

43 Fecha de publicación de la solicitud:

02.01.2019

71 Solicitantes:

UNIVERSIDAD DE BURGOS (100.0%)
c/ Hospital del Rey s/n
09001 Burgos ES

72 Inventor/es:

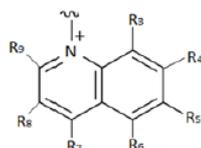
VALLEJOS CALZADA, Saúl;
GARCÍA PÉREZ, José Miguel;
GARCÍA GARCÍA, Félix;
SERNA ARENAS, Felipe;
RODRIGUEZ MATA, Ernesto José;
QUESADA PATO, Roberto;
HERNANDO SANTA CRUZ, Elsa y
GARCÍA VALVERDE, María

54 Título: **SENSORES FLUORIMÉTRICOS DE ANIONES**

57 Resumen:

Sensores fluorimétricos de aniones.

El presente documento describe copolímeros, así como métodos de obtención de éstos, donde dichos copolímeros comprenden una sal de un resto de fórmula (I):



(I)

donde uno de los grupos R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈ o R₉ es un grupo OR₁₀, y el resto de los grupos se selecciona cada uno independientemente entre H, OH, halógeno, sulfonilo, NR₁₁R₁₂, COOR₁₀, CONR₁₁R₁₂, alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo; donde R₁₀ se selecciona entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo; y donde R₁₁ y R₁₂ se seleccionan cada uno independientemente entre H, alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo.

Dichos copolímeros son de aplicación en la detección de aniones, y en particular de cloruros en aguas industriales y aguas de consumo humano, o en el sudor. Estos copolímeros se pueden utilizar por tanto como detectores de cloruro en continuo (en el caso de aguas industriales o de consumo humano), así como en apósitos (en el caso del sudor) para el diagnóstico de enfermedades.

DESCRIPCIÓN

SENSORES FLUORIMÉTRICOS DE ANIONES.

OBJETO DE LA INVENCION:

La presente invención está relacionada con la preparación de nuevos materiales poliméricos que se comportan como sensores fluorimétricos para aniones y, en particular, para cloruros, en medios acuosos, como por ejemplo las aguas industriales, las aguas de consumo humano y/o el sudor.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION:

Hoy en día son numerosas las normas y/o directivas que se aplican en el campo del control de especies químicas en aguas industriales y aguas de consumo humano (Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero). Entre dichas especies químicas, diversos aniones, entre los que se encuentran los aniones cloruro, son medidos semanalmente, ya que pueden variar mucho y muy rápidamente. Habitualmente se utilizan sales de cloro para evitar el crecimiento de microorganismos en aguas de consumo humano. Un defecto en los niveles de esas sales de cloro puede favorecer el crecimiento de microorganismos, sin embargo, un exceso también puede provocar que las concentraciones de aniones cloruro crezcan exponencialmente, con todos los riesgos para la salud que ello conlleva.

Dentro de los métodos más utilizados para la detección de cloruros en aguas destaca, sin duda, el electrodo ion selectivo de cloruros. Se trata básicamente de un dispositivo que traduce la concentración de cloruros en una señal eléctrica que, posteriormente, se analiza y se interpreta. Como es obvio, el equipo requiere de una toma de corriente eléctrica para su funcionamiento, además de un calibrado previo a la medición.

También existen métodos basados en la precipitación de sales insolubles de cloruro, como el cloruro de plata. En este caso, la técnica requiere manipular diversos reactivos químicos, algunos de los cuales alcanzan precios bastante altos, lo cual también supone una limitación a la hora de realizar ensayos rutinarios.

En cuanto a los métodos utilizados para la detección de cloruros en sudor, destaca el llamado "test del sudor" o "Método de Gibson y Cooke" (G. Mastella, G. Di Cesare, A. Borruso, L. Menin, L. Zanolla, Acta Pediatr., 2000, **89**, 933-937), que se aplica sobre todo en pacientes de corta edad como método sencillo para el pre-diagnóstico de la fibrosis quística y cuyo procedimiento se encuentra ampliamente detallado en la bibliografía (V. A. LeGrys, J. R.

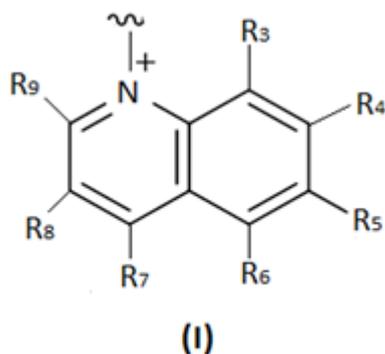
Yankaskas, L. M. Quittell, B. C. Marshall, P. J. Mogayze, J. Pediatr., 2007, 151, 1, 85-89). Una concentración alta (por encima de 60 milimoles por litro) de cloruros en el sudor, es uno de los síntomas más representativos de la fibrosis quística. Actualmente existen varios ejemplos de kits comercializados para la realización de este ensayo. Todos ellos se basan en tres
5 pasos: (1) la estimulación de las glándulas sudoríparas por iontoforesis (J. Guodemar, P. García, E. M. Rodríguez, Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud, 2004, 2, “Iontoforesis, dosis y tratamientos”) y con la ayuda de pilocarpina (I. Largo-García, Rev. Ped. Elec., 2009, 6, 1-18); (2) recogida de la muestra; y (3) análisis.

Además de la fibrosis quística, existen otras enfermedades relacionadas con una
10 concentración alta de cloruros en el sudor como, por ejemplo: Insuficiencia adrenal no tratada, displasia ectodérmica, síndrome de colestasis familiar, hipotiroidismo, desnutrición, síndrome maúrico, enfermedad por almacenamiento de glucógeno tipo 1, mucopolisacaridosis, diabetes insípida nefrogénica, fucosidosis, nefrosis o deficiencia de glucosa 6 fosfato.

En este marco, el desarrollo de polímeros y copolímeros basados en monómeros con distintas
15 funcionalizaciones y con forma de membranas hidrofílicas que tienen comportamiento de gel, y que detectan diferentes especies químicas, tanto en disolución, como en fase gas, es un tema de gran interés científico (S. Vallejos, A. Muñoz, S. Ibeas, F. Serna, F. García, J. M. García, J. Mater. Chem. A. 2013, 1, 15435-15441, S. Vallejos, A. Muñoz, S. Ibeas, F. Serna, F. García, J. M. García, J. Hazard. Mater. 2014, 276, 52-57, S. Vallejos, A. Muñoz, S. Ibeas,
20 F. Serna, F. García, J. M. García, ACS Appl. Mater. Interfaces. 2015, 7, 921-928, J. L. Pablos, S. Vallejos, A. Muñoz, M. J. Rojo, F. Serna, F. C. García, J. M. García, Chem. Eur. J. 2015, 21, 8733-8736, S. Vallejos, A. Muñoz, F. García, R. Colleoni, R. Biesuz, G. Alberti, J. M. García, Sens. Actuators B. 2016, 233, 120-126). Los citados materiales pueden tener forma de membrana (para su uso en la detección de cloruros en medios acuosos) o, incluso, forma
25 de apósito (para su uso como alternativa al test del sudor).

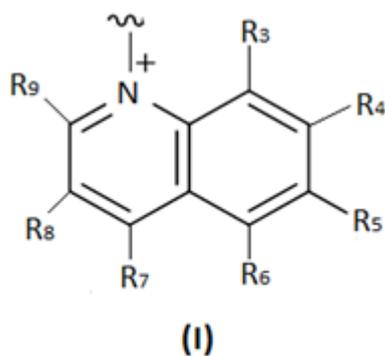
BREVE DESCRIPCION DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un copolímero que comprende una sal de un resto de fórmula (I):



donde uno de los grupos R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 o R_9 es un grupo OR_{10} , y el resto de los grupos se selecciona cada uno independientemente entre H, OH, halógeno, sulfonilo, $NR_{11}R_{12}$, $COOR_{10}$, $CONR_{11}R_{12}$, alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo; donde R_{10} se selecciona entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo; y donde R_{11} y R_{12} se seleccionan cada uno independientemente entre H, alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un método de obtención de un copolímero que comprende una sal de un resto de fórmula (I):



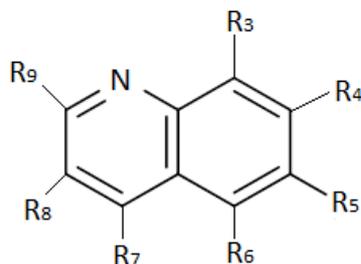
10 donde dicho método comprende los pasos de:

(a) obtención de un copolímero mediante la polimerización de al menos dos monómeros, donde al menos uno de dichos dos monómeros, es un monómero Z que comprende un grupo R_2 , donde:

- dicho grupo R_2 comprende un anillo aromático o un anillo no aromático y/o una cadena alifática, y
- R_2 se encuentra, además, sustituido con al menos un halógeno,

y donde dicha polimerización se lleva a cabo por reacción directa de grupos polimerizables presentes en cada uno de los monómeros;

(b) reacción del copolímero obtenido en el paso (a) con un compuesto de fórmula (Ia):



(Ia)

donde uno de los grupos R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 o R_9 es un grupo OR_{10} , y el resto de los grupos se selecciona cada uno independientemente entre H, OH, halógeno, sulfonilo, $NR_{11}R_{12}$, $COOR_{10}$, $CONR_{11}R_{12}$, alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo; donde R_{10} se selecciona entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo; y donde R_{11} y R_{12} se seleccionan cada uno independientemente entre H, alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo.

La presente invención también se refiere a un copolímero que comprende una sal de un resto de fórmula (I), obtenible por el método de obtención descrito en la presente invención.

Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de un copolímero que comprende una sal de un resto de fórmula (I), de la presente invención, para la detección y/o cuantificación de aniones, y en particular de cloruros.

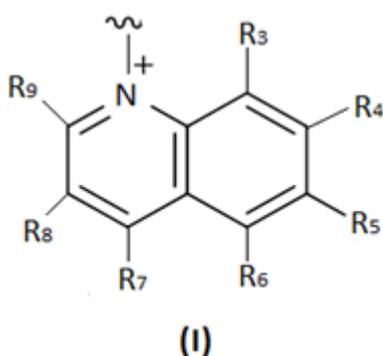
Un aspecto adicional de la presente invención se refiere al uso de un copolímero que comprende una sal de un resto de fórmula (I), de la presente invención, para la detección de una enfermedad seleccionada independientemente entre fibrosis quística, insuficiencia adrenal no tratada, displasia ectodérmica, síndrome de colestasis familiar, hipotiroidismo, desnutrición, síndrome maúrico, enfermedad por almacenamiento de glucógeno tipo 1, mucopolisacaridosis, diabetes insípida nefrogénica, fucosidosis, nefrosis o deficiencia de glucosa 6 fosfato.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un apósito que comprende un copolímero que comprende a su vez una sal de un resto de fórmula (I), de la presente invención, para la detección de una enfermedad seleccionada independientemente entre fibrosis quística, insuficiencia adrenal no tratada, displasia ectodérmica, síndrome de colestasis familiar, hipotiroidismo, desnutrición, síndrome maúrico, enfermedad por almacenamiento de

glucógeno tipo 1, mucopolisacaridosis, diabetes insípida nefrogénica, fucosidosis, nefrosis o deficiencia de glucosa 6 fosfato.

DESCRIPCIÓN

- 5 La presente invención se refiere por tanto a un copolímero que comprende una sal de un resto de fórmula (I)



10 donde uno de los grupos R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 o R_9 es un grupo OR_{10} , y el resto de los grupos se selecciona cada uno independientemente entre H, OH, halógeno, sulfonilo, $NR_{11}R_{12}$, $COOR_{10}$, $CONR_{11}R_{12}$, alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo; donde R_{10} se selecciona entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo; y donde R_{11} y R_{12} se seleccionan cada uno independientemente entre H, alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo.

15 A efectos de la presente invención ejemplos de sales del resto de fórmula (I) comprenden sales de un ácido orgánico o inorgánico. En una realización dicha sal se selecciona independientemente entre una sal de fluoruro, cloruro, bromuro, ioduro, sulfato, sulfito, fosfato, carbonato, bicarbonato, nitrato, nitritos hidróxido, acetato, lactato, citrato u oxalato. De manera general, en una realización de la invención, dicha sal comprende cualquier anión presente en aguas industriales, aguas de consumo humano, o en el sudor. En una realización de la invención, la sal es una sal de fluoruro, cloruro, bromuro o ioduro, más preferentemente
20 bromuro.

A efectos de la presente invención el término "alquilo" se refiere a una cadena alifática hidrocarbonada lineal o ramificada de 1 a 20 carbonos que puede presentar o no diferentes sustituciones. En una realización preferente dicho alquilo se selecciona independientemente entre metilo, etilo o propilo.

A efectos de la presente invención el término “cicloalquilo” se refiere a un grupo cíclico hidrocarbonado que puede presentar o no diferentes sustituciones. En una realización preferente dicho cicloalquilo se selecciona independientemente entre ciclopropil, ciclopentil o ciclohexil.

- 5 A efectos de la presente invención el término “alcoxi” se refiere a un grupo hidrocarbonado unido a un átomo de oxígeno tal como OR_{10} . En una realización preferente dicho grupo alcoxi se selecciona independientemente entre metoxi, etoxi, butoxi, propoxi, isopropoxi, tert-butoxi, fenoxi. En una realización más preferente dicho grupo alcoxi es metoxi.

- 10 A efectos de la presente invención el término “heterociclo” se refiere a un anillo hidrocarbonado alifático, que presenta al menos un heteroátomo, y que puede presentar o no diferentes sustituciones. En una realización preferente dicho heterociclo se selecciona independientemente entre piperidil, pirrolidina, tetrahidropirano, tetrahidrofurano o tetrahidrotiofeno.

- 15 A efectos de la presente invención el término “arilo” se refiere a un grupo que puede comprender uno o más anillos aromáticos hidrocarbonados sustituidos o no sustituidos con otros grupos funcionales. En una realización preferente dicho grupo arilo se selecciona independientemente entre fenilo o naftilo.

- 20 A efectos de la presente invención el término “hetarilo” se refiere a un grupo que puede comprender uno o más anillos aromáticos que comprenden uno o más heteroátomos. En una realización preferente dicho grupo hetarilo se selecciona independientemente entre piridilo, pirrol, pirano, furano o tiofeno.

- 25 Dicho resto de fórmula (I) interacciona con aniones, y en particular con cloruros, produciéndose un cambio en la fluorescencia del copolímero y, por lo tanto, permitiendo la detección y/o cuantificación de dichos aniones. En concreto la fluorescencia del material se ve mermada, es decir, se produce un proceso de apagado (ON-OFF) de la fluorescencia.

- 30 Este proceso se puede observar en un fluorímetro (espectrofotómetro de fluorescencia). En el caso de la detección de aniones cloruro, la banda de fluorescencia centrada a unos 440 nm (observada cuando se excita la muestra a 321 nm), empieza a decrecer, hasta prácticamente su desaparición, a medida que se incrementa la concentración de cloruros en el medio. El cambio en la fluorescencia es tan grande que, además de con un fluorímetro, el cambio también se puede apreciar de forma cualitativa a simple vista.

Además, la utilización de los copolímeros de la presente invención es totalmente reversible, de modo que, si dicho copolímero se lava con agua, una vez utilizado para la detección de un anión, vuelve a ser totalmente operativo.

5 Los copolímeros de la presente invención son, por tanto, de aplicación en la detección y/o cuantificación de aniones, y en particular de cloruros. Una realización se refiere al uso de los copolímeros que comprenden una sal de un resto de fórmula (I) para la detección y/o cuantificación de aniones y, de cloruros en particular, en aguas industriales y en aguas de consumo humano.

10 Además, los copolímeros de la presente invención son biocompatibles para su aplicación en la detección y/o cuantificación de cloruros en el sudor. Esta propiedad de detección y/o cuantificación de cloruros por inmersión del copolímero de la invención en un medio acuoso, o simplemente por contacto, en el caso del sudor, da lugar a que estos copolímeros se puedan utilizar como detectores de cloruro en continuo (en el caso de aguas industriales o de consumo humano), así como en un apósito (en el caso del sudor) que los contenga.

15 Por tanto, otra realización se refiere al uso de los copolímeros de la invención para la detección y/o cuantificación de cloruros en el sudor.

20 La detección de la cantidad de cloruros en el sudor, mediante la utilización de los copolímeros de la presente invención, es de aplicación en la detección y el diagnóstico de enfermedades relacionadas con una concentración alta de cloruros en el sudor, tales como la fibrosis quística, insuficiencia adrenal no tratada, displasia ectodérmica, síndrome de colestasis familiar, hipotiroidismo, desnutrición, síndrome maúrico, enfermedad por almacenamiento de glucógeno tipo 1, mucopolisacaridosis, diabetes insípida nefrogénica, fucosidosis, nefrosis o deficiencia de glucosa 6 fosfato.

25 Por tanto, una realización se refiere al uso de los copolímeros de la invención para la detección de una enfermedad relacionada con una concentración alta de cloruros en el sudor. Preferentemente, dicha enfermedad se selecciona independientemente entre fibrosis quística, insuficiencia adrenal no tratada, displasia ectodérmica, síndrome de colestasis familiar, hipotiroidismo, desnutrición, síndrome maúrico, enfermedad por almacenamiento de glucógeno tipo 1, mucopolisacaridosis, diabetes insípida nefrogénica, fucosidosis, nefrosis o
30 deficiencia de glucosa 6 fosfato. Más preferentemente, dicha enfermedad es la fibrosis quística.

El método de detección y/o cuantificación de cloruros descrito en la presente invención se basa, por tanto, en la capacidad de dichos aniones cloruro para eliminar la fluorescencia del resto de fórmula (I) presente en los copolímeros de la presente invención. Dicho resto de fórmula (I), presente en los copolímeros de la presente invención, es un grupo derivado de quinolina unido a la cadena polimérica por el átomo de nitrógeno de la quinolina, y donde dicho átomo de nitrógeno es un nitrógeno cuaternario cargado positivamente.

Los copolímeros de la presente invención, que comprenden al menos una sal de un resto de fórmula (I), pueden ser copolímeros lineales o reticulados.

El término polímero se refiere a una molécula que comprende una o más unidades estructurales que se repiten sucesivamente. Dichas unidades se denominan monómeros. Los polímeros se obtienen por la unión repetitiva de dichos monómeros mediante reacción de grupos reactivos (o grupos polimerizables) presentes en cada uno de los monómeros, en un proceso denominado polimerización. Un copolímero comprende por tanto más de un monómero diferente, y se obtiene, por tanto, por polimerización de al menos dos o más monómeros diferentes.

Se denomina copolímero reticulado, un copolímero que forma una red formada por la unión de diferentes cadenas poliméricas. La formación de dicha red a partir de diferentes cadenas poliméricas se denomina reticulación.

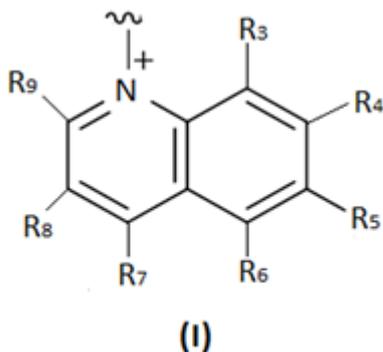
Los copolímeros que comprenden una sal de un resto de fórmula (I), descritos en la presente invención, se presentan en forma de filmes o membranas sólidas. Dichas membranas sólidas pueden ser membranas densas, o membranas porosas. La presente invención se refiere a dichas membranas densas, pero también a las membranas porosas obtenidas mediante procesos de espumado químicos y/o físicos, llevados a cabo a partir de las membranas densas descritas previamente.

Los copolímeros que comprenden una sal de un resto de fórmula (I), descritos en la presente invención, presentan cambios de fluorescencia en presencia de aniones. A efectos de la presente invención son ejemplos no limitantes de aniones, el cloruro [Cl⁻], el bromuro [Br⁻], el yoduro [I⁻], o el acetato [CH₃COO⁻]. En una realización preferente dicho cambio de fluorescencia ocurre cuando hay aniones cloruro presentes en el medio.

A efectos de la presente invención, el término copolímero se utiliza de manera equivalente al término membrana, debido a la estructura de membrana que presentan los copolímeros descritos en el presente documento. Asimismo, los copolímeros lineales o reticulados que

comprenden una sal de un resto de fórmula (I), descritos en la presente invención, se denominan indistintamente membrana sensora, copolímero sensor, o sensores fluorogénicos, debido a las propiedades que presentan, descritas en este documento.

Una realización de la presente invención se refiere a un método de obtención de un copolímero que comprende una sal de un resto de fórmula (I):

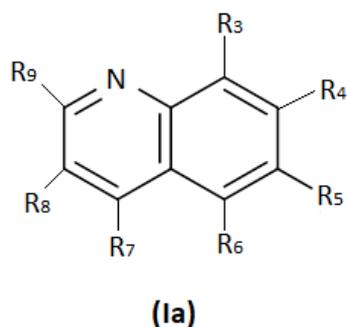


donde dicho método comprende los pasos de:

- (a) obtención de un copolímero mediante la polimerización de, al menos, dos monómeros, donde al menos uno de dichos dos monómeros, es un monómero Z que comprende un grupo R_2 donde,
- dicho grupo R_2 comprende un anillo aromático, un anillo no aromático y/o una cadena alifática, y
 - R_2 se encuentra además sustituido con al menos un halógeno,

y donde dicha polimerización se lleva a cabo por reacción directa de grupos polimerizables presentes en cada uno de los monómeros;

- (b) reacción del copolímero obtenido en el paso (a) con un compuesto de fórmula (Ia):



donde uno de los grupos R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 o R_9 es un grupo OR_{10} , y el resto de los grupos se selecciona cada uno independientemente entre H, OH, halógeno, sulfonilo, $NR_{11}R_{12}$, $COOR_{10}$, $CONR_{11}R_{12}$, alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo; donde R_{10} se selecciona entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo; y donde R_{11} y R_{12} se seleccionan cada uno independientemente entre H, alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo.

En una realización preferente, uno de los grupos R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 o R_9 es un grupo OR_{10} , y el resto de los grupos es H; donde R_{10} se selecciona entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo. Más preferentemente R_{10} es un grupo alquilo, aún más preferentemente R_{10} se selecciona entre metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo o tert-butilo.

En una realización preferente, uno de los grupos R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 o R_9 es un grupo metoxi, y el resto de los grupos es H.

En una realización aún más preferente R_5 es un grupo OR_{10} y el resto de los grupos es H; donde R_{10} se selecciona entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo. Más preferentemente R_{10} es un grupo alquilo, aún más preferentemente R_{10} se selecciona entre metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo o tert-butilo.

En una realización aún más preferente R_5 es un grupo metoxi y el resto de los grupos es H.

En otra realización preferente uno de los grupos R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 o R_9 es un grupo OR_{10} , y el resto de los grupos se selecciona cada uno independientemente entre H o CH_3 ; donde R_{10} se selecciona entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo. Más preferentemente R_{10} es un grupo alquilo, aún más preferentemente R_{10} se selecciona entre metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo o tert-butilo. Más preferentemente R_{10} es metilo.

En una realización más preferente R_5 es un grupo OR_{10} y el resto de los grupos se selecciona cada uno independientemente entre H o CH_3 ; donde R_{10} se selecciona entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo. Más preferentemente R_{10} es un grupo alquilo, aún más preferentemente R_{10} se selecciona entre metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo o tert-butilo. Más preferentemente R_{10} es metilo.

En otra realización preferente uno de los grupos R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 o R_9 es un grupo OR_{10} , y el resto de los grupos se selecciona cada uno independientemente entre H o sulfonilo; donde R_{10} se selecciona entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo. Más preferentemente

R₁₀ es un grupo alquilo, aún más preferentemente R₁₀ se selecciona entre metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo o tert-butilo. Más preferentemente R₁₀ es metilo.

En una realización más preferente R₅ es un grupo OR₁₀ y el resto de los grupos se selecciona cada uno independientemente entre H o sulfonilo; donde R₁₀ se selecciona entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo. Más preferentemente R₁₀ es un grupo alquilo, aún más preferentemente R₁₀ se selecciona entre metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo o tert-butilo. Más preferentemente R₁₀ es metilo.

Los monómeros utilizados en el paso (a) descrito en la presente invención, pueden ser tanto monómeros comerciales como monómeros de síntesis.

10 En una realización preferente de la presente invención, la reacción del paso (b) entre el copolímero obtenido en el paso (a) y un compuesto de fórmula (Ia) comprende:

i. realizar una inmersión del copolímero obtenido en el paso (a) en dicho compuesto de fórmula (Ia), o en una disolución del mismo, a una temperatura de entre 0°C y 150°C durante al menos 5 horas,

15 ii. realizar una inmersión del copolímero obtenido en el paso (i) en un disolvente orgánico, y repetir este proceso hasta eliminar el compuesto de fórmula (Ia) que no ha reaccionado,

iii. realizar una inmersión del copolímero obtenido en el paso (ii) en agua destilada.

En una realización de la invención, el paso (b) comprende (i) realizar una inmersión del copolímero obtenido en el paso (a) en un compuesto de fórmula (Ia), o en una disolución del mismo, a una temperatura de entre 50°C y 100°C durante al menos 5 horas.

En una realización de la invención, el paso (b) comprende (i) realizar una inmersión del copolímero obtenido en el paso (a) en un compuesto de fórmula (Ia), o en una disolución del mismo, y calentar a una temperatura entre de entre 50°C y 150°C durante al menos 12 horas.

25 En una realización de la invención, el paso (b) comprende (ii) realizar una inmersión del copolímero obtenido en el paso (i) en un disolvente orgánico, y repetir este proceso al menos 5 veces. En una realización preferente del paso (b) de la presente invención comprende (ii) realizar una inmersión del copolímero obtenido en el paso (i) en un disolvente orgánico, y repetir este proceso al menos 5 veces, cada una de dichas inmersiones de 5 minutos de
30 duración.

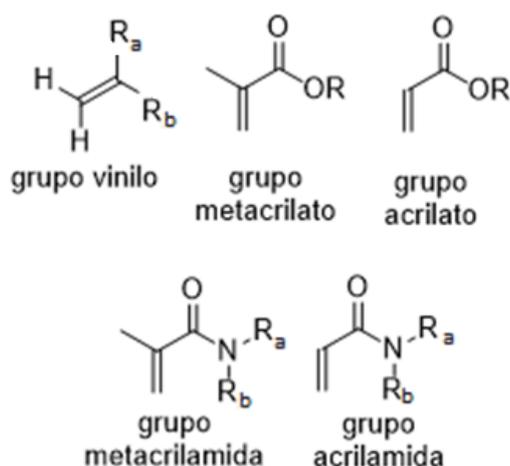
En una realización preferente de la invención, el paso (b) comprende (ii) realizar una inmersión del copolímero obtenido en el paso (i) en un disolvente orgánico, y repetir este proceso hasta eliminar el compuesto de fórmula (Ia) que no ha reaccionado, donde dicho disolvente orgánico es un disolvente orgánico miscible con agua.

- 5 A efectos de la presente invención el término “disolvente orgánico miscible con agua”, se refiere a cualquier disolvente orgánico que puede mezclarse en cualquier proporción con agua, siendo la mezcla resultante una mezcla homogénea o disolución.

En una realización más preferente dicho disolvente orgánico se selecciona entre acetona, dimetilformamida, acetonitrilo, dimetilacetamida, dimetilsulfóxido, N-metilpirrolidona, metanol, 10 etanol, isopropanol o THF. En una realización aún más preferente dicho disolvente orgánico es acetona.

A efectos de la presente invención los copolímeros resultantes del paso (a) se obtienen mediante polimerización, donde dicha polimerización se realiza por unión o reacción directa entre monómeros, donde dichos monómeros comprenden grupos polimerizables 15 responsables de la reacción de polimerización que da lugar al polímero.

A efectos de la presente invención son ejemplos no limitantes de grupos polimerizables el grupo vinilo, metacrilato, acrilato, metacrilamida o acrilamida:



20 donde $R_a=R_b=R$ es un grupo que se selecciona cada uno independientemente entre H, alquilo, alquenilo, arilo o un grupo R_2 , donde dicho grupo R_2 es un grupo que comprende un anillo aromático, un anillo no aromático y/o una cadena alifática, y donde dicho R_2 se encuentra

además substituido con al menos un átomo del grupo de los halógenos tal como se define anteriormente.

A efectos de la presente invención, la realización de una inmersión implica que el copolímero se encuentra totalmente sumergido en la disolución utilizada.

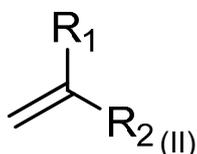
- 5 En una realización preferente el copolímero obtenido en el paso (a) se obtiene en presencia de un iniciador térmico o fotoquímico.

El grupo R_2 del monómero Z utilizado en el paso (a) del método de la presente invención, se denomina, a efectos de la presente descripción, grupo de anclaje R_2 , dado que dicho grupo es el responsable de la unión posterior de los restos de fórmula (I) que actúan como grupos
10 sensores fluorogénicos para aniones, preferentemente cloruros.

Se denomina monómero de anclaje, a efectos de la presente invención, al monómero Z utilizado en el paso (a) del método de obtención de la presente invención, donde dicho monómero Z de anclaje, comprende un grupo de anclaje R_2 y un grupo polimerizable.

El monómero de anclaje Z comprende un grupo de anclaje R_2 y un grupo polimerizable, donde
15 dicho grupo polimerizable se selecciona independientemente entre vinilo, metacrilato, acrilato, metacrilamida o acrilamida, tal como se describen anteriormente, y R_2 es un grupo que comprende un anillo aromático, un anillo no aromático y/o una cadena alifática, y donde dicho R_2 se encuentra además substituido con al menos un átomo del grupo de los halógenos tal como se define anteriormente.

- 20 En una realización preferente el grupo polimerizable del monómero de anclaje Z es un grupo vinilo y se denomina monómero de fórmula (II):

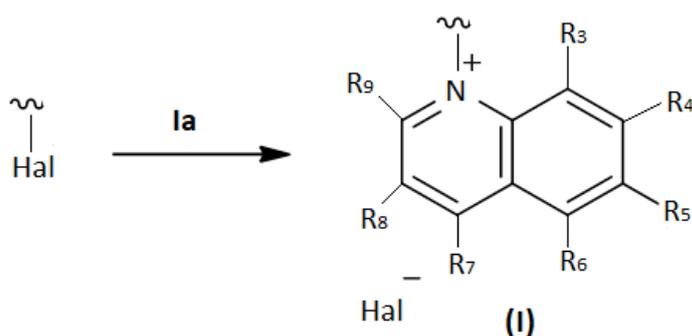


donde R_1 se selecciona independientemente entre H o CH_3 ; R_2 comprende un anillo aromático, un anillo no aromático y/o una cadena alifática y donde, R_2 se encuentra además
25 substituido con al menos un halógeno.

En una realización más preferente el monómero de fórmula (II) es 5-bromo-1-penteno o 4-bromo-1-buteno. En una realización aún más preferente el monómero de fórmula (II) es 5-bromo-1-penteno.

De la misma manera, el copolímero obtenido en el paso (a) se denomina, a efectos de la presente invención, copolímero de anclaje, o membrana de anclaje, dado que comprende grupos de anclaje R_2 que permiten de acuerdo con el paso (b) del proceso de la presente invención, la unión posterior de restos de fórmula (I). El paso (b) del proceso de la presente invención se denomina, por tanto, a efectos de la presente invención, proceso de anclado de los restos de fórmula (I).

El proceso de anclado y formación de restos de fórmula (I) sensores del paso (b) del proceso de la presente invención, que se produce cuando un compuesto de fórmula (Ia) reacciona con el halógeno del grupo de anclaje R_2 , formando un copolímero que comprende una sal de un resto de fórmula (I), de la presente invención, se puede representar de acuerdo con el siguiente Esquema 1:



Esquema1

donde uno de los grupos R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 o R_9 es un grupo OR_{10} , y el resto de los grupos se selecciona cada uno independientemente entre H, OH, halógeno, sulfonilo, $NR_{11}R_{12}$, $COOR_{10}$, $CONR_{11}R_{12}$, alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo; donde R_{10} se selecciona entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo; y donde R_{11} y R_{12} se seleccionan cada uno independientemente entre H, alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo, y donde Hal es un halógeno que sustituye un grupo R_2 , donde dicho grupo R_2 forma parte de un copolímero de anclaje obtenido según el paso (a) anteriormente descrito. Dicho halógeno Hal que sustituye al grupo R_2 se selecciona independientemente entre F, Cl, Br o I.

En una realización preferente de la invención, la polimerización de al menos dos monómeros del paso (a), donde al menos uno de dichos dos monómeros es un monómero Z, comprende además monómeros X e Y, donde la proporción de Z representa entre 0,1% a 10% del número total de monómeros, y donde la proporción de X respecto a Y es de 1:9 hasta 9:1.

En una realización preferida la proporción de X respecto a Y es de 3:1. En una realización preferente Z representa 1% del número total de monómeros.

En otra realización preferente X representa entre 70% a 80%, Y representa entre 19% a 29% y Z representa 1%, del número total de monómeros. En otra realización preferente de la
5 invención X representa 74.25%, Y representa 24.75% y Z representa 1%, del número total de monómeros.

En una realización preferente de la invención, los monómeros X e Y utilizados en el paso (a) se seleccionan cada uno independiente entre N-vinil pirrolidona, metacrilato de metilo, acrilato de butilo, metacrilato de butilo, acrilato de metilo, estireno, acrilato de 2-hidroxi-
10 etilo, metacrilato de 2-hidroxi- etilo, metacrilato de 2-etoxi- etilo, acrilato de laurilo, metacrilato de laurilo, acetato de vinilo, ácido metacrílico, anhídrido metacrílico, ácido acrílico, metacrilamida o metacrilato de 2-N,N-dimetilamino- etilo.

En una realización preferente los monómeros X e Y utilizados en el paso (a) se seleccionan cada uno independientemente entre N-vinil pirrolidona, acrilato de 2-hidroxi-
15 etilo, metacrilato de 2-hidroxi- etilo, o metacrilato de metilo.

En una realización preferente de la invención, uno de los monómeros utilizados en el paso (a) es N-vinil pirrolidona.

En una realización preferente de la presente invención, uno de los monómeros utilizados en el paso (a) es acrilato de 2-hidroxi- etilo.

20 En una realización preferente de la presente invención, la polimerización de al menos dos monómeros del paso (a), donde al menos uno de dichos dos monómeros es un monómero Z, comprende además monómeros X e Y, donde los monómeros X e Y son respectivamente N-vinil pirrolidona y acrilato de 2-hidroxi- etilo. En una realización más preferente el monómero Z es 5-bromo-1-penteno o 4-bromo-buteno. En una realización aún más preferente el monómero
25 Z es 5-bromo-1-penteno.

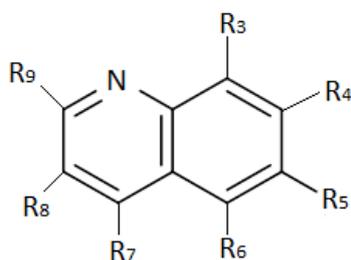
En una realización preferente de la invención, la polimerización descrita en el paso (a), se lleva a cabo en disolución o en bloque.

A efectos de la presente invención se denomina polimerización en bloque, o polimerización en masa, a la técnica de polimerización en la cual solamente los monómeros y el iniciador
30 están presentes en el medio de reacción. En el caso de que la polimerización se realice por

iniciación térmica sin necesidad de iniciador, solamente están presentes los monómeros en el medio de reacción.

A efectos de la presente invención se denomina polimerización en disolución a la técnica de polimerización en la cual además de los monómeros e iniciador, se emplea un disolvente.

- 5 En una realización preferente del paso (b) de la presente invención, el compuesto de fórmula (Ia),



(Ia)

- donde uno de los grupos R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 o R_9 es un grupo metoxi, y el resto de los grupos es H. En otra realización preferente uno de los grupos R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 o R_9 es un grupo metoxi, y el resto de los grupos se selecciona independientemente entre H o CH_3 .
 10 En otra realización preferente uno de los grupos R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 o R_9 es un grupo metoxi, y el resto de los grupos se seleccionan cada uno independientemente entre H o sulfonilo.

- En otra realización preferente R_5 es un grupo OR_{10} y el resto de los grupos es H; donde R_{10} se selecciona entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo. Más preferentemente R_{10} es un grupo alquilo, aún más preferentemente R_{10} se selecciona entre metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo o tert-butilo. Más preferentemente R_{10} es metilo.
 15

- En otra realización preferente R_5 es un grupo OR_{10} y el resto de los grupos se selecciona cada uno independientemente entre H o CH_3 ; donde R_{10} se selecciona entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo. Más preferentemente R_{10} es un grupo alquilo, aún más preferentemente R_{10} se selecciona entre metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo o tert-butilo. Más preferentemente R_{10} es metilo.
 20

En una realización preferente R_5 es un grupo OR_{10} y el resto de los grupos se selecciona cada uno independientemente entre H o sulfonilo; donde R_{10} se selecciona entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo. Más preferentemente R_{10} es un grupo alquilo, aún

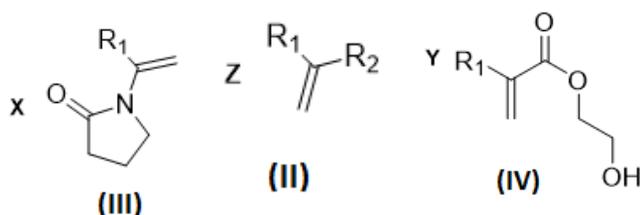
más preferentemente R_{10} se selecciona entre metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo o tert-butilo. Más preferentemente R_{10} es metilo.

En una realización preferente del paso (b) de la presente invención, el compuesto de fórmula (Ia) es 6-metoxiquinolona.

- 5 La síntesis de los copolímeros que comprenden una sal de un resto de fórmula (I), descritos en la presente invención, no se puede llevar a cabo por rutas convencionales en química orgánica, es decir, (i) sintetizando un monómero derivado de quinolina que presenta un resto de fórmula (I) y, (ii) realizando una posterior copolimerización con otros monómeros comerciales, tal y como está descrito en la bibliografía (S. Vallejos, P. Estévez, A. Muñoz, S. Ibeas, F. Serna, F. García, J. M. García, *Sens. Actuators, B*, 2011, 157, 686-690). Dicho proceso convencional no es posible debido a que las especies con cargas formales, tales como la estructura de fórmula (I), iónica, inhiben los procesos de polimerización radicalaria (A. A. Yassin, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 1978, **16**, 1475-1485; A. A. Yassin, N. A. Rizk, *POLYMER*, 1978, **19**, 57-62), y por tanto sería imposible obtener los copolímeros que comprenden una sal de un resto de fórmula (I) de la invención por dichas rutas convencionales.

Sin embargo, al realizar la síntesis primero de un copolímero de anclaje en el paso (a) del método de obtención de la presente invención, la especie con cargas formales de fórmula (I) se forma una vez hecha la polimerización y se puede obtener el copolímero sensor sin problema de acuerdo con el paso (b) del método de la presente invención. Para ello, resulta necesario el uso de un monómero anclaje Z que comprende un grupo R_2 , responsable de la reacción descrita en el paso (b) del método de la presente invención.

En una realización de la invención, la polimerización del paso (a) del método de obtención de la invención, comprende un monómero Z que es un monómero de fórmula (II), un monómero X que es un monómero de fórmula (III), y un monómero Y que es un monómero de fórmula (IV):



donde cada R_1 se selecciona independientemente entre H o CH_3 , donde R_2 comprende un anillo aromático, un anillo no aromático y/o una cadena alifática y donde, R_2 se encuentra además sustituido con al menos un halógeno. En una realización preferente, el monómero (II) representa entre 0,1% a 10% del número total de monómeros y la proporción del monómero (III) respecto al monómero (IV) es de 1:9 hasta 9:1 En una realización más preferente, la proporción del monómero (III) respecto al monómero (IV) es de 3:1. En una realización más preferente el monómero (II) representa 1% del número total de monómeros.

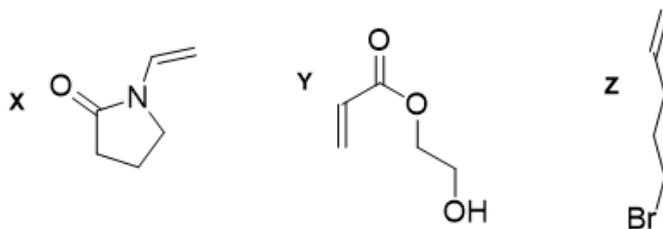
Una realización del método de obtención de un copolímero que comprende una sal del resto de fórmula (I), de la presente invención, comprende:

- 10 (a) obtención de un copolímero mediante la polimerización de al menos dos monómeros, donde al menos uno de dichos dos monómeros es un monómero de fórmula (II), y comprende, además, monómeros de fórmula (III) y monómeros de fórmula (IV), descritos anteriormente, y donde dicha polimerización se lleva a cabo por reacción directa de grupos polimerizables presentes en cada uno de los monómeros.;
- 15 (b) reacción del copolímero obtenido en el paso (a) con un compuesto de fórmula (Ia) descrito anteriormente.

En una realización preferente, el compuesto de fórmula (Ia) es 6-metoxiquinolina.

En una realización preferente, el monómero (II) representa entre 0,1% a 10% del número total de monómeros y la proporción del monómero (III) respecto al monómero (IV) es de 1:9 hasta 9:1 En una realización más preferente la proporción del monómero (III) respecto al monómero (IV) es de 3:1. En una realización aún más preferente el monómero (II) representa 1% del número total de monómeros.

En una realización preferente, la polimerización del paso (a) del método de obtención de la invención, comprende un monómero Z que es 5-bromo-1-penteno, un monómero X que es N-vinil pirrolidona, y un monómero Y que es acrilato de 2-hidroxietilo:



En una realización preferente, 5-bromo-1-penteno representa entre 0,1% a 10% del número total de monómeros, y la proporción de N-vinil pirrolidona respecto a la de acrilato de 2-hidroxietilo es de 1:9 hasta 9:1

5 Una realización del método de obtención de un copolímero que comprende una sal del resto de fórmula (I), de la presente invención, comprende:

- 10 (a) obtención de un copolímero mediante la polimerización de al menos dos monómeros, donde al menos uno de dichos dos monómeros es 5-bromo-1-penteno, y comprende además N-vinil pirrolidona y acrilato de 2-hidroxietilo, y donde dicha polimerización se lleva a cabo por reacción directa de grupos polimerizables presentes en cada uno de los monómeros.;
- (b) reacción del copolímero obtenido en el paso (a) con un compuesto de fórmula (Ia) descrito anteriormente.

En una realización preferente, el compuesto de fórmula (Ia) es 6-metoxiquinolina.

15 En una realización preferente, 5 -bromo-1-penteno representa entre 0,1% a 10% del número total de monómeros y la proporción N-vinil pirrolidona respecto al acrilato de 2-hidroxietilo es de 1:9 hasta 9:1. En una realización más preferente la proporción de N-vinil pirrolidona respecto a la de acrilato de 2-hidroxietilo es de 3:1. En una realización aún más preferente 5-bromo-1-penteno representa 1% del número total de monómeros.

20 En general la polimerización de los monómeros en el paso (a) descrito en la presente invención, tanto si comprende monómeros vinílicos comerciales o no, se puede realizar por cualquiera de los procedimientos descritos en la literatura para la polimerización de enlaces múltiples.

Los monómeros de anclaje Z, de acuerdo con lo descrito en la presente invención, pueden obtenerse comercialmente.

25 En una realización preferente de la presente invención, el monómero anclaje utilizado en el paso (a) es 5-bromo-1-penteno, que puede obtenerse comercialmente.

30 Los copolímeros de la invención poseen una estructura tridimensional que permite la permeación cuando son puestos en contacto o sumergidos en agua u otros disolventes. Este hecho es la base para que se produzca la detección y/o cuantificación de aniones disueltos, como por ejemplo los cloruros. Dicha permeación se puede controlar variando la proporción entre los distintos monómeros utilizados para la preparación de los copolímeros.

Asimismo, los copolímeros de la presente invención, membranas, filmes, recubrimientos y materiales en estado sólido que se obtienen a partir de estos, se caracterizan por una combinación ideal de propiedades mecánicas tanto en seco, como en hinchado, es decir, con agua dentro de la red polimérica. Esto convierte los copolímeros de la presente invención en
5 materiales adecuados para la elaboración de membranas densas que se pueden emplear, entre otros ámbitos, en la detección y/o cuantificación de aniones, como el cloruro, en agua y/o en medios acuosos como el sudor.

Es decir, los copolímeros de la invención son sensores fluorimétricos de aniones en agua y/o en medios acuosos como el sudor.

10 El cambio de fluorescencia por la presencia de aniones, y en particular de cloruros, se observa por la inmersión de las membranas o copolímeros que comprenden restos de fórmula (I), de la presente invención, en los distintos medios sin ningún tipo de tratamiento previo de la muestra. Por tanto, los copolímeros de la presente invención se pueden utilizar como sensores para la detección cualitativa o cuantitativa de los aniones en cuestión.

15 Por tanto, una realización de la presente invención se refiere al uso de un copolímero obtenido en el método descrito en la presente invención, o de un copolímero que comprende una sal de un resto de fórmula (I), para la detección y/o cuantificación de aniones, preferentemente para la detección y/o cuantificación de cloruros.

Una realización de la presente invención se refiere al uso de un copolímero obtenible mediante
20 el método descrito en la presente invención, o de un copolímero que comprende una sal de un resto de fórmula (I), en la detección y/o cuantificación de aniones mediante al menos un método seleccionado independientemente entre:

- detección a simple vista; o
- la utilización de técnicas espectroscópicas basadas en fluorescencia.

25 Una realización más preferente se refiere a la detección y/o cuantificación de cloruros en aguas industriales o de consumo humano. Más preferentemente la detección y/o cuantificación de cloruros se realiza en sudor.

Otra realización se refiere al uso de un copolímero obtenido en el método descrito en la presente invención, o de un copolímero que comprende una sal de un resto de fórmula (I),
30 para la detección de una enfermedad relacionada con una concentración alta de cloruros en el sudor; preferentemente una enfermedad seleccionada independientemente entre fibrosis

quística, insuficiencia adrenal no tratada, displasia ectodérmica, síndrome de colestasis familiar, hipotiroidismo, desnutrición, síndrome maúrico, enfermedad por almacenamiento de glucógeno tipo 1, mucopolisacaridosis, diabetes insípida nefrogénica, fucosidosis, nefrosis o deficiencia de glucosa 6 fosfato. Más preferentemente la enfermedad es la fibrosis quística.

5 Una realización de la presente invención se refiere a un apósito que comprende un copolímero obtenido en el método descrito en la presente invención, o de un copolímero que comprende una sal de un resto de fórmula (I), para la detección de una enfermedad relacionada con una concentración alta de cloruros en el sudor; preferentemente una enfermedad seleccionada
10 independientemente entre fibrosis quística, insuficiencia adrenal no tratada, displasia ectodérmica, síndrome de colestasis familiar, hipotiroidismo, desnutrición, síndrome maúrico, enfermedad por almacenamiento de glucógeno tipo 1, mucopolisacaridosis, diabetes insípida nefrogénica, fucosidosis, nefrosis o deficiencia de glucosa 6 fosfato; más preferentemente para la detección de la fibrosis quística.

Una realización de la invención se refiere asimismo a las membranas porosas obtenidas
15 mediante procesos de espumado químicos y/o físicos a partir de las membranas sólidas descritas previamente. Como ejemplos de proceso de espumado físico está la disolución de gas a alta presión (CO_2 y/o N_2), y como procesos de espumado químico se incluyen algunos ejemplos no limitantes como la lixiviación a partir de sales o mezclas de polímeros o la utilización de agentes de espumado químicos endo o exotérmicos que producen la estructura
20 celular por calentamiento y liberación del gas, y en general cualquier proceso de espumado que origine una estructura porosa dentro de la membrana sólida.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1. Desaparición de la banda de fluorescencia de un copolímero de la invención
25 preparado según Ejemplo 2 y sumergido en agua MiliQ. Se añadieron distintas cantidades de NaCl, y se analizó el efecto en la desaparición de una banda en el espectro de fluorescencia. La figura **1A** muestra el decrecimiento de la banda de fluorescencia centrada a 440 nm a medida que la concentración de cloruros aumenta en el medio, y que se obtiene al excitar la muestra a 321 nm; la figura **1B** muestra la relación entre la concentración de cloruro mM
30 añadido y la intensidad de fluorescencia normalizada como $[1 - (\text{Intensidad} / \text{Intensidad inicial})]$ de la citada banda a 440 nm, y la figura **1C** muestra la relación entre el logaritmo de la concentración de cloruro añadido y la intensidad de fluorescencia normalizada como $[1 - (\text{Intensidad} / \text{Intensidad inicial})]$ de la citada banda a 440 nm, dado que de esta manera se

pueden apreciar más fácilmente los valores de intensidad de fluorescencia para cada una de las concentraciones de cloruros ensayadas.

Figura 2. Desaparición de la banda de fluorescencia de un copolímero de la invención preparado según Ejemplo 2, y sumergido en una disolución **SS** simuladora del sudor humano.

5 Se añadieron cantidades crecientes de NaCl/KCl (en un rango molar 8,5/1,5), desde la concentración mínima hasta la máxima posible presentes en el sudor humano (entre 6,17 mM y 100,16 mM). La gráfica muestra la relación entre la concentración de cloruro añadido y la intensidad de fluorescencia normalizada como $[1 - (\text{Intensidad} / \text{Intensidad inicial})]$ a 440 nm, que se obtiene al excitar la muestra a 321 nm.

10 **Figura 3.** Reversibilidad de la utilización de los copolímeros de la invención. La gráfica muestra los ciclos de uso-lavado, que se traducen en decrecimiento y crecimiento respectivamente de la banda de fluorescencia centrada a 440 nm, y que se obtiene al excitar la muestra a 321 nm.

15 EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos ilustrativos no pretenden ser limitantes y describen:

(1) Ejemplo 1: Preparación de un copolímero de anclaje de acuerdo con el paso (a) del método de obtención de la presente invención que comprende un monómero anclaje Z de tipo vinílico;

20 (2) Ejemplo 2: Preparación de un copolímero sensor de la presente invención a partir copolímero de anclaje obtenido en el Ejemplo 1;

(3) Ejemplo 4: Comportamiento como sensor fluorimétrico del copolímero sensor obtenido en el Ejemplo 2 frente a la presencia de cloruro en agua;

25 (4) Ejemplo 5: Comportamiento como sensor fluorimétrico del copolímero sensor obtenido en el Ejemplo 2 frente a la presencia de cloruro en una simulación de sudor humano (**SS**) preparada en el Ejemplo 3;

(5) Ejemplo 6: Reversibilidad en la utilización del copolímero sensor obtenido en el Ejemplo 2.

Ejemplo 1. Preparación de un copolímero de anclaje de acuerdo con el paso (a) del método de obtención de la presente invención.

Mediante copolimerización en bloque se preparó una membrana con la composición que se indica a continuación. Monómeros: N-vinil pirrolidona, metacrilato de 2-hidroxi-etilo y 5-bromo-1-penteno, con una relación molar 74,25:24,75:1, respectivamente. Iniciador fotoquímico 2,2-Dimetoxi-2-fenilacetofenona, con un porcentaje en peso del 1%. La disolución de copolímero resultante se inyectó en un molde de cristales silanizados, de 100 µm de espesor, en ausencia de oxígeno, y se colocó bajo una lámpara de luz ultravioleta durante toda una noche obteniéndose dicho copolímero en forma de membrana.

Ejemplo 2. Preparación de un copolímero sensor que comprende una sal de un resto de fórmula (I) de acuerdo con la invención.

10 Para la preparación copolímero sensor, se sumergió un trozo de la membrana preparada en el Ejemplo 1 en un tubo de ensayo con la cantidad necesaria de 6-metoxiquinolona como para que el trozo de membrana quedara totalmente cubierto por el reactivo líquido. El tubo de ensayo se tapó con un trozo de parafilm, y se mantuvo termostaticado a 70°C durante 12 horas. Transcurrido ese tiempo, el reactivo líquido se retiró a un vial para poder ser reutilizado, y el trozo de membrana se lavó reiteradas veces con acetona. Finalmente, la membrana se sumergió en agua destilada, quedando lista para su uso.

Ejemplo 3. Preparación de una simulación de sudor humano.

Para la preparación de una disolución simuladora del sudor humano se pesaron las cantidades correspondientes de las sustancias que se especifican en la Tabla 1.

20 La Tabla 1 de composición de una disolución acuosa que simula el sudor humano, a la que nos referimos con la abreviatura "SS". Se muestran datos de concentración de las 12 especies solubles en agua más abundantes en el sudor, así como las cantidades de las sales correspondientes necesarias para preparar la disolución, y la concentración resultante de cada una de ellas en la mezcla.

Compuesto Químico	Peso molecular	Pesada (mg)
Cloruro	58,44	0
Sodio	58,44	0
Cloruro de potasio	74,56	350
Sulfato de sodio	142,04	179,5
Cloruro de calcio	110,98	18,4
Cloruro de magnesio	203,3	14,8
Fosfato de sodio	163,94	8,8
Lactato de sodio	112,06	1151,6
Urea	60,06	325,8
Glucosa	180,16	40,8
Amoniaco	17,03	37
Bicarbonato de sodio	84,01	201,9



Compuesto Químico	Concentración (mM) En la disolución "SS"
Cloruro	5,17
Sodio	15,37
Potasio	4,69
Sulfato	1,26
Calcio	0,17
Magnesio	0,07
Fosfato	0,05
Lactato	10,28
Urea	5,42
Glucosa	0,23
Amoniaco	2,17
Bicarbonato	2,40

Tabla 1

Una vez pesadas se disolvieron en agua destilada, y la disolución se enrasó a un volumen final de 1L.

- 5 Ejemplo 4. Comportamiento como sensor fluorimétrico del copolímero sensor de la invención obtenido en el Ejemplo 2 frente a la presencia de cloruros en agua destilada.

Este ejemplo ilustra el comportamiento como sensor fluorimétrico de un copolímero que comprende una sal de un resto de fórmula (I), cuya síntesis se ilustra en el Ejemplo 2, hacia la presencia de cloruros en medio acuoso. La introducción de la membrana preparada en el

10 Ejemplo 2 en agua destilada, dio lugar a un espectro de fluorescencia que presentaba una

banda desde 350 hasta 600 nm, centrada en 440 nm, al excitar la muestra a 321 nm. La adición de cantidades crecientes de cloruro de sodio de entre 1,25E-15 y 0,117 M/L, produjo la desaparición de esa banda de fluorescencia tal y como se observa en la **Figura 1A**. Por otro lado, la **Figura 1B** muestra gráficamente los valores normalizados de intensidad de fluorescencia frente a la concentración de cloruro, que aparecen en la Tabla 2. Los valores normalizados de intensidad de fluorescencia se muestran como $1-(I/I_0)$ (Intensidad medida/Intensidad inicial) indicado como $1-(I/I_0)$ en la Tabla 2 y en la **Figura 1B**:

[Cl-]	1-(I/I ₀)
1,25E-15	0,00263
2,49E-15	0,01598
7,39E-15	0,0388
2,20E-14	0,06564
3,41E-14	0,07465
8,21E-14	0,09942
3,44E-13	0,09705
1,05E-12	0,12786
1,03E-11	0,20442
2,18E-11	0,21015
7,86E-11	0,23763
1,01E-10	0,23864
9,92E-10	0,28343
2,10E-09	0,28885
3,21E-09	0,28559
5,41E-09	0,29432
9,75E-09	0,29542
2,07E-08	0,31665
3,15E-08	0,3235
7,46E-08	0,34095
2,03E-07	0,34213
3,10E-07	0,34687
2,85E-06	0,38854
7,03E-06	0,37726
2,79E-05	0,40775
4,86E-05	0,41427
2,76E-04	0,41296
4,80E-04	0,43018
6,83E-04	0,50345
0,00272	0,59941
0,00675	0,78772
0,0278	1,20839
0,0454	1,37806
0,0618	1,72403
0,077	1,77505

0,0912	1,90501
0,104	1,98747
0,117	2,15485

Tabla 2

El límite de detección obtenido fue de $8,43 \cdot 10^{-16}$ moles por litro, y el límite de cuantificación de $2,55 \cdot 10^{-15}$ moles por litro. Los límites de detección (LDD) y de cuantificación (LDC) fueron estimados con las siguientes ecuaciones: $LDD = 3,3xDE/p$ y $LDC = 10xDE/p$ donde DE es la desviación estándar, y p es la pendiente de la curva de calibración en una zona de bajo contenido de cloruros.

Ejemplo 5. Comportamiento como sensor fluorimétrico del copolímero sensor obtenido en el Ejemplo 2 frente a la presencia de cloruros en una simulación de sudor humano (SS) preparado según el Ejemplo 3

10 Este ejemplo ilustra el comportamiento como sensor fluorimétrico de un copolímero que comprende una sal de un resto de fórmula (I), cuya síntesis se ilustra en el Ejemplo 2, frente a la presencia de cloruros en un medio que simula el sudor humano (SS), cuya preparación se ilustra en el Ejemplo 3. La introducción de la membrana preparada en el Ejemplo 2, en la disolución preparada en el Ejemplo 3, dio lugar a un espectro de fluorescencia que presentaba

15 una banda desde 350 hasta 600 nm, centrada en 440 nm, al excitar la muestra a 321 nm. La adición de cantidades crecientes de entre 6,17 mM y 100 mM de cloruro de sodio y cloruro de potasio, en un rango molar de 8,5/1,5 respectivamente, produjo la desaparición de esa banda de fluorescencia tal y como se observa en la **Figura 2**, que reproduce los valores normalizados de intensidad de fluorescencia frente a la concentración de cloruro, que aparecen en la Tabla

20 3. Los valores normalizados de intensidad de fluorescencia se muestran como $1-(I/I_0)$ en la Tabla 3 y en la **Figura 2**:

[Cl ⁻] mM	1-(I/I ₀)
6,17	-0,04516
7,16	-0,03248
9,15	-0,0189
15,09	0,05454
29,8	0,2061
45,24	0,3453
59,5	0,44992
84,66	0,58274
94,72	0,6219
100,16	0,6458

Tabla 3

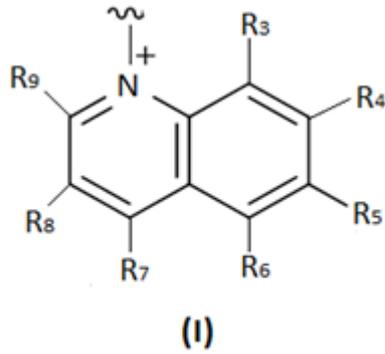
Ejemplo 6: Reversibilidad de la utilización de un copolímero que comprende una sal de un resto de fórmula (I) para la detección de cloruros.

Se estudió el comportamiento de la membrana preparada en el Ejemplo 2 durante varios ciclos de uso como sensor de cloruro en agua con un posterior lavado.

- 5 Una membrana densa preparada según Ejemplo 2 fue troquelada en forma de disco de 10 mm de diámetro, y sumergida en 2 ml de agua destilada. Se añadió NaCl hasta alcanzar una concentración de 100 mM, y se midió el efecto en la desaparición de una banda en el espectro de fluorescencia. Posteriormente la membrana fue lavada con agua destilada, y al retirar los cloruros del sistema la fluorescencia inicial del material se recupera. Este ciclo de uso-lavado
- 10 se repitió 6 veces. La **Figura 3** muestra los ciclos de uso-lavado, que se traducen en decrecimiento y crecimiento respectivamente de la banda de fluorescencia centrada a 440 nm, y que se obtiene al excitar la muestra a 321 nm.

REIVINDICACIONES

1. Método de obtención de un copolímero que comprende una sal de un resto de fórmula (I):



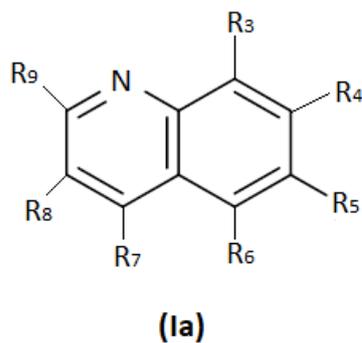
5 donde dicho método comprende los pasos de:

(a) obtención de un copolímero mediante la polimerización de al menos dos monómeros, donde al menos uno de dichos dos monómeros es un monómero Z que comprende un grupo R₂ donde

- 10
- dicho grupo R₂ comprende un anillo aromático, un anillo no aromático y/o una cadena alifática, y
 - R₂ se encuentra sustituido con al menos un halógeno,

y donde dicha polimerización se lleva a cabo por reacción directa de grupos polimerizables presentes en cada uno de los monómeros.;

(b) reacción del copolímero obtenido en el paso (a) con un compuesto de fórmula (Ia):



15

donde uno de los grupos R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 o R_9 es un grupo OR_{10} , y el resto de los grupos se selecciona cada uno independientemente entre H, OH, halógeno, sulfonilo, $NR_{11}R_{12}$, $COOR_{10}$, $CONR_{11}R_{12}$, alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo; donde R_{10} se selecciona entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo; y donde R_{11} y R_{12} se seleccionan cada uno independientemente entre H, alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo.

5

2. Método de obtención de acuerdo con la reivindicación 1, donde uno de los grupos R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 o R_9 es un grupo metoxi, y el resto de los grupos es H.

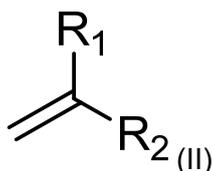
10

3. Método de obtención de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, donde la polimerización de al menos dos monómeros del paso (a), donde al menos uno de dichos dos monómeros es un monómero Z, comprende además monómeros X e Y, donde la proporción de Z representa entre 0,1% a 10% del número total de monómeros y donde la proporción de X respecto a Y es de 1:9 hasta 9:1.

15

4. Método de obtención de acuerdo con la reivindicación 3 donde la proporción de X respecto a Y es de 3:1 y Z representa 1% del número total de monómeros.

5. Método de obtención de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde el monómero Z es un monómero de fórmula (II):



donde R_1 se selecciona independientemente entre H o CH_3 .

20

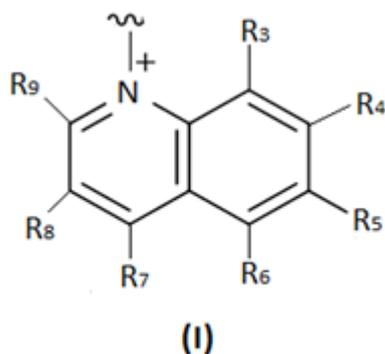
6. Método de obtención de acuerdo con la reivindicación 5, el monómero de fórmula (II) es 5-bromo-1-penteno o 4-bromo-1-buteno.

7. Método de obtención de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6 donde los monómeros X e Y son respectivamente N-vinil pirrolidona y acrilato de 2-hidroxietilo.

25

8. Copolímero obtenible mediante el método de obtención de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.

9. Copolímero que comprende una sal de un resto de fórmula (I):

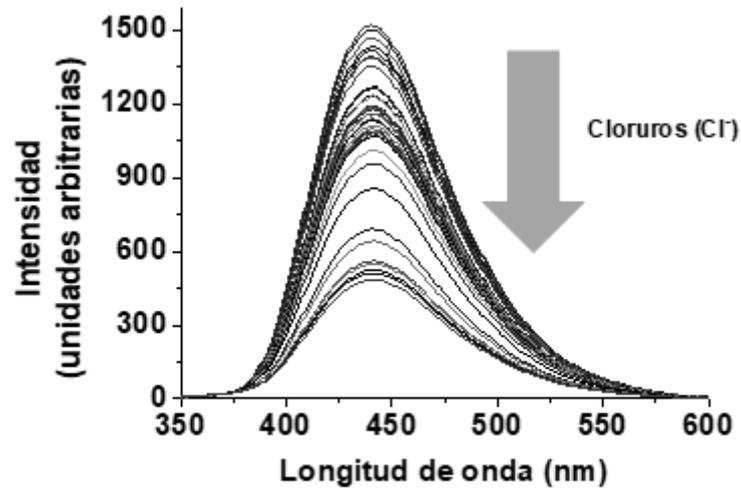


- 5 donde uno de los grupos R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 o R_9 es un grupo OR_{10} , y el resto de los grupos se selecciona cada uno independientemente entre H, OH, halógeno, sulfonilo, $NR_{11}R_{12}$, $COOR_{10}$, $CONR_{11}R_{12}$, alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo; donde R_{10} se selecciona entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo; y donde R_{11} y R_{12} se seleccionan cada uno independientemente entre H, alquilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo o hetarilo.
10. Uso de un copolímero de cualquiera de las reivindicaciones 8 o 9, para la detección y/o cuantificación de aniones.
- 10 11. Uso de acuerdo con la reivindicación 10, donde los aniones son cloruros.
12. Uso de acuerdo con la reivindicación 11, donde la detección y/o cuantificación de cloruros se realiza en aguas industriales o de consumo humano.
13. Uso de acuerdo con la reivindicación 11, donde la detección y/o cuantificación de cloruros se realiza en el sudor.
- 15 14. Uso de un copolímero de cualquiera de las reivindicaciones 8 o 9, para la detección de una enfermedad seleccionada independientemente entre fibrosis quística, insuficiencia adrenal no tratada, displasia ectodérmica, síndrome de colestasis familiar, hipotiroidismo, desnutrición, síndrome maúrico, enfermedad por almacenamiento de glucógeno tipo 1, mucopolisacaridosis, diabetes insípida nefrogénica, fucosidosis, nefrosis o deficiencia de
- 20 glucosa 6 fosfato.
15. Apósito que comprende un copolímero cualquiera de las reivindicaciones 8 o 9 para la detección de una enfermedad seleccionada independientemente entre fibrosis quística, insuficiencia adrenal no tratada, displasia ectodérmica, síndrome de colestasis familiar, hipotiroidismo, desnutrición, síndrome maúrico, enfermedad por almacenamiento de

glucógeno tipo 1, mucopolisacaridosis, diabetes insípida nefrogénica, fucosidosis, nefrosis o deficiencia de glucosa 6 fosfato.

FIGURA 1

A



B

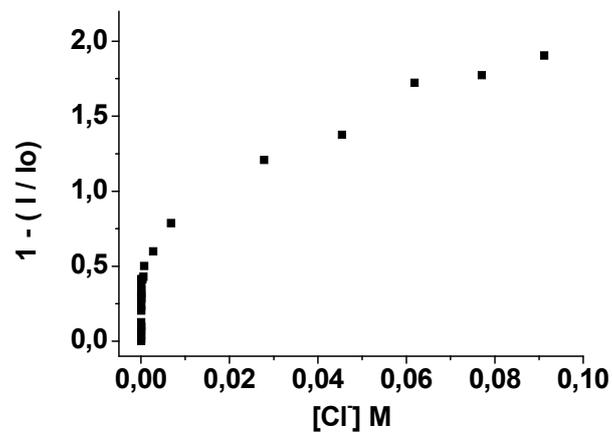


FIGURA 1 (cont.)

C

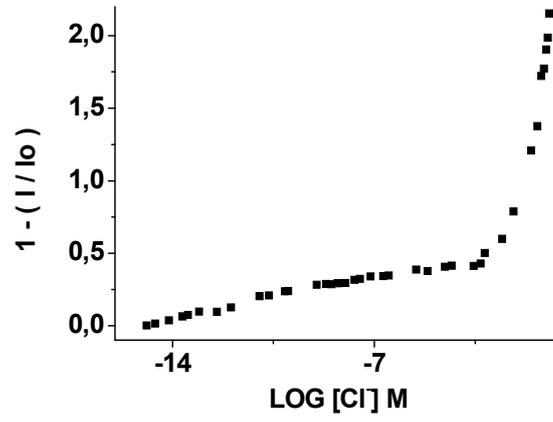


FIGURA 2

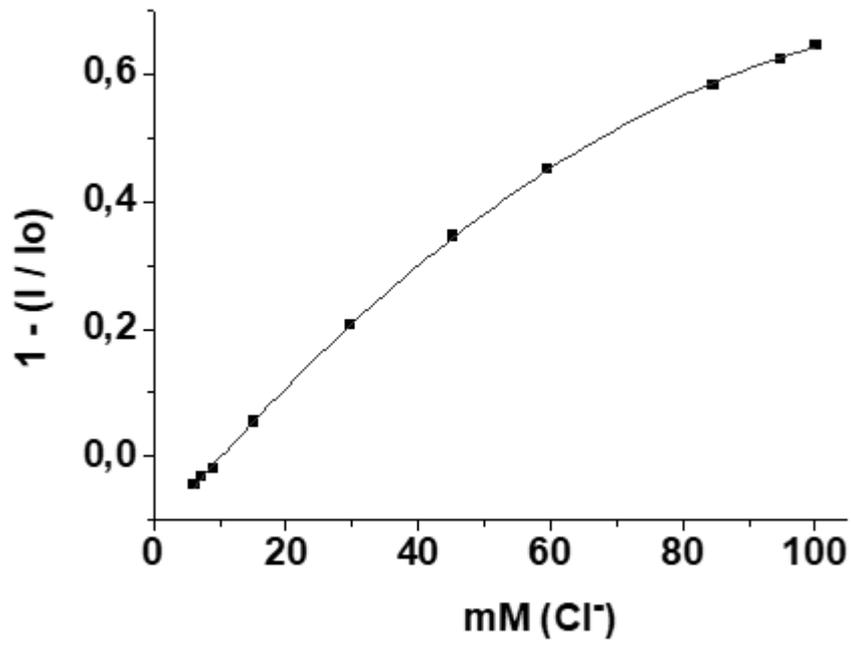
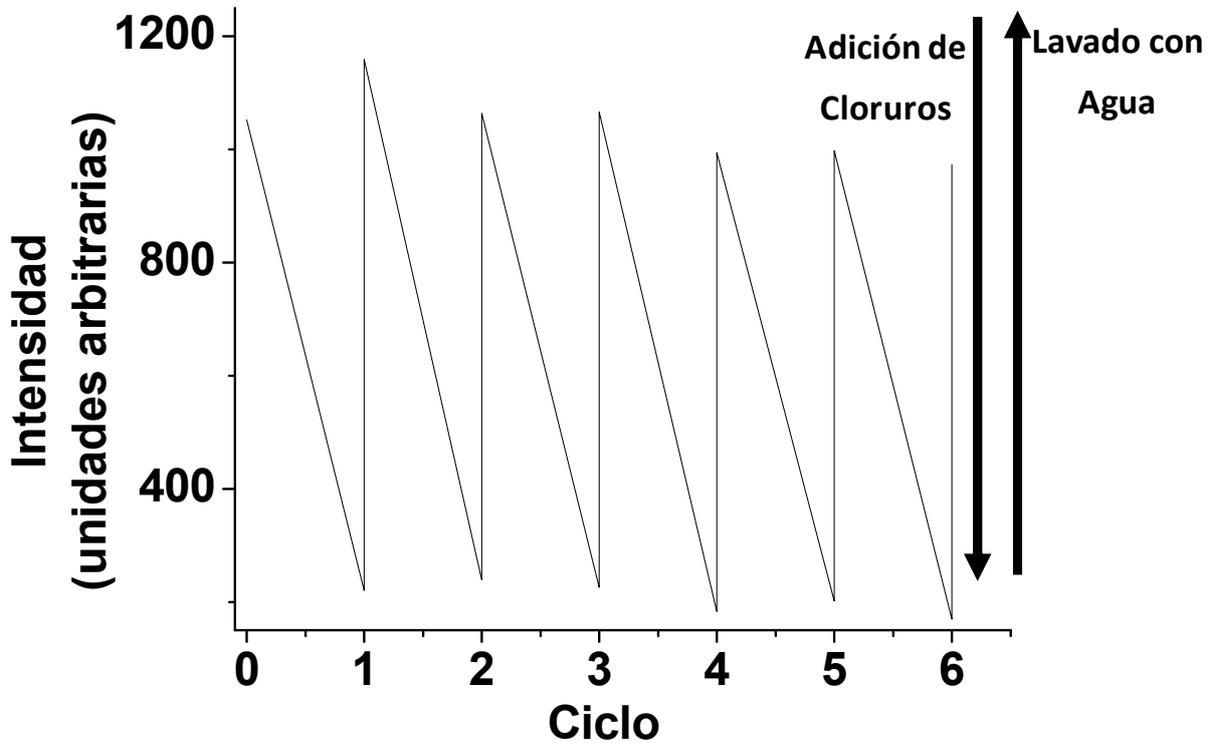


FIGURA 3





②① N.º solicitud: 201730844

②② Fecha de presentación de la solicitud: 27.06.2017

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	GEDDES, C. D. "Halide sensing using the SPQ molecule". Sensors and Actuators B: Chemical, 2001, Vol. 72, Páginas 188-196, <DOI: https://doi.org/10.1016/S0925-4005(00)00658-4>. Ver resumen; apartados 2.3. Y 4.	8-15
X	GEDDES, C. D. ET DOUGLAS, P. "Fluorescent dyes bound to hydrophilic copolymers: Applications in aqueous halide sensing". Applied Polymer Science, 2000, Vol. 76, Páginas 603-615. Recuperado de Internet <URL: 10.1002/(SICI)1097-4628(20000502)76:5<603::AID-APP1>3.0.CO;2-6>. Ver resumen; experimental; tabla 1, colorantes 1 y 2; figura 6.	8-15
X	GEDDES, C. D. "Optical halide sensing using fluorescence quenching: theory, simulations and applications - a review". Measurement science and Technology, 2001, Vol. 12, Páginas R53-R88. Ver apartado 3.3.; tabla 2, entradas E y F.	8-15
A	ES 2525114 A1 (UNIV BURGOS) 18/12/2014, ejemplos 1-5.	1-15
A	CHEN, G. C. "Synthesis of ethylene maleic anhydride copolymer containing fungicides and evaluation of their effect for wood decay resistance". Holzforschung, 2008, Vol. 62, Páginas 488-493. Ver resumen.	1-15

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
20.11.2017

Examinador
N. Martín Laso

Página
1/2

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C08F259/04 (2006.01)

C08F214/00 (2006.01)

C07D215/20 (2006.01)

G01N33/18 (2006.01)

G01N33/48 (2006.01)

G01N33/52 (2006.01)

G01N21/64 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C08F, C07D, G01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, DB-TXT, NPL, XPESP, CAS.