

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 684 868**

21 Número de solicitud: 201730530

51 Int. Cl.:

**G01N 21/64** (2006.01)

**C07C 211/00** (2006.01)

**G01N 33/487** (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

**31.03.2017**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**04.10.2018**

71 Solicitantes:

**UNIVERSIDAD DE BURGOS (100.0%)  
C/ HOSPITAL DEL REY S/N  
09001 BURGOS ES**

72 Inventor/es:

**GARCÍA HERBOSA, Gabriel;  
TORROBA PÉREZ, Tomás;  
CUEVAS VICARIO, José Vicente;  
GARCÍA CALVO, Víctor y  
GARCÍA CALVO, José**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

54 Título: **DISPOSITIVO PARA DETERMINACIÓN FLUORIMÉTRICA DE AMINAS TERCIARIAS**

57 Resumen:

Dispositivo para determinación fluorimétrica de aminas terciarias.

Se describe un dispositivo para la determinación por fluorescencia de aminas terciarias a mediante reactivos, para ello el dispositivo va equipado con una plancha de material transparente e incoloro, otra plancha del mismo material y de las mismas dimensiones sobre la que se practica un surco o canal para que circule el fluido de la muestra problema. Asimismo, se dispone de una válvula que permita regular la entrada de gas en el canal del dispositivo junto con una bomba para introducir la muestra en el canal del dispositivo. Se hace uso de un tubo capilar para conducir la muestra desde la bomba hasta la entrada del canal del dispositivo, y un LED encargado de provocar la emisión de fluorescencia junto con un filtro óptico. Todo ello complementado con un detector de fluorescencia y una fibra óptica para conducir la luz emitida hasta este.

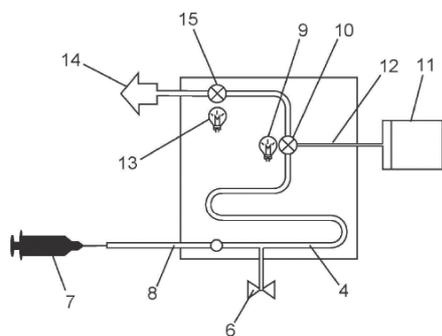


FIG. 1

**DISPOSITIVO PARA DETERMINACIÓN FLUORIMÉTRICA DE AMINAS  
TERCIARIAS**

**DESCRIPCIÓN**

5

La presente invención se refiere a un dispositivo para la determinación por fluorescencia de aminas terciarias utilizando el. El dispositivo está basado en el uso de microfluidos movidos con bomba de jeringa, sistema de iluminación y conducción de la fluorescencia mediante fibra óptica a detector externo al dispositivo.

10

**ESTADO DE LA TÉCNICA**

15

La detección mediante dispositivos portátiles de sustancias potencialmente peligrosas, como gases tóxicos o inflamables, o de algún modo interesantes constituye una de las principales contribuciones a construir una sociedad cada vez más segura. Uno de los aspectos más interesantes de los sistemas de detección portátiles es la capacidad de aportar datos fiables en cortos espacios de tiempo. Normalmente se desea obtener el dato de la cuantificación de la sustancia de interés de modo instantáneo. Así por ejemplo la detección de los niveles de CO, óxidos de nitrógeno en los gases residuales de la combustión en calderas de calefacción o en vehículos se obtiene de modo inmediato mediante la aplicación de sondas de inmersión en el fluido. Sin embargo, en la detección y determinación de, por ejemplo, la cantidad de alcohol etílico presente en el aliento de los conductores requiere que la persona analizada aporte la muestra a analizar.

20

25

Las drogas y su consumo abusivo son un serio problema de salud siendo la causa de millones de enfermedades graves o lesiones, y muchos de los principales problemas sociales, tales como la conducción bajo sus efectos, violencia, estrés y abuso infantil. Además, la adicción derivada de este consumo es una enfermedad crónica, caracterizada por la búsqueda compulsiva de drogas y su uso a pesar de las consecuencias negativas asociadas al mismo.

30

35

Entre las drogas más adictivas se encuentra la heroína, un opioide derivado de la morfina, y que administrada vía intravenosa es entre dos y cuatro veces más potente que la ésta. Tanto esta droga, como el resto de compuestos pertenecientes a la familia de los opiáceos, como de forma más general, las aminas terciarias, tienen muy

variadas aplicaciones tales como fármacos, pesticidas y surfactantes, y por lo tanto el desarrollo de métodos analíticos sensibles para su determinación, especialmente en disolución acuosa, es un aspecto deseable.

5 Los dispositivos portátiles actualmente comercializados para detectar y cuantificar de modo inmediato la presencia de drogas en medios biológicos (DrugTest 5000, Coca-Chip, etc.) se basan en reacciones enzimáticas que se detectan mediante espectroscopía de absorción electrónica o UV-VIS. Los costes por cada análisis son considerablemente elevados. Además, los resultados de los análisis se consideran  
10 únicamente indiciarios a la hora de establecer posibles sanciones. A diferencia de los dispositivos actualmente comercializados, la invención que aquí presentamos se basa en la detección de la emisión fluorescente que aparece al mezclar un kit de reactivos en las condiciones requeridas por el dispositivo. Es bien sabido que la fluorescencia es una técnica mucho más sensible que la de absorción ultravioleta visible.

15

#### **DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION**

En la presente invención se describe un dispositivo portátil para la determinación de aminas terciarias basado en la fluorescencia emitida por una muestra desaireada que  
20 contiene el analito y los reactivos seleccionados, que pueden ser pigmentos tipo xantenos halogenados. Las aminas terciarias son drogas como opiáceos y/o sus derivados de tal manera que el dispositivo de la invención se emplea para la detección y/o cuantificación de heroína en muestras.

25 Se presenta por tanto en este documento, un dispositivo para la detección y cuantificación de aminas terciarias que permite conocer la concentración de amina terciaria presente en la muestra problema a través de la emisión fluorescente inducida mediante iluminación.

30 Adicionalmente, el dispositivo funciona en medio acuoso y utiliza materiales estables por lo que es válido para la determinación *in situ* de sustancias como heroína y opiáceos, en muestras de orina y saliva.

35 Por lo tanto, se describe en este documento un dispositivo para la detección y/o cuantificación fluorimétrica de aminas terciarias, caracterizado por que comprende los siguientes componentes:

- 5
- a) Una plancha lisa de material transparente e incoloro.
  - b) Otra plancha del mismo material y de las mismas dimensiones sobre la que se practica un surco o canal para que circule el fluido de la muestra problema.
  - c) Una válvula que permita regular la entrada de gas en el canal del dispositivo.
  - d) Una bomba de jeringas para introducir la muestra en el canal del dispositivo.
  - e) Un tubo capilar metálico flexible para conducir la muestra desde la bomba de jeringa hasta la entrada del canal del dispositivo.
  - f) Un primer LED que emita a 495 nm (verde o azul) encargado de provocar la excitación responsable de la emisión de fluorescencia.
- 10
- g) Un filtro óptico que sólo permita el paso de longitudes de onda menores de 500 nm.
  - h) Un detector de fluorescencia.
  - i) Fibra óptica para conducir la luz emitida hasta el detector.
  - j) Un receptor en el que ubicar la muestra problema durante el proceso de iluminación.
- 15
- k) Un segundo LED de luz blanca para iluminar la muestra durante el tiempo necesario.
  - l) Un tubo para desechar la muestra que ha discurrido por el canal del dispositivo durante el proceso de medición.

20

Con el dispositivo proporcionado por la presente invención es posible detectar principalmente aminas terciarias.

25

En una realización preferida, el material de la plancha transparente e incoloro es, por ejemplo, vidrio, policarbonato, metacrilato, poliésteres, resinas, poliamidas, polietilenos. En una realización aún más preferida, el material de la plancha transparente e incoloro es policarbonato.

30

En otra posible realización preferida, las dos planchas son lisas y se ensamblan con un separador sobre el que se ha grabado el canal por el que circula el fluido.

En otra realización más preferida, la válvula que regula la entrada de gas en el canal del dispositivo puede tener control manual o automático.

En otra realización aún más preferida, se usa una bomba de jeringas o cualquier pieza similar del mercado que se use para el mismo fin de introducir la muestra a una velocidad determinada.

5 En otra realización todavía más preferida, se usa un capilar, tubo o sistema para llevar la muestra hasta el circuito.

10 El dispositivo de la invención puede ir equipado con un led o cualquier otro sistema de iluminación que consiga la excitación de la muestra para que se produzca una emisión de esta; mientras que se puede hacer uso de un filtro óptico para impedir que las longitudes de onda a las que emite la muestra lleguen hasta esta.

El dispositivo se puede complementar con un detector de emisión de luz para recoger la señal luminosa de la muestra a analizar.

15

En otra realización preferida, se usa cualquier tipo de fibra óptica para llevar la señal hasta el detector.

20 En otra realización preferida, se usa cualquier cámara, cubeta, recipiente, o canal diseñado para la irradiación de la muestra.

En otra realización preferida, se utiliza un led o sistema de iluminación que sea capaz de irradiar la muestra y producir la reacción química.

25 En otra realización preferida, se usa un tubo o cualquier sistema válido para evacuar la muestra del dispositivo una vez concluido el análisis.

30 En la presente invención se entiende por opiáceos tanto a los alcaloides naturales procedentes del opio, como la morfina, codeína y tebaína, entre otros; como a sus derivados semi-sintéticos como heroína y oxicodona, entre otros; y a los opioides completamente sintéticos, tales como petidina y metadona, entre otros.

35 A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la

invención. Los siguientes ejemplos y figuras se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

### **BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS**

5

Figura 1. Muestra un diagrama en el cual se aprecian los distintos componentes del dispositivo de la invención.

10

Figura 2. Muestra una gráfica donde se aprecia la dependencia lineal observada en la calibración del dispositivo con diferentes concentraciones de fluoresceína en un rango de 0,1  $\mu$ M a 10  $\mu$ M.

15

Figura 3. Muestra una gráfica donde se aprecia la variación de los valores de intensidad de emisión obtenidos en el calibrado del dispositivo en función de la concentración de heroína.

### **REALIZACION PREFERENTE**

20

En una realización preferente del objeto de la invención se tiene un dispositivo (1) para determinación fluorimétrica de aminas terciarias mostrado en la figura 1, el cual comprende al menos una primera plancha (2) de material incoloro y transparente a luz en espectro visible, y una segunda plancha (3) también de material incoloro y transparente a luz en espectro visible de aproximadamente el mismo tamaño que la primera plancha (2) y que comprende parcialmente un canal (4) destinado a conducir un fluido de muestra, estando ambas planchas (2,3) separadas por una lámina (5) de material inerte dispuesta entre las dos planchas (2,3) donde dicha lámina (5) comprende parcialmente canal (4); de tal manera que el canal (4) puede quedar definido entre la lámina (5) y la segunda plancha (3). En una realización más preferida, no se dispone de lámina (5) y el canal (4) se encuentra definido únicamente en la segunda plancha (3).

30

35

A dicho canal (4) se encuentra asociada una válvula (6) que puede ser manual o una electroválvula controlada digitalmente y que está destinada a controlar al menos la entrada de gas en el canal (4) el cual también es el encargado de recibir una muestra que es introducida en el mismo mediante una bomba (7), preferentemente de jeringas,

conectada al canal (4) mediante un tubo capilar (8) preferentemente flexible que conduce la muestra desde la bomba (7) hasta una entrada del canal (4).

5 Para llevar a cabo el objeto de la invención se hace uso de un primer emisor (9) de radiación lumínica destinado a provocar la excitación responsable de la emisión de fluorescencia, éste puede ser un emisor tipo LED que emita radiación lumínica con una longitud de onda de aproximadamente 495 nm, el cual se encuentra asociado a un filtro óptico (10) destinado a permitir el paso de longitudes de onda menores de 500 nm, para que un detector (11) de fluorescencia asociado a una fibra óptica (12) para  
10 conducir la radiación emitida por el primer emisor (9) hasta el detector (11) lleve a cabo la detección de fluorescencia producida por la reacción de la muestra al ser irradiada por el primer emisor (9) ya que la muestra se tiene en un contenedor (15), una cámara o una cubeta o similar, destinado a alojar la muestra mientras ésta recibe la radiación por parte del primer emisor (9). El detector (11) puede encontrarse  
15 dispuesto de manera externa al dispositivo (1) o formar parte del mismo dando lugar a posibles configuraciones distintas según requerimientos.

Para poder visualizar la muestra y su recorrido se dispone de un segundo emisor (13) destinado a iluminar la muestra, el cual es de tipo LED y emite luz blanca y que se  
20 encuentra al lado del contenedor (15).

Finalmente, y una vez realizada la determinación de presencia de aminas terciarias y su eventual cuantificación, se dispone de un drenaje (14), como puede ser una canalización conectada al canal (4), destinado a desechar la muestra una vez ha  
25 discurrido por el canal (4).

A continuación, se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que ponen de manifiesto la efectividad del dispositivo (1) de la invención.

30 A menos que se indique lo contrario, los diferentes materiales, concentraciones, y similares especificados en este documento son solo ilustrativos y no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención.

El funcionamiento básico del dispositivo (1) se tiene en una configuración para la  
35 detección y cuantificación de aminas terciarias que permite conocer la concentración de amina terciaria presente en la muestra problema a través de la emisión

fluorescente inducida mediante iluminación con el LED, dispositivo (1) que presenta la válvula (6) que en esta configuración básica se controla manualmente.

5 El dispositivo (1) tiene una entrada de muestra para inyectar la muestra a analizar la cual está conectada mediante el tubo capilar (8) en este caso metálico a la bomba (7) en este caso de jeringa (ver figura 1).

10 La muestra inyectada, impulsada por el gas, recorre el canal (4) del dispositivo (1) de microfluidos hasta alcanzar un determinado punto en el cual la muestra se excita mediante la luz procedente de un LED actuando como primer emisor (9), que atraviesa el filtro óptico (10) de todas las longitudes de onda superiores a 500 nm para proceder a recoger la emisión mediante la fibra óptica (12) conectada al detector (11) de fluorescencia.

15 Una vez que se ha recogido el dato de la intensidad de la emisión, se impulsa la muestra de nuevo abriendo la válvula (6) hasta que el fluido alcanza y llena la cubeta que actúa como contenedor (15) y posteriormente se detiene la impulsión del fluido cerrando la válvula (6). Se procede a la iluminación del contenedor (15) mediante el  
20 segundo emisor (13) que emite luz blanca, ya que en una posible realización preferente ambos se encuentran ubicados juntos. Se detiene la iluminación y se succiona, mediante la bomba (7) de jeringa, el fluido de la muestra hasta posicionarlo de nuevo sobre el citado punto en el cual la muestra se excita mediante la luz procedente de un LED. Se recoge de nuevo el dato de intensidad de emisión mediante la fibra óptica (12) conectada al detector (11) de fluorescencia, y  
25 posteriormente se abre la válvula (6) y se impulsa el fluido hasta la salida para vaciar el circuito del dispositivo (1).

El circuito se puede lavar con agua destilada inyectada e impulsada a través todo el recorrido tantas veces como se considere oportuno.

30

#### Calibrado del dispositivo (1) con fluoresceína.

El calibrado necesario antes de medir muestras como pueden ser orina, sangre, suero, plasma sanguíneo, sudor, saliva, o cabello, y se lleva a cabo mediante la  
35 preparación de varias disoluciones con distintas concentraciones de fluoresceína que se introducen sucesivamente en el dispositivo (1) y se registran los datos de emisión

para cada una de las concentraciones. Se observa linealidad en la relación entre concentración e intensidad de emisión (Figura 2).

La gráfica resultante de estas medidas se ajusta a la siguiente ecuación:

5 
$$I_f = AC + B$$

donde  $I_f$  es la intensidad observada, A es la pendiente de la recta y C es la concentración de fluoresceína.

Calibrado del dispositivo (1) para medir concentraciones de heroína.

10

Se prepararon muestras que contenían heroína con un intervalo de concentraciones desde  $10^{-7}M$  a  $5 \times 10^{-6}M$ . A continuación, la muestra se toma con una jeringa y se inyecta en el dispositivo (1) mediante la bomba de jeringa y se sigue la secuencia indicada anteriormente en la descripción de la invención.

15

Particularmente, la Figura 3 muestra los resultados obtenidos para el calibrado con heroína.

La gráfica resultante de estas medidas se ajusta a la siguiente ecuación:

20 
$$I_f = A(1 - 10^{-BC})$$

donde  $I_f$  es la variación de intensidad antes y después de iluminar la muestra a una longitud de onda determinada, y C es la concentración de heroína que hay en la muestra.

**REIVINDICACIONES**

1. Dispositivo (1) para determinación fluorimétrica de aminas terciarias, caracterizado por que comprende:

5

- al menos una primera plancha (2) de material incoloro y transparente a luz en espectro visible,

- una segunda plancha (3) de material incoloro y transparente a luz en espectro visible que comprende al menos parcialmente un canal (4) destinado a conducir una muestra,

10

- una válvula (6) asociada al canal (4) y destinada a controlar la entrada de gas en el canal (4),

- una bomba (7) destinada a introducir la muestra en el canal (4),

- un tubo capilar (8) flexible destinada a conducir la muestra desde la bomba (7) hasta una entrada del canal (4),

15

- un primer emisor (9) de radiación lumínica destinado a provocar la excitación responsable de la emisión de fluorescencia.

- un filtro óptico (10) asociado primer emisor (9) y destinado a permitir el paso de longitudes de onda menores de 500 nm,

20

- un detector (11) de fluorescencia asociado a una fibra óptica (12) para conducir la radiación emitida por el primer emisor (9) hasta el detector (11),

- un contenedor (15) destinado a alojar la muestra mientras ésta recibe la radiación por parte del primer emisor (9),

- un segundo emisor (13) destinado iluminar la muestra, y

25

- un drenaje (14) conectado al canal (4) y destinado a desechar la muestra una vez ha discurrido por el canal (4).

2. Dispositivo según la reivindicación 1 caracterizado por que adicionalmente comprende una lámina (5) de material inerte dispuesta entre las dos planchas (2,3) que comprende al menos parcialmente canal (4) de tal manera que el canal (4) queda definido entre la lámina (5) y la segunda plancha (3).

30

3. Dispositivo según reivindicación 1 o 2 caracterizado por que el primer emisor (9) está configurado para emitir radiación lumínica con una longitud de onda de 495 nm.

35

4. Dispositivo según reivindicación 1 o 2 caracterizado por que el segundo emisor (13) está configurado para emitir luz blanca.
5. Dispositivo según reivindicación 1 o 2 caracterizado por que la válvula (6) es una electroválvula controlada digitalmente.
6. Dispositivo según reivindicación 1 o 2 caracterizado por que la bomba (7) es una bomba de jeringas.
- 10 7. Dispositivo según reivindicación 1 o 2 caracterizado por que los emisores (9,13) son tipo LED.
8. Dispositivo según reivindicación 1 o 2 caracterizado por que el contenedor (15) es una cámara o una cubeta o similar.
- 15 9. Dispositivo según reivindicación 1 o 2 caracterizado por que el drenaje (14) es una canalización.
- 20 10. Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde la muestra se selecciona de entre: orina, sangre, suero, plasma sanguíneo, sudor, saliva, y cabello.

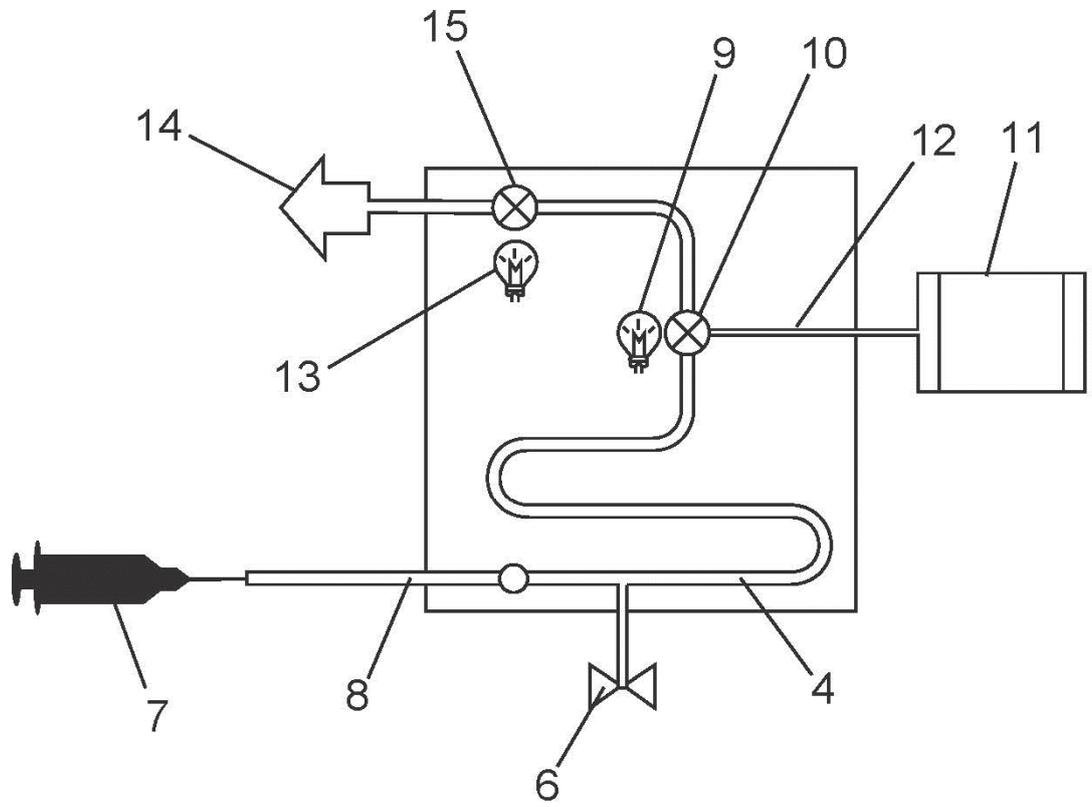


FIG. 1

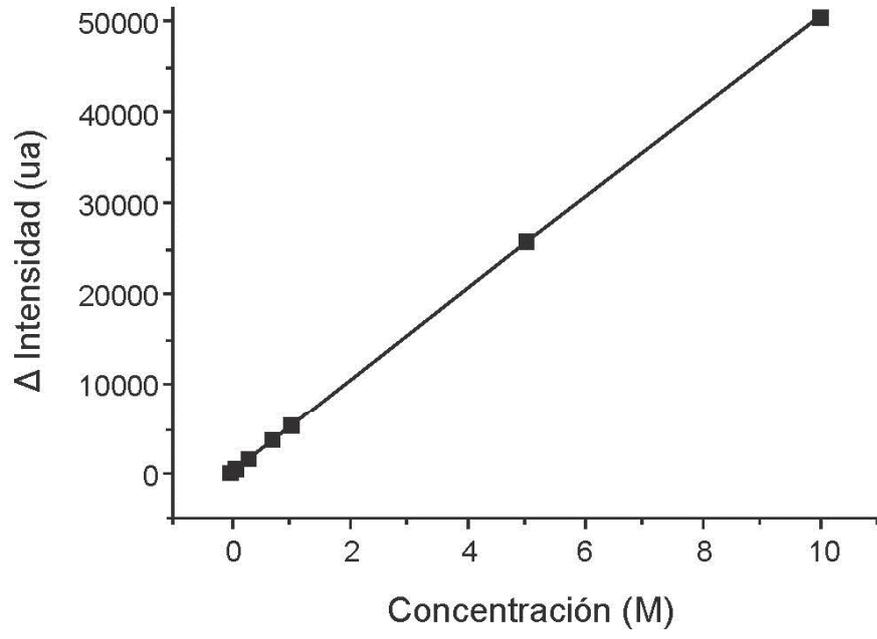


FIG. 2

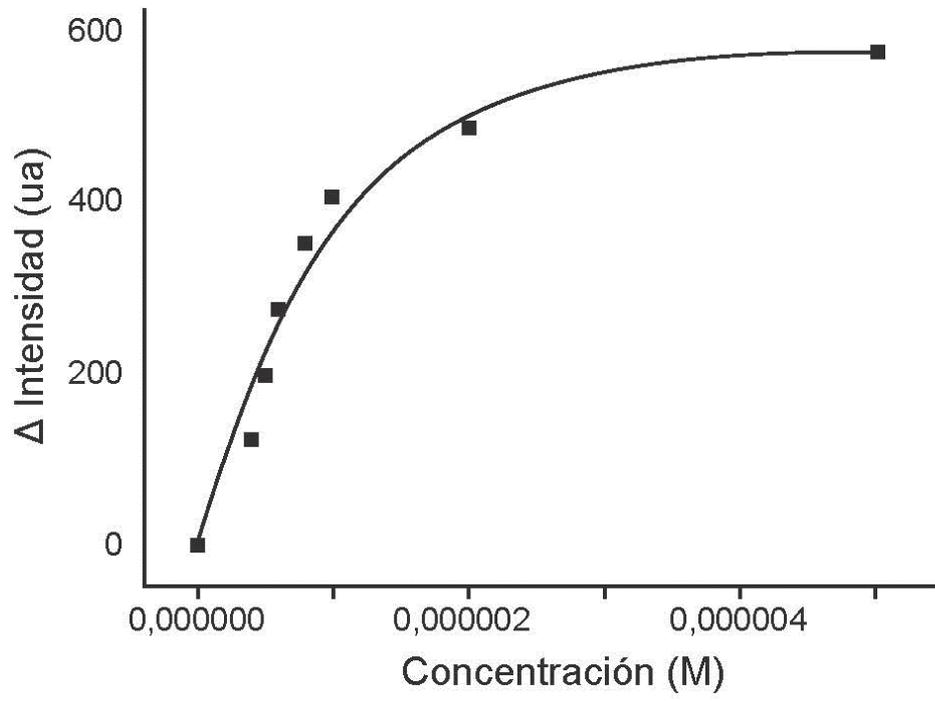


FIG. 3



- ②① N.º solicitud: 201730530  
②② Fecha de presentación de la solicitud: 31.03.2017  
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
A	CN 2432579Y Y (HEFEI INST INTELLIGENT MACH) 30/05/2001, Resumen [en línea] [recuperado el 19.12.2017]. Recuperado de: EPODOC / EPO Database.	1-10
A	WO 2012098241 A2 (UNIV CITY et al.) 26/07/2012, Todo el documento.	1-10
A	WO 2005111586 A1 (LASER DIAGNOSTIC INSTR INTERNA et al.) 24/11/2005, Todo el documento.	1-10
A	US 4008397 A (ZDRODOWSKI JOSEPH JOHN) 15/02/1977, Todo el documento.	1-10
A	US 4172227 A (MCDONALD CAPERS W et al.) 23/10/1979, Todo el documento.	1-10

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  
23.01.2018

Examinador  
J. L. Vizán Arroyo

Página  
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

**G01N21/64** (2006.01)

**C07C211/00** (2006.01)

**G01N33/487** (2006.01)

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

C07C, 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, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, INTERNET

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 23.01.2018

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones 1-10	<b>SI</b>
	Reivindicaciones	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)</b>	Reivindicaciones 1-10	<b>SI</b>
	Reivindicaciones	<b>NO</b>

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

**Base de la Opinión.-**

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

**1. Documentos considerados.-**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	CN 2432579Y Y (HEFEI INST INTELLIGENT MACH)	30.05.2001
D02	WO 2012098241 A2 (UNIV CITY et al.)	26.07.2012
D03	WO 2005111586 A1 (LASER DIAGNOSTIC INSTR INTERNA et al.)	24.11.2005
D04	US 4008397 A (ZDRODOWSKI JOSEPH JOHN)	15.02.1977
D05	US 4172227 A (MCDONALD CAPERS W et al.)	23.10.1979

En D01-D05 se divulgan dispositivos para la detección de drogas por técnicas de fluorimetría.

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

1. NOVEDAD (Art. 4.1. y Art. 6.1. de la Ley de Patentes) y ACTIVIDAD INVENTIVA (Art. 4.1. y Art. 8.1. de la Ley de Patentes).
  - 1.1. El objeto de protección definido en la reivindicación independiente 1, y las dependientes 2-10, comprende unas características técnicas particulares que satisfacen los requisitos de novedad y actividad inventiva con respecto al estado de la técnica, representado por los documentos D01-D05.  
En dicho estado de la técnica no se ha divulgado ningún dispositivo para determinación fluorimétrica de aminas terciarias con las características técnicas referidas en las reivindicaciones de la solicitud. Además, el dispositivo reivindicado en la solicitud no se deduce de una manera obvia del estado de la técnica pertinente.  
Por consiguiente, se considera que el objeto de las reivindicaciones 1-10 es nuevo e inventivo (Art. 4.1., Art. 6.1. y Art. 8.1. de la Ley de Patentes).