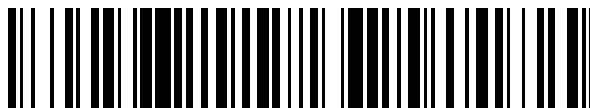


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 427 714**

21 Número de solicitud: 201230486

51 Int. Cl.:

C07F 5/02 (2006.01)

C09B 57/00 (2006.01)

C09K 11/07 (2006.01)

G03C 1/73 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

30.03.2012

43 Fecha de publicación de la solicitud:

04.11.2013

71 Solicitantes:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS (CSIC) (55.0%)
Serrano, 117
28006 Madrid ES y
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
(45.0%)**

72 Inventor/es:

**GARCÍA-MORENO GONZALO, Inmaculada;
COSTELA GONZÁLEZ, Ángel;
CHIARA ROMERO, José Luis;
DURÁN SAMPEDRO, Gonzalo;
ORTIZ GARCÍA, María Josefa y
RODRÍGUEZ AGARRABEITIA, Antonia**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

54 Título: **Nuevos derivados clorados de BODIPY**

57 Resumen:

Nuevos derivados clorados de BODIPY.

La presente invención se refiere a unos nuevos colorantes con estructura de BODIPY caracterizados porque contienen al menos un átomo de cloro unido a los carbonos del sistema boradiazaindaceno, a su uso como colorantes láser y como marcadores fluorescentes y a un procedimiento de obtención de algunos de estos compuestos.

ES 2 427 714 A1

NUEVOS DERIVADOS CLORADOS DE BODIPY

DESCRIPCIÓN

5 SECTOR DE LA TÉCNICA

La presente invención se refiere en general al campo de los colorantes, a colorantes con estructura de BODIPY en particular y específicamente a derivados clorados de colorantes BODIPY.

10 ESTADO DE LA TÉCNICA

Entre los colorantes orgánicos, los 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacenos, conocidos comúnmente con el nombre comercial BODIPY, se consideran hoy como unos de los colorantes más útiles y versátiles que existen. El interés en los BODIPYs se origina por sus buenas propiedades fotofísicas, como elevados coeficientes de absorción, rendimientos cuánticos de fluorescencia y fotoestabilidad, así como por una baja sensibilidad a los efectos del entorno y una alta versatilidad química. En la actualidad, el desarrollo de nuevos colorantes fluorescentes BODIPY se ha convertido en un campo en auge de la investigación, debido a sus posibles aplicaciones como sensores en biología y en el diagnóstico clínico, como fotosensibilizadores para la terapia fotodinámica (PDT), como sistemas láser, como guías de onda, para la fabricación de diodos emisores de luz (OLED), como células fotovoltaicas y como dispositivos electroluminiscentes, además de sus habituales aplicaciones como colorantes orgánicos. Estas y otras aplicaciones emergentes están condicionadas por la longitud de onda de emisión, el rendimiento cuántico y la estabilidad de los colorantes en las condiciones de trabajo necesarias para cada uso específico, que pueden ser especialmente importantes en el desarrollo de nuevas técnicas de imagen en microscopía óptica, que requieren de un láser de alta intensidad de irradiación. En este último caso, uno de los principales problemas relacionados con el uso de colorantes, tanto como fuente de radiación láser o como marcador biológico, es su exposición a elevadas irradiaciones de bombeo y temperatura, lo que limita significativamente su fotoestabilidad, disminuyendo la vida útil de los colorantes.

Debido a la amplia aplicabilidad de estos compuestos, se hace necesaria la búsqueda de nuevos BODIPY con estabilidad y eficiencia superiores a los actualmente descritos. La introducción de diferentes sustituyentes y su distribución en la estructura de los BODIPYs es clave para modular y mejorar sus propiedades. Son conocidos varios derivados de BODIPY que contienen átomos de cloro unidos a los átomos de carbono del sistema de boradiazaindaceno. En la mayoría de casos, la funcionalización con este sustituyente se realiza con la intención de modular su potencial redox (Krumova, K.; Cosa, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 17560–17569) y sus valores de pH (Baruah, M.; Qin, W.; Basaric, N.; De Borggraeve, W. M.; Boens, N. *J. Org. Chem.* **2005**, 70(10), 4152-4157) o para su uso como intermedio de síntesis en la preparación de otros compuestos (Zhao, C.; Zhang, Y.; Feng, P.; Cao, J. *Dalton Trans.* **2012**, 41, 831-838. Ortiz, M. J.; Agarrabeitia, A. R.; Duran-Sampedro, G.; Banelos Prieto, J.; Lopez, T. A.; Massad, W. A.; Montejano, H. A.; Garcia, N. A.; Lopez Arbeloa, I. *Tetrahedron* **2012**, 68, 1153-1162. Leen V. Leemans T.; Boens N.; Dehaen, W. *Eur. J. Org. Chem.* **2011** 4386–4396, Dodani, S. C.; Leary, S. C.; Cobine, P. A.; Winge, D. R.; Chang, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 8606-8616. Leen V. Leemans T.; Boens N.; Dehaen, W. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 4386–4396. Leen, V.; Braeken, E.; Luckermans, K.; Jackers, C.; Van der Auweraer, M.; Boens, N.; Dehaen, W. *Chem. Commun.* **2009**, 4515-4517; Rohand, T.; Baruah, M.; Qin, W.; Boens, N.; Dehaen, W. *Chem. Commun.* **2006**, 266–268) o como marcador fluorescente (Kim, T.-I.; Park, S.; Choi, Y.; Kim, Y. *Chem. Asian J.* **2011**, 6, 1358-1361. Dilek, O.; Bane, S. L. *J. Fluoresc.* **2011**, 21, 347-354).

El artículo en *Chem Asian J.* incluye BODIPYs con cloro en la posición R² (ver fórmula I más adelante) y su uso como sensores de HOCl en células. Por otro lado, el artículo de *J. Fluoresc.* incluye BODIPYs con cloro en la posición R¹ y su posible uso para marcar proteínas, al igual que el artículo en *J. Am. Chem. Soc.* (2010) que incluye BODIPYs con cloro en R² y R⁶. Sin embargo, en ninguno de estos artículos se estudia la fotoestabilidad de los nuevos colorantes halogenados. Todos nuestros compuestos muestran alta fotoestabilidad y en esta invención se correlaciona esta propiedad con el número y posición de los átomos de cloro. Ninguno de los compuestos descritos en estos dos artículos entra dentro de la definición del compuesto de fórmula I de la presente invención. Los compuestos descritos en estos dos documentos contienen grupos amino y tioeter unidos directamente al boradiazaindaceno y son sensores solo útiles para sustratos con grupos aldehídos o para especies oxidantes.

Hasta el momento no se ha estudiado de forma general el efecto de la introducción de uno o más átomos de cloro en el anillo de boradiazaindaceno de los colorantes BODIPY y su uso como colorante láser o marcador fluorescente. En los casos anteriores, la obtención de estos compuestos, sus propiedades y aplicaciones están limitadas por la presencia de otros grupos funcionales y en ningún caso se correlaciona directamente la presencia de átomos de cloro con una mejora en las propiedades ópticas y la fotoestabilidad de los colorantes.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención describe unos nuevos colorantes con estructura de BODIPY caracterizados porque comprenden en su estructura al menos un átomo de cloro covalentemente unido al sistema carbonado de boradiazaindaceno del colorante. La mayoría de los compuestos de la presente invención se pueden preparar mediante un nuevo procedimiento de post-funcionalización, basado en la reacción del boradiazaindaceno con un agente de cloración en presencia de un disolvente orgánico.

Se ha aplicado este tipo de funcionalización sobre diferentes colorantes BODIPY (en algunos casos comerciales) utilizados comúnmente como medio activo en láseres y con los que se puede conseguir emisión a diferentes longitudes de onda. Se ha observado que la presencia de un solo átomo de cloro en la estructura del colorante permite mejorar la fotoestabilidad y la eficiencia láser de los colorantes respecto a sus análogos no clorados. Este incremento de las propiedades ópticas es aún mayor al aumentar el número de átomos de cloro en la molécula de colorante.

Estos nuevos compuestos pueden ser especialmente útiles como medio activo en láseres de colorante tanto en fase líquida como en estado sólido, aumentando la vida útil de éstos y también en todas aquellas aplicaciones ópticas y analíticas propias de los colorantes como por ejemplo sensores o marcadores en técnicas de análisis basadas en espectroscopia láser.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

En un primer aspecto, la presente invención describe el uso de un compuesto de formula I



I

donde,

al menos uno de los sustituyentes R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 es un átomo de cloro unido directamente a un carbono del sistema boradiazaindaceno, y los sustituyentes R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 diferentes de cloro se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno diferente de cloro, ciano, alquilo, arilo, alquenilo, alquinilo, alcoxilo y heterociclo, con la condición que R^4 no es un alquilo sustituido con hidroxilo o acilo; como colorante láser o marcador fluorescente.

El término "alquilo" se refiere, en la presente invención, a radicales de cadenas hidrocarbonadas, lineales o ramificadas, que tienen de 1 a 10 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 4, y que se unen al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, por ejemplo, metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *n*-butilo, *tert*-butilo, *sec*-butilo, *n*-pentilo, *n*-hexilo, etc. Los grupos alquilo pueden estar sustituidos por uno o más sustituyentes tales como halógeno, hidroxilo, alcoxilo, amino, carboxilo, acilo, alcoxycarbonilo, nitro, mercapto o alquiltio.

El término "alquenilo" se refiere a radicales de cadenas hidrocarbonadas de 2 a 25 átomos de carbono, preferiblemente de 4 a 20, que contienen uno o más enlaces carbono-carbono dobles, por ejemplo, vinilo, 1-propenilo, alilo, isoprenilo, 2-butenilo, 1,3-butadienilo, hexenilo, octenilo, etc. Los radicales alquenilos pueden estar sustituidos por uno o más sustituyentes tales como halógeno, hidroxilo, alcoxilo, amino, carboxilo, ciano, arilo, carbonilo, acilo, alcoxycarbonilo, amino, nitro, mercapto o alquiltio.

El término "alquinilo" se refiere a radicales de cadenas hidrocarbonadas de 2 a 25 átomos de carbono, preferiblemente de 4 a 24, que contienen uno o más enlaces carbono-carbono triples, por ejemplo, propinilo, butinilo, etc. Los radicales alquinilos pueden estar sustituidos por uno o más sustituyentes tales como halógeno, hidroxilo, alcoxilo, carboxilo, ciano, arilo, amino, carbonilo, acilo, alcoxycarbonilo, amino, nitro, mercapto o alquiltio.

El término "acilo" se refiere, en la presente invención, a radicales de ácidos carboxílicos lineales o ramificados, que tienen de 1 a 6 átomos de carbono, y que se unen al resto de la molécula mediante un enlace éster. Los radicales acilo pueden estar sustituidos por uno o más sustituyentes tales como halógeno, hidroxilo, alcoxilo, carboxilo, ciano, arilo, amino, carbonilo, acilo, alcoxycarbonilo, amino, nitro, mercapto o alquiltio.

El término "arilo" se refiere en la presente invención a un hidrocarburo aromático monocíclico, bicíclico, tricíclico o tetracíclico que comprende una estructura aromática formada por entre 6 y 16 átomos de carbono, por ejemplo, fenilo, naftilo, indenilo, fenantrilo, antracilo o pirenilo. El grupo arilo puede estar sustituido por uno o más sustituyentes tales como alquilo, alquenilo, alquinilo, haloalquilo, amino, alquilamino, arilamino, dialquilamino, hidroxilo, alcoxilo, fenilo, mercapto, halógeno, nitro, ciano, carbonilo o alcocarbonilo.

El término "heterociclo" se refiere en la presente invención a un radical estable monocíclico o policíclico de 3 a 15 miembros, que puede estar insaturado, saturado o parcialmente saturado, y que consiste en átomos de carbono y al menos en un heteroátomo seleccionado del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre. Preferiblemente tiene de 4 a 8 miembros con uno o más heteroátomos y, más preferiblemente, de 5 a 6 miembros con uno o más heteroátomos. Ejemplos de heterociclos pueden ser, no limitativamente: azepinas, indoles, imidazoles, isotiazoles, tiadiazoles, furanos o tiofenos. Por ejemplo, tetrahydrofurano, benzimidazol, benzotiazol, piperidina, piperazina, purina o quinolina.

El término "alcoxilo" se refiere a un grupo R-O, donde R es un alquilo, alquenilo, alquinilo o arilo tal como se ha definido anteriormente.

En la presente invención se entiende por "colorante láser" un compuesto que puede actuar como medio activo para generar y/o emitir radiación láser.

En la presente invención se entiende por "marcador fluorescente" un compuesto que comprende al menos un grupo químico, el cual después de ser excitado con luz está por sí mismo capacitado para la emisión de luz. Este marcador fluorescente puede unirse a un segundo compuesto, preferentemente una biomolécula o un producto químico, permitiendo la detección de este último mediante técnicas basadas en emisión de fluorescencia inducida por láser.

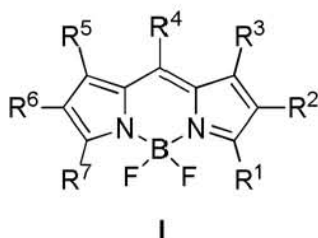
En una realización preferida, la presente invención se refiere al uso del compuesto de fórmula I tal como se describe en esta solicitud de patente, donde dicho compuesto comprende al menos dos átomos de cloro en las posiciones R¹, R², R³, R⁵, R⁶ o R⁷, como colorante láser o marcador fluorescente.

En una realización aún más preferida, la presente invención se refiere al uso del compuesto de fórmula I tal como se describe en esta solicitud de patente, donde dicho compuesto comprende al menos cuatro átomos de cloro en las posiciones R¹, R², R³, R⁵, R⁶ o R⁷, como colorante láser o marcador fluorescente.

En otra realización preferida, el compuesto de fórmula I se utiliza como marcador fluorescente en una técnica de imagen y/o análisis basada en emisión de fluorescencia inducida por láser, y dicho compuesto de fórmula I se puede encontrar unido covalentemente a una biomolécula seleccionada del grupo que consiste en un aminoácido, péptido, proteína, lípido, carbohidrato, anticuerpo, ácido nucleico y toxina. En una realización más preferida la técnica de análisis puede ser la microscopia láser.

En otra realización preferida, el compuesto de fórmula I se utiliza como colorante láser en un sistema láser utilizado en una técnica analítica, fotoelectrónica o biofotónica. Los compuestos de fórmula I de la presente invención aumentan la eficacia y fotoestabilidad de los sistemas láseres actualmente comercializados,

En un segundo aspecto, se describe un compuesto fluorescente de fórmula I



donde

(a) R⁴ es un grupo arilo,

R¹, R³, R⁵ y R⁷ se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo y heterociclo,

al menos uno de los sustituyentes R² o R⁶ es un átomo de cloro y el otro sustituyente, si no es cloro, se selecciona de forma independiente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno diferente de cloro, alquilo, arilo y heterociclo; o

(b) R^4 es un grupo alquilo no sustituido,

R^1 , R^3 , R^5 y R^7 se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en halógeno, alquilo, alqueniilo, alquinilo, arilo y heterociclo,

5 al menos uno de los sustituyentes R^2 o R^6 es un átomo de cloro y del otro sustituyente, si no es cloro, se selecciona de forma independiente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno diferente de cloro, alquilo, arilo y heterociclo; o

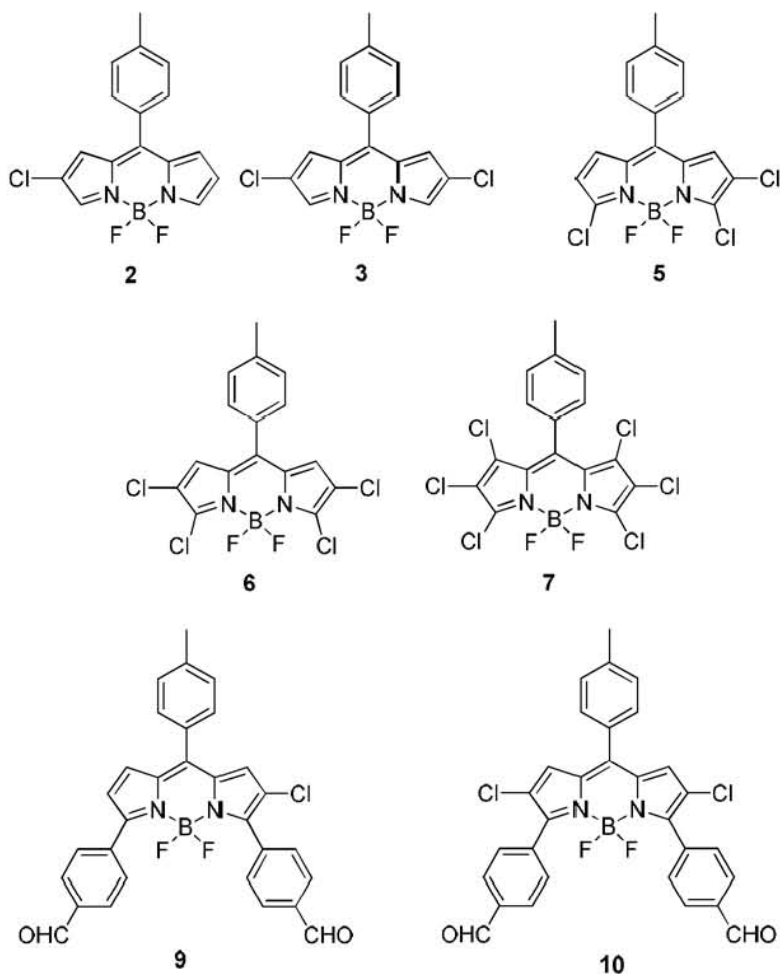
(c) R^4 , R^5 , R^6 y R^7 son grupos alquilo iguales o diferentes,

10 al menos uno de los sustituyentes R^1 , R^2 o R^3 es un átomo de cloro y el resto de sustituyentes, si no son cloro, se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, arilo y heterociclo.

En una realización preferida, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula I tal como se define en (a) donde R^4 puede ser un hidrocarburo aromático monocíclico, que puede estar sustituido por uno o más sustituyentes tales como alquilo, alqueniilo, alquinilo o arilo. Más preferentemente R^4 es fenilo o fenilo sustituido con un alquilo C1-C4. De forma especialmente preferida, R^4 es toliilo.

Preferiblemente, la invención tal como se describe en esta solicitud de patente se refiere a un compuesto de fórmula I tal como se define en (a) donde R^1 , R^3 , R^5 y R^7 se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno y arilo monocíclico, siendo especialmente preferible que además R^4 sea un grupo toliilo.

En una realización aún más preferida, el compuesto de fórmula I de la presente invención tal como se define en (a), preferiblemente cuando R^4 es toliilo y R^1 , R^3 , R^5 y R^7 se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno y arilo monocíclico, se selecciona del grupo que consiste en 2, 3, 5, 6, 7, 9 y 10.

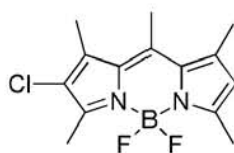


En otra realización preferida, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula I tal como se define en (a), preferiblemente cuando R⁴ es toliolo, donde R¹, R², R⁶ y R⁷ son átomos de cloro.

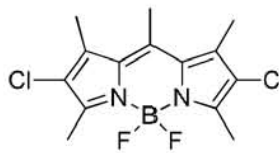
5 En otra realización preferida, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula I tal como se define en (a) donde R¹, R², R³, R⁵, R⁶ y R⁷ son átomos de cloro. Preferiblemente, R⁴ puede ser un hidrocarburo aromático monocíclico, que puede estar sustituido por uno o más sustituyentes tales como alquilo, alquenoilo, alquinoilo o arilo.

10 En otra realización preferida, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula I tal como se define en (b), donde preferentemente R¹, R³, R⁵ y R⁷ se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno o alquilo. Más preferentemente R⁴ es un alquilo C1-C10, y R¹, R³, R⁵ y R⁷ se seleccionan de forma independiente entre hidrógeno, halógeno o alquilo C1-C4. De forma aún más preferible, R⁴ es un alquilo C1-C10 y R¹, R³, R⁵ y R⁷ son metilo.

15 Preferiblemente, el compuesto de fórmula I tal como se define en (b) de la presente invención, donde R⁴ es un alquilo C1-C10 y R¹, R³, R⁵ y R⁷ son grupos metilo, se selecciona del grupo que comprende 16 y 17.



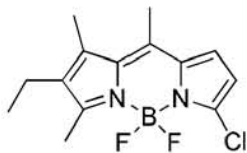
16



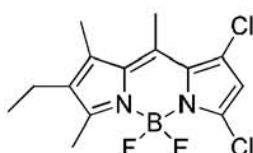
17

20 En otra realización preferida, la invención descrita en esta solicitud de patente se refiere a un compuesto de fórmula I tal como se define en (c), donde R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ son grupos alquilo C1-C4 iguales o diferentes, R¹ es cloro, y R² y R³ se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en hidrógeno y cloro. Preferiblemente, el compuesto de fórmula I de la presente invención se selecciona del grupo que consiste en 12, 13 y 14.

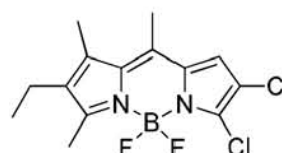
25



12



13



14

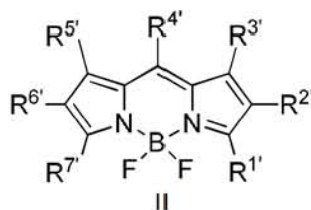
30 En otra realización preferida, la presente invención también se refiere al uso como colorante láser o marcador fluorescente del compuesto fluorescente de fórmula I tal como se describe en este segundo aspecto de la invención. Preferiblemente, cuando el compuesto se utiliza como marcador fluorescente en una técnica de imagen y/o análisis basada en emisión de fluorescencia inducida por láser, y dicho compuesto de fórmula I se puede encontrar unido covalentemente a una biomolécula seleccionada del grupo que consiste en un aminoácido, péptido, proteína, lípido, carbohidrato, anticuerpo, ácido nucleico y toxina. En una realización mas preferida la técnica de análisis puede ser la microscopia láser.

35

Por otro lado, también se prefiere que el compuesto de fórmula I se utilice como colorante láser en un sistema láser utilizado en una técnica analítica, fotoelectrónica o biofotónica. Los compuestos de fórmula I de la presente invención aumentan la eficacia y fotoestabilidad de los sistemas láseres actualmente comercializados,

40 En un tercer aspecto de la invención se describe un procedimiento de obtención de un compuesto de fórmula I tal como se describe en esta solicitud de patente en las opciones (a) o (b), tanto en su definición más general como en las realizaciones preferidas descritas en esta solicitud de patente, caracterizado porque comprende una reacción de cloración entre un compuesto de fórmula II y un agente de cloración en presencia de un disolvente orgánico,

45



donde

- 5 al menos un sustituyente $R^{2'}$ o $R^{6'}$ es un átomo de hidrógeno unido directamente al sistema boradiazaindaceno y el otro sustituyente, si no es hidrógeno, se selecciona de forma independiente del grupo que consiste en halógeno, alquilo, arilo y heterociclo, $R^{1'}$, $R^{3'}$, $R^{5'}$ y $R^{7'}$ se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alqueno, alquino, arilo y heterociclo, y
- 10 $R^{4'}$ es un grupo arilo o alquilo no sustituido.

En una realización preferida, la presente invención se refiere a un procedimiento de obtención de un compuesto de fórmula I tal como se definen en las opciones (a) o (b), tanto en su definición más general como en las realizaciones preferidas descritas en esta solicitud de patente, que comprende la cloración de un compuesto de fórmula II donde los sustituyentes $R^{1'}$, $R^{3'}$, $R^{4'}$, $R^{5'}$ y $R^{7'}$ tienen el mismo significado que los correspondientes sustituyentes R^1 , R^3 , R^4 , R^5 y R^7 en el compuesto de fórmula I definido en esta solicitud de patente.

15

En una realización aún más preferida, la presente invención se refiere a un procedimiento de obtención de un compuesto de fórmula I tal como se define en los párrafos anteriores, que comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula II donde $R^{2'}$ y $R^{6'}$ son hidrógenos, con un agente de cloración en presencia de un disolvente orgánico para obtener un compuesto de fórmula I donde R^2 y R^6 son cloro.

20

Se entiende como agente de cloración un reactivo capaz de inducir la formación de un enlace covalente cloro-carbono en un sistema aromático o alifático.

25

El procedimiento de obtención de un compuesto de fórmula I tal como se describe en esta solicitud de patente puede comprender la utilización de un agente de cloración seleccionado del grupo que consiste en cloro, una sal de hipoclorito, pentacloruro de fósforo, un cloruro de un metal de transición, o un compuesto orgánico que contiene uno o varios enlaces cloro-amino como por ejemplo la *N*-clorosuccinimida o la *N,N'*-diclorobis-(2,4,6-trichlorofenil)urea. Preferiblemente, el agente de cloración es *N*-clorosuccinimida (NCS).

30

El procedimiento de obtención de un compuesto de fórmula I tal como se describe en esta solicitud de patente puede tener lugar en presencia de un disolvente orgánico que se selecciona del grupo que consiste en agua, acetonitrilo, *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, diclorometano, 1,2-dicloroetano, cloroformo, tetracloruro de carbono, dietil éter, *t*-butil metil éter, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, acetato de etilo, acetato de isopropilo, metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol, 1-butanol o *t*-butanol. Preferiblemente, el disolvente orgánico es tetrahidrofurano (THF).

35

En una realización especialmente preferida, el procedimiento de obtención de un compuesto de fórmula I tal como se describe en esta solicitud de patente comprende la utilización de *N*-clorosuccinimida como agente de cloración y tetrahidrofurano (THF) como disolvente orgánico.

40

El procedimiento de obtención de un compuesto de fórmula I tal como se describe en esta solicitud de patente puede tener lugar a una temperatura comprendida entre 0 y 140 °C. Preferiblemente, la reacción tiene lugar a una temperatura comprendida entre 10 y 70 °C.

45

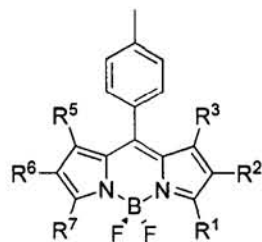
A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

50

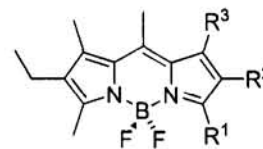
55

EJEMPLOS

A. SÍNTESIS DE LOS COMPUESTOS DE LA INVENCION



	R ¹	R ²	R ³	R ⁵	R ⁶	R ⁷
1	H	H	H	H	H	H
2	H	H	H	H	Cl	H
3	H	Cl	H	H	Cl	H
4	Cl	H	H	H	H	Cl
5	Cl	Cl	H	H	H	Cl
6	Cl	Cl	H	H	Cl	Cl
7	Cl	Cl	Cl	Cl	Cl	Cl
8	4-C ₆ H ₄ CHO	H	H	H	H	4-C ₆ H ₄ CHO
9	4-C ₆ H ₄ CHO	Cl	H	H	H	4-C ₆ H ₄ CHO
10	4-C ₆ H ₄ CHO	Cl	H	H	Cl	4-C ₆ H ₄ CHO



	R ¹	R ²	R ³
11	H	H	H
12	Cl	H	H
13	Cl	H	Cl
14	Cl	Cl	H



	R ²	R ⁶
15	H	H
16	H	Cl
17	Cl	Cl

5

Todos los reactivos utilizados en la preparación de los BODIPYs son comerciales o se prepararon siguiendo métodos previamente descritos en la literatura. Los disolventes se secaron y se destilaron antes de su uso. Se comprobó que los datos espectroscópicos de los compuestos de partida concordaran con los datos de la literatura. Los productos se purificaron mediante cromatografía en columna flash utilizando gel de sílice Merck 60 (230-400 mesh). Los espectros de ¹H y ¹³C RMN se realizaron en un espectrómetro Bruker Avance DPX-300 (300 MHz para ¹H y 75 MHz para ¹³C) y un espectrómetro Bruker Avance III (700 MHz para ¹H y 176 MHz para ¹³C). Todos los espectros se realizaron en CDCl₃. Los desplazamientos químicos ¹H se indican en ppm respecto al tetrametilsilano (δ = 0,00 ppm), utilizando la señal de disolvente residual como referencia interna. Los desplazamientos químicos de ¹³C se indican en ppm utilizando CDCl₃ (δ = 77,67 ppm) como patrón interno. Las multiplicidades en el desplazamiento químico se indican como s = singlete, d = doblete, t = triplete, q = cuarteto y m = multiplete. Los espectros de IR (en cm⁻¹) se realizaron en un espectrómetro Bruker Tensor-27-FTIR. Los puntos de fusión se determinaron en capilares abiertos y están sin corregir. Los espectros de masas de alta resolución se realizaron por ESI en un FTMS Bruker APEX Q IV y por EI en un Thermofisher MAT 95 XP

Los colorantes BODIPY 1, 4, 8 y 11 fueron sintetizados según métodos descritos anteriormente en la literatura (Cui, A.; Peng, X.; Fan, J.; Chen, X.; Wu, Y.; Guo, B. *J. Photochem. Photobiol. A* **2007**, *186*, 85-92; Rohand, T.; Baruah, M.; Qin, W.; Boens, N.; Dehaen, W. *Chem. Commun.* **2006**, 266-268; Ortiz, M. J.; Garcia-Moreno, I.; Agarrabeitia, A. R.; Duran-Sampedro, G.; Costela, A.; Sastre, R.; López Arbeloa, F.; Bañuelos Prieto, J.; López Arbeloa, I. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12*, 7804-7811; Bañuelos-Prieto, J.; Agarrabeitia, A. R.; Garcia-Moreno, I.; Lopez-Arbeloa, I.; Costela, A.; Infantes, L.; Perez-Ojeda, M. E.; Palacios-Cuesta, M.; Ortiz, M. J. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 14094-14105). El colorante BODIPY 15 se compró a Lasing, S. A.

Procedimiento general de cloración de los BODIPYs

Sobre una disolución en agitación de BODIPY en THF anhidro se adiciona N-clorosuccinimida (NCS) en THF anhidro a temperatura ambiente y la mezcla se agita durante 12-72 h bajo atmosfera de argón. Al finalizar la

reacción, la mezcla se diluye con AcOEt, se lava con HCl 10% y H₂O, se seca con MgSO₄ y se evapora a sequedad. Los colorantes clorados se purifican por cromatografía en columna.

5 **2-Cloro-4,4-difluoro-8-(4-tolil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (2):** siguiendo el procedimiento general de cloración, se hizo reaccionar el BODIPY **1** (50 mg, 0.18 mmol) en THF anhidro (20 mL) con NCS (47 mg, 0.36 mmol) en THF anhidro (5 mL) durante 12 h. Se realizó una purificación por cromatografía en columna utilizando hexano/EtOAc (98:2) y se obtuvo **2** (45 mg, 80%) como un sólido verde-naranja. m.p. 171.8-172.0 °C; ¹H NMR (700 MHz, CDCl₃): δ 7.92 (1 H, s, H-5), 7.68 (1 H, s, H-3), 7.39 (2 H, d, J = 8.4 Hz, H-2'), 7.28 (2 H, d, J = 8.4 Hz, H-3'), 6.95 (1 H, d, J = 4.2 Hz, H-7), 6.74 (1 H, s, H-1), 6.52 (1 H, d, J = 4.2 Hz, H-6), 2.41 (3 H, s, CH₃); ¹³C NMR (176 MHz, CDCl₃): δ 147.8 (C-8), 145.8 (CH-5), 142.0 (C-4'), 139.7 (CH-3), 135.4 (C-7a), 133.2 (C-8a), 133.1 (CH-7), 130.6 (2 CH-2'), 130.5 (C-1'), 129.4 (2 CH-3'), 127.3 (CH-1), 121.5 (C-Cl), 119.3 (CH-6), 21.5 (CH₃); IR (puro): 1548, 1405, 1364, 1259, 1105, 985 cm⁻¹; HRMS-ESI⁺: calculado (C₁₆H₁₂BClF₂N₂+Na⁺) 339.0648 encontrado 339.0628.

15 **2,6-Dicloro-4,4-difluoro-8-(4-tolil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (3):** siguiendo el procedimiento general de cloración, se hizo reaccionar el BODIPY **1** (40 mg, 0.14 mmol) en THF anhidro (15 mL) con NCS (56 mg, 0.42 mmol) en THF anhidro (5 mL) durante 24 h. Se realizó una purificación por cromatografía en columna utilizando hexano/EtOAc (98:2) y se obtuvo **3** (39 mg, 85%) como un sólido naranja. m.p. 196.3-197.0 °C; ¹H NMR (700 MHz, CDCl₃): δ 7.73 (2 H, s, H-3 y H-5), 7.37 (2 H, d, J = 8.4 Hz, H-2'), 7.29 (2 H, d, J = 8.4 Hz, H-3'), 6.79 (2 H, s, H-1 y H-7), 2.41 (3 H, s, CH₃); ¹³C NMR (176 MHz, CDCl₃): δ 148.0 (C-8), 142.5 (C-4'), 141.8 y 141.7 (CH-3 y CH-5), 133.6 (C-7a y C-8a), 130.6 (2 CH-2'), 130.1 (C-1'), 129.6 (2 CH-3'), 128.6 y 128.5 (CH-1 y CH-7), 122.6 (C2-Cl y C6-Cl), 21.6 (CH₃); IR (puro): 1550, 1484, 1358, 1261, 1112 cm⁻¹; HRMS-ESI⁺: calculado para (C₁₆H₁₁BCl₂F₂N₂+Na⁺) 373.0258 encontrado 373.0187.

25 **2,3,5-Tricloro-4,4-difluoro-8-(4-tolil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (5):** siguiendo el procedimiento general de cloración, se hizo reaccionar el BODIPY **1** (90 mg, 0.32 mmol) en THF anhidro (15 mL) con NCS (171 mg, 1.28 mmol) en THF anhidro (10 mL) durante 72 h. Se realizó una purificación por cromatografía en columna utilizando hexano/EtOAc (98:2) y se obtuvo **5** (40 mg, 32%) como un sólido naranja-rojo, conjuntamente con una mezcla inseparable de productos clorados. m.p. 194.3-195.0 °C; ¹H NMR (700 MHz, CDCl₃): δ 7.31 (2 H, d, J = 8.4 Hz, H-2'), 7.27 (2 H, d, J = 8.4 Hz, H-3'), 6.86 (1 H, d, J = 4.2 Hz, H-7), 6.74 (1 H, s, H-1), 6.41 (1 H, d, J = 4.2 Hz, H-6), 2.41 (3 H, s, CH₃); ¹³C NMR (176 MHz, CDCl₃): δ 146.6 (C-8), 144.3 (C5-Cl), 142.0 (C-4'), 140.6 (C3-Cl), 134.1 (C-7a), 132.8 (CH-7), 131.1 (C-8a), 130.5 (2 CH-2'), 129.5 (2 CH-3'), 129.2 (C-1'), 127.2 (CH-1), 120.6 (C2-Cl), 119.6 (CH-6), 21.5 (CH₃); IR (puro): 1554, 1387, 1258, 1107, 800 cm⁻¹; HRMS-ESI⁺: calculado para (C₁₆H₁₀BCl₃F₂N₂+Na⁺) 406.9865 encontrado 406.9834.

35 **2,3,5,6-Tetracloro-4,4-difluoro-8-(4-tolil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (6):** siguiendo el procedimiento general de cloración, se hizo reaccionar el BODIPY **1** (65 mg, 0.23 mmol) en THF anhidro (20 mL) con NCS (308 mg, 2.3 mmol) en THF anhidro (10 mL) durante 48 h. Se realizó una purificación por cromatografía en columna utilizando hexano/EtOAc (98:2) y se obtuvo **6** (75 mg, 78%) como un sólido naranja-rojo. m.p. 231.0-231.8 °C; ¹H NMR (700 MHz, CDCl₃): δ 7.30 (2 H, d, J = 8.4 Hz, H-2'), 7.28 (2 H, d, J = 8.4 Hz, H-3'), 6.79 (2 H, s, H-1 y H-7), 2.41 (3 H, s, CH₃); ¹³C NMR (176 MHz, CDCl₃): δ 144.4 (C-8), 142.6 (C3-Cl y C5-Cl), 142.4 (C-4'), 131.4 (C-7a y C-8a), 130.5 (2 CH-2'), 129.6 (2 CH-3'), 128.9 (C-1'), 128.2 (CH-1 y CH-7), 121.6 (C2-Cl and C6-Cl), 21.5 (CH₃); IR (puro): 1549, 1384, 1245, 1106 cm⁻¹; HRMS-EI: calculado para (C₁₆H₉BCl₄F₂N₂) 417.9579 encontrado 417.9583.

45 **1,2,3,5,6,7-Hexacloro-4,4-difluoro-8-(4-tolil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (7):** se hizo reaccionar el 5-(4-tolil)dipirrometano **18** (Littler, B. J.; Miller, M. A.; Hung, C.-H.; Wagner, R. W.; O'Shea, D. F.; Boyle, P. D.; Lindsey, J. S. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 1391-1396) (400 mg, 1.69 mmol) en THF anhidro (30 mL) con una disolución de NCS (3.38 mg, 23.5 mmol) en THF anhidro (15 mL) durante 24 h a reflujo bajo atmosfera de argón. Se evaporó el disolvente y se adicionó DDQ (422 mg, 1.86 mmol) a la solución en CH₂Cl₂ (50 ml) del hexaclorodipirrometano previamente generado. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y se adicionó trietilamina (1.5 mL, 8.4 mmol). Pasados 10 minutos, se adicionó BF₃-Et₂O (2 mL, 13.5 mmol) y la disolución se agitó 24 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se lavó con H₂O, se secó con MgSO₄, se filtró y se evaporó a sequedad. Se realizó una purificación por cromatografía en columna utilizando hexano/EtOAc (99:1) y se obtuvo **7** (245 mg, 30%) como un sólido granate. m.p. 275.1-276.0 °C; ¹H NMR (700 MHz, CDCl₃): δ 7.26 (2 H, d, J = 8.4 Hz, H-2'), 7.06 (2 H, d, J = 8.4 Hz, H-3'), 2.40 (3 H, s, CH₃); ¹³C NMR (176 MHz, CDCl₃): δ 143.7 (C-8), 142.5 (C-4') 140.7 (C3-Cl y C5-Cl), 132.9 (C-7a y C-8a), 130.1 (2 CH-2'), 127.7 (2 CH-3'), 127.6 (C-1'), 126.3 (C1-Cl y C7-Cl), 121.4 (C2-Cl y C6-Cl), 21.6 (CH₃); IR (puro): 1552, 1383, 1246, 1108 cm⁻¹; HRMS-ESI⁺: calculado para (C₁₆H₇BCl₆F₂N₂+CH₃OH-H⁺) 518.8964 encontrado 518.8926.

60 **2-Cloro-4,4-difluoro-3,5-bis(4-formilfenil)-8-(4-tolil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (9):** siguiendo el procedimiento general de cloración, se hizo reaccionar el BODIPY **8** (80 mg, 0.16 mmol) en THF anhidro (15 mL) con NCS (43 mg, 0.32 mmol) en THF anhidro (10 mL) durante 48 h. Se realizó una purificación por cromatografía en columna utilizando hexano/EtOAc (9:1) y se obtuvo **9** (55 mg, 65%) como un sólido rojo. m.p. 182.4-182.9 °C;

¹H NMR (700 MHz, CDCl₃): δ 9.99 (1 H, s, CHO), 9.95 (1 H, s, CHO), 7.91 (2 H, d, *J* = 8.4 Hz, 4-formilfenil), 7.90 (2 H, d, *J* = 8.4 Hz, 4-formilfenil), 7.83 (2 H, d, *J* = 8.4 Hz, 4-formilfenil), 7.79 (2 H, d, *J* = 8.4 Hz, 4-formilfenil), 7.44 (2 H, d, *J* = 8.4 Hz, 4-tolil), 7.32 (2 H, d, *J* = 8.4 Hz, 4-tolil), 6.99 (1 H, d, *J* = 4.2 Hz, H-7), 6.87 (1 H, s, H-1), 6.66 (1 H, d, *J* = 4.2 Hz, H-6), 2.44 (3 H, s, CH₃); ¹³C NMR (176 MHz, CDCl₃): δ 191.9 (CHO), 191.7 (CHO), 158.9 (C), 151.3 (C), 146.2 (C), 141.8 (C), 137.5 (C), 137.4 (2 C), 136.7 (C), 136.6 (C), 135.5 (C), 133.1 (CH), 131.1 (2 CH), 131.0 (C), 130.7 (2 CH), 130.0 (2 CH), 129.6 (2 CH), 129.4 (2 CH), 129.2 (2 CH), 127.8 (CH), 122.1 (C-Cl), 121.9 (CH); IR (puro): 2926, 2860, 1702, 1542, 1260, 1073, 800 cm⁻¹; HRMS-EI: calculado para (C₃₀H₂₀BClF₂N₂O₂) 524.1272 encontrado 524.1280.

2,6-Dicloro-4,4-difluoro-3,5-bis(4-formilphenyl)-8-(4-tolyl)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (10): siguiendo el procedimiento general de cloración, se hizo reaccionar el BODIPY **8** (80 mg, 0.16 mmol) en THF anhidro (15 mL) con NCS (85 mg, 0.64 mmol) en THF anhidro (10 mL) durante 3 h a reflujo. Se realizó una purificación por cromatografía en columna utilizando hexano/EtOAc (9:1) y se obtuvo **10** (55 mg, 62%) como un sólido rojo. m.p. 211.3-211.8 °C; ¹H NMR (700 MHz, CDCl₃): δ 9.98 (2 H, s, 2 CHO), 7.87 (4 H, d, *J* = 7.7 Hz, H-3'), 7.75 (4 H, d, *J* = 7.7 Hz, H-2'), 7.44 (2 H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2''), 7.34 (2 H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3''), 6.93 (2 H, s, H-1 y H-7), 2.45 (3 H, s, CH₃); ¹³C NMR (176 MHz, CDCl₃): δ 191.8 (2 CHO), 153.2 (C-3 y C-5), 146.4 (C-8), 142.2 (C-4''), 136.8 (C-4'), 134.9 (C-1'), 133.4 (C-7a y C-8a), 130.9 (4 CH-2'), 130.6 (2 CH-2''), 130.3 (C-1''), 129.6 (2 CH-3''), 129.2 (4 CH-3'), 129.1 (CH-1 y CH-7), 123.0 (C2-Cl y C6-Cl), 21.6 (CH₃); IR (puro): 2924, 2856, 1700, 1540, 1268, 1219, 1144, 1070, 800, 768 cm⁻¹; HRMS-ESI⁺: calculado para (C₃₀H₁₉BCl₂F₂N₂O₂+CH₃OH-H⁺) 589.1169 encontrado 589.1234.

2-Cloro-4,4-difluoro-1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (16): siguiendo el procedimiento general de cloración, se hizo reaccionar el BODIPY **15** (60 mg, 0.23 mmol) en THF anhidro (15 mL) con NCS (85 mg, 0.64 mmol) en THF anhidro (5 mL) durante 48 h. Se realizó una purificación por cromatografía en columna utilizando hexano/CHCl₃ (7:3) y se obtuvo **16** (50 mg, 73%) como un sólido naranja. m.p. 259.4-259.7 °C; ¹H NMR (700 MHz, CDCl₃): δ 6.03 (1 H, s, H-6), 2.53 (3 H, s, CH₃-C8), 2.46 (6 H, s, CH₃-C3 y CH₃-C5), 2.36 (3 H, s, CH₃-C7), 2.34 (3 H, s, CH₃-C1); ¹³C NMR (176 MHz, CDCl₃): δ 156.0 (C-5), 148.3 (C-3), 142.8 (C-7), 141.7 (C-8), 134.1 (C-1), 132.7 (C-7a), 129.8 (C-8a), 122.1 (CH-6), 121.3 (C-Cl), 17.5 (CH₃-C7), 16.7 (CH₃-C8), 14.6 (CH₃-C5), 14.4 (CH₃-C1), 12.2 (CH₃-C3); IR (puro): 1560, 1365, 1268, 1110 cm⁻¹; HRMS-ESI⁺: calculado para (C₁₄H₁₆BClF₂N₂+Na⁺) 319.0961 encontrado 319.0980.

2,6-Dicloro-4,4-difluoro-1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (17): siguiendo el procedimiento general de cloración, se hizo reaccionar el BODIPY **15** (50 mg, 0.19 mmol) en THF anhidro (15 mL) con NCS (76 mg, 0.57 mmol) en THF anhidro (10 mL) durante 24 h. Se realizó una purificación por cromatografía en columna utilizando hexano/EtOAc (98:2) y se obtuvo **17** (42 mg, 67%) como un sólido naranja. m.p. 261.1-261.6 °C; ¹H NMR (700 MHz, CDCl₃): δ 2.56 (3 H, s, CH₃-C8), 2.48 (6 H, s, CH₃-C3 y CH₃-C5), 2.35 (3 H, s, CH₃-C1 y CH₃-C7); ¹³C NMR (176 MHz, CDCl₃): δ 150.7 (C-3 y C-5), 142.2 (C-8), 135.8 (C-1 y C-7), 130.4 (C-7a y C-8a), 122.4 (2 C-Cl), 17.1 (CH₃-C8), 14.6 (CH₃-C1 y CH₃-C7), 12.3 (CH₃-C3 y CH₃-C5); IR (puro): 1560, 1362, 1270, 1111 cm⁻¹; HRMS-EI: calculado para (C₁₄H₁₅BCl₂F₂N₂) 330.0668 encontrado 330.0668.

Procedimiento general para la síntesis de los BODIPYs 12-14

A una solución de 2-acetilpirrol clorado (1 equiv.) en CHCl₃ se añadió POCl₃ (1,1 equiv.) y la mezcla se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Se añadió 3-etil-2,4-dimetilpirrol (1 equiv.) en CHCl₃ y la solución resultante se agitó durante 12 h a temperatura ambiente. Se añadió trietilamina (1 equiv.), seguido por una adición de BF₃ · Et₂O (1 equiv.), y se continuó agitando durante 3-4 h, se adicionó HCl 10% acuoso y se realizó una extracción con CH₂Cl₂. La fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó a sequedad. Los colorantes se aislaron y purificaron por cromatografía flash sobre gel de sílice.

Cloración del acetilpirrol

Sobre una solución de 2-acetilpirrol (200 mg, 1.83 mmol) en THF anhidro (30 mL) se adicionó NCS (269 mg, 2.01 mmol) en THF anhidro (30 mL) y la mezcla se hizo agitar a temperatura ambiente durante 24 h. Se realizó una purificación por cromatografía en columna utilizando hexano/EtOAc (95:5) y se obtuvo el 2-acetil-5-cloropirrol **19** (Ho, C.-T.; Jin, Q. Z.; Lee, K. N.; Carlin, J. T. *J. Agric. Food Chem.* **1982**, *30*, 362-364. b) Leen, V.; Braeken, E.; Luckermans, K.; Jackers, C.; Van der Auweraer, M; Boens, N.; Dehaen, W. *Chem. Commun.* **2009**, 4515-4517. c) Rane, R. A.; Telvekar, V. N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 5681-5685) (110 mg, 42%) como un sólido incoloro.

Sobre una solución de 2-acetilpirrol (200 mg, 1.83 mmol) en THF anhidro (30 mL) se adicionó NCS (734 mg, 5.5 mmol) en THF anhidro (50 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 72 h. Se realizó una purificación por cromatografía en columna utilizando hexano/EtOAc (95:5) y se obtuvo el 2-acetil-3,5-dicloropirrol (**20**) (135 mg, 42%) como un sólido incoloro y 5-acetil-2,3-dicloropirrol (**21**) (135 mg, 42%) como sólido incoloro.

2-Acetil-3,5-dicloropirrol (**20**): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 10.09 (1 H, singlete ancho, NH), 6.07 (1 H, d, $J = 3.0$ Hz, H-3), 2.51 (3 H, s, CH_3); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 186.7 (CO), 127.6 (C-2), 122.5 (C5-Cl), 119.7 (C3-Cl), 110.4 (CH), 28.1 (CH_3); IR (puro): 3218, 1643, 1446, 1400, 761 cm^{-1} ; HRMS-EI: calculado para ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Cl}_2\text{NO}$) 176.9749 encontrado 176.9751.

5-Acetil-2,3-dicloropirrol (**21**): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 10.81 (1 H, singlete ancho, NH), 6.76 (1 H, d, $J = 2.7$ Hz, H-4), 2.51 (3 H, s, CH_3); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 186.3 (CO), 128.0 (C-5), 120.5 (C2-Cl), 115.5 (CH), 110.5 (C3-Cl), 23.9 (CH_3); IR (puro): 3218, 1643, 1447, 1399, 768 cm^{-1} ; HRMS-EI: calculado para ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Cl}_2\text{NO}$) 176.9749 encontrado 176.9750.

5-Cloro-2-etil-4,4-difluoro-1,3,8-trimetil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (12): Se hizo reaccionar el 2-acetil-5-cloropirrol (**19**) (91 mg, 0.63 mmol) en CHCl_3 (10 mL), con POCl_3 (0.06 mL, 0.7 mmol), 3-etil-2,4-dimetilpirrol (82 mg, 0.63 mmol) en CHCl_3 (10 mL), trietilamina (0.08 mL, 0.63 mmol) y $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ (0.08 mL, 0.63 mmol). Se realizó una purificación por cromatografía en columna utilizando hexano/ CHCl_3 (5:5) y se obtuvo **12** (98 mg, 52%) como solido naranja. m.p. 171.2-171.7 $^\circ\text{C}$; ^1H NMR (700 MHz, CDCl_3): δ 6.90 (1 H, d, $J = 4.2$ Hz, H-7), 6.20 (1 H, d, $J = 4.2$ Hz, H-6), 2.51 (3 H, s, CH_3), 2.44 (3 H, s, CH_3), 2.35 (2 H, q, $J = 7.7$ Hz, CH_2), 2.26 (3 H, s, CH_3), 0.99 (3 H, t, $J = 7.7$ Hz, CH_3CH_2); ^{13}C NMR (176 MHz, CDCl_3): δ 161.1 (C), 140.7 (C), 138.6 (C), 135.7 (2 C), 134.0 (C), 133.1 (C), 122.8 (CH), 114.5 (CH), 17.1 (CH_2), 15.9 (CH_3), 14.5 (CH_3), 14.1 (CH_3), 13.1 (CH_3); IR (puro): 1577, 1403, 1212, 1101, 771 cm^{-1} ; HRMS-EI: calculado para ($\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{BClF}_2\text{N}_2$) 296.1060 encontrado 296.1064.

5,7-Dicloro-2-etil-4,4-difluoro-1,3,8-trimetil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (13): Se hizo reaccionar el 2-acetil-3,5-dicloropirrol (**20**) (90 mg, 0.50 mmol) en CHCl_3 (10 mL), con POCl_3 (0.05 mL, 0.55 mmol), 3-etil-2,4-dimetilpirrol (91 mg, 0.50 mmol) en CHCl_3 (10 mL), trietilamina (0.06 mL, 0.50 mmol) y $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ (0.06 mL, 0.50 mmol). Se realizó una purificación por cromatografía en columna utilizando hexano/ EtOAc (98:2) y se obtuvo **13** (90 mg, 54%) como solido naranja. m.p. 193.1-193.6 $^\circ\text{C}$; ^1H NMR (700 MHz, CDCl_3): δ 6.21 (1 H, s, H-6), 2.72 (3 H, s, CH_3), 2.51 (3 H, s, CH_3), 2.36 (2 H, q, $J = 7.7$ Hz, CH_2), 2.31 (3 H, s, CH_3), 1.00 (3 H, t, $J = 7.7$ Hz, CH_3CH_2); ^{13}C NMR (176 MHz, CDCl_3): δ 162.2 (C), 141.7 (C), 139.8 (C), 137.0 (2 C), 135.0 (C), 133.2 (C), 127.2 (C), 126.4 (C), 115.6 (CH), 17.2 (CH_2), 16.3 (CH_3), 14.9 (CH_3), 14.4 (CH_3), 13.2 (CH_3); IR (puro): 1568, 1417, 1375, 1194, 1084, 1031, 803 cm^{-1} ; HRMS-EI: calculado para ($\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{BCl}_2\text{F}_2\text{N}_2$) 330.0668 encontrado 330.0669.

5,6-Dicloro-2-etil-4,4-difluoro-1,3,8-trimetil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (14): Se hizo reaccionar el 2,3-dicloro-5-acetilpirrol (**21**) (90 mg, 0.50 mmol) en CHCl_3 (10 mL), con POCl_3 (0.05 mL, 0.55 mmol), 3-etil-2,4-dimetilpirrol (91 mg, 0.50 mmol) en CHCl_3 (10 mL), trietilamina (0.06 mL, 0.50 mmol) y $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ (0.06 mL, 0.50 mmol). Se realizó una purificación por cromatografía en columna utilizando hexano/ EtOAc (95:5) y se obtuvo **14** (80 mg, 48%) como solido naranja. m.p. 187.3-187.8 $^\circ\text{C}$; ^1H NMR (700 MHz, CDCl_3): δ 6.83 (1 H, s, H-7), 2.53 (3 H, s, CH_3), 2.41 (3 H, s, CH_3), 2.36 (2 H, q, $J = 7.7$ Hz, CH_2), 2.28 (3 H, s, CH_3), 1.00 (3 H, t, $J = 7.7$ Hz, CH_3CH_2); ^{13}C NMR (176 MHz, CDCl_3): δ 163.7 (C), 141.8 (C), 137.8 (C), 136.6 (2 C), 134.7 (C), 131.7 (C), 130.7 (C), 119.5 (CH), 116.2 (C), 17.1 (CH_2), 15.8 (CH_3), 14.4 (CH_3), 14.2 (CH_3), 13.3 (CH_3); IR (puro): 1579, 1404, 1206, 1147, 1093, 1022, 801 cm^{-1} ; HRMS-EI: calculado para ($\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{BCl}_2\text{F}_2\text{N}_2$) 330.0668 encontrado 330.0670.

B. EVALUACIÓN DE LOS NUEVOS COLORANTES

A continuación se describe la evaluación de los compuestos sintetizados como colorantes láser. Condiciones de bombeo seleccionadas son: configuración de bombeo transversal a 532 nm, 10 Hz de velocidad de repetición y una energía por pulso de 5 mJ. La acción láser de cada colorante se caracteriza determinando su eficiencia láser (Eff), definida como la relación entre la energía de bombeo sobre la muestra y la energía de salida del colorante, la longitud de onda (λ_{la}) correspondiente al máximo de su banda de emisión y su foto estabilidad definida como el % de emisión láser que le queda al colorante tras 100000 pulsos de bombeo a 5 mJ y 10 Hz, bombeando siempre la misma región de la muestra, por lo que el análisis se hace introduciendo 10 μl de disolución de colorante en un capilar. En las siguientes tablas se especifican las características láser de los nuevos colorantes bombeados en las condiciones experimentales anteriormente detalladas.

8-tolil-BODIPYs clorados

Colorante	[C] mM	Eff(%)	λ_{la} (nm)	Estabilidad
Compuesto 1	10	0		
Compuesto 2	5	30	572	90
Compuesto 3	0.9	44	575	95
Compuesto 4	0.9	48	572	100
Compuesto 5	2	58	573	100
Compuesto 6	0.5	57	575	100
Compuesto 7	0.8	60	571	100

1.- Las disoluciones están en acetato de etilo y las concentraciones detalladas son las que optimizan la eficiencia láser (se ha hecho para todos un estudio de la dependencia de su eficiencia láser con la concentración).

5 2.- Mientras que el derivado no-clorado no tiene emisión láser, la presencia de cloro conduce a colorantes con una emisión láser altamente eficiente y estable.

3.- La eficiencia y estabilidad laser de estos colorantes se incrementa a medida que aumenta el número de átomos de cloro en el cromóforo.

10 4.- Se estudia el comportamiento de estos nuevos colorantes en diferentes disolventes.

Colorante	Compuesto 2		Compuesto 3		Compuesto 4	
Disolvente	Eff(%)	λ_{la} (nm)	Eff(%)	λ_{la} (nm)	Eff(%)	λ_{la} (nm)
EtOAc	30	572	44	575	48	572
MeOH	28	571	38	574	42	570
Acetona	17	569	29	575	37	568
CH ₂ Cl ₂	28	575	40	580	44	574

Colorante	Compuesto 5		Compuesto 6		Compuesto 7	
Disolvente	Eff(%)	λ_{la} (nm)	Eff(%)	λ_{la} (nm)	Eff(%)	λ_{la} (nm)
EtOAc	58	573	57	575	60	571
MeOH	48	570	51	570	52	569
Acetona	49	567	46	568	49	568
CH ₂ Cl ₂	53	569	47	574	51	569

Otros BODIPY clorados

15

Dependencia laser con la cloración y con la naturaleza del disolvente.

Colorante	Compuesto 8 [c] = 1 mM			Compuesto 9 [c] = 0.8 mM			Compuesto 10 [c] = 1 mM		
Disolvente	Eff(%)	λ_{la} (nm)	Estabilidad	Eff (%)	λ_{la} (nm)	Estabilidad	Eff (%)	λ_{la} (nm)	Estabilidad
EtOAc	14	615	60	18	612	80	30	618	100
MeOH				17	612		21	610	
Acetona	14	615		18	613		23	614	
CH ₂ Cl ₂	10	617		19	621		25	621	

20

El derivado no clorado (11) fue bombeado a 500 nm que corresponde a su máximo de absorción. No presenta emisión laser bombeando a las longitudes habituales de bombeo como son 355 nm o 532 nm. Sin embargo sus derivados clorados se pueden bombear perfectamente a 532 nm, ya que la cloración desplaza el máximo de absorción hacia el rojo (esto es una ventaja importante).

Colorante	Compuesto 11 [c] 0.6 mM			Compuesto 12 [c]= 15 mM			Compuesto 13 [c] = 15 mM			Compuesto 14 [c]= 15 mM		
Disolvente	Eff (%)	λ_{la} (nm)	Esta-bilidad	Eff(%)	λ_{la} (nm)	Esta-bilidad	Eff(%)	λ_{la} (nm)	Esta-bilidad	Eff (%)	λ_{la} (nm)	Esta-bilidad
EtOAc	34	530	80	38	561	100	36	562	100	46	566	100
MeOH												
Acetona	28	530		19	561		19	562		34	565	
CH ₂ Cl ₂				35	584		30	564		37	570	

25

Pirrometeno 546 sin clorar (15), mono- (16) y diclorado(17)

El colorante comercial PM546 sin clorar, incluso a la concentración de 5×10^{-2} M, no emite laser bombeado a 532 nm bajo las mismas condiciones que sus derivados clorados. El PM546 debe ser bombeado a 355 nm mientras que sus derivados clorados pueden ser bombeados a las dos longitudes de onda (355 y 532 nm), lo que representa una importante ventaja tecnológica.

30

35

ES 2 427 714 A1

Colorante	Compuesto 15 [c] = 25 mM			Compuesto 16 [c] = 3 mM* [c] = 25 mM			Compuesto 17 [c] = 3.5 mM			
	Disolvente	Eff(%)	λ_{1a} (nm)	Estabilidad	Eff (%)	λ_{1a} (nm)	Estabilidad	Eff (%)	λ_{1a} (nm)	Estabilidad
EtOAc	23*	541*	60*	30*	556 40	558	90	51	562	100
MeOH								44	560	
Acetona	14	615		20*	556			38	570	
CH ₂ Cl ₂	10	617		27*	556 32	556		49	563	

* Son datos bajo bombeo a 355 nm; los demás están registrados bajo bombeo a 532 nm

REIVINDICACIONES

1. Uso de un compuesto de fórmula I



I

5 donde,

al menos uno de los sustituyentes R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 es un átomo de cloro unido directamente a un carbono del sistema boradiazaindaceno, y los sustituyentes R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 diferentes de cloro se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno diferente de cloro, ciano, alquilo, arilo, alquenilo, alquinilo, alcoxilo y heterociclo, con la condición que R^4 no es un alquilo sustituido con hidroxilo o acilo; como colorante láser o marcador fluorescente.

2. Uso de un compuesto de fórmula I según la reivindicación 1, donde el compuesto de fórmula I comprende al menos dos átomos de cloro en las posiciones R^1 , R^2 , R^3 , R^5 , R^6 o R^7 .

3. Uso de un compuesto de fórmula I según la reivindicación 2, donde el compuesto de fórmula I comprende al menos cuatro átomos de cloro en las posiciones R^1 , R^2 , R^3 , R^5 , R^6 o R^7 .

4. Uso de un compuesto de fórmula I según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde dicho compuesto actúa como marcador fluorescente en una técnica de imagen y/o análisis basada en emisión de fluorescencia inducida por láser, y dicho compuesto de fórmula I está unido covalentemente a una biomolécula seleccionada del grupo que consiste en un aminoácido, péptido, proteína, lípido, carbohidrato, anticuerpo, ácido nucleico y toxina.

5. Uso de un compuesto de fórmula I según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 como colorante láser en un sistema láser utilizado en una técnica analítica, fotoelectrónica o biofotónica.

6. Un compuesto fluorescente de fórmula I



I

30 donde

(a) R^4 es un grupo arilo,

R^1 , R^3 , R^5 y R^7 se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo y heterociclo,

al menos uno de los sustituyentes R^2 o R^6 es un átomo de cloro y el otro sustituyente, si no es cloro, se selecciona de forma independiente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno diferente de cloro, alquilo, arilo y heterociclo; o

(b) R^4 es un grupo alquilo no sustituido,

R^1 , R^3 , R^5 y R^7 se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en halógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo y heterociclo,

al menos uno de los sustituyentes R^2 o R^6 es un átomo de cloro y el otro sustituyente, si no es cloro, se selecciona de forma independiente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno diferente de cloro, alquilo, arilo y heterociclo; o

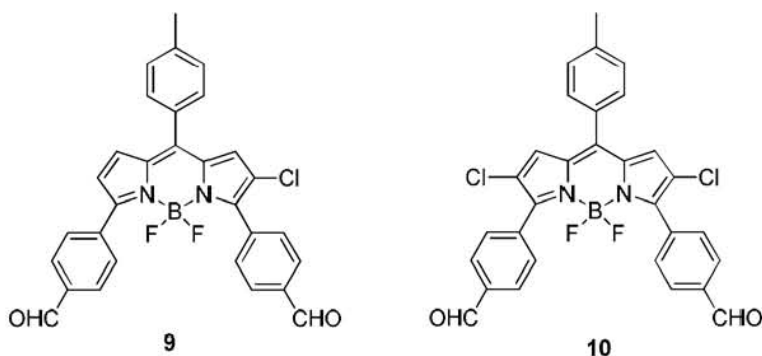
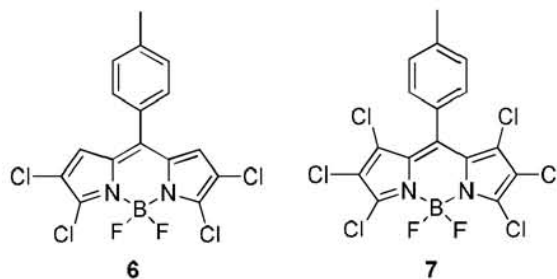
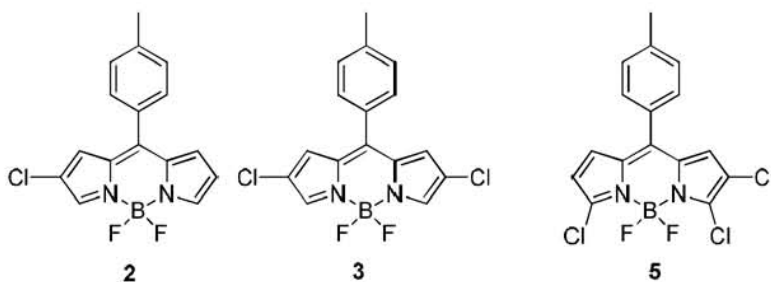
(c) R^4 , R^5 , R^6 y R^7 son grupos alquilo iguales o diferentes,

al menos uno de los sustituyentes R^1 , R^2 o R^3 es un átomo de cloro y el resto de sustituyentes, si no son cloro, se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, arilo y heterociclo.

7. Un compuesto fluorescente de fórmula I según la reivindicación 6 opción (a), donde R^4 es un grupo toliilo.

8. Un compuesto fluorescente de fórmula I según la reivindicación 7, donde R^1 , R^3 , R^5 y R^7 se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno y arilo monocíclico.

5 9. Un compuesto fluorescente de fórmula I según la reivindicación 7 seleccionado del grupo que comprende 2, 3, 5, 6, 7, 9 y 10.

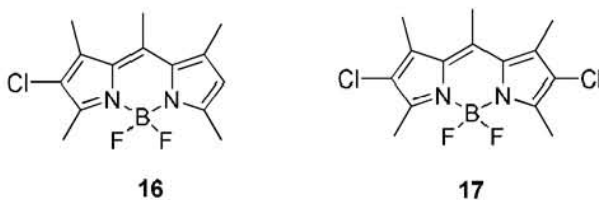


10 10. Un compuesto fluorescente de fórmula I según una cualquiera de las reivindicaciones 6 opción (a) o 7, donde R^1 , R^2 , R^6 y R^7 son átomos de cloro.

11. Un compuesto fluorescente de fórmula I según la reivindicación 6 opción (a), donde R^1 , R^2 , R^3 , R^5 , R^6 y R^7 son átomos de cloro.

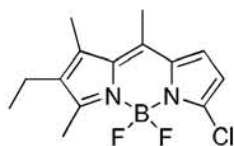
15 12. Un compuesto fluorescente de fórmula I según la reivindicación 6 opción (b), donde R^4 es un alquilo C1-C10 y R^1 , R^3 , R^5 y R^7 son grupos metilo.

20 13. Un compuesto fluorescente de fórmula I según la reivindicación 12 seleccionado del grupo que comprende 16 y 17.

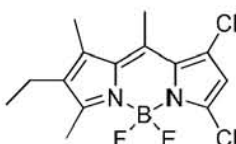


14. Un compuesto fluorescente de fórmula I según la reivindicación 6 opción (c), donde R^4 , R^5 , R^6 y R^7 son grupos alquilo C1-C4 iguales o diferentes, R^1 es cloro, y R^2 y R^3 se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en hidrógeno y cloro.

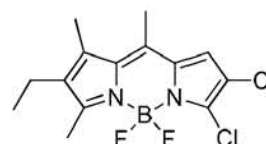
5 15. Un compuesto fluorescente de fórmula I según la reivindicación 14 seleccionado del grupo que consiste en 12, 13 y 14.



12

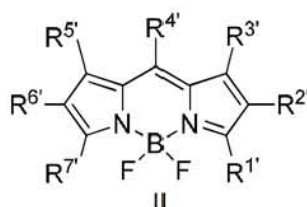


13



14

10 16. Un procedimiento de obtención de un compuesto de fórmula I tal como se describe en una cualquiera de las reivindicaciones 6 opción (a) o (b), 7 a 13, caracterizado porque comprende una reacción de cloración entre un compuesto de fórmula II y un agente de cloración en presencia de un disolvente orgánico,



15 donde

al menos un sustituyente R^2 o R^6 es un átomo de hidrógeno unido directamente al sistema boradiazaindaceno y el otro sustituyente, si no es hidrógeno, se selecciona de forma independiente del grupo que consiste en halógeno, alquilo, arilo y heterociclo,

20 R^1 , R^3 , R^5 y R^7 se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alqueno, alquino, arilo y heterociclo, y R^4 es un grupo arilo o alquilo no sustituido.

25 17. Procedimiento de obtención de un compuesto de fórmula I según la reivindicación 16 donde el agente de cloración es la *N*-clorosuccinimida.

18. Procedimiento de obtención de un compuesto de fórmula I según una cualquiera de las reivindicaciones 16 o 17 donde el disolvente utilizado es tetrahidrofurano.



- ②① N.º solicitud: 201230486
②② Fecha de presentación de la solicitud: 30.03.2012
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	M J ORTIZ et al., Tetrahedron 2012, vol 68, nº 4, págs 1153-1162. "Synthesis and functionalization of new polyhalogenated BODIPY dyes", todo el documento.	1-18
A	T ROHAND et al., Chem. Communications 2006, págs 266-268. "Functionalization of fluorescent BODIPY dyes by nucleophilic substitution", esquema 2.	1-18

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
26.06.2013

Examinador
M. Fernández Fernández

Página
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C07F5/02 (2006.01)

C09B57/00 (2006.01)

C09K11/07 (2006.01)

G03C1/73 (2006.01)

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

C07F, C09B, C09K, G03C

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, CAS, REGISTRY, ESPACENET

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 04.07.2013

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-18	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-18	SI
	Reivindicaciones	NO

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	M J ORTIZ et al., Tetrahedron 2012, vol 68, nº 4, págs 1153-1162. "Synthesis and functionalization of new polyhalogenated BODIPY dyes", todo el documento.	28.01.2012
D02	T ROHAND et al., Chem. Communications 2006, págs 266-268. "Functionalization of fluorescent BODIPY dyes by nucleophilic substitution", esquema 2.	2006

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

La solicitud se refiere a derivados clorados con estructura BODIPY (boradiazaindaceno) (reivindicaciones 6-15) de fórmula (I), más concretamente a los compuestos que se describen en las reivindicaciones 9,13 y 15, el procedimiento (reivindicaciones 16-18) para su obtención por cloración de un compuesto de fórmula (II) (reivindicación 16) y el uso de los compuestos de fórmula (I) de la reivindicación 1 como colorantes láser y marcadores fluorescentes en técnicas de imagen y/o análisis basadas en emisión de fluorescencia (reivindicaciones 1-5).

El documento D1 divulga la síntesis de derivados de BODIPY polihalogenados y su aplicación como colorantes debido a sus propiedades fluorescentes, se describen varios derivados sustituidos con átomos de I y átomos de I y Cl (ver fórmulas de la figura 3).

El documento D2 divulga el derivado 3,5-clorado (compuesto 4 del esquema 2) como intermedio en sustituciones nucleófilas. Los compuestos de fórmula (I) de la reivindicación 6 de la solicitud no se han encontrado divulgados en el estado de la técnica, luego son nuevos; los derivados más próximos serían los compuestos de la figura 3 de D1, sin embargo no puede considerarse evidente para un técnico en la materia el resultado de esta sustitución dada la gran diferencia entre los átomos de Cl y I en cuanto a su tamaño y reactividad. Consecuentemente se considera que los compuestos de las reivindicaciones 6-15 son nuevos e inventivos y por ello el procedimiento para su obtención por cloración con N-clorosuccinimida.

Por otra parte, es conocida la utilidad de la estructura BODIPY como colorante fluorescente, pero no ha sido descrita su aplicación en técnicas de análisis basadas en emisión de fluorescencia por láser en las que un compuesto de fórmula (I) se une covalentemente a una molécula biológica (aminoácido, proteína, ácido nucleico...).

En consecuencia, se considera que las reivindicaciones 1-18 de la solicitud cumplen las condiciones de novedad, actividad inventiva y aplicación industrial, según lo establecido en los Art. 6.1 y 8.1 de la Ley de Patentes 11/1986.