

Trabajo Fin de Grado
Grado en Química

Caracterización espectroscópica de nuevos BODIPYs

Autor:
Ruth Prieto Montero
Director/a:
Teresa Arbeloa López

INDICE	Página
• 1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	1
• 2. DESARROLLO	2
▪ 2.1 Colorantes de láseres	2
▪ 2.2 Procedimiento experimental	12
▪ 2.3 Resultados obtenidos	15
▪ 2.4 Análisis de los resultados	20
○ 2.4.1 Efecto de la alquilación del esqueleto del BODIPY	21
○ 2.4.2 Efecto de la incorporación del grupo fenilo en posición meso	23
○ 2.4.3 Efecto de la incorporación del grupo tiometilo en posición meso	26
• 3. CONCLUSIONES	30
• 4. BIBLIOGRAFÍA	33

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Este trabajo de fin de grado, se ha realizado sobre la "Caracterización espectroscópica de nuevos BODIPYs", un tema actual y de gran interés. Es un trabajo de tipo experimental, realizado en el laboratorio de Espectroscopia Molecular del departamento de Química-Física de la Facultad de Ciencia y Tecnología de la UPV-EHU, dirigido por T. Arbeloa.

La realización del trabajo ha permitido adquirir una experiencia en los materiales estudiados y en las técnicas de caracterización empleadas. Además, el hecho de disfrutar de una Beca de Colaboración en dicho laboratorio, ha permitido aprovechar parte de las tareas realizadas en dicha beca para la consecución del mismo.

Se ha llevado a cabo una pequeña investigación desarrollando una serie de experimentos en el laboratorio que han sido acompañados de un estudio bibliográfico sobre la situación del tema. Se han analizado las características fotofísicas de varios colorantes, sintetizados por un grupo de investigación de síntesis orgánica, y posteriormente se ha hecho un estudio sobre los resultados más relevantes obtenidos. Estos resultados han sido plasmados en esta memoria que será presentada y defendida de manera oral ante un tribunal.

Como ya se ha mencionado, se han ampliado conocimientos y adquirido nuevos, tanto teóricos como prácticos, ya que en el laboratorio se han empleado técnicas ya conocidas, pero con mayor precisión y otras que no eran conocidas.

Finalmente, el objetivo principal de este trabajo de fin de grado ha sido la consecución de las competencias transversales del grado en Química. Para ello:

- Se han planificado experimentos de forma eficiente para la medida espectroscópica de los materiales a estudiar.
- Se han interpretado y discutido los resultados más relevantes obtenidos experimentalmente y plasmado las conclusiones a través de esta memoria y de la defensa oral de la misma.
- La incorporación en el funcionamiento de un equipo de investigación, ha permitido en cierta medida, conocer su mecánica de trabajo.
- Los conocimientos adquiridos han proporcionado la capacidad de adaptación a nuevos campos relacionados con la Química.

Con respecto a los objetivos científicos, se han estudiado los compuestos denominados borodipirrometenos (BODIPY). Son un tipo de colorantes que actualmente se han convertido en el fluoróforo más utilizado en multitud de aplicaciones.^[1] Sus propiedades incluyen altos rendimientos cuánticos de fluorescencia, buena solubilidad en disolventes orgánicos y altos coeficientes de extinción molar. Además, se sabe que pequeñas modificaciones en su estructura dan lugar a cambios en las características fotofísicas.^[2] Por lo tanto, el principal interés de sintetizar BODIPYs nuevos, es el de poder modificar estas propiedades según su utilidad. En concreto en este trabajo se va a analizar cómo varían las propiedades fotofísicas al modificar la estructura de los colorantes.

2. DESARROLLO

2.1 COLORANTES DE LÁSERES

Los sistemas cromofóricos altamente fluorescentes son empleados principalmente en la fabricación de láseres sintonizables que utilizan dichos colorantes como medio activo.^[3]

Para considerar un colorante válido para láseres debe cumplir una serie de características;

- Tener fuertes bandas de absorción
- Baja probabilidad de procesos de desactivación no-radiante ^[4]
- Baja tendencia a agregarse
- Alta termoestabilidad y fotoestabilidad ^[5]

Tradicionalmente se han utilizado las rodaminas y las cumarinas como colorantes de láseres. Sin embargo, en 1968 Treibs y Kreuzer^[6] sintetizaron un nuevo colorante que dio lugar a una nueva familia; los BODIPYs, aunque no fue hasta finales de la década de los 80 cuando realmente se empezaron a estudiar dichos compuestos.^[7] Desde entonces, han sido el objetivo de múltiples estudios fotofísicos y fotoquímicos y sus aplicaciones han ido aumentando de manera exponencial;^[7] sondas fluorescentes, sensores moleculares y como ya se ha mencionado como medio activo para láseres sintonizables.^[3]

La estructura básica de los BODIPYs está representada en la Figura 1. Consta de dos unidades de pirrol unidas por un metileno y un grupo BF₂. La introducción de estos dos heteroátomos afecta considerablemente al cromóforo ya que aunque no participan en el sistema π , proporcionan rigidez a la estructura molecular, reduciendo el flujo de electrones en el anillo aromático. ^[3] En consecuencia, estos colorantes se pueden clasificar como casi-aromáticos.^[4]

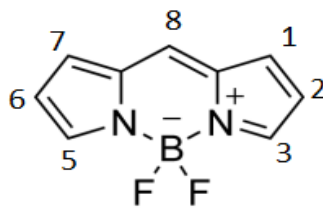


Figura 1: Esqueleto de la estructura del BODIPY junto con la numeración de las posiciones

En los últimos años, los BODIPYs se han convertido en los colorantes más utilizados en láseres sintonizables de la región verde-amarilla del visible. Esto se debe a que destacan por su alta fotoestabilidad, su alta capacidad fluorescente (elevado rendimiento cuántico), su baja tendencia a agregarse y su buena solubilidad en los disolventes orgánicos comunes.^[2]

Tanto los BODIPYs como otros sistemas fluorescentes son empleados como fuente de radiación en medios activos para láseres, aunque, también tienen otro tipo de aplicaciones. Pueden utilizarse para diseñar sensores biológicos, como marcadores en microscopia óptica, dispositivos LED o en terapia fotodinámica para la detección de cáncer.^[8]

Una muestra de esto es su uso como sensores para determinar el pH de un medio, ya que mediante la monitorización de la fluorescencia es posible determinar si el pH está por encima de un determinado valor o no. Se emplea sobre todo para determinar el punto ácido en superficies de catalizadores.^[8]

Otro ejemplo, es la determinación de la polaridad en el interior de las células biológicas. En este caso no se utiliza la intensidad si no el estudio del desplazamiento de la banda fluorescente con el medio. La molécula fluorescente actúa como una sonda molecular, de tal forma que al conocer las propiedades fluorescentes se puede estimar las del entorno.^[8]

Concretamente, con respecto a los BODIPYs, muchas de las investigaciones que se llevan a cabo en este momento están enfocadas a modificar la estructura del colorante de tal forma que la emisión de los mismos esté localizada en la zona roja del espectro electromagnético, zona muy interesante en las aplicaciones biomédicas. Es por esta razón, que se sintetizan y estudian nuevos BODIPYs cuya estructura ha sido modificada, para modular sus propiedades fotofísicas y dotarlos de distintas aplicaciones.

En concreto, en este trabajo de fin de grado, se han determinado las características fotofísicas de nuevos BODIPYs sintetizados por un grupo de investigación de síntesis orgánica de la Universidad de Guanajuato, en Méjico (Profesor Eduardo Peña Cabrera). Los distintos colorantes estudiados se diferencian en el grado de alquilación de las distintas posiciones del esqueleto básico (Figura 1) y también en la sustitución en la posición 8, llamada "meso". Las propiedades fotofísicas de estos cromóforos son muy sensibles a la sustitución en esta última posición, y en concreto, en este trabajo se ha estudiado el efecto de los grupos fenilo y tiometilo.

Algunos de estos compuestos se sintetizan en un solo paso, de forma rápida y sencilla a partir de productos comercialmente asequibles, ^[9] como es el caso del BDP-3,5, (Figura 2) colorante que se ha estudiado durante este trabajo. En otras ocasiones, son necesarios procesos de síntesis más complejos.

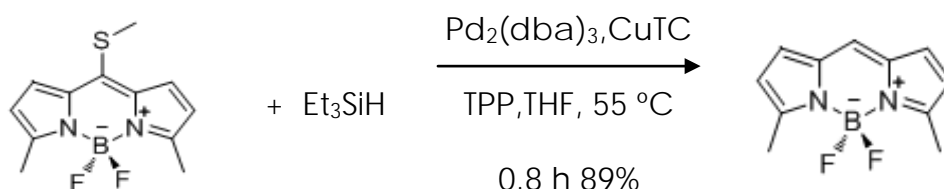


Figura 2: Síntesis del BDP-3,5

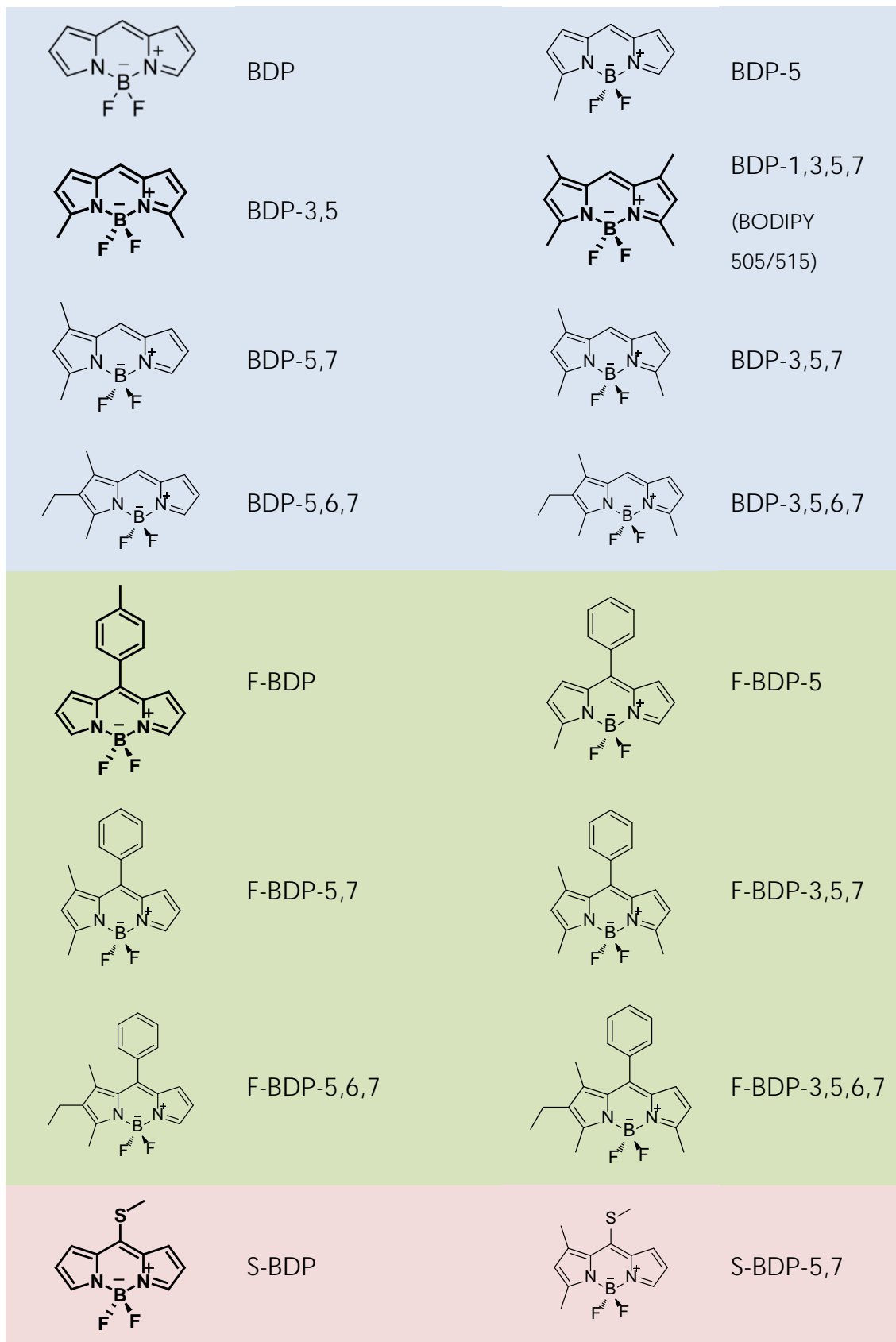


Figura 3: Estructura y nomenclatura de los BODIPYs estudiados

En la Figura 3, se indican los BODIPYs estudiados así como la nomenclatura utilizada; BDP hace referencia al esqueleto básico del colorante, los números posteriores indican la posición de la alquilación y la letra inicial indica la sustitución en meso:

Ø: no hay sustitución

F: grupo fenilo

S: grupo tiometilo

Cabe destacar, que también se ha estudiado un BODPY comercial, y en este caso, su nombre comercial aparece entre paréntesis.

Durante este trabajo se han empleado técnicas espectroscópicas para llevar a cabo el estudio fotofísico de los colorantes. Por lo tanto, se debe hacer una breve mención a los fundamentos de las mismas.

Las técnicas espectroscópicas están basadas en la interacción de la radiación electromagnética con la materia y dan lugar a distintos fenómenos entre los que destacan la absorción y la emisión^[10], los estudiados en este trabajo.

La absorción se produce cuando la radiación electromagnética atraviesa un medio y este absorbe cantidades discretas (fotones) de dicha radiación. La energía del fotón absorbido aumenta la energía de las moléculas del medio, pasando del estado fundamental (E_0) a un estado excitado (E_1), Figura 4. El proceso de emisión se podría considerar como el contrario; una molécula previamente excitada, que se encuentra en el estado excitado E_1 pierde su exceso de energía emitiendo un fotón y volviendo a su estado fundamental, E_0 . Ambos procesos son el resultado de saltos entre niveles energéticos de electrones de la capa de valencia. Además, son observables si cumplen la condición de resonancia (energía del fotón igual a $E_1 - E_0$) y si la transición entre el nivel fundamental y el excitado está

permitida (cuando se dé un cambio en el momento dipolar de la molécula).

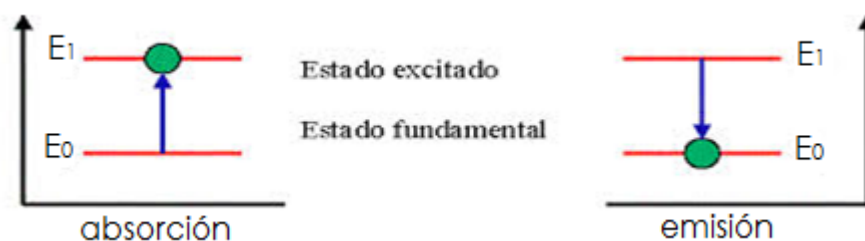


Figura 4: Fenómeno de absorción y emisión

En el caso de la absorción se sabe que hay una serie de grupos funcionales que presentan bandas de absorción en el UV/Vis, a los que se denominan cromóforos. Normalmente suelen ser compuestos orgánicos con transiciones $\pi-\pi^*$; sistemas aromáticos. Los sistemas fluorescentes igualmente, suelen ser cromóforos con estructuras relativamente rígidas.

Los sistemas cromofóricos más habituales presentan un estado electrónico fundamental singlete, S_0 . Estos sistemas pueden sufrir transiciones entre los distintos estados electrónicos que vienen resumidos en el diagrama de Jablonski (Figura 5).^[10]

Cuando una molécula es irradiada y absorbe luz pasa del estado fundamental $S_0(v=0)$ a un estado excitado $S(v)$, que será distinto en función de la energía del fotón absorbido (proceso de absorción, en la Figura 5). Posteriormente, y después de unos procesos de relajación vibracional muy rápidos, la molécula se encuentra en el primer estado excitado S_1 y en el nivel vibracional fundamental; $S(v) \rightarrow S_1(v=0)$. La molécula excitada puede volver a su estado fundamental a través de distintos procesos que entran en competición entre sí. Estos procesos pueden ser radiativos, emitiendo un fotón, que se llama fluorescencia, y no radiativos. En este último caso, el proceso se denomina conversión interna cuando el sistema de retorno sigue

siendo un singlete, o cruce intersistema cuando pasa a un estado de distinta multiplicidad; en este caso $T_1(v)$. Desde el nivel de energía $T_1(v=0)$ también tienen lugar otros procesos de desactivación; radiativos (fosforescencia) y no radiativos (cruce intersistema),^[10] que no van a ser estudiados en este trabajo.

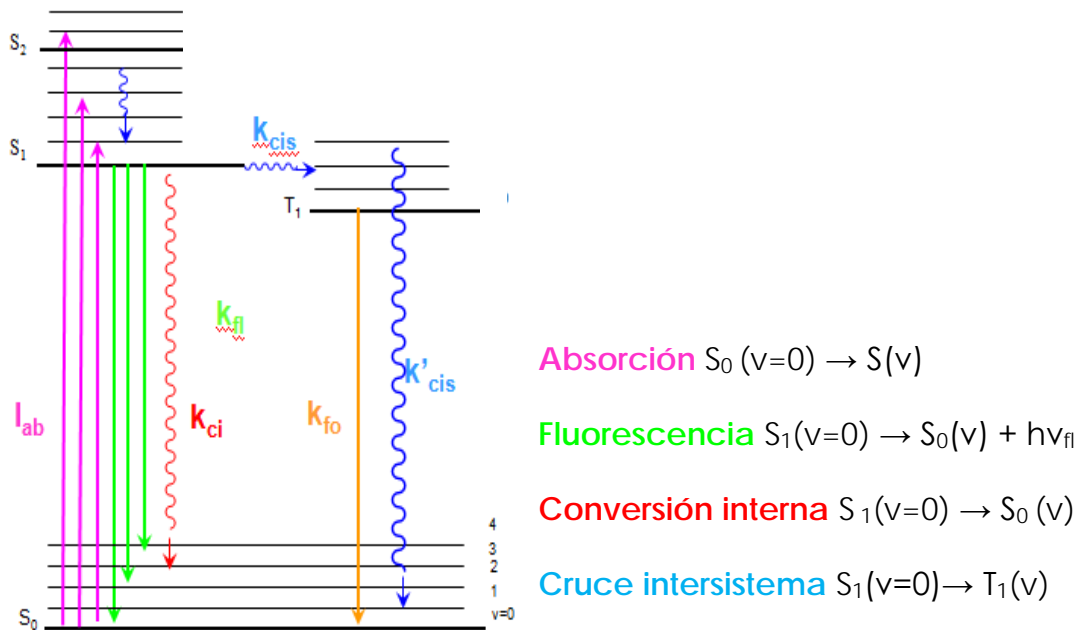


Figura 5. Diagrama de Jablonski.

Como parte de la energía absorbida se pierde en los procesos de relajación, el fotón emitido siempre tiene una energía menor que el absorbido lo que hace que los espectros de fluorescencia aparezcan a mayores longitudes de onda que los de absorción.^[10] Además, como los estados vibracionales de S_0 y S_1 son muy parecidos, los espectros de absorción y emisión suelen ser imágenes especulares y están separados por el desplazamiento de Stokes.^[11]

La medida experimental de la absorbancia, A , permite calcular el coeficiente de absorción molar, ϵ , que es una medida de la probabilidad de absorción y se calcula a través de la ley de Lambert-Beer, Ecuación 1.

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad (1)$$

donde: l = camino óptico recorrido por la radiación y
 c = concentración de la muestra

Por otro lado, los parámetros de fluorescencia más significativos que se determinan experimentalmente son:

- rendimiento cuántico de fluorescencia, Φ : probabilidad de emisión fluorescente de un fotón que ha sido previamente absorbido y mide la capacidad fluorescente del sistema.
- tiempo de vida fluorescente, τ : tiempo transcurrido para que una muestra con una emisión fluorescente inicial I_{fl}^0 pase a un valor I_{fl}^0/e , y está relacionado con la vida media de la molécula en estado excitado.

Para determinar experimentalmente el rendimiento cuántico se necesita saber cuánto absorbe la muestra a la longitud de onda de excitación, $I_{ab}(\lambda_{exc})$, y cuanto emite (área del espectro de emisión, A_{fl}). A su vez, se utiliza una referencia cuyo rendimiento cuántico es conocido y que se mide en idénticas condiciones que la muestra. Si el disolvente utilizado en muestra y referencia es distinto, además hay que introducir un nuevo término de corrección mediante el índice de refracción Ecuación 2:

$$\Phi_{fl} = \Phi_{fl}^{ref} \cdot \frac{n^2}{(n^{ref})^2} \cdot \frac{I_{ab}^{ref}(\lambda_{exc})}{I_{ab}(\lambda_{exc})} \cdot \frac{A_{fl}}{A_{fl}^{ref}} \quad (2)$$

El tiempo de vida se determina mediante el análisis de las curvas de desactivación (variación de intensidad de emisión con el tiempo). Como la evolución de la intensidad fluorescente, I_{fl} , con el tiempo sigue una trayectoria exponencial, para poder calcular el valor del tiempo de vida se representa la forma logarítmica, Ecuación 3, donde este es inversamente proporcional a la pendiente, Figura 6.

$$\text{Ln}(I_{fl}) = \text{Ln}(I_{fl}^{\circ}) - \frac{t}{\tau} \quad (3)$$

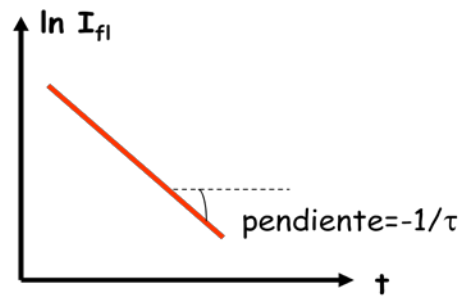


Figura 6: Representación gráfica del tiempo de vida

Tanto el rendimiento cuántico de fluorescencia como el tiempo de vida se relacionan con las constantes cinéticas de los procesos de desactivación mediante las siguientes expresiones (Ecuaciones 4-5):

$$\phi_{fl} = \frac{k_{fl}}{k_{fl} + k_{nr}} \quad (4)$$

$$\tau = \frac{1}{k_{fl} + k_{nr}} \quad (5)$$

donde k_{fl} es la constante de desactivación fluorescente y k_{nr} engloba a las constantes de desactivación no radiantes, conversión interna y cruce intersistema, $k_{nr} = k_{ci} + k_{cis}$. Combinando ambas expresiones (4-5) se puede determinar el valor de las constantes de desactivación por medio de las medidas experimentales, de la siguiente forma (Ecuaciones 6-7):

$$k_{fl} = \frac{\phi}{\tau} \quad (6)$$

$$k_{nr} = 1 - \frac{1}{k_{fl} \tau} \quad (7)$$

Sistemas muy fluorescentes tienen un valor de k_{fl} alto, mientras que los poco fluorescentes presentan valores altos de k_{ci} (en sistemas poco

rígidos) o k_{cis} (molécula con átomos pesados o paramagnéticos) donde el acoplamiento spin-orbita está favorecido.

Por último, cabe destacar que el disolvente también afecta a las características fotofísicas de los colorantes^[12] haciendo que las bandas de absorción y emisión se desplacen hacia longitudes de onda mayores (efecto batocrómico) o menores (efecto hypsoocrómico) y alterando los valores de las constantes de desactivación, en función de la naturaleza del mismo. En este trabajo solo se ha utilizado un disolvente, el tetrahidrofurano por lo que el efecto del disolvente no se tendrá en cuenta.

Además, un aumento de la concentración por encima de un valor límite produce una disminución de la eficiencia debido a procesos de reabsorción/reemisión.^[13] Es por esto que en este trabajo se han utilizado disoluciones muy diluidas; $2 \cdot 10^{-6}$ M, para llevar a cabo las medidas.

2.2 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Las muestras que se han determinado espectroscópicamente han sido de una concentración próxima a $2 \cdot 10^{-6}$ M, como se acaba de comentar. El procedimiento para preparar estas disoluciones tan diluidas ha sido el siguiente:

- Se ha pesado aproximadamente 1 mg de colorante en una balanza de precisión (± 0.01 mg); Mettler, modelo: H20T.
- Se ha disuelto el colorante en 25 mL de acetona (disolución madre).
- Posteriormente, se ha preparado una disolución intermedia en acetona por dilución para obtener una concentración de aproximadamente $2 \cdot 10^{-5}$ M.

- Por último, las muestras a medir se han preparado evaporando la acetona de 1 mL de esta última disolución y disolviendo en 10 mL del disolvente elegido.

El disolvente ha sido tetrahidrofurano (THF) de grado espectroscópico. Un disolvente orgánico, moderadamente polar, aprótico cuya constante dieléctrica es de 7,6 a 25° C y que no presenta interacciones con los colorantes.

Las medidas se han hecho en una cubeta de cuarzo de 1 cm, material transparente en UV. Aunque las muestras son coloreadas y absorben en el visible, se podría utilizar vidrio óptico. El motivo por el que se ha utilizado cuarzo ha sido por una posible e hipotética aparición de nuevas bandas en el UV. Además, debido a que el registro de la emisión se realiza a 90° con respecto a la excitación en las medidas fluorescentes, las cuatro caras de la cubeta deben ser transparentes.

Los espectros de absorción se han registrado en un espectrofotómetro de doble haz; Varian, modelo: CARY 4E, Figura 7, en el rango de 550 nm a 400 nm, con un tiempo de medida de 0,2 s y un intervalo de 0,5 nm.



Figura 7: Espectrofotómetro de absorción de doble haz; Varian, modelo: CARY 4E

Los espectros de emisión o fluorescencia se han medido en un espectrofluorímetro; Fluorolog JOBIN YVON HORIBA Spectracq, Figura

8, excitando a 470 nm y registrando en el rango de 480-650 nm. El tiempo de integración ha sido de 0,2 s y con un incremento de 0,5 nm. Se ha observado que el espectro de fluorescencia no varía con la longitud de onda de excitación. La referencia utilizada para determinar el rendimiento cuántico ha sido el pirrometeno comercial PM 546, Figura 9, en etanol y cuyo rendimiento cuántico es 0,85.^[14] Se ha medido en las mismas condiciones que las muestras.



Figura 8: Espectrofluorimetro; Fluorolog JOBIN YVON HORIBA Spectracq

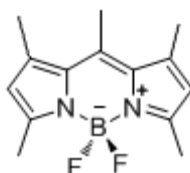


Figura 9: Estructura del Pirrometeno 546, utilizado como referencia en la determinación del rendimiento cuántico

Las curvas de desactivación radiante se ha determinado en un contador cuántico de fotones, Edinburg Instruments, modelo: FL92, Figura 10, excitando con un láser de diodos de 470 nm y registrando la señal a la longitud de onda del máximo de emisión de cada colorante.

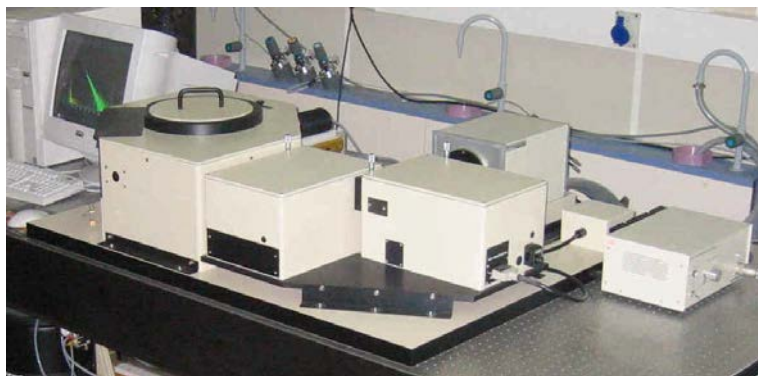


Figura 10: Contador cuántico de fotones, Edinburg Instruments, modelo: FL92

El tiempo de vida se ha determinado mediante la deconvolución de la señal de pulso de las curvas de desactivación, registradas por una suspensión Ludox. Se utiliza un método iterativo de mínimos cuadrados no lineales basados en el algoritmo de Marquardt.^[11] Las curvas de desactivación se ajustan a la siguiente suma de exponenciales, Ecuación 8:

$$I_{\text{fl}}(t) = A_1 \exp\left(\frac{-t}{\tau_1}\right) + A_2 \exp\left(\frac{-t}{\tau_2}\right) + \dots \quad (8)$$

Donde A_i son factores pre-exponenciales relacionados con el peso estadístico de cada exponencial. La fiabilidad del proceso de deconvolución viene controlada por la chi-squared, χ^2 , que debe ser menor de 1,2 y por la distribución de residuos.^[11]

2.3 RESULTADOS OBTENIDOS

En la Figura 11 se muestran las disoluciones madre de algunos de los colorantes a medir. A simple vista se puede observar como el color de las disoluciones varía en función de la sustitución del cromóforo y puede dar una idea de las propiedades fotofísicas de los mismos.

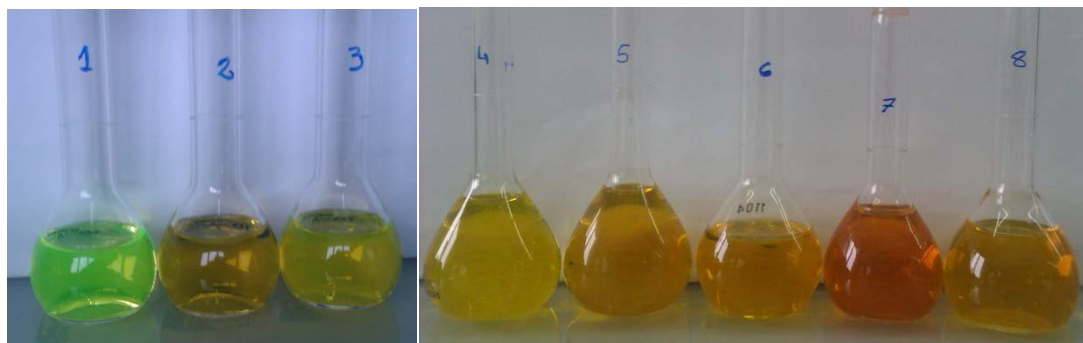


Figura 11: Disoluciones de los BODIPYs; (1) BDP,(2) F-BDP,(3) S-BDP,(4) F-BDP-5,7,(5) F-BDP-3,5,7,(6) F-BDP-5,6,7, (7) F-BDP-3,5,6,7 y (8) F-BDP-5

Las primeras disoluciones corresponden al BODIPY sin alquilación pero con distinta sustitución en meso. El color de la disolución 1 es amarillo-verde brillante que corresponde con el color de la emisión de la muestra, con lo que se puede deducir que este compuesto es muy fluorescente. El color de las disoluciones 2 y 3 es naranja-rojo, no brillante. Este color corresponde a la luz absorbida, por lo que la fluorescencia de estos será poco intensa.

Si se analizan las otras disoluciones 4-8, donde cambia el grado de alquilación del esqueleto del BODIPY, se ve que tienen una tonalidad rojo-naranja, que está relacionado con la luz absorbida. Este color da una idea de la zona del espectro donde se localiza la banda de absorción. Por ejemplo, la disolución 7 es la más roja y será la que tenga una longitud de onda de absorción mayor.

En la Figura 12 se muestra a modo de ejemplo los espectros de absorción y emisión de BDP-5,7 y BDP-3,5. Ambos espectros de absorción poseen la misma forma y es la propia de este tipo colorantes. Presentan un hombro vibrónico a altas energías, que corresponde con la vibración del hidrógeno fuera del plano de la molécula, y un máximo a longitudes de onda mayores ^[11] (BDP-5,7 $\lambda_{\max} = 496,0 \text{ nm}$ y BDP-3,5 $\lambda_{\max}=508,5 \text{ nm}$).

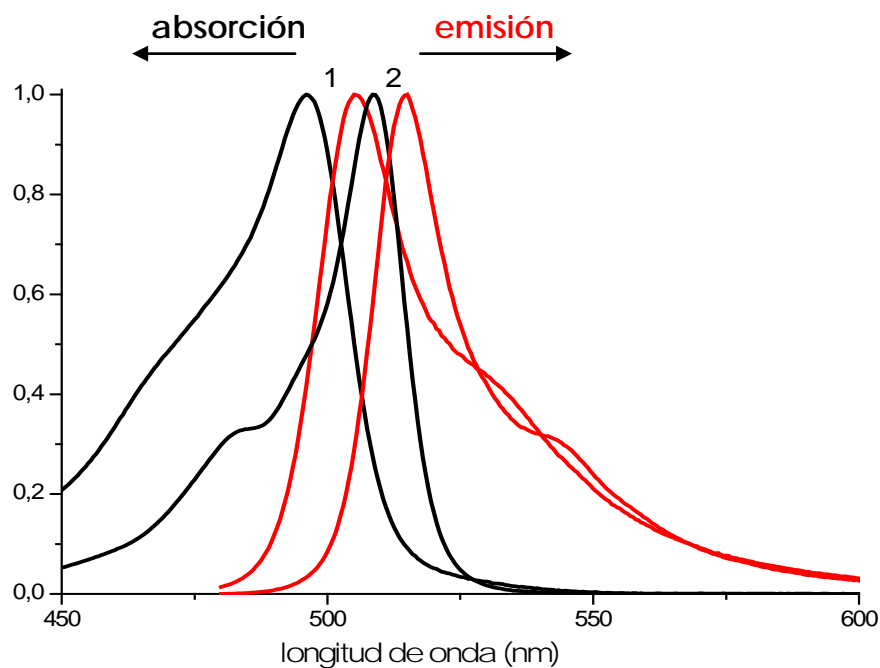


Figura 12: Espectros de absorción (negro) y emisión (rojo) normalizados de BDP-5,7 (1) y BDP-3,5 (2)

El espectro de fluorescencia es prácticamente la imagen especular del de absorción, lo que sugiere una similitud en los niveles vibracionales de los estados S_0 y S_1 . Además, el desplazamiento de Stokes es relativamente pequeño, característica común en estos colorantes y que supone una organización electrónica del estado excitado muy parecida al fundamental.

La curva de desactivación para BDP-3,5, Figura 13, es monoexponencial, y corresponde a un tiempo de vida 5,73 ns, $\chi^2 = 0,98$ por lo que la deconvolución es buena. Se ha observado que el tiempo de vida es independiente de la longitud de onda de emisión y de excitación.

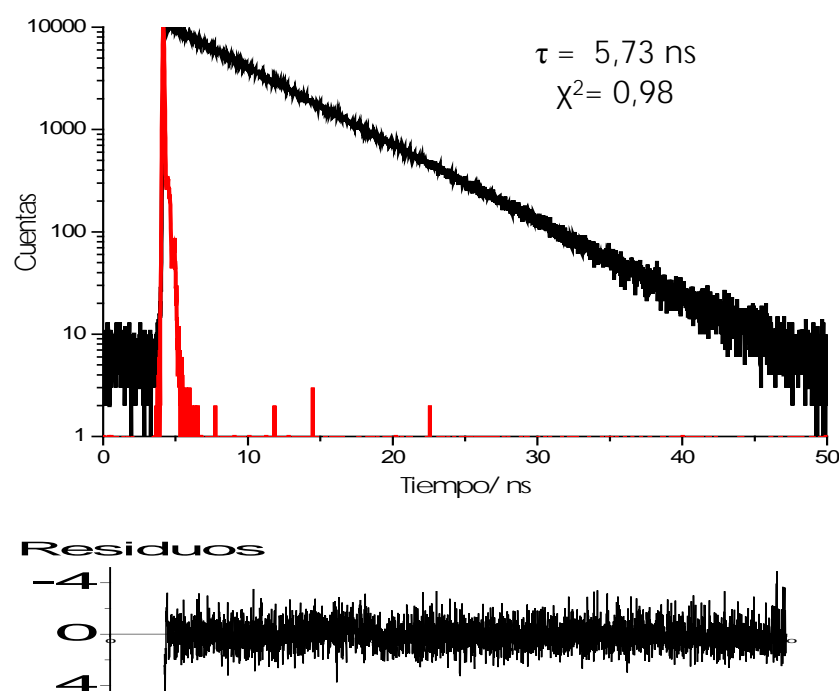


Figura 13: Curva de desactivación radiante de BDP-3,5 y su distribución de residuos.

A continuación en la Tabla 1, se resumen los resultados obtenidos para los distintos colorantes disueltos en THF, con una concentración aproximada de $2 \cdot 10^{-6}$ M. Los distintos colores de la tabla agrupan a los colorantes en tres bloques según su sustitución en meso (azul sin sustitución, verde fenilo y granate tiometilo). En dicha tabla se muestran las longitudes de onda máximas de absorción y de emisión, el coeficiente de absorción molar máximo, el rendimiento cuántico de fluorescencia, el tiempo de vida, así como las constantes de desactivación radiante y no radiante calculadas.

Cabe destacar que en algunos colorantes las curvas de desactivación radiante se han ajustado a curvas biexponenciales o triexponenciales y por lo tanto se tienen dos o tres tiempos de vida para cada colorante, cada uno con su contribución. En estos casos, el valor que se encuentra en la tabla para el tiempo de vida es el que tiene una contribución mayor que en cualquier caso siempre ha sido mayor del 88 %.

Tabla 1: Resultados obtenidos para los colorantes estudiados en THF de concentración aproximadamente $2 \cdot 10^{-6}$ M: longitud de onda de absorción (λ_{ab}) y fluorescencia (λ_{fl}), coeficiente de absorción molar (ϵ_{max}), rendimiento cuántico fluorescente (Φ), tiempo de vida (τ) y constantes de desactivación radiante (k_{fl}) y no radiante (k_{nr}).

Nombre	λ_{ab} (nm)	ϵ_{max} ($10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)	λ_{fl} (nm)	Φ	τ (ns)	k_{fl} (10^8 s^{-1})	k_{nr} (10^8 s^{-1})
BDP	500,0	6,7	506,5	0,84	6,50	1,29	0,25
BDP-5	501,5	5,2	509,0	0,95	6,26	1,52	0,08
BDP-3,5	508,5	10,1	515,0	0,86	5,73	1,50	0,25
BDP-5,7	496,0	4,5	505,0	0,84	5,77	1,46	0,28
BDP-3,5,7	506,0	11,1	511,0	0,89	6,26	1,41	0,18
BDP-5,6,7	506,5	2,8	517,0	0,79	5,19	1,53	0,40
BDP-3,5,6,7	517,0	5,7	524,0	0,89	5,75	1,55	0,19
BDP-1,3,5,7	505,5	11,8	511,0	0,82	5,27	1,56	0,34
F-BDP	499,0	6,0	518,0	0,02	0,26	0,88	37,00
F-BDP-5	503,5	6,2	520,5	0,04	0,30	1,33	32,00
F-BDP-5,7	498,0	4,7	514,0	0,02	0,08	2,50	122,00
F-BDP-3,5,7	504,0	9,0	517,0	0,02	0,11	1,91	89,00
F-BDP-5,6,7	510,0	4,7	528,0	0,02	0,09	1,82	89,00
F-BDP-3,5,6,7	515,0	8,4	530,5	0,02	0,14	1,42	70,00
S-BDP	490,0	5,7	532,0	0,41	4,21	0,98	1,39
S-BDP-5,7	490,5	3,6	530,0	0,03	0,19	1,70	51,00

2.4 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Como se puede observar en los resultados experimentales obtenidos las propiedades fotofísicas de los colorantes dependen del tipo y posición de los sustituyentes. Mientras, que la alquilación en las distintas posiciones desplaza ligeramente los espectros de absorción y emisión, la sustitución en 8 por fenilo o tiometilo altera bruscamente, no solo las bandas si no también la probabilidad de los procesos fotofísicos.

Al cambiar la estructura del cromóforo se modifica la estabilidad de dichos estados HOMO Y LUMO y varía la diferencia de energía entre ambos (E_{gap}). El efecto causado por los sustituyentes puede ser de resonancia: flujo de pares de electrones solitarios desde o hacia el sustituyente a través de dobles o triples enlaces; efecto inductivo: transmisión de la carga por inducción electrostática; e hiperconjugación: donación de densidad electrónica desde los orbitales σ de grupos saturados a los orbitales π .^[15]

En el caso de los BODIPYs la estructura del cromóforo viene representada por el equilibrio de distintas formas resonantes que aparecen en la Figura 14. En la estructura "a" la carga positiva está localizada en el carbono central y proporciona una mayor separación carga. Dicha carga, se desplaza a la posición 1 del cromóforo, "b", después a la 3, "c" y en la estructura "d" se localiza en el átomo de nitrógeno. La estructura "a" es la que más se favorece en el HOMO mientras que la estructura "d" lo es en el LUMO.^[16] Esto viene corroborado por cálculos mecano cuánticos que dan un mayor momento dipolar al HOMO que al LUMO. La adición de los distintos sustituyentes estabiliza o desestabiliza estas formas resonantes, variando así la diferencia de energía entre HOMO y LUMO, y por lo tanto las propiedades fotofísicas.

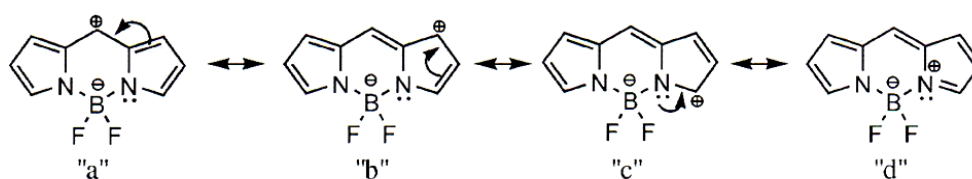


Figura 14: Formas resonantes de la estructura básica del BODIPY

2.4.1 Efecto de la alquilación del esqueleto de BODIPY

Se han estudiado colorantes cuyo grado de alquilación aumenta desde 0 a 4 tanto en colorantes sin sustitución en meso, como con el grupo fenilo. Algunos de los espectros de absorción y emisión de los colorantes sin sustitución en meso con distinto grado de alquilación están representados en la Figura 15, y en la Tabla 2 se presentan los valores obtenidos para el primer tipo de colorantes.

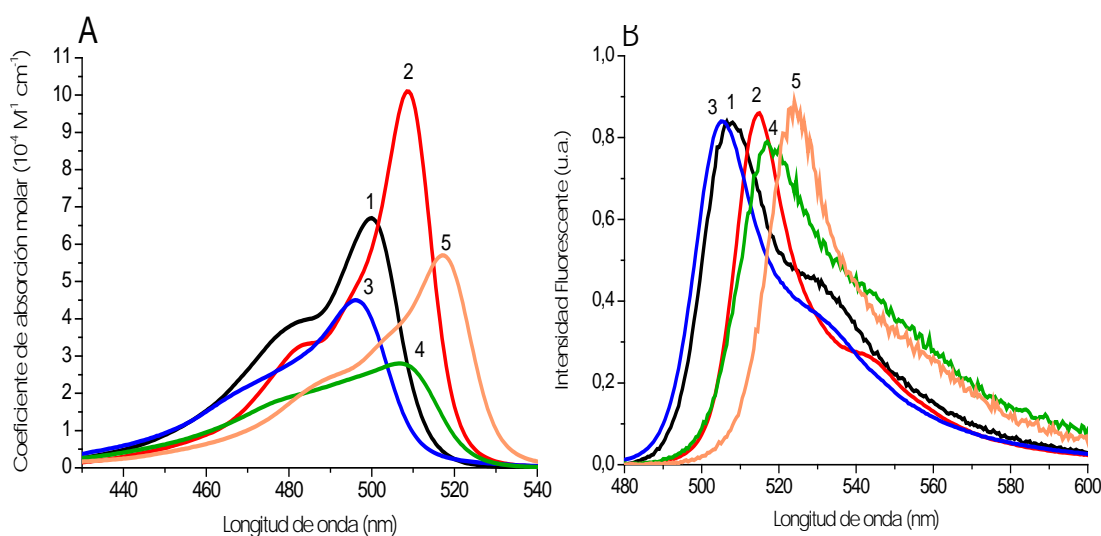


Figura 15: Espectros de absorción (A) y emisión normalizado al valor del rendimiento cuántico de fluorescencia (B) de (1) BDP, (2) BDP-3,5, (3) BDP-5,7, (4) BDP-5,6,7 y (5) BDP-3,5,6,7.

Si se analizan los valores de la longitudes de onda de absorción y de emisión de la Tabla 2, se puede observar que no hay un comportamiento regular con el grado de alquilación, pero sí una tendencia a desplazarse hacia el rojo con la alquilación. Este desplazamiento batocrómico esta causado por el efecto inductivo

dador de los grupos alquilo que aumentan la densidad electrónica en el cromóforo. Cabe destacar, que este desplazamiento también se puede observar en los colorantes con fenilo en meso (Tabla 1).

Tabla 2: Longitud de onda absorción (λ_{ab}), emisión (λ_{fl}) y constantes de desactivación radiante (k_{fl}) y no radiante (k_{nr}) para los BODIPYs sin sustitución en meso y con distinto grado de alquilación

Nombre	λ_{ab} (nm)	λ_{fl} (nm)	k_{fl} ($10^8 s^{-1}$)	k_{nr} ($10^8 s^{-1}$)
BDP	500,0	506,5	1,29	0,25
BDP-5	501,5	509,0	1,52	0,08
BDP-3,5	508,5	515,0	1,50	0,25
BDP-3,5,7	506,0	511,0	1,41	0,18
BDP-1,3,5,7	505,5	511,0	1,56	0,34

Tanto en los BODIPYs sin sustitución en meso como con el grupo fenilo se ha observado un aumento brusco del valor del coeficiente de absorción molar, casi el doble, al metilar en la posición 3 del colorante. Este hecho viene reflejado en la Tabla 3 donde se fan los valores del coeficiente de absorción molar. Es un resultado sorprendente ya que no es correspondido por un aumento de la constante de desactivación radiante, cuando ambas constantes cuantifican la probabilidad de transición radiante entre los estados HOMO y LUMO. Este efecto se puede deber a que en la posición 3 hay mayor densidad de carga positiva que en el resto de posiciones, debido a la forma resonante "c", (Figura 14) y por lo tanto la adición de este grupo dador por efecto inductivo da lugar una estabilización de la misma.

Tabla 3: Coeficiente de absorción molar para los BODIPYs metilados y sin metilar en la posición 3.

Sin metilar en 3	ϵ_{\max} ($10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)	Metilado en 3	ϵ_{\max} ($10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)
BDP-5	5,2	BDP-3,5	10,1
BDP-5,7	4,5	BDP-3,5,7	11,1
BDP-5,6,7	2,8	BDP-3,5,6,7	5,7
F-BDP-5,7	4,7	F-BDP-3,5,7	9,0
F-BDP-5,6,7	4,7	F-BDP-3,5,6,7	8,4

Por otro lado, subrayar que si se analiza la variación de los valores del rendimiento cuántico, tiempo de vida y constantes de desactivación, con la alquilación se puede observar que no genera cambios importantes. Lo mismo ocurre con los BODIPYs con fenilo (Tabla 1).

2.4.2 Efecto de la incorporación del grupo fenilo en posición meso

Se ha estudiado el efecto en las propiedades fotofísicas de dos tipos de sustitución en posición meso: el grupo fenilo, y el grupo tiometilo. Se sabe que las propiedades fotofísicas de estos cromóforos son muy sensibles a la sustitución en la posición 8,^[17] y además, que los mismos grupos funcionales en otras posiciones del BODIPY producen un cambio mucho menor.^[11] A continuación, se analiza cómo han afectado los dos tipos de sustituyentes, tomando los BODIPYs sin sustitución en meso como referencia.

En la Figura 16, se pueden observar los espectros de absorción y emisión de BDP-5,7 y F-BDP-5,7, dos BODIPYs con el mismo grado de alquilación pero uno de ellos sin sustitución en meso y otro con el

fenilo. En dicha figura se puede observar como disminuye la emisión en el F-BDP-5,7.

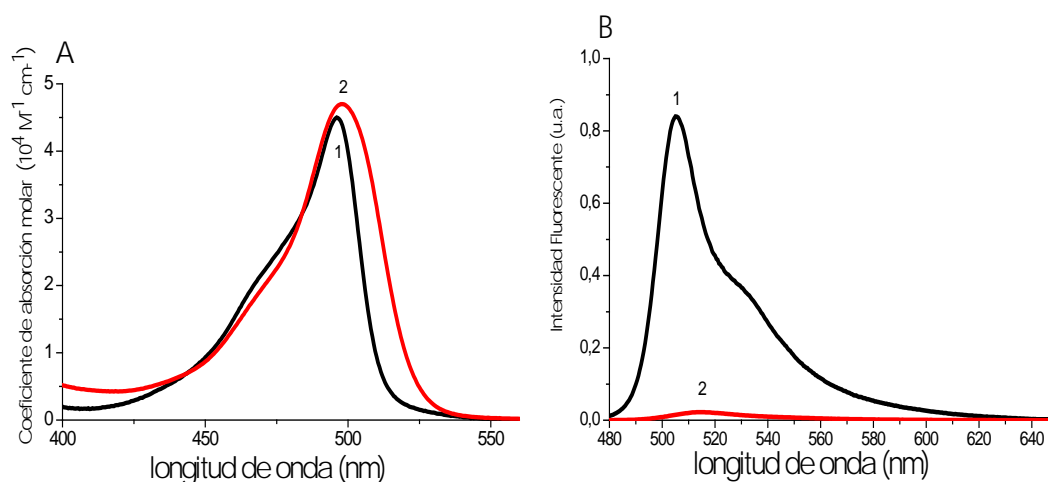


Figura 16: Espectro de absorción (A) y de emisión normalizado al valor del rendimiento cuántico de fluorescencia (B) de BDP-5,7 (1) y F-BDP-5,7 (2)

A su vez, en la Figura 17, se pueden ver las curvas de desactivación de ambos compuestos. La del BDP-5,7 es una monoexponencial con tiempo de vida 5,77 ns ($\chi^2=1,09$) y la F-BDP-5,7 es una multiexponencial cuya contribución más importante es de un tiempo de vida de 0,08 ns ($\chi^2 = 1,11$).

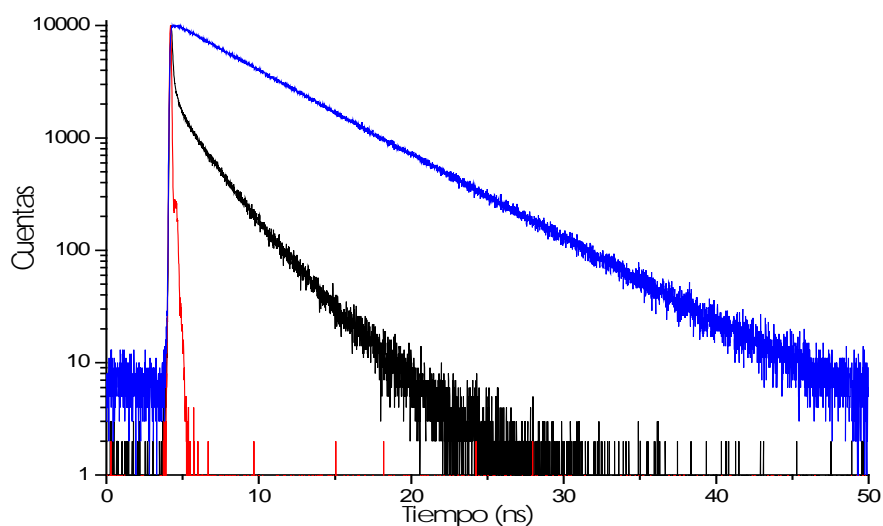


Figura 17: Curvas de desactivación radiante de BDP-5,7 (azul) y F-BDP-5,7 (negra)

En el caso del fenilo, Tabla 4, se observa en primer lugar que la longitud de onda de absorción no sufre grandes cambios. Sin

embargo, la longitud de onda de emisión se desplaza aproximadamente 10 nm hacia el rojo. Como consecuencia el desplazamiento de Stokes aumenta considerablemente, si se compara con sus derivados no sustituidos en meso. Esto puede deberse bien a que la forma resonante "d" que es la prioritaria en el LUMO se ve estabilizada por el pequeño carácter inductivo aceptor del fenilo o bien por una reorganización electrónica del estado excitado debido al grupo fenilo.

Tabla 4: Comparación de las longitudes de onda y desplazamiento de Stokes entre los colorantes no sustituidos en meso y los que tienen el grupo fenilo.

No fenilo				Fenilo			
Nombre	λ_{abs} (nm)	λ_{flu} (nm)	Δv_{St} (cm^{-1})	Nombre	λ_{abs} (nm)	λ_{flu} (nm)	Δv_{St} (cm^{-1})
BDP	500,0	506,5	257	F-BDP	499,0	518,0	735
BDP-5	501,5	509,0	294	F-BDP-5	503,5	520,5	649
BDP-5,7	496,0	505,0	359	F-BDP-5,7	498,0	514,0	625
BDP-3,5,7	506,0	511,0	193	F-BDP-3,5,7	504,0	517,0	499
BDP-5,6,7	506,5	517,0	401	F-BDP-5,6,7	510,0	528,0	668
BDP-3,5,6,7	517,0	524,0	258	F-BDP-3,5,6,7	515,0	530,5	567

Pero el cambio más brusco se observa en el rendimiento cuántico de fluorescencia y el tiempo de vida, Tabla 5. El rendimiento cuántico prácticamente alcanza el valor de cero y el tiempo de vida es inferior siempre de 0,30 ns. Esto se refleja sobre todo, en un aumento de la constante no radiante alcanzando valores 100 veces mayores, sin embargo la constante de fluorescencia varía muy poco.

Tabla 5: Comparación del rendimiento cuántico, tiempo de vida y constantes de desactivación entre los colorantes no sustituidos en meso y los que tienen el grupo fenilo.

No fenilo					Fenilo				
Nombre	Φ	τ (ns)	k_{fl} ($10^8 s^{-1}$)	k_{nr} ($10^8 s^{-1}$)	Nombre	Φ	τ (ns)	k_{fl} ($10^8 s^{-1}$)	k_{nr} ($10^8 s^{-1}$)
BDP	0,84	6,50	1,29	0,25	F-BDP	0,02	0,26	0,88	37,00
BDP-5	0,95	6,26	1,52	0,08	F-BDP-5	0,04	0,30	1,33	32,00
BDP-5,7	0,84	5,77	1,46	0,28	F-BDP-5,7	0,02	0,08	2,50	122,00
BDP-3,5,7	0,89	6,26	1,41	0,18	F-BDP-3,5,7	0,02	0,11	1,91	89,00
BDP-5,6,7	0,79	5,19	1,53	0,40	F-BDP-5,6,7	0,02	0,09	1,82	89,00
BDP-3,5,6,7	0,89	5,75	1,55	0,19	F-BDP-3,5,6,7	0,02	0,88	1,42	70,00

El aumento de la constante de desactivación no radiante se debe a un nuevo proceso de desactivación, la rotación libre del fenilo. [18] Este proceso da lugar a una pérdida de energía de los estados excitados. Además, también tienen lugar el acoplamiento vibratorio entre ambos sistemas aromáticos, lo que favorece aún más la desactivación no radiante.[18]

La rotación libre del fenilo puede ser eliminada metilando en las posiciones 1 y 7.[19] La adición en orto de estos sustituyentes impide la libre rotación del fenilo y por lo tanto reduce la pérdida de energía de los estados excitados. En consecuencia, también aumenta el rendimiento cuántico de fluorescencia.

2.4.3 Efecto de la incorporación del grupo tiometilo en posición meso

En la Figura 18 se pueden observar los cambios en el desplazamiento producidos en los espectros de absorción y emisión al introducir el grupo tiometilo en la posición 8. Estos espectros son los correspondientes al colorante sin alquilación, pero el mismo efecto se

observa si se compara los espectros con metilación en las posiciones 5 y 7, Tabla 6.

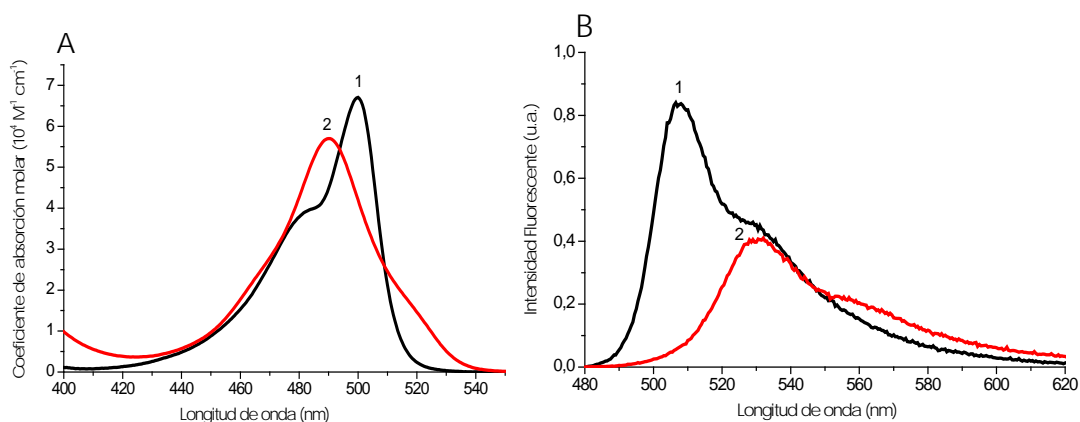


Figura 18: Espectros de absorción (A) y emisión normalizado al valor del rendimiento cuántico de fluorescencia (B) de BDP (1) y S-BDP (2)

Tabla 6: Longitudes de onda y desplazamiento de Stokes de los colorantes no sustituidos en meso y de los que tienen el grupo tiometilo.

No tiometilo				Tiometilo			
Nombre	λ_{ab} (nm)	λ_{fl} (nm)	$\Delta\nu_{St}$ (cm ⁻¹)	Nombre	λ_{ab} (nm)	λ_{fl} (nm)	$\Delta\nu_{St}$ (cm ⁻¹)
BDP	500,0	506,5	257	S-BDP	490,0	532,0	1611
BDP-5,7	496,0	505,0	359	S-BDP-5,7	490,5	530,0	1519

Aparentemente el comportamiento de las bandas de absorción y emisión es contrario, como se puede ver en la Tabla 6. Mientras que la longitud de onda de absorción disminuye, la de emisión aumenta. Esto hace que el desplazamiento de Stokes aumente de forma importante, hasta 1600 cm⁻¹.

Si se analizan bien los espectros de absorción de los dos tioderivados medidos, Figura 19, se puede observar que estos espectros están constituidos por dos bandas, una a energías más altas aproximadamente a 490 nm y la otra a energías más bajas 510 nm.

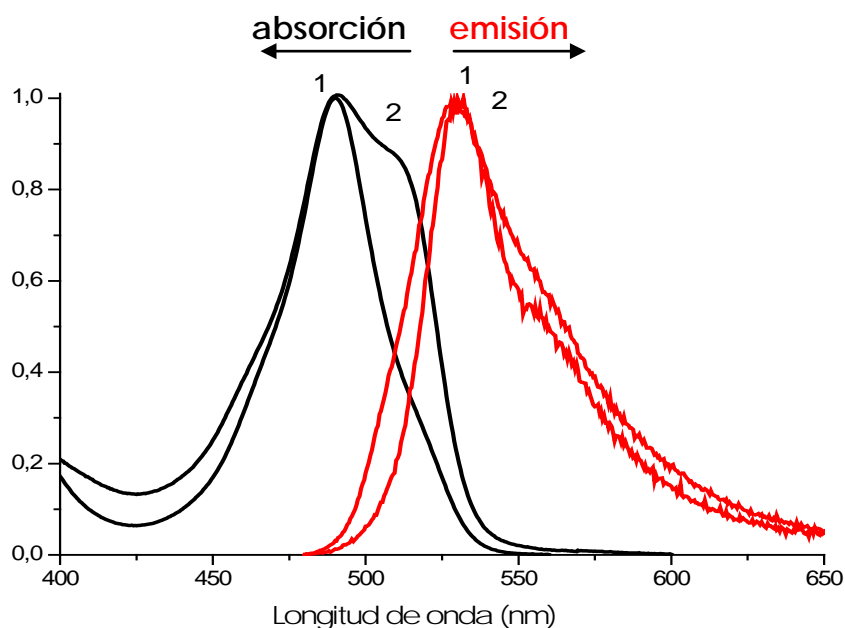


Figura 19: Espectros de absorción (negro) y emisión (rojo) normalizados de S-BDP (1) y S-BDP-5,7 (2).

Una explicación posible a este hecho observado es que el grupo tiometilo es dador por resonancia. Los electrones solitarios del azufre pueden entrar en resonancia con el cromóforo dando lugar a una nueva forma resonante, Figura 20. Esta forma resonante está caracterizada por una disminución de la aromaticidad del colorante (se confina a los dos pirroles) y produce bandas a mayores energías.

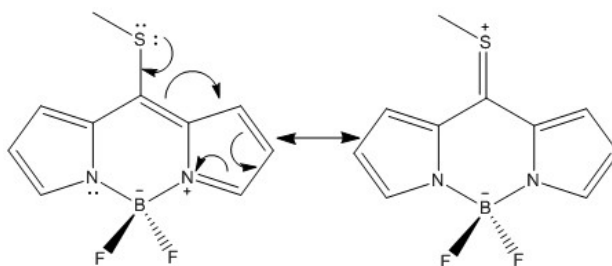


Figura 20: Formas resonantes del colorante S-BDP

Al aquilar el cromóforo (S-BDP-5,7) la participación de los electrones del azufre se ve en cierta forma impedida por el aumento de la densidad electrónica del cromóforo. Es por ello que en este último

colorante es más visible la banda localizada a mayores longitudes de onda.

Además la metilación en 7 hace que por impedimento estérico la conformación del azufre sea perpendicular al anillo y por lo tanto se dificulte aún más el flujo de electrones del par solitario.

Este comportamiento viene corroborado por el hecho que en BODIPYs con metilación en 1 y 7 (posiciones adyacentes al grupo tiometilo) dicho acoplamiento está totalmente impedido por la conformación perpendicular y solo se observa la banda del tiometilo localizada a longitudes de onda mayores.^[9]

La existencia de estas dos formas resonantes también ayuda a explicar el menor rendimiento cuántico de fluorescencia de los derivados del tiometilo.

En la Tabla 7, se dan los valores de las constantes de los procesos radiantes y no radiantes de los dos derivados tiometilo. Se puede observar una tendencia similar en ambos.

Tabla 7: Comparación de las constantes de desactivación entre los colorantes no sustituidos en meso y los que tienen el grupo tiometilo.

No tiometilo					Tiometilo				
Nombre	Φ	τ (ns)	k_{fl} ($10^8 s^{-1}$)	k_{nr} ($10^8 s^{-1}$)	Nombre	Φ	τ (ns)	k_{fl} ($10^8 s^{-1}$)	k_{nr} ($10^8 s^{-1}$)
BDP	0,84	6,50	1,29	0,25	S-BDP	0,41	4,21	0,98	1,39
BDP-5,7	0,84	5,77	2,50	0,28	S-BDP-5,7	0,03	0,19	1,70	51,00

La disminución de la capacidad fluorescente es debida fundamentalmente al aumento de la constante de desactivación no radiante de $0,28 \cdot 10^{-8} s^{-1}$ a $51,00 \cdot 10^{-8} s^{-1}$, en el derivado alquilado, ya

que la constante de desactivación radiante varía muy poco, de $2,50 \cdot 10^{-8} \text{ s}^{-1}$ a $1,7 \cdot 10^{-8} \text{ s}^{-1}$. El acoplamiento electrónico del grupo tiometilo con el núcleo del BODIPY puede llevar a un nuevo proceso de desactivación no radiante explicando así el menor rendimiento cuántico del S-BDP con respecto a BDP y S-BDP-5,7 con respecto a BDP-5,7. Este comportamiento se ha observado también en BODIPYs con sustituyentes en meso con mayor carácter electrodonador y con el efecto del disolvente.^[9]

3. CONCLUSIONES

Este trabajo de fin de grado no solo ha servido para adquirir nuevos conocimientos, sino también para integrar los ya recibidos, así como desarrollar las capacidades, competencias y habilidades adquiridas a lo largo del grado de Química.

Durante este trabajo se ha estudiado fotofísicamente distintos tipos de BODIPYs que han permitido ver los cambios causados en los diferentes parámetros fotofísicos al añadir sustituyentes en la posición meso y al alquilar el cromóforo en distintas posiciones. Las conclusiones científicas obtenidas se pueden resumir:

- La adición de sustituyentes alquilo a la estructura básica del BODIPY, no da lugar a grandes cambios. El efecto que tiene tanto en las longitudes de onda máxima de absorción y emisión como en el rendimiento cuántico de fluorescencia o tiempo de vida son muy leves.
- Al adicionar el fenilo en la posición meso del cromóforo, se observa una desaparición prácticamente total de la fluorescencia, debido a un aumento muy importante de la constante de desactivación

no radiante. Este aumento, se debe a la libre rotación del grupo fenilo en dicha posición que favorece la pérdida de energía.

- La incorporación de un heteroátomo en la posición meso con electrones sin compartir, grupo tiometilo, hace que estos entren en resonancia con el sistema π del cromóforo. Como consecuencia tiene lugar la aparición de una nueva banda en el espectro de absorción a longitudes de onda menores y nuevos mecanismos de desactivación no radiante.

Añadir, que finalizado este trabajo, se pueden plantear algunas cuestiones que serían interesantes estudiar en un futuro. Por ejemplo, el efecto de la alquilación en cada posición del BODIPY, ya que hay posiciones que no se han estudiado, el efecto de heteroátomos en otras posiciones, o la influencia de los distintos tipos de disolventes.

Por último, mencionar que durante este trabajo de fin de grado ha tenido lugar una evolución a nivel personal, en cuanto a las capacidades y habilidades adquiridas durante el grado.

Al comenzar el trabajo, se presentó una situación nueva a la que se ha respondido con optimismo, superando los nuevos retos y dificultades que se iban presentando durante la realización del mismo, con esfuerzo y entusiasmo.

La primera dificultad, se encontró cuando tuvo lugar la recogida de información y por lo tanto, la asimilación de nuevos conocimientos, a través de la lectura de artículos científicos de alto nivel, lo que supuso un nuevo reto que poco a poco fue superado.

Después, dentro de la parte experimental, también se encontraron ciertas dificultades. El tipo de técnicas utilizadas durante el trabajo requieren muestras de alta pureza y gran precisión en las medidas, ya que son técnicas sofisticadas. En primer lugar, la preparación de

muestras tan diluidas implicó hacer uso de una balanza de alta precisión que no se había utilizado anteriormente. Además, aunque algunas de las técnicas de caracterización ya se conocían, como la absorción o la fluorescencia, fue necesario ampliar conocimientos, por no hablar de técnicas no conocidas como el contador cuántico de fotones. Esto implicó en primer lugar un tiempo de aprendizaje y en algunos casos, la repetición de las medidas de algunos colorantes. No obstante, tras finalizar el estudio tanto las técnicas que ya se conocían como las nuevas han sido asimiladas notablemente.

Por otro lado, se ha realizado el trabajo experimental de manera autónoma, por primera vez durante largos periodos de tiempo, lo que ha implicado una planificación, desarrollo y gestión del trabajo, así como la habilidad y destreza para reconocer y solucionar los problemas según se iban planteando. Esta situación ha resultado algo embarazosa al iniciar el trabajo pero durante este, ha sido asimilada y superada con éxito.

El último reto, ha sido la explicación de los resultados obtenidos, lo que incluía realizar un análisis e interpretación exhaustivos de los mismos, plasmándolos en una memoria y posteriormente en una exposición oral.

Además, destacar que todo el trabajo se ha desarrollado en el laboratorio de investigación de Espectroscopia Molecular lo que ha supuesto la adaptación a un nuevo lugar de trabajo y por lo tanto a la metodología del mismo. Ello me ha dado la oportunidad de trabajar en equipo con los miembros de dicho grupo, a pesar de tratarse de un trabajo individual.

Por lo tanto, durante este trabajo, además de desarrollar nuevos conocimientos sobre el tema estudiado y la mecánica experimental para hacerlo, también ha sido una oportunidad para conocer en

primera persona la metodología de trabajo de un grupo de investigación.

4. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Haugland,R.P. The Handbook. A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Technology; 10th Ed. Eugene, OR: Molecular Probes Inc, 2005.
- [2] Ziesel, R.; Ulrich, G.; Harriman, A. New J. Chem. 2007, 31, 496-501.
- [3] Schafer, F.P. Dye Lasers; Springer-Verlag, Berlin, 1990.
- [4] Pavlopoulos, T.G. Prog. Quantum Elec. 2002, 26, 193.
- [5] Demas, J. N.; Crosby, G. A. Phys. Chem. 1971, 75, 991.
- [6] Treibs, A.; Kreuzer, F.H. Justus Liebigs Ann. Chem. 1968, 718, 208.
- [7] Pintado, M.M. Síntesis, propiedades fotofísicas y evaluación láser de colorantes con emisión en la región roja del espectro. Tesis, Universidad Complutense, Madrid, 2010.
- [8] Chang,R. Principios básicos de espectroscopia; AC: Madrid, 1977.
- [9] Esnal, I.; Valois-Escamilla, I.; Gómez-Durán, C.; Urías-Benavides, A.; Betancourt-Mendiola,M.L.; López-Arbeloa, I.; Bañuelos, J.; Garcia-Moreno, I.; Costela, A.; Peña-Cabrera, E. Blue-to-orange-wavelength tunable laser emission from tailored BODIPYs combining heteroatom and alkylation effects at strategic key positions.

- [10] Otero, R. Estudio estructural y dinámico de sistemas organizados mediante sondas fluorescentes. USC: Santiago de Compostela, 2007.
- [11] López Arbeloa, F.; Bañuelos, J.; Martínez, V.; Arbeloa, T.; López Arbeloa, I. Structural, photophysical and lasing properties of pyrromethene dyes. 2005.
- [12] Bañuelos, J.; López, F.; Martínez, V.; Arbeloa, T.; López, I. Phys. Chem. Chem. Phys. 2004, 6, 4247.
- [13] López, I. J.Photochem. 1980, 14, 97.
- [14] López, F.; Arbeloa, T.; López, I.; García, I.; Costela, A.; Sastre, R.; Amat-Guerri, F. Chem. Phys. 1998, 236, 331-341.
- [15] Costa, J.M. Diccionario de Química Física; Díaz de Santos: Barcelona, 2005.
- [16] Bergström, F.; Mykhalyov, I.; Hägglof, P.; Wortmann, R.; Johansson, L. B. A. J. Am. Chem. Soc. 2002, 124, 196.
- [17] López, F.; Bañuelos, J.; Martínez, V.; Arbeloa, T.; López, I. Chem. Phys. Chem. 2004, 5, 1762.
- [18] Bañuelos, J.; López, F.; Martínez, V.; Arbeloa, T.; Amat-Guerri, F.; Liras, M.; López, I. Phys. Chem. Lett. 2004, 385, 29.
- [19] Burghart, A.; Kim, H.; Welch, M. B.; Thoresen, L.H.; Reibenspies, J.; Burgess, K. J. Org. Chem. 1999, 64, 7813.