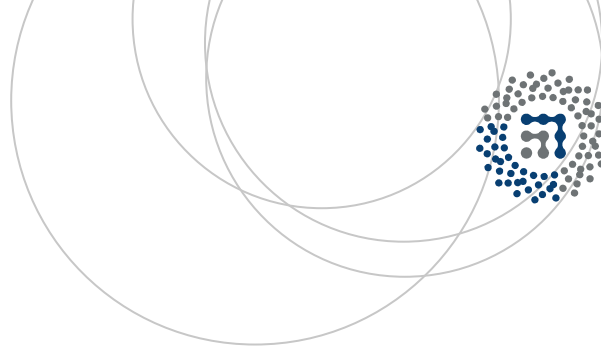


eman ta zabal zazu



Universidad  
del País Vasco

Euskal Herriko  
Unibertsitatea



ZTF-FCT

Zientzia eta Teknologia Fakultatea  
Facultad de Ciencia y Tecnología



Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado  
Kimikako Gradua / Grado en Química

# AminoBODIPY laser koloratzaile urdinak: ezaugarri fotofisikoen azterketa eta katioiekin duten konplexazio ahalmenaren ebaluazioa

Egilea/Autor/a:  
Iratxe Zuazo Toucet  
Zuzendaria/Director/a:  
Jorge Bañuelos Prieto

© 2016, Iratxe Zuazo Toucet

Leioa, 2016ko ekainaren 27a /Leioa, 27 de Junio de 2016



eman ta zabal zazu



Universidad  
del País Vasco

Euskal Herriko  
Unibertsitatea



**ZTF-FCT**

Zientzia eta Teknologia Fakultatea  
Facultad de Ciencia y Tecnología

## **GRADU AMAIERAKO LANA**

### **KIMIKAKO GRADUA**

# **AMINOBOPIY LASER KOLORATZAILE URDINAK: EZAUGARRI FOTOFISIKOEN AZTERKETA ETA KATIOIEKIN DUTEN KONPLEXAZIO AHALMENAREN EBALUAZIOA.**

## **IRATXE ZUAZOK AURKEZTUTAKO MEMORIA**

**MATRIKULAZIO- ETA DEFENTSA-DATA:** Leioa, 2016ko ekainaren 27a.

**ZUZENDARIA:** JORGE BAÑUELOS PRIETO

**SAILA:** KIMIKA FISIKOA



## AURKIBIDEA

<b>1. SARRERA ETA HELBURUAK .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GARAPENA .....</b>	<b>11</b>
<b>2.1 TEKNIKA ESPEKTROSKOPIKOAK .....</b>	<b>11</b>
2.1.1 Laginen prestaketa.....	11
2.1.2 Absortzio espektroskopia .....	12
2.1.3 Fluoreszentzia espektroskopia .....	14
2.1.4 Denborarekin korrelazioa duen fotoi-kontagailu kuantikoa .....	16
<b>2.2 METODO KONPUTAZIONALAK .....</b>	<b>18</b>
2.2.1 Geometrien optimizazioa .....	19
2.2.2 Absortzio espektroen simulazioa.....	20
2.2.3 Disolbatzailearen eraginaren simulazioa.....	20
<b>2.3. BODIPYAREN EZAUGARRI FOTOFISIKO OROKORRAK .....</b>	<b>21</b>
<b>2.4 8-AMINO BODIPYAK .....</b>	<b>23</b>
<b>2.5 KRIPTANO BODIPYAK.....</b>	<b>28</b>
2.5.1 Amina sekundario bati lotutako koro eterrak .....	28
2.5.2 Amina tertziario bati lotutako kriptanoak .....	30
2.5.3 Koro baten bidez lotutako BisBODIPYak.....	34
<b>2.6 8-DI-2-PIKOLIL BODIPY.....</b>	<b>39</b>
<b>3. ONDORIOAK .....</b>	<b>43</b>
<b>4. BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>44</b>



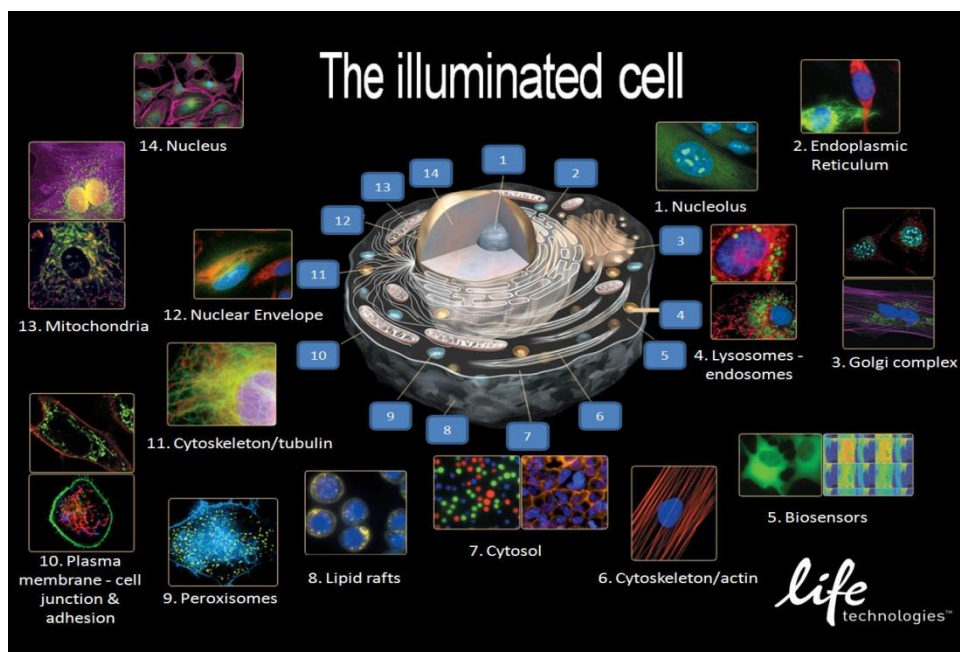
## 1. SARRERA ETA HELBURUAK

Koloratzaileak  $\pi$  sistema hedatuko molekula organikoak dira eta argi ikusgaiaren eremuan erradiazio elektromagnetikoaren absortzio eraginkorra ahalbidetzen dute. Koloratzaileen kromatizitatearen ondorioz, historian zehar, estetika arloan eta ehungintzan erabiliak izan dira, pigmentu bezala batez ere (1. Irudia). Kromoforo horietariko askok berezko fluoreszentzia altua erakusten dute. Arlo teknologikoan zein komertzialean, bestelako erabilerak sustatuak izan dira: alde batetik, sintesi organikoan eta bereizmen handiko teknika espektroskopikoetan izandako aurrerapausoak direla eta, eta bestetik, fluoroforo horietariko batzuek propietate fotofisiko bereziak aurkezten dituztelako. Aplikazioen artean, ondokoak aipa daitezke<sup>1</sup>: elektronika (datuak biltegitatzeko), medikuntza (helburu terapeutikoetarako) eta argazkigintza.



**1. Irudia:** *Kolore desberdineko pigmentuak.*

Luminoforo organikoek izandako garrantzia kontuan hartuta, zientzialariak ahalegin handiak egiten dabilta fluoroforo berriak garatzeko<sup>2</sup>. Koloratzaileak esparru desberdinetan erabiltzen badira ere, azken urte hauetan fotonikan arrakasta handia izan dute laser sintonizagarriak lortzeko. Biokimika arloan ere garrantzia hartu dute zuntza biologiko bezala erabiltzeko. Zuntza hauei esker prozesu biokimiko eta biofisikoen monitorizazioa *in situ* egin daiteke irudi fluoreszenteak agertzen direlarik<sup>3</sup>. Zelulen eta ehunen morfologiaren azterketarako ere erabiliak dira<sup>4</sup> (2. Irudia).



**2. Irudia:** *Zelulen morfologiaren azterketa zuntz biologikoen bidez.*

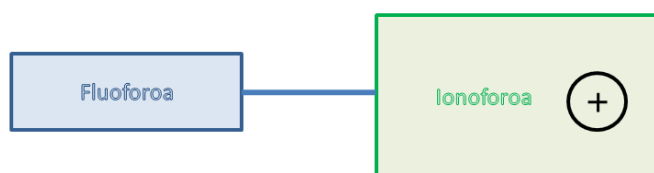
Goiko aplikazio biologikoarekin lotuta, koloratzaile fluoreszenteak inguru desberdinetan aurkitzen diren katioien detekzioan ere erabili ohi dira. Katioiek hainbat prozesu biologikoetan parte hartzen dute eta horregatik hauek detektatzeko tekniken inguruan ikertzea beharrezkoa da.

Sodio, potasio, magnesio eta kaltzio katioiek nerbio-sistemaren bultzadan, aktibitate zelularrean eta giharren uzkurduran bezalako prozesu biologikoetan parte hartzen dute. Medikuntza arloan katioiak ere erabiliak dira, esate baterako, litioa depresioaren aurka erabiltzen da eta potasioa arteria-presio altua duten pertsonen kasuan. Bestalde, aluminioa detektatzeko tekniken inguruan ikerketak egiten ari dira Alzheimer izeneko gaixotasunaren eragileetariko bat izan daitekeela eztabaidatzeaz baitago. Honetaz aparte, uretako mikroorganismoek bizirauteko zinka, burdina eta manganeso katioietan aberatsak diren elikagaien premia dute. Azkenik, merkurio eta kadmio metalek ingurumenean ondorio latzak dakartzatela ez dago zalantzarik, horregatik katioi hauetarako guztietarako detekzio teknika azkarrak behar dira<sup>5</sup>.



Katioien detekziorako ioi elektrodo selektiboak eta absortzio atomikoko espektroskopia bezalako metodo analitikoak eskuragai badaude ere, garestiak izateaz aparte askotan lagin kantitate handiak behar dira. Hau dela eta, gaur egun, katioien detekziorako sentsore fluorezenteetan oinarritzen diren metodo sentikorak eta selektiboak garatzen ari dira<sup>5</sup>.

Sentsore fluorezente orok, diseinu molekular berdina izaten dute; elektroihartzailea den fluoroforo bati lotutako elektroimailea den ionoforo bat (3. Irudia). Fluoroforo organikoak propietate fluorezenteak ditu eta ionoforoa, aldiz, ioiaren harrapaketa arduratuko da. Sentsore hauen diseinuaren helburu nagusia, harrapaketa-erantzun erlazioa aurkitzea da. Hau da, ionoforoak katioia harrapatzean molekularren fluorezentzian aldaketak sumatzea<sup>6,7</sup>.



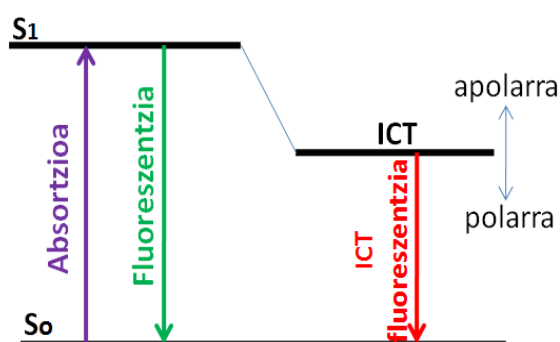
### 3. Irudia: Sentsore fluorezenteen diseinu molekularra.

Normalean, aldaketa hauetan bi motatako efektuak induzitzen dira: karga transferentzia intramolekularra (ICT) eta fotoinduzitutako elektro transferentzia (PET) izenekoak.

Elektroi emaile-hartzaile egitura molekularretan, karga transferentziatzeko prozesuak eman daitezke; batez ere, kitzikapenaren ondorioz. Molekula irradiatzean, karga erraztasun handiagoarekin mugitu egiten da emailetik hartzailera egoera meta egonkor berri bat sortuz. Beraz, koloratzailearen berezko egoera kitzikatuaz gain beste egoera bat agertzen da, ICT izenez ezaguna dena (4. Irudia). Egoera hau oso polarra da jasotako karga banaketagatik. Hau dela eta, bere energia asko aldatu egiten da disolbatzailearen naturaren arabera. Nahiz eta absorbantzia aldaketarik ez sumatu, emisio espektroan behatzen diren aldaketak nabariak izaten dira, batez ere, ingurune polarretan, ICT egoera egonkortzen delako. Hau da, kitzikapenaren ondoren egoera kitzikatuan dagoen elektroia oinarritzko egoerara zuzenean buelta

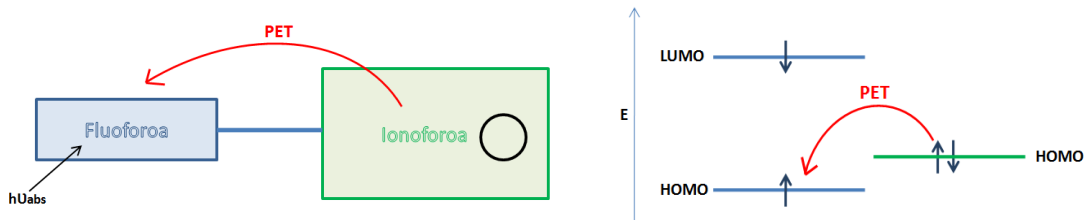
daiteke edo ICT egoera horretara pasatu. Normalean, ICT egoera ez-erradioaktiboa edo bere fluoreszentzia seinalea oso ahula denez, koloratzailearen fluoreszentzia jaitsi egiten da bereziki ingurune polarretan edota emisio banda berriak agertzen dira uhin luzera handiagoan<sup>8,9</sup>.

Beraz, efektu honek katioiaren harrapaketa inguruan informazioa emango du. Izan ere, ionoforoak katioia harrapatzean honen elektro-emailea ahalmena murrizten da eta era berean ICT probabilitatea. Ondorioz, ICT egoera hori ahal den neurrian baliogabetuko da eta molekularen fluoreszentzia handiagoa izango da.



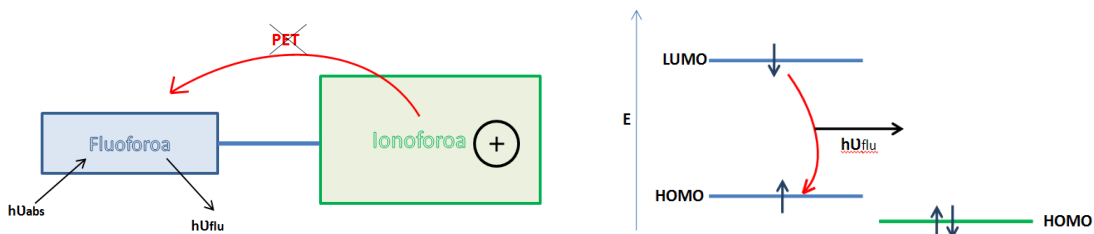
**4. Irudia:** ICT efektua azaltzen duen eskema.

Fotoinduzitutako elektro transferentzia (PET) efektuari dagokionez, molekularen kitzikapenaren ondorioz, emailea eta hartzailearen artean elektro bat trukutzen da. Horretarako, emailearen okupatuta dagoen energia altueneko orbital molekularra (HOMO), hartzailearen HOMO eta ez-okupatuta dagoen energia baxueneko orbital molekularren (LUMO) artean kokatzen da. Ikuspuntu termodinamikoetik, egoera honetan eta kitzikapenaren ondorioz, elektro-emailearen HOMO orbitaletik erdi beteta dagoen elektro-hartzailearen HOMO orbitalera elektroaren transferentzia posiblea da (5. Irudia). PET efektu honen ondorioz, koloratzailea erreduzitua dagoelarik, egoera kitzikatuan dagoen hartzailearen (koloratzaile) elektroia ezin daiteke oinarrizko egoerara bueltatu eta seinale fluoreszentea desagertzen da<sup>7</sup>.



**5. Irudia:** PET efektua azaltzen duen orbital molekularren eskema.

Katioia sartzean, elektroi-emaiaren HOMO orbitalaren energia aldatu egiten da eta koloratzailearen HOMO eta LUMO orbital molekularren artean ez kokatzekotan PET efektua baliogabetzen da termodinamikoki ezinezkoa delako. Ondorioz, elektroia fluoroforoaren LUMO orbitaletik HOMO orbitalera buelta daiteke fluoreszentzia berreskuratzen delarik (6. Irudia).

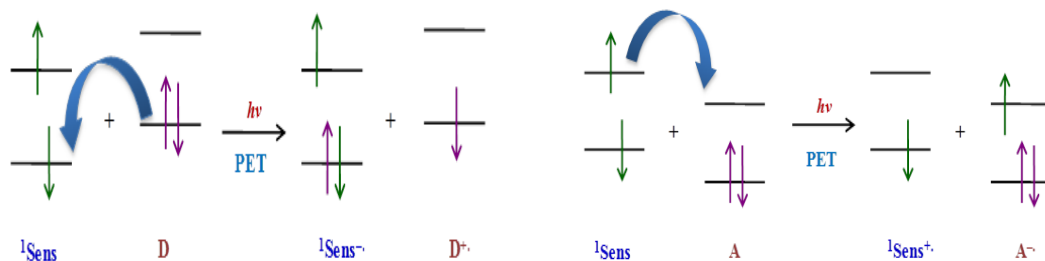


**6. Irudia:** PET efektuaren deuseztapenaren eskema katioia sartzerakoan.

PET prozesua jasaten duten sentsoreei “Off-On” etengailuak deitzen zaie, molekula katioiarekin konplexatua izan arte fluoreszentea ez delako. Katioiak detektatzeko erabili ohi den prozesua aurrean azaldutako PET erreduktiboa da, baina “Off-On” izenaz ezagunak diren etengailuak ere lor daitezke PET oxidatiboaren<sup>10</sup> bidez. Kasu honetan, koloratzaileak kitzikatutako elektroia ionoforoaren LUMO orbitalera transferitzen da (7. Irudia) fluoreszentzia piztuz.

Aipatu beharra dago kontrako joera duten “On-Off” etengailuak ere lortu ahal direla. Kasu honetan, molekula fluoreszentea da katioiarekin konplexatua izan arte. Ionoforoaren HOMO edo LUMO orbitalak koloratzailearen HOMO-LUMO orbitalen artean kokatzen dira PET prozesua ahalbidetuz. Dena den, “On-Off” etengailuen detekzioaren sentikortasuna txikiagoa da. Izan ere, katioiaren presentziagatik jasaten duten fluoreszentiaren galera fluoroforoaren fotodeskonposizioan erabilitako erradiazio ahaltsuarekin okertu daiteke mikroskopia fluoreszentean.

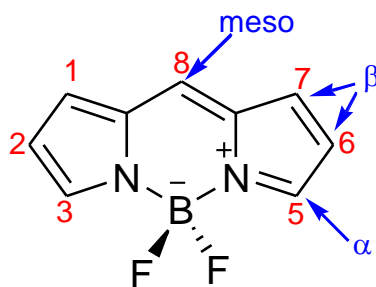
Hau dela eta, “Off-On” etengailuak erabiliagoak eta komenigarriagoak dira katioien presentzia sumatzeko<sup>7</sup>.



### 7. Irudia: PET erreduktiboa eta PET oxidatiboa, hurrenez hurren.

Normalean, aurrean azaldutako efektuak hautemateko seinale nagusiak molekularen fluoreszentzia maximoko uhin-luzera ( $\lambda_{flu}$ ) eta fluoreszentziaren etekin kuantikoa ( $\phi$ ) dira. ICT efektua jasaten duten sentsoerek desplazamendu espektralak (begi bistaz jarraitu ahal direnak) erakusten dituzte edota fluoreszentzia ahalmenaren igoera katioiaren kantitatearen arabera. PET efektua jasaten duten sentsoreen kasuan, aldiz, katioiaren presentzia sumatzea errazagoa da. Izan ere, katioia ez dagoenean koloratzailea “iluna” (“off” egoera) den bitartean katioiaren harrapaketa ondoz koloratzaileak seinale fluoreszente distiratsua (“on” egoera) emititzen du.

Gaur egun, komertzialki eskuragarri diren laser koloratzaile familia ugari existitzen badira ere, haien artean 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indazenoak (BODIPY (BDP) izenaz ezaguna, 8. Irudia) arretarik handiena jaso duena izan da. Ikus daitekeenez, kromoforoaren oinarritzko egitura  $sp^2$  hibridazioa duen karbono baten bidez lotutako bi pirrol eraztunek (zianina konjokazioa) eta egiturari zurruntasuna ematen dion  $BF_2$  zubi batek osatzen dute<sup>11,12</sup>.



### 8. Irudia: BODIPY koloratzaileen egitura molekularrik sinpleena (BDP).

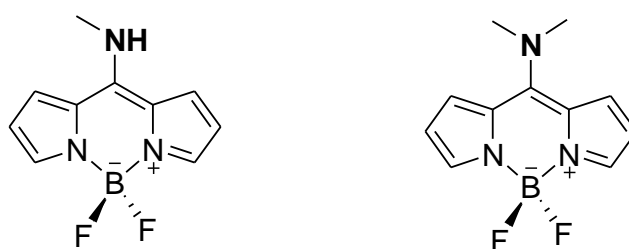
BODIPY laser koloratzaileak, espektro ikusgaiaren erdialdean (berde-horizonaldean), absortzio eta fluoreszentzia banda intentsuak erakusteagatik ezagunak dira. Gainera, egonkortasun termikoa eta fotokimikoa bezalako ezaugarriek gainerakoetatik bereizten dituzte.

BDParen ezaugarri fotofisikoak bereziak eta ezin hobeak izateaz gain<sup>13</sup>, azpimarratzekoa da, ikuspuntu sintetikitik, koloratzaile honen egitura erraz eralda daitekeela. Hau da, erreazio organiko ugari erabil daitezke bere oinarriko kromoforo dipirrolikoa zeharo aldatzeko eta talde funtzional desberdinak txertatzeko<sup>14</sup>. Gainera, ordezkatzaillearen arabera kromoforoaren ezaugarri fotofisikoak nabarmenki modulatzearaz gain prozesu berriak sortaraz daitezke (ICT edo PET esaterako). Ezaugarri berezi hauek guztiak kontuan harturik BODIPY koloratzaileak hainbat esparrutan, hala nola, laserretan<sup>15</sup>, biologian<sup>16</sup>, biomedikuntzan<sup>17</sup> eta zelula fotobolitaikoetan<sup>18</sup> jasotzen ari diren arreta handia ulertzekoa da.

BODIPY koloratzaileen egitura molekularren eta propietate fotofisikoen moldakortasuna, katioien detekzioarako sentzore fluoreszenteen diseinurako abiapuntu hobe ezina da. Horretarako, diseinu molekularra eta portaera fotofisikoa ulertzea ezinbestekoa da<sup>19</sup>. Ildo hau jarraituz, Kimikako Gradu Amaierako Lan honen helburuetariko bat BODIPY koloratzaile berrien ezaugarri fotofisikoak aztertzea izan da, neurketa esperimentalak eta simulazio mekanokuantikoak erabiliz. Horretaz gain, katioien presentzian erakusten duten jarrera aztertu egin da.

Horretarako, *meso* posizioan elektroi-emaileak diren amino taldeen txertaketek propietate fotofisikoetan sortarazitako aldaketak ikertu eta ulertu egin dira. *Meso* posizioa aukeratu da, posizio kromoforiko horretako ordezkatzailen txertaketek, koloratzailearen ezaugarri fotofisikoak dezente aldatzen dituztelako<sup>19</sup>.

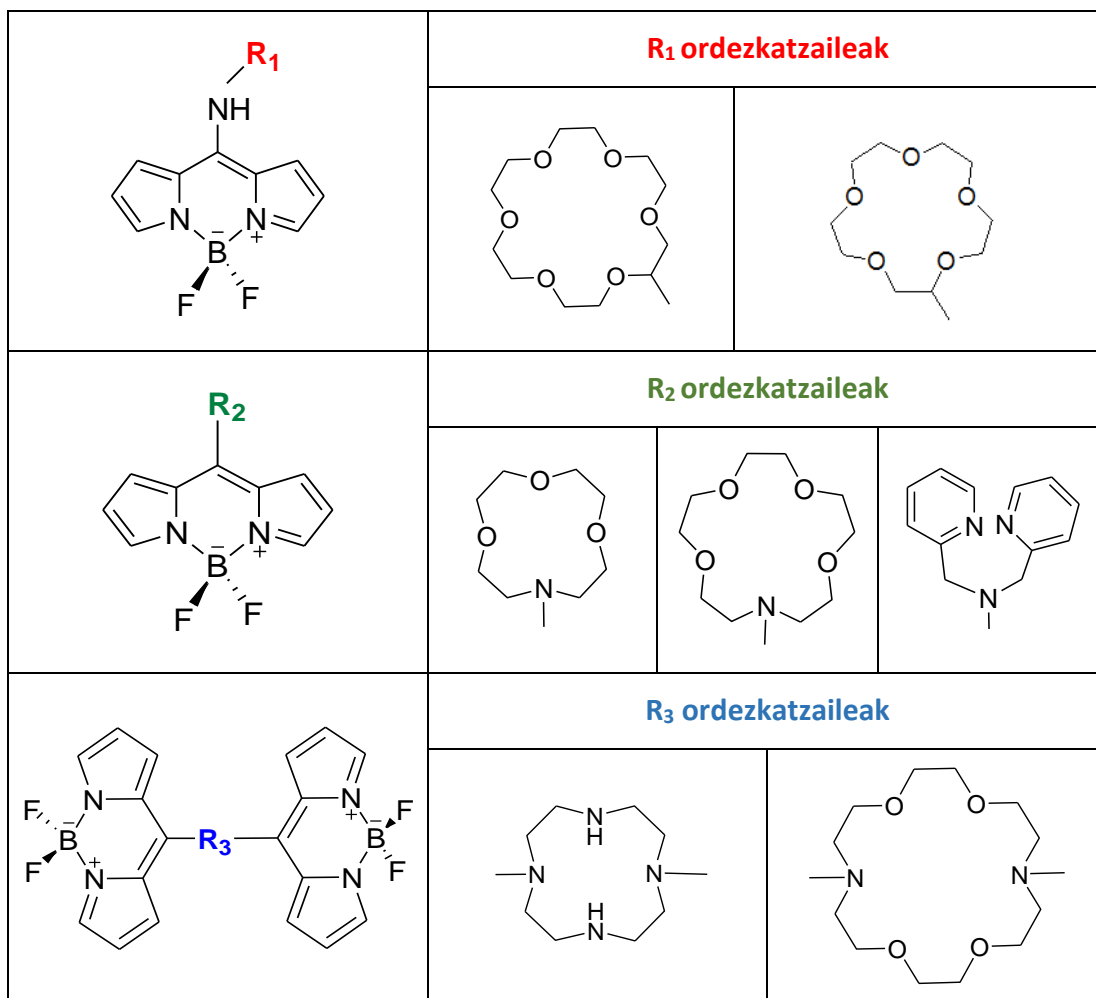
Hasteko, amino talde sekundario eta tertziarioak dituzten 8-aminoBODIPY (9. Irudia) koloratzaileekin lan egin da. Haien propietate fotofisikoak disolbatzaile desberdinetan aztertu egin dira, disolbatzaileak propietateetan eragina duen ondorioztatzeko.



**9. Irudia:** *Amino talde sekundarioa eta tertziarioa duten 8-aminoBODIPYen egiturak.*

Ondoren, amino hauek abiapuntutzat hartuta, egitura konplexuagoak aztertu egin dira. Koloratzaile familia honen aplikazioetariko bat katioien detekzioa dela kontuan harturik, hauek harrapatzeko ionoforo espezifikokoak dituzten molekulak erantsi egin zaizkie. Katioiak atzemateko ionoforo egokienak koro eterrak dira. Izan ere, selektiboki metal alkalinoekin eta lehenengo serieko trantsizio metalekin konplexatzeko gaitasuna erakusten dute; beti ere, ioiaren tamaina, afinitatea eta koro eterraren barrunbea kontuan harturik<sup>20</sup>.

Aztertu egin diren molekulak hiru taldetan bana daitezke (10. Irudia): amina sekundario bati erantsitako koro eterrak, amina tertziarioei txertatutakoak (aminoak makrozikloan parte hartzen duelarik) eta aurreko koroa edo aza-koro baten bidez lotutako bisBODIPYAK.



**10. Irudia:** Katioiak harrapatzeko koroak dituzten BODIPYak.

Azken egitura hauen propietate fotofisikoak behin neurturik, katioi desberdinekin dituzten interakzioak aztertzeari ekin zaio. Izan ere, amino taldearen elektroik bikoite bakartiaren interakzioa BODIPYetan kontrola daiteke katioien presentziarekin eta era berean amino taldeek sortarazitako aldaketak koloratzailearen ezaugarri fotofisikoetan. Modu honetan, kontzentrazio jakinetan katioiek fluoreszentzian duten eragina azter daiteke. Katioiak aukeratzeko orduan, dauden metal guztietatik adierazgarrienak hartu dira. Litoia, tamaina txikiena duen metal alkalinoa delako; kaltzioa eta potasioa, talde desberdineko metal alkalinoak direlako eta zinka, trantsizio metal ertaina izateaz aparte, koro eterrak honekiko oso espezifikoak direlako.

Laburbilduz, lan honen xede nagusia BODIPY koloratzaileetan oinarritzen diren molekula desberdinen ezaugarri fotofisikoak ikertzeaz eta ulertzeaz gain, katioien eragina aztertzea izan da sentore fluoreszente moduan joka dezaketen determinatzeko. Gradu Amaierako Lan honen helburua lortzeko, Kimikako Gradu osoan zehar eskuratutako kontzeptu teorikoak eta zeharkako gaitasunak praktikan jarri behar izan dira.



## 2. GARAPENA

Lehendabizi, BODIPY koloratzaileen propietate fotofisikoak aztertze erabilitako metodo espektroskopikoak azaltzen dira. Horien artean absortzioa, fluoreszentzia eta bizitza denbora neurtzeko tekniken oinarriak adierazten dira. Jarraian, geometria, karga, orbital molekular eta trantsizio elektronikoen simulazio teorikoan erabilitako metodo mekanokuantikoak azaltzen dira.

### 2.1 TEKNIKA ESPEKTROSKOPIKOAK

#### 2.1.1 Laginen prestaketa

Gradu Amaierako Lan honetan erabilitako BODIPY koloratzaileak (10. Irudia), Mexikoko Guanajuato Unibertsitateko sintesi organikoan espezializatua den Eduardo Peña irakasleak emandakoak dira.

Barneko iragazketa edo berabsortzio/bermisio eta agregazio fenomeno posibleak ekiditeko, propietate fotofisikoaren neurketak disoluzio diluituetan ( $4 \cdot 10^{-6}$  M) burutu ziren. Lagin solidoaren 1 mg pisatu zen H20T motako Mettler balantza analitikoaz ( $\pm 0.01$  mg) baliatuz, eta azetonatan disolbatu zen. Azetonatan prestatutako hasierako disoluzio kontzentratu hori ( $10^{-4}$  M) diluitu zen. Horretarako, dagokion disoluzioaren bolumena, N<sub>2</sub> likidoa duen huts-sistemaren bidez lurrundu ondoren, kasu bakoitzean aukeratutako disolbatzailea egokiarekin parekatu zen.

Katioien eragina aztertze erabilitako elektrolitoak litio kloruroa (LiCl), potasio kloruroa (KCl), kaltzio dikloruroa (CaCl<sub>2</sub>) eta zink sulfatoa (ZnSO<sub>4</sub>) izan ziren. Lehenik eta behin, disoluzio kontzentratuak ( $5 \cdot 10^{-2}$  M) lortzeko zegoen katioi kantitatea dimetilsulfoxidoan disolbatu zen. Ondoren, beharrezko diluzioak egin ziren  $10^{-4}$  M-ko disoluzioa lortzeko helburuarekin. Disoluzio hauen kantitate ezagunak gehitu ziren koloratzaileen disoluzioen ( $10^{-5}$  M) gainean katioien eragina aztertze.

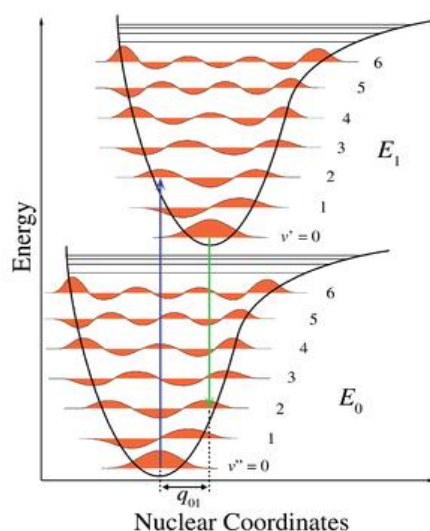
Lan honetan erabilitako disolbatzaileak tetrahidrofuranoa (THF), azetonitriloa (AzN) eta dimetilsulfoxidoa (DMSO) izan ziren. Disolbatzaile guztiak maila espektroskopikoak dira (Merck edo Scharlab) eta erabili ziren inolako ondorengo purifikaziorik gabe.

Koloratzaileen karakterizazio fotofisikoa teknika espektroskopikoen bitartez aurrera eramán zen. Horretarako, ultramore-ikuskor (UV-VIS) argiko absortzio eta igorpen fluoreszenteko espektrofotometroekin eta fotoi kontagailu kuantikoarekin lan egin zen. Horrela disoluzio diluituen (4-5  $\mu\text{M}$ ) espektroak erregistratu ziren 1 cm-ko bide optikodun kuartzozko kubetak erabiliz eta 20°C-ko tenperaturan lan eginez.

### 2.1.2 Absortzio espektroskopia

Izpi UV-Vis erasotzaile batek lagin bat zeharkatzen duenean, honek erradiazio horren fotoiak xurgatzen ditu. Fotoiak absorbatzean, molekulak energia irabazten duenez elektroi bat oinarrizko egoeratik ( $S_0$ ) energia maila altuagoko egoera batera ( $S_1$ ), hau da, egoera kitzikatura pasatzen da.

Aipatzekoa da ematen diren trantsizioak Franck-Condon trantsizioak direla. Born-Oppenheimer hurbilketaren arabera, nukleoén masa elektroiená baino askoz handiagoa denez, elektroiak azkarrago mugitzen dira. Hurbilketa hori kontuan harturik, Franck-Condon printzipioak trantsizio elektronikoak entitate molekularren nukleoaren posizioa eta ingurunea aldatu barik ematen direla azaltzen du. Ematen diren trantsizioak bertikalak dira eta lortzen den egoerari Franck-Condon egoera deritzo<sup>21</sup> (11. Irudia). Kromoforoak absortzio banda zabala bezala agertzen dira espektroan, egoera elektroniko bakoitzaren azpi-maila bibrazionalen multzo jarraia dagoelako eta baita inguruko solbatazioaren eraginagatik ere.



11. Irudia: Franck-Condon trantsizioen eskema.

Absortzio espektroak izpi-bikoitzeko Varian (Cary 4E modelo) ultramore-ikuskorreko espektrofotometroa erabiliz lortu ziren. Espektrofotometroak bi lanpara ditu: 350 nm-tan trukagarriak diren halogeno-lanpara bat ikuskor eremurako eta deuteriozkoa ultramore eremurako. Honetaz gain, 1200 lerro/mm eta  $\pm 0.5$  nm-ko bereizmena duen difrakzio sareko monokromadorea eta detektagailu moduan Hamamatsu R928 fotobiderkatzailea ditu (12. Irudia)



**12. Irudia:** *Izpi bikoitzeko UV/VIS Varian Cary 4E espektrofotometroa.*

Neurketak egiteko orduan, 0.5 nm-ko bereizmen espektrala eta 0.1 s-ko denbora-integrazioa erabili ziren. Koloratzaileen absortzio espektroak lortu baino lehen dagokion disolbatzailearekin base lerroak erregistratu ziren disolbatzaileak absobantzia izan dezakeen eragina deuseztatzeko.

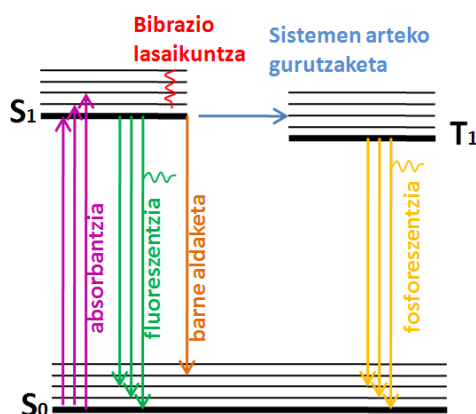
Absortzioaren neurketak, Beer-Lambert izeneko legeari (1. Ekuazioa) jarraituz, absortzio molar koefizientea ( $\epsilon$ ), absortzioaren probabilitatearen neurri bat dena, determinatzea ahalbidetzen du. Horretarako, laginaren kontzentrazioa ( $c$ ), kubetatik zehar erradiazioaren bide optikoaren ibilbidea (1 cm) eta laginaren absorbantzia maximoa ( $A$ ) ezagutu behar dira.

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

### 2.1.3 Fluoreszentzia espektroskopia

Molekula egoera kitzikatu horretan dagoelarik bibrazio lasaikuntza prozesu baten bidez konposatuak energia apur bat galtzen du  $v=0$  mailara jaitsez oreka termodinamikoa berreskuratzen. Maila horretan dagoelarik, erlaxazio prozesu desberdinak eman daitezke. Ezagunena eta Gradu Amaierako Lan honetan aztertu egin dena fluoreszentzia da. Fluoreszentzia prozesuan, molekula  $v=0$  maila horretatik oinarritzko egoerara bueltatzen da fotoiak igortzen direlarik. Hau posiblea izan dadila, trantsizio baimendua izan behar da, hau da, molekularen momentu dipolarra aldatu behar da.

Hala ere, fluoreszentzia ez da ematen den prozesu bakarra. Egoera kitzikatuan dagoelarik hainbat prozesu suertatu ahal dira. Molekula  $S_1$  egoera kitzikatutik,  $S_0$  oinarritzko egoerara buelta daiteke erradiazioa emititu barik. Honi, barne aldaketa deritzogu eta molekularen egituraren zurruntasuna/malgutasunarekin erlazionatuta dago. Honetaz aparte, sistemen arteko gurutzaketa izeneko prozesua ere gerta daiteke. Kasu honetan, singlete batetik ( $S_1$ ) triplete baterako ( $T_1$ ) saltoa ematen da. Trantsizio mota honek probabilitate gutxiago ditu, espin-debekatua baita eta espin-orbita akoplamendurekin erlazionatzen da (atomo astunen presentzia, esaterako). Triplete egoera horretan dagoelarik, konposatuak energia gal dezake oinarritzko egoerara pasatuz eta fotoiak igorri. Honi, fosforeszentzia deritzogu. Hau guztia, jarraian ikus daitekeen Jablonskiren diagraman (13. Irudian) laburbiltzen da.



**13. Irudia:** Sistema kromoforoek egoera elektroniko desberdinen artean izan ditzaketen trantsizioak. Jablonski-ren diagrama.

Aurretik kitzikatutako laginak emititzen duen intentsitatearen bidez fluoreszentzia lortu zen. Fluoreszentzia espeketroak lortzeko, SPEX Fluorlog 3-22 motatako fluorimetroa (14. Irudia) erabili zen.



**14. Irudia:** *SPEX Fluorlog 3-22 fluorimetroa.*

Fluorimetroa jarraian agertzen diren atalek osatzen dute: 450 vatio-ko xenon (Xe) lanpara, monokromagailu bikoitza, kitzikapen eta igorpen uhin-luzeraren bereizmena hobetzeko, eta detektagailu moduan Hammamatsu R928-P fotobiderkatzailea. Emisio espeketroak 0.5 nm-ko bereizmen espektralarekin eta 300 nm/min-ko ekorketa abiadurarekin neurtu ziren. Fluoreszentzia espeketroak instrumentuaren sentikortasunarekiko menpekotasuna dutenez, uhin-luzerarekin zuzenduak izan ziren.

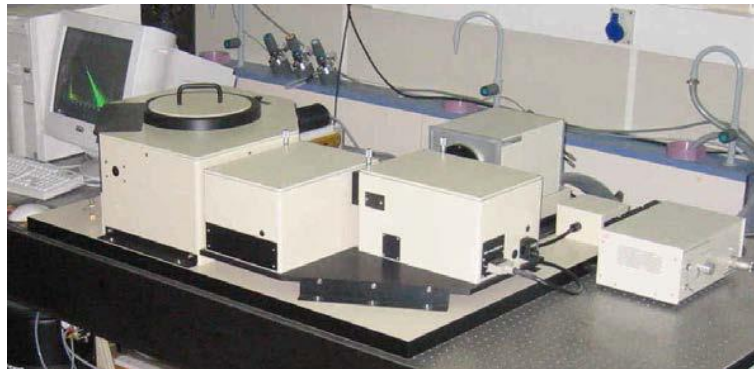
Bestalde, fluoreszentzia espeketroak behin lorturik, fluoreszentiaren etekin kuantikoa ( $\phi$ ) kalkulatu zen. Horretarako, lagin bakoitzaren antza gehien zuen  $\phi$  ezaguneko koloratzaile komertzialak erabili ziren erreferentzia moduan. Erreferentziak aukeratzeko orduan, kontuan hartu behar da lagina kitzikatzen den uhin-luzeran absorbatzen duela eta laginaren igorpen-eremu antzekoa duela. Beraz, aurrekoa aintzat hartuta, eremu ikusgai absorbatzen duten laginen kasuan pirrometeno 546<sup>22</sup> ( $\phi_{\text{erref}} = 0.95$  etanolean) erabili zen erreferentzia moduan eta ultramore eremuan, aldiz, kinina sulfatoa ( $\phi_{\text{erref}} = 0.54$ , 0.5 M-ko H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ur disoluzioan). Azpimarratzeko da erreferentziak laginen baldintza berdinetan neurtu egin zirela.

$\phi$  -ren determinaziorako bai laginaren bai erreferentziaren (ref azpiindizea) emisio espektroaren kurba azpiko azalera ( $A_{fl}$ ) eta kitzikapen uhin-luzeran absorbatutako argiaren intentsitatea ( $A$ ) behar dira. Lagina eta erreferentzia disolbatzaile desberdinetan neurtzekotan, 2. Ekuazioan disolbatzaileen errefrakzio indizeak ( $n$ ) gehitzen dira zuzenketa faktore moduan.

$$\phi = \phi^{ref} \cdot \frac{A_{fl}}{A^{ref}} \cdot \frac{1 - 10^{-A^{ref}}}{1 - 10^{-A}} \cdot \frac{n^2}{n_{ref}^2} \quad (2)$$

#### 2.1.4 Denborarekin korrelazioa duen fotoi-kontagailu kuantikoa

Egoera kitzikatuaren erdibizitza-denbora ( $\tau$ ) determinatzeko, kitzikapenaren ondorioz denboran zehar galdutako emisio intentsitatea neurtzen da. Fluoreszentzia desaktibazioaren kurbak denborarekiko korrelazioan dagoen fotoi kontagailu kuantikoarekin (TC-SPC, Time-Correlated Single Photon Counting), Edinburgh Instruments FL920 modelokoa (15. Irudia), erregistratu ziren.

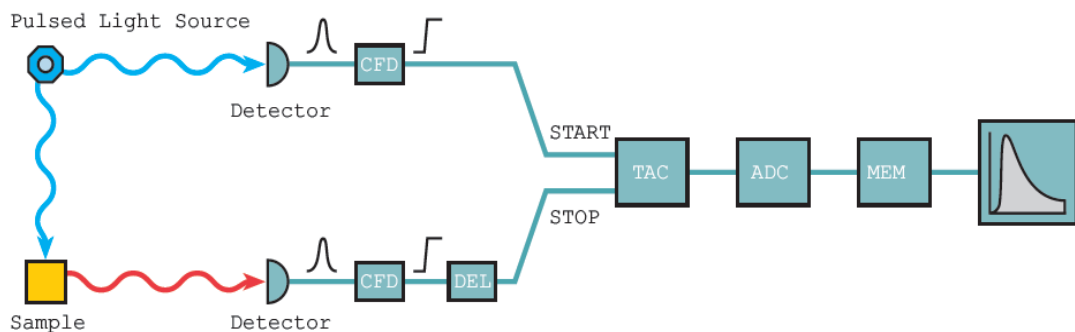


**15. Irudia:** *Denborarekin korrelazioan dagoen Edinburgh Instruments FLS920 fotoien kontagailu kuantikoa (TC-SPC).*

Instrumentu honen denbora-bereizmena pikosegundokoa (20-40 ps) da. Laginaren kitzikapena laser diodo pultsatuen bidez egin zen (PicoQuant; LDH410 eta LDH470 modeloak, zeinetan zenbakiak laser bakoitzaren uhin-luzera adierazten duen) non pultsuaren energia eta maiztasuna kanpotik kontrolatzen ziren (PicoQuant; PDL800-B motako). Kasu guztietan 5 MHz-ko pulsu maiztasunarekin eta laser bakoitzari zegokion potentzia finko batekin lan egin zen. Emisioaren monitorizazioa, fluoreszentzia-espektroetan ikusitako maximo guztietan burutu zen.

Horretarako, monokromagailu bikoitza eta Hamamatsu C4878 detektagailua (Multichannel Plate, MCP) erabili ziren.

Fotoi kontagailuak erdibizitza-denbora determinatzen du. Horretarako, laserraren pultsuak (*start* seinalea) lagina kitzikatzen duenetik, igorritako lehenengo fotoia detektagailura heldu arte (*stop* seinalea) igarotako denbora neurtzen da (16. Irudia). Denbora-neurketa hori lotzeko, *start* seinaletik (fotodiodo baten bidez) detektagailuak *stop* seinalea bidali arte sortutako tentsioa neurtzen da. Horretarako denbora/anplitude bihurgailua (TAC) erabiltzen da. Jarraian, tentsio honen anplitudea kontu bat moduan biltzen da fotoi-kanal bakoitzean. Multikanala den detektagailua erabiltzeak fotoi bat baino gehiago (edo kontu bat baino gehiago) aldi berean neurtzea ahalbidetzen du, izan ere, kanal bakoitza tentsioaren anplitude bati dagokio. Prozesu horren errepikapenekin kontuen histograma lortzen da. Histograma hori, detektatu diren fotoiekiko proportzionala eta kanalen araberakoa da (sortutako tentsioarekiko proportzionala, hau da, *start* eta *stop* seinaleen artean igarotako denborarekiko). Desaktibazio kurba lortzeko eta jadanik neurtutako kontuen pilaketa ekiditeko, kitzikapen pulsu bakoitzean lortutako kontuen %2-a baino ez da kontuan hartzen.



**16. Irudia:** Denborarekin korrelazioan dagoen fotokontagailuaren funtzionamenduaren eskema.

Fluoreszentzia desaktibazio kurbak neurtzeko, 10000 kontu maximo izan arte neurtu ziren. Kitzikapen iturriaren, hau da, laserraren eragina ezabatzeko, kitzikapen argia 90<sup>0</sup>-tan detektatzea baimentzen duen hedatzailea (Ludox esekidura koloidala, *scatter*) erabili zen. Bizitza denborak jaitziera kurbaren doiketa

esponentzial batekin lortu ziren (3. Ekuazioa) aurretik laserraren pultsua kentzeko Marquardt algoritmoaren bidez dekonboluzionatua izan zelarik.

$$Fit = A_1 \cdot e^{-\frac{t}{\tau_1}} + A_2 \cdot e^{-\frac{t}{\tau_2}} + \dots \quad (3)$$

Formula horren arabera, A esponentzial bakoitzaren pisu estatistikoa kontrolatzen duen faktore preespotentziala da, eta  $\tau_1$  jaitsiera esponentzial bakoitzari dagokion erdibizitza denbora.

Doitzearen ontasuna chi-square ( $\chi^2 < 1.3$ ) parametro estatistikoan eta hondarren banaketan oinarrituz egiaztatu zen. Chi-square definitzeko u maila askea,  $R(t_i)$  kalkuluen desbideratzea eta  $R_c(t_i)$  erantzun esperimentalaren desbideratzea beharrezkoak dira (4. Ekuazioa).

$$\chi^2 = \frac{1}{\nu} \cdot \sum \left[ \frac{R(t_i) - R_c(t_i)}{R(t_i)} \right]^2 \quad (4)$$

Fluoreszentiaren etekin kuantikoa eta erdibizitza-denboraren arabera, desaktibazio erradiatzaile ( $k_{fl}$ , 5. Ekuazioa) eta ez-erradiatzailearen ( $k_{nr}$ , 6. Ekuazioa) abiadura konstanteak kalkulatu ziren.

$$k_{fl} = \frac{\phi}{\tau} \quad (5)$$

$$k_{nr} = \frac{1 - \phi}{\tau} \quad (6)$$

## 2.2 METODO KONPUTAZIONALAK

Maila mikroskopikoan gertatzen diren atomo eta molekulen portaera aztertzeko, kimika konputazionalan oinarria duten simulazio matematikoak erabiltzen dira. Gradu Amaierako Lan honetan mekanika kuantikoan oinarritzen diren metodo konputazionalak erabili dira neurketa esperimentalak aurreratzeko.

Orokorrean, kalkulu teorikoak semienpiriko eta *ab initio* azpitaldeetan sailkatzen dira. Metodo semienpirikoen bidez hamiltondar sinpleena ebazteko, zenbait integral baztertzen dira eta askotan datu esperimentaletan oinarritzen dira.



*Ab initio* metodoak, aldiz, benetako hamiltondiar elektronikoa ebazten du eta ez ditu datu enpirikorik erabiltzen. Beraz, kalkulu semienpirikoak erraz eta azkar samarrak diren bitartean, *ab initio* kalkuluak motelak eta garestiak dira. Hau dela eta, BODIPY molekula handia denez, nahiz eta kalkulu hauek oso zehatzak izan, beste aukera merkeago bat bilatu behar izan da; dentsitate funtzionalaren teorien<sup>23</sup> (DFT, *Density Functional Theory*) oinarritzen diren kalkuluak. Kasu honetan, Schrödinger ekuazioaren ebazpena uhin-funtzioaren kalkulua saihestuz egiten da dentsitate elektronikoaren determinazioan oinarritzen delarik.

Beraz, lan honetan, DFT metodoa aminoBODIPY koloratzaileen geometrien optimizaziorako, kargen banaketak kalkulatzeko, orbital molekularrak lortzeko, absortzio trantsizio elektronikoen determinaziorako eta disolbatzailearen eragina aztertzeko erabili da.

### **2.2.1 Geometrien optimizazioa**

Oinarritzko egoeraren geometriaren optimizazioa B3LYP funtzionala erabiliz egin zen (Lee, Yang eta Parr korrelazio funtzionala<sup>24</sup> erabiltzen duen 3 parametrodun<sup>25</sup> Becke metodo hibridoa), zehaztasunari eta kostu konputazionalari begira, DFT metodoa osatzen duen funtzional egokienetarikoa bat baita. Gainera, korrelazio elektronikoaren energia kontuan hartzen dute, *ab initio* Hartree-Fock (HF) kasuan ez bezala.

DFT kalkulua azkartzeko, geometriak aurretiaz optimizatuak izan ziren AM1 metodo semienpirikoaren bidez (Austin Modelo 1, Chem Ultra 7.0 osatzen duen MOPAC 2000-an inplementua).

Atomoak deskribatzeko, 6-31G oinarri sistema erabili zen (atomo bakoitzaren uhin funtzioa definitzeko oinarri funtzio gaussiarrak erabiltzen dituen, sei gaussiarren konbinazioa lineala barneko orbital atomikoentzako eta hiru eta bat gaussiar balentzia elektroientzako). Optimizazio bakoitzean, energia minimoari zegokion geometria aukeratu zen maiztasunak aztertzerakoan maiztasun negatiborik ez zeudela konprobatu ondoren.

Oinarrizko egoeraren geometria optimizatuta zegoelarik, kargen banaketa (Mulliken metodoa) lortu zen. Jarraian, trantsizio espektroskopikoetan parte hartutako mailen momentu dipolarra eta orbital molekularren antolamendua (HOMO, *Highest Occupied Molecular Orbital* eta LUMO, *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) determinatu ziren.

### 2.2.2 Absortzio espektroen simulazioa

Laginen absortzio espektro teorikoak simulatzea komenigarria izaten da lortutako emaitza esperimentalekin aldaratzeko. Oinarrizko egoeratik egoera kitzikatura gertatzen den trantsizioa bertikala lortzeko *Time Dependent* (TD)<sup>26,27</sup> metodoa, B3LYP funtzionalarekin, erabili zen oinarrizko egoeraren geometria optimizatua abiapuntutzat hartuta.

### 2.2.3 Disolbatzailearen eraginaren simulazioa

Aurreko kalkulu guztietan disolbatzailearen presentzia kontuan hartu zen *Polarizable Continuum Model* (PCM)<sup>28</sup> teoriaz baliatuz. Horretarako, ingurune jarraia kontsideratu zen Self Consistent Reaction Field (SCRF)<sup>29</sup> metodoa erabiliz eta disolbatzailea deskribatzeko PCM teoria erabiliz.

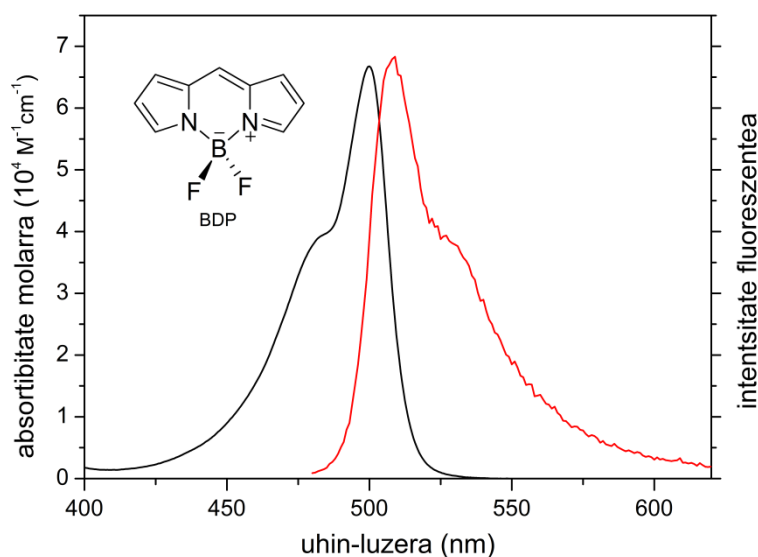
Azaldutako kalkulu mekanokuantiko guztiak Euskal Herriko Unibertsitatean dagoen SGIker zerbitzuaren LINUX-eko "ARINA" cluster informatikoan egin ziren eta GAUSSIAN 09<sup>30</sup> programa erabiliz aurrera eramane ziren (17. Irudia).



17. Irudia: UPV/EHU-ko "ARINA" cluster informatikoa.

### 2.3. BODIPYAREN EZAUGARRI FOTOFISIKO OROKORRAK

Propietate hauek deskribatzeko BODIPYen kromofororik sinpleena (BDP, ordezkatzailerik gabe) hartu da erreferentzia gisa. BDP koloratzailea espektro ikusgaiaren erdialdean (berde-hori zonaldean) absortzio eta fluoreszentzia banda intentsuak erakusteagatik ezaguna da. Argi ikusgaiaren energia baxueneko absortzio banda, oinarritzko egoeratik egoera kitzikaturainoko trantsizio elektronikoari dagokiona ( $S_0 \rightarrow S_1$ ), absortzio probabilitatea handia ( $\epsilon \sim 6 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) izateagatik bereizten da (18. Irudia). Energia apur bat altuagoetan sorbanda bibroniko bat erakusten du, planotik kanpoko C-H bibrazioei dagokiona. Gainerako absortzio bandak, energia altuko kitzikapen egoetarainoko ( $S_2, S_3 \dots$ ) trantsizioei dagokiena, ultramore zonaldean agertzen dira eta probabilitate txikiagokoak dira.



**18. Irudia:** *BDP koloratzailearen absortzio eta emisio espektro normalizatuak tetrahidrofuranoan.*

BODIPYaren igorpen fluoreszenteko espektroa,  $S_0 \rightarrow S_1$  absortzio bandaren ispilu irudia dela esan daiteke (18. Irudia), bi maila elektronikoetan bibrazio maila antzekoak erakusten baititu. Kalkulu mekanokuantikoek aurreratu dutenez, egoera kitzikatuaren geometria optimizatua oinarritzko egoerarenarekiko oso antzekoa da.

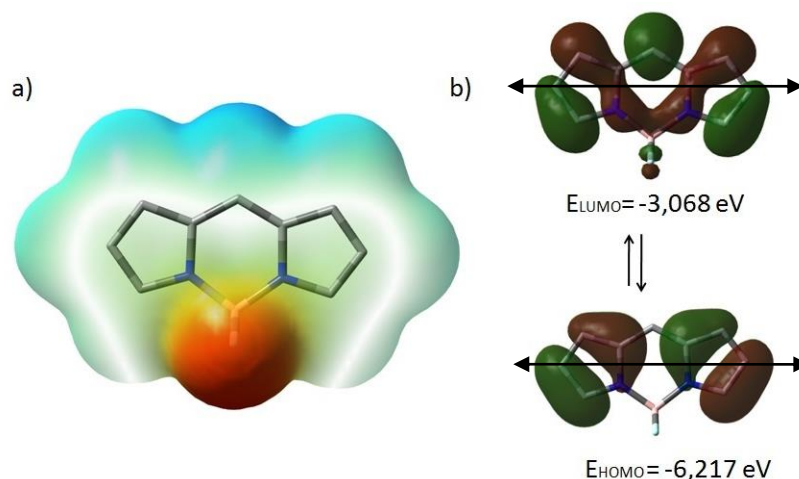
Ondorioz, fluoreszentzia bandak Stokes aldaketa txikia ( $350 \text{ nm}^{-1}$  ingurukoa) erakusten du. Bestalde, fluoreszentzia ahalmena oso eraginkorra dela azpimarratzekoa da (%90 baino altuagoko etekin kuantikoa, 1. Taula).

Gainera, fluoreszentzia desaktibazio kurbak monoesponentzial moduan analizatzen dira eta erdibizitza-denbora ( $\tau$ ) 7 ns-koa da. Molekularen egitura aztertuz gero, lortutako emisio seinale distiratsua uler daiteke. Izan ere, kromoforoa oso laua eta zurruna denez prozesu ez-erradiaktiboak murrizteko gai da. Horretarako, difluoruro zubiaren zeregina ezinbestekoa da. Honek ez du zianina sistemaren konjokazioan parte hartzen baina dipirrometeno egitura osoari zurruntasuna ematen dio, barneko konbertsioaren probabilitatea zeharo murriztuz. Hau dela eta fluoreszentzia seinale sendoa lortzen da.

**1.Taula:** *BDParen propietate fotofisikoak (non  $\lambda_{ab}$  absorbantzia maximoko uhin-luzera;  $\epsilon_{max}$  absortibitate molarra;  $\lambda_{fl}$  fluoreszentzia maximoko uhin-luzera;  $\Delta v_{St}$  Stokes desplazamendua;  $\phi$  etekin kuantikoa eta  $\tau$  erdibizitza denbora diren) polartasun desberdineko disolbatzaileetan (THF: tetrahidrofuranoa eta AzN: azetonitriloa).*

Disol	$\lambda_{ab}$ (nm)	$\epsilon_{max}$ ( $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )	$\lambda_{fl}$ (nm)	$\Delta v_{St}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\phi$	$\tau$ (ns)
THF	500.0	6.5	509.0	353	0.94	6.51
AzN	497.0	5.8	505.0	318	0.90	7.18

Aurreko propietate espektroskopikoak simulazio mekanokuantikoen bidez ere ulertu ahal dira. BDP-aren sistema konjokatua, zianina zikliko baten moduan deskriba daiteke zeinetan karga positiboa amino pirrolikoen artean mugitzen den. HOMO eta LUMO orbital molekularren artean trantsizio elektronikoak gertatzen dira momentu dipolarra ardatz longitudinalean kokatzen delarik (19. Irudia). HOMO mailaren dentsitate elektronikoa pirroletan bereziki aurkitzen da. Izan ere, LUMOr pasatzean dentsitate elektronikoa erdiko eraztunera mugitzen dela argi ikusten da. Batez ere, *meso* posizioan pilatzen da dentsitate gehiena.

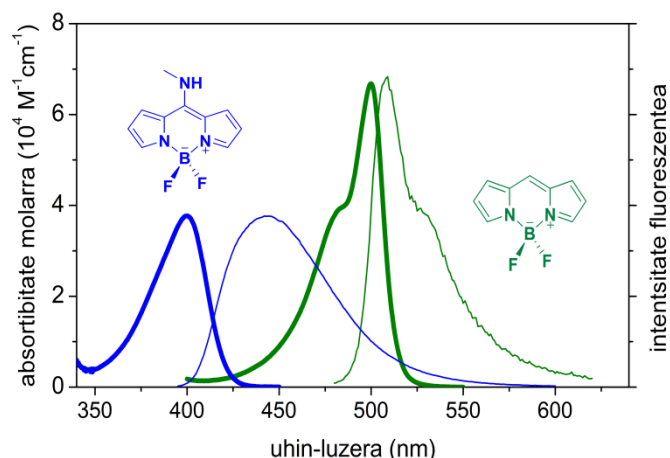


**19. Irudia: a)** BDParen dentsitate elektronikoaren banaketa. **b)** BDParen orbital molekularrak.

Azpimarratzekoa da polartasun desberdineko bi disolbatzaile desberdinetan (tetrahidrofuranoa eta azetonitrilo) neurketak egiteak sortarazi dituen aldaketak ñimiñoak izan direla (1. Taula).

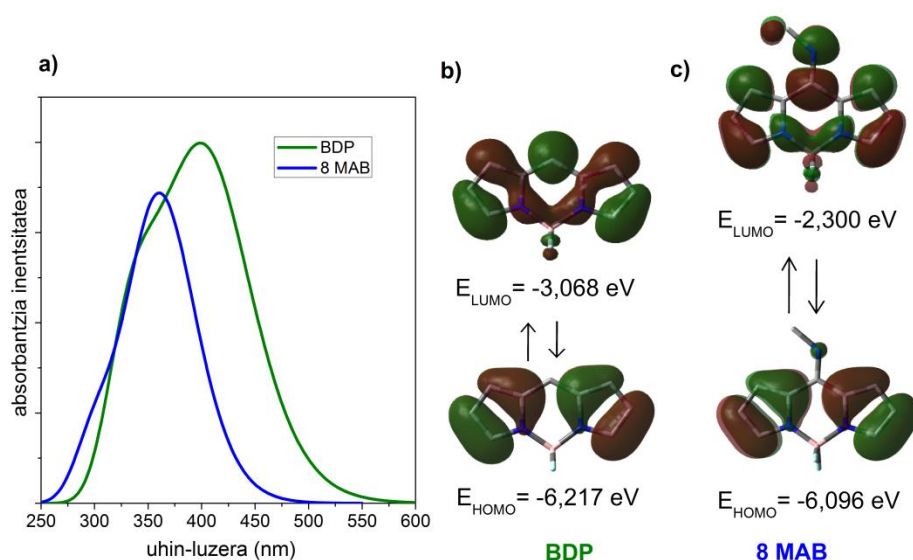
#### 2.4 8-AMINO BODIPYAK

Jarraian, BODIPYaren *meso* posizioan amina sekundario eta tertziario baten txertaketek propietate fotofisikoetan sortarazitako aldaketak aztertu dira. Printzipioz, metilaminoaren elektroik bikoite askea (elektroi-emailea,  $\sigma_p^+ = -1.30$ ) BODIPY kromoforotik zehar deslokalizatzea espero da, eremu gorriantzez desplazamendu espektrala sortaraziz efektu erresonanteagatik. Aldiz, banden desplazamendu hipsokromikoa (ikusgaiaren urdin edo ultramore eremura) behatzen da, batez ere, absortzio espektroan (100 nm inguruko desplazamendua BODIPYarekiko, 20. Irudia). Gainera, absortzio probabilitatearen jaitsiera eragiten du ( $3 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  inguruan kokatuz) eta baita banda espektralaren zabalkuntza ere sorbalda bibronikoa galtzen delarik.



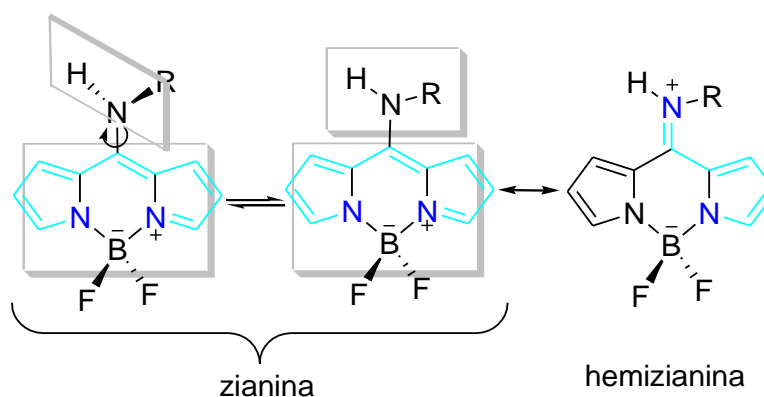
**20. Irudia:** *8-NHMe-BODIPYaren (urdina) eta BDParen (berdea) absortzio eta irorpen fluoreszenteko espektro normalizatuak tetrahidrofuranoan.*

Absortzio espektroaren simulazio teorikoak (21. Irudia) 8-NHMe-BODIPYaren absortzioaren desplazamendu espektrala energia handiagoetara (uhin-luzera txikiagoetara) auresaten du. Energia handipen horren arrazoia LUMO orbitalaren energiaren igoera da, HOMO orbitalaren energia berdin mantentzen delarik. Aminaren elektro-emaile izaerak LUMO orbitala ezegonkortzen du, amina txertatzen den 8. posizioan dentsitate elektroniko askoz handiagoa dagoelako LUMOan HOMOan baino.



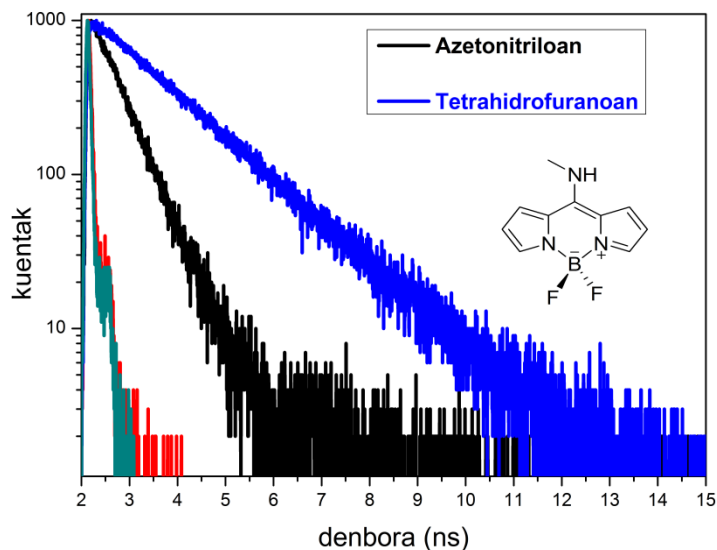
**21. Irudia:** *a) 8-NHMe-BODIPYaren (8MAB) eta BDParen absortzio espektroen simulazioa. b) BDParen orbital molekularrak. c) 8MAB-aren orbital molekularrak.*

Simulazio teorikoa esperimentalarekin bat dator 8-aminoak sortutako desplazamendu hipsokromikoa aurrez aurre, baina desplazamendu horren magnitudea ez du ondo deskribatzen. Izan ere, neurketa esperimentaletan desplazamendua alde urdinera, simulazioak aurrez aurre duena baino askoz handiagoa da. Gertakari hau, espektroen zabalkuntzarekin batera, kromoforoaren deslokalizazio elektronikoaren berrantolamendu baten seinale dira aminarekin dagoen interakzio erresonanteagatik. 8. posizioan dagoen amina sekundarioa eta indazena plano berean daudenez, bi entitateen arteko interakzio erresonantea posiblea da. Modu honetan, hemizianina (22. Irudia) izeneko egitura erresonante berri bat sortzen da. Forma mesomeriko honen egonkortasunak, eremu urdinerako desplazamenduaren arduraduna da. Gainera, hemizianina  $\pi$ -sistema zianina baino laburragoa izateak 8-aminoaren txertaketak sortarazitako absorzio ahalmenaren jaitiera azaltzen du.



**22. Irudia:** 8-amino-BODIPYaren  $\pi$  sistema deslokalizatuaren egiturak.

Bestalde, 8-NHMe-BODIPYaren kasuan fluoreszentzia ahalmenaren jaitiera nabarmen bat hautematen da BODIPYarekin alderatuz (esate baterako, 0.94tik BDPan 0.28-ra 8-NHMe-BODIPYan THF-an, 2. Taula). Gainera, disolbatzailearen arabera fluoreszentzia kapazitatea izugarri aldatzen da. Are gehiago, desaktibazio kurbetan fluoreszentiaren sentikortasuna polaritatearekiko aldatzen dela ere ikus daiteke. Erdibizitza denbora dezente murrizten da disolbatzaile polarretan (23. Irudia).



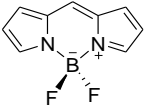
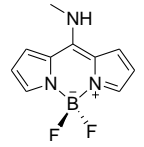
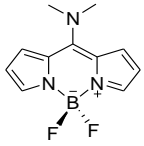
**23. Irudia:** *8-amino-BODIPYaren desaktibazio kurbak tetrahidrofuranoan eta azetonitriloan.*

Ebidentzia esperimental hauek, prozesu ez-erradiaktibo baten existentzia agerian uzten dute. Prozesu ez erradiaktibo hori ICT egoera berri baten agerpenari egokitzen zaio (4. Irudia). Izan ere, elektro-emailea den amina txertatzean, karga erraztasun handiagoarekin mugitu egiten da emailetik hartailerera egoera meta egonkor berri hori sortuz. ICT egoerak gogotik desaktibatzen du egoera kitzikatuaren seinale fluoreszentea eta haren desaktibazioa normalean prozesu ez-erradioaktibo bidez gertatzen denez bere fluoreszentzia normalean oso ahula da. Kasu honetan koloratzailearen fluoreszentzia nabarmenki gutxitzen da. ICT egoeran dagoen karga banaketa kontuan harturik, egoera metaegonkor hau ingurune polarretan egonkortzen da. Honen ondorioz, koloratzailearen fluoreszentzia ingurune polarretan askoz gehiago murrizten da (2. Taula).

ICT prozesuaren agerpena egiaztatzeko, BODIPY koloratzailearen *meso* posizioan, amina sekundario baten ordez, amina tertziario bat txertatu egin da. Dimetilamino taldearen elektro-emaile ahalmena handiagoa da ( $\sigma_p^+ = -1.81$ ). Honen ondorioz, ICT egoeraren eraketa gehiago faboratzen da eta gertakari hau fluoreszentiaren etekin kuantikoan (2. Taula) behatu da. Beraz, aminaren elektro-emaile gaitasuna alkilazio mailaren bidez modulatu gero, ICT-aren agerpena kontrola daiteke eta ondorioz, koloratzaileen fluoreszentzia ahalmenean sortarazitako eragin desegokia.



**2.Taula:** 8-amino-BODIPY koloratzaileen propietate fotofisikoak polartasun desberdineko disolbatzaileetan. Baita BDParen datuak ere erakusten dira konparazioa errazteko.

	Disolba.	$\lambda_{ab}$ (nm)	$\epsilon_{max}$ ( $10^4 M^{-1}cm^{-1}$ )	$\lambda_{fl}$ (nm)	$\Delta V_{St}$ ( $cm^{-1}$ )	$\phi$	$\tau$ (ns)
	THF	500.0	6.5	509.0	353	0.94	6.51
	AzN	497.0	5.8	505.0	318	0.90	7.18
	THF	400.0	3.8	442.0	2375	0.28	1.55
	AzN	392.5	3.4	440.0	2750	0.09	0.54
	THF	401.5	2.5	446.0	2485	0.09	1.20
	AzN	393.0	2.2	439.0	2666	0.02	0.54

Laburbilduz, amina baten txertaketak BODIPYaren *meso* posizioan, bi aldaketa nabari dakartza: uhin-luzeraren jaitsiera (eremu urdineko zonaldera) eta ahalmen fluoreszentearen gutxitze nabarmena ICT prozesu ez-erradioaktiboaren agerpenagatik. Beraz, aminen elektroik bikoite bakartiaren interakzioa modulatu gero, aurreko bi aldaketak kontrola daitezke.

Hau dela eta, aminei katioiekiko espezifikoak diren makroziklo ionoforoak gehitzea erabaki da, koro eterrak edo aza koroak (orokorrean kriptanoak), hain zuzen ere. Ionoforoak katioia harrapatzean, aminen elektroik bikoitea eta ioia elkarri eragitea espero da. Modu honetan, aminaren elektroik bikoiteak fluoroforoarekin izan dezakeen interakzio erresonantea modula daiteke. Hori horrela bada, katioien presentzia suma zitekeen ezaugarri fotofisikoetan gertatzen diren aldaketen ondorioz. Hau da, katioiak aminaren elektroik bikoite askearen interakzioa BDP-an oztapatzen badu, uhin luzeraren (kolore aldaketa) eta etekin kuantikoaren gorakada bat sortuko litzateke. Beraz, teorikoki, katioien detekziorako egoki diseinatutako entitate molekularrak izan daitezke.

## 2.5 KRIPTANO BODIPYAK


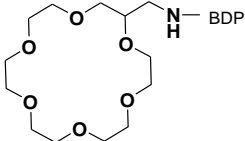
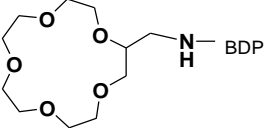
Jarraian, katioien detekziorako egokiak izan daitezkeen kriptano BODIPYen azterketa egin da. Aztertu egin diren molekulak hiru taldetan bana daitezke: amina sekundario bati lotutako koro eterrak, amina tertziarioei txertatutakoak (aminoa makrozikloan parte hartzen duelarik) eta aurreko koroa edo aza-koro baten bidez lotutako bisBODIPYak. Kasu guztietan, ezaugarri fotofisikoak eta katioiekiko duten afinitatea aztertu egin da. Horretarako, dimetilsulfoxidoa erabili da konposatuen disolbagarritasuna mugatua delako eta soilik disolbatzaile honetan lagin guztiak disolbagarriak direlako. Bestalde, erabili diren katioiak adierazgarrienak izan dira; litioa, tamaina txikia duen metal alkalinoa delako; kaltzioa eta potasioa, talde desberdineko metal alkalinoak direlako eta zinka, trantsizio metal ertaina izateaz aparte, koro eterrak honekiko oso espezifikoak direlako.

### 2.5.1 Amina sekundario bati lotutako koro eterrak

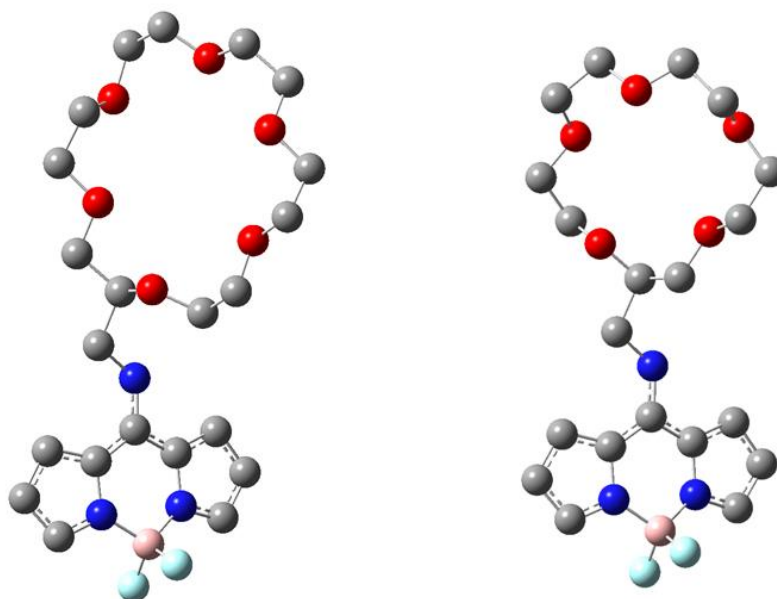
Amina sekundario bati lotutako tamaina desberdineko koro eterrak dituzten bi koloratzaile aztertu egin dira. Koloratzaile hauek, 8-NHMe-BODIPYarekin alderatu dira eta propietate fotofisiko oso antzekoak dituztela ikusi da: absortzioa espektroaren eremu urdinean kokatzen da honen probabilitate altua ( $2\cdot 3\cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  ingurukoa) izanik, fluoreszentsia ahalmen baxua (<10%) erakusten dute eta honekin batera erdibizitza denbora oso laburrak dituzte (~400 ps-koak, 3. Taula).

Koro eterrak sartzerakoan behatu egin den aldaketarik nabariena banden desplazamendu batokromiko txikia izan da, fluoreszentsian (15 nm) absortzioan (5 nm) baino handiagoa dena. Hau dela eta, Stokes desplazamendua handitu da ( $3000 \text{ cm}^{-1}$ ), seguruenik kitzikapenaren ondorioz makrozikloa berrantolatzeke suertatutako aldaketa geometrikoengatik.

### 3. Taula: Amina sekundarioak dituzten BODIPYen ezaugarri fotofisikoak.

R	$\lambda_{ab}$ (nm)	$\epsilon_{max}$ ( $10^4 M^{-1} cm^{-1}$ )	$\lambda_{fl}$ (nm)	$\Delta\nu_{St}$ ( $cm^{-1}$ )	$\phi$	$\tau$ (ps)
	393.0	3.1	438.0	2615	0.03	415
	398.0	2.5	446.0	2705	0.1	401
	398.5	2.1	453.0	3020	0.09	361

Katioiak ingurunean jartzerakoan propietate fotofisikoetan ez dira aldaketarik behatu, ez absorbantzia espektroan ezta fluoreszentzia ahalmenean ere, nahiz eta katioia soberan gehitu (200 katioi molekula koloratzaile molekula batekiko). Aminaren elektroik bikoite askea koro eterretik nahiko urrun dagoenez (24. Irudia), katioiarekin interakzionatu beharrean kromoforotik zehar deslokalizatzea nahiago du. Seguruenik konplexazioa eman dela, hau da, katioia koro eterrean sartu dela baina aminaren elektroik bikoitearen urruntasunagatik ez du honekin interakzionatu. Hau dela eta, propietate fotofisikoetan ez dira aldaketak sumatu eta ondorioz, bi entitate molekular hauek ez dute balio sentzore fluoreszente moduan katioien detekziorako.

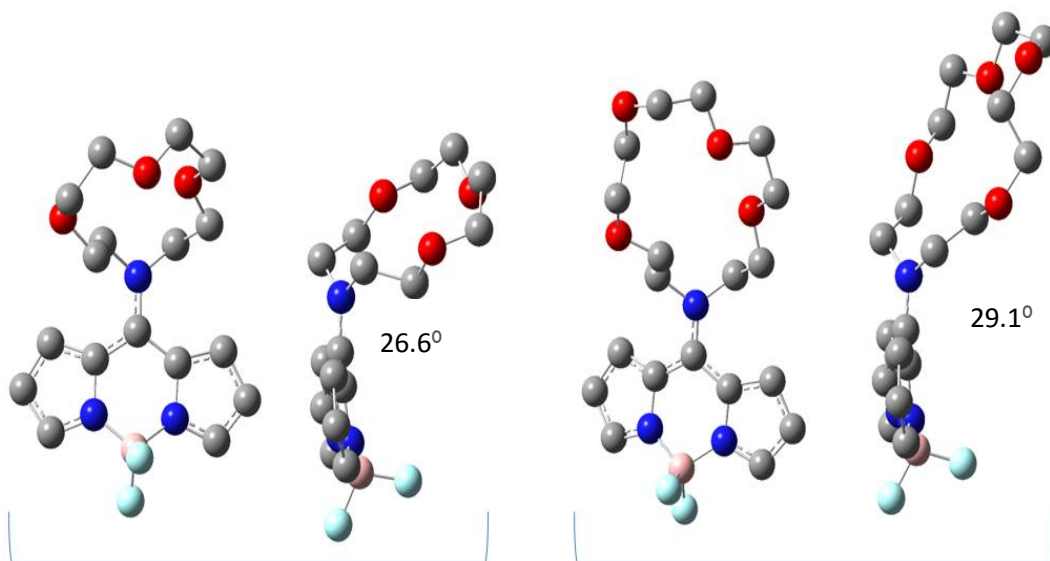


**24. Irudia:** *Amina sekundarioei lotutako koro eterrak dituzten BODIPYak.*

### 2.5.2 Amina tertziario bati lotutako kriptanoak

Amina sekundarioak dituzten koloratzaileen kasuan elektroik bikote askea koro eterretik urrun gelditzen zela eta ondorioz, katioien presentzian aldaketa sumatzen ez zirela ikusita, koro eterrak amina tertziarioei txertatu egin zaizkie. Modu honetan, aminaren nitrogenuak koroan parte hartzen du, koro eterraren oxigeno bat ordezkatzeko duelarik. Koroaren tamaina desberdina duten bi makroziklo aztertu dira karga eta tamaina desberdineko katioiak harrapatzeko helburuarekin.

Molekula hauen geometriaren optimizazioek aurreratu dutenez, koloratzaile hauetan aminaren nitrogenuak koroan parte hartzen duenez eta koroen tamaina handia denez, BDP eta koroa ez dira plano berean kokatzen (26-29<sup>o</sup>-ko biraketa, 25. Irudia).

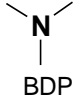
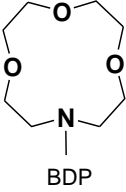
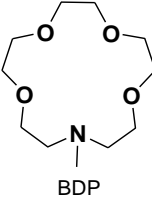


**25. Irudia:** *Amina tertziarioei txertatutako koro eterrak dituzten BODIPYen geometriak oinarrizko egoeran.*

Bi koloratzaile hauen geometrian ikus daitekeenez, BDP eta koroa plano berean ez daudenez aminaren elektroik bikotea BDP kromoforotik zehar ez deslokalizatzea pentsa daiteke. Geometriak fotofisikan izan dezakeen eragina aztertzeko datu esperimentaletara jo behar da.

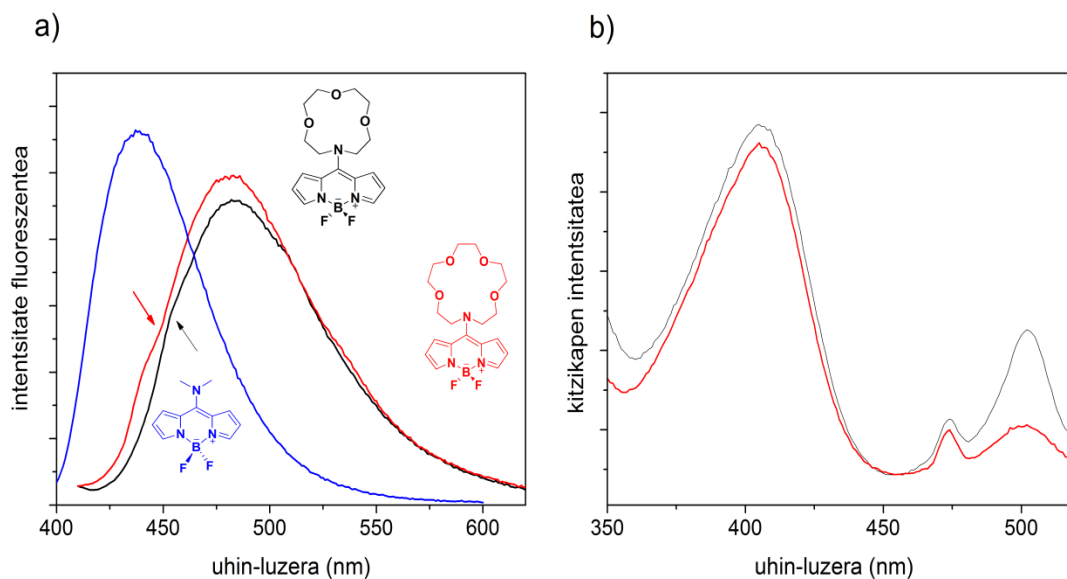
Datu esperimentaletan oinarrituz (4. Taula), amina tertziarioak koro batean parte hartzen duenean absorbantzia maximoko uhin luzera apur bat handitu egiten da (15 nm inguruko igoera) amina tertziario sinplea duen egiturarekin alderatuz gero. Gertakari honen eragilea koroak sortarazitako eragozpen esterikoa izan daiteke. Izan ere, nahiz eta oinarrizko egoeran hemizianina egitura erresonantea nagusitzen jarraitu, koroaren tamainagatik BDPa eta koroa posizio koplanarrean egotea zaila da (25. Irudia). Hau dela eta, aminoak sortarazitako desplazamendu hipsokromikoa BDParekiko apur bat murrizten da.

**4. Taula:** Amina tertziarioei txertatutako koro eterrak dituzten BODIPYen ezaugarri fotofisikoak.

R	$\lambda_{ab}$ (nm)	$\epsilon_{max}$ ( $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )	$\lambda_{fl}$ (nm)	$\Delta\nu_{St}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\phi$	$\tau$ (ps)
	394.0	1.9	437.0	2495	0.018	395
	409.0	3.3	482.0	3700	0.009	-
	408.0	2.3	483.0	3745	0.007	-

Bestalde, koloratzaile hauen igorpen maximoko uhin luzeran gorakada handia (50 nm ingurukoa) behatu egin da amina tertziario sinplea duen egiturarekin konparatuz. Hau dela eta, Stokes desplazamendu izugarria ( $3700 \text{ cm}^{-1}$  ingurukoa) ematen da. Gertakari hau kitzikapenaren ondorioz koloratzailearen ezaugarriak asko aldatzen direnaren seinalea da. Hau da, egoera kitzikatuan berrantolaketa geometriko nabaria gertatzen da, oinarrizko egoeraren geometriatik asko desberdintzen dena. Gainera, emisio espektroan arreta ipiniz gero, bi bandez osatuta dagoela ikus daiteke (26. Irudia). Izan ere, bi banda horiek hemizianina (uhin-luzera baxuko sorbalda, 450 nm inguruan) eta zianina (uhin-luzera altuko banda, 480 nm inguru) forma mesomerikoei egokitzen zaizkie. Kontuan hartu behar da zianinaren emisioa BDParen emisio eremura (500 nm) hurbiltzen dela baina uhin-luzera baxuagoetan kokatzen dela 2.4 atalean teorikoki aipatutako 8-aminoak sortarazitako LUMO orbitalaren ezegonkortasunagatik.

Seguruenik, egoera kitzikatuan koroa dispozio koplanarrean egotetik urruntzen da eta ondorioz, aminaren elektroik bikote askea kromoforotik zehar ezlektutzea zailagoa da zianina forma mesomerikoa nagusitzen delarik. Argudio hau sendoago eusteko, kitzikapen espektroari (26. Irudia b) erreparatu zaio. Izan ere, 500 nm-tan banda ahul bat behatzen da BDPak emititzen duen zonalde berean, absortzio espektroan ikusten ez zena.

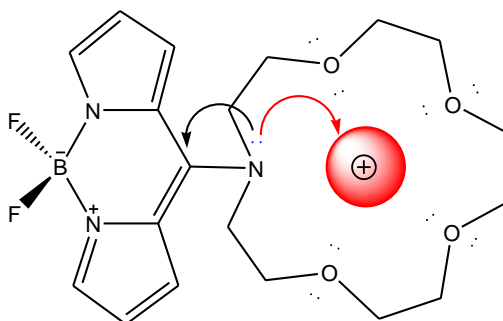


**26. Irudia: a)** Amina tertziarioak dituzten koloratzaileen emisio espektroak. **b)** Amina tertziarioa koroan parte hartzen duen koloratzaileen kitzikapen espektroak.

8-dimetilamino-BODIPYaren ahalmen fluoreszentea oso mugatua zen ICTaren aktibazioagatik (2.4 atala), baina makrozikloaren txertaketak are gehiago murrizten du. Seinale fluoreszentea oso ahula denez erdibizitza denborak ezin izan dira neurtu (4. Taula). Gertakari hau, goian aipatutako egoera kitzikatuan ematen den 8-aminoaren biraketarekin erlazionatuta dago. Aminoaren elektroik bikote bakartiaren interakzio erresonantea BDParekin txikiagoa bada, gehiago kontzentratuko da aminoan, honen elektroik-emaile ahalmena handituz eta ICT areagotuz (kasu honetan ICT biratua izenez ezaguna).

Koloratzaile hauen egitura eta fotofisika sakonki analizatuz gero, katioien detekziorako egokiak izan daitezkeela uste da. Hala ere, katioiak ingurunean jartzerakoan ez dira aldaketak behatu; ez absorbantzia ezta emisioan ere, nahiz eta

katioi soberakin handia egon ingurunean. Agian konplexazioa gertatu egin da baina aminaren elektroik bikotea katioiarekin interakzionatu beharrean kromoforotik zehar deslokalizatzea nahiago izan du. Azpimarratzekoa da teorikoki ondo diseinatutako egiturak direla baina azken finean, katioiaren eta fluoroforoaren arteko lehia bat denez (27. Irudia) horren gainean esku hartzea zaila dela. Izan ere, jatorrizko 8-aminoBODIPYan azidoa gehitu da aminoaren interakzio BODIPYarekin ekiditeko eta ez da aldaketarik nabaritu (pH < 2, BODIPY bera hondatzen da). Gertakari honek agerian uzten du aminoaren elektroik bikotearen joera BODIPY kromoforotik zehar deslokalizatzea dela.



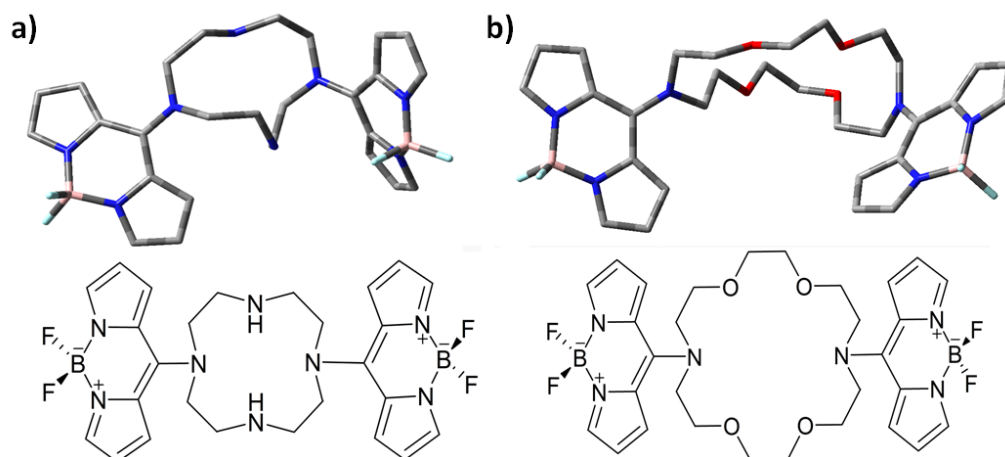
**27. Irudia:** Fluoroforoaren eta katioiaren arteko lehia amina tertziarioa koroan parte hartzen duen egituretan.

### 2.5.3 Koro baten bidez lotutako BisBODIPYak

2.4 Atalean azaldu den moduan, BDParen *meso* posizioan amina bat txertatzean, molekularen absortibitate molarra asko jaisten da BDParekin alderatuz (BDPan  $6.5 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  izatetik  $2\text{-}3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  izatera 8-amino-BODIPYetan, 2. Taula). Izan ere, amina txertatzerakoan, haren elektroik bikote askea kromoforotik zehar deslokalizatzen da hemizianina egitura erresonantea nagusitzen delarik. Hemizianina  $\pi$ -sistema zianina baino laburragoa denez absortzio ahalmenaren jaitsiera dago.

Beraz, absortzio probabilitatea igotzearen helburuarekin koro baten bidez lotutako bi BDPak dituzten egitura multikromoforikoak aztertu egin dira. Koroaren eta BDParen arteko eragozpen esterikoak direla eta, hauek ez dira plano berean kokatzen (28. Irudia).





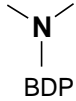
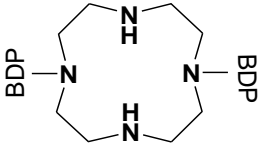
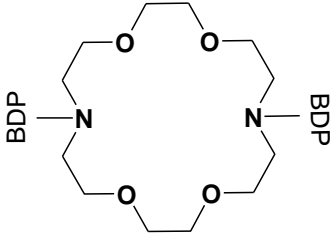
**28. Irudia:** Bi BDP dituzten egitura multikromoforikoen geometriak oinarritzko egoeran.

Lehenengo molekulan (28. Irudia a) arreta jarritz, bi BDPak aza-koro baten bidez lotuta daude. Aza-koroa, nitrogenoz osatuta dagoenez, oso elektro-emailea da. Elektro-emaile izaera handia izanda, katioiak errazago harrapatzea espero da. Aza-koroaren tamaina handia ez denez, katioi txikietarako (litio eta potasio) egokiagoa izango da.

Bigarren egitura (28. Irudia b) aztertuz gero, bi BDPak amina tertziario bati txertatutako koro eter baten bidez lotzen dira, nitrogenoek koro eterraren oxigeno bat ordezkatzeko dutelarik. Kasu honetan, koroaren tamaina handiagoa denez tamaina handiagoko katioien (kaltzio eta zinka) harrapaketarako erabilgarriagoa izango da.

Bi kasuetan, molekulek eremu urdinean absorbatzen jarraitzen dute baina bi kromoforo edukitzeak absorptzioaren probabilitatea dezente igo du ( $4.5 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ , 5. Taula). Hau da, absorptzio probabilitatea bikoizten da eta kromoforo bakoitzak era gehigarrian parte hartzen du bisBODIPYaren absorptzio osoan. 28. Irudian ikus daitekeenez, bi BDPak urrun kokatzen dira eta haien artean ez dago interakzio elektronikorik.

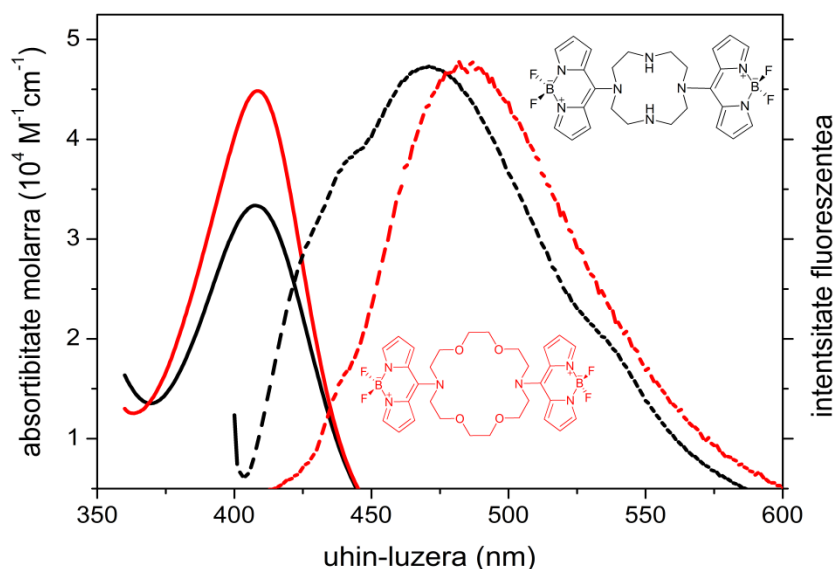
**5. Taula:** Koro baten bidez kobalenteki lotutako bi amino-BODIPYak dituzten egitura multikromoforikoaren propietate fotofisikoak. Baita 8-NMe<sub>2</sub>-BODIPYaren datuak ere erakusten dira konparazioa errazteko.

R	$\lambda_{\text{ab}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{max}}$ (10 <sup>4</sup> M <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )	$\lambda_{\text{fl}}$ (nm)	$\Delta\nu_{\text{St}}$ (cm <sup>-1</sup> )	$\phi$	$\tau$ (ps)
	394.0	1.9	437.0	2495	0.018	395
	408.0	4.2	471.0	3280	0.039	–
	408.5	4.5	482.0	3730	0.006	–

2.5.2 atalean aztertu den bezala, egitura multikromoforiko hauetan ere sorbalda bat beha daiteke energia altuetan (hemizianina) eta emisio nagusia uhin-luzera handietan agertzen da (470-480 nm-tan), Stokes desplazamendu altuak erakutsiz (3300-3700 cm<sup>-1</sup>). Honen arrazoia, makrozikloak sortarazitako eragozpen esterikoa da. Izan ere, aminoak biratu egiten du, batez ere, egoera kitzikatuan. Hau dela eta, hemizianina nagusitzen da oinarritzko egoeran (29. Irudia) eta zianina, aldiz, egoera kitzikatuan (29. Irudia). Amina dagoen konformazio horretan ICT areagotu egiten da fluoreszentzia ahulduz. Fluoreszentzia hain txikia denez fotoi-kontagailu kuantikoa ez da erdibizitza neurtzeko gai.

Bestalde, kriptanoaren tamainak ezaugarri fluoreszenteetan (5. Taula) eragina daukala azpimarratzekoa da. Hau da, makrozikloaren tamaina txikitzen denean oztopo esterikoak txikiagoak dira eta ondorioz, emisio uhin-luzera ez da hain altua

(471 nm) eta fluoreszentziaren etekin kuantikoa apur bat handiagoa da (0.04). Aldiz, tamaina handitzen denean amina biratuagoa dago eta ondorioz, zianina forma mesomerikoaren eragina garrantzitsuagoa da eta uhin-luzera handiagoa da (482 nm). Gainera, ICTaren eragina nabariagoa denez fluoreszentzia ahulagoa da (0.006).



### 29. Irudia: BisBODIPYen absortzio eta emisio espektro normalizatuak.

Egitura multikromoforiko hauen fotofisika aztertuta, katioien detekziorako ondo diseinatutako egiturak dirudite. Baina katioiak ingurunean jartzerakoan ez dira aldaketak sumatu; ez absorbantziaren uhin-luzeran ezta fluoreszentziaren etekin kuantikoan ere. Egitura hauetan, aurreko egituretan bezalaxe, dirudienez aminen elektroik bikoitea BDP kromoforotik zehar deslokalizatzea nahiago du katioiarekin interakzionatzea baino.

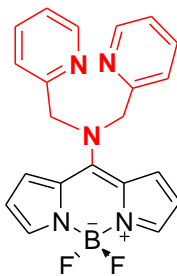
Beraz, atal honetako molekulek, nahiz eta printzipioz ikuspuntu molekularretik ondo diseinatuta egon, ez dute balio katioien detekziorako. Antzeko egiturak dituzten molekulak aurki daitezke bibliografian<sup>19</sup> zeinetan BODIPY erabiltzen den fluoroforo moduan eta honi eter koroak txertatzen zaizkio katioiak harrapa dezaten (adibidez, katioiak harrapatzeko balio duen egitura bat BODIPY kromoforoaren *meso* posizioan amino parte hartzen duen koro eter bat txertatuta dauka fenilo baten bidez<sup>31</sup>).

Nire helburua katioien detekzio prozesuaren sentikortasuna handitzea zen, 8-aminoak sortarazten dituen aldaketa espektroskopiko bortitzak erabiliz, eta monitorizazio prozesua erraztea bai koloreen bidez (aldaketak espektroen uhin luzeretan) bai emisio ahalmenaren bidez (fluoreszentzia piztuz edo itzaliz katioia ingurunean egotekotan) begi bistakoak izateko. Zoritzarrez, amino taldearen elektroikotasunaren joera BDParekin elkar eragitea da eta horrek detekzio prozesua oztopatu du.

Hurrengo atalean, di-2-pikolil taldea daraman BODIPY<sub>a</sub> aztertuko da eta batez ere, zinka detektatzeko duen gaitasunean jarri da arreta.

## 2.6 8-DI-2-PIKOLIL BODIPY

Aurrean azaldutako koloratzaileak, nahiz eta printzipioz katioien detekziorako diseinu molekular egokia duten egiturak izan, katioien presentzian ez dira aldaketak sumatu. Horrek diseinu molekular apur bat desberdina duten egiturak aztertzea behartu gaitu. Koro eterren ordean, zinka katioiaren hartzaile ona den di-2-pikolil taldea<sup>32</sup> gehitu da BDParen *meso* posizioan (30. Irudia).



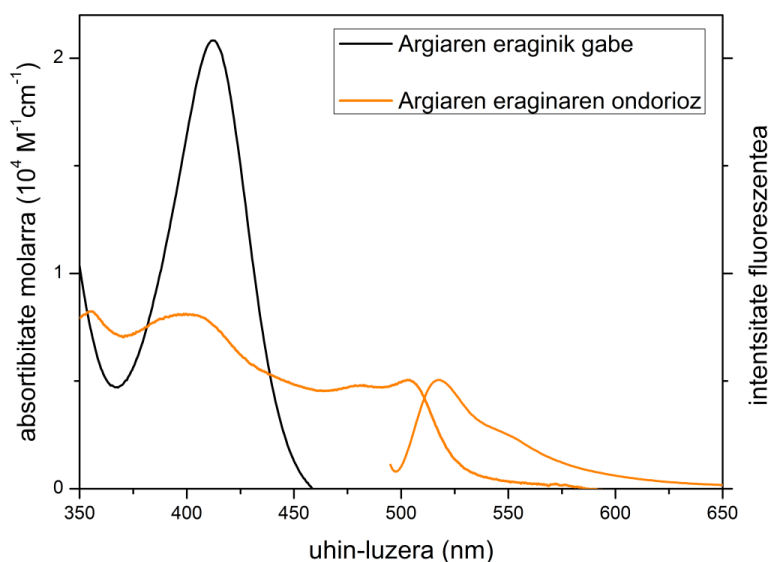
**30. Irudia:** 8-di-2-pikolilBODIPY molekulararen egitura.

Molekula honek, aurreko ataleko koloratzaileek bezalaxe, espektroaren zonalde urdinean (412 nm-tan) absorbatzen du eta bere absorbitate molarra  $21000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ -koa da. Hala ere, ICT oso faboratua dagoenez fluoreszentsia seinalea detektatzea ezinezkoa izan da. Hau da, koloratzaile hau emisioan guztiz "iluna" dela esan daiteke.

Bestalde, katioiekin konplexazio frogak egin dira eta ez dira aldaketak sumatu. Honek, berriro ere, *meso* posizioan dagoen aminoaren elektroien joera BDP kromoforotik zehar deslokalizatzea dela agerian usten du. Di-2-pikolil taldea beste posizioetan txertatuta duten egituretan, zinka ingurunean dagoenean aldaketak behatu dira<sup>30</sup>.

Hala ere, lagin honek berezitasun bat duela behatu da: fotoegonkorra ez dela. Hau da, lagina eguzkiko argipean jartzerakoan (bi ordu inguru) haren propietate fotofisikoak dezente aldatzen dira. 31. Irudian ikus daitekeenez, argiaren eraginaren ondorioz absorbantzia urdinean dezente jaisten da eta banda ahul berri bat agertzen da 504 nm-tan (BDPa xurgatzen duen zonaldean). Gainera, kitzikatzen bada banda berri honek fluoreszentsia berreskuratzen du ( $\phi = 0.114$ ). Gertakari hauetatik ondoriozta daiteke argiaren eraginagatik oinarrizko egoeraren

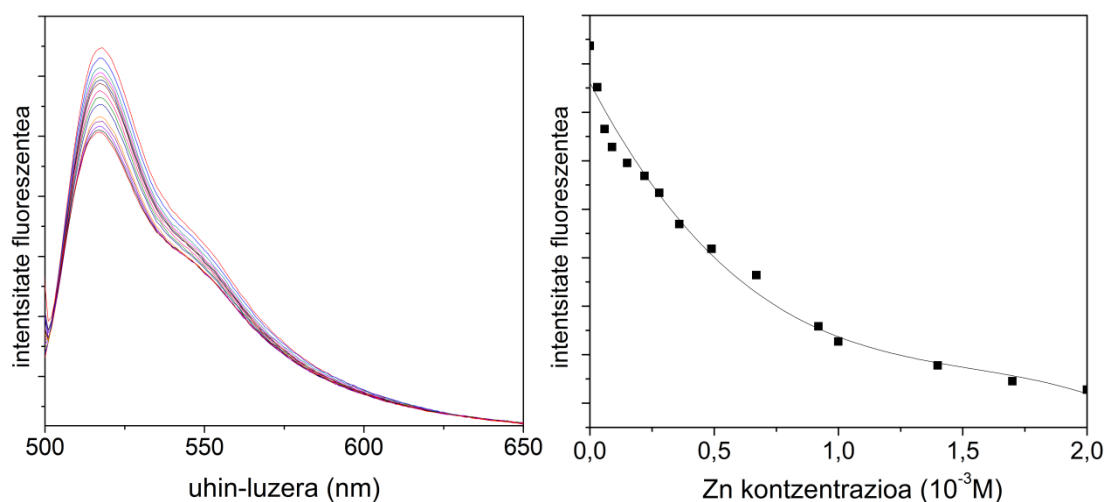
hemizianina eta zianinaren arteko balantzea aldatzen dela. Aipatu beharra dago aurreko atalean zianina forma mesomerikoa nagusitzen zela egoera kitzikatuan (aldaketak fluoreszentzia espektroan). Kasu honetan antzeko zerbit gertatzen da baina oinarritzko egoeran eta horregatik absortzio espektroan aldaketak behatzen dira.



**31. Irudia:** *di-2-pikolil taldea duen BODIPYaren absortzio eta emisio espektro normalizatuaren aldaketak argiaren eraginagatik.*

Ustekabean, eguzki argiak suertatutako emisio berri horren fluoreszentzia, zinkaren presentzian aldatzen da. Hau dela eta, koloratzailearen  $3 \cdot 10^{-6}$  M-ko kontzentrazioa duen lagin baten gainean zinkaren kantitate desberdinak gehitu ziren tritazioa egiteko. Zenbat eta zinka katioiaren kantitate gehiago bota molekularen intentsitate fluoreszentea gutxitzen doala ikus daiteke (32. Irudia).

Bestalde, aipatu beharra dago zinkak eragindako aldaketak soilik fluoreszentzian nabaritzen direla. Absortzio espektroan ez dira aldaketak behatu. Gainera, azpimarratzekoa da koloratzailearen sentikortasuna zinkarekiko oso handia dela zinkaren kontzentrazio oso baxuetan ( $3 \cdot 10^{-5}$  M) aldaketak sumatu baitira.

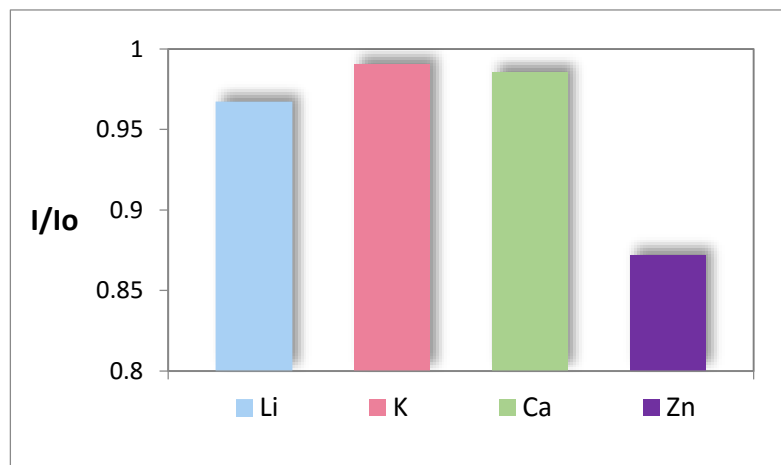


**32. Irudia:** *Intentsitate fluoreszentearen jaitsiera zinka (Zn) kantitate desberdinak gehitzerakoan.*

Zinkak eta di-2-pikolil taldeak elkar interakzionatzen dutela ikusita, sortu den konplexuaren asoziazio-konstantea determinatu da fluoreszentzia neurketak erabiliz. Horretarako, Benesi-Hildebrand<sup>33</sup> izeneko ekuazioa (7. Ekuazioa) erabili da non  $I_0$  katioia gehitu barik molekularen intentsitate fluoreszentea,  $I$   $Zn^{+2}$ -ren presentzian duen intentsitatea,  $I_1$   $Zn^{+2}$ -rekin saturatzerakoan duen intentsitate eta  $K_a$  sortutako konplexuaren asoziazio-konstantea diren. 7. Ekuazioaren irudikapenaren maldatik zinka eta koloratzailearen arteko konplexuaren asoziazio-konstantea  $4754 M^{-1}$  dela determinatu da.

$$\frac{1}{I - I_0} = \frac{1}{I_1 - I_0} + \frac{1}{(I_1 - I_0)K_a [Zn^{+2}]} \quad (7)$$

Jarraian, sentsoare honek zinkarekiko duen selektibitatea edo espezifikotasuna agerian jartzeko, gainontzeko katioiekin (litio, potasio eta kaltzio) antzeko prozedura jarraitu da. Katioi hauen soberazko kantitateak gehitzean intentsitate fluoreszentean ikusitako aldaketak ia mesprezagarriak izan dira (33. Irudia). Beraz, koloratzaile hau sentsoare fluoreszente egokia da soilik zinka detektatzeko eta nahiz eta zinka kontzentrazio txikia egon eta gainerako katioiak ingurunean aurkitu, hura detektatzeko gai da.



**33. Irudia:** *Katioiak ingurunean ez daudenean ( $I_0$ ) eta katioiak ingurunean jartzerakoan ( $I$ ) intentsitate fluoreszenteen arteko erlazioa.*

Argiaren eraginaren ondorioz di-2-pikolil taldeak jasaten duen aldaketa fotokimikoa ezezaguna denez, ezinezkoa dugu zinkak sortarazitako fluoreszentiaren galera azaltzen duen mekanismo bat proposatu. Beraz, *meso* posizioan dagoen ordezkatzailleak eguzki argiaren ondorioz jasandako egitura aldaketa ikertzeaz dago. Horretarako, bestelako teknika espektroskopikoak, hala nola, erresonantzia magnetiko nuklearreko espektroskopia eta masa espektroskopia erabili behar dira. Modu honetan, di-2-pikolil taldearen karakterizazio estrukturala eginez, fluoreszentiaren jaitsiera azaltzen duen mekanismoa ezagutu ahal da.



### 3. ONDORIOAK

Gradu Amaierako Lan honetan, 8. posizioan amino taldea daramaten BODIPYen ezaugarri espektroskopikoak, elektronikoak eta egiturazkoak aztertu egin dira bai esperimentalki bai teorikoki. Honetaz gain, molekula hauek katioiak detektatzeko duten ahalmena ebaluatu da. Hona hemen lortutako ondorio nagusiak:

- Amina eta BODIPYaren arteko akoplamendu elektronikoaren ondorioz bi aldaketa bortitz suertatzen dira: uhin-luzeraren jaitsiera (eremu urdineko zonaldera) hemizianina forma mesomerikoaren agerpenagatik eta ahalmen fluoreszentearen gutxitzea karga transferentziagatik (ICT). Beraz, aminen elektroik bikoite bakartiaren interakzioa BDParekin modulatu gero, aurreko bi aldaketak kontrola daitezke.
- Sentsore fluoreszenteak garatzeko katioiekiko espezifikoak diren makroziklo ionoforoak (tamaina ezberdineko koro eterrak eta aza koroak) gehitu dira aurreko 8-aminoaren bidez. Katioien presentzia ez dira aldaketak sumatzen ez uhin-luzeran ezta fluoreszentiaren etekin kuantikoan ere nahiz eta seguruenik konplexazioa eman. Beraz, 8-amino taldearen elektroik bikoite askearen joera BODIPYtik zehar ezlekutzea da katioiarekin interakzionatu beharrean.
- Zinkarekiko espezifikoa den di-2-pikolil taldea ere txertatu da BODIPYaren *meso* posizioan baina alferrik. Ustekabean, eguzkiko argipean jartzerakoan haren propietate fotofisikokoak dezente aldatzen dira (itxuraz zianina forma berreskuratzen da) eta oraingoan bai fluoreszentiaren intentsitatea aldatzen da zinka katioiaren presentzia. Beraz, koloratzaile hau sentsore fluoreszente egokia da soilik zinka detektatzeko eta nahiz eta zinka kontzentrazio txikia egon eta gainerako katioiak ingurunean aurkitu, hura detektatzeko gai da.
- Nire aburuz, lan honetan erabilitako egituren diseinu molekularra egokia da sentikortasun handiko sentsore fluoreszenteak garatzeko. Hau dela eta, etorkizunean, antzeko ionoforoak txertatuko dira BODIPYaren beste posizio kromoforikoetan zeinetan fluoroforen afinitatea amino taldearen elektroik bikoitea bereganatzeko txikiagoa den, katioiarekin duen interakzioa erraztuz.

#### 4. BIBLIOGRAFIA

1. Mustroph, H.; Ernst, S.; Senns, B.; Towns, A. D. *Color. Technol.* **2015**, 131, 9–26 .
2. Wiederschain, G. Y. *Biochem.* **2011**, 76, 1276–1276 .
3. Weissleder, R.; Pittet, M. J. *Nature.* **2008**, 452, 580–589 .
4. Ni, Y.; Wu, J. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, 12, 3774–91 .
5. Valeur, B. *Coord. Chem. Rev.* **2000**, 205, 3–40.
6. Rurack, K.; Resch-Genger, U. *Chem. Soc. Rev.* **2002**, 31, 116–127 .
7. Silva, A. P.; Gunaratne, H. Q.; Gunnlaugsson, T.; Huxley, A. J.; McCoy, C. P.; Rademacher, J. T.; Rice, T. E. *Chem. Rev.* **1997**, 97, 1515–1566 .
8. Haberhauer, G.; Gleiter, R.; Burkhart, C. *Chem. - A Eur. J.* **2016**, 18, 971–978.
9. Benniston, A. C.; Clift, S.; Hagon, J.; Lemmetyinen, H.; Clegg, W.; Harrington, R. W. *ChemPhysChem.* **2012**, 13, 3672-3681.
10. Turfan, B.; Akkaya, E. U. *Org. Lett.* **2002**, 4, 2857–2859 .
11. Loudet, A.; Burgess, K. *Chem. Rev.* **2007**, 107, 4891–4932.
12. Bañuelos, J.; López Arbeloa, I. *Carbon-Science Technol.* **2015**, 7, 1–35.
13. Benniston, A. C.; Copley, G. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, 11, 4124–4131.
14. Ulrich, G.; Ziesel, R.; Harriman, A. *Angew. Chem - Int. Ed.* **2008**, 47, 1184–1201.
15. Costela, A.; García-Moreno, I.; Sastre, R. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2003**, 5, 4745.
16. Kowada, T.; Maeda, H.; Kikuchi, K. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, 44, 4953–72.
17. Kamkaew, A. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 77–88.
18. Bessette, A.; Hanan, G. S. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, 43, 3342–405.
19. Boens, N.; Leen, V.; Dehaen, W. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 1130–1172.

20. Şahin, D.; Yılmaz, H.; Hayvalı, Z. *Res. Chem. Intermed.* **2016**, 42, 6337-6350.
21. Valeur, B. *Molecular fluorescence: Principles and Applications*; 4th Ed. WILEY-VCH: New York, 2007.
22. López Arbeloa, F.; López Arbeloa, T.; López Arbeloa, I. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry.* **1999**, 121, 177-182.
23. Kohn, W.; Becke, A.D.; Parr, R.G. *J. Phys. Chem.* **1996**, 100, 12974.
24. Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. *Phys. Rev. B.* **1988**, 37, 785–789.
25. Becke, A. D. *Chem. Phys.* **1996**, 104, 1040–1046 .
26. Wiberg, K.B.; Stratmann, R.E.; Frisch, M.J. *J. Chem. Phys.* **1998**, 297, 60.
27. Hirata, S.; Lee, T. J.; Head-Gordon, M. *Chem. Phys.* **1999**, 111, 8904.
28. Tomasi, J.; Persico, M. *Chem. Rev.* **1994**, 94, 2027–2094 .
29. Klamt, A.; Schuumann, G. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1993**, 2, 799.
30. Frisch, M.J.; Trucks, G.W.; Schlegel, H.B.; Scuseria, G.E.; Robb, M.A.; Cheeseman, J.R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G.A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H.P.; Izmaylov, A.F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J.L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J.A., Jr.; Peralta, J.E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J.J.; Brothers, E.; Kudin, K.N.; Staroverov, V.N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J.C.; Iyengar, S.S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J.E.; Cross, J.B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R.E.; Yazyev, O.; Austin, A.J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J.W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V.G.; Voth, G.A.; Salvador, P.; Dannenberg, J.J.; Dapprich, S.; Daniels, A.D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J.V.; Cioslowski, J.; Fox, D.J. *Gaussian 09*; Gaussian, Inc. Wallingford CT, 2009.

31. Kollmannsberger, M.; Rurack, K.; Resch-Genger, U.; Daub, J. *Phys. Chem.* **1998**, 102, 10211–10220.
32. Qin, W.; Dou, W.; Leen, V.; Dehaen, W.; Auweraer, M.; Boens, N. *RSC Adv.* **2016**, 6, 7806–7816.
33. Madhu, S.; Basu, S. K.; Jadhav, S.; Ravikanth, M. *Analyst.* **2013**, 138, 299–306.

