

Baliabide Molekularrak Propietate Fotonikoen Sintonizaziorako

DOKTORETZA-TESIA

Edurne Avellanal Zaballa

Doktore titulua lortzeko

“NAZIOARTEKO DOKTORE”

eta

Euskara C2 mailaren aipamenarekin

Zuzendariak: Dr. Jorge Bañuelos eta Dr. Leire Gartzia Rivero

Leioan, Abenduak 2020

Jadanik gurekin ez daudenei, baina beti egongo direnei

AGRADECIMIENTOS

Cuando decidí apostar por la investigación y comenzar la tesis más de uno me dijo que tenía que tener ilusión. Y realmente creo que haber mantenido esa ilusión intacta durante estos cuatro años me ha ayudado a terminar este proyecto que creemos útil para el avance de la ciencia, y por ende, de la sociedad. Por ello, en primer lugar querría agradecer a mis directores de tesis Jorge y Leire por su apoyo incondicional y por haberme guiado en esta ardua tarea. No solo me han enseñado aspectos totalmente desconocidos de la química para mí, sino que también han contribuido a mi desarrollo como persona. Quién me diría a mí que al principio de todo este viaje terminaría aprendiendo tanto y sobre tan diversos temas, y lo que nos queda aún por descubrir.

Del mismo modo también me gustaría dar las gracias al Gobierno Vasco por la concesión de la beca predoctoral, ya que sin ella todo esto habría sido imposible, sin olvidarme de los servicios Generales de la Facultad de Ciencia y Tecnología de la UPV/EHU (SGIker) por todas las medidas realizadas, en especial las referentes a cálculos teóricos.

Sin embargo, nada de esto habría sido posible sin la colaboración de los grupos de síntesis orgánica que nos proporcionan las muestras para su posterior caracterización. Es por ello que me gustaría agradecerles su gran trabajo y dedicación a los grupos del Prof. Eduardo Peña de la Universidad de Guanajuato, de las Prof. M^a José Ortiz y la Dra. Antonia Agarrabeitia (en especial a Alejandro y Ágata) y del Prof. Santiago de la Moya (en especial a César, Josué y Christopher) de la Universidad Complutense de Madrid, y del Prof. Cristóbal López y Prof. Ana Gómez, y del Prof. José Luis Chiara (en especial a Alberto), del Instituto de Orgánica General (IQOG-CSIC) de Madrid. También me gustaría agradecerle a la Prof. Inmaculada García-Moreno del Instituto de Física-Química "Rocasolano" (CSIC) por las medidas de espectroscopia láser realizadas, y en especial al Dr. Luis Cerdán, por su inagotable paciencia a la hora de ayudarme a entender la caracterización laser de las moléculas orgánicas.

Además, no me gustaría olvidarme de toda la gente que me hizo sentir como en casa durante mi estancia en Lausanne (Suiza). Gracias a todo el grupo de la Prof. Clémence Corminboeuf (en especial a Sergi y María) del "École Polytechnique Fédérale de Lausanne" por hacer más pequeña esa brecha entre el mundo teórico y el experimental.

Muchas gracias a mis compañeras del Laboratorio de Espectroscopia Molecular Iñigo, Teresa, Virginia, Hegoi, Rebeca, Edu, Ruth, Ainhoa, Xabi, Carolina y Jon por hacer mucho más ameno y divertido este largo viaje.

Por supuesto a mis amigas de toda la vida las que dicen llamarse "Ferminas", a los chicos locos que nos complementan tan bien y a las "Angugulas de Norte" por hacerme reír y por preocuparse por mí. A Lidia, Amaia, Xabi (Txo), Ager, Nahia e Imanol, porque con vosotros empezó todo.

Finalmente, a mi familia Aita, Amatxu y Llelle por no dejarme tirar la toalla nunca y por apoyarme siempre.

Zuri ere, Amaia, azkenengo urte bitxi samar honetan agertzearen eta nire bizitzari kolore ukitze bat ematearren.

Mila esker bihotz-bihotzez.

ABSTRACT

Dye chemistry is witnessing a renewed recognition as a valuable tool to design smart photonic applied materials. In particular, the recent avenues in organic chemistry allow the access to new tailor made molecular structures. Against this background, in this thesis we aimed to design, characterize and apply a new generation of organic dyes as fluorophores and photosensitizers for photonic purposes. Instead of using different dyes for each target application, the herein applied strategy was based on the use of a specific molecular scaffold, where, after suitable chemical modifications of its chromophoric core, the photonic performance can be modulated in a controlled way depending on the searched application field. To this aim, we selected BOron DIPYrrromethene (BODIPY) as molecular platform to tackle diverse photonic applications, even if they sometimes imply opposite photophysical properties. This modern dye outstand by its chemical accessibility and tunable photophysical properties ready and finely modulated by structural factors. A rational design of its molecular structure allows the development of red- and near infrared-emitting dyes for tunable lasers, fluorescent sensors for the detection of biomolecules, and fluorescent probes for biomaging, as well as non-fluorescent singlet oxygen photosensitizers for therapy in biomedicine. The design was extended to the combination of several dyes into one single molecular structure, where new photophysical phenomena as energy and charge transfer, and excitonic couplings, are induced. These complex and challenging multichromophoric dyes show a remarkable behavior as improved dye lasers, optically active systems, light harvesters and molecular antennae. The research activity was focused in the design of novel BODIPY-based molecular structures using computational tools, and mainly in the computationally assisted photophysical and lasing characterization of the synthesized fluorophores and photosensitizers. A deep understanding of the interplay between the molecular structure and the photonic performance, as well as unraveling the key underlying photophysical mechanisms in each application field, result essential to improve the photonic performance and redesign optimized photoactive dyes. We hope that the herein reported guidelines could serve as inspiration and settle the bases to sketch smart and advanced organic molecules for applied photonics.

LABURPENA

Koloratzaileen kimika erraminta baliotsu gisa onarpenaren lekuko izaten ari da aplikagarriak diren material fotoniko adimentsuak diseinatzeko. Kimika organikoan sortutako bide sintetiko desberdinek egitura molekular berrien sorkuntza erraztu dituzte, bereziki neurria egindakoak. Hori dela eta, gure helburua tesi honetan aplikazio fotonikoetan fluoroforo eta fotosentikortzaile gisa jarduten duten koloratzaile organiko belaunaldi berri baten diseinua eta karakterizazioa da. Aplikazio xede bakoitzerako koloratzaile ezberdinak erabili beharrean, hemen erabilitako estrategia egitura molekular espezifiko bat abiapuntu bezala hartzea izan zen, non, nukleo kromoforikon aldaketa kimiko egokiak egin ostean, jarraitutako aplikazio arloaren arabera funtzio fotonikoa kontrolpean modulatzeko posible izan zen. Horregatik BOro DIPYrrometeno (BODIPY) koloratzailea eredu molekular gisa aukeratu zen aplikazio fotoniko desberdinei aurre egiteko, baita kontrako propietate fotofisikoa beharrezkoak zirenean ere. Gaur egungo koloratzaile hau bere eskuragarritasun kimikoagatik eta bere egiturazko faktoreen bitarteko propietate fotofisiko sintonizagarriengatik nabarmentzen da. Bere egitura molekularren diseinu aproposak eremu gorrian eta infragorri hurbilean igortzen duten koloratzaileen garapena ahalbidetzen du. Azken hauek laser sintonizagarri, biomolekulak detektatzeko sentzore fluoreszente eta bioirudirako proba fluoreszente gisa aplikatu daitezke, baita biomedikuntzan terapiarako oxigeno singletea sortzeko gai diren eta fluoreszenteak ez diren fotosentikortzaile gisa ere. Bere diseinua egitura molekular bakar batean koloratzaile anitzen konbinazioaren bitartez hedatu zen, non energia zein karga transferentzia eta akoplamendu exzitonikoak bezalako prozesuak induzitu ziren. Koloratzaile multikromoforiko konplexu eta erronkari hauek koloratzaile-laser aurreratu, optikoki aktiboak diren sistema, argi biltzaile eta antena molekular gisa jokaera aparta erakusten dute. Ikerketaren aktibitatea BODIPYetan oinarritutako egitura molekular berritzaileen diseinuan zentratu zen erraminta konputazionalak erabiliz, eta batez ere sintetizatutako fluoroforo eta fotosentikortzaileen karakterizazio fotofisikoa eta laser-karakterizazioan, laguntza konputazionalari esker. Egitura molekularren eta funtzio fotonikoaren arteko elkarrekintzari buruzko ulermena, baita aplikazio arlo bakoitzean gertatutako fenomeno fotofisikoen argibidea ere, ezinbestekoak dira jokabide fotonikoa hobetzeko eta koloratzaile fotoaktibo aurreratuak berriz diseinatzeko. Lan honetan islatutako jarraibideak fotonika aplikatuan molekula organiko adimentsuak eta aurreratuak garatzeko oinarriak finkatzea eta inspirazio gisa baliagarriak izatea espero dugu.

RESUMEN

La química de colorantes está presenciando un renovado reconocimiento como herramienta valiosa para diseñar materiales fotónicos inteligentes prácticos. Las recientes rutas sintéticas en química orgánica han permitido el acceso a nuevas estructuras moleculares, en particular las hechas a la medida. En este contexto, nuestro objetivo en esta tesis es diseñar, caracterizar y aplicar una nueva generación de colorantes orgánicos como fluoróforos y fotosensibilizadores con fines fotónicos. En lugar de usar diferentes colorantes para cada propósito de aplicación, la estrategia empleada aquí se basó en el uso de un punto de partida molecular específico, donde, tras adecuadas modificaciones químicas de su núcleo cromofórico, la función fotónica pudo ser modulada de una manera controlada dependiendo del campo de aplicación que se quería perseguir. Es por ello que se eligió el colorante BORO-DIPYRROMETENO (BODIPY) como patrón molecular para hacer frente a diferentes aplicaciones fotónicas, incluso cuando a veces implicaban propiedades fotofísicas opuestas. Este colorante moderno sobresale por su accesibilidad química y sus propiedades fotofísicas sintonizables mediante factores estructurales. Un diseño lógico de su estructura molecular permite el desarrollo de colorantes capaces de emitir en la región roja e infrarroja cercana para ser aplicados como láseres sintonizables, sensores fluorescentes para la detección de biomoléculas, y pruebas fluorescentes para bioimagen, así como fotosensibilizadores no fluorescentes capaces de generar oxígeno singlete para terapia en biomedicina. Su diseño se amplió a través de la combinación de numerosos colorantes en una única estructura molecular, donde los nuevos fenómenos fotofísicos como la transferencia de energía y carga, y los acoplamientos excitónicos, son impulsados. Estos colorantes multicromofóricos complejos y desafiantes presentan un comportamiento excepcional como láseres de colorante mejorados, sistemas ópticamente activos, captadores de luz y antenas moleculares. La actividad investigadora se centró en el diseño de estructuras moleculares novedosas basadas en BODIPY mediante el uso de herramientas computacionales, y principalmente mediante la caracterización láser y fotofísica asistida computacionalmente de los fluoróforos y fotosensibilizadores sintetizados. Un entendimiento más profundo acerca de la interacción entre la estructura molecular y la función fotónica, así como el desciframiento de los mecanismos fotofísicos que ocurren en cada campo de aplicación, resultan esenciales para mejorar el comportamiento fotónico y rediseñar colorantes fotoactivos optimizados. Esperemos que las pautas reflejadas en este trabajo puedan servir como inspiración y fijen las bases para desarrollar moléculas orgánicas inteligentes y avanzadas para la fotónica aplicada.

Aurkibidea

Sarrera	1
Helburuak.....	9
Tesiaren estruktura.....	10
Metodologia eta Teknika Esperimentalak	15
I. Koloratzaileak eta Laginen Prestaketa.....	16
II. Teknika Esperimentalak.....	17
Ultramore-ikusgai argiko absortzio-espektroskopia.....	17
Fluoreszentzia-espektroskopia.....	18
Denborarekiko korrelazioa duen fotoi-kontagailua.....	19
Oxigeno singletearen neurketak.....	20
Laser-propietateen neurketak.....	21
Voltametria ziklikoa.....	23
III. Metodo Konputazionalak.....	23
Geometrien optimizazioa eta orbital molekularrak.....	24
Absortzio espektroa.....	24
Disolbatzailearen eragina.....	25
1ngo KAPITULUA: BODIPY Berrietan Oinarritutako Laser-Koloratzaileak eta Katioi Sentsoreak	27
1.1. N-BODIPYak Laser-Ingurune gisa.....	29
1.2. N-BODIPYak Katioien Sentsore gisa.....	33
2. KAPITULUA: Eremu Gorrian eta NIR Eremuan Igorleak diren Laser-Koloratzaileak	41
2.1. Bentzofurano-Fusionatutako BODIPYetan Oinarritutako Laser Gorriak.....	44
2.1.1. Propietate fotofisikoak.....	44
2.1.2. Laser-propietateak.....	48
2.1. Aza-BODIPYak NIR Laser gisa.....	51
2.2.1. F-aza-BODIPYak.....	52
2.2.2. O- and C-aza-BODIPYak.....	55
2.2.3. Laser-propietateak.....	56

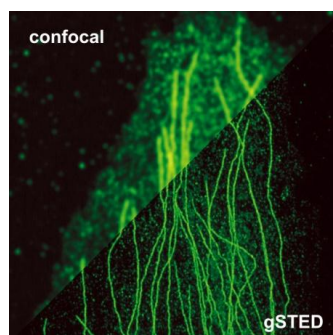
3. KAPITULUA: Fluoreszentzia Probak, Sentsoreak eta Bioirudi eta Terapiarako Fotosentikortzaileak.....	61
3.1. Karbohidratoen bitartez Uretan Disolbagarriak diren BODIPYak.....	63
3.1.1. Propietate fotofisikoak.....	65
3.1.2. Laser-propietateak.....	67
3.2. Tioldun Aminoazidoen Sentsorea.....	69
3.3. Halogenorik gabeko Oxigeno Singlete Fotosentikortzailea.....	73
4. KAPITULUA: Bis-BODIPY Laser-Koloratzaileak Erantzun Kiroptikoarekin.....	81
4.1. Egitura eta Konformazioa.....	83
4.2. Propietate Fotofisikoak.....	85
4.3. Propietate Kiroptikoak.....	92
4.4. Laser-Propietateak.....	93
5. KAPITULUA: Energia Transferentzia bitartezko Antena Multikromoforikoak.....	97
5.1. Eremu Gorriko eta NIR Eremuko Aza-BODIPY-BODIPY Kaseteak.....	100
5.1.1. Propietate fotofisikoak.....	100
5.1.2. Laser-propietateak.....	103
5.2. Kasete Pankromatikoak Igorpen Gorriarekin.....	106
5.2.1. Propietate fotofisikoak.....	107
5.2.2. Laser-propietateak.....	112
5.3. BODIPYetan Oinarritutako Pentamero eta Hexamero Laser-Koloratzaileak.....	113
5.3.1. Propietate fotofisikoak.....	114
5.3.2. Laser-propietateak.....	118
Ondorioak.....	123
Etorkizuneko Ikuspegiak.....	125
Argitalpen Zerrenda (ERANSKINAK).....	127

Sarrera

Pertsonak ezagutu bezain laster epaitzeko gaitasun ikaragarria dugu. Hartutako lehenengo tankera soilik kontuan hartzen dugu. Hortik aurrera aurreiritzi hori burura datorkigu. Egunero, goizean esnatzen garen momentutik gauean lotara goazenera arte, inguruko makina bat kolore desberdintzeko gai gara. Egunetik egunera koloreak erabiltzen ditugu eta geure pertsonari buruzko istorioak kontatzen dizkigute; gure itxura eta ingurunea manipulatzeko aukera ematen digu. Berez, egun koloreak gure bizitzan duen eginkizuna inoiz baino garrantzitsuagoa da. Orokorrean, pigmentuak eta koloratzaileak objektuei kolorea emateko erabili dira, ultramore-ikusgai-infragorri hurbil (UV-Vis-NIR) eremu espektralean argia absorbatzeko gai baitira. Pigmentu organiko zein ez-organikoen fauna eta floratik eratorritako koloratzaileak nahasiz gero sekulako koloreak ekoizten dituzte^[1]. Lurreko lehenengo pigmentu hauek okre hori, okre gorri eta beltza koloreak batez ere sortu zituzten eta duela 700000 urte Blombos haitzuloan Hegoafrikan labar-pintura geometriko batzuetan aurkitu ziren^[2]. 1856 urtera arte ez zen lehenengo koloratzaile sintetikoa sortu, "mauveina" izenekoa eta W. H. Perkin-ek^[3] aurkitu zuena malaria sendatzeko kinina farmakoa sintetizatze bidea ikertzen ari zelarik. Nahiz eta mauveina urte gutxi batzuetan zehar produktu komertziala izan, industria iraultzaile^[4] berri baten izugarritzko garapena bultzatu zuen, zeinek aldi berean koloratzaile sintetikoen eskaera hein handi batean handitu zuen.

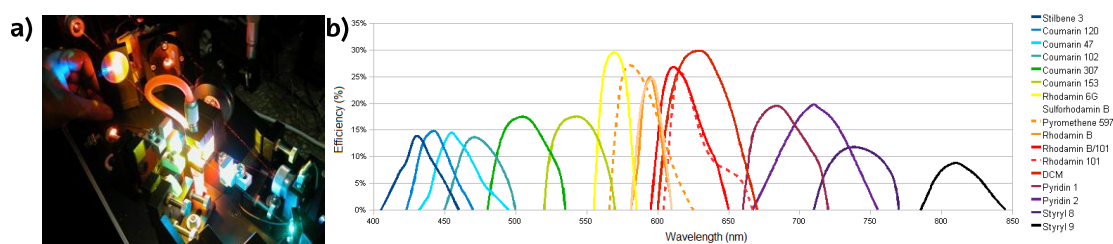
XX. mendearen amaieran koloratzaileek orokorrean aplikazio moderno ugari aurkitu zituzten garatzen ari ziren ikerkuntza zientifiko arlo askotan. Ezusteko interes honen hazkundera zela eta, susperraldian zeuden koloratzaile berrien beharrak, zeinek lehenegoen moldagarritasuna eta ahalmena gainditu zezaketen euren mugak hobetuz, berealdiko iraultza sortarazi zuen. Horregatik, gaur egun koloratzaileen kimika^[5,6] berpiztu egin da eta denen interesa pizten ari da, molekula gehienak sintetizatutako koloratzaile organikoak izanez, eta argiz zuzendutako tresna molekular askotan arrakastaz aplikatuz^[7-10].

Arrakasta hau hiru bereizgarri baina aldi berean osagarriak diren ikerketa arloei nagusiki zor zaie: kimika organikoa, kimika konputazionala eta garapen teknologikoa. Lehenik, koromoforoen egitura moldatzeko eta funtzio-talde desberdinak bertan txertatzeko bide sintetiko moderno ugari diseinatu dira^[11,12] aplikazio eta funtzionalizazio desberdinen bila koloratzaile organiko sofistikuak eratuz. Estrategia sintetiko berri hauek konposatu paregabeen prestakuntza azkartu ez ezik, ohiko bide sintetikoen bitartez eskuraezin diren kimiotipoen azterketa ere ahalbidetu du. Bigarrenik, baliabide konputazionalen inguruko aurrerapenak kalkulu teoriko konplexu eta luzeak denbora tarte laburragoetan aurrera eramatea posible egin dute. Lorpen honek molekulen jokabidea teorikoki auresateko eta simulatzeko baita propietate espezifikoak aztertzeko ere kimika konputazionala erraminta egoki gisa sustatu du, molekula eta prozesu zailak ikertzeko metodo teoriko aurreratuak aplikatu daitezke eta. Kimika konputazionala^[13,14] konposatu berriak diseinatzeko guztiz aproposa da, euren sintesia bideratuz eta denbora zein baliabideak aurreztuz (ekonomikoak batez ere). Gehiago dena, orain arte landu ezinak ziren arazo kimiko klasikoak argitzen lagundu digu fenomeno desberdinei buruzko ebatzi gabeko galderak erantzunez. Azkenik, teknika espektroskopiko aurreratuetan egindako garapen teknologikoak tresna fotoaktiboetan gertatzen diren argiz zuzendutako fenomeno ultralasterren (baita femtosegundo eskalan ere) argipena eta azterketa ahalbidetu du. Izan ere, mikroespektroskopian egindako hobekuntzek difrakzio-mugak ($(\lambda/2)$ ezarritako bereizmen muga gainditzea erraztu dute, (2014ko Kimika Nobel Saria super-zehaztutako mikroskopia fluoreszentearen inguruko garapenean egokitu zen) partikula edo molekula (nanoskopia) bakar baten detekzioa bideratuz suspertutako igorpen murrizketari esker (*Stimulated Emission Depletion*, STED), non bi kitzikapen laser^[15] konbinatu ziren eta eremu berdinean laser erradiazioaren bitartez ondoz ondoko neurketak aurrera eraman ziren^[16,17] (1. Irudia).



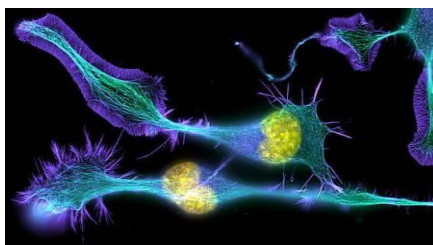
1. Irudia. Mikroskopia konfokalaren (goiko partean) eta STED (beheko partean) bitartez lortutako irudien arteko bereizmen konparazioa^[18].

Horregatik, gaur egun UV-Vis-NIR eremu espektralean zehar koloratzaile organiko asko eskuragarri daude^[19], argi distiratsua igortzeko gai direnak erakargarrienak izanik. Hau da, horietako batzuk fluoreszentzia erakusteko gai dira^[20], lumineszentziaren fenomeno zehatz bat non, argia absorbatu ostean, elektroien bat egoera kitzikatutik (S_1) oinarritzeko egoerara (S_0) itzultzen den energiaren galera argi gisa (fotoia) igorri. Molekula organiko hauek fluoroforoak deitzen dira eta mota askotariko aplikazioetan erabiltzen dira. Koloratzaile-laserren ingurune fotoaktibo gisa aktiboki aztertuta dira. Laser (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*) tresna bat da zeinek argia igortzen duen erradiazio elektromagnetikoak suspertutako igorpenen oinarritutako amplifikazio optikoaren prozesuari esker, berezko igorpenen baino fotoi bat gehiago ekoiztu^[21]. Ohiko argiarekin konparatuz gero, laserrak erradiazio monokromatiko eta koherentea du, argia puntu zehatz batean enfokatzeko ahalbidetzen duena, gainazalaren azalerarekiko energia kantitate altuak eskuratuz. Propietate onuragarri hauek argi iturri hau funtsezko bilakatzen dute gure eguneroko bizitzan, arlo askotan aplikatuz; adibidez, industrian^[22] edo medikuntzan^[23]. Areago, laser organikoak (ingurune aktibo gisa koloratzaile organikoak dituztenak, 2a. Irudia)^[24] laser-banda zabalengatik erakargarriak dira, zeinek eremu espektral zabal batean zehar laser-seinalearen uhin-luzera sintonizatzea^[25] eta pulsu ultralaburren ekoizpena errazten duten. Aurretik aipatutako kimika organikoaren garapenera esker espektro elektromagnetiko ikusgai osoa betetzen duten laser-koloratzaile organikoaren familia sorta ugari eskuragarri^[26] daude (2b. Irudia).



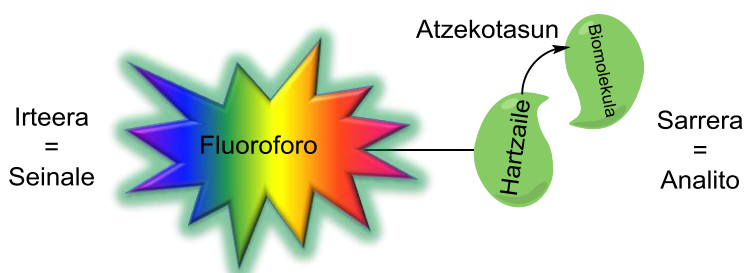
2. Irudia. a) Ingurune aktibo gisa koloratzaile organiko baten disoluzioa duen laserra. b) Uhin-luzera tartean desberdinetan seinale sintonizagarria duten koloratzaile batzuen laser-igorpen espektroak^[27].

Koloratzaile fluoreszenteen beste aplikazio bat eta, seguruenik ospetsuena eta gehien ikertu dena, euren erabilera fluoreszentzia proba gisa bioirudirako da^[28,29]. Honi dagokionez, molekula organikoak biobateragarriak eta modu egonkor eta distiratsu batean argia eraginkortasunez absorbatzeko eta igortzeko gai dira, propietate hauek guztiak fluoreszentzia proba lehiakorrek garatzeko ezinbestekoak direlarik. Koloratzaile hauek nahi den organulura bideratzen edo intereseko biomolekulara lotzen dira^[30], euren kokapena denbora errealean jakinaraziz^[31] eta mikroespektroskopia fluoreszentearen bidez (fluoreszentzia irudia, 3. Irudia) argiaren igorpena miatuz prozesu biokimiko dinamikoak monitorizatu. Helburu diren biomolekula edo organuluaren etiketatzea errazteko, fluoroforoa funtzio-taldeak dekoratzen da lokarri espezifikoaren bio-identifikazioa sustatzeko edo biomolekulekin edo bioerzeptoreekin lotura kobalentea ahalbidetzeko.



3. Irudia. *Mikroskopia fluoreszentearen bitartez lortutako zelula neuronal baten irudia*^[32].

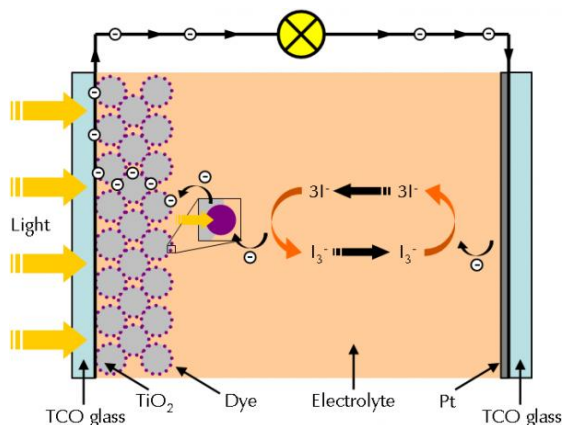
Eta hau gutxi balitz, sentsore helburuetarako eskuragarri dauden estrategia guztien artean, sentsore kimikoak fluoreszenteak (4. Irudia) aukerarik onenetarikoak dira^[33]. Mota honetako sentsoreek informazio kimikoa, analito baten kontzentrazioa esaterako, zuzenean informazio analitiko bilakatzen dute, seinale fluoreszenteari denbora errealean jarraituz. Helburu honetarako, bilatzen ari den analitorako fluoroforoa hartzaile batekin funtzionalizatu behar da.



4. Irudia. *Biomolekuluak detektatzeko fluoroforo-hartzaile sistemen operazio-printizipioa.*

Bestalde, ahalmen fluoreszente baxua edo ezdeusa duten kormoforoak aukera berrien ateak ireki eta propietate fotofisiko interesgarriak erakutsi ditzakete, adibidez fotosensibilizadore gisa aplikatuz (*Photosensitizer*, PS), non euren helbururik nagusia

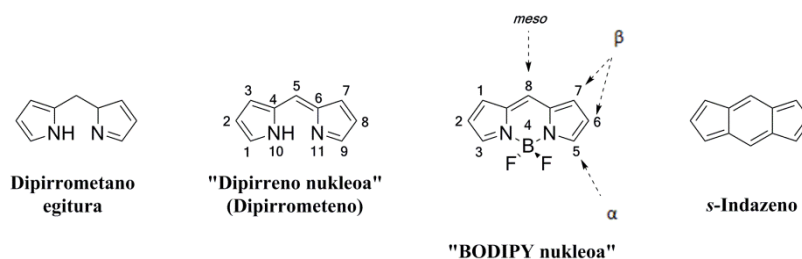
baten bitartez aktibatzen da. Kasu batzuetan ez dago erdieroale ez-organikorik eta eguzki-zelula guztiz organikoa da (*Organic Solar Cell, OSC*)^[41], non elektroiei emale eta hartzaile gisa jokatzen duten funtzio-talde desberdinak lotzen diren karga banaketa^[42] sustatzeko eta egonkortasuna lortzeko.



5. Irudia. Koloratzaileen bitartez sentsibilizatutako eguzki-zelula baten konfigurazio eskema sinplifikatua^[43].

Komunitate zientifikoak koromoforo organikoak aplikatzen dituen arlo kopurua altua dela eta, ez dago eskuragarri fluoroforo egoki bakar bat aplikazio ugarirako. Gaur egungo koloratzaileen kimikaren inguruan egindako ahaleginak neurritik funtzionaliza daitezkeen egitura molekular moldagarriak aurkitzera bideratuta daude. Hau da, aplikazio bakoitzerako koloratzaile desberdinak garatu ordez, makina bat arlotan aplika daitezkeen egitura molekularra garatzea dugu helburu, modu egokian funtzionalizatuz eta zentzuzko diseinua bilatuz. Honi dagokionez, propietate fotofisikoen eta egituraren diseinuaren arteko korrelazioaren ulermena ezarri behar da. Egitura molekularraren eta horren ondorioz propietate fotofisikoen arteko harremana determinatuz gero, aurretik zehatz-mehatz jakin daitezkeen propietate fotofisikoak dituzten kromoforoak gara daitezke. Beraz, fluoroforo berri bakar baten aurkikuntza, potentzialki erabilgarria den bitartean, hein zabal batean bakarrik esanguratsua da egitura molekularraren inguruan moldagarritasunerako lekua uzten badu. Honi buruz, 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indazeno koloratzaileak (BODIPY izen adierazgarriaren bitartez ezaguna dena, baita "porfirinen" ahizpa txikia bezala ere), 1968. Urtean Kreuzer eta Treibs-ek lehen aldiz deskribatu zutena^[44], fluoroforo aplikagarri eta moderno gisa abangoardian daude bere boro-dipirreno nukleoak eskeintzen duen moldagarritasun kimikoari^[45] eta ordezkapen ereduak kontrolatzen dituen propietate fotofisiko sintonizagarriei esker.

BODIPY koloratzailea zianina zikliko bat da. Bere nukleo kromoforikoak difluoroboro zubi baten bitartez kelatutako bi amino talde dituen kate polimetino batez osaturiko π -sistema konjokatua du ezaugarri (6. Irudia). Koordinatutako BF₂ unitateak dipirreno egituraren malgutasun konformazionala mugatzen duen bitartean, dipirreno egitura trantsizio elektronikoa nagusiaren erantzulea da, egitura guztiz laua mantenduz aromatizitatea eta igorpen fluoreszentea handiagotzeko, barne aldaketarekin loturiko erlaxazio bide ez-erradiatzaileak desagertzen baitira^[47]. Edozein ordezkatzaileren zenbakitzeak BODIPYan s-indazenoak (karbono pilizikoa) ezarritako arauari jarraitzen die, eta 8 posizioa batzuetan meso-posizio bezala aipatzen da sistema porfirinikoetan bezalaxe (6. Irudia).

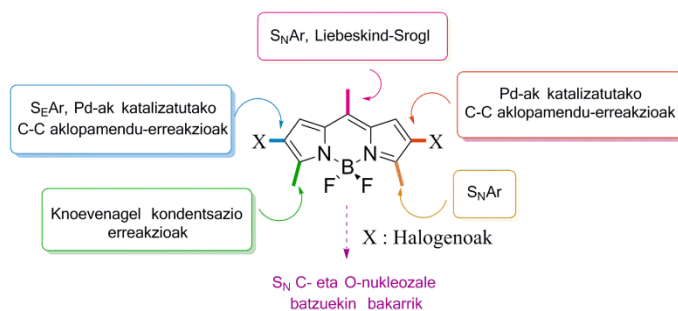


6. Irudia. *Dipirrometano, dipirrometeno, BODIPY nukleoaren bere IUPAC zenbakitzearekin batera eta s-indazenoaren egitura molekularren eskema.*

Propietate fotofisiko desiragarri asko egitura molekular paregabe honetatik sortzen dira. Bere nukleo zurrunaren ondorioz, BODIPY koloratzaileak absortzio banda sendoak $100000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ -tako koefizienteekin batera, etekin kuantiko fluoreszente altuak (1.00 baliotik gertu) eta laser-eraginkortasun altuak (%50 baino altuagoak) erakusten dituzte espektro elektromagnetikoaren berde-hori eremuan^[48]. Gehiago dena, fluoroforo honek erradiazio jarraitu eta sendoetan fotoegonkortasun altua aurkezten du^[49]. Laser eta fluoreszentzia helburuei begira propietate fotofisiko hauek bikainak dira triplete egoeraren populazio hutsala^[50] eta ingurune organikoetan agregazio probabilitate baxua^[51] dela eta.

Bestelako dipirreno konplexu ezagunekin konparatuz, BODIPYak egonkortasun kimiko altua du ezaugarri eta ingurune azido edo basiko bortizetan bakarrik deskonposatzen da. Hori dela eta, ikertzaile askorentzat BODIPY euren proiektuen muin bilakatu da, makina bat bide sintetikoren bidez ustiatzea posible baita^[52-55]. Egiakzi, bere arrakasta bere nukleo kromoforikoan datza, zeinek erreakzio desberdinak jasan ditzakeen (7. Irudia), Knoevenagel, Pd-ak katalizatutako aklopamendu-erreakzioak edota ordezkapen nukleozaleak, besteak beste^[56]. Are gehiago, zuzeneko funtzionalizazio honek

ondoriozko deribatuaren propietate fotofisikoak modulatzeko ahalbidetzen digu^[57]. Ezaugarri hauek guztiek dipirreno aldean aurrera ermandako eraldapen kimiko sakon guztiak indartu eta azaltzen dituzte, funtzio-talde desberdinak daramatzaten aparteko deribatuaren kopuru altuak diseinatzen direlarik. Koloratzaile honen ezaugarri aldakor honek fluoroforo gisa hainbat aplikaziotan arrakasta handia edukitzea azaltzen du, gutxi batzuk aipatzearen: laser sintonizagarrietan^[26], argi-biltzaileetan^[58], optoelektronikan^[59], sentzore fluoreszenteetan^[60] eta diagnosi frogetan^[61] edo fotosentikortzaile gisa tresna fotovoltaikoetan^[62] eta terapia fotodinamikoan^[63,64] biomedikuntzan, non molekula fotoaktiboaren baldintzak guztiz kontrakoak diren eta BODIPYaren egitura molekularra zentzuzko diseinu baten bitartez kimikoki egokitu behar den bilatzen propietate fotofisiko aproposak sustatzeko.



7. Irudia. BODIPY nukleoak eskaintzen duen erreaktibitate anitza.

Testuinguru honetan, hemen aurkeztutako tesi honetan erreminta molekularrak erabiltzen ditugu BODIPYan oinarritutako koloratzaileen belaunaldi berria garatzeko, zeinek neurritan egindako propietate fotofisiko sintonizagarriak dituzten hainbat aplikazio fotonikotan erabiltzeko.

Helburuak

Tesi honen helburu nagusia BODIPYetan oinarritutako koloratzaileen egitura molekularren eta propietate fotofisikoen arteko harreman konplexuaren ulermena da. Ezagutza honek euren funtzio fotonikoaren modulazio kontralatua eta sakona ahalbidetzen du fotonikari buruzko arloetan (laserrak, argi biltzaileak, aktibitate optikoa) eta bioteknologian (diagnosirako fluoreszentzia probak, detekziorako sentsoare fluoreszenteak eta terapiarako fotosentikortzaileak) aplikatzeko. Beraz, aplikazio bakoitzean egitura molekularrak zuzendutako fenomeno fotofisikoen argibidean arreta jarri dugu. Metodo konputazionalen bitartez lagundutako ikerketa espektroskopikoaren inguruko feedback-ak molekulen diseinu berria posible egiten du koloratzaile sinpleetan neurrira moldatutako ordezkatzzaileak txertatuz edo koloratzaile multikromoforikoetan muntaia molekularren berrantolaketa ahalbidetzen du euren aplikagarritasuna fluoroforo, kiralitate-eragile, laser edo fotosentikortzaile gisa hobetzeko. Hurrengo lerroetan tesi honetan jarraitutako helburu espezifikoak laburki azaltzen dira:

- Boro atomoaren inguruko aldaketa kimikoak BODIPYen propietate fotofisikoen eta laser-propietateen inguruan duen eragina aztertu.
- BODIPYen absortzio eta igorpen bandak uhin-luzera altuagoetara desplazatzeko hurbilketa molekularren egokitasuna ebaluatu eremu gorrian eta infragorri hurbilean igorleak diren laserrak eta fluoroforoak garatzeko.
- Karbohidratoen bitartez BODIPY fluoreszenteen disolbagarritasuna uretan handitu bioirudian fluoreszentzia proba gisa aplikatzeko.
- Eremu gorrian igorleak diren BODIPYen egokitasuna determinatu sentsoare fluoreszente gisa tioldun aminoazidoak detektatzeko.
- Kobalentekei eta simetrikoki lotutako BODIPY dimero baten funtzioa ebaluatu minbiziaren terapia fotodinamikorako atomo astunik gabeko oxigeno singlete fotosentikortzaile gisa aplikatzeko.
- Azido tartariko bereizle kiral eta akiralaren bitartez lotutako bis-BODIPY simetrikoen eklarrekinza intramolekularra determinatu laser eta kiralitate-eragile gisa erabiltzeko.
- Koloratzaile multikromoforikoetan egitura molekularren kontrolak energia transferentzia prozesuaren gainean duen eragina ebaluatu uhin-luzera altuetan igortzen duten energia transferentzia bitartezko laserrak eta argi biltzaileak garatzeko.

Tesiaren egitura

Tesia bost kapitulutuan banatuta dago. Kapituluak egitura molekularren inguruko goranzko zailtasun irizpidearen arabera ordenatu eta antolatu dira. Beraz, euren funtzio fotonikoa modulatzeko asmoz, ordezkatzaille desberdinak daramatzaten koloratzaile sinpleekin hasiko gara. Ondoren koloratzaile multikoromoforikoak aurkezten ditugu eskusiboki BODIPYetan oinarritutako (bis-BODIPYak) multzo molekularretik hasita koloratzaile desberdinak (kumarina, perileno eta gehienbat BODIPY) konbinatzen dituzten arkitektura molekular konplexuagoak osatu arte.

- 1go kapitulua; koloratzaile sorta bat aztertzen dugu non erdiko boroaren fluor atomoak nitrogenoengatik ordezkatu diren. Boro atomoaren inguruko ordezkapenak BODIPYen propietate espektroskopikoetan duen eragina azertu dugu elektro transferentzia prozesuak eragiteko aukeran arreta jarritz. *N*-BODIPY hauek koloratzaile-laser eta egoera solidoko igorle gisa lan egiteko eratuak izan dira.
- 2. Kapitulua; atal hau BODIPYaren banda espektrala uhin-luzera altuagoetara desplazatzeko eta eskuragarri dauden koloratzaile komertzialak baino propietate hobekak dituzten eremu gorriko eta NIR eremuko laserrak lortzeko bideratuta dago. Helburu honetarako bi hurbilketa osagarri ikertu dira: bentzofurano eraztunak dituzten konformazionalki mugatutako BODIPYak eta aza-BODIPY poliarilatuak.
- 3. Kapitulua; kapitulu hau biofotonikari begira bideratuta dago. BODIPYetan oinarrituz diagnosirako, terapiarako eta detekziorako baliagarriak diren koloratzaileak garatzen dugu helburu. Hortaz, uretan disolbagarriak diren fluoreszentsia probak lortzeko karbohidratoak BODIPYekin markatu dira. Bestalde, tioldun aminoazidoen presentzia ingurunean detektatzeko sentikorrek diren sentiore fluoreszenteak lortzeko BODIPYaren nukleoa ester asegabeekin dekoratu da. Azkenik, terapia zein diagnosirako oxigeno singlete fotosentikortzailea diseinatu da berdinekin diren BODIPY pare bat zuzenki lotuz.
- 4. Kapitulua; fenomeno fotofisiko berriak eragiteko koloratzaile konplexuen diseinuaren estrategiari jarratituz, BODIPY koloratzaile pare bat lotu dira optikoki aktiboa den azido tartariko bereizlea erabiliz. Zubi mota honen

propietate estereokimikoak erantzun kirala ez ezik, elkarrekintza exzitoniko intramolekularrak ere arautzen ditu, zeinek bis-BODIPYen propietate espektroskopikoak eta laser funtzioak aldi berean kontrolatzen dituen.

- 5. Kapituluak; azkenik, energia transferentzia prozesuak paira ditzaketen koloratzaile desberdinak egitura molekular bakar batean konbinatu dira banda zabalak dituzten argi biltzaile eta espektro elektromagnetikoko eremu gorrian igorleak diren laser gisa aplikatzeko. Honetarako hurbilketa ezberdinak ikertu dira. Lehenik, kumarinen bitartez dekoratutako perileno gorri energia hartzailea eremu urdin eta berdean igorleak diren eta energia emaile gisa diharduten BODIPYekin lotu da. Bigarrenik, 2. Kapitulan deskribatutako aza-BODIPYak eremu berdean igortzen duten energia emaile BODIPYekin lotu dira. Azkenik, bakarrik BODIPYetan oinarritutako energia emaile eta hartzaile ugari dituzten koloratzaile multikromoforikoak aztertu dira. Multzo molekular honen egitura molekularrak (bereizlea eta loturen posizioa) propietate fotofisikoetan duen eraginean arreta berezia ipini dugu.

Amaieran, ondorio orokorrak eta etorkizuneko ikuspegiak tesi honetatik eratorritako artikulua argitaratuekin (eranskina) batera aurkezten ditugu.

Bibliografia

- [1] Rasmussen, S. C.; *Chemical Technology in Antiquity*, American Chemical Society, Washington, DC, 1st Ed., 7, 197-217, **2015**.
- [2] Barnett, J. R.; Miller, S.; Pearce, E.; *Opt. Laser. Technol.*, **2006**, 38, 445-453.
- [3] Plater, M. J.; *J. Chem. Res.*, **2015**, 39, 251-259.
- [4] Hunger, K.; *Industrial Dyes: Chemistry, Properties and Applications*, WILEY-VCH, Weinheim, 1st Ed., **2003**.
- [5] Waring, D. R.; Hallas, G.; *The Chemistry and Application of Dyes*, Plenum Press, New York, 1st Ed., **1990**.
- [6] Batchelor, S. N.; *Color. Technol.*, **2015**, 131, 81-93.
- [7] Golshan, M.; Rostami-Tapeh-Esmail, E.; Salami-Kalajahi, M.; Roghani-Mamaqani, H.; *Eur. Polym. J.*, **2020**, 137, 109933.
- [8] Umezawa, K.; Citterio, D.; Suzuki, K.; *Anal. Sci.*, **2014**, 30, 327-349.
- [9] Baroncini, M.; Silvi, S.; Credi, A.; *Chem. Rev.*, **2020**, 120, 200-268.
- [10] Bushuyev, O. S.; Aizawa, M.; Shishido, A.; Barrett, C. J.; *Macromol. Rapid. Commun.*, **2018**, 39, 1700253.
- [11] Levi, L.; Müller, T. J. J.; *Chem. Soc. Rev.*, **2016**, 45, 2825-2846.
- [12] de Moliner, F.; Kielland, N.; Lavilla, R.; Vendrell, M.; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2017**, 56, 3758-3769.
- [13] Lewars, E. G.; *Computational Chemistry*, Springer, New York, 3rd Ed., **2016**.
- [14] McArdle, S.; Endo, S.; Apuru-Guzik, Al.; Benjamin, S. C.; Yuan, X.; *Rev. Mod. Phys.*, **2020**, 92, 015003.
- [15] Hell, S.W.; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2015**, 54, 8054-8066.
- [16] Betzig, E.; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2015**, 54, 8034-8053.
- [17] Moerner, W. E.; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2015**, 54, 8067-8093.
- [18] <https://www.picoquant.com/applications/category/life-science/sted>
- [19] Davis, L. D.; Raines, R. T.; *ACS Chem. Biol.*, **2014**, 9, 855-866.
- [20] Lakowicz, J. R.; *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Springer, New York, 3rd Ed., **2006**.
- [21] Silfvast, W. T.; *Laser Fundamentals*, Cambridge University Press, Cambridge, 2nd Ed., **2004**.
- [22] Lawrence, J.; *Advances in Laser Materials Processing*, Elsevier, Amsterdam, 2nd Ed., **2017**.
- [23] Cheng, Y. C.; Fan, X.; *Adv. Optical Mater.*, **2019**, 7, 1900377.
- [24] Schäfer, F. P.; *Dye Lasers*, Springer, New York, 1st Ed., **1990**.
- [25] Duarte, F. J.; *Tunable Laser Applications*, CRC Press, Boca Raton, 3rd Ed., **2017**.
- [26] Kuehne, A. J. C.; Gather, M. C.; *Chem. Rev.*, **2016**, 116, 12823-12864.
- [27] <https://www.radiant-dyes.com/index.php/products/laser-dyes/list-of-laser-dyes>
- [28] Yin, J.; Ma, Y.; Li, G.; Peng, M.; Lin, W.; *Coord. Chem. Rev.*, **2020**, 412, 213257.
- [29] Terai, T.; Nagano, T.; *Eur. J. Physiol.*, **2013**, 465, 347-359.
- [30] Wu, X.; Shi, W.; Li, X.; Ma, H.; *Acc. Chem. Res.*, **2019**, 52, 1892-1904.
- [31] Dong, Y.; Chen, Z.; Hou, M.; Qi, L.; Yan, C.; Lu, X.; Liu, R.; Xu, Y.; *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, **2020**, 224, 117456.
- [32] <https://www.nikonsmallworld.com/galleries/2004photomicrographycompetition/differentiating-neuronal-cells-actin-microtubules-and-dna>
- [33] Wu, D.; Sedgwick, A.C.; Gunnlaugsson, T.; Akkaya, E.U.; Yoon, J.; James, T.D.; *Chem. Soc. Rev.*, **2017**, 46, 7105-7123.
- [34] Chilakamarthi, U.; Giribabu, L.; *Chem. Rec.*, **2017**, 17, 775-802.
- [35] Ogilby, P. R.; *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, 39, 3181-3209.
- [36] Dougherty, T. J.; Gomer, C. J.; Henderson, B. W.; Jori, G.; Kessel, D.; Korbelik, M.; Moan, J.; Peng, Q.; *J. Natl. Cancer Inst.*, **1998**, 90, 889-905.
- [37] Dolmans, D. E.; Fukumura, D.; Jain, R. K.; *Nat. Rev. Cancer*, **2003**, 3, 380-387.

- [38] Yamaguchi, M.; Lee, K. H.; Araki, K.; Kojima, N.; *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **2018**, *51*, 133002.
- [39] Sharma, K.; Sharma, V.; Sharma, S. S.; *Nanoscale Res. Lett.*, **2018**, *13*, 381.
- [40] Tummeltshammer, C.; Portnoi, M.; Mitchell, S. A.; Lee, A. T.; Kenyon, A. J.; Tabor, A. B.; Papakonstantinou, I.; *Nano Energy*, **2017**, *32*, 263-270.
- [41] Yeh, N.; Yeh, P.; *Renew. Sust. Energ. Rev.*, **2013**, *21*, 421-431.
- [42] Tamai, Y.; *Polym. J.*, **2020**, *52*, 691-700.
- [43] <https://www.gamry.com/application-notes/physechem/dssc-dye-sensitized-solar-cells>
- [44] Treibs, A.; Kreuzer, F. H.; *Justus Liebig's Ann. Chem.*, **1968**, *718*, 208-223.
- [45] Ulrich, G.; Ziesel, R.; Harriman, A.; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, *47*, 1184-1201.
- [46] Loudet, A.; Burgess, K.; *Chem. Rev.*, **2007**, *107*, 4891-4932.
- [47] Ziesel, R.; Ulrich, G.; Harriman, A.; *New J. Chem.*, **2007**, *31*, 496-501.
- [48] Bañuelos, J.; *Chem. Rec.*, **2016**, *16*, 335-348.
- [49] Ahmad, M.; King, T. A.; Ko, D. K.; Cha, B. H.; Lee, J.; *Opt. Comm.*, **2002**, *203*, 327-334.
- [50] Goorman, A. A.; Hamblett, I.; King, T. A.; Rahn, M. D.; *J. Photochem. Photobiol. A.*, **2000**, *130*, 127-132.
- [51] López-Arbeloa, F.; López-Arbeloa, T.; López-Arbeloa, I.; *J. Photochem. Photobiol. A.*, **1999**, *121*, 177-182.
- [52] Boens, N.; Verbelen, B.; Ortiz, M. J.; Jiao, L.; Dehaen, W.; *Coord. Chem. Rev.*, **2019**, *399*, 213024.
- [53] Lakshmi, V.; Sharma, R.; Ravikanth, M.; *Rep. Org. Chem.*, **2016**, *6*, 1-24.
- [54] Clarke, R. G.; Hall, M. J.; *Advances in Heterocyclic Chemistry, Recent Development in the synthesis of BODIPY Dyes*, Elsevier, Cambridge, 1st Ed., 128, **2019**.
- [55] Jean-Gérard, L.; Vasseur, W.; Scherniniski, F.; Andrioletti, B.; *Chem. Commun.*, **2018**, *54*, 12914-12929.
- [56] Boens, N.; Verbelen, B.; Dehaen, W.; *Eur. J. Org. Chem.*, **2015**, 6577-6595.
- [57] López-Arbeloa, F.; Bañuelos, J.; Martínez, V.; Arbeloa, T.; López-Arbeloa, I.; *Int. Rev. Phys. Chem.*, **2005**, *24*, 339-374.
- [58] Yousaf, M.; Zarate, X.; Schott, E.; Lough, A. J.; Koivisto, B. D.; *RSC Adv.*, **2018**, *8*, 28533-28537.
- [59] Poddar, M.; Misra, R.; *Coord. Chem. Rev.*, **2020**, *421*, 213462.
- [60] Wu, D.; Sedgwick, A. C.; Gunnlaugsson, T.; Akkaya, E. U.; Yoon, J.; James, T. D.; *Chem. Soc. Rev.*, **2017**, *46*, 7105-7123.
- [61] Kowada, T.; Maeda, H.; Kikuchi, K.; *Chem. Soc. Rev.*, **2015**, *44*, 4953-4972.
- [62] Ivaniuk, K.; Pidluzhna, A.; Stakhira, P.; Baryshnikov, G. V.; Kovtun, Y. P.; Hotra, Z.; Minaev, B. F.; Agren, H.; *Dyes Pigm.*, **2020**, *175*, 108123.
- [63] Turksoy, A.; Yildiz, D.; Akkaya, E. U.; *Coord. Chem. Rev.*, **2019**, *379*, 47-64.
- [64] Prieto-Montero, R.; Prieto-Castañeda, A.; Sola-Llano, R.; Agarrabeitia, A. R.; García-Fresnadillo, D.; López-Arbeloa, I.; Villanueva, A.; Ortiz, M. J.; de la Moya, S.; Martínez-Martínez, V.; *Photochem. Photobiol.*, **2020**, *96*, 458-477.

Metodologia eta Teknika Esperimentalak

Atal honetan laginen prestaketa eta euren izaera fotonikoa erregistratzeko eta ulertzeko erabili diren teknika espektroskopiko desberdinak eta teknika elektrokimikoak kalkulu konputazionalekin batera zehazten dira.

Dokotore-tesian aztertu diren koloratzaile organikoen sintesia arlo horretan espezializatuak diren talde ezberdinek burutu dituzte (aurrerago zehaztuko direnak). Era berean, laser karakterizazioa Prof. Inmaculada García Morenoren (Instituto de Física-Química "Rocasolano", IQFR-CSIC, Madril) ikerketa taldeak aurrera eraman du, uhin-luzera altuetan argia igortzen duten koloratzaileen kasuan izan ezik (aurrerago azalduko da). Honi dagokionez, Luis Cerdán (IQFR-CSIC) doktoreari eskerrak eman behar dizkiogu laserraren instalazioaren muntaketan eskeinitako laguntza teknikoagatik. Hortaz, tesi honetan aurrera eraman den ikerkuntza lana batez ere karakterizazio espektroskopikoarekin eta kalkulu teorikoekin lotuta dago, ikerkuntza talde desberdinen kolaborazioarekin.

I. KOLORATZAILEAK ETA LAGINEN PRESTAKETA

Memoria guztian zehar ezagutzera eman diren BODIPY kromoforo guztiak berritzaileak eta lehenengo aldiz argitaratuak izan dira. Euren sintesi organikorako adituak diren ikerkuntza-talde ezberdinekin lan egin dugu: Mexikotik, Guanajuato Unibertsitateko Prof. Eduardo Peñak, Madriletik, Complutense Unibertsitateko (UCM) Prof. M^a Jose Ortiz eta Prof. Santiago de la Moya eta Kimika Organiko Orokorreko Institutuko (IQOG-CSIC) Prof. Cristobal López eta José Luis Chiara doktoreak osatzen dituzten taldeekin, hain zuzen ere. Kapitulu bakoitzean ikertutako BODIPYen egiturak zehazten dira eta prozesu sintetiko bakoitzaren xehetasunak atxikitutako artikuluetan azaltzen dira.

Ezaugarri fotofisikoak disoluzio diluituetan ($2 \cdot 10^{-6}$ M ingurukoak) erregistratu ziren barneko iragazketa edo birabsortzioa/berrigorpena eta agregazio prozesu posibleak ekiditeko^[1-3]. Lagin solidoaren 1 mg pisatu zen, SECURA125-1S motako Sartorius balantza analitikoa (± 0.01 mg) erabiliz, eta 10 mL azetonatan disolbatu zen 10^{-4} M inguruko disoluzio kontzentratua (disoluzio ama) lortuz. Ondoren, tarteko disoluzio bat prestatu zen diluzio egokiaren bitartez eta $2 \cdot 10^{-5}$ M inguruko disoluzioa lortu zen. Koloratzailearen azken disoluzio diluitua lortzeko tarteko disoluziotik bolumen egokia (1 mL ingurukoa) 25 mL-ko matrazera eramanez ostean, N₂ likidoa erabiliz azetona hutsean lurrundu zen eta matrazea dagokion disolbatzaile egokiarekin parekatu zen. Kontzentrazioaren eragina aztertu den kasuan, disoluzio kontzentratutik abiatuz diluzio ezberdinak prestatu ziren zegoen disolbatzailea erabiliz.

Laser-igorpena eta -eraginkortasunerako, ordea, etil azetatoan disoluzio kontzentratuak prestatu ziren, kontzentratuenetik (1 mM) hasita diluzio desberdinak (0.1 mM arte 0.25 mM-ka) prestatuz. Behin kontzentrazio eraginkorra zein den dakigularik, horixe bera erabili zen laser-fotoegonkortasuna aztertzeko (30 μ L). Disolbatzaile organiko guztiak maila espektroskopikoak ziren (Merck edo Scharlau) eta erabilitako ura desionizatu eta destilatu zen.

II. TEKNIKA ESPERIMENTALAK

Ingurune desberdinetan aztertutako koloratzaileen karakterizazioa teknika espektroskopikoen bitartez aurrera eraman zen. Horretarako, UV-Vis argiko absortzio eta igorpen fluoreszenteke espektrofotometroekin (egoera geldikorrean zein denborarekiko korrelazioan) lan egin zen. Horrela disoluzio diluituen (2 μM) espektroak erregistratu ziren 1 cm bide-optikoko kuartzoko kubetak erabiliz eta 20-25 °C tarteko tenperaturatan lan eginez. Disoluzio kontzentratuen propietate espektroskopikoak kubeta estuagoak erabiliz aurrera eraman zen (0.1 cm-tatik 0.001 cm-tara) disoluzio diluituen dentsitate optiko berdina mantentzeko. Gainera, birabsortzio eta berrigorpen nahi gabeko fenomenoak are gehiago minimizatzeko espektro fluoreszenteak aurrez aurreko konfigurazioan (*front-face*) erregistratu ziren, ohiko angelu zuzenean neurtu beharrean.

Ultramore-ikusgai argiko absortzio-espektroskopia

Absortzio espektroak izpi bikotzeko Varian UV-Vis espektrofotometroarekin (Cary 4E modeloa) erregistratu ziren. Espektrofotometroak lanpara halogeno bat (ikusgai eremua) eta deuteriozko (UV eremua) beste bat ditu, 350 nm-ko eremuan automatikoki trukagarriak direnak. Era berean, 1200 lerro/mm eta ± 0.1 nm-ko bereizmena duen difrakzio-sareko monokromagailu bikoitza eta detektagailu moduan Hamamatsu R928 fotobiderkatzailea ditu. Neurketak 0.5 nm-ko bereizmen espektralarekin eta 0.1 s-ko integrazio denborarekin egin ziren, 300 nm/min-ko ekorketa abiadura lortuz.

Absortzioaren neurketa experimentalak absortzio molar koefizientea (ϵ), absortzio probabilitatearen neurri bat dena, kalkulatzeko ahalbidetzen du Beer-Lambert legeari jarraituz. Honetarako, laginaren absortzio maximoa (A), laginaren kontzentrazioa (c) eta erradiazioaren bide optikoaren ibilbidea kubetatik zehar (1 cm) ezagunak izan behar dira (1. Ekuazioa).

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

Fluoreszentzia-espektroskopia

Lagina kitzikatu ostean, igorritako intentsitatea angelu zuzenean neurtuz fluoreszentzia lortzen da disoluzio diluituen kasuan. Disoluzio kontzentratuak, ordea, aurrez aurreko konfigurazioan erregistratu ziren. Fluoreszentzia eta kitzikapen espektroak FLSP920 modeloko Edinburgh Instruments espektrofluorimetroa erabiliz lortu ziren. Fluorimetroa honako atalez osatuta dago: 1) Xe lanpara (450 W); 2) monokromagailu bikoitza kitzikapenean zein igorpenean uhin-luzeraren bereizmena hobetzeko; eta 3) Hamamatsu R928-P fotobiderkatzaile detektagailua, zein uhin-luzera altuekiko oso sentikorra den. Azken honek Peltier bat darama, elektronikoki hozteaz gain, atzeko zarata murriztu eta seinale/zarata erlazioa hobetzen duena. Igorpen espektroak 300 nm/min-ko ekorketa abiadura eta $\pm 0,5$ nm-ko bereizmenarekin erregistratu ziren. Era berean, espektroak instrumentuak uhin-luzera bakoitzarekiko duen sentikortasunaren arabera zuzendu ziren.

Zuzendutako fluoreszentzia espektroetatik abiatuz eta erreferentzia gisa koloratzaile komertzial (Exciton, laser mailakoak) egokia erabiliz (ikus kasu bakoitzerako memoriaren amaieran erantsitako artikuluen atal esperimentalak), etekin kuantiko fluoreszenteak (ϕ) determinatu ziren. Horretarako, erreferentzia eta laginaren fluoreszentzia espektroak baldintza berdinetan neurtzea ezinbestekoa da. Etekin kuantikoa kalkulatzeko bai laginaren zein erreferentziaren (ref azpiindizea) igorpen espektroen kurba azpiko azalera (E_f) eta kitzikapen uhin-luzeran absorbatutako argiaren intentsitatea (A) beharrezkoak dira. Lagina eta erreferentzia disolbatzaile desberdinetan neurtzen badira, errefrakzio indizeak kontuan harturik (η) zuzenketa faktore bat sartu behar da (2. Ekuzioa)^[1].

$$\phi = \phi^{ref} \cdot \frac{E_{fl}}{E_{fl}^{ref}} \cdot \frac{1 - 10^{-A^{ref}}}{1 - 10^{-A}} \cdot \frac{\eta^2}{\eta_{ref}^2} \quad (2)$$

Bestalde, koloratzailearen kontzentrazioa 10^{-6} M baino altuagoa denean etekin kuantikoaren balio absolutua neurtzen da espektrofluorimetoan akopla daitekeen esfera integratzaile baten bitartez eta disolbatzailea erreferentzia moduan erabiliz.

Antena molekularretan, aldiz, hartzaile (A) eta emailearen (D) arteko energia transferentziaren etekina kalkulatzeko emailearen ahalmen fluoreszentearen galeraren

bitartez kalkulatzen da, bere etekin kuantikoa aske dagoenean (ϕ_D^0) eta behin hartzailera kobalenteke lotu denean (ϕ_D) (3. Ekuazioa).

$$\phi_{EET} = 1 - \frac{\phi_D}{\phi_D^0} \quad (3)$$

Denborarekiko korrelazioa duen fotoi-kontagailua

Egoera kitzikatuaren bizitza-denbora (τ) lagina kitzikatu ostean igorpen intentsitatearen galera denborarekiko aintzat haurturik neurtu zen. Desaktibazio fluoreszentearen kurbak denborarekiko korrelazioan dagoen Edinburgh Instruments (FLSP920 modeloa) fotoi-kontagailu kuantikoarekin (*Time-Related Single Photon Counting*, TC-SPC) erregistratu ziren (espektrofluorimetroan bertan akoplatuta). Instrumentu honen denbora bereizmena pikosegundukoa (100-120 ps) da. Kitzikapena sintonizagarria eta pultsuzko (10 MHz-tako maiztasun pultsua) Fianium laser baten bitartez burutzen zen bitartean, igorpenaren monitorizazioa fluoreszentzia espektroaren maximoan aurrera eramane zen.

Fotoi kontagailuak bizitza-denbora determinatzeko laserraren pultsuak lagina kitzikatzen duenetik (*start* seinalea) igorritako lehenengo fotoia detektagailura heltzen den arte (*stop* seinalea) igarotako denbora neurtzen du. Denboraren neurketa *start* seinaletik detektagailuak *stop* seinalea bidaltzen duenera arte sortzen den potentzial elektrikoaren diferentziaren bitartez egiten da. Honen ostean, tentsio honen anplitudea igarotako denborarekin lotzen da denbora-anplitude bihurtgailu (*Time-to-Amplitude Converter*, TAC) bati esker eta konta baten moduan gordetzen da. Multikanala den detektagailua erabiltzeak fotoi bat baino gehiago (edo konta bat baino gehiago) aldi berean neurtzea ahalbidetzen du, izan ere, kanal bakoitzak tentsioaren anplitude bati dagokio. Prozesu honen errepikapenaren bitartez kanalen arabera (sortutako tentsioarekiko proportzionala, hau da, *start* eta *stop* seinaleen artean igarotako denbora) konten histograma (detektatutako fotoi kopuruarekiko proportzionala) lortzen da^[4-5]. Modu honetan lortzen den kurbaren jaitsiera gordetako konten %2a baino ez da, jada gordetako konten pilaketa ekiditeko.

Fluoreszentzia desaktibazioaren kurba hauek uhin-luzera maximoan gehienez 10.000 konta izan arte lortu ziren. Kitzikapen iturriaren eragina ezabatzeko, barreiatzaile (Ludoxeko suspentsio koloidala, *scatter*) baten bitartez kitzikapenaren erradiazioa neurtu

zen, zeinek 90°tan kitzikapen argia detektatzea ahalbidetzen duen. Bizitza-denbora balioak jaitziera kurbaren doiketa esponentzial batekin lortu ziren (4. Ekuazioa). Aurretik aipatutako laserraren seinalea ezabatzeko, doiketa hau aurretik Marquardt algoritmoaren bidez dekonboluzionatua izan zen.

$$Fit = A \cdot B_1 \cdot e^{-\frac{t}{\tau_1}} + B_2 \cdot e^{-\frac{t}{\tau_2}} + B_3 \cdot e^{-\frac{t}{\tau_3}} + B_4 \cdot e^{-\frac{t}{\tau_4}} \quad (4)$$

Formula horren arabera, B_i esponentzial bakoitzaren pisu estatistikoa kontrolatzen duen faktore preesponentziala da eta τ_i malda esponentzial bakoitzari dagokion bizitza-denbora.

Doiketa ontzat emateko chi-square ($\chi^2 < 1.3$) parametro estatistikoa eta kontu esperimentalak kontuan hartzen dituen hondarren analisiaren banaketa erabili ziren irizpide moduan^[6-8]. Azken banaketa hau begi-bistaz ikus daiteke. Chi-square definitzeko ν maila askea, $R(t_i)$ kalkuluen desbideratzea eta $R_c(t_i)$ erantzun esperimentalaren desbideratzea beharrezkoak dira (5. Ekuazioa).

$$\chi^2 = \frac{1}{\nu} \cdot \sum \left[\frac{R(t_i) - R_c(t_i)}{R(t_i)} \right]^2 \quad (5)$$

Desaktibazio erradiatzailearen abiadura konstantea (k_{fl}) eta abiadura konstante ez-erradiatzailea (k_{nr}) etekin kuantikoaren balioa eta bizitza denboraren balioa kontuan harturik kalkulatu ziren (6. eta 7. Ekuazioak).

$$K_{fl} = \frac{\phi}{\tau} \quad (6) \quad K_{nr} = \frac{1 - \phi}{\tau} \quad (7)$$

Oxigeno singletearen neurketak

Fotoinduzitutako 1O_2 sorkuntza 1276 nm-ko lumineszentziaren (fosforeszentzia) neurketa zuzenaren bidez egin zen aurreko espektrofluorimetroan NIR deteketagailu baten integrazioarekin batera (InGaAs deteketagailua, Hammatsu G8605-23). Honetarako tenperatura baxuak (77K arte) beharrezkoak dira eta nitrogeno likidoz hoztutako kriostatua erabiltzen da (Optisa DN), tenperatura kanpo-kontrolatzaile elektronikoko baten bitartez egiaztatuz (ITC 601 Oxford Instruments). Igorpen seinalearen intentsitate baxuak

direla eta, zirrikituak euren osotasunean ireki ziren, integrazio denbora handitu zen eta 5 espektroren pilaketaren batez bestekoa egin zen.

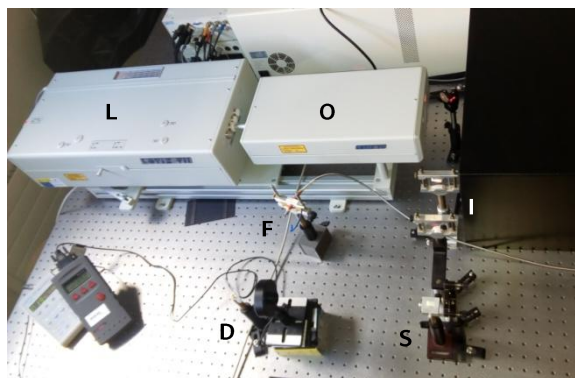
$^1\text{O}_2$ seinalea aurrez aurreko konfigurazioan erregistratu zen (*front-face*) 1 cm-tako kubetetan, kitzikapen eta igorpen izpiekiko 40° eta 50° angeluak osatzen zituztelarik, hurrenez hurren eta intzidentzia eta erregistro norabideek osatutako planoarekiko 30° -tako angelua osatzen zutelarik. Fluoreszentziaren eragina kentzeko seinalea 850 nm-ko *cut-off* baten bitartez iragazi zen. $^1\text{O}_2$ sorkuntzaren etekin kuantikoa (ϕ_Δ) hurrengo ekuazioa erabiliz kalkulatu zen (8. Ekuazioa):

$$\phi_\Delta = \phi_\Delta^r \cdot (\alpha^r / \alpha^{Ps}) \cdot (Se^{Ps} / Se^r) \quad (8)$$

non ϕ_Δ^r erreferentziarako $^1\text{O}_2$ sorkuntzaren etekin kuantikoa den, α faktoreak laginak (α^{Ps}) eta erreferentziak (α^r) absorbatutako fotoi kopuruaren diferentzia zuzentzen duen ($\alpha = 1 - 10^{-Abs}$), eta Se faktorea laginaren (Se^{Ps}) zein erreferentziaren (Se^r) $^1\text{O}_2$ seinale fosforeszentearen intentsitatea den 1276 nm-an. Erreferentzia moduan fenalenona erabili zen eremu ikusgai kitzikatuz (510 nm), non $^1\text{O}_2$ sorkuntzaren etekin kuantikoaren balioak 0.98 eta 0.92 diren kloroformoan^[9] eta toluenoan^[10], hurrenez hurren. $^1\text{O}_2$ sorkuntzaren etekin kuantikoaren balioa lortzeko 10^{-6} M eta 10^{-5} M tarteko 5 kontzentrazioren batez bestekoa egin zen.

Laser-popietateen neurketak

Konposatuen laser-eraginkortasuna determinatzeko euren disoluzioak etil azetatoan neurtu ziren 1 cm bide-optikoko kuartzoko kubetak erabiliz eta behar bezala instalita neurketa prozesuan lurrunketa arazoak saihesteko. Disoluzio likidoak zeharka ponpatuak izan ziren Nd:YAG laserra (Lotis TII 2134) erabiliz euren absortzio maximoaren uhin-luzeran eta 1 Hz-tako errepikapen abiadurarekin^[11]. Ponpaketaren uhin-luzera laserraren hirugarren harmonikora (355 nm) akoplatutako osziladore parametrikoko optikoari esker (*Optical Parametric Oscillator*, OPO) lortu zen. Kitzikapen pultsuak kubetara bideratzeko perpendikularki kokatutako leiar zilindriko positibo eta negatiboen konbinazioa ($f = 15$ cm eta $f = -15$ cm, hurrenez hurren) erabili zen. Oszilazio-barrunbea (2 cm-tako luzera) kitzikapen-iturriarekiko paraleloki kokatuta dago eta bere %90a atzeko islatzaile moduan lan egiten duen aluminiozko ispilu batez osatuta dago, alboko aldeak irteerako akoplagailu moduan (%4 islapena) lan egiten duen bitartean. Ponpaketa eta irteera energiak Ophir detektagailu baten bidez neurtu ziren (8. Irudia).



8. Irudia. Laser neurketak aurrera eramateko muntaketa: L, Nd:YAG laserra; O, uhin-luzera aukeratzeko OPO sistema; I, leiarrak; S, kubeta kokatzeko euskarria; D, energia neurtzeko detektagailua; F, fotoegonkortasuna neurtzeko zuntz-optikoa.

Era berean, koloratzaileen fotoegonkortasuna ebaluatzeko laser-eraginkortasuna neurtzeko erabiltzen den muntaketa berdinaz baliatu ginen. Erabilitako kubetak kuartzozkoak ziren, baina 0.1 cm-tako bide-optikoa (euskarri berezi batean kokatuta) kitzikatua izan behar den disoluzioaren gutxieneko bolumena edukitzeko ($V_S = 30 \mu\text{L}$). Alboko aldeak opaku bihurtu ziren laser-ozilaziorik ez izateko. Hala ere, laserraren bidez induzitutako fluoreszentzia (*Laser-Induced Fluorescence*, LIF) intentsitatearen murrizketa monitorizatuz fotoegonkortasun inguruko informazioa lortu daiteke. Lagina eta baldintza esperimentalak edozein direla ere, emaitzen konparazioa egiteko fotoegonkortasuna sistemak absorbatutako eta metatutako ponpaketa energia moduan definitu zen (E_{dose}), koloratzailearen molekula bakoitzeko, irteerako energia hasierako balioaren %90ra arte jaitsi baino lehen. Parametro esperimentalei dagokienez, energia hau hurrengo ekuazioaren (9) arabera adierazi daiteke, GJ/mol-eko:

$$E_{\text{dose}}^{\%90} (\text{GJ} \cdot \text{mol}^{-1}) = \frac{E_{\text{ponpaketa}} (\text{GJ}) \cdot (1 - 10^{-\varepsilon CL}) \cdot \sum_{\# \text{pultsuak}} f}{CV_S} \quad (9)$$

non $E_{\text{ponpaketa}}$ energia den pultsuko, C kontzentrazio molarra den, ε absortzio molar koefizientea den ($\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), L kubetaren bide-optikoa den (cm), V_S disoluzioaren bolumena den (L), eta f lehenengo eta $\# \text{pultsu}$ ostean LIF intensitateen arteko erlazioa den. Ikus daitekeen moduan, $\sum f$ -ak fotodegradazioa dela eta absortzio ponpaketaren murrizketa adierazten du. Kasu honetan, saiakuntza azkarragoa izateko ponpaketa errepikapena 10 Hz-tara arte igo zen. Igorpen fluoreszentea kitzikapenarekiko perpendikularki monitorizatu zen, zuntz-optiko baten bidez elkartuz (ikusi F atala 8. Irudian) eta espektrometroan erakutsiz (Ocean Optics USB2000+), laser espektroa erregistratzeko erabili zen berdina.

Voltametria ziklikoa

Propietate elektrokimikoak voltametria ziklikoaren bidez (Metrohm Autlab) neurtu ziren hiru elektrodo dituen muntaketa erabiliz: platinozko disko (3 mm-tako diametroa) edo xafla (8 mm x 7.5 mm-tako azalera) bat lan-elektrodo moduan, platinozko kable bat kontagailu-elektrodo moduan eta Ag/AgCl erreferentziako elektrodoa. 0.1 M-eko tetrabutylamonio hexafluorofosfatozko (TBAPF₆) disoluzioa azetonitriloan disolbatuta erabili zen elektrolitoaren disolbatzaile moduan non konposatuak disolbatu ziren 0.5-1.0 mM tarteko kontzentrazioa lortu arte. Erredox potentzial guztiak ferrozeno barne estandarrarekiko irudikatu ziren. Disoluzioak argonarekin purgatu ziren eta neurketak atmosfera geldoan aurrera eramane ziren.

III. METODO KONPUTAZIONALAK

Maila mikroskopikoan atomo eta molekulen jokaera aztertzeko, kimika konputazionalan oinarritzen diren simulazio matematikoak erabiltzen dira. Lan honetan erabilitako konputazio metodoak mekanika kuantikoan oinarritzen dira, azken honek nukleo eta elektroien arteko elkarrekintzetan oinarrituz molekulak deskribatzen dituelarik. Era berean, energia nuklear minimoko antolamenduan oinarrituz geometria molekularra determinatzen du. Atal honetan metodo hauek geometrien optimizazioan, karga dentsitatearen kalkuluan, orbital molekularren (*Molecular Orbitals*, MOs) antolamenduaren bistaratzean eta pirrometenoen trantsizio elektronikoen determinazioan erabili dira, horietan guztietan disolbatzailearen efektua kontuan hartuz.

Gure BODIPY molekularren atomo kopurua kontuan hartzen badugu, dentsitate funtzionalaren teorian (*Density Functional Theory*, DFT)^[12] oinarritzen diren metodoak erabiltzea aukerarik egokiena da. Kasu honetan, Schrödinger-ren ekuazioa ebazteko, uhin-funtzioa kalkulatu gabe dentsitate elektronikoari esker energia elektronikoa determinatzen da. Gainera, DFT metodoak korrelazio elektronikoa aintzat hartzen du, Hartree-Focken oinarritutako *ab initio* metodoek ez bezala, BODIPY molekula toerikoki aztertzeko zehaztasun eta koste konputazional arteko orekarik egokiena aurkeztuz^[13].

Geometrien optimizazioa eta orbital molekularrak

Oinarrizko egoeraren geometria optimizatzeko DFT metodoa erabili zen, B3LYP (LYP, Lee, Yang eta Parr korrelazio funtzionala^[14] erabiltzen duen 3 parametroko^[15] metodo hibrido Becke) funtzionalarekin batera, izan ere DFT metodoa osatzen duten funtzional egokienetarikoa bat da atomo kopuru altuko molekularak tratatzeko eta zehaztasuna eta koste konputazionala orekatzeko. Halere, alternatiboki ω B97XD funtzionala^[16] erabili zen, sistema multikromoforikoetan batez ere. Izan ere, funtzional honek dispertsioa zuzenketa kontuan hartzen du, maila altuko elkarrekintzak dituzten sistemetan ezinbestekoa dena^[17,18].

Behin S_0 -ren geometria optimizatuz gero, egoera kitzikatuaren geometria denborarekiko menpekotasuna duen metodoa (*Time Dependent*, TD)^[19,20] erabiliz aurrera eramaten zen funtzional berdinarekin.

Oinarri moduan sistemarik ohikoena erabili zen, 6-31G (atomo bakoitzaren uhin-funtzioa definitzeko oinarrizko-funtzio gaussiarrak erabiltzen ditu, sei gaussiar barneko orbital atomikoak definitzeko, eta hiru eta bat gaussiar barne eta kanpoko balentzia-orbitalak definitzeko, hurrenez hurren)^[21]. Kalkuluaren zehaztasuna hobetzeko asmoz zenbait kasutan balentzia hirukoitzeko 6-311G^[22] oinarri hedatua ere erabili zen. Molekularen tamaina eta kalkuluaren zehaztasunaren arabera, polarizazio-funtzioei^[23] (*) eta zehaztugabeko-funtzioei^[24] (+) esker oinarria hedatu zen. Optimizazioa ontzat hartzeko maiztasunen analisiaren bitartez energia minimoak lortzen zirela egiztatu zen, geometria egoki moduan maiztasun negatiborik erakusten ez zuena hartuz.

Geometria optimizatuetatik abiatuz, molekulen karga banaketa eta momentu dipolarren analisia ChelpG metodoa erabiliz egin zen. Orbital molekularren energia eta antolamendua (*Highest Occupied Molecular Orbital*, HOMO eta *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*, LUMO) ere zehaztu ziren geometria optimizatuen koordenatuei esker.

Absortzio espektroa

Absortzio espektroa Franck-Condon trantsizioan oinarritzen da eta oinarrizko egoeratik egoera kitzikatura ematen den trantsizio bertikala da. Absortzio espektroa eta tarntsizio momentua simulatzeko berriro ere oinarrizko egoeraren geometria optimizatua hartu behar dugu abiapuntu bezala. Bi maila elektronikoren arteko trantsizio bertikal

batan ezaugarri espektralak aztertzeko TD metodoa erabili zen B3LYP edo ω B97XD funtzionalarekin batera, kasuaren arabera, eta aurreko oinarri berdinarekin, alegia. Kalkulu honek dikroismo zirkularren (*Circular Dichroism*, CD) espektroaren eta dagokion Cotton efektuaren aurreikuspena ere ahalbidetzen du.

Disolbatzailearen eragina

Kalkulu guztietan disolbatzailearen eragina kontuan hartu zen autokonsistentea den erreakzio eremuan oinarritzen den metodoa erabiliz (*Self Consistent Reaction Field*, SCRF)^[25]. Bertan, disolbatzailearen ingurunea eremu homogeneousat hartzen da eta disolbatzailean dagoen koloratzailearen kargaren arabera erantzuten du eredu polarizagarri jarraituaren bidez (*Polarizable Continuum Model*, PCM)^[26,27]. Azken honek barrunbea atomoetan zentratutako eta gainjarritako esfera moduan definitzen du. Hots, solutu eta disolbatzailearen arteko elkarrekintza orokorrak baino ez dira kontuan hartzen, disolbatzailearen konstante dielektrikoaren arabera barrunbearen gainazalean karga banaketa sartuz.

DFT zein *ab initio* kalkulu guztiak UPV/EHU-ren SGIker zerbitzuan eskuragarri dauden LINUX eta GAUSSIAN 16^[28] programak erabili ziren "ARINA" cluster informatikoan.

Bibliografia

- [1] Demas, J. N.; Crosby, G. A.; *J. Phys. Chem.*, **1971**, 75, 991-1024.
- [2] López-Arbeloa, I.; *J. Photochem.*, **1980**, 14, 97-105.
- [3] Parker, C. A.; *Photoluminescence of Solutions*, Elsevier, Amsterdam, 1st Ed., **1968**.
- [4] Demas, J. N.; *Excited State Lifetime Measurements*, Academic Press, New York, **1983**.
- [5] O'Connor, D. V.; Phillips, D.; *Time-Correlated Single Photon Counting*, Academic Press, London, **1984**.
- [6] Boens, N.; van de Zegel, M.; De Schryver, F. C.; *Chem. Phys. Lett.*, **1984**, 111, 340-346.
- [7] Favre, A.; Tyrrell, R.; Cadet, J.; *From Photophysics to Photobiology, The time-correlated single photon counting technique as a tool in photobiology*, Elsevier, Amsterdam, **1987**.
- [8] Van de Zegel, M.; Boens, N.; Daems, D.; De Schryver, F. C.; *Chem. Phys.*, **1986**, 101, 311-335.
- [9] Schmidt, R.; Tanielian, C.; Dunasbach, R.; Wolff, C.; *J. Photochem., Photobiol. A.*, **1994**, 79, 11-17.
- [10] Martí, C.; Jürgens, O.; Cuenca, O.; Casals, M.; Nonell, S.; *J. Photochem., Photobiol. A.*, **1996**, 97, 11-18.
- [11] Whinnery, J. R.; *Acc. Chem. Res.*, **1974**, 7, 225-231.
- [12] Kohn, W.; Becke, A. D.; Parr, R. G.; *J. Phys. Chem.*, **1996**, 100, 12974-12980.
- [13] Foresman, J. B.; Frisch, A.; *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods*; Gaussian, Inc., Wallingford, CT, 3rd Ed., **2015**.
- [14] Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G.; *Phys. Rev. B.*, **1988**, 37, 785-789.
- [15] Becke, A. D.; *J. Chem. Phys.*, **1996**, 104, 1040-1046.
- [16] Chai, J. D.; Head-Gordon, M.; *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2008**, 10, 6615-6620.
- [17] Brémond, É.; Savarese, M.; Su, N. Q.; Pérez-Jiménez, A. J.; Xu, X.; Sncho-Gracia, J. C.; Adamo, C.; *J. Chem. Theory Comput.*, **2016**, 12, 459-465.
- [18] Jensen, S. R.; Saha, S.; Flores-Livas, J. A.; Huhn, W.; Blum, V.; Goedecker, S.; Frediani, L.; *J. Phys. Chem. Lett.*, **2017**, 8, 1449-1457.
- [19] Wiberg, K.B.; Stratmann, R.E.; Frisch, M.J. *Chem. Phys.* **1998**, 297, 60.
- [20] Hirata, S.; Lee, T.J.; Head-Gordon, M.J. *J. Chem. Phys.* **1999**, 111, 8904.
- [21] Rassolov, V. A.; Ratner, M. A.; Pople, J. A.; Redfern, P. C.; Curtiss, L. A.; *J. Comput. Chem.*, **2001**, 22, 976-984.
- [22] Krishnan, R.; Binkley, J. S.; Seeger, R.; Pople, J. A.; *J. Chem. Phys.*, **1980**, 72, 650-654.
- [23] Frisch, M. J.; Pople, J. A.; Binkley, J. S.; *J. Chem. Phys.*, **1984**, 80, 3265-3269.
- [24] Clark, T.; Chandrasekhar, J.; Spitznagel, G. W.; von Ragué Schleyer, P.; *J. Comput. Chem.*, **1983**, 4, 294-301.
- [25] Klamt, A.; Schuurmann, G.; *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **1993**, 2, 799-805.
- [26] Tomasi, J.; Persico, M.; *Chem. Rev.* **1994**, 94, 2027-2094.
- [27] Miertus, S.; Scrocco, E.; Tomasi, J.; *Chem. Phys.* **1981**, 55, 117-129.
- [28] Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Li, X.; Caricato, M.; Marenich, A. V.; Bloino, J.; Janesko, B. G.; Gomperts, R.; Mennucci, B.; Hratchian, H. P.; Ortiz, J. V.; Izmaylov, A. F.; Sonnenberg, J. L.; Williams-Young, D.; Ding, F.; Lipparini, F.; Egidi, F.; Goings, J.; Peng, B.; Petrone, A.; Henderson, T.; Ranasinghe, D.; Zakrzewski, V. G.; Gao, J.; Rega, N.; Zheng, G.; Liang, W.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Throssell, K.; Montgomery, J. A., Jr.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M. J.; Heyd, J. J.; Brothers, E. N.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Keith, T. A.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A. P.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Millam, J. M.; Klene, M.; Adamo, C.; Cammi, R.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Farkas, O.; Foresman, J. B.; Fox, D. J.; Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2016**.

1go KAPITULUA

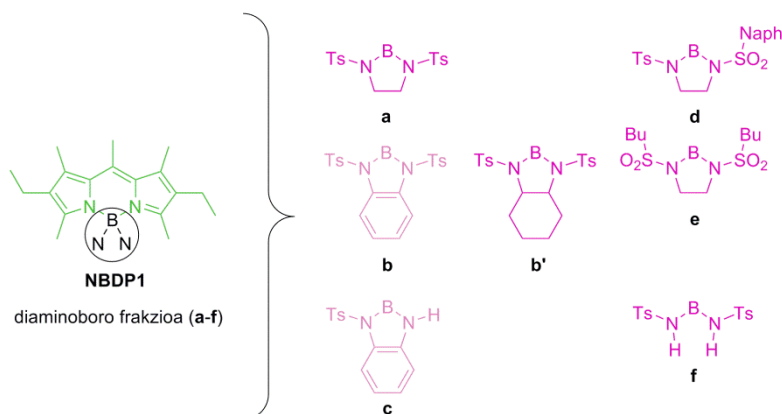
BODIPY Berrietan Oinarritutako Laser-Koloratzaileak eta Katioi Sentsoreak

Gaur egun koloratzaile fluoreszenteak dezente garatu dira eta ezinbesteko konposatu bilakatu dira argiz zuzendutako erreminta jakin askotan. Izan ere, BODIPYaren aurkikuntzak koloratzaile sintetikoen aroa goitik beher aldatu du kimika organikoari dagokionez. BODIPYaren funtzionalizazioak hamaika bide sintetikoren bitartez ustiatu egin da^[1]. Hala eta guztiz ere, BODIPYen zuzeneko funtzionalizazioa boroaren erdigunean ez da sakontasunean aztertu^[2-4], nahiz eta funtzionalizazio honek kromoforo hauek erakargarriago bihurtu^[5-8], aplikazio biologikoei begira euren disolbagarritasuna uretan hobetzea^[9] eta laser-fotoegonortasuna handitzea^[10] posible baita, zenbait aipatzearen. Boro atomoarekiko zuzeneko funtzionalizazio hau ordezkapen nukleozaleen bitartez aurrera eraman da fluor atomoak (*F*-BODIPYs) alkil eta alkoxietan oinarritutako frakzioez baliatuz, dagozkien *C*- eta *O*-BODIPYak eskuratuz, hurrenez hurren^[11-14]. Dena den, egoki lortutako deribatu berri hauen kopurua oso baxua izan da^[15]. Boro atomoak π -sistema deslokalizatuan parte hartzen ez duen arren, oso elektronegatiboak diren fluor atomoak elektroi-hartzaile ahalmen desberdinak dituzten frakzioz ordezkatzeko direnean, kromoforoaren dentistate elektronikoa erraz berrantola daiteke. Areago, erabat elektronegatiboa den atomo hau ordezkatzeko denean, koloratzaile hauen

egonkortasunean kontuan hartzeko jaitiera somatzen da. Hortaz, boro posizioan gertatzen den atomo-truke honek elektroi dentsitatea handitu eta bere Lewis azidotasuna txikitzen du, dipirreno frakzioagatik kelatua izateko ahalmena gutxiagotzen delarik.

Ozotopo hau gainditzeko, alternatiba sintetiko berriak aurrera eraman behar dira. Orain arte, batez ere, elektroieskasak diren talde funtzionalak erabili dira^[13]. Nitrogenoa boroan dauden fluor atomoak ordezkatzeko hautagai interesgarria da, bere egitura propietateak eta propietate elektronikoak oxigeno eta karbono atomoek dituzten artean daude eta. Halere, nitrogeno atomoak lotura-ezaugarri gako desberdinak erakusten ditu: erraktibotasun altuagoa, lotura-norabide ezberdinak eta balentzia lotura hobea, esate baterako. Honi esker BODIPY kromoforoaren inguruan lotu ahal diren frakzio kopurua altuagoa da. Ildo beretik jarraituz, *N*-BODIPYen kasuan, *C*- eta *O*-BODIPYen kasuan ez bezala, postfuntzionalizazio aukera gehiago sortzen dira. Azken deribatu hauek hiru ordezkataile lotuta eduki ditzakete edota laugarren bat, aldi berean propietate fotofisikoen kontrol handiago bat irabaziz. Hori dela eta, kapitulu honen bitartez zeharo elektronegatiboak diren fluor atomoak nitrogeno atomoengatik ordezkatzeko inoiz ez bezalako bide sintetiko bat ezagutzera ematen da. Sistema hauetarako sarbide sintetikoa diseinu zentzudun baten bidez erdietsi da bertan parte hartzen duen diaminoboro kelatoaren egonkortasuna orekatuz. Horrela, lehenengo aldiz kromoforo familia berria argitaratu da: *N*-BODIPYs (diaminoboro dipirrometenoak). Honi dagokionez, *N*-BODIPYen aurkikuntzak aztertu gabeko mugen inguruan aurrekaria ezartzen du, bere propietateak ez baitira inoiz aztertu eta bere potentziala auresatea zaila baita. Beraz, estrategia honek multifuntzionalizaziorako bide berritzaileak irekitzen ditu aplikazio posibleen sorta batera hedatzen delarik.

Kapitulu honetan *N*-ordezkataile patroi ezberdinekin koloratzaile sorta berri bat arrakastan handiz sintetizatu da (1.1. Irudia) egitura simetriko eta asimetrikoen (**NBDP1a** vs **NBDP1d** and **NBDP1b** vs **NBDP1c**) eta egitura zurrun-itxien eta irekien (**NBDP1a**, **NBDP1d**, **NBDP1e** vs **NBDP1f**) arteko desberdintasunak aztertuz egitura molekularra eta propietate fotofisikoen arteko elakrrekintza argitzeko asmoz. Hortaz, hurrengo ataletan, lehenengoz *N*-BODIPY hauen propietate fotofisiko eta laser-propietate ikusgarriak azalduko dira eskuragarri dagoen *F*-BODIPY (PM567) homolgoak aurkezten dituenekin konparatzen direlarik (1.1. Atala). Ostean, estrategia sintetiko honen inguruko emaitzak aztertuko dira katioiak detektatzeko koloratzaileak diseinatzearen (1.2. Atala). Informazio gehiago memoriaren amaierako I. Eranskinean **Chemistry - A European Journal** atxikitutako artikuluan aurki daiteke.



1.1. Irudia. Komertziala den PM567 koloratzailetik eratorritako N-BODIPY sorta berria (Ts = *p*-toluenosulfonil (tosil), Naph = 2-naftil, Bu = butil).

1.1. N-BODIPYak LASER-INGURUNE GISA

N-BODIPY hauek absortzio banda bat 525 nm inguruan zentratuta erakusten dute zianina sistema konjokatuan gertatzen den trantsizio elektronikoaren ondorioz, boro zubian nitrogenu atomoaren inguruan lotuta dauden talde deserdinak alde batera utzita. Fluor atomoen ordez boroaren erdialdean kokatutako eta sulfoniloz osatutako aminek absortzio banda batokromikoki arinki desplazatzen dute (10 nm baino gutxiago), profil espektrala F-BODIPY (PM567) homologoarekin konparatuz guztiz mantentzen den bitartean, bere sorbalda bibrazional esanguratsua erakusten duelarik^[16]. Orduan, π -sistema deslokalizatuaren izaerak ez du boro atomoan lotutako amina talde sulfonilatuengatik eratorritako aldaketarik jasan. Aipatutako desplazamendu espektral txiki hori zianina kromoforoan gertatzen den karga dentsitatearen berrantolaketari dagokio, elkarrekintza erresonantea baztertuz gero, aldaketa nabarmenagoak sumatu ez baitira eta boro zubiak ez baitu π -sistema deslokalizatuan parte hartzen. Absortzio propietatei dagokionez aldaketa esanguratsuak erregistratu ez diren bitartean, propietate fluoreszenteak daiminoboro zonaldeako nitrogenu atomoen inguruan aurrera eramaten diren aldaketa kimikoen menpe daude. N-BODIPY guztiek igorpen maximoa 540 nm inguruan erakusten dute espero zen joerari jarraituz eta PM567 erreferentziaren igorpen fluoreszentearekin bat etorritik. Hala ere, alde batetik **NBDP1a**, **NBDP1d**, **NBDP1e** eta **NBDP1f** koloratzaileek igorpen distiratsua dute, nahiz eta daiminoboro tosil zatia bost unitatetako eraztun zikliko baten barnean egon ala ez eta sulfonil taldeen inguruan ordezkatzaile periferikoak edozein direla ere, 0.75 baino etekin kuantiko altuagoak eta bizitza-denbora balioak PM567-koak baino altuagoak erakutsiz eta disolbatzailearen

polaritatearekiko guztiz independenteak izanik (1.1. Taula). Bestalde, **NBDP1b** eta **NBDP1c** konposatueta aipatutako eraztun ziklikoan fenilo taldeen uztarketak ontrako joera bultzatzen du eta euren seinale fluoreszentea ia hutsala da. Ondorioz, atal honetan lehenengo koloratzaile sortan arreta jarriko dugu, azken bi koloratzaileak ingurune fotoaktibo gisa baliogarriak ez diren bitartean, lehenengoek koloratzaile-laserrentzako etorkizun handiko konposatuak dirudite. **NBDP1b** eta **NBDP1c** konposatuak 1.2. Atalean aztertuko dira.

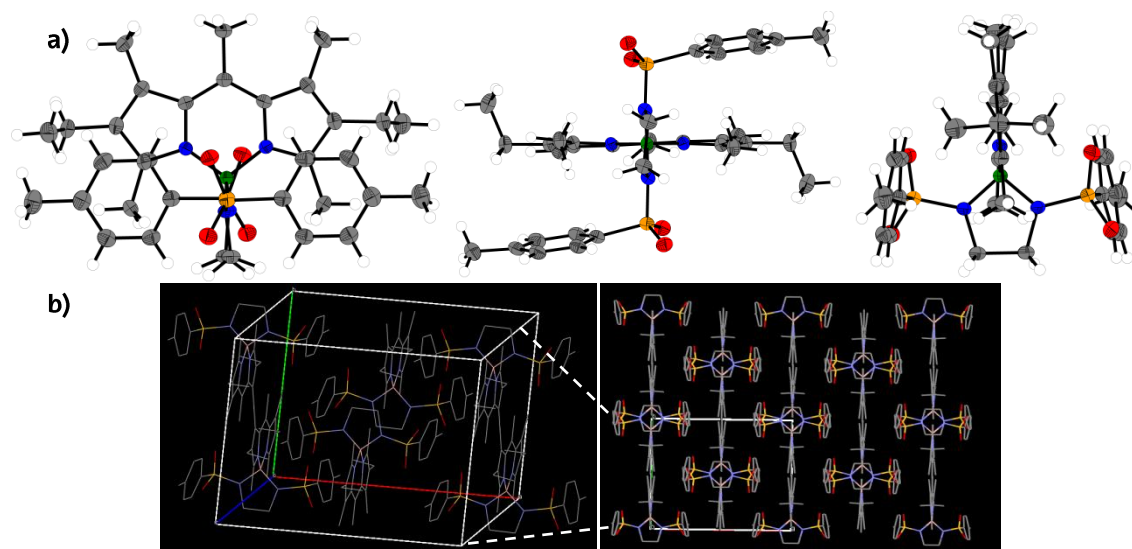
1.1. Taula. Sintetizatu berriko *N-BODIPY*en propietate fotofisikoak disolbatzaile polar/protiko (trifluoroetanol) eta apolarrago batean (etil azetatoa) disolbatuta. Konparazio gisa komertziala den PM567 konposatuaren datu fotofisikoak gehitu dira.

Koloratzailea	λ_{ab} ^{a)} [nm]	ϵ_{max} ^{b)} [10 ⁴ M ⁻¹ cm ⁻¹]	λ_{fl} ^{c)} [nm]	ϕ ^{d)}	τ ^{e)} [ns]
PM567					
Etil azetatoa	517.0	7.6	533.0	0.84	5.78
F ₃ -etanol	516.0	6.9	532.5	0.82	6.94
NBDP1a					
Etil azetatoa	526.5	6.5	543.5	0.83	7.65
F ₃ -etanol	525.0	5.9	540.0	0.80	9.53
NBDP1b					
Etil azetatoa	529.0	4.3	546.5	0.009	0.11 (%99.4)–5.84 (%0.6)
F ₃ -etanol	527.5	3.7	543.0	0.046	0.60 (%98.8)–6.99 (%1.2)
NBDP1c					
Etil azetatoa	524.5	2.5	540.5	0.004	-
F ₃ -etanol	523.5	2.0	538.0	0.131	1.95 (%65.5)–7.33 (%34.5)
NBDP1d					
Etil azetatoa	527.0	6.3	544.5	0.80	7.70
F ₃ -etanol	526.5	5.8	544.0	0.74	9.73
NBDP1e					
Etil azetatoa	523.5	5.0	540.5	0.80	7.19
F ₃ -etanol	521.5	5.8	538.5	0.77	8.99
NBDP1f					
Etil azetatoa	528.0	5.9	547.0	0.76	7.64
F ₃ -etanol	526.5	5.6	545.5	0.80	9.53

^{a)} Absortzio maximoaren uhin-luzera; ^{b)} Absortzio molar maximoaren koefizientea; ^{c)} Uhin-luzera fluoreszente maximoa; ^{d)} Etekin kuantikoa; ^{e)} Bizitza-denbora.

Diseinu ziklikoak (**NBDP1a**, **NBDP1d** and **NBDP1e**) koloratzaileen malgutasun konformazionala mugatzen du^[17], egoera kitzikatutik sortzen diren erlazazio ez-erradiatzaileen probabilitatea txikituz. Hau kontuan hartuta, baten batek ziklikoa ez den **NBDP1f** konposatuaren ahalmen fluoreszente baxuago bat esperoko luke, egiturazko malgutasun zein askatasun konformazional handiagoa baitauka^[18,19]. Hala eta guztiz ere, badirudi tosil taldearen tamaina handia eta BODIPYaren 3 eta 5 posizioako metiloek suspertutako eragozpen esterikoa nahiko direla aurretik adierazitako biraketa askea ekiditeko eta horregatik neherakada txikiagoa behatzen da (1.1. Taula). Izan ere, lau konposatu hauen geometria optimizatuak (B3LYP/6-31G*) bi tosilo zatiak dipirreno

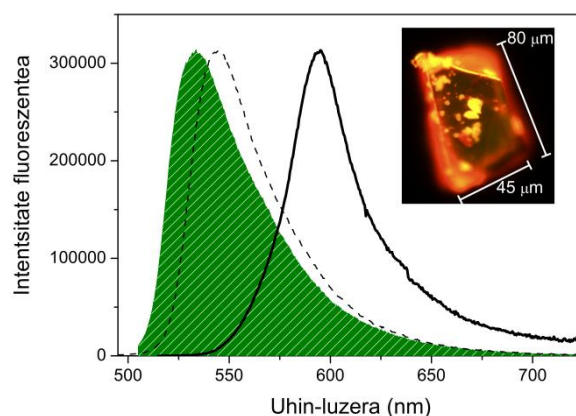
planoarekiko era ortogonal batean kokatuta daudela adierazten du, antolamendu ortogonal hau konposatu ziklikoetan bistakoa den arren. Are gehiago, antolamendu hau egoera solidoan X-izpien difrakzioak esperimentalki determinatutako geometriarekin bat dator (1.2. Irudia).



1.2. Irudia. a) Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot (ORTEP) diagrama bista ezberdinetan eta **b)** NBDP1a konposatuaren X-izpien paketatze kristalinoa (eskuina) eta auheratutako zonaldearen bista handitua (ezkerra) (orlegiz boro atomoak, urdinez nitrogenoak, gorritz oxigenoak eta laranja sufreak).

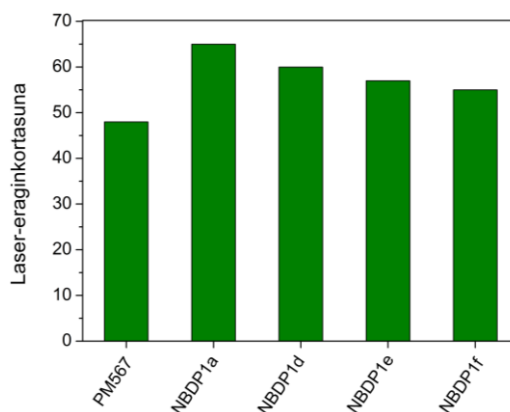
Lau konposatueta antolamendu mota honek elkarreintza kromoforikoak eta agregatuen eraketa ekiditzen du. Tosil taldeen kokapenak dipirreno zatia hegaletik babestuz, nukleo kromoforikoaren elkarreintza indartsuak saihesten ditu, π - π pilaketa bezalakoak, eta bere propietate fotofisikoak mantentzen laguntzen du egoera agregatuan egon arren. Era berean, egoera solido kristalinoan erantzun fluoreszente adierazgarria hautematea posible da (NBDP1a konposatuaren kasuan %3 inguruko etekin kuantiko absolutua versus erantzun fluoreszente hutsala komertzialen kasuan). Objektu hauen ikerketak mikroespektroskopia fluoreszentearen bitartez tamaina aldakorreko partikulak (batzuen tamainek ehunka mikrometroen luzera erakusten dutelarik) jakinarazten digu, forma angeluzuzenak eta nahiko homogeneokin eta igorpen fluoreszentearen maximoa 600 nm inguruan agertzen delarik, disolbatuta daudenekin konparatuz batokromikoki 50-60 nm desplazatuta (1.3. Irudia). Desplazamendu hau seguraski birabsortzio/berrigorpen efektu ahaltsuen presentziari dagozkie energia tranpa bezala diharduten efektu txikien existentziaz lagunduta, erregistratutako Stokes desplazamendu baxuen arabera (600 cm^{-1} ingurukoa). Egoera solidoaren erantzun fluoreszente hau egoera monomerikoaren igorpenari bakarrik atxikituta dago eta ez

forma agregatu berrien presentziari^[14, 20], dipirreno kromoforoak elkarrengandik urrun daudela aintzat hartuz (erdigune batetik besterako distantzia 10 Å baino altuagoa izanik, 1.2. Irudia ikusi) eta molekulen arteko elkarrekintza probabilitatea asko txikituz (excitonon arteko aklopamendua, esate baterako), alegia. Emaitza hau egoera solidoko laser sintonizagarrien (mikrolaserrak) garapenerako oso baliogarria da, normalean kromoforoen arteko distantzia ziurtatzeko eta laser jardueran galerak ekiditeko koloratzailea matrize solido ostalarietan sartzea beharrezkoa baita, honek berarekin dakarren ezusteko zailtasun esperimentalarekin^[21].



1.3. Irudia. NBDP1d konposatuaren esanguratsuak diren kristalen fluoreszentzia irudiak 470/40 nm-ko irradaiopean egoera solidoko fluoreszentzia espektroarekin batera (lerrolodia). Konparazio moduan disoluzioari dagokion espektroa (lerro etena) eta PM567 koloratzaile komertzialaren igorpen espektroa (orlegiz margotuta) biak etil azetatoan gehitu dira.

Lau konposatu hauek fluor atomoak daramatzen eta baliokidea den PM567 konposatuarekin konparatuz 532 nm-an (Nd:YAG laserraren bigarren harmonikoa zeina koloratzaile hauek zeharka ponpatzeko erabiltzen den) absortzio molarraren probabilitate altuagoa izatearen gertaerak, $5.0\text{-}6.0 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ versus $1.8 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, laser-koloratzaileen garapenari begira beste abantaila nabari bat gehitzen du alde batera utzi ezin dena laser igorpen-ataria gutxitzen baitu. Ildo honetatik jarraituz, **NBDP1a**, **NBDP1d**, **NBDP1e** eta **NBDP1f** konposatuek disoluzioan laser-eraginkortasun suspertua egiaztatzen dute (1.4. Irudia), 569 nm-an erakusten dutena eta ponpaketa baldintza optimoentzako beharrezkoa den koloratzaile kontzentrazioa 1.00 mM-etik 0.35 mM-era gutxiagotzen dutelarik.



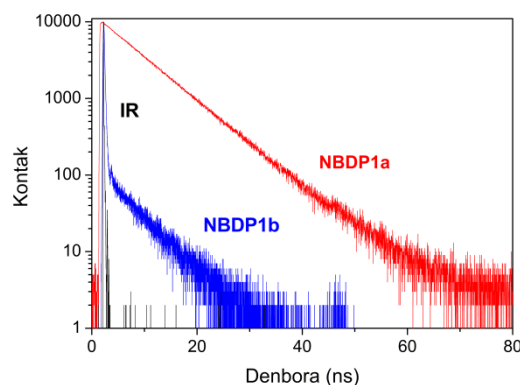
1.4. Irudia. Laser-ingurune gisa jardun dezketen N-BODIPYen laser-eraginkortasuna PM567 erreferentziarekin konparatuta.

N-BODIPY hauen balio handiko aurrerapen teknologikoa egiaztatzeko, **NBDP1a** koloratzailearen jarduera banatutako atzeraelikadura (*Distributed FeedBack*, DFB) laser gisa ikertu zen^[22]. Eginkizun honetarako, koloratzaile hau PM567 erreferentziarekin batera poli(-metil metakrilato) (PMMA) geruza bana koloratzaile honekin eta PM567 erreferentziarekin dopatu eta euren emaitzak alderatu ziren. Tresna hauek igorpen-atariatik behera ponpatu ostean, 567 nm inguruan 0.2 nm-ko zabalera zuen DFB laser-igorpena ikusi zen. Ponpaketaren intentsitatean arreta ipintzen badugu, **NBDP1a** konposatuak PM567 erreferentziak baino DFB laser igorpen-atari baxuagoa duela (17 kWcm^{-2} versus 28 kWcm^{-2}) ondorioztatzea posible da. Are gehiago, aipatutako igorpen-atariatik behera ponpatzen denean, N-BODIPYaren irteera-intentsitatean hobekuntza bikoitza erregistratzen da. Ondorioz, atal honetan sintetizatutako N-BODIPYek gaur egun komertzialak diren koloratzaileen laser tresna bezala jarduteko portaera disoluzioan zein egoera solidoan hobetzen dute.

1.2. N-BODIPYak KATIOIEN SENTSORE GISA

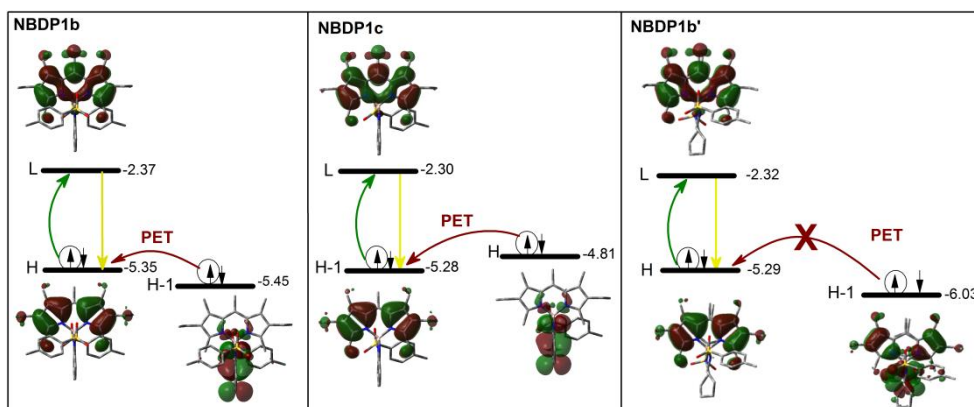
Lehen adierazi den moduan, bentzeno eraztuna diazaboraziklora fusionatzen denean (**NBDP1b** eta **NBDP1c**) propietate fluoreszenteak guztiz aldatzen dira (1.1. Taula ikusi). Nahiz eta banda espektralen posizioa nekez aldatu den, absortzio probabilitatea txikitu ez ezik, ahalmen fluoreszentea gogorki ere murriztu egin da (fluoreszentzia etekin kuantikoa %0 baliotik hurbil, 1.1. Taula). Egia esan, **NBDP1b** konposatuaren desaktibazio fluoreszentearen kurba doitzeko doikuntza bi-esponentziala beharrezkoa da (1.5. Irudia), non kontribuzio nagusia bizitza-denbora balio baxuenaren ondorioa den (100 ps inguru).

Halako joera tosilorik gabeko aminoa daraman deribatu asimetrikoaren kasuan (**NBDP1c**) nabariagoa da, absortzio probabilitatearen balio are baxuagoa ($2.0-3.0 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ artean versus $7.6 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ PM567 erreferentziaren kasuan) eta erantzun fluoreszente ia arbuigarria erakutsiz (izatez bere desaktibazio fluoreszentearen kurba neurtezina da).



1.5. Irudia. *N-BODIPY*en **NBDP1a** (gorriz) eta **NBDP1b** (urdinez) desaktibazio fluoreszenteen kurbak etil azetatoan.

Aurkikuntza hauek diaminoboro ziklora bentzeno eraztun aromatikoaren loturak ez-erradiatzailea den desaktibazio prozesu gehigarriaren baten agerpena bultzatzen duela agerian uzten du, azken hau fluoreszentiaren desagerpenaren erantzulea delarik. Ziklora fusionatzen den feniloak aminoaren arteko akoplamendu elektronikoa ahalbidetzen du boro atomoan elektroia aberatsa den talde deslokalizatua sortaraziz. Kalkulu teorikoek, hain zuzen ere, desaktibazio mekanismoa fotoien bitartez induzitutako elektroien transferentzia (*Photoinduced Electron Transfer*, PET) prozesu bati dagokiola aurreratu dute^[23]. **NBDP1c** konposatuaren kasuan, tosilorik gabeko amina talde bat duena, simulazio teorikoek HOMO orbital molekularra boro atomoari lotutako zati berrian kokatuta dagoela seinalatzen dute; tosil talde bat duen dianilina taldeari dagokion orbitala eta beteta dagoena BODIPYaren trantsizio elektronikoaren arduraduna den orbital molekular mugarren artean kokatuta dagoela, alegia (1.6. Irudia). Hortaz, kitzikapenaren ostean borora lotutako atometatik BODIPYra transferentzia elektronikoa suertatzen da, bere desaktibazio erradiatzailea saihesten delarik. **NBDP1b** konposatuaren kasuan, tosilok daramatzaten amino talde bi dituen, diaminoboro zatia elektroien emaile izaera ahulagoa dauka eta bere HOMO orbitala BODIPYari dagokion energia hutsunetik behera kokatzen du (1.6. Irudia). Energia antolamendu berri honen aurrean PET prozesua ez dago termodinamikoki hain faboratua, baina oraindik bideragarria da, HOMO (orain BODIPYan kokatuta dagoena) eta HOMO-1 (diaminoboro zatian ezarrita) orbitalen arteko energia tartea 0.1 eV-koa baita. Eragozpen energetiko hain txiki honek PET prozesua igorpen fluoreszentearekin era eraginkor batean lehiatzea ahalbidetzen du.

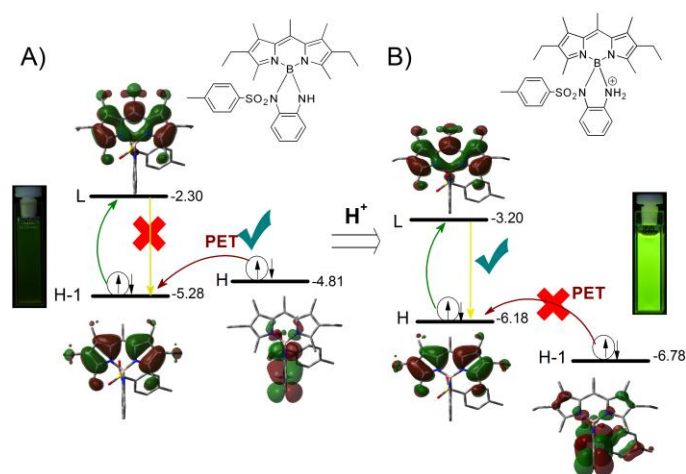


1.6. Irudia. Teorikoki auresandako (B3LYP/6-31G*) **NBDP1b**, **NBDP1b'** eta **NBDP1c** konposatuen trantsizio elektroniko nagusietan eta PET prozesuan parte hartzen duten orbital molekularren energia diagramak (eV-tan).

Azalpen hau sendotzeko asmotan, teorikoki zein esperimentalki, diaminoboro ziklora eraztun ez-aromatiko baten fusioa aztertu zen (**NBDP1b'** konposatua)^[24]. Kasu honetan, bentzeno eraztuna lotu beharrean ziklohexano unitate bat elkartu da, eta egitura aldaketa arrunt honek ahalmen fluoreszentean erabateko igoera eragiten du, ez-fluoreszentea izatetik (**NBDP1b**) oso fluoreszentea izatera, 1.1. Ataleko N-BODIPYek erakusten dituzten etekin kuntiko eta bizitza-denbora balio antzekoak erakutsiz ($\phi > 0.95$ eta $\tau > 7$ ns). Beraz, esan daiteke PET prozesuak ez duela parte hartzen, kalkulu teorikoek auresaten duten moduan ere (1.6. Irudia). **NBDP1b** fluoroforoaren bentzeno eraztunak bi diamino eta tosil taldeen arteko elkarrekintza erresonante sustatzen du, boro atomoan dagoen zatia elektroio aberats bihurtzen delarik eta, ondorioz, elektroio-emailea. Bentzenoaren ordezkapen hutsa ziklohexanoarengatik, aldiz, aminotasil taldeen arteko erresonantzia ekiditen du. Horren ondorioz, elektroio-emaile joera baxugo honek bere HOMO-1 (0.58 eV) orbitalaren energia maila nabarmenki jaisten du, BODIPYaren HOMO-LUMO orbitalen arteko energia tartean ereginik izan gabe, PET prozesua oztopatuz (salto energetikoa 0.74 eV ingurukoa) eta BODIPYaren ahalmen fluoreszentea berreskuratuz.

NBDP1b eta **NBDP1c** konposatuen seinale fluoreszente baxuaren erantzulea eta elektroio aberatsa den diaminoboro zatia katioi eta protoiekin elkarrekintzak sortzeko hartzaille moduan baliogarria izan daiteke sentsore xedeekin^[25,26], elkarrekintza horrek PET prozesuaren bideragarritasuna modula dezakeelako eta hau erantzun fluoreszentean isla daitekeelako. Izan ere, gizakian ioien detekzio azkarra, sentikorra eta ez-inbaditzailea oso interesgarria eta garrantzitsua da prozesu biokimiko ugari jarraitu eta ulertu ahal izateko^[27]. Areago, H^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} edota Fe^{2+} bezalako katioiek prozesu askotan esku hartzen dute: komunikazio mekanismoetan, aktibitate zelularren modulazioan,

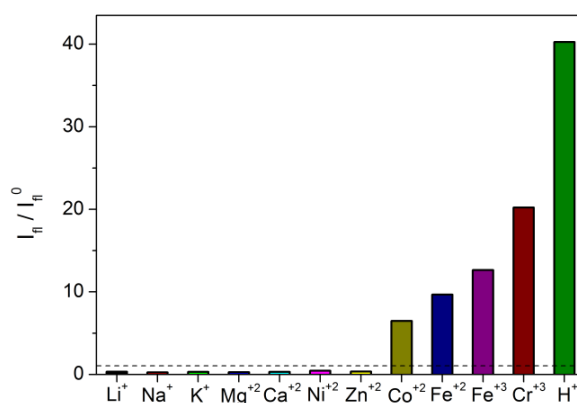
homeostasian edota metabolismo entzimatiakoan, esaterako^[25]. Argi eta garbi, katioi astunen (Hg^{2+} , Pb^{2+} eta Cd^{2+}) detekzioa ere ezinbestekoa da, gure gorputzerako kaltegarriak dira eta. Honi dagokiolarik, fluoreszentsia erraminta aproposa da informazio kimikoa (katioien presentzia eta kantitatea) informazio analitiko (seinale fluoreszentea) bilakatzeko. Hau egiaztatzeko, eragozpen esteriko gutxiago duen eta katioiei begira eskuragarriago dagoen amino talde bat daraman **NBDP1c** konposatuaren jardura sentore fluoreszente gisa teorikoki aztertu genuen. 1.7. Irudian ikusi daitezkeen moduan, tosil gabeko amino taldea protonatu ostean, PET prozesua ez da energetikoki posible. Baldintza berri honen aurrean, HOMO orbitala BODIPY nukleotik zehar kokatuta dago eta energetikoki HOMO-1 orbitaletik urrun dago (0.6 eV inguru), azken hau orain borora lotutako zatian aurkitzen delarik. Orbital molekularren berrantolaketa berri honek PET prozesua termodinamikoki bideraezin bihurtzen du eta **NBDP1c** koloratzailea on/off (katioirik eza, PET baimendua/katioien presentzia, PET deuseztatuta) etengailu potentzial bilakatzen du, igorpen fluoreszentearen igoseraren bitartez katioien detekzioarako sekulako sentorea izanez^[28,29].



1.7. Irudia. Konputazonalki kalkulaturako ($B3LYP/6-31G^*$) **NBDP1c** konposatuaren orbital molekularren energia diagramak (eV-tan) protonatu aurretik (A) eta ostean (B).

Testuinguru teoriko honetaz gain, **NBDP1c** konposatuaren erantzun fluoreszentea esperimentalki aztertu genuen katioi metaliko monovalente, dibalente eta tribalente multzo baten aurrean (koloratzaile molekula bakoitzeko 25 baliokide inguru katioi). Ekorketa honen erantzun fluoreszentea ebaluatuz gero (1.8. Irudia), batek ondoriozta dezake katioi monovalenteen presentziak, protoiaren salbuespenarekin, eta katioi dibalente batzuk (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ni^{2+} eta Zn^{2+}) igorpen fluoreszentea are gehiago txikiagotzen dutela. Gertaera hau katioi hauen gehiegizko kantitatearen ondorio izan daiteke, atomo astunaren efektu intermolekularra, talka efektuak edota karga-transferentzia

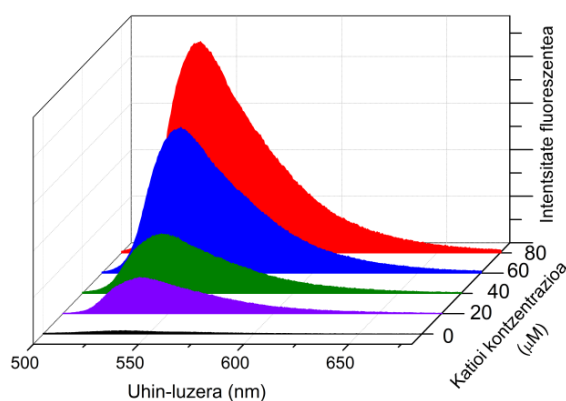
fenomenoak direla medio sistemen arteko gurutzaketa bezalako bestelako desaktibazio ez-erradiatzaile gehigarriren baten presentzia sustatzen da eta. Beraz, *N*-BODIPY honen diseinua ez da egokia katioi hauen detekziorako. Hala eta guztiz ere, protoiak eta Co^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} eta Cr^{3+} bezalako ioien gehikuntzak seinale fluoreszentearen gorakadan izugarriko eragina du (1.8. Irudia), aurretik azaldutako hipotesi teorikoa berretsiz eta fluoroforo hau aipatutako azken katioien sorta detekziorako sentsore baliogarri gisa proposatuz. Berez, katioi sorta honek amino taldeekin elkarrekintza elektrostatikoak sortzeko beharrezkoa den gutxieneko karga positiboa dauka eta PET prozesuaren bidez bultzatutako fluoreszentiaren galera ezabatzen du. Karga dentsitate hau ioi bakoitzaren solbatazio bolumenaren menpe dago. Hortaz, katioiak zenbat eta solbatazio geruza handiagoa eduki, orduan eta karga dentsitate baxuagoa suspertuko du eta hau ez da PET prozesua eliminatzeko amino zatian dauden elektroik bikote askeekin beharrezkoa den elkarrekintza elektrostatikoa sortzeko gai izango. Orduan, **NBDP1c** koloratzaileak karga dentsitate altua duten ioiekiko katioi sentsore gisa jardun dezake, baita protoi sentsore gisa ere.



1.8. Irudia. Katioia soberan bota ostean (10^{-4} M) eta katioirik gabe erregistratutako (I_f^0) intentsitate fluoreszenteen arteko erlazioa **NBDP1c** konposatuaren disoluzio diluituentzat ($4 \cdot 10^{-6}$ M).

Tritazio neurketak bere sentikortasuna aztertzeko asmoz aurrera eramán ziren (1.9. Irudia). Lan honetan egindako esperimentu guztietan; hau da, protoia, Co^{2+} edo Cr^{3+} gehitzen direnean, erantzun maximo (1 eta $4 \cdot 10^{-4}$ M artan) batera heldu arte eta kontzentrazioarekin bat etorri intentsitate fluoreszentearen mailaz mailako igoera bat ikus daiteke. Asetasun puntu hau eta gero, kontzentrazioa igotzen jarraitzen badugu, intentsitate fluoreszentea jaisten hasten da ioi metalikoen kantitate itzela dela eta, zeinek aurretik aipatutako erlaxazio ez-erradiatzaileen aktibazioa errazten duen. Nolanahi ere, sentsore honek bereziki Cr^{3+} katioien presentziarekiko sentikortasun handia erakusten du, intentsitate fluoreszentea 70 aldiz areagotzen baita. Are gehiago, katioi honetarako

erregistratutako detekzio-muga 10^{-5} M-etik behera dago, nano eskala eskuratzen delarik. Cr^{3+} katioiak aurkezten duen erantzun fluoreszente maximo berdinerara heltzeko beharrezkoa zen protoi kontzentrazio askoz altuago izan zela aipatzekoa ere bada (1.8 versus $5 \cdot 10^{-5}$ M, hurrenez hurren), **NBDP1c** koloratzailea Cr^{3+} katioiekiko protoiekiko baino sentikorragoa dela baieztatuz.



1.9. Irudia. *NBDP1c* etanol disoluzio diluituei dagokien tritazio fluoreszentsia espektroak (koloratzaile kontzentrazioa $4 \cdot 10^{-6}$ M) Cr^{3+} kontzentrazio desberdinen aurrean.

Laburbilduz, *N*-BODIPY koloratzaileak egonkortzeko tosil taldeak dituzten aminoetan oinarritutako eta elektroieskasak diren amino zatiak beharrezkoak direla egiaztatu da. Gehiago dena, boro atomoan funtzionalizazio inguruan aurrera eramaten diren egitura aldaketa txikiak erantzun fluoreszentea erabat aldatzen dute. Honi dagokionez, alde batetik, *N*-BODIPYak, ziklikoak direnak zein ez direnak, kromoforo distirasuak dira, baita egoera solido kristalinoan ere, laser-ahalmen altuak egoera likidoan zein solidoan erakusten dituztelarik (%60 laser-eraginkortasun balioak gaindituz) eta PM567 erreferentziaren laser-propietateak hobetuz. Bestalde, diaminobor zatiaren arilazioak PET prozesuaren presentzia areogotzen du, zeinek igorpen fluoreszentea guztiz deuseztatzen duen. Halere, katioiak aminora elektrostatikoki lotzen direnean, PET prozesua eliminatzen da koloratzailearen seinale fluoreszentea berreskuratzen delarik. Horiek horrela, ingurunean dauden protoi eta katioien detekziorako on-off etengailuak diseinatu dira. Beraz, guztiz argi dago boro atomoaren propietate elektronikoaren doikuntza ezinbestekoa dela fluoroforo hauen aplikazioak zabaltzeko material fotoniko aurreratuen garapenera begira, azken hauek makina bat erabilera baitute ingurumenaren monitorizazioan eta biomedikuntzan batez ere. Hala da, eta boro atomoan aminoek eskaintzen dituzten ustezko postfuntzionalizazioaren abaintailak aprobetxatuz, gaur egun bertan kromoforo egokiak daramatzaten koloratzaile adimentsuen diseinuan lan egiten ari gara energia transferentzia prozesuak eragiteko eta argi-biltzaile eta igorleak sortzeko.

Era berean, absortzio (*Electronic Circular Dichroism*, ECD) eta lumineszentzia (*Circularly Polarized Luminescence*, CPL) zirkular polarizatuan erabiltzeko optikoki aktiboak diren gailuak ere lantzen ari gara, baita funtzionalizazio espezifikoetan ere arreta jarri dugu itu diren organulu edota biomolekulen miaketa selektiboa aurrera eramateko bioirudiko fluoreszentzia froga gisa.

Bibliografia

- [1] Boens, N.; Verbelen, B.; Dehaen, W.; *Eur. J. Org. Chem.*, **2015**, 6577-6595.
- [2] Jiang, X. D.; Zhang, J.; Furuyama, T.; Zhao, W.; *Org. Lett.*, **2012**, 14, 248-251.
- [3] Nguyen, A. L.; Bobodova-Parvanova, P.; Hopfinger, M.; Fronczek, F. R.; Smith, K. M.; Vicente, M. G. H.; *Inorg. Chem.*, **2015**, 54, 3228-3236.
- [4] Ulrich, G.; Goze, C.; Goeb, S.; Retailleau, P.; Ziesse, R.; *New J. Chem.*, **2006**, 30, 982-986.
- [5] Courtis, A. M.; Santos, S. A.; Guan, Y.; Hnedricks, A.; Ghosh, B.; Szantai-Kis, D. M.; Reis, S. A.; Shah, J. V.; Mazitschek, R.; *Bioconjugate Chem.*, **2014**, 25, 1043-1051.
- [6] Florès, O.; Pliquett, J.; Galan, L. A.; Lescure, R.; Denat, F.; Maury, O.; Pallier, A.; Bellaye, P. S.; Collin, B.; Mème, S.; Bonnet, C. S.; Bodio, E.; Goze, C.; *Inorg. Chem.*, **2020**, 59, 1306-1314.
- [7] Wang, M.; Zhang, G.; Kaufman, N. E. M.; Bobodova-Parvanova, P.; Fronczek, F. R.; Smith, K. M.; Vicente, M. G. H.; *Eur. J. Org. Chem.*, **2020**, 971-977.
- [8] Durán-Sampedro, G.; Agarrabeitia, A. R.; Cerdán, L.; Pérez-Ojeda, M. E.; Costela, A.; García-Moreno, I.; Esnal, I.; Bañuelos, J.; López-Arbeloa, I.; Ortiz, M. J.; *Adv. Funct. Mater.*, **2013**, 23, 4195-4205.
- [9] Yang, L.; Fan, G.; Ren, X.; Zhao, L.; Wang, J.; Chen, Z.; *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2015**, 9167-9172.
- [10] Jagtap, K. K.; Shivran, N.; Mula, S.; Naik, D. B.; Sarkar, S. K.; Mukherjee, T.; Maity, C. K.; Ray, A. K.; *Chem. Eur. J.*, **2013**, 19, 702-708.
- [11] Manzano, H.; Esnal, I.; Marques-Matesanz, T.; Bañuelos, J.; López-Arbeloa, I.; Ortiz, M. J.; Cerdán, L.; Costela, A.; García-Moreno, I.; Chiara, J. L.; *Adv. Funct. Mater.*, **2016**, 26, 2756-2769.
- [12] Ziessel, R.; Ulrich, G.; Haebele, A.; Harriman, A.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, 135, 11330-11344.
- [13] Brizet, B.; Bernhard, C.; Volkova, Y.; Rousselin, Y.; Harvey, P. D.; Goze, C.; Denat, F.; *Org. Biomol. Chem.*, **2013**, 11, 7729-7737.
- [14] Abdulhadi El-Ali, H. A.; Jing Jing, J.; Zhang, X.; *RSC Adv.*, **2019**, 9, 16246-16251.
- [15] Bodio, E.; Goze, C.; *Dyes Pigm.*, **2019**, 160, 700-710.
- [16] Boens, N.; Verbelen, B.; Ortiz, M. J.; Jiao, L.; Dehaen, W.; *Coord. Chem. Rev.*, **2019**, 399, 213024.
- [17] Sánchez-Carnerero, E. M.; Gartzia-Rivero, L.; Moreno, F.; Maroto, B. L.; Agarrabeitia, A. R.; Ortiz, M. J.; Bañuelos, J.; López-Arbeloa, I.; de la Moya, S.; *Chem. Commun.*, **2014**, 50, 12765-12767.
- [18] Jiménez, J.; Ruth Prieto-Montero, R.; Maroto, B. L.; Moreno, F.; Ortiz, M. J.; Oliden-Sánchez, A.; López-Arbeloa, I.; Martínez-Martínez, V.; de la Moya, S.; *Chem. Eur. J.*, **2020**, 26, 601-605.
- [19] Sola-Llano, R.; Jiménez, J.; Avellanal-Zaballa, E.; Johnson, M.; Cabrerós, T. A.; Moreno, F.; Maroto, B. L.; Muller, G.; Bañuelos, J.; Cerdán, L.; García-Moreno, I.; de la Moya, S.; *Dyes Pigm.*, **2019**, 170, 107662.
- [20] Bozdemir, Ö. A.; Al-Sharif, H. T.; McFarlane, W.; Waddell, P. G.; Benniston, A. C.; Harriman, A.; *Chem. Eur. J.*, **2019**, 25, 15634-15645.
- [21] Gierschner, J.; Varghese, S.; Park, S. Y. *Adv. Opt. Mater.*, **2016**, 4, 348-364.
- [22] Samuel, I. D. W.; Turnbull, G. A.; *Chem. Rev.*, **2007**, 107, 1272-1295.
- [23] Bissel, R. A.; Prasanna da Silva, A.; Nimal-Gunaratne, H. Q.; Mark-Lynch, P. L.; Maguire, G. E. M.; McCoy, C. P.; Samankumara-Sandanayake, K. R. A.; *Fluorescence PET (photoinduced electron transfer) sensors*, Topics in Current Chemistry, Springer, Berlin, 168, **1993**.
- [24] Ray, C.; Schad, C.; Avellanal-Zaballa, E.; Moreno, F.; Bañuelos, J.; Maroto, J. L.; de la Moya, S.; *Proceedings*, **2019**, 41, 54, 1-9.
- [25] Valeur, B.; Leray, I.; *Coordination Chemistry Reviews*, **2000**, 205, 3-40.
- [26] Boens, N.; Leen, V.; Dehaen, W.; *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, 41, 1130-1172.
- [27] Motagues, M. E.; Martínez-Manez, R.; Sancenon, F.; *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, 40, 2593-2643.
- [28] Bozdemir, O. A.; Guliyev, R.; Buyukcakir, O.; Selcuk, S.; Kolemen, S.; Gulseren, G.; Nalbantoglu, T.; Boyaci, H.; Akkaya, E. U.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, 132, 8029-8036.
- [29] Sui, B.; Tang, S.; Liu, T.; Kim, B.; Belfield, K. D.; *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2014**, 6, 18408-18412.

2. KAPITULUA

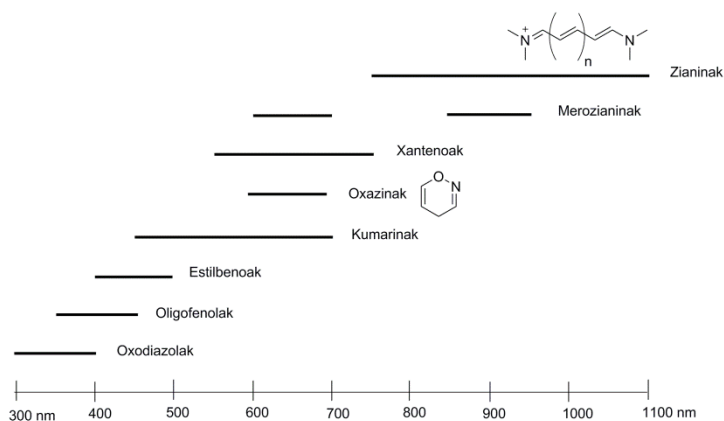
Eremu Gorrian eta NIR Eremuan Igorleak diren Laser-Koloratzaileak

Espektro elektromagnetikoa osatzen duten irradiazio elektromagnetikoen maiztasunen artean, argi gorria igortzeko egokiak diren fotoiak biomedikuntzan eta telekomunikazio bezalako arloetan ezinbestekoak dira, irradiazio iturri honek ingurunearekiko eratzen duen interferentzia baxua dela medio^[1-4]. Hori dagokionez, kontuan hartu behar dugu aplikazio bi hauen lan egiteko eremu egokia espektro elektromagnetikoaren eremu gorrian (650-900 nm tartean, "leiho biologiko" izenez ezaguna) baita NIR eremuan (800-1600 nm tartean, bereziki "telekomunikazio eremuan") ere kokatuta dagoela. Biomedikuntzan argi mota hau ehun biologikoetan sakonago barneratzen da (2-5 cm-tara heldu arte), laginen foto-kalte txikiagotuz eta, aldi berean, inguruneke biomolekulen auto-fluoreszentiarekin erlazionatuta dauden atzeko interferentziak saihestuz eta bioirudian bereizmena hobetuz^[5].

Teknologian, komunikazioa eta espektroskopia optikoa aurrera eramateko zuntz optikoek modu konbentzionalentzat iristezina den lekuetara heltzea ahalbidetzen dute, distantzia luzeetara helduz, esate baterako^[6]. Hortaz, eremu gorrian baita NIR eremuan ere seinale fluorezente argia erakustea guztiz garrantzitsua da. Hori dela eta, gaur egun helburu honetarako koloratzaile organikoak aukerarik egokienetarikoa bat dira euren

moldakortasun kimikoa dela medio^[7]. Beraz, laser irradiazio tarte luzeak jasateko gai diren gorri-NIR fluoroforo organikoen ikerkuntza guztiz beharrezkoa da, euren bizitza-denbora eraginkorra handitzen delarik^[8,9].

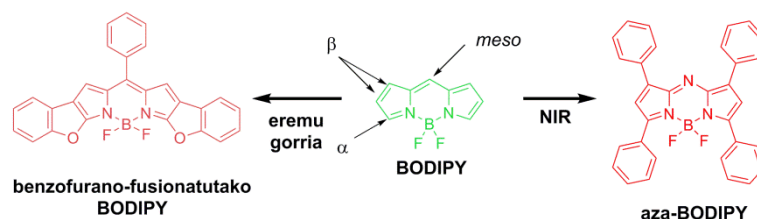
Testuinguru hau kontuan hartuz, aplikazio espezifiko baterako kromoforo berri bat diseinatzerakoan zenbait parametro eta ezaugarri aztertu behar dira. Kapitulu honetan jorratzen ari garen gaia aintzat hartuz, gure koloratzaile ereduak uhin-luzera luzeetan igorpen etekin biziak edota irradiazio baldintza sendoetan fotoestabilitate altua eduki behar ditu. Gaur egun, espektro elektromagnetikoaren eremu desberdinetan argia igortzen duten koloratzaile fluoreszente sorta zabala dago (2.2. Irudia)^[10]. Halere, kasu gehienetan fotoestabilitatea ez da espero zena eta igorpena espektro ikusgaiko eremu gorritik eta NIR eremutik urrun dago. Zianinan oinarritutako^[11] koloratzaileek (porfirinak eta ftalozianinak barne hartuz) esaterako, eremu gorri urrunean fluoreszentsia igorri ahal dute, NIR eremua heltzen direlarik, baina fluoroforo hauek euren jarduera optimorako zenbait desabantaila dute: (i) prozedura sintetiko eta purifikazio metodo nekagarriak; (ii) etekin fluoreszente baxua (egitura konformazional malguk desaktibazio kanal ez-irrdiatzaileak sustatzen baitute euren *push-pull* izaerarengatik are gehiago faboratuta); (iii) fotoestabilitate eskasa kolorea margultzen baita (*photobleaching*); eta (iv) postfuntzionalizaziorako moldakortasun kimiko mugatua, hala nola.



2.1. Irudia. Gaur egun eskuragarri dauden koloratzaile komertzialak espektro ikuskor osoa betetzen dutena.

Horregatik, egitura molekular berrien ikerkuntza banda espektralak espektro ikusgaiko ahalik eta eremurik gorrira desplazatzean eta irradiazio laser intentsu eta luzeen aurrean euren tolerantzia handitzean bideratuta dago^[13]. Helburu hau asetzeko asmotan, kapitulu honetan guk bi hurbilketa desberdin proposatzen ditugu. Absortzio zein igorpen banden desaplazamendu luzea lortzeko, aukera baliagarri bat BODIPYen HOMO-LUMO

orbital molekularren arteko energia tarte txikitzea izan daiteke euren konjokazio sistema hedatuz egitura aromatikoak erabiliz, zeinek propietate fotofisiko paregabeak eta mardultasun bereizgarria dituzten^[14]. Eratzun aromatiko hauek dipirreno nukleoara fusiona daitezke, konformazionalki murriztuta dauden BODIPYak eskuratuz, edo nukleo lotura sinpleen bitartez lotu ahal dira dipirreno eta unitate periferiko hauen arteko elkarrekintza erresonanteak ahalbidetuz^[15,16]. Lehenengo estrategian, non BODIPY nukleoa eratzun aromatikoekin konbinatzen den, bis-BODIPY fusionatuak lortzen dira (2.2. Irudia). Bigarren ildoari jarraituz gero, ftalozianinak lortzeko profirinetan aurrera eramaten diren egiturazko aldaketetan oinarrituta, aza-BODIPYetara bideratzen gaitu non *meso* posizioko karbono atomoa nitrogenu atomo abtengatik ordezkaturik dagoen^[17]. Aldaketa sinple honek desplazamendu batokromiko nabarmenak eragiten ditu, are handiagoak izan daitezkeenak π -sistemaren deslokalizazioa hedatzeko aurretik aipatutako aldaketei jarraituz^[18]. Aza-BODIPY koloratzaile familia, hain zuzen ere, etorkizun handiko alternatiba moduan gailentzen da ftalozianinak baino distiratsuagoak, egonkorragoak, trinkoagoak eta txikiagoak diren NIR igorleak diseinatzeko (2.2. Irudia).

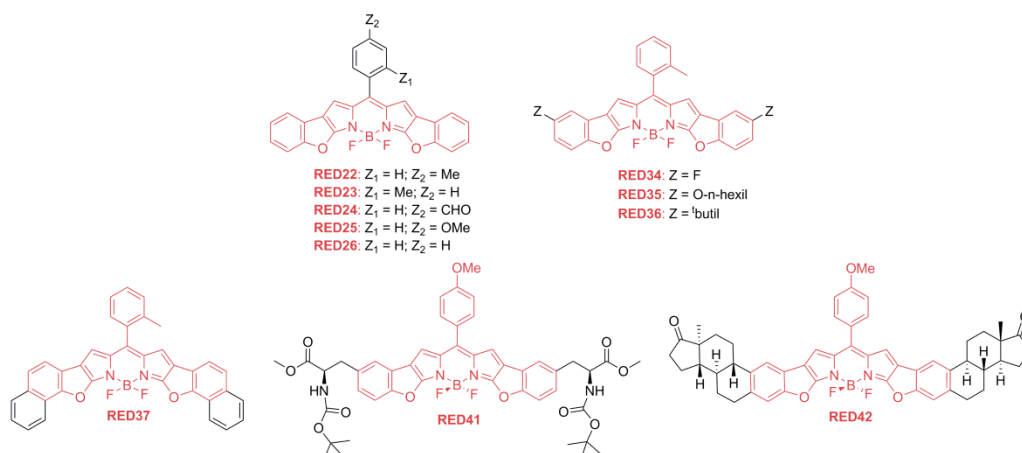


2.2. Irudia. BODIPYaren nukleoaren moldaketan oinarritutako bi hurbilketa posibleak bere banda espektralak espektro ikusgaiko eremu gorria eta NIR eremura desplazatzeko.

Gure xedea aplikazio biofotonikoentzat intereseko eremu espektrala, 650-750 nm-en artean dagoena, betetzen duen laser-koloratzaile sorta bat garatzea denez, hurrengo ataletan ikusgaiko eremu gorri urrunean argia igortzen duten bentzofurano-fusionatutako BODIPYetan oinarritutako koloratzaileak proposatzen ditugu (2.1. Atala), poliarilatutako aza-BODIPYak eremu espektralararen NIR zonalderako egokiagoak diren bitartean (2.2. Atala). Aurrerantzean, BODIPY berritzailea hauen propietate fotofisikoak eta laser-propietateak laburbilduko ditugu eta euren funts fotonikoa testuinguruan kokatuko dugu eremu espektral berdinean lan egiten duten eta eskuragarri dauden laser-koloratzaile komertzialekin konparatuz. Informazio gehiago memoriaren amaierako II. Eranskinean **The Journal of Organic Chemistry** eta **Chem-Photo-Chem** atxikitutako artikuluetan aurki daiteke.

2.1. BENTZOFURANO-FUSIONATUTAKO BODIPYetan OINARRITUTAKO LASER GORRIAK

1. Kapitulu aipatu den bezala, BODIPY koloratzaileak dipirreno nukleo oso moldakorra erakusten du. Honi dagokionez, 3-5 eta 2-6 posizioetan, hots α eta β posizioetan (2.2. Irudia), halagoeno heteroatomo bezalako funtzio-taldea ateragarri onak lotu ahal dira, ostean heterozikloen, furanoak zehazki, fusioa errazteko. π -Sistema gehiago hedatzeko asmoz, bentzeno moduko eraztun aromatiko osagarriak txertatu ahal dira bentzofurano-fusionatutako BODIPYak sortaraziz (2.3. Irudia). Izan ere, egitura hau eredurik nagusia izango da bentzofurano-fusionatutako BODIPY koloratzaileen familia berria diseinatzeko, zeinak meso posizioan ainguratuta dagoen arilo taldean (RED22-26) eta bentzofurano ordezkaren eremuan (RED34-36) bariazio desberdinak dituen. Energia baxuagoetara heltzekotan, sistema konjokatuago bat (ikusi RED37 konposatua 2.3. Irudian) arrakastaz diseinatu da. Are gehiago, BODIPY nukleoan bi biomolekula fenolikoak txertatuz gero RED41 eta RED42 konposatuak sintetizatu ziren, metodologia sintetiko honen aplikagarritasuna egiaztatuz.

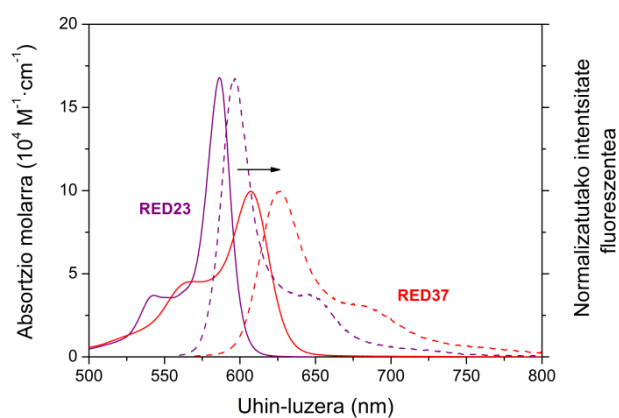


2.3. Irudia. Bentzofurano-fusionatutako BODIPY familia berria.

2.1.1. Propietate fotofisikoak

Bentzofurano eraztunen fusioak dipirrenoaren 2, 3 eta 5, 6 posizioetara banda espektralaren desplazamendu batokromiko handiak (83 nm-tara arte absortzioan eta 87 nm-tara arte fluoreszentzian) baita modu harrigarrian absortzio probabilitate altuak ere eragiten ditu, BODIPY sinpleek erakusten dituzten balioen bikoitza izanez ($20 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

inguruneko absortzio molar koefizienteekin), aromatikotasuna hedatzearen ondorioz (2.4. Irudia).



2.4. Irudia. RED23 eta RED37 koloratzaileen ($2 \mu\text{M}$) absortzio (lerro lodia) eta normalizatutako fluoreszentsia (lerro etena) espektroak etil azetatoan.

Berez, kalkulu teorikoek (hein handi batean zuzendutako dentsitate funtzionalaren metodoa erabiliz, $\omega\text{B97XD/6-311G}^{**}$) π -sistema deslokalizatuaren handipen bat aurretik dute zeinak eraztun aromatikoz guztiak bere gain hartzen dituen. Eta efektu hauek, hain zuzen ere, soilik eraztun aromatikoen fusioagatik ondorio zuzena dira, meso posizioeko arilo taldearen ekarpena txikiagoa eta bakarrik LUMO orbitalean agertzen baita (2.5. Irudia), eraztun honek ez baitu π -sistema deslokalizatuaren parte hartzen bere antolamendua beste plano batean egotearen. Areago, ez du eraginik banden posizio espektralean (2.1. Taula). Egia esan, 8-feniloaren orto posizioan metil taldeak eraztun dituen eragozpen esterikoak direla medio, RED23 konposatuak ez ezik, RED22, RED24, RED25 eta RED26 koloratzaileek ere euren meso-fenilo eraztuna dipirreno nukleoaren planoarekiko ortogonaliki kokatzen dute (60° inguru), azken lau konposatuetan 1 eta 7 posizioetako hidrogenoek eraztun duten eragozpen esterikoengatik. Nahiz eta batek pentsa dezakeen RED22, RED25 eta RED26 konposatuek erantzun fluoreszente deuseztatua erakutsiko dutela RED23 koloratzailearekin konparatuz euren 8-arilo taldeek erakusten duten askatasun konformazionalagatik^[20], lortutako emaitzek hipotesi hau suntsitzen dute. Kasu honetan, fusionatutako eraztun aromatikoen bidez hedatutako π -sistemak dentsitate elektronikoa meso posizio erabakigarriagatik asko aldentzen du (2.5. Irudia), mugimendu honekin zuzenki erlazionatuta dagoen deuseztapen bidea saihestuz^[21]. Ondorioz, lau konposatu hauek oso fluoreszenteak dira disolbatzailearen polaritatea edozein izanda ere etekin kuantiko eta bizitza-denbora balio altuak edukiz ($\phi > 0.85$ eta $\tau \approx 4$ ns, ikusi 2.1. Taula). Izatez, koloratzaile hauek murrizketa konformazional altua dute ezaugarri ordezkatzailaren ziklazioagatik, zeinak aldi berean erlaxazio ez-

erradiatzaile prozesuak oztopatzen dituen. Are gehiago, kromoforo hauek lauak dira (2.5. Irudia) kitzikapenaren ostean egiturazko estres altua egon arren, Stokes desplazamendua txikia izanez.

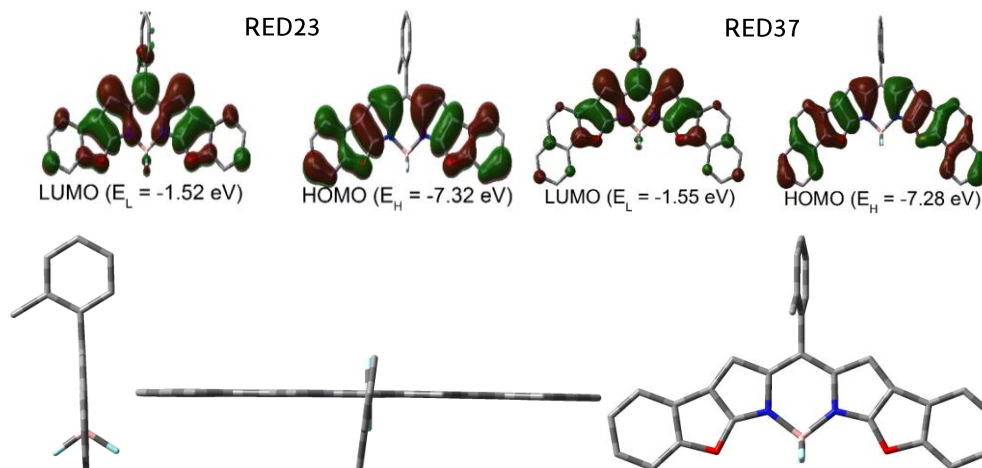


Figure 2.5. Teorikoki kalkulaturako (ω B97XD/6-311G**) RED23 eta RED27 konposatuen orbital molekularren mapak eta energiak RED23 (ezkerra eta eskuina) eta RED37 (erdikoa) konposatuen oinarritzko egoeraren geometria optimizatuen bista desberdinekin batera.

Nahiz eta koloratzaile hauek unitate kromoforiko berdina (bentzofurano fusionatuak dituzten dipirrenoak) partekatu, meso ordezkatzailan ezberdintzen dira, hala ere, antzeko erantzun fluoreszentea aurkezten dute (2.1. Taula) 8-arilo taldearen mugikortasun konformazionala edozein izanda ere (RED22 eta RED26 koloratzaileek konformazionalki mugimendu askea eta feniloa planoarekiko 60° biratuta dutenak, edo RED23 konposatuak konformazionalki mugatuta eta *o*-tolil taldea planoarekiko ortgonalki aurkezten duena) baita funtzionalizazioa desberdina eukinda ere (RED25 konposatuak *p*-metoxi elektro-emaile den taldea duena). Salbuespen bakarra RED24 da, zeinek 8-feniloan para posizioan formil taldea duena eta besteekin konparatuz erantzun fluoreszente baxuagoa erakusten duena (2.1. Taula), ingurune polarretan are baxuagoa dena (etekin kuantikoa ziklohexanoan 0.63 baliotatik etil azetatoan 0.39 baliotara jaisten da). α -posizio pirrolikoan oxigeno heteroatomaoren presentziak bentzofuranoak elektro-emaile gisa jokatzen duela eta konposatu honek 8-ariloan elektro-hartzaile ahula den taldea duela aintzat hartuz, konbinazio honek karga transferentzia intramolekular (*Intramolecular Charge Transfer*, ICT) prozesuaren^[16] eraketa sendo dezake, zein desaktibazio erradiatzailearekin lehiatzeko gai den. Izan ere, kitzikapenak (HOMO \rightarrow LUMO) bentzofuranotik dipirreno nukleora dentsitate elektronikoaren desplazamendua bultzatzen du karga transferentziaren bideragarritasuna aurreratuz. Hipotesi hau RED22 eta RED25 konposatuei esker berresten da, non *para* posizioko ordezkatzailak elektro-

emaileak direnez gero, ICT prozesua pizteko probabilitatea hein handi batean ekiditzen den. Gehiago dena, tendentzia hau ingurune polarretan askoz nabariagoa da, aipatutako ICT prozesuan karga tartea handiagoa baita, bere energia maila disolbatzailearen polaritatearen arabera asko aldatzen delarik, batez ere ingurune polarretan non ICT maila gehiago egonkortzen den.

2.1. Taula. *Argi gorri igorleak diren bentzofurano-fusionatutako BODIPYen propietate fotofisikoak ziklohexanoan disolbatuta.*

RED	λ_{ab} [nm]	ϵ_{max} [$10^4 M^{-1} \cdot cm^{-1}$]	λ_{fl} [nm]	$\Delta\nu_{St}^{a)}$ [cm^{-1}]	ϕ	τ [ns]
22	548.5	21.5	596.5	345	0.88	4.09
23	586.5	21.5	595.5	260	0.88	4.21
24	592.5	13.7	612.0	540	0.63	2.47
25	583.5	20.0	593.5	290	0.88	4.10
26	586.0	15.6	597.5	330	0.84	3.99
34	581.5	17.3	590.0	250	0.95	4.02
35	592.0	19.0	603.0	310	0.96	4.12
36	591.5	23.2	602.0	295	0.89	4.11
37	613.0	12.9	625.0	315	0.81	4.31
41	586.5	18.0	596.5	285	0.81	3.94
42 ^{b)}	596.5	17.9	611.5	410	0.88	4.04

^{a)} Stokes desplazamendua; ^{b)} RED42 ziklohexanoan disolbaezina da; horregatik, aipatutako datuak dietil eterrean neurtu ziren.

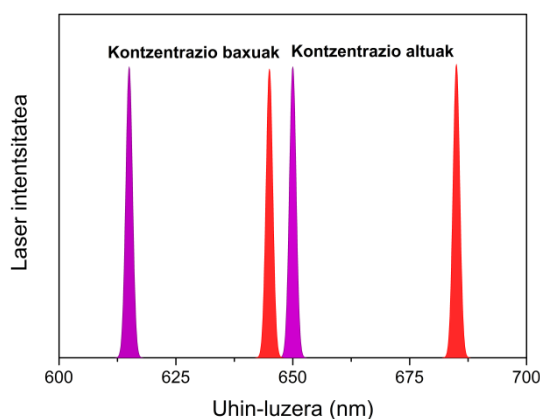
RED34, **RED35** eta **RED36** aurreko konposatuetatik ordezkapen eredian desberdintzen diren arren, koloratzaile hauek propietate fotofisiko oso antzekoak dituzte absortzio eta fluoreszentzia uhin-luzera ia berberak eta etekin kuantiko eta bizitza-denbora balio pixka bat altuagoak erakutsiz (2.1. Taula). Hau da, heteroatomoen presentziak, fluor moduko atomoa **RED34** koloratzailean, edo alkil taldeak, *tert*-butilo modukoa **RED36** konposatuan, erantzun fluoreszente altua mantentzen du ingurunea edozein izanda ere. Hala eta guztiz ere, kromoforora alkoxi kateak lotzen direnean (**RED35**), seinale fluoreszenteetan beherakada handia dago, etekin kuantikoa ziklohexanoan 0.96 baliotatik etil azetatoan eta meanolean 0.73 eta 0.29 balioetara, hurrenez hurren jaisten delarik. Ildo beretik jarraituz, bizitza-denborak ere bere balioen jaisiera jasaten ditu, ziklohexanoan 4.12 ns-tatik 3.81 ns eta 1.67 ns-tara etil azetatoan eta metanolean, hurrenez hurren. Joera hau berriz ere ICT prozesuaren aktibazioarekin lotuta dago, azken honek bertako egoera kitzikatuaren (*Locally Excited state*, LE) igorpena deuseztatzen duelarik.

Benzofuranora eraztun gehiagoren fusioak (**RED42** eta **RED37** bereziki, zein zazpi eraztun aromatiko osatuta dagoen) desplazamendu batokromiko gehigarri bat eragiten du, igorpen fluoreszentearen bandak 625 nm-an kokatzen direlarik (2.4. Irudia). Eraztun aromatikoaren fusioak estres geometrikoa inposatu arren, kalkulu teorikoek kromoforoa laua eta zurruna mantentzen dela aurreratu dute (2.5. Irudia). Nahiz eta **RED41** koloratzailean propietate fluoreszenteak antzekoak izan ingurunearen polaritatea alde batera utzita ($\phi \approx 0.80$ eta bizitza-denbora balioa $\tau \approx 2$ ns ingurukoa), **RED37** eta **RED42** konposatuaren kasuan erantzun fluoreszente altua ziklohexanoan bakarrik mantentzen da (2.1. Taula). Bi kasu hauetan disolbatzailearen polaritatearen igoerak etekin kuantiko balioen neurriko jaitsiera bat dakar (**RED37** konposatuaren kasuan etil azetatoan eta metanolean 0.69 eta 0.48, hurrenez hurren, eta 0.61 eta 0.52 **RED42** koloratzailearentzat) bizitza-denbora balio motzekin batera (balio antzekoak ingurune ez-polarretan, ikusi 2.1. Taula, baina 3.17 ns eta 3.71 ns metanolean **RED37** eta **RED42** konposatuaren kasuan, hurrenez hurren). Polaritate altuagoko ingurunean, non elkarrekintzak indartsuagoak diren, bi konposatu hauen lautasuna pixka bat distortsiona daiteke. Hortaz, litekeena da barne-aldaketaren erlaxazio maila handitzea ahalmen fluoreszentearekin murrizketarekin batera.

2.1.2. Laser-propietateak

Argi gorri igorle koloratzaile hauek erakusten duten etekin fluorescente altuak aintzat hartuz eta gure helburua betetzeko asmoz, laser moldagarrietan euren jardura ingurune aktibo moduan lan egiteko kontzentrazio desberdinetan aztertu zen. Konposatu hauek guztiak etil azetatoan disolbatu ziren disolbagarritasun arazoak ekiditeko, **RED42** koloratzaile izan ezik, non laser-igorpenera erregistratzeko beharrezkoa zen kontzentrazioa lortzea ezinezkoa izan zen. Orokorrean, kontzentrazio altuetan laser-propietateak joera fotofisikoari jarraitzen dio eta laser-igorpen sendoak erregistratu ziren gorri urruneko eremu espektrala betetzen zelarik, 615 nm-tik 660 nm-ra, eta **RED37** kasuan 685 nm-ra helduz. Laser-igorpen seinale hauek absorzio eta fluoreszentzia seinaleetatik nahiko urruti agertzen dira (70 eta 50 nm inguruko desplazamendu batokromikoa, hurrenez hurren), desplazamendu hauek ohiko BODIPY koloratzaileen kasuan erregistratzen direnekin askoz handiagoak direlarik (40 eta 20 nm ingurukoak, hurrenez hurren)^[22]. Alabaina, kontzentrazio baxuetan edo ponpaketa energia balio baxuetan laser seinaleak BODIPYen ohiko posizioetan agertzen dira. Horregatik, konposatu hauetan euren kontzentrazioaren

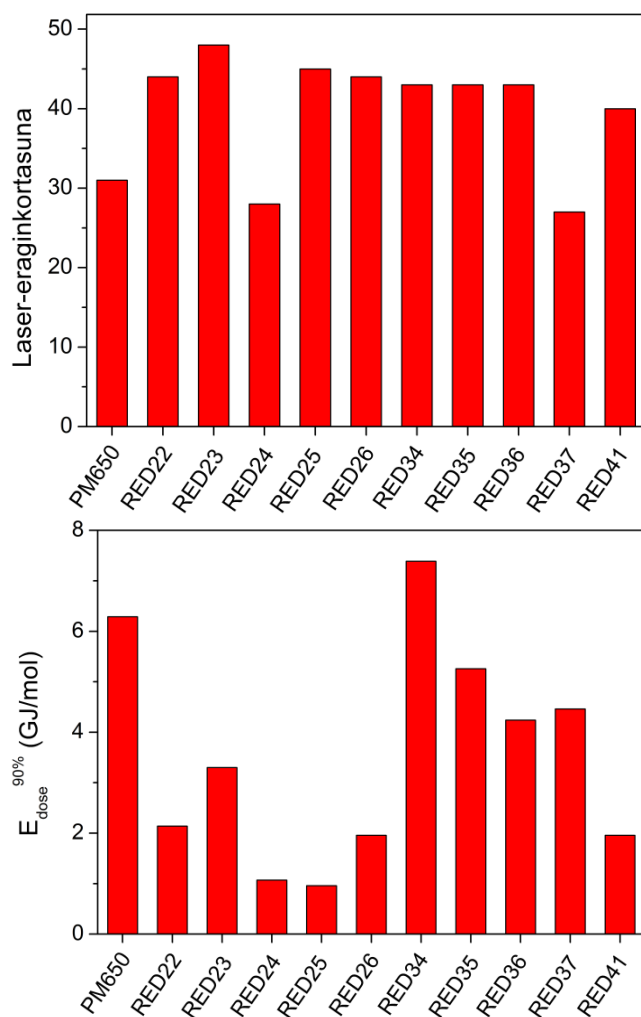
arabera (0.25 eta 0.50 mM tartean) laser-igorpen bikoitza neurtzea posible da (2.6. Irudia). Fenomeno hau euren artean metatzeko joerari esleitu ahal zaio, fluoroforo mota hauen geometria molekularra laua baita, egoera kitzikatuko agregatuen sorkuntza bultzatuz, dentsitate optiko altuko ingurune aktiboko energia altuko ponpaketak lagunduta. Hots, agregatu hauen presentzia (fotoinduzitutako exzimerro edo superexzimerroak) ponpaketa oso energetikoen ostean soilik neur daiteke, propietate fotofisikoak neurtzeko erabiltzen diren kitzikapen baldintza estandarrek ez baitira nahikoak^[23]. Beraz, kontzentrazio altuetan erregistratzen den laser-igorpena agregatu bati dagokio eta kontzentrazio baxuetan erregistratutakoa dagokion monomeroari esleitzen zaio (2.6. Irudia). Horiek horrela, ponpaketa energia edo koloratzailearen kontzentrazioarekin jolastuz gero, lan egiteko sintonizaio tartea^[24] handiagotzea posible da, desiatzen den aplikaziorako neurrira egindako laserra daukagularik.



2.6. Irudia. *RED23 (morea) eta RED37 (gorria) koloratzaileen laser espektroak (igorpen bikoitza koloratzailearen kontzentrazioaren arabera) etil azetatoan.*

Joera berdinari jarraituz, laser-eraginkortasun altuenak (50% balioetara helduz) etekin fluoreszente balio altuenak erakusten zituzten koloratzailei dagozkie (2.7. Irudia), **RED24** eta **RED37** koloratzaileek emaitza txiroenak erakusten dituztelarik. Fotoestabilitatea aipatzekoa den beste puntu bat da, parametro gakoa baita argiz zuzendutako tresna eta koloratzaile baten bizitza-denbora operatiboa arautzen duelako. Propietate hau balioesteko, induzitutako laser fluoreszentsia %10 txikiagotzeko beharrezkoa den energia kopurua neurtzen dugu (hau da, hasierako seinalearen %90 mantentzeko). Koloratzaile guztiek tolerantzia dezente erakusten dute etengabeko irradiazio eta irradiazio sendoarekiko, kasu batzuetan salbuespenak daudelarik (2.7. Irudia). Fotoestabilitate balio baxuenak 8-feniloaren *para* posizioan ordezkatzailak daramatzatenei dagozkie (metoxiak dituzten **RED25** eta **RED41** konposatuak eta formaldehido taldea duen **RED24**), balio altuenak bentzofuranoan ordezkatzailak

dituzten koloratzaileei dagozkien bitartean (fluor, tert-butilo edo alkoxi alifatikoak dituztenak RED34-36 konposatuetan, hurrenez hurren). Ildo honetatik jarraituz, RED34 koloratzaileak tolerantziarik altuena jasaten du (7.4 GJ/mol balioa erakutsiz) modu sendo batean lotuta dauden fluor atomoek eskaintzen duten egonkostasunari esker, zeinek iraupen luzeko igorpena ahalbidetzen duen^[25].



2.7. Irudia Argi gorria igortzen duten bentzofurano-fusionatutako BODIPYen laser-eraginkortasuna eta fotoestabilitatea etil azetatoan koloratzailearen kontzentrazio optimoan (0.50 eta 0.75 mM tartean).

Emaitza hauek testuinguruan kokatzeko, eskuragarri dagoen BODIPY komertzial PM560^[26] koloratzailearekin konparatuko ditugu, eremu espektrala berdinean lan egiten duena (2.7. Irudia). PM560 BODIPYak meso posizioan elektroihartzaile ona den ziano ordezkatzaille taldea darama. Funtzio-talde hau koloratzaile komertzial honi dagokion fotoestabilitate altuaren (6.3 GJ/mol) erantzulea da, bere joera elektronegatiboak fotooxidatzaile degradazio mekanismoan parte hartzen duen onxigenoarekiko erreaktibitatea txkiagotzen du eta^[27]. Hala ere, funtzio-talde honek karga banaketaren oinarria ere bada,

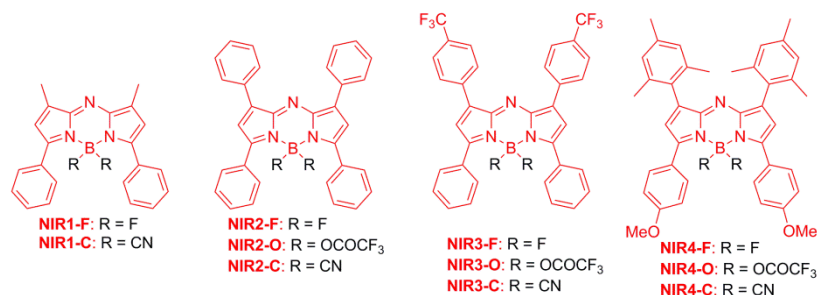
desaktibazio ez-erradiatzailea erraztuz, hots, ICT prozesua. Orokorrean, kapitulu honetan lantzen diren koloratzaile guztiek PM650 erreferentziak (> 6 GJ/mol) baino fotoestabilitate balio pixka bat baxuagoak (1 eta 5 GJ/mol tarteko balioak) erakusten dituzte, **RED34** konposatuak izan ezik, bere balio altuagoa delarik (2.7. Irudia). Dena den, laser-eraginkortasun emaitzak aintzat hartuz, konposatu sorta honek (**RED24** eta **RED37** izan ezik) eskuragarri dagoek koloratzaile komertzialarekin konparatuz propietate nabarmenki aurreratuak erakusten dituzte.

Horiek horrela, egiaztatu da sintetizatutako azpiegitura aromatiko hedatuak dituzten kromoforo sorta berri hau espektro elektromagentikoaren eremu gorrian argi bilketa handitzeko gai dela, absortzio porbabilitatea asko hobetuz. Are gehiago, konposatu hauek bai fluoreszentsia zein laser bandak espektro elektromagnetikoaren eremu gorrira desplazatzeko baliogarriak dira, etekin kuantikoak ia %100 eta kasurik onenetan laser-eraginkortasun baino %40 balio altuagoak lortuz. Propietaterik deigarriena sistema hauekin laser operazio tartea zabaltzea posible dela da (bakarrik koloratzaile kontzentrazioarekin jokatzuz gero) egoera kitzikatuko agregatuen eraketari esker, azken hauek aldi berean BODIPYen ohiko iraupen luzeko igorpen etekinak mantentzen dituztelarik eta, lehenengo aldiz, eremu espektral berean lan egiten duten eta eskuragarri dauden koloratzaile komertzial askoren berezko mugak gainditzen direlarik; zianinak eta oxazinak, esaterako.

2.2. Aza-BODIPYak NIR LASER GISA

Arestian adierazi den moduan, eremu gorri urrunean eta infragorri hurbilean eraginkortasun altuko argi igorle iturrien ikerketa (bio)fotonikan gainerako erronka da irradiazio mota honen berezko abaintailak direla kausa. Helburu hau betetzekotan aktiboki aztertutako hurbilketa BODIPYaren *meso* posizioako karbono atomoa aza talde batengatik ordezkatzeari da^[18]. BODIPY nukleoko aldaketa txiki honek desplazamendu batokromiko nabarmena eragiten du, atomo honen izeara elektronegatiboak LUMO orbitala egonkortzen baitu eta, ondorioz, orbitalen arteko energia tartea txikiagotzen da^[17,18]. Estrategia honen eta ordezkatzaile aromatiko periferikoen loturaren bitartezko π -sistemaren hedapenaren konbinazioak efektu sinergiko bat eragiten du, igorpen fluoreszentea uhin-luzera altuagoetara bultzatuz (**NIR1-4-F**). Erantzun fluoreszentea hobetzekotan π -sistema hedatua duten aza-BODIPY sorta berria sintetizatu da, non boro

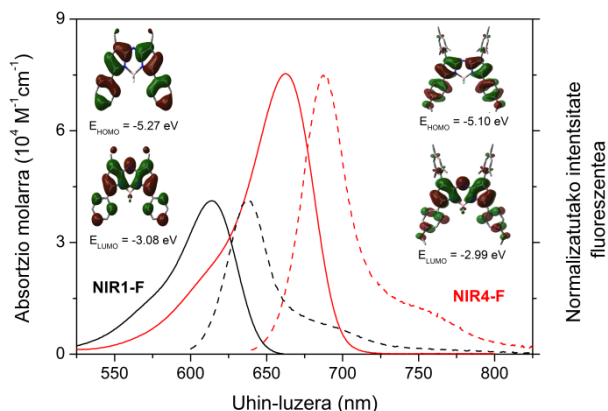
atomoa ziano eta alkoxi taldeengatik behar bezala ordezkatu diren (**NIR1-4-C** eta **NIR1-4-O**) (2.8. Irudia).



2.8. Irudia. π -sistema hedatua duten aza-BODIPYen sorta berria.

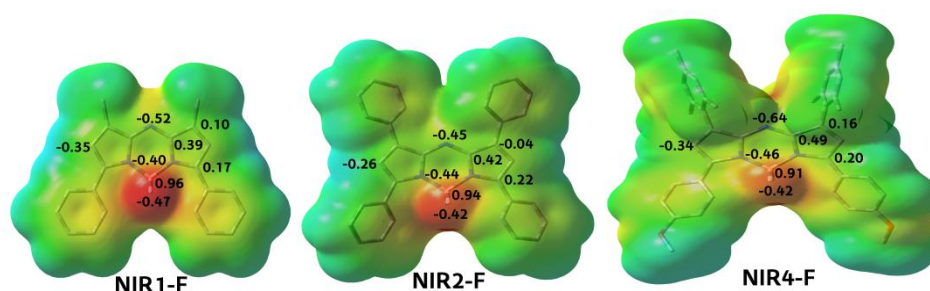
2.2.1. F-aza-BODIPYak

Zenbat eta π -sistema gehiago hedatu, orduan eta desplazamendu batokromikoa handiagoa lortzen da (2.2. Taula). Hau **NIR4-F** konposatuak erakusten duen desplazamendurik gorriena azaltzeko arrazoirik nagusia da atal honetan aztertutako F-aza-BODIPYen artean. Metilo taldeek ezartzen duten eragozpen esterikoengatik 1 eta 7 posizioetako eraztun aromatikoek atolamendu ortogonala duten arren eta, horren ondorioz, sistema konjokatuan parte hartzen ez duten arren, anisol talden bitarteko 3 eta 5 posizioetako funtzionalizazioak banda espektralak energia baxuagoetara are gehiago desplazatzen ditu (absortzio banda 670 nm-an kokatzen da eta igorpenekoa 695 nm inguruan) (2.9. Irudia). Hortaz, desiatzen dugun helburua kudeatzeko aza talde batengatik meso posizioko ordezkapenaren eta elektroien aberatsak diren talde aromatikoaren bidezko dipirreno nukleoaren apainketaren arteko konbinazioa estrategia onuragarria da.



2.9. Irudia. **NIR1-F** eta **NIR4-F** koloratzaileen absortzio (lerro lodiak) eta normalizatutako fluoreszentzia (lerro etenak) espektroak ziklohexanoan. Teorikoki kalkulaturako (B3LYP/6-311G*) oinarritzko egoeraren geometria optimizatuen orbital molekularrak ere gehitu dira.

NIR1-F konposatuak betzofurano-fusionatutako BODIPYek (2.1. Atala) baino balio baxuagoa erakusten du, baina nahiz eta neurritzko absortzio ahalmena eduki, konposatu honek parametro fluoreszente onargarriak erakusten ditu, batez ere disolbatzaile ez-polarretan (2.2. Taula). Disolbatzailearen polaritatea handitzen denean erantzun hau txikitzen da (etekin kuantiko eta bizitza-denbora balioak 0.18 eta 1.44 ns-tara jaisten dira metanolean, hurrenez hurren). Eremu gorrirako desplazamenduak oinarritzko egoeraren eta egoera kitzikatuaren arteko energia tarte gutxitzen dela guttiz onartuta dago eta, honek, hain zuzen ere, barne aldaketa bezalako trantsizio ez-erradiatzaileak areagotzen ditu (energia tarteko legea)^[28]. Nolanahi ere, hau alde batera utzita, konposatu hauetan disolbatzaile protiko/polarren hidrogeno atomoekin elkarrekintza berezi bat aurrera eramaten da^[29]. Meso posizioko karbono atomoa nitrigeno batengatik ordezkatzan denean, atomo hau molekula osoan zehar atomorik elektronegatiboena bilakatzen da (2.10. Irudia), kalkulu teorikoek aurreratu duten moduan (B3LYP/6-311G*). Beraz, atomo honek segituan alkoholekin hidrogeno-zubiak era ditzake, disolbatzaile hauetan erregistratu diren fluoreszentzia beherakadak indartuz.



2.10. Irudia. Dentsitate elektronikoen potentzial lektrostatikoen mapak (positioa urdinez eta negatiboa gorritz), F-aza-BODIPYen (**NIR 1-F**, **NIR2-F** eta **NIR4-F**) nukleo kromoforikoaren zeharkako CHelpG karga banaketarekin batera (B3LYP/6-311G*). **NIR3-F** koloratzaileari dagozkion karga kromoforikoak ez dira gehitu antezko egotura duen **NIR2-F** konposatuaren antzekoak direlako.

Aromatikotasunaren hedapenak berarekin batera energia baxuagoetarako desplazamendua eta absortzio probabilitatearen igoera dakartza (2.2. Taula). Iana gorrirako desplazamendu honekin batera erantzun fluoreszentea gutxitzen da, **NIR2-F** konposatuaren kasuan argitaratu den bezalaxe^[30]. Honi dagokionez, 1 eta 7 posizioetako feniloen mugimendu askea jaitsiera honen erantzulea da^[31]. Erantzun fluoreszentea, ordea, pixka bat igo daiteke fenilo berdinak *para*-trifluorometil taldeekin funtzionalizatzen direnean (**NIR3-F**), euren elektroihartzaile izaerak^[32] feniloen mugimenduen efektua indargabetzen du. Halere, azpimarratzekoa da azken bi konposatuen erantzun fluoreszenteek **NIR1-F** konposatuarenak baino aldaketa txikiagoa pairatzen dutela disolbatzailearen polaritatea handitzen denean (**NIR3-F** konposatuaren

etekin kuantiko balioak 0.19 eta 0.12 dira ziklohexanoan eta metanolean, hurrenez hurren), biratuta dauden feniloen presentziak aza-taldearen hidrogeno-zubiekiko eskuragarritasuna txikiagotzen dute eta.

2.2. Taula. NIR eremuan igortzen duten aza-BODIPYen propietate fotofisikoak etil azetatoan disolbatuta.

NIR	λ_{ab} [nm]	ϵ_{max} [10 ⁴ M ⁻¹ .cm ⁻¹]	λ_{fl} [nm]	ϕ	$\lambda_{la}^{a)}$ [nm]	%Eff ^{b)}
1-F	614.0	3.2	639.0	0.32	647.0	13
1-CN	604.0	5.5	638.0	0.22	644.0	13
2-F	645.0	8.6	66.08	0.12	681.0	16
2-OCOCF₃	646.0	5.6	671.5	0.47	689.0	19
2-CN	652.5	7.3	670.0	0.46	686.0	12
3-F	654.5	8.6	682.0	0.15	690.0	20
3-OCOCF₃	655.0	6.7	687.0	0.44	696.0	16
3-CN	653.5	7.3	677.0	0.12	692.0	16
4-F	669.0	7.8	696.0	0.46	708.0	23
4-OCOCF₃	678.0	7.9	708.5	0.49	720.0	33
4-CN	667.0	5.6	703.5	0.31	717.0	29

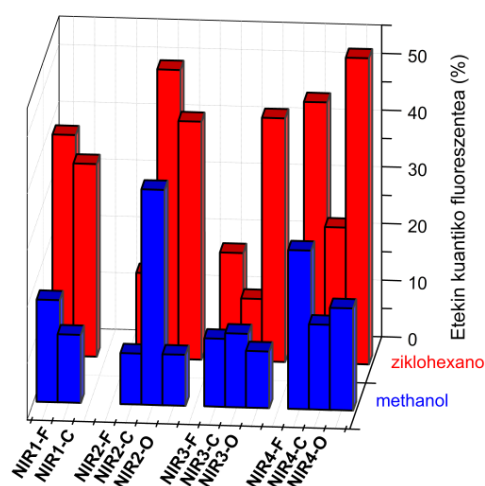
^{a)} Laser uhin-luzera; ^{b)} Laser-eraginkortasuna. **NIR1-O** ezin izan zen erazi bere ezegonkortasun kimikoagatik.

NIR4-F konposatua, 1 eta 7 posizioetan tamaina handiko mesitiloak eta 3 eta 5 posizioetan anisolak dituena koloratzailerik gorriena da eta etekin kuantiko zein bizitza-denbora balioak esanguratsuki areagotu dira (2.2. Taula) murrizketa konformatzionalek eskeintzen duten egiturazko zurruntasuna dela medio, aztertutako F-azaBODIPYen artean emaitzarik onenak eskuratuz. Hobekuntza hauek egin arren, egitura aldaketa honek ez du alkoholetan bezalako disolbatzaile protiko/polarretan aurretik adierazitako desabantaila ekiditen (erantzun fluoreszentea eta bizitza-denbora balioak 0.23 eta 2.3 ns balioetara jaisten dira metanolean, alegia). Are gehiago, **NIR4-F** konposatuan aza atomoaren karga are negatiboagoa da eta aza taldearen elektroik bikote askea disolbatzailearekiko eskuragarriago dago alboko fenil eraztunen antolamendu perpendikularrari esker (2.10. Irudia).

2.2.2. O- eta C-aza-BODIPYak

1go kapituluari adierazi den moduan (N-BODIPYen kasuan) eta erantzun fluoreszentea areagotu denez^[33], aza-BODIPYen fluor atomoak ziano (**NIR1-4-C**) eta trifluoroazetoxi (**NIR1-4-O**) bezalako elektroihartzaile taldeengatik ordezkatu daitezke. 1. Kapituluari aintzat hartuz, batek pentsa dezake banda espektralen posizioa antzekoa izango dela fluor atomoak ordezkatzeko direnean, izan ere boro zubiak ez du π -sistemaren deslokalizazioan parte hartzen, eta arestiko emaitzek kontu hau batez ere dipirreno nukleoaren ordezkapen ereduaren menpe dagoela iradokitzen dute (2.2. Taula).

Harrigarria bada ere, eta F-azaBODIPY homologoei konparatuz, O-aza-BODIPYen erantzun fluoreszentea polartasun baxuko disolbatzaileetan hobea da (2.11. Irudia), 1,7-arilo askeak dituzten bi konposatuak azpimarragarriak izanik (**NIR2-O** eta **NIR3-O**), non etekin kuantikoaren emaitzak bikoitzak baita hirukoitzak ere diren (2.2. Taula). Ondorioz, boro atomoaren inguruko aldaketa egokia da behintzat disolbatzaile ez-polarretan. Dena den, berriro ere erantzun fluoreszentea alkoiletan mugatuta dago, etekin kuantiko balioak baxuagoak lortzen direlarik. Kasu honetan, meso posizioko ordezkapenak karga berrantolaketa nabarmena bultzatzen du, zeinek anitrogeno atomoaren karga negatiboa areagotzen duen (**NIR4-O** koloratzailean -0.69 balioa eskuratzen delarik, baliorik altuena aztertutako koloratzaile guztien artean). Beraz, berriro ere atomo hau hidrogenozubiekiko eskuragarri dago, nahiz eta alboko fenilo taldeek eragozpen esteriko sortu.



2.11. Irudia. O-aza-BODIPY eta C-aza-BODIPY berrien etekin kuantiko fluoreszentearen bilakaera disolbatzaile ez-polarretan (ziklohexano) eta protiko/polarretan (methanol).

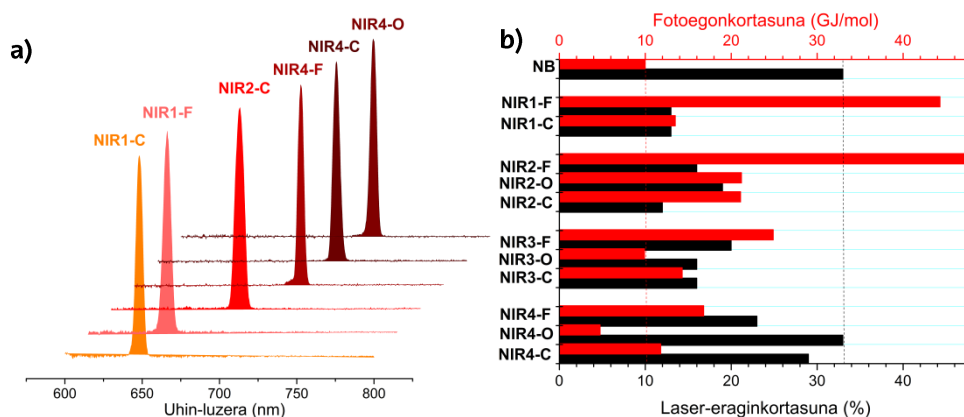
Bestalde, orokorrean aurreko F-BODIPYekin konparatuta C-aza-BODIPYek ez dute erantzun fluoreszentea hobetzen. Salbuespen moduan **NIR2-C** konposatuak disolbatzaile ez-polarretan zein polarretan emaitza paregabeak erakusten ditu. Are gehiago, kasu

honetan aztertutako aza-BODIPY guztien artean ziano taldeak koloratzaile honek aza taldean karga negatiborik baxuena (-0.37) edukitzea eragiten du, hidrogeno-zubiekiko elkarrekintza oztopatuz eta deuseztapen bide hori saihestuz. Beraz, erantzun fluoreszente kontuetan garatutako konposatu sorta honetan **NIR2-C** konposatua koloratzaile onena bihurtzen da.

Hortaz, disolbatzaile ez-polarretan *O*-aza-BODIPYak *F*-aza-BODIPYen erantzun fluoreszentea hobetzeko egokiak diren bitartean, *C*-aza-BODIPYak disolbatzaile polarretan igorpen arrakastatsua lortzeko aukera dugu.

2.2.3. Laser-propietateak

Koloratzaile hauen propietate fotofosikoak ikusi ostean euren jardura laser-koloratzaile moduan aztertu zen. Aza-BODIPY hauek guztiak espektro ikusgaiko eremu gorri urrunean laser-igorpena erakusten dute, 645 nm-tik 720 nm-ra igorpen fluoreszente uhin-luzerekin bat etorriz (2.12a Irudia eta 2.2. Taula) eta betzofurano-fusionatutako BODIPYekin konparatuz (2.1. Atala) laser-igorpen luzeagoak lortuz. Laser-eraginkortasun balioen arabera, **NIR2-F** eta **NIR3-F** konposatuek laser jardura aipagarria erakusten dute, **NIR1-F** konposatuarena baino hobea izanez, azken honek erantzun fluoreszente altuagoa duen arren. Kontraesan hau lehenengo bi konposaturen bizitzan denbora balio txikien bitartez azal daiteke, desaktibazio azkarrak populazioaren inbertsioa eta suspertutako igorpena^[34] bultzatzen baititu. Erantzun fluoreszente jarraituz, **NIR4-F** koloratzaileak ikertutako *F*-aza-BODIPY guztien artean laser-eraginkortasun altuena (%33 balioetara helduz) erakusten du (2.2. Taula).



2.12. Irudia. a) Aza-BODIPY berri batzuen normalizatutako laser espektroen bilakaera eta **b)** ikertutako aza-BODIPYen eta komertziala den Nile Blue (NB) koloratzailearen arteko konparazioa laser-eraginkortasuna eta fotoestabilitatea kontuan hartuz irradiazio indartsupean.

Laser-eraginkortasuna hobetzeko asmotan boro zubiaren inguruko aldaketaren estrategia ez dela oso eraginkorra aipatzekoa da, aldaketarik pairatu ez dutenekin konparatuz antzeko emaitzak (C-aza-BODIPYak) edo pixka bat altuagoak (O-aza-BODIPYak) baino ez dira lortzen eta. Halere, **NIR4-O** konposatuak laser-igorpenarik gorrienaz gain, aztertutako koloratzaile guztien artean laser-eraginkortasun altuena ere erakusten du. Emaitza hauek emaitza fotofisikoekin bat datoz, koloratzaile honek erantzun fluoreszente onena ere erakusten baitu.

Nolanahi ere, aza-BODIPYen aurkikuntzarik deigarriena fotoestabilitateak jarraitutako joera da, non, harrigarria den arren, irradiazio laser luzea eta indartsuaren ostean laser-eraginkortasun balio baxuenak erakusten dituztenak egonkorrenak diren (2.12b Irudia eta 2.2. Taula). Orokorrean, fluoroforo guztiek (**NIR4-O** izan ezik) 10 GJ/mol baino energia altuagoa behar dute euren laserraren bitartez suspertutako fluoreszentzia %10 txikitzeko. Areago, F-aza-BODIPYak egonkorrenak dira, 47 GJ/mol-eko energia jaso ostean euren bukaerako laser erantzunaren %90 mantenduz (ikusi **NIR2-F** konposatua). Izan ere, 1,7-feniloen mugimendu askeak ponpaketa prozesuaren bitartean gehiegizko energia disipazten duela dirudi. Beraz, fotoegonkortasunari dagokionez boro zubiko aldaketa ez da komenigarria.

Emaitza hauek Nile Blue (NB) eskuragarri dagoen oxazina komertzialarekin konparatzen baditugu, zeinek bere seinale fluoreszentea eremu espektral antzekoan igortzen duen (690 nm inguru), orokorrean aza-BODIPY hauek laser-eraginkortasun baxuagoa baina erantzun fotoegonkor hobea erakusten dutela ondoriozta daiteke. Hots, NB koloratzaileak laser-eraginkortasun askoz bikainagoa baina fotoegonkortasun mugatua erakusten du (2.12b Irudia) eta aztertutako koloratzaile batzuk (**NIR4-F**, **NIR4-O** eta **NIR4-C**) bakarrik antzeko laser-eraginkortasun balioak lortzen dituzte. Dena den, kromoforo hauek ponpaketa baldintza indartsupean energia kopuru askoz altuagoak jasateko gai dira. Are gehiago, fotoegonkortasunari dagokionez **NIR1-F** eta **NIR2-F** konposatuak erreferentzia baino lau aldiz sendoagoak dira (2.12b Irudia), laser eta bioirudi xedeetarako iraupen luzeko eta ingurune aktibo distiratsu gisa euren aplikagarritasuna indartuz.

Berriro ere, BODIPYen kimika aberats eta moldagarria koloratzaile fotoaktiboen diseinurako erreminta egokia dela egiaztatu da, 600 eta 720 nm tarteko leiho espektralean laser moldagarri egonkor eta eraginkor moduan aplikatu daitezkeenak. Ikusgaiko eremu gorri urrunerako konformazionalki mugatutako bentzofurano-fusionatutako BODIPYak

hautagai apropos moduan agertzen dira. Bere antolamendu aromatiko lauak eta zurrinak sekulako absortzio porbabilitateez hornitzen du eta desaktibazio bide ez-erradiatzaileak saihesten ditu, 600 eta 650 nm eremu espektralean etekin eraginkorrak (ia %50) eta laser seinale egonkorak lortzen direlarik. Laser-igorpena NIR eremura ar gehiago bultzatzeko asmoz aza-BODIPY poliarilatuak komenigarriagoak dira. Harrigarria bada ere, boro atomoaren inguruko aldaketa kimikoa ez da estrategia gomendagarria, koloratzailearen egonkortasuna nabarmenki gutxitzen baitu. Ondorioz, *F*-aza-BODIPYak hurbilketarik onena dira euren fotoegonkortasun altuagatik gailentzen direlako eta 545 eta 720 nm tarteko uhin-luzeretan laser-igorpen eraginkortasun aipagarriak erakusten dituztelako.

Gehiago dena, bioirudi aplikazioetara begira egitura molekular hau iraupen luzeko proba eta etorkizun handiko proba fluoreszente moduan kontzebi daiteke, behin egoki funtzionalizatuta miaketa selektiboa sustatzeko eta bestelako egiturak eratzeko eredu gisa har daiteke, energia transferentzia pozesuak pairatzen dituzten eta argia biltzen duten matrizeak diseinatzeko, euren jarduea fotonikoa hobetzen delarik.

Bibliografia

- [1] Pansare, V.; Hejazi, S.; Faenza, W.; Prud'homme, R. K.; *Chem. Mater.*, **2012**, *24*, 812-827.
- [2] Poddar, M.; Misra, R.; *Coordination Chemistry Reviews*, **2020**, *421*, 213462.
- [3] Yuan, L.; Lin, W.; Zheng, K.; He, L.; Huang, W.; *Chem. Soc. Rec.*, **2013**, *42*, 622-661.
- [4] Luo, S.; Zhang, E.; Su, Y.; Cheng, T.; Shi, C.; *Biomaterials*, **2011**, *32*, 7127-7138.
- [5] Geddes, C. D.; *Reviews in Fluorescence, Organized assemblies probed by fluorescence spectroscopy*, Springer, Berlin, 1st Ed., **2017**.
- [6] Wang, X.; Wolfbeis, O. S.; *Anal. Chem.*, **2016**, *88*, 203-227.
- [7] Martenic, I.; Eliseeva, S. V.; Petoud, S.; *Journal of Luminescence*, **2017**, *189*, 19-43.
- [8] Grossi, M.; Morgunova, M.; Cheung, S.; Scholz, D.; Conroy, E.; Terrile, M.; Panarella, A.; Simpson, J. C.; Gallagher, W. M.; O'Shea, D. F.; *Nat. Commun.*, **2016**, *7*, 10855.
- [9] Liu, J.; Sun, Y. Q.; Zhang, H.; Shi, H.; Shi, Y.; Guo, W.; *ACS Appl. Mater. Interfaces.*, **2016**, *8*, 22953-22962.
- [10] Johnson, I.; Spence, M.; *Molecular Probes Handbook*, Life Technologies Corporation, Carlsbad, 11th Ed., **2010**.
- [11] Sindy, H. A.; *Dyes Pigm.*, **2017**, *145*, 505-513.
- [12] Niu, S.; Ulrich, G.; Retailleau, P.; Ziessel, R.; *Tetrahedron Letters*, **2011**, *52*, 4848-4853.
- [13] Wu, X.; Zhang, Y.; Takle, K.; Bilsel, O.; Li, Z.; Lee, H.; Zhang, Z.; Li, D.; Fan, W.; Duan, C.; Chan, E. M.; Lois, C.; Xiang Y.; Han, G.; *ACS Nano*, **2016**, *10*, 1060-1066.
- [14] Bañuelos, J.; *Chem. Rec.*, **2016**, *16*, 335-348.
- [15] Heyer, E.; Retailleau, P.; Ziessel, R.; *Org. Lett.*, **2014**, *16*, 2330-2333.
- [16] Ni, Y.; Wu, J.; *Org. Biomol. Chem.*, **2014**, *12*, 3774-3791.
- [17] Hall, M. J.; McDonnell, S. O.; Killoran, J.; O'Shea, D. F.; *J. Org. Chem.*, **2005**, *70*, 5571-5578.
- [18] Ge, Y.; O'Shea, D. F.; *Chem. Soc. Rev.*, **2016**, *45*, 3846-3864.
- [19] Freyer, W.; Mueller, S.; Teuchner, K.; *J. Photochem. Photobio.*, **2004**, *163*, 231-240.
- [20] Kee, H. L.; Kirmaier, C.; Yu, L.; Thamyongkit, P.; Youngblood, W. J.; Calder, M. E.; Ramos, L.; Noll, B. C.; Bocian, D. F.; Scheidt, W.; Birge, R. R.; Lindsey, J. S.; Holten, D.; *J. Phys. Chem. B.*, **2005**, *109*, 20433-20443.
- [21] Gómez-Durán, C. F. A.; Esnal, I.; Valois-Escamilla, I.; Urías-Benavides, A.; Bañuelos, J.; López-Arbeloa, I.; García-Moreno, I.; Peña-Cabrera, E.; *Chem. Eur. J.*, **2016**, *22*, 1048-1061.
- [22] Durán-Sampedro, G.; Agarrabeitia, A. R.; Cerdán, L.; Pérez-Ojeda, M. E.; Costela, A.; García-Moreno, I.; Esnal, I.; Bañuelos, J.; López-Arbeloa, I.; Ortiz, M. J.; *Adv. Funct. Mater.*, **2013**, *23*, 4195-4205.
- [23] Masilamani, V.; Aldwayyan, A. S.; *Acta, Part A.*, **2004**, *60*, 2099-2106.
- [24] Cerdán, L.; Martínez-Martínez, V.; García-Moreno, I.; Costela, A.; Pérez-Ojeda, M. E.; López-Arbeloa, I.; Wu, L.; Burgess, K.; *Adv. Opt. Mater.*, **2013**, *1*, 984-990.
- [25] Durán-Sampedro, G.; Agarrabeitia, A. R.; Arbeloa Lopez, T.; Bañuelos, J.; López-Arbeloa, I.; Chiara, J. L.; García-Moreno, I.; Ortiz, M. J.; *Laser Phys. Lett.*, **2014**, *11*, 115818.
- [26] García-Moreno, I.; Costela, A.; Martín, V.; Pintado-Sierra, M.; Sastre, R.; *Adv. Funct. Mater.*, **2009**, *19*, 2547-2552.
- [27] Jones, G.; Kumar, S.; Klueva, O.; Pacheco, D.; *J. Phys. Chem. A.*, **2003**, *107*, 8429-8434.
- [28] Bixon, M.; Jortner, J.; Cortes, J.; Heitele, H.; Michel-Beyerle, M. E.; *J. Phys. Chem.*, **1994**, *98*, 7289-7299.
- [29] Shushkevich, I. K.; Pershukevich, P. P.; Stupak, A. P.; Solov'ev, K. N.; *J. Appl. Spectrosc.*, **2005**, *72*, 737-770.
- [30] Antina, E. V.; Bumagina, N.A.; *Chem. Heterocycl. Compd.*, **2017**, *53*, 39-41.
- [31] Prlj, A.; Vannay, L.; Corminboeuf, C.; *Helv. Chim. Acta.*, **2017**, *100*, e1700093.
- [32] Gut, A.; Lapok, I.; Jamróz, D.; Gorski, A.; Solarski, J.; Nowakowska, M.; *New J. Chem.*, **2017**, *41*, 12110-12122.

[33] Gómez-Durán, C. F. A.; Esnal, I.; Agarrabeitia, A. R.; Bañuelos, J.; Cerdán, L.; García-Moreno, I.; Costela, A; López-Arbeloa, I.; Ortiz, M. J.; *Chem. Eur. J.*, **2014**, *20*, 2646–2653.

[34] Cerdán, L.; Costela, A.; García-Moreno, I.; Bañuelos, J.; López-Arbeloa, I.; *Laser Phys. Lett.*, **2012**, *9*, 426–433.

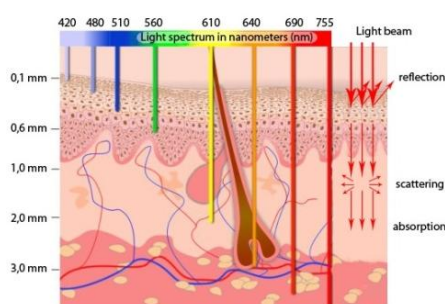
3. KAPITULUA

Fluoreszentzia Probak, Sentsoreak eta Bioirudi eta Terapiarako Fotosentikortzaileak

Oro har ikusten dugun hori entzuten duguna baino sinesgarriagoa dela onartuta dago, zein oso ezaguna den "Sinesteko ikusi beharra dago" esaera zaharraren oinarria den. "Gorputzean gertatzen dena ikusteko" metodoak ezinbestekoak dira baldin eta gaixotasunak tratatu nahi baditugu, diagnosia azken muga badugu ere. Honi dagokionez, fluoreszentzia erraminta oso sinple eta zuzena da informazio hori batzeko^[1]. X-izpien erradiografia edo erresonantzia magnetiko nuklearrarekin (*Magnetic Resonance Imaging*, MRI) bezalako teknologiekin konparatuz^[2], prozesu biokimikoak eta ingurune zelularrean dauden biomolekula denbora errealeko kokapena kontrolatzeko fluoreszentzia irudia gorantz ari da^[3] abangoardiako mikroskopiaren etengabeko garapenez lagunduta. Teknika honek sentikortasun izugarria (molekula bakar bateko mailan detekzioa ahalbidetuz) eta espazio-bereizmen altua (nanometro-hamarrenetatik behera) erakusten ditu, ez-inbaditzailea izateaz gain, beharrezkoa den informazioa in situ, erraz eta intuitiboki lortuz^[4-6]. Are gehiago, seinale fluoreszentea modula daiteke, metaketaren esku egon ordez aktibazioaren menpe ere egonez soilik^[7]. Ondorioz, aplikazio biofotoniko aurreratuen bilakaerarako eta biomedikuntzarako^[8,9] bioirudia teknikarik eraginkorrenean hazten ari da. Benetan, gaur egun biobateragarriak diren molekula

organiko txikietan oinarritutako fluoreszentsia probak gorakada handia pairatzen ari dira oraingo biologian, laginaren genetika manipulatu barik interesatzen zaizkigun molekulen kokapenean eta kuantifikazioan laguntzen baitute^[7].

Horiek horrela, proba molekular baten moduan lan egiteko fluoroforoek ezaugarri asko bete behar dituzte, absortzio/igorpen uhin-luzera zehatzak, argitasun dezente eta bio-egonkortasuna zein foto-egonkortasuna edukiz^[2]. Fluoroforoek argia igortzeko kitzikapen argia behar dute. Kolortzailea ultramorean kitzikatzeak ehuna mindu dezake^[10]. Eredu urdineko edo orlegiko kitzikapena ez da ehunean asko barneratzen, gainazaleko azterketarako soilik baliagarria izanik (3.1. Irudia). Fluoroforoa espektrum elektromagnetikoaren eremu laranja kitzikatzen denean autofloreszentsia prozesua agertzen da^[11]. Halere, eragozpen hauek euren kitzikapen uhin-luzera eremu gorri sakonean erakusten duten fluoroforoen diseinuarekin ekidin daitezke (3.1 Irudia), aurreko 2. Kapituluuan azaldu den bezala. Argitasuna kontuan hartu beharreko beste ezinbesteko faktorea da, seinale/zarata erlazio altua funtsezkoa baita sentikortasun altuko detekzioa bermatzeko. Beraz, fluoroforoak eremu gorri sakonean etekin kuantiko balio altuak^[12] eduki behar ditu. Aipatu beharreko beste propietate bat egonkortasuna da, ponpaketa baldintza indartsupean eta zeluletan barneratu ostean egonkorrak izan behar dute^[13]. Areago, postfuntzionalizazio helburuei begira moldakortasun kimiko bikaina beharrezkoa da, biobateragarritasuna hobetzeko eta leku espezifikoan miaketa sustatzeko^[14].



3.1. Irudia. *Kitzikapen uhin-luzeraren arabera argiak ehunekiko duen barneratze ahalmena^[15].*

Baldintza hauek aintzat hartuz, BODIPY koloratzaileak aplikazio biologikoetarako hautagai nagusi moduan aurrera egiten du. Interesgarriak diren BODIPY biomolekulak lotu ditzakegu baita prozesu fotofisiko ezberdinak ere eragin biomolekulentzako espezifikoak diren hartzaileak lotuz eta fluoreszentsian duten eragina ingurunean azken hauen presentzia/absentziaren menpe egonez^[16]. Hau da, BODIPY koloratzailearen egitura molda daiteke prozesu biokimiko desberdinak kontrolatzeko eta detektatzeko (probak/sentsoreak). Hau kontuan hartuz, alde batetik BODIPYz markatutako

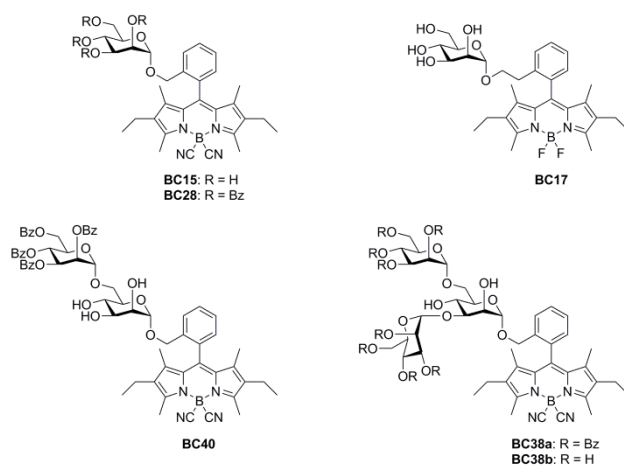
karbohidratoak garatu ditugu (3.1. Atala) glikoproba fluorezente bezalaxe hainbat prozesu biologikorentzako^[17]. Bestalde, tiol funtzio-taldea daramaten aminoazidoentzako (AA) sentsoreak ere sintetizatu ditugu (3.2. Atala) biomolekula hauek proteinen osagai nagusia izateaz gain, Alzheimer eta gaixotasun kardiobaskularrekin lotutako kantitate mailak ere aurkezten dituzte eta^[18].

Eta hori gutxi balitz bezala, minbizi bezalako gaixotasun kaltegarrien diagnostia eta terapia bidezko konponbidea posible da BODIPYak PDT-an PS gisa erabiltzen direnean^[19]. Horretarako, fotosentsibilizazioaren bidez $^1\text{O}_2$ sorkuntza funtsezkoa da eta hiru osagai nagusi beharrezkoak dira: aurretik aipatutako fotosentikortzailea, argi iturria eta oxigenoa^[20]. Gure kasuan fotosentikortzailea koloratzaile bat izango da, BODIPY koloratzailea bereziki (3.3. Atala), eta argi kitzikapenaren bidezko aktibazioaren ostean koloratzailearen triplete egoera kitzikatuaren (T_1) populazioa sustatua izango da, bere S_1 egoeratik sistemen arteko gurutzaketa (*Intersystem Crossing*, ISC) prozesu baimenduari esker^[21] eta, ingurunean oxigenoa egonez gero, $^1\text{O}_2$ espezie zitotoxikoa sortuko da. Izan ere, espezie zitotoxiko hau minbizi-zelulen suntsipenaren erantzulea da, hain zuzen ere. Horiek horrela, 3.3. Atalean zuzenki lotuta dagoen BODIPY dimero simetriko eta ortogonal batean oinarritutako PS bat deskribatuko dugu. III. Eranskinean **Chemistry - A European Journal** (3.1. Atala) eta **Organic Letters** (3.2. eta 3.3. Atalak) atxikitutako artikuluetan informazio gehigarria aurki daiteke.

3.1. KARBOHIDRATOEN BITARTEZ URETAN DISOLBAGARRIAK DIREN BODIPYak

Aplikazio biologiko askotarako kormofoeroek uretan disolbagarritasun ona erakutsi behar dute zeluletan mintz iragazkortasunaren bitartez barneratzeko^[22]. Tamalez, BODIPYak berez ez da uretan disolbagarria nahiz eta bere disolbagarritasuna hainbat diolbatzaile organikotan imitatzina izan^[23], disolbatzaile polarretan zein apolarretan. BODIPYen izaera hidrofobiko hau egitura molekularrean uretan disolbagarriak diren funtzio-taldeak gehituz hobetu daiteke. Gaur arte fosfonatoak, sulfonatoak eta oligoetilenglikol kateak kobalenteke lotu dira^[24]. Hala eta guztiz ere, koloratzaile hauek oraindik agregazio fenomeno esanguratsuen mende daude (fluorezenteak ez diren dimeroen eraketa eta dimentsio handiagoko agregatuak)^[25,26]. Gehiago dena, uretan

disolbagarriak diren talde funtionalak gehitzen direnean, bide sintetikoak maskaratu egin behar dira azkipo erreaktibitatea eta ondoriozko purifikazio prozesu neketsuak ekiditeko^[27]. BODIPY koloratzailearen potentzialari esker, kromoforo hau karbohidratoekin konbinatu dugu, aldi berean ezaugarri aurreratuak dituzten glikopropa fluoreszenteak sortuz (3.2. Irudia). Konposatu multzo berri honek abantaila bi eskaintzen ditu: lehenengoa, prozesuaren hasieran gehitu izan dira glikosil markatzaile fluoreszente gisa lan egin dezaten, bilatzen ari diren konposatu gikosidikoen detekzioa eta aurretik aipatutako purifikazio prozesua erraztuz, eta bigarrena, fluoreszenteak diren oligosakaridoak lortu dira. Proba fluoreszente hau garrantzi handikoa da karbohidrato-hartzaile elkarrekintzek makina bat prozesu biologikotan parte hartzen baitute^[28]. Gainera, BODIPYra lotuta dagoen atal honek helburua zehazteko eragile gisa^[29] jarduten du eta barneratze prozesua errazten du^[30], toxikotasun maila baxuagoa erakutsiz^[31].



3.2. Irudia. Fluoreszenteak diren babestutako eta babestugabeko mono-, di-, eta trisakaridoen egitura molekularrak (Bz = bentzoil).

Oligosakaridoak sintetizatu nahi ditugunean, glikosilazio protokoloak^[32] erabili behar dira non talde babesleen estrategiaz baliatzen garen^[33]. Honi buruz, "behin-behineko" talde babesleak (Bz) erabili daitezke (BC28, BC40 eta BC38a), zein amaieran elimina daitekeen uretan disolbagarriak diren konposatu babestugabeak (H) eratuz (BC15, BC17 eta BC38b). Bestalde, lan honetan, izaera fotonikoa hobetzekotan 1go Kapituluuan azaldutako antzeko protokoloari jarraituz (N-BODIPYen kasuan bezalaxe), boro atomoari lotutako fluor atomoak (BC17) ziano taldeengatik ordezkatu ziren dagozkien C-BODIPYak (BC15, BC28, BC40 eta BC38a-b) lortuz eta amaierako koloratzailean txertatutako sakarido kopuru desberdinaren ikerketa ere aurrera eraman zen (monosakaridoak BC15, BC28 eta BC17; disakaridoa BC40; eta trisakaridoak BC38a-b).

3.1.1. Propietate fotofisikoak

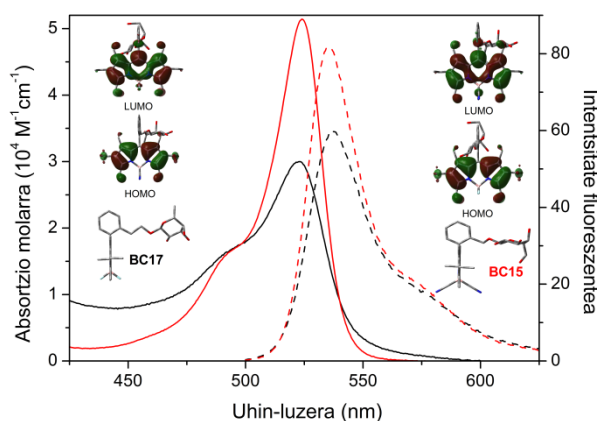
Oro har, konposatu hauek guztiek joera antzekoa erakusten dute PM567 erreferentziarekin konparatuz, banda espektralaren kokapenari zein euren probabilitateari dagokionez. Izan ere, kasu gehienetan, ahalmen fluoreszentea 0.80 baino altuagoa da (3.1. Taula), PM567 bezalakoa. Hortaz, C-8-bentzil atalean orto posizioan karbohidratoen gehikuntzaren estrategia egokia da fluoreszenteak diren sakaridoak garatzeko, 8-arilo ordezkatzaillearen presentziak fluoroforoa egonkortzen duela ezaguna baita^[34] tamaina handiko sakaridoek ezartzen duten eragozpen esterikoa dela eta, zeinek egitura molekular trinkoa ziurtatzen duen desaktibazio ez-erradiatzailearen probabilitate baxuarekin batera.

3.1. Taula. BODIPy markatutako karbohidratoen propietate fotofisikoak disolbatzaile desberdinetan disolbatuta. Disolbatzaileak apolarrenetik (ziklohexano) polarrenera (ura) ordenatuta daude. PM567 koloratzaile komertzialak metanolean dituen propietate fotofisikoak konparazio gisa gehitu dira.

Koloratzailea	λ_{ab} [nm]	ϵ_{max} [10 ⁴ M ⁻¹ ·cm ⁻¹]	λ_{fl} [nm]	ϕ	τ [ns]	$k_{fl}^a)$ [10 ⁸ s ⁻¹]	$k_{nr}^b)$ [10 ⁸ s ⁻¹]
PM567	516.0	6.9	534.0	0.81	6.10	1.33	0.31
BC15							
Etil azetato	523.5	7.9	534.0	0.85	6.73	1.26	0.22
Metanol	523.5	7.7	535.0	0.87	7.21	1.20	0.18
Ura	524.0	5.1	535.5	0.82	7.28	1.12	0.25
BC17							
Etil azetato	523.5	7.0	536.0	0.66	6.29	1.05	0.54
Metanol	523.0	5.4	536.0	0.74	6.67	1.11	0.39
Ura	523.0	3.0	533.5	0.60	6.86	0.88	0.58
BC28							
Ziklohexano	528.0	7.0	536.5	0.82	6.22	1.32	0.29
Etil azetato	525.0	6.9	535.0	0.81	6.74	1.20	0.28
Metanol	525.0	6.7	535.5	0.81	7.24	1.12	0.26
BC40							
Ziklohexano	527.0	5.1	534.0	0.77	6.21	1.24	0.37
Etil azetato	524.5	6.0	534.0	0.87	7.16	1.21	0.18
Metanol	524.5	6.2	534.0	0.82	6.71	1.22	0.27
BC38a							
Ziklohexano	527.5	5.8	536.5	0.75	6.14	1.22	0.41
Etil azetato	524.0	6.6	534.5	0.85	6.59	1.29	0.23
Metanol	525.0	6.6	533.5	0.83	6.97	1.19	0.24
BC38b							
Etil azetato	524.5	4.7	534.0	0.66	6.61	1.00	0.51
Metanol	524.0	6.9	535.0	0.81	7.18	1.12	0.27
Ura	525.0	5.2	537.0	0.77	7.29	1.05	0.32

^{a)}Fluoreszentzia konstantea; ^{b)}Desaktibazio ez-erradiatzailearen konstantea.

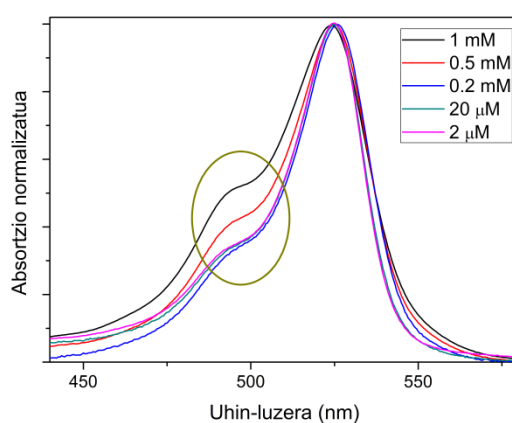
Era berean, kalkulu teorikoek (B3LYP/6-311G*) C-8-bentzil atala nukleo kromoforekiko ia ortogonalki mantentzen dela aurreikusten dute (BC15 eta BC17 konposatu analogoen angelu diedroa 85-90° ingurukoa da oinarrizko egoeran, ikusi 3.3. Irudia) bere mugikortasun askean (ikusi k_{nr} balioak 3.1. Taulan) parte hartzen duen desaktibazio ez-erradiatzailearen probabilitatea txikiagotuz (barne aldaketa). Gainera, antolamendu ortogonal honek funtzionalizazioak propietate fotofisikoetan duen eragin baxua azaltzen du (3.1. Taula). Horregatik, sakaridoen unitate kopurua, talde babesleak eta 8-ariloaren eta sakaridoaren arteko katearen luzera garrantzi gutxiak dira. Fluor atomoak ziano taldeengatik ordezkatzean boro zubian aurrera eramandako aldaketa kimikoak igorpen fluoreszentearen hobekuntza txikia eta bizitza-denboraren luzapena (7 ns baliotara helduz) eragiten ditu. Ondorioz, C-BODIPY konposatuek euren F-BODIPY analogoek baino etekin kuantiko balio altuagoak erakusten dituzte (0.80 baino altuagoak), azkeneko hauen balio gehienak 0.75 edo beherako balioen inguruan daudelarik. Emaitza hauek boroaren erdialdean antzeko funtzionalizazio eredua duten eta aurretik argitaratutako emaitzekin bat datoz^[35].



3.3. Irudia. BC17 (beltza) eta bere analogoa den BC15 (gorria) BODIPYz markaturiko monosakaridoen absortzio (lerro lodia) eta fluoreszentsia (etekin fluoreszentearen bitartez eskalatuta, lerro etena) espektroak uretan. Trantsizio elektronikoko nagusi horietan teorikoki kalkulaturako (B3LYP/6-311G*) orbital molekularren mapak eta oinarrizko egoeren geometria optimizatuak ere gehitu dira.

Espero lez, babesgabeko sakaridoak dituzten BODIPak (BC15, BC17 eta BC38b) uretan disolbagarriak dira eta igorpen fluoreszente sendoa erakusten dute (3.1. Taula), karbohidratoentzako fluoreszentsia proba ezin hobea izanez. Konposatu hauek, aldiz, ez dira ziklohexanoan disolbatzen babestutako sakaridoak daramatzatenak disolbagarriak diren bitartean, baina, aldi berean, azken hauek ez dira uretan disolbatzen. Hots, konposatuak zenbat eta babestuago egon, orduan eta disolbagarriagoak dira disolbatzaile polarretan, disolbatzaile apolarretan nekez disolbatzen diren bitartean. Hala

eta guztiz ere, uretan disolbagarriak diren konposatuaren kontzentrazioa handitzen denean agregatzeko joera dute. Esate baterako, **BC38b** koloratzailea 2 mM arte uretan disolbagarria da, baina 0.1 mM-eko baino kontzentrazio altuagoetan koloratzailea agregatzen hasten da, uhin-luzera baxuetan detektatutako absorbantziaren handipenaren ikus daitekeen moduan (3.4. Irudia). Emaiza hau ez-igorleak diren H motatako agregatuaren eraketaren ezaugarri bereizgarri bat da, igorpen fluoreszentea zein laser-eraginkortasuna txikiagotzen dituztenak. Kolortzaile hauek ez dute uretan laser-seinalerik erakusten, hain zuzen ere. Hala ere, BODIPYak ez direla normalean uretan disolbatzen kontuan hartzen badugu eta, kasu honetan, konposatu bat baino gehiago ingurune akuosoan 0.1 mM arte disolbagarria izatea lortu dugula gogoratuz gero, orokorrean mikroskopia biologikoan irudi argitsuak lortzeko baldintzak bete ditugu.

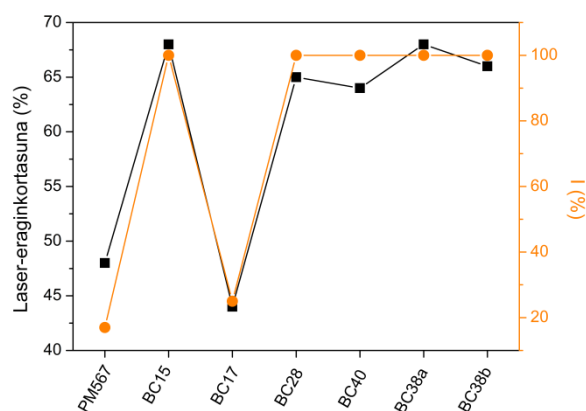


3.4. Irudia. Uretan disolbatutako **BC38b** konposatuaren absorzio espektro normalizatua kontzentrazio desberdinetan.

3.1.2. Laser-propietateak

Koloratzailearen kontzentrazio egokiena zehaztu ondoren (0.1 eta 2 mM tartean), 532 nm-an ponpatuz laser-eraginkortasuna eta fotoestabilitatea aztertu ziren. Lan honetan ikertutako kolortzaile guztiek ingurune organikoan laser jardura maximoa 570 nm-an erakusten dute eta laser-eraginkortasun balioek propietate fotofisikoen joerari jarraitzen diote. Hau da, etekin kuantiko balio altuenak dituzten koloratzaileek laser-eraginkortasun balio altuenak ere erakusten dituzte (3.5. Irudia). Areago, boro atomoaren erdialdean fluor atomoak ziano taldeengatik ordezkatzeko direnean, laser-eraginkortasuna nabarmenki igotzen da (**BC17** konposatuaren kasuan %48-tik %68-ra **BC15** konposatuan). Propietate fotofisikoetan gertatzen den moduan, laser-eraginkortasuna amaierako kolortzailean txertatzen den sakarido motarekiko guztiz independentea da,

babesgabe eta babestutako sakaridoen eta mono-, di-, eta tri-sakaridoen artean desberdintasunik ez dagoelarik.



3.5. Irudia. BODIPY-sakarido berrien laser-eraginkortasun eta fotoestabilitate balioak (100000 ponpaketa pultsoren ostean laserraren irteera intentsitatea hasierako intentsitatearehiko, I (%)) = $(I/I_0) \times 100$).

Kasu honetan, denbora luze eta irradiazio baldintza indartsupean laser-fotoestabilitatea aztertzekotan, hasieran eta 100000 ponpaketa pultsoren ostean laserrak eragindako intentsitate fluoreszenteen arteko erlazioa neurtu zen 532 nm-an zeharkako kitzikapenaren ostean. Berriz ere, konstante ez-erradiatzaile baxuenak erakusten dituzten konposatuak (ikusi 3.1. Taula) ponpaketa badintza luzeetan egonkorrenak dira koloratzailean txertatutako karbohidratoaren izaera edozein dela ere. Laser-propietateen arabera, C-BODIPYak F-BODIPYak baino oso eraginkorragoak eta fotoegonkorragoak dira, euren laser-igorpenaren intentsitatea 100000 ponpaketa pultsoren ostean aldaketa barik mantentzen baita, eskuragarri dagoen PM567 erreferentzia koloratzailea baino egonkorragoa izanez, zeinaren laser-igorpenera baldintza berdinetan %80 baino gehiago jaisten den.

Beraz, uretan disolbagarriak eta fluoreszenteak diren karbohidratoak diseinatu ditugu erantzun fluoreszente eta fotoegonkortasun nahikoarekin bioirudiaren bitartez kontrolatuak izateko. BODIPYen bitartez karbohidratoak markatzeko protokoloa arrakastatsua dela frogatu ondoren, egun karbohidratoak markatzeko π -sistema hedatua duten BODIPYak erabiltzen ari gara, 2. Kapituluaz azaldu den moduan, ehun biologikoetan gardentasuna handitzeko asmoz eta bioirudia hobetzeko behar diren eskakizunak betetzeko.

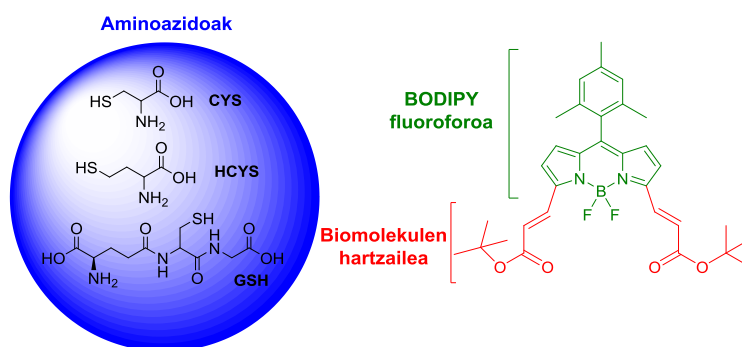
3.2. TIOLDUN AMINOAZIDOEN SENTSOREA

Biomolekulen detekzioa ingurune fisiologikoan gori-gorian dagoen ikerkuntza arloa da gaur egun, hainbat prozesu biokimikotan eta gaixotasunetan eginkizun garrantzitsua betetzen dute eta^[36,37]. Horri dagokionez, aminoazidoen detekzioa oso deigarria da, cisteina (CYS), homocisteina (HCYS) eta glutationena (GSH) bereziki^[38]. Tiol funtzio-taldea duten AA hauek hazkunde zelularrean eta ehunen hazieran parte hartzen dute, baita toxinen aurkako defentsa zelularrean ere. Are gehiago, AA hauen bertako kontzentrazioaren aldaketa gaixotasun desberdinekin lotuta dago, minbizitik Alzheimerretera gaixotasun kardiobaskular anitzetik pasatuz^[18]. Beraz, euren kontrola eta kuantifikazioa garrantzi handikoa da eta, hau betetzeko, gaur egun eskuragarri dagoen aukerarik paregabeena modu sentikor eta eraginkor batean eurak detektatzeko gai diren sentsore fluoreszenteen diseinu molekularra da. Modu honetan, gaitz hauen diagnosi goiztiarra posible izango da eta euren mekanismo biokimikoa ezagutuz gero, gaixoek lehen baino lehen tratamendu egokia jasoko dute.

Sentsoreak sortzeko estrategia mordoa daude, baina, lehen adierazi den moduan, horien artean sentsore kimiko fluoreszenteak aukerarik onenetarikoak dira^[39,40]. Sentsoreak diseinatzeko eta seinale fluoreszentearen bidez analitoaren loturaren berri emateko hurbilketa bi nagusi daude, i) *on-off* sentsoreak eta ii) sentsore ratiometrikoak: i) Analitoaren hartzaileak kromoforoaren igorpen fluoreszentearen desagerpena (*off* egoera) bultzatzen du (normalean PET prozesuaren aktibazioaren bitartez). Behin analitoa hartzailera lotu dela, prozesu ez-erradiatzaileak ezabatzen dira eta seinale fluoreszentea modu azkar batean berreskuratzen da (*on* egoera). Sentsore hauek normalean ioien detekziorako erabiltzen dira 1go Kapituluan erakutsi den moduan. ii) Hartzaileak fluoroforoaren propietate espektraletan (desplazamentu espektralak, esaterako) ustekabeko aldaketak eragiten ditu. Behin analitoak hartzailearekin elkarri eragiten dionean, aurretik aipatutako aldaketa modulatzeko da, absortzio eta/edo igorpen banden intentsitatea handitu eta/edo txikiagotzen delarik. Ondorioz, leiho espektral ezberdinak erabil daitezke analitoa kontrolatzeko eta bere kuantifikazioa aurrera eramateko.

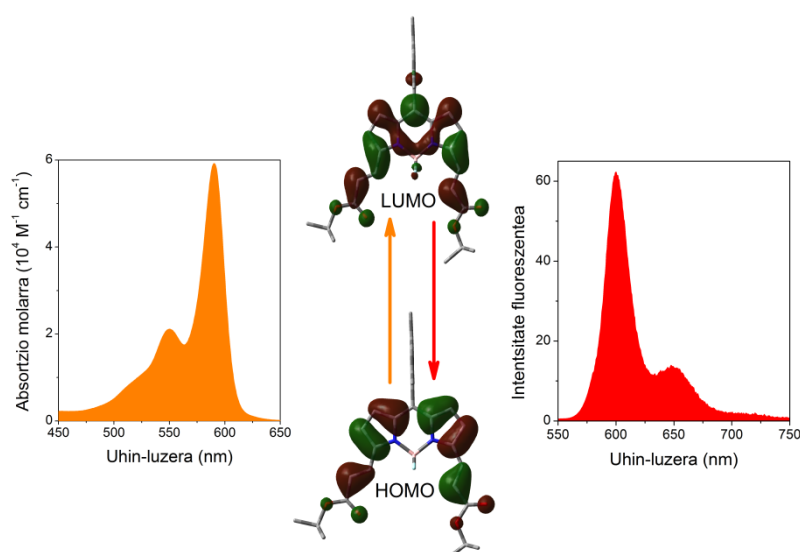
Atala honetan aipatutako tioldun AA detekziorako **BAA5** sentsore ratiometrikoa diseinatu dugu (3.6. Irudia). Honetarako, eta sintetizatutako 3,5-diformilBODIPYak aprobetxatuz, zeintzuk postfuntzionalizazio helburuetarako ezin hobeak diren, posizio kromoforiko horietan ester asegabeak lotu ziren (3.6. Irudia). Funtzionalizazio honek helburu bikoitza du. Alde batetik, banda espektralen desplazamendu batokromikoa

eragiten du ikusgaiko eremu gorrira, zeinak ehunean argiaren barneratzea handitzen duen bioinguruko interferentzia saihestuz^[18], aurretik azaldu den moduan. Beste alde batetik, funtzio-talde horiek CYS, HCYS eta GSH aminoazidoentzako hartzaile moduan dihardute, lotura bikoitzak eta karbonil taldeak AA-en nukleozalea den aminoarekin eta tiol taldearekin erreakzionatzeko joera baitute.



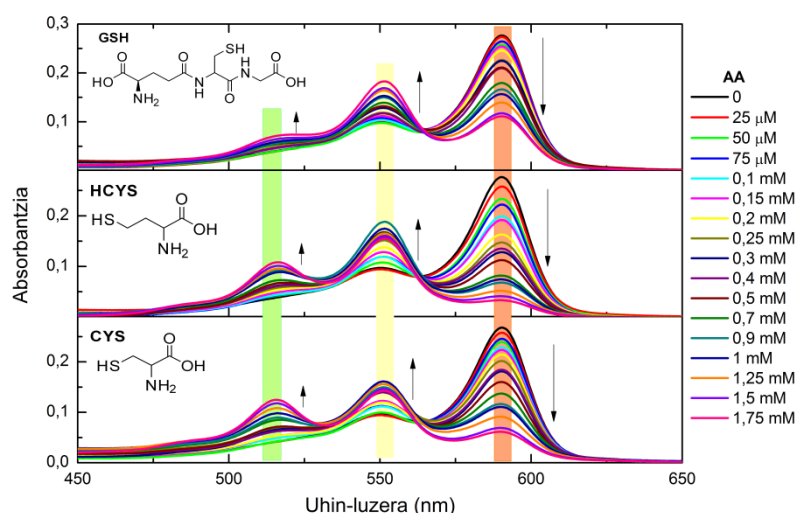
3.6. Irudia. BODIPYan oinarritutako BAA5 sentsore fluoreszentearen egitura molekularra tiol talde funtzionala duten AA detektatzeko.

Simulazio teorikoek (B3LYP/6-311G^{*}) kromoforoaren π -sistema egitura aromatiko osotik hedatuta dagoela auresaten dute dipirreno nukleoaren eta ester asegabeen arteko elkarrekintza erresonantea dela medio (3.7. Irudia). Ondorioz, absorzio banda nagusia espektro elektromagnetikoaren eremu laranja kokatuta dagoen bitartean, 590 nm inguruan eta $59000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ balioko absorzio molarrekin, igorpen fluoreszentea eremu gorrira desplazatuta dago (600 nm) 0.62 inguruko etekin fluoreszente aipagarri batekin batera eta 5.42 ns-ko bitzita-denoborekin.

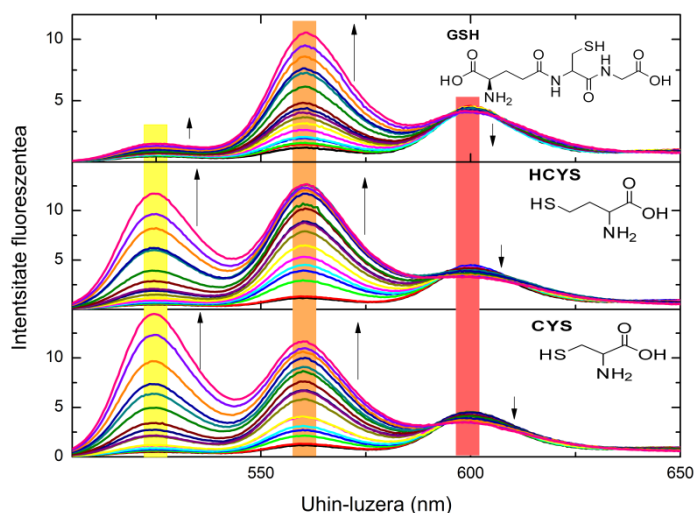


3.7. Irudia. BAA5 sentsorearen absorzio eta fluoreszentzia espektroak (koloratzaile kontzentrazioa $2 \mu\text{M}$) etanolean, trantsizio elektronikoko horietan teorikoki kalkulaturako (B3LYP/6-311G^{*}) orbital molekularren mapekin batera (HOMO eta LUMO).

Hala eta guztiz ere, ingurunean AA daudenean absortzio zein fluoreszentzia espektroen itxura aldatzen da (3.8. Irudia eta 3.9. Irudia, hurrenez hurren). Berez, banda espektralak argi eta garbi hiru bandetan banatzen dira, euren intentsitate erlatiboa ingurunekeo AA kontzentrazioaren menpe dagoelarik. AA kontzentrazioaren igoerak uhin-luzera altueneko (590 nm) absortzio maximoaren intentsitatearen jaitsiera eragiten du, uhin-luzera baxueneko bi absortzioren igoerarekin batera (550 nm eta 515 nm). Joera honi jarraituz, antzeko aldaketak, baina are nabarmenagoak, fluoreszentzia espektroan ikusi egin dira (3.9. Irudia); 600 nm-ko igorpenak progresiboki behera egiten duen bitartean, 560 nm eta 525 nm-ko bi igorpen berriek gora egiten dute. Kontzentrazio baxuetan ere (mikromolar baino baxuagoak) 560 nm-an zentratutako seinale fluoreszentearen igoera aipagarria ere bada. Hortaz, sentsore hau nahiko sentikorra da eta AA erraz detektatzen ditu. AA kontzentrazio nahiko altuak beharrezkoak dira, aldiz, 525 nm inguruko igorpenaren seinalearen igoera argi eta garbi ikusi nahi bada. Nahiz eta bilakaera espektral hauek berdinak izan aztertutako AA edozein dela ere, **BAA5** sentsoreak GSH-rekiko CYS eta HCYS aminoazidoekiko baino sentikortasun txikiagoa erakusten du batez ere uhin-luzera baxuenean, lehenengoaren tamaina handiak erreakzio lekura iristeko aukerak murrizten baititu.

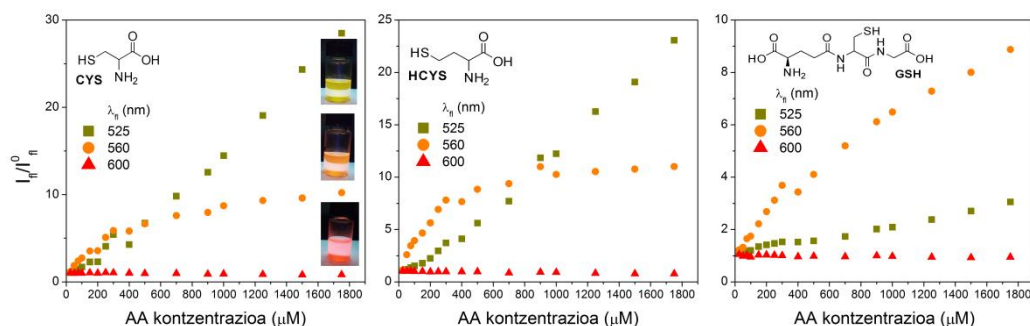


3.8. Irudia. *BAA5* sentsorearen absortzio espektroa (koloratzaile kontzentrazioa $2\ \mu\text{M}$) CYS, HCYS eta GSH aminoazidoen kontzentrazio desberdinak gehitu ondoren etanol/HEPES (1:1) nahastean ingurune fisiologikoa antzeratu nahian.



3.9. Irudia. BAA5 sentsorearen fluoreszentszia espektroa (koloratzaile kontzentrazioa $2 \mu\text{M}$) CYS, HCYS eta GSH aminoazidoen kontzentrazio desberdinak gehitu ondoren etanol/HEPES (1:1) nahastean ingurune fisiologikoa antzeratu nahian.

AA hauen kuantifikazioa ingurunean igorpen intentsitatearen igoera/jaitsieraren bitartez aurrera eraman daiteke. Berez, hiru detekzio kanal eskuragarri daude, BODIPY koloratzailean oinarritutako sentsore hau oso sentikor bihurtuz adierazle ratiometriko gisa. AA desberdinak detektatzeko moldakortasuna 3.10. Irudian ikus daiteke. Irudi honetan kanal bakoitzean intentsitate fluoreszentearen bilakaera ikus daiteke hautatutako uhin-luzeran, eta aipatzekoa da 560 nm-ko (igorpen laranja) eta 525 nm-ko (igorpen horia) intentsitate fluoreszentearen igoera dela medio horiek kanalik eraginkorrenak direla. Areago, modu kuantitatiboaz gain, detekzio bakoitza kualitatiboki erraz egin daiteke begi bistaz igorpenean gertatzen den kolore aldaketari esker, disoluzioaren igorpen kolorea gorritik laranja aldatzen baita AA kontzentrazio baxuetan, eta laranjaetik horira kontzentrazio altuetan. Hortaz, bere izaera ratiometrikoaz gain, aldi berean sentsore kolorimetrikoa diseinatu dugula esan daiteke.



3.10. Irudia. Ingurunean AA daudenean eta haiek gabeko intentsitate fluoreszenteen arteko erlazioa CYS, HCYS eta GSH kontzentrazio desberdinetan eta hautatutako hiru detekzio kanaletan; 525 nm, 560 nm eta 600 nm.

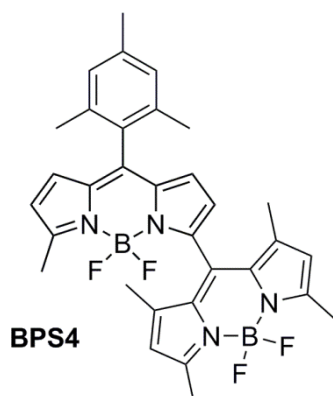
Detekzio honen azpian gertatzen den mekanismoa azaltzeko asmoz, AAen nukleozaleak diren tiol taldeen eta kormofoaren ester asegabeen (biniloa eta karboniloa erreazio leku gisa) arteko erreazio kimikoa gertatzen dela suposatzen dugu. Elkarrekintza honen ostean π -sistemaren konjokazioa txikiagotzen da, uhin-luzera baxuagoetan seinale berri bat agertzen delarik. Hots, AA eta karboniloaren arteko elkarrekintza selektiboak BODIPY nukleoaren π -sistemaren hedapena murriztuko luke egituran bi binilo taldeak soilik izan arte, 550 nm eta 560 nm-ko absortzio eta fluoreszentzia bandak sortuz, hurrenez hurren. Binilo talde hauekin elkarrekintza gehigarria gertatzekotan π -sistema are gehiago murriztuko litzateke egituran BODIPY nukleoa baino ez izan arte, 515 nm eta 525 nm-ko absortzio eta fluoreszentzia banden erantzulea izanez, alegia. Azkeneko esleipena BODIPY koloratzaile sinplearen ohiko absortzio eta igorpen seinaleekin bat dator eta binilo talde α -pirrolikoen loturaren ondorioz geratzen den 35 nm-ko desplazamendu batokromikoa ere azalpen sendoa da 550 nm eta 560 nm-ko absortzio eta fluoreszentzia banden agerpena argitzeko, hain zuzen ere.

Ondorioz, BODIPYan oinarritutako AA sentsore ratiometrikoa diseinatu dugu modu sentikor eta zuzen batean CVS, HCYS eta GSH detektatzeko, hiru kanal desberdinei esker euren kuantifikazioa ahalbidetuz, AA kontzentrazioa igotzen den heinean igorpen kolorea gorritik laranja eta horira aldatzen baita. Tiol taldea duten AA arteko bereizkortasuna handitzeko asmotan arlo honen inguruan gehiago ikertzen ari gara, horietako bat bakarrik selektiboki detektatzeko ingurunean edozein AA dagoela ere.

3.3. HALOGENORIK GABEKO OXIGENO SINGLETE FOTOSENTIKORTZAILEA

Arestian adierazi den moduan, oxigeno singletea eratzeko ISC prozesuak sustatu behar dira. BODIPY koloratzaileak normalean fluoreszenteak dira eta ez dute triplete egoera populatzeko beharrezkoa den eraginkortasuna erakusten. Eragozpen hau gainditzeko estrategiarik ezagunena kromoforora halogeno bezalako atomo astunak^[20] lotzea da. Zoritxarrez, atomo astunek $T_1 \rightarrow S_0$ ISC prozesu azkarra eragiten dute, triplete egoeraren bizitza-denbora balioa baxua izanez eta PDT-an duten helburua mugatuz^[41]. Atomo astunek gainera fotosentikortzailearen toxikotasuna handiagotzen dute normalean irradazioa argirik ez dagoenean, euren biobateragarritasuna txikiagotuz^[42].

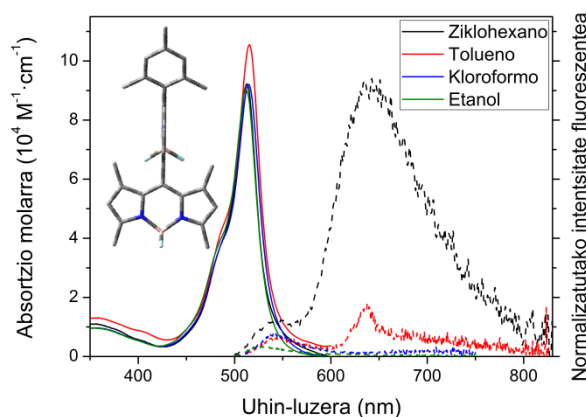
Triplete egoera populatzeko gai den koloratzaileak normalean seinale fluoreszente baxua erakutsi arren, bi propietateak modu egokian orektzea guztiz beharrezkoa dela aipatzekoa da, akzio fotoniko bikoitza lortuz^[19,43]. Modu honetan, terapia zein diagnostika batera lortzen dira. Diagnostika, biobateragarria den sistema kimiko bakar baten bitartez bultzatuta, guztiz interesgarria da sendatu behar den lesioaren in situ bistaratzearren laguntzaren bidez minbiziaren tratamenduaren arrakasta handitzen baitu^[44]. Gaur egun praktika honek minbizi mota desberdinak tratatzeko etorkizun handienetarikoa modurik egokiena dirudi^[45]. Hori dela eta, atal honetan halogenorik gabeko **BPS4** BODIPY dimeroa arrakasta handiz diseinatu eta sintetizatu dugu, aurretik aipatutako formil taldea duten BODIPY aitzindariaren laguntzarekin (3,5-diformilBODIPYak, 3.2. Atala), zein, bere geometriari esker^[46], ICT prozesuaren bitartez triplete egoera populatzeko eta kromoforo berdinatik $^1\text{O}_2$ sortzeko gai den (3.11. Irudia).



3.11. Irudia. PDT-rako halogenorik gabeko **BPS4** fotosentikortzailearen egitura molekularra.

Dimero zurrun eta simetriko honen absortzio espektroa monomeroaren antzeko uhin-luzeran (PM546 koloratzailea, zeinaren absortzio banda 490-500 nm tartean kokatuta dagoen) zentratuta dagoen banda bakar batez osatuta dago (3.12. Irudia). Honek BODIPY unitateen artean ez dagoela inolako elkarrekintza erresonante ezta exzitonikorik ere adierazten du. Gainera, 3-8 posizioetako alboko metilo taldeek sorzten duten eragozpen esterikoak bi unitate kromoforikoak bata bestearekiko ortogonalki kokatzen ditu (3.12. Irudia). Halere, bi BODIPYek ez dute absortzio totalen era gehigarri batean erakarpenik egiten, absortzio molar koefizientea egitura berberan dauen bi BODIPY unitate kromoforikok erakusten dutena baino askoz baxuagoa baita ($9 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ingurukoa PM546 koloratzaile analogoak $8 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ balioa erakusten duen bitartean). Absortzio probabilitateko murrizketa honek, beste banda espektralaren edo desplazamenduaren gabeziarekin batera, nahiz eta akoplamendu elektronikorik ez egon, trantsizio elektronikoa modu batean edo bestean eragin duela azaltzen du. Hipotesi

posibleenatariko bat kitzikapenaren ostean BODIPY unitate batetik bestera aurrera eramaten den elektro transferentzia prozesuan oinarritzen da, hau da, trantsizio elektronikoak karga transferentzia izaera hartzen du eta absorzio ahalmena murrizten da.



3.12. Irudia. *BPS4* ($2 \mu\text{M}$) koloratzailearen absorzio (lerro lodia) eta normalizatutako fluoreszentzia (lerro etena) espektroak disolbatzaile desberdinetan. Teorikoki kalkulaturako ($\omega\text{B97XD/6-311G}^*$) oinarritzko egoeraren geometria optimizatuaren bista bat ere gehitu da.

Seinale fluoreszentea nahiko ahula da eta fluoreszentzia espektroa igorpen bikoitzaz osatuta dago, bata 540 nm-an eta ahula (monomeroen fluoreszentzia maximoarekin bat etorritik) eta bestea 640 nm-an eta nagusia dena (3.12. Irudia). Gehiago dena, disolbatzailearen polaritatea handitzen den heinean uhin-luzera altuko igorpena ahulago bilakatzen da, ingurune polarrean desagertu arte, non uhin-luzera baxuko igorpena mantentzen den pixka bat deuseztatuta egon arren (3.12. Irudia). Nahiz eta erantzun fluoreszentea txikia izan, ez da hutsala eta etekin kuantiko balioak disolbatzaile apolarretan altuagoak dira (3.2. Taula). Izan ere, **BPS4** konposatuaren desaktibazio kurba ondo doitzeko doikuntza bi-esponentziala beharrezkoa da, non bizitza-denbora luzeeneko pisu estatistikoa (5 ns ingurukoa) pixkanaka txikiagotzen da bizitza-denbora azkarrenaren alde (1 ns baino baxuagoa) disolbatzailearen polaritatea handitzen den heinean. Propietate hauek guztiek dimero honen egoera kitzikatuaren dinamika BODIPY azpiunitateen arteko ICT prozesuaren bidez zuzenduta dagoela aditzera ematen dute. Beraz, uhin-luzera baxuko igorpena LE egoerari esleitzen zaion bitartean, uhin-luzera altukoa, eta disolbatzailearen polaritatearekiko oso sentikorra dena, ICT egoerari.

3.2. Taula. BPS4 konposatuaren porpietate fotofisikoak disolbatzaile desberdinetan disolbatuta. Disolbatzaileak polartasun tixikienetik (ziklohexano) polartasun altuenera (etanol) ordenatuta daude.

Disolbatzailea	λ_{ab} [nm]	ϵ_{max} [10 ⁴ M ⁻¹ ·cm ⁻¹]	λ_{fl} [nm]	ϕ	τ [ns]	$\phi_a^{a)}$
ziklohexano	513.0	9.2	642.5 537.5	0.046	2.58 (19%)–5.35 (81%)	-
tolueno	515.0	10.5	637.5 546.5	0.020	2.68 (25%)–4.95 (75%)	0.54
kloroformo	514.5	9.2	540.5	0.008	2.08 (20%)–5.07 (80%)	0.30
etanol	512.0	9.0	527.5	0.003	0.61 (62%)–5.82 (38%)	-

^{a)} ¹O₂-sorkuntzaren etekin kuantikoa.

Bibliografian ICT egoera populatzeko eta nola triplete egoera bilakatzen den prozesuie buruz eztabaida interesgarria dago. ICT egoerara heltzeko mekanismoa simetria apurtzearen bidezko karga transferentzian datza (*Symmetry-Breaking Charge Transfer*, SBCT)^[47-49], non agintzen duen indarra prozesuan parte hartzen duten zatien arteko antolamendu geometriko ortogonal den, elektro-emaileak eta -hartzaileak dituzten koloratzaileetan aurkitzen den ohiko push-pull indarra alde batera utzita. Zuzenki lotuta dauden dimeroetan, karga transferentziaren birkonbinazio probabilitatea (*Charge Recombination*, CR) bideragarria da berezko fluoreszentiaren detekzioa ahalbidetuz eta triplete egoera populatzeko ere gai izanez. Horregatik zenbait ikertzailek ICT prozesu honi spin-orbita akoplamendu bidezko karga transferentzia (*Spin-Orbit coupling Charge Transfer*, SOCT) deitzen diote. ICT egoera disolbatzailearen polaritatearen arabera egonkortzen den bitartean, CR ez da hain eraginkorra eta karga-banaketa (*Charge Separation*, CS) faboratzen da, desaktibazio ez-erradiatzailea handiagotuz eta ondoriozko seinale fluoreszente zein triplete egoeraren populazioaren galera bultzatuz. Horregatik dimero honetan oxigeno singletearen sorkuntza ICT bitartekaria duen ISC prozesu baten bitartez aurrera eramaten da. Ondorioz, BPS4 dimeroa ¹O₂ eratzekeo gai da %54 eta %30 etekina erakutsiz tolueno eta kloroformoan, hurrenez hurren. Igurune polarreko igoera horrek aurretik adierazitako CR eta CS prozesuen arteko oreka berresten du. Beste hitzez, CR bitartekaria duen ICT prozesua beharrezkoa da triplete egoerara heltzeko eta oxigeno singletearen sorkuntza sustatzeko, baina ICT prozesua gehiegi faboratzen bada, singletearen sorkuntza txikiagotzen da kitzikapen energia CS-rekin lotuta dauden erlaxazio kanal ez-erradiatzaileen bitartez disipatzen baita.

Hortaz, dimero honek halogenorik gabeko oxigeno fotosentikortzaile moduan dihardu, minbizi gaixotasunetarako argiaren bidez zuzendutako terapietan potentzial handia erakutsiz.

Erantzun fluoreszentea eta oxigeno singletearen eraketa orekatzeko gaur egun geometria eta lotura-posizio ezberdinak dituzten dimeroen baita trimeroen diseinuan ere lan egiten ari gara. Horretarako, eta teragnosian erabilgarriak izan daitezen, fotosentikortzaile jarduera altua edo seinale fluoreszente nahikoa erakusten duten hamaika konposatu frogatzen ari gara.

Bestalde, saiakuntza klinikoak eta atal honetan azaldutako fluoreszentzia probak, sentsoreak eta fotosentikortzaileen bideragarritasuna ingurune biologikoan aurrera eramateko lankidetzaren oinarriak finkatzen ari gara.

Bibliografia

- [1] Guo, Z.; Park, S.; Yoon, J.; Shin, I.; *Chem. Soc. Rev.*, **2014**, 43, 16-29.
- [2] Kobayashi, H.; Ogawa, M.; Alford, R.; Choyke, P. L.; Urano, Y.; *Chem. Rev.*, **2010**, 110, 2620-2640.
- [3] Kowada, T.; Maeda, H.; Kikuchi, K.; *Chem. Soc. Rev.*, **2015**, 44, 4953-4972.
- [4] Weissleder, R.; Pittet, M. J.; *Nature*, **2008**, 452, 580-589.
- [5] Beliu, G.; Sauer, M.; *Light: Science & Applications*, **2020**, 9, 1-2.
- [6] Wen, G.; Vanheusden, M.; Acke, A.; Valli, D.; Neely, R. K.; Leen, V.; Hofkens, J.; *ACS Nano*, **2020**, 14, 7860-7867.
- [7] Teria, T.; Nagano, T.; *Current Opinion in Chemical Biology*, **2008**, 12, 515-521.
- [8] Abrahamse, H.; Hamblin, M. R.; *Biochem. J.*, **2016**, 473, 347-364.
- [9] Platnich, C. M.; Rizzuto, F. J.; Cosa, G.; Sleiman, H. F.; *Chem. Soc. Rev.*, **2020**, 49, 4220-4233.
- [10] Janssen, V. M.; Van Houten, B.; Borm, P. J.; Mossman, B. T.; *Lab Invest.* **1993**, 69, 261-274.
- [11] Geddes, C. D.; Lakowicz, J. R.; *Reviews in Fluorescence, Organized assemblies probed by fluorescence spectroscopy*, Springer, Baltimore, Volume 2, 1-23, **2005**.
- [12] Lu, H.; Mack, J.; Yang, Y.; Shen, Z.; *Chem. Soc. Rev.*, **2014**, 43, 4778-4823.
- [13] Hama, Y.; Urano, Y.; Koyama, Y.; Bernardo, M.; Choyke, P. L.; Kobayashi, H.; *Bioconjugate Chem.*, **2006**, 17, 1426-1431.
- [14] Yuan, L.; Lin, W.; Zheng, K.; He, L.; Huang, W.; *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, 42, 622-661.
- [15] <https://www.bronzedbodyspraytan.com/led-light-therapy.html>
- [16] Kaur, P.; Singh, K.; *J. Mater. Chem. C.*, **2019**, 7, 11361-11405.
- [17] Yan, H.; Yalagala, R. S.; Yan, F.; *Glyconconj. J.*, **2015**, 32, 559-574.
- [18] Geddes, C. D.; *Reviews in Fluorescence, Organized assemblies probed by fluorescence spectroscopy*, Springer, Berlin, 1st Ed., **2017**.
- [19] Kamkaew, A.; Lim, S. H.; Lee, H. B.; Kiew, L. V.; Chung, L. Y.; Burgess, K.; *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, 42, 77-88.
- [20] Epelde-Elezcano, N.; Prieto-Montero, R.; Martínez-Martínez, V.; Ortiz, M. J.; Prieto- Castañeda, A.; Peña-Cabrera, E.; Belmonte-Vázquez, J. L.; López-Arbeloa, I.; Brown, R.; Lacombe, S.; *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2017**, 19, 13746-13755.
- [21] Zhao, J.; Xu, K.; Yang, K.; Wang, Z.; Zhong, F.; *Chem. Soc. Rev.*, **2015**, 44, 8904-8939.
- [22] Vegesna, G. K.; Sripathi, S. R.; Zhang, J.; Zhu, S.; He, W.; Luo, F. T.; Jhang, W. J.; Frost, M.; Liu, H.; *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2013**, 5, 4107-4112.
- [23] Bañuelos, J.; *Chem. Rec.*, **2016**, 16, 335-348.
- [24] Kesavan, P. E.; Pandey, V.; Raza, M. K.; Mori, S.; Gupta, I.; *Bioorganic Chemistry*, **2019**, 91, 103139.
- [25] Pliquett, J.; Dubois, A.; Racœur, C.; Mabrouk, N.; Amor, S.; Lescure, R.; Bettaieb, A.; Collin, B.; Bernhard, C.; Denat, F.; Bellaye, P. S.; Paul, C.; Bodio, E.; Goze, C.; *Bioconjugate Chem.*, **2019**, 30, 1061-1066.
- [26] Florès, O.; Pliquett, J.; Galan, L. A.; Lescure, R.; Denat, F.; Maury, O.; Pallier, A.; Bellaye, P. S.; Collin, B.; Mème, S.; Bonnet, C. S.; Bodio, E.; Goze, C.; *Inorg. Chem.*, **2020**, 59, 1306-1314.
- [27] Niu, S. L.; Ulrich, G.; Ziessel, R.; Kiss, A.; Renard, P. Y.; Romieu, A.; *Org. Lett.*, **2009**, 11, 2048-2052.
- [28] Yang, Y.; Jia, T. W.; Xu, F.; Li, W.; Tao, S.; Chu, L. Q.; He, Y.; Li, Y.; Iyer, Y. S. S.; Yu, P.; *ACS Appl. Nano Mater.*, **2018**, 1, 1058-1065.
- [29] Dou, W. T.; Zeng, Y. L.; Lv, Y.; Wu, J.; He, X. P.; Chen, G. R.; Tan, C.; *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2016**, 8, 13601-13606.
- [30] Nguyen, A. L.; Griffin, K. E.; Zhou, Z.; Fronczek, F. R.; Smith, K. M.; Vicente, M. G. H.; *New J. Chem.*, **2018**, 42, 8241-8246.
- [31] Liu, F.; Tang, P.; Ding, R.; Liao, L.; Wang, L.; Wang, M.; Wang, J.; *Dalton Trans.*, **2017**, 46, 7515-7522.
- [32] Nielsen, M. M.; Pedersen, C. M. M.; *Chem. Rev.*, **2018**, 118, 8285-8358.

- [33] Lipták, A.; Borbás, A.; Bajza, I.; *Protecting Group Manipulations in Carbohydrate Synthesis in Comprehensive Glycoscience. From Chemistry to Systems Biology*, Elsevier, Amsterdam, **2007**.
- [34] Mula, S.; Ray, A. K.; Banerjee, M.; Chaudhuri, T.; Dasgupta, K.; Chattopadhyay, S.; *J. Org. Chem.*, **2008**, *73*, 2146-2154.
- [35] Duran-Sampedro, G.; Esnal, I.; Agarrabeitia, A. R.; Bañuelos, J.; Cerdán, L.; García-Moreno, I.; Costela, A.; López-Arbeloa, I.; Ortiz, M. J.; *Chem. Eur. J.*, **2014**, *20*, 2646-2653.
- [36] Biju, V.; *Chem. Soc. Rev.*, **2014**, *43*, 744-764.
- [37] Ulrich, S.; Dumy, P.; Boturyn, D.; Renaudet, O.; *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, **2013**, *23*, 5-15.
- [38] Chen, X.; Zhou, Y.; Peng, X.; Yoon, J.; *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, *39*, 2120-2135.
- [39] Cao, D.; Liu, Z.; Verwilst, P.; Koo, S.; Jangili, P.; Kim, J. S.; Lin, W.; *Chem. Rev.*, **2019**, *119*, 10403-10519.
- [40] Wu, D.; Sedgwick, A.C.; Gunnlaugsson, T.; Akkaya, E.U.; Yoon, J.; James, T.D.; *Chem. Soc. Rev.*, **2017**, *46*, 7105-7123.
- [41] Azenha, E. G.; Serra, A. C.; Pineiro, M.; Pereira, M. M.; Seixas de Melo, J.; Arnaut, L. G.; Formosinho, S. J.; d'A Rocha Gonsalves, A. M.; *Chem. Phys.*, **2002**, *280*, 177-190.
- [42] Zou, J.; Yin, Z.; Ding, K.; Tang, Q.; Li, J.; Si, W.; Shao, J.; Zhang, Q.; Huang, W.; Dong, X.; *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2017**, *9*, 32475-32481.
- [43] Ogilby, P. R.; *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, *39*, 3181-3209.
- [44] Yordanova, A.; Eppard, E.; Kerpig, S.; Bundschuh, R. A.; Schçnberger, S.; Gonzalez-Carmona, M.; Feldmann, G.; Ahmadzadehfar, H.; Essler, M.; *Oncotargets Ther.*, **2017**, *10*, 4821-4828.
- [45] Van Straten, D.; Mashayekhi, V.; De Bruijn, H. S.; Oliveira, S.; Robinson, D. J.; *Cancers*, **2017**, *9*, 19.
- [46] Jiménez, J.; Prieto-Montero, R.; Maroto, B. L.; Moreno, F.; Ortiz, M. J.; Oviden-Sánchez, A.; López-Arbeloa, I.; Martínez-Martínez, V.; de la Moya, S.; *Chem. Eur. J.*, **2020**, *26*, 601-505.
- [47] Golden, J. H.; Estergreen, L.; Porter, T.; Tadle, A. C.; Sylvinson, D.; Facendola, J. W.; Kubiak, C. P.; Bradforth, S. E.; Thompson, M. E.; *ACS Appl. Energy Mater.*, **2018**, *1*, 1083-1095.
- [48] Liu, Y.; Zhao, J.; Iagatti, A.; Bussotti, L.; Foggi, P.; Castellucci, E.; Di Donato, M.; Han, K. L.; *J. Phys. Chem. C*, **2018**, *122*, 2502-2511.
- [49] Kellog, M.; Akil, A.; Sylvinson, D.; Ravinson, M.; Estergreen, L.; Bradforth, S. E.; Thompson, M. E.; *Faraday Discuss.*, **2019**, *216*, 379-394.

4. KAPITULUA

Bis-BODIPY Laser-Koloratzaileak Erantzun Kiroptikoarekin

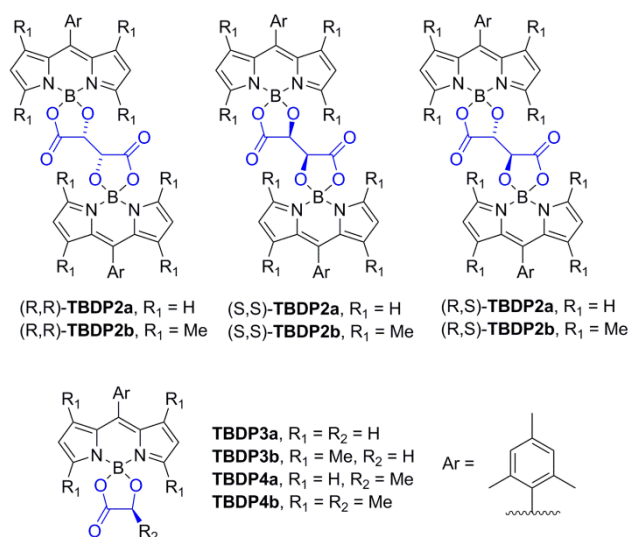
Kiralitateak arreta handia jaso du azken urteetan, bioteknologia arloan gaur egun gori-gorian dagoen gaia izanik^[1]. Ikusgaiko argia norabide zehatz batekin (ezker edo eskuin) barreiatzeko gai diren sistemen garapena oso interesgarria da, naturan propietate bereizgarri hau duten milaka egitura makroskopiko baitaude (gizakien DNA edo itsas maskorra, esaterako)^[2]. Biomolekula gehienak kiralak dira eta molekulen eta sendagaien arteko elkarrekintza bereziki enantiomeroen menpe dago. Izan ere, kiralitatea inguruko disimetriaren ondorio zuzena da eta horri buruzko teknologiaren aurrerapenak osagai biomolekularren informazio kirala lortzea ahalbidetzen du^[3], organismo bizidunetan bereziki. Kiralitatearen rola, gertaera biokimiko askori datxekion propietatea, material eta konposatu kimikoen sintesi enantioselektiboa bultzatu du aktibitate optikoa eragiten dituzten diseinu berritzaileekin batera. Testuinguru honetan, nanozientzia eta koloratzaileen kimika sinergian aplikatzen ari dira CD erakusten duten sistema molekularrak garatzeko. Espektroskopia honek absortzioan ezker eta eskuin argi zirkular polarizatuak desberdintzen ditu eta g_{abs} disimetria faktorearen bitartez kuantifikatzen ditu, oinarrizko egoeran egitura kiralei buruzko informazio optikoa jakinaraziz^[4]. Are gehiago, polarizazio zirkularrarekiko lehenetsuneko zeinua igortzeko gai diren sistemen

garapenean interes berezia dago. CPL^[3,5], lumineszentzia disimetria faktorea (g_{lum}) kuantifikatzen du, alegia. Azken hau, erreminta oso eraginkorra da sistema adierazgarri hauetan informazio baliagarria lortzeko: estereokimika, konformazioa eta 3D buruzko egitura infromazioa. Areago, aktibitate kirala antzemateko berezimen bikainari esker CPL espektroskopiak material fotoniko adimentsuak potentzial handiaz hornitzen ditu etorkizuneko teknologia optikoan^[6], 3D erakusketan^[7], informazioaren biltegitate eta prozesamenduan^[8], segurtasun altuko kriptografia kiroptikoa barne^[9], proba eta propietate biologikoetan^[10], CPL laserretan^[11], edo CPL sentsoare enantioselektiboetan^[12].

Hortaz, ukazina da CPL-an oinarritutako teknologia Biologia arloan etorkizun handiko erronka dela, berrikuntza teknologiko batzuk behar dituen arren. Beraz, gertaera molekularrak monitorizateko beharra, euren kokapen espaziala miatzen den bitartean, oraindik mikroskopia zirkular polarizatuaren garapen sakonago bat eskatzen du. Orain arte lantanido konplexuek CPL portaerarik onena erakutsi dute eta proba molekularretan erabili phi dria^[13-15], disoluzioan batez ere neurketa optikoen bidez gehiegizko enantiomeroak determinatzeko asmoz. Baina euren etekin kuantiko fluoreszente baxuek eta g_{lum} balio baxuek (10^{-3} baino baxuagoak) euren aplikazio potentziala murrizten dute. Hori dela eta, CPL-aren bideragarritasuna suspertu eta ezartzeko, ingurune biologikoarekin bateragarriak diren koloratzaile organiko fluoreszente eta CPL eraginkorrak garatu behar dira. Helburu hau lortzeko berriro ere BODIPY koloratzailearekin aukera paregabea dugu, aurretik erakutsi den moduan, fluoroforo hau oso fluoreszentea baita. Nahiz eta BODIPY kromoforoak berezko propietate kiroptikoak ez eduki, erakusten duen moldakortasun kimikoari esker bi hurbilketa nagusi erabil daitezke propietate hori bultzatzeko^[16]; ardatz simetriko baten sustapena edo, alternatiboki, nukleoaren apainketa eranskin kiralekin. Lehenengo hurbilketan helize-formako konformazioak suspertzen dira gune estereogeniko moduan konformazionalki mugatuta dauden bereizleen bitartez BODIPYak lotuz^[17]. Bigarren hurbilketan, ordea, optikoki aktiboa den 1,1-binaftol (BINOL) molekula, aurretik miaketa enantioselektiboan eta sistema asimetriko katalitikoetan erabili ohi dena^[18-19], erabili da dagokien O-BODIPYak eskuratuz^[20-21].

Bigarren hurbilketa abiapuntu bezala hartuz, konformazionalki mugatuta eta kobalentekei lotuta dauden bis-BODIPY multzo berri bat sintetizatu dugu (4.1. Irudia) bi koloratzailearen boro atomoen artean azido tartarikoa (kolore urdinez adierazita 4.1. Irudian) bereizle optiko moduan erabiliz. Azido honek hiru forma estereoisomero aurkezten ditu, enantiomero pare bat (R,R eta S,S) eta akirala den meso isomero bat (R,S).

Era honetan, lotutako fluoroforoak espazio-orientazio ezberdinetan kokatuko dira eta ondoriozko sistema bikromoforikoek zurruntasun konformazional altua erakutsiko dute, *meso* posizioko arilo ordezkatzailen eta boroaren erdaldean dauden eraztun ziklikoen errotazio mugatuari esker. Gehiago dena, ordezkatzaille alkilikoak kromoforoaren egituran bertan gehitu dira (**TBDP2b** konposatuak) eragozpen esteriko moldagarria bultzatzeko eta ondoren datorren oreka konformazionala kontrolatzeko, euren propietate kiroptiko eta fotofisikoen modulazioa ahalbidetuz. Hurrengo ataletan zubi kiralak (L-tartariko (R,R enantiomeroa) edo *meso* (R,S diastereoisomeroa)) portaera fotofisikoan eta, bereziki elkarrekintza exzitonikoetan duen eragina, zehatz-meatz aztertuko dira. Era berean, konposatu hauek dagokien analogo monomerikoekin (**TBDP3** eta **TBDP4** konposatuak 4.1. Irudian) konparatuko dira. IV. Eranskinean **Chemistry - A European Journal** atxikitutako artikuluan informazio gehigarria aurkitu daiteke.

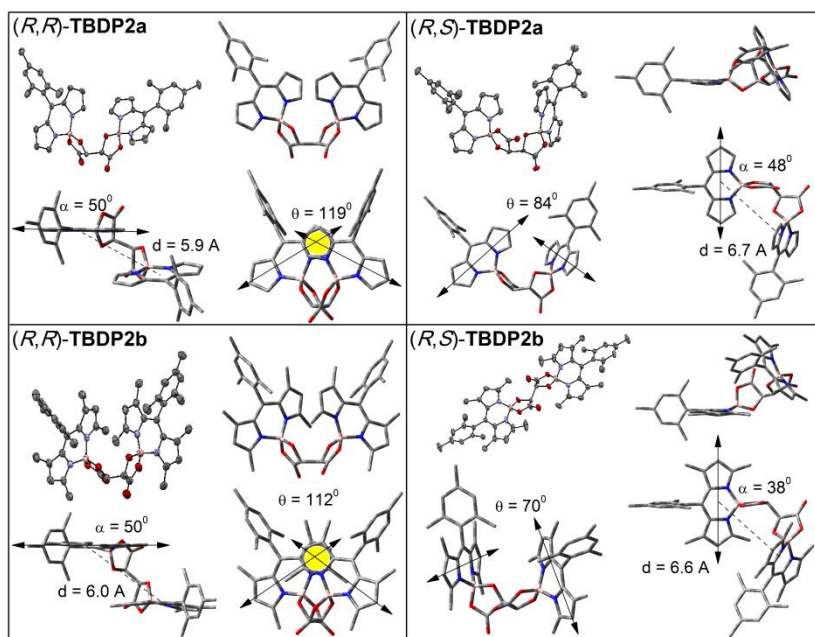


4.1. Irudia. bis-BODIPY estereoisomero berrien (**TBDP2**) eta euren analogo monomerikoen (**TBDP3** eta **TBDP4**) egitura molekularra.

4.1. EGITURA ETA KONFORMAZIOA

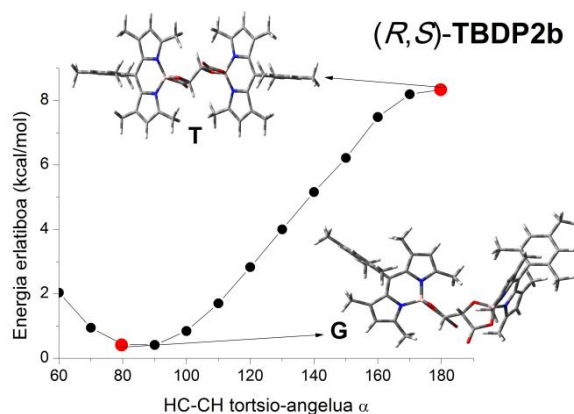
Aitzindarien geometria molekularrak dipirreno kromoforo laua eta *meso* posizioko arilo eraztun ortogonalak aurkezten du, eraztun berberaren orto posizioetako ordezkapenek eta ondoko posizio kromoforikoek eragiten duten eragozpen esterikoa dela medio. Are gehiago, boro atomoak partekatzen dituen eraztun ziklikoak molekulari zurruntasun handiagoa gehitzen dio. Bis-BODIPY hauetan hartutako geometria azido tartarikoaren oinarriko konformazio-propietateen menpe dago; orientazio zabaldua (*trans*,

T) edo inklinatua (*gauche*, *G*). Kasu gehienetan DFT bitartez (ω B97XD/6-31G^{*}) egindako simulazio teorikoak eta X-izpien kristalografiaren bidez lortutako emaitza esperimentalak bat datoz. Bi konposatu kiralek ((*R,R*)-**TBDP2a,b**) *T* konformazioa hartzen dute emaitza esperimental eta teorikoen arabera (4.2. Irudia). Meso deribatuak ((*R,S*)-**TBDP2a**), ordea, *G* konformeroarekiko lehentasun nabaria du.



4.2. Irudia. Bis-O-BODIPYen X-izpien egitura kristalinoak (bola eta barrak) eta oinarrizko egoeraren geometria optimizatuak (barra lodiak) bista desberdinetan. Teorikoki kalkulaturako egitura-parametroak ere erakusten dira, hala nola masa-erdiguneen arteko distantzia (d [Å]), tarantsizioen momentu dipolarren arteko (kromoforoetatik zehar gezi bikoitzaz adierazitako luzera-ardatza) angelu diedroa (θ), eta trantsizioaren momentu dipolarren eta bi BODIPY unitateen masa-erdiguneak lotzen dituen marrak (lerro etena) osatzen duten angelua (α).

Hala ere, bere analogoa tetrametilatzen denean, (*R,S*)-**TBDP2b** koloratzailea, kontraesana dago. X-izpien emaitzek (*R,S*)-**TBDP2b** konposatuak *T* konformazioan kristaltzen duela erakusten duten bitartean, DFT kalkuluek koloratzaile berberak eksklusiboki *G* konformazioan konbergitzen duela (hasierako geometria edozein dela ere) ondorioztatzen dute. Kasu honetan, kalkulu teorikoek *T* konformazioa *G* konformazioa baino ezgonkorragoa ($\Delta E = 9.7$ kcal/mol) dela aurreratzen dute (4.3. Irudia). Kristalean bere presentzia azaltzeko seguruenik (*R,S*)-**TBDP2b** koloratzailearen *T* konformeroaren egonkortasun baxuago hau antolamendu geometriko planokide zabalduetik datorren paketatze kristalino onuragarriagoarekin orekatu da.



4.3. Irudia. DFT bidez (ω B97XD/6-31G*) (R,S)-TBDP2b konposatuaren azido tartariko bereizlearen erdiko loturan zehar (HC-CH tortsio angelua α) egindako bilaketa konformazionala. T eta G konformerorei dagokien egiturak ere gehitu dira.

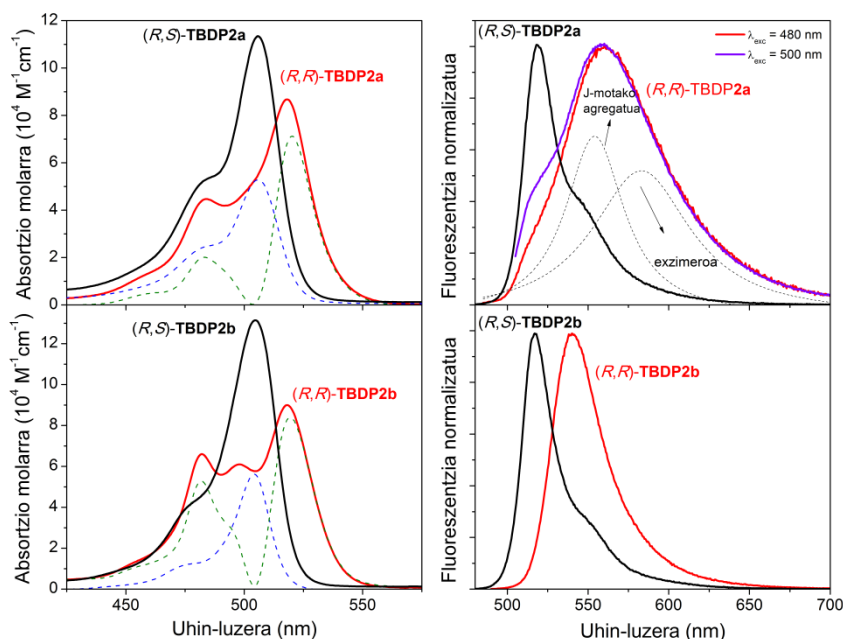
4.2. PROPIETATE FOTOFISIKOAK

Hasierako kapituluetan azaldu den moduan (1go eta 2. Kapituluak), boroaren erdiguneko fluor atomoak oxigenoa bezalako beste atomoengatik ordezkatzan direnean propietate espektralak nekez aldatzen dira. Horregatik TBDP3a-3b eta TBDP4a-4b BODIPY monomeriko guztiek antzeko propietateak erakusten dituzte fluor atomoak daramatzaten analogoekin eta erlazionatutako beste O-BODIPYekin^[24] konparatzean (4.1. Taula). Aurretik aipatu den moduan, boroaren erdigunean zein meso posizioaren inguruan konformazionalki mugatutako egitura molekularrak, Stokes desplazamendu txikian adierazita, deskatibazio ez-erradiatzaileak saihesten ditu eraginkortasun altuko seinale fluoreszenteak bermatuz (4.1. Taula). Kromoforoaren alkilazioak absorzio molarra zein desaktibazio prozesu erradiatzaileen probabilitatea handitzen ditu efektu inductiboz duen elektro-emaile izaeragatik. Beraz, etekin kuantiko fluoreszenteak pixka bat igotzen dira (%100 balioak lortu arte) eta bizitza-denbora balioak txikiagotzen dira (4.1. Taula). Horregatik, eraztun ziklikoaren gehikuntzak boro atomoan ez ditu aitzindari monomerikoen propietate fotofisikoak aldatzen, mantentzen edo pixka bat hobetzen ditu, aldiz. Ondorioz, O-BODIPY dimero estereoisomerikoen garapenerako konformazionalki mugatutako azido tartarikoak bereizle ezin hobeak dira.

4.1. Taula. *O-BODIPY* aitzindari monomerikoen eta dagokien bis-*O-BODIPY*en propietate fotofisikoak etil azetatoan. (*S,S*) enantiomeroen propietate fotofisikoak ez dira agertzen berdinak baitira.

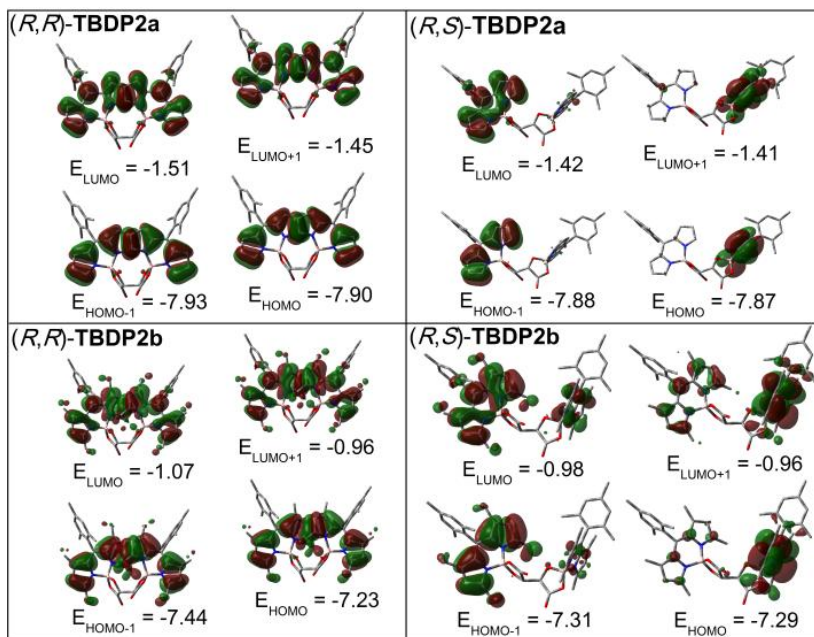
TBDP	λ_{ab} [nm]	ϵ_{max} [10 ⁴ M ⁻¹ ·cm ⁻¹]	λ_{fl} [nm]	$\Delta\nu_{St}$ [cm ⁻¹]	ϕ	τ [ns]
3a	504.5	5.7	516.0	440	0.96	7.71
4a	504.5	6.3	516.5	460	0.94	7.84
3b	504.0	8.4	613.0	350	1.00	6.44
4b	503.0	8.2	512.5	370	1.00	6.39
(R,S)-2a	506.0	11.4	518.5	475	0.90	6.39
(R,S)-2b	504.5	13.2	517.0	480	0.91	7.23
(R,R)-2a	518.0	8.6	560.5	1465	0.33	2.19 (97%) - 6.41 (3%)
(R,R)-2b	518.0	9.0	540.0	790	0.85	5.85

Monomeroak akirala den *meso* talde tartarikoaren bitartez lotzen direnean, (R,S)-TBDP2a eta bere analogo tetrametilatua (R,S)-TBDP2b osatuz, unitate kromoforiko bakoitzak modu gehigarri batean absortzio profilean bere ekarpena egiten du (4.4. Irudia), banda bakarria osatuz eta TBDP3a-4b aitzindari monomerikoei dagokien absortzio molar koefizienteen balio ia bikoitza erakutsiz (4.1. Taula). Hortaz, ez dago inolako elkarrekintza elektronikoa intramolekularrik kobalenteki lotutako BODIPY unitateen artean (oinarrizko egoeran behintzat), euren identitatea eta propietate fotofisikoak mantenduz. Kalkulu teorikoek ere emaitza hauek suspertzen dituzte, trantsizio elektronikoa baxuenetan parte hartzen duten orbital molekularrek euren dentsitate elektronikoa BODIPY unitate bakarrean alternatiboki kokatzen baitute eta betetako eta bete gabeko orbital molekular horiek energetikoki ia degeneratuak baitaude (4.5. Irudia). Horregatik, oinarrizko egoeran kromoforo biak elektronikoki akoplatu gabe daude eta unitate bakoitzak koloratzaile independente gisa jokatzeko du dimeroaren absortzio totalean bere ekarpena eginez. Hortaz, (R,S)-TBDP2a eta (R,S)-TBDP2b *meso* deribatuek 0.90 inguruko etekin kuantiko balio altuak erakusten dituzte desaktibazio fluoreszentearen kurba mono-exponentzialarekin eta bizitza-denbora balio altuekin batera (6 ns eta 7 ns, hurrenez hurren).



4.4. Irudia. *(R,R)-TBDP2a,b* isomero kiralen eta dagokien *(R,S)-TBDP2a,b* diastereoisomeroen absortzio (ezkerra) eta normalizatutako fluoreszentzia (eskuina) espektroak etil azetatoan. Konposatu kiralen absortzio espektroak dekonboluzionatu egin dira (lerro etena) BODIPYen J-motako akoplamendu exzitoniko intramolekularrak erakusteko. *(R,R)-TBDP2a* konposatuaren fluoreszentzia espektroa ere dekonboluzionatu egin da (puntu marraztutako lerroa) J-motako agregatuak eta exzimerook igorpen profil totalen duten ekarpena balioesteko.

Hala ere, metilatu gabeko BODIPY unitateak optikoki aktiboa den *L*-azido tartariko baten bitartez kobalentekei lotzen direnean (*(R,R)-TBDP2a* konposatua), propietate fotofisikoak guztiz ezberdinak dira bere prekurtsore *TBDP3a* eta *(R,S)-TBDP2a* meso-diastereoisomeroarekin konparatuz gero (4.1. Taula). Aldaketarik harrigarriena absortzio espektroan aurkitu daiteke (4.4. Irudia) non bere bandarik nagusia zabaltzen den eta maximoa alde gorrira desplazaten den (15 nm inguru). Are gehiago, 4.4. Irudian sorbalda garaia agertzen da 480 nm-an eta absortzio koefizientea bikoizten da. Egiatan *TBDP3a* mono-BODIPY anlogoarena baino pixka bat altuagoa da (4.1. Taula). Tendentzia berdinari jarraituz eta *TBDP3a* prekurtsorearekin konparatuz gero, bere fluoreszentzia espektroa askoz zabalagoa da eta batokromikoki desplazatuta dago ($\Delta\lambda = 45$ nm), Stokes desplazamendua 475 cm^{-1} -etatik 1460 cm^{-1} -etara handitzen delarik eta erlazionatutako BODIPY dimeroen ohiko Stokes balioetatik aldentuz^[25]. Hortaz, *(R,R)-TBDP2a* koloratzailean kitzikapenaren ostean berrantolaketa geometriko sendoaren bistako seinaleak daude, desaktibazio ez-erradiatzailearen kanalak erraztuz eta etekin kuantiko (0.33 baliotara arte) zein bizitza-denbora balioak txikiagotuz. Berez, desaktibazio fluoreszentearen kurbak izaera bi-esponentziala hartzen du osagairik nagusia bizitza-denbora laburrena izanez (2.19 ns vs 6.41 ns, ikusi 4.1. Taula).



4.5. Irudia. Teorikoki simulatutako (ω B97XD/6-31G*) bis-O-BODIPYen trantsizio elektronikoko nagusietan parte hartzen duten orbital molekularren mapak.

Aurreko emaitzak kontuan hartuz, (R,R)-TBDP2a konposatuan elkarrekintza intramolekular exzitonikoa gertatzen dela ukaezina da, zeinek entitate igorle berri baten eraketa bultzatzen duen (R,S)-TBDP2a meso-diastereoisomeroan ez dagoena. Orbital molekularren mapak gauza bera bermatzen dute, dentsitate elektronikoa bi BODIPY unitatetan aldi berean kokatuta baitago (4.5. Irudia). Bere absortzio profilaren dekonboluzioak 480 nm eta 520 nm-an kokatutako bi bandaren presentzia agerian jartzen du, 500 nm-ko mono-BODIPYaren bandaren aldamenean daudelarik (4.4. Irudia). Areago, (R,R)-TBDP2a konposatuaren oinarriko egoeraren geometria optimizatuak BODIPY unitateak gertuago kokatzen ditu, masa-zentroen arteko distantzia (d_{CM}) 5.9 Å-ekoa baita, (R,S)-TBDP2a diastereoisomeroaren kasuan 6.7 Å-ekoa zen bitartean, X-izpien difrakzio datuekin bat eginez (4.2. Irudia). Gainera, azken konposatu honetan BODIPY unitateak plano desberdinetan kokatuta daude eta antolamentu ortogonalak erakusten dute non trantsizioaren momentu dipolarren arteko angelu diedroa 84° den, elkarri eragiteko BODIPY unitate hauek nahiko isolaturik mantenduz. (R,R)-TBDP2a konposatuan, ordea, trantsizioaren momentu dipolarrek V itxurako orientazioan makurtuta daude 119° angelu diedroa eratuz. Momentu dipolarren antolamendu zehar honek “buru-buztan” elkarrekintza intramolekular exzitonikoa errazten ditu gainjarrita dauden aldameneko pirrolen artean. Ondorioz, uhin-luzera altueneko absortzioak J-motako agregatu intramolekular zeharri dagokiola dirudi, Kasharen teoria exzitonikoaren arabera

antzeko akoplamendu ahula duten sistema^[26] elektroniketan erregistratu den moduan (4.2. Irudia), absortzio zein fluoreszentzia espektoak aldatuz.

J-motako elkarrekintza exzitoniko intramolekularrari buruzko beste ebidentzia bat aurretik adierazitako desplazamendua batokromiko fluoreszentea da. Izan ere, bi BODIPY unitateren masa-zentroak lotzen dituen bektoreen eta trantsizio momentuaren arteko angelua 50°koa da (4.2. Irudia). Kasharen teoriaren arabera, ebidentzia hau J-motako elkarrekintza bati dagokio, eratzen den angelua 54,7° baino txikiagoa baita, monomeroaren fluoreszentiari dagokionez eremu gorrira desplazatutako argia igortzeko gai izanez. Antzeko antolamendu geometrikoa eta J-motako akoplamendu dipolarrak eratzen dituzten BODIPYak aurretik argitaratu dira^[27-28].

J-motako agregatu intramolekularrez gain, kitzikapenaren osteko aldaketa konformazional txikiek akoplamendu exzitonikoa^[29] alda dezakete agregatu indartsuagoen eraketa bultzatuz. Azken hauek exzimerokoak^[30] bezala ezagunak dira eta aurrekoekin aldi berean egon daitezke, egoera kitzikatuaren dinamika zailduz. Fluoreszentzia espektoaren dekonboluzioak bi igorpen seinale erakusten ditu, lehenengoa 560 nm-an kokatuta, J-motako agregatuari dagokiona, eta bigarrena 580 nm-an, exzimerokoaren eraketarekin erlazionatuta dagoena (ikus (R,R)-TBDP2a konposatua 4.4. Irudian). Gehiago dena, eta aurretik adierazi den moduan, desaktibazio fluoreszentearen kurbak doiketa bi-esponentziala behar du non bizitza-denboraren osagairik nagusia denborarik laburrena den (2 ns inguru). Desaktibazio kurba hau igorpen uhin-luzera desberdinetan monitorizatzen bada, denbora laburreneko osagaia uhin-luzera altuetan osagai nagusi bihurtzen da, exzimeroko baten presentzia bermatuz^[30]. Denbora luzeko osagaia (6-8 ns inguru), bitartean nabarmenki handitzen da eta J-motako agregatu intramolekularrari esleitzen zaio (4.2. Taula). Erregistratutako etekin kuantikoaren jaitsierak ere exzimerokoaren eta J-motako agregatu intramolekularren aldi bereko presentzia indartzen du, lehenengoak normalean bigarrenak baino etekin fluoreszente baxuagoak erakusten baititu, azken honen desaktibazio erradiatzailearen konstantea altuagoa delarik^[31,32]. Halere, espezie hauen ikerketa nahiko zaila da eta prozesua hobeto ulertzeko egoera kitzikatuari buruzko kalkulu gehiago egin beharko lirateke, garestiegiak direnak, erabili behar den kalkulu maila altua eta molekula hauen tamaina handia kontuan harturik.

4.2. Taula. (R,R)-**TBDP2a** bis-O-BODIPY konposatuaren desaktibazio fluoreszentearen kurbaren dekonboluzioa kitzikapen eta igorpen uhin-luzera desberdinen arabera.

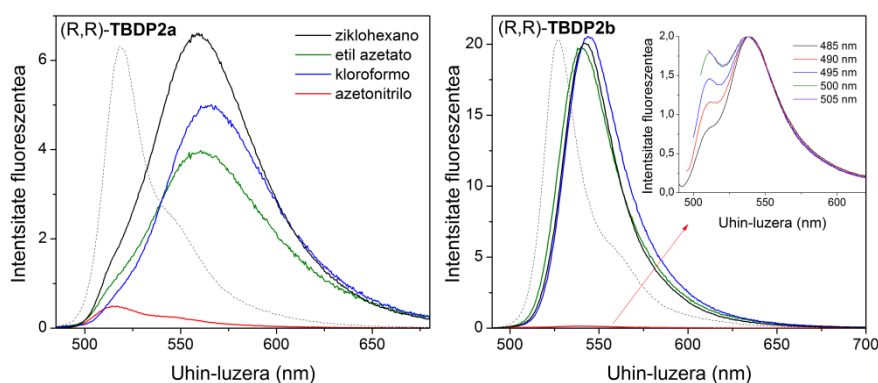
λ_{exc} [nm]	λ_{em} [nm]	τ [ns]
480	515	2.09 (50%) – 8.12 (49%)
480	560	2.19 (97%) – 6.41 (3%)
500	515	2.24 (35%) – 8.19 (65%)
500	560	2.23 (97%) – 8.09 (3%)
520	560	2.29

Arlo honetan jakintza handitzeko asmoz deribatu tetrametilatu kirala ((R,R)-**TBDP2b**) azter dezakegu. Metilazio prozesu horrek lehen adierazitako elkarrekintza/agregazio intramolekularrari eragiten dio eta absortzio espektroaren profila aldatzen du hiru banda desberdin sortaraziz non J-motako agregatu intramolekularraren kontribuzioa handiagoa den, 480 nm eta 520 nm-ko banden intentsitate proportzioa handiagoa baita (R,R)-**TBDP2a** konposatuarekin alderatuz (4.4. Irudia). (R,R)-**TBDP2b** konposatuaren geometria trinkoagoa denez, kitzikapenaren osteko antolamendu geometrikoa askoz mugatuago dago eta igorpen banda eremu urdinera desplazatuta dago (R,R)-**TBDP2a** konposatiarekin konparatuz. Kasu honetan, igorpen fluoreszentea banda bakar eta estu batez osatuta dago, zein alkilatu gabeko (R,R)-**TBDP2a** analogoarena baino intensuagoa den eta J-motako elkarrekintza exzitoniako intramolekularraren bitartez akoplatutako BODIPYen egoera kitzikatuari dagokiona. Banda honen itxura ez da kitzikapen uhin-luzeraren arabera aldatzen eta etekin kuantiko fluoreszentea berreskuratzen da (%85 balioa lortu arte). Areago, desaktibazio fluoreszentearen kurbak BODIPY monomerikoen eta diastereoisomeroen izaera mono-esponentziala berreskuratzen du (4.1. Taula). Hortaz, (R,R)-**TBDP2b** koloratzailean exzimeraren eraketaren probabilitatea (R,R)-**TBDP2a** homologoarena baino txikiagoa da.

Kalkulu teorikoek (R,R)-**TBDP2b** konposatuaren BODIPY unitateen arteko distantzia (R,R)-**TBDP2a** alkilatu gabeko analogoarena ia berdina dela aurreratu dute (6.0 Å vs 5.9 Å). Trantsizio momentuen V itxurako antolamendua ere mantentzen da, baina euren artean osatzen duten angelu diedro txikiagoa da (112°), "barneko" pirrolak

antolamendu askoz kofazialago batean kokatuz (4.2. Irudia). Egitura mugatuago honek aldameneko pirroren arteko akoplamendu exzitoniko intramolekularra handiagotzen du absortzio profilaren aldaketaren eta igorpen distiratsuagoaren arduraduna izanez (4.1. Taula).

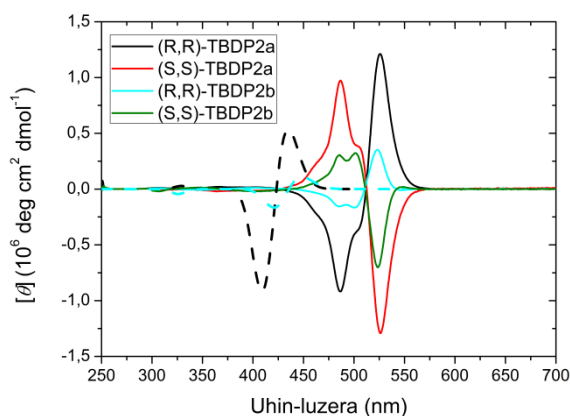
Exzitonikoki akoplatutako BODIPY intramolekular hauen eraketa oinarriko egoeran gertatzen da disolbatzailearen polaritatea edozein dela ere, baina intentsitate fluoreszentea drastikoki txikiagotzen da disolbatzailearen polaritatea handitzen denean. Ondorioz, (R,R)-**TBDP2a** konposatuaren kasuan agregatu gabe dagoen BODIPYari dagokion seinale fluoreszente ahul bat baino ez da erregistratzen energia altuetan azetonitriloan, exzitonikoki akoplatutako BODIPY intramolekularraren igorpena erabat desagertuz (4.6. Irudia). Beraz, agregatu intramolekularraren ahalmen fluoreszentea disolbatzailearen polaritatearen menpe dago, azetonitriloan etekin kuantiko balio ia hutsala lortuz (0.65 baliotatik ziklohexanoan 0.02 baliotara azetonitriloan). Hala ere, (R,R)-**TBDP2b** konposatuan agregatuaren igorpen hori mantentzen da, nahiz eta oso deuseztatuta egon, uhin-luzera baxuagoetan agregatu gabeko BODIPYaren kotribuzio ahularekin batera. Are gehiago, energia altuagoko igorpen seinalea (O-BODIPYei eslietuta) faboratzen da kitzikapen uhin-luzera handiagotzen denean (4.6. Irudian erantsitako espektroa begiratu). Hortaz, disolbatzailearen polaritateak bultzatutako dezaktibazio ez-erradiatzaile gehigarri bat dago exzitonikoki akoplatutako BODIPY intramolekularraren igorpena deuseztatzen duena. Igorpen fluoreszentearen disolbatzailearen polaritatearekiko menpekotasun hau ICT prozesu baten ondorioz gerta daiteke, zein polartasun handiko inguruneetan egonkortzen den, antzeko dimeroetan aurretik argitaratu den moduan^[27]. 3. Kapituluaz azaldu den bezala, SBCT mekanismoa ICT prozesuaren erantzulea izango litzateke kromoforo simetrikoen pareen artean^[33]. Zubi baten bitartez lotutako bis-BODIPYetan SBCT mekanismo honek igorpena deuseztatzen du ingurune polarretan CS egonkortzen duelako, baina triplete egoera populatu gabe 3. Kapituluaz zuzenean lotutako dimero ortogonalen kasuan gertatzen zen bezalaxe^[34]. ICT prozesua pairatzen duten bis-BODIPY hauetan, hain zuzen ere, ez genuen oxigeno singleteari dagokion inolako igorpen fosforeszenterik erregistratu.



4.6. Irudia. *(R,R)-TBDP2a* (ezkerra) eta *(R,R)-TBDP2b* (eskuina) isomero kiralen fluoreszentzia espektoen bilakaera disolbatzailearen polaritatearen arabera. Konparazio gisa meso-diastereoisomeroen (*(R,S)-TBDP2a* eta *(R,S)-TBDP2b*, lerro etena) espektoak gehitu dira. *(R,R)-TBDP2b* konposatuaren fluoreszentzia espektoa azetonitriloan kitzikapen uhin-luzera desberdinetan ere gehitu da.

4.3. PROPIETATE KILOPTIKOAK

(R,R)-TBDP2a/(S,S)-TBDP2a eta *(R,R)-TBDP2b/(S,S)-TBDP2b* pare enantiomerikoen propietate fotofisikoak berdin-berdinak dira, euren ECD espektoak ez bezala. Izatez, euren ECD seinaleak ispilu-irudiak dira (4.7. Irudia). *(S,S)* enantiomeroek Cotton efektu negatiboa erakusten duten bitartean, *(R,R)* enantiomeroek efektu positiboa erakusten dute seinaleen maximoek BODIPY fluoroforoaren absortzio maximoarekin bat egiten dutelarik (520 nm eta 518 nm *TBDP2a* eta *TBDP2b* dimeroen kasuan, hurrenez hurren). Gehiago dena, simulazio toerikoak, TD metodoaren bitartez banden posizioaren iragarpenean huts egin arren^[35], emaitza esperimentalekin bat datoz Cotton efektuaren zeinuari dagokionez, intentsitate altueneko seinalea metilatu gabeko konposatuarena izanez. Beraz, estereokimika eta zurruntasun konformazionalaren inguruko kontrola erabakigarria da sistema bikromoforiko hauen propietate fotofisikoak eta kiroptikoak modulatzeko.



4.7. Irudia. *(R,R)-TBDP2a* eta *(R,R)-TBDP2b* isomero kiralen eta dagokien enantiomeroen *(S,S)* ECD espektroak etil azetatoan ($1 \cdot 10^{-6}$ M). *(R,R)-TBDP2a* eta *(R,R)-TBDP2b* bis-BODIPY kiralen espektro teoriko (PCM/TD ω B97XD/6-311G^{**}) normalizatuak (lerro etena) ere gehitu dira.

4.4. LASER-PROPIETATEAK

Alkilatu gabeko **TBDP3a** eta **TBDP4a** mono-BODIPYek aurretik argitaratutako eta antzeko egitura duten *O*-BODIPYen pareko laser-propietateak aurkezten dituzte^[24]. Laser-eraginkortasun altuena (%48 eta %38, hurrenez hurren) 2 mM kontzentrazioaren inguruan lortzen dira laser-seinale bakarra 528 nm-an erakutsiz. Hala ere, koloratzailearen kontzentrazioa handitzen denengan (8 mM arte) laser-eraginkortasuna jaisten da (%20ra arte) birabsortzio/berrigorpen efektuak direla kausa. Bestalde, **TBDP3b** eta **TBDP4b** mono-BODIPY alkilatuek antzeko joerari jarraitzen diote eta laser-eraginkortasun balioak propietate fotofisikoekin bat datoz, monomero hauek alkilatu gabeko analogoek baino laser-eraginkortasun balio altuagoak (%51 eta %48, hurrenez hurren, 3 mM-etan) erakusten baitituzte. Era berean eta joera berdinari jarraituz, eraginkortasun balio hauek txikiagotzen dira koloratzailearen kontzentrazioa handitzean, baina murrizketa hau ez da hain nabarmena 8 mM-etan %39 balioa mantentzen baitute.

Mono-BODIPY hauen lotura kobalenteak *meso*-tartariko bereizlearen bitartez laser-propietateetan eragin esanguratsua dauka. *(R,S)-TBDP2a* eta *(R,S)-TBDP2b* dimeroen laser jarduerarik onena 1 mM kontzentrazioan lortzen da eta dagokien laser-eraginkortasun balioak %29 eta %33 dira, hurrenez hurren. Beste behin, koloratzailearik fluoreszenteenek laser-eraginkortasun balio altuenak ere erakusten dituzte, propietate biak korrelazioan daudelarik; dimero akiral hauek dagokien monomeroekin konparatuz balio baxuagoak erakusten baitituzte uhin-luzera berdinean (4.1. Taula begiratu).

BODIPY azpiunitateak optikoki aktiboa den L-azido tartarikoaren bidez kobalenteki lotzen direnean ((R,R)-**TBDP2a,b** konposatuak), laser-seinaleak propietate fotofisikoei jarraituz eremu gorrira desplazatzen dira, 575 nm eta 555 nm-ra, hurrenez hurren. Era berean, (R,R)-**TBDP2a** konposatuak (R,R)-**TBDP2b** koloratzaileak baino laser-eraginkortasun balio baxuagoa aurkezten du (24% vs 45%). Kasu honetan, bi dimero kiral hauen laser-igorpenak banda bakarra batez osatuta daude, laser-koloratzaileen ohiko sintonizazio tartea ahalbidetuz ($\Delta\lambda = 30$ nm ingurukoa).

Hala ere, optikoki aktiboa den (R,R)-**TBDP2b** koloratzailearen laser-igorpenaren inguruko azterketa polarimetrikoa^[36] egin ostean ponpaketa polarizatu bertikalaren bitartez, koloratzaile honek beste molekula organiko simple batzuen (BINOL daramaten O-BODIPYak) joera berdina erakusten du, ponpaketa energiarekiko CPL seinalea ahalbidetuz^[11]. Berez, bere laser-igorpena guztiz polarizatuta zegoen norabide bertikalean 1 inguruko polarizazio gradua erakutsiz.

Hortaz, O-BODIPY sistema bikromoforiko hauen propietate fotofisiko eta kiroptikoen kontrol esteriko eta etsereokimikoa bideragarria dela erakutsi dugu. Horregatik, euren jokaera fotonikoa moldatzeko optikoki aktiboa den azido tartariko baten erabilera bereizle moduan estrategia eraginkorra da, azken honek modu estereokimiko anitz aurkezten baititu elkarrekintza exzitoniko espezifikoen modulazioa ahalbidetuz. Elkarrekintza intramolekular hauen gehigarritzko modulazioa kromoforoa alkilatuz gero lortzen da. Jokaera fotonikoaren egiturazko kontrol honek material fotoniko aurreratuak garatzeko bidea urratzen du. Horrela, bio-markatzaile fluoreszente gisa erabil daitezke non euren propietateen kontrol esteriko eta estereokimikoa oso garrantzitsua den seinale/zarata erlazioa murrizteko eta mikroskopia optikoan kontrastea hobetzeko.

Bibliografia

- [1] Ma, J. L.; Peng, Q.; Zhao, C. H.; *Chem. Eur. J.*, **2019**, *25*, 15441-15454.
- [2] Addadi, L.; Weiner, S.; *Nature*, **2001**, *411*, 753-755.
- [3] Kumar, J.; Nakashima, T.; Kawai, T.; *J. Phys. Chem. Lett.*, **2015**, *6*, 3445-3452.
- [4] Hembury, G. A.; Borockov, V. V.; Inoue, Y.; *Chem. Rev.*, **2008**, *108*, 1-73.
- [5] Sánchez-Carnero, E. M.; Agarrabeitia, A. R.; Moreno, F.; Maroto, B. L.; Muller, G.; Ortiz, M. J.; de la Moya, S.; *Chem. Eur. J.*, **2015**, *21*, 13488-13500.
- [6] Nitti, A.; Pasini, D.; *Adv. Mater.*, **2020**, 1908021.
- [7] Wu, Z. G.; Han, H. B.; Yan, Z. P.; Luo, X. F.; Wang, Y.; Zheng, Y. X.; Zuo, J. L.; Pan, Y.; *Adv. Mater.*, **2019**, *31*, 1900524.
- [8] Zheng, H.; Li, W.; Li, W.; Wang, X.; Tang, Z.; Zhang, S. X. A.; Xu, Y.; *Adv. Mater.*, **2018**, *30*, 1705948.
- [9] Amako, T.; Nakabayashi, K.; Suzuki, N.; Guo, S.; Abdul-Rahim, N. A.; Harada, T.; Fujiki, M.; Imai, Y.; *Chem. Commun.*, **2015**, *51*, 8237-8240.
- [10] Yuasa, J.; Ohno, T.; Tsumatori, H.; Shiba, R.; Kamikubo, H.; Kataoka, M.; Hasegawa, Y.; Kawai, T.; *Chem. Commun.*, **2013**, *49*, 4604-4606.
- [11] Jiménez, J.; Cerdán, L.; Moreno, F.; Maroto, B. L.; García-Moreno, I.; Lunkley, J. L.; Muller, G.; de la Moya, S.; *J. Phys. Chem. C.*, **2017**, *121*, 5287-5292.
- [12] Gong, J.; Yu, M.; Wang, C.; Tan, J.; Wang, S.; Zhao, S.; Zhao, Z.; Qin, A.; Tang, B.; Zhang, X.; *Chem. Commun.*, **2019**, *55*, 10768-10771.
- [13] Muller, G.; *Dalton Trans.*, **2009**, 9692-9707.
- [14] Carr, R.; Evans, N. H.; Parker, D.; *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, *41*, 7673-7686.
- [15] Seitz, M.; Moore, E. G.; Ingram, A. J.; Muller, G.; Raymond, K. N.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 15468-15470.
- [16] Lu, H.; Mack, J.; Nyokong, T.; Kobayashi, N.; Shen, Z.; *Coordination Chemistry Reviews*, **2016**, *318*, 1-15.
- [17] Sánchez-Carnero, E. M.; Moreno, F.; Maroto, B. L.; Agarrabeitia, A. R.; Bañuelos, J.; Arbeloa, T.; López-Arbeloa, I.; Ortiz, M. J.; de la Moya, S.; *Chem. Commun.*, **2013**, *49*, 11641-11643.
- [18] Pu, L.; *Acc. Chem. Res.*, **2014**, *47*, 1523-1535.
- [19] Wang, C.; Wu, E.; Xu, X.; Zhang, G.; Pu, L.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, *137*, 3747-3750.
- [20] Sánchez-Carnero, E. M.; Moreno, F.; Maroto, B. L.; Agarrabeitia, A. R.; Ortiz, M. J.; Vo, B. G.; Muller, G.; de la Moya, S.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, *136*, 3346-3349.
- [21] Zhang, S.; Wang, Y.; Meng, F.; Dai, C.; Cheng, Y.; Zhu, C.; *Chem. Commun.*, **2015**, *51*, 9014-9017.
- [22] Grajewski, J.; Madry, T.; Kwit, M.; Warzajtis, B.; Rychlewska, U.; Gaeronski, J.; *Chem. Phys. Chem.*, **2017**, *18*, 2197-2207.
- [23] Liu, B.; Novikova, N.; Simpson, M. C.; Timmer, M. S.; Stocker, B. L.; Söhnle, T.; Wrae, D. C.; Brothers, P. J.; *Org. Biomol. Chem.*, **2016**, *14*, 5205-5209.
- [24] Manzano, H.; Esnal, I.; Marqués-Matesanz, T.; Bañuelos, J.; López-Arbeloa, I.; Ortiz, M. J.; Cerdán, L.; Costela, A.; García-Moreno, I.; Chiara, J. L.; *Adv. Funct. Mater.*, **2016**, *26*, 2756-2769.
- [25] Zinna, F.; Bruhn, T.; Guido, C. A.; Ahrens, J.; Bröring, M.; Di Bari, L.; Pescitelli, G.; *Chem. Eur. J.*, **2016**, *22*, 16089-16098.
- [26] Benniston, A. C.; Copley, G.; Harriman, A.; Howgego, D.; Harrington, R. W.; Clegg, W.; *J. Org. Chem.*, **2010**, *75*, 2018-2027.
- [27] Whited, M. T.; Patel, N. M.; Roberts, S. T.; Allen, K.; Djurovich, P. I.; Bradforth, S. E.; Thompson, M. E.; *Chem. Commun.*, **2012**, *48*, 284-286.
- [28] Patalag, J. L.; Ho, L. P.; Jones, P. G.; Werz, D. B.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, *139*, 15104-15113.
- [29] Ahrens, J.; Scheja, A.; Wicht, R.; Bröring, M.; *Eur. J. Org. Chem.*, **2016**, 2864-2870.
- [30] Alamiry, M. A. H.; Benniston, A. C.; Copley, G.; Harriman, A.; Howgego, D.; *J. Phys. Chem. A*, **2011**, *115*, 12111-12119.
- [31] Gierschner, J.; Park, S. Y.; *J. Mater. Chem. C.*, **2013**, *1*, 5818-5832.

- [32] Musser, A. J.; Rajendran, S. K.; Georgiou, K.; Gai, L.; Grant, R. T.; Shen, Z.; Cavazzini, M.; Ruseckas, A.; Turnbull, G. A.; Samuel, I. D. W.; Clark, J.; Lidzey, D. G.; *J. Mater. Chem. C.*, **2017**, *5*, 8380-8389.
- [33] Kellog, M.; Akil, A.; Sylvinson, D.; Ravinson, M.; Estergreen, L.; Bradforth, S. E.; Thompson, M. E.; *Faraday Discuss.*, **2019**, *216*, 379-394.
- [34] Liu, Y.; Zhao, J.; Iagatti, A.; Bussotti, L.; Foggi, P.; Castellucci, E.; Di Donato, M.; Han, K. L.; *J. Phys. Chem. C.*, **2018**, *122*, 2502-2511.
- [35] Momeni, M. R.; Brown, A.; *J. Chem. Theory Comput.*, **2015**, *11*, 2619-2632.
- [36] Cerdán, L.; García-Moreno, S.; Costela, A.; García-Moreno, I.; de la Moya, S.; *Sci. Rep.*, **2016**, *6*, 28740.

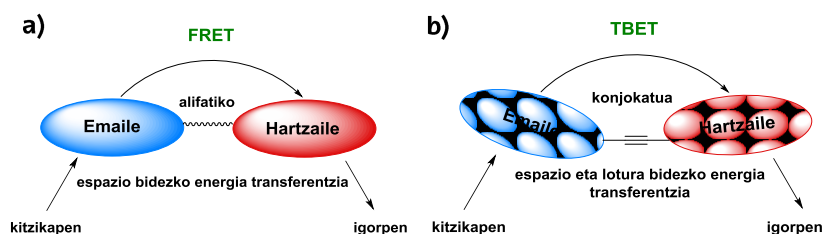
5. KAPITULUA

Energia Transferentzia bitartezko Antena Multikromoforikoak

Orain arte aplikazio ugari dituzten (bioirudi, sentsoare, terapia eta laser gisa) eta erabat funtzionalizatuta dauden BODIPY sinpleak ezagutarazi ditugu. Egitura zurrinak eduki arren, euren Stoke desplazamendu txikiek birabsortzio/berrigorpen prozesuen probabilitate altuagoak eta sentikortasun detekzio mugatua dakartzate berarekin, kitzikapen eta monitorizazio aldean hurbiltasuna dela medio, zeinek azpi-interferentziak eragiten dituzten. Honetaz gain, euren fotoestabilitate mugatua, koloratzailearen izate organikoaren ezaugarri intrintsekoa, ponpaketa baldintza bortitzen azpian eta absortzio probabilitate baxua zonalde espektral zabal batean zehar desabantaila gehigarriak dira. Hutsune hauek orekatzeko, multikromoforoen miaketa antena artifizial sistema gisa alternatibarik egokienetarikoa bat dugu^[1-3]. Energia emaile-hartzaileetan oinarritutako eta kobalenteki lotutako arkitektura molekular hauek desiratutako energia duen argia biltzeko eta garraiatzeko gai dira, fotosintesi prozesu naturalaren funtsezko ezaugarri batzuk antzeratuz^[4,5].

Kobalenteki lotutako emaile-hartzaile sistema hauen fenomeno fotofisiko gakoa kitzikapen energia transferentzia (*Excitation Energy Transfer*, EET) da^[6,7]. Bere probabilitatea suspertzeko, zentzuzko diseinu molekularra ezinbestekoa da. Izan ere, bere

eraginkortasunean eragina duten parametro batzuk kontuan hartu behar dira; emailearen igorpen eta hartzailearen absortzio banden arteko gainezarpen espektral egokia, distantzia interkromoforiko (bereizle egoki baten bitartez) aproposak eta euren orientazio erlatiboari buruzko kontrol ona, besteak beste. Gainera, efektu esterikoak erabil daitezke loturaren ostean unitate bakoitzaren identitate molekularra mantentzeko eta, ondorioz, zati bakoitzaren kitzikapen selektiboa^[8], (antolatze multzo bakoitzaren π -sistema komoforikoak elektronikoki akoplatu gabe) eta leiho espektral handi batean zehar absortzio banda zabala ahalbidetzeko. Diseinua egokia bada, EET prozesu intramolekular oso eraginkorrak gerta daitezke, lotura kobalenteak ezarritako emaile-hartzaile distantzia motzak direla eta, bata bestearen ondoren emaile azpiunitateen artean (energia migrazioa edo homo-EET) eta hartzaile azpiunitatearen azkeneko igorpena lor daiteke (hetero-EET), orokorrean helburua den zonalde gorrian. Emailearen igorpen espektra eta hartzailearen absortzio espektra arteko gainezarpen susbtantzial bat eta trantsizio momentu dioplarren arteko dipolo-dipolo akoplamendua aktibatuta dagoenean (maila altuko elkarrekintza)^[9], Förster erresonantzia energia transferentzia (*Förster Resonance Energy transfer*, FRET) suspertzen da^[10]. Normalean FRET prozesua pairatzen duten kasetetan azpiunitate kromoforikoak konjokatu gabeko bereizle baten bidez lotuta daude eta energia transferentzia espazioaren bitartez aurrera eramaten da (5.1a Irudia). Bereizleak, ordea, azpiunitateen lotura zuzena ahalbidetzen badu (maila baxuko elkarrekintza) edo, alternatiboki, konjokaturia bada (truke bikaineko mekanismoa)^[11], energia transferentzia prozesua loturaren bitartez gertatzen da (*Through-Bond Energy transfer*, TBET)^[12] (5.1b Irudia). Berez, azkeneko mekanismo hau truke elektronikoko baten bitartez suspertuta dago gainezarpen orbital bati esker^[13]. Antena molekular gehienetan bi mekanismoak oso eraginkorrak dira eta aldi berean gertatzen dira, baina bereizlearen eta emaile-hartzailearen orientazioaren arabera bietako bat nagusi daiteke^[14].



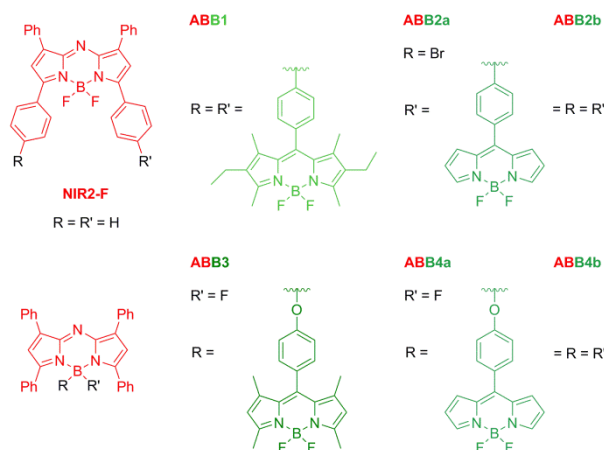
5.1. Irudia. Espazio bidezko (a) eta lotura bidezko (b) energia transferentzia motak.

Faktore hauen kontrol zuzenak aplikazio ugari dituzten antena fotoniko lehiakor eta artifizialen garapenari ateak irekitzen dizkio: DNA egituren analisia, azido nukleikoen erregulazioa, proteinen egitura, funtzio-analisia, eta immunoentseguak^[15,16], koloratzailez sentsibilizatutako eguzki-zelulak^[17], eguzki-kontzentradore lumineszenteak^[18], koloratzaile-laser sintonizagarriak^[19] eta argi-moduladoreak argi zuria igortzen duten sistemetan^[20]. Koloratzaile-laserraren aplikazioari begira, estrategia hau oso erakargarria da kaseteek ponpaketa iturriaren hautatze aldakorragoa ahalbidetzen dutelako eta fotodegradazioa murrizten delako, azkeneko unitate kromoforiko igorlea zeharka kitzikatzen baita emailearen eta EET prozesuaren bitartez^[21,22]. Hortaz, sistema multikromoforikoen diseinua gaur egun euren bandak espektro elektromagnetikoaren eremu gorrira ahalik eta gehien batokromikoki desplazatzean bideratuta dago (irradiazio mota honen abantailak jakiteko ikusi 2. Kapitulua) bioirudia hobetzeko asmoz^[23]. Are gehiago, sistema hauek pseudo-Stokes desplazamendu handiak dituzte (hartzailearen igorpena emailearen absortzio maximotik urrun kokatuta dago), bioirudi eta sentroreen aplikazioetan azpi-interferentziak murriztuz^[24,25].

Beraz, BODIPYen ingenieritza molekular eskuragarriari esker, Kapitulua honetan koloratzaile desberdinen konbinazioa zabala erakusten dugu eremu gorrian igorleak diren eta energia transferentziazko laser gisa aplika daitezkeen sistema multikromoforikoak lortzeko. Aregago, bereizleak, loturaren posizioak eta emaile eta hartzaile motak eta kopuruak kaseteen energia transferentzia prozesuaren erginkortasunean izan dezakeen eragina aztertzen dugu. Hasteko, 5.1. Atalean BODIPY sinpleak eta aza-BODIPYak (2. Kapituluan azaldutakoak) fenilo bezalako bereizleen bidez konbinatu dira energia eta karga transferentziazko kaseteak sortuz. Alternatiboki, 5.2. Atalean fluroforo mota ezberdin (kumarina, BODIPY eta perileno gorria) bereizle malgu eta/edo zurrunen bitartez lotu dira kasete pankromatikoak eskuratuz. Azkenik, 5.3. Atalean bakarrik BODIPYetan oinarritutako pentamero eta hexameroak sintetizatu eta xehetasunez karakterizatu dira. V. Eranskinean **Chemistry - A European Journal** (5.1. eta 5.3. Atalak) eta **Physical Chemistry Chemical Physics** (5.2. Atala) atxikitutako artikuluetan informazio gehigarria aurki daiteke.

5.1. EREMU GORRIKO ETA NIR EREMUKO AZA-BODIPY-BODIPY KASETEAK

Aza-BODIPYen jokaera eremu gorriko eta NIR eremuko igorle gisa 2. Kapituluuan azaldu zen (2.2. Atala). Berez, aza-BODIPY **NIR2** poliarilatuak uhin-luzera altuko igorpen eraginkorra eta egonkorra erakusten du. Horregatik, **NIR2-F** konposatua energia eta elektroio hartzailera ezin hobea da energia edo elektroio emaile gisa jarduten duten BODIPY igorle berdeekin kobalenteke lotzeko (5.2. Irudia). Modu honetan, aldarrikatutako boroazadipirreno nukleoaren moldakortasun kimikoari esker, aza-BODIPY-BODIPY kasete desberdinak sintetizatu dira non emaile gisa jarduten duten BODIPY unitateen kopurua handitu den (**ABB1**, **ABB2b** eta **ABB4b** konposatuak) eta emaile unitate berberak dipirreno bizkarrezurrean edo hartzailerean boro atomoan lotu diren (**ABB1** eta **ABB2** vs **ABB3** eta **ABB4** koloratzaileak). Kasete sorta honekin argiaren bilketa eta energia eta elektroio transferentziaren arteko oreka modulatzeko dugu helburu, igorpen gorriaren azkeneko eraginkortasuna zuzentzen duen eragile gakoak baita.

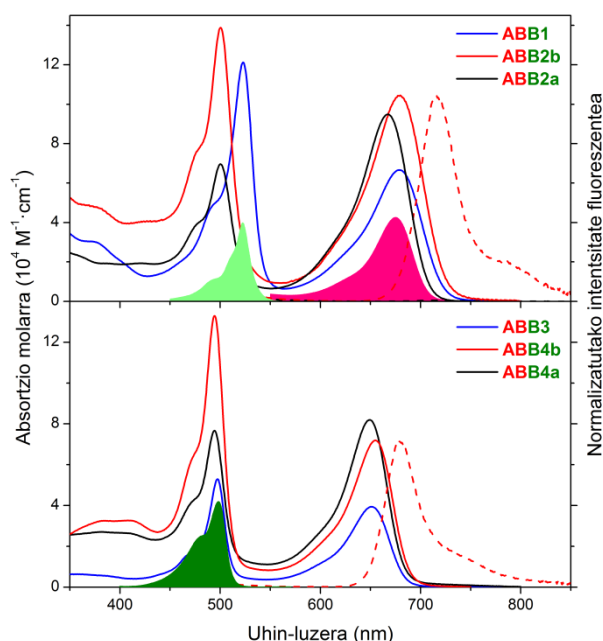


5.2. Irudia. Aza-BODIPY-BODIPY kaseteen egitura. **NIR2-F** aitzindariaren egitura ere gehitu da.

5.1.1. Propietate fotofisikoak

Koloratzaile hauen absortzio espektroak bi absortzio banda argi eta garbi bananduz osatuta daude, bata energia altuagoetan agertzen dena eta zintzilikatutako BODIPY kromoforoari dagokiona (495 nm eta 525 nm tartean) eta bestea energia baxuagoetan eta π -sistema hedatu duen aza-BODIPYari dagokiona (650 nm eta 680 nm tartean). Lehenengoaren intentsitatea hartzailera lotuta dauden emaile unitate kopuruarekiko zuzenki proportzionala da (**ABB2a** vs **ABB2b** edo **ABB4a** vs **ABB4b** koloratzaileak 5.3. Irudian) eta eremu gorriera desplazatzeko joera dauka alkilazio maila

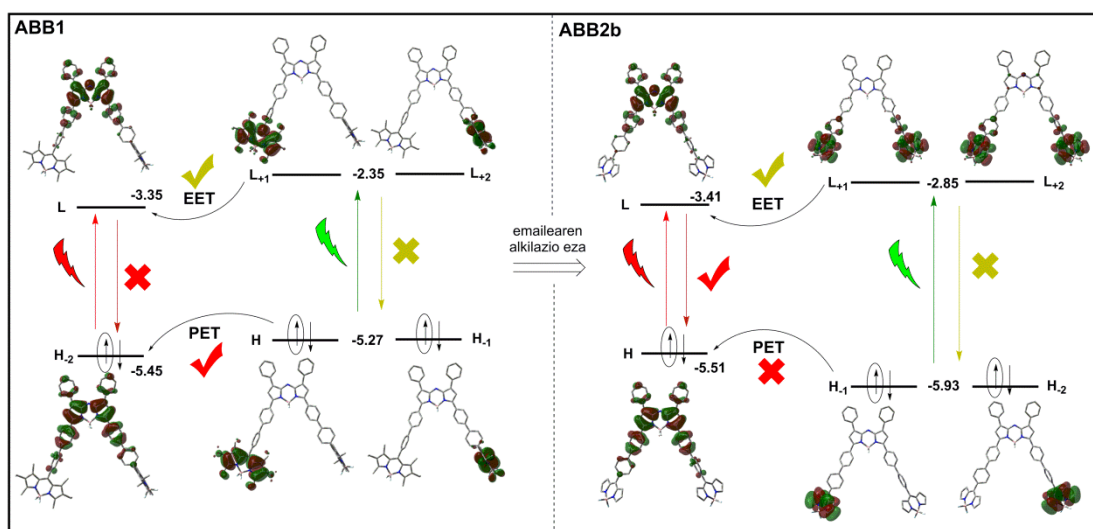
handitzen denean (**ABB1** vs **ABB2a** konposatuak). Hortaz, absortzio profil honek azpiunitate kromoforiko bakoitzak loturaren ostean bere identitate molekularra mantentzen duela esan nahi du. Azken hau orbital molekularren simulazioagatik babestuta dator, trantsizio elektronik bakoitzean parte hartzen duten orbital molekularrak zati kromoforiko zehatz batean eksklusiboki kokatuta baitaude (5.4. Irudia). Fluoreszentzia espektroak, ordea, eremu gorrian kokatuta dagoen (720 nm-ra arte **ABB2b** konposatuan) banda bakar batez osatuta daude kitzikapen uhin-luzera edozein dela ere, energia emaileak diren BODIPYetatik energia hartzaileak diren aza-BODIPYetara gertatzen den EET prozesu eraginkor bati esker (5.3. Irudia).



5.3. Irudia. ABB1, ABB2b, ABB3 eta ABB4b kaseteen absortzio (lerro lodiak) eta fluoreszentzia (lerro etenak, BODIPY emailearen kitzikapen selektiboaren ostean) espektroak etil azetatoan. Lotutako BODIPY emaileen kopuraren eragina azpimarratzeko ABB2a eta ABB4a dimeroen absortzio espektroak (lerro beltzak) ere gehitu dira. Kaseteak osatzen dituzten unitate isolatuen absortzio espektroak (koloreztatutako bandak) ere gehitu dira lotura kobalentearen ostean kromoforoen integritatea mantentzen dela egiaztatzeko.

Nahiz eta EET prozesuaren eraginkortasuna altua izan (%100 baliotatik hurbil) emaile eta hartzailearen arteko distantzia txikiagatik eta euren antolamendu geometriko ezin hobeagatik, kasete hauen etekin kuantiko fluoreszenteak emailearen alkilazio mailaren menpe daude. Izan ere, **ABB1** (dietilatua) eta **ABB3** (tetrametilatua) kaseteak ia ez-fluoreszente bilakatzen dira (5.1. Taula). Kalkulu teorikoek emaitza hauek indartzen dituzte, HOMO orbitala BODIPY periferikoan eta aza-BODIPYaren trantsizioaren erantzuleak diren orbital molekularren artean energetikoki kokatuta dagoela aurratsen dute eta. Modu honetan, kitzikapenaren ostean^[26] PET prozesua ahalbidetzen da eta aza-

BODIPYtik eratorritako igorpen fluoreszentea ekiditen da (5.4. Irudia). Ondorioz, BODIPY alkilatuak elektroiei zein energia emaile gisa eraginkortasunez jarduteko gai dira. Halere, emaileen alkilazioak ezak PET prozesu hau indargabetzen du eta erantzun fluoreszentea berreskuratzen da bizitza-denboraren luzapen handi batekin batera (5.1. Taula) [27]. Aldaketa estruktural honek orbital molekularren energetikoki berrantolatzen ditu BODIPY emailearen HOMO orbitalaren energia txikiagotuz (**ABB1** konposatua -5.27 eV baliotatik -5.93 eV baliotara **ABB2b** koloratzailean), kasetearen HOMO-1 orbitala bihurtuz (5.4. Irudia) eta PET prozesua termodinamikoki deuseztatuz. Beraz, BODIPY emaileen funtzionalizazioak PET prozesuaren gainean eragin handia dauka eta kasetearen azkeneko igorpenaren eraginkortasuna bideratzen du.



5.4. Irudia. BODIPY emailearen alkilazio mailan desberdintzen diren **ABB1** eta **ABB2b** analogoen orbital molekular eta energia (eV) teorikoak (B3LYP/6-31G*). Lehian ari diren fluoreszentzia, EET eta PET prozesuen probabilitatea adierazi da.

Gehiago dena, aza-BODIPY nukleoaren loturaren posizioak antena sistema hauen azkeneko erantzun fluoreszentean eragina argia dauka (5.1. Taula). Horregatik, 3,5-bifenilo taldeen bitartezko loturak boro zubian zuzenean lotutako konposatuak baino NIR igorpen eraginkorragoak erakusten ditu (%30 vs %8 **ABB2b** eta **ABB4b** trimeroen kasuan, hurrenez hurren). Etekin kuantiko eta bizitza-denbora balioen inguruko murrizketa hau BODIPY emaileak aza-BODIPYaren boro zubian lotu ostean sortzen den askatasun konformazionalari esleitu dakioke. Hortaz, mugatu gabeko BODIPY hauen errotazio askeak barne aldaketa desaktibazio prozesu ez-erradiatzaileak handitzen ditu.

5.1. Taula. Aza-BODIPY-BODIPY guztien propietate fotofisikoak eta laser-propietateak (532 nm-an ponpatuta) etil azetatoan. Baldintza berdinetan neurtutako **NIR2-F** energia hartzaile isolatuaren emaitzak ere gehitu dira konparazio gisa.

ABB	λ_{ab} [nm]	ϵ_{max} [10 ⁴ M ⁻¹ ·cm ⁻¹]	λ_{fl} [nm]	ϕ	τ [ns]	λ_{la} (355 nm) [nm]	%Eff (355 nm)	$E_{dose}^{a)}$ (355 nm) [GJ/mol]
1	678.5 523.0	6.7 12.1	711.5	0.006	EE	729.0*	- [#]	160 [#]
2a	667.5 500.5	7.7 5.7	701.0	0.24	1.83	712.0 (709.0)	22 (19)	76 (62)
2b	680.0 500.5	10.4 13.9	718.5	0.30	2.28	730.0 (725.0)	25 (21)	142 (123)
3	651.5 497.5	3.9 5.3	672.5	0.007	EE	720.0*	- [#]	81 [#]
4a	694.5 494.5	8.2 7.7	675.0	0.08	0.84	696.0 (694.0)	21 (15)	64
4b	655.0 494.5	7.2 13.3	678.5	0.08	1.03	693.0 (690.0)	23 (16)	145 (135)
NIR2-F	646.0	8.6	668.0	0.12	0.81	689.0 (685.0)	6 (4)	22

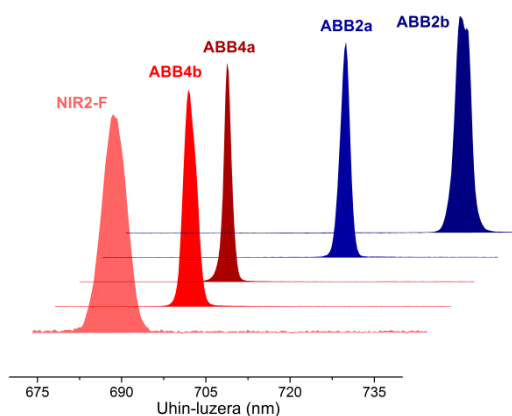
^{a)}Fotoegonkortasuna, 532 nm-an koloratzaileak bere hasierako igorpenaren %90 mantentzeko absorbatu behar duen ponpaketa-energia kopuru gisa definituta; EE: erregistratu ezina 50 ps baino balio baxuagoetan agertzen direlako, fotoi-kontagailuaren bereizmen denbora; * LIF; [#] konposatu hauen egitura molekularrak eragindako PET prozesua laser-ekintza deuseztatzeko gai da LIF igorpena mantentzen delarik.

Bifenilo bereizlea duten kaseteen artean, erantzun fluoreszente onena **ABB2b** konposatuan erregistratzen da, zeinek bere aitzindari monomerikoak (**NIR2-F**) baino eraginkortasun fluoreszente bikoitza erakusten duen (5.1. Taula, xehetasun gehiagorako begiratu 2. Kapituluko 2.2. Atala). 3 eta 5 posizioetako bifenilo taldeen presentziak fenilo talde bakar batek baino π -sistema gehiago deslokalizatu ez ezik, desplazamendu batokromiko nabarmenagoak lortuz (5.3. Irudia), badirudi askatasun konformazionala ere mugatzen duela, fenilo taldeen arteko lotura sinpleak lotura bikoitzaren izaera hartzen baitu. Areago, deslokalizio honek dentsitate elektronikoa BODIPY zentraletik zehar askoz gehiago hedatzen du, 1,7-fenilo taldeen errotazio askearen efektu negatiboa txikiagotuz. Beraz, aza-BODIPY-BODIPY arkitekturan oinarritutako kaseteen diseinua guztiz aproposa da EET prozesu eraginkorrek eta espektro elektromagnetikoaren eremu gorrian eta NIR eremuan igorpen sintonizagarria duten dimerokoak eta trimerokoak lortzeko.

5.1.2. Laser-propietateak

Zeharkako ponpaketa 532 nm-an burutu ostean (BODIPY emaleen absortzio eremua), kasete guztiek, PET prozesua jasaten dutenek izan ezik, modu eraginkor batean eremu gorrian (690 nm-tik 730 nm-ra) laser seinalea erakusten dute EET prozesu

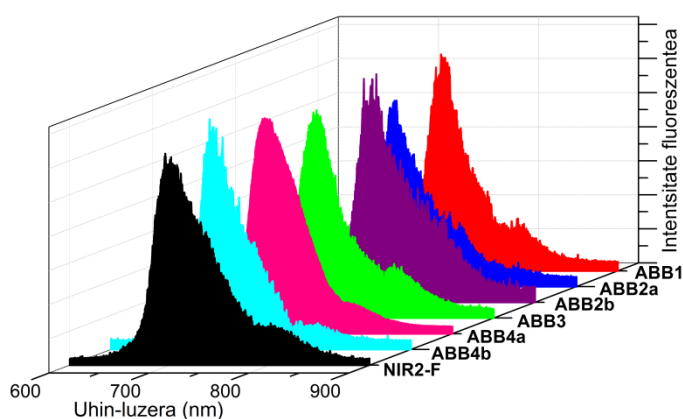
eraginkorrari esker, igorpen fluoreszentearen bandekin bat etorri (ikusi 5.1. Taula eta 5.5. Irudia). Kasete berdinek 355 nm-an ere ponpatzen direnean antzeko laser erantzuna erakusten dutela aipatzekoa da. Aza-BODIPY isolatuaren absortzio ahalmen baxuak ponpaketa uhin-luzera honetan kontzentrazio altuak eskatzen ditu. Kaseteen absortzio ahalmen altuak, berriz, behar den kontzentrazio kopurua txikiagotzen du (%75era arte), koloratzailearen disolbagarritasun arazoak eta agregazio prozesuak ekidinez, laser ekintzari begira oso erakargarria delarik. Beraz, etil azetatotan laser-eraginkortasunik onena lortzekotan kontzentrazio egokiena koloratzailearen arabera 0.2 mM eta 0.9 mM tartean dago. Ondorioz, aza-BODIPY-BODIPY kasete hauek laser-eraginkortasun balio altuak erakusten dituzte (%25 arte), bere aitzindari monomerikoa **NIR2-F** soberan gaituz (5.1. Taula).



5.5. Irudia. *ABB2a-2b eta ABB4a-4b konposatuaren laser espektro normalizatuak etil azetatoan (0.5 mM) eta 532 nm-an kitzikatu ostean. Bere aitzindari monomerikoa den NIR2-F konposatuaren laser seinalea ere gehitu da.*

Fotoegonkortasunari dagokionez, energia balio altuak (160 GJ/mol) beharrezkoak dira euren LIF intentsitatea gutxienez %10 txikiagotzeko (5.1. Taula). Berriz ere EET prozesuaren eraginkortasuna emaitza ikaragarri hauen erantzule nagusia da, hartzailearen zeharkako kitzikapenari esker fotodegradazioa txikitzen dela kontuan hartuz. Beste hitzetan esanda, fotoegonkorra den BODIPY emaileak laser ponpaketa eta bere kaltea jasotzen ditu, aza-BODIPY igorlea osorik mantenduz. Hortaz, atal honetan garatutako aza-BODIPY-BODIPY guztiak **NIR2-F** aitzindari monomerikoa baita eremu espektral berdinean igortzen duten eta eskuragarri dauden laser-koloratzaile monomeriko komertzialak baino fotoegonkorragoak dira (NB konposatuaren E_{dose} balioa 10 GJ/mol-ekoa zen ponpaketa baldintza berdinen menpe, ikusi 2. Kapitulu). Are gehiago, laser-erantzuna emaileen kopuruaren arabera proportzionalki hobetzen da, euren lotura luzera eta/edo posizioa edozein dela ere, emaile kopuru altuena dituzten kaseteak eraginkorrenak eta fotoegonkorrenak izanez.

Hala eta guztiz ere, sintetizatu berri diren kasete hauen propietaterik nabarmenena 680 nm eta 800 nm tartean erakusten duten igorpen fluoreszente atzeratua da, 100 μ s baino atzerapen denbora luzeagoak eta 355 nm zein 532 nm-an pulsu sendoak jasan ostean. Igorpen atzeratu hau laserrarekin kitzikatuz soilik erregistratu zela aipatzekoa da, propietate fotofisikoak neurtzeko erabiltzen diren baldintza leunen bitartez seinale hori lortu ez zelarik. Igorpen atzeratu honek antzeko profila erakusten du laser bitartez induzitutako fluoreszentiarekin konparatzen denean (5.6. Irudia). Seinale fluoreszenteak 2 ns-tako baino bizitza-denbora balio laburragoak aurkezten dituela kontuan hartuz, igorpen fluoreszente atzeratu honek zalantzarik gabe bizitza luzeko triplete egoera kitzikatuak berekin dakar termikoki aktibatutako fluoreszentzia atzeratuaren mekanismoaren bitartez (*Thermally Activated Delayed Fluorescence*, TADF)^[28]. Azken mekanismo hau T_1 egoera kitzikatuaren igorlea den S_1 egoera bihurtzeko gai da inguruneke energia termikoa absorbatuz sistemen arteko itzulera-gurutzaketa (Reverse Intersystem Crossing, RISC)^[29,30] eraginkor baten bidez.



5.6. Irudia. ABB1-4 aza-BODIPY-BODIPY kaseteen fluoreszentzia atzeratuaren espektroak gasifikatutako etil aztetatoko disoluzioetan (0.1 mM), inguruko tenperaturan eta hasierako laser erradiazioarekin (532 nm-an eta 20 mJ/cm²-tako isurpenarekin) 50 μ s-tako atzerapen denborarekin erregistratuta. Konparazio gisa NIR2-F aitzindariaren fluoreszentzia atzeratuaren espektroa ere gehitu da.

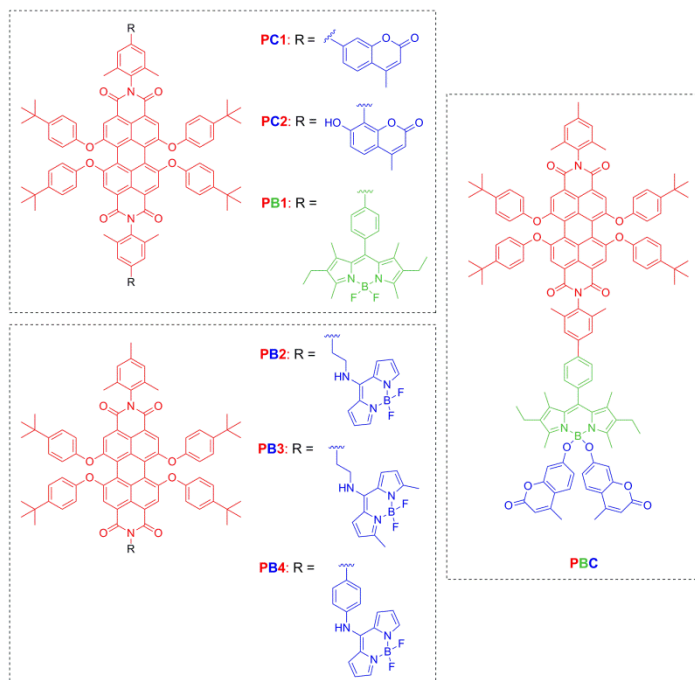
ISC prozesuaren probabilitatea BODIPYetan oso baxua dela (%1)^[31] guztiz ezaguna da eta BODIPY sinpleenetan egoera kitzikatuari buruz duela gutxi egindako kalkulu aurreratuek kanalik bideragarriena S_1 eta garai altuko T_2 egoeren arteko intersekzio konikoa dela jakinarazi dute^[32]. Segur aski aza taldearen presentziak meso posizioan trantsizioaren $n-\pi^*$ izaera handitzen du, S_1-T_2 energia tartea txikiagotuz. Beraz, ponpaketa sendoaren menpe, egoera kitzikatuko elektroi bat intersekzio konikora hel daiteke garai altuko triplete egoerara iritsiz. Halere, behin hor dagoelarik, elektroi berdina S_1 egoerara itzul daiteke termodinamikoki faboratuta dagoen RISC prozesu baten bitartez, ehunka

mikrosegundoko denbora-mailan fluoreszentsia atzeratuaren seinalea erregistratuz. Fenomeno hau oso interesgarria da, ikerkuntzan azken urteetan TADF materialak^[33,34] garatzeko ahalegin handia egin baita eta TADF igorle urdin, berde, hori eta laranja eraginkor asko eskuragarri dauden arren^[35-38], ikusgai gorri eremuan hauen gabezia dago. Egiatan, guk dakigula, aza-BODIPYetan oinarritutako fluoroforoetan igorpen atzeratua erregistratzen den lehenengo aldia da, eremu gorrian eta NIR eremu espektralean bizitza luzeko igorpen fluoreszentea mantenduz.

Laburbilduz, atal honetan diseinatutako kaseteak UV-Vis eremuan zehar argi biltzaile eraginkorrak dira, EET prozesuaren eraginkortasunari esker eremu gorrian (700 nm-tik gora) iraupen luzeko fluoreszentsia eta laser-igorpen sendoa erakutsiz. Gehiago dena, gorri eta NIR eremu estrategikoan igorpen fluoreszente atzeratuaren propietate honek kasete hauen zentzuzko diseinua indartzen du abiapuntu gisa medikuntza eta optoelektronikan aplikazio aurreratuak dituzten bizitza luzeko TADF material berriak garatzeko.

5.2. KASETE PANKROMATIKOAK IGORPEN GORRIAREKIN

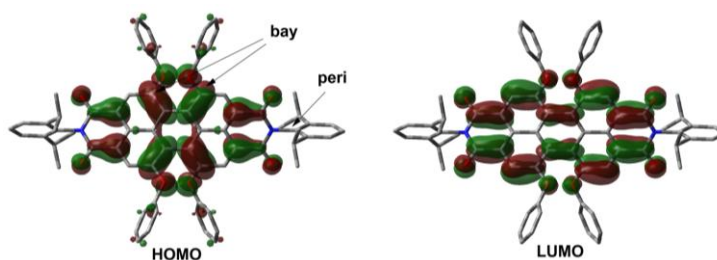
Antena molekularrak eratzeko beste alternatiba bat familia desberdinetako laser-koloratzaileak egitura molekular bakar batean konbinatzean datza, non hauek propietate fotofisiko ezin hobeak aurkezten dituzten eremu espektral desberdinetan (5.7. Irudia). Horregatik, perileno gorria, perilendiimida (PDI) familiakoa^[39,40], ikusgai espeketroaren eremu gorriko azkeneko igorle gisa aukeratu zen bere ahalmen fluoreszente bikaina eta fotoegonkortasun altua dela kausa. Absortzio profila betetzeko asmoz, kumarinak^[41] (7-hidroxikumarina, **PC1** eta **PC2** konposatuak), UV-urdin eremuan absortzio/igorpen bandak dituztenak, eta BODIPYak (**PM567**, **PB1** konposatua), berde-hori eremuan absortzio/igorpen bandak dituztenak, perileno gorria osatzeko energia emaile gisa aukeratu ziren, FRET prozesuak suspertzeko beharrezkoa den gainezarpen espektrala erakusten dute eta. Era berean, hiru koloratzaile hauek elkarren artean kobalenteki lotu ziren **PBC** trimeroa sortzeko. Alternatiboki, 8-amino taldea daraman beste BODIPY urdina energia emaile gisa ere kontuan hartu genuen (**PB2**, **PB3** eta **PB4** konposatuak) perilenoaren bizkarezurrera lotzeko.



5.7. Irudia. Perileno gorrian oinarritutako antenna molekular pankromatikoen egiturak.

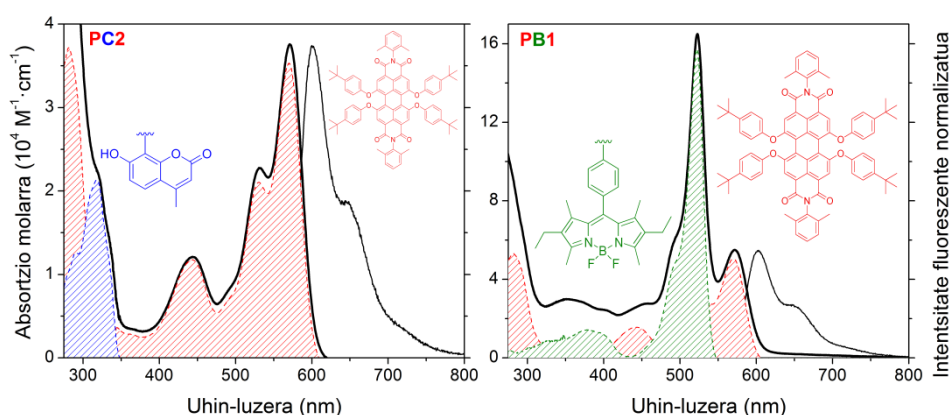
5.2.1. Propietate fotofisikoak

Antena molekular hauen propietate fotofisikoak azaldu baino lehen energia emaila guztiak perileno gorriaren *peri* posiziotik lotu zirela aipatzekoa da, bere fotofisika ez baita aldatzen. Hau guztiz logikoa da baldin eta trantsizio elektroniko nagusian parte hartze duten HOMO eta LUMO orbitala molekularrak begiratzen baditugu (5.8. Irudia). Bertan euren orbitalen mapek dentsitate elektronikoa nagusiki perilenoaren nukleoan kokatuta dagoela erakusten dute, baita hein txikiago batean fenoxi taldearen oxigeno atomoetatik eta imiden karboniloetatik zehar ere. Halere, *peri* posizioiko *N*-fenilo taldea perilenoaren planoarekiko biratuta dago eta ez du sistemaren deslokalizazioan parte hartzen, koloratzailearen propietate fotofisikoaren gainean eragin baxua izanez. Beraz, kasete hauek neurria egiteko *peri* posizioiko funtzionalizazioa guztiz aproposa da.



5.8. Irudia. Teorikoki kalkulaturako (B3LYP/6-31G) perileno gorriaren orbital molekularrak.

Isolamendu elektroniko honek kaseteen absortzio profila unitate kromoforiko bakoitzaren trantsizio elektronikoaren batuketa bezala zehazten du egitura molekularra edozein dela ere. Horrela, kumarina-perilenoan oinarritutako **PC1** eta **PC2** koloratzeileek bi banda erakusten dituzte 570 nm eta 325 nm inguruan perileno gorriari eta kumarina unitateei dagokienak, hurrenez hurren (5.2. Taula). Azken hau perilenoaren trantsizio energetikoarengatik (S_0-S_2) pixka bat estalita dago (5.9. Irudia). Hala ere, bi BODIPY unitateak perilenoaren nukleoaren bi ertzetan lotzen direnean (**PB1** koloratzailea), 523 nm-an absortzio banda intentsua ($165000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) erregistratzen da aurretik adierazi den perilenoarenarekin batera.



5.9. Irudia. **PC2** eta **PB1** konposatuaren absortzio (lerro lodi beltza) eta fluoreszentsia espektroak (lerro mehe beltza) etil azetatoan, kumarina ($\lambda_{\text{exc}} = 325 \text{ nm}$) eta BODIPYa ($\lambda_{\text{exc}} = 490 \text{ nm}$) selektiboki kitzikatu ostean, hurrenez hurren. Atal kromoforiko bakoitzari dagokion absortzio bandak (margotutako bandak, hidroxikumarina urdinez, BODIPYa orlegiz eta perileno gorria gorritz) bere egitura molekularrekin batera ere irudikatu dira. **PC1** konposatuaren espektroa ez da agertzen egitura antzekoa duen **PC2** konposatuarenarekiko parekoa delako.

Hiru kasuetan fluoreszentsia espektroa 600 nm-an zentratutako banda bakar batez osatuta dago, perileno gorriari dagokiona kitzikapen uhin-luzera edozein dela ere (5.2. Taula eta 5.9. Irudia). Kitzikapen uhin-luzerarekiko fluoreszentsia profilaren menpekotasunik ezak, emailearen igorpenaren gabeziarekin batera, EET prozesuaren eraginkortasuna indartzen du. Edozein kitzikapen uhin-luzeraren menpe, **PC1** eta **PC2** kaseteek 1.00 baliotik gertu dauden etekin fluoreszenteak erakusten dituzte, baina **PB1** koloratzailearen kasuan etekin kuantiko hau pixka bat jaisten da bifenilo bereizlearen malgutasun handiagoak suspertutako barne aldaketa prozesu gehigarriaren agerpenagatik (5.2. Taula). Halere, eragin hau oso baxua da, mugikortasun askea perileno gorriaren *N*-fenilo eraztunaren *orto* posizioan duaden metilo taldeengatik mugatuta baitago. Gainera, etekin kuantiko fluoreszente altua ($\phi = 0.80$) erregistratzen da. Are gehiago, perilenoaren eremuan monitorizatutako bitza-denbora balioak oso antzekoak

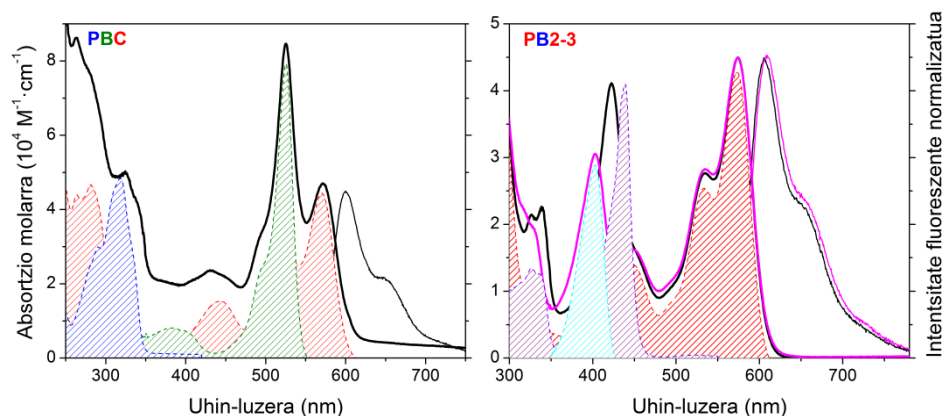
dira kitzikapen uhin-luzera edozein dela ere, kitzikapena BODIPYak perilenoak baino gehiago absorbatzen duen eremuan aurrera eramaten denean ere (5.26 ns eta 5.30 ns, hurrenez hurren), EET intramolekularraren eraginkortasuna indartuz.

5.2. Taula. *Kumarina-perileno (PC1-2) eta BODIPY-perileno (PB1-4) eta PBC kaseteen propietate fotofisikoak eta laser-eraginkortasuna etil azetatoan. Konparazio gisa energia hartzailea den perileno gorria isolatuaren baldintza berdinetan neurtutako emaitzak ere gehitu dira.*

koloratzailea	λ_{ab} [nm]	ϵ_{max} [$10^4 M^{-1} \cdot cm^{-1}$]	λ_{fl} [nm]	$\phi^{a)}$	τ [ns]	k_{fl} [$10^8 s^{-1}$]	k_{nr} [$10^8 s^{-1}$]	%Eff (355 nm)
Perileno gorria	568.0	4.9	597.5	1.00	6.16	1.62	0.00	22.0*
PC1	573.0	3.4	602.0	0.97	6.07	1.60	0.05	26.0
PC2	571.0	3.8	600.0	1.00	5.98	1.67	0.00	27.0
PB1	572.0 523.0	5.5 16.5	603.0	0.80	5.30 5.26 ^{b)}	1.51	0.37	27.0*
PBC	572.0 525.0	4.5 8.3	600.0	0.82	5.87 5.84 ^{b)}	1.40	0.30	35.0
PB2	574.0 403.0	4.5 3.1	609.0	0.87	6.21	1.40	0.21	24.0
PB3	574.0 422.5	4.6 4.1	604.5	0.51	6.53 (3%) 2.17 (32%) 0.52 (65%)	-	-	22.0
PB4	569.0 415.0	4.5 3.1	602.5	0.97	6.08	1.59	0.06	30.0

^{a)} antzeko balioak lortu ziren (taula honetan agertzen diren balioekin konparatuz %2 baino balio baxuagoak baino ez hartzailea zuzen kitzikatzen denean) emaitzak selektiboki kitzikatu ostean; ^{b)} 470 nm-an kitzikatu ostean (BODIPYaren eremuan), gainontzeko datuetan bezala 570 nm-an kitzikatu ordez (perilenoaren kitzikapen zuzena), eta 600 nm-an monitorizatuz (perilenoaren eremuan); * 532 nm-an ponpatuz.

Kumarina-perileno eta BODIPY-perileno konbinatu zirenean lortutako emaitzak ikusiz gero, hiru kromoforoak egitura molekular bakar batean lotu ziren PBC kasetea sortuz. Antena molekular honek hiru bandez osaturiko absortzio espektroa erakusten du, 325 nm, 525 nm eta 572 nm-an, unitate kromoforiko bakoitzari dagokiona (5.10. Irudia). Hortaz, edozein uhin-luzeratan kitzikatu ostean 600 nm inguruan fluoreszentzia banda bakar bat ikusten da perileno gorriaren igorpenari dagokiona, kumarinatik BODIPYra eta hemendik azkeneko perileno hartzaileira doan turrusta motako mekanismoaren bitartezko EET prozesu eraginkorrari esker, zeinek emaitzen igorpena modu egokian deuseztatzen duen. Gehiago dena, kitzikapen espektroa absortzio espektroarekin bat dator. Berrero ere etekin kuantikoaren balioa pixka bat baxuagoa da ($\phi = 0.82$) PC1-2 konposatuekin eta perileno gorriarekin konparatuz gero, eta PB1 konposatuaren baliotik gertu dago aurretik adierazitako malgutasunak desaktibazio ez-erradiatzailearen konstantea (barne aldaketa) handitzen baitu (5.2. Taula).

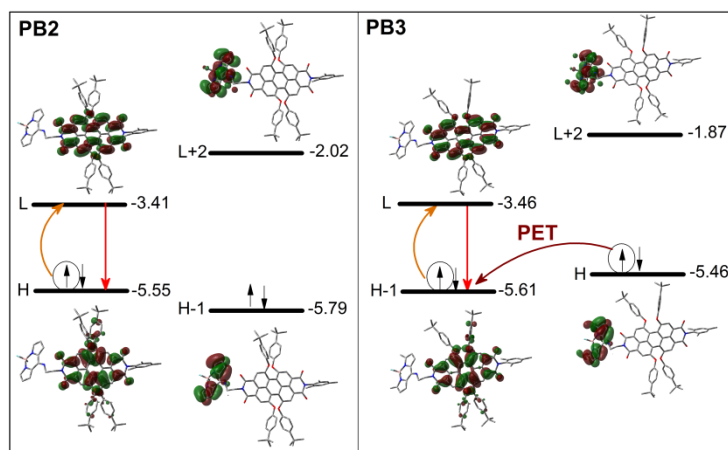


5.10. Irudia. PBC, PB2 (lerro beltza) eta PB3 (lerro arrosa) konposatuen absortzio (lerro mehea) eta fluoreszentszia espektroak (lerro lodia) etil azetatoan kumarina ($\lambda_{exc} = 325$ nm) eta 8-aminoBODIPYa ($\lambda_{exc} = 390$ nm) selektiboki kitzikatu ostean, hurrenez hurren. Atal kromoforiko bakoitzari dagokion absortzio bandak (margotutako bandak, hidroxikumarina urdinez, BODIPYa orlegiz, 8-aminoBODIPYa zianez, bere analogo alkilatua morez eta perileno gorria gorritz) ere gehitu dira.

Orain arte aurkeztutako kasete guztiek ikusgai eremuan absortzio profil hobetuak aurkezten dituzte, baina BODIPYaren absortzioa perilenoarenarekin gainjartzen da eremu berdean eta kumarinaren absortzioa perilenoarengatik estalita dago. Horregatik, nahiz eta BODIPYak argiaren absortzio ahalmena handitu, ez du absortzioaren leiho espektrala bezainbeste bere baitan hartzen. Hortaz, ikusgai eremu osoan zehar absortzio pankromatikoa lortzeko, 8-aminoBODIPY unitatea aukeratu zen perileno gorria osatzeko (**PB2-4** konposatuak). Guztiz ezaguna da BODIPY nukleoaren meso posizioako amino taldearen ordezkapenak eremu rudinerako desplazamendua eragiten duela. Gehiago dena, 3 eta 5 posizioetan metiloak kokatzean erantzun fluoreszentea hobetzen da (0.42 baliotik 0.90 baliotara etil azetatoan)^[42].

PB2 eta **PB3** konposatuetan 8-aminoBODIPYa eta bere analogo 3,5-dimetilatua kate alifatiko baten bitartez lotuta daude. Absortzio profila ikusgai eremuan ondo desberdindutako bi bandaz osatuta dago (5.10. Irudia). Emailaren alkilazioak **PB3** koloratzailean energia altueneko absortzio maximoa 20 nm inguru desplazatzen du energia baxuagoetara, aldi berean bere absortzio ahalmena handitzen duelarik alkil taldeen efektu emaila induktiboa dela eta (5.2. Taula). Bi sistemetan fluoreszentszia espektroak 605 nm inguruan kokatuta dagoen banda bakar batez osatuta daude, EET prozeuaren ondorioz azkeneko hartzailearen igropenari dagokiona. Hala eta guztiz ere, **PB2** konposatuak eremu gorrian ahalmen fluoreszente altua ($\phi = 0.82$ eta $\tau = 6.21$ ns) erakusten duen bitartean, **PB3** konposatuak etekin kuantiko balio baxuagoa ($\phi = 0.51$) aurkezten du eta desaktibazio kurbak doikuntza multi-esponentziala behar du non bizitza-denboraren osagairik laburrena gailentzen den (5.2. Taula). Kalkulu teorikoek

metilazio prozesuak **PB3** konposatuaren HOMO orbitalaren energia handitzen duela aurrezaten dute (-5.79 eV-tatik -5.46 eV-tara), perilenoaren igorpen gorriaren erantzuleak diren orbital molekularren artean kokatuz. Hau da, **PB3** kasetean HOMO orbitala BODIPYan kokatuta dago perilenoan egon beharrean (**PB2** konposatuan bezala), perilenoaren kitzikapeneselktiboaren ostean BODIPYtik perilenora PET erreduzitzaile ahalbidetuz (5.1. Irudia), igorpena deuseztatzen duen desaktibazio ez-errdiatzaile gehigarria gisa.

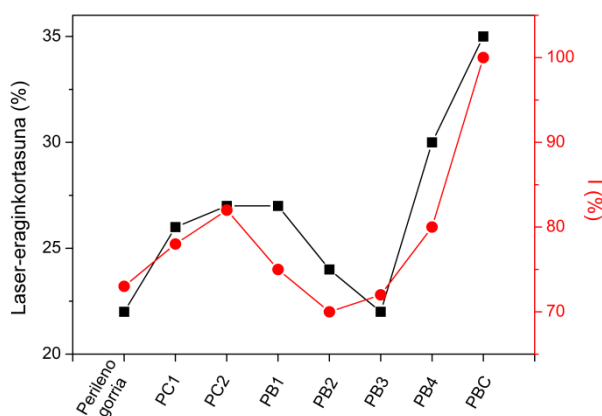


5.11. Irudia. Teorikoki kalkulaturako (B3LYP/6-31G) **PB2** eta **PB3** konposatuen trantsizio elektronikoa nagusienetan eta fluoreszentzia deuseztatzen duen PET prozesuan parte hartzen duten orbital molekularren energia diagramak (eV-etan adierazita).

PB2 konposatuaren bereizle alifatikoa konjokatua eta askoz zurrunagoa den beste batengatik ordezkatzen denean (fenilo bereizlea **PB4** koloratzailean), erantzun fluoreszentea hobetzen da (5.2. Taula). Egitura aldaketa honek ez du ez banda espektralaren posizio ez itxura aldatzen, baina bereizlearen zurruntasun handiagoak desaktibazio ez-errdiatzailean mugatzen ditu eta ahalmen fluoreszentea handitzen du (0.82 balioetik **PB2** konposatuaren kasuan 0.97 baliora **PB4** koloratzailean). Emaizta hauek egitura zurrunak muntaketa molekular hauen erantzun fluoreszentean duen eraginaren berri ematen digute. Areago, erantzun fluoreszentea perileno gorriak aurkeztutako antzeko balioetara heltzen da (5.2. Taula). Beraz, **PB4** koloratzailea argi biltzaile gisa kasete sorta honen koloratzaile onena bilakatzen da ikusgai duen absortzio ahalmen zabalagatik, baina eremu gorrian %100 erantzun fluoreszentea erakutsiz.

5.2.2. Laser-propietateak

Antena molekular hauek perileno gorriaren absorbantzia handitzen dute ohiko ponpaketa uhin-luzeretan (Nd:YAG laserraren bigarren eta hirugarren armonikoak, 532 eta 355 nm, hurrenez hurren), espero den laser funtzioa hobetuz. Honi dagokionez, atal honetan aurkeztu diren kasete guztiak 355 nm-an ponpatuak izan ziren, perileno gorria eta **PB1** konposatuak izan ezik, 532 nm-an ponpatuak izan zirenak, laser-seinale bakarra 625 nm inguruan erakutsiz EET prozesuaren erginkortasunari esker. Laser jokaera orokorrean propietate fotofisikoekin bat dator, kaseterik fluoreszenteenak laser-eraginkortasun balio altuenak edukiz. Gehaigo dena, Stokes desplazamendu altuak eta desaktibazio konstante ez-erradiatzaile baxuak erakusten dituzten koloratzaileak fotoegonkorrenak dira ponpaketa baldintza sendoen menpe (5.2. Taula eta 5.12. Irudia ikusi).



5.12. Irudia. Kasete pankromatiko berrien eta energia hartzaile den perileno gorria isolatuaren laser-eraginkortasuna eta fotoegonkortasuna (100000 ponpaketa pultsoren osteko laserraren amaierako intentsitatea hasierako intentsitatearekiko, $I (%) = (I/I_0) \times 100$).

Aurretik azaldutako absortzio ahalmenaren handipenak ponpaketa uhin-luzeretan ingurune aktiboan beharrezkoa den koloratzailearen kontzentrazioa txikiagotzen du (9 mM-etatik perileno gorriaren kasuan 1-3 mM-etara sintetizatutako kasete berrietan), aldi berean birabsortzio/berrigorpen efektuak eta agregazio prozesuak txikituz. Kumarinan (**PC1** eta **PC2**) eta BODIPY unitatean (**PB1**) onarritutako kaseteek perileno gorriaren antzeko fotoegonkortasun balioak erakusten dituzte, baina laser-eraginkortasun balio pixka bat altuagoak baldintza experimental berdinen menpe (5.12. Irudia). Era berean, 8-aminoBODIPYan onarritutako kaseteek laser-eraginkortasunari dagokionez antzeko balioak erakusten dituzte (%24 eta %22 **PB2** eta **PB3** koloratzaileen kasuan, hurrenez hurren) perileno gorriarekin konparatzean, nahiz eta propietate fotofisiko okerrenak erakutsi (halere nahiko onak dira) euren bereizle malguagatik. Emaille eta hartzaile

unitateen arteko lotzailea zurrunagoa den batengatik ordezkaten denean (PB4 konposatua), laser-eraginkortasuna %30era arte igotzen da fotofisikan sumatu den tendentzia berdinari jarraituz.

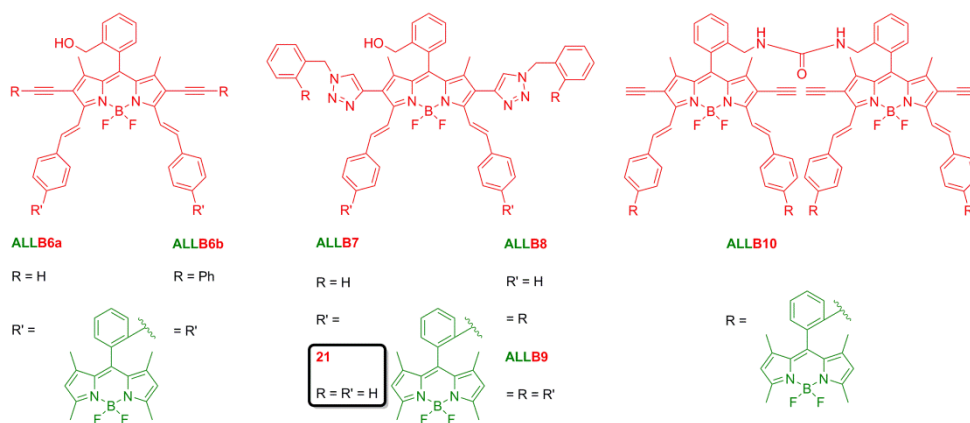
PBC trimerokoak jokaera fotofisiko onena erakutsi ez arren, nahiko egokia da. Berez, laser-eraginkortasun eta fotoegonkortasun balio altuenak erakusten ditu (5.12. Irudia), perileno gorriaren laser funtzioa hobetuz %35 arteko laser-eraginkortasun balioekin batera eta fotodegradazioaren seinalerik gabe laser erradiazio luze eta intentsuaren ostean. Azkeneko propietatea oso interesgarria da PBC konposatuaren fotoegonkortasuna gainontzeko koloratzaileena baino askoz altuagoa baita, perileno gorriari dagokion balioa soberan gaintutuz. Honek hiru unitate kromoforikoak arkitektura molekular bakar batean txertatzearen onura egiaztatzen du.

Laburbilduz, hemen aplikatu berri den energia transferentzia bitarteko koloratzaile-laserretan oinarritutako estrategiak perileno koloratzaileen funtzioa suspertzen du eremu gorrian igortzen duten laserren ingurune aktibo gisa. Antena molekular berriek aldatu gabeko eta komertziala den perileno gorriaren propietate fotofisikoak zein laser-propietateak nabarmenki hobetzen dituzte. Gehiago dena, faktore optiko aurreratuek, hala nola absortzio koefiziente altuagoak ponpaketaren ohiko uhin-luzeretan, argia biltzeko leiho espektral zabalagoa eta eremu gorriko igorpen eraginkorragoa kitzikapen uhin-luzera edozein dela ere, euren aplikagarritasun fotonikoa garatzen dute.

5.3. BODIPYetan OINARRITUTAKO PENTAMERO ETA HEXAMERO LASER-KOLORATZAILEAK

Aurreko ataletan eremu gorriko azkeneko hartzailea aza-BODIPY (5.1. Atala) eta perileno gorria (5.2. Atala) eta unitate emaileak kumarina edo BODIPY eraldatuak ziren. Atal honetan, ordea, eta BODIPYen eremu espektral sintonizagarrian oinarrituz (euren moldakortasun kimikoari esker), absortzio/igorpen bandak eremu berde/horian dituzten BODIPYak (PM567) 3 eta 5 posizioetan estirilo taldeei esker π -sistema hedatua dituzten eremu gorriko bestelako BODIPYekin kobalenteke lotu ditugu, bakarrik BODIPYz osatutako kaseteak sortuz (5.13. Irudia). Berritasun nagusia kaseteetan elkarrekin lotutako emaile eta hartzaileen kopurua da. Hori dela eta, BODIPY emaileen lotura 8-

feniloaren orto posiziotik aurrera eraman zen konformazionalki mugatuta dagoen geometria finkatzeko, baina **ALLB6a-b** trimeretanbi emaile periferikoak BODIPY hartzailearen 3,5-estrilo taldeen bitartez konektatu ziren bitartean, **ALLB8** trimeroan BODIPY hartzailearen 2,6-triazol taldeen bitartez ainguratu ziren. Azken bi hurbilketaren konbinaziotik **ALLB9** pentameroa sortu zen, non aldi berean lau emaile erdiko hartzailerara lotu ziren. Azkenik, **ALLB6a** konposatua dimerizatu zen urea 8-benziliko bidez **ALLB10** hexameroa berarekin ekarriz, zeinek arkitektura molekular berdinean sei emaile eta bi hartzaile dituen. Kasete sorta honek emaile eta hartzaileen kopuruak koloratzaile multikromoforiko hauen propietate fotonikoen gainean duen eragina berrestea ahalbidetzen du.

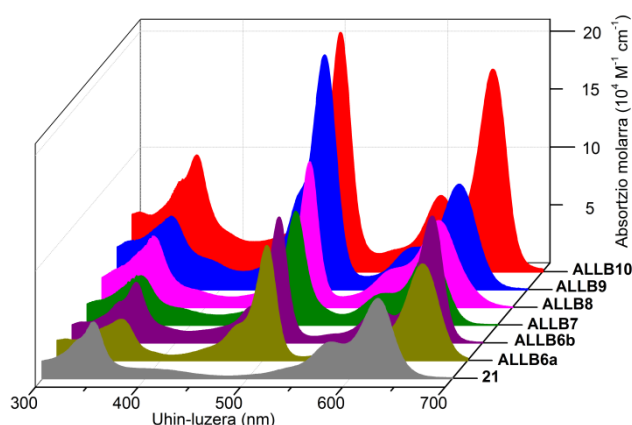


5.13. Irudia. *Bakarrik BODIPYz osatutako kaseteen egitura. Ereku gorrian igortzen duen 21 koloratzaile isolatuaren egitura ere gehitu da.*

5.3.1. Propietate fotofisikoak

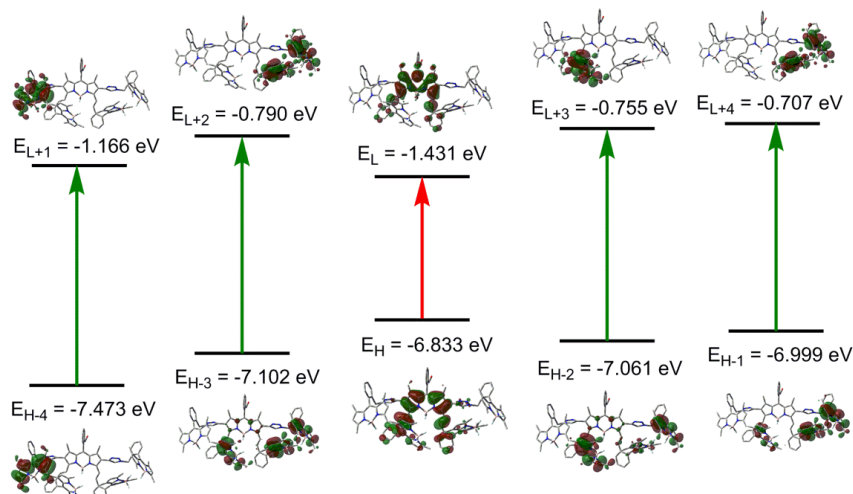
ALLB6-10 kaseteen absortzio espektroak ondo definitutako hiru bandaz osatuta daude, zentuzko diseinuaren ondorioz, lotura kobalentearen ostean unitate kromoforiko bakoitzak bere identitate molekularra mantentzen baitu absortzio profil totala modu gehigarri batean osatuz (5.14. Irudia). Energia baxueneko banda (630 nm inguru) π -sistema hedatua duen erdiko azpiunitateri dagokio **21** koloratzaile isolatuaren espektroarekin bat eginez. Banda berdina 655 nm-raino batokromikoki desplazatuta dago 2 eta 6 posizioetako triazol taldeak azetilen edo azetilenfenil taldeengatik ordezkatzean. π -sistema hedatua duten bi erdiko BODIPYz osatutako **ALLB10** hexameroak eremu honetan absortzio molar koefizienterik altuena ($\epsilon = 170000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) erakusten du. Halere, kasete bakoitzean absortzio bandarik intentsuena 505 nm inguruan erregistratu da eta BODIPY periferiko tetrametilatuari dagokio (5.14. Irudia). Bere absortzio molar koefiziente BODIPY

emaile kopurarekiko zuzenki proportzionala da. Horregatik, lau BODIPY periferikoak dituzten koloratzeileek (ALLB9 eta ALLB10 konposatuak) $200000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ baino koefiziente molar altuagoak erakusten dituzte eremu berdean. Azkenik, uhin-luzera baxuenean eta absortzio molar probabilitaterik baxuena duen banda 3 eta 5 posizioetako estrilo taldeen eta erdiko BODIPYen pirrol taldeen arteko elkarrekintzari dagokio^[43]. Banda hau BODIPYaren trantsizio energetikoenarekin bat egiten duela aipatzekoa da, eta ondorioz, BODIPY periferiko hauek eremu espektral honetan absortzio ahalmenaren handipenean laguntzen dute.



5.14. Irudia. Bakarrrik BODIPYetan oinarritutako kaseteen absortzio espektroak dietil eterrean ($2 \mu\text{M}$). Eremu gorrian igortzen duen 21 koloratzaile isolatuaren espektroa ere gehitu da.

Esleipen hauek guztiak kalkulu teorikoengatik berretsita daude, zeinek uhin-luzera altueneko trantsizioan (HOMO \rightarrow LUMO) parte hartzen duten orbital molekularrak eskusiboki erdiko BODIPYan kokatuta daudela aurrezaten dute (5.15. Irudia). Gehiago dena, eremu berdeko absortzioaren erantzuleak diren orbital molekularrak energetikoki oso gertu eta BODIPY periferiko bakoitzean kokatuta daude. Antolamendu gemoetrikoak unitate kromoforikoen isolamendu elektronikoa oinarritzko egoeran baita absortzio zabala ere baieztatzen ditu, hartzaile eta emaillearen loturaren inguruko eragozpen esterikoak (meso posizioko arilo ordezkatzaillearen orto posizioa aldameneko 1 eta 7 posizio metilatuekin inplikatzeko duena) BODIPY nukleoaren eta atal aromatikoaren arteko orientazio ortogonal aldaezina finkatzen baitu akoplamendu exzitonikoak ekidinez.



5.15. Irudia. Teorikoki iragarritako (ω B97XD/6-31G^{*}) **ALLB9** pentameroaren ikusgaiko trantsizio elektronikoen nagusian parte hartzen duten orbital molekularren energia diagramak (eV-etan adierazita). Eskema erraztekoan 355 nm-an kokatutako UV trantsizioa ez da hemen gehitu orbital molekular anitzen konfigurazioz osatuta baitago.

Aurreko baieztapenekin bat etorritik, kasete hauen fluoreszentsia espektroak 2 eta 6 posizioetan lotutako talde aromatikoaren arabera eremu gorriko 650-680 nm tartean agertzen den banda bakar batez osatuta daude kitzikapen uhin-luzera edozein dela ere. Berez, emaileen igorpena arbuigarria da etekin kuantiko fluoreszentearen balioa %1 baino baxuagoarekin. Beraz, berriro ere EET intramolekular eraginkorra gertatzen da (> %98 kasete eta disolbatzaile guztietan) BODIPY emaile periferikoetatik π -sistema hedatua duen erdiko BODIPYra.

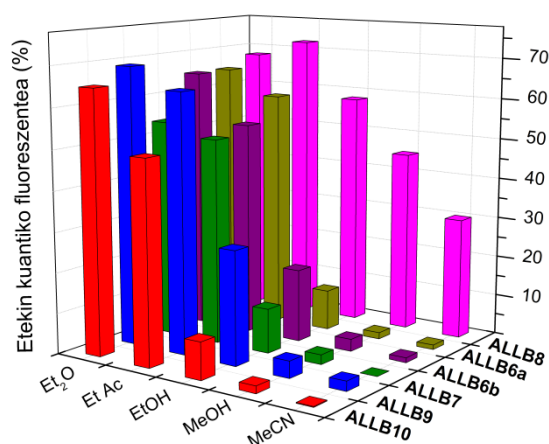
Etekin kuantiko fluoreszenteak ingurune polarrean behintzat altuak dira (0.69 baliora arte). Halere, emailea estirilo taldeetan lotuta duten konposatuetan (koloratzaile guztiak **ALLB8** izan ezik) balio hau bortizki txikiagotzen da disolbatzailearen polaritatea handitzen den heinean (5.3. Taula). Dietil eterrean eraginkortasun fluoreszentea 0.55 eta 0.69 balioen artean dagoen bitartean, ingurune polarrenean igorpena ia hutsala da (5.16. Irudia) eta desaktibazio kurba fluoreszenteak izaera bi-esponentziala hartzen du non osagairik nagusia oso azkarra den (5.3. Taula). Emaita hauek desaktibazio ez-erradiatzaile eraginkorra dagoela adierazten dute, ICT prozesuari esleituta egon daitekeena. Berez, 5.15. Irudian HOMO eta LUMO orbitalen arteko trantsizioak nolabaiteko karga transferentzia izaera duela ikus daiteke, kitzikapenaren ostean ordezkatzaile aromatikoetatik BODIPYra dentsitate elektronikoen transferentzia baitago.

5.3. Taula. Bakarrrik BODIPYetan oinarrituako kaseteen propietate fotofisikoak disolbatzaile polar (dietil eterra, Et₂O) eta apolarren (metanola, MeOH) disoluzio diluituetan (2 μM).

ALLB	λ_{ab} [nm]	ϵ_{max} [10 ⁴ M ⁻¹ ·cm ⁻¹]	λ_{fl} [nm]	ϕ	τ [ns]	
6a	Et ₂ O	652.0	10.4	662.5	0.65	4.72
		501.5	10.6			
		361.5	5.3			
	MeOH	649.5	8.4	660.5	0.016	0.14 (97%)–0.47 (3%)
		500.5	9.3			
		360.5	4.9			
6b	Et ₂ O	655.0	8.8	676.5	0.65	4.50
		604.0	10.2			
		361.5	4.0			
	MeOH	657.5	8.1	682.0	0.030	0.26 (99%)–1.81 (1%)
		503.5	9.7			
		361.5	4.0			
7	Et ₂ O	632.5	7.2	654.5	0.54	4.39
		503.0	10.2			
		350.5	5.4			
	MeOH	629.0	7.0	651.0	0.024	0.22 (90%)–0.92 (10%)
		502.5	10.2			
		350.5	6.1			
8	Et ₂ O	627.0	8.6	652.0	0.68	4.32
		502.5	13.6			
		349.5	6.8			
	MeOH	624.5	8.7	649.5	0.45	2.78
		502.0	12.8			
		347.5	7.2			
9	Et ₂ O	633.5	9.0	657.5	0.69	4.25
		502.0	20.2			
		352.0	6.2			
	MeOH	631.0	9.5	655.5	0.042	0.44 (91%)–1.13 (9%)
		501.0	19.6			
		349.0	7.1			
10	Et ₂ O	651.5	17.4	664.5	0.65	4.56
		503.0	20.6			
		362.0	10.0			
	MeOH	650.5	15.4	666.0	0.018	0.12 (77%)–0.48 (23%)
		501.5	20.0			
		362.0	8.8			

Hala eta guztiz ere, **ALLB8** trimeroko disolbatzailearen polaritatearekiko menpekotasun baxuagoa erakusten du, bere etekin kuantiko fluoreszentea metanolean 0.45 baliotan mantentzen baita eta, bere bizitza-denbora ingurune polarrean 2.78 ns baliotara jaisten den arren, desaktibazio kurbak bere izaera mono-esponentziala mantentzen du (5.16. Irudia eta 5.3. Taula ikusi). Kasu honetan desberdintasuna BODIPY emaleen lotura posizioan dago, **ALLB8** trimeroa konposatu bakarra baita non BODIPY tetrametilatuak erdiko BODIPY hartzailearen 2 eta 6 posizioetan kokatuta dauden (gainontzeko kaseteen moduan 3,5-estrilo taldeen bitartez lotuta egon ordez). Aurkikuntza honek 3 eta 5 posizioetako estrilo taldeen funtzionalizazioak BODIPYekin ICT prozesua egonkortzen duela adierazten du, π -sistema hedatua eta posizio hauetan

funtzio-talde berdinak dituen BODIPY isolatuak (21 koloratzaile isolatua) erantzun fluoreszente altuagoa erakusten baitu ingurune polarrean zein apolarrean^[44]. Are gehiago, **ALLB10** konposatua hartzaile unitateen arteko urea bereizlea ere ICT prozesua suspertzeko gai da bere elektroizazioa dela medio, antzeko bis-BODIPY simetrikoen kasuan aurretik argitaratu den moduan^[45]. Hortaz, bi funtzio-taldeek ICT prozesuaren aktibazioan laguntzen dute, **ALLB10** konposatua atal honetan ikertutako kasete guztien artean erantzun fluoreszente baxuena duena izanez (5.16. Irudia eta 5.3. Taula).



5.16. Irudia. Kasete guztien etekin kuantitiko fluoreszenteak disolbatzailearen polaritatearen arabera.

Ondorioz, kasete fotoniko hobeezin baten propietate guztiak betetzeko aukerarik egokiena π -sistema 3 eta 5 posizioetan estirilo taldeen bitartez hedatzea da, baina azken hauek funtzionalizatu gabe erantzun fluoreszente altua ingurune guztietan mantentzeko, euren polaritatea edozein delarik. Beraz, BODIPY emaileak 2 eta 6 posizioetatik lotzea estrategia egokia da argia eremu zabal batean eta modu eraginkor batean biltzeko azken hartzaile bideratuta dagoen EET prozesu lehiakorrarekin batera, zeinek aztertutako ingurune guztietan argi distiratsua igortzen duen kitzikapen eremu espektrala edozein dela ere.

5.3.2. Laser-propietateak

Bakarrik BODIPYetan oinarritutako konposatuen absortzio propietateak kontuan hartuz, euren laser-propietateak 355 nm eta 532 nm-an zeharka ponpatu ziren antzeko emaitzak erakutsiz (5.4. Taula). Kasu honetan ponpaketa baldintza bortitzagoak erabili ziren (8 mJ pultsuko eta 15 Hz, ponpaketaren energia eta errepikapen abiadura gisa,

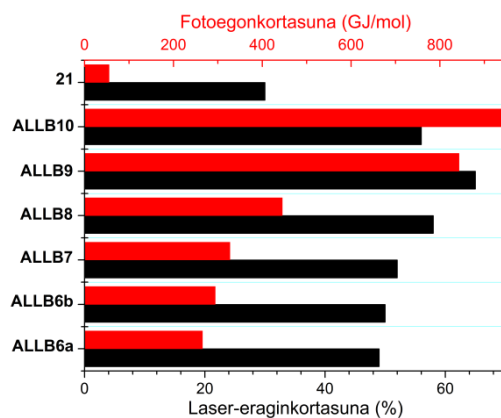
hurrenez hurren) BODIPY koloratzaileen laser-karakterizazioa aurrera eramateko erabiltzen diren ohiko neurketekin alderatuta (5 m) pultsuko eta 10 Hz)^[46]. Ponpaketaren uhin-luzeretan absortzio sendoa duten energia emaileen kopuru altua dela eta, laser-eraginkortasun altuenaren kontzentrazioarik ezin hobea 0.09 mM eta 0.2 mM tartean dago, **21** koloratzaile isolatuarekin konparatuz ingurune aktiboaren kontzentrazioa murriztuz eta aurretik adierazitako igorpenaren deuseztapena ekidinez agregazio prozesuak direla kausa.

5.4. Taula. Bakarrrik BODIPYetan oinarritutako kaseteen laser-propietateak etil azetatoan eta 355 nm eta 532nm-an (grisez adierazita) ponpatu ostean. Konparazio gisa eremu gorrian igortzen duen **21** koloratzaile isolatuaren emaitzak ere gehitu dira baldintza esperimental berdinen menpe.

ALLB	λ_{1a} [nm]	%Eff	$E_{dose}^a)$ [GJ/mol]	λ_{1a} [nm]	%Eff	E_{dose} [GJ/mol]
21^{b)}	690.0	30	55			
6a	716.0	49	265	720.0	52	308
6b	704.0	50	294	710.0	47	342
7	700.0	53	327	703.0	51	388
8	699.0	58	445	705.0	62	524
9	710.0	65	843	715.0	68	993
10	722.0	56	938	730.0	57	1137

^{a)} fotoegonkortasuna, koloratzailearen hasierako igorpenaren %50 mantentzeko berak absorbatu behar duen ponpaketa energia kopuru gisa definituta; ^{b)} 355 nm-an bakarrrik ponpatuta 532 nm-an duen absortzio ahalmen baxua dela eta.

Espero zen bezala, euren laser-igorpenaren sientalea eremu gorrian kokatzen da (700-730 nm artean) eraginkortasun altuarekin (%68 baliotara arte) eta fotoegonkortasun balio ikaragarri hobekin batera (1150 GJ/mol baliotara arte). Antena hauek dagokion hartzailearekin konparatzen baditugu, euren laser-funtzioa hobetu dela argi ikusten da bi ponpaketa uhin-luzeretan absortzio ahalmenaren handipenari esker. Areago, zenbat eta BODIPY emaileen kopurua handiagoa izan, laser-eraginkortasuna eta batez ere fotoegonkortasuna orduan eta altuagoak dira. Berez, **ALLB9** pentameroak eta **ALLB10** hexamoeroak, bakoitzak lau BODIPY emaile unitate dituena, eremu gorrian igortzen duen **21** koloratzaile isolatuarekin konparatuz gero, laser-eraginkortasun eta fotoegonkortasun bikoitza eta 20 aldiz handiagoa erakusten dute, hurrenez hurren, hemen aztertutako kasete guztien artean laser-funtzio onena erakutsiz (5.4. Taula eta 5.17. Irudia ikusi).



5.17. Irudia. Bakarrik BODIPYetan oinarritutako kaseteen laser-eraginkortasun eta fotoegonkortasun balioak 355 nm-an ponpatuz eta 21 energia hartzaile isolatuarekin alderatuz.

Laser-propietate ikusgarri hauek ponpaketa uhin-luzeretan absortzio ahalmenaren handipenari eta EET prozesu eraginkorrari esker lortu ziren, zeinek ingurune aktiboko galerak gainditzeko behar den energia kopurua murrizten duten. Gehiago dena, eremu gorriko azkeneko energia hartzailearen zeharkako kitzikapenak fotodegradazioaren prozesuaren indizearen murrizketan laguntzen du. Hori dela eta, BODIPY multikromoforiko erronkari hauen zentzuzko diseinuak eta propietate fotofisikoen eta egitura molekularren arteko harreman konplexua zuzentzen duen egiturazko faktoreen ulermen sakonak antena molekular edo koloratzaile-laser sintonizagarri gisa jardun dezaketeen material fotoniko adimentsuen garapena ahalbidetzen dute.

Bibliografia

- [1] Hewavitharanage, P.; Warshawsky, R.; Rosokha, S. V.; Vaal, J.; Stickler, K.; Bachynsky, D.; Jairath, N.; *Tetrahedron*, **2020**, *76*, 131515.
- [2] Azarias, C.; Russo, R.; Cupellini, L.; Mennucci, Jacquemin, D.; *Phys. Chem. Phys. Chem.*, **2017**, *19*, 6443-6453.
- [3] Balsukuri, N.; Manav, N.; Lone, M. Y.; Mori, S.; Das, A.; Sen, P.; Gupta, I.; *Dyes Pigm.*, **2020**, *176*, 108249.
- [4] Mirkovic, T.; Ostroumov, E. E.; Anna, J. M.; van Grondelle, R.; Govindjee, G.; Scholes, G. D.; *Chem. Rev.*, **2017**, *117*, 249-293.
- [5] Chenu, A.; Scholes, G. D.; *Annu. Rev. Phys. Chem.*, **2015**, *66*, 69-96.
- [6] Speiser, S.; *Chem. Rev.*, **1996**, *96*, 1953-1976.
- [7] Fan, J.; Hu, M.; Zhan, P.; Peng, X.; *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, *42*, 29-43.
- [8] Albinsson, B.; Mårtensson, J.; *J. Photochem. Photobiol. C.*, **2008**, *9*, 138-155.
- [9] Dos Remedios, C. G.; Moens, P. D. J.; *J. Struct. Biol.*, **1995**, *115*, 175-185.
- [10] Medintz, I.; Hildebrandt, N.; *FRET-Förster Resonance Energy Transfer*, Wiley-VCH, Weinheim, 1st Ed., **2014**.
- [11] Curutchet, C.; Feist, F. A.; Van Averbeke, V.; Mennucci, B.; Jacob, J.; Müllen, K.; Basché, T.; Beljonne, D.; *Phys. Chem. Phys. Chem.*, **2010**, *12*, 7378-7385.
- [12] Cao, D.; Zhu, L.; Liu, Z.; Lin, W.; *J. Photochem. Photobiol. C.*, **2020**, *44*, 100371.
- [13] Benniston, A. C.; Harriman, A.; *Coord. Chem. Rev.*, **2008**, *252*, 2528-2539.
- [14] Bai, D.; Benniston, A. C.; Hagon, J.; Lemmetyinen, H.; Tkachenko, N. V.; Clegg, W.; Harrington, R. W.; *Phys. Chem. Phys. Chem.*, **2012**, *14*, 4447-4456.
- [15] Dutta, P. K.; Varghese, R.; Nangreave, J.; Lin, S.; Yan, H.; Liu, Y.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, 11985-11993.
- [16] Goryacheva, O. A.; Beloglazova, N. V.; Vostrikova, A. M.; Pozharov, M. V.; Sobolev, A. M.; Goryacheva, I. Y.; *Talanta*, **2017**, *164*, 377-385.
- [17] Saravanan, V.; Ganesan, S.; Rajakumar, P.; *RSC Adv.*, **2020**, *10*, 18390-18399.
- [18] Davis, J. L. K.; MacQueen, R. W.; Jones, S. T. E.; Orofino-Pena, C.; Cortizo-Lacalle, D.; Taylor, R. G. D.; Credgington, D.; Skabara, P. J.; Greenham, N. C.; *J. Mater. Chem. C.*, **2017**, *5*, 1952-1962.
- [19] Esnal, I.; Durán-Sampedro, G.; Agarrabeitia, A. R.; Bañuelos, J.; Gracia-Moreno, I.; Macías, M. A.; Peña-Cabrera, E.; López-Arbeloa, I.; de la Moya, S.; Ortiz, M. J.; *Phys. Chem. Phys. Chem.*, **2015**, *17*, 8239-8247.
- [20] Vohra, V.; Calzaferri, G.; Destri, S.; Pasini, M.; Porzio W.; Botta, C.; *ACS Nano*, **2010**, *4*, 1409-1416.
- [21] Cerdán, L.; Enciso, E.; Martín, V.; Bañuelos, J.; López-Arbeloa, I.; Costela, A.; García-Moreno, I.; *Nat. Photonics*, **2012**, *6*, 621-626.
- [22] Durán-Sampedro, G.; Agarrabeitia, A. R.; García-Moreno, I.; Gartzia-Rivero, L.; de la Moya, S.; Bañuelos, J.; López-Arbeloa, I.; Ortiz, M. J.; *Chem. Commun.*, **2015**, *51*, 11382-11285.
- [23] Berlien, H. P.; Müller, G. J.; Breuer, H.; Krasner, N.; Okunata, T.; Sliney, D.; *Applied Laser Medicine*, Springer-Verlag, Berlin, 1st Ed., **2003**.
- [24] Zhao, Y.; Zhang, Y.; Lv, X.; Liu, Y.; Chen, M.; Wang, P.; Liu, J.; Guo, W.; *J. Mater. Chem.*, **2011**, *21*, 13168-13171.
- [25] Lin, W.; Yuan, L.; Cao, Z.; Feng, Y.; Song, J.; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 375-379.
- [26] El-Khouly, M. E.; Amin, A. N.; Zandler, M. E.; Fukuzumi, S.; D'Souza, F.; *Chem. Eur. J.*, **2012**, *18*, 5239-5247.
- [27] Kumar, S.; Thorat, K. G.; Ravikanth, M.; *J. Org. Chem.*, **2017**, *82*, 6568-6577.
- [28] Yonemoto, D. T.; Papa, C. M.; Mongin, C.; Castellano, F. G.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2020**, *142*, 10883-10893.
- [29] Zhou, Z.; Qiao, C.; Wang, K.; Wang, L.; Liang, J.; Peng, Q.; Wei, Z.; Dong, H.; Zhang, C.; Shuai, Z.; Yan, Y.; Zhao, Y. S.; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2020**, *59*, 2-8.
- [30] Chen, X. K.; Kim, D.; Brédas, J. L.; *Acc. Chem. Res.*, **2018**, *51*, 2215-2224.

- [31] Zhao, J.; Xu, K.; Yang, W.; Zhong, F.; *Chem. Soc. Rev.*, **2015**, 44, 8904-8939.
- [32] de Vetta, M.; González, L.; Corral, I.; *ChemPhotoChem.*, **2019**, 3, 727-738.
- [33] Liang, X.; Tu, Z. L.; Zheng, Y. X.; *Chem. Eur. J.*, **2019**, 25, 5623-5642.
- [34] Nguyen, V. N.; Kumar, A.; Lee, M. H.; Yoon, J.; *Coord. Chem. Rev.*, **2020**, 425, 213545.
- [35] Oh, C. S.; Sa Pereira, D.; Han, H.; Park, H. J.; Higginbotham, H. F.; Monkman A. P.; Lee, J. Y.; *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2018**, 10, 35420-35429.
- [36] Deng, C.; Zheng, S.; Wang, D.; Yang, J.; Yue, Y.; Li, M.; Zhou, Y.; Niu, S.; Tao, L.; Tsuboi, T.; Zhang, Q.; *J. Phys. Chem. C.*, **2019**, 49, 29875-29883.
- [37] Chen, D.; Rajamalli, P.; Tenopala-Carmona, F.; Carpenter-Warren, C. L.; Cordes, D. B.; Keum, C. M.; Slawin, A. M. Z.; Gather, M. C.; Zysman-Colman, E.; *Adv. Opt. Mater.*, **2020**, 8, 1901283.
- [38] Chen, J. X.; Tao, W. W.; Xiao, Y. F.; Wang, K.; Zhang, M.; Fna, X. C.; Chen, W. C.; Yu, J.; Li, S.; Geng, F. X.; Zhang, X. H.; Lee, C. S.; *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2019**, 32, 29086-29093.
- [39] Castiglioni, F.; Lanzani, G.; Mele, A.; Monguzzi, A.; Passarello, M.; Ruggirello, A.; Scotognella, F.; Liveri, V. T.; *J. Mater. Sci.*, **2011**, 46, 6402-6407.
- [40] Zhang, B.; Soleimaninejad, H.; Jones, D. J.; White, J. M.; Ghiggino, K. P.; Smith, T. A.; Wong, W. W. H.; *Chem. Mater.*, **2017**, 29, 8395-8403.
- [41] López-Arbeloa, F.; López-Arbeloa, T.; López-Arbeloa, I.; *Handbook of Advanced Electronic and Photonic Materials and Devices*, Academic, New York, Ed. Nalwa. H. S., 7, 209-245, **2001**.
- [42] Esnal, I.; Valois-Escamilla, I.; Gómez-Durán, C. F. A.; Urías-Benavides, A.; Betancourt-Mendiola, M. L.; López-Arbeloa, I.; Bañuelos, J.; García-Moreno, I.; Costela, A.; Peña-Cabrera, E.; *ChemPhysChem.*, **2013**, 14, 4134-4142.
- [43] Gómez-Durán, C. F. A.; Esnal, I.; Valois-Escamilla, A.; Urías-Benavides, A.; Bañuelos, J.; López-Arbeloa, I.; García-Moreno, I.; Peña-Cabrera, E.; *Chem. Eur. J.*, **2016**, 22, 1048-1061.
- [44] Rohand, T.; Qin, W.; Boens, N.; Dehaen, W.; *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 4658-4663.
- [45] López, J. C.; del Rio, M.; Oliden, A.; Bañuelos, J.; López-Arbeloa, I.; García-Moreno, I.; Gómez, A. M.; *Chem. Eur. J.*, **2017**, 23, 17511-17520.
- [46] Cerdán, L.; Costela, A.; Gracia-Moreno, I.; Bañuelos, J.; López-Arbeloa, I.; *Laser Phys. Lett.*, **2012**, 9, 426-433.

Ondorioak

BODIPYak fluoroforo moderno, moldagarri eta aplikagarriak garatzeko koloratzaile egokiak direla egiaztatu dugu. Honi dagokionez, egitura molekularren zentzuzko diseinua ezinbestekoa da aplikazio desberdin asko betetzeko, laserretatik hasita, kiralitate-eragileak, argi biltzaileak, fluoreszentzia probak zein sentsoareak eta biofotonikako fotosentikortzaileetara arte doazenak. Kasu bakoitzean egitura molekularrak eragindako fenomeno fotofisikoak (energia eta elektroien transferentzia, akoplamendu elektronikoa, elkarrekintza exzitonikoak) ulertzea funtsezkoa da, euren funtzioa hobetzeari eta nahi den aplikazioa eskaintzeari ateak irekiz.

Hemendik aurrera, tesi honetatik eratorritako ondorio nagusiak laburki zehaztuko ditugu:

- *N*-BODIPYak hurbilketa erakargarriak dira funtzionalizaziorako erakusten duten moldagarritasun kimiko handiagatik eta laser-propietate bikainengatik. Are gehiago, ziklo espiranikoak dituzten konposatuak laser funtzioa hobetzeko eta egoera solidoan igortzeko gai dira. Erdiko boroan elektroien aberatsak direnak, ordea, igorpena eragikortasunez deuseztatzen duten elektroien transferentzia prozesuak sustatzeko gai dira, katioiak detektatzeko *on-off* sentsoare bihurtuz.
- Bentzofuranoak fusionatuta dituzten BODIPYak eta aza-BODIPYak estrategia egokiak dira eremu gorrian eta NIR eremuan igortzen duten koloratzaile-laserrak lortzeko, leiho espektral bakoitzean eskuragarri dauden koloratzaile

komertzialek baino eraginkortasun hobetuaz eta igorpen iraunkorragoaz hornituta daudelarik. *F*-BODIPYen kasuan ez bezala, *aza*-BODIPYen boro atomoaren inguruko aldaketa kimikoa fotoegonkortasunerako kaltegarria da.

- Karbohidratoak BODIPYen bitartez markatzea eraginkorra da uretan diolbagarritasun hobea (0.1 mM-ra arteko kontzentrazioak lortuz inolako agregaziorik gabe) duten fluoreszentsia probak lortzeko bioirudian, koloratzaile hauen gaur egungo desabaintailarik nagusia dena, koloratzailearen erantzun fluoreszente altua mantenduz.
- Ester asegabeak BODIPYra lotzean aminoazidoen presentzia agerian uzteko baliogarria den sentsore ratiometriko eta kolorimetrikoa lortzen da, euren kuantifikaziorako, kontzentrazio baxuak barne (mikromolar baino baxuagoak), hiru kanal erakutsiz.
- *Meso* posizioaren bitarteko BODIPYen dimerizazio kobalentea alternatiba eraginkorra da terapiarako oxigeno singletea sortzen duten atomo astunik gabeko fotosentikortzaileak diseinatzeko, azpiunitate kromoforikoek bultzatutako karga transferentziaren bidez populatzen den triplete egoerari esker.
- Bis-BODIPYetan elkarrekintza exzitoniako intramolekularrak modula daitezke BODIPY unitateen alkilazio mailari eta zubi tartarikoaren propietate estereokimikoei esker. Beraz, bereizle enantiomerikoak erantzun kiroptikoa eta exzimeroko eta *J*-motako agregatuen igorpena sorrarazten du, bereizle diastereoisomerikoak akoplamendu hori deuseztatzen duen bitartean, laser-seinale eraginkorrari pasatzen utziz.
- Koloratzaile apartekoen multzo molekularrak koloratzaile bakarren propietate fotonikoak hobetzen ditu, absortzio zabalari eta energia transferentzia prozesuen bitarteko fotoegonkortasun hobetuari dagokionez. Hori dela eta, koloratzaile mutlikromoforiko hauetan uhin-luzera tarte zabal batean argia bildu da eta uhin-luzera altuko eta iraunkorreko laser-igorpen distiratsua erregistratu da. Multzo molekularrean energia emaileen kopurua haditzen den heinean laser-eraginkortasuna zein fotoegonkortasuna batez ere nabarmenki handitzen dela aipatzekoa da.

Etorkizuneko Ikuspegiak

BODIPYen kimika guztiz ustiatu dela pentsa daitekeen arren koloratzaile honi buruz argitaratutako artikuluen kopuru altua dela eta, aplikazio fotoniko aurreratuei begira oraindik lan handia egin daiteke koloratzaile moderno eta aldakor honen potentziala aztertzeko. Hurrengo lerroetan tesi honekin zerikusia duten erronka berri batzuen berri emango dugu.

- Boro atomoaren inguruko aldaketa kimikoak amino (*N*-BODIPYak) eta azido karboxilikoak (*COO*-BODIPYak) bitartez BODIPYari moldakortasun handiagoa gehitzen dio, lotu daitezkeen funtzio-talde kopurua handitzen baita. Esate baterako, bioirudirako eta terapiarako biomolekula edo organuluen detekzio sentikorra ahalbidetzen duten talde espezifikoak txerta daitezke. Gehiago dena, kromoforoak euren artean lotu daitezke energia edo elektro transferentzia prozesuak pairatzen dituzten arkitektura multikromoforikoak lortzeko.
- Eremu gorrian eta NIR eremuan fluoreszentzia igortzen duten BODIPYak egokiak dira karbohidratoak markatzeko. Karbohidratoen kimikari dagokionez, egun BODIPYen disolbagarritasuna uretan handitzeko lan egiten ari gara eremu gorrian euren erantzun fluoreszentea mantenduz. Areago, Nile Blue, Rodamina 6G eta LDS 722 bezalako koloratzaile komertzialen funtzio fotonikoa hobetzeko nanozelulosa kristalinoa ikertzen ari gara. Izan ere, nanozelulosak koloratzailearen propietate fotofisikoak kontrolatzen ditu bien arteko elkarrekintza elektrostatiakoaren arabera. Honi buruzko atariko emaitzak orain dela gutxi "Advanced Photonics Research" aldizkarian argitaratu dira tesi hau idazten ari ginen bitartean.

- Fotosentikortzaileei dagokionez, zuzenki lotutako dimero eta trimero berriak diseinatzen ari gara, lotura posizioa desberdinekin probatuz fluoreszentzia zein triplete egoeraren populazioa orekatzeko. Zein egitura faktorek oxigeno singletearen sorkuntza faboratzen duten eta zeintzuk terapia zein diagnosirako erantzun bikoitza lortzea ahalbidetzen duten jakitea dugu helburu. Honek triplete egoeraren populazioa errazten duen karga transferentzia prozesuaren azpian dagoen mekanismo konplexuari buruzko ulermen sakonagoa edukitzea aukera ematen digu.
- Koloratzaile multikromoforikoak fluoroforoen belaunaldi berri gisa har daitezke zeinek koloratzaile sinpleen funtzioa hobetzen duten eta non prozesu fotofisiko intamolekular berri eta bitxiak piztu daitezkeen. Are gehiago, makina bat oinarri kromoforiko daude bereizle eta lotura posizio desberdinen bidez konbina daitezkeenak. Hori dela eta, lanean ari gara eskuragarri dauden koloratzaile komertzialen laser funtzioa ontzen duten multzo molekular berriak diseinatzeko. Berez, honi buruzko atariko emaitzak orain dela gutxi "Chemical Communications" aldizkarian argitaratu dira tesi hau idazten ari ginen bitartean, non arestian aipatutako COO-BODIPYak oinarri gisa erabili diren energia transferentzia prozesuak pairatuko dituzten antena multikromoforikoak sortzeko.
- Aza-BODIPY-BODIPYetan erradiazio baldintza sendoen menpe erregistratutako fluoreszentzia atzeratuak orain arte aztertu gabe dauden egoera kitzikatuaren dinamikak ikertzeko aukera ematen du. CSIC-eko ikerketa talde batekin harreman estuetan gaude denbora-bereizmen teknika aurreratuak ezartzeko argiak zuzendutako prozesu fotofisiko konplexu hauek azter daitezzen.
- Azkenik, biologian eta biokimikan adituak diren ikerketa taldeekin etorkizuneko kolaborazioen oinarriak ezartzen ari gara biomedikuntzan fluoreszentzia proben, sentroseen eta diagnosirako zein terapiarako fotosentikortzaileen *in vitro* eta *in vivo* ebaluaziorako. Honi dagokionez, egun Alcalá Unibertsitateko ikerketa talde batekin lan egiten ari gara. Izan ere, "Chemical Communications" aldizkarian txosten bat aurkeztu berri dugu non mikroskopio fluoreszente konfokalaren bitartez BODIPY formilatuen (3. Kapituluari buruzko ikertu diren BODIPYen aitzindariak hain zuzen ere) ahalmena mitokondria miaketarako fluoreszentzia proba neutro gisa aztertzen den.

Argitalpen Zerrenda

ANNEXES / ERANSKINAK

Annex I (Chapter 1) / I. Eranskina (1go Kapituluua)

Article 1 / 1go Artikulua: *Chem. Eur. J.*, **2017**, 23, 9383-9390

Annex II (Chapter 2) / II. Eranskina (2. Kapituluua)

Article 2 / 2. Artikulua: *J. Org. Chem.*, **2019**, 84, 2523-2541

Article 3 / 3. Artikulua: *ChemPhotoChem*, **2019**, 3, 75-85
and its corresponding front cover (2/2019)

Annex III (Chapter 3) / III. Eranskina (3. Kapituluua)

Article 4 / 4. Artikulua: *Chem. Eur. J.*, **2020**, 26, 5388-5399
and its corresponding front cover (24/2020)

Article 5 / 5. Artikulua: *Org. Lett.*, **2019**, 21, 4563-4566

Annex IV (Chapter 4) / IV. Eranskina (4. Kapituluua)

Article 6 / 6. Artikulua: *Chem. Eur. J.*, **2018**, 24, 3802-3815

Annex V (Chapter 5) / V. Eranskina (5. Kapituluua)

Article 7 / 7. Artikulua: *Chem. Eur. J.*, **2020**

Article 8 / 8. Artikulua: *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2017**, 19, 13210-13218

Article 9 / 9. Artikulua: *Chem. Eur. J.*, **2019**, 25, 14959-14971

Eranskinean aurkeztu eta tesian gehitu diren argitaratutako artikuluez gain, tesiarekin batera aurrera eramandako lanak bestelako argitaratzeak ere sortu ditu.

Tesian erantsi ez diren beste argitalpen batzuk:

1. Sola-Llano, R.; Jiménez, J.; Avellanal-Zaballa, E.; Johnson, M.; Cabrerros, T. A.; Moreno, F.; Maroto, B. L.; Muller, G.; Bañuelos, J.; Cerdán, L.; García-Moreno, I.; de la Moya, S.; "BOPHYs versus BODIPYs: A comparison of their performance as effective multi-function organic dyes", *Dyes Pigm.*, **2019**, 170, 107662.
2. Ray, C.; Schad, C.; Avellanal-Zaballa, E.; Moreno, F.; Maroto, B. L.; Bañuelos, J.; García-Moreno, I.; de la Moya, S.; "Multichromophoric COO-BODIPYs: an advantageous design for the development of energy transfer and electron transfer systems", *Chem. Commun.*, **2020**, 56, 13025-13028.
3. Avellanal-Zaballa, E.; Gartzia-Rivero, L.; Bañuelos, J.; García-Moreno, I.; Agarrabeitia, A. R.; Peña-Cabrera, E.; Ortiz, M. J.; "A Palette of Efficient and Stable Far-Red and NIR Dye Lasers", *Appl. Sci.*, **2020**, 20, 6206.
4. Avellanal-Zaballa, E.; Bañuelos, J.; Manzano, H.; Chiara, J. L.; Cerdán, L.; García-Moreno, I.; "Taming the photonic behavior of laser dyes through specific and dynamic self-assembly onto cellulose nanocrystals", accepted in *Adv. Photonics Res.*, doi: 10.1002/adpr.202000107.

Liburuko kapitulua:

1. Sola-Llano, R.; Avellanal-Zaballa, E.; Bañuelos, J.; Gómez-Durán, C. F. A.; Belmonte-Vázquez, J. L.; Peña-Cabrera, E.; "Dyes: Towards Fluorescence Standards across the Visible Spectral Region", in *Photochemistry and Photophysics: Fundamentals to Applications*, edited by S. Saha and S. Mondal, IntechOpen, London, **2018**.

Euskaraz argitaratutako lanak dibulgazio artikulua gisa:

1. Avellanal-Zaballa, E.; Esnal, I.; Bañuelos, J.; "Ikusgai-eremu elektromagnetiko osoan zehar igorpen sintonizagarria duten BODIPY laser-koloratzaileak", *EKAIA*, **2018**, 33, 97-114.
2. Avellanal-Zaballa, E.; Bañuelos, J.; "Koloratzaile-laserra, ezinbesteko argi iturria eguneroko bizitzan", *EKAIA*, **2018**, 34, 243-260.
3. Avellanal-Zaballa, E.; Bañuelos, J.; "Luminiszentzia, baliabide aproposa ioien eta biomolekulen presentzia agerian jartzeko", *EKAIA*, **2020**, 38, 215-230.

