

César de Dios Corredor



* 5 3 0 9 5 4 9 2 6 0 *

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

**DISEÑO, PREPARACIÓN, CARACTERIZACIÓN
FOTOFÍSICA Y FOTOQUÍMICA DE
INDICADORES LUMINISCENTES PARA
SENSORES DE FIBRA ÓPTICA
DE pH/CO₂, O₂ Y ALCOHOLES/AGUA**

Directores:

Dr. Guillermo Orellana Moraleda

Profesor Titular de la U. C. M.

Dra. M^a Luz Quiroga Feijóo

Profesora Titular de la U. C. M.



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA

1994

~~4/1/2017~~
Della Bella

El presente trabajo ha sido realizado en el Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid, bajo la dirección de los profesores Dr. Guillermo Orellana Moraleda y Dra. M^a Luz Quiroga Feijóo, a quienes deseo expresar mi más sincero agradecimiento por su dedicación y apoyo constantes.

Asimismo, quiero agradecer al Prof. Dr. José Luis Soto Cámara, Director del Departamento, su acogida en el mismo.

Agradezco también al Ministerio de Educación y Ciencia la concesión de una beca para la realización de esta Tesis Doctoral, así como la financiación proveniente de la Universidad Complutense de Madrid (Proyecto Multidisciplinar de Investigación, PR84/89-1482) y de la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (Plan Nacional de I+D, Área: Medioambiente y Recursos Naturales, AMB92-0092-C03).

Parte del trabajo recogido en esta Memoria ha sido desarrollado en estrecha colaboración con David García Fresnadillo y Ana M^a Gómez Carneros, durante la realización de sus respectivas Tesinas. Doy las gracias a ambos por su esfuerzo y por haberme enseñado lo enriquecedor y fructífero que puede ser trabajar en equipo.

Los espectros de ¹H-RMN a 600 MHz han sido registrados en la Universidad Libre de Bruselas por la profesora Andree Kirsch-De Mesmaeker con un esmero y cuidado dignos de reconocimiento. Los experimentos de voltametría cíclica fueron posibles gracias al Prof. Dr. José Manuel Pingarrón del Dpto. de Química Analítica de esta facultad, que amablemente puso a nuestra disposición su equipo.

Este trabajo forma parte de un proyecto multidisciplinar encaminado a la construcción de sensores químicos de fibra óptica, realizado en conjunto con otros grupos de investigación. Estoy especialmente agradecido a la Dra. M^a Cruz Moreno Bondi y a M^a Dolores Marazuela, Ana García y Francisco Javier Mingoarranz, del Departamento de Química Analítica de esta facultad por su asesoramiento y ayuda constantes. A su lado, he aprendido multitud de aspectos relacionados con la aplicación analítica y he comprendido la enorme dedicación que esta tarea conlleva.

La realización de este trabajo no habría sido una experiencia tan placentera sin la amistad de todos mis compañeros, en especial Emilio Toledano, Carmen Gutiérrez, M^a Ángeles Martínez, Javier García, David Ayala y Carlos Knapp. A todos ellos, muchas gracias.

Esta Tesis Doctoral hubiera sido imposible sin el constante apoyo de mis padres, cuyo incansable esfuerzo durante todos mis años de preparación académica y científica merece mi agradecimiento más emocionado.

ÍNDICE

PRÓLOGO	2
ANTECEDENTES	5
1. Introducción	5
2. Sensores químicos de fibra óptica	6
2.1. Generalidades.....	6
2.1.1. Clasificación de los sensores de fibra óptica.....	7
2.1.2. Instrumentación.....	8
2.1.2.1. Fuente luminosa.....	9
2.1.2.2. Sistemas de monocromación.....	9
2.1.2.3. Fibra óptica	10
2.1.2.4. Terminal sensible	10
2.1.2.5. Detector.....	12
2.1.3. Ventajas e inconvenientes de los sensores de fibra óptica.....	13
2.1.4. Aplicaciones de los sensores químicos de fibra óptica	14
2.2. Sensores ópticos de pH.....	16
2.3. Sensores ópticos de CO ₂	23
2.4. Sensores ópticos de oxígeno.....	29
2.5. Sensores ópticos de alcoholes	36
3. Generalidades acerca de la fotofísica y la fotoquímica de los complejos de Ru(II) con ligandos quelatantes azaheterocíclicos	40
3.1. Interés y aplicaciones.....	40
3.2. Niveles de energía y estados electrónicos	42
3.3. Propiedades electroquímicas	47
3.4. Propiedades fotofísicas y fotoquímicas.....	53
3.4.1. Espectros de absorción UV-VIS	53
3.4.2. Espectros de emisión.....	55
3.4.3. Desactivación bimolecular de la luminiscencia.....	61
3.4.3.1. Desactivación por oxígeno	61
3.4.3.2. Propiedades ácido-base y desactivación por transferencia protónica	64
4. Sondas fluorescentes basadas en estados excitados rotados de transferencia de carga intramolecular (TICT).....	66
4.1. Características de los estados TICT	66

4.2. Diseño y aplicaciones de indicadores fluorescentes basados en estados TICT	71
5. Fotofísica de 1,3-oxazoles y 1,3-tiazoles arilsustituidos.....	74
5.1. Propiedades fotofísicas de los 1,3-oxazoles y 1,3-tiazoles arilsustituidos	74
5.2. Aplicaciones	79
OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO.....	82
1. Introducción.....	82
2. Sensores de pH y CO ₂	83
2.1. Selección de estructuras.....	83
2.2. Síntesis de los ligandos y complejos.....	87
3. Sensores de oxígeno	91
3.1. Diseño de un complejo luminiscente de Ru(II) con propiedades hidrófobas.....	91
3.2. Síntesis del [Ru(5-odaphen) ₃] ²⁺	93
4. Sensores de alcoholes y agua.....	94
4.1. Diseño de indicadores fluorescentes cuya emisión se desactiva por compuestos hidroxílicos.....	94
4.2. Preparación de los indicadores de alcoholes y agua	95
PARTE EXPERIMENTAL	98
1. Introducción.....	98
2. Técnicas de análisis, purificación y caracterización de los compuestos sintetizados.....	98
2.1 Técnicas cromatográficas.....	98
2.2. Espectroscopía de absorción infrarroja	99
2.3. Espectroscopía de resonancia magnética nuclear	99
2.4. Espectroscopía de absorción UV-VIS.....	100
2.5. Espectroscopía de emisión en estado estacionario.....	100
2.6. Espectroscopía de emisión con resolución temporal	101
2.7. Microanálisis y puntos de fusión.....	102
2.8. Espectrometría de masas	102
3. Síntesis de los indicadores luminiscentes	103

3.1. Sondas moleculares de pH y CO ₂	103
3.1.1. Obtención del 5-fenil-2-(2-pirazinil)tiazol (ppzth) mediante síntesis de Hantzsch	103
3.1.1.1. Preparación de la 2-cianopirazina, <u>1</u>	103
3.1.1.2. Preparación de la 2-pirazinacarbotioamida, <u>2</u>	104
3.1.1.3. Bromación del fenilacetaldehído.....	104
3.1.1.4. Preparación del acetato de enol del fenilacetaldehído	106
3.1.1.5. Preparación del dimetilacetal del 2-bromo-2- fenilacetaldehído.....	107
3.1.1.6. Condensación de la 2-pirazinacarbotioamida con el 2- bromo-2-fenilacetaldehído	108
3.1.1.7. Condensación de la 2-pirazinacarbotioamida con el dimetilacetal del 2-bromo-2-fenilacetaldehído	109
3.1.1.8. Condensación de la 2-pirazinacarbotioamida con el 2- bromo-2-fenilacetaldehído generado <i>in situ</i>	109
3.1.2. Ensayo de preparación del 5-fenil-2-(2-pirazinil)tiazol por síntesis de Gabriel	111
3.1.2.1. Preparación de la <i>N</i> -(2-fenil-2-oxoetil)pirazinacarboxamida, <u>6</u>	112
3.1.3. Síntesis de los derivados del 5-fenil-2-(2-pirazinil)tiazol	115
3.1.3.1. Preparación del 5-(4-nitrofenil)-2-(2-pirazinil)tiazol	115
3.1.3.2. Preparación del 5-(4-aminofenil)-2-(2-pirazinil)tiazol, appzth	116
3.1.3.3. Preparación del 5-(4-acetamidofenil)-2-(2-pirazinil)tiazol, acppzth.....	117
3.1.4. Síntesis del 2-(2-pirazinil)tiazol, pzth.....	118
3.1.5. Síntesis del 1,4,5,8-tetraazafenantreno, tap.....	119
3.1.6. Síntesis de los complejos de rutenio(II).....	119
3.2. Sondas de oxígeno: síntesis del [Ru(5-odaphen) ₃] ²⁺	123
3.2.1. Preparación de la 5-amino-1,10-fenantrolina	123
3.2.2. Preparación de la 5-octadecanamido-1,10-fenantrolina, 5-odaphen	124
3.2.3. Preparación del tris(5-octadecanamido-1,10-fenantrolina)rutenio(II), [Ru(5-odaphen) ₃] ²⁺	126
3.2.4. Purificación del [Ru(5-odaphen) ₃] ²⁺ por cromatografía en capa fina preparativa.....	128
3.3. Sondas moleculares de alcoholes y agua	129
3.3.1. Síntesis del 5-(4-aminofenil)-2-(2-pirazinil)oxazol, appzox	129
3.3.1.1. Preparación del 2-pirazinacarboximidato de etilo, <u>11</u>	129

3.3.1.2. Preparación del 5-fenil-2-(2-pirazinil)-4,5-dihidroxazol, <u>12</u>	130
3.3.1.3. Preparación del 5-fenil-2-(2-pirazinil)oxazol, ppzox.....	131
3.3.1.4. Preparación del 5-(4-nitrofenil)-2-(2-pirazinil)oxazol, <u>13</u>	132
3.3.1.5. Preparación del 5-(4-aminofenil)-2-(2-pirazinil)oxazol, appzox.....	133
3.3.2. Síntesis del 5-(4-aminofenil)-2-(4-piridil)oxazol, appyox.....	134
3.3.2.1. Preparación del 5-(4-nitrofenil)-2-(4-piridil)oxazol, <u>14</u>	135
3.3.2.2. Preparación del 5-(4-aminofenil)-2-(4-piridil)oxazol, appyox	136
3.3.3. Preparación del <i>p</i> -toluenosulfonato de 5-(4-aminofenil)-2-(1-metil- 4-piridinio)oxazol, appmox	137
4. Caracterización fotoquímica de los indicadores.....	139
4.1. Sondas moleculares de CO ₂ y pH.....	139
4.1.1. Determinación del pK _a del estado fundamental de los indicadores....	139
4.1.2. Determinación del pK _a del estado excitado de los complejos de Ru(II).....	141
4.2. Sondas moleculares de oxígeno. Determinación de la constante de Stern-Volmer	142
4.3. Sondas moleculares de alcoholes y agua.....	143
4.3.1. Determinación de los tiempos de vida de los estados excitados de las sondas	143
4.3.2. Desactivación por alcoholes	143
5. Inmovilización de algunos de los indicadores en soportes sólidos para su empleo en terminales sensibles de fibra óptica.....	144
5.1. Inmovilización del [Ru(pzth)(tap) ₂] ²⁺ en una resina de intercambio catiónico.....	144
5.2. Inmovilización del [Ru(5-odaphen) ₃] ²⁺ en una matriz de silicona.....	146
5.3. Inmovilización del indicador appzth en el polímero de Merrifield.....	147
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	150
1. Introducción.....	150
2. Procedimientos de síntesis.....	151
2.1. Síntesis del ppzth	151
2.1.1. Síntesis de Gabriel.....	151

2.1.2. Síntesis de Hantzsch	154
2.2. Síntesis del ppzox.....	155
2.3. Nitraciones y reducciones del grupo nitro en 5-fenil-1,3-azoles	156
2.4. Síntesis de los complejos de rutenio(II).....	156
2.5. Síntesis y purificación del $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$	158
3. Caracterización de los compuestos sintetizados.....	162
3.1. Indicadores de pH y CO_2	162
3.1.1. Caracterización estructural.....	162
3.1.2. Caracterización fotofísica de los complejos de rutenio(II).....	184
3.1.2.1. Espectroscopía de absorción UV-VIS	184
3.1.2.2. Espectroscopía de emisión en estado estacionario y con resolución temporal	186
3.1.3. Reactividad fotoquímica frente a ácidos.....	202
3.1.3.1. Propiedades ácido-base del estado fundamental	202
3.1.3.2. Propiedades ácido-base del estado excitado	206
3.2. Indicadores luminiscentes de oxígeno	211
3.2.1. Caracterización estructural.....	211
3.2.2. Caracterización fotofísica	215
3.2.3. Caracterización electroquímica	217
3.2.4. Reactividad fotoquímica frente al oxígeno	224
3.3. Indicadores de alcoholes y agua.....	227
3.3.1. Caracterización estructural.....	227
3.3.2. Caracterización fotofísica y fotoquímica	234
3.3.3. Desactivación de la emisión de fluorescencia en presencia de alcoholes	252
4. Algunas aplicaciones analíticas desarrolladas con compuestos sintetizados y caracterizados en este trabajo	256
4.1. Aplicación del indicador luminiscente $[\text{Ru}(\text{pzth})(\text{tap})_2]^{2+}$ a un optodo para determinar CO_2 en medios gaseosos.....	256
4.2. Aplicación del indicador luminiscente $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$ a un optodo para determinar oxígeno en gases.....	258
4.3. Aplicación del indicador fluorescente appzth a un optodo para determinar alcoholes en medios apolares	261

CONCLUSIONES.....264

BIBLIOGRAFÍA269

PRÓLOGO

La aparición de los conductores de luz conocidos como *fibras ópticas* supuso una auténtica revolución en muy diversos campos científicos y tecnológicos, especialmente en el área de las Telecomunicaciones. En lo que concierne a las Ciencias Químicas, la conjunción de los ya tradicionales métodos ópticos espectrofotométricos y fluorimétricos con este tipo de guías de luz ha dado lugar a los dispositivos bautizados con el nombre de *sensores químicos de fibra óptica*.

A pesar de su juventud, la nueva técnica ya se ha aplicado con éxito a la determinación de numerosos analitos, cuya lista se incrementa constantemente con nuevas aportaciones. No obstante, aún supone un reto importante el superar las dificultades de diseño, construcción y operación para la aplicación industrial o comercial de los sensores de fibra óptica.

Un aspecto crucial de cara a la construcción de nuevos dispositivos de este tipo es la elección de *indicadores* que posean características óptimas para la medida que se pretende realizar, tanto en lo que respecta al analito como al medio en que éste se encuentra. Ante tal problema, los químicos analíticos han recurrido, en la mayoría de los casos, a la amplísima gama de indicadores que, durante décadas, se han desarrollado para su empleo en multitud de métodos espectrofotométricos y espectrofluorimétricos para muy diversos analitos. Con frecuencia, esta situación plantea problemas de difícil solución, especialmente en lo que se refiere a la necesidad de inmovilizar los compuestos fotosensibles en algún tipo de soporte polimérico estable, inerte y adecuado a las condiciones de medida, susceptible de colocarse en el extremo de la fibra óptica.

Otra perspectiva es la que plantean grupos de investigación de carácter *multidisciplinar*. Este enfoque propone las ventajas de un control sobre todo el proceso de invención y construcción del nuevo dispositivo, en el que, lógicamente, una de las etapas fundamentales es el diseño de nuevos indicadores: moléculas cuyas características estructurales, electrónicas y fotoquímicas sean óptimas con respecto al resto de los factores que influyen la buena marcha del proceso de medida. El desarrollo alcanzado en nuestros días por las estrategias de síntesis orgánica e inorgánica permite seleccionar los métodos apropiados para la preparación de estos nuevos compuestos. Dado el carácter novedoso de éstos, los aspectos de caracterización, especialmente desde los puntos de vista fotofísico y fotoquímico, adquieren especial relevancia, dada la naturaleza del método analítico. Llegados a este punto, y comprobada la efectividad de la respuesta al analito objetivo,

todavía resta la labor de búsqueda del procedimiento de inmovilización de la sonda y de la realización de la medida en sí. Todo este proceso conjuga parcelas bien distintas del espectro científico de la Química: Orgánica e Inorgánica, Analítica y Química Física. A pesar de las dificultades, si todo funciona correctamente, el resultado será la preparación de nuevos dispositivos de características lo más ajustadas posible a las funciones que pretendemos que desempeñen.

La presente Tesis se engloba dentro de esta última metodología de trabajo. Durante su curso se han desarrollado nuevas sondas moleculares para varios analitos (pH/CO₂, O₂ y alcoholes/agua) cuyo interés en los campos biomédico, industrial, tecnológico, medioambiental, etc., es incuestionable. Esta Memoria describe el trabajo centrado en las primeras fases del proceso, es decir, en el diseño, síntesis y caracterización de los nuevos indicadores. Comienza con una revisión de los **antecedentes**, en la que se intenta exponer, en primer lugar, qué es un sensor químico de fibra óptica y cuáles son los dispositivos de este tipo más representativos descritos hasta ahora para la medida de los analitos de nuestro interés. A continuación, se presentan aquéllos antecedentes de carácter fotofísico y fotoquímico que son útiles para la caracterización de nuestros compuestos desde estos puntos de vista. En la **parte experimental** se detallan los métodos de preparación y caracterización empleados, así como las técnicas fotofísicas y fotoquímicas utilizadas. En el capítulo de **resultados y discusión** se analizan todos los pormenores relacionados con la síntesis de los nuevos compuestos y su caracterización, tanto estructural como fotofísica y fotoquímica. Éste último aspecto ocupa una parte destacada dentro de la labor realizada, por cuanto sólo un conocimiento profundo de las características electrónicas y del comportamiento fotofísico y reactividad fotoquímica de los nuevos indicadores, además de constituir una meta de interés científico por sí misma, nos informará acerca de la manera más adecuada de emplearlos en el dispositivo. Pese a que no constituye uno de los contenidos fundamentales de este trabajo, nos ha parecido interesante incluir la aplicación de nuestras moléculas a la construcción de algunos sensores químicos de fibra óptica, lo que demuestra la utilidad de todo el trabajo realizado. Por último, y bajo el título de **conclusiones**, se resumen los aspectos más interesantes de la labor investigadora recogida en la presente Memoria.

ANTECEDENTES

1. INTRODUCCIÓN.

La naturaleza marcadamente multidisciplinar de la labor investigadora objeto de esta Tesis ha condicionado la variedad de los temas tratados en esta sección. Las cuestiones relativas a la síntesis de compuestos se dejan aparte por la escasa uniformidad de las estrategias y métodos utilizados, que siempre han perseguido la consecución de las moléculas objetivo por el camino más rápido y sencillo posible. Por ello, en este capítulo nos centraremos en los aspectos más relevantes de los campos analítico y fotoquímico.

En una primera parte, examinaremos de manera muy general los sensores químicos de fibra óptica: su constitución, funcionamiento, clasificación, ventajas e inconvenientes, aplicaciones, etc. Seguidamente, dedicaremos nuestra atención a los principios de medida de los dispositivos ópticos descritos hasta la fecha para cuantificar los analitos que han sido objeto de nuestro trabajo, haciendo referencia a los ejemplos extraídos de la bibliografía que nos han parecido más interesantes e ilustrativos, pero sin ningún afán de llevar a cabo una descripción exhaustiva.

A continuación, nos ocuparemos de los diversos tipos de indicadores sintetizados y, más concretamente, de los aspectos concernientes a su fotofísica y fotoquímica, que han ocupado una parte fundamental de nuestro estudio. Para ello, trataremos, en primer lugar, de los complejos de rutenio(II) con ligandos azaheterocíclicos quelatantes de tipo α -diimina, para introducirnos, por último, en aquellos aspectos relativos a los 1,3-azoles poliarilsustituídos que consideramos de interés para nuestros objetivos.

2. SENSORES QUÍMICOS DE FIBRA ÓPTICA.

2.1. GENERALIDADES.

Se puede denominar **sensor** a cualquier dispositivo capaz de responder de forma *continua, reversible* y en *tiempo real* frente a un estímulo externo. Si la respuesta se hace medible gracias a la variación de un parámetro relacionado con la radiación luminosa, se trata de un **sensor óptico**. Si, además, la conducción de tal radiación se realiza a través de un cable de fibra óptica, estamos ante un **sensor de fibra óptica**.¹ Por su analogía con los electrodos en el terreno de los sensores eléctricos, los dispositivos ópticos han recibido también el nombre de "**optrodo**",[§] aunque quizás sea preferible el término "**optodo**" (del griego *camino óptico*).²

El estímulo que provoca la respuesta óptica puede ser físico (por ejemplo, velocidad, presión, temperatura, etc.) o químico, y en este último caso estamos ante los **sensores químicos de fibra óptica**.

El esquema general de un sensor de fibra óptica se representa en la **figura 1**.³ Consta, en primer lugar, de una **fuentes luminosa** que proporciona la **radiación electromagnética necesaria para el funcionamiento del sistema**, la cual pasa generalmente a través de un **sistema de monocromación**, que selecciona la radiación luminosa de acuerdo con las necesidades específicas del sensor; la radiación se enfoca en el conductor de **fibra óptica**, que la lleva hasta el **terminal sensible**, verdadero corazón del dispositivo, donde tiene lugar la interacción de la luz con el indicador expuesto al analito en cuestión. La radiación emergente del terminal sensible, modificada por dicha interacción, se conduce a través del mismo u otro cable de fibra óptica hasta un segundo **sistema de monocromación**, atravesado el cual llega hasta el **detector fotónico**, cuya respuesta se recoge en un sistema de **tratamiento, lectura y almacenamiento** de los datos.

[§] Además de léxicamente incorrecto (aunque muy extendido en la literatura norteamericana), el término "optrodo" es un nombre registrado por Oriel Corp., EEUU, por lo que en la literatura europea se prefiere la denominación de "optodo".

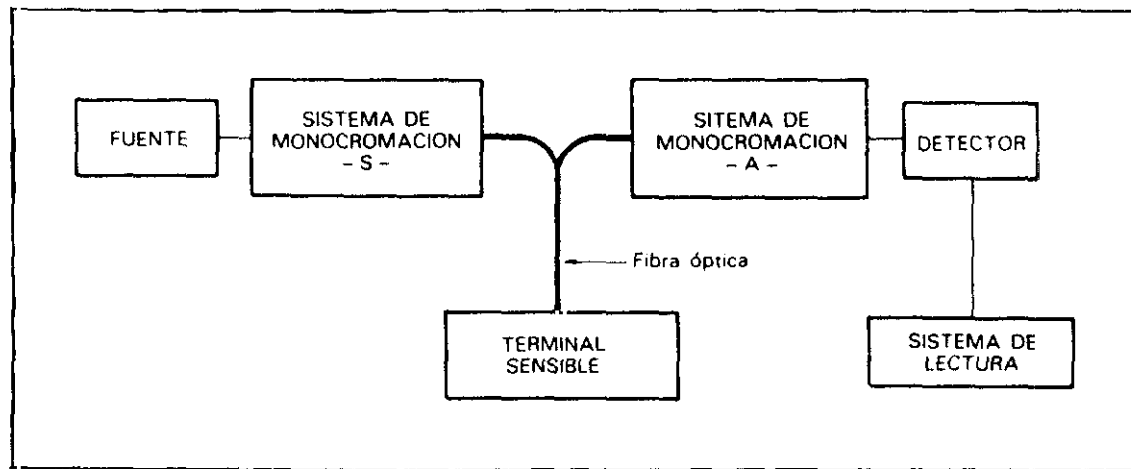


Figura 1. Esquema general de los componentes de un sensor de fibra óptica.

2.1.1. Clasificación de los sensores de fibra óptica.

Ya hemos visto que, en función de la naturaleza del analito, es posible distinguir entre sensores **físicos** y sensores **químicos** según que la respuesta del terminal sensible se produzca frente a un parámetro físico (tal como presión, temperatura, tamaño de partícula, etc.) o químico (en principio, cualquier especie química orgánica o inorgánica).

Existen muchos otros criterios de clasificación; a continuación, se mencionan algunos de ellos y los grupos de dispositivos a que dan lugar.

De acuerdo con el **tipo de interacción con el analito**, existen sensores **reversibles**, en los que la fase sensible no sufre modificación permanente tras su contacto con el analito y, por tanto, se puede volver a utilizar para sucesivas determinaciones, y sensores **irreversibles**, en los que dicha fase sensible se consume en la interacción que da lugar a la medida. Los sensores irreversibles pueden ser, a su vez, **regenerables**, cuando pueden volverse a utilizar después de algún tratamiento, generalmente con un reactivo, o **no regenerables** si, una vez usados, sus propiedades sensoras se agotan de

manera irrecuperable. Wolfbeis⁴ propone reservar el término *sensor* para aquellos dispositivos que son reversibles, y llama a los irreversibles *sondas*.

Con arreglo a la **naturaleza del terminal sensible**, se puede hablar de sensores intrínsecos y extrínsecos. En los sensores **intrínsecos** existe una fase reactiva en el extremo de la fibra óptica, que es la que interacciona con el analito, pudiendo estar unida directamente al conductor o sencillamente colocada en su extremo, generalmente con ayuda de una membrana. En los sensores **extrínsecos**, o bien no existe fase reactiva o, si existe, no está inmovilizada sobre la fibra. El cable se introduce entonces en el medio en el que se encuentran el compuesto sensible y la muestra en el momento de realizar la medida, actuando en estos casos la fibra óptica como una simple guía de luz. No obstante, hay autores que denominan sensores *intrínsecos* a aquéllos en los que el propio recubrimiento (cladding) del núcleo del conductor óptico actúa de fase sensible, mientras que reservan el término *extrínseco* para los que utilizan una fase reactiva añadida a la fibra óptica.

Por último, podemos clasificar los dispositivos de fibra óptica de acuerdo con la **propiedad óptica en la que se basa la medida**, y así existen sensores de intensidad, absorbancia, reflectancia, luminiscencia (que puede ser fluorescencia, fosforescencia o quimioluminiscencia), dispersión de la radiación, Raman, elipsometría, etc.

Un grupo de sensores químicos de fibra óptica que ha adquirido progresivamente mayor importancia es el de los llamados **biosensores**, que son aquéllos que incorporan moléculas biológicas en la constitución del terminal sensible.⁵ Conviene aclarar aquí que existen biosensores para analitos que no son moléculas de interés biológico, pues el prefijo "bio" alude exclusivamente a la presencia de moléculas de origen biológico en la composición del sensor.

2.1.2. Instrumentación.

Hemos expuesto ya cuáles son los componentes principales de un optodo. En este apartado vamos a describir brevemente las distintas posibilidades que se nos ofrecen a la hora de seleccionar cada elemento, pues la naturaleza eminentemente aplicada del tema exige tener continuamente presentes las opciones instrumentales disponibles para un

desarrollo exitoso de los diversos indicadores y terminales sensibles asociados a ellos.

2.1.2.1. Fuente luminosa.

La elección de la fuente de radiación depende, sobre todo, de la potencia requerida y de la región del espectro electromagnético en la que se produce la interacción con el indicador empleado.

Así, para medidas de absorbancia o reflectancia, que no requieren gran intensidad luminosa, se pueden usar lámparas de wolframio-halógeno y diodos emisores de luz (conocidos como LED), o bien lámparas de deuterio si se trabaja en el UV.

Los sensores basados en medidas de luminiscencia suelen necesitar fuentes de mayor potencia, como lámparas de xenon o de arco de mercurio de baja presión, o incluso láseres de helio-neon, helio-cadmio o ion argon, que añaden el atractivo de producir una emisión muy monocromática y de gran intensidad, aunque presentan la desventaja de su elevado precio. No obstante, el empleo de luminóforos cuyo rendimiento cuántico de emisión supere el 5% por excitación en la región visible del espectro electromagnético, hace posible la utilización de fuentes típicas para medidas de absorbancia en optodos de luminiscencia.

2.1.2.2. Sistemas de monocromación.

Para este elemento, la diversidad abarca desde los sistemas que no requieren monocromación alguna (caso de los sensores de quimioluminiscencia), hasta los monocromadores de red de difracción. En un término medio se sitúan los filtros ópticos, tanto de corte como interferenciales y de banda ancha, que son los más utilizados.

En los sensores de absorbancia o reflectancia sólo se requiere un monocromador (frecuentemente situado a la salida de la fuente luminosa, aunque en la actualidad, y especialmente en instrumentación para fibra óptica, se prefiere emplazarlo inmediatamente antes del detector fotónico), mientras que para medidas de fluorescencia o fosforescencia son necesarios dos sistemas de selección de longitud de onda.

2.1.2.3. Fibra óptica.

También es grande la variedad de materiales empleados en la construcción de conductores ópticos. Las fibras de cuarzo son las más versátiles, pues se pueden emplear tanto en el visible-NIR como en el UV, pero son las más caras. Las de vidrio son más económicas, pero no se pueden emplear en la región UV. Las de plástico son las más baratas, pero también las de mayor atenuación y las de intervalo de transmisión más limitado (su transmitancia sólo es aceptable entre 450 y 700 nm y para distancias inferiores a unos dos metros).

A diferencia de las fibras ópticas utilizadas en telecomunicaciones (monomodo, de unos 10 μm de diámetro), las guías de luz que se emplean normalmente en la construcción de sensores químicos de fibra óptica son multimodo, con diámetros que oscilan entre los 100 y los 600 μm .

2.1.2.4. Terminal sensible.^{5,6}

Al considerar las características del extremo sensible al analito de interés, hay que tener en cuenta dos aspectos bien diferenciados: por un lado, la naturaleza de la fase reactiva y, por otro, cómo se configura el terminal sensible para que se produzca la conducción óptica hasta y desde él de manera óptima, teniendo en cuenta el lugar de su aplicación.

En cuanto a la **configuración de la fibra óptica** existen muy variadas disposiciones que permiten guiar la luz incidente hasta el terminal sensible y recoger la que emerge de éste. En una primera clasificación, existen configuraciones de fibra única, de fibra doble y de haz de fibras (**figura 2**).

- En las configuraciones de **fibra única** puede ocurrir que la luz se transmita en un sólo sentido, y entonces se llaman de **sentido único**, o que la radiación recorra la fibra en **sentido doble**. En el primer caso, el terminal sensible puede encontrarse recubriendo una zona de conductor óptico y la medida se basa en la modificación experimentada por la radiación a su paso a través de esta sección de fibra; ésto da lugar a los llamados **sensores de onda evanescente**.
- En las configuraciones de **dos fibras**, la luz se conduce a través de uno de los conductores hasta el terminal sensible, pero la radiación que emerge de éste se transporta a través de un segundo cable. Las dos fibras

ópticas se pueden colocar **en paralelo o adyacentes**, o bien **enfrentadas o cara a cara**, dejando un espacio entre ellas para la fase reactiva.

- Por último, las configuraciones de **haz de fibras** suelen consistir en dos series de fibras colocadas en disposición **bifurcada**, con el mismo número de fibras cada una. Uno de los haces lleva la radiación hasta el **terminal sensible** y el otro recoge la que sale del mismo.

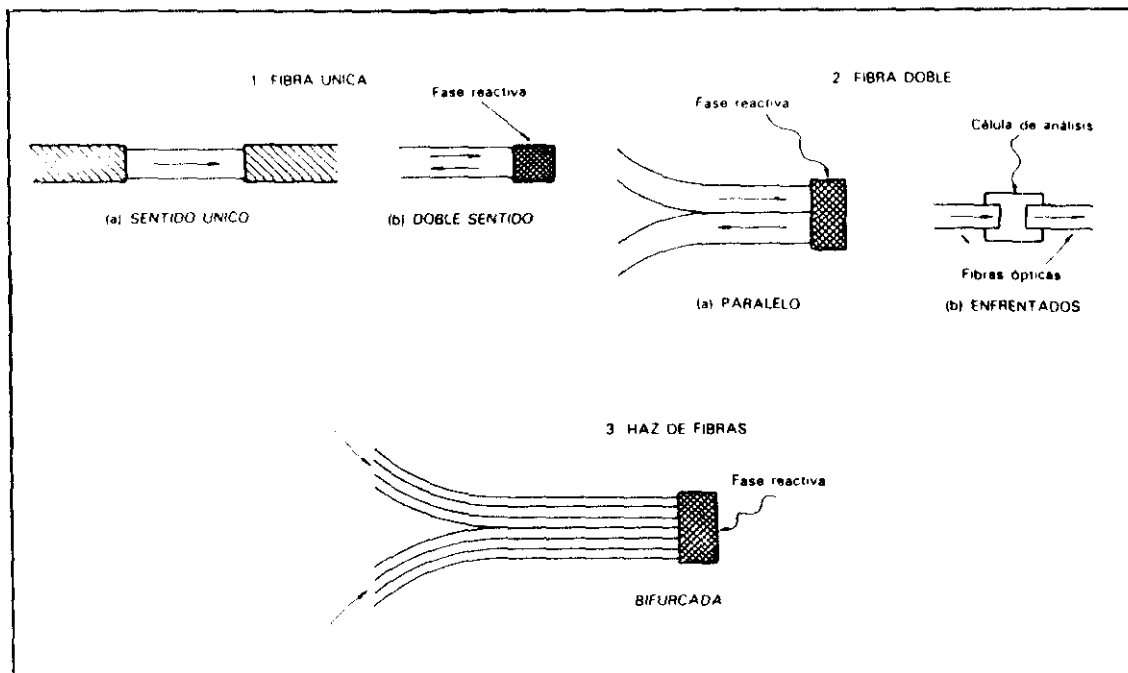


Figura 2. Configuraciones que pueden adoptarse para la irradiación y recogida de la luz del terminal sensible en los dispositivos de fibra óptica.

En cuanto a la fase reactiva, siempre está constituida, al menos, por dos componentes: un **soporte sólido** y el **indicador**, que es el compuesto o compuestos químicos que sufren una modificación en sus propiedades ópticas al reaccionar con el analito.

Cualquier material capaz de retener el indicador por adsorción, interacción electrostática, enlace covalente, atrapamiento o cualquier otro procedimiento, puede constituir el soporte en un terminal sensible. Así, la gama de soportes descritos cubre desde la propia fibra óptica (sobre la que se pueden fijar determinadas moléculas en función de su constitución química, tras un tratamiento previo de funcionalización), hasta polímeros orgánicos e inorgánicos de los más diversos tipos, como vidrios, sol-geles, siliconas, poliamidas, resinas y membranas de intercambio iónico, etc. Las únicas restricciones son las que derivan de la adecuación al indicador y a las condiciones de medida, además de la necesaria transparencia óptica a las longitudes de onda de medida.

Por otra parte, todo compuesto que posea la propiedad de interaccionar con la radiación electromagnética de manera distinta o en grado diferente, en ausencia y en presencia de un analito, es un indicador potencial, siempre que seamos capaces de idear un modo de inmovilizarlo en un soporte tal que permita efectuar la medida de su propiedad óptica de interés.

A menudo, es imprescindible introducir algún tipo de separación física entre la fase reactiva y el medio en el que se efectúa la medida, bien sea porque así se evitan interferencias químicas u ópticas o porque existe incompatibilidad entre el indicador y/o el soporte y algún componente de la muestra, o bien porque así se aumenta la resistencia de la fase reactiva. Esta separación se puede conseguir mediante el empleo de **membranas**, cuya composición depende totalmente de la naturaleza del analito que se desea monitorizar y de las propiedades físico-químicas del medio en el que se encuentra.

2.1.2.5. Detector.

Los detectores más empleados son los tubos fotomultiplicadores. Para las medidas en el IR cercano se utilizan los fotodiodos de germanio. Las fotocélulas, por último, presentan la ventaja de su menor precio, pero su sensibilidad también es inferior.

2.1.3. Ventajas e inconvenientes de los sensores químicos de fibra óptica.

Como dispositivos analíticos de medida, los optodos presentan una serie de **ventajas** frente a otros tipos de sensores o técnicas:¹

- No requieren una señal de referencia, al contrario que los métodos potenciométricos.
- Sus características facilitan la posibilidad de miniaturización, lo que permite su uso en química clínica, tanto en medidas *in vivo* como *in vitro*, y cuando se dispone de pequeños volúmenes de muestra.
- No están sujetos a interferencias eléctricas, por lo que pueden utilizarse en ambientes hostiles o peligrosos (por ejemplo, en el seno de intensos campos electromagnéticos o en lugares con riesgo de explosión).
- Permiten realizar el análisis *in situ*.
- En un sistema de distintas fibras con una sola unidad de medida se puede realizar un análisis simultáneo de varias especies.
- En la mayoría de los casos no se consume el analito ni se destruye la muestra durante la operación.
- Se pueden diseñar optodos para analitos que no pueden determinarse por medio de electrodos selectivos u otras técnicas.
- Los conductores ópticos son capaces de transmitir una mayor densidad de información que sus análogos eléctricos.
- Pueden, en muchas ocasiones, resultar competitivos en términos de coste, sensibilidad, selectividad y/o tenacidad.

Como principales **inconvenientes** (aunque normalmente superables mediante un diseño adecuado) pueden citarse los siguientes:

- Necesidad de aislamiento del terminal sensible de la luz ambiente, que puede constituir una interferencia grave.
- Vida útil limitada, en algunos casos, por la posible descomposición de la sonda.
- El tiempo de respuesta puede ser elevado, debido a la necesidad de una etapa de transferencia de materia hasta y en la capa sensora.
- Intervalo dinámico limitado.

- Necesidad de encontrar un indicador selectivo para cada analito y un procedimiento de inmovilización adecuado a él y a las características de la medida.

2.1.4. Aplicaciones de los sensores químicos de fibra óptica.

De todas las características hasta aquí citadas, se deriva una enorme variedad de campos de aplicación para los sensores químicos de fibra óptica.

De un lado, su potencialidad de miniaturización y capacidad de esterilización y, de otro, su inocuidad, proporcionan a los sensores químicos de fibra óptica una gran variedad de aplicaciones en los campos de la **medicina**, la **biología** y la **química clínica**. Así, se han desarrollado ya numerosos dispositivos ópticos que permiten monitorizar *in vivo*, *ex vivo* o *in vitro*, parámetros de vital importancia en estas áreas, tales como el pH o la concentración de oxígeno y dióxido de carbono, presión sanguínea, electrolitos, urea, glucosa, colesterol, entre otros muchos.^{1a} Por otro lado, la aplicación a los sensores ópticos de metodologías propias de los campos biológico e inmunológico, ha propiciado el desarrollo de los biosensores⁶ e inmunosensores,⁷ aunque el empleo de estos tipos de dispositivos no está limitado a los campos científicos comentados. En el terreno de las aplicaciones biomédicas, es especialmente interesante para nosotros en relación con este trabajo la aportación de los sensores de fibra óptica basados en medidas de luminiscencia.⁸

Una de las áreas en las que los optodos muestran un enorme potencial frente a otros métodos analíticos ya establecidos es la monitorización de contaminantes en el **medio ambiente**, así como el control de calidad de la hidrosfera. La posibilidad de realizar las medidas *in situ*, de forma continua y en tiempo real y así evitar el proceso discontinuo de toma de muestras, ha dado lugar a un vasto desarrollo de sensores ópticos para pH, iones y contaminantes orgánicos en aguas, así como amoniaco, óxidos de nitrógeno, hidrocarburos clorados, sulfuro de hidrógeno, óxidos de azufre y otros muchos agentes contaminantes del aire y las aguas.

También la industria está jugando un papel muy importante en el desarrollo de nuevos optodos para el **control de procesos**, atraída por la

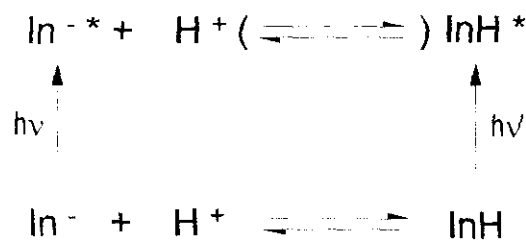
posibilidad de monitorizar en continuo y a larga distancia (lo que es especialmente importante en ambientes peligrosos) la producción de gases o cualquier otro parámetro físico o químico que permita controlar el correcto funcionamiento de una planta o proceso industrial.

Existen otros campos en los que los sensores de fibra óptica también están encontrando aplicación, como son la biotecnología, petroquímica, tecnología de alimentos y defensa.

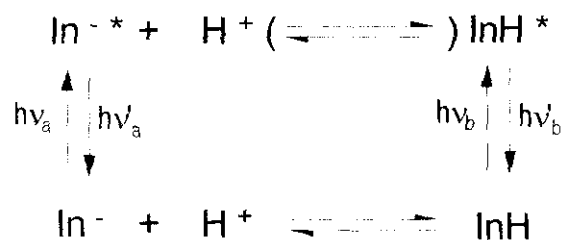
2.2. SENSORES ÓPTICOS DE pH.

El pH es, sin duda, uno de los analitos que mayor cantidad de literatura han producido en el campo de los sensores químicos de fibra óptica. Este hecho se deriva, en primer lugar, de la importancia de la monitorización de este parámetro químico en campos tan dispares como la medicina, el medio ambiente, la investigación, la industria o la química clínica, y, en segundo lugar, de la gran cantidad de indicadores, tanto colorimétricos como fluorimétricos, que se han desarrollado previamente para su uso en métodos volumétricos de la Química Analítica.⁹

Los optodos de pH descritos hasta el momento se basan en medidas de absorbancia (o reflectancia) y de emisión de fluorescencia. Prácticamente todos utilizan como compuesto sensible un indicador de pH, generalmente comercial, y fundamentan su capacidad sensora, en unos casos, en la distinta coloración de sus formas ácida y básica conjugadas (**esquema 1**) y, en otros, en la variación de la intensidad de luminiscencia que causa la protonación del compuesto, bien sea en su estado fundamental o en el excitado (**esquema 2**).

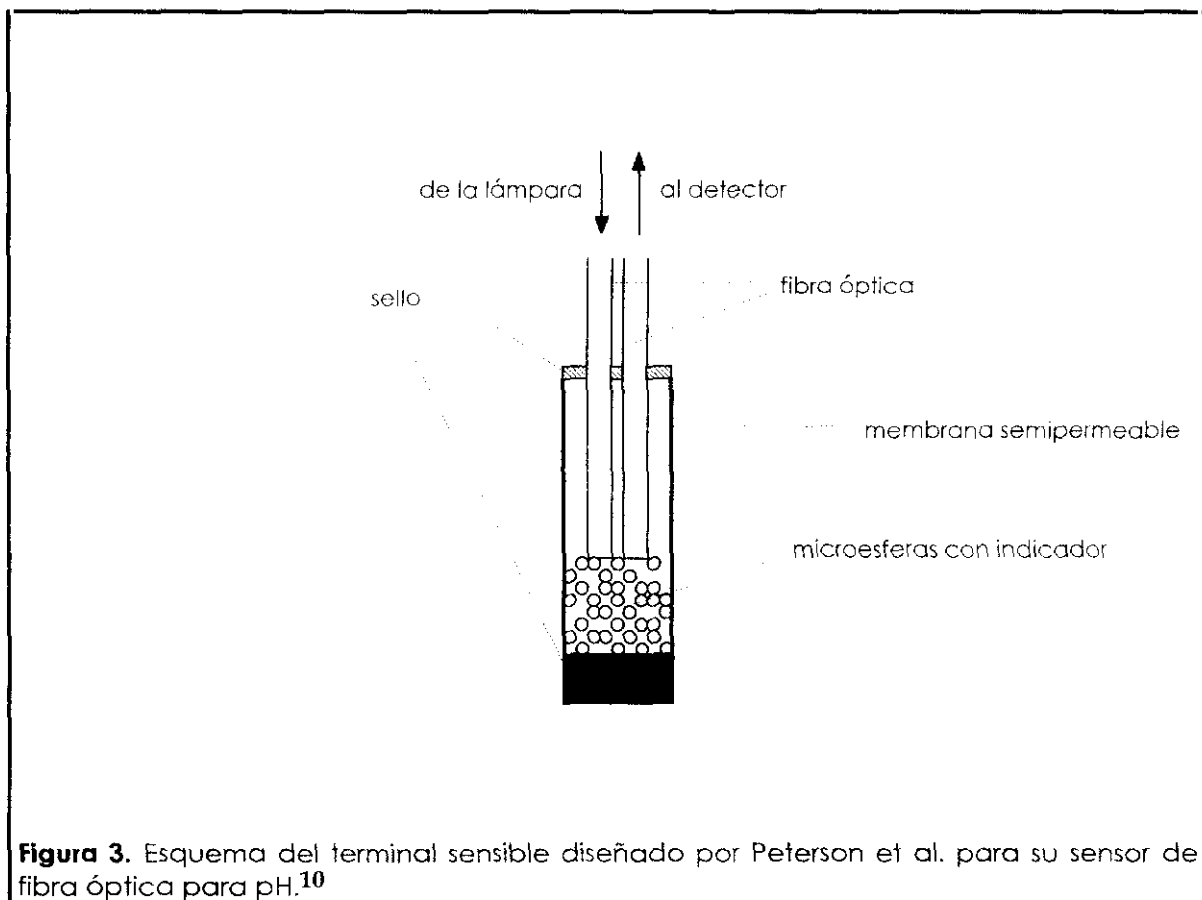


Esquema 1



Esquema 2

El primer sensor de fibra óptica descrito para pH (en el intervalo fisiológico 7.0-7.4) utiliza rojo fenol como indicador, inmovilizado covalentemente sobre microesferas de poliacrilamida y poliestireno, y se basa en el distinto color de las formas ácida y básica del indicador.¹⁰ La fase reactiva se coloca en el extremo de la fibra, separada del medio de medida por una membrana de diálisis permeable a los iones H_3O^+ . El dispositivo se ha representado en la **figura 3**.



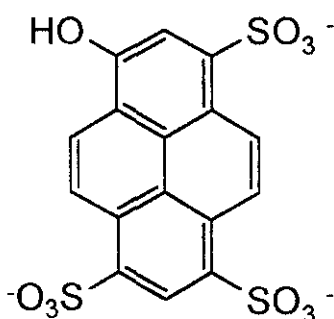
Otros sensores ópticos de pH basados en medidas de absorbancia y/o reflectancia emplean diversos indicadores y soportes, pero siempre utilizando el mismo principio de medida: un equilibrio ácido-base entre especies químicas de distinto color. Con ello, se ha conseguido cubrir un amplio intervalo de valores de pH. Así, se ha descrito otro sensor para el intervalo de pH 6.0-9.0, que emplea también rojo fenol como indicador, inmovilizado en copolímeros de estireno y divinilbenceno,¹¹ soporte que también ha servido para anclar azul de timol (intervalo 9.0-11.0),¹² azul de bromofenol (intervalo 3.0-5.0)¹² y azul de bromotimol (intervalo 7.0-9.0).¹³

Con éste último colorante, se ha desarrollado un sensor de pH portátil para el intervalo 7-9 que posee dos diodos emisores de luz como fuentes de radiación: uno emite a una longitud de onda a la que no absorbe el indicador y se emplea como referencia, el otro es el de medida.¹⁴ Otros dispositivos emplean los indicadores sulfofenoltaleína (intervalo 7.0-7.4),¹⁵ y rojo congo soportado sobre celulosa porosa (intervalo 0.0-4.5).¹⁶

El sensor de pH construido por Moreno et al.¹⁷ para el intervalo 6.1-7.2 emplea rojo cresol inmovilizado en una resina de intercambio aniónico, con un recubrimiento de poli(tetrafluoretileno) (PTFE), mientras que el descrito por Goldfinch y Lowe¹⁸ utiliza verde de bromocresol (pH 3.3 a 6.8) y azul de bromotimol (pH 6 a 10) unidos covalentemente a tiras de celulosa.

En el extremo de la sencillez se encuentran los optodos desarrollados por Woods et al.,¹⁹ que disponen tiras desechables de papel indicador comercial en el extremo de la fibra óptica y miden la variación de su reflectancia con la concentración de protones en el medio.

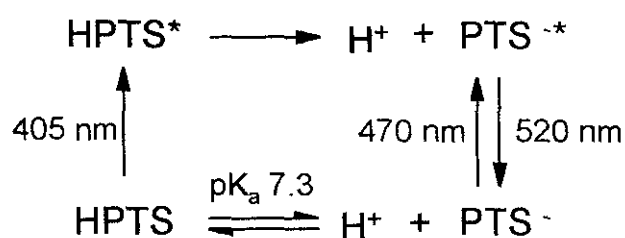
Los optodos de pH basados en la variación de la emisión de indicadores fluorescentes (**esquema 2**) presentan también múltiples configuraciones. Quizá el compuesto sonda luminiscente que mayor número de veces se ha empleado hasta ahora ha sido el 8-hidroxi-1,3,6-pirenotrisulfonato (HPTS), generalmente como sal trisódica.



HPTS

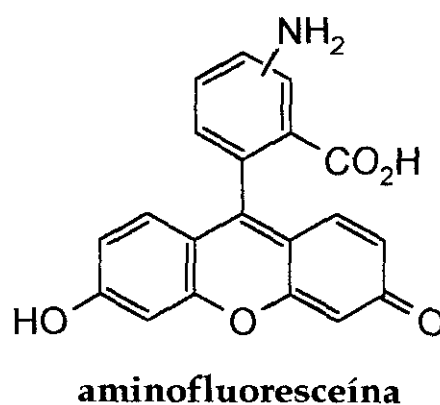
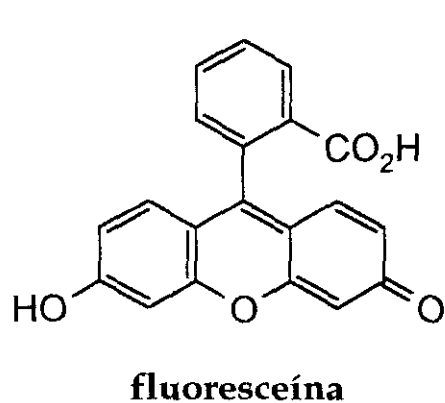
La base fotoquímica del funcionamiento de este indicador se representa en el **esquema 3**.²⁰ La emisión observable proviene de la forma básica excitada electrónicamente (PTS-*). Las longitudes de onda de los máximos de absorción de las formas ácida y básica del indicador son lo suficientemente diferentes como para permitir la excitación selectiva de una u otra, pero,

independientemente de cuál sea la forma excitada, la especie aniónica es siempre la responsable de la emisión de fluorescencia. El estado excitado de la forma protonada HPTS* no emite ni se desactiva prácticamente por ningún otro camino que no sea la desprotonación, que produce el estado excitado PTS*, debido a la gran velocidad del proceso de transferencia protónica por el considerable aumento de la acidez del compuesto fenólico excitado a su estado singlete de menor energía. De este modo, se puede medir la intensidad de emisión de la especie PTS* en función del pH, excitando una u otra forma, y relacionar el cociente de intensidades de emisión con el pH del medio.



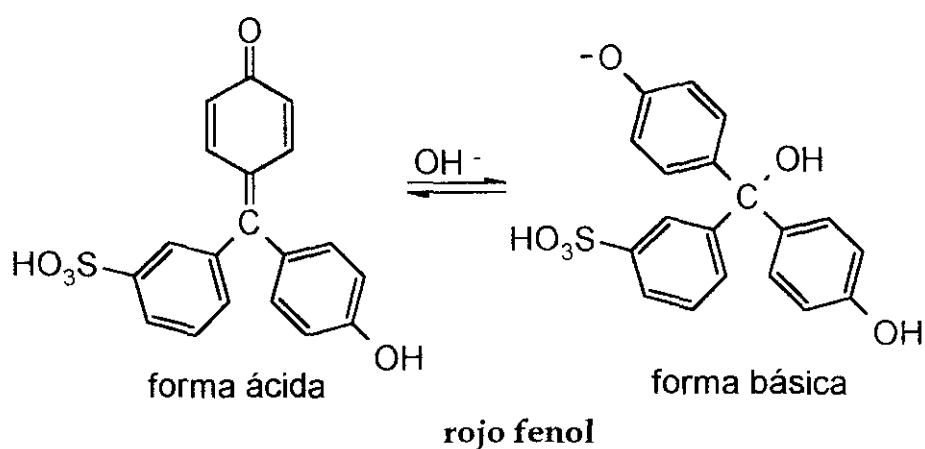
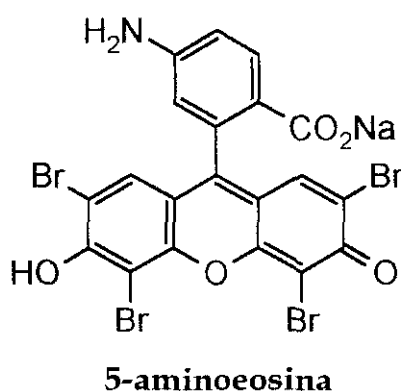
Esquema 3

El indicador HPTS ha sido inmovilizado en una gran variedad de soportes poliméricos, tales como resinas de intercambio aniónico (pH 6.5 a 8.5),²¹ vidrio de poro controlado (pH 6.5 a 7.6),²² celulosa hidrófila (intervalo de pH fisiológico)²³ y matrices de poli(vinileno) (pH 5.5 a 8.0).²⁴



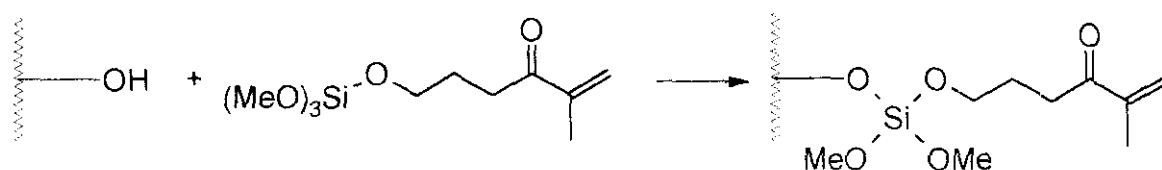
Otros indicadores fluorescentes muy empleados en la fabricación de optodos para pH son la fluoresceína, inmovilizada en medios como sol-gel (intervalo de pH de 3.5 a 6.5),²⁵ o aminoetilcelulosa (pH 0 a 7),²⁶ y derivados de la misma, como aminofluoresceína, soportada sobre vidrio de poro controlado (pH 3 a 7),²⁷ celulosa (pH 2 a 9)²⁸ o incorporando su acrilamidoderivado a un copolímero de acrilamida y *N,N'*-metilenbis(acrilamida) (pH 4.0 a 8.0),²⁹ lo que evita la pérdida del colorante por disolución en el medio acuoso de medida. También goza de ésta ventaja el procedimiento de Kawabata et al.,³⁰ que inmovilizan de forma covalente fluoresceína por fotopolimerización directamente sobre la superficie del extremo de la fibra óptica de cuarzo, previamente modificada.

Jordan et al.³¹ han descrito un sensor óptico para el rango de pH fisiológico basado en la transferencia de energía entre una molécula fluorescente no sensible a la concentración de protones en el intervalo de trabajo, la 5-aminoeosina, y un indicador no fluorescente sensible al pH, el rojo fenol.



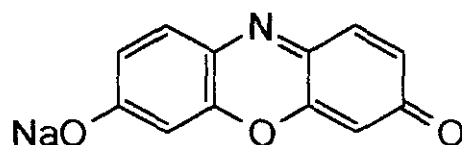
En presencia de la forma básica del rojo fenol, se produce una desactivación de la fluorescencia del derivado de eosina, mediante un proceso de transferencia resonante de energía desde el estado excitado de la 5-aminoeosina al estado fundamental del indicador de pH. La transferencia de energía a la forma ácida del rojo fenol transcurre con una eficiencia muy inferior, lo que permite relacionar la intensidad de fluorescencia registrada con la proporción de forma básica del rojo fenol, la cual depende, a su vez, del pH del medio.

Para construir el sensor, se coinmovilizan ambos colorantes en el extremo de la fibra, previamente activada por reacción con (3-metacriloxipropil)trimetoxisilano. Éste es un procedimiento muy habitual para la inmovilización directa de compuestos sobre fibras ópticas de cuarzo o vidrio; al poseer éstas grupos OH libres, pueden reaccionar con el silano, quedando funcionalizadas con el grupo metacriloxipropilo (**esquema 4**), que permite su copolimerización posterior con acrilamida y *N,N'*-metilenbis(acrilamida) como agente de entrecruzamiento.



Esquema 4

En el sensor que nos ocupa, la eosina se incorpora como copolímero, tras la formación de su amidoderivado con cloruro de acrilóilo, y el rojo fenol se une también, sin necesidad de funcionalización previa, probablemente por reacción del grupo quinona que posee.



resorufina

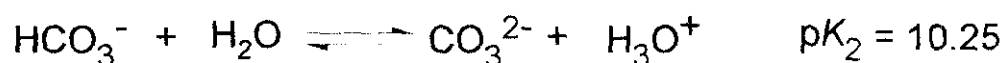
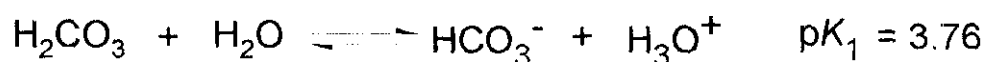
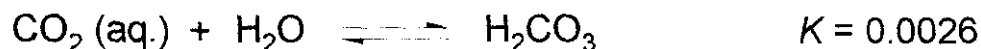
Recientemente, se ha descrito un sensor de fibra óptica para pH basado en medidas de tiempo de vida del estado excitado de varios colorantes fluorescentes comerciales, entre ellos la resorufina.³² La fuente luminosa empleada es un láser de He-Ne y la detección se consigue midiendo la diferencia de fase entre la luz de excitación y la fluorescencia del indicador.

2.3. SENSORES ÓPTICOS DE CO₂.

La medida de dióxido de carbono es de una importancia fundamental en campos tan diversos como la medicina (niveles de CO₂ en sangre), el medio ambiente (aire y agua) y el control de procesos industriales (fermentación, preparación de bebidas, etc.)

La inmensa mayoría de los sensores de fibra óptica para dióxido de carbono diseñados hasta el momento basan su funcionamiento en el carácter ácido de la molécula de CO₂ al hidratarse, usando como fase reactiva indicadores de pH, tanto colorimétricos como fluorimétricos. El principio de medida es, por tanto, análogo al empleado en los electrodos selectivos para este analito, que miden la variación en el pH del terminal sensible producida por la disolución del CO₂, mediante un electrodo de vidrio.³³ No obstante, se ha descrito un sensor para la monitorización de CO₂ en sangre, que se basa en la fuerte absorción que presenta este compuesto en el IR, centrada a 2300 cm⁻¹.³⁴ El optodo emplea como referencia interna la transmitancia en una región en la que el CO₂ no absorbe. Como es lógico, el dispositivo presenta como inconvenientes su inespecificidad y la grave interferencia que supone la presencia de agua en las muestras. También se ha descrito un sensor óptico que detecta conjuntamente dióxido de carbono y metano, que ha sido aplicado a la monitorización de estos gases como impurezas en gases inertes (gases nobles y nitrógeno).³⁵ El gas impuro se hace pasar a través de una cámara donde es sometido a una potente descarga eléctrica, que ioniza las moléculas de los analitos. Finalmente, CO₂ y CH₄ se transforman en CO y H₂ y se hacen pasar a través de un lecho de óxido mercuríco, que se reduce a mercurio, y éste es detectado como vapor.

El dióxido de carbono se hidrata en disolución acuosa, dando lugar al ácido carbónico que, a su vez, está sujeto a dos procesos de disociación:



La medida de la concentración de iones H_3O^+ y, por tanto, el pH del medio es una medida indirecta de la concentración de CO_2 . Así, un sensor de CO_2 que detecta este compuesto a través de los cambios que su presencia induce en la concentración de iones H_3O^+ decimos que utiliza un transductor de pH.

Generalmente, los optodos de CO_2 basados en este principio de la transducción de pH incorporan también un tampón hidrogenocarbonato en la composición de su fase sensible, que proporciona una mayor estabilidad al sistema, al mantener el pH constante y permite, además, poner en juego los equilibrios propios del sistema ácido carbónico-hidrogenocarbonato-carbonato.

Es muy frecuente encontrar en este tipo de dispositivos la configuración representada en la **figura 4**, que dispone el compuesto sonda en una disolución acuosa reguladora, contenida en un pequeño depósito; todo ello se recubre con una membrana permeable al anhídrido carbónico, pero no al agua ni a los iones, como silicona o poli(tetrafluoretileno) poroso, de modo que las características de la fase sensible sólo se afectan por el analito. En ocasiones, el indicador se encuentra inmovilizado en un soporte sólido (gel) que se mantiene sumergido en la disolución de tampón y confiere una mayor estabilidad mecánica al sistema.

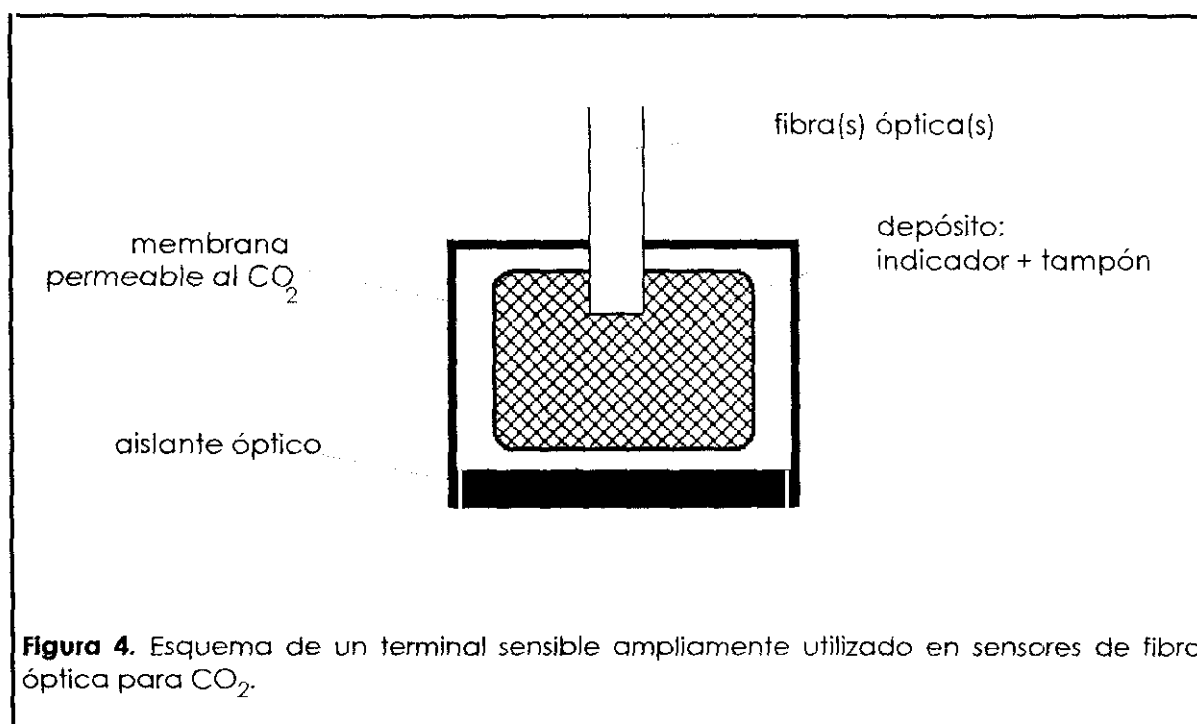
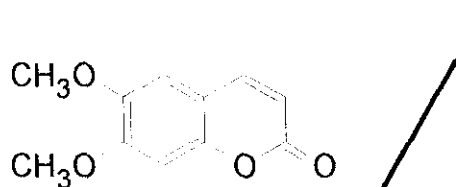


Figura 4. Esquema de un terminal sensible ampliamente utilizado en sensores de fibra óptica para CO_2 .

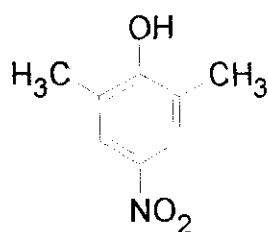
Entre los sensores ópticos basados en absorbancia, merece destacarse el diseñado por Vurek et al.,³⁶ que responde al esquema de la **figura 4**, empleando rojo fenol como indicador colorimétrico de pH en una disolución acuosa de tampón hidrogenocarbonato y cloruro sódico (que cumple el cometido de mantener la fuerza iónica prácticamente constante).

La mayor selectividad y sensibilidad, en general, de los métodos fluorimétricos es la causa de que se hayan desarrollado muchos más optodos para CO₂ basados en indicadores fluorescentes. Con arreglo al esquema de la **figura 4**, se han descrito también sensores que emplean fluoresceína,³⁷ HPTS,³⁸ 4-metilumbeliferona,³⁹ etc., como transductores de pH. En otros casos, la sonda se inmoviliza por adsorción sobre un soporte polimérico; así, se han construido optodos con HPTS sobre poliacrilamida cubierta con una membrana de silicona.^{40,41} Se ha empleado asimismo la inmovilización covalente de HPTS en celulosa,⁴² en un sensor mixto para dióxido de carbono y oxígeno, y de acrilamidofluoresceína como copolímero de poliacrilamidas.⁴¹

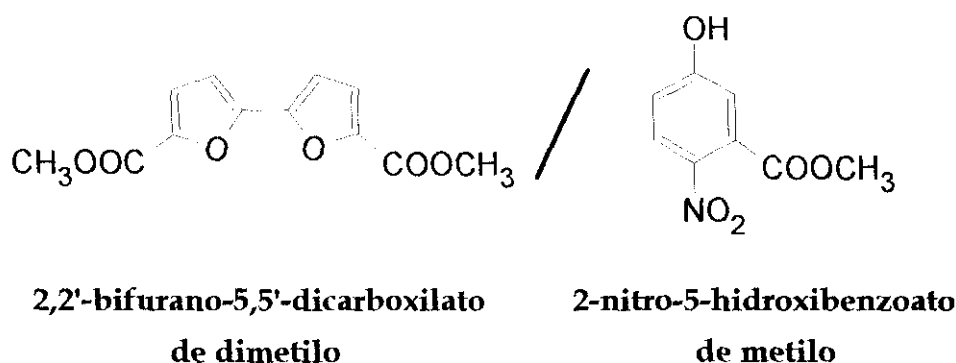
También se ha aplicado a la determinación de CO₂ el principio de medida expuesto para algunos sensores de pH,³¹ basado en la inmovilización conjunta de un indicador de pH no fluorescente y un compuesto fluorescente no sensible a la concentración de protones. La condición para ello es que el espectro de absorción del indicador solape con el del fluoróforo, de manera que las variaciones en la proporción relativa "forma ácida/forma básica" del primero se detectan a través de la medida de la intensidad de fluorescencia de la segunda molécula. Se han descrito combinaciones "compuesto fluorescente/indicador colorimétrico de pH" con 6,7-dimetoxicumarina/2,6-dimetil-4-nitrofenol y con 2,2'-bifurano-5,5'-dicarboxilato de dimetilo/ 2-nitro-5-hidroxibenzoato de metilo, inmovilizados en poli(alcohol vinílico).⁴³



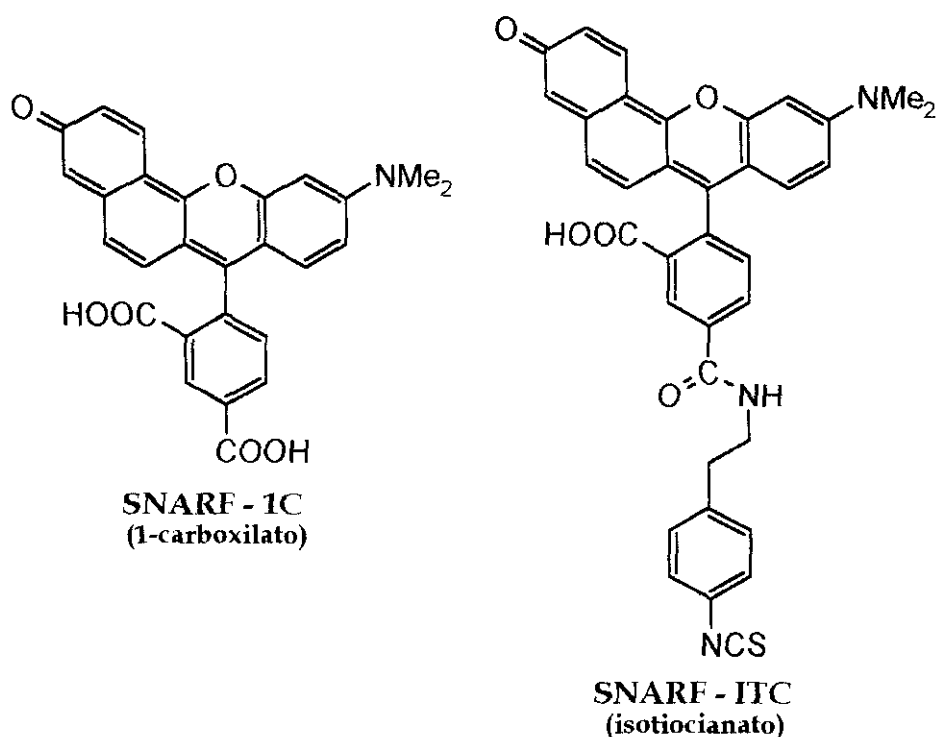
6,7-dimetoxicumarina



2,6-dimetil-4-nitrofenol

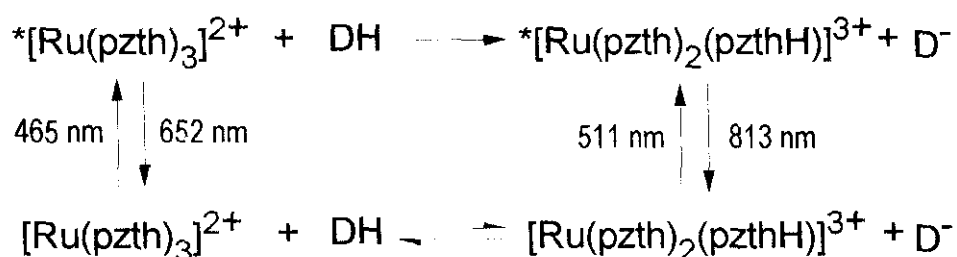


Recientemente, se ha descrito la unión covalente de indicadores de la familia de las seminaftorrodaminas (conocidas con el acrónimo SNARF) en poli(hidroxietilmetacrilato) y poli(vinilpirrolidona).⁴⁴ Estos compuestos poseen la ventaja de que ambas formas ácida y básica emiten a longitudes de onda diferentes, de modo que en lugar de medir la intensidad de fluorescencia de una sola de las especies, se puede realizar una monitorización basada en la razón entre las intensidades de los dos máximos de emisión, o el cociente entre una de ellas y la intensidad en el punto isosbético. Así, se consigue eliminar la deriva debida a la posible fotodegradación del indicador, lo que proporciona un dispositivo de mayor estabilidad temporal.



Kawabata et al.⁴⁵ han construido un sensor de CO₂ que no emplea disolución reguladora, sino simplemente fluoresceína embebida en poli(etilenglicol) y colocada en el extremo de la fibra óptica.

La mayoría de los sensores citados hasta aquí basan su funcionamiento en el sistema sensible al pH representado en el **esquema 2**. Sin embargo, Orellana et al.⁴⁶ han construido un optodo para CO₂ cuyo fundamento es la desactivación de la luminiscencia del complejo tris[2-(2-pirazinil)thiazol]rutenio(II), abreviadamente [Ru(pzth)₃]²⁺, inmovilizado electrostáticamente sobre un gel de dextrano funcionalizado con grupos aniónicos (carboximetilsephadex) en presencia de un tampón hidrogenoftalato relativamente concentrado. Como en otros esquemas, el indicador excitado electrónicamente se desactiva por la transferencia protónica, pero, a diferencia de lo que ocurre con todas las sondas descritas anteriormente, la sensibilidad a la acidez del medio interno no se basa en el equilibrio ácido-base del estado fundamental del indicador, sino en la protonación irreversible del estado excitado triplete de transferencia de carga metal-ligando (³MLCT), cuyo carácter es mucho más básico. El principio de funcionamiento se representa en el **esquema 5**, donde DH representa cualquier ácido de Brønsted presente en el medio interno (tampón o H₃O⁺).



Esquema 5

El pK_a correspondiente al estado fundamental del complejo es de -1.9, mientras que la basicidad del estado excitado electrónicamente es muy superior (probablemente se trata de una protonación irreversible, pues el cortísimo tiempo de vida del estado excitado una vez que ha aceptado un ion hidrógeno impide que se establezca un equilibrio ácido-base), lo que hace que pueda protonarse a valores de pH en que no existe la forma ácida

conjugada del estado fundamental. El tampón (hidrogenoftalato o fosfato, pH 7.2) cumple la función de transportar el ion H^+ hasta el estado excitado de manera más eficiente, al ser favorable el acercamiento de dos especies con cargas de signo contrario (el complejo tiene carga positiva y el hidrogenoftalato es una especie aniónica). Dado que la especie protonada apenas emite (sólo se detecta una muy débil luminiscencia a 813 nm) y que la forma básica del tampón no desactiva la luminiscencia del indicador excitado, un aumento de la concentración de CO_2 en el medio provoca, por su hidratación, un aumento de la concentración de la forma ácida del tampón en la fase reactiva, lo que produce una disminución de la intensidad (y del tiempo de vida) de luminiscencia. El fundamento fotoquímico de la capacidad sensora de ácidos de Brönsted de los complejos de Ru(II) con ligandos heterocíclicos que poseen átomos de nitrógeno no involucrados en enlaces de coordinación al átomo metálico se comentará con mayor detalle más adelante.

2.4. SENSORES ÓPTICOS DE OXÍGENO.

El primer sensor de fibra óptica para oxígeno fue descrito en 1964 por Kapany y Silbertrust.⁴⁷ Su base era el desplazamiento de la banda de absorción Soret de la hemoglobina al asociarse ésta al analito. Más recientemente,⁴⁸ el mismo principio se ha empleado para construir otro sensor de reflectancia, inmovilizando desoxihemoglobina en una resina de intercambio catiónico (carboximetil sephadex) y recubriendo el conjunto con una membrana de PTFE. Esta variación en la absorbancia/reflectancia de la hemoglobina sanguínea es la base para el sensor comercial de presión parcial de oxígeno que puede ser utilizado *in vivo* a través de un catéter de fibra óptica en pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos.⁴⁹

Sin embargo, la gran mayoría de los optodos para oxígeno descritos hasta el momento aprovechan la capacidad desactivadora de estados excitados que posee la molécula de O₂. Los procesos de desactivación bimolecular dinámica (*quenching*) de la luminiscencia en medios homogéneos se rigen por la ecuación de Stern-Volmer (ecuación 1),⁵⁰ que relaciona la disminución de la intensidad de emisión de un compuesto luminiscente, *I*, con la concentración de desactivador presente en el medio (en nuestro caso oxígeno, medido como presión parcial):

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{SV} pO_2 \quad (1)$$

donde K_{SV} es la denominada constante de Stern-Volmer e I_0 la intensidad de emisión en ausencia de desactivador. A menudo, para medir la concentración de O₂ en líquidos, se sustituye la presión parcial de O₂, pO_2 , por su concentración, $[O_2]$, expresada generalmente como tanto por ciento en volumen, de acuerdo con la ley de Henry-Dalton, resultando la ecuación 2:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{SV} \alpha [O_2] \quad (2)$$

donde α es el coeficiente de solubilidad del oxígeno en el medio considerado.

También puede expresarse la ecuación de Stern-Volmer en función de los tiempos de vida de emisión en presencia y ausencia del desactivador, τ y τ_0 , respectivamente, en lugar de las intensidades absolutas de emisión (ecuación 3).⁵⁰

$$\frac{\tau_0}{\tau} = 1 + K_{SV} \alpha [O_2] \quad (3)$$

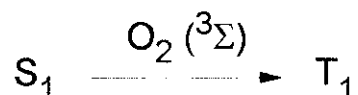
Puede demostrarse,⁵⁰ que K_{SV} es igual al producto del tiempo de vida del luminóforo en ausencia del desactivador (τ_0) y la constante de velocidad del proceso de desactivación bimolecular dinámica (k_q). Por consiguiente, se puede conseguir un aumento de la sensibilidad de un método analítico basado en la ecuación de Stern-Volmer mediante un incremento en el tiempo de vida del estado excitado del indicador luminiscente utilizado y/o en la eficacia del proceso de desactivación bimolecular (aumento de la frecuencia de colisiones o disminución de la energía de activación del proceso).

La naturaleza heterogénea (en lo que a la desactivación bimolecular se refiere) del indicador luminiscente inmovilizado en un soporte sólido que, casi siempre, constituye el terminal sensible del dispositivo de fibra óptica, hace que no se cumpla la relación lineal entre I_0/I o τ_0/τ y $[O_2]$ que la ecuación de Stern-Volmer expresa y que la respuesta del sensor sea de tipo curvo.^{51,52}

Entre los indicadores luminiscentes más ampliamente utilizados para optodos de oxígeno, hay que destacar dos grandes grupos: los hidrocarburos aromáticos polinucleares y los complejos de rutenio(II) con ligandos polipiridílicos.

Dentro del primer grupo, los indicadores más empleados han sido el pireno y el ácido 1-pirenobutírico.⁵³ Ambos ofrecen la ventaja de sus "largos" tiempos de vida de emisión de fluorescencia (superiores a los 100 ns), lo que determina su sensibilidad frente al analito. Así, existen optodos que utilizan ácido 1-pirenobutírico inmovilizado sobre vidrio de poro controlado,⁵⁴ o bien disuelto en ftalato de dioctilo e introducido en cápsulas de poliuretano.⁵⁵

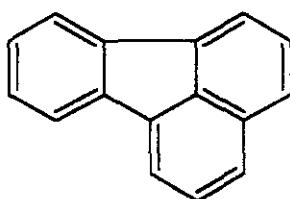
La desactivación de los estados excitados singletes de los hidrocarburos aromáticos polinucleares por el oxígeno transcurre, probablemente, por la catálisis del cruce entre sistemas que produce dicha especie:⁵⁶



Este proceso de desactivación de la luminiscencia es tan eficaz que experimentalmente se comprueba que su velocidad está controlada por la difusión de las especies o es próxima a dicho límite.

La principal desventaja de estos compuestos sonda la constituyen sus bajas longitudes de onda de absorción (340 nm) y de emisión (entre 390 y 440 nm) y escaso desplazamiento de Stokes, lo que obliga a emplear fuentes de luz ultravioleta para la excitación y fibras ópticas de cuarzo para la transmisión de la radiación luminosa. Para evitarlo, se han utilizado otras moléculas fluorescentes que mejoran estas características, como el dibutirato de perileno adsorbido sobre un copolímero de estireno y divinilbenceno,⁵¹ el 9,10-difenilantraceno en poli(hidroxietilmetacrilato),⁵⁷ o el fluorantreno en vidrio de poro controlado.⁵⁸

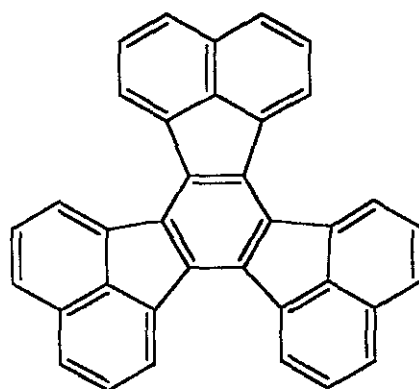
Un soporte especialmente adecuado para el oxígeno lo constituyen los polímeros de silicona, debido al alto grado de solubilidad del oxígeno en estos medios. Esta es la razón del amplio uso que se ha hecho de estas sustancias, como en el sensor descrito por Okazaki et al.,⁵⁹ que emplea benzo(g,h,i)perileno como indicador.



fluorantreno

Un ejemplo de gran interés clínico es el sensor construido por Wolfbeis et al.⁶⁰ para la determinación conjunta de oxígeno y halotano (2-bromo-2-cloro-1,1,1-trifluoretano, anestésico muy común), que aprovecha la

propiedad de ambos gases como desactivadores de la fluorescencia de hidrocarburos aromáticos polinucleares condensados. Como indicador se empleó decaciclono disuelto en silicona. Se construyeron dos terminales sensibles situados en los extremos de sendos cables de fibra óptica: uno de ellos se recubre de una membrana de PTFE (impermeable al halotano), que sólo determina O₂, y el otro se deja desnudo, de modo que es capaz de detectar ambos gases conjuntamente.



decaciclono

Aunque se han utilizado compuestos de coordinación de otros metales, como platino,⁶¹ los complejos luminiscentes de Ru(II) son, con gran diferencia, los más difundidos en la construcción de sensores de fibra óptica para oxígeno.^{52a} Entre sus muchas ventajas cabe citar la situación en el visible de las bandas de absorción electrónica de transferencia de carga metal-ligando (MLCT) y de emisión, el gran desplazamiento de Stokes existente entre ellas, que facilita la detección de la luminiscencia sin interferencias debidas a la excitación, y sus largos tiempos de vida, que los dotan de una gran sensibilidad frente al analito.

El estado excitado triplete de los complejos polipiridílicos de Ru(II) se desactiva, generalmente, por transferencia de energía al analito, con formación de oxígeno singlete:⁶²



El mecanismo de la transferencia de energía entre dichas especies parece ser de tipo *intercambio electrónico*, por lo que es necesaria la colisión entre los mismos para que se produzca la desactivación.

El complejo $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ se ha inmovilizado por adsorción en gel de sílice y dispersión de las partículas teñidas en silicona; la fase reactiva, así preparada, se dispone en el extremo de la fibra óptica.^{63,64} Este mismo dispositivo se ha incorporado a un optodo para la determinación simultánea de dióxido de carbono y oxígeno.⁴² El terminal sensible se ha construido como se muestra en la **figura 5**, y consta de un aislante óptico de silicona negra, que actúa también como membrana permeable a los gases, una fase sensible al CO_2 , que consiste en HPTS inmovilizado en celulosa y suspendido en un hidrogel, y la fase reactiva antes descrita para el O_2 . Ambos indicadores se excitan a la misma longitud de onda (460 nm) y se recogen las intensidades de emisión a 520 (HPTS) y 630 nm ($[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$).

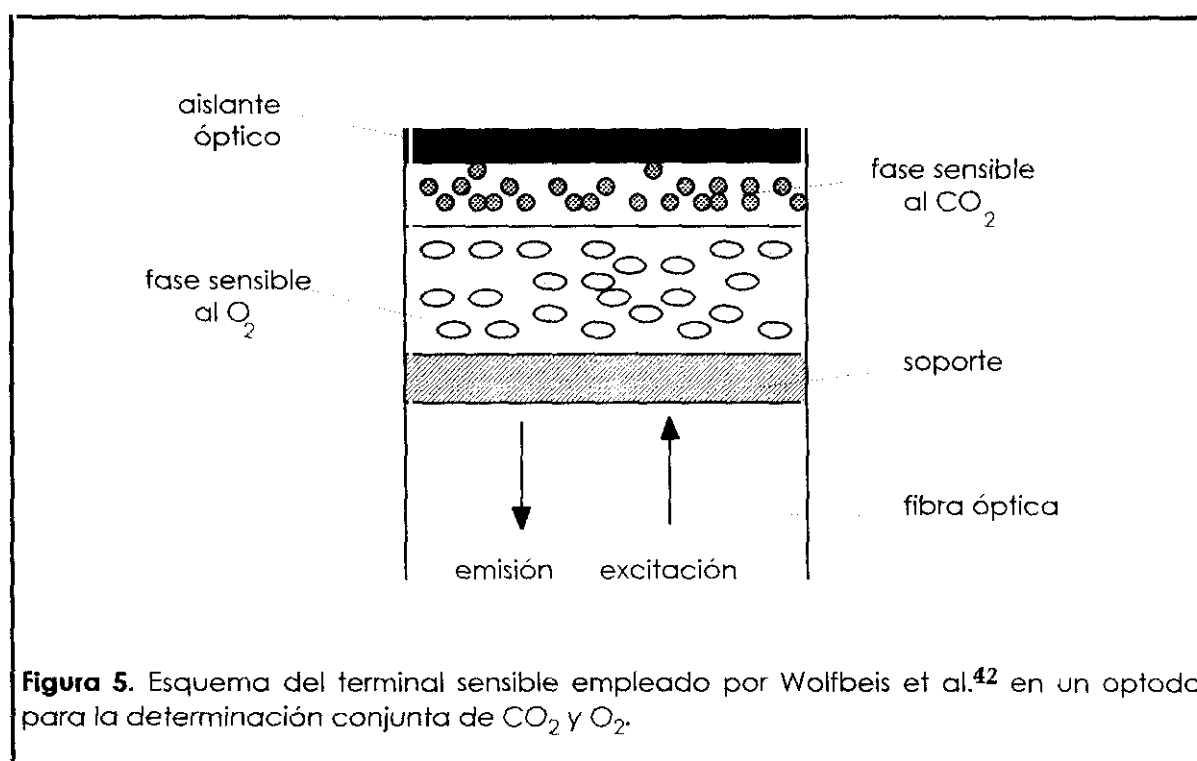


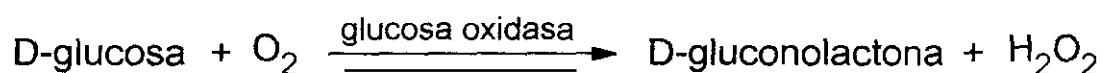
Figura 5. Esquema del terminal sensible empleado por Wolfbeis et al.⁴² en un optodo para la determinación conjunta de CO_2 y O_2 .

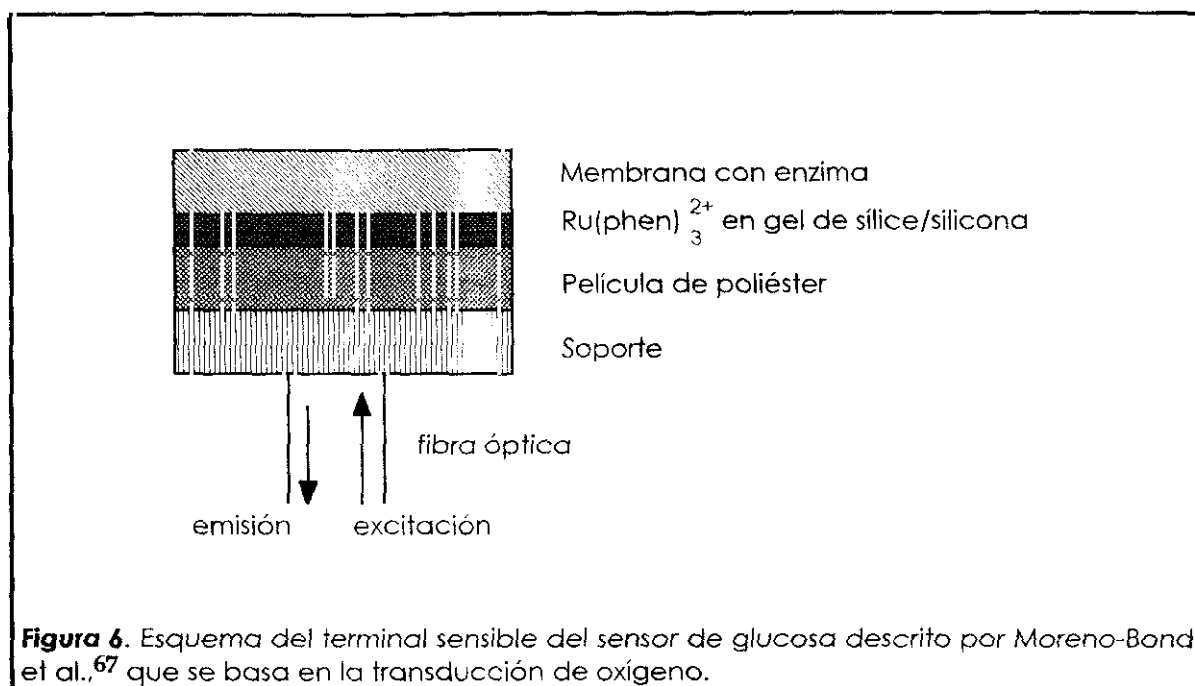
También se han descrito sensores que utilizan otros complejos del mismo tipo. Goswami et al.⁶⁵ han dispuesto un depósito con una disolución acuosa de tris(2,2'-bipirazina)rutenio(II), $[\text{Ru}(\text{bpz})_3]^{2+}$, en el extremo del conductor óptico. Bacon y Demas⁶⁶ han descrito el empleo del complejo

tris(4,7-difenilfenantrolina)rutenio(II), $[\text{Ru}(\text{dip})_3]^{+2}$, como fotosonda en un sensor de oxígeno basado en la disminución del tiempo de vida del estado excitado del complejo al ser éste desactivado por el analito. Moreno-Bondi et al.⁶⁷ han demostrado la superioridad del $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$ (phen = 1,10-fenantrolina) como indicador de oxígeno respecto al $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$. También MacCraith et al.⁶⁸ han utilizado el $[\text{Ru}(\text{dip})_3]^{2+}$ en un sensor de fibra óptica de onda evanescente; para ello, han inmovilizado este compuesto por atrapamiento en un sol-gel con el que se recubre lateralmente una fibra óptica desprovista de su cobertura (*cladding*). La fuente de luz es un láser de ion argón, cuya radiación a 488 nm se conduce al interior de la fibra, de modo que la sonda se excita por la onda evanescente que penetra hacia el exterior del núcleo de la fibra.

Un aspecto que añade interés a los sensores de fibra óptica para oxígeno es la posibilidad de usar la transducción de esta especie para monitorizar gran cantidad de compuestos de interés biológico. Para ello, se puede inmovilizar una enzima que catalice la oxidación del analito y medir la variación en la concentración de oxígeno que este proceso produce. Utilizando este principio, se han descrito sensores para glucosa,^{39a,67,69,70} lactato⁷¹ o etanol,^{72,73} entre otros.

Así, por ejemplo, Moreno-Bondi et al.⁶⁷ han utilizado el complejo $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$ como indicador para un sensor de glucosa basado en la transducción de oxígeno. El complejo luminiscente se adsorbe sobre partículas de gel de sílice, que se dispersan en silicona. Exteriormente, se dispone otra capa adicional que contiene la enzima glucosa oxidasa, inmovilizada en una membrana especial. La glucosa oxidasa cataliza la reacción de oxidación de la glucosa a D-gluconolactona, lo que consume oxígeno y provoca un aumento en la intensidad de emisión del complejo, tanto mayor cuanto más alta sea la concentración de glucosa en la muestra (figura 6).





Sharma et al.⁷⁴ han descrito un sensor de oxígeno basado en la transferencia de energía desde el estado excitado del pireno (que se desactiva de manera muy eficiente por el oxígeno) al estado fundamental del perileno (cuya desactivación por el analito es menos eficiente). De esta manera se consigue una amplificación de la respuesta, con la consiguiente ganancia de sensibilidad, que se interpreta por la formación de un exciplexo entre ambas moléculas, que es la verdadera especie reactiva.

Dejando aparte los dos grupos de indicadores tratados hasta aquí, merece ser mencionado el sensor de oxígeno patentado por Nestor et al.,⁷⁵ basado en la desactivación de la fosforescencia de complejos de terbio(III) con bases de Schiff derivadas de β -dicetonas como ligandos, dispuestas sobre una matriz polimérica transparente y permeable al O_2 . El dispositivo se ha adaptado a la medida de la presión parcial de oxígeno en sangre.⁷⁶

2.5. SENSORES ÓPTICOS DE ALCOHOLES.

La mayoría de los optodos desarrollados hasta el momento para la determinación de alcoholes analizan la concentración de estos compuestos en medios acuosos, especialmente en bebidas alcohólicas y en muestras biológicas.

Un grupo muy importante de sensores ópticos está constituido por aquellos dispositivos que basan su funcionamiento en una reacción enzimática con el alcohol (lógicamente son métodos específicos para etanol), lo cual involucra alguna especie capaz de modificar las propiedades ópticas de un indicador inmovilizado. Así, los biosensores desarrollados por Völkl et al.⁷³ y por Wolfbeis et al.⁷² utilizan para la detección del analito la transducción de oxígeno, cuyo consumo en el extremo sensible del terminal de fibra óptica es el resultado de la oxidación catalizada por la enzima alcohol oxidasa. El oxígeno actúa como desactivador de la luminiscencia del ácido 1-pirenobutírico y del complejo $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$.

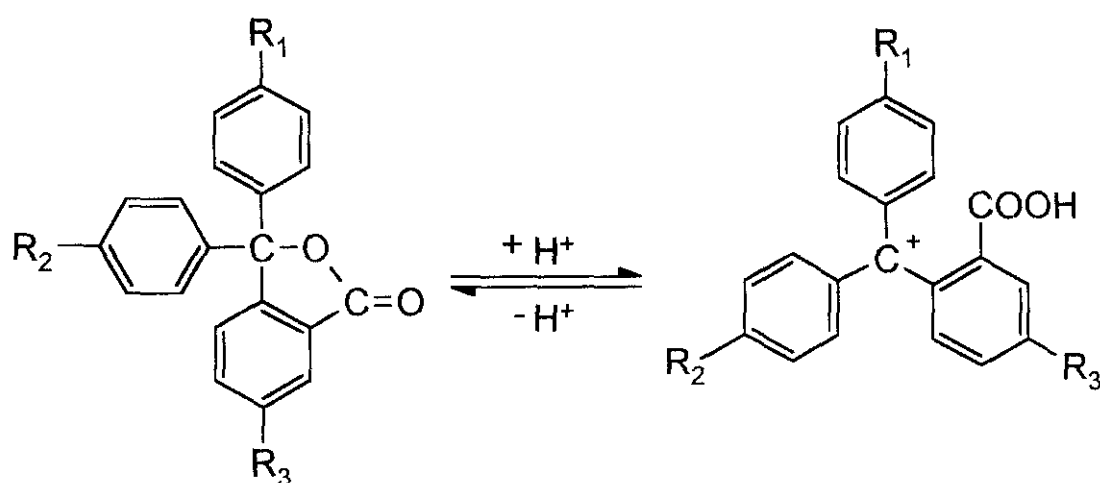
También se basa en el principio de la transducción el biosensor desarrollado por Walters et al.⁷⁷ para la medida de etanol en muestras acuosas. La señal originada en el sensor es la fluorescencia del indicador nicotinamida adenina dinucleótido en su forma reducida (NADH), que se obtiene por reducción de su forma oxidada (NAD^+). Este proceso tiene lugar por reacción con el hidrógeno generado en la oxidación enzimática del etanol, catalizada por la enzima alcohol deshidrogenasa. La forma NADH es intensamente fluorescente (con máximos de excitación y emisión a 340 y 450 nm, respectivamente), al contrario que la NAD^+ , que no lo es, por lo que la concentración de etanol se determina por la formación de NADH, cuya emisión se recoge. El carácter irreversible de la reacción enzimática constituye el principal problema de este ingenio, que presenta la ventaja de su elevada sensibilidad.

La enzima alcohol oxidasa se ha integrado también en un sistema que utiliza la transducción de peróxido de hidrógeno, generado en la oxidación del EtOH. El dispositivo se basa en la reacción quimioluminiscente del H_2O_2 con luminol en presencia de hexacianoferrato(III).⁷⁸ La mezcla de los reactivos con la muestra se realiza mediante un sistema de inyección en flujo.

Todos los métodos enzimáticos poseen algunas ventajas e inconvenientes comunes: entre las primeras se encuentran su elevada

especificidad y, en general, considerable sensibilidad; entre los segundos, es especialmente significativo su carácter irreversible.

Dickert et al. han desarrollado sendos sensores para la determinación de disolventes orgánicos polares en vapores⁷⁹ y agua,⁸⁰ basados en la reacción de apertura en medio ácido de lactonas derivadas de 3,3-difenilftalidas para dar un carbocatión de tipo trifenilmetano estable (**esquema 6**). La reacción es reversible y transcurre con un cambio de color muy acusado entre la forma lactona (incolora) y el carbocatión fuertemente coloreado. Se trata, pues, de sensores de absorbancia.



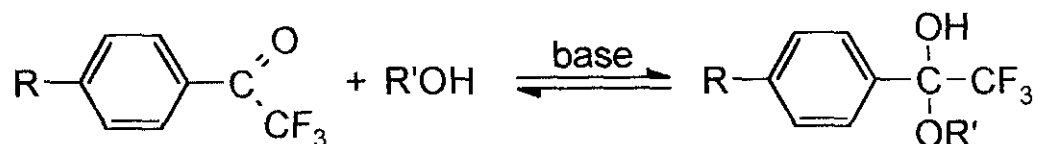
Esquema 6

El indicador se coinmoviliza con un ácido débil (se emplea un fenol) y se separa de la muestra mediante una membrana permeable al analito. En estas condiciones, la fase reactiva está fuertemente coloreada, al encontrarse el indicador mayoritariamente en forma iónica, lo que se debe a que las moléculas del ácido estabilizan el carbocatión por formación de enlaces de hidrógeno. Cuando se expone a la muestra, el equilibrio se desplaza hacia la izquierda, al coordinarse las moléculas polares (tetrahidrofurano, acetato de etilo, acetona, amoniaco, etanol, metanol) al carbocatión y romper dichos enlaces de hidrógeno. La disminución de la absorbancia se puede relacionar con la cantidad de disolventes polares en la muestra. De todos los analitos ensayados en medio acuoso, son los alcoholes los que proporcionan una

menor sensibilidad. En medio gaseoso, en cambio, el sensor es muy sensible al etanol. Se trata, en cualquier caso, de un dispositivo muy inespecífico.

Las 3,3-difenilftalidas son muy utilizadas como colorantes en papeles térmicos de impresoras comerciales. En una variante del procedimiento anterior, Posch et al.⁸¹ han construido un sensor para vapores de disolventes orgánicos polares, cuya fase reactiva es precisamente este tipo de papel.

Otro sensor de absorbancia para alcoholes de bajo peso molecular en agua y bebidas alcohólicas (vinos, cervezas y licores) basa su funcionamiento en la reacción de trifluoracetofenonas con alcoholes, catalizada por bases (esquema 7):⁸²



Esquema 7

El colorante usado es la *N*-acetil-*N*-dodecil-4-trifluoracetilanilina, inmovilizada en PVC, cuya reacción con alcoholes provoca un gran cambio en el espectro de absorción del terminal sensible, con un desplazamiento batocrómico del máximo (de 210 a 305 nm). La reacción es reversible y, en consecuencia, el sensor también lo es. Lógicamente, la reacción de formación del hemiacetal es específica para alcoholes, lo que hace que el sensor también lo sea. Además, la sensibilidad es mayor para alcoholes primarios, que dan la reacción más fácilmente, que para los secundarios y terciarios. El principal inconveniente es la necesidad de emplear fuentes de radiación en el UV, con lo que ello implica de tener que transmitir la luz a través de fibras ópticas de cuarzo.

Otro sensor para alcoholes en agua utiliza los cambios en la absorbancia de membranas de quitosano (quitina, generalmente extraída del caparazón de crustáceos, parcial o totalmente desacetilada) y poli(alcohol vinílico), situadas en los extremos de las fibras de un haz, al interaccionar con las moléculas del analito.⁸³ Según sus autores, se trata de

un método reversible y que proporciona respuestas rápidas y elevada reproducibilidad.

Cavinato et al.⁸⁴ han desarrollado un optodo para la determinación de etanol en agua y en cultivos de fermentación, basado en la detección de las bandas de absorción del propio analito en el IR cercano. No obstante, la inespecificidad del principio de medida hace que el método esté sometido a posibles interferencias, dependientes de la composición de la muestra concreta.

Una patente describe el desarrollo de un sensor inespecífico para la determinación de analitos liposolubles, entre ellos alcoholes, en medios acuosos.⁸⁵ Se basa en la inmovilización de derivados de 6-dialquilamino-2-alquilcarbonilnaftaleno, muy fluorescentes, en liposomas de fosfatidilcolina atrapados en un gel de agarosa. La entrada de moléculas liposolubles en la capa lipídica provoca cambios en el espectro de emisión del indicador fluorescente. La principal ventaja de este dispositivo es que permite su empleo en medios biológicos e incluso en pacientes, por ejemplo, para monitorizar la concentración de anestésicos en sangre.

Se ha descrito un sensor óptico de onda evanescente para determinar la concentración de alcoholes en gasolinas, basado en la variación del índice de refracción de la muestra.⁸⁶ El dispositivo consiste en un cable de fibra óptica de vidrio en forma de U, uno de cuyos extremos se conecta a la lámpara y el otro al detector. La parte curva del conductor se desprotege de su cubierta externa y se introduce en las mezclas alcohol/gasolina. La fracción de la radiación que escapa a través de la zona desnuda del cable (la onda evanescente) depende del índice de refracción de la muestra, que depende, a su vez, de la proporción de ambos componentes. El principal inconveniente de este dispositivo es su inespecificidad, pues todo compuesto que altere las propiedades ópticas de la muestra constituye una interferencia.

3. GENERALIDADES ACERCA DE LA FOTOFÍSICA Y FOTOQUÍMICA DE LOS COMPLEJOS DE RUTENIO(II) CON LIGANDOS QUELATANTES AZAHETEROCÍCLICOS.

3.1. INTERÉS Y APLICACIONES.

Muy a menudo, científicos de otras áreas de la química se asombran ante el enorme interés que ha mantenido durante los últimos veinte años el estudio de los compuestos de coordinación de rutenio(II) con ligandos de tipo α -diimina, especialmente cuando dicho agrupamiento forma parte de un sistema conjugado de anillos heterocíclicos.⁸⁷ En principio, es lógico que extrañe la gran cantidad de trabajo dedicado a un tipo tan determinado de complejos con un metal cuya abundancia natural en la corteza terrestre es de tan sólo 10^{-3} ppm. En este apartado de la memoria intentaremos reflejar, aunque sea de manera concisa, las causas de este fenómeno científico. El lector interesado puede recurrir a alguna de las muy numerosas y extensas recopilaciones y monografías que la bibliografía ofrece sobre este tipo de moléculas.⁸⁸⁻⁹¹

Ya en 1959, Paris y Brandt observaron por primera vez la intensa emisión rojo-naranja que emerge de las disoluciones acuosas del cloruro de tris(2,2'-bipiridina)rutenio(II), $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$, cuando se irradian con luz ultravioleta o visible (hasta aproximadamente los 500 nm).⁹² Éste fue el primer complejo de coordinación de Ru(II) del tipo que nos ocupa descrito en la bibliografía y ha centrado durante muchos años el grueso del estudio sobre estos compuestos. Posteriormente, se han sintetizado muchos otros complejos con anillos heterocíclicos como ligandos bidentados quelatantes del átomo de rutenio en estado de oxidación II. Este enorme volumen de trabajo ha contribuido a que, en el momento actual, dispongamos de un conocimiento bastante completo de las características estructurales, niveles de energía y estados electrónicos involucrados en los procesos fotofísicos, fotoquímicos y electroquímicos en los que este tipo de compuestos intervienen.

Estas moléculas poseen interesantes propiedades que han sido la base de aplicaciones muy diversas. Así, su primera utilidad, relacionada con la capacidad de estos complejos de rutenio de actuar como fotosensibilizadores en procesos de transferencia electrónica,⁹³ fue el desarrollo de sistemas químicos de conversión y almacenamiento de energía

solar por generación de hidrógeno y oxígeno a partir de agua.⁹⁴ Si bien la producción fotoquímica de estas especies en el laboratorio puede considerarse un éxito, la dificultad de poner a punto un sistema de estas características a escala industrial, unida al abaratamiento del petróleo, ha enfriado considerablemente la euforia inicial en este campo, ya prácticamente extinguido.

No obstante, el interés por los compuestos de coordinación de Ru(II) con ligandos azaheterocíclicos quelatantes no ha decaído, pues, paralelamente, se han desarrollado muchas otras utilidades. Entre ellas, podemos resaltar su empleo como contadores cuánticos,⁹⁵ como sondas luminiscentes para medios microheterogéneos,⁹⁶ por ejemplo, micelas,⁹⁷ dendrímeros,⁹⁸ polielectrolitos⁹⁹ y, especialmente, ácidos nucleicos.¹⁰⁰ En este último campo, los complejos de rutenio están siendo investigados tanto por su actividad fotonucleásica, como para llevar a cabo el reconocimiento molecular del DNA. Las propiedades fotofísicas del complejo $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ también se han aprovechado ventajosamente mediante su empleo como fotosensibilizador en procesos rédox con aplicación en síntesis orgánica, tanto en fotoreducciones,¹⁰¹ como en fotooxidaciones,¹⁰² y como fotocatalizadores de la reacción de Pschorr para la preparación de fenantrenos.¹⁰³

Otras aplicaciones de gran interés son el empleo de este tipo de compuestos de coordinación como sensibilizadores (en fase homogénea o soportados) para la producción de oxígeno singlete,¹⁰⁴ como indicadores luminiscentes en sensores químicos de fibra óptica para O_2 ,^{63,64} CO_2 ,⁴⁶ glucosa,⁶⁷ etc., basados en medidas de intensidad de emisión y de tiempo de vida, en el estudio práctico de reacciones de transferencia electrónica fotoinducida (teorías de Marcus, Rehm-Weller, etc.),^{93,105} como sondas para la detección de huellas dactilares por luminiscencia excitada por láser en investigación criminal y forense,¹⁰⁶ y como sistemas de almacenamiento óptico de imágenes por vía fotoquímica utilizando los tris-quelatos $[\text{Ru}(\text{NN})_3]^{2+}$ como catalizadores de la reacción oscilante de Belousov-Zabotinsky.¹⁰⁷

3.2. NIVELES DE ENERGÍA Y ESTADOS ELECTRÓNICOS.

La ocupación de seis posiciones de coordinación en torno a un átomo metálico central da lugar a una simetría octaédrica, más o menos distorsionada en función de la naturaleza de los ligandos. Si éstos son todos idénticos, el grupo de simetría al que pertenece la molécula se simboliza por O_h . En compuestos de coordinación con ligandos quelatantes de tipo α -diimina, la existencia de este agrupamiento formando parte de anillos heterocíclicos conjugados fuerza una pérdida de simetría en la estructura. Así, un complejo homoléptico con tres ligandos bidentados iguales y simétricos, como el $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$, posee simetría D_3 . Por otra parte, en el estado fundamental de los compuestos de coordinación que nos ocupan, el átomo central está en estado de oxidación 2+, lo que implica una configuración electrónica d^6 para el rutenio. Si limitamos nuestra atención a estos orbitales d del átomo metálico, el desdoblamiento que sufren frente a un campo de ligandos de simetría D_3 se ha representado en la figura 7. Dado que los ligandos azaheterocíclicos de nuestro interés son de campo alto (elevado valor de Δ), los complejos resultantes son de bajo espín, lo que, para una configuración d^6 , supone la ocupación total de los orbitales enlazantes $e(d)$ y $a_1(d)$.⁹⁰

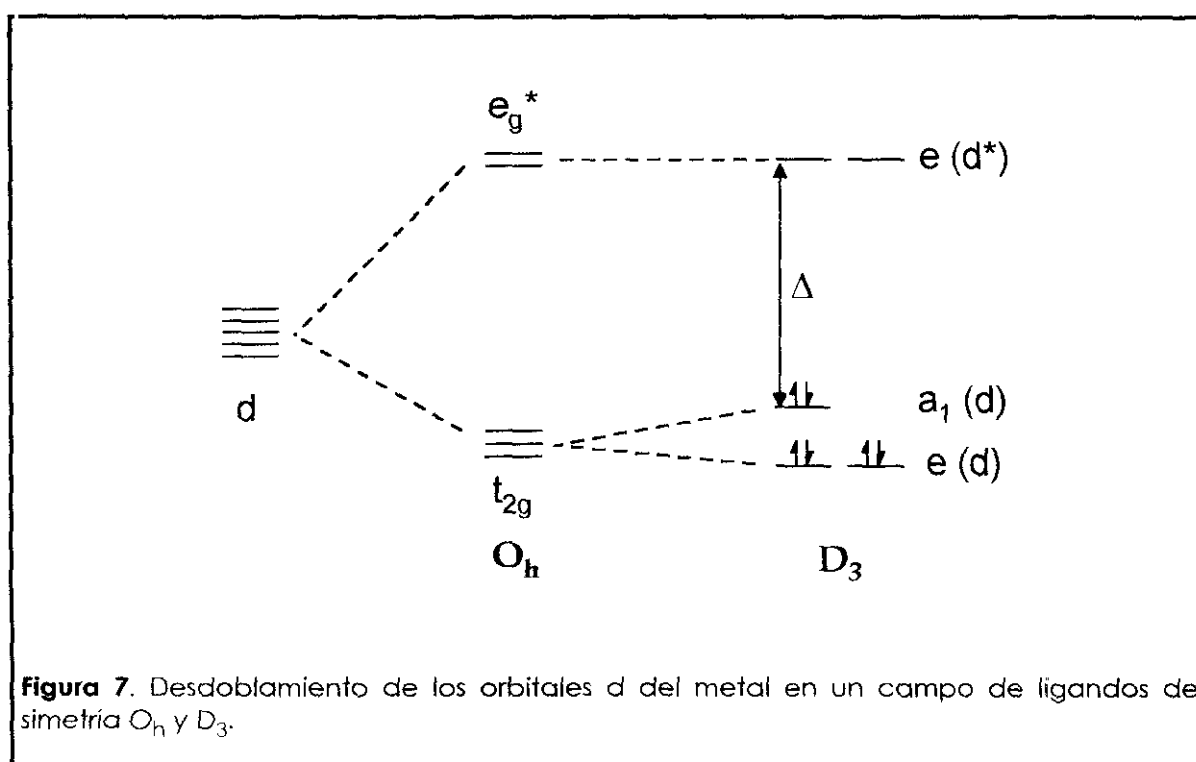


Figura 7. Desdoblamiento de los orbitales d del metal en un campo de ligandos de simetría O_h y D_3 .

El valor del **desdoblamiento del campo de ligandos** (Δ) viene dado por la diferencia energética entre los orbitales a_1 (d) y e (d^*). Para un cierto metal en un estado de oxidación determinado, la magnitud de aquél dependerá, lógicamente, de la naturaleza de los ligandos y, en especial, de sus características electrónicas. Los ligandos azaheterocíclicos son compuestos aromáticos y, como tales, disponen de orbitales moleculares de simetría π enlazantes, totalmente ocupados, y de orbitales π^* antienlazantes vacíos. El contenido energético de estos últimos, unido a su naturaleza de ligandos de campo fuerte y a que el rutenio es un metal de transición del segundo periodo y se encuentra en estado de oxidación 2+, hace que tales orbitales π^* sean los orbitales vacíos de menor energía (LUMO) de la molécula, mientras que los orbitales ocupados de mayor energía (HOMO) son los de tipo t_{2g} del metal, que están totalmente llenos. Como veremos, todas las propiedades de mayor interés de estos compuestos se derivan de esta disposición de orbitales moleculares, muy poco frecuente en complejos de metales de transición, pues lo normal es que la transición electrónica de menor energía sea la que se produce entre orbitales del metal ($d \rightarrow d^*$). Esta situación se ha representado en la **figura 8**.¹⁰⁸

La frecuente existencia de ligandos asimétricos y, más aún, la presencia de ligandos distintos en la esfera de coordinación del átomo de rutenio, desvirtúa el desdoblamiento de los orbitales d del metal con respecto a lo que se representa en la **figura 7**. No obstante, la magnitud del desdoblamiento debido a la pérdida de simetría es pequeña frente a Δ ; por ello, y con el fin de simplificar, hemos adoptado en muchas ocasiones en las páginas siguientes el desdoblamiento de los orbitales d que se produciría en un campo octaédrico perfectamente simétrico (grupo de simetría O_h), por lo que aludiremos a menudo a orbitales t_{2g} y e_g^* , si bien éstos no existen como tales ni siquiera en los complejos más sencillos, como se ha indicado anteriormente.

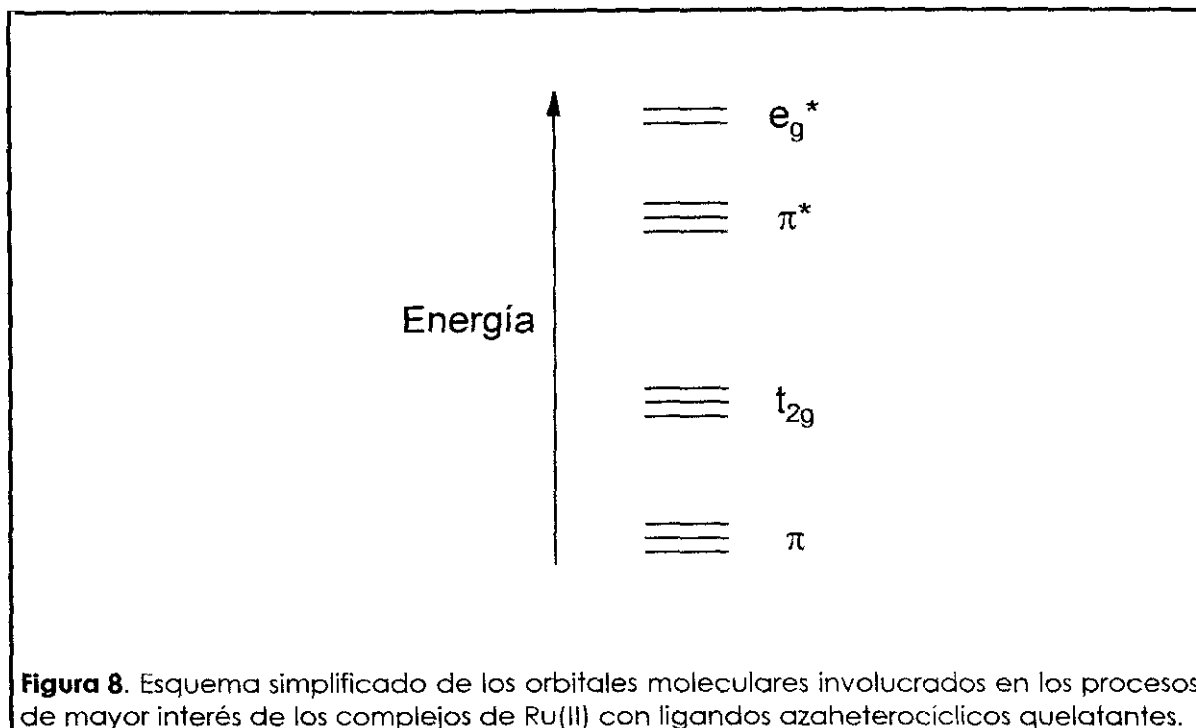
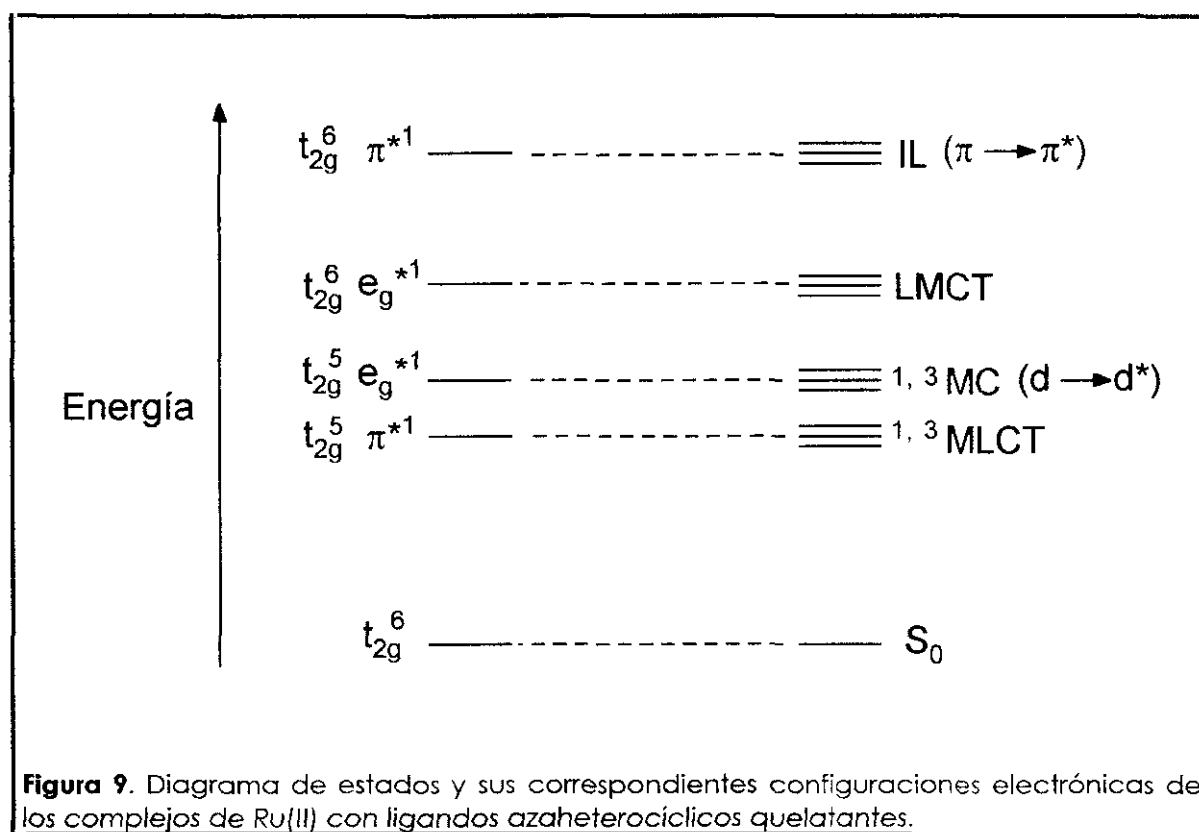


Figura 8. Esquema simplificado de los orbitales moleculares involucrados en los procesos de mayor interés de los complejos de Ru(II) con ligandos azaheterocíclicos quelatantes.

Por tanto, la configuración electrónica de los complejos de Ru(II) considerados, en su estado fundamental, es $(t_{2g})^6$. A partir del diagrama de orbitales moleculares de la **figura 8** y teniendo en cuenta esta configuración, podemos deducir cuáles serán los estados electrónicos de los trisquelatocomplejos de Ru(II). Un diagrama simplificado de los mismos se muestra en la **figura 9**. Dado que en el estado fundamental todos los electrones están apareados, tanto los situados en orbitales π enlazantes de los ligandos como los que ocupan los t_{2g} del metal, podemos concluir que se trata de un estado electrónico singlete, que denominamos S_0 . La promoción de un electrón desde el HOMO t_{2g} hasta el LUMO π^* , centrado en los ligandos, da lugar a un primer estado excitado, en el que, formalmente, se ha producido la transferencia de un electrón del metal a uno de los ligandos, por lo que se denomina *estado de transferencia de carga del metal al ligando* o **MLCT** (del inglés "Metal-to-Ligand Charge Transfer"). La configuración electrónica que corresponde a este estado es $t_{2g}^5 \pi^*1$. Si el electrón transferido conserva su número cuántico de espín inicial, el estado final será singlete $^1\text{MLCT}$, y triplete $^3\text{MLCT}$ si se produce una inversión del mismo. De acuerdo con la regla de la máxima multiplicidad de Hund, el estado triplete es de menor energía. En realidad, la presencia de un átomo metálico de elevado número atómico, como es el rutenio, hace que se produzca un importante acoplamiento espín-órbita, cuyo resultado es que

los estados electrónicos MLCT no son tripletes ni singletes "puros", sino que poseen un espín intermedio, algunos más cercano al triplete y otros más cercano al singlete, por lo que, salvo que sea necesario distinguir, nos referiremos a ellos simplemente como MLCT.⁸⁹



También es posible (aunque con escasa probabilidad, dada su naturaleza de transición prohibida por las reglas de Laporte) la promoción directa de electrones desde los orbitales t_{2g} hasta los e_g^* , que se encuentran totalmente desocupados; dado que todos los orbitales que toman parte en este tipo de transición son del átomo metálico, estos estados electrónicos se llaman *centrados en el metal* o MC (del inglés "Metal Centered"), o también $d \rightarrow d^*$. Su configuración electrónica es $t_{2g}^5 e_g^{*1}$. También pueden ser singletes o tripletes, correspondiendo a éstos un menor contenido energético, si bien, de nuevo, los acoplamiento espín-órbita son importantes.

Menor interés presentan, en esta familia de complejos, los estados electrónicos que resultan de la excitación de un electrón de los orbitales π de los ligandos a uno de los orbitales e_g^* del metal. Reciben el nombre de

estados de transferencia de carga del ligando al metal o LMCT (del inglés "Ligand-to-Metal Charge Transfer") y su escasa importancia se debe al carácter poco reductor de los ligandos polipiridílicos. Sí dan lugar a fenómenos observables las transiciones de tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, localizadas en orbitales de los ligandos, por lo que a menudo se alude a ellos como *estados centrados en los ligandos* o IL (del inglés "Intra-Ligand").

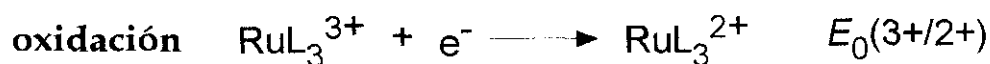
La estructura del catión $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$, obtenida por difracción de rayos X,¹⁰⁹ muestra una distancia de enlace Ru-N de tan sólo 205.6 pm, frente a los 210.4 pm de otro complejo octaédrico con ligandos dadores por nitrógeno, el hexaaminarutenio(II), $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$.¹¹⁰ Ésto sólo puede deberse a la existencia en el tris-quelato de una fuerte retrocesión π (combinación de los orbitales moleculares t_{2g} y π^*), lo cual es perfectamente factible, dada la localización energética de los orbitales π^* de los ligandos, accesibles con respecto a los t_{2g} del átomo metálico.

Sin duda, la característica más fascinante de estos complejos de rutenio, y la que hace que su estudio siga siendo de enorme interés para la comunidad científica, es la posibilidad de actuar sobre la posición relativa de los orbitales moleculares, mediante una selección adecuada de los ligandos, de acuerdo con sus características electrónicas y su carácter σ -dador y π -aceptor. Así, cuanto mayor es el carácter σ -dador de los ligandos, mayor es el desdoblamiento del campo del cristal y mayor también, por tanto, la separación entre los orbitales t_{2g} y e_g^* del metal. Sin embargo, los ligandos muy básicos aumentan la densidad electrónica en torno al metal, por lo que desestabilizan los orbitales t_{2g} ocupados. Vemos que un mismo factor actúa de dos maneras contrapuestas, alcanzándose una solución de compromiso. En cuanto a la retrocesión π , ésta se puede visualizar a nivel orbital como un solapamiento entre los orbitales π^* de los ligandos y los t_{2g} del metal (cuya simetría es también de tipo π). Cuanto más π -aceptor sea el ligando, mayor será esta interacción y menor el contenido energético final de los orbitales t_{2g} y mayor el de los π^* .

3.3. PROPIEDADES ELECTROQUÍMICAS.

La existencia de un átomo metálico de transición como el rutenio, cuyos estados de oxidación I y III son relativamente estables, hace que los procesos de oxidación-reducción tengan una gran importancia en los compuestos de coordinación que nos ocupan. Por otro lado, los ligandos (poli)azaheterocíclicos quelatantes poseen anillos aromáticos conjugados, cuyos orbitales π^* también pueden intervenir en procesos rédox.

Los procesos de oxidación y reducción por transferencia monolectrónica que experimentan los complejos de rutenio son los más importantes y se representan en las siguientes ecuaciones, en el sentido de la reducción:



Los potenciales $E_0(3+/2+)$ y $E_0(2+/+)$ pueden determinarse con las técnicas de voltametría cíclica o polarografía diferencial de impulsos.¹¹¹

Como en cualquier otra molécula, los primeros procesos de oxidación y reducción involucran a los orbitales HOMO y LUMO del complejo, pues suponen, respectivamente, la pérdida de un electrón del orbital ocupado de mayor energía y la entrada de un electrón en el orbital de menor energía con vacantes. En el caso de los complejos de rutenio(II) con ligandos azaheterocíclicos quelatantes, estos orbitales son (ver apartado 3.2) los t_{2g} del metal (HOMO) y los π^* del ligando (LUMO). Por tanto, el primer potencial de oxidación nos informará sobre la energía de los orbitales t_{2g} y el primer potencial de reducción nos servirá como estimación del contenido energético de los orbitales π^* . Por consiguiente, todos aquellos factores que influyan sobre la energía de estos orbitales incidirán en los valores de los potenciales $E_0(3+/2+)$ y $E_0(2+/+)$ de los complejos.

Las características electrónicas de los ligandos que hay que tener en cuenta son su carácter σ -dador y su capacidad π -aceptora. A este respecto, podemos afirmar que:

- Cuanto más básicos sean los ligandos azaheterocíclicos, es decir, cuanto mayor sea su carácter σ -dador, mayor es el contenido energético de los orbitales t_{2g} centrados en el metal, pues éstos están totalmente ocupados (configuración electrónica d^6) y ofrecerán una mayor repulsión electrónica; por tanto, el valor del primer potencial de oxidación será más pequeño.
- El aumento del carácter π -aceptor incrementa la interacción entre los orbitales t_{2g} del metal y π^* del ligando (retrocesión π), lo que rebaja la energía de los t_{2g} y aumenta consecuentemente el potencial de oxidación.

En la **tabla I** se recogen algunos datos ilustrativos, extraídos de la muy abundante bibliografía.^{89,112} Podemos apreciar que a los ligandos más σ -dadores y menos π -aceptores, como son los que contienen anillos muy básicos del tipo de imidazoles y cuyos orbitales π^* están situados a energías más altas, les corresponden los valores más bajos de $E_0(3+/2+)$.

Tabla I. Potenciales de oxidación y reducción de algunos complejos de Ru(II) con ligandos (poli)azaheterocíclicos quelatantes.

Complejo ^a	$E(3+/2+)/V^b$	$E(2+/+)/V^b$	Ref.
Ru(bpz) ₃ ²⁺	1.98	-0.68	113
Ru(pzth) ₃ ²⁺	1.63	-0.88	114
Ru(bpy) ₃ ²⁺	1.26	-1.35	115
Ru(Me-pyim) ₃ ²⁺	0.83	-1.75	114
Ru(bim) ₃ ²⁺	0.44	—	116

a) **bpz**: 2,2'-bipirazina; **pzth**: 2-(2-pirazinil)tiazol; **bpy**: 2,2'-bipiridina; **Me-pyim**: 1-metil-2-(2-piridil)imidazol; **bim**: 2,2'-biimidazol.

b) En acetonitrilo, vs. ENH (electrodo normal de hidrógeno).

En cuanto a los potenciales de reducción, son reflejo del contenido energético del LUMO de los complejos, pues el paso del estado de oxidación II al I supone la entrada de un electrón en el orbital π^* centrado en los ligandos. Además, se ha comprobado que el proceso de reducción electroquímica está totalmente localizado en uno de los ligandos.^{117,118} Así,

- Cuanto mayor es el carácter π -aceptor de los ligandos, mayor (menos negativo) es el potencial de reducción de los correspondientes complejos.

En la **tabla I** se recogen también los valores de $E_0(2+/+)$ de los mismos compuestos, que pueden servir para ilustrar la afirmación anterior. Los ligandos con mayor carácter π -aceptor, como son los que poseen anillos más electrodeficientes (por ejemplo, los anillos de pirazina) presentan los valores más altos de $E_0(2+/+)$. Un ligando tan escasamente π -aceptor como el 2,2'-biimidazol da lugar a un tris-quelato que no es posible reducir dentro de las condiciones experimentales límite que imponen los potenciales rédox del acetonitrilo anhidro empleado como disolvente.¹¹⁴

A menudo, se observan otros potenciales de reducción, además del primero, que corresponden a la entrada sucesiva de electrones en los orbitales π^* de los otros ligandos presentes en la esfera de coordinación. Sus valores son siempre superiores a los del primer potencial de reducción y aumentan progresivamente, aunque no de manera monótona, lo que muestra la dificultad adicional que supone la entrada reversible de nuevos electrones en el complejo, que sufren mayor repulsión cada vez. Según cuál sea el compuesto, se llegan a observar hasta 2, 3 ó 4 procesos de reducción.⁸⁹

El efecto de la sustitución de un ligando o de uno de los anillos heterocíclicos quelatantes sobre el potencial de oxidación en una serie de complejos de Ru(II), es aproximadamente aditivo. Un ejemplo de esto se muestra en la **tabla II**, donde se puede apreciar cómo el potencial rédox del proceso $3+/2+$ crece monótonamente unos 0.40 V al aumentar el número de unidades de piridina (py) en la secuencia de ligandos bim, pyim, bpy. En la misma **tabla II** se incluyen los potenciales de oxidación de la serie de tris-quelatos $[\text{Ru}(\text{bpy})_n(\text{bpz})_{3-n}]^{2+}$ (bpz = 2,2'-bipirazina); obsérvese cómo la sustitución de un ligando bpy por bpz se traduce en un aumento, aproximadamente monótono de unos 0.25 V, en el valor de $E(3+/2+)$.

Este carácter aditivo del reemplazo de ligandos o unidades heterocíclicas de los mismos ha llevado a Haga et al.¹¹⁹ a proponer el empleo del llamado *parámetro del ligando* (P_L), definido por Chatt et al.,¹²⁰ para cuantificar dicho efecto. La representación gráfica de $E(3+/2+)$ frente a x para complejos de la serie $[\text{Ru}(\text{bpy})_{3-x}(\text{L})_x]^{2+}$ es lineal (responde a la **ecuación 4**), y su pendiente permite calcular P_L para cada ligando, tomando como referencia el bpy, al que se asigna un valor estándar de $P_L = -1.14$ V.

Dicho valor se obtiene del estudio de los potenciales rédox de los bisquelatos de tipo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})(\text{L}')]^{2+}$, siendo L y L' ligandos carbonilo e isonitrilo,¹²¹ cuyos P_L se determinaron previamente a través de los potenciales rédox de sus complejos de cromo y manganeso. Ligandos más σ -dadores tienen valores más negativos de P_L (como 2,2'-di(benzimidazol), $P_L = -1.29$),¹¹⁹ mientras que ligandos más π -aceptores, como 2,2'-bipirazina ($P_L = -1.00$),¹¹⁹ conducen a valores más altos del parámetro del ligando.

$$E(3+/2+)_{\text{Ru}(\text{bpy})_{3-x}(\text{L})_x} = P_L x + E(3+/2+)_{\text{Ru}(\text{bpy})_3} \quad (4)$$

Tabla II. Potenciales de oxidación de una serie de complejos de Ru(II).

Compuesto	$E(3+/2+)/\text{V}^b$
$\text{Ru}(\text{bim})_3^{2+}$	0.44
$\text{Ru}(\text{pyim})_3^{2+a}$	0.85 ^c
$\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$	1.26
$\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{bpz})^{2+}$	1.49 ^d
$\text{Ru}(\text{bpy})(\text{bpz})_2^{2+}$	1.72 ^d
$\text{Ru}(\text{bpz})_3^{2+}$	1.98 ^d

a) pyim: 2-(2-piridil)imidazol.

b) En acetonitrilo, vs. ENH.

c) Ref. 114.

d) Ref. 113a.

Todo lo dicho hasta aquí se refiere a los potenciales rédox del complejo en su estado fundamental. En el estado excitado de menor energía ($^3\text{MLCT}$) existe un electrón desapareado en el orbital π^* . En el proceso de oxidación, el gasto energético necesario para arrancar este electrón será menor que si se hallase en un nivel t_{2g} ; en consecuencia, el complejo es más reductor en su estado excitado. Por otro lado, la entrada de un electrón adicional en el orbital t_{2g} , que constituye el proceso de reducción, se ve también facilitada en el estado excitado por la menor energía de este orbital centrado en el metal frente a los π^* de los ligandos; como resultado, el

complejo es más oxidante en el estado excitado que en el estado fundamental. En la **tabla III** se ilustra este comportamiento general con el complejo $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$.

Tabla III. Potenciales rédox del complejo $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ en el estado fundamental y en el estado excitado.

Estado	E/V^a	E/V^a	Ref.
fundamental	1.26 (3+/2+)	-1.35 (2+/+)	115
excitado($^3\text{MLCT}$)	-0.88 (3+/2+*)	0.79 (2+*/+)	114

a) En acetonitrilo, vs. ENH.

Existen varios métodos para calcular los potenciales rédox del estado excitado. El más sencillo supone la medida previa de los potenciales en el estado fundamental y del máximo de emisión a 77 K, el cual se toma como estimación de la energía de la transición 0-0 ($h\nu_{00}$) de la especie $^*[\text{RuL}_3]^{2+}$. Se aplican para ello las **ecuaciones 5 y 6**:¹²²

$$E_0(3+/2+*) = E_0(3+/2+) - h\nu_{00} \quad (5)$$

$$E_0(2+*/+) = E_0(2+/+) + h\nu_{00} \quad (6)$$

En la **figura 10** se esquematiza el principio en el que se basa este procedimiento.

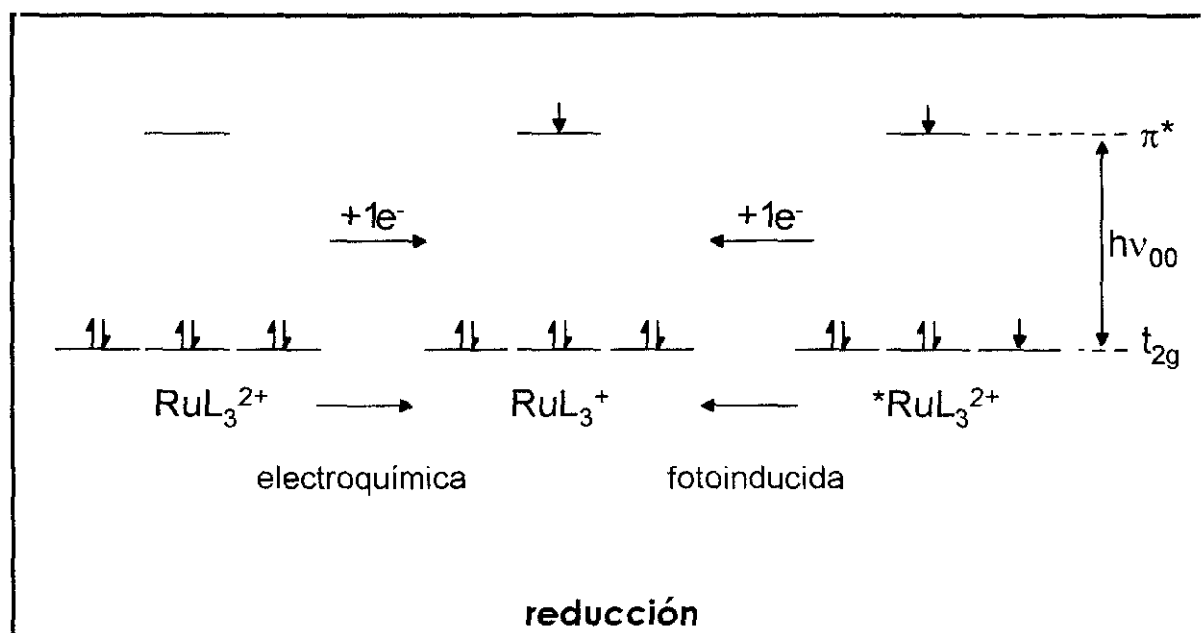
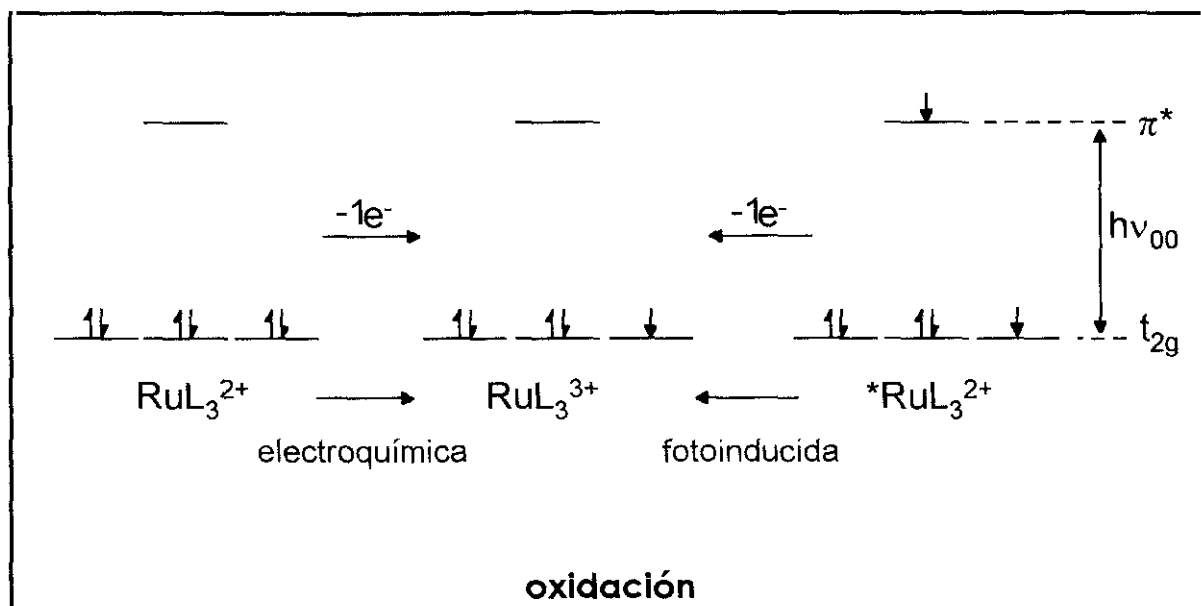
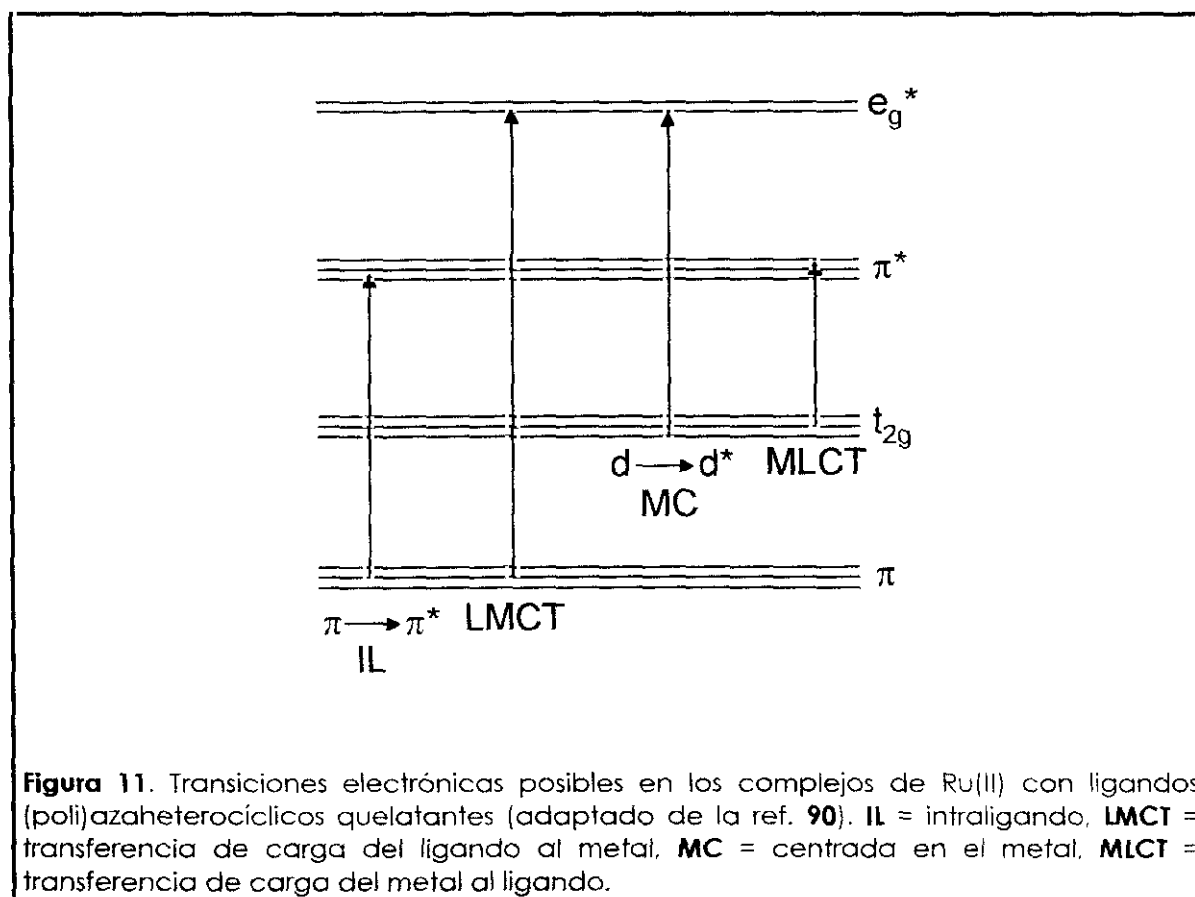


Figura 10. Comparación de los procesos de oxidación y reducción de los complejos de Ru(II) a partir del estado fundamental y a partir del estado excitado $^3\text{MLCT}$.

3.4. PROPIEDADES FOTOFÍSICAS Y FOTOQUÍMICAS.

3.4.1. Espectros de absorción UV-VIS.

De acuerdo con el diagrama de orbitales moleculares presentado en la **figura 8** y el de estados electrónicos de la **figura 9**, se puede deducir cuáles serán las transiciones electrónicas observables en el espectro de absorción de los complejos de rutenio(II) con ligandos (poli)azaheterocíclicos quelatantes. Los diferentes tipos de transiciones, junto con la nomenclatura de los correspondientes estados electrónicos resultantes, se representan en la **figura 11**.⁹⁰



Las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ dan lugar a las bandas de mayor energía y se sitúan casi siempre en la región UV del espectro electromagnético. Son tránsitos permitidos por las reglas de selección y a ello deben su considerable intensidad ($\epsilon_{\max} \geq 40000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Sus longitudes de onda y coeficiente de absorción molar dependen casi exclusivamente de los

ligandos, pues son transiciones electrónicas entre orbitales localizados en los mismos, por lo que su energía es muy similar en el ligando libre y complejo.⁸⁹

Las transiciones LMCT no son, en general, observables en este tipo de complejos, posiblemente debido a su elevada energía, que hace que no aparezcan dentro de la zona normalmente accesible del espectro. Ello es un reflejo del carácter poco reductor de los ligandos heterocíclicos del tipo considerado.¹²³

Las transiciones MC son de gran importancia, porque están relacionadas directamente con la fuerza del campo del ligando, al responder a la diferencia de energía entre los orbitales t_{2g} y e_g^* centrados en el metal. Desgraciadamente, son muy difíciles de observar en este tipo de compuestos de coordinación con Ru(II) debido a su bajo coeficiente de absorción molar y a que solapan por lo general con otras bandas más intensas y de parecida energía, sobre todo las MLCT, por lo que algunas veces aparecen como pequeños hombros de las mismas. Son transiciones prohibidas por las reglas de selección (Laporte), ya que se trata de tránsitos de dipolo eléctrico entre estados de idéntica paridad.¹²⁴

Las bandas que aparecen en el visible, con máximos situados en torno a los 400-500 nm y coeficientes de absorción molar del orden de $1 - 4 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, corresponden a transiciones MLCT y son especialmente interesantes, pues reflejan la diferencia de energía entre el HOMO y el LUMO. Su longitud de onda depende, lógicamente, de la situación relativa de los orbitales moleculares involucrados, es decir, de la naturaleza de los ligandos situados en torno al centro metálico. En complejos heterolépticos se observan, a menudo, varias bandas o bandas con hombros, correspondientes a las transiciones a orbitales π^* de los distintos ligandos. Su intensidad se explica por su carácter de transiciones electrónicas por mecanismo de dipolo eléctrico, ya que suponen un considerable aumento del momento dipolar entre los estados involucrados.¹²⁴

En la **figura 12** se presenta el espectro de absorción electrónica del compuesto $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ y una asignación tentativa de sus bandas.^{89,90}

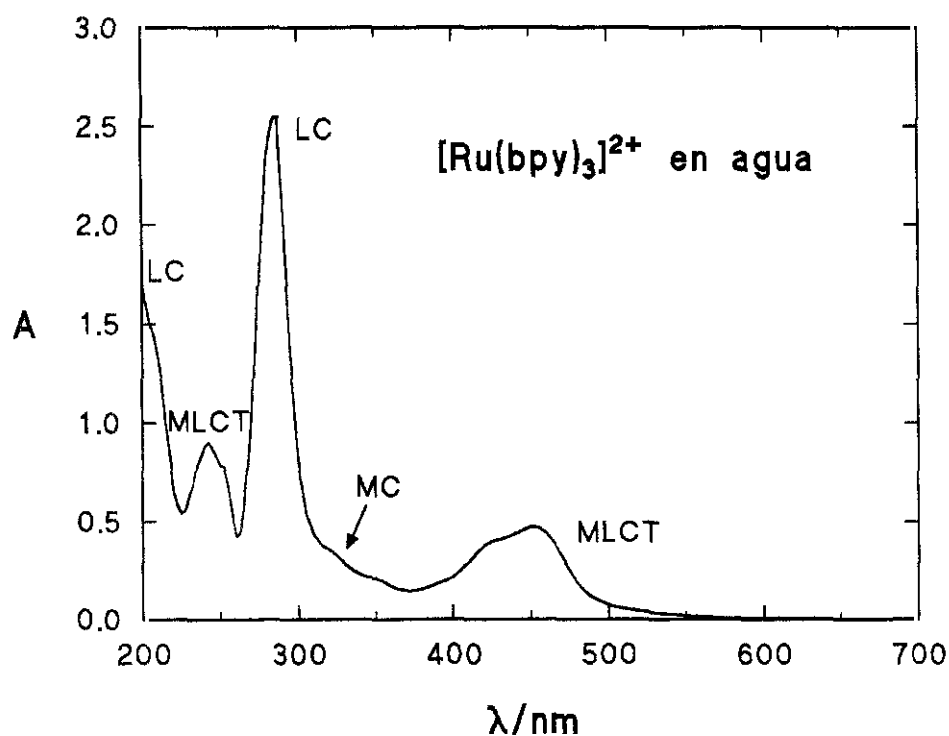


Figura 12. Espectro de absorción UV-VIS del $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ en agua a temperatura ambiente, con asignación de algunas de sus bandas más relevantes.

3.4.2. Espectros de emisión.

Una de las características más interesantes de los complejos de rutenio(II) con ligandos (poli)azaheterocíclicos quelatantes es la intensa luminiscencia que presentan, en general, sus disoluciones al ser irradiadas en la región 190-550 nm. Casi todos los compuestos de este tipo emiten (en especial a 77 K), aunque con muy variable intensidad, longitud de onda y tiempo de vida del estado excitado.

De acuerdo con lo que predice la *regla de Kasha*,⁵⁰ la excitación de estos complejos de Ru(II) en cualquiera de sus longitudes de onda de absorción da lugar a una única banda de emisión de luminiscencia (aunque a veces con cierta estructura vibracional), cuyo máximo se localiza normalmente entre los 580 y 750 nm. La transición electrónica radiativa se produce, por tanto, entre el HOMO y el LUMO de la molécula, es decir, refleja una transición entre el estado electrónico excitado MLCT y el estado

fundamental S_0 . Debido al intenso acoplamiento espín-órbita que provoca la existencia del átomo de rutenio, los estados excitados de tales complejos no son ni tripletes ni singletes puros; no obstante, a menudo se considera, como formalismo de utilidad, la existencia de un estado 1MLCT , que se produce inicialmente tras la transición electrónica desde el estado fundamental singlete, y otro 3MLCT ,[§] accesible desde el anterior por un proceso de **cruce entre sistemas** (designado como ISC, del inglés "Inter-System Crossing"). La luminiscencia procede de la desactivación de éste último. Sin embargo, los tiempos de vida del estado excitado observados (muy variables, pero casi siempre comprendidos en el rango de 0.1 a 4 microsegundos a temperatura ambiente)⁸⁹ se oponen a la hipótesis de una fosforescencia pura, aunque, al mismo tiempo, son excesivamente largos para un proceso típico de emisión de fluorescencia. Lo único que podemos asegurar es que se trata de una transición electrónica desde el orbital π^* de menor energía de los ligandos hasta uno de tipo t_{2g} del metal.⁹⁰

Muy a menudo, se ha considerado que el proceso de cruce entre sistemas desde el estado 1MLCT al 3MLCT en los tris-quelatos de Ru(II) con ligandos (poli)azaheterocíclicos quelatantes transcurre con rendimiento cuántico unidad, como ocurre, por ejemplo en el $[Ru(bpy)_3]^{2+}$.¹²⁶ Sin embargo, se ha comprobado que depende grandemente de la estructura del ligando, especialmente en el caso de los complejos con ligandos de 5 miembros.¹²⁷

Para un mismo centro metálico, la longitud de onda del máximo de emisión depende fundamentalmente de la naturaleza de los ligandos y, concretamente, se puede racionalizar en función de su carácter σ -dador y π -aceptor puesto que, como se discutió en el apartado anterior (3.4.1), son éstos los factores que determinan la posición de los orbitales π^* y t_{2g} . No obstante, la predicción de la posición que ocupará la banda de emisión es difícil pues, cuando el ligando considerado posee anillos aromáticos diferentes, se produce una combinación de sus orbitales π^* , lo cual, en general, rebaja la energía del LUMO. La complejidad se acentúa cuando se trata de compuestos de coordinación heterolépticos, aunque la transición

[§] En realidad, se ha demostrado que el estado excitado 3MLCT es un conjunto de tres niveles energéticos muy próximos (prácticamente degenerados e igualmente poblados) y un cuarto estado 3MLCT separado de los tres anteriores (en el caso del $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ dicha separación se ha estimado en unos 800 cm^{-1}), por lo que en la bibliografía se habla frecuentemente del "conjunto de estados 3MLCT " (" 3MLCT manifold").¹²⁵ Nuestra discusión posterior considera el conjunto de tres estados 3MLCT de menor energía como un único estado (es decir, como si fuesen totalmente degenerados).

que da lugar a la emisión es siempre la que se produce desde el orbital π^* de menor energía.

Los rendimientos cuánticos de emisión (Φ_{em}) varían mucho,⁸⁹ aunque están lejos de los altos valores típicos, por ejemplo, de los procesos fluorescentes de las moléculas orgánicas aromáticas polinucleares con anillos condensados o conjugados. Su valor se suele situar entre 0.001 y 0.3 en disolución a temperatura ambiente, aunque existen excepciones tanto en un sentido como en otro; así, hay complejos que no emiten en absoluto, como aquéllos que poseen quelatos con anillos de oxazol o imidazol,¹¹⁴ y otros que lo hacen con rendimientos cuánticos considerables, como el tris[4,7-di(4-bromofenil)-1,10-fenantrolina]rutenio(II), que en MeOH/EtOH arroja un valor de 0.403 a temperatura ambiente.¹²⁸

Además de la emisión de luz, el estado excitado 3MLCT puede desactivarse mediante una vía no radiativa, consistente en una conversión interna seguida de relajación vibracional. En ésta última, juegan un papel fundamental los osciladores O-H del disolvente (en agua y alcoholes), ya que su energía coincide con la separación entre los niveles vibracionales del estado fundamental del complejo de Ru(II). Ésta es la principal causa de que numerosos compuestos de este tipo presenten mayores tiempos de vida del estado excitado emisivo en D_2O (en lugar de H_2O) o en disolventes polares no próticos (acetonitrilo, dimetilsulfóxido, etc.).¹²⁹ Otro proceso competitivo mediante el cual puede despoblarse el estado 3MLCT es la promoción térmicamente inducida hasta el segundo estado electrónico excitado, el 3MC (ver apartado 3.2 de esta sección de antecedentes); este último no se desactiva de forma emisiva, sino que puede hacerlo por dos vías competitivas: una eficaz pérdida no radiativa de energía para volver al estado fundamental S_0 , y un proceso químico por el cual se producen reacciones de fotosustitución de ligando, pues la configuración electrónica del estado 3MC ($t_{2g}^5 e_g^*1$) supone la entrada de un electrón en un orbital antienlazante del metal, lo que conlleva una inestabilización de los enlaces de coordinación rutenio-ligando. En la **figura 13** se han representado todos los procesos fotofísicos y fotoquímicos descritos anteriormente.

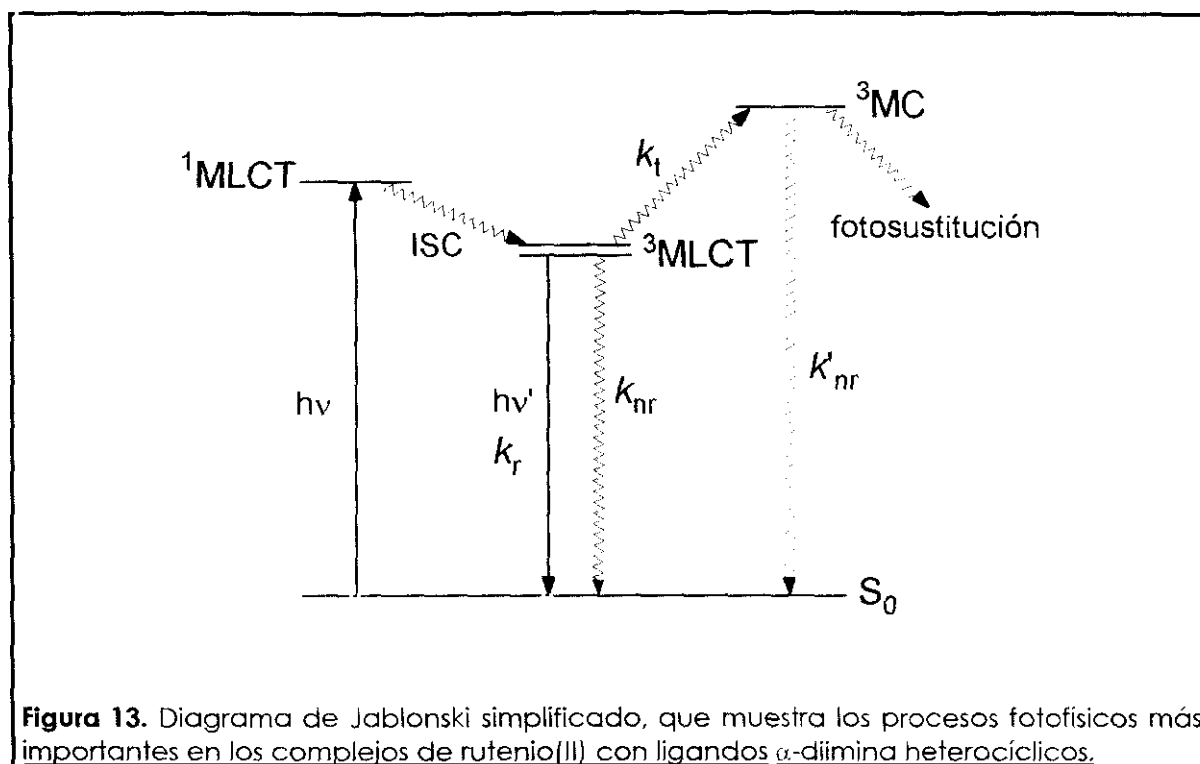


Figura 13. Diagrama de Jablonski simplificado, que muestra los procesos fotoquímicos más importantes en los complejos de rutenio(II) con ligandos α -diimina heterocíclicos.

Como predice la llamada **ley del espaciado energético** (*energy gap law*), la importancia relativa del proceso de desactivación no radiativa frente al proceso de emisión de un fotón es tanto mayor cuanto menor sea la separación energética entre los estados inicial y final.⁵⁰ Esto justifica la observación de que cuanto más hacia el rojo se produce la emisión, menores son su rendimiento cuántico y su tiempo de vida, a igualdad de otros factores.

En cuanto al otro proceso competitivo (promoción térmica irreversible o reversible al estado ³MC), su contribución es tanto más importante cuanto más accesible sea el estado ³MC desde el ³MLCT, es decir, cuanto menor sea la diferencia entre los contenidos energéticos de los estados electrónicos involucrados en la transición electrónica. Por tanto, los factores principales que determinan la importancia relativa de esta vía de evolución del estado excitado en complejos de Ru(II) son: a) la fuerza del campo del ligando (promedio en el caso de complejos heterolépticos), parámetro del que depende la situación energética del estado ³MC, y b) la naturaleza de los ligandos coordinantes, pues ya vimos que de ella depende la energía del estado ³MLCT (apartado 3.2).

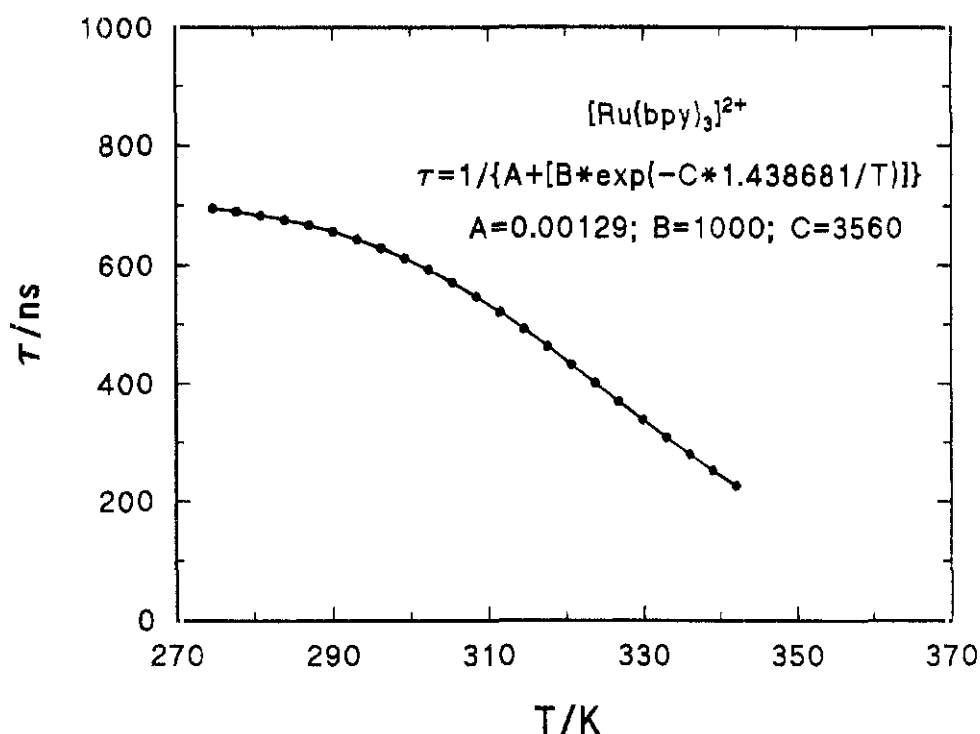


Figura 14. Representación gráfica de la variación del tiempo de vida del estado excitado del complejo [Ru(bpy)₃]²⁺ con la temperatura.¹³¹

El esquema de estados electrónicos y sus contenidos energéticos de la **figura 13** se ha comprobado, y algunos de los procesos fotofísicos involucrados se han evaluado asimismo para algunos compuestos, mediante el estudio de la variación de su tiempo de vida del estado excitado (τ) con la temperatura (T). En efecto, la representación gráfica de τ frente a T da lugar a una serie de puntos experimentales que responden a una dependencia como la que expresa la **ecuación 7:89**

$$\tau = 1 / \left\{ k_r + k_{nr} + \left[B e^{(-\Delta E_0/RT)} \right] \right\} \quad (7)$$

siendo k_r y k_{nr} las constantes de velocidad de los procesos de desactivación radiativa y no radiativa, respectivamente, ΔE_0 la diferencia energética entre

los estados ^3MC y $^3\text{MLCT}$ § y **B** el factor preexponencial de tipo Arrhenius. El ajuste de los puntos experimentales a la función expresada por la ecuación 7 permite calcular la eficiencia del proceso de población térmica del estado $d \rightarrow d^*$, a partir del estado emisor,¹³⁰ así como la constante de velocidad del proceso no radiativo de desactivación.⁹¹ En la figura 14 se representa la curva de variación del tiempo de vida de emisión en función de la temperatura para el complejo $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$.

La mayoría de las aplicaciones (especialmente analíticas) que hacen útiles a los complejos de Ru(II) con ligandos quelatantes de tipo (poli)azaheterocíclico se basan en las propiedades luminiscentes de estos compuestos, por lo que, en general, el diseño molecular debe intentar optimizar la estructura para conseguir que sean fotoquímicamente estables, que emitan lo más intensamente posible y con altos tiempos de vida.¹³² Las condiciones que, desde el punto de vista fotofísico, deben reunir tales moléculas se pueden resumir en los siguientes puntos:

- a) El estado excitado que produce la emisión ($^3\text{MLCT}$) no debe tener un contenido energético demasiado bajo, para minimizar la importancia del proceso competitivo de desactivación no radiativa (k_{nr}).
- b) Al mismo tiempo, la energía del estado $^3\text{MLCT}$ no debe ser demasiado alta, por dos razones: en primer lugar, desde el punto de vista práctico es mucho más conveniente que la absorción y la emisión se produzcan a longitudes de onda lo mayores posible, pues ésto permite emplear fuentes de radiación económicas (como diodos emisores de luz o lámparas de tungsteno) y sistemas de conducción de la misma más baratos (fibras ópticas de vidrio o plástico, por ejemplo); por otra parte, un elevado contenido energético del estado $^3\text{MLCT}$ aumenta la probabilidad de desactivación por promoción térmica al estado ^3MC no emisor, lo cual provoca, además, fotoinestabilidad del compuesto.
- c) El estado ^3MC debe estar situado tan lejos como sea posible del estado $^3\text{MLCT}$, con el fin de reducir al máximo la desactivación de la emisión y la posibilidad de reacciones de fotosustitución de ligandos, lo que supone en la práctica quelatar el metal de transición con ligandos heterocíclicos de campo fuerte.

§ Ésto sólo es estrictamente cierto si existe un auténtico equilibrio entre ambos estados excitados. Si el proceso de promoción térmicamente activada al ^3MC es de naturaleza irreversible, ΔE_0 representaría la energía de activación del mismo.¹³⁰ Ambas situaciones se han documentado para compuestos de coordinación de Ru(II) con ligandos poliazaheterocíclicos.

Como vemos, la distribución energética de los niveles y estados electrónicos de estos indicadores luminiscentes debe hacer frente a una compleja situación de compromiso entre varios factores. A estos requerimientos electrónicos habría que añadir, entre otros, los requisitos de sensibilidad, facilidad de inmovilización y/o potencial rédox que demanda su utilización analítica en cada caso particular.

3.4.3. Desactivación bimolecular de la luminiscencia.

En el apartado anterior nos hemos referido a los mecanismos unimoleculares de desactivación de la luminiscencia de los compuestos de coordinación que centran nuestro interés. En presencia de un desactivador ("quencher") de estados excitados adecuado surge un nuevo proceso competitivo, bimolecular en este caso, que requiere la reacción entre el complejo fotoactivado y la molécula desactivadora. Son muy numerosas las sustancias orgánicas e inorgánicas que pueden desempeñar este papel; Hoffman et al.⁹³ han revisado el tema de manera muy amplia. Dado que nuestro interés se centra en la preparación y caracterización de indicadores para oxígeno y pH/CO₂, analizaremos a continuación por separado las características relativas a los procesos de desactivación de los complejos luminiscentes por acción del oxígeno molecular y de los ácidos de Brønsted, pues siguen mecanismos completamente diferentes.

3.4.3.1. Desactivación por oxígeno.

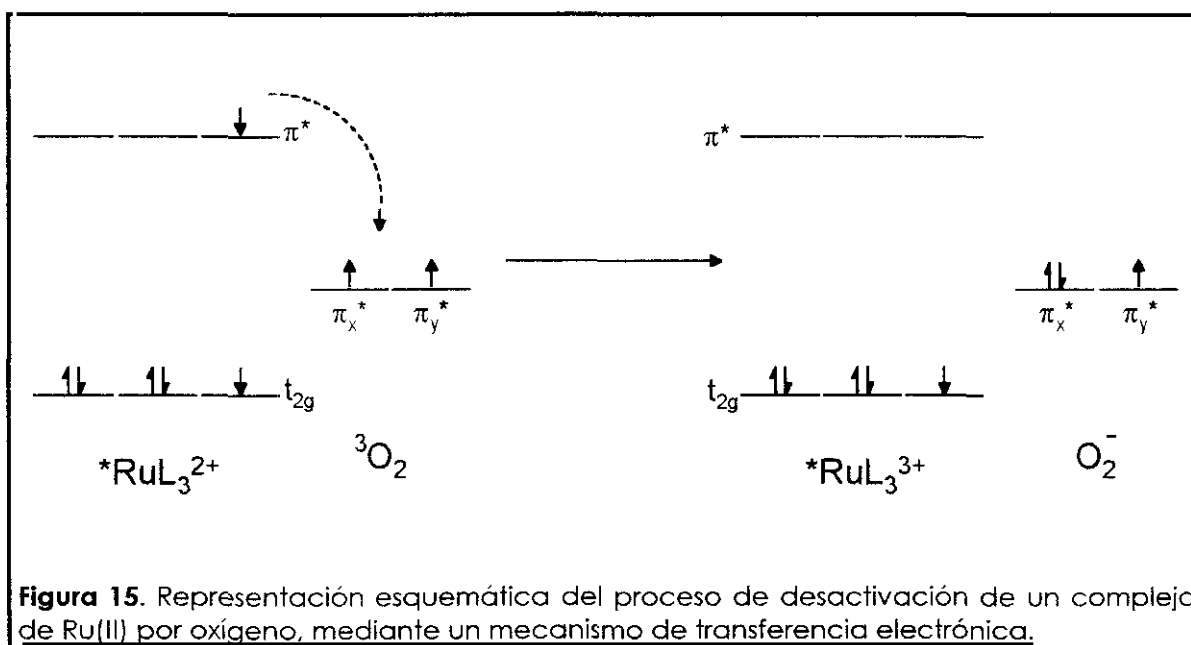
En la **sección 2.4** de esta parte de **antecedentes** aludíamos a la naturaleza dinámica del proceso de desactivación de estados excitados luminiscentes por parte de la molécula de oxígeno. Es bien conocida la capacidad desactivadora de este compuesto, debida, fundamentalmente, al carácter triplete de su estado electrónico fundamental.⁸⁹

En general, los procesos de desactivación bimolecular de estados excitados electrónicamente se pueden clasificar en dos grupos:[§] procesos de transferencia electrónica y procesos de transferencia de energía.¹²²

1. El mecanismo de **transferencia electrónica** consiste en el salto de un electrón desde el HOMO del estado excitado de la molécula fotoactivada

[§] Los procesos de transferencia de protón se discutirán en el **apartado 3.4.3.2**.

hasta el oxígeno, por lo que se trata de un proceso redox, cuyo resultado es la oxidación del complejo (dipositivo en el caso del Ru(II) con ligandos neutros) a su estado III, en tanto que el oxígeno se transforma en anión superóxido (O_2^-) (figura 15).



2. El proceso de **transferencia de energía** supone la cesión del excedente energético de la molécula de complejo en su estado excitado a la de oxígeno en el fundamental, de modo que se puede generar oxígeno en su primer estado excitado singlete (1O_2 ($^1\Delta_g$)) como resultado de dicho proceso. La transferencia de energía se puede producir por dos mecanismos diferentes:¹³³

- **Intercambio electrónico.** Supone la cesión mutua de un electrón por parte de los dos reactivos. El complejo excitado cede un electrón desde su HOMO al oxígeno y recibe en su LUMO otro de éste último, quedando en su estado fundamental, mientras que el oxígeno pasa a su primer estado excitado singlete (figura 16). Este mecanismo requiere el solapamiento orbital (y, por tanto, la colisión) entre ambos reactivos, por lo que se ha denominado "mecanismo de corta distancia".
- **Mecanismo dipolo-dipolo o culómbico.** Se produce una interacción de tipo dipolar de largo alcance entre los reactivos, que causa perturbaciones en las nubes electrónicas de ambos, de modo que la

oscilación del dipolo correspondiente a la transición electrónica en la molécula excitada del complejo metálico induce una oscilación en la molécula de ${}^3\text{O}_2$, que resulta excitada.

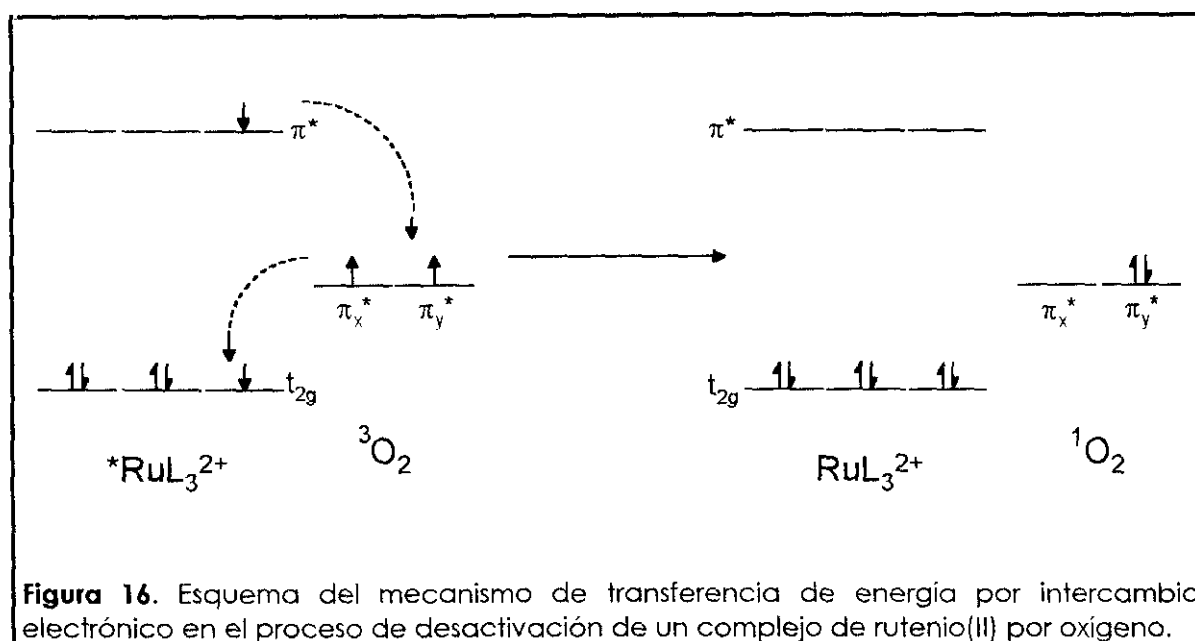


Figura 16. Esquema del mecanismo de transferencia de energía por intercambio electrónico en el proceso de desactivación de un complejo de rutenio(II) por oxígeno.

En el caso de los procesos de desactivación de muchos complejos de Ru(II) con ligandos azaheterocíclicos, se ha comprobado la formación de ${}^1\text{O}_2$ con buena o excelente eficiencia,^{62a} lo que hace pensar en el predominio de los procesos de transferencia de energía.^{62b} No obstante, se ha demostrado ampliamente la existencia de transferencia electrónica oxidativa o reductiva con otros desactivadores distintos del oxígeno,^{93,134} lo que hace que no se pueda descartar totalmente la intervención de este mecanismo, excepto en la desactivación de complejos con elevado poder oxidante en su estado excitado ${}^3\text{MLCT}$ (como el complejo homoléptico con 2,2'-bipirazina). En cuanto al mecanismo del proceso de desactivación por transferencia de energía, se ha comprobado en algún caso la formación de especies intermedias de tipo $[\text{RuL}_3]^{3+}$, lo que apoya que se trate de un doble intercambio electrónico.¹³⁵

Debido a la naturaleza dinámica del proceso, la desactivación por oxígeno de los complejos de Ru(II) en disolución homogénea sigue la ecuación de Stern-Volmer,¹³⁶ tal y como se comentó en el apartado 2.4 de esta parte de antecedentes de la presente memoria.

3.4.3.2. Propiedades ácido-base y desactivación por transferencia protónica.

Las propiedades ácido-base de algunos compuestos de coordinación de rutenio(II) con ligandos (poli)azaheterocíclicos quelatantes se deben exclusivamente a la naturaleza de los ligandos (intrínseca o por los sustituyentes que posean), actuando el centro metálico únicamente como modificador de las mismas. En virtud del enlace σ con el centro metálico y del carácter catiónico de éste, si los ligandos no poseen centros ácidos o básicos, el comportamiento de los complejos es independiente de la concentración de iones H_3O^+ en el medio. Dado que la distribución electrónica de la molécula en el estado excitado es muy diferente a la del estado fundamental, es de esperar que el comportamiento de ambas especies frente al pH sea también muy distinto.

La primera observación de reacciones ácido-base en el estado excitado de un complejo de coordinación de Ru(II) se debe probablemente a Peterson y Demas,¹³⁷ concretamente en el dicianobis(2,2'-bipiridina)rutenio(II). Dichos autores observaron que la protonación en el estado excitado de uno de los ligandos CN o de ambos producía una pérdida total de la emisión de luminiscencia. Posteriormente, los mismos autores concluyeron que, en las formas protonadas del compuesto, se producía una inversión de la situación relativa de los dos primeros estados excitados MLCT y $\pi \rightarrow \pi^*$, éste último no luminiscente.¹³⁸ Un ejemplo de comportamiento similar lo constituye la desactivación bimolecular por transferencia de protones de la luminiscencia del complejo bis(2,2'-bipiridina)acua(2,2'-bipiridina)iridio(III) (uno de los bpy actúa como ligando monodentado),¹³⁹ que experimenta un equilibrio ácido-base en su estado excitado.

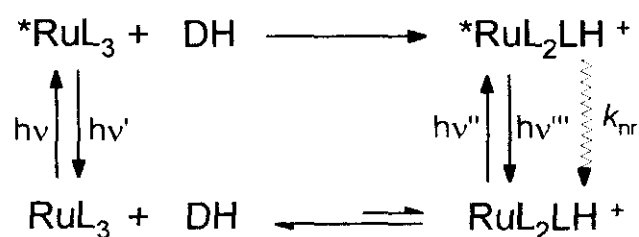
El caso más estudiado es el que se produce cuando el compuesto de coordinación posee ligandos con algún átomo o grupo de carácter ácido o básico. No siempre una disminución en el pH de la disolución provoca una desactivación de la luminiscencia. Por ejemplo, en los complejos de Ru(II) que contienen el quelato 4,7-dihidroxi-1,10-fenantrolina¹⁴⁰ o 4-hidroxi-1,10-fenantrolina,¹⁴¹ la forma ácida emite con mayor intensidad que su base conjugada.

Lo más común, sin embargo, es que la protonación del estado excitado dé lugar a una especie que no emite o lo hace muy débilmente. Éste es el caso cuando el centro protonable se encuentra en una posición que puede afectar a la energía de los orbitales moleculares de interés fotofísico.

En efecto, la incorporación de un protón produce una disminución de la densidad electrónica del ligando, lo que rebaja su capacidad σ -dadora. Ésto se refleja en un incremento del contenido energético de los orbitales t_{2g} del metal, al mismo tiempo que se rebaja la energía de los orbitales π^* del ligando. Ambos efectos sumados son responsables de una disminución de la energía de la transición $\pi^* \rightarrow d$, como se demuestra en el hecho experimental de que las especies protonadas emiten a longitudes de onda superiores a los 700 nm, así como en su corto tiempo de vida.^{46a}

Otro efecto paralelo es la exaltación de la basicidad de los átomos de nitrógeno heterocíclicos no involucrados en enlaces de coordinación con el centro metálico, al producirse la promoción electrónica desde el estado fundamental al $^3\text{MLCT}$ por la fotoexcitación. Este hecho se puede explicar por el exceso de carga negativa que adquiere la periferia del complejo y, más concretamente, el ligando cuyo orbital π^* posee menor energía, que acoge el electrón en el estado excitado de transferencia de carga metal-ligando. Un ejemplo típico del comportamiento al que nos referimos lo aportan los compuestos con 2,2'-bipirazina, como el $[\text{Ru}(\text{bpz})_3]^{2+}$.^{142,143} Otros complejos de Ru(II) cuyo comportamiento ácido-base en el estado excitado de menor energía se ha estudiado también, son los que incorporan ligandos como el ácido 2,2'-bipiridina-4,4'-dicarboxílico,^{144,145} la 2,3-bis(2-piridil)pirazina,¹⁴⁶ el 1,4,5,8-tetraazafenantreno¹⁴⁷ y el 3-(2-piridil)-1,2,4-triazol.¹⁴⁸

La mayoría de los autores de este tipo de estudios^{142,145,147-149} concuerdan al postular la no existencia de equilibrio en el estado excitado de los complejos, como se muestra en el **esquema 8**. La mayor basicidad en el estado excitado y la rápida desactivación (radiativa o no) de su forma protonada son las causas de dicha irreversibilidad.



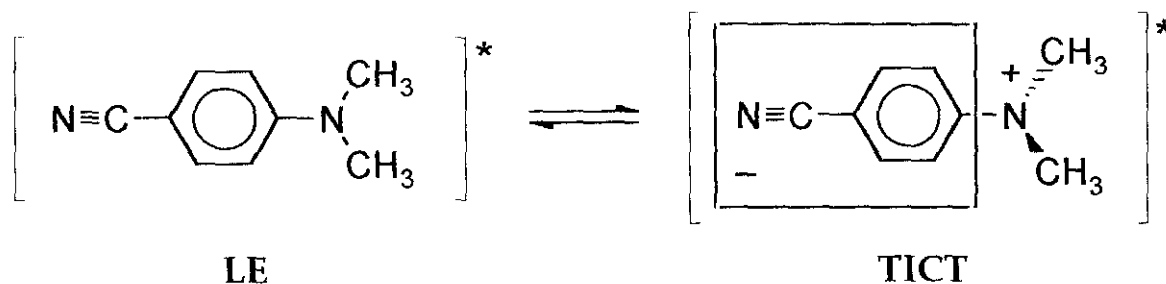
Esquema 8

4. SONDAS FLUORESCENTES BASADAS EN ESTADOS EXCITADOS ROTADOS DE TRANSFERENCIA DE CARGA INTRAMOLECULAR (TICT).

4.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS ESTADOS TICT.

En 1955, Lippert observó que los espectros de emisión de las disoluciones de *p*-dimetilaminobenzonitrilo (DMABN) en disolventes polares presentaban dos bandas distintas: una situada alrededor de los 360 nm y otra con máximo en torno a los 450-500 nm, según el disolvente.¹⁵⁰ Las disoluciones en disolventes apolares, por el contrario, daban lugar a una única banda cuya longitud de onda correspondía a la de la más cercana al ultravioleta de las dos anteriores. Para explicar este fenómeno de emisión dual, su descubridor postuló la formación en medios polares de dos estados excitados: uno escasamente polar, responsable de la fluorescencia a menor longitud de onda, y otro mucho más polar, que sólo se forma apreciablemente en disolventes que lo estabilicen mediante una buena solvatación, cuya banda de emisión se encuentra desplazada batocrómicamente con respecto a la anterior. De acuerdo con esta teoría, ambos estados excitados no diferirían apreciablemente en su estructura electrónica ni en su geometría.

La explicación hoy admitida para el fenómeno de emisión dual en el DMABN y multitud de compuestos relacionados se debe a Grabowski et al.,¹⁵¹ que introdujeron el concepto de *transferencia de carga intramolecular acompañada de giro* (fenómeno que se suele describir mediante el acrónimo TICT, del inglés "Twisted Intramolecular Charge Transfer"). Esta racionalización supone que la molécula de DMABN, al absorber un fotón, forma, en primera instancia, un estado excitado de geometría y características electrónicas muy similares a las del estado fundamental, que se suele describir como *excitado localmente* o LE (del inglés "Locally Excited"). En disolventes polares se produce intramolecularmente, tras la excitación local, la transferencia de un electrón desde el grupo amino (parte dadora de la molécula) al grupo benzonitrilo (parte aceptora) y, simultáneamente, tiene lugar un giro de 90° en torno al enlace que une ambos grupos, de manera que quedan dispuestos perpendicularmente, tal como se muestra en el **esquema 9**.

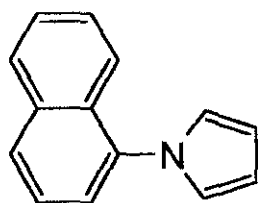
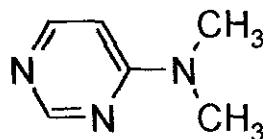
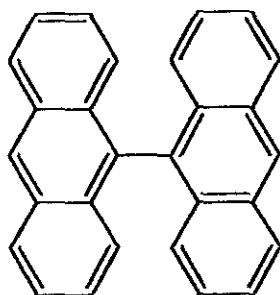
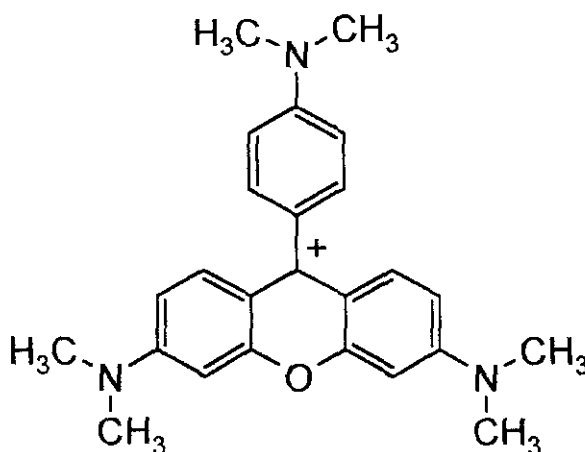


Esquema 9

En medios polares, ambos estados excitados coexisten y se encuentran en equilibrio, por lo que se observa la emisión desde los dos (aunque con distinta intensidad). En disolventes apolares, en cambio, no resulta favorecida la separación de cargas propia del estado TICT y sólo se detecta fluorescencia proveniente del estado excitado menos polar (LE).

Debido a la perpendicularidad entre los grupos dador y aceptor en el estado TICT, los orbitales de ambos grupos quedan dispuestos ortogonalmente, lo que hace que la transferencia de carga sea prácticamente total. Ésto explica el elevado valor del momento dipolar de la molécula en dicho estado, que se ha estimado en 16 D para el DMABN, frente a los 6 D del estado excitado LE.¹⁵² Mediante cálculos mecanocuánticos, se ha determinado que la cantidad de carga transferida es del orden de 0.8 veces la del electrón.¹⁵³

El modelo del estado TICT está hoy unánimemente aceptado y se ha descrito en multitud de moléculas con una notable variedad estructural.¹⁵⁴ La única condición que parece ser necesaria para la formación de estados excitados de este tipo es la existencia en la molécula de una zona capaz de aceptar un electrón y otra capaz de cederlo, unidas a través de un enlace que pueda girar libremente. También es necesaria la existencia de uno o varios anillos aromáticos, que proporcionen la conjugación necesaria para que tenga lugar la transferencia de carga intramolecular. Algunas de las muchas estructuras para las que se ha descrito la formación de estados TICT corresponden a los compuestos I, II, III y IV. Obsérvese que ni siquiera es necesaria la presencia de grupos de carácter específicamente electrodonador o electroaceptor, como demuestra la observación de fluorescencia desde un estado TICT en la molécula III.

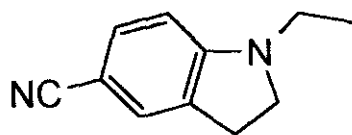
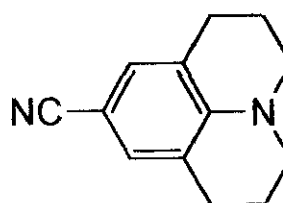
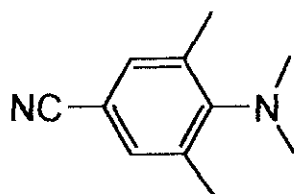
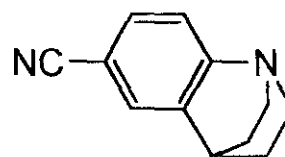
IIIIIIIV

Además del elevado momento dipolar, existen otras observaciones experimentales que prueban la existencia de estados excitados de tipo TICT. Así, en las disoluciones de DMABN en disolventes polares, el análisis de los espectros de absorción de los estados excitados formados en la escala de tiempos de los picosegundos después del pulso láser ("picosecond transient absorption") muestra la existencia de una especie excitada del tipo del anión cianobenceno.¹⁵⁵

También se ha predicho mediante cálculos mecanocuánticos el giro de la molécula hasta la geometría perpendicular en el estado TICT.¹⁵⁶ Existen pruebas experimentales de esta ortogonalidad entre los grupos dador y aceptor de la molécula. Así, no se ha detectado emisión dual en análogos del DMABN planos con rigidez estructural, como los compuestos V y VI, en los que la formación de ciclos condensados en las posiciones *orto* del anillo bencénico impide el giro alrededor del enlace C-N en cuestión. Estos compuestos poseen un espectro de absorción electrónica prácticamente igual al del DMABN y, sin embargo, dan una única banda de emisión,

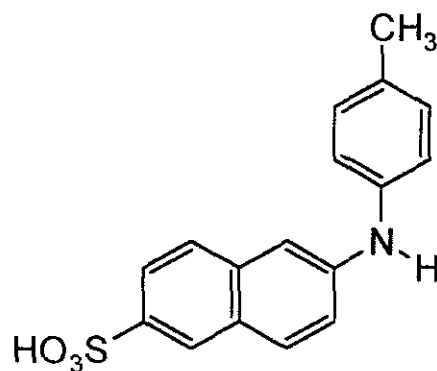
incluso en disolventes polares, que aparece a una longitud de onda que corresponde a la de un estado excitado LE.^{152a}

Por el contrario, si existen sustituyentes voluminosos en posición *orto* del anillo bencénico que favorezcan la perpendicularidad por impedimento estérico, el compuesto presenta emisión TICT incluso en medios apolares. El espectro de fluorescencia del compuesto **VII** muestra emisión dual incluso en fase gaseosa.¹⁵⁷ De modo análogo, el compuesto **VIII**, que posee una estructura rígida en la que los grupos dador y aceptor se disponen perpendicularmente, muestra exclusivamente emisión de tipo TICT en todos los disolventes estudiados, sean polares o no.¹⁵⁸

**V****VI****VII****VIII**

La medida de la velocidad de desaparición de la emisión de la forma no polar en disolventes polares, o bien la de la aparición de la fluorescencia de la forma TICT, permiten determinar el tiempo de formación de éste último.¹⁵⁹ Se ha estudiado la variación de este parámetro con la viscosidad del disolvente en moléculas cuyo grupo rotor es voluminoso, como el ácido 6-[N-(4-metilfenil)amino]-2-naftalenosulfónico, **IX**; los resultados muestran en este caso que el estado TICT tarda más tiempo en formarse en medios de mayor viscosidad, que ofrecen más resistencia, por fricción, al giro.¹⁶⁰ Ésta

observación constituye una prueba más de la naturaleza no plana del estado TICT.



IX

La perpendicularidad de las subunidades o grupos en el estado TICT impide el solapamiento entre los orbitales π de las partes dadora y aceptora de la molécula, lo que hace que la transición electrónica que produce la vuelta al estado fundamental esté prohibida por las reglas de simetría, pues requiere el intercambio electrónico entre los orbitales de ambos grupos.¹⁶¹ Por esta causa, los estados excitados de este tipo suelen ser poco luminiscentes y, en ocasiones, no emiten en absoluto. No obstante, en muchos casos, ocurre que el estado TICT se acopla vibracionalmente con otros estados excitados de mayor energía de la molécula, que dan lugar a transiciones permitidas, lo que hace que la emisión resultante sea algo más intensa, aunque siempre inferior a la de la forma LE.

4.2. DISEÑO Y APLICACIONES DE INDICADORES FLUORESCENTES BASADOS EN ESTADOS TICT.

El rasgo estructural y funcional más importante que caracteriza a las moléculas que poseen estados excitados de tipo TICT es la existencia de una parte capaz de ceder un electrón a otra parte susceptible de aceptarlo. Aunque no es estrictamente necesario (en el apartado anterior apuntábamos que ciertas moléculas poliaromáticas no sustituidas presentan emisión TICT), lo más frecuente es que esta característica se consiga mediante la existencia en la molécula de un grupo electroatractor y/o un grupo fuertemente electrodonador.

Una manera de estimar la capacidad de ceder electrones de una molécula es su potencial de ionización (PI), en tanto que la afinidad electrónica (AE) refleja su capacidad para captarlos. De acuerdo con esto, la energía del estado TICT de una molécula se puede estimar mediante la **ecuación 8**:¹⁶¹

$$E_{(\text{TICT})} = \text{PI}_{(\text{dador})} - \text{AE}_{(\text{aceptor})} + C + \Delta E_{\text{solv}} \quad (8)$$

siendo C el factor de corrección por la estabilización del estado TICT debida a la interacción coulombica de tipo atractivo entre las zonas aniónica y catiónica de la molécula, y ΔE_{solv} la energía de estabilización de dicho estado por solvatación con las moléculas del disolvente. Para que el estado TICT se forme es necesario que su contenido energético sea inferior al del estado excitado LE plano. Ésto se conseguirá si el potencial de ionización es bajo y la afinidad electrónica es elevada. Una manera de lograr este requisito es mediante un grupo electroatractor y otro electrodonador dispuestos de manera conveniente en la molécula.

Por otro lado, es sabido que la existencia de sendos grupos dador y atractor de electrones situados en los extremos opuestos de una cadena de anillos aromáticos conjugados conduce a compuestos con elevados rendimientos cuánticos de fluorescencia (ver **apartado 5.1** de esta parte de **antecedentes**). Por tanto, a la hora de diseñar indicadores luminiscentes basados en la formación de estados excitados de tipo TICT es ésta una disposición muy conveniente.

Un aspecto de gran importancia en el diseño de moléculas luminiscentes basadas en estados de tipo TICT, es el efecto que tiene sobre ellas el cambio en la polaridad del medio.¹⁶² Así, el rendimiento cuántico de emisión del DMABN en disolventes apolares ($\Phi_{em} = 0.2$ en ciclohexano o benceno) decrece en un orden de magnitud en disoluciones alcohólicas ($\Phi_{em} = 0.01$ en 1,2-propanodiol) y más de cien veces en agua ($\Phi_{em} = 0.001$).¹⁶³ No obstante, no es éste un aspecto conectado exclusivamente con la existencia del estado TICT, como demuestra el hecho de que en las disoluciones del compuesto **V**, cuya emisión no puede provenir de un estado TICT, pues no es posible el giro, se observe un efecto similar de la polaridad.¹⁶⁴ Al mismo tiempo, existen moléculas en las que sí se ha demostrado la producción de estados excitados de tipo TICT, cuya luminiscencia, sin embargo, no se desactiva al aumentar la polaridad del disolvente (como el compuesto **III**).¹⁶⁵ Parece necesaria la presencia de ciertos grupos en la estructura de la molécula, como el amino, para que se observe este efecto, que, además, no actúa exclusivamente sobre la emisión TICT, sino también sobre la procedente del estado LE, dado que éste también posee cierta polaridad.

La disminución de la intensidad de fluorescencia observada al aumentar la polaridad del disolvente se puede atribuir, por tanto, a dos factores:

- Al ser más polar el medio, el equilibrio "estado LE/estado TICT" estará más desplazado hacia éste último, que suele ser menos fluorescente.
- La desactivación comentada sólo se observa en moléculas que disponen de grupos que pueden intervenir en otros procesos de desactivación, probablemente a través de un mecanismo no radiativo de pérdida de energía vibracional, favorecido por el acoplamiento con los osciladores O-H de disolventes hidroxílicos, con los que dichos grupos se pueden asociar fuertemente mediante enlaces de hidrógeno.

En las mezclas de disolventes polares y apolares, el efecto es similar: al aumentar la proporción de aquéllos, se produce una disminución de la intensidad de fluorescencia.¹⁶⁶

Precisamente, la fuerte dependencia de la emisión de la mayoría de los compuestos que forman estados TICT con las características del medio en que las moléculas se encuentran es la base de sus aplicaciones más importantes.¹⁶¹ Por ejemplo, el compuesto **IX** y otros de estructura similar se han empleado como sondas para medir la polaridad de microambientes

en medios biológicos.¹⁶⁷ También se ha aprovechado la dependencia antes apuntada con la viscosidad del medio para estudiar la rigidez de polímeros,¹⁶⁸ cristales líquidos¹⁶⁹ y superficies de vidrios.¹⁷⁰ Hasta donde llega nuestro conocimiento, no se han descrito sensores de fibra óptica que utilicen esta propiedad para la determinación de ningún parámetro químico o físico, a pesar de que sus propiedades les otorgan un enorme potencial en este campo.

5. FOTOFÍSICA DE 1,3-OXAZOLES Y 1,3-TIAZOLES ARILSUSTITUIDOS.

5.1. PROPIEDADES FOTOFÍSICAS DE LOS 1,3-OXAZOLES Y 1,3-TIAZOLES ARILSUSTITUIDOS.

Los 1,3-oxazoles y 1,3-tiazoles poliarilsustituidos se encuentran entre los compuestos orgánicos fluorescentes más típicos y con mayor número de aplicaciones, dado que cumplen con el rasgo estructural de poseer un sistema conjugado extendido de anillos aromáticos, prácticamente imprescindible entre las moléculas orgánicas muy fluorescentes.^{171,172} En general, el aumento del número de anillos o dobles enlaces conjugados en el sistema π de una molécula orgánica luminiscente, suele traducirse en un incremento del rendimiento cuántico de emisión, así como un desplazamiento batocrómico de los máximos de absorción y luminiscencia.¹⁷¹ Otros factores que afectan positivamente a la fluorescencia de las moléculas orgánicas son el aumento de la rigidez conformacional (que disminuye las pérdidas de energía vibracional y, consiguientemente, la eficiencia del proceso de desactivación no radiativa), la planaridad del sistema π conjugado (lo que otorga gran importancia a los efectos estéricos)¹⁷³ y la existencia de sustituyentes en la molécula, especialmente los de carácter fuertemente electroatractor y electrodonador.¹⁷⁴ En este apartado veremos de qué manera influyen todos estos factores sobre las propiedades fotofísicas y fotoquímicas del tipo de compuestos que nos ocupa.

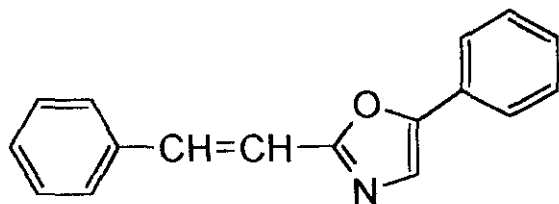
Los heterociclos de 5 y 6 eslabones sin sustituyentes aromáticos no son fluorescentes.¹⁷¹ Por ejemplo, el furano, el tiofeno y el 1,3-oxazol no emiten, pero sus derivados 2,5-difenilsustituidos son intensamente luminiscentes. Al igual que ocurre con los demás compuestos orgánicos, la adición de nuevas unidades aromáticas, en posiciones conjugadas, produce un incremento en la intensidad de emisión y un desplazamiento hacia el rojo de sus máximos. Un ejemplo lo constituyen los 2,5-diariloxazoles recogidos en la **tabla IV**.

No obstante, a partir de un cierto número de anillos aromáticos, la adición sucesiva de otros nuevos no sólo no eleva el rendimiento cuántico de emisión, sino que llega a provocar un efecto hipofluórico.

Tabla IV. Parámetros de emisión de algunos 2,5-diariloxazoles en tolueno.¹⁷¹

Compuesto	λ_{em}^{max}/nm	Φ_{em}
2,5-difeniloxazol	365	0.50
2-(4-bifenilil)-5-feniloxazol	390	0.60
2,5-di(4-bifenilil)oxazol	410	0.70

Otros sustituyentes con sistemas π conjugados con el heterociclo, como dobles enlaces, tienen el mismo efecto que los anillos aromáticos. Por ejemplo, la introducción de un grupo vinilo intermedio en el 2,5-difeniloxazol produce un desplazamiento bato e hiperfluórico, pues contribuye a extender la conjugación.



$$\lambda_{em} = 405, \quad \Phi_{em} = 0.88$$

La sustitución con grupos funcionales sobre los anillos bencénicos, tanto si son atractores como dadores de electrones, desplaza hacia el rojo las bandas de absorción y emisión y, en la mayoría de los casos, produce un incremento del rendimiento cuántico de fluorescencia. El efecto es especialmente importante cuando los sustituyentes se encuentran en posición *para* de los anillos fenilo situados en posiciones 2- ó en 5- del anillo de azol.¹⁷¹ Un ejemplo ilustrativo se muestra en los oxazoles de la **tabla V**: la sustitución por grupos amino o difluormetanosulfonilo incrementa los valores de λ_{abs} , λ_{em} y Φ_{em} en relación al compuesto sin sustituir.

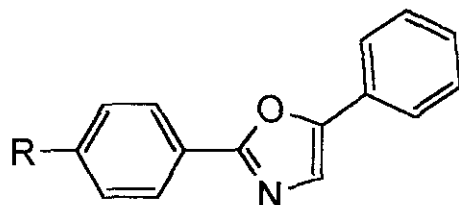


Tabla V. Parámetros de absorción y emisión de algunos diariloxazoles sustituidos.

R	$\lambda_{\text{abs}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)	$\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}/\text{nm}$	Φ_{em}
H ^a	303 (34000)	365	0.50
NH ₂ ^a	330 (37000)	392	0.57
SO ₂ CHF ₂ ^b	c	404	0.78

a) Ref. 175.

b) Ref. 176.

c) No se dispone del dato.

El efecto de los sustituyentes disminuye a medida que la cadena de anillos aromáticos adquiere mayor longitud.¹⁷⁷

Se ha comprobado que, en los 2,5-diaril-1,3-azoles, la influencia de la sustitución sobre las características de la fluorescencia es muy parecida, tanto si ésta se produce en el anillo bencénico situado en posición 2- como en 5-. Este hecho se refleja en los datos experimentales recogidos en la **tabla VI**, que también sirven para ilustrar sobre todo lo expuesto hasta este punto acerca del efecto de los grupos funcionales.

En lugar de grupos electroattractores como sustituyentes de un anillo bencénico, pueden emplearse heterociclos deficientes en electrones, como la piridina, los cuales, en términos cualitativos, producen el mismo efecto.^{179,180}

También se ha demostrado que la presencia de sustituyentes en la posición 4- del anillo de azol trae consigo un aumento de la intensidad de la emisión de fluorescencia de los 2,5-diaril-1,3-azoles, siempre que su volumen no cause un gran impedimento estérico que dificulte la planaridad de la molécula. Precisamente, este efecto se ha atribuido a la presencia del grupo situado en 4-, que dificulta la rotación del anillo aromático que se

encuentra en posición 5-, forzando de este modo una mayor planaridad de éste con el resto de la molécula.¹⁸¹

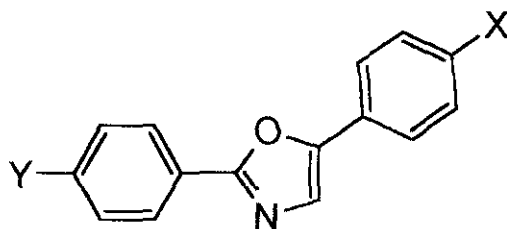


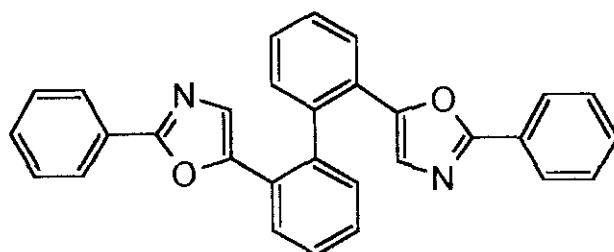
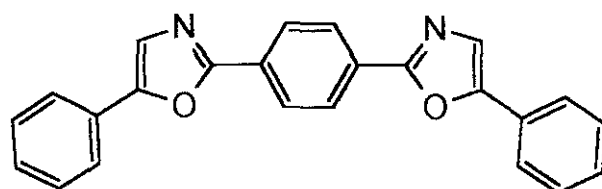
Tabla VI. Datos de absorción y emisión de algunos oxazoles 2,5-diarilsustituídos en tolueno a temperatura ambiente.¹⁷⁸

X	Y	$\lambda_{\text{abs}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)	$\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}/\text{nm}$	Φ_{em}
H	H	307 (25800)	365	0.50
H	CH ₃	310 (21000)	366	0.52
CH ₃	H	312 (23400)	372	0.56
H	NH ₂	330 (37000)	392	0.57
NH ₂	H	330 (29200)	402	0.56
H	Br	315 (30600)	382	0.54
Br	H	315 (31200)	372	0.48
H	CHO	345 (38000)	376	0.62
CHO	H	340 (24800)	388	0.54

El efecto batocrómico, batofluórico e hiperfluórico es especialmente marcado cuando se dispone un grupo electroattractor en un extremo del sistema de anillos y otro electrodonador en el extremo opuesto. La acción concertada de ambos fomenta la movilidad de las nubes electrónicas y la conjugación del sistema π .¹⁸² Por otra parte, esta acción conjunta de los sustituyentes aumenta el carácter dipolar del estado excitado de la molécula, lo que causa una gran dependencia del espectro de emisión con la polaridad del disolvente. Por ejemplo, el máximo de fluorescencia del 2-(4-

difluormetanosulfofenil)-5-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)oxazol puede variar entre 480 y 665 nm en función del disolvente en el que se registra el espectro.¹⁸³

Además de los efectos electrónicos discutidos anteriormente, también son muy importantes los efectos de tipo estérico, pues pueden dificultar, e incluso llegar a impedir, la conjugación. Así, si registramos un espectro de absorción del compuesto X, éste resulta ser idéntico al que muestra el 2,5-difeniloxazol a la mitad de concentración. Sin embargo, el espectro de emisión de ambos es claramente distinto (el máximo de fluorescencia del compuesto citado en primer lugar se sitúa a 399 nm, frente a los 365 nm del segundo compuesto, **tabla VI**). Estos resultados indican claramente la existencia de cierta conjugación entre las dos mitades en que podemos dividir la molécula dimérica, pero mucho menos importante de lo que cabría esperar por el doble número de anillos conjugados que posee. Por ejemplo, el compuesto **POPOP**, que posee un anillo aromático menos, es un compuesto más fluorescente y la longitud de onda de su máximo de emisión llega hasta los 421 nm, lo que es indicativo de su mayor conjugación π . Este hecho es fácil de comprender si consideramos que la proximidad de los dos anillos de oxazol en la primera molécula debe producir un importante impedimento estérico entre ellos, disminuyendo la planaridad del sistema π resultante.

X

POPOP

La fluorescencia de los azoles arilsustituídos involucra orbitales π y π^* , por lo que el aumento de la polaridad del disolvente produce un desplazamiento batocrómico de la banda de emisión.¹⁷¹

En cuanto al tiempo de vida del estado excitado de estos compuestos, Birch et al.¹⁸⁴ han comprobado que la emisión del 2,5-difeniloxazol decae con arreglo a una curva monoexponencial en disoluciones diluidas, mientras que a concentraciones elevadas (0.1 M en etanol) se obtienen perfiles multiexponenciales, lo que se ha atribuido a la formación de excímeros.

5.2. APLICACIONES.

La intensa fluorescencia que exhiben la mayoría de los 1,3-oxazoles y 1,3-tiazoles (poli)arilsustituídos, los convierte en compuestos de gran utilidad para muy diversos tipos de aplicaciones en las que se busca una gran sensibilidad o emisión de fotones. Además, la gran deslocalización electrónica existente en estas moléculas les proporciona una fotoestabilidad considerable. Los prototipos de compuestos de este tipo, y los más empleados con fines prácticos son, en primer lugar, el 2,5-difeniloxazol (**PPO**), seguido en importancia por el 2,5-di(4-bifenilil)oxazol (**BPO**) y el **POPOP**.

Los compuestos que nos ocupan se han incorporado con gran profusión en **contadores de centelleo**,¹⁸⁵ tanto en forma cristalina,¹⁸⁶ como en disolución líquida,¹⁸⁷ y también en polímeros y materiales plásticos.¹⁸⁸ En general, son útiles para esta aplicación todas las sustancias que emiten luz cuando son expuestas a radiaciones ionizantes; la interacción de sus moléculas con partículas radiactivas provoca la excitación de aquéllas, que se desactivan por emisión de luminiscencia en forma de destello.¹⁸⁹ La detección y medida de radiación mediante contadores de centelleo es muy importante en áreas como la investigación nuclear y espacial, prospecciones geológicas, biología, medicina y otros muchos campos científicos y tecnológicos.

Los 2,5-diaril-1,3-azoles (fundamentalmente **PPO** y **BPO**) son útiles, sobre todo, en la detección de neutrones y partículas β de baja energía, tanto rápidas como lentas. También se emplean en la determinación de la vida

media de partículas inestables, en la medición de radiación procedente de isótopos de vida corta y en la detección de partículas α , iones pesados y radiaciones γ y X .

Por lo general, en los contadores de centelleo que utilizan los compuestos que nos ocupan, se suele añadir una sustancia que actúa como aceptor en un proceso de transferencia de energía desde el azol. De esta manera, no se recoge la luminiscencia de éste sino la del aditivo, que se produce a mayor longitud de onda. Con ello, la señal se acerca a la zona más sensible de los fotomultiplicadores empleados en el sistema de detección.

Otra aplicación práctica de los compuestos de nuestro interés es la **dosimetría de radiaciones ionizantes** producidas en aceleradores de partículas, reactores nucleares y emisores de rayos γ .¹⁹⁰

De importancia paralela a la aplicación en contadores de centelleo, es la utilización de estas sustancias como **colorantes para láseres**,¹⁹¹ debido a sus altos rendimientos cuánticos de fluorescencia y a su considerable fotoestabilidad, que permite su irradiación con luz intensa durante prolongados periodos de tiempo. Los compuestos más empleados han sido 2,5-diariloxazoles¹⁷⁹ y 2-(4-piridil)-5-ariloxazoles.^{179,192} Otra característica muy interesante para esta aplicación es la posibilidad de variar la longitud de onda de emisión en función de la sustitución. Dado que estos compuestos emiten tanto en estado sólido como en disolución, se han podido emplear en ambas fases.¹⁹³

Aunque en menor extensión, los 2,5-diaril-1,3-azoles se han empleado también como "**abrillantadores**" ópticos.¹⁹⁴ Este tipo de sustancias se utilizan como aditivos de detergentes para productos textiles, que se añaden con el fin de aumentar la blancura después del lavado. Para ello, se emplean sustancias que absorben en el UV cercano y fluorescen en el violeta, azul o azul-verdoso. La emisión se superpone a la luz de color amarillento reflejada por la ropa, lo que produce un efecto visual de mayor blancura.

OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO

1. INTRODUCCIÓN.

El objetivo central de este trabajo ha sido la preparación y caracterización de compuestos orgánicos y metal-orgánicos específicamente diseñados para su empleo como fotosondas luminiscentes en sensores químicos de fibra óptica. La consecución de este objetivo conlleva realizar tres tareas básicas:

- a) el **diseño** de moléculas cuya estructura les confiera la capacidad de variar uno o varios de sus parámetros fotoquímicos en función de la concentración de un analito presente en el medio donde se realizará la medida,
- b) la **síntesis** de dichas moléculas y
- c) su **caracterización**, tanto desde el punto de vista puramente **estructural**, utilizando para ello las técnicas de análisis orgánico e inorgánico, como, de cara a su utilización final, desde el ángulo **fotofísico y fotoquímico**.

En esta parte se intenta racionalizar el proceso seguido para la **elección de las estructuras** concretas, siempre en función de las propiedades deseables, y se presentan las **estrategias sintéticas** que se han seguido. La descripción detallada de éstas, así como la de caracterización de los **intermedios de síntesis** y los **productos finales**, corresponde a otros apartados de esta Memoria.

2. SENSORES DE CO₂ Y pH.

2.1. SELECCIÓN DE ESTRUCTURAS.

Nuestro punto de partida es el compuesto $[\text{Ru}(\text{pzth})_3]^{2+}$. Como hemos señalado en la parte de **antecedentes (apartado 2.3)**, este complejo permitió a nuestro grupo de investigación demostrar un principio fotoquímico inédito en la bibliografía, para la medida óptica de la concentración de CO₂, tanto en muestras gaseosa como líquidas.^{46b,46c} Asimismo, su adaptación a un sensor químico de fibra óptica para este analito también se realizó con éxito,^{46a} mediante la fructífera colaboración que venimos llevando a cabo con el grupo investigador en sensores de fibra óptica del Departamento de Química Analítica de la U.C.M. Nuestro objetivo es, por tanto, preparar compuestos luminiscentes que, por una parte, mejoren las propiedades ácido-base y fotoquímicas que hacen útil a este complejo y que, por otra parte, puedan anclarse a un soporte sólido mediante enlace covalente; ésto último no sólo aumentaría su estabilidad e inercia frente a agentes externos, sino que, además, permitiría su empleo como sensores de pH.

Las características de estos compuestos de coordinación con Ru(II) para la monitorización óptica de analitos son, en síntesis, las siguientes:

- Absorción y emisión en el visible, lo que permite emplear fuentes de radiación, guías de luz y detectores más asequibles.
- Gran desplazamiento de Stokes, que permite un fácil aislamiento de la luz de excitación y de emisión.
- Tiempos de vida elevados, en comparación con los indicadores fluorescentes típicos, lo que otorga mayor sensibilidad a los correspondientes dispositivos y permite el empleo de este parámetro como base para la monitorización.
- Considerable estabilidad fotoquímica y total reversibilidad de los procesos químicos involucrados en la detección.
- Posibilidad de diseñar sistemas para su inmovilización covalente en fase sólida, sin modificar sensiblemente las propiedades de medida.

El modo inicial de incorporar el $[\text{Ru}(\text{pzth})_3]^{2+}$ al terminal sensible de fibra óptica en el sensor de dióxido de carbono descrito,^{46a} era reteniéndolo

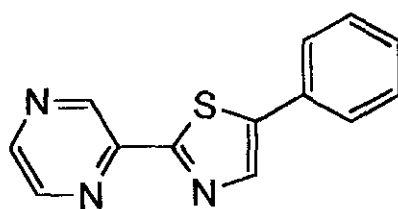
en una resina de intercambio catiónico de tipo *carboximetilsephadex*[®], la cual debe aislarse de la fase de medida mediante una membrana permeable a los gases, pero no al agua ni a las sales. Ésto se debe a dos motivos: en primer lugar, la escasa consistencia del soporte empleado, que no es más que un conglomerado de partículas de la resina hinchadas, hace que no pueda ser expuesto directamente al medio acuoso; en segundo lugar, la propia naturaleza intercambiadora del soporte hace necesario evitar su contacto directo con otros iones en concentraciones moderadamente altas, entre ellos el H_3O^+ . Éstos podrían desplazar a las moléculas de sonda inmovilizadas, lo que ocasionaría un lavado progresivo del terminal sensible, que resultaría especialmente significativo al tratar de medir CO_2 en disoluciones de fuerza iónica elevada.

Según ésto, se planteó en primer lugar la posibilidad de anclar covalentemente el complejo luminiscente a diversos tipos de soportes sólidos sin modificar las bases estructurales de sus propiedades fotoquímicas. Ésto podría resultar de sustituir alguno de los ligandos **pzth** por ligandos **bpy** con grupos funcionales adecuados para el anclaje. Existe en la literatura una gran variedad de métodos que permiten la síntesis de derivados de bipyridina^{195,196} con grupos tales como halógenos,¹⁹⁷ ácidos carboxílicos¹⁹⁸ y sulfónicos,¹⁹⁹ formilo,²⁰⁰ amino,²⁰⁰ hidroxilo,²⁰¹ etc., por lo que la solución, en principio, podría resultar factible.

Con el fin de estudiar el efecto que tendría la inclusión de ligandos **bpy** en la esfera de coordinación del centro metálico sobre las propiedades del complejo resultante, se llevó a cabo la síntesis del quelato heteroléptico **bis(2,2'-bipyridina)[2-(2-pirazinil)tiazol]rutenio(II)**, $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pzth})]^{2+}$. Si bien se comprobó que las propiedades ácido-base del nuevo compuesto se debían exclusivamente a la presencia de un átomo de N básico no involucrado en la esfera de coordinación del átomo central en el anillo de pirazina del ligando **pzth**, la drástica disminución de la capacidad emisora que causó la sustitución de dos ligandos **pzth** por **bpy** desaconsejó la idea de usar éste último ligando. No obstante, para conocer las causas de este comportamiento, se llevó a cabo la síntesis del otro complejo heteroléptico de la serie $[\text{Ru}(\text{bpy})_n(\text{pzth})_{3-n}]^{2+}$ ($n = 0-3$), el **(2,2'-bipyridina)bis[2-(2-pirazinil)tiazol]rutenio(II)**, $[\text{Ru}(\text{bpy})(\text{pzth})_2]^{2+}$, no descrito tampoco anteriormente en la literatura.

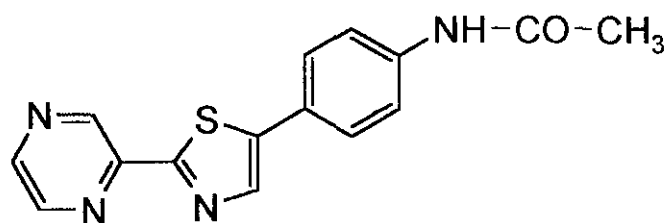
Se propuso como alternativa la unión covalente al soporte sólido por un ligando **pzth**. Para aislar en lo posible el punto de anclaje de la parte

coordinativa de la molécula, se planteó como objetivo la síntesis del nuevo ligando **5-fenil-2-(2-pirazinil)tiazol (ppzth)**; la funcionalización del anillo de fenilo con un grupo que permita una unión covalente a un soporte sólido de características adecuadas a la utilidad del sensor permitiría tal aislamiento. El ppzth ha sido empleado en la síntesis de los compuestos **tris[5-fenil-2-(2-pirazinil)tiazol]rutenio(II)**, $[\text{Ru}(\text{ppzth})_3]^{2+}$, y **bis(2,2'-bipiridina)[5-fenil-2-(2-pirazinil)tiazol]rutenio(II)**, $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ppzth})]^{2+}$, con el fin de conocer las características que, como ligando, imparte a los complejos resultantes.



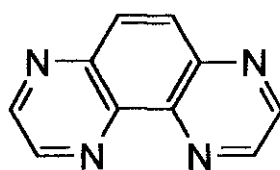
ppzth

Para resolver el problema de la inmovilización por enlace covalente es necesario funcionalizar el ligando ppzth de manera adecuada. Una posibilidad muy prometedora sería la introducción de un *grupo acrilamido* unido al fenilo del ligando e incorporar el compuesto resultante a la esfera de coordinación del átomo de rutenio. Podría construirse así el terminal sensible del dispositivo óptico agregando el complejo resultante como comonomero a un gel de poliacrilamida de características ópticas y químicas adecuadas para un sensor de fibra óptica. Se han descrito profusamente en la bibliografía poliacrilamidas en forma de geles con un alto grado de transparencia y totalmente permeables al agua.²⁰² Así, se sintetizó el compuesto **5-(4-acetamidofenil)-2-(2-pirazinil)tiazol (acppzth)** y su complejo **[5-(4-acetamidofenil)-2-(2-pirazinil)tiazol]bis[2-(2-pirazinil)tiazol]rutenio(II)**, $[\text{Ru}(\text{acppzth})(\text{pzth})_2]^{2+}$, con objeto de estudiar el efecto que ejerce sobre el indicador luminiscente la incorporación de un grupo amido en posición 4- del anillo de fenilo del ppzth.



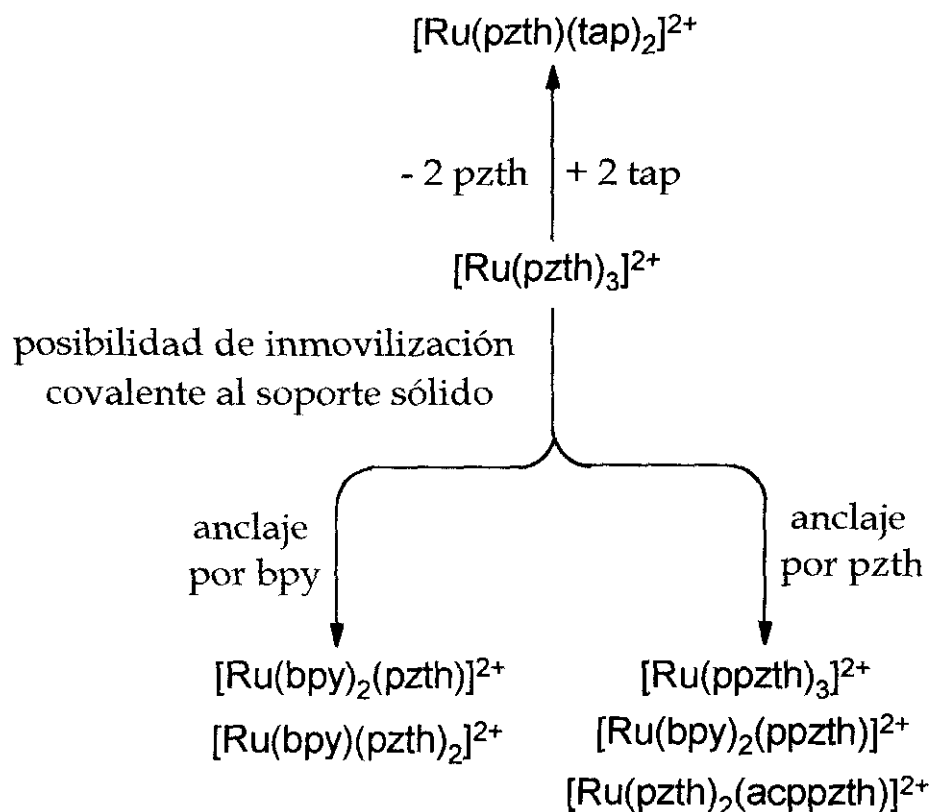
acppzth

Por último, el ligando **1,4,5,8-tetraazafenantreno (tap)** y sus complejos homolépticos de rutenio(II)²⁰³ y heterolépticos con bpy,²⁰⁴ 1,10-fenantrolina (phen),¹³⁰ 1,4,5,8,9,12-hexaazatrifenileno (hat),¹³⁰ etc., han sido objeto de un amplio estudio por parte del grupo de la Prof. A. Kirsch-De Mesmaeker, así como su interacción con el DNA.²⁰⁵ La presencia de centros básicos en los complejos derivados de estos ligandos, así como sus características electrónicas, en cierto modo semejantes a las del pzth, despertaron nuestro interés. Ello nos llevó a la síntesis del complejo **[2-(2-pirazinil)tiazol]bis(1,4,5,8-tetraazafenantreno)rutenio(II)**, $[Ru(pzth)(tap)_2]^{2+}$ y a su evaluación como indicador luminiscente de CO₂ en un sensor de fibra óptica.



tap

En el **esquema 10** se ha representado todo el proceso de selección de estructuras descrito bajo este epígrafe.



Esquema 10

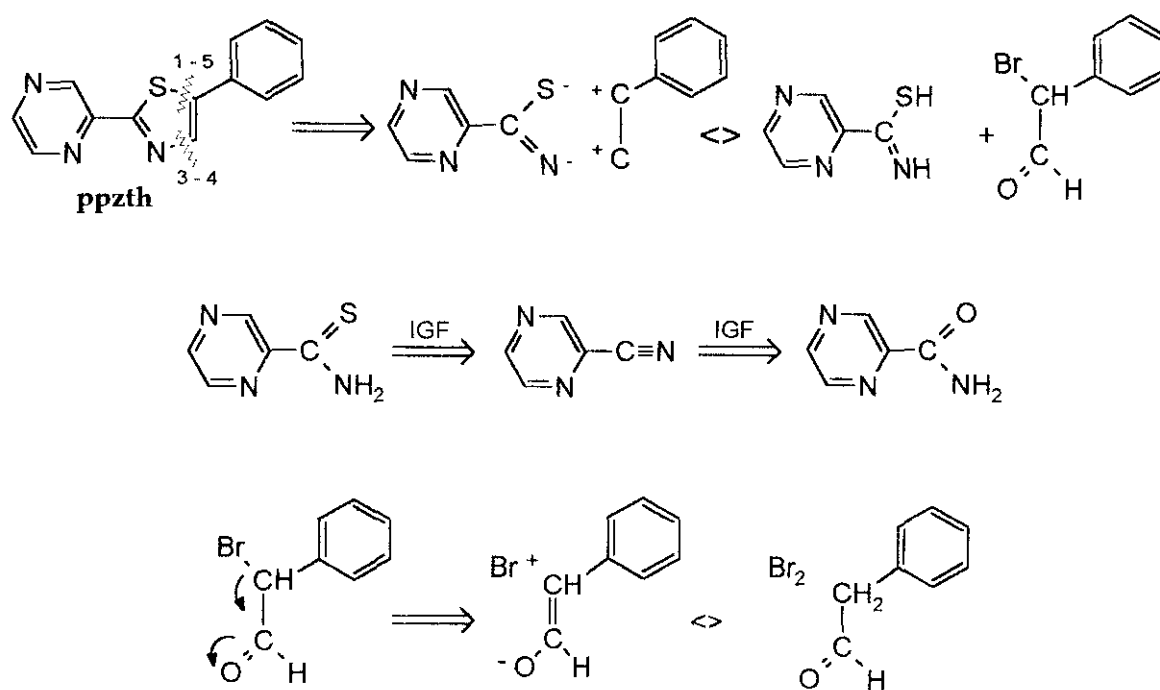
2.2. SÍNTESIS DE LOS LIGANDOS Y COMPLEJOS.

La síntesis de los ligandos **pzth** y **tap** ha sido descrita previamente en la bibliografía. La síntesis del **ppzth** tiene como paso clave la construcción del anillo de tiazol. De la gran variedad de métodos existentes para la creación de este anillo heterocíclico, dos parecen los más adecuados en nuestro caso: la *síntesis de Hantzsch* (esquema 11)²⁰⁶ y la *síntesis de Gabriel* (esquema 12).²⁰⁷

- La estrategia de Hantzsch supone la creación de los enlaces 1-5 y 3-4 del anillo azólico, lo cual conduce a dos sintones bidentados, cuyos equivalentes sintéticos más sencillos son una tioamida y un compuesto carbonílico α -halogenado. En nuestro caso, dichos precursores son la 2-

pirazinacarbotioamida y el 2-bromo-2-fenilacetaldehído. El primer compuesto se puede obtener por transfuncionalización de la correspondiente carboxamida, que es un producto comercial, y el segundo supone la bromación del fenilacetaldehído, también asequible.

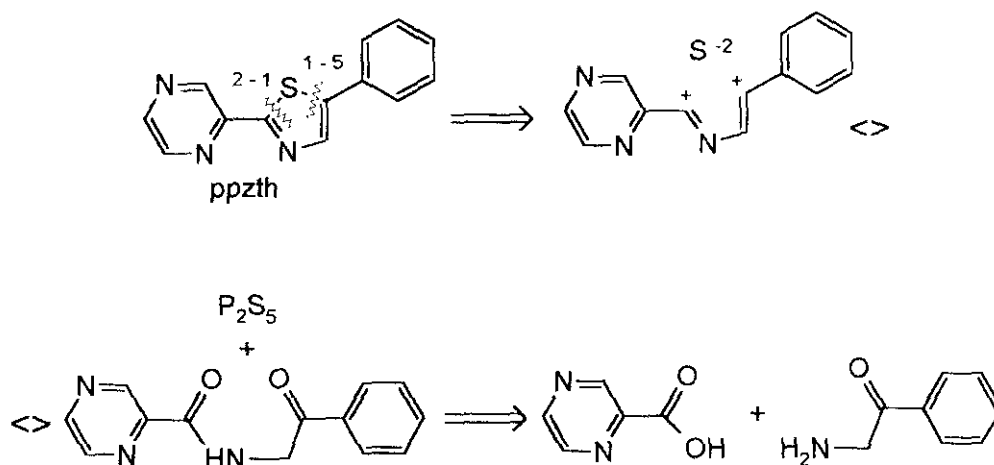
Síntesis de Hantzsch



Esquema 11

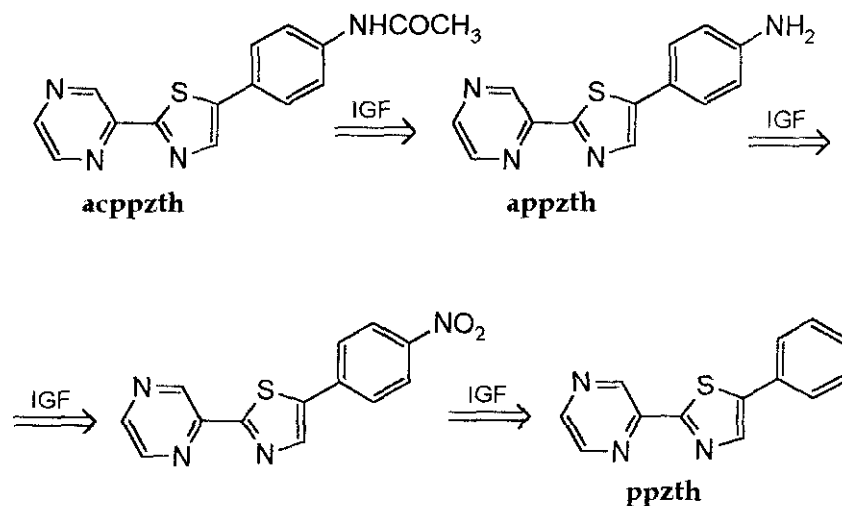
- El análisis retrosintético correspondiente a la síntesis de Gabriel implica la desconexión de los enlaces 1-2 y 1-5 del anillo de tiazol, lo que también conduce, como en el caso anterior, a dos sintones bidentados. La síntesis requiere la reacción de un compuesto α -aminocarbonílico *N*-acilado con pentasulfuro de fósforo. En nuestro caso, es necesario sintetizar previamente la *N*-(2-fenil-2-oxoetil)pirazinacarboxamida, a la que se podría acceder por amidación del ácido 2-pirazinacarboxílico con la 2-aminoacetofenona; ambos compuestos son comerciales.

Síntesis de Gabriel



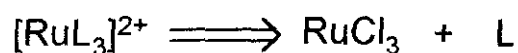
Esquema 12

Una vez construido el ppzth, el ligando **acppzth** se puede obtener por nitración de aquél, seguida de transformaciones de grupos funcionales (esquema 13).

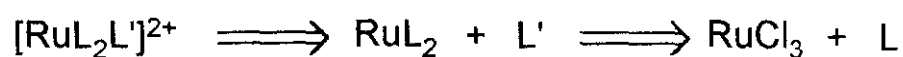


Esquema 13

La preparación de los complejos de rutenio(II) se realiza a partir de una mezcla, en las proporciones adecuadas, de la sal de rutenio y los ligandos. Los homolépticos se obtienen en un solo paso (**esquema 14**); los heterolépticos requieren el aislamiento del bis-complejo intermedio (**esquema 15**).



Esquema 14



Esquema 15

3. SENSORES DE OXÍGENO.

3.1. DISEÑO DE UN COMPLEJO LUMINISCENTE DE Ru(II) CON PROPIEDADES HIDRÓFOBAS.

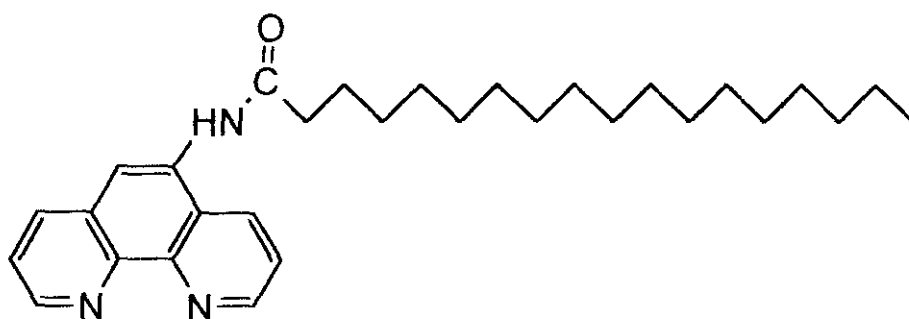
El empleo de complejos de Ru(II) con ligandos heterocíclicos como sondas luminiscentes para la construcción de sensores de fibra óptica para oxígeno se ha extendido en los últimos años (ver apartado 2.4 de la sección de antecedentes). Los más utilizados hasta ahora han sido los compuestos $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ y $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$. Nuestro objetivo en el campo de los sensores ópticos para oxígeno es la preparación de una molécula que, conservando las características electrónicas del complejo de tris-fenantrolina, que son responsables de la sensibilidad de éste frente al analito,⁶⁷ presente una elevada afinidad por medios apolares, es decir, que sea hidrófoba. Este requerimiento persigue, fundamentalmente, dos fines: en primer lugar, posibilitar la disolución de la sonda en medios hidrófobos, tales como siliconas,²⁰⁸ en los que el oxígeno se difunde con facilidad; el segundo objetivo se deriva del anterior: todos los sensores de oxígeno construidos hasta la fecha con complejos de Ru(II), presentan el inconveniente de que la sonda se adsorbe previamente en medios muy inhomogéneos a escala molecular, tales como gel de sílice, vidrio, sol-gel, etc., de manera que la respuesta no es lineal y los calibrados frente al analito resultan curvos.[§] Este inconveniente se solventaría, en principio, si la sonda se disolviera homogéneamente en un medio muy afín por el O₂.

A las características fotofísicas mencionadas en el apartado 2.1 de esta sección de objetivos, con respecto al empleo de los complejos de Ru(II) con ligandos (poli)azaheterocíclicos quelatantes como sondas luminiscentes en sensores de fibra óptica, hay que unir, en el caso de su empleo como indicadores de O₂, la elevada sensibilidad a este analito, debida a la gran eficiencia del proceso de desactivación del estado excitado ³MLCT por la

[§] Ciertos autores afirman "disolver" directamente el indicador luminiscente en el prepolímero de silicona, a su vez disuelto previamente en un hidrocarburo aromático. No obstante, nuestros trabajos²⁰⁹ y los de otro grupo de investigación²¹⁰ son concluyentes: la práctica totalidad de los prepolímeros de silicona comerciales contienen inevitablemente en su composición cantidades variables (incluso, a veces, elevadas) de "polvo de vidrio" de sílice o gel de sílice. En tales condiciones, es inevitable la adsorción inmediata y eficaz de los cationes metal-orgánicos sobre las partículas de "relleno" ("filler" o "carga").

molécula de dioxígeno en su estado fundamental (ver apartado 3.4.3.1 de antecedentes).

La estructura que se plantea como solución es la del ligando 5-octadecanamido-1,10-fenantrolina (**5-odaphen**) y su complejo **tris(5-octadecanamido-1,10-fenantrolina)rutenio(II)**, $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{+2}$, en el cual se ha adicionado al esqueleto base del compuesto **phen** una cadena hidrocarbonada de 18 eslabones.

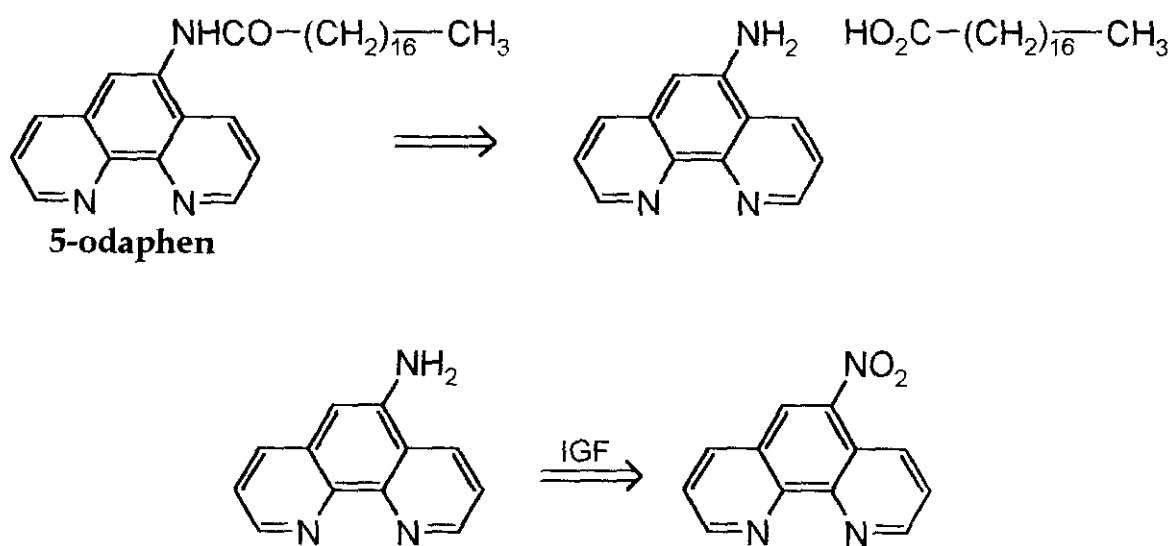


5-odaphen

3.2. SÍNTESIS DEL $[Ru(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$.

El análisis retrosintético del ligando **5-odaphen** implica la formación de una amida entre la 5-amino-1,10-fenantrolina, cuyo precursor comercial es la 5-nitro-1,10-fenantrolina, y el ácido octadecanoico (**esquema 16**).

La síntesis del complejo puede conseguirse, nuevamente, por reacción del ligando con la sal de rutenio adecuada.

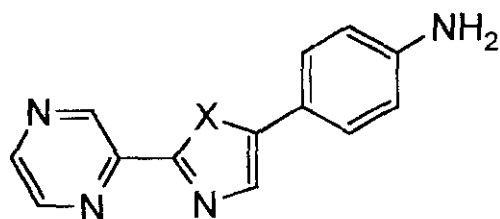


Esquema 16

4. SENSORES DE ALCOHOLES Y AGUA.

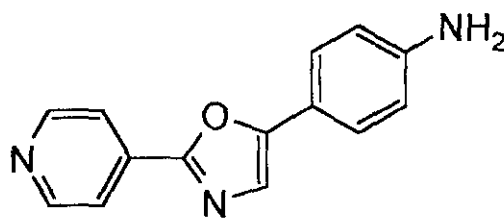
4.1. DISEÑO DE INDICADORES FLUORESCENTES CUYA EMISIÓN SE DESACTIVA POR COMPUESTOS HIDROXÍLICOS.

Como ya apuntamos en el apartado 5.1 de la sección de antecedentes, los 1,3-azoles poliarilsustituídos presentan una elevada luminiscencia situada en la región visible del espectro. Los rendimientos cuánticos de emisión son especialmente altos cuando en los extremos del sistema conjugado de tipo π existen sendos grupos electroattractor y electrodonador. El carácter dipolar de la molécula se exalta al pasar al estado excitado, de modo que los efectos solvatofluóricos son muy importantes: el máximo de emisión se desplazará en disolventes polares y, especialmente, en medios hidroxílicos en los que es posible la formación de enlaces de hidrógeno.



X = S **appzth**

X = O **appzox**



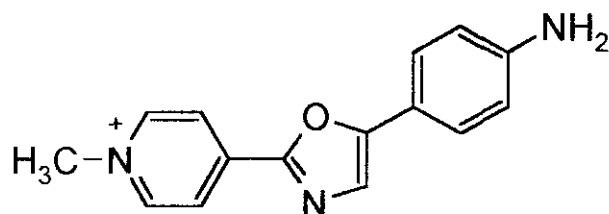
appyox

Esta es la base para el diseño de las moléculas 5-(4-aminofenil)-2-(2-pirazinil)tiazol (**appzth**), 5-(4-aminofenil)-2-(2-pirazinil)oxazol (**appzox**) y 5-(4-aminofenil)-2-(4-piridil)oxazol (**appyox**); todos ellos reúnen unas características apropiadas para nuestros fines:

- **Alta conjugación**, debida a la existencia de varios anillos aromáticos copulados a lo largo de la molécula.

- Presencia de un **grupo electroatractor** (anillo de piridina o pirazina) y otro **grupo electrodonador** (amino), dispuestos en ambos extremos de la estructura aromática básica.
- Existencia de un grupo funcional que puede constituir un **punto de unión covalente** de la molécula a un soporte sólido apropiado para el analito que se desea monitorizar ópticamente y las condiciones de medida. En efecto, el grupo NH₂ presente en todas estas moléculas posee carácter nucleófilo y ello se puede aprovechar para la inmovilización, siempre que se conserven sus propiedades electrodonadoras, debidas al par de electrones no compartidos que soporta el átomo de nitrógeno.

En el caso del compuesto appyox, la inmovilización se puede realizar por cuaternización del átomo de N piridínico; el efecto que esto tendría sobre las propiedades de la sonda se pretende estudiar con el compuesto modelo appmox.



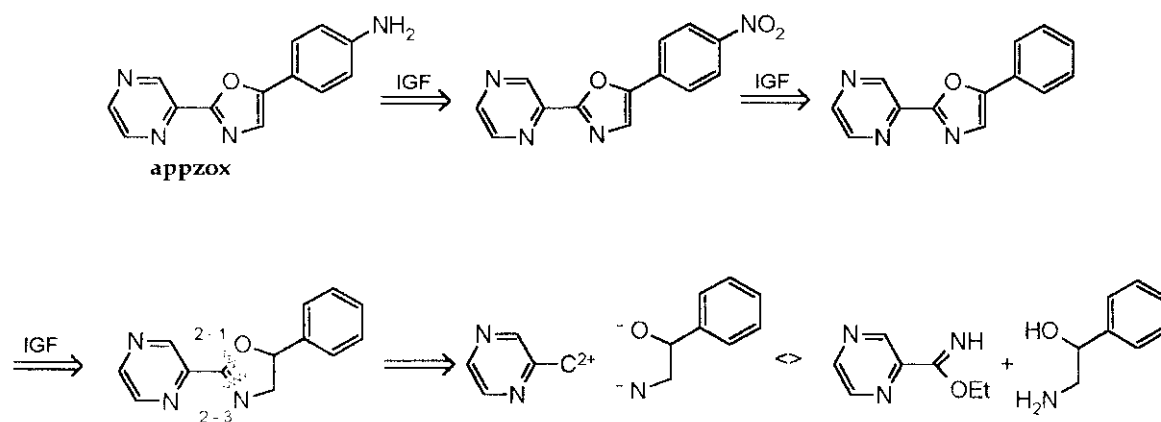
appmox

4.2. PREPARACIÓN DE LOS INDICADORES DE ALCOHOLES Y AGUA

El esquema de síntesis del appzth se ha presentado ya en el apartado 2.2 de este capítulo de objetivos. La síntesis del appzox tiene como etapa clave la construcción del anillo azólico que, entre otros procedimientos para ello, supondría partir de un aminoalcohol (en nuestro caso la 2-fenil-2-hidroxietilamina comercial) y un imidato (el 2-pirazinacarboximidato de

etilo) (**esquema 17**). Esta estrategia se basa en una desconexión de los enlaces 1-2 y 2-3 del anillo de oxazol.²¹¹

La preparación del appyox y del appmox se puede conseguir por nitración del 5-fenil-2-(4-piridil)oxazol comercial, seguida de reducción del grupo nitro y *N*-alquilación del anillo de piridina.



Esquema 17

PARTE EXPERIMENTAL

1. INTRODUCCIÓN.

En esta parte de la Memoria se incluye, en primer lugar, una descripción sucinta de los **materiales y equipos** utilizados para el análisis, la purificación y la caracterización de los compuestos preparados, para pasar a detallar a continuación los **procedimientos de síntesis** utilizados. Se incluye, por último, la descripción de algunos ensayos de **inmovilización** de nuestros indicadores en distintos soportes sólidos, con el fin de llevar a cabo su incorporación a **terminales sensibles** de sensores químicos de fibra óptica.

2. TÉCNICAS DE ANÁLISIS, PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPUESTOS SINTETIZADOS.

2.1. TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS.

Para las **cromatografías en capa fina (CCF)** se han utilizado placas de gel de sílice (Merck 60 F₂₅₄), con espesores de 0.2 mm (analíticas) y 0.5 mm (preparativas).

Las separaciones por **cromatografía rápida en columna** se han llevado a cabo empleando como fase estacionaria gel de sílice Merck 60 (tamaño de partícula: 0.040-0.063 mm).

Los quelato-complejos de rutenio(II) se han purificado por cromatografía en columna, empleando como fase estacionaria **Sephadex®**. En el caso del complejo $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$, se ha hecho uso de Sephadex lipofílico LH-20 (Sigma), que posee un tamaño de poro de 25-100 μm ; para los demás casos, se han empleado geles de dextrano funcionalizado con grupos carboximetilo (CM-Sephadex-C25, Pharmacia) o sulfopropilo (SP-Sephadex-C25, Pharmacia), con una capacidad de intercambio de cationes monovalentes de 4.0-5.0 y 2.0-2.6 mmol g⁻¹, respectivamente, y ambos con un tamaño de poro (en seco) de 40-125 μm .

El intercambio de contraanión en los complejos se ha llevado a cabo por elución a través de una columna de dietilaminoetil (DEAE-A50) Sephadex (Farmacia).

2.2. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN INFRARROJA.

Los espectros infrarrojos (IR) se han registrado en aparatos Perkin-Elmer 761 y Pye Unicam SP3-200. Los espectros de muestras líquidas se han realizado *entre ventanas* de cloruro sódico; los de muestras sólidas, en *pastillas* de bromuro potásico (Merck Uvasol®).

2.3. ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR.

Los espectros de ^1H -RMN a 80 MHz y ^{13}C -RMN a 20 MHz se han registrado en un espectrómetro Varian FT-80, con tiempos de adquisición de 1.023 y 1.638 s, anchuras de pulso de 32 y 10 μs y anchuras espectrales de 800 y 5000 Hz, respectivamente, y, para ^{13}C , 3 s de tiempo de espera entre pulsos.

Los espectros de ^1H -RMN a 300 MHz, ^{13}C -RMN a 75 MHz, 2D-COSY y 2D-HETCOR se han obtenido con un espectrómetro Varian VXR-300S. Para los espectros de ^1H y ^{13}C -RMN los tiempos de adquisición fueron de 3.744 y 0.801 s, las anchuras espectrales de 4000 y 16500 Hz y las anchuras de pulso de 7.0 y 4.0 μs , respectivamente, y, para ^{13}C , el tiempo de espera entre pulsos fue de 1.00 s.

Los espectros de ^1H -RMN a 600 MHz se han registrado en un espectrómetro Varian Unity 600 MHz en la Universidad Libre de Bruselas.

Los disolventes empleados han sido cloroformo-d (Scharlau, SDS o Aldrich; grado de deuteración: +99.8%), diclorometano-d₂ (Scharlau; grado de deuteración: +99.8%), dimetilsulfóxido-d₆ (CenSaclay; grado de deuteración: +99.5%) y acetonitrilo-d₃ (Merck; grado de deuteración: +99%). En todos los casos, la referencia interna ha sido la señal del tetrametilsilano (Scharlau).

2.4. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN UV-VIS.

Los espectros de absorción ultravioleta-visible se han registrado en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Lambda-3, acoplado a una unidad de adquisición y tratamiento de datos Perkin-Elmer 3600. El intervalo de toma de datos fue de 0.5 nm y la velocidad de barrido 60 nm min⁻¹.

2.5. ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN EN ESTADO ESTACIONARIO.

Los espectros de emisión y excitación se registraron con un espectrofluorímetro Perkin-Elmer LS-50, equipado con un fotomultiplicador sensible al rojo Hamamatsu R928 y controlado con un computador IBM PS/2-55SX.

Los rendimientos cuánticos de emisión (Φ_{em}) se han medido a 298 K por comparación con los de un patrón conocido (método de Parker y Rees).²¹² Para ello, se ha empleado la ecuación 9, que tiene en cuenta la corrección por la distinta absorbancia de las disoluciones, así como los índices de refracción de las disoluciones utilizadas (en el caso de utilizar disolventes diferentes para el patrón y la muestra):

$$\Phi_m = \Phi_p \times \frac{A_p}{A_m} \times \frac{S_m}{S_p} \times \left(\frac{\eta_m}{\eta_p} \right)^2 \quad (9)$$

donde Φ_m y Φ_p son, respectivamente, los rendimientos cuánticos de emisión de la muestra y el patrón, A_m y A_p las absorbancias de las disoluciones a la longitud de onda de excitación (que en ningún caso superan el valor de 0.15), S_m y S_p las áreas encerradas bajo las curvas de los espectros de emisión (obtenidas como promedio de, al menos, cinco determinaciones) y η_m y η_p los índices de refracción de las disoluciones utilizadas.

Como patrones se han utilizado los compuestos $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ ($\Phi_{em} = 0.042 \pm 0.002$)^{129,213} y $[\text{Ru}(\text{pzth})_3]^{2+}$ ($\Phi_{em} = 0.0095 \pm 0.0009$),¹¹⁴ ambos en agua, y sulfato de quinina en disolución 1N de ácido sulfúrico ($\Phi_{em} = 0.546$).²¹⁴ La elección del patrón se ha realizado teniendo en cuenta la similitud de su longitud de onda de emisión con la de la muestra problema.

Todas las disoluciones han sido desoxigenadas previamente mediante desplazamiento con una corriente de argón (N 50, SEO-L'Air Liquide) durante, al menos, treinta minutos.

2.6. ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN CON RESOLUCIÓN TEMPORAL.

Los **tiempos de vida** de la emisión de los complejos luminiscentes ($\tau = 1/k$, donde k es la constante de la amortiguación exponencial de la emisión) se han determinado mediante la técnica de *cronometraje de fotón único* (a la que se suele aludir como **SPT**, del inglés "Single Photon Timing" o **TC-SPC**, de "Time-Correlated Single Photon Counting"), empleando un espectrómetro Edinburgh Instruments FL-900, equipado con una lámpara de descarga a baja presión (típicamente 0.3 bar) en N₂ (N 55, SEO-L'Air Liquide) pulsada a 40000 Hz y con una separación entre electrodos de 1.5 mm.[§] Como detector, se emplea un fotomultiplicador Hamamatsu R928 de respuesta extendida (190-850 nm), enfriado con un Peltier a -27 °C. Para las escalas de tiempo largas (> 500 ns de ventana) que, en el caso de los complejos de Ru(II), se hacen imprescindibles, se conectó el equipo a un generador de retrasos externo Ortec 416A. El control del instrumento, la adquisición de datos y su análisis se realizaron con un computador Comelta COP 386SX, empleando el software suministrado por Edinburgh Instruments (versión 3.30). El programa permite la determinación de los tiempos de vida mediante ajuste de los datos experimentales a una curva exponencial (o suma de exponenciales en su caso) utilizando un algoritmo de Marquardt y deconvolución de la respuesta instrumental.

Todas las medidas fueron realizadas a 298.0 ± 0.5 K y con muestras desoxigenadas, mediante desplazamiento con una corriente de argón durante, al menos, treinta minutos.

En todas las determinaciones fotofísicas y fotoquímicas se emplearon disolventes de grado de pureza espectroscópico: *n*-hexano (Merck Uvasol[®]), tolueno (Scharlau, para HPLC), cloruro de metileno (Aldrich, HPLC grade), cloroformo (Scharlau Normasolv[®]), etanol absoluto (Scharlau Spectrosol;

[§] Para la medida de tiempos de vida de fluorescencia se usó, alternativamente, 1 bar de hidrógeno (N 55, SEO-L'Air Liquide) en la lámpara de descarga y una separación de 0.5 mm entre los electrodos para conseguir la mínima anchura de pulso ($W_{1/2} \sim 1$ ns). No obstante, los τ obtenidos en estas condiciones fueron idénticos a los determinados con descarga en nitrógeno.

Merck Uvasol®), metanol (Merck Uvasol®; Aldrich, spectrophotometric grade; Panreac, para espectroscopía UV-IR). Las disoluciones acuosas se prepararon utilizando agua purificada mediante un sistema *Milli-Q* (Millipore).

2.7. MICROANÁLISIS Y PUNTOS DE FUSIÓN.

Los **análisis elementales** fueron realizados por el Servicio de Microanálisis de la Universidad Complutense de Madrid (Dpto. de Química Orgánica y Farmacéutica, Facultad de Farmacia).

Los **puntos de fusión** están sin corregir y han sido determinados en un bloque Gallenkamp.

2.8. ESPECTROMETRÍA DE MASAS.

Los **espectros de masas (EM)** se han registrado en un espectrómetro Varian MAT-711. La temperatura de la cámara de ionización fue de 200 °C, la energía del haz electrónico de 100 eV y la presión en el interior del sistema analizador del orden de 10^{-6} torr. El método de introducción de la muestra fue el de inserción directa. En estas condiciones, la resolución que se consigue, medida como $m/\Delta m$ al 10% del valle, es de 600.

3. SÍNTESIS DE LOS INDICADORES LUMINISCENTES.

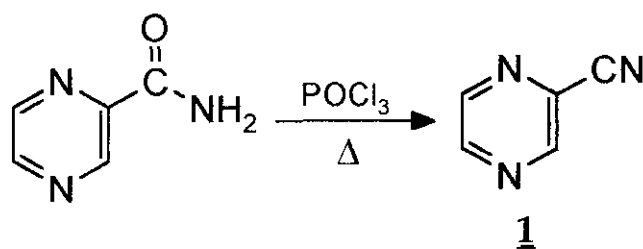
3.1. SONDAS MOLECULARES DE pH Y CO₂.

3.1.1. Obtención del 5-fenil-2-(2-pirazinil)tiazol (ppzth) mediante síntesis de Hantzsch.

La aplicación de esta estrategia sintética supone, en nuestro caso (apartado 2.2 de objetivos y planteamiento), la condensación de la 2-pirazinacarboxamida con el fenilacetaldehído α -funcionalizado. En los apartados 3.1.1.1 a 3.1.1.5 se describen las reacciones que conducen a la preparación de todos los precursores. Los diversos intentos de condensación se detallan en los apartados 3.1.1.6 a 3.1.1.8, siendo éste último, que corresponde a la bromación del fenilacetaldehído en el propio medio de reacción, el que dio los mejores resultados.

3.1.1.1. Preparación de la 2-cianopirazina, 1.

Se obtiene por deshidratación de la 2-pirazinacarboxamida comercial:



Se sigue el procedimiento descrito en la literatura,²¹⁵ a partir de 4.0 g (0.032 mol) de 2-pirazinacarboxamida (Fluka) y 10.7 mL (17.6 g; 0.115 mol) de oxiclورو de fósforo (Panreac). Tras 7 horas de calefacción a 100 °C, se hidroliza el exceso de POCl₃ con hielo picado, se extrae el producto de reacción con éter dietílico y se seca el extracto sobre hidróxido potásico. De esta forma, se obtienen 1.44 g de 2-cianopirazina, cuyo alto grado de pureza permite emplearla directamente en la siguiente etapa de la síntesis.

Rto.: 43%

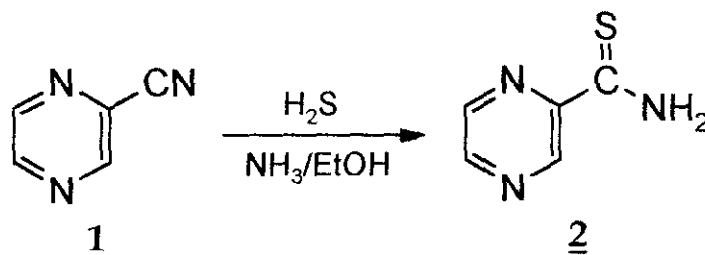
IR (película líquida), ν/cm^{-1} : 3070, 3020 ($\nu_{\text{C-H}}$ arom.); 2230 ($\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$); 1530, 1460, 1400 ($\nu_{\text{C-C}}$ arom.).

$^1\text{H-RMN}$ (80 MHz; CDCl_3), δ/ppm (J/Hz): 9.03 (d, H3); 8.93 (d, H5); 8.83 (dd, H6). ($J_{36} = 1.2$, $J_{56} = 2.5$).

$^{13}\text{C-RMN}$ (20 MHz; CDCl_3), δ/ppm : 147.8 (C3); 147.0 (C5); 145.0 (C6); 130.2 (C2); 114.9 ($\text{C}\equiv\text{N}$).

3.1.1.2. Preparación de la 2-pirazinacarbotoamida, 2.²¹⁶

Se disuelven 6.0 g (0.057 mol) de 2-cianopirazina en 13 mL de etanol anhidro y 50 mL de etanol anhidro saturado de amoníaco, y se hace pasar una corriente de sulfuro de hidrógeno seco hasta que cesa la precipitación de la tioamida amarilla. Se obtienen 6.71 g de producto.



Rto.: 85%

T.F. = 194 - 196 °C (Bibl.: 195 - 196 °C).²¹⁷

IR (KBr), ν/cm^{-1} : 3340, 3240, 3150 ($\nu_{\text{N-H}}$); 1605, 1465, 1405 ($\nu_{\text{C-C}}$ arom.); 1425 ($\nu_{\text{N-C=S}}$); 1350-1300 ($\nu_{\text{N-C=S}}$).

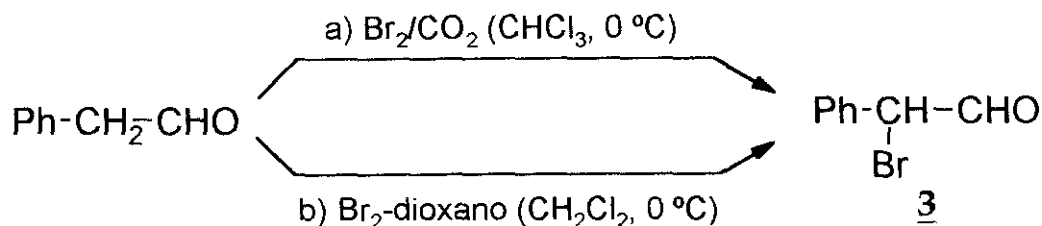
$^1\text{H-RMN}$ (80 MHz; DMSO-d_6), δ/ppm (J/Hz): 9.90 (sa, NH_2); 9.64 (d, H3); 8.89 (d, H5); 8.71 (dd, H6). ($J_{36} = 1.5$, $J_{56} = 2.5$).

$^{13}\text{C-RMN}$ (20 MHz; DMSO-d_6), δ/ppm : 193.0 (C=S); 146.8 (C5); 146.7 (C2); 145.5 (C3); 142.1 (C6).

3.1.1.3. Bromación del fenilacetaldehído.

Se realizaron dos ensayos de bromación en la posición α del fenilacetaldehído; el primero supone el tratamiento del aldehído con bromo

en corriente de CO₂ (**método a**), mientras que el segundo utiliza el reactivo *dibromuro de dioxano* preparado previamente (**método b**).



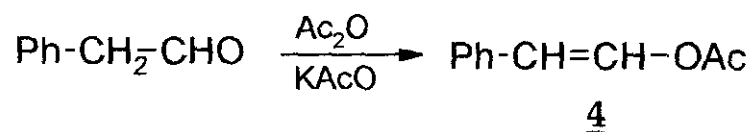
a) Bromación en corriente de CO₂.²¹⁸ Se disuelven 1.26 g (0.010 mol) de fenilacetaldehído (Aldrich) en 7 mL de cloroformo anhidro (destilado sobre pentóxido de fósforo y recogido y almacenado sobre tamices moleculares de 3 Å) y se enfría exteriormente a 0 °C. Mediante una corriente de CO₂ seco se arrastran 3.10 g (0.019 mol) de bromo (Aldrich), contenidos en otro recipiente, que se hacen burbujear sobre la disolución clorofórmica anterior. El proceso dura unas 6 horas y, al cabo de este tiempo, se elimina el disolvente a presión reducida. El 2-bromo-2-fenilacetaldehído así obtenido no presenta un grado de pureza suficiente, como demuestra su análisis por CCF y ¹H-RMN, por lo que se pretende su purificación por destilación a vacío. A 0.01 torr de presión y 100 °C de temperatura no se consigue que destile el producto y el ennegrecimiento del crudo de reacción evidencia su descomposición, por lo que se recurre al **método b**, que evita la etapa de aislamiento del α-bromoaldehído, extremadamente reactivo.

b) Bromación con dibromuro de dioxano. El reactivo *dibromuro de dioxano* se prepara²¹⁹ por simple adición de 50 g (0.313 mol) de bromo (Aldrich) sobre 25 g (0.284 mol) de dioxano anhidro (recién destilado sobre hidruro de litio y aluminio en atmósfera inerte), calefacción a 60 °C hasta licuefacción de la masa de reacción y precipitación del producto por adición de *n*-pentano enfriado a -15 °C. El sólido rojo resultante se filtra y se lava con *n*-pentano lo más rápido posible, pues sublima lentamente a temperatura y presión ambientales.

Para llevar a cabo la bromación del aldehído,²²⁰ se disuelven 7.44 g (0.03 mol) de dibromuro de dioxano en 7.5 mL de cloruro de metileno anhidro (destilado sobre pentóxido de fósforo y recogido y conservado

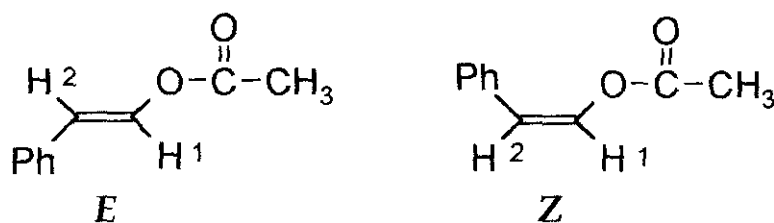
sobre tamices moleculares de 3 Å) y se enfría exteriormente a 0 °C. A continuación, se añaden 3.60 g (0.03 mol) de fenilacetaldehído (Aldrich) y se agita la masa de reacción a 0 °C durante dos horas. La disolución amarilla obtenida se utiliza como tal en la condensación posterior.

3.1.1.4. Preparación del acetato de enol del fenilacetaldehído, 4.²²¹

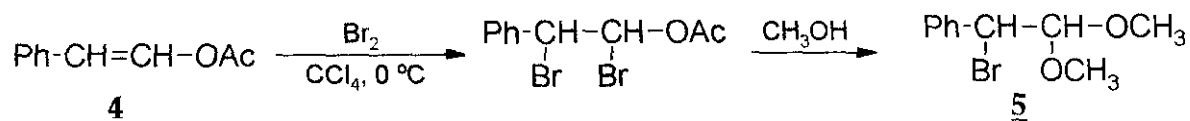


Sobre 5.00 g (41.6 mmol) de fenilacetaldehído (Aldrich), se añaden 0.77 g (7.8 mmol) de acetato de potasio (Panreac) y 7.43 g (72.8 mmol) de anhídrido acético (Panreac). Se calienta la mezcla con agitación durante 2 horas a 160 °C. A continuación, y una vez alcanzada la temperatura ambiente, se añade agua y se extrae con éter dietílico. La fase etérea se lava con agua y con una disolución concentrada de carbonato sódico en agua hasta neutralización del ácido acético. Tras secar sobre sulfato sódico anhidro y evaporar el disolvente, se obtienen 6.07 g de acetato de 2-fenileténico puro, como mezcla de diastereoisómeros Z y E (Z/E = 3:1).

Rto.: 90%



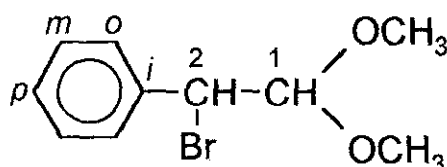
¹H-RMN (80 MHz; CDCl₃), δ/ppm (J/Hz): 7.83 (d, H1-E); 7.27 (sa, Ph, H1-Z); 6.37 (d, H2-E); 5.68 (d, H2-Z); 2.22 (s, CH₃-Z); 2.15 (s, CH₃-E). (J_{12(E)} = 12.8; J_{12(Z)} = 7.2).

3.1.1.5. Preparación del dimetilacetal del 2-bromo-2-fenilacetaldehído, 5.²²¹

La bromación del acetato de enol 4 y formación del dimetilacetal correspondiente, se llevan a cabo sin aislamiento del intermedio de síntesis; para ello, se disuelven 6.07 g (0.037 mol) de 4 en 15 mL de tetracloruro de carbono y se enfría la disolución a 0 °C. A continuación, se añaden, gota a gota, mediante un embudo de adición, 6.00 g (0.037 mol) de bromo (Aldrich) disueltos en 5 mL de CCl₄. Se deja que la mezcla alcance temperatura ambiente, para volver a enfriar a 0 °C, añadiendo entonces, también lentamente y con agitación constante, 15 mL de metanol (Merck, 99.99%). Se deja alcanzar de nuevo temperatura ambiente y se agita la masa de reacción durante 48 horas. Transcurrido este tiempo, se lava la fase orgánica con agua y se deja secar sobre carbonato potásico anhidro. El disolvente se elimina a presión reducida, y, a continuación, se añade una pequeña cantidad de K₂CO₃ anhidro sobre el crudo de reacción, para estabilizar el acetal, y se destila a vacío (1 torr, 122 °C), recogándose 7.98 g de un líquido amarillo pálido cuyo análisis revela la estructura del 2-bromo-2-fenil-1,1-dimetoxietano buscado.

Rto.: 87%

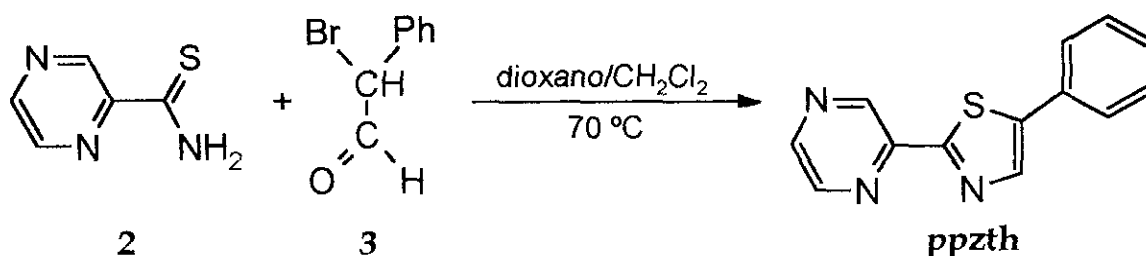
¹H-RMN (300 MHz; CDCl₃), δ/ppm (J/Hz): 7.44 - 7.30 (m, Ph); 4.93 (d, H1); 4.74 (d, H2); 3.47 (s, CH₃); 3.26 (s, CH₃). (J₁₂ = 6.0).



¹³C-RMN (75 MHz; CDCl₃), δ/ppm: 137.9 (*i*-C); 128.4, 128.4 (*o*-C, *m*-C y *p*-C); 105.8 (C1); 54.9 (CH₃); 54.7 (C2); 52.8 (CH₃).

3.1.1.6. Condensación de la 2-pirazinacarbotioamida con el 2-bromo-2-fenilacetaldehído.

El 2-bromo-2-fenilacetaldehído, **3**, obtenido en el apartado 3.1.1.3.b, se hace reaccionar con la 2-pirazinacarbotioamida, **2**, según el método descrito por Vernin y Metzger.²²⁰



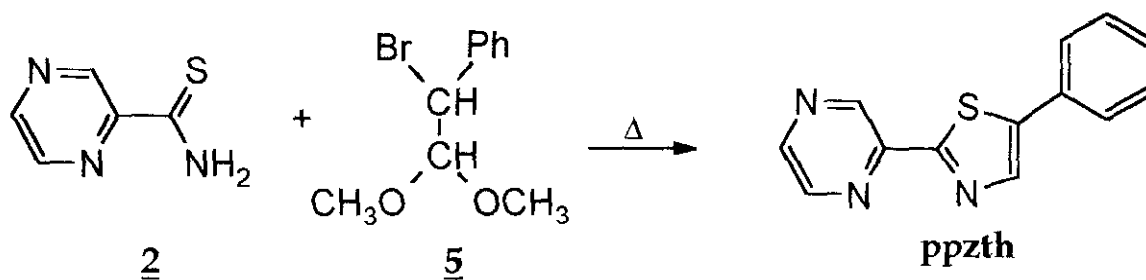
Sobre una suspensión de 3.12 g (0.022 mol) de **2** en 10 mL de dioxano anhidro (recientemente destilado sobre hidruro de litio y aluminio en atmósfera de Ar) calentada a 70 °C, se añade, gota a gota, la disolución de **3** preparada según el procedimiento descrito en 3.1.1.3.b. Una vez adicionado todo el α -bromoaldehído, se mantiene la mezcla reaccionante a 70 °C con agitación, controlando su evolución mediante CCF (fase estacionaria: gel de sílice; eluyente: *n*-hexano-acetato de etilo 1:1, v/v). La formación de **ppzth**, fácilmente detectable por su intensa fluorescencia azul al iluminar la placa de cromatografía a 254 y a 366 nm, no progresa a partir de las 2 horas de reacción.

Entonces, se añade agua y se extrae con éter dietílico, dejando secar los extractos orgánicos sobre sulfato de magnesio anhidro. El **ppzth** se aísla por cromatografía rápida en columna, con gel de sílice como fase estacionaria y *n*-hexano-acetato de etilo 1:1, v/v, como eluyente. De este modo, se obtienen 0.47 g de 5-fenil-2-(2-pirazinil)tiazol puro.

Rto.: 9%

(La caracterización y los datos espectroscópicos del **ppzth** se recogen en el apartado 3.1.1.8).

3.1.1.7. Condensación de la 2-pirazinacarbotioamida con el dimetilacetal del 2-bromo-2-fenilacetaldehído.



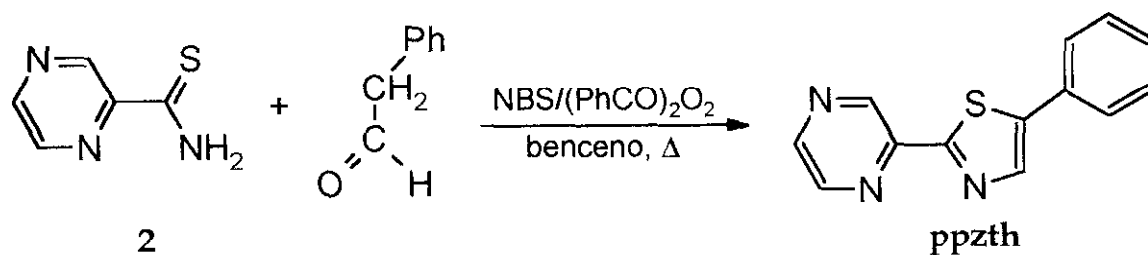
El método de ciclocondensación, descrito por Glover y Thomas,²²² supone la calefacción a 110 °C de una mezcla de 0.78 g (5.60 mmol) de **2** y 1.78 g (7.28 mmol) de **5** durante 12 horas sin disolvente (mayores tiempos de reacción no conducen a mejores rendimientos). La masa negra viscosa formada se digiere con 50 mL de ácido clorhídrico 9 M y se extrae con éter dietílico. La fase acuosa se neutraliza con hidróxido sódico acuoso 10 M y se extrae de nuevo con Et₂O. El análisis por CCF sobre gel de sílice (eluyente: *n*-hexano-acetato de etilo 1:1, v/v) muestra la existencia de **ppzth** en la fase etérea que proviene de la extracción en medio ligeramente básico. La purificación por cromatografía rápida en columna, empleando las mismas condiciones que para el análisis por CCF, rinde 0.05 g de **ppzth**.

Rto.: 4%

(La caracterización y los datos espectroscópicos del **ppzth** se recogen en el apartado 3.1.1.8).

3.1.1.8. Condensación de la 2-pirazinacarbotioamida con el 2-bromo-2-fenilacetaldehído generado *in situ*.

El bajísimo grado de conversión en tiazol de los procedimientos 3.1.1.6 y 3.1.1.7 se debe, probablemente, a la alta reactividad del derivado α -bromado del fenilacetaldehído, por lo que se ensayó un procedimiento de síntesis basado en el descrito por Dahiya y Pujari,²²³ en el que dicho reactivo se genera en el propio medio de reacción mediante una bromación radicalica con *N*-bromosuccinimida y peróxido de benzoílo en benceno.



A una dispersión de 6.00 g (0.043 mol) de la tioamida **2** en 100 mL de benceno anhidro (purificado por doble destilación sobre pentóxido de fósforo y redestilación sobre sodio hilado, y recogido y conservado sobre tamices moleculares de 3 Å) en atmósfera de argón, se le añaden 7.65 g (0.043 mol) de *N*-bromosuccinimida (Merck) en 10 mL de benceno anhidro y 5.17 g (0.043 mol) de fenilacetaldehído (Aldrich) en 9 mL de benceno anhidro. Se calienta exteriormente la mezcla hasta que comienza el reflujo del disolvente, momento en el que se adiciona una pequeña cantidad de peróxido de benzoílo (Fluka) disuelto en 1 mL de benceno anhidro. La mezcla de reacción se mantiene a reflujo durante 6 horas bajo atmósfera inerte y, al cabo de este tiempo, se elimina el disolvente en un rotavapor. El crudo de reacción se trata con 30 mL de agua y se lleva hasta pH 8 con una disolución saturada de carbonato potásico para, a continuación, extraer con éter dietílico. Después de secar los extractos etéreos sobre sulfato magnésico, la evaporación a presión reducida del disolvente conduce a 7.8 g de un sólido naranja-marrón. La purificación por cromatografía rápida en columna sobre gel de sílice (eluyente: *n*-hexano-acetato de etilo 1:1, v/v) conduce a 2.6 g de **ppzth**.

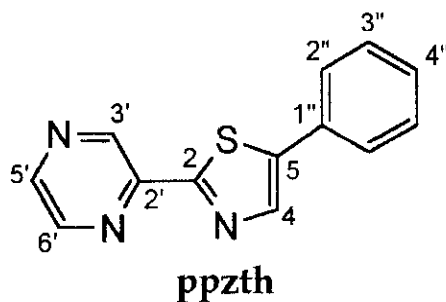
Rto.: 25%

T.F. = 134 - 136 °C.

IR (KBr), ν/cm^{-1} : 3030, 3010 ($\nu_{\text{C-H}}$ arom.); 1520, 1460, 1440, 1420 ($\nu_{\text{C-C}}$ arom.); 860, 750, 690, 680, 625 ($\delta_{\text{C-H}}$ arom.).

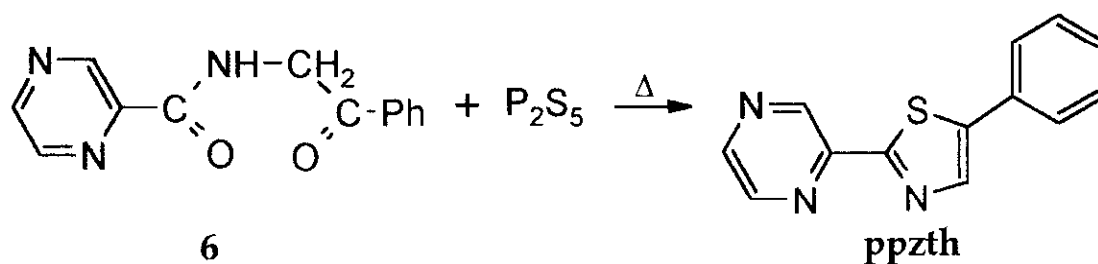
¹H-RMN (300 MHz; CDCl₃), δ/ppm (J/Hz): 9.43 (d, H3'); 8.58 (d, H5'); 8.56 (dd, H6'); 8.12 (s, H4); 7.63 (dd, H2''); 7.43-7.36 (m, H3'' y H4''). (J_{3'6'} = 1.2, J_{5'6'} = 2.7; J_{2''3''} = 7.8, J_{2''4''} = 1.5).

¹³C-RMN (75 MHz; CDCl₃), δ/ppm : 164.7 (C2); 146.8 (C2'); 144.7 (C5'); 143.7 (C6'); 142.5 (C5); 141.2 (C3'); 139.9 (C4); 130.8 (C1''); 129.0 (C3''); 128.7 (C4''); 126.7 (C2'')

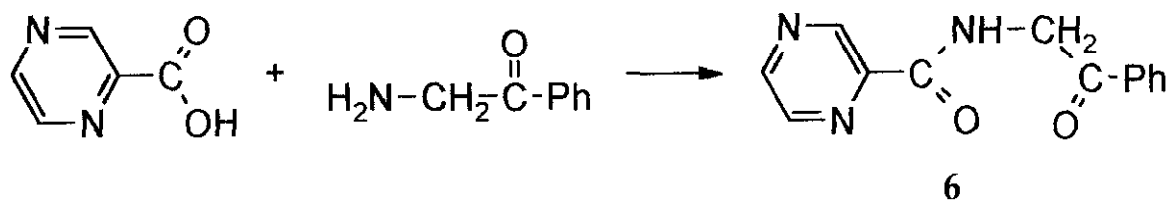


Microanálisis, % exp (% calc. para $C_{13}H_8N_3S$). C: 65.06 (65.25); H: 4.04 (3.79); N: 16.43 (17.56).

3.1.2. Ensayo de preparación del 5-fenil-2-(2-pirazinil)tiazol por síntesis de Gabriel.

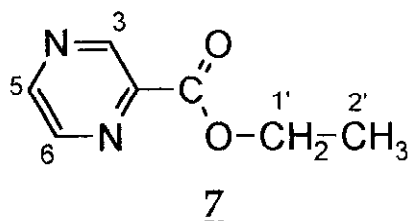


La síntesis de Gabriel de tiazoles supone la ciclación de un compuesto α -aminocarbonílico *N*-acilado, en presencia de pentasulfuro de fósforo. En nuestro caso (**apartado 2.2 de objetivos y planteamiento**), la manera más directa de obtener el precursor 1,4-dicarbonílico **6**, supone la formación de la amida entre el ácido 2-pirazinacarboxílico y la 2-aminoacetofenona. Por calefacción de **6** en presencia de P_2S_5 debería obtenerse el ppzth.

3.1.2.1. Preparación de la *N*-(2-fenil-2-oxoetil)pirazinacarboxamida, **6**.

Dado que los precursores comerciales más inmediatos de **6** son el ácido 2-pirazinacarboxílico y la 2-aminoacetofenona (comercialmente disponible como clorhidrato), se pensó en llevar a cabo una amidación, previa activación del ácido carboxílico como anhídrido mixto con cloroformiato de metilo o de etilo. Se realizaron tres ensayos distintos:

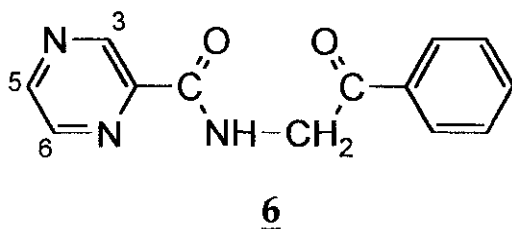
a) Se sigue el procedimiento de Barton et al.²²⁴ Sobre una suspensión de 0.30 g (2.42 mmol) de ácido 2-pirazinacarboxílico (Fluka) en 80 mL de cloroformo a 0 °C se añaden, sucesivamente, 0.42 g (4.24 mmol) de trietilamina (Merck), 0.24 g (2.54 mmol) de cloroformiato de metilo (Aldrich) y 0.42 g (2.45 mmol) del clorhidrato de la 2-aminoacetofenona (Aldrich). Se deja que la mezcla alcance la temperatura ambiente y se agita durante 24 horas en estas condiciones. El análisis por CCF (fase estacionaria: gel de sílice; fase móvil: *n*-hexano-acetato de etilo 1:1, v/v) muestra la formación de nuevos productos, si bien existe todavía una cantidad importante de los dos reactivos de partida. Se calienta entonces a reflujo la mezcla de reacción durante 3 horas, sin que se aprecie por CCF ningún cambio en su composición. Finalmente, se detiene la calefacción, se lava con agua y el extracto cloroformico se seca sobre sulfato de magnesio anhidro. Tras la evaporación del disolvente a presión reducida, se obtienen 0.53 g de crudo de reacción. El espectro de ¹H-RMN del mismo no muestra señales del producto deseado **6** y sí de 2-aminoacetofenona y de un nuevo producto, identificado de forma inequívoca por sus datos espectroscópicos como el 2-pirazinacarboxilato de etilo, **7**.



$^1\text{H-RMN}$ (80 MHz; CDCl_3), δ/ppm (J/Hz): 9.30 (d, H3); 8.80-8.70 (m, H5 y H6); 4.50 (c, CH_2); 1.45 (t, CH_3). ($J_{36} = 1.2$, $J_{1'2'} = 7.1$).

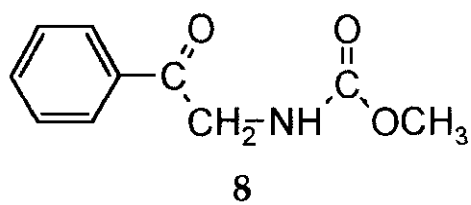
b) En una variante del procedimiento operativo anterior, sobre una suspensión de 0.3 g (2.42 mmol) de ácido 2-pirazinacarboxílico (Fluka) en 60 mL de cloroformo se añaden, mientras se mantiene la temperatura de la mezcla de reacción a 0°C , 0.18 g (1.81 mmol) de trietilamina (Merck), 0.24 g (2.54 mmol) de cloroformiato de metilo (Aldrich) y una mezcla previamente preparada de 0.42 g (2.45 mmol) del clorhidrato de la 2-aminoacetofenona (Aldrich) en 10 mL de cloroformo y 0.248 g (2.45 mmol) de trietilamina. Finalizada la adición de todos los reactivos, se deja evolucionar la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 2 horas. El análisis por CCF (fase estacionaria: gel de sílice; eluyente: *n*-hexano-acetato de etilo 1:1, v/v) pone de manifiesto la desaparición completa de la 2-aminoacetofenona de partida, por lo que se detiene la reacción y se procede de igual modo que en el ensayo a. El análisis por $^1\text{H-RMN}$ de una muestra del crudo de reacción, indica que se trata de una mezcla compleja de productos, en la que se identifican señales del producto buscado, 6, y del *N*-(2-fenil-2-oxoetil)carbamato de metilo, 8.

N-(2-fenil-2-oxoetil)pirazinacarboxamida, 6.



^1H -RMN (80 MHz; CDCl_3), δ/ppm (J/Hz): 9.40 (sa, H3); 8.75 (sa, H5); 8.60 (sa, H6); 7.99-7.26 (m, Ph); 5.72 (sa, NH); 4.98 (d, CH_2). ($J_{\text{NH-CH}_2} = 4.7$).

***N*-(2-fenil-2-oxoetil)carbamato de metilo, 8.**



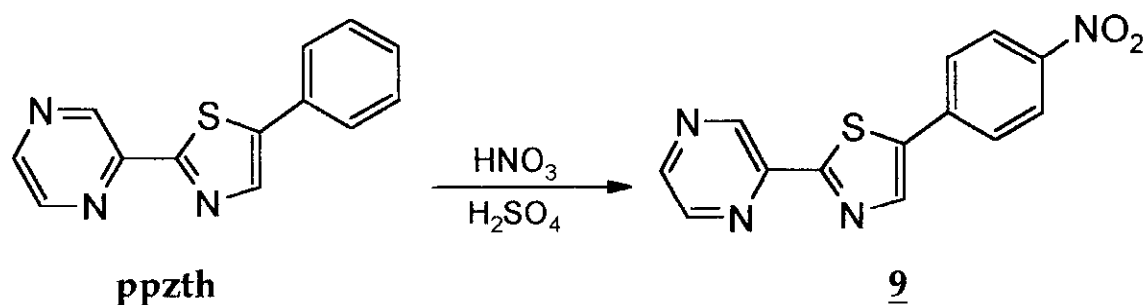
^1H -RMN (80 MHz; CDCl_3), δ/ppm (J/Hz): 7.99-7.26 (m, Ph); 5.72 (sa, NH); 4.69 (d, CH_2); 3.71 (s, CH_3). ($J_{\text{NH-CH}_2} = 4.6$).

c) El tercer procedimiento ensayado se basa en el método de Felder et al.²²⁵ A 0.3 g (2.42 mmol) del ácido 2-pirazinacarboxílico (Fluka) suspendidos en 20 mL de dioxano anhidro (recién destilado sobre hidruro de litio y aluminio bajo atmósfera inerte) se añaden 0.45 g (2.43 mmol) de tri-*n*-butilamina (Carlo Erba). Se enfría a 7 °C y se añaden, gota a gota, 0.26 g (2.40 mmol) de cloroformiato de etilo (Aldrich). Se deja que la mezcla adquiera la temperatura ambiente y se mantiene en estas condiciones con agitación durante 10 minutos. A continuación, se enfría de nuevo a 7 °C y se adiciona una disolución de 0.42 g (2.45 mmol) del clorhidrato de la 2-aminoacetofenona (Aldrich) en 5 mL de dioxano anhidro, a la que se añadieron previamente 0.46 g (2.48 mmol) de tri-*n*-butilamina. El análisis de la mezcla de reacción por CCF sobre gel de sílice (eluyente: *n*-hexano-acetato de etilo 1:1, v/v), muestra que no se ha formado cantidad apreciable del producto deseado tras 24 horas a temperatura ambiente y 10 horas a reflujo. El espectro de ^1H -RMN del crudo de reacción no contiene tampoco señales propias de 6.

3.1.3. Síntesis de los derivados del 5-fenil-2-(2-pirazinil)tiazol.

3.1.3.1. Preparación del 5-(4-nitrofenil)-2-(2-pirazinil)tiazol, 9.

Se obtiene por nitración del **ppzth**, según el método descrito por Friedman et al. para sustratos análogos.²²⁶

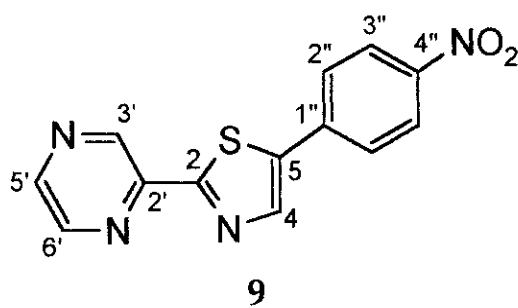


Se disuelven 0.45 g (1.67 mmol) de **ppzth** en 4 mL de ácido sulfúrico concentrado (Merck, 97%) y frío (-15 °C). A continuación, y a la misma temperatura, se añade una mezcla sulfonítrica preparada previamente con 2 mL de ácido nítrico fumante (Merck) y 3 mL de ácido sulfúrico concentrado, también fría. Se agita la mezcla de reacción durante 2 minutos y se vierte sobre una mezcla de 50 g de hielo picado y 30 mL de disolución de hidróxido sódico en agua al 20%, precipitando el nitrocompuesto de color amarillo que se filtra, se lava con agua y se seca a vacío (0.05 torr) sobre pentóxido de difósforo. Por recristalización de cloroformo, se obtienen 0.328 g de 5-(4-nitrofenil)-2-(2-pirazinil)tiazol puro.

Rto.: 69%

T.F. = 234 - 235 °C.

IR (KBr), ν/cm^{-1} : 3060 ($\nu_{\text{C-H}}$ arom); 1580, 1450, 1400 ($\nu_{\text{C-C}}$ arom); 1490 (ν_{NO_2} asim.); 1330 (ν_{NO_2} sim.); 850, 740, 675 ($\delta_{\text{C-H}}$ arom.).

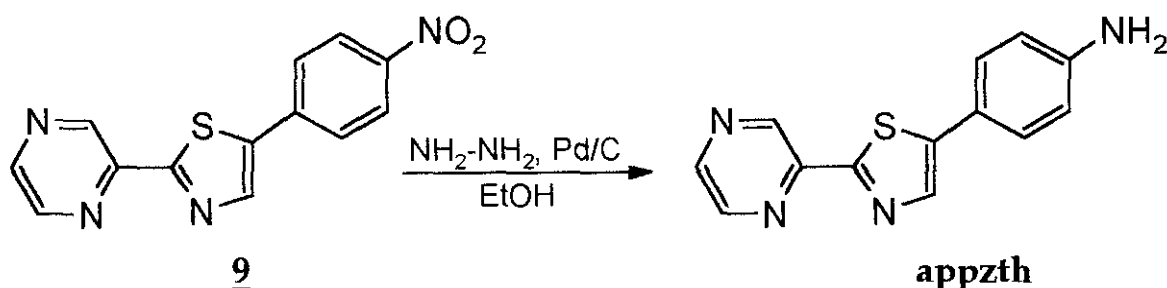


$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz; DMSO-d_6), δ/ppm (J/Hz): 9.38 (d, $\text{H3}'$); 8.81 (d, $\text{H5}'$); 8.78 (dd, $\text{H6}'$); 8.75 (s, H4); 8.33 ($\text{H3}''$), 8.10 ($\text{H2}''$) (sistema $\text{AA}'\text{XX}'$). ($J_{3'6'} = 1.5$, $J_{5'6'} = 2.4$; $J_{2''3''} = 9.0$).

$^{13}\text{C-RMN}$ (75 MHz; DMSO-d_6), δ/ppm : 166.7 (C2); 147.0 ($\text{C2}'$); 146.2 (C4); 145.5 ($\text{C4}''$); 144.6 ($\text{C5}'$); 143.4 ($\text{C6}'$); 140.5 ($\text{C3}'$); 139.2 (C5); 136.6 ($\text{C1}''$); 127.5 ($\text{C2}''$); 124.5 ($\text{C3}''$).

3.1.3.2. Preparación del 5-(4-aminofenil)-2-(2-pirazinil)tiazol, **appzth**.

El **appzth** se prepara por reducción del grupo nitro del compuesto **9** con el sistema hidrazina/paladio sobre carbón.²²⁷



Se mezclan 0.250 g (0.88 mmol) de **9** con una suspensión de 25 mg de paladio sobre carbón activo al 10% (Fluka) en 16 mL de etanol (95%) y se añaden lentamente sobre ella 0.4 mL de hidrato de hidrazina (Probus, 98%). Se calienta entonces la mezcla de reacción durante dos horas a 65 °C. Transcurrido este tiempo, se elimina el catalizador haciendo pasar la suspensión, todavía caliente, a través de un filtro de fibra de vidrio (Macherey-Nagel, MN 85/90). La eliminación del disolvente a presión reducida proporciona 0.240 g de **appzth**, que se pueden purificar por sublimación a vacío (0.02 torr, 160 °C), obteniéndose 0.144 g de producto puro. Ocasionalmente, en función de la calidad de los reactivos de partida, puede ser necesaria una posterior purificación, que puede conseguirse mediante CCF preparativa sobre gel de sílice, empleando una mezcla *n*-hexano-acetato de etilo 1:1, v/v, como fase móvil.

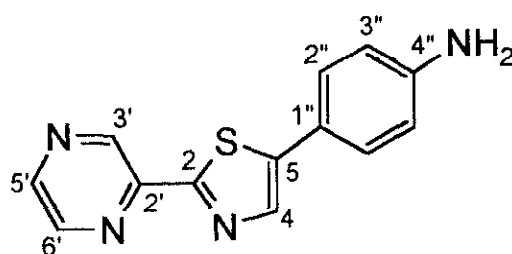
Rto.: 64%

T.F. = 190 - 192 °C.

IR (KBr), ν/cm^{-1} : 3360, 3320 (ν_{NH_2} libre); 3210 (ν_{NH_2} asoc.); 1595, 1540, 1470, 1430, 1405 ($\nu_{\text{C-C}}$ arom.); 850, 820, 800, 750 ($\delta_{\text{C-H}}$ arom.).

$^1\text{H-RMN}$ (80 MHz; CDCl_3), δ/ppm (J/Hz): 9.40 (d, H3'); 8.54 (sa, H5' y H6'); 7.98 (s, H4); 7.43 (H2''), 6.70 (H3'') (sistema AA'XX'); 3.63 (sa, NH_2). ($J_{3'6'} \sim 1$; $J_{2''3''} = 8.4$).

$^{13}\text{C-RMN}$ (75 MHz; CDCl_3), δ/ppm : 162.9 (C2); 147.2, 147.1 (C4'' y C2'); 144.3 (C5'); 143.7 (C6'); 143.4 (C5); 141.1 (C3'); 138.3 (C4); 128.0 (C2''); 121.0 (C1''); 115.2 (C3'').

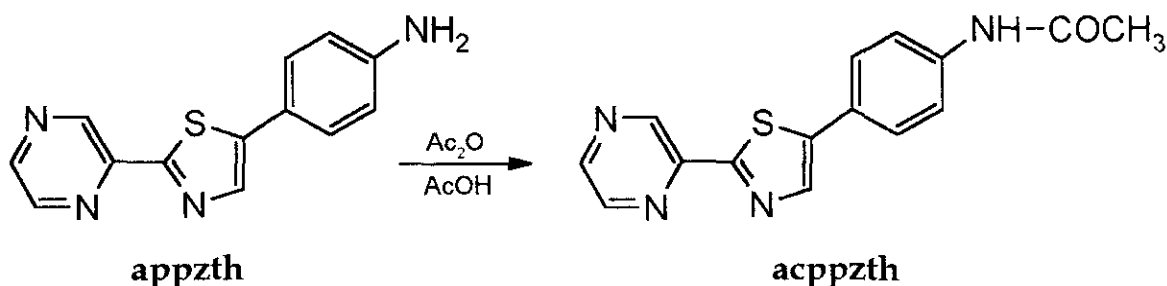


appzth

Microanálisis, % exp. (% calc. para $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{S}$). C: 60.54 (61.40); H: 4.16 (3.96); N: 21.65 (22.03).

3.1.3.3. Preparación del 5-(4-acetamidofenil)-2-(2-pirazinil)thiazol, acppzth.

La acilación del **appzth** se lleva a cabo por tratamiento con anhídrido acético en ácido acético.²²⁸



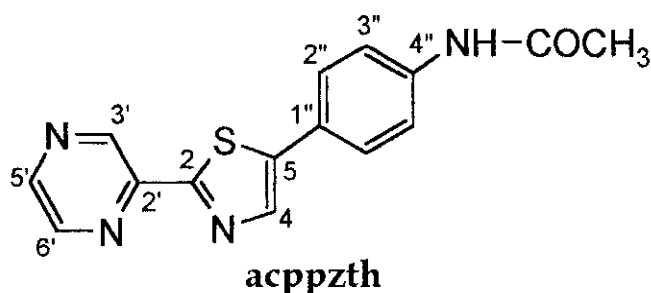
Sobre una suspensión de 52 mg (0.204 mmol) de **appzth** en 1 mL de ácido acético glacial (Probus), se añade 1 mL de anhídrido acético (Panreac). Se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 30 minutos

y, a continuación, se vierte sobre 5 g de hielo picado y 5 mL de agua, lo que provoca la precipitación del derivado acetilado de color amarillo. Cuando se ha fundido el hielo, se neutraliza el ácido acético mediante la adición de 6 mL de amoníaco (Probus). El producto se filtra, se lava con agua y se seca a vacío sobre pentóxido de difósforo; se obtienen así 54 mg de **acppzth** puro.

Rto.: 89%

T.F. = 217 - 218 °C.

IR (KBr), ν/cm^{-1} : 3400, 3320 ($\nu_{\text{N-H}}$); 3080, 3020 ($\nu_{\text{C-H}}$ arom.); 2900 ($\nu_{\text{C-H}}$ alif.); 1670 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1590, 1440, 1400 ($\nu_{\text{C-C}}$ arom.); 1530 ($\delta_{\text{N-H}}$); 830 ($\delta_{\text{C-H}}$ arom.).

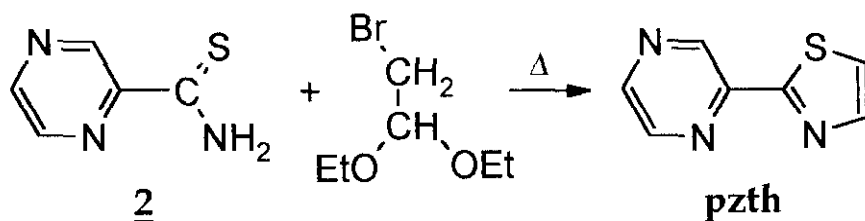


¹H-RMN (300 MHz; DMSO- d_6), δ/ppm (J/Hz): 10.05 (sa, NH); 9.32 (d, H3'); 8.72 (d, H5'); 8.70 (dd, H6'); 8.34 (s, H4); 7.70 (sa, H2'' y H3''); 2.08 (s, CH₃). ($J_{3'6'} = 1.5$, $J_{5'6'} = 2.7$).

¹³C-RMN (75 MHz; DMSO- d_6), δ/ppm : 168.4 (CO); 163.5 (C2); 146.0 (C2'); 145.4 (C5'); 144.4 (C6'); 141.9 (C3'); 140.4 (C5); 140.0 (C4''); 139.9 (C4); 127.1 (C2''); 125.0 (C1''); 119.5 (C3''); 24.0 (CH₃).

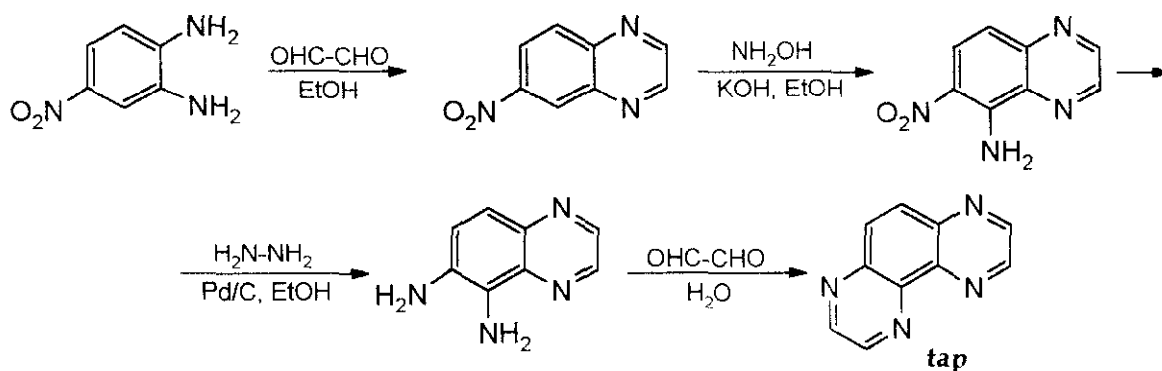
3.1.4. Síntesis del 2-(2-pirazinil)tiazol, pzth.

Se prepara por condensación de la 2-pirazinacarbotioamida, **2**, con el dietilacetal del bromoacetaldehído, tal y como describen Orellana et al.,^{215b} que modifican el procedimiento desarrollado por Glover et al.²²²



3.1.5. Síntesis del 1,4,5,8-tetraazafenantreno, tap.

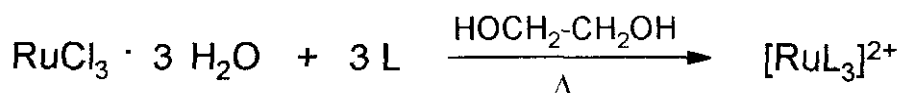
El ligando **tap** se obtuvo por el procedimiento de Nasielski-Hinkens et al.,^{227b} de acuerdo con el siguiente esquema:



3.1.6. Síntesis de los complejos de rutenio(II).

Los quelato-complejos de Ru(II) se han preparado siguiendo dos estrategias distintas (procedimientos **a** y **b**), según se trate de especies homo o heterolépticas.

a) Complejos homolépticos.^{113a}



Se preparan por calefacción a reflujo en atmósfera de argón durante 1 a 3 horas, de una disolución en etilenglicol (Panreac, p.a.) de tricloruro de rutenio trihidratado (Janssen) y un ligero exceso de ligando (20-30%).

b) Complejos heterolépticos.^{113,229}

La síntesis requiere dos etapas. En primer lugar, se prepara el bis-complejo *cis* por calefacción, en atmósfera de argón durante 5 horas, de una mezcla de tricloruro de rutenio (Janssen; Aldrich) y el ligando, en proporción molar 1:2, en dimetilformamida (Carlo Erba), a la que se añade un exceso de cloruro de litio (Panreac); el aislamiento del producto de reacción se lleva a cabo dejando la disolución obtenida en un vaso de precipitados durante varios días en un recipiente cerrado con abundante cantidad de acetona en el fondo, de modo que el bis-quelato, insoluble en este disolvente, cristaliza por solubilización de los vapores de acetona. La formación del complejo heteroléptico se lleva a cabo a partir de una mezcla equimolar del bis-complejo anterior y el nuevo ligando que se desea incorporar, por calefacción de la misma a reflujo de etilenglicol durante 1 a 4 horas, según los casos. Para los complejos de tipo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$, se empleó como producto de partida el *cis*-diclorobis(2,2'-bipiridina)rutenio(II) comercializado por Aldrich.

En ambos procedimientos, la reacción de formación del complejo de coordinación puede seguirse por CCF, empleando como fase estacionaria gel de sílice. Como eluyentes se han empleado dos tipos de mezclas:

- La primera es una **disolución de cloruro amónico en agua-dimetilformamida 1:1 (v/v) 0.5 M**. Permite distinguir los complejos formados de los restos de mono o bis-quelatos que no han sufrido conversión total, pero, en general, no separa los quelatocomplejos distintos, a no ser que sus ligandos difieran mucho en sus propiedades. Esta mezcla es muy indicada para seguir la evolución de la reacción de complejación.
- La segunda mezcla eluyente contiene tres componentes: ***n*-butanol, ácido acético y agua**, en proporciones que pueden optimizarse para cada caso particular, aunque las de tipo *n*-BuOH-AcOH-H₂O, 8:2:1 ó 7:3:4 (v/v/v) pueden recomendarse como punto de partida. Este tipo de fase móvil es

muy adecuada para analizar la posible existencia de mezclas de dos o más complejos que contengan tres ligandos heterocíclicos quelatantes.

El aislamiento y la purificación de los compuestos de coordinación se ha realizado mediante cromatografía en columna, empleando como fase estacionaria el gel de intercambio catiónico Sephadex[®], en sus versiones CM (carboximetil) y SP (sulfopropil). Como fases móviles se han empleado disoluciones acuosas de cloruro sódico de concentración creciente (gradiente de fuerza iónica). Por lo general, la elución de los complejos de Ru(II) del tipo de los sintetizados, se produce a concentraciones comprendidas entre 0.01 y 1 M de NaCl.

Una vez eliminado el NaCl, mediante repetidos lavados con metanol en frío, los compuestos puros se precipitan con hexafluorofosfato amónico (Fluka), a partir de sus disoluciones acuosas. El dihexafluorofosfato del complejo de Ru(II) se filtra, se lava con agua y se seca a vacío (≤ 0.05 torr) sobre pentóxido de difósforo. Los tiempos de reacción y rendimientos de todos los quelatos heterocíclicos de rutenio(II) sintetizados se recogen en la **Tabla VII**.

Tabla VII. Métodos de síntesis, tiempos de reacción y rendimientos de los quelatocomplejos de rutenio(II).

Complejo	Método	Tiempo de reacción/h ^c	Rendimiento/% ^d
Ru(bpy) ₂ (pzth) ²⁺	B ^b	4	50
Ru(bpy)(pzth) ₂ ^{2+a}	B	1.5 (5)	54 (49) ^e
Ru(bpy) ₂ (ppzth) ^{2+a}	B ^b	2	61
Ru(ppzth) ₃ ²⁺	A	3	40
Ru(pzth)(tap) ₂ ²⁺	B	1.5 (4)	70 (91) ^e
Ru(acppzth)(pzth) ₂ ²⁺	B	1.5 (5)	1 (49) ^e

a) No requieren purificación por cromatografía de intercambio catiónico.

b) En el caso de los quelatos de tipo Ru(bpy)₂L²⁺ se empleó como producto de partida Ru(bpy)₂Cl₂ comercial.

c) Tiempo que se mantiene la reacción a reflujo en etilenglicol; entre paréntesis, tiempo a reflujo en DMF para los bis-quelatos precursores correspondientes.

d) En producto aislado.

e) Entre paréntesis, el rendimiento en la obtención del correspondiente bis-quelato (*cis*).

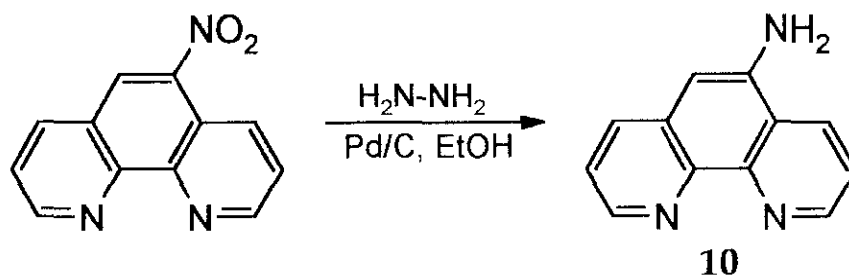
Si se desea obtener el complejo como cloruro, se hace pasar el hexafluorofosfato a través de una columna de intercambio aniónico de Sephadex de tipo DEAE (dietilaminoetil; Sigma, tamaño de poro: 40-120 μm , capacidad de intercambio: $3.5 \pm 0.5 \text{ mmol g}^{-1}$).

3.2. SONDAS DE OXÍGENO: SÍNTESIS DEL [Ru(5-odaphen)₃]²⁺.

La síntesis del complejo tris(5-octadecanamido-1,10-fenantrolina) rutenio(II) parte de la 5-nitro-1,10-fenantrolina y el ácido octadecanoico como precursores comerciales.

3.2.1. Preparación de la 5-amino-1,10-fenantrolina, 10.

Se obtiene por reducción de la 5-nitro-1,10-fenantrolina. Después de ensayar infructuosamente como agentes reductores cloruro de estaño(II)²³⁰ e hidrosulfito sódico (Na₂S₂O₄),^{227a} se obtuvieron buenos resultados con el sistema hidrazina/paladio sobre carbón activo.²²⁷



Sobre una mezcla de 1.50 g (7.0 mmol) de 5-nitro-1,10-fenantrolina (Fluka) y 0.20 g de paladio sobre carbón activo al 10% (Fluka) en 70 mL de etanol (95%) se añaden, gota a gota, 2 mL (33.0 mmol) de hidrato de hidrazina (Probus, 80%). La mezcla de reacción se calienta a 65 °C durante 3 horas y se filtra en caliente a través de un filtro de fibra de vidrio (Macherey Nagel, MN 85/90). Enfriando la disolución etanólica se consigue la precipitación de la amina 10, en forma de cristales amarillos, que se lavan con etanol frío. Se obtienen así 0.88 g de amina pura.

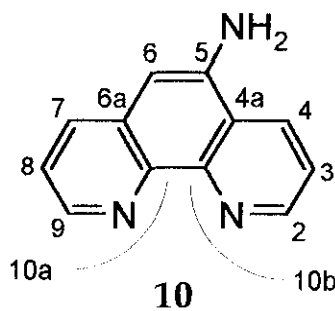
Rto.: 64%

T.F. = 250 - 252 °C (Bibl: 259 - 260 °C).^{230b}

IR (KBr), ν/cm^{-1} : 3380, 3290 (ν_{NH_2} libre); 3200 (ν_{NH_2} asoc.); 1630, 1605, 1585 ($\nu_{\text{C-C}}$ arom.); 840, 730 ($\delta_{\text{C-H}}$ arom.).

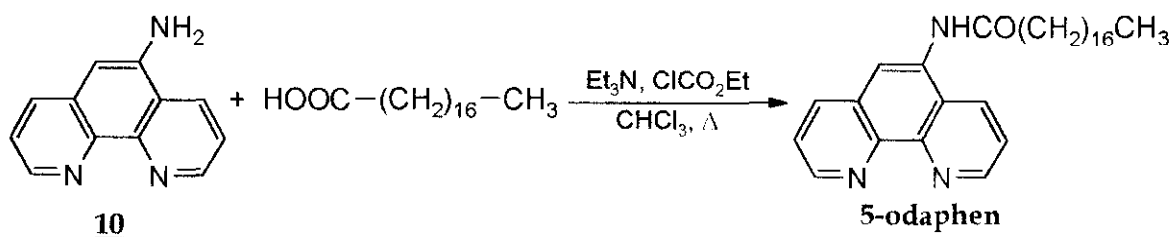
^1H -RMN (300 MHz; DMSO-d_6), δ/ppm (J/Hz): 9.06 (dd, H2); 8.69 (dd, H4); 8.69 (dd, H9); 8.05 (dd, H7); 7.74 (dd, H3); 7.51 (dd, H8); 6.88 (s, H6); 6.13 (s, NH_2). ($J_{23} = J_{89} = 4.2$; $J_{24} = J_{79} = 1.7$; $J_{34} = J_{78} = 8.3$).

^{13}C -RMN (75 MHz; DMSO-d_6), δ/ppm : 177.6 (C5); 154.2 (C2 y C9); 152.1 (C10b); 139.8 (C6a); 135.5 (C4 y C7); 129.0 (C10a); 125.1 (C3 y C8); 122.8 (C4a); 79.1 (C6).



3.2.2. Preparación de la 5-octadecanamido-1,10-fenantrolina, 5-odaphen.

Se sigue el procedimiento de Barton et al. para la formación de amidas.²²⁴



Sobre una disolución de 0.73 g (3.0 mmol) de ácido octadecanoico (ácido esteárico) (Scharlau, purificado por recristalizaciones sucesivas de etanol y *n*-pentano) en 100 mL de cloroformo, enfriada a 0 °C, se añaden sucesivamente 0.34 g (3.0 mmol) de trietilamina (Merck) y 0.28 g (3.0 mmol) de cloroformiato de etilo (Fluka). Después de esperar 30 minutos para la formación del anhídrido mixto se adicionan, sin elevar la temperatura, 0.50 g (3.0 mmol) de **10**. Se calienta entonces la mezcla de reacción a reflujo durante 24 horas. Una vez alcanzada la temperatura ambiente se lava

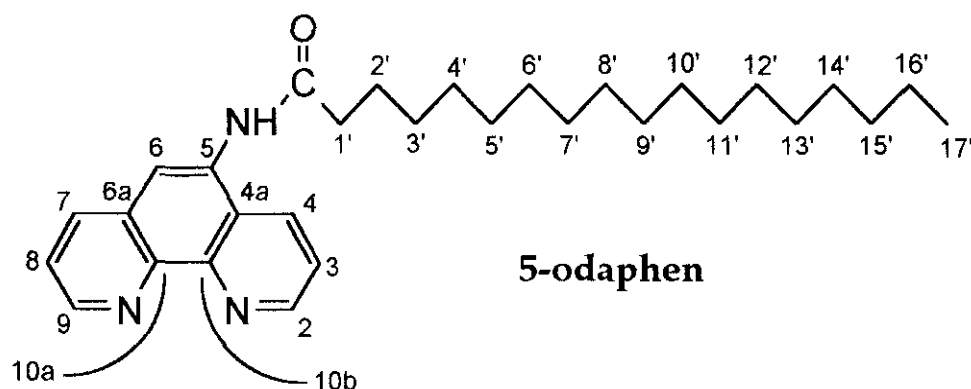
consecutivamente con ácido clorhídrico a pH 5, con agua, con disolución acuosa de carbonato sódico a pH 8 y nuevamente con agua. La fase clorofórmica se deja secar sobre sulfato de magnesio anhidro. Por evaporación del disolvente a presión reducida se obtiene una mezcla sólida de la que se aislan, por recristalización de metanol, 0.67 g de **5-odaphen** puro.

Rto.: 57%

T.F. = 94 - 96 °C.

UV-VIS (CHCl₃), λ/nm (ε/M⁻¹ cm⁻¹): 268 (23000), 239 (19000).

IR (KBr), ν/cm⁻¹: 3400, 3240 (ν_{N-H}); 2880, 2820 (ν_{C-H} alif.); 1640 (ν_{C=O}); 1530, 1460 (ν_{C-C} arom.); 730 (δ_{C-H} arom.).



¹H-RMN (300 MHz; CDCl₃), δ/ppm (J/Hz): 9.09 (d, H2 ó H9); 9.07 (d, H9 ó H2); 8.26 (d, H7 ó H4); 8.12 (d, H4 ó H7); 8.07 (sa, NH y H6); 7.56 (dd, H8 ó H3); 7.53 (dd, H3 ó H8); 2.52 (t, CH₂-1'); 1.79 (c, CH₂-2'); 1.26 (m, CH₂-3' a CH₂-16'); 0.88 (t, CH₃). (J₂₃, J₈₉ = 4.2; J₃₄, J₇₈ = 8.5; J_{1'2'} = 7.0; J_{2'3'} = 7.0; J_{16'17'} = 6.6).

¹³C-RMN (75 MHz; CDCl₃), δ/ppm: 172.8 (CO); 149.8, 149.5 (C9 y C2); 146.1 (C10b); 144.2 (C10a); 135.8 (C4 ó C7); 130.6 (C5); 130.1 (C7 ó C4); 128.1 (C6a); 124.2 (C4a); 123.3 (C6); 122.5 (C3 ó C8); 120.2 (C8 ó C3); 37.3 (C1'); 31.9 (C15'); 29.7 (C3' a C11'); 29.5 (C12'); 29.4 (C13'); 29.3 (C14'); 25.7 (C2'); 22.6 (C16'); 14.1 (CH₃).

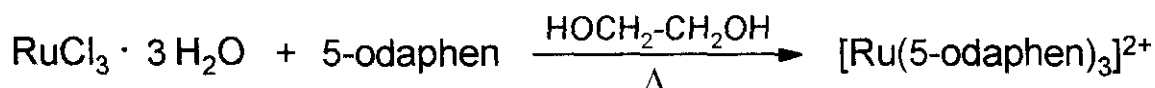
EM, m/z (%): 463 (1.8, M + 2); 462 (8.4, M + 1); 461 (25.6, M); 460 (6.0, M - 1, pérdida de H); 446 (1.6, M - 15, pérdida de CH₃); 432 (3.2), 418 (3.6), 404 (4.0), 390 (4.0), 376 (3.8), 362 (3.2), 348 (3.0), 334 (2.6), 320 (2.4), 306 (2.8), 292

(2.8), 278 (1.6), 264 (2.4) (pérdidas consecutivas de fragmentos CH₂); 250 (9.6, M - 211, McLafferty + 13); 237 (14.4, M - 224, McLafferty); 195 (100.0, pérdida de cetena).

Microanálisis, % exp. (% calc. para C₃₀H₄₃N₃O). C: 74.20 (75.41); H: 9.41 (9.59); N: 8.40 (8.51).

3.2.3. Preparación del tris(5-octadecanamido-1,10-fenantrolina)rutenio(II), [Ru(5-odaphen)₃]²⁺.

Para sintetizar este complejo se sigue el mismo procedimiento descrito en 3.1.6.a basado en el método de Rillema et al.,^{113a} salvo por lo que respecta a las etapas de aislamiento y purificación del producto.



Se mantiene durante 3 horas a reflujo una mezcla de 80 mg (0.3 mmol) de tricloruro de rutenio trihidratado (Janssen) y 490 mg (1.0 mmol) de **5-odaphen** en 30 mL de etilenglicol (Panreac, p.a.) en atmósfera de argón. Al enfriarse la mezcla comienza la precipitación del complejo, que se completa con la adición de 15 mL de agua. El sólido naranja se filtra y se lava con agua.

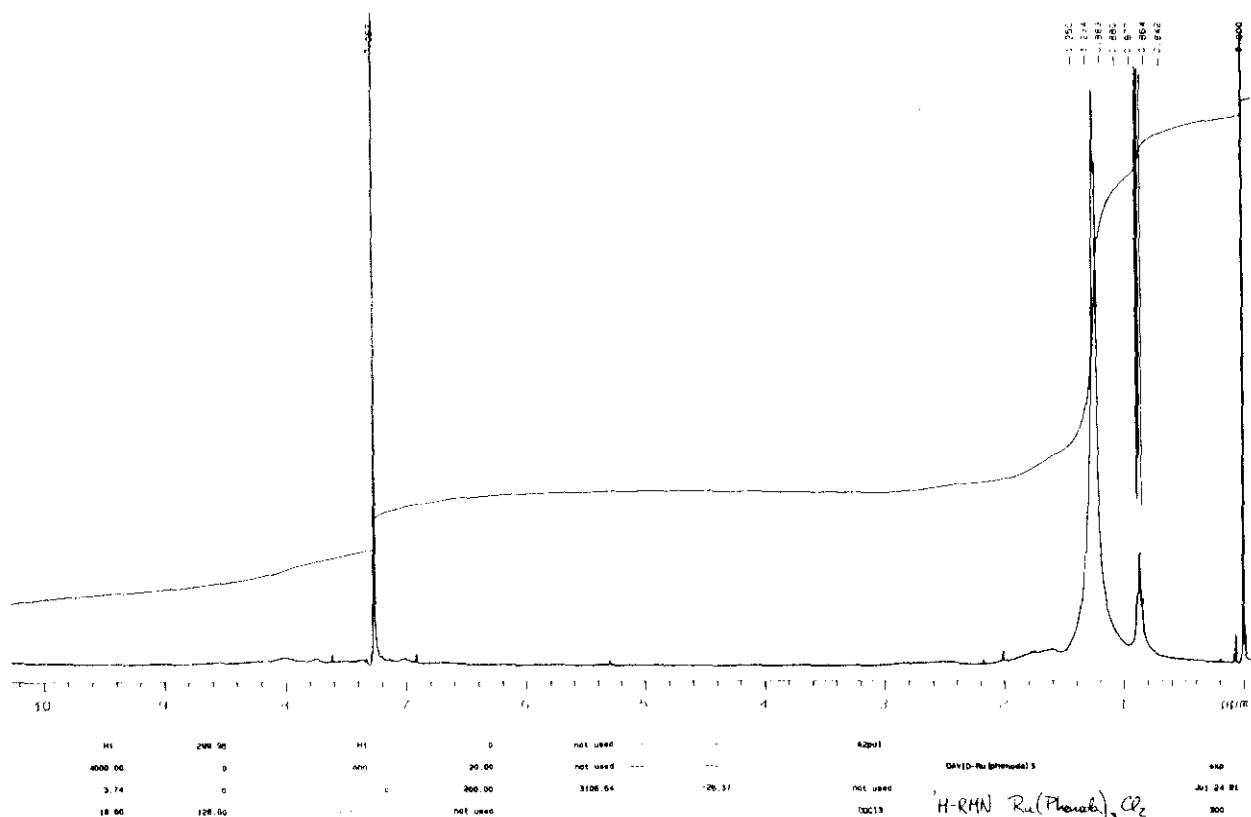
La purificación del [Ru(5-odaphen)₃]²⁺ sigue unas pautas completamente distintas a las que se detallaron en el apartado 3.1.6 para el resto de los tris-quelatos descritos en esta memoria, debido a las propiedades hidrófobas que el ligando **5-odaphen** confiere al nuevo complejo. En primer lugar, se realiza una precipitación por goteo de agua ligeramente acidulada con ácido clorhídrico (pH 4-5) sobre una disolución etanólica del producto crudo. El aislamiento total del [Ru(5-odaphen)₃]Cl₂ se consigue mediante cromatografía en columna, con Sephadex lipofílico LH-20 (Sigma) como fase estacionaria y metanol como eluyente. De este modo, se llega a separar el producto de la mayor parte de los restos de bis-complejo y ligando sin reaccionar que lo impurificaban. Se obtienen 0.43 g del compuesto como cloruro.

Rto.: 92%

UV-VIS (metanol), λ/nm ($\epsilon/\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$): 449 (8100); 422 (7600); 270 (37400); 251 (28400); 220 (35200).

IR (KBr), ν/cm^{-1} : 3440 ($\nu_{\text{N-H}}$); 2890, 2820 ($\nu_{\text{C-H}}$ alif.); 1720 ($\nu_{\text{C=O}}$).

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz; CDCl_3). La previsible autoasociación del catión $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$ (ver apartado 3.2.2 de resultados y discusión) impide el registro de un espectro de buena calidad. Presentamos, a continuación, uno de los obtenidos, en el que se aprecian las señales alifáticas propias de las cadenas octadecílicas y las aromáticas de los anillos de fenantrolina.



3.2.4. Purificación del $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$ por cromatografía en capa fina preparativa.

El análisis por CCF (fase estacionaria: gel de sílice; eluyente: *n*-butanol-ácido acético-agua 8:2:1, v/v/v) del $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$, sintetizado como se describe en el apartado anterior, muestra, además de la presencia de algunos restos de ligando y de bis-complejo, la existencia de dos productos, reconocibles por sendas manchas de color naranja vivo de R_f claramente distinto, que podrían corresponder a los isómeros *meridional* y *facial* del tris-complejo. Estos compuestos se han separado por CCF preparativa en las condiciones mencionadas. La desorción de la gel de sílice se realiza mediante lavado con ácido trifluoroacético (Aldrich), que disuelve el complejo. El método puede utilizarse también para eliminar pequeños restos de ligando de partida y bis-quelato intermedio, pero no se recomienda como método de purificación exclusivo, sino complementario al descrito en la sección 3.2.3.

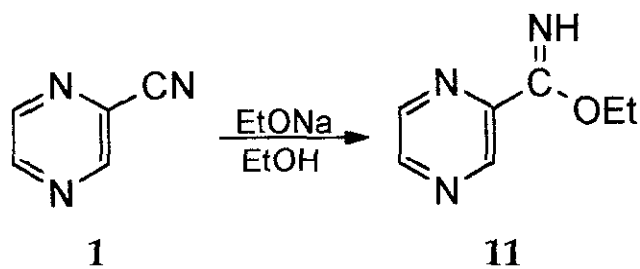
3.3. SONDAS MOLECULARES DE ALCOHOLES Y AGUA.

Uno de los compuestos luminiscentes indicadores correspondientes a este apartado, el **appzth**, es a la vez un intermedio en la síntesis de una de las sondas de pH y CO₂, por lo que su preparación se ha descrito en el apartado 3.1 de esta parte experimental.

3.3.1. Síntesis del 5-(4-aminofenil)-2-(2-pirazinil)oxazol, **appzox**.

El reactivo de partida es la 2-cianopirazina, **1**, cuya preparación, a partir de la 2-pirazinacarboxamida comercial, se ha descrito en la sección 3.1.1.1.

3.3.1.1. Preparación del 2-pirazinacarboximidato de etilo, **11**.²³¹



Se disuelven 0.35 g (5.14 mmol) de etóxido sódico (Fluka) en 40 mL de etanol absoluto (Panreac) y se añaden 4.75 g (0.045 mol) del nitrilo **1**, disueltos en otros 30 mL de etanol absoluto. Se agita la mezcla a temperatura ambiente durante 24 horas y, seguidamente, se añaden 0.3 mL (5.14 mmol) de ácido acético glacial (Panreac). La eliminación del disolvente a vacío, seguida de recristalización del crudo de reacción en *n*-pentano, proporciona 6.34 g de **11** puro en forma de cristales blancos.

Rto.: 95%

T.F. = 44 - 45 °C.

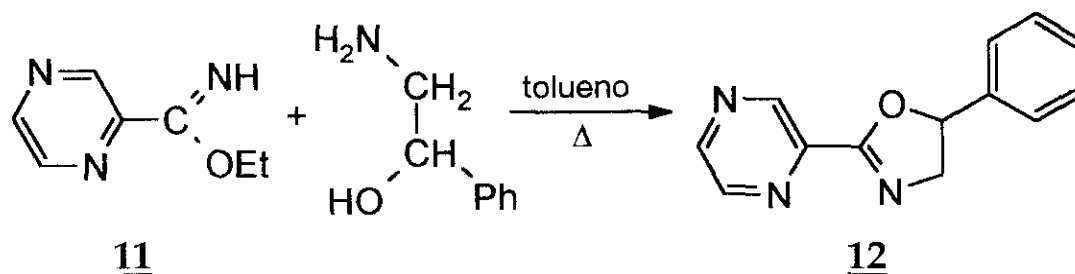
IR (KBr). ν/cm^{-1} : 3420, 3270 ($\nu_{\text{N-H}}$); 3090, 3020 ($\nu_{\text{C-H}}$ arom.); 2995, 2920 ($\nu_{\text{C-H}}$ alif.); 1650 ($\nu_{\text{C=NH}}$); 1575, 1530, 1460, 1405 ($\nu_{\text{C-C}}$ arom.)

$^1\text{H-RMN}$ (80 MHz; CDCl_3), δ/ppm (J/Hz): 9.20 (sa, NH); 9.10 (d, H3); 8.69 (d, H5); 8.62 (dd, H6); 4.49 (c, CH_2); 1.46 (t, CH_3). ($J_{36} = 1.3$, $J_{56} = 2.4$; $J_{\text{CH}_2\text{CH}_3} = 7.1$).

$^{13}\text{C-RMN}$ (20 MHz; CDCl_3), δ/ppm : 164.1 (C=NH); 145.8 (C5); 143.3 (C6); 142.2 (C3); 142.2 (C2); 62.0 (CH_2); 13.7 (CH_3).

3.3.1.2. Preparación del 5-fenil-2-(2-pirazinil)-4,5-dihidroxazol, 12.

Se ha realizado una adaptación de los métodos de Hughey et al.²³² y Orellana et al.,^{215b} con las condiciones propuestas por Oxley y Short.²³³

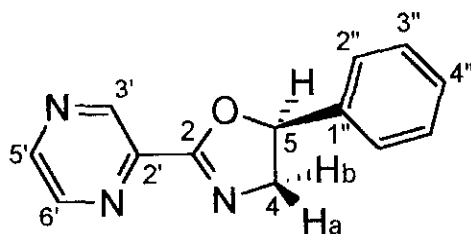


Se calienta a reflujo durante 3 horas una mezcla de 6.38 g (0.042 mol) del imidato 11 y 7.09 g (0.05 mol) de 2-fenil-2-hidroxiethylamina (Aldrich) en 50 mL de tolueno anhidro (SDS). La eliminación del disolvente a vacío, seguida de purificación por cromatografía rápida en columna sobre gel de sílice (eluyente: *n*-hexano-acetato de etilo 1:4, v/v) proporciona 6.34 g del producto con un alto grado de pureza (> 98%). No obstante, si se requiere una ulterior purificación, se puede conseguir por sublimación a 0.01 torr de presión y 70 °C de temperatura.

Rto.: 68%

T.F. = 45 - 46 °C.

IR (KBr), ν/cm^{-1} : 3020 ($\nu_{\text{C-H}}$ arom.); 2920, 2840 ($\nu_{\text{C-H}}$ alif.); 1630 ($\nu_{\text{C=N}}$); 1500, 1480, 1460, 1410 ($\nu_{\text{C-C}}$ arom.); 1250 ($\nu_{\text{C-O-C}}$ asim.); 1110 ($\nu_{\text{C-O-C}}$ sim.); 850, 770, 710 ($\delta_{\text{C-H}}$ arom.).

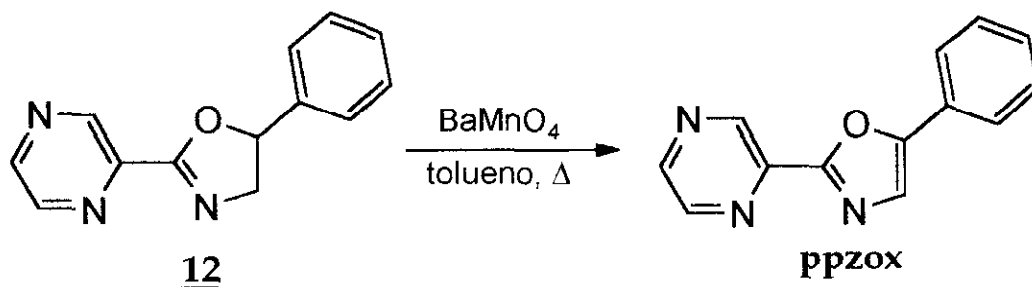
**12**

¹H-RMN (300 MHz; CDCl₃), δ/ppm (J/Hz): 9.31 (d, H3'); 8.70 (d, H5'); 8.70 (dd, H6'); 7.38 (m, Ph); 5.78 (dd, H5); 4.58 (dd, H4b); 4.13 (dd, H4a). ($J_{3'6'} = 1.2$, $J_{5'6'} = 2.7$; $J_{4b5} = 10.2$, $J_{4a5} = 8.4$, $J_{4a4b} = 15.6$).

¹³C-RMN (75 MHz; CDCl₃), δ/ppm: 161.2 (C2); 146.2 (C5'); 145.0 (C6'); 144.1 (C3'); 142.2 (C2'); 139.7 (C1''); 128.6 (C3''); 128.4 (C4''); 125.8 (C2''); 81.8 (C5); 62.9 (C4).

3.3.1.3. Preparación del 5-fenil-2-(2-pirazinil)oxazol, ppzox.

La aromatización del anillo de dihidroxazol se ha conseguido empleando como agente oxidante manganato de bario.²³² Éste se prepara previamente a partir de permanganato potásico (Probus) y cloruro de bario (Probus), utilizando yoduro potásico (Panreac) como reductor en hidróxido sódico (Panreac) acuoso.²³⁴



La reacción supone la calefacción a reflujo, en atmósfera de argon durante 7 días, de una mezcla de 7.9 g (0.035 mol) de **12** y 45.13 g (0.176 mol) de manganato de bario en 330 mL de tolueno. Se elimina el exceso de BaMnO₄ por filtración y el filtrado, una vez eliminado el disolvente, se purifica por cromatografía rápida en columna sobre gel de sílice, eluyendo

con una mezcla de cloruro de metileno-acetato de etilo 9:1, v/v. Así se obtienen 0.63 g de **ppzox** muy puro (> 98%). Una muestra analítica se puede obtener por sublimación a vacío (0.005 torr; 116 °C).

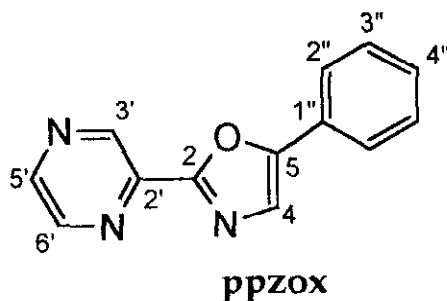
Rto.: 8%

T.F. = 157 - 159 °C.

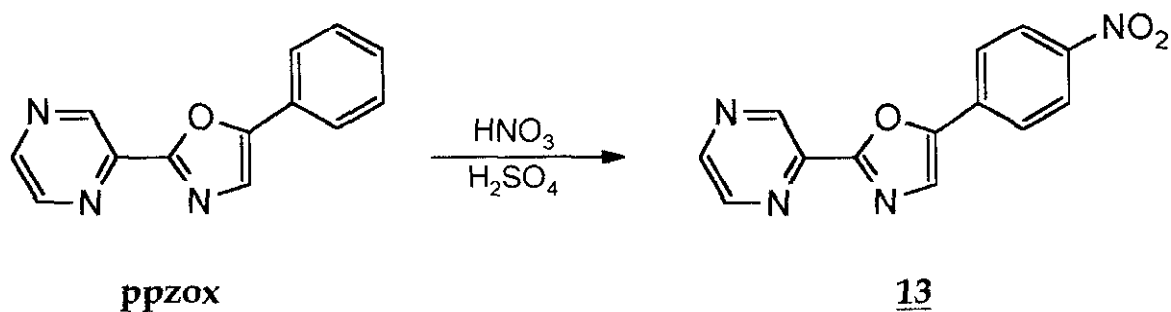
IR (KBr), ν/cm^{-1} : 3060 ($\nu_{\text{C-H}}$ arom.); 1540, 1485, 1460, 1445 ($\nu_{\text{C-C}}$ arom.); 870, 820, 770, 690 ($\delta_{\text{C-H}}$ arom.).

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz; CDCl_3) δ/ppm (J/Hz): 9.41 (d, H3'); 8.71 (dd, H6'); 8.65 (d, H5'); 7.78 (dd, H2''); 7.57 (s, H4); 7.49-7.35 (m, H3'' y H4''). ($J_{3'6'}$ = 1.5, $J_{5'6'}$ = 2.4; $J_{2''3''}$ = 6.9, $J_{2''4''}$ = 1.5)

$^{13}\text{C-RMN}$ (75 MHz; CDCl_3), δ/ppm : 157.6 (C2); 153.0 (C2'); 144.8 (C5'); 144.2 (C6'); 143.3 (C3'); 141.7 (C5); 129.0 (C4); 128.8 (C3''); 126.9 (C1''); 124.5 (C2''); 123.9 (C4'').



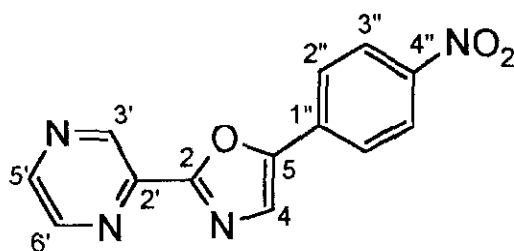
3.3.1.4. Preparación del 5-(4-nitrofenil)-2-(2-pirazinil)oxazol, **13**.



Se sigue el mismo procedimiento utilizado para la nitración del ppzth.²²⁶ De este modo, a partir de 300 mg (1.35 mmol) de ppzox, se obtienen 0.35 g del nitrocompuesto **13**, que no requiere purificación alguna.

Rto.: 98%

IR (KBr), ν/cm^{-1} : 3100, 3050 ($\nu_{\text{C-H}}$ arom.); 1600 ($\nu_{\text{C-C}}$ arom.); 1510 (ν_{NO_2} asim.); 1340 (ν_{NO_2} sim.); 850, 750, 720 ($\delta_{\text{C-H}}$ arom.).



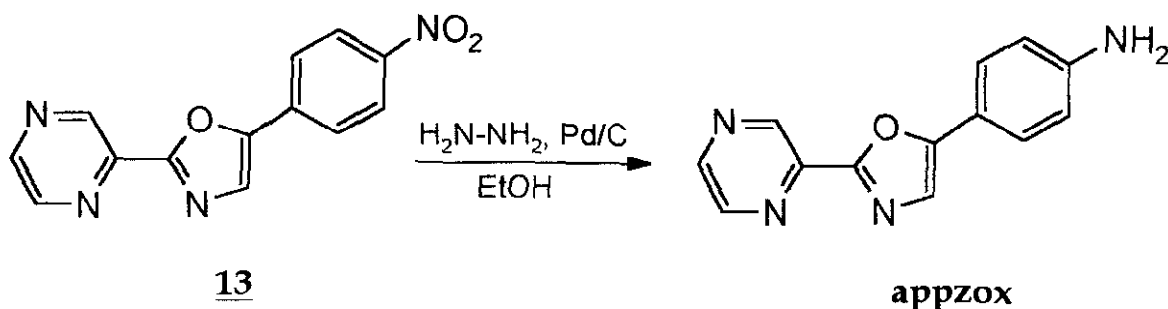
13

¹H-RMN (300 MHz; CDCl₃), δ/ppm (J/Hz): 9.47 (d, H3'); 8.76 (dd, H6'); 8.72 (d, H5'); 8.35 (H3''), 7.97 (H2'') (sistema AA'XX'); 7.79 (s, H4). ($J_{3'6'} = 1.5$, $J_{5'6'} = 2.4$; $J_{2''3''} = 9.0$).

¹³C-RMN (75 MHz; CDCl₃), δ/ppm : 159.1 (C2); 150.8 (C2'); 147.4 (C4''); 145.5 (C5'); 144.4 (C6'); 143.7 (C3'); 141.3 (C5); 132.7 (C1''); 127.0 (C4); 125.0 (C2''); 124.4 (C3'').

3.3.1.5. Preparación del 5-(4-aminofenil)-2-(2-pirazinil)oxazol, appzox.

La reducción del grupo nitro del compuesto **12**, para obtener el appzox, se realizó por el mismo procedimiento que condujo al ppzth.²²⁷

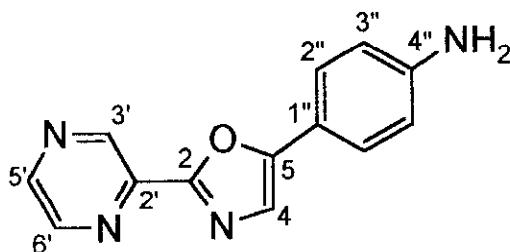


A partir de 0.225 g (0.84 mmol) de **12**, 0.4 mL de hidrato de hidrazina (Probus, 98%) y 30 mg de paladio sobre carbón activo al 10% (Fluka) en 45 mL de etanol (95%), tras 1.5 horas de calefacción a 65 °C y eliminación del catalizador, se obtiene el **appzox** crudo, que se purifica por cromatografía rápida en columna (fase estacionaria: gel de sílice; fase móvil: *n*-pentanoacetato de etilo 1:1, v/v). Se obtienen así 0.170 g del producto. Una muestra analítica se obtiene por sublimación a vacío (0.01 torr; 170 °C).

Rto.: 85%

T.F. = 199 - 201 °C.

IR (KBr), ν/cm^{-1} : 3310 (ν_{NH_2} libre); 3200 (ν_{NH_2} asoc.); 1590, 1490, 1430, 1400 ($\nu_{\text{C-C}}$ arom.); 820, 800, 750 ($\delta_{\text{C-H}}$ arom.).



appzox

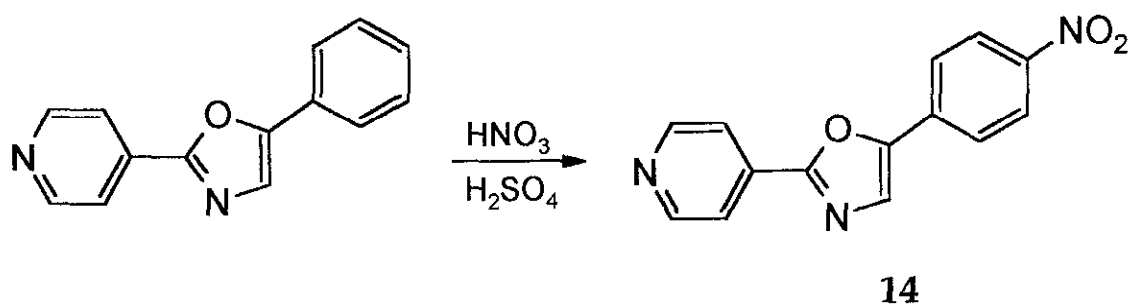
¹H-RMN (300 MHz; CDCl₃), δ/ppm (J/Hz): 9.38 (d, H3'); 8.68 (dd, H6'); 8.61 (d, H5'); 7.60 (d, H2''); 7.39 (s, H4); 6.74 (d, H3''); 3.91 (sa, NH₂). ($J_{3'6'} = 1.5$, $J_{5'6'} = 2.4$; $J_{2''3''} = 8.7$).

¹³C-RMN (75 MHz; CDCl₃), δ/ppm : 156.7 (C2); 153.9 (C2'); 147.4 (C4''); 144.4 (C5'); 144.2 (C6'); 143.2 (C3'); 142.1 (C5); 126.2 (C2''); 121.7 (C4); 117.5 (C1''); 115.0 (C3'').

Microanálisis, % exp. (% calc. para C₁₃H₁₀N₄O): C: 65.59 (65.54); H: 4.60 (4.23); N: 22.32 (23.51).

3.3.2. Síntesis del 5-(4-aminofenil)-2-(4-piridil)oxazol, appyox.

La reciente comercialización del 5-fenil-2-(4-piridil)oxazol, compuesto empleado como colorante para láseres, ha facilitado enormemente la síntesis de nuestra molécula objetivo por simple nitración y reducción de este intermedio.

3.3.2.1. Preparación del 5-(4-nitrofenil)-2-(4-piridil)oxazol, 14.

El procedimiento es el mismo descrito para la nitración del **ppzth** (apartado 3.1.3.1).²²⁶ A partir de 0.94 g (4.23 mmol) de 5-fenil-2-(4-piridil)oxazol (Aldrich) se obtienen 1.06 g del nitroderivado 14. En este caso, debido a la mayor basicidad del átomo de N del anillo piridínico, es necesario emplear mayor cantidad de hidróxido sódico en la neutralización de la mezcla sulfonítrica, para obtener el producto sin protonar; se recomienda llevar la solución hasta pH neutro o básico, antes de filtrar.

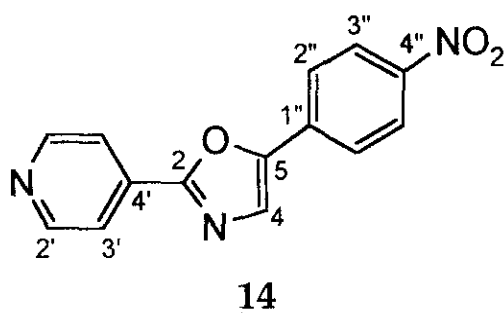
Rto.: 94%

T.F. = 192 - 194 °C.

IR (KBr), ν/cm^{-1} : 3040 ($\nu_{\text{C-H}}$ arom.); 1610, 1580, 1420 ($\nu_{\text{C-C}}$ arom.); 1520 (ν_{NO_2} asim.); 1340 (ν_{NO_2} sim.); 860, 840, 760, 720, 700 ($\delta_{\text{C-H}}$ arom.).

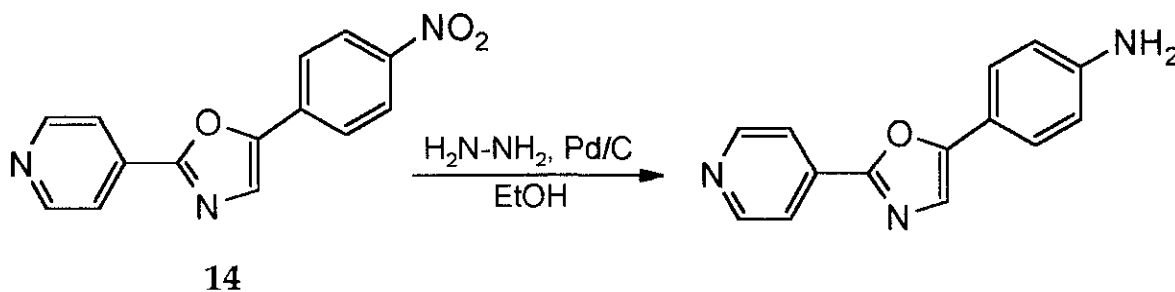
¹H-RMN (300 MHz; DMSO- d_6), δ/ppm (J/Hz): 8.80 (H2'), 8.03 (H3') (sistema AA'XX'); 8.36 (H3''), 8.14 (H2'') (sistema AA'MM'); 8.24 (s, H4). ($J_{2'3'} = 5.5$; $J_{2''3''} = 9.1$).

¹³C-RMN (75 MHz; DMSO- d_6), δ/ppm : 159.5 (C2); 150.7 (C2'); 149.9 (C5); 146.9 (C4''); 132.9, 132.7 (C4' y C1''); 128.2 (C4); 125.1 (C2''); 124.4 (C3''); 119.8 (C3').



3.3.2.2. Preparación del 5-(4-aminofenil)-2-(4-piridil)oxazol, appyox.

Se obtiene por reducción del nitrocompuesto **14** con el sistema hidrazina/paladio sobre carbono.²²⁷

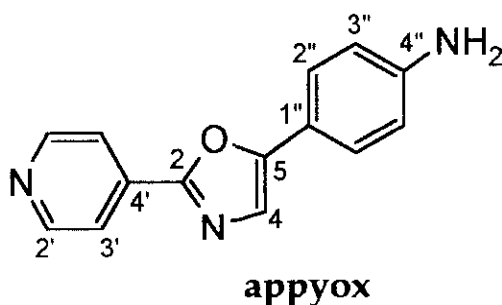


A partir de 0.80 g (2.99 mmol) de **14**, 1 mL de hidrato de hidrazina (Fluka, > 99%) y 100 mg de paladio sobre carbón activo al 10% (Fluka) en 95 mL de etanol del 95% destilado, tras 1 hora de calefacción a 65 °C, se obtienen, por concentración y enfriamiento del propio disolvente de la reacción, 0.54 g de **appyox** de gran pureza. Puede conseguirse una muestra analítica por sublimación a vacío (0.005 torr; 170 °C).

Rto.: 76%

T.F.: descompone.

IR (KBr), ν/cm^{-1} : 3400, 3300 (ν_{NH_2} libre); 3160 (ν_{NH_2} asociado); 1640, 1600, 1590, 1500, 1480 ($\nu_{\text{C-C}}$ arom.); 840, 830, 700 ($\delta_{\text{C-H}}$ arom.).

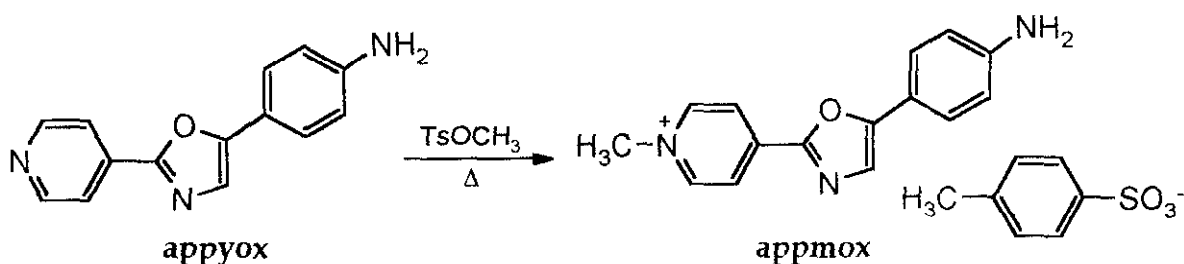


¹H-RMN (300 MHz; DMSO- d_6), δ/ppm (J/Hz): 8.74 (H2'); 7.92 (H3') (sistema AA'XX'); 7.57 (s, H4); 7.56 (H2''), 6.71 (H3'') (sistema AA'XX'); 5.56 (sa, NH₂). ($J_{2'3'} = 5.8$; $J_{2''3''} = 8.6$).

^{13}C -RMN (75 MHz; DMSO- d_6), δ /ppm: 156.3 (C2); 153.4 (C5); 150.5 (C2'); 150.0 (C4''); 133.6 (C4'); 125.8 (C2''); 120.9 (C3'); 119.1 (C4); 114.2 (C1''); 113.8 (C3'').

3.3.3. Preparación del *p*-toluenosulfonato de 5-(4-aminofenil)-2-(1-metil-4-piridinio)oxazol, appmox.

La metilación del átomo de nitrógeno piridínico del **appyox** se realiza según el procedimiento que Ott et al. han aplicado a sustratos relacionados.²³⁵



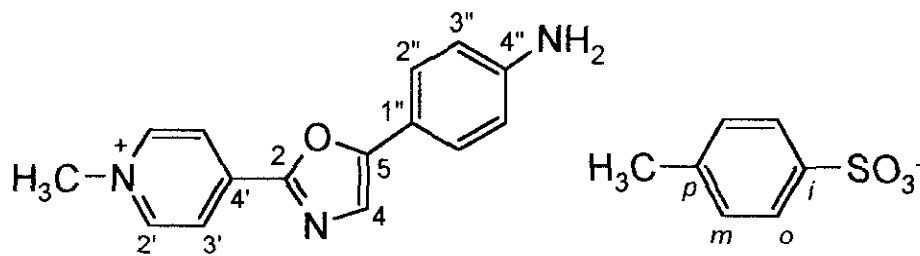
Una mezcla de 100 mg (0.42 mmol) de **appyox** y 4.01 g (21.5 mmol) de *p*-toluenosulfonato de metilo (Merck, > 98%, previamente purificado por destilación a vacío) se calienta a 130 °C durante 6 minutos. Transcurrido este tiempo se añade éter dietílico anhidro, lo que provoca la precipitación del producto como sólido rojo, que se recoge por filtración y se lava con éter dietílico anhidro. Se purifica por disolución en metanol y precipitación con éter anhidro. Se obtienen así 0.206 g de **appmox** puro.

Rto.: 82%

T.F. = 258 - 259 °C.

IR (KBr), ν/cm^{-1} : 3420, 3340 (ν_{NH_2} libre); 3200 (ν_{NH_2} asoc.); 1640, 1610, 1540, 1500, 1480 ($\nu_{\text{C-C}}$ arom.); 1190 (ν_{SO_2} asim.); 1030 (ν_{SO_2} sim.); 940, 890 ($\delta_{\text{C-H}}$ arom.); 810, 690 ($\nu_{\text{S-O}}$).

^1H -RMN (300 MHz; DMSO- d_6), δ /ppm (J/Hz): 9.01 (d, H2'); 8.52 (d, H3'); 7.90 (s, H4); 7.71 (H2''), 6.81 (H3'') (sistema AA'XX'); 7.49 (*o*-H), 7.10 (*m*-H) (sistema AA'XX'); 4.35 (s, CH₃); 3.89 (sa, NH₂); 2.28 (s, CH₃ tosilato).

**appmox**

^{13}C -RMN (75 MHz; DMSO- d_6), δ /ppm: 155.6 (C2); 154.1 (C5); 148.4 (C4''); 146.1 (C2'); 145.6 (C4'); 139.0 (*p*-C); 137.5 (*i*-C); 127.9 (*m*-C); 126.5 (C2''); 125.4 (*o*-C); 123.7 (C4); 122.0 (C3'); 115.2 (C3''); 114.9 (C1''); 47.4 (CH₃); 20.7 (CH₃ tosilato).

4. CARACTERIZACIÓN FOTOQUÍMICA DE LOS INDICADORES.

Algunos de los experimentos realizados para la caracterización fotofísica y fotoquímica de nuestros compuestos sonda se han hecho con arreglo a métodos bien establecidos y profusamente descritos en la bibliografía general sobre Fotoquímica. En los siguientes epígrafes, se detallan los procedimientos seguidos en aquellos aspectos de caracterización que nos han parecido más novedosos o que, por alguna razón, consideramos merecedores de mayor comentario.

4.1. SONDAS MOLECULARES DE CO₂ Y pH.

4.1.1. Determinación del pK_a del estado fundamental de los indicadores.

La determinación de la constante de acidez de los complejos de rutenio(II) en su estado fundamental se ha realizado mediante **valoración espectrofotométrica**, por espectroscopía de absorción UV-VIS.

La protonación de los complejos de Ru(II) con ligandos de tipo pirazina en su estado fundamental no se consigue en extensión apreciable sino en regiones de pH inferior a 0 unidades, debido a su escasa basicidad.^{46a} Por ello, el procedimiento utilizado ha consistido en preparar una serie de disoluciones acuosas con concentraciones crecientes de ácido sulfúrico y siempre la misma concentración del indicador.

En nuestro caso, el volumen final de las disoluciones es siempre el mismo (5 mL) y se consigue a partir de 0.5 mL de una disolución acuosa de complejo de concentración conocida (en torno a 10⁻⁴ M) y las cantidades adecuadas de agua y ácido sulfúrico concentrado (Merck, 96%) medidas por pesada directa. De este modo, se preparan disoluciones acuosas del complejo en concentración aproximada 10⁻⁵ M y con porcentajes perfectamente controlados de H₂SO₄. Éste último extremo es importante, puesto que los valores del **parámetro de acidez de Hammett (H₀)** sólo están tabulados para determinadas concentraciones porcentuales del ácido usado.²³⁶ Lo mismo ocurre con las densidades finales de las

disoluciones,²³⁷ que deben ser conocidas con exactitud para asegurar la constancia en la concentración del complejo.

Siendo d_F la densidad de la disolución final y %peso la concentración porcentual de ácido sulfúrico en la disolución final, se llega a las siguientes expresiones para las masas de H_2SO_4 del 96% y agua que han de mezclarse:

$$\text{Peso de } H_2SO_4 \text{ (96\%)} = 5 d_F \frac{\% \text{ peso}}{96}$$

$$\text{Peso de } H_2O = 5 d_F \left(1 - \frac{\% \text{ peso}}{96} \right)$$

con la advertencia de que el peso de agua incluye 0.5 mL de la disolución madre (10^{-4} M) de complejo.

De esta manera se prepararon disoluciones de complejo con concentraciones de H_2SO_4 en el intervalo de 0 a 85% (p/p). Se registra el espectro de absorción UV-VIS de cada una de ellas (la muestra de referencia es siempre una disolución acuosa de ácido sulfúrico de la misma concentración, preparada también por pesada, pero sin añadir cantidad alguna del compuesto de coordinación), manteniendo invariantes las condiciones de registro en lo que se refiere a paso óptico, velocidad de barrido e intervalo de recogida de datos.

La representación gráfica de todos los espectros muestra la existencia de varios puntos isobésticos y permite diferenciar los máximos de absorción de las distintas especies en equilibrio. Es especialmente acusado el desplazamiento hacia el rojo de la banda de absorción MLCT al protonarse el complejo, que provoca un cambio de color del naranja de la disolución acuosa al violeta de las más concentradas en ácido.

La representación gráfica de la absorbancia en estos máximos frente al parámetro H_0 da lugar, como cabía esperar, a curvas sigmoidales, cuyo punto de inflexión es el valor de pK_a buscado.

Los cambios de absorción observados son completamente reversibles si se neutralizan las disoluciones ácidas.

4.1.2. Determinación del pK_a del estado excitado de los complejos de Ru(II).

Para determinar el pK_a del estado excitado de los complejos se prepararon dos disoluciones:

1. Una disolución 1 M en hidróxido sódico (Carlo Erba, para análisis) que incluye una **concentración conocida del indicador** del orden de 10^{-6} M.
2. Una disolución 1 M en ácido clorhídrico (Carlo Erba, para análisis) que incluye también el **complejo exactamente en la misma concentración**.

La valoración se realizó por medida del pH (Crison pH 2001) y la intensidad de luminiscencia de las disoluciones resultantes tras adición de alícuotas sucesivas de una de las disoluciones anteriores sobre la otra.

La representación gráfica de la intensidad de emisión relativa al máximo (medio alcalino) frente al pH nos da una curva sigmoideal cuyo punto de inflexión refleja el pK_a^* aparente (ver apartado 3.1.3.2 de la sección de **resultados y discusión**).

4.2. SONDAS MOLECULARES DE OXÍGENO. DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE STERN-VOLMER.

La desactivación de la emisión de luminiscencia del indicador $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$ por el oxígeno en disolución, puede medirse mediante la constante de Stern-Volmer, K_{SV} , cuyo valor se determina, en ausencia de desactivación estática, a partir de las intensidades de luminiscencia (ecuación 10) o de los tiempos de vida de emisión (ecuación 11), indistintamente:⁵⁰

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{\text{SV}} [\text{O}_2] \quad (10)$$

$$\frac{\tau_0}{\tau} = 1 + K_{\text{SV}} [\text{O}_2] \quad (11)$$

siendo I_0 y τ_0 , respectivamente, la intensidad de luminiscencia y el tiempo de vida de emisión en ausencia del desactivador.

Las medidas se realizaron a partir de disoluciones de concentración aproximadamente 10^{-6} M en complejo, equilibradas por burbujeo con la mezcla de gases en la proporción adecuada oxígeno/argon, preparadas con ayuda de un sistema de tres rotámetros Aalborg Instruments. Para una estimación de K_{SV} se han utilizado disoluciones equilibradas con argon (0% de O_2), aire (21% de O_2) y oxígeno (100% de O_2).

4.3. SONDAS MOLECULARES DE ALCOHOLES Y AGUA.

4.3.1. Determinación de los tiempos de vida de los estados excitados de las sondas.

Los cortos tiempos de vida de emisión de las sondas de alcoholes han aconsejado el empleo de hidrógeno como gas en la lámpara de descarga del equipo de cronometraje de fotón único (presión: 0.69 bar; separación entre electrodos: 1.0 mm), pues se consiguen así pulsos más cortos ($W_{1/2} \approx 1$ ns) aunque de menor intensidad, lo cual no constituye problema alguno para la medida de las muestras en disolventes no hidroxílicos, debido al elevado rendimiento cuántico de fluorescencia de estos compuestos. Las concentraciones usadas fueron del orden de 10^{-6} a 10^{-7} M.

No obstante, debido a la baja intensidad de emisión de las disoluciones alcohólicas de los diariloxazoles, la intensidad del pulso de la lámpara de descargas de hidrógeno no fue suficiente, por lo que ha sido necesario llenar la lámpara con nitrógeno (presión: 1.40 bar; separación entre electrodos: 0.3 mm) para las medidas de luminiscencia con resolución temporal en etanol.

4.3.2. Desactivación por alcoholes.

Las medidas de desactivación de la fluorescencia de los indicadores por alcoholes se realizaron a partir de disoluciones 10^{-7} M de aquéllos en tolueno, con distintas concentraciones de alcoholes dentro del intervalo de 0 a 4% en volumen. Estas muestras se preparan por mezcla de un cierto volumen, siempre el mismo, de una disolución madre más concentrada del compuesto en tolueno, la cantidad adecuada de alcohol y tolueno hasta enrasar a un volumen final también fijo. La comprobación de la existencia de respuesta a los alcoholes se obtiene al registrar espectros de emisión de las distintas muestras en idénticas condiciones y compararlos.

5. INMOVILIZACIÓN DE ALGUNOS DE LOS INDICADORES EN SOPORTES SÓLIDOS PARA SU EMPLEO EN TERMINALES SENSIBLES DE FIBRA ÓPTICA.

5.1. INMOVILIZACIÓN DEL $[\text{Ru}(\text{pzth})(\text{tap})_2]^{2+}$ EN UNA RESINA DE INTERCAMBIO CATIÓNICO.

A la vista de los excelentes resultados obtenidos por Orellana et al.^{46a} en su sensor para CO_2 basado en la luminiscencia del compuesto $[\text{Ru}(\text{pzth})_3]^{2+}$, se sigue el mismo procedimiento de inmovilización para el nuevo indicador.²³⁸ El soporte es la resina de intercambio catiónico CM-Sephadex[®].

Sobre 5 mL de una disolución 10^{-4} M de $[\text{Ru}(\text{pzth})(\text{tap})_2]^{2+}$ en agua, se añaden 50.6 mg de CM-Sephadex C-25 (Farmacia). La mezcla se agita en la oscuridad durante una hora, para que se produzca el atrapamiento, y, a continuación, se filtra para eliminar el disolvente, se lava con agua y se deja secar en corriente de aire. Se toman 20 mg de resina seca cargada con el complejo y se añaden 20 μL de disolución reguladora de ftalato ácido de potasio (Merck), 0.1 M a pH 7.25, y una gota de una disolución acuosa de azida sódica al 0.1% como conservante. Se obtiene así el gel que se emplea como fase reactiva de un sensor para CO_2 en un dispositivo experimental consistente en una célula de flujo como la que se representa en la **Figura 17**.

La medida con fibra óptica se realiza en un espectrómetro Guided Wave 260, dotado con una lámpara de wolframio-halógeno de 20 W de potencia. La luz de excitación se monocroma con un filtro de banda ancha con máximo de transmisión a 400 nm (Oriel, ancho de banda: 50 nm). La emisión del indicador se recoge a 615 nm, después de atravesar un filtro de corte que deja pasar la radiación a partir de 530 nm (Oriel). La señal se detecta mediante un fotomultiplicador de rango extendido (Hamamatsu R889) y se recoge y procesa en un computador Toshiba T3200SX, mediante el software proporcionado por Guided Wave (Versión 1.0).

Las distintas mezclas CO_2/Ar se preparan con un sistema de tres rotámetros (Aalborg) y se saturan de vapor de agua antes de su entrada en la célula de flujo.

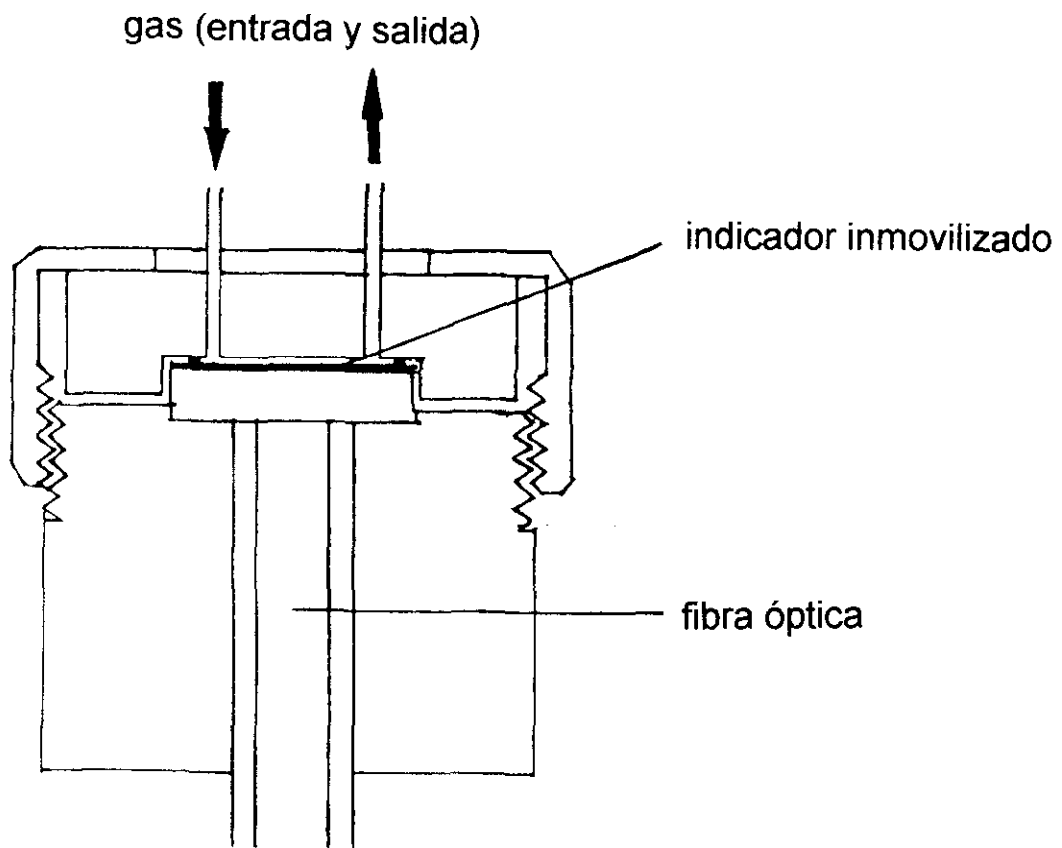


Figura 17. Esquema del dispositivo empleado para la monitorización de CO_2 con un sensor de fibra óptica.

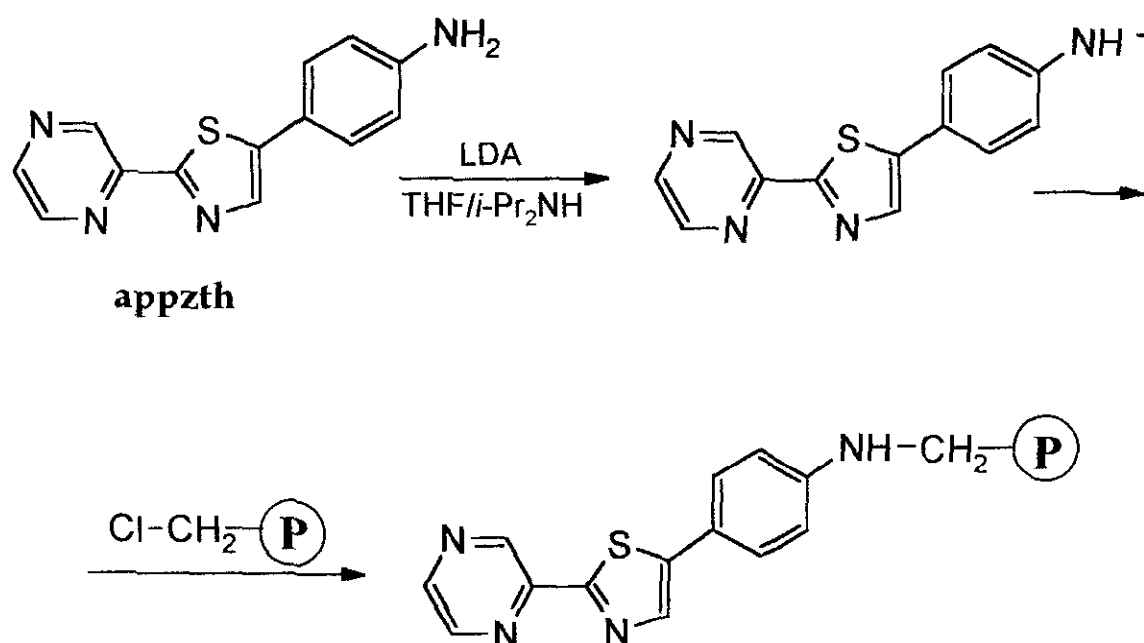
5.2. INMOVILIZACIÓN DEL $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$ EN UNA MATRIZ DE SILICONA.

El indicador para oxígeno $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$ se ha inmovilizado en un polímero de silicona sin contenido alguno de gel de sílice. Para ello, se prepara una mezcla homogénea de 4 mg del complejo disueltos en 7 mL de tolueno y 200 mg de prepolímero de silicona (tipo RTV), que se extiende sobre una membrana de Mylar® (Dupont; 175 μm de espesor, 2.5 \times 9.5 cm de superficie) y se calienta a 110 $^\circ\text{C}$ durante 36 horas. A continuación, se deposita una capa de 25 μm de espesor de silicona negra (K-26, Quilosa), que aísla el terminal de la luz exterior, y se calienta durante otras 36 horas a 110 $^\circ\text{C}$.

La membrana así construida se coloca en una célula de flujo como la representada en la **Figura 17**, con el fin de estudiar su respuesta frente a mezclas de oxígeno y argón en distintas proporciones, preparadas en un sistema mezclador de gases. Las variaciones de la intensidad de luminiscencia del terminal de fibra óptica se miden en un espectrofluorímetro Perkin-Elmer LS-50, descrito en el **apartado 2.5** de esta **parte experimental**. La luz de excitación se monocroma a 460 nm y la emisión se recoge a 593 nm, después de atravesar un filtro de corte de 530 nm.

5.3. INMOVILIZACIÓN DEL INDICADOR appzth EN EL POLÍMERO DE MERRIFIELD.

El indicador para alcoholes **appzth** se inmovilizó mediante anclaje covalente a un copolímero de estireno/divinilbenceno clorometilado (polímero de Merrifield). El proceso supone la preparación de la base conjugada del compuesto sonda por tratamiento con diisopropilamiduro de litio (LDA) en THF/diisopropilamina y la posterior sustitución nucleófila de los átomos de cloro unidos a átomos de carbono de tipo bencénico del polímero de Merrifield.



(P): polímero de Merrifield

Antes de llevar a cabo la funcionalización, se prepara el LDA por reacción de 5 mg (0.050 mmol) de diisopropilamina anhidra (Aldrich) en 1 mL de THF anhidro (recién destilado sobre hidruro de litio y aluminio en atmósfera de argón) con 0.050 mmol de *n*-butillitio (Aldrich, disolución 1.6 M en *n*-hexano). Este reactivo se valoró previamente con *N*-pivaloil-2-toluidina (Aldrich). Sobre la base así preparada se añaden, en atmósfera inerte, 6 mg (0.024 mmol) de **appzth** en 1 mL de THF anhidro. La disolución se agita durante 15 minutos a temperatura ambiente y, a continuación, se

pasa, a través de una cánula, hasta otro recipiente que contiene una suspensión de 0.203 g (0.203 mmol de Cl reemplazable) de polímero de Merrifield (Merck, secado previamente a 0.05 torr durante 12 horas) en 3 mL de THF anhidro. La mezcla resultante se calienta a reflujo durante 18 horas, se filtra y se lava con varias porciones de THF, tolueno, cloroformo y acetona, a temperatura ambiente y a reflujo de todos estos disolventes, con el fin de eliminar los residuos de producto no inmovilizado. Las microesferas del polímero, teñidas de color amarillo-naranja, se filtran por succión y se almacenan a temperatura ambiente.

La fase reactiva así obtenida se utiliza en una célula de flujo similar a la descrita para el sensor de CO₂ (**apartado 5.1** de esta **parte experimental**, ver **Figura 17**) y las medidas se realizan pasando distintas mezclas de gasolina (CLH) con cantidades conocidas de metanol. La señal de fluorescencia del indicador inmovilizado en el terminal de fibra óptica se cuantifica con el espectrofluorímetro Perkin-Elmer LS-50 cuya configuración se describe en el **apartado 2.5** de la **parte experimental**. La fase reactiva se excita a 414 nm y la fluorescencia se recoge a 471 nm, tras pasar por un filtro de corte de 430 nm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. INTRODUCCIÓN.

El contenido fundamental del trabajo recogido en esta Memoria es la síntesis y caracterización de nuevos indicadores luminiscentes para la determinación óptica de pH/CO₂, oxígeno y alcoholes/ agua.

En primer lugar, nos centraremos en los detalles relacionados con la síntesis de los nuevos compuestos sonda, comentando los métodos seleccionados, justificando dicha selección y tratando de racionalizar los resultados. La variedad estructural de las moléculas objetivo priva de toda generalidad sintética a este trabajo, por lo que cada compuesto requiere prácticamente una discusión aparte. No obstante, en aquellos casos en los que sí se ha seguido un método preparativo general (como en la obtención de los tris-quelatos de rutenio(II) y en las nitraciones y reducciones de los 5-fenil-2-heteroaril-1,3-azoles), se discuten los resultados de manera conjunta.

En segundo lugar, se comentarán los aspectos relativos a la caracterización de los indicadores luminiscentes. Dado que nuestro objetivo es la preparación de compuestos con una utilidad analítica concreta, un aspecto importante es la caracterización de su comportamiento fotoquímico frente al analito de interés. Por ello, hemos preferido estructurar este apartado de la siguiente manera: cada tipo de sondas se agrupa por separado; dentro de cada grupo, se comentan primero los aspectos de caracterización estructural y, a continuación, los relativos a su fotofísica; para finalizar, se discuten los resultados fotoquímicos antes aludidos, en función de la naturaleza concreta del indicador estudiado.

Por último, se incluyen los resultados analíticos preliminares de sensores de fibra óptica contruidos con algunas de las nuevas sondas moleculares y se presentan ejemplos de aplicación de estos sensores a la cuantificación de los analitos para los que se han diseñado. Esta parte del trabajo, realizada en estrecha colaboración con miembros del Departamento de Química Analítica de la Universidad Complutense de Madrid, demuestra la utilidad práctica de la labor realizada y creemos que es una buena prueba de las importantes ventajas que supone la utilización de moléculas con características estructurales y fotoquímicas específicamente diseñadas para su empleo en este tipo de dispositivos de medida.

2. PROCEDIMIENTOS DE SÍNTESIS.

Debido al carácter aplicado de nuestra línea de investigación, la síntesis no constituye un fin en sí mismo, sino un medio para fabricar los materiales empleados en los sensores de fibra óptica. Por ello, la elección de un método de síntesis concreto no busca desarrollar una estrategia novedosa ni optimizar las condiciones de los procedimientos experimentales. Por el contrario, nuestros objetivos requieren llegar a las moléculas deseadas a través de rutas sintéticas tan sencillas como sea posible; las consideraciones principales son el número de pasos de reacción del procedimiento de síntesis propuesto y la elección de precursores asequibles, a ser posible comerciales o fáciles de preparar.

2.1. SÍNTESIS DEL ppzth.

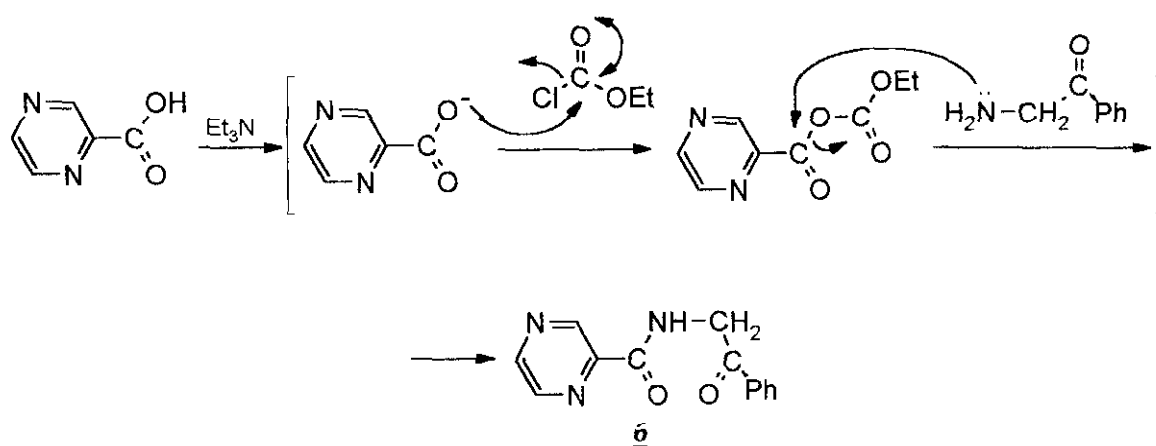
La bibliografía general sobre preparación de tiazoles proporciona un número considerable de estrategias. Teniendo en cuenta la asequibilidad de los reactivos y el número de etapas de reacción involucradas, son dos los métodos de síntesis que parecen más apropiados para la preparación del 5-fenil-2-(2-pirazinil)tiazol, **ppzth**: la síntesis de Hantzsch y la síntesis de Gabriel (ver sección 2.2 del apartado de objetivos). Ambos métodos fueron objeto de ensayo por nuestra parte, aunque sólo el primero se ha desarrollado en su totalidad.

2.1.1. Síntesis de Gabriel.

Ya vimos que la síntesis del **ppzth** por este método supone la preparación de la *N*-(2-fenil-2-oxoetil)pirazinacarboxamida, **6**, cuyo método de formación más directo es la amidación del ácido 2-pirazinacarboxílico con la 2-aminoacetofenona, ambos productos comerciales (éste último en forma de clorhidrato). El método elegido para llevar a cabo esta reacción supone la activación del ácido carboxílico por formación del anhídrido mixto con cloroformiato de metilo o etilo, lo que hace posible que la reacción se lleve a cabo en condiciones suaves (a temperatura ambiente o a reflujo de cloroformo). Ésto es importante, dada la elevada reactividad de los compuestos α -aminocarbonílicos para dar reacciones de condensación intermolecular. Por otro lado, el procedimiento mencionado había sido

empleado con éxito en amidaciones con *t*-butilamina,²²⁴ lo que ilustra la exaltación de la reactividad del ácido así activado.

La reacción supone, en primer lugar, la activación del ácido carboxílico previa conversión del mismo en su sal de amonio cuaternaria con trietilamina. Se requieren, en principio, dos equivalentes de esta base, pues además ha de servir para liberar la 2-aminoacetofenona de su forma ácida protonada. El carboxilato debería reaccionar con el cloroformiato de etilo o metilo, formando el anhídrido mixto, especie de electrofilia exaltada que sería capaz de reaccionar con la amina libre para dar el producto deseado, de acuerdo con el **esquema 18**.



Esquema 18

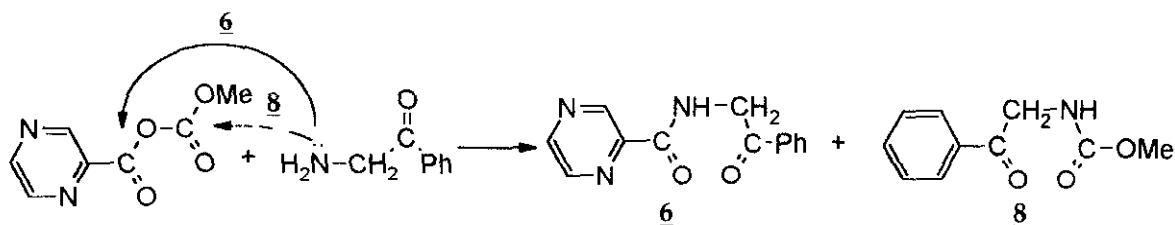
No obstante, en lugar del producto esperado **6**, se obtuvo el 2-pirazinacarboxilato de etilo, **7**, al tiempo que se recuperó la aminocetona de partida. Este resultado puede explicarse por una eficaz sustitución nucleófila del grupo trietilamonio por el anión carboxilato, al hallarse el primero en gran exceso en el medio de reacción.

A la vista de estos resultados, cabe proponer dos modificaciones al procedimiento:

- a) Dado que la sustitución nucleófila antes aludida se produce en gran extensión, probablemente debido a la elevada cantidad de catión amonio presente, podría añadirse la α -aminocetona ya desprotonada (en vez de como clorhidrato), para facilitar la reacción deseada.

b) Puesto que dicha reacción de tipo S_N2 se ve favorecida por la presencia de pares iónicos íntimos entre el anión carboxilato y el catión trietilamonio en disolución de cloroformo, la utilización de una amina con cadenas hidrocarbonadas más largas, como la tri-*n*-butilamina, que condicionase la formación de pares iónicos separados, podría minimizar la formación del ester derivado.

La primera modificación propuesta condujo a un resultado parcialmente positivo en el siguiente ensayo realizado, pues el espectro de 1H -RMN del crudo de reacción muestra señales inequívocamente pertenecientes a la *N*-(2-fenil-2-oxoetil)pirazinacarboxamida, **6**, si bien en muy pequeña cantidad y acompañada de otras impurezas. Entre éstas es especialmente significativa la presencia del *N*-(2-fenil-2-oxoetil)carbamato de metilo, **8**, cuya formación puede explicarse como consecuencia del ataque nucleófilo de la 2-aminoacetofenona sobre uno y otro centro electrófilo del anhídrido mixto (**esquema 19**).



Esquema 19

El resultado anterior pone de manifiesto, en cualquier caso, la débil reactividad del resto que deriva del ácido pirazinacarboxílico.

Finalmente, se hizo un ensayo con tri-*n*-butilamina en dioxano, pero el resultado no fue mejor, ya que se obtuvo una mezcla compleja de productos cuyo análisis por 1H -RMN no señaló la presencia de **6**.

La causa fundamental del escaso o nulo éxito de estos ensayos es la poca reactividad de los derivados del ácido 2-pirazinacarboxílico frente al ataque nucleófilo, que contrasta con el comportamiento observado en los análogos de la piridina.²³⁹ Existen precedentes que documentan la dificultad de las reacciones de adición nucleófila sobre tales sustratos.²⁴⁰

2.1.2. Síntesis de Hantzsch.

Ante el fracaso de nuestros intentos de llevar a buen término la síntesis de Gabriel, se decidió recurrir a otra vía que supone la condensación de un compuesto carbonílico α -funcionalizado, generalmente halogenado, y una tioamida (método de Hantzsch). La aplicación más inmediata de tal estrategia a la preparación del **ppzth** supone la reacción entre la 2-pirazinacarbotioamida y el 2-bromo-2-fenilacetaldehído. Ninguno de los dos reactivos es comercial.

La síntesis de la 2-pirazinacarbotioamida, **2**, a partir de la 2-pirazinacarboxamida comercial, no presenta más inconveniente que el escaso rendimiento de la deshidratación de esta última a la 2-cianopirazina, **1**. La posterior adición de sulfuro de hidrógeno al grupo nitrilo transcurre de manera cuantitativa.

Más problemas planteó la preparación del 2-bromo-2-fenilacetaldehído, **3**: la elevada reactividad del mismo, hace que se obtenga inevitablemente en compañía de sus productos de polimerización, formados durante las etapas de reacción y/o aislamiento. La bromación directa del fenilacetaldehído con bromo en corriente de CO₂ transcurrió aparentemente con éxito, pero fracasaron los intentos de aislamiento del mismo por destilación, al polimerizar el crudo tan pronto como se inició la calefacción del mismo. Un nuevo intento de bromo-des-hidrosustitución con dibromuro de dioxano permitió obtener el derivado bromado en disolución, el cual se utilizó directamente en la condensación con la 2-pirazinacarbotioamida. De este modo se obtuvo el **ppzth**, aunque con un rendimiento muy bajo (9%).

A pesar de la suavidad de las condiciones de formación del 2-bromo-2-fenilacetaldehído (la temperatura se mantiene a 0 °C en ambos procedimientos), la suave calefacción necesaria para la doble sustitución nucleófila que supone la condensación con la tioamida es suficiente para producir la polimerización inmediata de la mayor parte del reactivo bromado, como delata el ennegrecimiento de la mezcla de reacción a los cinco minutos de iniciarse la activación térmica.

Una posible solución al problema es la utilización de algún derivado menos reactivo frente a los procesos de polimerización, pero capaz de experimentar la reacción de Hantzsch. Los acetales de α -bromoaldehídos se han empleado a veces para este fin.^{206b} La preparación del dimetilacetal del 2-bromo-2-fenilacetaldehído se llevó a cabo con éxito a partir del

fenilacetaldehído, tras la obtención previa del acetato de enol, halogenación con bromo en tetracloruro de carbono y tratamiento con metanol en el mismo medio de reacción.

La calefacción de la mezcla de 2-pirazinacarboxamida y el acetal del 2-bromo-2-fenilacetaldehído condujo al **ppzth** con un rendimiento aún más bajo que el procedimiento anterior (4%). Probablemente, en este caso el derivado del compuesto carbonílico utilizado no es lo suficientemente reactivo para dar la ciclocondensación en mayor extensión.

Finalmente, la alternativa más exitosa ha sido la preparación del α -bromoaldehído en el propio medio de reacción, a través de una bromación radicalica con *N*-bromosuccinimida y empleando peróxido de benzoilo como iniciador del proceso. Esta estrategia ya había sido utilizada por Dahiya y Pujari para la síntesis de tiazoles,²²³ aunque los sustratos descritos habían sido siempre cetonas. Nuestro resultado demuestra la aplicabilidad del procedimiento empleando aldehídos como precursores. El método evita, además, la problemática inherente a los procesos de preparación y aislamiento del α -bromoaldehído intermedio. El rendimiento, no obstante, continúa siendo bajo (25% sobre producto aislado).

2.2. SÍNTESIS DEL **ppzox**.

La estrategia seguida para la preparación del **ppzox** tiene también como etapa clave la formación del heterociclo. Éste se puede obtener como dihidroderivado mediante la condensación de una β -hidroxilamina con derivados tales como amidas, nitrilos y, más eficazmente, con imidatos de alquilo, dada la superior reactividad de éstos frente a la sustitución nucleófila.

En nuestro caso, la 2-cianopirazina, precursor común con la síntesis del **ppzth**, adiciona etanol con catálisis de etóxido sódico para dar el 2-pirazinacarboximidato de etilo, **11**, que se condensa posteriormente con la 2-fenil-2-hidroxietilamina comercial. El dihidroxazol **12** se obtiene así con buen rendimiento. La etapa más problemática de la síntesis es la deshidrogenación de la oxazolina. Debido a la escasa aromaticidad del anillo de oxazol, verdadera fuerza motriz del proceso, es necesario emplear un agente oxidante relativamente enérgico. Se han descrito aromatizaciones

de este tipo con peróxido de níquel, si bien con rendimientos, por lo general, bajos.²⁴¹ El empleo de 2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona no parece dar tampoco buenos resultados.²⁴² Finalmente, se optó por la utilización de manganato de bario, cuyo empleo tenía antecedentes en nuestro propio grupo de investigación^{215b} y que se había utilizado con éxito en la obtención de imidazoles a partir de imidazolininas.²³² Además, este reactivo presenta la ventaja de su facilidad de eliminación una vez concluida la reacción, que se consigue por simple filtración al ser insoluble en el medio orgánico. No obstante, el rendimiento de la oxidación es bajo (8%), posiblemente debido a la mencionada insolubilidad del agente oxidante, que impide la mezcla efectiva de ambos reactivos en una sola fase, y/o a la adsorción del producto de reacción sobre el mismo.

2.3. NITRACIONES Y REDUCCIONES DEL GRUPO NITRO EN 5-FENIL-1,3-AZOLES.

El procedimiento utilizado para la incorporación del grupo nitro a los sustratos **ppzth**, **ppzox** y **ppyox** ha sido en todos los casos el mismo y consiste en el tratamiento con ácido nítrico fumante en ácido sulfúrico concentrado. Se trata de un método extremadamente rápido (la reacción se completa en pocos minutos) que proporciona buenos rendimientos. La sustitución electrófila aromática se produce exclusivamente en posición *para* del anillo bencénico, sin que se haya detectado en ningún caso la formación de productos de dinitración.

El método utilizado para la reducción del grupo nitro a amino supone el tratamiento con hidrazina, con catálisis heterogénea de paladio sobre carbón activo. Las condiciones de reacción son suaves y los rendimientos obtenidos son buenos o excelentes.

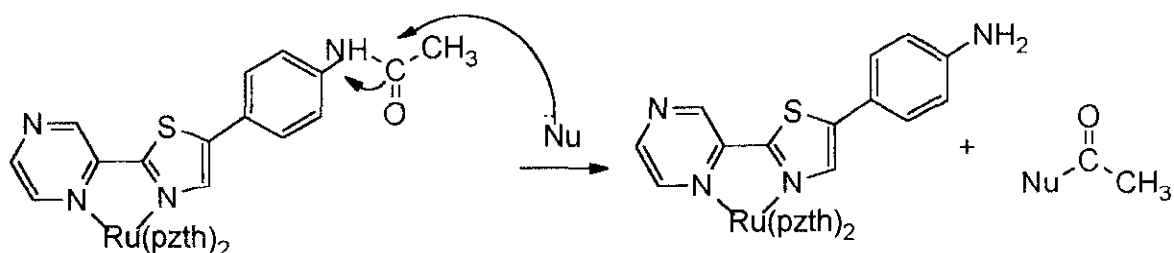
2.4. SÍNTESIS DE LOS COMPLEJOS DE RUTENIO(II).

Son muy variados los métodos de síntesis de complejos de rutenio(II) con ligandos polipiridílicos de tipo α -diimina.²⁴³ Para la obtención de trisquelatos homolépticos, el procedimiento más general supone la calefacción de una mezcla de una sal de rutenio(III) (generalmente tricloruro de rutenio comercial) y el ligando, en pequeño exceso, en un alcohol y bajo atmósfera inerte. La reacción transcurre normalmente por incorporación sucesiva de

tres moléculas de ligando quelatante y reducción *in situ* por el disolvente del ión complejo formado. Como disolventes se emplean generalmente metanol, etanol, mezclas etanol/agua y etilenglicol. Nuestra elección de este último se basa sobre todo en la mayor rapidez con que transcurre la reacción, debido a la posibilidad de calentar a 200 °C y al mayor poder reductor de los compuestos dihidroxilados.

En el caso de los complejos heterolépticos, la preparación de los bis-quelatos precursores se consigue fácilmente por calefacción de una mezcla 1:2 de RuCl_3 y el ligando seleccionado en dimetilformamida y en presencia de exceso de cloruro de litio, que dificulta la entrada de un tercer ligando poliazaheterocíclico en la esfera de coordinación del átomo metálico, al elevar la concentración de iones Cl^- en el medio. Los rendimientos moderados de esta reacción se deben, probablemente, a la enorme solubilidad del producto en DMF, que hace que la precipitación del mismo en acetona se produzca lentamente y esté lejos de ser cuantitativa, como delata la coloración azul-violeta oscura del filtrado. No obstante, el método de aislamiento es extremadamente sencillo y conduce al producto con un grado de pureza suficiente para realizar el siguiente paso de síntesis sin ulterior tratamiento. El complejo heteroléptico final se consigue por calefacción en etilenglicol de una mezcla equimolar del bis-complejo y el nuevo ligando. Las razones para la elección de este disolvente son las explicadas más arriba y, salvo en el caso del compuesto $[\text{Ru}(\text{acppzth})(\text{pzth})_2]^{2+}$, los rendimientos oscilan entre buenos y moderados. La bajísima conversión en este caso particular se debe, probablemente, a la inestabilidad del grupo acetilamido en el medio de reacción. La electrofilia del carbono carbonílico de este grupo se exalta enormemente con la coordinación al Ru(II), deficiente en electrones, aumentando su reactividad frente a los nucleófilos débiles presentes en el medio, como restos de agua de cristalización del bis-quelato o el propio etilenglicol (esquema 20). El átomo de nitrógeno amínico puede intervenir como coordinante del átomo de rutenio, lo que complica considerablemente la composición del crudo de reacción.

Esta exaltación de la electrofilia del carbono carbonílico del resto acetilo se ha comprobado en otros compuestos sintetizados en nuestro propio grupo de investigación, como es el caso del catión (4-acetoxi-1,10-fenantrolina)bis-1,10-fenantrolinarutenio(II), que se hidroliza incluso en disolución acuosa a temperatura ambiente.¹⁴¹



Esquema 20

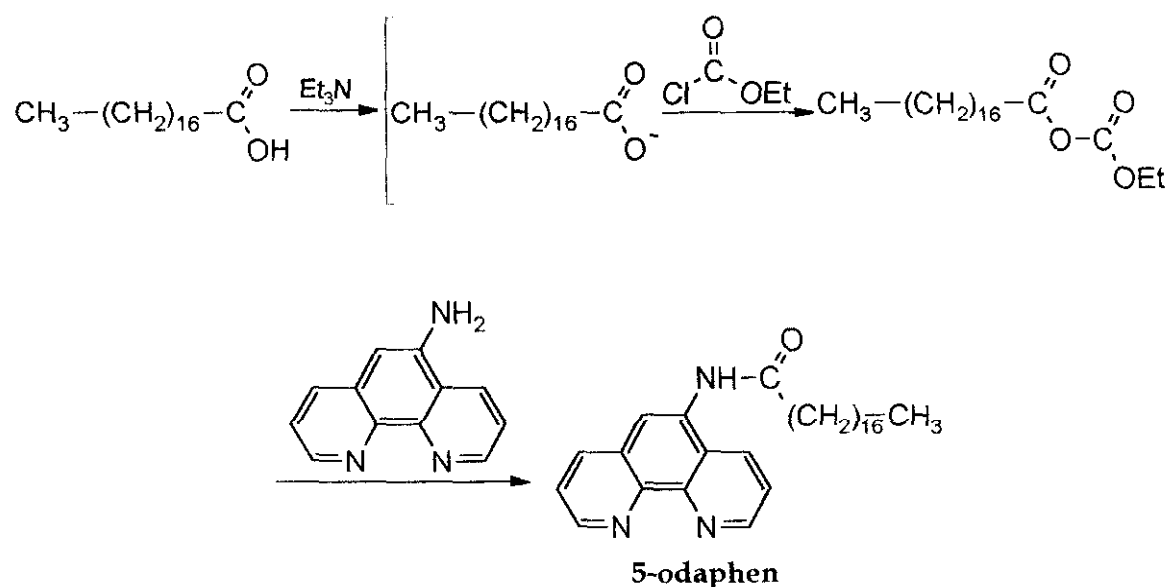
En todos los casos se ha demostrado la conveniencia de la purificación de los crudos de reacción mediante cromatografía de intercambio catiónico, que separa el producto de otros tris-quelatos formados, o de restos de mono- y bis-quelatos o sal de rutenio sin reaccionar. Se han empleado dos fases estacionarias diferentes, ambas compuestas de gel de dextrano funcionalizado con grupos carboximetilo (CM-Sephadex) o sulfopropilo (SP-Sephadex). El primer soporte requiere, en general, menores concentraciones de electrolito para conseguir la elución de los productos, debido a la mayor basicidad del grupo carboxilato frente al sulfonato, por lo que lo consideramos más recomendable.

2.5. SÍNTESIS Y PURIFICACIÓN DEL $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$.

La síntesis del ligando **5-odaphen** parte de la 5-nitro-1,10-fenantrolina comercial, que se reduce a 5-amino-1,10-fenantrolina con hidrazina y paladio sobre carbón activo como catalizador en fase heterogénea, empleando etanol como disolvente. Este método fue seleccionado tras otros dos ensayos frustrados de reducción: el primero empleando cloruro de estaño(II) en etanol,²³⁰ sin que fuese posible separar cantidad alguna del producto de las sales de estaño presentes en el crudo de reacción, pues éstas son también solubles en los disolventes de la 5-amino-1,10-fenantrolina; el segundo método, que suponía la utilización de hidrosulfito sódico en agua,^{227a} proporciona un crudo de reacción en el que ni siquiera se detecta la existencia del producto deseado por espectroscopía IR, lo que puede deberse a que el poder reductor del reactivo empleado no sea suficiente.

El sistema "hidrazina/paladio sobre carbono" presenta la gran ventaja de la facilidad de aislamiento del producto de la mezcla de reacción y transcurre con buen rendimiento.

La siguiente etapa de síntesis es la formación de la amida entre la 5-amino-1,10-fenantrolina y el ácido octadecanoico, escasamente reactivo. La reacción se lleva a cabo con éxito activando el ácido carboxílico por formación del anhídrido mixto con cloroformiato de etilo (esquema 21).



Esquema 21

Para la preparación del compuesto de coordinación objetivo, el tris(5-octadecanamido-1,10-fenantrolina)rutenio(II), se eligió etilenglicol como disolvente más adecuado a priori. La calefacción a reflujo se hace imprescindible en este caso, puesto que ensayos preliminares demostraron que el bis-quelato intermedio precipita fácilmente en la mezcla de reacción, impidiendo la formación del ión complejo deseado. El tris-quelato posee tres cadenas hidrocarbonadas de 17 átomos de carbono, lo que le confiere una elevada hidrofobicidad, que hace que el complejo comience a precipitar como $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]\text{Cl}_2$ al iniciarse el enfriamiento de la masa de reacción. La precipitación se completa mediante adición de agua. Lógicamente, tanto el ligando 5-odaphen libre como los mono- y bis-quelatos intermedios son también insolubles en el medio hidroalcohólico,

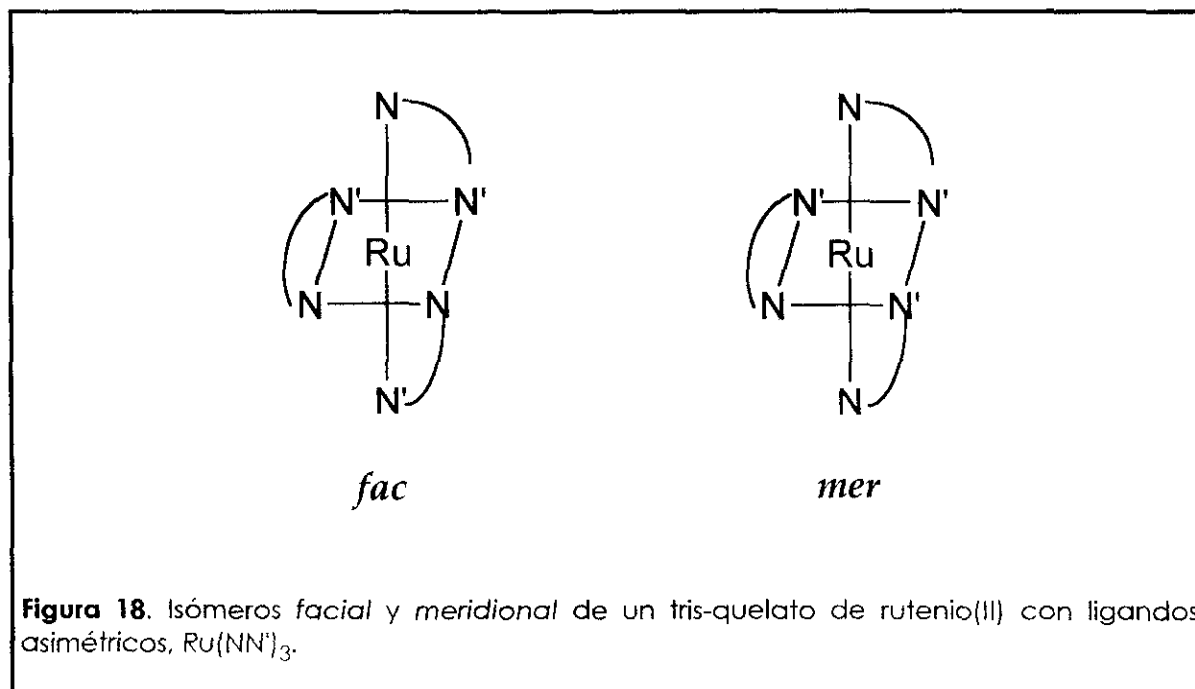
por lo que el aislamiento de la molécula objetivo requiere un ulterior tratamiento.

El aislamiento del complejo $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$ plantea problemas completamente nuevos, para los cuales los métodos de purificación que se habían empleado hasta el momento no aportaban soluciones válidas. Su naturaleza catiónica impide plantear la alternativa de métodos cromatográficos sobre soportes como gel de sílice u óxido de aluminio, por los que el complejo tiene demasiada afinidad. Por otra parte, sus propiedades hidrófobas hacen que no sea posible emplear las fases estacionarias de intercambio catiónico, que requieren eluyentes acuosos, en los que el compuesto es insoluble. Por último, las características de solubilidad de las impurezas que acompañan al compuesto en el crudo de reacción son muy similares a las suyas propias, lo que obliga a descartar los métodos basados en la precipitación selectiva de los componentes de la mezcla.

Ante estas dificultades, se optó por emplear Sephadex lipofílico LH-20 como fase estacionaria y eluir con un disolvente orgánico polar, como metanol, capaz de hinchar la resina y en el que el crudo de reacción es totalmente soluble. De este modo se consigue purificar considerablemente el $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$. El aislamiento total del tris-quelato de interés sólo ha podido lograrse mediante cromatografía en capa fina preparativa sobre gel de sílice con una mezcla de muy elevada polaridad (*n*-butanol-ácido acético-agua, 8:2:1, v/v/v), capaz de vencer la poderosa atracción del catión complejo por el soporte. La desorción del complejo metálico de la fase estacionaria se lleva a cabo en un medio muy polar (ácido trifluoroacético), en el que el indicador es soluble.

La obtención de dos fracciones principales en la cromatografía en capa fina preparativa es una cuestión aún no totalmente elucidada. Ciertos resultados parecen indicar que se trata de los isómeros *mer* y *fac* del complejo, representados en la **figura 18** para el caso general de un tris-quelato homoléptico con ligandos bidentados asimétricos.²⁴⁴ Algunos autores han conseguido la separación por cristalización fraccionada de este tipo de isómeros en el complejo $\text{tris}[1\text{-metil-3-(2-piridil)-1,2,4-triazol}]\text{rutenio(II)}$ y su identificación se ha llevado a cabo por análisis de los correspondientes espectros de $^1\text{H-RMN}$ y $^{13}\text{C-RMN}$.²⁴⁵ También se han aplicado técnicas cromatográficas (en concreto, HPLC semipreparativa) al aislamiento de los isómeros de coordinación de complejos con ligandos 3-(2-

piridil)-1*H*-1,2,4-triazol²⁴⁶ y 3-(2-pirazinil)-1*H*-1,2,4-triazol²⁴⁷ con buenos resultados. Sin embargo, la dificultad de interpretar los datos espectroscópicos de ambas fracciones, nos obligan a tomar con cautela esta asignación.



3. CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPUESTOS SINTETIZADOS.

3.1. INDICADORES DE pH Y CO₂.

3.1.1. Caracterización estructural.

La elucidación de la estructura de los ligandos y complejos de rutenio(II) sintetizados se ha realizado con ayuda de las técnicas habituales de análisis orgánico, fundamentalmente espectroscopía de absorción IR, ¹H-RMN y ¹³C-RMN, así como microanálisis y espectroscopía de absorción UV-VIS. No obstante, los resultados de ésta última se comentarán en el apartado de caracterización fotofísica, pues proporcionan información acerca de los estados fundamental y excitado de las correspondientes moléculas.

En cuanto a la **espectroscopía IR** de los ligandos, cabe destacar la presencia de las bandas típicas de los anillos aromáticos. Así, se observan las tensiones de los enlaces C-H aromáticos localizadas en la zona 3100-3000 cm⁻¹, que aparecen siempre como bandas débiles. Las tensiones correspondientes a los enlaces C-C de los anillos originan bandas de intensidad muy variable, dependiente de la sustitución, en la zona comprendida entre 1600 y 1400 cm⁻¹. La existencia de anillos bencénicos y heterocíclicos de diversa naturaleza en las moléculas preparadas hace que en esta zona aparezcan, a menudo, numerosas bandas de este tipo. Por último, también son características las absorciones, de intensidad muy variable aunque generalmente con forma aguda, que aparecen en la región 850-600 cm⁻¹, asignables a vibraciones de deformación de los enlaces C-H aromáticos.

No obstante, la máxima utilidad de la espectroscopía IR es la caracterización de los grupos funcionales presentes en la molécula.²⁴⁸ Así, el grupo ciano de la 2-cianopirazina, **1**, se detecta inequívocamente por la tensión característica del enlace C≡N a 2230 cm⁻¹, fácilmente reconocible al encontrarse en una zona muy pobre en otro tipo de bandas. La adición de H₂S por parte de **1** para dar la 2-pirazinacarbotoamida, **2**, se evidencia también por la aparición de las bandas típicas del nuevo grupo funcional: tensiones del enlace N-H a 3400-3100 cm⁻¹ y del agrupamiento N-C=S a 1425 y 1350-1300 cm⁻¹.²⁴⁸

La espectroscopía IR no proporciona, en cambio, gran ayuda en la caracterización del **ppzth**, pero sí cuando se somete éste a nitración, pues aparecen las tensiones asimétrica (1490 cm^{-1}) y simétrica (1330 cm^{-1}) propias del grupo NO_2 . Las intensas bandas en la zona $3400\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ caracterizan al grupo amino del **appzth**, pues se deben a tensiones del grupo NH_2 libre y asociado. La acetilación, para dar el **acppzth**, se detecta fácilmente por la aparición de las bandas típicas de amidas, fundamentalmente la tensión del enlace $\text{C}=\text{O}$ a 1670 cm^{-1} y las vibraciones de tensión ($3400\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$) y deformación (1530 cm^{-1}) del enlace N-H .²⁴⁸

Mucha más información estructural proporciona, obviamente, la **espectroscopía de ^1H -RMN**. Los espectros del 5-fenil-2-(2-pirazinil)tiazol (**ppzth**) y sus derivados se recogen en la **tabla VIII**. La sustitución en *para* sobre el anillo de fenilo afecta a todo el conjunto de ciclos conjugados de la molécula, si bien el efecto va disminuyendo a lo largo de éste. Así, el anillo bencénico acusa fuertemente el gran efecto desapantallante del grupo NO_2 , apantallante del NH_2 y ligeramente desapantallante del grupo acetamido. Los efectos de los sustituyentes sobre los protones del anillo bencénico se han comparado con los obtenidos por cálculo, tomando como base el **ppzth** y sumando las contribuciones tabuladas para los diversos grupos funcionales.²⁴⁹ Efectos del mismo signo se aprecian en el protón H_4 del anillo de tiazol y, de manera menos acusada, en los protones H_3' , H_5' y H_6' del anillo de pirazina. El hecho de que H_3' sea el menos afectado por la sustitución se debe, probablemente, a que su desplazamiento químico viene gobernado fundamentalmente por la repulsión entre la nube electrónica del protón considerado y las de los heteroátomos en posición 1 y 3 del anillo de tiazol, supuesta para la molécula una conformación aproximadamente plana que permita la conjugación de los tres anillos. Los desplazamientos químicos de los protones H_5' y H_6' , al no estar éstos sujetos a efectos estéricos del tipo descrito, son esencialmente resultado de la contribución de las variaciones de la corriente electrónica proveniente del grupo fenilo. Las señales de estos protones aparecen siempre muy próximas, llegando a ser indistinguibles en el **appzth**.

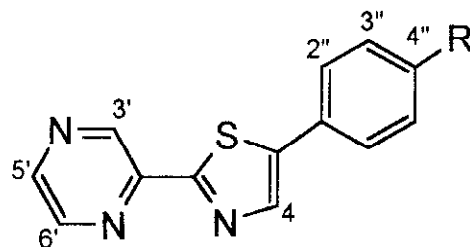
Tabla VIII. Espectros de ^1H -RMN del ppzth y sus derivados.^a

Compuesto	R	th	pz		Ph			Otras señales	
		H4	H3'	H5'	H6'	H2''	H3''		H4''
ppzth ^b	H	8.12	9.43	8.58	8.56	7.63	7.43-7.36		—
9 ^c	NO ₂	8.75	9.38	8.81	8.78	8.10	8.33	—	—
appzth ^b	NH ₂	7.98	9.40	8.54		7.43	6.70	—	3.63 (NH ₂)
acppzth ^c	NHAc	8.34	9.32	8.72	8.70	7.70		—	10.05 (NH); 2.08 (CH ₃)

a) Registrados a 300 MHz; δ en ppm respecto al TMS.

b) Disolución en CDCl₃.

c) Disolución en DMSO-d₆.

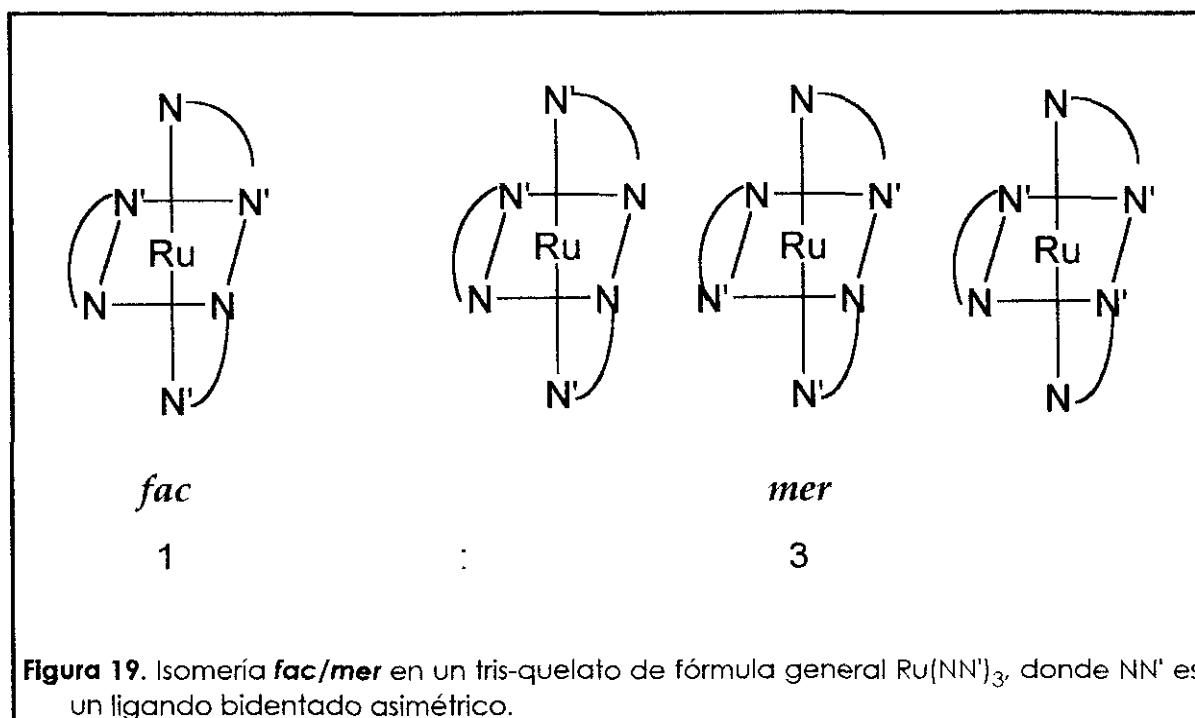


Mayor complejidad presenta la interpretación de los **espectros de ^1H -RMN de los complejos de rutenio(II)**, debido a la gran cantidad de señales distintas que presentan dentro de la región en que suelen aparecer los protones aromáticos. Para conseguir una asignación total de las señales es necesario recurrir a técnicas que proporcionen información acerca de la conectividad y permitan, por tanto, relacionar las señales de un mismo sistema de espines (un ligando). Generalmente, en este tipo de moléculas es suficiente registrar espectros bidimensionales de correlación homonuclear ^1H - ^1H (COSY),²⁵⁰ que proporcionan la conectividad entre los protones acoplados. Las asignaciones realizadas se basan fundamentalmente en el trabajo de Orellana et al.,²⁵¹ que interpretaron totalmente los espectros de ^1H -RMN de diversos tris-quelatos de rutenio(II) con ligandos poliazaheterocíclicos. Estos autores han realizado, además, un completo estudio de los factores que determinan el desplazamiento químico de cada uno de los protones del ión complejo: cesión σ ligando-metal, retrocesión π metal-ligando, anisotropía de corrientes de anillo y efectos de van der Waals.

Los espectros de ^1H -RMN de algunos quelatocomplejos de rutenio(II) se complican adicionalmente por la presencia de distintos isómeros geométricos. A este respecto, conviene clasificar los complejos sintetizados según el número de ligandos iguales en su esfera de coordinación y el carácter simétrico o asimétrico de los mismos, y estudiar por separado cada grupo de compuestos.

a) Complejos homolépticos.

El único indicador de pH/CO_2 de este tipo descrito en este trabajo es el $[\text{Ru}(\text{ppzth})_3]^{2+}$. La asimetría del ligando **ppzth** hace que sean posibles dos isómeros, el *facial* o *fac* (llamado así por presentar tres anillos iguales en una misma cara del octaedro de coordinación) y el *meridional* o *mer* (que dispone tres anillos iguales en dos aristas adyacentes del octaedro de coordinación, o sea, en un meridiano del mismo).²⁴⁴ Estos estereoisómeros se representan en la **figura 19**, donde se observa que, en ausencia de otros factores, existe triple probabilidad de que se forme el *mer*, por lo que la proporción estadística relativa en la obtención de estos isómeros sería 1:3 (*fac/mer*).



En la **tabla IX** se recogen los datos de 1H -RMN del complejo $[Ru(ppzth)_3]^{2+}$, junto con los del $[Ru(pzth)_3]^{2+}$,²⁵¹ incluidos para su comparación. Los protones que permiten la asignación de las señales de los anillos a sus respectivos isómeros son H4 y H6', pues están expuestos en mayor grado a los efectos apantallantes y desapantallantes que provoca la anisotropía magnética de los anillos vecinos.²⁵¹ Por ejemplo, en el isómero *mer*, el protón H6' del anillo de pirazina que hemos indicado como C (**figura 20**) está sometido al efecto apantallante de la corriente electrónica del anillo de tiazol H situado enfrente, en tanto que el H6' del anillo D ocupa una posición idéntica respecto del anillo de pirazina C. La anisotropía inducida por la corriente de un anillo de pirazina es superior a la que produce un anillo de tiazol,²⁵² por lo que el efecto apantallante de aquél es superior al de éste. Por otra parte, hay que considerar el efecto desapantallante que origina sobre el mismo H6' del anillo C la proximidad espacial del anillo de pirazina D, cuyo protón H6' se encuentra dispuesto de manera análoga con respecto al anillo de tiazol H. Ambos protones H6' se encuentran dentro de la región desapantallante del cono creado por la anisotropía de la corriente del mencionado anillo cercano situado lateralmente. De nuevo, la magnitud

de la corriente del anillo de pirazina es mayor que la del de tiazol y también lo será su efecto desapantallante. La acción combinada de los dos efectos anisotrópicos discutidos determina el mayor desplazamiento químico observado para el H6' del anillo C respecto a su homólogo del anillo D.

Tabla IX. Espectros de ^1H -RMN de los complejos de rutenio(II) homolépticos.^a

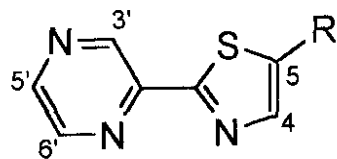
Compuesto	Isómero	th		pz			Ph		
		H4	H5	H3'	H5'	H6'	H2''	H3''	H4''
$\text{Ru}(\text{ppzth})_3^{2+b}$	<i>fac</i>	7.64 B	—	9.45 A	8.57 ^d A	7.89 A	7.70	7.50	
	<i>mer</i>	7.67 F	—	9.45 C	8.54 ^d C	7.96 C			
		7.61 G	—	9.45 D	8.57 ^d D	7.89 D			
		7.64 H	—	9.45 E	8.54 ^d E	7.96 E			
$\text{Ru}(\text{pzth})_3^{2+c}$	<i>fac</i>	7.646B	8.409B	9.786A	8.658A	7.792A			
	<i>mer</i>	7.666F	8.401F	9.783C	8.622C	8.178C			
		7.273G	8.401G	9.783D	8.667D	7.775D			
		7.287H	8.393H	9.783E	8.640E	8.159E			

a) Las letras mayúsculas aluden al anillo heterocíclico que se representa en la figura 20.

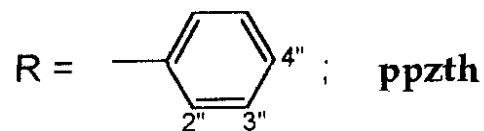
b) Como PF_6^- , en CD_3CN . Registrado a 600 MHz; δ en ppm respecto al TMS. Todas las señales aparecen como singletes.

c) Referencia 251 (en DMSO-d_6).

d) Asignación intercambiable.

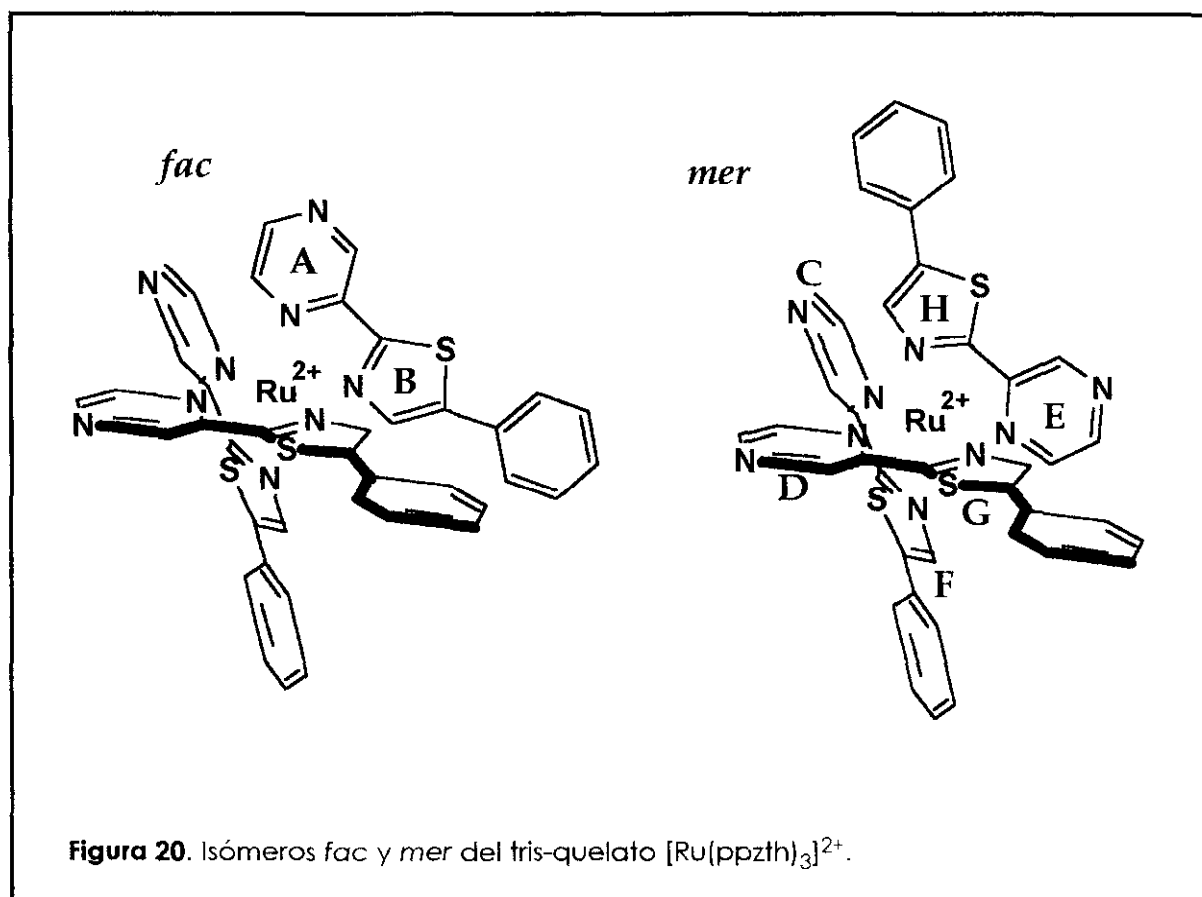


R = H ; pzth



De este modo, la observación cuidadosa de las señales de los protones "sonda" H4 y H6' permite relacionarlos con el anillo al que pertenecen. Una vez asignados éstos y establecida la conectividad dentro del anillo que proporciona el espectro COSY, se pueden asignar el resto de las señales de $^1\text{H-RMN}$.

Los efectos descritos para los protones H6' de los anillos de pirazina también afectarán a los H5', aunque en mucha menor extensión, dada su mayor lejanía a los anillos heterocíclicos vecinos. Ello hace que sus desplazamientos químicos sean mucho más parecidos y su asignación provenga de la de sus espines vecinos. Los protones H3' se encuentran exentos de los efectos descritos para H6', por lo que resultan ser isocronos, al igual que ocurre con los del resto fenilo.



b) Complejos heterolépticos de tipo $[\text{Ru}(\text{NN})_2(\text{N}'\text{N}'')]\text{2}^+$.

Se trata de tris-quelatos que incorporan a su esfera de coordinación dos ligandos simétricos iguales y uno no simétrico. No existe en estos complejos la posibilidad de isomería geométrica, pues sólo hay una manera de disponer los ligandos en torno al catión rutenio(II). A este grupo pertenecen los complejos $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pzth})]\text{2}^+$, $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ppzth})]\text{2}^+$ y $[\text{Ru}(\text{pzth})(\text{tap})_2]\text{2}^+$, cuyos datos de ^1H -RMN se recogen en las tablas X, XI y XII, respectivamente.

La estructura tridimensional de las moléculas de los dos primeros compuestos mencionados se representa en la **figura 21** y la del último en la **figura 22**. De la observación detallada de estas estructuras se deduce que no existen dos protones magnéticamente equivalentes en ninguno de los complejos de este tipo. Así, en los espectros de los iones $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pzth})]\text{2}^+$ y $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ppzth})]\text{2}^+$ no sólo se pueden distinguir claramente las señales de los dos ligandos 2,2'-bipiridina, sino incluso las correspondientes a los dos anillos de piridina que integran cada uno de ellos, al menos en lo que respecta a los protones "sonda" H6. Otro tanto cabe decir de los protones H3 y H6 de los anillos de 1,4,5,8-tetraazafenantreno en el $[\text{Ru}(\text{pzth})(\text{tap})_2]\text{2}^+$.

Como en el caso de los complejos homolépticos con ligandos asimétricos, los efectos que determinan de manera fundamental los desplazamientos químicos de los protones "sonda" (H6 de los ligandos **bpy**, H3 y H6 de los **tap** y H4 y H6' del **pzth** y **ppzth**) son los debidos a la anisotropía magnética de las corrientes electrónicas de los anillos heteroaromáticos cercanos. A partir de estos efectos y estableciendo las correlaciones entre sistemas de espines acoplados que proporciona el análisis de los espectros COSY, se pueden asignar totalmente los espectros de ^1H -RMN.²⁵¹ Para ello, se ha considerado que la corriente del anillo de piridina es superior a la del anillo de pirazina y la de éste mayor que la del tiazol. En el caso del complejo con ligandos **tap**, los efectos que inducen las nubes electrónicas de éstos son los mayores de todos, debido a su extenso sistema formado por tres anillos aromáticos condensados.

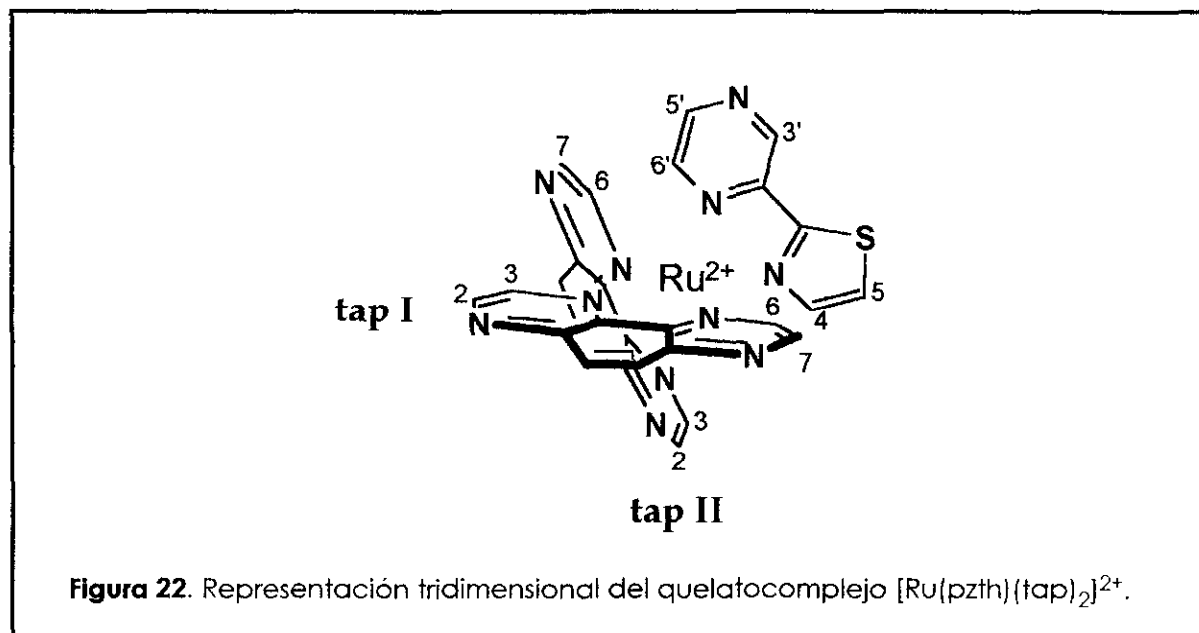
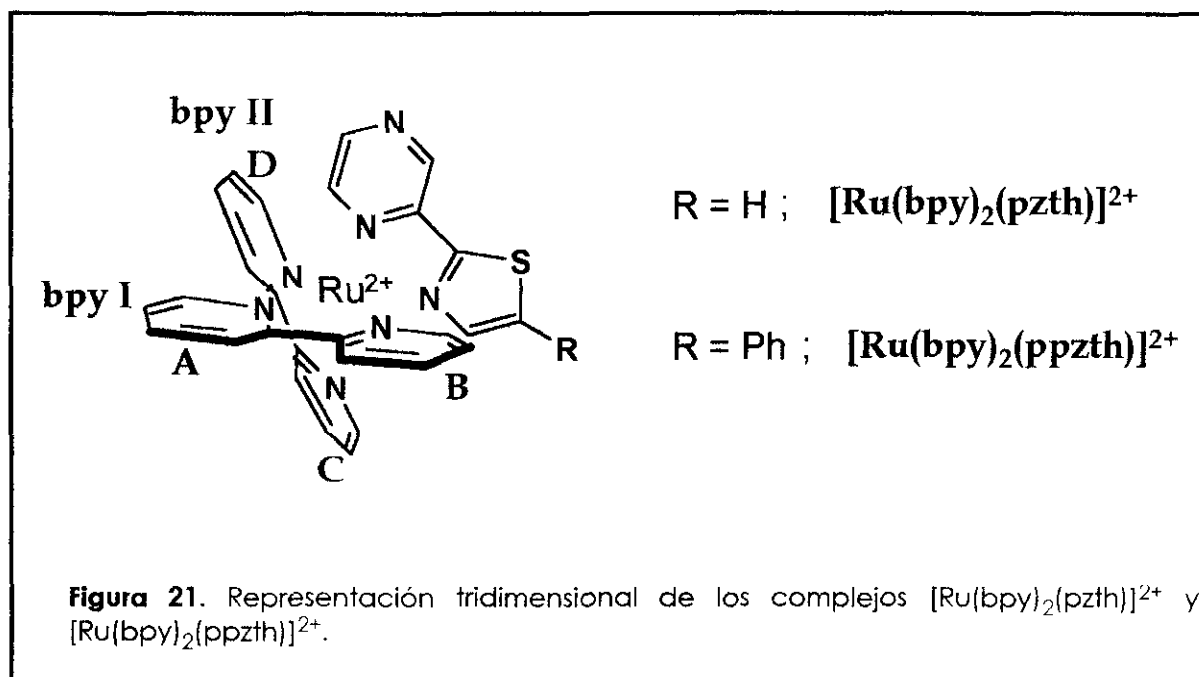
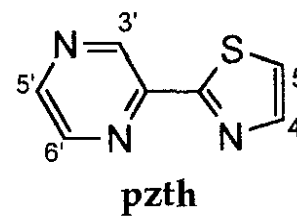
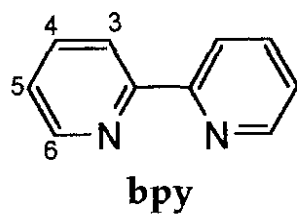


Tabla X. Espectro de ^1H -RMN del complejo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pzth})](\text{PF}_6)_2$.^a

Anillo ^b	δ/ppm				J/Hz					
	H3(ddd)	H4(ddd)	H5(ddd)	H6(ddd)	J_{34}	J_{35}	J_{36}	J_{45}	J_{46}	J_{56}
py										
IA	8.501	8.083	7.427	7.708	8.5	1.0	0.6	7.7	1.4	5.8
IB	8.488	8.089	7.424	7.783	7.8	1.4	0.6	7.7	1.6	5.5
IIC	8.501	8.095	7.453	7.622	8.0	1.2	0.6	7.4	1.6	5.5
IID	8.501	8.083	7.424	7.740	8.5	1.3	0.7	7.5	1.5	5.5
pz	H3'(d)		H5'(d)		H6'(dd)		$J_{3'6'}$	$J_{5'6'}$		
	9.463		8.470		7.824		1.2	3.3		
th	H4(d)		H5(d)				J_{45}			
	7.231		8.077				3.4			

a) En CD_3CN ; registrado a 300 MHz. Numeración:

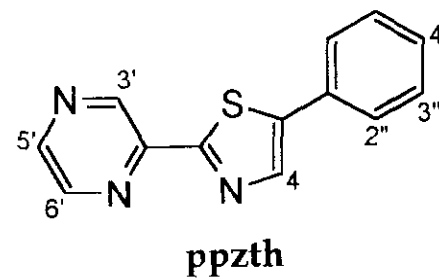
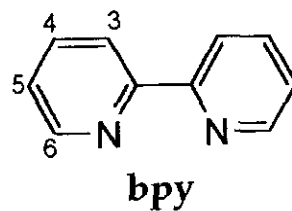


b) Ver figura 21.

Tabla XI. Espectro de ^1H -RMN del complejo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ppzth})](\text{PF}_6)_2$.^a

Unidad ^b	δ/ppm				J/Hz					
	H3(ddd)	H4(ddd)	H5(ddd)	H6(ddd)	J_{34}	J_{35}	J_{36}	J_{45}	J_{46}	J_{56}
py										
IA	8.515	8.903	7.450	7.755	8.0	1.3	0.8	7.9	1.5	5.5
IB	8.505	8.105	7.474	7.831	8.0	1.3	0.7	7.8	1.4	5.6
IIC	8.505	8.087	7.430	7.690	8.0	1.4	0.8	7.7	1.6	5.5
IID	8.505	8.098	7.438	7.806	8.0	1.3	0.6	7.8	1.5	5.5
ppzth	H3'(d)	H5'(d)	H6'(dd)	H4(s)	$J_{3'6'}$	$J_{5'6'}$				
	9.440	8.458	7.813	7.505	1.2	3.3				
Ph	H3'' y H4''(m)		H2''(m)							
	7.495-7.462		7.643							

a) En CD_3CN ; registrado a 300 MHz. Numeración:



b) La unidad puede ser un ligando o un solo anillo. Ver figura 21.

Tabla XII. Espectro de ^1H -RMN del complejo $[\text{Ru}(\text{pzth})(\text{tap})_2](\text{PF}_6)_2$.^a

Ligando ^b	δ/ppm					J/Hz		
	H2(d)	H3(d)	H6(d)	H7(d)	H9 y H10 ^c	J_{23}	J_{67}	J_{910}
I	8.911	8.156	8.463	9.141	8.627 y	3.4	2.7	9.3
II	8.922	8.108	8.217	9.161	8.594	2.9	2.7	
pzth	H3'(d)	H5'(d)	H6'(d)	H4(d)	H5(d)	$J_{3'6'}$	$J_{5'6'}$	J_{45}
	9.552	8.483	7.849	7.341	8.075	1.2	3.3	3.4

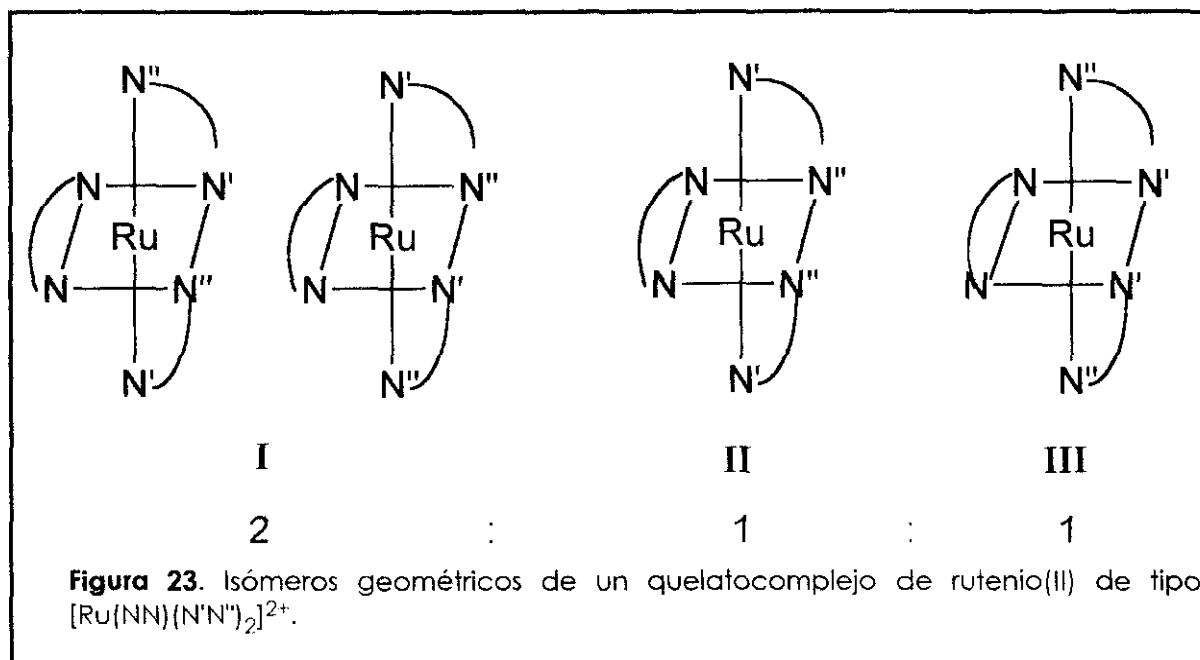
a) En CD_3CN ; registrado a 300 MHz. Numeración: ver figura 22.

b) Ver figura 22.

c) Sistema AB.

c) Complejos heterolépticos de tipo $[\text{Ru}(\text{NN})(\text{N}'\text{N}'')_2]^{2+}$.

Son posibles tres isómeros en este tipo de complejos, que designaremos por I, II y III, según se representa en la **figura 23**. El isómero I tiene doble probabilidad de formarse que los otros dos. A esta familia pertenece el $[\text{Ru}(\text{bpy})(\text{pzth})_2]^{2+}$ sintetizado por nosotros, cuyo espectro de ^1H -RMN se recoge en la **tabla XIII**.



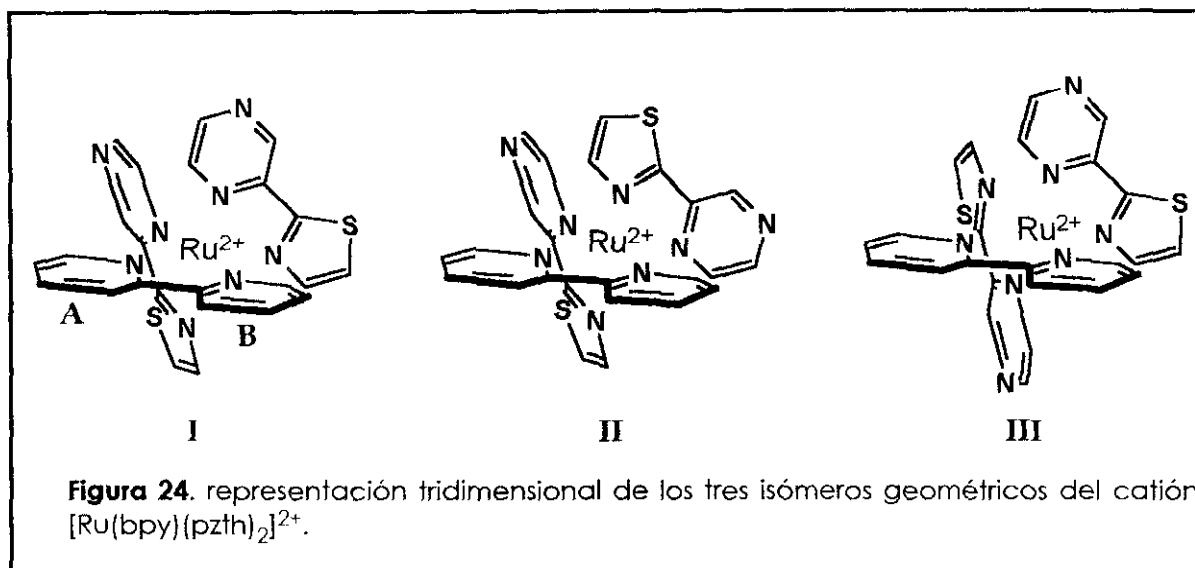
La estructura tridimensional de los tres isómeros del $[\text{Ru}(\text{bpy})(\text{pzth})_2]^{2+}$, representada en la **figura 24**, revela que en los indicados como II y III los entornos químicos de cada uno de los anillos de piridina del ligando **bpy** son idénticos, lo que simplifica considerablemente el aspecto del espectro. Por el contrario, el isómero I carece de todo elemento de simetría. Dado que, en nuestro caso, los distintos isómeros del complejo se obtienen en las proporciones estadísticas esperables, las señales de los anillos de piridina son cuatro por cada protón (al menos en los protones "sonda" H6, que son los que más se diferencian) y con idéntica área: dos provenientes del isómero I y una de cada uno de los isómeros II y III. Las consideraciones que permiten realizar la asignación de las señales clave son análogas a las que se han discutido para los complejos descritos anteriormente; como antes, el razonamiento se basa en que la anisotropía magnética que provoca la circulación electrónica del anillo de pirazina es superior a la del tiazol.

Tabla XIII. Espectro ^1H -RMN del complejo $[\text{Ru}(\text{bpy})(\text{pzth})_2](\text{PF}_6)_2$.^a

Isómero	Ligando ^b	δ/ppm					J/Hz					
		H3(ddd)	H4(ddd)	H5(ddd)	H6(ddd)		J_{34}	J_{35}	J_{36}	J_{45}	J_{46}	J_{56}
I	bpy	H3(ddd)	H4(ddd)	H5(ddd)	H6(ddd)		J_{34}	J_{35}	J_{36}	J_{45}	J_{46}	J_{56}
	pyA	8.501	8.084	7.398	7.709		8.2	1.2	0.6	8.4	1.3	5.6
	pyB	8.501	8.084	7.449	7.739		8.2	1.3	0.7	8.3	1.3	5.6
	pzth	H3'(d)	H5'(d)	H6'(d)	H4(d)	H5(d)		$J_{3'6'}$		$J_{5'6'}$		J_{45}
9.463		8.471	7.731	7.232	8.079		1.2		3.3		3.4	
II	bpy	H3(ddd)	H4(ddd)	H5(ddd)	H6(ddd)		J_{34}	J_{35}	J_{36}	J_{45}	J_{46}	J_{56}
		8.501	8.091	7.452	7.623		8.2	1.3	0.6	8.3	1.3	5.7
	pzth	H3'(d)	H5'(d)	H6'(dd)	H4(d)	H5(d)		$J_{3'6'}$		$J_{5'6'}$		J_{45}
		9.463	8.471	7.724	7.232	8.079		1.2		3.1		3.4
III	bpy	H3(ddd)	H4(ddd)	H5(ddd)	H6(ddd)		J_{34}	J_{35}	J_{36}	J_{45}	J_{46}	J_{56}
		8.501	8.091	7.452	7.783		8.2	1.3	0.6	8.3	1.3	5.7
	pzth	H3'(d)	H5'(d)	H6'(dd)	H4(d)	H5(d)		$J_{3'6'}$		$J_{5'6'}$		J_{45}
		9.463	8.481	7.825	7.232	8.079		1.2		3.3		3.4

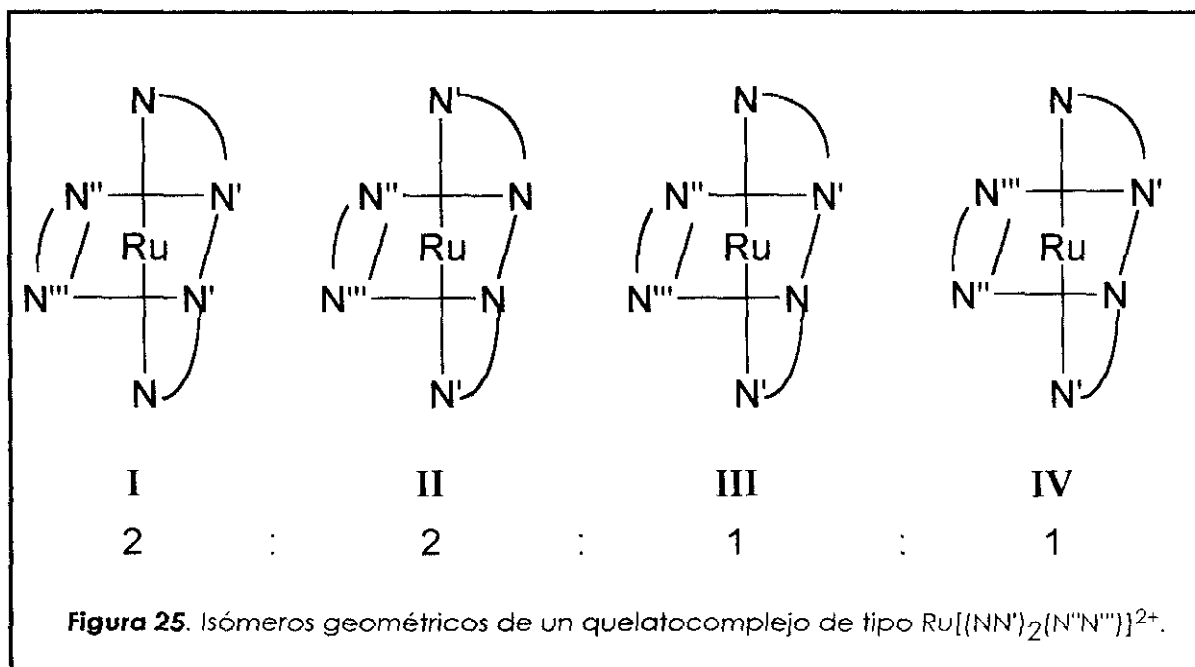
a) En CD_3CN ; registrado a 300 MHz. Numeración: ver tabla X.

b) Ver figura 24.



d) Complejos heterolépticos de tipo $[\text{Ru}(\text{NN}')_2(\text{N}''\text{N}''')]^{2+}$.

Se trata de complejos con tres ligandos asimétricos, dos de ellos iguales y uno distinto. Los isómeros posibles son cuatro, que designaremos como I, II, III y IV de acuerdo con la representación de la figura 25. La probabilidad de formación es 2:2:1:1, I/II/III/IV.



Entre los iones complejos presentados en esta Memoria, sólo el $[\text{Ru}(\text{acppzth})(\text{pzth})_2]^{2+}$ pertenece a este tipo. La asignación completa de

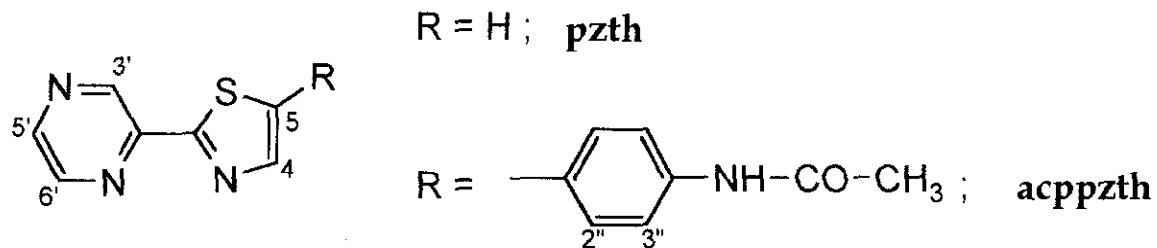
su espectro de ^1H -RMN, recogida en la **tabla XIV**, se ha llevado a cabo de manera análoga a los casos anteriores. Sin considerar los grupos fenilo, pues su efecto anisotrópico puede despreciarse dada su lejanía espacial, los únicos anillos capaces de afectar significativamente al desplazamiento químico de los protones "sonda" son los de tipo pirazina y tiazol. A pesar de la gran cantidad de protones no equivalentes, la similitud de los efectos de anillos del mismo tipo hace que algunos de ellos muestren desplazamientos químicos coincidentes, incluso entre los protones "sonda". Los demás protones aparecen agrupados, según el tipo, en señales únicas para todos los isómeros.

En la **figura 26** se representan los isómeros del complejo considerado. El análisis detallado de esta figura revela que, por ejemplo, el protón H6' del ligando A del isómero I posee un entorno muy similar al de su análogo del ligando B del isómero II. Ésto hace que los desplazamientos químicos de las señales de ambos protones en el espectro coincidan.

Tabla XIV. Espectro de ^1H -RMN del complejo $[\text{Ru}(\text{acppzth})(\text{pzth})_2](\text{PF}_6)_2$.^a

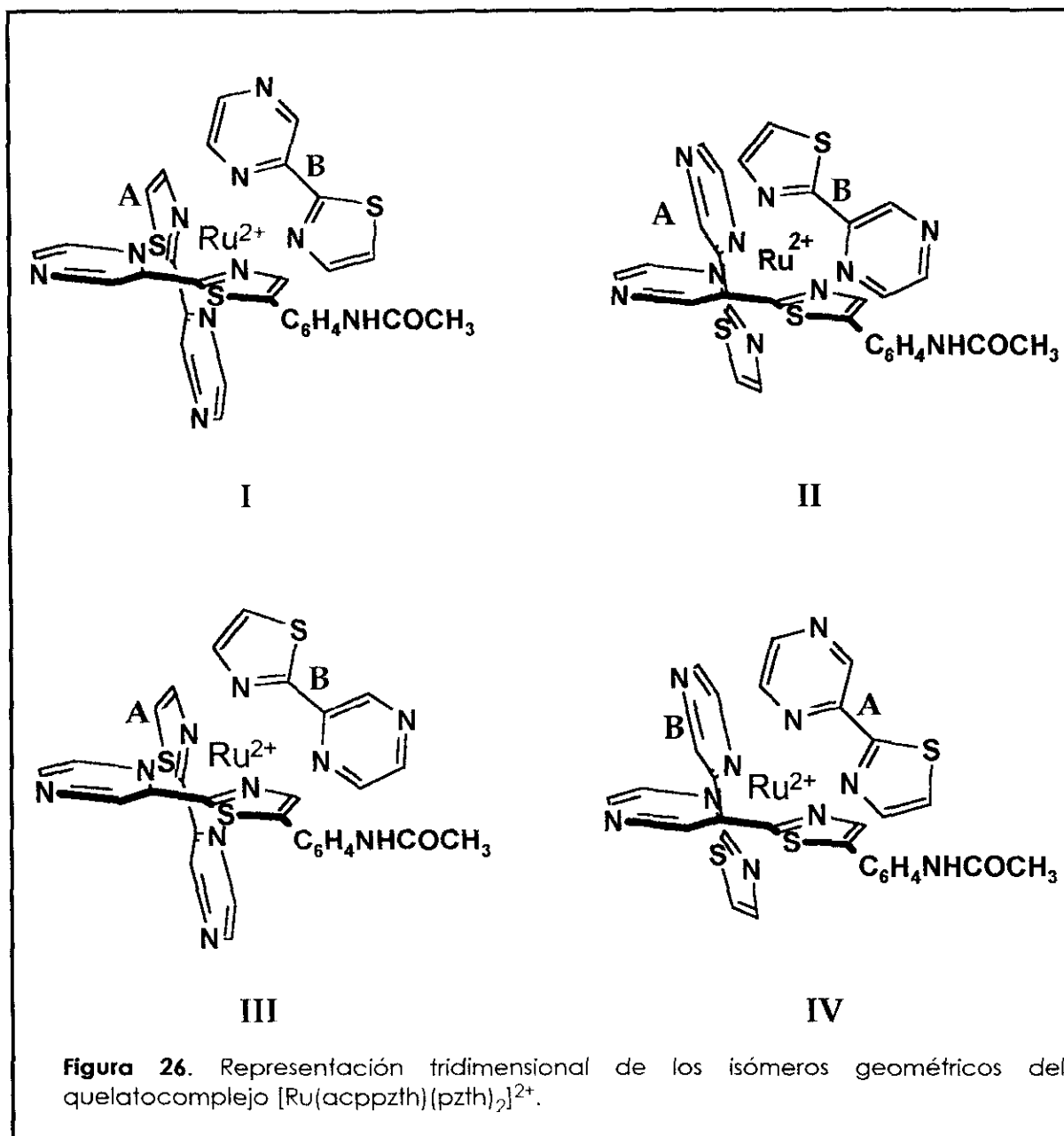
Isómero	Ligando ^b	pzth		acppzth		Señales comunes a todos los isómeros
		H6'	H4	H6'	H4	
I	A	7.925	7.174	7.946	7.406	10.05 (NH)
	B	7.689	7.147			9.460 (H3' pzth y acppzth)
II	A	7.964	7.406	7.689	7.147	8.560 ^c (H5' pzth y acppzth)
	B	7.925	7.174			8.531 ^c (H5 pzth)
III	A	7.964	7.406	7.925	7.174	8.102 (H2" y H3" acppzth)
	B	7.689	7.147			2.079 (CH ₃)
IV	A	7.722	7.372	7.722	7.372	
	B	7.722	7.372			

a) En CD_3CN ; registrado a 600 MHz; δ en ppm respecto al TMS. Todas las señales son singletes. Numeración:



b) Ver figura 26.

c) Asignación intercambiable.



Lógicamente, la integración de las señales de ^1H -RMN de los diferentes isómeros permite calcular sus proporciones relativas. En todos los casos, el resultado ha sido coincidente con la relación estadística esperable según la probabilidad de formación de los correspondientes isómeros.

La espectroscopía de ^{13}C -RMN ha resultado de gran utilidad para la caracterización de los ligandos sintetizados y sus precursores. En la **tabla XV** se recogen los desplazamientos químicos de las señales de ^{13}C del **ppzth** y sus derivados. La asignación inequívoca de casi todas las resonancias (con una excepción) ha sido posible gracias a la interpretación completa del espectro del compuesto base de la serie, el **ppzth**. Para ello, se ha recurrido al registro de su espectro bidimensional de correlación heteronuclear ^1H - ^{13}C (HETCOR), el cual se muestra en la **figura 27**, dado que el espectro de ^1H -RMN ya se había asignado de manera inequívoca (**tabla VIII**).

Una vez identificados todos los carbonos del **ppzth**, las señales de los compuestos **9**, **appzth** y **acppzth** se pueden asignar por comparación. Al igual que sucedía con los espectros de ^1H -RMN, la presencia de sustituyentes de carácter dador o aceptor en posición 4" causa perturbaciones de la densidad electrónica del sistema de tres anillos conjugados, siendo éste el efecto que determina fundamentalmente la diferencia de los desplazamientos químicos de ^{13}C -RMN de éstos con respecto a los del compuesto no sustituido. En el anillo de pirazina los efectos electrónicos son ya muy pequeños por la lejanía al origen de la perturbación; algo mayores en el de tiazol, especialmente en los carbonos más próximos al anillo bencénico (C4 y C5, cuya asignación es evidente a partir de las intensidades de las correspondientes señales) y en éste último adquieren el máximo valor. La asignación de las señales de los grupos fenilo sustituidos se ha comprobado por comparación con los valores obtenidos de sumar a los desplazamientos químicos de los carbonos correspondientes del **ppzth**, las contribuciones recogidas en la bibliografía para los diversos grupos funcionales.²⁴⁹

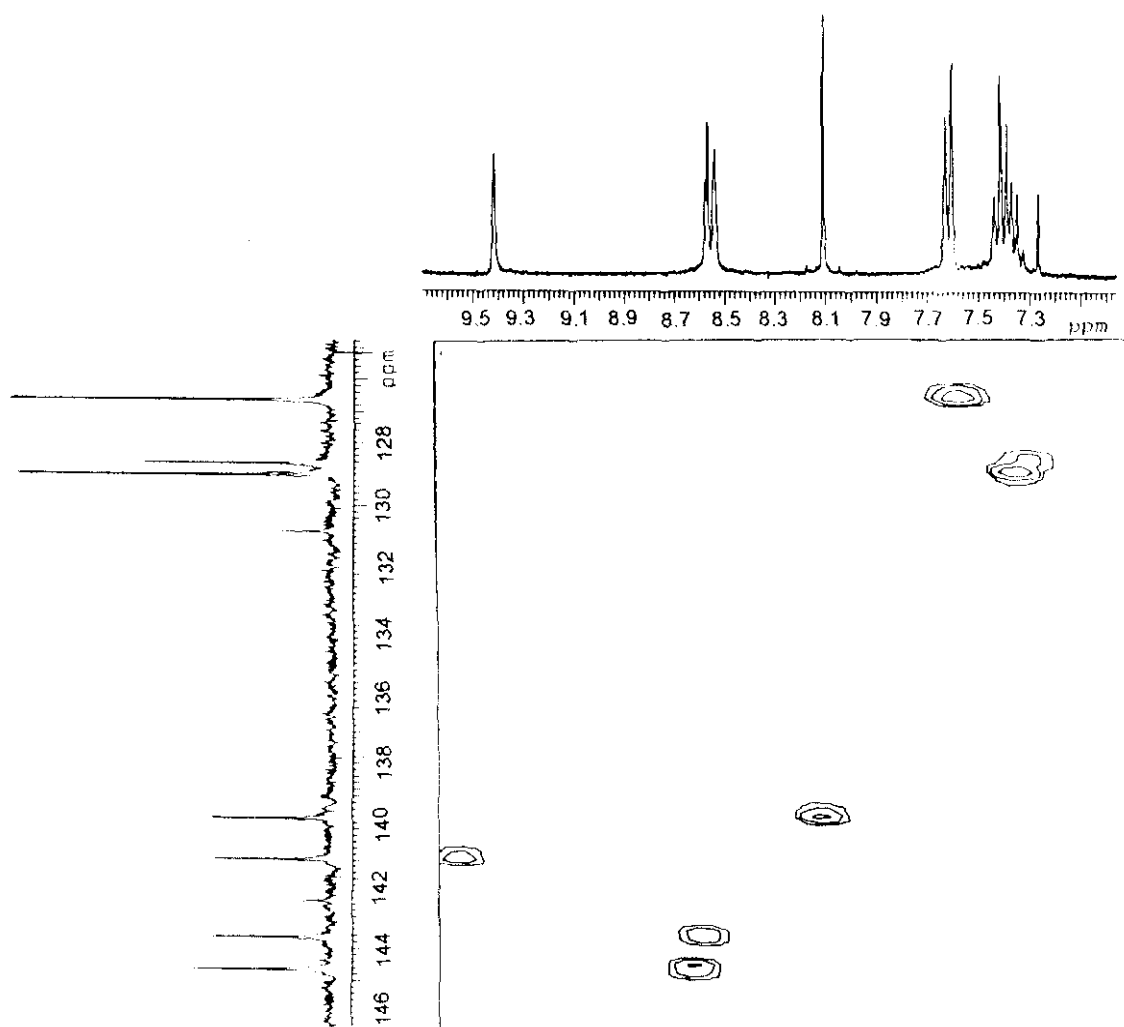
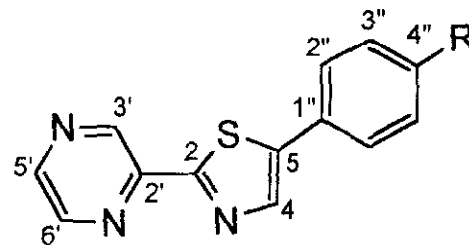


Figura 27. Espectro HETCOR del ppzth.

Tabla XV. Espectros de ^{13}C -RMN del ppzth y sus derivados.^a

Compuesto	th			pz				Ph				Otras señales
	C2	C4	C5	C2'	C3'	C5'	C6'	C1''	C2''	C3''	C4''	
ppzth ^b	164.7	139.9	142.5	146.8	141.2	144.7	143.7	130.8	126.7	129.0	128.7	—
9 ^c	166.7	146.2	139.2	147.0	140.5	144.6	143.4	136.6	127.5	124.5	145.5	—
appzth ^b	162.9	138.3	134.4	147.2 ^d	141.1	144.3	143.7	121.0	128.0	115.2	147.1 ^d	—
acppzth ^c	163.5	139.9	140.4	146.0	141.9	145.4	144.4	125.0	127.1	119.5	140.0	168.4 (CO); 24.0 (CH ₃)

a) Registrados a 75 MHz; δ en ppm respecto al TMS. Numeración:



- b) Disolución en CDCl_3 .
- c) Disolución en DMSO-d_6 .
- d) Asignación intercambiable.

3.1.2. Caracterización fotofísica de los complejos de rutenio(II).

3.1.2.1. Espectroscopía de absorción UV-VIS.

Los datos de los espectros de absorción de los complejos de coordinación de rutenio(II) con ligandos poliazaheterocíclicos descritos en esta memoria se recogen en la **tabla XVI**.

Tabla XVI. Datos de absorción electrónica de los complejos de rutenio(II).^a

Compuesto	$\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}/\text{nm}^{\text{b}}$ ($\epsilon/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) ^c	$\lambda_{\text{MLCT}}^{\text{max}}/\text{nm}^{\text{b}}$ ($\epsilon/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) ^c
Ru(bpy)₃^{2+d}	243(24900), 285(78100)	452(13700)
Ru(bpy)₂(pzth)²⁺	239(18000), 280(49800)	418(9000), 478(9700)
Ru(bpy)(pzth)₂²⁺	238(34100), 280(82700)	425(16200), 470(17300)
Ru(pzth)₃^{2+d}	311(47000)	460(17000)
Ru(bpy)₂(ppzth)²⁺	242(28700); 282(32400); 355(25500)	487(10900)
Ru(ppzth)₃²⁺	230(44300); 280(32400); 354(65000)	467(20900)
Ru(acppzth)(pzth)₂²⁺	311 ^e	458 ^e
Ru(tap)₃^{2+f}	276(46800)	408(13700), 437(13000)
Ru(pzth)(tap)₂²⁺	230(41300); 275(44500); 290(41400)	419(16600); 435 ^g

a) En agua a 25 °C.

b) Error estimado: $\pm 1\text{nm}$.

c) Error estimado: $\pm 3\%$.

d) Ref. 114.

e) No se han determinado los ϵ .

f) Ref. 253

g) Hombro.

El aspecto de los espectros, en lo que se refiere a número de bandas y posición e intensidad de las mismas, sigue las pautas establecidas en este tipo de compuestos (ver **apartado 3.4.1** de la sección de **antecedentes**). Las principales absorciones observadas corresponden a transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ intraligando y de transferencia de carga metal-ligando (MLCT).

- **Bandas $\pi \rightarrow \pi^*$.** Se localizan en la región ultravioleta del espectro y se caracterizan por su gran intensidad, debido a que se trata de transiciones permitidas por las reglas de selección.

Los complejos heterolépticos con ligandos **bpy** y **pzth** poseen dos máximos, que se pueden relacionar con los que aparecen en los espectros de absorción de los tris-quelatos con dichos ligandos ($[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ y $[\text{Ru}(\text{pzth})_3]^{2+}$).¹¹⁴ Estas bandas se pueden asignar, por tanto, a transiciones electrónicas propias de cada uno de los ligandos.

En los complejos que poseen el ligando **ppzth**, aparece una tercera banda muy intensa alrededor de 355 nm, probablemente debida a la existencia de un anillo bencénico, que aumenta la conjugación y aporta orbitales adicionales de tipo π al sistema, posibilitando nuevas transiciones. En el complejo $[\text{Ru}(\text{acppzth})(\text{pzth})_2]^{2+}$, esta tercera banda es tan intensa por la presencia del auxocromo que oculta las demás absorciones de tipo $\pi \rightarrow \pi^*$.

El espectro del $[\text{Ru}(\text{pzth})(\text{tap})_2]^{2+}$ muestra asimismo tres bandas en la región UV, lo cual también se observa en el espectro del complejo $[\text{Ru}(\text{tap})_3]^{2+}$.²⁵³

- **Bandas MLCT.** Se localizan en la región visible del espectro y su intensidad es menor.

El espectro UV-VIS del $[\text{Ru}(\text{ppzth})_3]^{2+}$, como todos los de tris-quelato complejos de este metal, presenta una banda MLCT debida a la transición electrónica entre un orbital $d\pi$ del metal y el orbital π^* de uno de los ligandos promovida por la radiación luminosa. No es éste el caso de los complejos heterolépticos con dos ligandos diferentes, que dan lugar generalmente a dos absorciones o una banda principal con un hombro de menor intensidad. Ésto se debe a la existencia de dos transiciones MLCT posibles, al existir dos tipos de orbitales π^* correspondientes a los distintos ligandos de la esfera de coordinación del metal. El hecho de que la posición de los máximos de absorción de estas bandas no concuerde exactamente con la de los complejos homolépticos correspondientes ($[\text{Ru}(\text{pzth})_3]^{2+}$, $\lambda_{\text{MLCT}} = 460 \text{ nm}$; $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$, $\lambda_{\text{MLCT}} =$

452 nm)¹¹⁴, se debe a que la presencia de un entorno de coordinación distinto afecta al contenido energético de los orbitales t_{2g} del átomo metálico.⁹⁰ Así, el mayor carácter σ -dador de los ligandos bpy frente a los pzth, contribuye a aumentar la densidad electrónica en torno al rutenio y desestabiliza sus orbitales t_{2g} ocupados. Ésto explica que algunos máximos de absorción de los complejos heterolépticos con ligandos bpy, pzth y ppzth se encuentren desplazados batocrómicamente con respecto a los de sus respectivos complejos homolépticos. Además, la menor simetría de los complejos heterolépticos determina que aparezcan nuevos niveles al deshacerse la degeneración orbitalica.

3.1.2.2. Espectroscopía de emisión en estado estacionario y con resolución temporal.

Las longitudes de onda de los máximos de las bandas de emisión (λ_{em}) así como los rendimientos cuánticos (Φ_{em}) y tiempos de vida de luminiscencia (τ) de los complejos de rutenio(II) preparados durante el curso de la investigación, se recogen en la **tabla XVII**. Algunos datos de los complejos $[Ru(bpy)_3]^{2+}$, $[Ru(pzth)_3]^{2+}$ y $[Ru(tap)_3]^{2+}$, no descritos por primera vez en esta Memoria, se incluyen en dicha tabla para permitir una comparación más completa. Las bandas de emisión no presentan estructura fina, pues ésta sólo se hace observable a temperaturas bajas (por ejemplo a 77 K en matriz sólida de metanol-etanol 1:1, v/v).⁸⁹ Las curvas de decaimiento de la luminiscencia en función del tiempo se ajustan en todos los casos a una ecuación estrictamente exponencial, lo que indica que existe una única especie emisora en el medio. Los espectros de luminiscencia en estado estacionario se recogen en las **figuras 28 y 29**, mientras que algunas de las curvas $I_{em} = f(t)$ aparecen en las **figuras 30 y 31**.

Tabla XVII. Datos de la emisión y parámetros fotocinéticos de los quelatocomplejos de rutenio(II) en agua a 25 °C.

Compuesto	$\lambda_{em} \text{ max/nm}^a$	$\Phi_{em}^{b,c}$	$\tau/\text{ns}^{b,d}$	$k_r \times 10^{-4}/\text{s}^{-1e}$	$(k_{te} + k_{nr}) \times 10^{-6}/\text{s}^{-1e}$
Ru(bpy)₃²⁺	630 (613)	0.042 ^f	610 ^g	6.9	1.6
Ru(bpy)₂(pzth)²⁺	751 (712)	0.0047	144	3.3	6.9
Ru(bpy)(pzth)₂²⁺	703 (675)	0.0082	577	1.4	1.7
Ru(pzth)₃²⁺	688 (649)	0.014 ^h	412	3.4	2.4
Ru(bpy)₂(ppzth)²⁺	755 (733)	0.0040	151	2.6	6.6
Ru(ppzth)₃²⁺	694 (673)	0.0090	832	1.1	1.2
Ru(acppzth)(pzth)₂²⁺	681 (655)	0.010	377	2.6	2.6
Ru(pzth)(tap)₂²⁺	635 (615)	0.028 ^h	525	5.3	1.8
Ru(tap)₃²⁺	604 (595)	0.014 ⁱ	223 ⁱ	6.3	4.4

a) Espectros de emisión corregidos. Entre paréntesis, máximos de emisión sin corregir. Error: ± 2 nm.

b) Disoluciones purgadas con Ar.

c) Estándar [Ru(pzth)₃]²⁺, excepto en los casos en que se indica otro. Error: + 10%.

d) Error: $\pm 1\%$.

e) Determinadas a partir de Φ_{em} y τ (ver texto).

f) Referencia 129; error: ± 0.002 .

g) Referencia 114; error: $\pm 2\%$.

h) Estándar: [Ru(bpy)₃]²⁺.

i) Referencia 255.

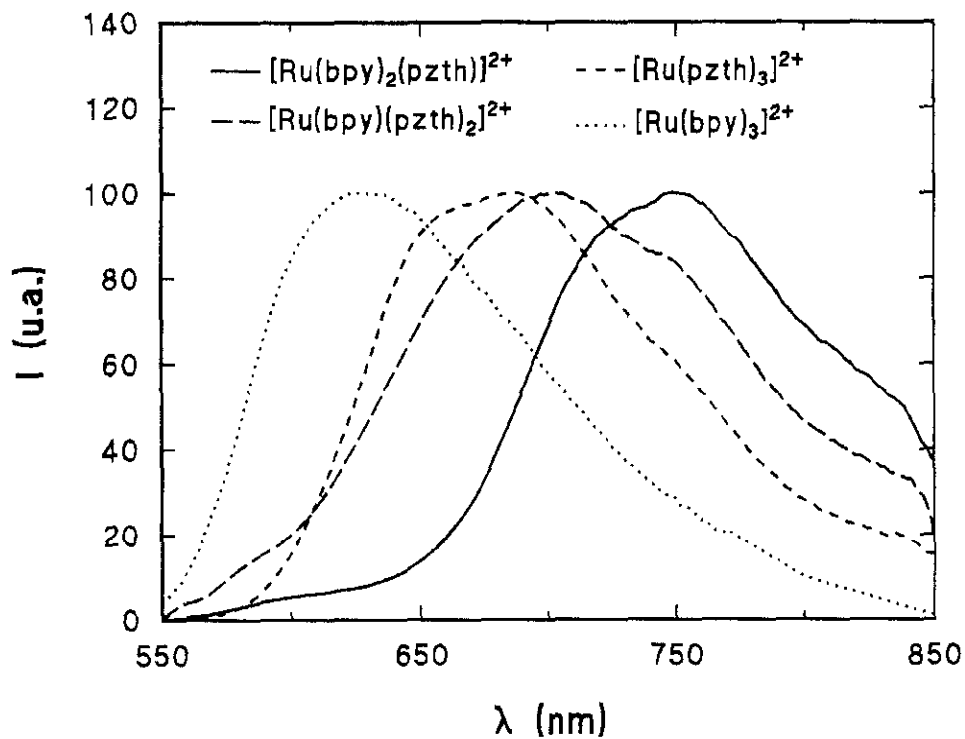


Figura 28. Espectros de emisión de los quelatocomplejos $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$, $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pzth})]^{2+}$, $[\text{Ru}(\text{bpy})(\text{pzth})_2]^{2+}$ y $[\text{Ru}(\text{pzth})_3]^{2+}$ en agua (corregidos por la respuesta instrumental).

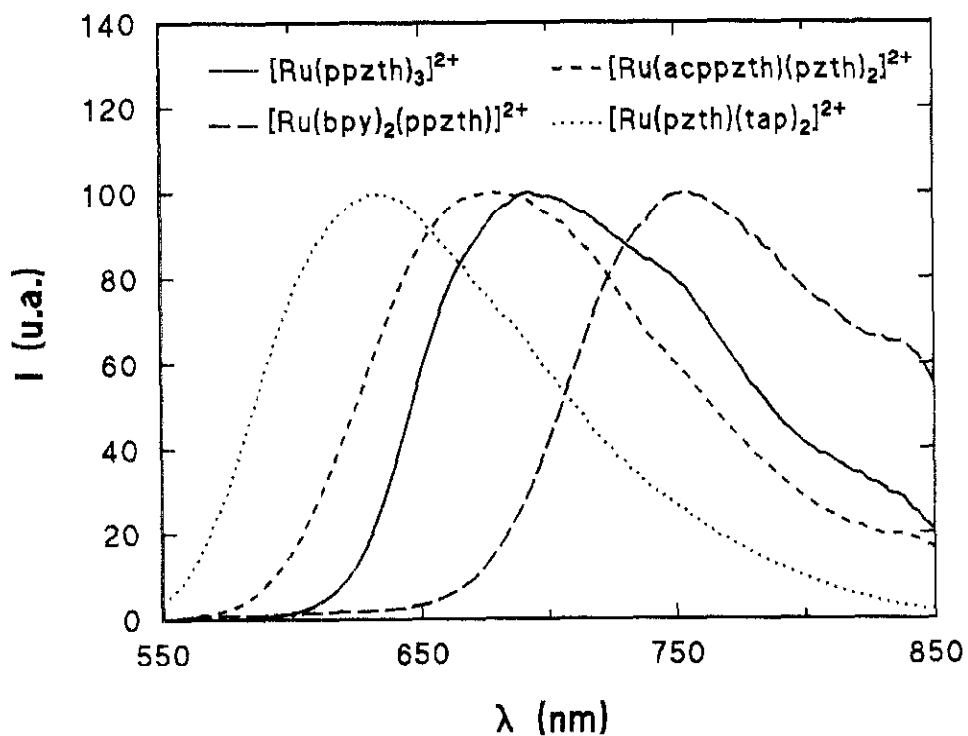


Figura 29. Espectros de emisión de los quelatocomplejos $[\text{Ru}(\text{ppzth})_3]^{2+}$, $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ppzth})]^{2+}$, $[\text{Ru}(\text{acppzth})(\text{pzth})_2]^{2+}$ y $[\text{Ru}(\text{pzth})(\text{tap})_2]^{2+}$ en agua (corregidos por la respuesta instrumental).

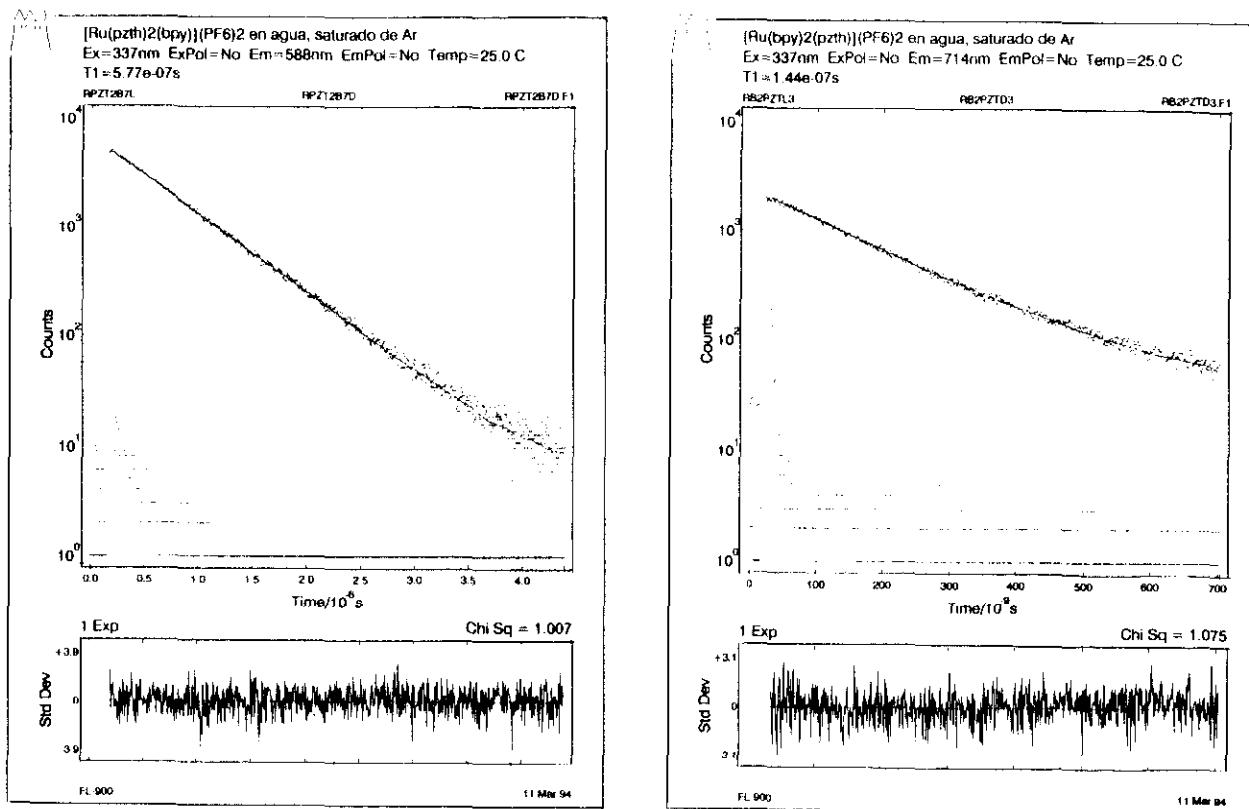


Figura 30. Curvas de intensidad de la luminiscencia en función del tiempo de los complejos $[Ru(pzth)_2(bpy)]^{2+}$ y $[Ru(bpy)_2(pzth)]^{2+}$, obtenidas mediante la técnica SPT (en agua a 25.0 ± 0.5 °C).

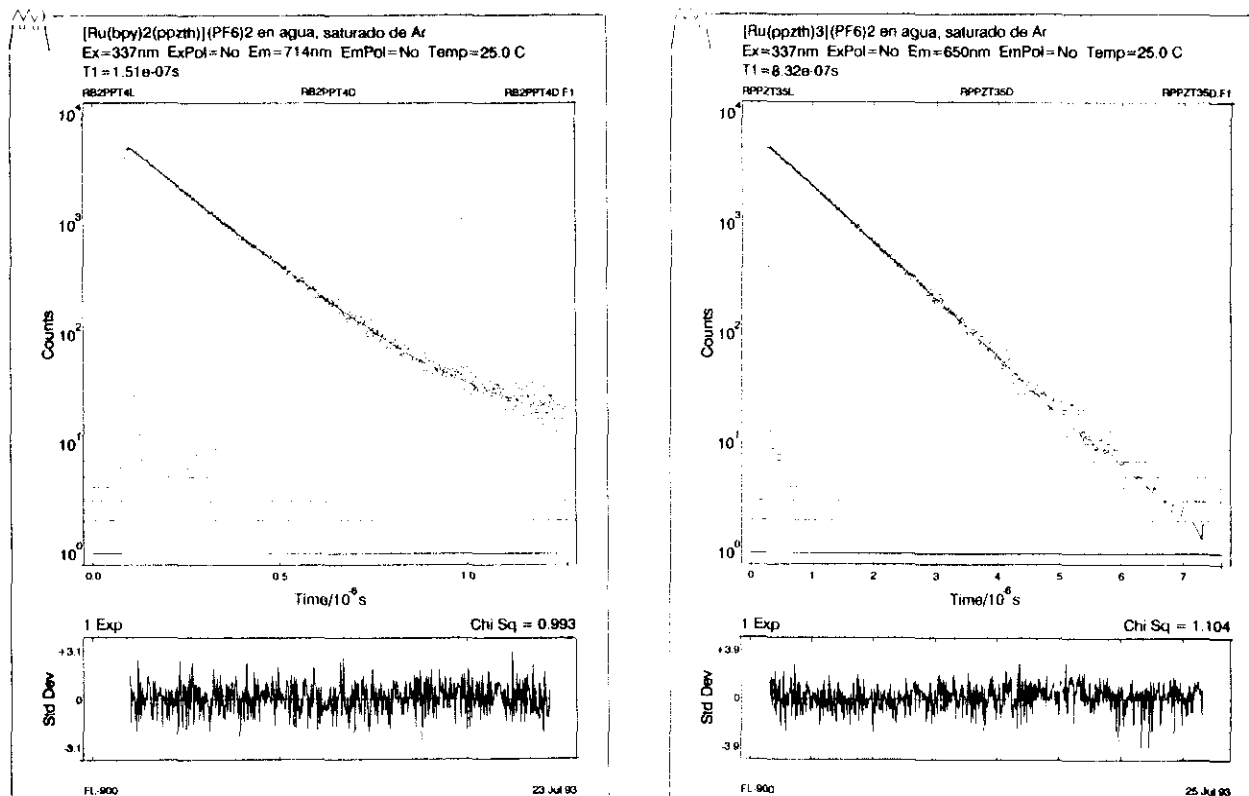
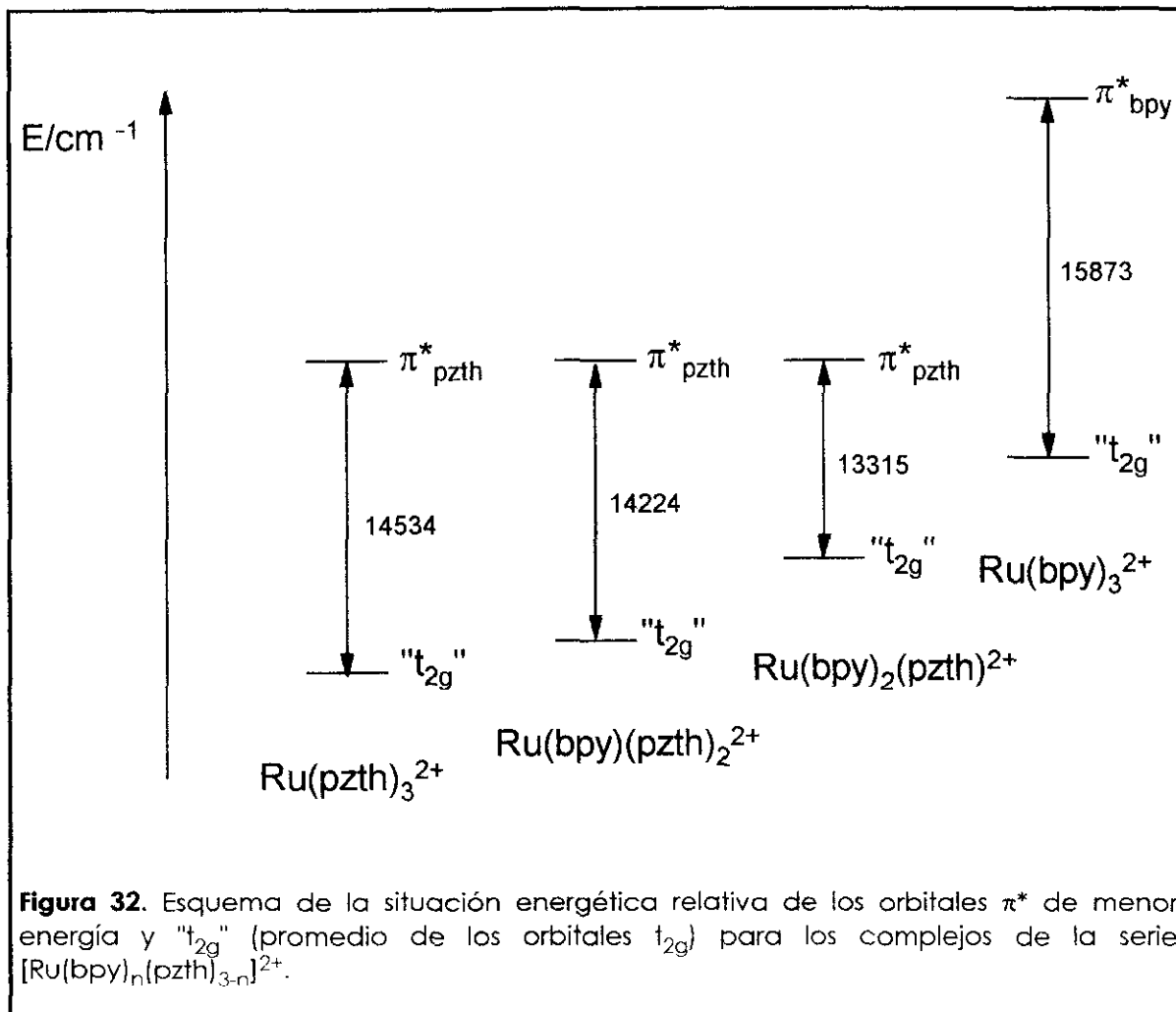


Figura 31. Curvas de intensidad de la luminiscencia en función del tiempo de los complejos $[Ru(bpy)_2(ppzth)]^{2+}$ y $[Ru(ppzth)_3]^{2+}$, obtenidas mediante la técnica SPT (en agua a 25.0 ± 0.5 °C).

Si comparamos los compuestos de coordinación heterolépticos mixtos que contienen ligandos **bpy** y **pzth** con sus correspondientes tris-quelatos, se observa que los primeros emiten a mayor longitud de onda. Por una parte, el máximo de emisión del $[\text{Ru}(\text{pzth})_3]^{2+}$ (transición $\pi^*-\text{d}\pi$) se encuentra desplazado hacia el rojo con respecto al del $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$, lo que se debe al menor contenido energético de los orbitales π^* del ligando **pzth**. Este razonamiento queda justificado por el mayor valor del potencial de reducción $E(2+/+)$ del primer complejo mencionado.¹¹⁴ En los quelatocomplejos mixtos, el orbital π^* de menor energía desde el que se produce la emisión (regla de Kasha)¹³³ será por tanto el de los ligandos **pzth**, y su contenido energético no debe variar significativamente por la presencia de una o dos unidades de **bpy**. Por otro lado, la energía de los orbitales t_{2g} del metal depende fundamentalmente del carácter σ -dador y π -aceptor de los ligandos. La molécula de **pzth** posee un carácter π -aceptor considerable, debido a la existencia de un anillo de pirazina, electrónicamente deficiente, en su estructura; sin embargo, el ligando **bpy** debe poseer un mayor carácter σ -dador, como refleja su mayor basicidad (una indicación de ello puede ser la comparación de los $\text{p}K_a$ de la piridina y la pirazina, 5.3 y 0.6, respectivamente). La sustitución de un ligando **pzth** por un **bpy** debe provocar una desestabilización de los orbitales t_{2g} centrados en el catión rutenio(II), debido a la menor retrocesión π (global) a los anillos piridínicos.²⁵⁴ De acuerdo con esto, la situación energética relativa de los orbitales π^* y t_{2g} en la serie de complejos de fórmula $[\text{Ru}(\text{bpy})_n(\text{pzth})_{3-n}]^{2+}$ ($n = 0-3$) se puede esquematizar como se representa en la figura 32. En relación con este diagrama, debemos puntualizar que se ha representado el contenido de energía promedio de los orbitales t_{2g} (lo que denotamos por " t_{2g} "), ya que la combinación de estos orbitales del metal con los π^* de los diferentes ligandos y la menor simetría de las moléculas consideradas, provocan una pérdida de la degeneración de los primeros. En cuanto a los valores de ΔE (en cm^{-1}), se han aproximado al inverso de la longitud de onda del máximo de emisión. La situación del $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ es puramente cualitativa.



En cuanto a los compuestos $[\text{Ru}(\text{ppzth})_3]^{2+}$ y $[\text{Ru}(\text{acppzth})(\text{pzth})_2]^{2+}$, la similitud de sus valores de $\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}$ con el del $[\text{Ru}(\text{pzth})_3]^{2+}$ refleja la mayor homogeneidad estructural de los quelatos heterocíclicos dispuestos en torno al átomo central de estos complejos. La adición de un grupo fenilo al sistema aromático conjugado que integran los anillos de pirazina y tiazol debe disminuir ligeramente el contenido energético del orbital π^* del ligando resultante (ppzth), lo que explicaría el pequeño desplazamiento hacia el rojo de la banda de emisión del $[\text{Ru}(\text{ppzth})_3]^{2+}$ con respecto a su homólogo sin los anillos bencénicos adicionales. Aparentemente, el moderado carácter electrodonador del sustituyente 4-acetamido situado sobre el grupo fenilo del ppzth es suficiente para neutralizar tal efecto.

El ligando **tap** posee una capacidad π -aceptora superior a la del **pzth**, pues contiene dos anillos de tipo pirazina en su estructura, lo que lo asemeja electrónicamente al ligando 2,2'-bipirazina (bpz), ampliamente estudiado

por Meyer et al. ^{113a} No es extraño, por tanto, que la sustitución de dos ligandos **pzth** por **tap** para dar el nuevo indicador $[\text{Ru}(\text{pzth})(\text{tap})_2]^{2+}$ provoque un desplazamiento hacia el azul del máximo de emisión, debido a la estabilización que experimentan los orbitales t_{2g} del metal al estar sometidos a un campo de ligandos de menor carácter σ -dador. Obsérvese cómo, desde el punto de vista contrario y utilizando los argumentos anteriores, la sustitución de uno de los ligandos del tris-quelato $[\text{Ru}(\text{tap})_3]^{2+}$ por **pzth** produce lógicamente un efecto cualitativamente similar sobre el complejo resultante al que origina el cambio de uno de los del $[\text{Ru}(\text{pzth})_3]^{2+}$ por **bpy**.

La racionalización de los valores de Φ_{em} y τ observados se facilita si, a partir de estos parámetros, se calculan las constantes cinéticas de los procesos unimoleculares competitivos por los que transcurre la desactivación del estado excitado $^3\text{MLCT}$ de los compuestos de coordinación del tipo que nos ocupa. Como se expuso en el apartado 3.4.2 de la sección de **antecedentes**, tales procesos son, además de la emisión de luminiscencia, la desactivación no radiativa al estado fundamental S_0 y la promoción térmicamente inducida a otro estado excitado de energía superior que no emite (generalmente un estado ^3MC). Un estudio teórico detallado de los estados electrónicos involucrados en los procesos fotofísicos de este tipo de moléculas revela la existencia de una compleja distribución de niveles energéticos dentro de lo que, de manera excesivamente simplista, llamamos "estado $^3\text{MLCT}$ ".²⁵⁶ De acuerdo con estos análisis, el estado $^3\text{MLCT}$ está formado en realidad por un conjunto de cuatro estados cuyo contenido energético relativo depende del tipo de ligandos y de la simetría del campo formado por los mismos. Estudios realizados sobre las series $[\text{Ru}(\text{bpy})_n(\text{bpz})_{3-n}]^{2+}$ ²⁵⁷ y $[\text{Ru}(\text{bpy})_n(\text{hat})_{3-n}]^{2+}$ ¹³⁰ (**hat** = 1,4,5,8,11,12-hexaazatrifenileno) han llevado a postular la existencia de un cierto desnivel energético entre los tres primeros estados $^3\text{MLCT}$, responsables de la emisión de luminiscencia y prácticamente degenerados, y el cuarto estado $^3\text{MLCT}$, no emisor. Tal separación es suficiente para que éste último añada otra posible vía de desactivación por promoción térmica desde el estado electrónico excitado " $^3\text{MLCT}$ ".

En ausencia de procesos de desactivación bimoleculares, el tiempo de vida de emisión (τ) se define como el inverso de la suma de las constantes cinéticas de todos los procesos competitivos por los que transcurre la desactivación del estado excitado (ecuación 12):¹³³ emisión de

luminiscencia (k_r), desactivación no radiativa (k_{nr}) y promoción térmicamente inducida a un(os) estado(s) excitado(s) de contenido energético superior no emisor(es) (k_{te}):

$$\frac{1}{\tau} = k_{obs} = k_r + k_{nr} + k_{te} \quad (12)$$

En todos los casos que nos ocupan, los procesos de promoción térmica se pueden reducir a uno solo, cuya dependencia con la temperatura sigue un comportamiento de tipo Arrhenius (**ecuación 13**),

$$k_{te} = B e^{-\frac{\Delta E}{RT}} \quad (13)$$

donde B es el factor preexponencial, ΔE la energía de activación experimental y R la constante universal de los gases.

La **ecuación 12** se convierte, por tanto, en la **ecuación 7**, que expresa la dependencia existente entre el tiempo de vida de emisión con la temperatura, siempre que no haya un cambio de estado de agregación del medio al disminuir la temperatura; en caso de transición líquido-sólido debe añadirse un término más que tenga en cuenta la misma.⁸⁹

$$\frac{1}{\tau} = k_r + k_{nr} + B e^{-\frac{\Delta E}{RT}} \quad (7)$$

El rendimiento cuántico de emisión desde el estado excitado $^3\text{MLCT}$, Φ_{em} , representa la eficacia de formación del mismo por absorción de luz, junto con la importancia del proceso radiativo frente a todos los otros procesos involucrados en la desactivación del estado excitado luminiscente. Numéricamente, es el producto de la eficiencia del proceso de emisión, $\phi_{em} = k_r / \Sigma k_i$, y el rendimiento cuántico del cruce entre sistemas $^1\text{MLCT} \rightarrow ^3\text{MLCT}$, Φ_{isc} :

$$\Phi_{em} = \Phi_{isc} \times \phi_{em}$$

En el $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ se ha comprobado que $\Phi_{\text{isc}} = 1$.¹²⁷ Aunque en los complejos descritos en esta memoria, el valor puede ser algo inferior (por ejemplo, en el $[\text{Ru}(\text{pzth})_3]^{2+}$ es de 0.74 ± 0.06),¹²⁷ se ha supuesto un valor unitario ante la imposibilidad de determinarlo en nuestros laboratorios, por lo que k_r representa el límite inferior.

$$\Phi_{\text{em}} \approx \phi_{\text{em}} = \frac{k_r}{k_r + k_{\text{nr}} + k_{\text{te}}} = k_r \tau$$

De esta manera, a partir de Φ_{em} y τ , se puede obtener k_r , constante cinética del proceso de emisión de radiación, aplicando la **ecuación 14**:

$$k_r = \frac{\Phi_{\text{em}}}{\tau} \quad (14)$$

Más aún, dado que conocemos la suma de todas las constantes cinéticas unimoleculares (inverso de τ) y k_r , una sencilla sustracción nos proporciona el valor de la suma de constantes de los procesos de desactivación no radiativos, $k_{\text{nr}} + k_{\text{te}}$, mediante la **ecuación 15**:

$$k_{\text{nr}} + k_{\text{te}} = \frac{1}{\tau} - k_r \quad (15)$$

En la **tabla XVII** se recogen los valores de k_r y $k_{\text{nr}} + k_{\text{te}}$, obtenidos mediante las **ecuaciones 14 y 15**, para todos los compuestos estudiados. Las constantes cinéticas del proceso de emisión son todas del orden de 10^4 s^{-1} . De acuerdo con la teoría de Einstein,²⁵⁸ k_r ha de ser proporcional a $\nu^{-2} \mathcal{A}$ (donde ν es la frecuencia del máximo de absorción y \mathcal{A} el coeficiente de absorción molar integrado a toda la banda de absorción). No obstante, no es de esperar una correlación de este tipo en nuestros compuestos, pues la emisión se produce desde un nivel ($^3\text{MLCT}$) distinto al de absorción ($^1\text{MLCT}$).

Para determinar por separado los valores de k_{nr} y k_{te} es necesario estudiar la variación de la constante de desactivación con la temperatura

(ecuación 16).¹³⁰ Este tipo de estudio se ha llevado a cabo para algunos de nuestros compuestos. Los resultados se recopilan en la **tabla XVIII**. Los datos se ajustan a una ecuación fenomenológica de la forma de la **ecuación 17**, en la que $\tau = 1/k$, $A = k_r + k_{nr}$ y $C = \Delta E$.

$$k = k_r + k_{nr} + k_{te} = k_r + k_{nr} + B e^{-\frac{\Delta E}{RT}} \quad (16)$$

$$\tau = \frac{1}{A + B e^{-(C \cdot 1.44/T)}} \quad (17)$$

En la **figura 33** se representan los valores experimentales del tiempo de vida y las curvas resultantes del mejor ajuste de las mismas a las funciones del tipo reflejado por la **ecuación 17**. En todos los casos, se han conseguido coeficientes de correlación superiores a 0.999 (con 16-18 puntos), lo que da idea de la bondad de los ajustes.

De acuerdo con la ecuación de Arrhenius (**ecuación 13**), B representaría el factor preexponencial y C sería ΔE en cm^{-1} , es decir, la separación en la escala de energías entre el estado excitado $^3\text{MLCT}$ y el que se alcanza por promoción térmica (si ambos están en equilibrio termodinámico) o la energía de absorción, si la promoción térmicamente inducida responde a un proceso irreversible. Sin embargo, todos los ajustes llevados a cabo muestran la existencia de una importante covarianza entre los parámetros B y C, por lo que sus valores sólo pueden considerarse de forma conjunta e, independientemente, de manera cualitativa. Este hecho ya se ha descrito anteriormente.¹³⁰

Tabla XVIII. Parámetros del ajuste de las curvas $\tau = f(T)$ a la ecuación 17 y parámetros fotofísicos de los procesos de desactivación del estado excitado $^3\text{MLCT}$ de los quelatocomplejos de rutenio(II) indicados.

Compuesto	$\tau/\text{ns}^{\text{a,b}}$	$A \times 10^{-6}/\text{s}^{-1}$	$\Delta E/\text{cm}^{-1}\text{c}$	$k_{\text{te}} \times 10^{-5}/\text{s}^{-1}\text{b,d}$	$k_{\text{r}} \times 10^{-4}/\text{s}^{-1}\text{e}$	$k_{\text{nr}} \times 10^{-6}/\text{s}^{-1}\text{f}$	$\phi_{\text{te}}^{\text{b,g}}$	Intervalo de T/K
$\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$	610 ^h	1.29 ⁱ	3560 ⁱ	3.43	6.9	1.22	0.21	281-323
$\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pzth})^{2+}$	144	4.42	744	19.9	3.3	4.39	0.31	274-343
$\text{Ru}(\text{bpy})(\text{pzth})_2^{2+}$	577	1.28	2848	4.60	1.4	1.27	0.26	274-343
$\text{Ru}(\text{pzth})_3^{2+}$	412	1.46	3745	9.46	3.6	1.43	0.39	274-350
$\text{Ru}(\text{ppzth})_3^{2+}$	832	1.08	2366	1.32	1.1	1.07	0.11	274-343

a) Tiempos de vida de emisión en disoluciones acuosas purgadas con Ar.

b) A 298 K.

c) $\Delta E = C$ (ver ecuación 17).

d) $k_{\text{te}} = B e^{-(C \times 1.44/T)}$.

e) $k_{\text{r}} = \Phi_{\text{em}}/\tau$.

f) $k_{\text{nr}} = A - k_{\text{r}}$.

g) $\phi_{\text{te}} = k_{\text{te}} / (k_{\text{r}} + k_{\text{nr}} + k_{\text{te}})$

h) Referencia 114.

i) Referencia 131.

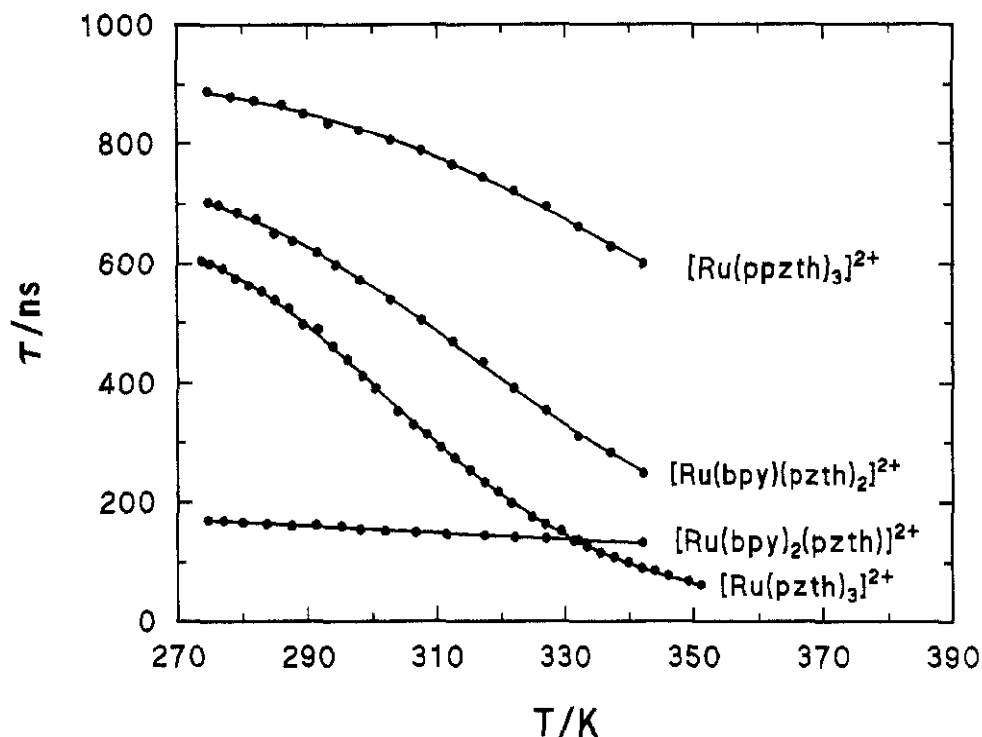


Figura 33. Representación de los resultados experimentales de los estudios de $\tau = f(T)$ y de las correspondientes curvas de ajuste a la **ecuación 17** para los tris-quelatos $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pzth})]^{2+}$, $[\text{Ru}(\text{bpy})(\text{pzth})_2]^{2+}$, $[\text{Ru}(\text{pzth})_3]^{2+}$ y $[\text{Ru}(\text{ppzth})_3]^{2+}$ en disolución acuosa (la correspondiente al $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ se representa en la figura 14).

En cuanto al resto de los datos recogidos en la **tabla XVIII**, k_r se obtiene aplicando la **ecuación 14** y k_{nr} se puede estimar de dos maneras:

a) Mediante la **ecuación 18**:

$$k_{nr} = A - k_r \quad (18)$$

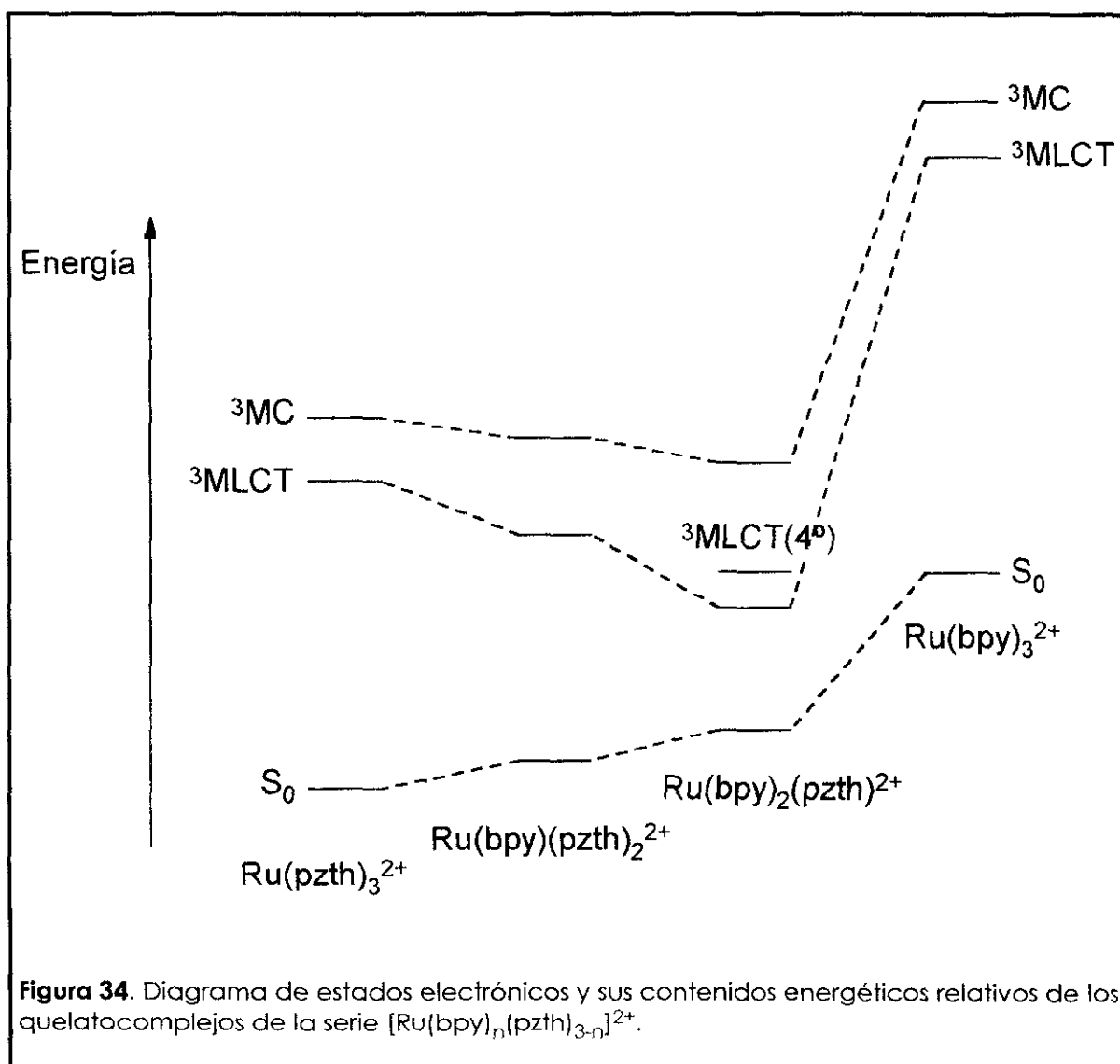
b) Restando el valor de k_{te} obtenido en el ajuste al de la suma $k_{te} + k_{nr}$ (**ecuación 15**) antes obtenida (**tabla XVII**).

Ambos métodos arrojan valores concordantes dentro de un error inferior al 8% en todos los casos, lo que demuestra la coherencia de los cálculos y ajustes llevados a cabo.

La eficiencia de la desactivación por promoción térmica (ϕ_{te}), representa la importancia de dicho proceso frente a los que compiten cinéticamente con él en la desactivación del estado excitado luminiscente (ecuación 19).

$$\phi_{te} = \frac{k_{te}}{k_r + k_{nr} + k_{te}} = k_{te} \times \tau \quad (19)$$

Los valores obtenidos para los parámetros cinéticos de los complejos de la serie $[\text{Ru}(\text{bpy})_n(\text{pzth})_{3-n}]^{2+}$ se pueden racionalizar mediante el diagrama de Jablonski representado en la figura 34.



El desplazamiento hacia el rojo de la banda de emisión en los dos complejos heterolépticos de la serie refleja, fundamentalmente, la disminución del contenido energético del estado excitado $^3\text{MLCT}$ emisor, por las razones apuntadas anteriormente en el comentario de la **figura 32**. La sustitución de ligandos **pzth** por **bpy** también provoca, como ya se justificó, un aumento del contenido energético del estado fundamental S_0 , pero su cuantía es pequeña, mientras sigan existiendo ligandos **pzth** en el complejo, que aportan orbitales π^* capaces de estabilizar los orbitales t_{2g} ocupados del metal; ésto no ocurre ya en el $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$, razón por la cual su estado fundamental debe poseer un contenido energético claramente superior.

El estado excitado ^3MC también debe verse afectado por el cambio de ligandos. La energía de este estado con respecto a S_0 representa lo que, en la terminología de la teoría del campo del ligando, se denomina *desdoblamiento del campo de ligandos* (Δ_0 ó $10Dq$).^{124,259} Es bien conocido, por otra parte, que la retrocesión π aumenta el valor de este parámetro.^{124,259} Por tanto, resulta lógico que la energía del estado ^3MC disminuya al reemplazar **pzth** por **bpy**, por la menor fuerza del campo del ligando que proporciona el primero, como cabe esperar de su menor carácter σ -dador (menor basicidad del ligando tiazol) y el menos eficaz solapamiento de su orbital molecular de simetría σ con los de idéntica simetría del metal (al tratarse de un heterociclo de 5 miembros, comparado con los anillos de piridina y pirazina).¹¹² En el $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$, el estado ^3MC ha de situarse mucho más arriba en la escala energética, pues también lo hacen los orbitales involucrados.

Los valores de k_{nr} deben estar regidos de manera decisiva por la *ley del espaciado energético* ("energy gap law"): cuanto menor sea la diferencia de energía entre los estados emisor y fundamental, mayor es la probabilidad de que tenga lugar el proceso de desactivación no radiativa del $^3\text{MLCT}$. Los valores de k_{nr} reflejados en la **tabla XVIII** mantienen esta tendencia, con la excepción del compuesto $[\text{Ru}(\text{bpy})(\text{pzth})_2]^{2+}$, lo cual es atribuible a la falta de simetría de su molécula. De hecho, este complejo ha sido aislado por nosotros como una mezcla de tres isómeros, con características distintas en lo que se refiere a sus elementos de simetría. Los valores obtenidos para este compuesto son, por tanto, un promedio ponderado de los estados electrónicos de los tres estereoisómeros. Además, considerando cada isómero aisladamente, no debe existir degeneración de los estados $^3\text{MLCT}$.

Como cabía esperar, el valor más alto de k_{nr} se obtiene para el compuesto $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pzth})]^{2+}$, en el que los estados $^3\text{MLCT}$ y S_0 se encuentran particularmente próximos.

En cuanto a la vía adicional de desactivación no radiativa del estado excitado $^3\text{MLCT}$, la promoción a un estado no luminiscente de contenido energético superior accesible térmicamente, los valores de k_{te} de la **tabla XVIII** muestran la existencia de dos comportamientos distintos:

- En todos los compuestos estudiados, a excepción del $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pzth})]^{2+}$, existe una importante dependencia del tiempo de vida de emisión con la temperatura y los valores de k_{te} y ΔE obtenidos son del mismo orden de magnitud. Estos resultados están de acuerdo con la existencia de dicha vía de promoción a un estado excitado relativamente próximo en energía ($\Delta E \sim 3 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$), como puede ser el ^3MC , que va resultando más accesible a medida que aumenta la temperatura.
- El tiempo de vida de emisión del $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pzth})]^{2+}$ muestra una dependencia con la temperatura mucho menos marcada que la del resto de los complejos estudiados (ver **figura 33**). Por otro lado, los valores de ΔE y k_{te} obtenidos para esta molécula son claramente distintos de los del resto. Aún tomando el valor de ΔE ($= C$) con todas las precauciones, por la importante covarianza que muestra con el parámetro preexponencial B , su orden de magnitud ($\sim 10^2 \text{ cm}^{-1}$) indica que la promoción térmicamente inducida se produce en este caso hacia un estado excitado de contenido energético inferior que en el resto de los quelatocomplejos estudiados. El valor, anormalmente elevado, de k_{te} apunta también hacia la existencia de un estado electrónico mucho más accesible por promoción térmica que el ^3MC discutido anteriormente.

Observaciones similares en otras series de complejos,^{130,257} han llevado a sus autores a postular que, en aquellos complejos en los que la desactivación del estado excitado $^3\text{MLCT}$ por promoción térmica al estado ^3MC no es posible (por estar muy alejados en energía), únicamente se observa la activación al cuarto estado $^3\text{MLCT}$ que predice la teoría²⁵⁶ y cuya desactivación transcurre sin emisión.

De modo general, podemos considerar que la constante cinética k_{te} es la suma de las constantes cinéticas de dos procesos que surgen de la posibilidad de promoción térmica al estado ^3MC y al cuarto estado $^3\text{MLCT}$, mucho más próximo al conjunto de tres niveles $^3\text{MLCT}$. Algunos autores

han ajustado los datos experimentales $\tau = f(T)$ a una función suma de dos exponenciales,²⁶⁰ si bien el predominio general de uno de los dos procesos hace que tales ajustes no sean mejores que los monoexponenciales. Todos los complejos estudiados, excepto el $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pzth})]^{2+}$, responden a la situación más frecuente en la que el cuarto estado $^3\text{MLCT}$ se encuentra relativamente cerca de los otros tres del mismo tipo, por lo que su contribución al término k_{te} es despreciable y más bien aparecerá reflejado en los procesos no radiativos independientes de la temperatura, que refleja k_{nr} . En el complejo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pzth})]^{2+}$, dicho cuarto estado $^3\text{MLCT}$ se debe encontrar claramente separado del resto, aunque lógicamente a una distancia energética inferior a la que típicamente corresponde al estado ^3MC , el cual, además, hemos visto que debe poseer un contenido de energía tal que es mucho menos accesible que en el resto de los compuestos de la serie. Como consecuencia, la vía de desactivación por activación térmica del estado excitado de este compuesto debe ser únicamente el cuarto estado $^3\text{MLCT}$, lo que explicaría el elevado valor de k_{te} , no por casualidad del mismo orden de magnitud típico de k_{nr} (tabla XVIII).

La sustitución por un grupo fenilo en posición 5 en el anillo de tiazol del **pzth** provoca un aumento espectacular del tiempo de vida de emisión del tris-complejo resultante. Este efecto es similar al que se ha observado en otros ligandos, como son los de 1,10-fenantrolina¹²⁸ y 2,2'-bipiridina²⁶¹ (si se comparan con la 4,7-difenil-1,10-fenantrolina y la 4,4'-difenil-2,2'-bipiridina, respectivamente). La introducción de una nueva unidad aromática debe contribuir a aumentar el carácter π -acceptor del ligando, al rebajar la energía de los orbitales π^* por la mayor conjugación. Ésto produciría a su vez un aumento del valor de Δ_0 y, por tanto, la vía de desactivación por promoción térmicamente inducida al estado excitado ^3MC contribuirá proporcionalmente menos. Obsérvese que el valor de k_{te} para el complejo $[\text{Ru}(\text{ppzth})_3]^{2+}$ es el menor de todos los de la tabla XVIII, así como el de ϕ_{te} , que indica una participación relativa de esta vía de desactivación de tan sólo un 11% con respecto a todos los demás. Todo ello explica el importante aumento del tiempo de vida del estado excitado $^3\text{MLCT}$ con respecto al análogo $[\text{Ru}(\text{pzth})_3]^{2+}$.

El efecto causado por la sustitución de dos ligandos **ppzth** por un **bpy** sobre el $[\text{Ru}(\text{ppzth})_3]^{2+}$, para dar el $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ppzth})]^{2+}$, puede explicarse en términos similares a los expresados para el $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pzth})]^{2+}$. Aunque aquél no se ha incluido en el estudio de $\tau = f(T)$, es muy notable el parecido

de los valores de k_r y $k_{nr} + k_{te}$ de ambos complejos heterolépticos citados (tabla XVII).

El compuesto $[\text{Ru}(\text{acppzth})(\text{pzth})_2]^{2+}$ posee propiedades espectroscópicas muy similares a las del $[\text{Ru}(\text{pzth})_3]^{2+}$, lo que indica que ambos compuestos deben poseer una distribución de estados energéticos análoga. Probablemente, el mencionado efecto que produce la introducción de un grupo fenilo se ve compensado por la presencia de un sustituyente en posición *para* débilmente electrodonador, como el grupo acetamido, en el ligando **acppzth**.

De todos los complejos de rutenio(II) sintetizados, el que presenta unas mejores características emisoras es el $[\text{Ru}(\text{pzth})(\text{tap})_2]^{2+}$. La existencia en este complejo de dos ligandos **tap** (excelentes aceptores π , al poseer dos anillos de tipo pirazina) contribuye a estabilizar el HOMO del complejo, desplazando hacia el azul su máximo de emisión. Al disminuir la probabilidad de decaimiento no radiativo desde el $^3\text{MLCT}$ al estado fundamental, tanto el tiempo de vida como, sobre todo, el rendimiento cuántico de emisión crecen notablemente cuando se compara con los trisquelatos homolépticos de **tap** y **pzth** (tabla XVIII).

3.1.3. Reactividad fotoquímica frente a ácidos.

3.1.3.1 Propiedades ácido-base del estado fundamental.

La existencia de átomos de nitrógeno heterocíclicos que no participan en enlaces de coordinación con el átomo de rutenio(II) es la causa de que estos compuestos participen en reacciones ácido-base. El carácter básico de estos átomos de nitrógeno integrados en anillos de pirazina permite su protonación (esquema 22), caracterizada por la constante K_a .



Esquema 22

La escasa basicidad de la pirazina ($pK_a = 0.6$) se ve disminuida adicionalmente al producirse la coordinación al centro metálico, cargado positivamente. Ésto hace que la protonación del estado fundamental del complejo sólo se consiga a concentraciones muy elevadas de ácido, que caen fuera de la escala de pH de 0 a 14 unidades. El hecho de que no se aprecien variaciones en el espectro de absorción de los compuestos en este intervalo corrobora dicha afirmación.

Hemos estudiado el equilibrio ácido-base en algunos de los quelatocomplejos sintetizados. En las **figuras 35 y 36** se representan los espectros de absorción de muestras con una concentración fija ($\sim 10^{-5}$ M) de los complejos $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pzth})]^{2+}$ y $[\text{Ru}(\text{ppzth})_3]^{2+}$, respectivamente, en disoluciones acuosas de H_2SO_4 entre 0 y 85% (p/p). En ambos casos se observa la presencia de puntos isobésticos, lo que indica la existencia de equilibrios ácido-base. En el primero de los compuestos mencionados, sólo es posible la protonación de un átomo de nitrógeno. En cambio, el $[\text{Ru}(\text{ppzth})_3]^{2+}$, que dispone de tres anillos de pirazina, experimenta la protonación de un segundo ligando, que comienza a ser observable en los espectros de absorción electrónica por encima de concentraciones del 70% en ácido sulfúrico. Todos los procesos observados son totalmente reversibles, lo cual se ha comprobado neutralizando las correspondientes disoluciones con hidróxido sódico concentrado, observándose la recuperación íntegra del espectro de absorción original de la forma básica.

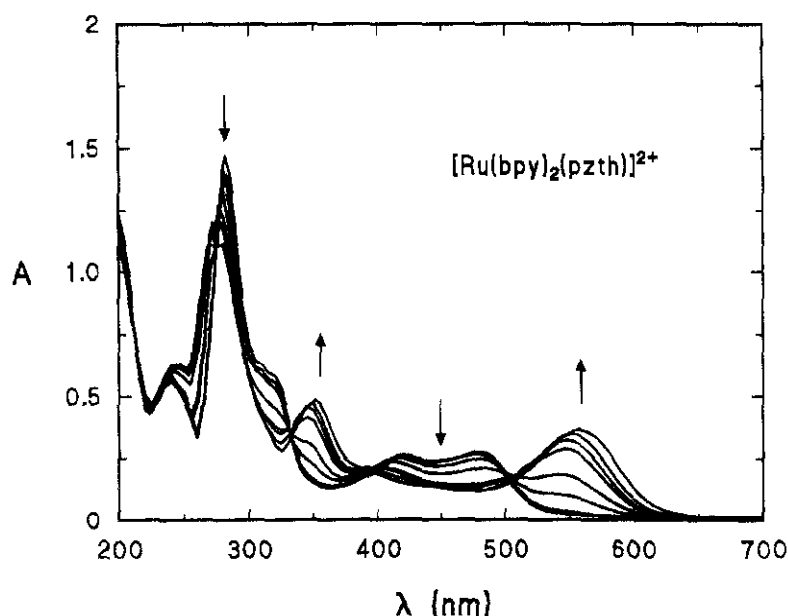


Figura 35. Espectros de absorción UV-VIS del complejo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pzth})]^{2+}$ 3.1×10^{-5} M en disoluciones acuosas que contienen 0, 20, 27, 37, 42, 52, 62 y 70% (p/p) de ácido sulfúrico.

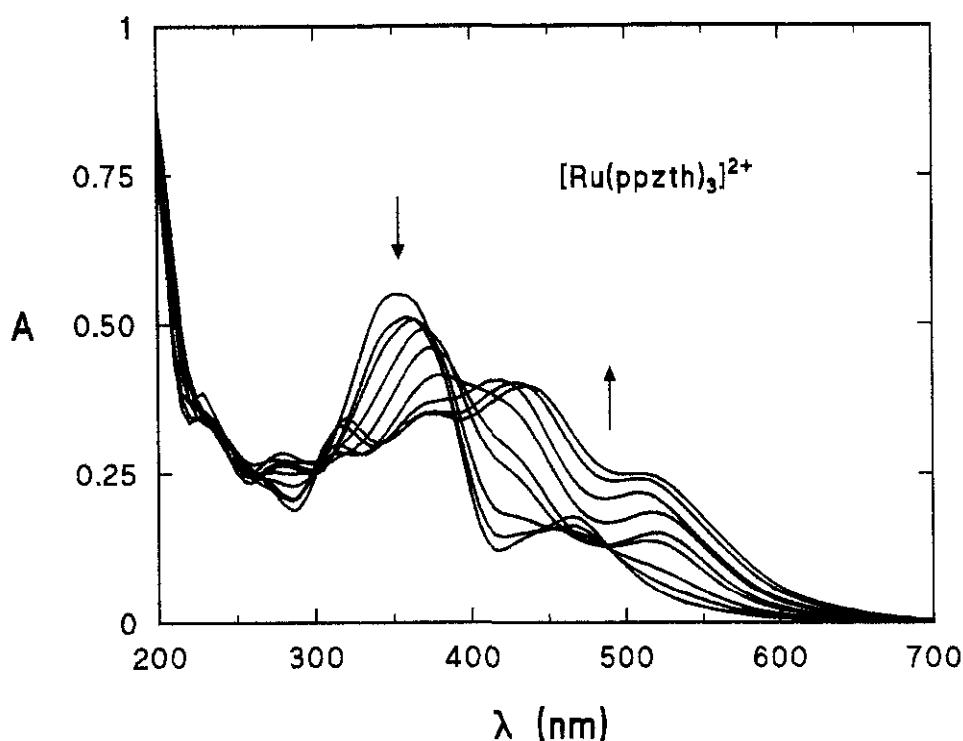


Figura 36. Espectros de absorción UV-VIS del complejo $[\text{Ru}(\text{ppzth})_3]^{2+}$ 3.1×10^{-5} M en disoluciones acuosas que contienen 0, 8, 20, 27, 37, 42, 52, 70 y 85% (p/p) de ácido sulfúrico.

La representación gráfica de la absorbancia (A) a cualquier longitud de onda distinta de la de los puntos isobésticos, frente al parámetro de acidez H_0 de Hammett²³⁶ se ajusta a una curva sigmoïdal, cuyo punto de inflexión es el $\text{p}K_a$ del compuesto. Para conseguir la máxima exactitud posible en el cálculo, se eligen aquellas longitudes de onda a las que la diferencia entre los coeficientes de absorción molar de las formas ácida y básica es máxima. En las **figuras 37 y 38** se representan algunas de estas gráficas para los dos complejos estudiados. En los dos quelatocomplejos estudiados, el valor de $\text{p}K_a$ obtenido por este método espectrofotométrico es de -1.8 ± 0.2 , coincidente con el obtenido anteriormente en nuestro grupo de investigación para el complejo $[\text{Ru}(\text{pzth})_3]^{2+}$ ($\text{p}K_{a1} = -1.9 \pm 0.1$).^{46a} Este resultado es lógico, pues en los tres casos la protonación se produce sobre un anillo de tipo pirazínico. La existencia de un grupo fenilo unido al tiazol en el ligando ppzth no afecta sensiblemente a las propiedades ácido-base de la molécula resultante.

El valor de $\text{p}K_a$ obtenido para los complejos mencionados refleja efectivamente la disminución de la densidad electrónica que provoca en el heterociclo la coordinación al dicatión rutenio.

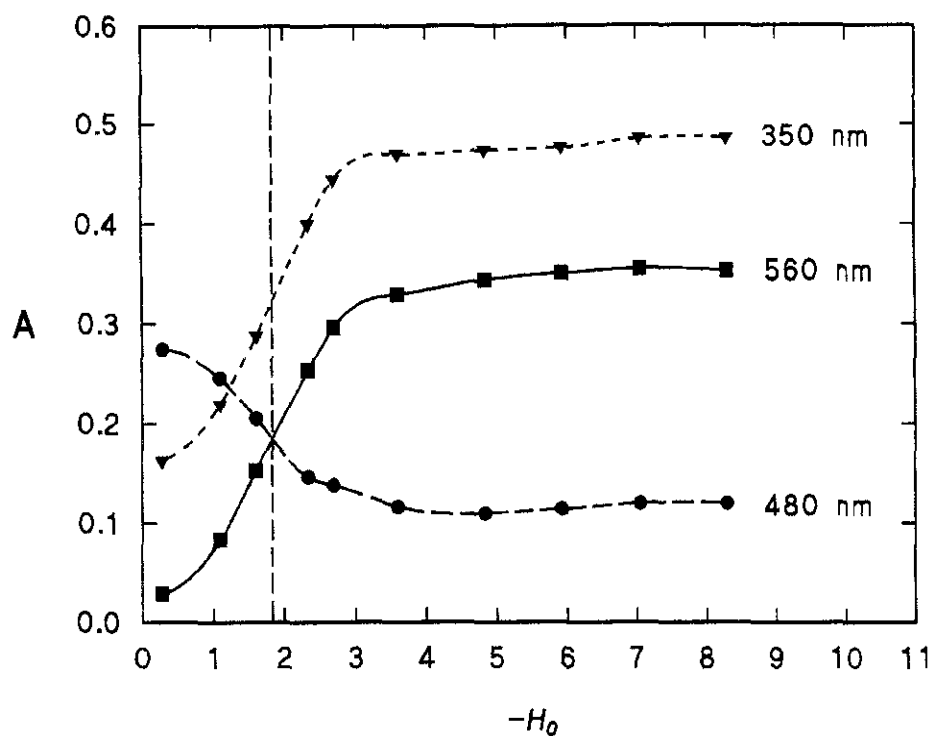


Figura 37. Representación gráfica de la absorbanza a 350, 480 y 560 nm frente al parámetro de acidez de Hammett (H_0) de diversas disoluciones del complejo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pzth})]^{2+}$.

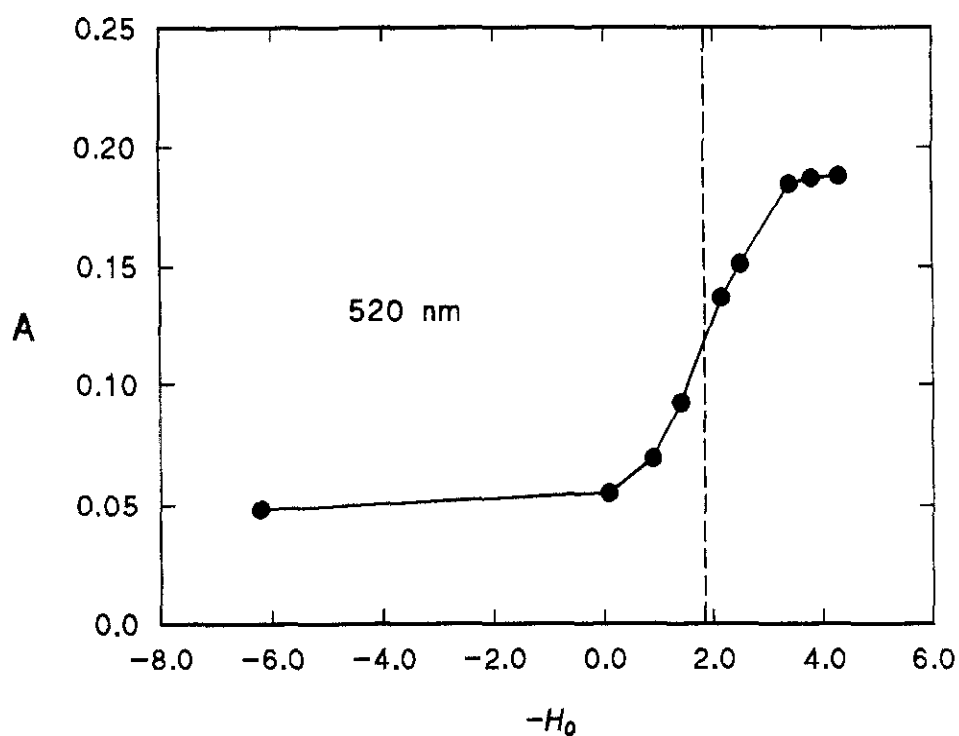


Figura 38. Representación gráfica de la absorbanza a 520 nm frente al parámetro de acidez de Hammett (H_0) y el pH de diversas disoluciones del complejo $[\text{Ru}(\text{ppzth})_3]^{2+}$.

Aunque en los espectros de absorción del $[\text{Ru}(\text{ppzth})_3]^{2+}$ se aprecian nuevos puntos isobésticos a concentraciones muy elevadas de ácido sulfúrico, no ha sido posible calcular las sucesivas constantes de acidez ($\text{p}K_{\text{a}2}$ y $\text{p}K_{\text{a}3}$), debido a que no se logra acceder a regiones donde predominen las formas di o triprotonada.

3.1.3.2. Propiedades ácido-base del estado excitado.

Dado que nuestro interés es construir un sensor de luminiscencia para la determinación del pH o la concentración de CO_2 (a través de la transducción de pH), es fundamental conocer cuál es el comportamiento del estado excitado del complejo en función de la acidez del medio.

En todos los quelatocomplejos de rutenio(II) sintetizados se observa que, en disolución acuosa, un aumento de la acidez del medio va acompañado de una drástica disminución de la intensidad de la luminiscencia y, además, ésta ocurre dentro del intervalo de 0 a 14 unidades de pH.

La mayor basicidad del complejo en su estado excitado se puede explicar por la propia naturaleza del mismo, que proviene de una transición electrónica desde un orbital centrado en el metal (t_{2g}) hacia un orbital de los ligandos (π^*), lo que aumenta la densidad electrónica del anillo de pirazina correspondiente y exalta el carácter básico del átomo de nitrógeno que no participa en enlaces de coordinación con el de rutenio(II).

En las **figuras 39, 40 y 41** se representan las variaciones de la intensidad de luminiscencia de disoluciones de los complejos $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pzth})]^{2+}$, $[\text{Ru}(\text{ppzth})_3]^{2+}$ y $[\text{Ru}(\text{pzth})(\text{tap})_2]^{2+}$ en ácido clorhídrico 1 M, cuando se valoran con disoluciones 1 M en hidróxido sódico de idéntica concentración en el complejo en cuestión. Las curvas de valoración obtenidas al llevar a cabo el proceso contrario (partiendo de la disolución alcalina) conducen al mismo resultado, no observándose descomposición ni cambio alguno del espectro de absorción de las respectivas disoluciones dentro del intervalo de pH estudiado. No obstante, el $[\text{Ru}(\text{pzth})(\text{tap})_2]^{2+}$ sí sufre pérdida de luminiscencia a valores del pH superiores a 10, probablemente debido a la formación de la pseudobase por ataque nucleófilo del anión hidroxilo a la posición 3 del anillo de pirazina o del tap coordinado.²⁶²

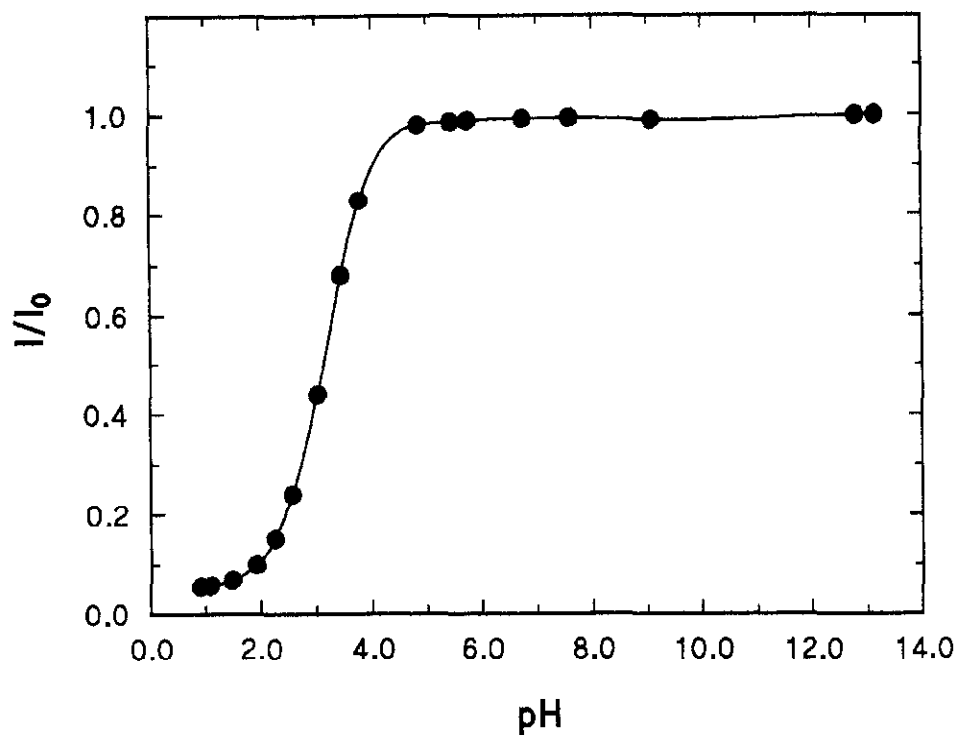


Figura 39. Valoración por luminiscencia de una disolución acuosa 1M de NaOH con otra 1M en HCl, ambas con una concentración 3.1×10^{-5} M de $[Ru(bpy)_2(pzth)]^{2+}$.

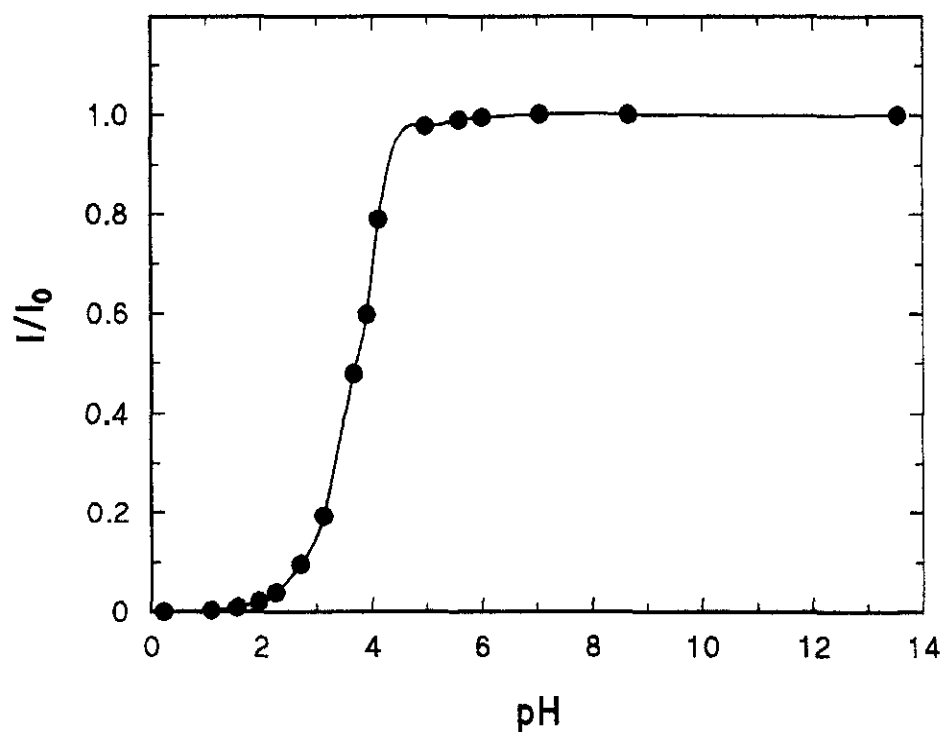


Figura 40. Valoración por luminiscencia de una disolución acuosa 1M de NaOH con otra 1M en HCl, ambas con una concentración 1.5×10^{-5} M de $[Ru(ppzth)_3]^{2+}$.

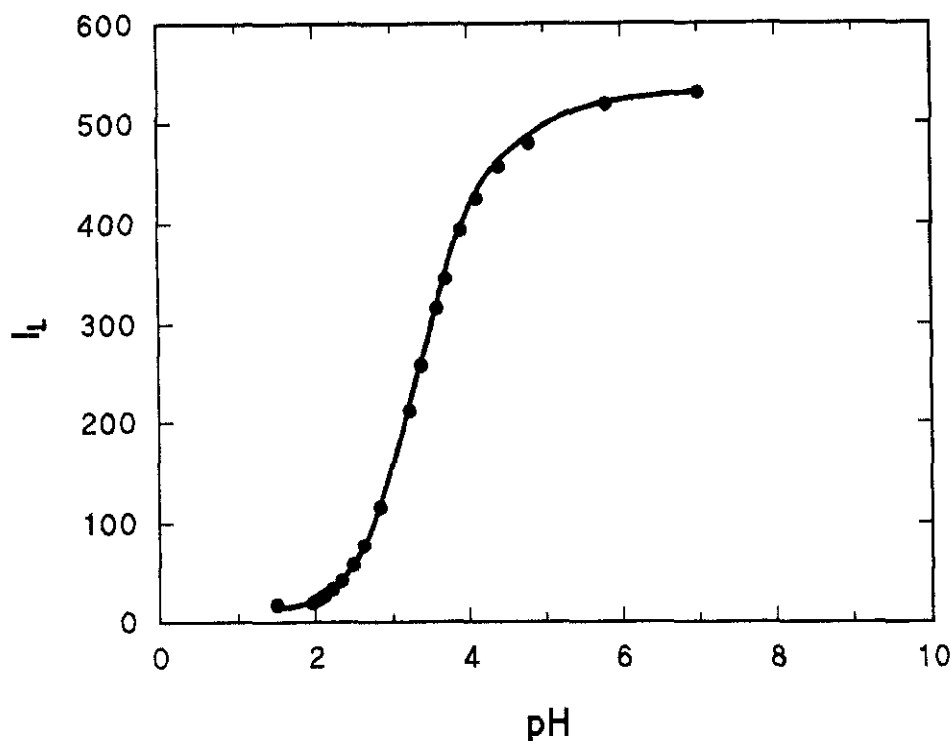


Figura 41. Valoración por luminiscencia de una disolución acuosa 1M de NaOH con otra 1M en HCl, ambas con una concentración 2.5×10^{-5} M de $[\text{Ru}(\text{pzth})(\text{tap})_2]^{2+}$.

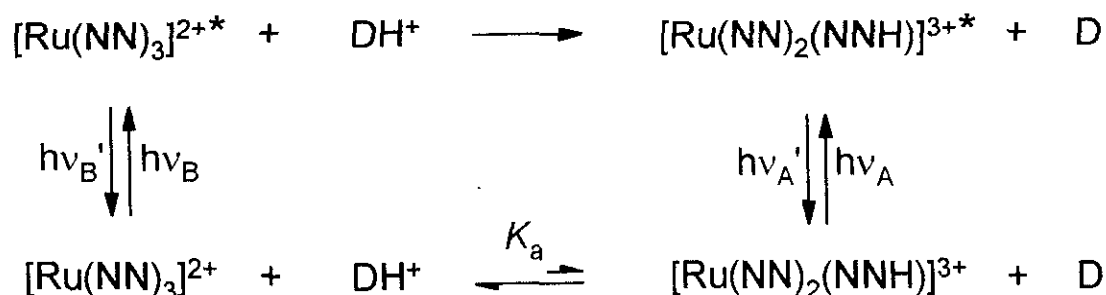
El punto de inflexión de las curvas de valoración de las **figuras 39-41** no refleja, a diferencia de lo que ocurriría con los espectros de absorción, el $\text{p}K_a^*$ del estado excitado del indicador luminiscente, salvo en el caso de que las formas ácida y básica del mismo tengan el mismo tiempo de vida de emisión.²⁶³ El valor obtenido de la gráfica es el $\text{p}K_a$ aparente ($\text{p}K_{\text{ap}}^*$), a partir del cual se puede obtener el verdadero $\text{p}K_a^*$, siempre que se conozcan los tiempos de vida de ambas especies conjugadas (τ_A y τ_B), mediante la **ecuación 20:**²⁶⁴

$$\text{p}K_a^* = \text{p}K_{\text{ap}}^* + \log(\tau_A / \tau_B) \quad (20)$$

El hecho de que no se detecte emisión alguna procedente de la forma monoprotonada de los compuestos estudiados impide la determinación de τ_A y, por tanto, de $\text{p}K_a^*$.

En el compuesto que sirve de base a nuestros indicadores luminiscentes, el $[\text{Ru}(\text{pzth})_3]^{2+}$, sí se ha detectado una emisión

extremadamente débil de la forma ácida a elevadas concentraciones de H_2SO_4 , centrada a 813 nm,^{46a} si bien estas características han impedido determinar su tiempo de vida. La *ley del espaciado energético* ("energy gap law") prevé una gran contribución del mecanismo de desactivación no radiativa del $^3\text{MLCT}$ para este valor de λ_{em} , lo que daría lugar a un decaimiento extraordinariamente rápido de la emisión, que impediría el establecimiento de un equilibrio ácido-base en el estado excitado. De este modo, la protonación del estado $^3\text{MLCT}$ de los complejos citados es probablemente un proceso irreversible,¹⁴⁹ como se representa en el esquema 23.



Esquema 23

De acuerdo con este esquema, aceptado por otros autores,¹⁴⁹ las curvas de valoración de las **figuras 39-41** reflejan el proceso de transferencia protónica desde el H_3O^+ al estado excitado de los complejos de Ru(II).

Los valores de $\text{p}K_{\text{ap}}^*$ obtenidos se recogen en la **tabla XIX**. La similitud entre todos ellos, dentro del error experimental, vuelve a reflejar una basicidad parecida, en este caso, de los estados excitados, debido a que en todos ellos el átomo de nitrógeno que sufre la protonación es de tipo pirazínico. No es posible elucidar con estos datos qué ligando es el que se protona en el complejo $[\text{Ru}(\text{pzth})(\text{tap})_2]^{2+}$ excitado. Por una parte el **tap** posee dos anillos de tipo pirazínico, lo cual hace que sea más π -deficiente y menos básico en el estado fundamental, pero, por la misma razón, el estado $^3\text{MLCT}$ de menor energía debe suponer la promoción hasta un orbital π^* de este ligando, luego sería el que tendría mayor densidad electrónica en el estado excitado y acaso también el más básico.

Tabla XIX. Valores de pK_{ap}^{*a} .

Compuesto	pK_{ap}^{*b}
$Ru(pzth)_3^{2+}$	3.5 ^c
$Ru(bpy)_2(pzth)^{2+}$	3.3
$Ru(ppzth)_3^{2+}$	3.7
$Ru(pzth)(tap)_2^{2+}$	3.2

a) Constante de acidez aparente obtenida a partir de la variación de la intensidad de luminiscencia con el pH del medio.

b) Error: ± 0.2 .

c) Referencia 46a.

Por consiguiente, de cara a la construcción de sensores de fibra óptica para pH y/o CO_2 , podemos concluir que los quelatocomplejos mixtos de Ru(II) con ligandos **bpy** y **pzth** no mejoran las características fotofísicas y fotoquímicas del $[Ru(pzth)_3]^{2+}$. En cambio, el compuesto $[Ru(pzth)(tap)_2]^{2+}$ posee un rendimiento cuántico de emisión superior al del complejo mencionado, lo que le convierte en un candidato adecuado para su sustitución en aras de conseguir una mayor sensibilidad frente a los analitos mencionados. El compuesto $[Ru(ppzth)_3]^{2+}$ presenta la ventaja de su elevado tiempo de vida, lo que podría convertirlo en una excelente sonda para un sensor basado en la medida de este parámetro. En cuanto al compuesto $[Ru(acppzth)(pzth)_2]^{2+}$, sus características emisoras son muy similares a las del $[Ru(pzth)_3]^{2+}$ (tabla XVII), lo que indica que, muy probablemente, el procedimiento de inmovilización covalente basado en la copolimerización de complejos adecuadamente funcionalizados con poliacrilamidas sea una alternativa para la construcción de sensores basados en el principio de medida expuesto.

3.2. INDICADORES LUMINISCENTES DE OXÍGENO.

3.2.1. Caracterización estructural.

El primer intermedio en la síntesis del $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$ es la 5-amino-1,10-fenantrolina, **10**, compuesto que ya había sido descrito en la bibliografía,^{230b} pero del que, sin embargo, hasta donde nosotros sabemos, no se han publicado datos de RMN. La asignación completa de las señales de ^1H -RMN de este compuesto se ha conseguido por comparación con los datos existentes de los espectros de la 5-aminoquinolina²⁶⁵ y 6-aminoquinolina,²⁶⁶ en lo que atañe a la distinción entre las parejas de protones H2 y H9, H3 y H8, y H4 y H7, como se recoge en la **tabla XX**. La discrepancia algo mayor que se observa al comparar con el espectro de la 6-aminoquinolina se debe al distinto disolvente utilizado.

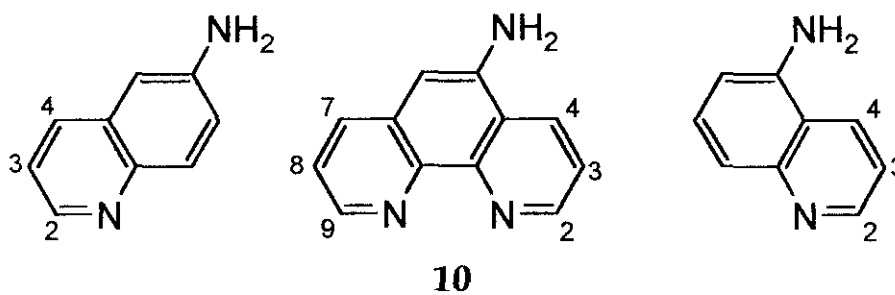
Tabla XX. Asignación de las señales del espectro de ^1H -RMN de la 5-amino-1,10-fenantrolina por comparación con los de la 5- y 6-aminoquinolina.

10^a		5-aminoquinolina^{a,b}		6-aminoquinolina^c	
Protón	δ/ppm	Protón	δ/ppm	Protón	δ/ppm
H2	9.06	H2	8.90	—	—
H9	8.69	—	—	H2	8.58
H3	7.74	H3	7.40	—	—
H8	7.51	—	—	H3	7.18
H4	8.69	H4	8.67	—	—
H7	8.05	—	—	H4	7.77

a) En DMSO-d_6 .

b) Ref. 265.

c) Ref. 266 (en CDCl_3).



Para la asignación de las señales de ^{13}C -RMN de **10** (apartado 3.2.1 de la parte experimental) también se ha hecho uso de los espectros de la 5-aminoquinolina²⁶⁷ y 6-aminoquinolina²⁶⁸ como modelos.

La reacción de formación de la correspondiente amida entre la amina **10** y el ácido octadecanoico da lugar al ligando 5-odaphen, que se detecta por la aparición de la banda a 1640 cm^{-1} en el espectro IR del nuevo compuesto, debida a la tensión del enlace $\text{C}=\text{O}$, así como las absorciones a $3400\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ de las vibraciones N-H . La complejación con el rutenio provoca el desplazamiento de la banda $\text{C}=\text{O}$ a mayor energía (1720 cm^{-1}), como consecuencia de la disminución de la densidad electrónica en el ligando a causa de la coordinación con el dicatión metálico.²⁶⁹

La zona situada a mayor frecuencia en los espectros de RMN del ligando 5-odaphen es similar a la de la amina **10** en cuanto al número y multiplicidad de las señales, excepto por la aparición de la señal de ^{13}C del carbono carbonílico a 172.8 ppm . Sin embargo, la asignación de señales se complica sensiblemente debido a que los efectos electrónicos del sustituyente amido son muy inferiores a los del grupo amino. La presencia de la cadena hidrocarbonada larga se detecta por la aparición en el espectro de sus características señales a baja frecuencia.

En cuanto al espectro de masas del 5-odaphen, se caracteriza por la presencia de las fragmentaciones propias del anillo heterocíclico, como el pico $\text{M}-1$ ($m/z = 460$) correspondiente a la pérdida del átomo de H en posición α respecto al átomo de nitrógeno piridínico, y las propias del grupo amido, como son las fragmentaciones McLafferty+13 ($m/z = 250$) y McLafferty ($m/z = 237$), así como el pico que proviene de la eliminación de la cetena de 18 átomos de carbono por ruptura del enlace N-CO ($m/z = 195$). La presencia de la cadena hidrocarbonada se detecta inequívocamente por los fragmentos debidos a pérdidas sucesivas de grupos CH_2 , separadas entre sí por 14 unidades de la escala m/z .

En el espectro IR del complejo $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$ se conservan las absorciones más características del ligando libre. Ya hemos comentado el desplazamiento a mayor energía de la banda de tensión del enlace $\text{C}=\text{O}$, debido al fortalecimiento de dicho enlace a consecuencia de la mayor conjugación del par de electrones del átomo de nitrógeno del grupo amido con el agrupamiento heterocíclico.

Los espectros de ^1H -RMN en CD_2Cl_2 del tris-quelato (**figura 42**) se caracterizan por la enorme anchura de sus señales, que impide apreciar cualquier acoplamiento, incluso entre núcleos vecinos. La explicación de este hecho sólo puede ser de momento tentativa, pero pensamos que este ensanchamiento se debe a la existencia de una fuerte autoasociación entre las moléculas del complejo, debido al carácter hidrófobo de sus cadenas hidrocarbonadas que puede hacer que existan en disolución agregados de dos o más moléculas, especialmente a las concentraciones utilizadas para el registro de los espectros de RMN ($\sim 10^{-2}$ M). Otra contribución a la anchura observada en las señales puede provenir del incremento de la relajación espín-red (disminución de T_1), como consecuencia del importante tamaño molecular (radio efectivo) del $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$.²⁷⁰

Como se describe en el **apartado 3.2.4** de la **parte experimental**, la purificación por cromatografía en capa fina preparativa conduce a dos fracciones cuyos espectros de ^1H -RMN difieren claramente, sobre todo en la zona correspondiente a las señales de los protones aromáticos de los anillos de 1,10-fenantrolina. A pesar de su considerable anchura, se distinguen claramente cuatro grupos de señales en esta zona, correspondientes a otros tantos grupos de protones : H2 y H9, H3 y H8, H4 y H7, y H6, además del protón NH, que aparece por encima de 9 ppm. La comparación de los espectros de ambas fracciones muestra que una de ellas presenta un desdoblamiento de estos grupos de señales, especialmente significativo en las asignadas a los protones "sonda" H2 y H9; por el contrario, la otra fracción presenta una única señal por cada grupo de protones. Esta observación, unida al hecho de que la fracción de R_f más alto es mayoritaria en una proporción aproximadamente 3/1, nos hace pensar que, muy probablemente, nos encontramos ante los isómeros *meridional* y *facial* del $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$. De acuerdo con esta suposición, la fracción que presenta el desdoblamiento de señales antes aludido correspondería al isómero *mer*, menos simétrico, en el que no existen protones equivalentes, mientras que el espectro más sencillo, que es el de la fracción minoritaria, correspondería al isómero *fac*, en que todos los protones análogos de los distintos ligandos son equivalentes entre sí. Esta separación cromatográfica no tendría precedentes en la amplia bibliografía de complejos polipiridílicos de Ru(II) y su consecución estaría relacionada con las peculiares propiedades que imparten al ión complejo las largas cadenas hidrocarbonadas situadas en su periferia.

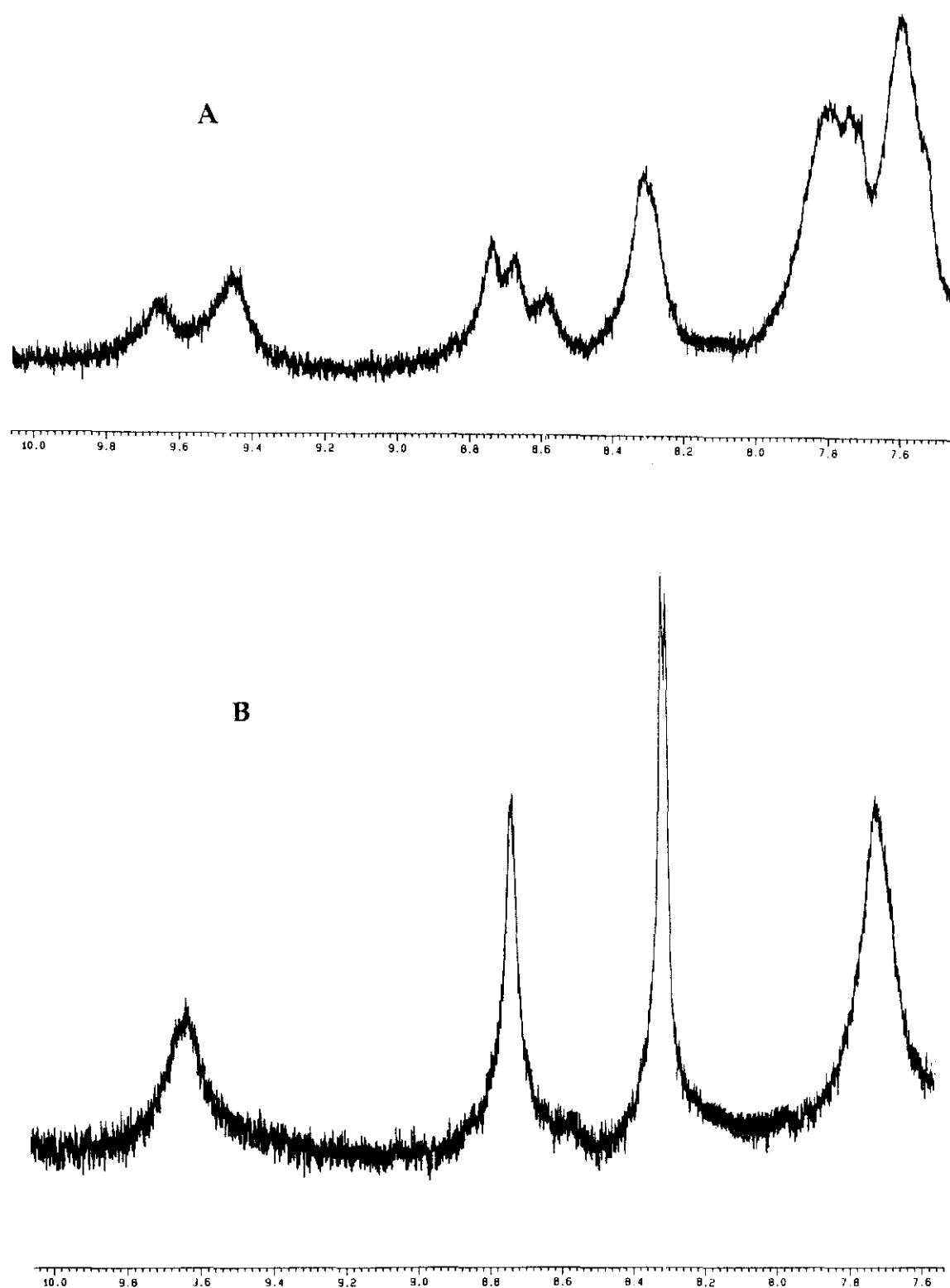


Figura 42. Espectros de ^1H -RMN en CD_2Cl_2 a 600 MHz de las dos fracciones obtenidas en la purificación por cromatografía en capa fina del $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$. **A:** fracción mayoritaria; **B:** fracción minoritaria.

3.2.2. Caracterización fotofísica.

Los datos de absorción electrónica y de emisión en estado estacionario y con resolución temporal del $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$ en metanol, se recogen en la **tabla XXI**. Ambas fracciones separadas por CCF preparativa muestran idénticas características a este respecto, lo que apoya el hecho de que se trate de los isómeros *fac* y *mer* de nuestro tris-quelato. En la **tabla XXI** se incluyen también con fines de comparación los datos del compuesto $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$, recogidos de la bibliografía.^{271,272}

Tabla XXI. Parámetros fotofísicos de los complejos indicados en disolución metanólica a 25 °C.

Compuesto	$\lambda_{\text{abs}}^{\text{max/nm}^{\text{a}}}$	$\lambda_{\text{em}}^{\text{max/nm}^{\text{a,b}}}$	$\Phi_{\text{em}}^{\text{c}}$	$\tau/\mu\text{s}^{\text{c}}$
$\text{Ru}(\text{phen})_3^{2+}$	446	588	0.019 ^d	0.313 ^e
$\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3^{2+}$	449	600	0.027 ^f	0.50 ^g

a) Error: ± 1 nm.

b) Espectros corregidos.

c) Disoluciones purgadas con Ar.

d) En etanol. Dato tomado de la referencia 271.

e) Valor tomado de la referencia 272.

f) Estándar: $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ en agua a 25 °C ($\Phi_{\text{em}} = 0.042$);^{129,213} error: $\pm 10\%$.

g) Determinado mediante la técnica SPT.

En la **figura 43** se presentan los espectros de absorción y emisión UV-VIS en metanol del $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$, y en la **figura 44** la curva de decaimiento de la luminiscencia en función del tiempo, que nos permite calcular el tiempo de vida.

Las propiedades fotofísicas del nuevo tris-quelato de rutenio(II) son muy similares a las del $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$, como cabría esperar de las parecidas características coordinativas de ambos ligandos. No obstante, hemos de tener en cuenta las peculiaridades estructurales del $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$. En cloruro de metileno y cloroformo, medios en los que el nuevo indicador es muy soluble, su tiempo de vida crece extraordinariamente, al tiempo que se hace necesario recurrir por lo menos a curvas biexponenciales para conseguir un buen ajuste del decaimiento de la emisión. Por ejemplo, a una concentración 10^{-6} M del compuesto en disolución clorofórmica, sólo se obtiene un ajuste satisfactorio a una curva biexponencial, caracterizado por un tiempo de vida largo de 1.61 μs y otro más corto de 0.40 μs , lo que

muestra la existencia de al menos dos especies luminiscentes. Este comportamiento apoya nuestra suposición de que las moléculas del complejo se asocian en estos disolventes, como se apuntó más arriba en la discusión sobre el ensanchamiento anormal de las señales de $^1\text{H-RMN}$.

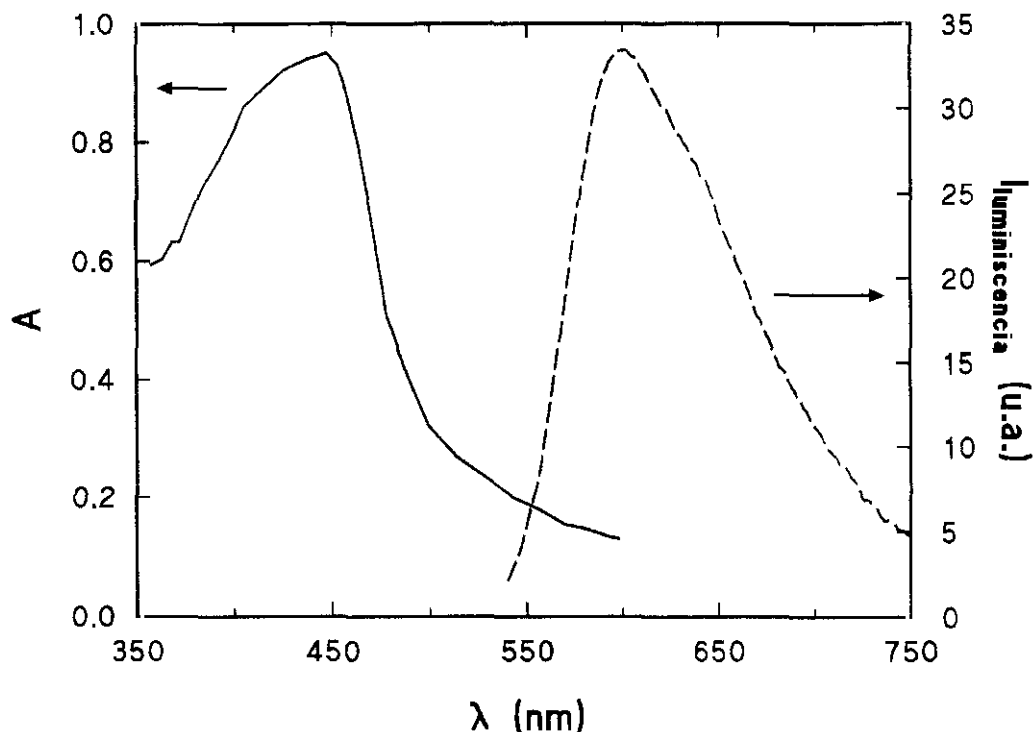


Figura 43. Espectros de absorción y emisión electrónica del $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$ en metanol.

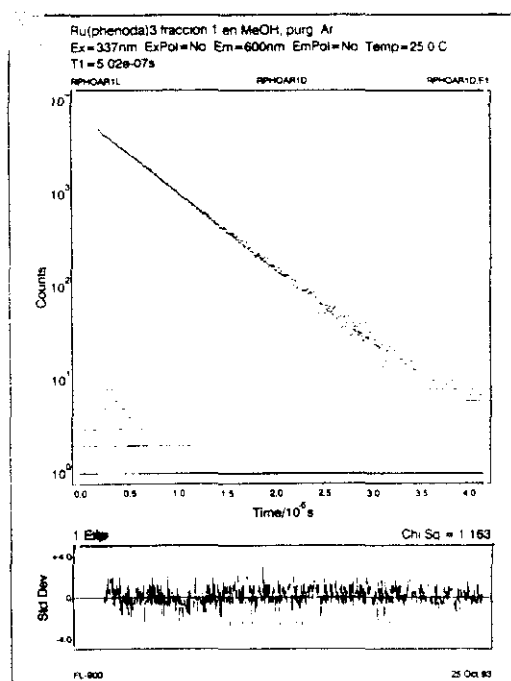


Figura 44. Curva de desaparición de la luminiscencia del $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$ en metanol a $25\text{ }^\circ\text{C}$ desoxygenado con argón.

Probablemente, las especiales características del nuevo compuesto hacen que las interacciones entre las zonas periféricas hidrocarbonadas de las moléculas sean muy favorables energéticamente, lo que hace que tengan una gran afinidad entre sí y formen agregados de dos o más de ellas que la disolución en disolventes clorados no es capaz de romper completamente. Ésto explicaría la aparición de un tiempo de vida más pequeño, asignable a complejos asociados en los que las moléculas se encuentran muy próximas, de modo que si una de ellas resulta excitada, se desactiva con mayor rapidez por interacción con una de sus vecinas. La existencia de moléculas libres hace que el rendimiento cuántico crezca ($\Phi_{em} = 0.042$ en cloroformo).

En metanol, medio más polar, dichas interacciones cobran una importancia aún mayor de manera que, incluso a diluciones elevadas, sólo se observa una especie emisora. Probablemente, las moléculas siguen estando asociadas mediante las interacciones hidrófobas mencionadas, de modo que únicamente se observa el tiempo de vida corto, al ser muy pequeña la proporción de moléculas libres.

3.2.3. Caracterización electroquímica.

La determinación de los potenciales rédox de los procesos de oxidación y reducción del $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$ se ha llevado a cabo mediante la técnica de voltamperometría cíclica. Para ello, se calcula el promedio de los potenciales correspondientes a los picos anódico, E_{pa} , y catódico, E_{pc} , que aparecen en el voltamperograma (**ecuación 21**).²⁷³ El valor obtenido de esta manera es el denominado potencial de semionda, $E_{1/2}$.

$$E_{1/2} = \frac{E_{pa} + E_{pc}}{2} \quad (21)$$

En rigor, la **ecuación 21** sólo se cumple cuando el proceso rédox es totalmente reversible. En la **figura 45** se presenta el voltagrama cíclico correspondiente al tris-quelato $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$. Obsérvese que, si bien los picos correspondientes al proceso de oxidación son muy simétricos, no ocurre lo mismo con los de los procesos de reducción, cuyo aspecto delata que estamos ante procesos cuasi-reversibles. Los potenciales de semionda

de los procesos de reducción están afectados, por tanto, de un mayor error, pues es difícil establecer exactamente el potencial del pico anódico.

El potencial de semionda y el potencial de semirreacción, E_0 , se encuentran relacionados mediante la ecuación 22:²⁷⁴

$$E_0 = E_{1/2} - \frac{RT}{nF} \ln \frac{D_r}{D_o} \quad (22)$$

donde D_r y D_o son los coeficientes de difusión de las formas oxidada y reducida, respectivamente, n el número de electrones intercambiados en el proceso considerado, F la constante de Faraday, T la temperatura absoluta y R la constante universal de los gases. Es de esperar que los coeficientes de difusión de las moléculas del complejo en los distintos estados de oxidación no sean muy diferentes,²⁷³ por lo que podemos considerar $E_{1/2} \approx E_0$.

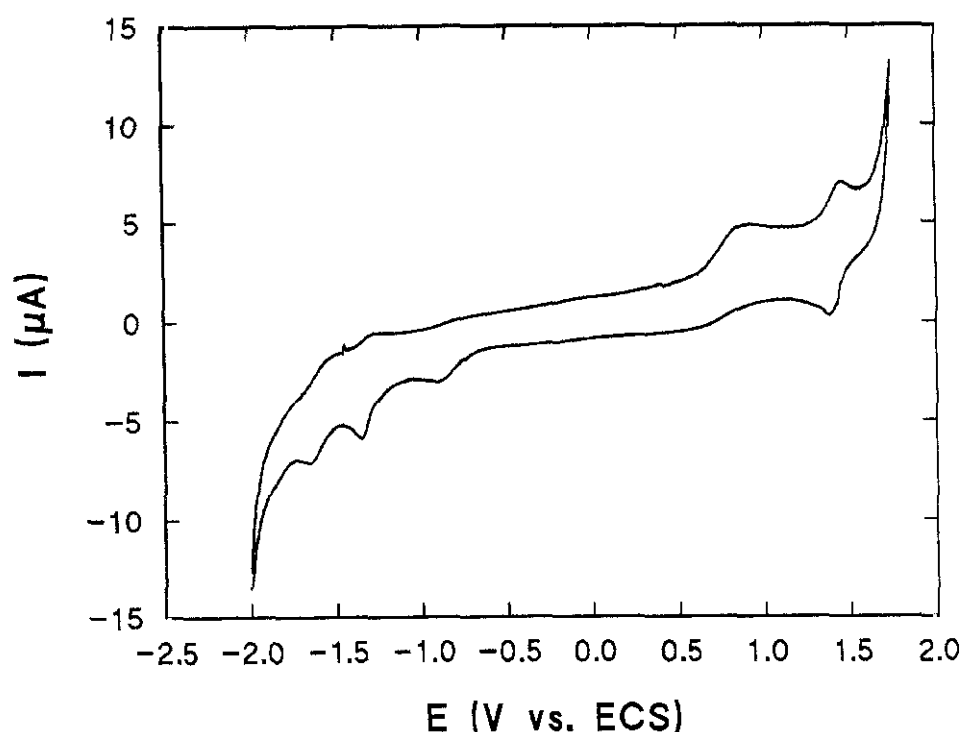


Figura 45. Voltamperograma cíclico del tris-quelato $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$ en diclorometano.

En la **tabla XXII** se recogen los valores de los potenciales de semionda obtenidos para los cuatro procesos rédox observables en el voltamperograma de la **figura 45**, correspondientes a la oxidación, $E_{1/2}(3+/2+)$, y a los tres procesos de reducción sucesivos, $E_{1/2}(2+/+)$, $E_{1/2}(+/0)$ y $E_{1/2}(0/-)$, experimentados por el $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$. Se incluyen en la tabla los datos de los complejos $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ y $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$ para su comparación.

Tabla XXII. Potenciales de semionda de los tris-quelatos de rutenio(II) (en voltios desde el electrodo de calomelanos saturado de KCl, ECS).

Compuesto	$E_{1/2}(3+/2+)$	$E_{1/2}(2+/+)$	$E_{1/2}(+/0)$	$E_{1/2}(0/-)$	$\Delta E_{1/2}^g/\text{V}$
$\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+\text{a}}$	1.50	-1.10	-1.29	-1.54	2.6
$\text{Ru}(\text{phen})_3^{2+}$	1.40 ^b	-1.25 ^c	—	—	—
$\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3^{2+\text{d}}$	1.42 ^e	-0.88 ^f	-1.22 ^f	-1.59 ^f	2.3

a) En CH_3CN . Tomados de la referencia **275** y corregidos respecto al ECS. Electrodo de referencia en la medida: Ag/AgNO_3 0.01 M en CH_3CN .

b) En CH_3CN . Tomado de la referencia **203a**. Electrodo de referencia en la medida: ECS.

c) En CH_2Cl_2 . Tomado de la referencia **276** y referido al ECS. Electrodo de referencia: Ag/AgCl .

d) En CH_2Cl_2 . Condiciones de medida: ver apartado **2.9** de la parte experimental. Electrodo de referencia en la medida: ECS.

e) Error estimado: ± 0.01 V.

f) Error estimado: ± 0.05 V.

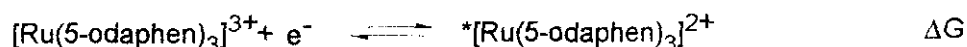
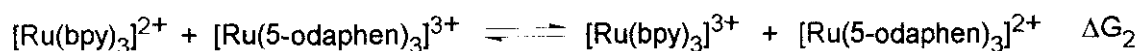
g) $\Delta E_{1/2} = E_{1/2}(3+/2+) - E_{1/2}(2+/+)$

Aunque se ha descrito la práctica similitud de los potenciales rédox del $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ y $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$, y los datos espectroscópicos del $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$ señalan que los potenciales de éste también deberían ser análogos, la aparente disparidad de los valores de la **tabla XXII** puede deberse probablemente a las diferentes condiciones experimentales utilizadas en la realización de las medidas electroquímicas y, más concretamente, a los diferentes disolventes y electrodos de referencia empleados en la determinación de los potenciales. El empleo del electrodo de calomelanos saturado de KCl (ECS) como referencia, tanto en acetonitrilo como en diclorometano, proporciona una gran sencillez experimental; sin embargo, cuando se miden disoluciones en éste último disolvente, la difusión de los iones a través de la membrana que separa la suspensión acuosa de cloruro mercurioso de la disolución del electrolito soporte en

diclorometano o acetonitrilo no es igual en uno y otro caso. En la interfase se crea un *potencial de unión líquida* que no es posible cuantificar de manera sencilla.²⁷⁷ Por otro lado, algunos de los datos de la **tabla XXII** se han obtenido empleando electrodos de referencia diferentes del ECS, por lo que los potenciales tampoco son estrictamente comparables. Asimismo, parece ser que no se ha estudiado cómo influye el cambio de disolvente en los potenciales rédox de los quelatocomplejos de rutenio(II) con ligandos azaheterocíclicos, por lo que una corrección exacta tampoco es posible.

Desgraciadamente, los datos de potenciales rédox existentes para el complejo $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$, el de características electrónicas más referibles al $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$, no permiten una comparación satisfactoria: por un lado, la forma de las ondas correspondientes a procesos de oxidación en el voltamperograma del primer complejo en acetonitrilo indican que se trata de procesos irreversibles;²⁷⁵ por otro, no hemos encontrado en la bibliografía datos del potencial de oxidación $E_{1/2}(3+/2+)$ de este tris-quelato en diclorometano. Por ello, es más ilustrativo recurrir a la comparación con los datos del $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ y, en concreto, a la diferencia entre el potencial de oxidación y el primer potencial de reducción, $\Delta E_{1/2} = E_{1/2}(3+/2+) - E_{1/2}(2+*/+)$. Obsérvese cómo esta diferencia sí muestra un valor similar para los dos compuestos sometidos a comparación, lo que debe reflejar la similar naturaleza de los procesos de oxidación y reducción de ambos tris-quelatos en su estado fundamental.

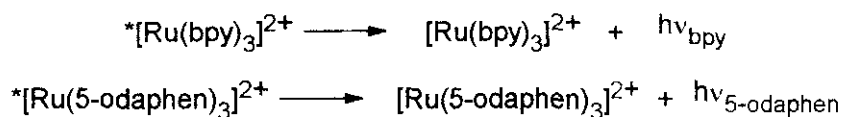
A fin de completar el estudio electroquímico del nuevo tris-quelato $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$, resulta de gran interés estimar sus potenciales rédox en el estado excitado $^3\text{MLCT}$. En el **apartado 3.3** de los **antecedentes** de esta Memoria exponíamos la posibilidad de determinar los primeros potenciales de oxidación y reducción de los tris-quelatos de rutenio(II) con ligandos quelatantes azaheterocíclicos en dicho estado electrónico mediante las **ecuaciones 5 y 6**, respectivamente, siempre que sea conocida la energía de la transición 0-0 (o, en su defecto, el máximo de emisión a 77 K). Para los casos en que no se disponga de alguno de estos datos, Sutin et al.²⁷⁸ han desarrollado un método indirecto que permite estimar el potencial de oxidación, $E_{1/2}(3+/2+^*)$, y el de reducción, $E_{1/2}(2+^*/+)$, empleando los del compuesto $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ como referencia. Para el potencial de oxidación, se plantea el siguiente sistema de ecuaciones químicas:



El potencial de oxidación $E_{1/2}(3+/2+^*)$ del $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$ en su primer estado excitado se relaciona con ΔG mediante la ecuación de Nernst; por su parte, la variación de energía de Gibbs de cada proceso se puede calcular como suma de los ΔG de las tres primeras reacciones planteadas (**ecuación 23**):

$$\Delta G = \Delta G_1 + \Delta G_2 + \Delta G_3 = -nF\Delta E_0(3+/2+^*) \quad (23)$$

ΔG_1 se puede obtener como diferencia de las variaciones de energía de Gibbs de los correspondientes procesos fotofísicos de formación del estado excitado $^3\text{MLCT}$ a partir del estado fundamental de ambos tris quelatos, según la **ecuación 24**:



$$\Delta G_1 = hc \left(\frac{1}{\lambda_{\text{Ru}(\text{bpy})_3}^{2+}} - \frac{1}{\lambda_{\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3}^{2+}} \right) \quad (24)$$

donde $\lambda_{\text{Ru}(\text{bpy})_3}^{2+}$ y $\lambda_{\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3}^{2+}$ son las longitudes de onda de los máximos de emisión de ambos complejos, h la constante de Planck y c la velocidad de la luz. La **ecuación 24** presupone que la emisión produce la misma distribución de estados vibracionales en los estados fundamentales

de ambos complejos y considera despreciables las variaciones de entropía al pasar al estado excitado.

En cuanto a ΔG_2 , se puede calcular como diferencia entre los potenciales de oxidación de ambos complejos en el estado fundamental (ecuación 25):

$$\Delta G_2 = E_0(3+/2+)_{\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3^{2+}} - E_0(3+/2+)_{\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}} \quad (25)$$

Para ΔG_3 se ha tomado el valor de -1.12 V (vs. ECS), que resulta de corregir el dato tomado de la bibliografía de -0.88 V (vs. ENH).¹¹⁴

A la inexactitud en la estimación de ΔG_1 hay que sumar los errores que se derivan de la comparación de datos sobre potenciales medidos y espectros de emisión registrados en diferentes condiciones (disolvente distinto, distinto electrodo de referencia), que afectan tanto a ΔG_1 , como a ΔG_2 y ΔG_3 . Por tanto, el valor así obtenido de $E_{1/2}(3+/2+^*)$ para el trisquelato $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$ es tan sólo una aproximación.

Procediendo de manera análoga, se puede estimar el primer potencial de reducción del estado excitado del $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$, $E_{1/2}(2+^*/+)$. La variación de energía de Gibbs de este proceso, $\Delta G'$, viene dada por la ecuación 26:

$$\Delta G' = -\Delta G_1 - \Delta G'_2 + \Delta G'_3 \quad (26)$$

donde $\Delta G'_3$ es el potencial de reducción del complejo $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ en el estado excitado, cuyo valor de +0.55 V (vs. ECS) se obtiene a partir del bibliográfico de +0.79 V (vs. ENH).¹¹⁴ En cuanto a $\Delta G'_2$, se puede calcular como diferencia de los primeros potenciales de reducción de los dos complejos considerados (ecuación 27):

$$\Delta G'_2 = E_0(2+*/+)_{\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}} - E_0(2+*/+)_{\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3^{2+}} \quad (27)$$

En la **tabla XXIII** se recogen los potenciales obtenidos para los procesos de oxidación y reducción del estado excitado ³MLCT del nuevo

tris-quelato $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$, junto con los del $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$, empleado como referencia, y los del $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$, tomados de la bibliografía.²⁷⁹

Tabla XXIII. Potenciales rédox en el estado excitado $^3\text{MLCT}$.^a

Compuesto	$E_{1/2}(3+/2+^*)$	$E_{1/2}(2+^*/+)$
$\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+\text{b}}$	-1.12	0.55
$\text{Ru}(\text{phen})_3^{2+\text{c}}$	-1.11	0.55
$\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3^{2+}$	-1.30	0.50

a) En voltios (vs. ECS).

b) Ref. 114; corregidos respecto al ECS.

c) Ref. 279; corregidos respecto al ECS.

Como cabía esperar (ver apartado 3.3 de antecedentes), el complejo $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$ en su estado excitado es, a la vez, más oxidante y más reductor que en su estado fundamental. Por otro lado, a pesar de las aproximaciones admitidas en el cálculo de estos potenciales, es de resaltar el hecho de que sus valores sean bastante parecidos a los de los otros dos complejos, lo que refleja, sin duda, la similitud entre las características electrónicas de sus estados excitados. No obstante, dada la existencia de un grupo débilmente electrodonador en el 5-odaphen, es lógico que el estado excitado $^3\text{MLCT}$ de su tris-complejo de rutenio(II) sea ligeramente menos oxidante y algo más reductor que los de los otros compuestos: por una parte, aceptará peor la entrada de un electrón adicional en el ligando, por otra, compensará mejor la deficiencia electrónica del átomo metálico central, derivada de la pérdida de un electrón por parte del mismo.

3.2.4. Reactividad fotoquímica frente al oxígeno.

Dado que nuestro interés se centra en la construcción de un indicador sensible al oxígeno y capaz de ser inmovilizado en medios hidrófobos, nos propusimos estudiar el proceso de desactivación de la luminiscencia del $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$ por el oxígeno en un disolvente orgánico apolar, comparándolo con otro compuesto sonda del mismo tipo, cuyo empleo está muy documentado en la bibliografía, como es el $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$.

En la **figura 46** se representa la variación del tiempo de vida de emisión de los tris-quelatos $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$ y $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$ en cloruro de metileno, en función de la concentración porcentual de oxígeno. Para ello, se ha determinado τ a concentraciones del 0% (disolución purgada con argón), 21% (8.92×10^{-4} M, equilibrada en aire) y 100% (4.25×10^{-3} M, disolución purgada con oxígeno) del desactivador. El ajuste de estos resultados experimentales a una recta es muy bueno y permite estimar el valor de la constante de Stern-Volmer, K_{SV} , para ambos compuestos en el disolvente mencionado.

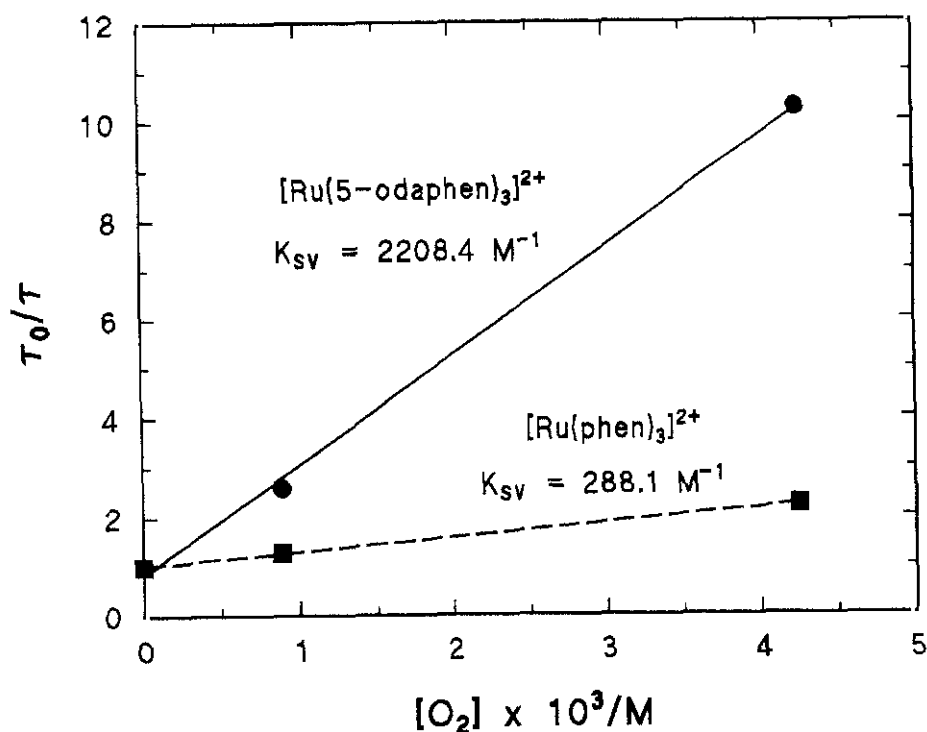


Figura 46. Representación gráfica de la variación de τ con la concentración de O_2 para el $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$ y el $[\text{Ru}(\text{5-odaphen})_3]^{2+}$ en cloruro de metileno y valores de K_{SV} obtenidos.

En relación con la **figura 46**, es necesario puntualizar que, como se indicaba en el apartado anterior, las curvas de caída de la emisión del $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$ en disolventes orgánicos clorados se ajustan a funciones biexponenciales, no así las del $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$. Para estas medidas, sin embargo, las curvas se ajustaron a perfiles monoexponenciales (con la consiguiente pérdida de bondad) y el tiempo de vida representado es, por tanto, un promedio de los dos anteriores, ponderado por sus respectivas contribuciones relativas a la curva de ajuste. Este tratamiento puede parecer grosero desde el punto de vista químico-físico, pero si nos interesa estimar la utilidad analítica del nuevo indicador, y en concreto la posibilidad de desarrollar un sensor de fibra óptica basado en la medida de tiempos de vida, el procedimiento seguido adquiere plena validez, pues muestra la dependencia de un único parámetro macroscópico con la concentración del analito.

De los valores de K_{SV} obtenidos para ambos tris-quelatos en condiciones idénticas, se desprende la superioridad del nuevo indicador frente al más utilizado hasta el momento para determinar oxígeno en medios apolares, como son las membranas de silicona que constituyen el terminal sensible de los dispositivos de fibra óptica. La **ecuación 28** permite obtener la constante cinética del proceso de desactivación bimolecular por oxígeno (k_q) para ambos tris-quelatos estudiados, a partir de K_{SV} y del tiempo de vida en ausencia de desactivador:

$$K_{\text{SV}} = k_q \tau_0 \quad (28)$$

De esta manera se obtiene valores de k_q de $1.39 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ para el $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$ y de $1.87 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ para el $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$. Estos resultados demuestran que la superior sensibilidad frente al oxígeno del nuevo indicador se debe exclusivamente a su mayor tiempo de vida, pues el proceso de desactivación bimolecular transcurre con una eficiencia algo menor que en el compuesto con ligandos phen. La razón de ésto último puede estar en la presencia de las tres largas cadenas hidrocarbonadas en el $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$, que pueden actuar como escudo, protegiendo el centro fotoquímicamente activo de la molécula y haciéndolo menos accesible a la molécula del desactivador.

En el apartado 3.4.3.1. de la sección de antecedentes de esta Memoria, indicamos cuáles eran los dos mecanismos que podía seguir, en principio, el proceso de desactivación dinámica de la luminiscencia de los tris-quelatos de rutenio(II) con ligandos azaheterocíclicos quelatantes: el de transferencia electrónica y el de transferencia de energía.

El mecanismo de transferencia electrónica fotoinducida supone la cesión de un electrón por parte del estado $^3\text{MLCT}$ del complejo al oxígeno, que se transforma en anión superóxido (O_2^-), en tanto que el compuesto de coordinación se desactiva y pasa a su estado de oxidación 3+. Desde el punto de vista termodinámico, tal proceso es espontáneo si tenemos en cuenta el valor de $E_0(\text{O}_2/\text{O}_2^-) = -0.284 \text{ V}$, en disolución acuosa a $\text{pH} \geq 7$ y actividad del oxígeno igual a 1,²⁸⁰ y los potenciales de oxidación de los estados excitados, $E_{1/2}(3+/2+^*)$, de cualquiera de los tris-quelatos recogidos en la tabla XXIII. Sin embargo, jamás se ha detectado, hasta donde nosotros sabemos, la producción de anión superóxido en los procesos de desactivación de tris-complejos de rutenio(II) con ligandos azaheterocíclicos quelatantes por oxígeno molecular. Sí se forma, en cambio, oxígeno en su estado excitado singlete, como se ha comprobado en diversas ocasiones, tanto en los compuestos $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ y $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$,²⁸¹ como en complejos con ligandos 2,2'-bipirazina y 2,2'-bipirimidina.²⁸² Recientemente, en nuestro propio grupo de investigación, se ha detectado también la formación de $^1\text{O}_2$ en la desactivación del $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$ por O_2 en disolución metanólica.²⁸³ Por tanto, parece clara la preponderancia o exclusividad de los mecanismos de transferencia de energía en el proceso de desactivación de la luminiscencia que confiere utilidad práctica a nuestro compuesto.

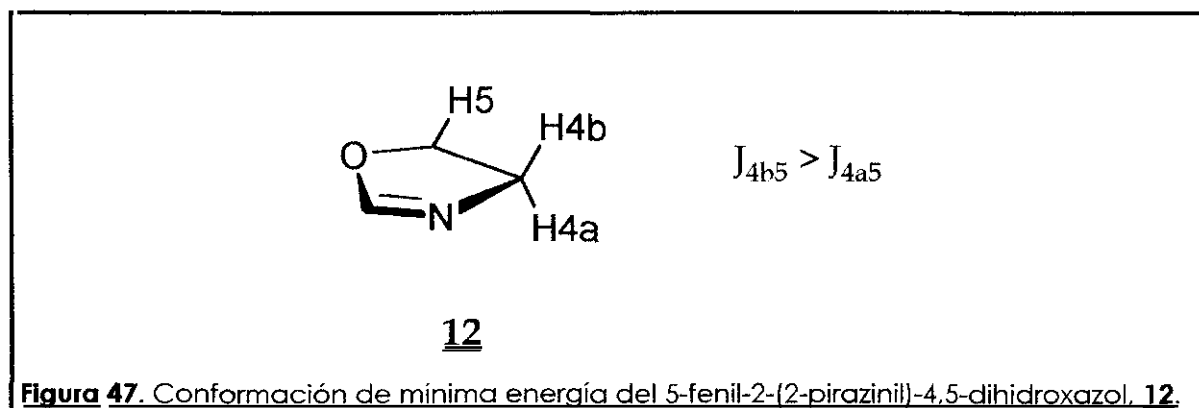
3.3. INDICADORES DE ALCOHOLES Y AGUA.

3.3.1. Caracterización estructural.

Nos limitaremos en este apartado a la caracterización estructural de los intermedios y productos de la síntesis de los compuestos appzox y appyox, pues los del appzth se han comentado ya en el **apartado 3.1.1.** de esta sección de **resultados y discusión.**

Los **espectros IR** de los diferentes compuestos han resultado de utilidad para el reconocimiento de sus grupos funcionales, tales como NO_2 y NH_2 , que dan lugar a las típicas bandas de tensión de sus respectivos enlaces, sin que creamos necesario insistir en ningún aspecto en particular.

Mayor interés reviste la técnica de $^1\text{H-RMN}$. La existencia de un centro quiral en el carbono 5 del 5-fenil-2-(2-pirazinil)-4,5-dihidrooxazol, **12**, convierte en diastereotópicos a los dos protones H4. Su asignación es posible gracias a las distintas constantes de acoplamiento de ambos protones con su vecino H5. La existencia de un doble enlace hace que el anillo de 5 eslabones tenga una conformación prácticamente plana (**figura 47**). En consecuencia, la constante de acoplamiento de valor más alto corresponde al protón H4 en disposición *cis* con respecto a H5 (H4b en la **figura 47**), que, por tanto, es el que aparece a menor campo ($\delta_{\text{H4a}} = 4.13$ ppm; $\delta_{\text{H4b}} = 4.58$ ppm).



Los datos de $^1\text{H-RMN}$ del 5-fenil-2-(2-pirazinil)-oxazol, **ppzox**, y sus nitro-, **13**, y amino-, **appzox**, derivados se recogen en la **tabla XXIV**. Los efectos de la sustitución en posición *para* sobre el anillo de fenilo son los que

cabía esperar de las características electrónicas de los grupos en cuestión: fuertemente electroattractor el NO_2 y fuertemente electrodonador el NH_2 . La magnitud del efecto se extiende a lo largo de la cadena de anillos aromáticos conjugados y decrece con la distancia, siendo ya muy pequeño, aunque todavía claramente apreciable, en los protones del anillo de pirazina y muy considerable sobre los del ciclo bencénico. Los desplazamientos químicos obtenidos experimentalmente para los protones de éste último se comparan muy bien con los calculados utilizando las contribuciones tabuladas para los sustituyentes,²⁴⁹ sumadas a los valores de los δ de $\text{H}2''$ y $\text{H}3''$ del ppzox, cuya asignación es sencilla.

Muy similares son los comentarios que se pueden hacer con respecto a los espectros de ^1H -RMN del 5-fenil-2-(4-piridil)oxazol, **ppyox** y sus derivados **14**, **appyox** y **appmox**, recopilados en la **tabla XXV**. Los espectros de los derivados *p*-sustituídos sobre el anillo bencénico se caracterizan por la presencia de dos sistemas de espines AA'XX' en la zona aromática, uno correspondiente a los protones $\text{H}2'$ y $\text{H}3'$ de la piridina y otro a los $\text{H}2''$ y $\text{H}3''$ del fenilo. Los efectos de los sustituyentes NO_2 y NH_2 son comparables a los comentados para las series del ppzth y del ppzox. La *N*-metilación del anillo de piridina causa, como era previsible, un gran desapantallamiento de las señales de los protones de este anillo, pero, de modo análogo a lo que ocurre con la sustitución sobre el grupo fenilo, el efecto sobre éste último es ahora considerablemente menor, lo cual hace que los desplazamientos químicos de los protones $\text{H}2''$ y $\text{H}3''$ sean muy similares a los del appyox.

Tabla XXIV. Espectros de ^1H -RMN del ppzox y sus derivados.^a

Compuesto	R	ox	pz			Ph			Otros
		H4	H3'	H5'	H6'	H2''	H3''	H4''	
ppzox	H	7.57	9.41	8.65	8.71	7.78	7.49-7.35		—
13	NO ₂	7.79	9.47	8.72	8.76	7.97	8.35	—	—
appzox	NH ₂	7.39	9.38	8.61	8.68	7.60	6.74	—	3.91 (NH ₂)

a) En CDCl₃ a 300 MHz; δ en ppm respecto al TMS.

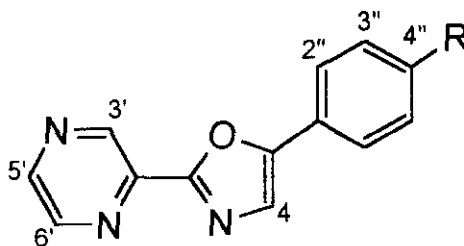
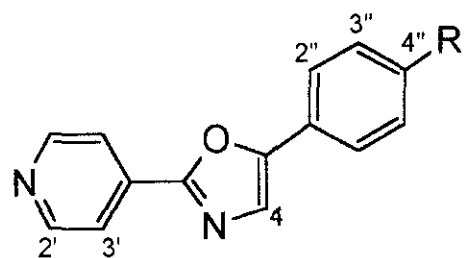
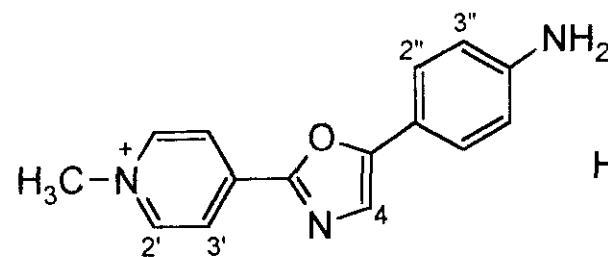


Tabla XXV. Espectros de ^1H -RMN del ppyox y sus derivados.^a

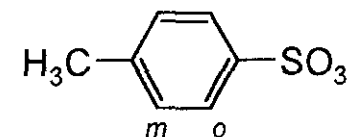
Compuesto	ox	py		Ph			Otros
	H4	H2'	H3'	H2''	H3''	H4''	
ppyox ^b	7.52	8.77	7.95	7.75	7.48	7.39	—
<u>14</u> ^c	8.24	8.80	8.03	8.14	8.36	—	—
appyox ^c	7.57	8.74	7.92	7.56	6.71	—	5.56 (NH ₂)
appmox ^c	7.90	9.01	8.52	7.71	6.81	—	7.49(<i>o</i> -H); 7.10(<i>m</i> -H); 4.35(CH ₃); 3.89(NH ₂); 2.28 (CH ₃ <i>p</i> -metilfenilsulfonato)

a) Registrados a 300 MHz; δ en ppm respecto al TMS.b) En CDCl₃.c) En DMSO-d₆.

R = H ; ppyox

R = NO₂ ; 14R = NH₂ ; appyox

appmox



Los espectros de ^{13}C -RMN del **ppzox** y sus derivados **13** y **appzox** (tabla XXVI) y del **ppyox** y sus derivados **14**, **appyo**x y **appmo**x (tabla XXVII) siguen patrones muy similares a los comentados para la serie del **appzth** (ver apartado 3.1.1 de esta sección de **resultados y discusión**). La asignación de sus señales se basa en la de los correspondientes compuestos no sustituidos, la cual se realiza, a su vez, mediante la comparación con el espectro del **ppzth**, totalmente elucidado. Por ello no hemos considerado necesario recurrir a espectros bidimensionales de correlación heteronuclear para este cometido. Los efectos de los sustituyentes sobre los anillos son los que cabía esperar y de ellos, de la comparación con sus respectivos cabezas de serie y de las intensidades relativas de las señales se obtiene información suficiente para la asignación prácticamente completa (sólo hay dos señales de asignación intercambiable). Los desplazamientos químicos de los carbonos bencénicos se comparan satisfactoriamente con los obtenidos de sumar las contribuciones de grupo tabuladas²⁴⁹ a los valores de los compuestos **ppzox** y **ppyox**, tomados como base.

Tabla XXVI. Espectros de ^{13}C -RMN del ppzox y sus derivados.^a

Compuesto	R	ox			pz				Ph			
		C2	C4	C5	C2'	C3'	C5'	C6'	C1''	C2''	C3''	C4''
ppzox	H	157.6	129.0	141.7	153.0	143.3	144.8	144.2	126.9	124.5	128.8	123.9
<u>13</u>	NO ₂	159.1	127.0	141.3	150.8	143.7	145.5	144.4	132.7	125.0	124.4	147.4
appzox	NH ₂	156.7	121.7	142.1	153.9	143.2	144.4 ^b	144.2 ^b	117.5	126.2	115.0	147.4

a) Registrados en CDCl₃ a 75 MHz; δ en ppm respecto al TMS.

b) Asignación intercambiable.

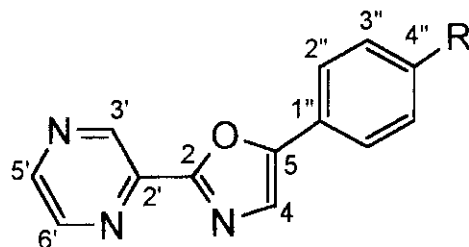


Tabla XXVII. Espectros de ^{13}C -RMN del ppyox y sus derivados.^a

Compuesto	ox			py			Ph			
	C2	C4	C5	C2'	C3'	C4'	C1''	C2''	C3''	C4''
ppyox ^b	158.8	129.1	152.6	150.6	119.8	134.2	127.4	124.5	129.1	124.0
14 ^c	159.5	128.2	149.9	150.7	119.8	132.9 ^e	132.7 ^e	125.1	124.4	146.9
appyo ^c	156.3	119.1	153.4	150.5	120.9	133.6	114.2	125.8	113.8	150.0
appmox ^{c,d}	155.6	123.7	154.1	146.1	122.0	145.6	114.9	126.5	115.2	148.4

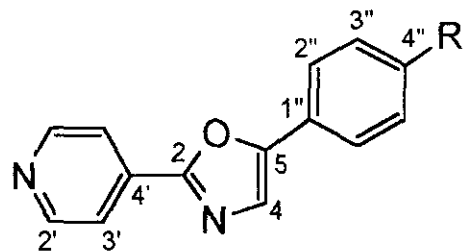
a) Registrados a 75 MHz; δ en ppm respecto al TMS.

b) En CDCl_3 .

c) En DMSO-d_6 .

d) Otras señales: 139.0 (*p*-C); 137.5 (*i*-C); 127.9 (*m*-C); 125.4 (*o*-C); 47.4 (CH_3), 20.7 (CH_3 *p*-metilfenilsulfonato).

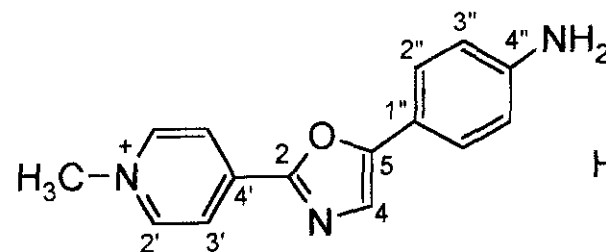
e) Asignación intercambiable.



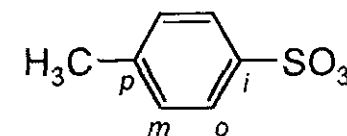
R = H ; ppyox

R = NO_2 ; **14**

R = NH_2 ; appyo



appmox



3.3.2. Caracterización fotofísica y fotoquímica.

Dado que nuestro interés se centra en construir nuevos indicadores para la fabricación de optodos capaces de cuantificar alcoholes en medios apolares, es de gran importancia conocer el comportamiento fotofísico de nuestros compuestos en diversos medios de distinta polaridad. Por ello, se ha realizado un estudio de las características de la interacción de las nuevas sondas moleculares **appzth**, **appzox** y **appyoX** en disolución con la radiación luminosa (absorción electrónica, luminiscencia en estado estacionario y con resolución temporal) en diversos disolventes, intentando cubrir la amplia gama de disolventes orgánicos con, al menos, un representante de cada uno de los tipos más frecuentes: alcanos (*n*-hexano), hidrocarburos aromáticos (tolueno), hidrocarburos clorados (cloroformo, diclorometano) y alcoholes (etanol). La exclusión de otras clases de disolventes como éteres y compuestos carbonílicos se debe, en el primer caso, a su polaridad similar a algunos de los anteriores y, en el segundo, a su reactividad fotoquímica. Las técnicas empleadas han sido la espectroscopía de absorción UV-VIS y de emisión, tanto en estado estacionario como con resolución temporal (técnica SPT) y los resultados del estudio se recogen en la **tabla XXVIII**. Los espectros de absorción y emisión de las nuevas moléculas se recogen en las **figuras 48-53**, respectivamente, y algunas de las curvas de desaparición de la emisión en función del tiempo, que permiten calcular los tiempos de vida de emisión, constituyen el contenido de las **figuras 57-59**.

Tanto en los espectros de absorción como en los de emisión se observa un desplazamiento hacia el rojo de los máximos de las bandas de cada uno de los compuestos a medida que aumenta la polaridad del disolvente, excepto en las disoluciones en diclorometano, que se comentarán más adelante. Este efecto va acompañado de un ensanchamiento de las bandas, como se refleja en la columna correspondiente en la **tabla XXVIII** y en los espectros de las **figuras 48-53**. El efecto de la polaridad del medio sobre los máximos de emisión y absorción sirve para caracterizar la transición electrónica y los orbitales moleculares y estados electrónicos involucrados en el proceso.

Tabla XXVIII. Datos de absorción y emisión de los indicadores de alcoholes a 25 °C.

Compuesto	disolvente	$E_T(30)/\text{Kcal mol}^{-1a}$	$\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}/\text{nm}^b (\epsilon/M^{-1} \text{cm}^{-1})^c$	$\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}/\text{nm}^d (W_{1/2}/\text{nm})$	Φ_{em}^e	τ/ns^f
appzth	<i>n</i> -hexano	31.0	367 (16800)	443 (69)	0.77	1.4
	tolueno	33.9	380 (13100)	471 (72)	0.82	2.4
	cloroformo	39.1	385 (11300)	532 (96)	0.088	3.4
	diclorometano	40.7	357 (14600)	428 (62)	0.65	1.3
	etanol	51.9	387 (10400)	500 (111); 590 (119)	0.0094	0.3; 3.0
appzox	<i>n</i> -hexano	31.0	357 (26200)	414 (60)	0.64	1.4
	tolueno	33.9	365 (22000)	460 (75)	0.77	2.2
	cloroformo	39.1	369 (18500)	510 (102)	0.26	2.9
	diclorometano	40.7	349 (20600)	420 (60)	0.69	1.5
	etanol	51.9	374 (17600)	530 (132); 580 (135)	0.0045	0.3; 2.7
appyoX	<i>n</i> -hexano	31.0	336 (25600)	396 (57)	0.82	1.4
	tolueno	33.9	347 (22900)	426 (64)	0.79	1.9
	cloroformo	39.1	347 (22000)	462 (79)	0.57	2.6
	diclorometano	40.7	349 (10800); 388 (12500)g	389 (49); 463 (68)	0.71	1.0; 2.4
	etanol	51.9	361 (20400)	535 (101)	0.27	2.5

a) Ref. 284. b) Error: ± 1 nm. c) Error: $\pm 100 M^{-1} \text{cm}^{-1}$. d) Espectros corregidos por la respuesta instrumental. Error: ± 1 nm.

e) Estándar: sulfato de quinina en ácido sulfúrico 1N ($\Phi_{\text{em}} = 0.546$);²¹⁴ error: ± 10 %. f) Determinados mediante la técnica SPT. Error: ± 2 %.

g) Un máximo adicional a 331 (10400).

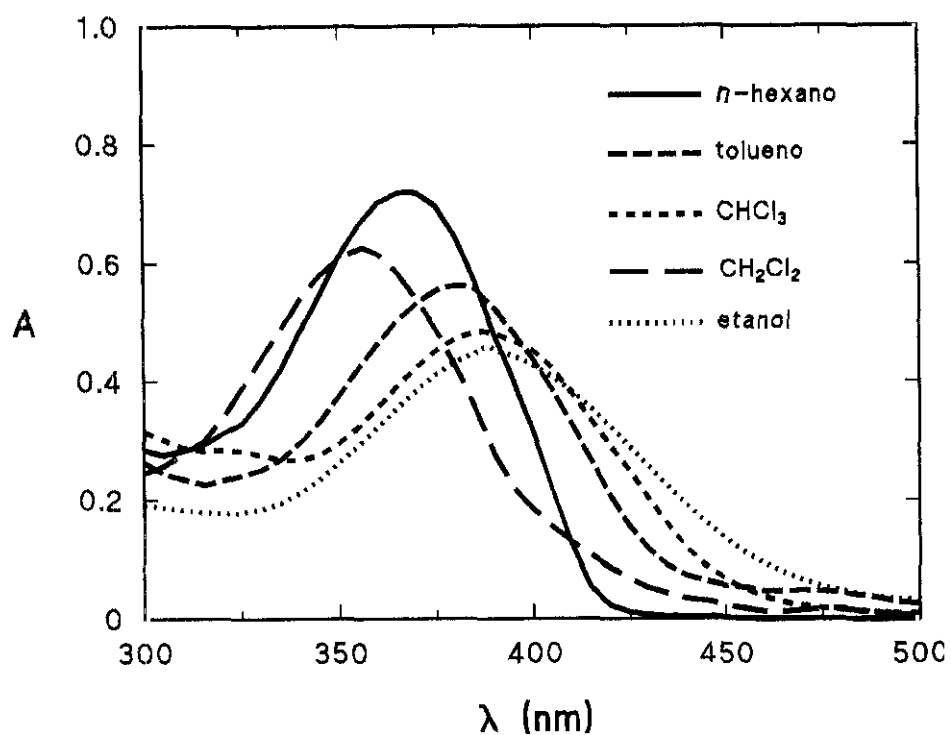


Figura 48. Espectros de absorción UV-VIS del **appzh** en los disolventes indicados.

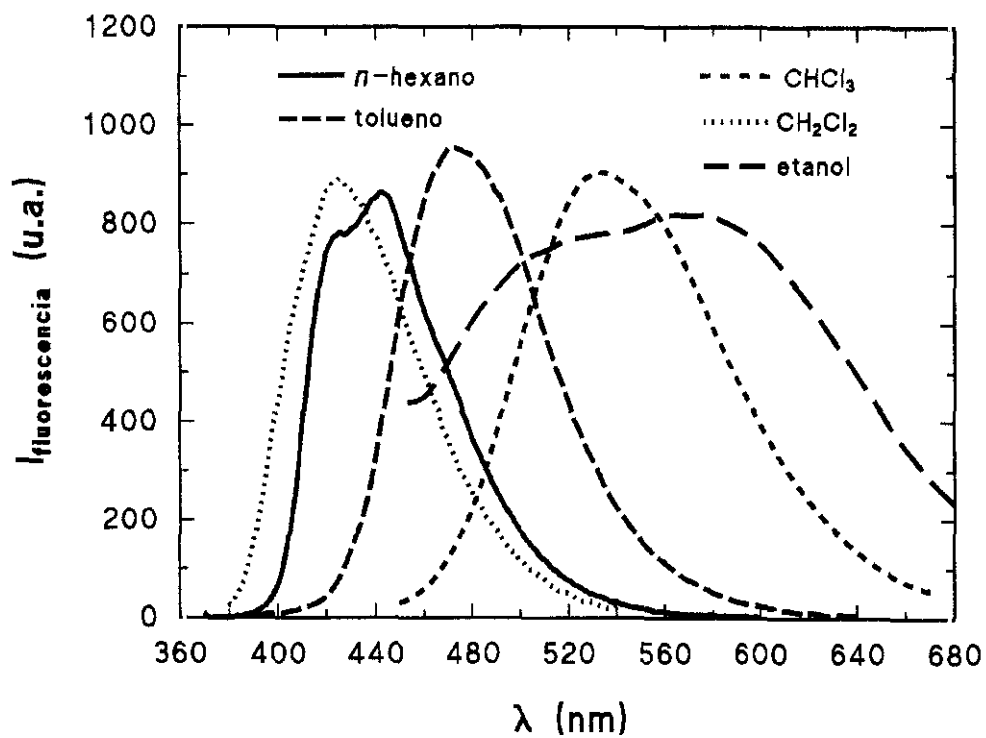


Figura 49. Espectros de emisión del **appzh** en los disolventes indicados.

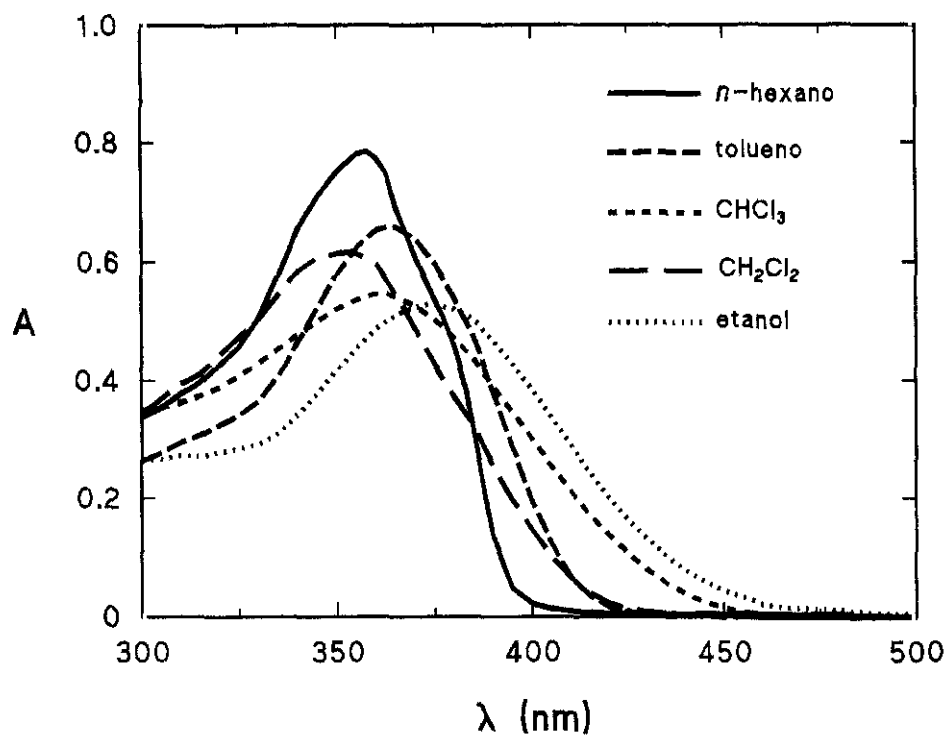


Figura 50. Espectros de absorción UV-VIS del **appzox** en los disolventes indicados.

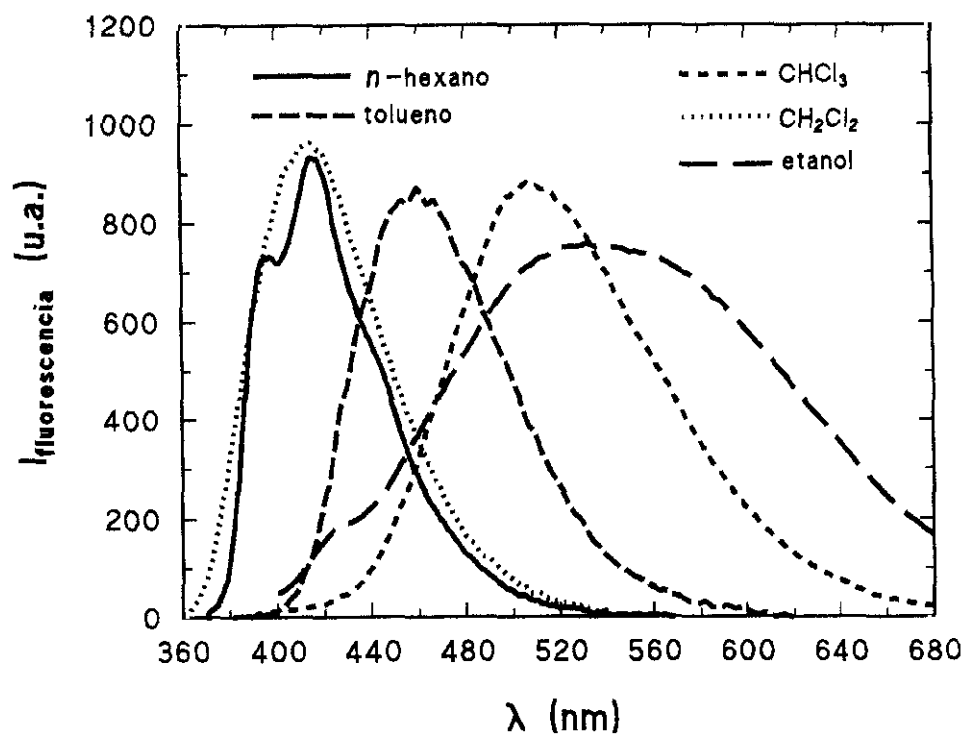


Figura 51. Espectros de emisión del **appzox** en los disolventes indicados.

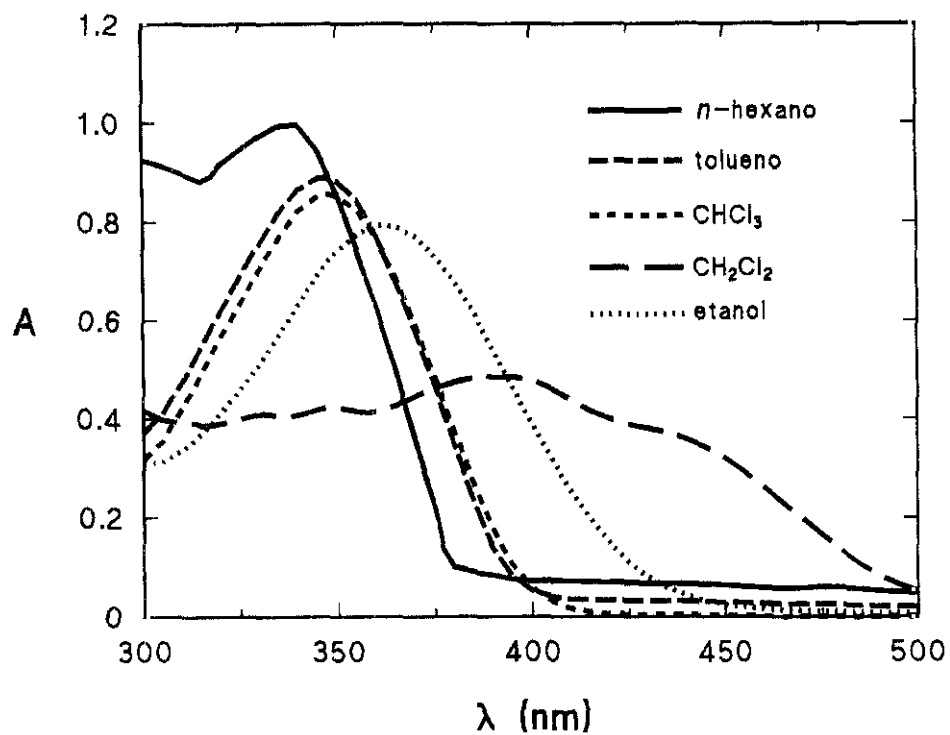


Figura 52. Espectros de absorción UV-VIS del **appyox** en los disolventes indicados.

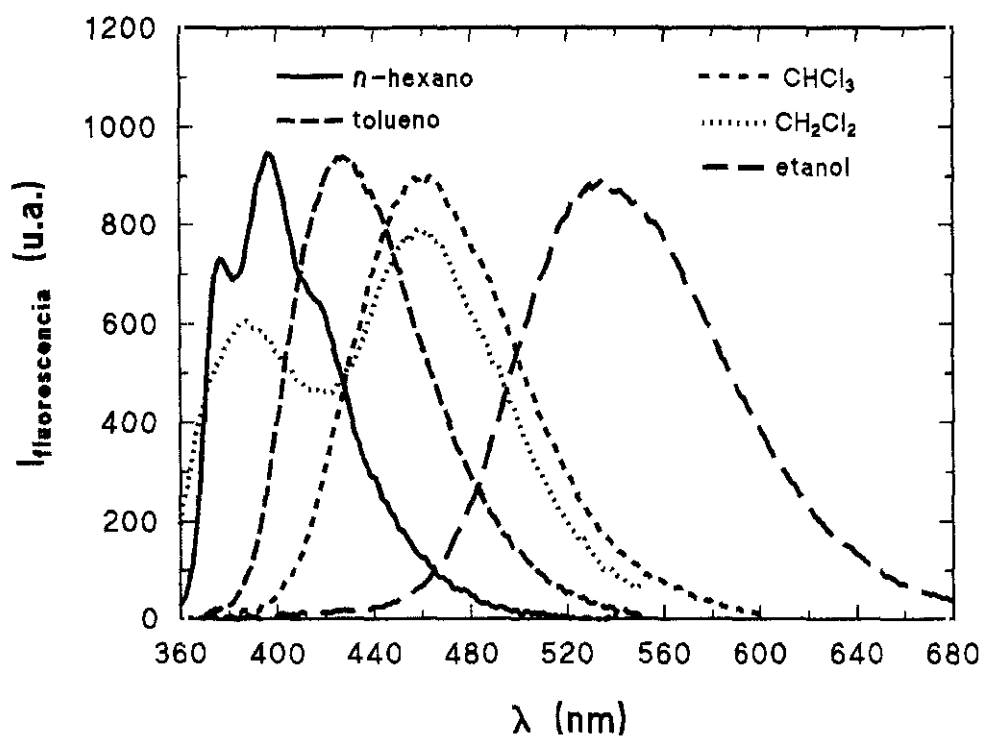


Figura 53. Espectros de emisión del **appyox** en los disolventes indicados.

En efecto, las transiciones electrónicas responsables de los fenómenos de absorción y luminiscencia de las moléculas orgánicas pueden ser de tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ (caso de los compuestos con elevada conjugación π) o $n \rightarrow \pi^*$ (cuando la molécula posee grupos funcionales con electrones sin compartir, como C=O, NH₂, C=N, N=N, etc., conjugados con un sistema π). El efecto de la polaridad del disolvente sobre las bandas de absorción y emisión correspondientes a transiciones de uno u otro tipo es contrario:¹⁷¹ los máximos de absorción y emisión de tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ se desplazan batocrómicamente al aumentar la polaridad del disolvente, pues el estado excitado tiene en estos casos un carácter más polar que el estado fundamental, lo que implica que medios más polares estabilizan preferiblemente el primero; por el contrario, las bandas $n \rightarrow \pi^*$ se mueven hacia el azul en disolventes más polares, como consecuencia de la mayor estabilización que experimentan los electrones situados en orbitales n al ser solvatados por moléculas polares, respecto a la situación en el estado excitado, al encontrarse en éste uno de los electrones n en un orbital π^* .

Por tanto, podemos concluir que los procesos electrónicos observados en los espectros de absorción y emisión UV-VIS de los compuestos *appzth*, *appzox* y *appyox* corresponden a transiciones de tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ y el estado excitado emisor debe ser de tipo $\pi\pi^*$. Por otro lado, parece fuera de duda la naturaleza fluorescente del fenómeno, dados los cortos tiempos de vida de emisión, que no pueden corresponder a fenómenos de fosforescencia. Se trata, pues, de un estado excitado emisor $\pi\pi^*$ de multiplicidad singlete.

En la **figura 54** se representa la longitud de onda del máximo de absorción de las disoluciones de los compuestos indicadores de alcoholes/agua en función del parámetro de polaridad del disolvente $E_T(30)$, extraído de la bibliografía.²⁸⁴ El resultado es similar cuando se representan los máximos de emisión. Con respecto a esta figura, dos son los aspectos que, a nuestro juicio, merecen comentario. En primer lugar, la ausencia de una correlación lineal con la polaridad del medio indica que, además de las contribuciones culómbicas y de polarizabilidad a la energía de solvatación, existen otros factores específicos que actúan sobre el contenido energético de los estados electrónicos involucrados (como puede ser la interacción soluto-disolvente por enlaces de hidrógeno). Por otro lado, las disoluciones en CH₂Cl₂ presentan un comportamiento diferente con respecto al resto de los disolventes: las absorciones de los dos compuestos que poseen un anillo de pirazina en su estructura aparecen a una longitud

de onda mucho menor de lo que cabría esperar por la polaridad del CH_2Cl_2 . Además, el espectro de absorción del appyox en diclorometano (figura 52) posee un aspecto completamente diferente del resto, con una complicada estructura en la que se pueden diferenciar claramente tres máximos, de los que se ha incorporado a la gráfica de la figura 54 el de mayor intensidad, que es también el que aparece más hacia el rojo ($\lambda_{\text{abs}} = 388 \text{ nm}$).

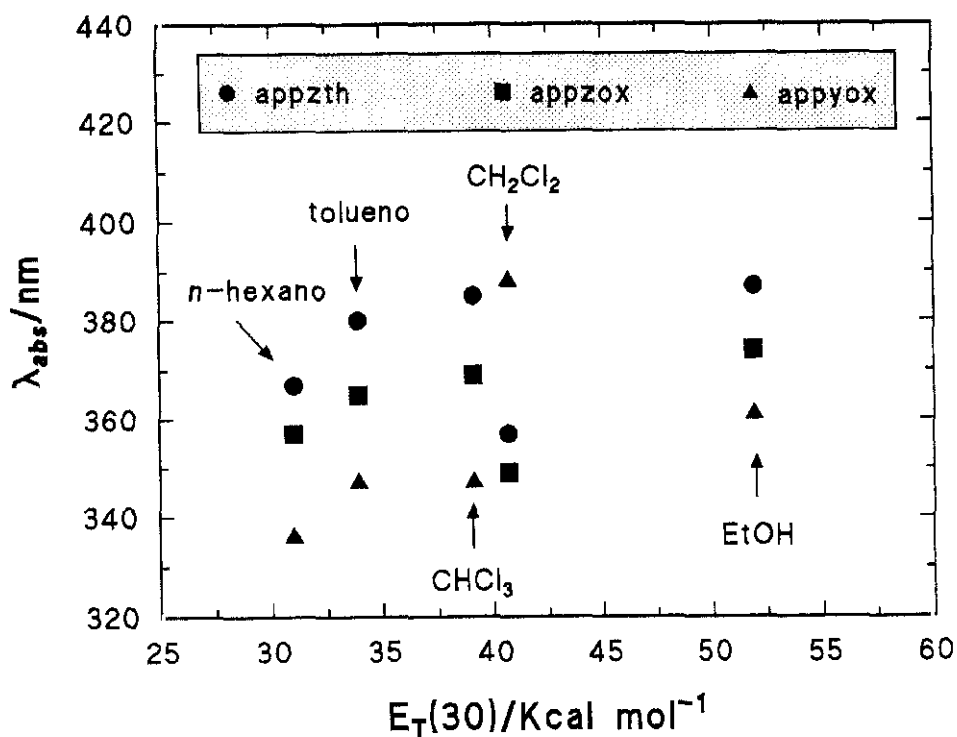


Figura 54. Representación gráfica de la longitud de onda del máximo de absorción de los compuestos appzth, appzox y appyox en función del parámetro de polaridad del disolvente $E_T(30)$.

En cuanto a los espectros de emisión, los tres compuestos fluorescen intensamente en el visible, siendo la longitud de onda del máximo fuertemente dependiente de la polaridad del disolvente. Incluso a simple vista, se observa que la emisión del appzth en *n*-hexano es de color violeta, azul en tolueno y éter dietílico y verde en cloroformo, en tanto que en

alcoholes no se llega a apreciar, debido a que su intensidad es muy inferior. Los espectros de emisión de los compuestos **appzth** y **appzox** en etanol presentan emisión dual, observándose una dependencia entre la forma del espectro y la intensidad relativa de ambos máximos con la longitud de onda de excitación. Este fenómeno se ilustra en la **figura 55**, donde se representan los espectros de fluorescencia de disoluciones de dichos compuestos en etanol, obtenidos a distintas longitudes de onda de excitación. El cambio es especialmente notable en el compuesto con anillo de tiazol, pero también en el **appzox** da lugar a dos máximos de emisión claramente diferenciados (indicados en la **tabla XXVIII**). Además, se observa que, a medida que se realiza la excitación más hacia el rojo, se incrementa la intensidad relativa de la banda de emisión cuyo máximo aparece a mayor longitud de onda.

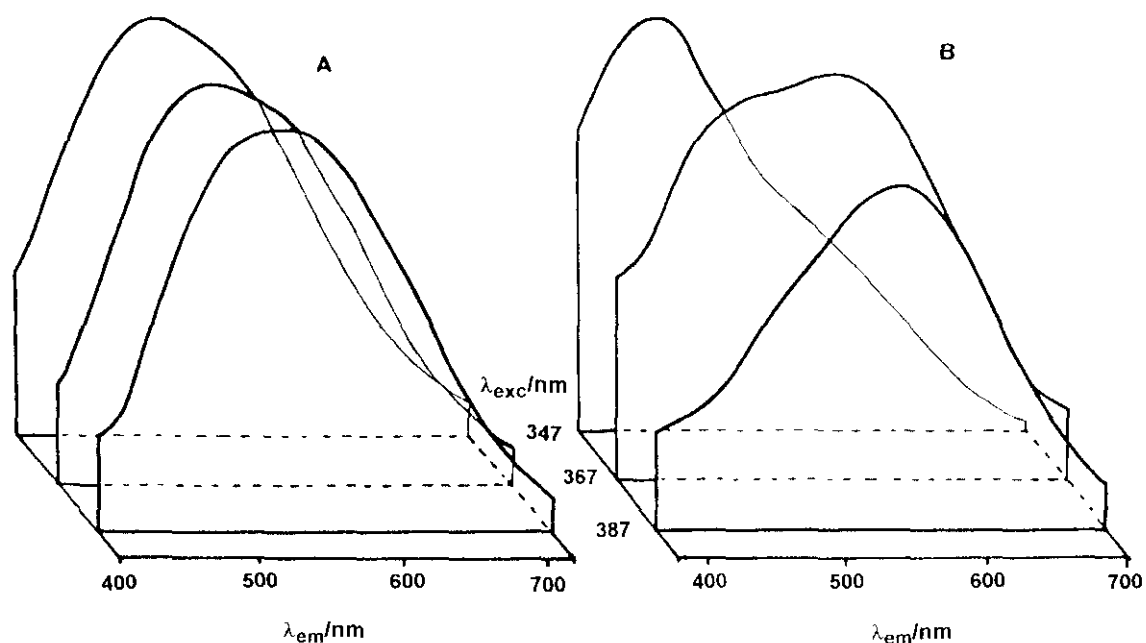


Figura 55. Espectros de emisión de los compuestos **appzox** (A) y **appzth** (B) en etanol absoluto a distintas longitudes de onda de excitación.

Por el contrario, el espectro de emisión del compuesto **appyox** en etanol presenta una única banda de emisión y, al igual que ocurría con el de absorción, es la disolución en diclorometano la que exhibe un aspecto "anómalo", con dos bandas claramente diferenciadas cuya intensidad relativa muestra una fuerte dependencia con la longitud de onda de excitación: a medida que ésta disminuye, aumenta la intensidad de la banda situada más hacia el azul, mientras que si se excita a 360 nm prácticamente sólo se observa la banda a mayor longitud de onda (**figura 56**).

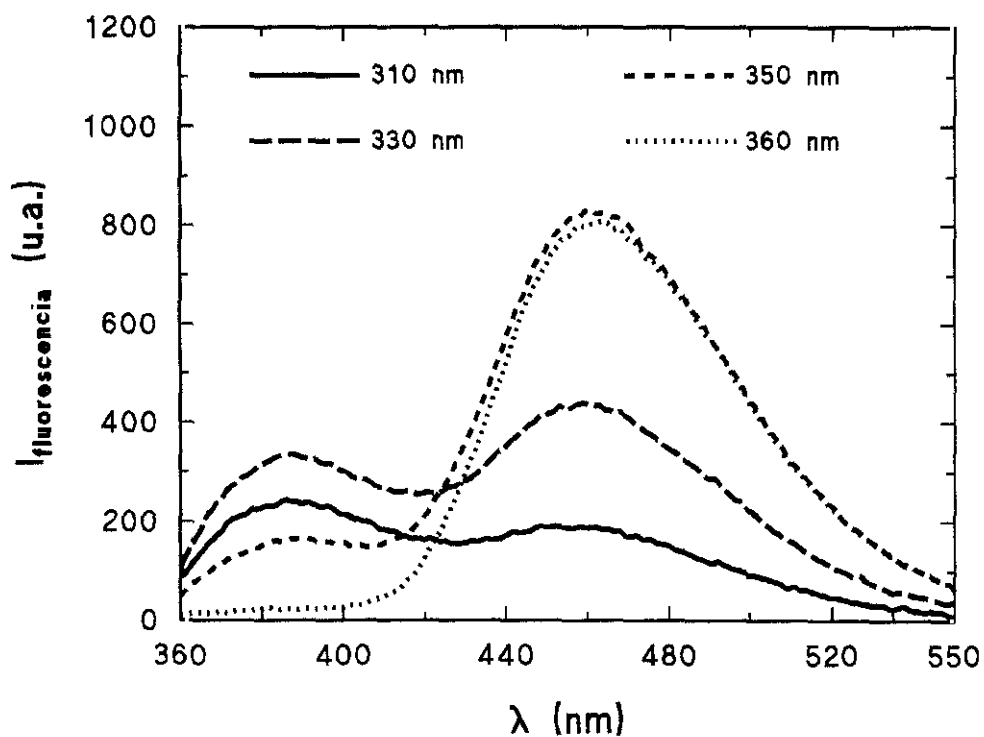


Figura 56. Espectros de emisión del **appyox** en diclorometano a distintas longitudes de onda de excitación.

En cuanto a los rendimientos cuánticos de fluorescencia, sus valores son muy elevados en disolventes apolares y, en líneas generales, decrecen al aumentar la polaridad, si bien, una vez más, el CH_2Cl_2 constituye una excepción. Los elevados valores de los rendimientos cuánticos en medios apolares concuerdan con las características estructurales y electrónicas de las moléculas (ver apartado 5.1 del capítulo de antecedentes): presencia de un sistema π conjugado extenso de anillos aromáticos, existencia de grupos electroattractores (los anillos de piridina y pirazina π -deficientes) y electrodonadores (amino) dispuestos a ambos extremos de la molécula y ausencia de efectos estéricos que impidan o limiten la planaridad. En etanol, los Φ_{em} disminuyen de manera drástica.

La medida de los tiempos de vida de emisión (τ) de los tres compuestos en los diferentes disolventes se ha realizado mediante la técnica SPT; en las figuras 57-59 se recogen algunas de las curvas de desaparición temporal de la emisión, con sus correspondientes ajustes de los puntos experimentales. El empleo de una lámpara de descarga en H_2 o en N_2 en el equipo de SPT no produce variaciones apreciables en los valores de τ (dentro del error de medida), lo que se comprobó mediante experimentos con ambas fuentes de radiación para algunas de las muestras. Todos los valores de τ obtenidos son del orden de unos pocos nanosegundos, lo que apoya el carácter fluorescente de la emisión observada. Las curvas de decaimiento de la luminiscencia se ajustan a funciones estrictamente monoexponenciales en todos los casos (indicando la existencia de una única especie emisora), excepto en las disoluciones etanólicas de los compuestos appzth y appzox y en la del appyox en diclorometano, que son biexponenciales. En estos casos, la contribución relativa de ambos tiempos de vida a la curva muestra una fuerte dependencia con la longitud de onda de excitación: en los tres, el tiempo de vida más largo adquiere mayor importancia al desplazarse hacia el rojo la longitud de onda de excitación y, cuando ésta disminuye, la contribución del tiempo de vida más corto se incrementa. En general, los τ crecen con la polaridad del disolvente. Este hecho contrasta con el desplazamiento hacia el rojo del máximo de emisión: en efecto, la ley del espaciado energético ("energy gap law") establece que, a medida que los estados fundamental y excitado se acercan entre sí (mayor λ_{em}), la desactivación por conversión interna se hace más eficaz (menor τ).

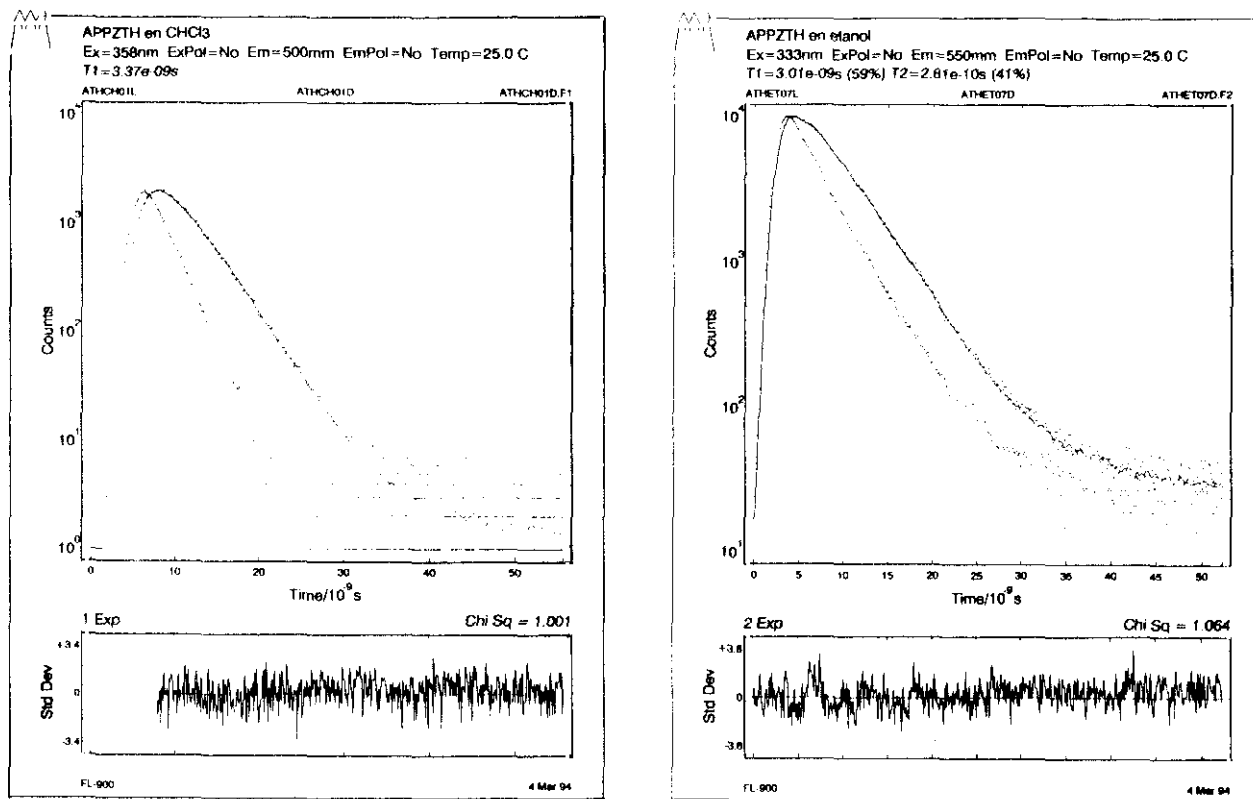


Figura 57. Curvas de desaparición de la fluorescencia del **appzth** en cloroformo y etanol.

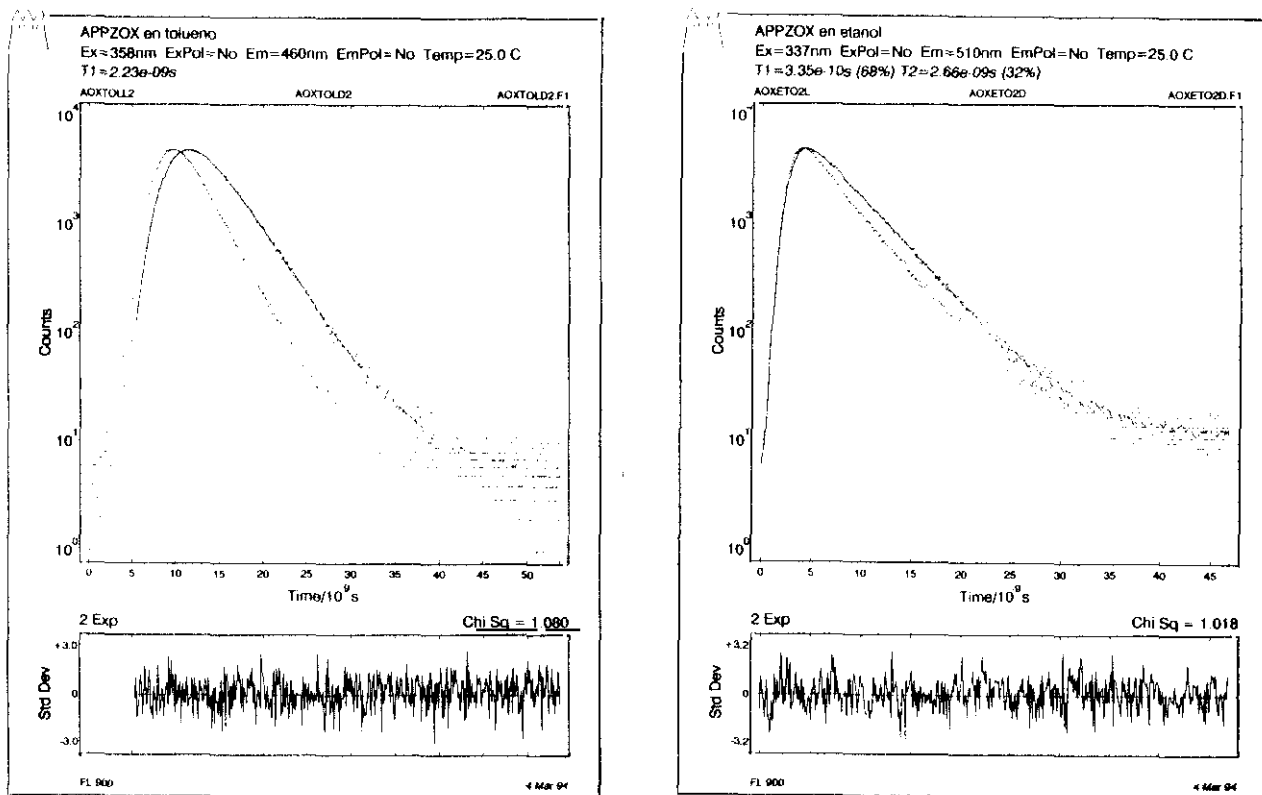


Figura 58. Curvas de desaparición de la fluorescencia del **appzox** en tolueno y etanol.

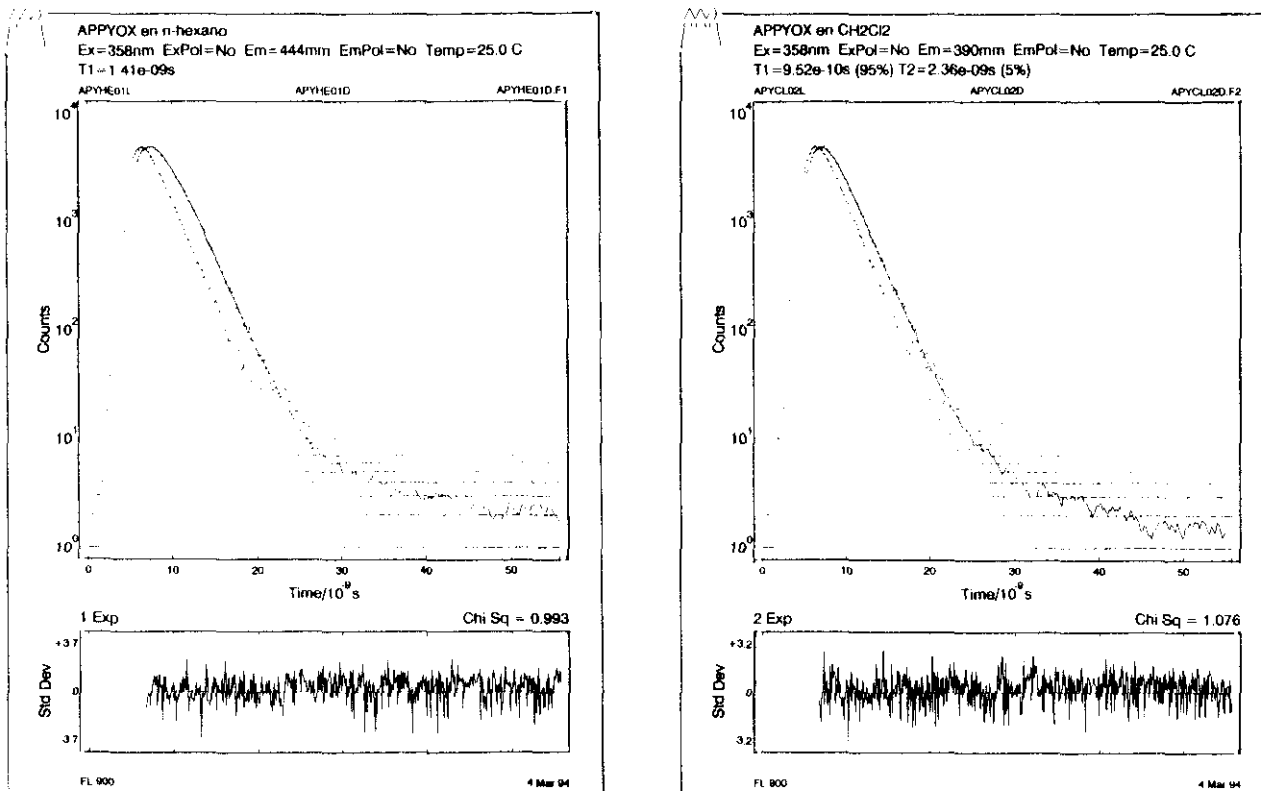
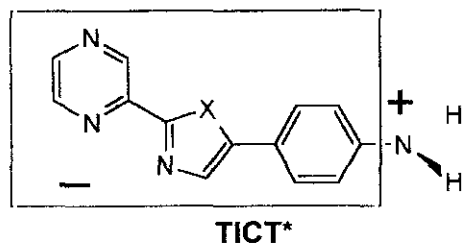
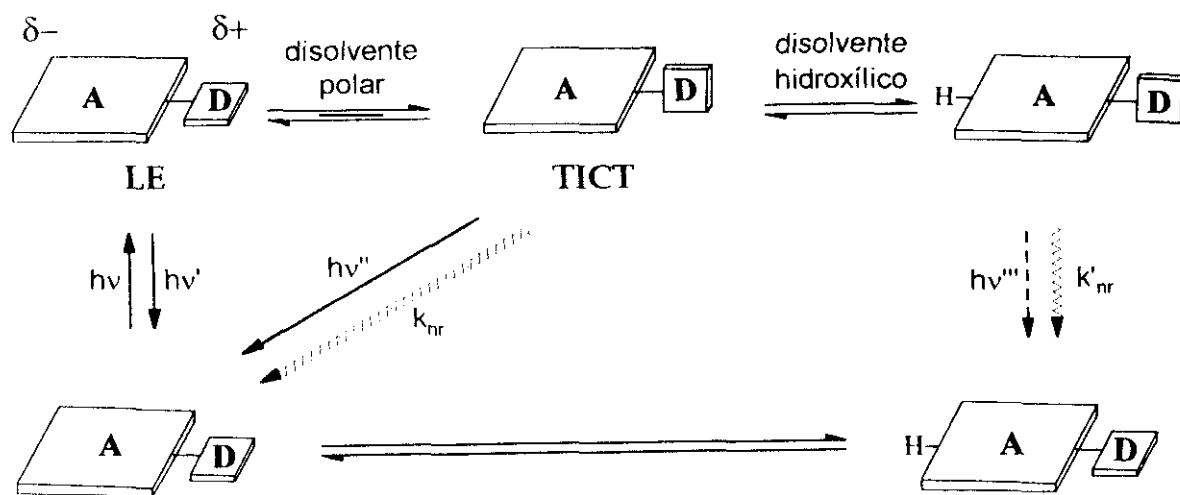


Figura 59. Curvas de desaparición de la fluorescencia del **appyox** en *n*-hexano y diclorometano.

La mayor parte de estas observaciones pueden explicarse mediante los procesos fotofísicos y fotoquímicos representados en el **esquema 24**, que asume la existencia de dos estados excitados emisores para estas moléculas: uno, formado inicialmente por la excitación luminosa, de geometría similar a la del estado fundamental (esto es, plana o casi plana) y otro en el que se ha producido un giro de 90° alrededor del enlace que une el grupo NH₂ al anillo bencénico, simultáneamente con un proceso de transferencia electrónica desde dicho grupo al resto de la molécula. De acuerdo con lo expuesto en el **apartado 4.1** de la sección de **antecedentes**, se trata de estados excitados de tipo LE y TICT, respectivamente. La emisión detectable en disolventes apolares se debe, probablemente, al estado excitado de tipo LE que, no obstante, debido al carácter algo polar del mismo y a tratarse de un estado de tipo $\pi\pi^*$, muestra una clara dependencia de su longitud de onda con la polaridad del medio.



Esquema 24

Lógicamente, a medida que aumenta la polaridad, el estado excitado TICT estará más estabilizado por la solvatación con las moléculas del disolvente y se formará en mayor extensión. En disolventes muy polares, como etanol, el equilibrio estará totalmente desplazado hacia la forma TICT. La emisión dual observada en este medio no puede deberse a la coexistencia de los dos estados excitados LE y TICT, como demuestran una serie de observaciones. En primer lugar, la proximidad entre dichos máximos, que no corresponde a la separación típica entre los máximos de emisión de los estados LE y TICT; en segundo lugar, el bajo valor del rendimiento cuántico que se obtiene en este disolvente no concuerda con la existencia de emisión

de naturaleza LE. No obstante, la prueba concluyente la constituyen las variaciones, ya comentadas, que experimentan los espectros de emisión de los compuestos appzth y appzox en disolución etanólica al modificar la longitud de onda de excitación (figura 55). Este hecho demuestra que las distintas formas responsables de la emisión se encuentran en equilibrio ya en el estado fundamental.

Wang y Eisenthal¹⁶⁶ han observado fenómenos similares en las disoluciones de DMABN en mezclas de alcoholes e hidrocarburos. Para explicarlos, postulan la formación de aductos de distintas estequiometrías entre las moléculas de DMABN y las del disolvente hidroxílico, cuyo máximo de absorción es ligeramente distinto. Dichos aductos están en equilibrio en el estado fundamental y, al excitarse la molécula de DMABN que forma parte de ellos, pasan inicialmente al estado excitado de tipo LE, pero se establece un rápido equilibrio (~ 20 ps) que, en alcoholes puros, está casi totalmente desplazado hacia la forma TICT, pues su separación de cargas está favorecida por la elevada polaridad de las moléculas próximas.

La explicación de todos los fenómenos observados por nosotros en las disoluciones de los compuestos appzth y appzox en etanol parte de la misma premisa: la existencia de asociación entre las moléculas del indicador y las del disolvente. En el estado fundamental las moléculas del indicador deben poseer polaridad suficiente para propiciar una interacción eficaz con las de etanol, lo que hace que se formen aductos de estequiometrías 1:1, 1:2, 1:3, ..., 1:n (1,3-azol/etanol) que se encuentran en equilibrio. El espectro de absorción electrónica en etanol responde a todos los aductos presentes en la disolución en las proporciones en que se encuentran en equilibrio, lo que explicaría el ensanchamiento de la banda. Al absorber un fotón, la molécula alcanza inicialmente un estado excitado de tipo LE, cuya geometría es similar a la del estado fundamental y, a continuación, de forma muy rápida, se establece un equilibrio entre aquel estado y el TICT. En la molécula de DMABN en disolventes alcohólicos, la fluorescencia del estado LE es muy poco intensa,¹⁶⁶ lo que indica que en estos medios el estado girado está termodinámicamente favorecido. En el caso de los 1,3-azoles objeto de nuestro trabajo, el estado TICT estará todavía más favorecido en relación con el LE, por lo que no se detecta la existencia de emisión proveniente de éste último, ni en el estado estacionario ni con resolución temporal, al menos en la escala de tiempos accesible con la lámpara de descarga en H₂ o N₂ empleada en nuestro equipo de SPT. Lógicamente, si existía asociación

con el disolvente en el estado fundamental, también habrá aductos "1,3-azol en el estado TICT/etanol", que estarán en equilibrio, si bien es de esperar una distribución de estequiometrías diferente, pues ha aumentado enormemente la polaridad de la molécula fluorescente. La emisión dual refleja el predominio de dos de dichos aductos, sin que nos sea posible determinar cuáles; el espectro de emisión resultante responde a la distribución de dichos aductos en el estado excitado. La dependencia del espectro de fluorescencia con λ_{exc} se debe a que se excita una proporción distinta de los aductos presentes en la muestra, lo que incide también en la proporción relativa de las distintas estequiometrías soluto/disolvente en el estado excitado. Ésto indica que el establecimiento del equilibrio entre las diferentes formas asociadas en el estado excitado es un proceso más lento que el de emisión de luminiscencia, por lo que la distribución de las estequiometrías de los aductos en el estado excitado no es la de equilibrio. Este hecho se manifiesta también en la dependencia de los espectros de excitación con la longitud de onda de emisión seleccionada, como se muestra en la **figura 60**. La gran anchura de las bandas de fluorescencia de los espectros de los compuestos appzth, appzox y appyox refleja la contribución al mismo de los diferentes aductos.

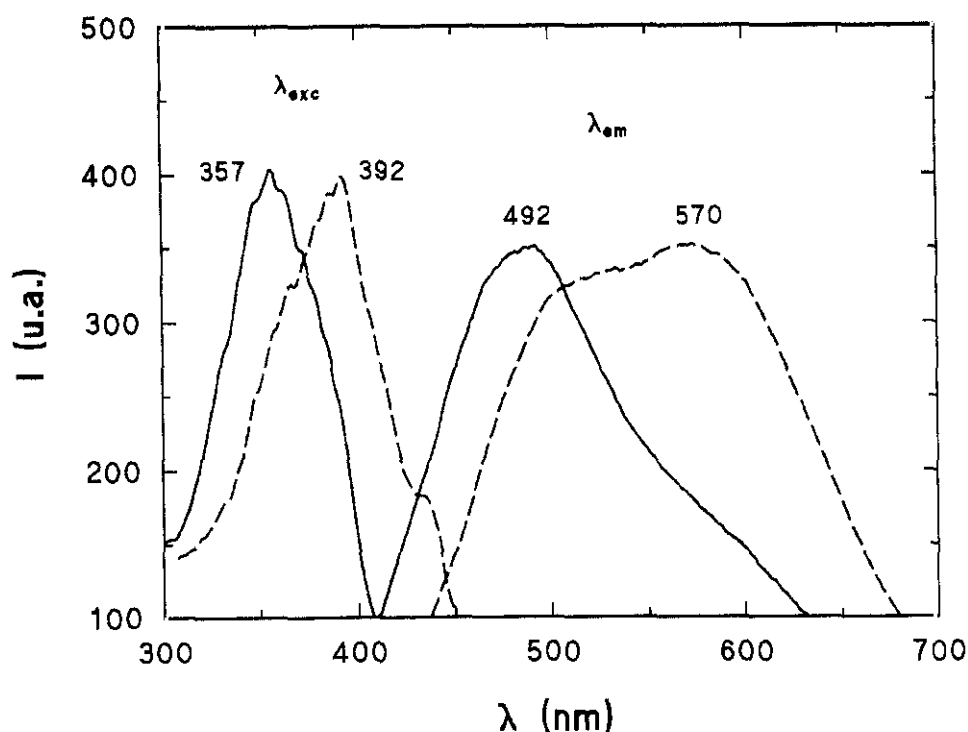


Figura 60. Espectros de excitación y de emisión del **appzth** (10^{-6} M) en etanol absoluto (sin corregir) a 25 °C.

La fluorescencia dual de las disoluciones etanólicas de appzth y apzox es también la causa de la biexponencialidad de las curvas de desaparición de la fluorescencia en función del tiempo obtenidas mediante la técnica SPT. Las dos componentes del ajuste se deben también al predominio de dos de los aductos 1,3-azol/etanol, aunque, probablemente, cada uno de los tiempos de vida corresponde a varias estequiometrías próximas entre sí, pero algunas poseen una contribución tan escasa y un tiempo de vida tan similar al de la forma más abundante que son indistinguibles de ésta. En todo caso, a partir de los ajustes de los puntos experimentales se obtiene un tiempo de vida más corto (inferior a 1 ns) y otro más largo (del orden de 3 ns), cuya contribución relativa depende también de la longitud de onda de excitación: al aumentar λ_{exc} se incrementa la contribución del tiempo de vida más corto. La dependencia con la longitud de onda de emisión es la misma. Ambos hechos indican que la especie que emite con un tiempo de vida más corto es la que lo hace más cerca del rojo. Es lógico pensar que dicha especie es uno de los aductos con mayor número de moléculas de alcohol, pues la progresiva asociación debe producir una estabilización del estado excitado TICT. Una interacción muy fuerte con las moléculas de etanol puede favorecer los caminos de desactivación no radiativa del estado excitado por acoplamiento con los osciladores O-H del disolvente, lo que explicaría el menor tiempo de vida de la especie más solvatada.

Un aspecto difícil de elucidar con los datos de que disponemos es la naturaleza (LE o TICT) del estado excitado emisor en cada uno de los disolventes. Por lo general, la fluorescencia de los estados excitados TICT constituye una transición prohibida por las reglas de simetría (ver **apartado 4.1** de la sección de **antecedentes**) y, por ello, es menos intensa que la del estado LE.¹⁶¹ A la vista de los resultados expuestos en la **tabla XXVIII**, esto podría indicar que, en los dos compuestos con un anillo de pirazina, el estado excitado es de tipo TICT en cloroformo y en etanol y la causa del menor rendimiento cuántico en este último disolvente es la formación de los aductos antes descritos con el etanol, que favorece el mecanismo de desactivación no radiativa. En *n*-hexano, tolueno y diclorometano, parece claro que el estado excitado es de tipo LE. En cambio, el rendimiento cuántico del appyox en cloroformo es comparable al que se obtiene en los disolventes menos polares, por lo que, probablemente, se deba también a un

estado excitado LE, de manera que sólo se observa emisión TICT de este compuesto en su disolución etanólica.

Otra posible contribución a la cinética de las disoluciones en etanol de estos compuestos se refleja en el **esquema 24** y es la posibilidad de la transferencia de un protón de una molécula del disolvente hidroxílico al estado excitado de la molécula azólica. Este tipo de procesos se han observado también en la desactivación del DMABN¹⁶³ y, en nuestro caso, podría estar facilitado por la mayor basicidad de los anillos de pirazina y piridina, exaltada en el estado excitado TICT, en que la parte aceptora de la molécula tiene una carga neta negativa. El estado excitado protonado podría emitir o no, volviendo al estado fundamental, cuya escasa basicidad desplazaría el equilibrio de protonación completamente hacia la izquierda. En nuestra opinión, la desactivación de la forma protonada del estado excitado, en caso de que se forme, debe transcurrir a través de un mecanismo no radiativo, de manera que no hay fluorescencia de esta forma, pues ello entraría en contradicción con la correspondencia entre los estados excitados y fundamentales de las disoluciones etanólicas (dependencia de los espectros de emisión con la longitud de onda de excitación), teniendo en cuenta que la basicidad de los anillos de pirazina y piridina de las moléculas en el estado fundamental no es suficiente para arrancar un protón del grupo hidroxilo del alcohol. No obstante, consideramos muy posible que el mecanismo de protonación del estado excitado sea una de las vías de desactivación del mismo, competitiva con la fluorescencia y, en parte, responsable del bajo valor de Φ_{em} en etanol. A ello contribuiría la exaltación de la basicidad de los heterociclos nitrogenados en el estado excitado.

El compuesto appyox presenta un comportamiento diferente al de las moléculas que poseen un anillo de pirazina en su estructura. Sus disoluciones en etanol exhiben espectros de emisión que no presentan fluorescencia dual ni dependencia alguna con la longitud de onda de excitación y sus decaimientos de la emisión se ajustan a curvas monoexponenciales con excelente acuerdo. Los rendimientos cuánticos de fluorescencia del appyox decrecen con la polaridad del disolvente, pero mucho menos que los de los otros dos compuestos estudiados; incluso en etanol, la emisión posee una intensidad considerable. Esta diferencia de comportamiento se debe, indudablemente, al menor carácter π -deficiente del anillo de piridina frente al de pirazina, que hace que la molécula sea menos polar y la transferencia electrónica intramolecular no se produzca o

se de en pequeña extensión, ya que la estabilización por solvatación no será tan importante. Todo indica que el estado TICT es el responsable de la emisión en etanol, pero, incluso en esta forma tan polar, la molécula se asocia mucho menos y, probablemente, los aductos soluto/disolvente que se formen respondan a un número de estequiometrías mucho más restringido, con gran predominio de una de ellas. Por otro lado, la proximidad entre las moléculas asociadas en estos aductos será menor, por lo que no concede tanta importancia a los procesos de desactivación no radiativa del estado excitado.

Todos los compuestos estudiados presentan un comportamiento anómalo en diclorometano. Las disoluciones de appzth y appzox en este disolvente absorben y emiten a longitudes de onda muy bajas (en el caso del appzth incluso a menor λ que en *n*-hexano) y con tiempos de vida del orden de los que se obtienen en los disolventes menos polares. El espectro de absorción del appyox en CH₂Cl₂ presenta una estructura compleja con tres máximos claramente distinguibles, en tanto que el de emisión se caracteriza por la existencia de dos máximos; la curva de caída de la emisión en función del tiempo no se ajusta a una curva monoexponencial y, en cambio, el ajuste a un perfil biexponencial es excelente, con un tiempo de vida del orden de 1 ns y otro de 2.4 ns. En cuanto a los máximos de emisión comentados, uno de ellos aparece muy hacia el azul y el otro a una longitud de onda muy similar a la del mismo compuesto en cloroformo, el disolvente de polaridad más próxima. Además, existe una correspondencia entre los máximos de absorción y de emisión, como muestra la **figura 56**.

Todos los compuestos comentados interaccionan con el CH₂Cl₂, de alguna manera que favorece el estado excitado menos polar (LE), de características muy similares a las que posee la especie que se forma en disolventes muy poco polares, como *n*-hexano. Desgraciadamente, no podemos decir nada acerca de la naturaleza de esta interacción, salvo que debe favorecer una escasa separación de cargas en el estado excitado. Curiosamente, la interacción es más fuerte en el caso de los dos compuestos más polares (appzth y appzox) hasta el punto de que en ellos únicamente se detecta la emisión de la forma muy poco polar. El compuesto appyox debe interaccionar de forma más débil con las moléculas de diclorometano y, por ello, en sus disoluciones coexiste la forma asociada con la no asociada, que presenta un comportamiento acorde con la polaridad del disolvente.

El **esquema 24** también permite explicar el aumento del tiempo de vida de emisión con la polaridad del disolvente. Por un lado, el desacoplamiento que se produce entre las partes dadora y aceptora en el estado TICT desfavorece los mecanismos de desactivación de la molécula excitada.¹⁶¹ Por otra parte, como hemos comentado, los procesos de desactivación de ambos estados excitados LE y TICT son muy lentos frente al equilibrio que se establece entre ellos y, en consecuencia, la señal de luminiscencia detectada responde a una curva monoexponencial, aunque, en realidad, provenga de los dos estados excitados;²⁸⁵ el tiempo de vida sería en tal caso intermedio entre los de ambas especies y le corresponde, por tanto, un valor más alto que el del estado LE, y tanto mayor cuanto mayor sea la contribución del estado TICT que, lógicamente, crece con la polaridad.

3.3.3. Desactivación de la emisión de fluorescencia en presencia de alcoholes.

De la observación de las columnas correspondientes a λ_{em} y Φ_{em} en la **tabla XXVIII** se deduce el potencial analítico de los compuestos *appzth*, *appzox* y *appyoX* como indicadores en sensores de fibra óptica para alcoholes. La intensa fluorescencia que presentan estos compuestos en disolventes apolares decrece hasta en dos órdenes de magnitud en los compuestos con un anillo de pirazina y, además, la longitud de onda del máximo de emisión se desplaza hacia el rojo. Cuando el compuesto se disuelve en mezclas de disolventes el comportamiento es el que cabría esperar. En la **figura 61** se representan los espectros de emisión del *appzth* disuelto en mezclas tolueno/metanol. A medida que aumenta la proporción de metanol, se produce una disminución de la intensidad de luminiscencia, que va acompañada de un desplazamiento hacia el rojo de la banda. Ambos efectos concuerdan con las observaciones realizadas en el apartado anterior en relación con las disoluciones en disolventes puros. Puede apreciarse, asimismo, cómo a bajas concentraciones de metanol en tolueno están presentes los dos *máximos de emisión*: el correspondiente al estado excitado que hemos denominado LE y el que proviene del estado TICT, en rápido equilibrio con el anterior. Resultados análogos se obtienen al emplear otras mezclas de disolventes no polares (como hidrocarburos alifáticos) y alcoholes.

Con el fin de estudiar la dependencia del efecto observado con la naturaleza del alcohol, se han registrado los espectros de emisión del appzth en mezclas de tolueno con diferentes alcoholes (metanol, etanol, 2-butanol y *t*-butanol) en distintas proporciones. Las **figuras 62-64** muestran la intensidad de fluorescencia (I) a 471 nm (excitando a 347 nm), relativa a la observada en el appzth en ausencia de alcohol (I_0), de estas muestras en función de la concentración del compuesto hidroxílico (hasta la máxima proporción que su miscibilidad permite). A medida que aumenta el tamaño de la cadena hidrocarbonada, disminuye la importancia relativa del grupo polar de la molécula de alcohol, lo que produce una menor estabilización del estado TICT y, consecuentemente, una menor desactivación de la emisión detectada.

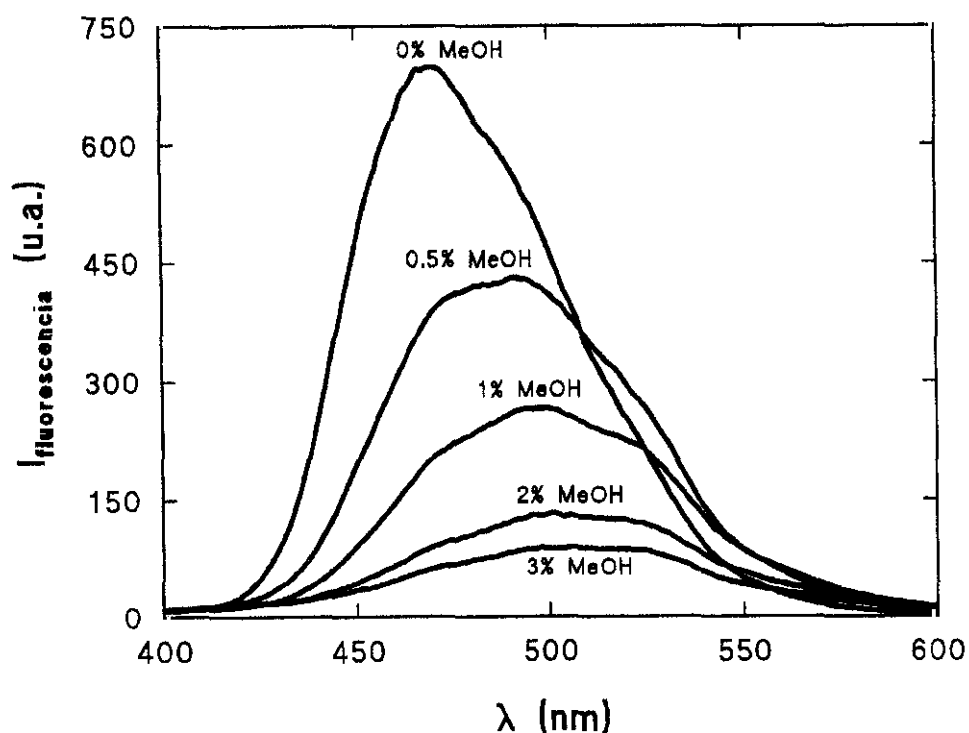


Figura 61. Espectros de emisión del appzth en mezclas tolueno/metanol de las proporciones (v/v) indicadas ($\lambda_{exc} = 371$ nm).

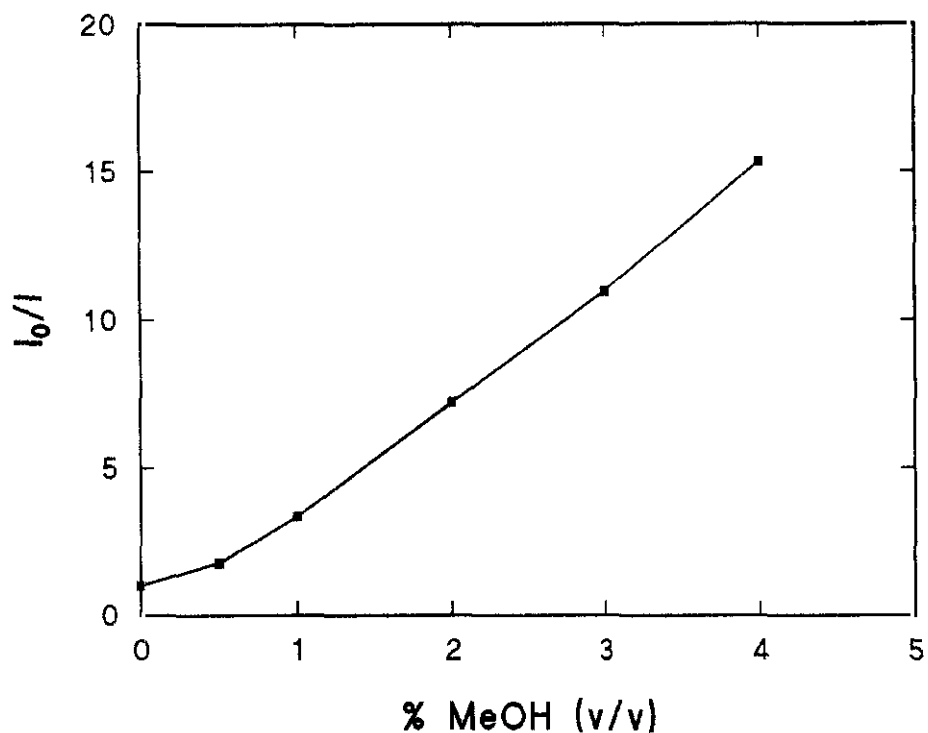


Figura 62. Representación gráfica de la intensidad de emisión (normalizada) del appzth en mezclas tolueno/metanol en función de la concentración de metanol.

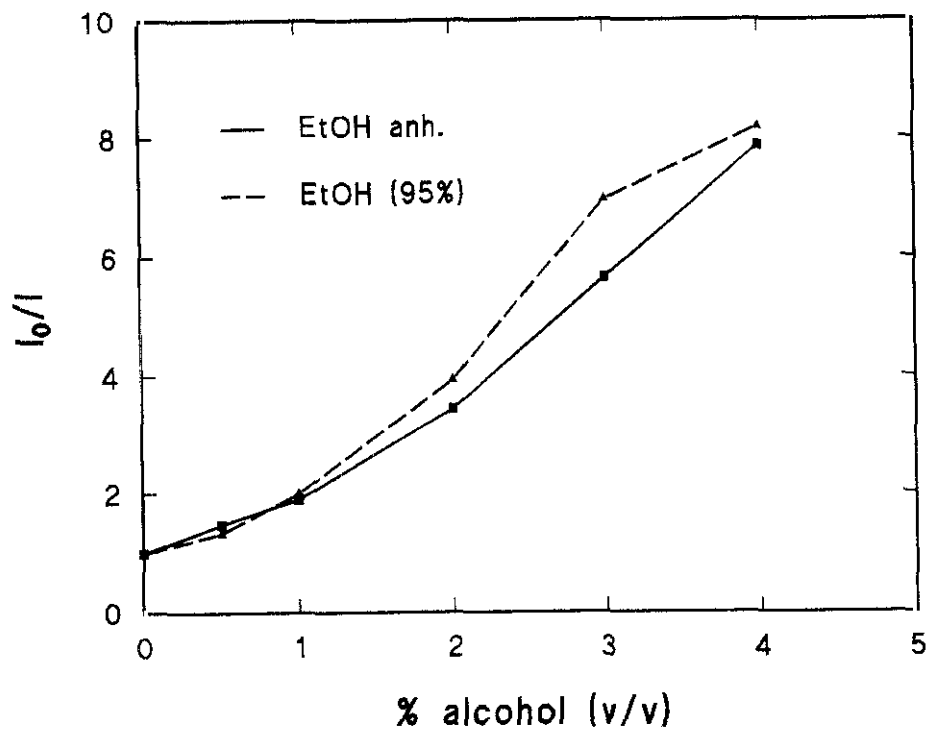


Figura 63. Representación gráfica de la intensidad de emisión (normalizada) del appzth en mezclas tolueno/etanol anhidro y tolueno/etanol (95%) en función de la concentración de alcohol.

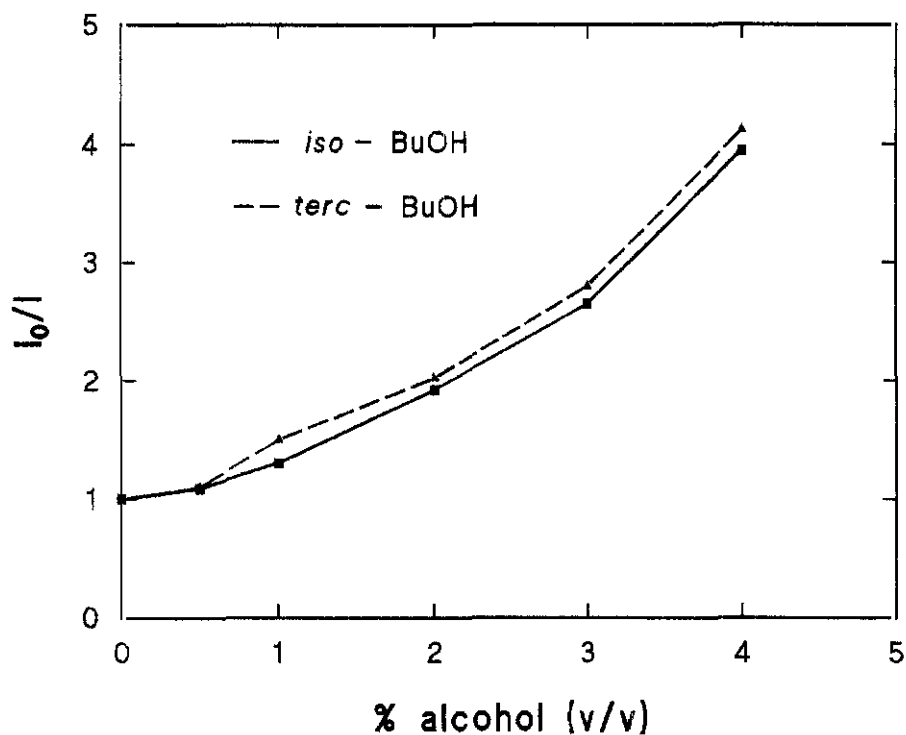


Figura 64. Representación gráfica de la intensidad de emisión (normalizada) del appzh en mezclas tolueno/iso-butanol y tolueno/terc-butanol en función de la concentración de alcohol.

Una característica común a todas las representaciones de las **figuras 62-64** es que no se obtienen líneas rectas, lo que implica que la desactivación de la fluorescencia no cumple la ecuación de Stern-Volmer. Este resultado concuerda con el mecanismo expuesto en el **esquema 24**, puesto que la desactivación de la luminiscencia por alcoholes no es un proceso dinámico ni estático, sino que supone la formación y desactivación del estado TICT, menos luminiscente, que se ve favorecida en medios alcohólicos.¹⁶⁶

4. ALGUNAS APLICACIONES ANALÍTICAS DESARROLLADAS CON COMPUESTOS SINTETIZADOS Y CARACTERIZADOS EN ESTE TRABAJO.

4.1. APLICACIÓN DEL INDICADOR LUMINISCENTE $[\text{Ru}(\text{pzth})(\text{tap})_2]^{2+}$ A UN OPTODO PARA DETERMINAR CO_2 EN MEDIOS GASEOSOS.

El compuesto $[\text{Ru}(\text{pzth})(\text{tap})_2]^{2+}$ se ha incorporado a una membrana de acuerdo con el procedimiento descrito en la sección 5.1 de la parte **experimental**. Con el dispositivo descrito también en dicho apartado se ha construido un sensor de fibra óptica para CO_2 , cuya respuesta al analito ha sido objeto de estudio por parte de los componentes de nuestro equipo investigador multidisciplinar, pertenecientes al Departamento de Química Analítica. En la **figura 65** se representa la variación de la intensidad de luminiscencia de la membrana sensible a 615 nm frente a mezclas CO_2/Ar de diferentes proporciones.

En comparación con el indicador luminiscente anteriormente empleado en este dispositivo, el $[\text{Ru}(\text{pzth})_3]^{2+}$,⁴⁶ la nueva sonda proporciona una sensibilidad superior frente al analito. Este resultado es coherente con el mayor rendimiento cuántico y tiempo de vida de emisión del nuevo compuesto (**apartado 3.1.2.2 de resultados y discusión**). También se observa una pequeña deriva en la línea base del sensor, lo que puede deberse a cierta fotoinestabilidad del complejo inmovilizado frente a la irradiación continua durante tiempos prolongados. Nuestro espectrómetro portátil de fibra óptica Guided Wave 260 utiliza una lámpara continua de wolframio-halógeno para realizar la excitación. Este problema se reduciría empleando un cortador de haz a la salida de la fuente luminosa o una lámpara pulsada, lo que disminuiría el tiempo real de exposición de la sonda a la radiación.

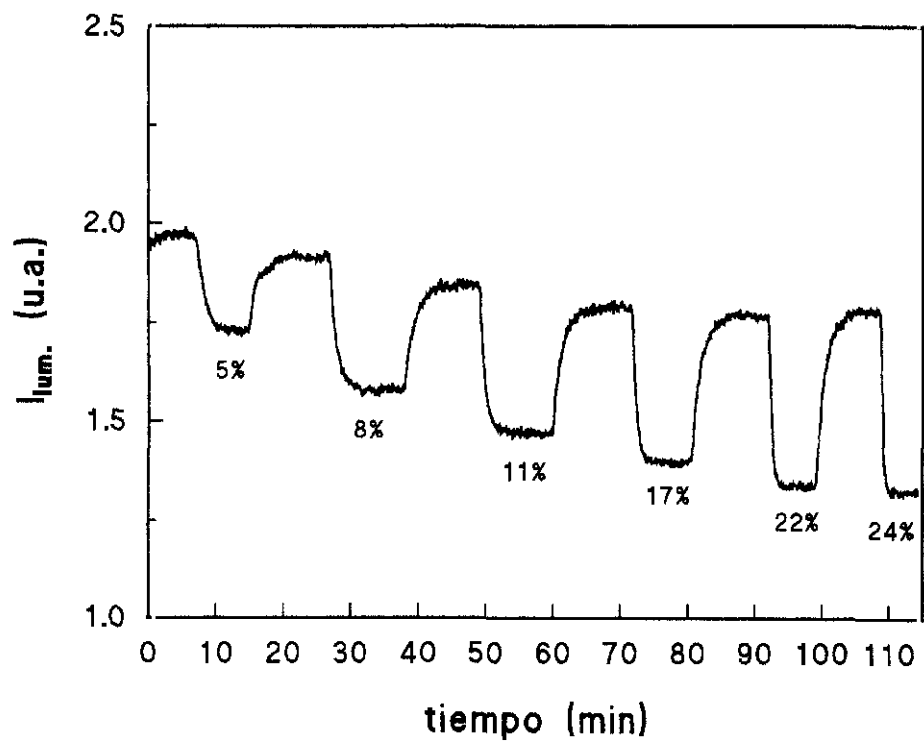


Figura 65. Respuesta del sensor de fibra óptica para CO₂ construido con el indicador [Ru(pzth)(tap)₂]²⁺ frente a mezclas CO₂/Ar de distintas proporciones.

4.2. APLICACIÓN DEL INDICADOR LUMINISCENTE $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$ A UN OPTODO PARA DETERMINAR OXÍGENO EN GASES.

El procedimiento descrito en la sección 5.2 de la parte experimental conduce a la construcción de un terminal sensible que se sitúa en el extremo de la fibra óptica. Un ejemplo de la monitorización de la luminiscencia del compuesto inmovilizado en función de la proporción de O_2 en mezclas O_2/Ar se representa en la figura 66. Obsérvese que la máxima sensibilidad del dispositivo se obtiene para concentraciones del 0 al 25% de oxígeno, que corresponden al intervalo de mayor interés analítico.

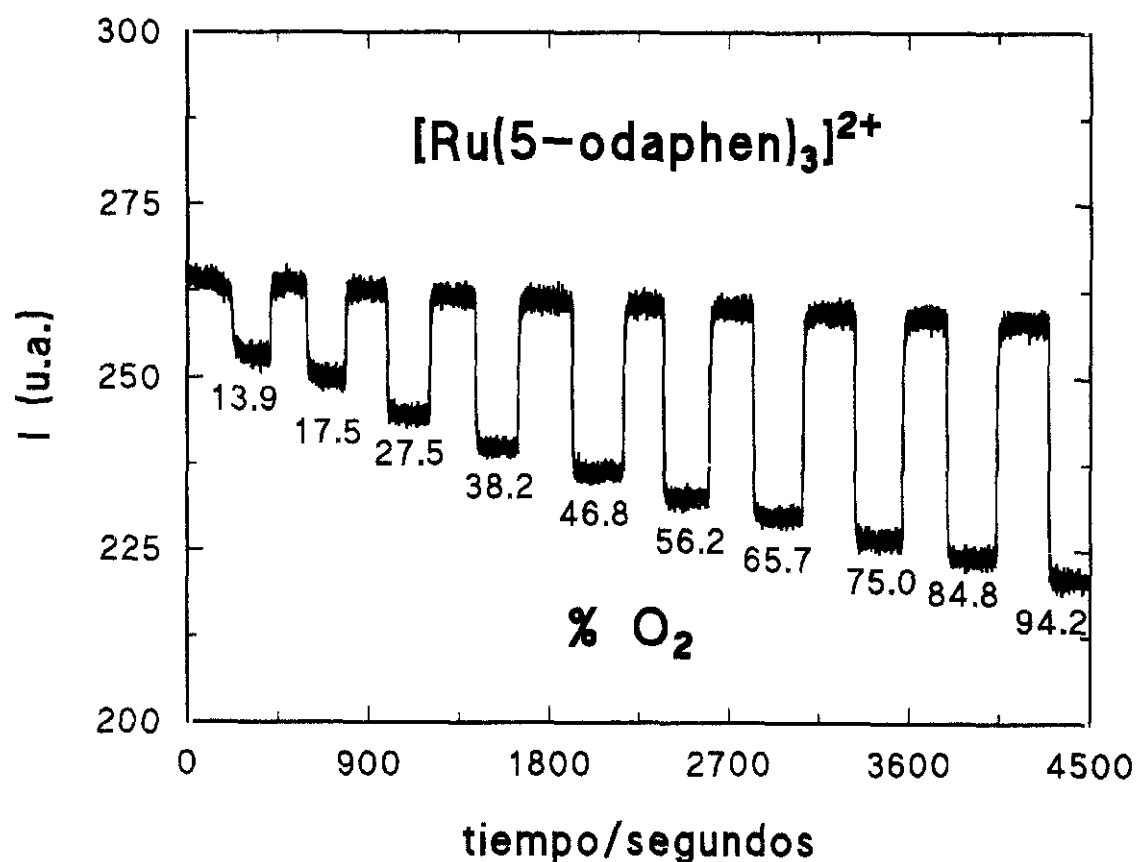


Figura 66. Respuesta del sensor de fibra óptica para O_2 que emplea como indicador el compuesto $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$ en silicona, frente a mezclas O_2/Ar de distintas proporciones.

La medida de la intensidad de luminiscencia (expresada como I_0/I , siendo I_0 la intensidad de emisión en presencia de 100% de Ar) frente a la concentración porcentual de O_2 y la representación gráfica de estos

resultados conduce a la **figura 67**, en la que se observa que el ajuste a una recta es excelente. Este resultado demuestra la homogeneidad del sistema $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$ /silicona, que era el objetivo básico planteado en el diseño molecular del nuevo indicador luminiscente.

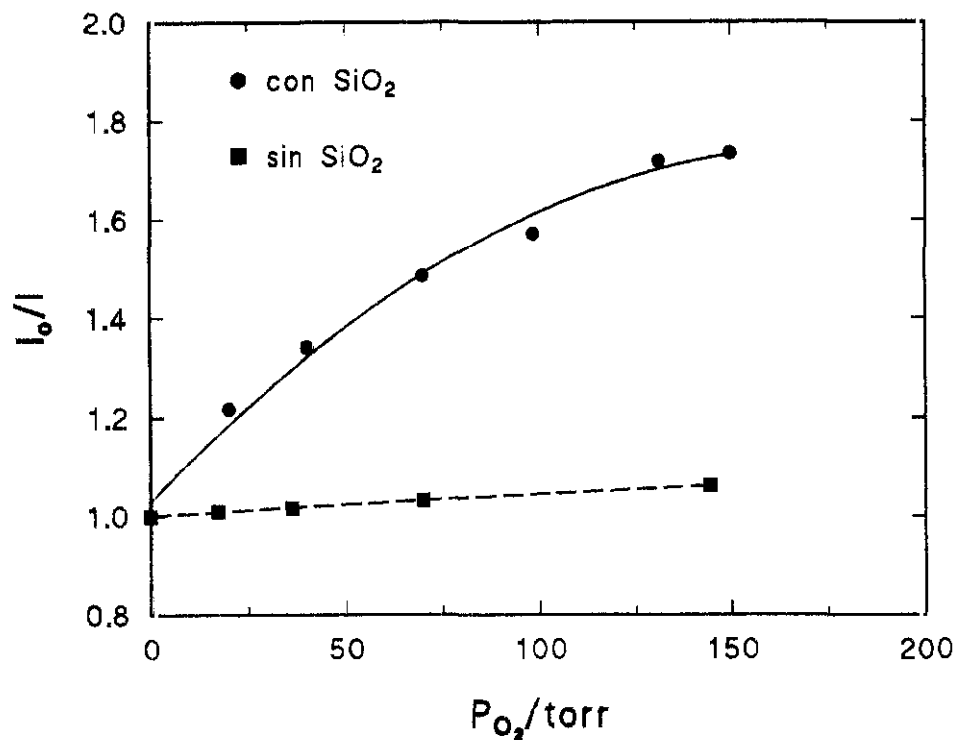


Figura 67. Calibrados frente al O_2 de dos membranas con el nuevo indicador $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$: disuelto directamente en silicona (●) y adsorbido sobre gel de sílice y dispersas las partículas resultantes sobre silicona (■).

La microscopía de fluorescencia (**figura 68**) permite corroborar la distribución homogénea del indicador en la membrana sensible construida mediante disolución directa del mismo en el soporte polimérico. La deposición previa del indicador en gel de sílice u otros soportes análogos (como vidrio de poro controlado) y posterior incorporación de las partículas de gel de sílice teñidas a la membrana de silicona, aumenta considerablemente la sensibilidad del dispositivo de fibra óptica, lo cual se ha comprobado experimentalmente (**figura 67**). En estas condiciones, la desactivación de la luminiscencia ocurre sobre la superficie de las partículas

de gel de sílice, en donde se adsorbe muy eficazmente el oxígeno que ha permeado la membrana.



Figura 68. Fotografía tomada de la imagen de microscopía de fluorescencia de una membrana de sílice con el compuesto $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$.

4.3. APLICACIÓN DEL INDICADOR FLUORESCENTE appzth A UN OPTODO PARA DETERMINAR ALCOHOLES EN MEDIOS APOLARES.

Para llevar cabo la construcción de un sensor de fibra óptica de elevada sensibilidad, cualquiera de los tres compuestos indicadores de alcoholes preparados en el curso de este trabajo sería un buen candidato, pues todos ellos fluorescen con elevados rendimientos cuánticos en medios apolares que decrecen drásticamente en etanol (**tabla XXVIII**). Además, los espectros de emisión en alcoholes se caracterizan por el desplazamiento hacia el rojo de la banda de fluorescencia, lo que también supone una gran ventaja, pues si la medida se basa en la intensidad de fluorescencia en el máximo del compuesto en medios apolares, ésta decrece en alcoholes mucho más de lo que indica la disminución de los rendimientos cuánticos.

Si comparamos la relación entre los valores de Φ_{em} en *n*-hexano y etanol, de los tres candidatos sintetizados es el appzth el que arroja un mayor valor. Por ello, hemos elegido este indicador para desarrollar un sensor de fibra óptica para determinar alcoholes en gasolinas, naftas y otros medios apolares,²⁸⁶ de acuerdo con el procedimiento descrito en la **sección 5.3 de la parte experimental**. La **figura 69** recoge una de las medidas llevadas a cabo con este sensor frente a diversas mezclas de gasolina comercial con distintas concentraciones de metanol. Como era de esperar, la intensidad de emisión decrece a medida que aumenta el contenido de alcohol en la muestra, por lo que el comportamiento del compuesto inmovilizado covalentemente (derivado *N*-sustituido por el resto bencílico del polímero de Merrifield) no difiere, en sus pautas generales, del que exhibe el appzth en disolución.

Asímismo, se ha comprobado que, tanto el contenido o ausencia de tetraetilo de plomo en la gasolina, como la presencia de éteres en las proporciones habituales (< 13%) no afectan a la medida con el sensor de fibra óptica.

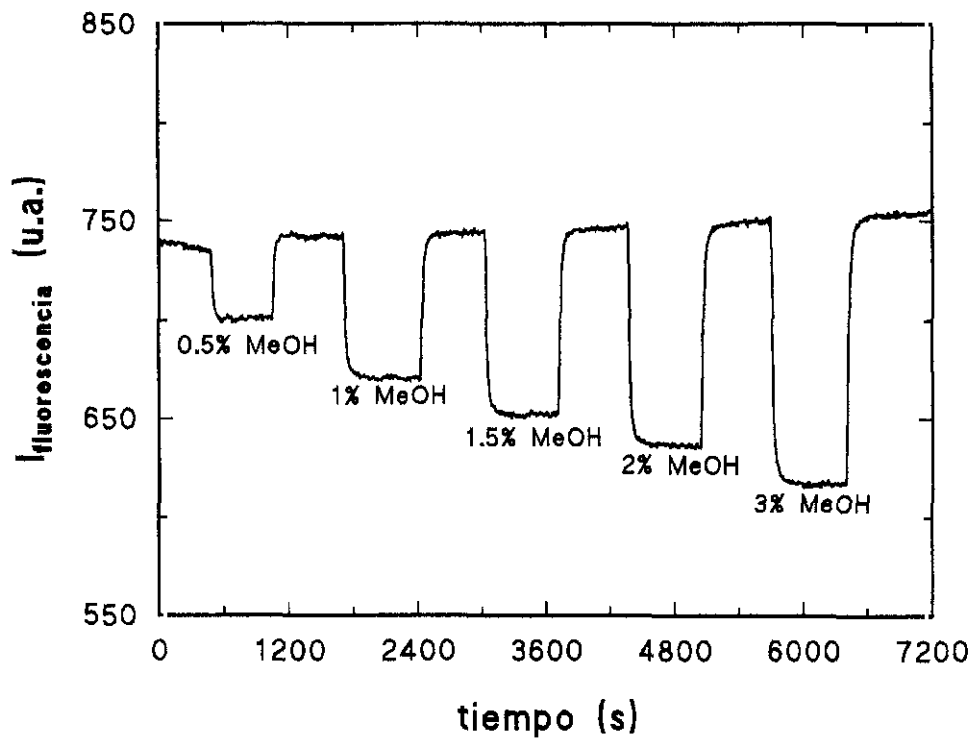


Figura 69. Respuesta del sensor de fibra óptica para determinar alcoholes en medios apolares frente a la concentración de metanol en gasolina comercial.

CONCLUSIONES

Las conclusiones más relevantes del trabajo recogido en la presente Memoria se resumen en los siguientes puntos:

- Se han diseñado, sintetizado y caracterizado estructural, espectroscópica, fotofísica y fotoquímicamente una serie de nuevos indicadores luminiscentes para la medida de pH/CO₂, O₂ y alcoholes/agua con sensores de fibra óptica. Dichos indicadores son de dos tipos: complejos de coordinación de rutenio(II) con ligandos poliazaheterocíclicos quelatantes y 1,3-azoles poliarilsustituídos.
- La elucidación estructural se ha basado, fundamentalmente, en el análisis de los espectros de RMN de los indicadores sintetizados. Para la asignación completa de las señales de ¹H-RMN de todos los diastereoisómeros de los complejos homo y heterolépticos de Ru(II) obtenidos, se han utilizado las contribuciones de los distintos efectos que produce la coordinación octaédrica sobre los ligandos heteroaromáticos y los datos aportados por los espectros bidimensionales de correlación ¹H-¹H.
- Los indicadores de pH/CO₂ preparados pertenecen a la familia de los complejos de Ru(II), contienen en su molécula al menos una estructura quelatante derivada del 2-(2-pirazinil)tiazol (pzth), absorben fuertemente en el UV y visible y emiten en la región 600-760 nm con rendimientos cuánticos entre 10⁻² y 10⁻³ y tiempos de vida de luminiscencia del orden de décimas de microsegundo. Estas características dependen del número y tipo de ligandos azaheterocíclicos presentes en el compuesto. Todos ellos son capaces de sufrir una desactivación de su estado electrónico excitado por transferencia protónica desde ácidos de Brønsted presentes en el medio.
- El comportamiento fotofísico de los complejos heterolépticos con ligandos 2,2'-bipiridina (bpy) y pzth ([Ru(bpy)_n(pzth)_{3-n}]²⁺, n = 0-3) se ha podido racionalizar mediante la evaluación de la energía de sus orbitales moleculares y estados electrónicos: los complejos mixtos con dichos ligandos emiten con menor rendimiento cuántico que los homolépticos, debido a una mayor contribución del mecanismo de desactivación no radiativa en los procesos cinéticos del estado excitado luminiscente ³MLCT.

- La incorporación de un grupo fenilo en la posición 5 del pzth ha conducido al ligando 5-fenil-2-(2-pirazinil)tiazol (ppzth). La mayor extensión de la conjugación π en este quelato se traduce en un elevado tiempo de vida de emisión de su complejo homoléptico ($[\text{Ru}(\text{ppzth})_3]^{2+}$), en relación a los indicadores que contienen pzth.
- El indicador $[\text{Ru}(\text{pzth})(\text{tap})_2]^{2+}$ (tap = 1,4,5,8-tetraazafenantreno) representa una mejora en las características luminiscentes del $[\text{Ru}(\text{pzth})_3]^{2+}$, utilizado anteriormente para la cuantificación de pH/ CO_2 , debido al mayor carácter π -aceptor de los ligandos tap, que eleva el contenido energético del $^3\text{MLCT}$ y disminuye la probabilidad de desactivación no radiativa.
- Las características estructurales, fotofísicas y fotoquímicas del complejo $[\text{Ru}(\text{acppzth})(\text{pzth})_2]^{2+}$ (acppzth = 5-(4-acetamidofenil)-2-(2-pirazinil)tiazol) abren la posibilidad de incorporar covalentemente un indicador de pH/ CO_2 de este tipo a un polímero de poliacrilamida mediante copolimerización de un acrilamidoderivado del mismo, lo que constituiría una novedosa vía de inmovilización del indicador en dispositivos de fibra óptica para estos analitos.
- Los estudios del tiempo de vida de emisión de los complejos de Ru(II) en función de la temperatura han permitido acceder a todos los parámetros cinéticos de los mecanismos de desactivación del estado excitado $^3\text{MLCT}$. La separación energética entre los estados electrónicos $^3\text{MLCT}$ y S_0 (estado fundamental) es el factor determinante de los valores de k_{nr} . La desactivación por promoción térmica a un estado ^3MC depende de la situación energética relativa de éste con respecto al estado emisor, excepto en el $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pzth})]^{2+}$, cuyo cuarto estado excitado no luminiscente de tipo $^3\text{MLCT}$ proporciona la principal vía de desactivación térmicamente inducida, debido a la inaccesibilidad de su estado ^3MC .
- Se han determinado las constantes de acidez en el estado fundamental y en el estado excitado (aparentes) de algunos de los complejos sintetizados. Los valores obtenidos reflejan la importante exaltación de la basicidad de los anillos de pirazina de los ligandos en el estado excitado del complejo, lo que constituye la base de la utilidad analítica de estos compuestos como sensores de pH y CO_2 .

- La aportación a la monitorización óptica de oxígeno la constituye el indicador $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$ (5-odaphen = 5-octadecanamido-1,10-fenantrolina). La incorporación de tres cadenas hidrocarbonadas de 18 átomos de carbono en su estructura le confiere una elevada hidrofobicidad, que se manifiesta en su solubilidad en disolventes orgánicos apolares, así como polisiloxanos.
- Las propiedades luminiscentes del $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$ se comparan de manera favorable con las del indicador $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$ (phen = 1,10-fenantrolina). El nuevo tris-quelatocomplejo posee mayor tiempo de vida de emisión y rendimiento cuántico en disolventes orgánicos. Las determinaciones fotocinéticas han revelado asimismo la existencia de autoasociación en estos medios.
- La caracterización electroquímica del $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$, que revela un comportamiento coherente con el observado para compuestos de características electrónicas similares, como el $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$ y el $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$, no permite descartar un mecanismo de transferencia electrónica fotoinducida en la desactivación de su estado excitado por O_2 . No obstante, el mecanismo de desactivación por transferencia de energía es el más aceptado en la bibliografía y compatible con nuestros resultados experimentales.
- El tris-quelatocomplejo $[\text{Ru}(5\text{-odaphen})_3]^{2+}$ muestra una mayor sensibilidad frente al O_2 que el $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$.
- Los nuevos indicadores de alcoholes/agua 5-(4-aminofenil)-2-(2-pirazinil)tiazol (appzth), 5-(4-aminofenil)-2-(2-pirazinil)oxazol (appzox) y 5-(4-aminofenil)-2-(4-piridil)oxazol (appyx) absorben en el azul y emiten intensa fluorescencia, dependiendo del disolvente la longitud de onda de emisión: en medios apolares (*n*-hexano, tolueno) el máximo se localiza en torno a los 400-450 nm, en tanto que en alcoholes se extiende más allá de los 500 nm. Los rendimientos cuánticos de fluorescencia superan el valor de 0.6 en medios orgánicos no hidroxílicos, disminuyendo drásticamente en alcoholes, lo que constituye el principio de la medida óptica de éstos.
- Los cortos tiempos de vida de emisión (< 3 ns) y el desplazamiento batocrómico experimentado por las bandas de los espectros de absorción y emisión al aumentar la polaridad del disolvente indican que el proceso

luminiscente observado en los tres compuestos involucra la desactivación de un estado excitado de tipo $\pi\pi^*$ por emisión de fluorescencia.

- El comportamiento fotoquímico de estos compuestos puede explicarse postulando la formación de un estado excitado rotado de transferencia de carga intramolecular (TICT) en alcoholes. En disolventes apolares, el estado excitado emisor es localmente excitado (LE).
- Los espectros de absorción electrónica, la emisión dual observada en las disoluciones etanólicas de los compuestos appzth y appzox y la existencia de dos tiempos de vida de emisión se ha explicado mediante la formación de aductos soluto/disolvente de diferentes estequiometrías en el estado fundamental.
- De los tres indicadores sintetizados para la monitorización por fibra óptica de alcoholes/agua, el appzth es el que posee, en principio, unas mejores características de cara a su empleo analítico.
- Se han desarrollado con éxito aplicaciones analíticas de los tres tipos de indicadores diseñados "a medida", incorporando representantes de los mismos a sensores químicos de fibra óptica, lo que demuestra la utilidad del trabajo de preparación y caracterización llevado a cabo.

BIBLIOGRAFÍA

1. a) O.S. Wolfbeis (ed.), *"Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors"*, vols. 1 y 2. CRC Press, Boca Ratón (Florida), 1991. b) C. Cámara, M.C. Moreno y G. Orellana, *"Chemical Sensing with Fiberoptic Devices"*, en *"Biosensors with Fiberoptics"*. The Humana Press, Clifton (New Jersey), 1991.
2. O.S. Wolfbeis, *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1986**, 325, 387.
3. C. Cámara, M.C. Moreno y G. Orellana, *Automática e instrumentación* **1988**, 139.
4. O.S. Wolfbeis, *"Fiber Optical Fluorosensors in Analytical and Clinical Chemistry"*, en *"Molecular Luminescence Spectroscopy: Methods and Applications"*. John Wiley, Nueva York, 1988.
5. M.A. Arnold, *Anal Chem.* **1992**, 64, 1015A.
6. D.L. Wise y L.B. Wingard, Jr. (eds.), *"Biosensors with Fiberoptics"*. The Humana Press, Clifton (New Jersey), 1991.
7. T. Vo-Dinh, G.D. Griffin y M.J. Stepaniak, *"Fiberoptic Immunosensors"*, en *"Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors"*, vol. 2, cap. 17. CRC Press, Boca Ratón (Florida), 1991.
8. M.J.P. Leiner, *Anal. Chim. Acta* **1991**, 255, 209.
9. E. Bishop (ed.), *"Indicators"*. Pergamon Press, Oxford, 1972.
10. a) S.R. Goldstein y J.R. Peterson, *Adv. Bioeng.* **1977**, 81, 1977. b) J.I. Peterson, S.R. Goldstein, R.V. Fitzgerald y D.K. Buckhold, *Anal. Chem.* **1980**, 52, 864. c) J.I. Peterson, S.R. Goldstein, R.V. Fitzgerald y D.K. Buckhold, *Anal. Chem.* **1984**, 56, 62.
11. M. Monici, R. Boniforti, G. Buzzigoli, D. DeRossi y A. Nannini, *Proc. SPIE* **1987**, 798, 294.
12. G. Boisdé, F. Blanc y J.J. Pérez, *Talanta* **1988**, 35, 75.
13. a) G.F. Kirkbright, R. Narayanaswamy y N.A. Welti, *Analyst* **1984**, 109, 15. b) G.F. Kirkbright, R. Narayanaswamy y N.A. Welti, *Analyst* **1984**, 109, 1025.
14. A.J. Guthrie, R. Narayanaswamy y N.A. Welti, *Talanta* **1988**, 35, 157.
15. J.S. Suidan, B.K. Young, F.W. Hetzel y H.R. Seal, *Clin. Chem.* **1983**, 29, 1566.

16. T.P. Jones y M.D. Porter, *Anal. Chem.* **1988**, 60, 404.
17. M.C. Moreno, A. Martínez, P. Millán y C. Cámara, *J. Mol. Struct.* **1986**, 143, 553.
18. M.J. Goldfinch y C.R. Lowe, *Anal. Biochem.* **1984**, 138, 430.
19. a) B.A. Woods, J. Ruzicka y G.D. Christian, *Anal. Chem.* **1986**, 58, 2496.
b) B.A. Woods, J. Ruzicka, G.D. Christian, N.J. Rose y R.J. Charbon, *Analyst* **1988**, 113, 301.
20. O.S. Wolfbeis, E. Furlinger, H. Kroneis y H. Marsoner, *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1983**, 314, 119.
21. Z. Zhujun y W.R. Seitz, *Anal. Chim. Acta* **1984**, 160, 47.
22. H. Offenbacher, O.S. Wolfbeis y E. Furlinger, *Sens. Actuators* **1986**, 9, 73.
23. J.L. Gehrich, D.W. Lübbers, N. Opitz, D.R. Hansmann, W.W. Miller, J.K. Tusa y M. Yafuso, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **1986**, 33, 117.
24. S. Luo y D.R. Walt, *Anal. Chem.* **1989**, 61, 174.
25. B.D. MacCraith, V. Ruddy, C. Potter, B. O'Kelly y J.F. McGilp, *Electron. Lett.* **1991**, 27, 1247.
26. H.E. Posch, M.J.P. Leiner y O.S. Wolfbeis, *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1989**, 334, 162.
27. M.R.S. Fuh, L.W. Burgess, T. Hirschfeld y G.D. Christian, *Analyst* **1987**, 112, 1159.
28. L.A. Saari y W.R. Seitz, *Anal. Chem.* **1982**, 54, 821.
29. C. Munkholm, D.R. Walt, F.P. Milanovich y S.M. Kleiner, *Anal. Chem.* **1986**, 58, 1427.
30. Y. Kawabata, K. Tsuchida, T. Imasaka y N. Ishibashi, *Anal. Sci.* **1987**, 3, 7.
31. D.M. Jordan, D.R. Walt y F.P. Milanovich, *Anal. Chem.* **1987**, 59, 437.
32. R.B. Thomson y J.R. Lakowicz, *Anal. Chem.* **1993**, 65, 853.
33. H.H. Willard, L.L. Merritt, Jr., J.A. Dean y F.A. Settler, Jr., "Instrumental Methods of Analysis", 7^a ed. Wadsworth, Belmont (California), **1988**, pp. 686-687.
34. T.J. Manuccia y J.G. Elden, *Patente USA* 4, 509, 522, **1985**.

35. M. Succi, *Patente europea* 294 340, **1988**.
36. G.G. Vurek, J.I. Peterson, S.W. Goldstein y J.W. Severinghaus, *Fed. Proc. Fed. Am. Chem. Soc. Exp. Biol.* **1982**, *41*, 1484.
37. T. Hirschfeld, F. Miller, S. Thomas, H. Miller, F. Milanovich y R. Gaver, *J. Lightwave Technol.* **1987**, *5*, 1027.
38. Z. Zhujun y W.R. Seitz, *Anal. Chim. Acta* **1984**, *160*, 305.
39. a) D.W. Lübbers y N. Opitz, *Z. Naturforsch.* **1975**, *30C*, 532. b) D.W. Lübbers, F. Hannebauer y N. Opitz, *Birth Defects Orig. Artic. Ser.* **1979**, *15*, 123.
40. H.A. Heitzmann, *Patente USA* 4, 557, 900, **1985**.
41. C. Munkholm, D.R. Walt, y F.P. Milanovich, *Talanta* **1988**, *35*, 109.
42. O.S. Wolfbeis, L.J. Weiss, M.J.P. Leiner y W.E. Ziegler, *Anal. Chem.* **1988**, *60*, 2028.
43. R.S. Mathews y F.E. Whiterell, Jr., *Patente europea* 304 248, **1988**.
44. J.W. Parker, O. Laskin, C. Yu, M. Lau, S. Klima, R. Fischer, I. Scott y B.W. Atwater, *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 2329.
45. Y. Kawabata, T. Kamichika, T. Imasaka y N. Ishibashi, *Anal. Chim. Acta* **1989**, *219*, 223.
46. a) G. Orellana, M.C. Moreno-Bondi, E. Segovia y M.D. Marazuela, *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 2210. b) M.C. Moreno-Bondi, G. Orellana, C. Cámara y O.S. Wolfbeis, *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.* **1991**, *1368*, 157. c) G. Orellana y M.C. Moreno-Bondi, *Patente española* 2 023 593, **1991**.
47. N.S. Kapany y N. Silbertrust, *Nature* **1964**, *204*, 138.
48. Z. Zhujun y W.R. Seitz, *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 220.
49. Oximetrix® 3. Abbott Critical Care Systems (EEUU).
50. N.J. Turro, "Modern Molecular Photochemistry". Benjamin Cummings, Menlo Park (California), **1978**.
51. J.I. Peterson, R.V. Fitzgerald y D.K. Buckhold, *Anal. Chem.* **1984**, *56*, 62.
52. a) E.R. Carraway, J.N. Demas, B.A. DeGraff y J.R. Bacon, *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 337. b) P.Y.F. Li y R. Narayanaswamy, *Analyst* **1989**, *114*, 1191.
53. D.W. Lübbers, *Adv. Biosens.* **1992**, *2*, 215.

54. O.S. Wolfbeis, H. Offenbacher, H. Kroneis y H. Marsoner, *Mikrochim. Acta* **1984**, *1*, 153.
55. N. Opitz y D.W. Lübbers, *Adv. Exp. Med. Biol.* **1984**, *169*, 899.
56. Ref. 50, pp. 589-591.
57. R. Shah, S.C. Margerun y M. Gold, *Proc. SPIE* **1988**, *906*, 65.
58. I. Bergman, *Nature* **1986**, *218*, 396.
59. T. Okazaki, T. Imasaka y N. Ishibashi, *Anal. Chim. Acta* **1988**, *209*, 327.
60. O.S. Wolfbeis, H.E. Posch y H.W. Kroneis, *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 2556.
61. X. Li y K. Wong, *Anal. Chim. Acta* **1992**, *262*, 27.
62. a) J.N. Demas, D. Diemente y E.W. Harris, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 6864. b) J.N. Demas, E.W. Harris y R.P. McBride, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 3547. c) S.L. Buell y J.N. Demas, *J. Phys. Chem.* **1983**, *87*, 4675. d) S.K. Chattopadhyay, C.V. Kumar y P.K. Das, *J. Photochem.* **1984**, *24*, 1.
63. O.S. Wolfbeis, M.J.P. Leiner y H.E. Posch, *Mikrochim. Acta* **1986**, *III*, 359.
64. M.E. Lippitsch, J. Pusterhofer, M.J.P. Leiner y O.S. Wolfbeis, *Anal. Chim. Acta* **1988**, *205*, 1.
65. K. Goswami, S.M. Kleiner y J.M. Tokar, *Proc. SPIE* **1989**, *990*, 111.
66. J.R. Bacon y J.N. Demas, *Anal. Chem.* **1987**, *59*, 2780.
67. M.C. Moreno-Bondi, O.S. Wolfbeis, M.J.P. Leiner y B.P.H. Schaffar, *Anal. Chem.* **1990**, *62*, 2377.
68. B.D. MacCraith, C.M. McDonagh, G. O'Keefe, E.T. Keyes, J.G. Vos, B. O'Kelly y J.F. McGilp, *Analyst* **1993**, *118*, 385.
69. K.P. Völk, U. Grossmann, N. Opitz y D.W. Lübbers, *Adv. Physil. Sci.* **1981**, *25*, 99.
70. D.W. Lübbers y N. Opitz, *Sens. Actuators* **1983**, *3*, 641.
71. D.W. Lübbers, K.P. Völk, U. Grossmann y N. Opitz, "Progress in Enzyme and Ion Selective Electrodes". Springer Verlag, Berlín, **1981**.
72. O.S. Wolfbeis y H.E. Posch, *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1988**, *332*, 255.
73. K.P. Völk, N. Opitz y D.W. Lübbers, *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1980**, *301*, 162.

74. a) A. Sharma y O.S. Wolfbeis, *Appl. Spectrosc.* **1988**, 42, 1009. b) A. Sharma y O. S. Wolfbeis, *Anal. Chim. Acta*, **1988**, 212, 261.
75. B.L. Hauenstein, R. Picerno, H.G. Brittain y J.R. Nestor, *Patente europea* 259 951, **1988**.
76. J.R. Nestor, J.D. Schiff y B.H. Priest, *Patente europea* 283 289, **1988**.
77. B.S. Walters, T.J. Nielsen y M.A. Arnold, *Talanta* **1988**, 35, 151.
78. X. Xie, A.A. Suleiman, G.G. Guilbault, Z. Yang y Z. Sun, *Anal. Chim. Acta* **1992**, 266, 325.
79. F.L. Dickert, E.H. Lehmann, S.K. Schreiner, H. Kimmel y G.R. Mages, *Anal. Chem.* **1988**, 60, 1377.
80. F.L. Dickert, S.K. Schreiner, G.R. Mages y H. Kimmel, *Anal. Chem.* **1989**, 61, 2306.
81. H.E. Posch, O.S. Wolfbeis y J. Pusterhofer, *Talanta* **1988**, 35, 89.
82. K. Seiler, K. Wang, M. Kuratli y W. Simon, *Anal. Chim. Acta* **1991**, 244, 151.
83. Y. Kurauchi, T. Yanai y K. Ohga, *Chem. Lett.* **1991**, 1411.
84. A.G. Cavinato, D.M. Mayes, Z. Ge y J.B. Callis, *Anal. Chem.* **1990**, 62, 1977.
85. R.B. Thomson, P. Yager, L. Burgess y S. Merilo, *Patente internacional* WO 91/00510, **1991**.
86. *Patentes japonesas* J 02236144, J 02236145 y J 02236146, **1989**.
87. *J. Chem. Educ.*, octubre de **1983**, 60 (nº 10). Revista completa.
88. K. Kalyanasundaram, *Coord. Chem. Rev.* **1982**, 46, 159.
89. A. Juris, V. Balzani, F. Barigelleti, S. Campagna, P. Belser y A. von Zelewsky, *Coord. Chem. Rev.* **1988**, 84, 85.
90. E.A. Seddon y K.R. Seddon, en "*The Chemistry of Ruthenium*". Elsevier, Amsterdam, **1984**.
91. K. Kalyanasundaram, "*Photochemistry of Polypyridine and Porphyrin Complexes*". Academic Press, Londres, **1992**.
92. J.P. Paris y W.W. Brandt, *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, 81, 5001.

93. M.Z. Hoffman, F. Boletta, L. Moggi y G.L. Hug, *J. Phys. Chem. Ref. Data* **1989**, *18*, 219.
94. a) A. Harriman y M.A. West (eds.), "*Photogeneration of Hydrogen*". Academic Press, Londres, **1982**. b) A.M. Braun (ed.), "*Photochemical Conversions*". Presses Polytechniques Romandes, Lausana (Suiza), **1983**.
95. K. Mandal, J.D.L. Pearson y J.N. Demas, *Inorg. Chem.* **1981**, *20*, 786.
96. a) N.J. Turro, J.K. Barton y D.A. Tomalia, *Acc. Chem. Res.* **1991**, *24*, 232. b) K. Kalyanasundaram, "*Photochemistry in Microheterogeneous Media*". Academic Press, Nueva York, **1991**.
97. a) M.F. Ottaviani, N.D. Gathia y N.J. Turro, *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 6075. b) S.W. Snyder, S.L. Buell, J.N. Demas y B.A. DeGraff, *J. Phys. Chem.* **1989**, *93*, 5265. c) N.J. Turro y A. Yekta, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 5951.
98. a) M.C. Moreno-Bondi, G. Orellana, N.J. Turro y D.A. Tomalia, *Macromolecules* **1990**, *23*, 910. b) K.R. Gopidas, A.R. Leheny, G. Caminati, N.J. Turro y D.A. Tomalia, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5951.
99. a) G.L. Duveneck, C.V. Kumar, N.J. Turro y J.K. Barton, *J. Phys. Chem.* **1988**, *92*, 2028. b) S. Kelder y J. Rabani, *J. Phys. Chem.* **1981**, *85*, 1637.
100. a) J.K. Barton, *Science* **1986**, *233*, 727. b) A.M. Pyle y J.K. Barton, "*Probing Nucleic Acids with Transition Metal Complexes*", en "*Progress in Inorganic Chemistry: Bioinorganic Chemistry*", vol. 38. John Wiley, Nueva York, **1990**. c) J.K. Barton, *Chem. Eng. News* **1988**, *66* (26 de septiembre), 30. d) G. Orellana, A. Kirsch-De Mesmaeker, J.K. Barton y N.J. Turro, *Photochem. Photobiol.* **1991**, *54*, 499. e) A. Kirsch-De Mesmaeker, G. Orellana, J.K. Barton y N.J. Turro, *Photochem. Photobiol.* **1990**, *52*, 461.
101. a) O. Ishitani, S. Yanagida, S. Takamuku y C. Pac, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2790. b) O. Ishitani, M. Ihama, Y. Miyauchi y C. Pac, *J. Chem. Soc. Perkin. Trans.* **1985**, 1527.
102. M. Kimura, M. Yamamoto y A. Nagai, *Inorg. Chim. Acta* **1986**, *117*, 169.
103. H. Cano-Yelo y A. Deronzier, *J. Photochem.* **1987**, *37*, 315.
104. S.L. Buell y J.N. Demas, *J. Phys. Chem.* **1983**, *87*, 4675.
105. T. Ohno, *Prog. Reaction Kinetics* **1986**, *14*, 219.

106. E.R. Menzel, *Anal. Chem.* **1989**, 61, 557A.
107. a) L. Kuhnert, *Nature* **1986**, 319, 393. b) L. Kuhnert, K.I. Adgladze y V.I. Krinsky, *Nature* **1989**, 337, 244.
108. G.J. Ferraudi, "Elements of Inorganic Photochemistry". John Wiley, Nueva York, **1989**, pp. 122-141.
109. D.P. Rillema, D.S. Jones y H.A. Levy, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1979**, 849.
110. H.C. Stynes y J.A. Ibers, *Inorg. Chem.* **1971**, 10, 2304.
111. A.J. Bard y L.R. Faulkner, "Electrochemical Methods". John Wiley, Nueva York, **1980**.
112. G. Orellana, M.L. Quiroga y C. de Dios, *Trends in Inorg. Chem.* **1993**, 3, 109.
113. a) D.P. Rillema, G. Allen, T.J. Meyer y C. Conrad, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 22, 1617. b) H.B. Ross, M. Boldaji, D.P. Rillema, C.B. Blanton y R.P. White, *Inorg. Chem.* **1989**, 28, 1013.
114. G. Orellana, M.L. Quiroga y A.M. Braun, *Helv. Chim. Acta* **1987**, 70, 2073.
115. K.J. Brewer, W.R. Murphy, S.R. Spurlin y J.D. Petersen, *Inorg. Chem.* **1986**, 25, 882.
116. P. Bernhard, H. Lehmann y A. Ludi, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1981**, 1216.
117. M.K. DeArmond y C.M. Carlin, *Coord. Chem. Rev.* **1981**, 36, 325.
118. A.A. Vlcek, *Coord. Chem. Rev.* **1982**, 43, 39.
119. M. Haga, T. Matsamura-Inoue, K. Shimizu y G.P. Sato, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1989**, 371.
120. J. Chatt, C.T. Kan, G.J. Leigh, C.J. Pickett y D.R. Stanley, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1980**, 2032.
121. D. Datta, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1986**, 1907.
122. G.J. Kavarnos y N.J. Turro, *Chem. Rev.* **1986**, 66, 401.
123. T. Saji y S. Aoyagui, *Electroanal. Chem. Interfac. Electrochem.* **1975**, 58, 401.

124. A.B.P. Lever, "Inorganic Electronic Spectroscopy" (2^a ed.). Elsevier, Amsterdam, 1984, pp. 161-165.
125. E. Krausz y J. Ferguson, *Prog. Inorg. Chem.* **1989**, 37, 293.
126. J.N. Demas y D.G. Taylor, *Inorg. Chem.* **1979**, 18, 3177.
127. G. Orellana y A.M. Braun, *J. Photochem. Photobiol.* **1989**, 48, 277.
128. P.C. Alford, M.J. Cook, A.P. Lewis, G.S.G. McAuliffe, V. Skarda, A.J. Thomson, J.L. Glasper y D.J. Robbins, *J. Chem. Soc. Perkin Trans II* **1985**, 705.
129. J. van Houten y R.J. Watts, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 4853.
130. L. Jacquet y A. Kirsch-De Mesmaeker, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1992**, 88, 2471.
131. W.J. Dressick, J. Clive, J.N. Demas y B.A. DeGraff, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 7567.
132. J.N. Demas y B.A. DeGraff, *Anal. Chem.* **1991**, 63, 829A.
133. A. Gilbert y J. Baggott, "Essentials of Molecular Photochemistry". Blackwell Scientific Publications, Oxford, **1991**, pp. 168-178.
134. a) G. Navon y N. Sutin, *Inorg. Chem.* **1974**, 13, 2159. b) G.S. Laurence y V. Balzani, *Inorg. Chem.* **1974**, 13, 2976. c) C. Lin y N. Sutin, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 3543.
135. N. Sutin y C. Creutz, *Pure Appl. Chem.* **1980**, 52, 2717.
136. O. Stern y M. Volmer, *Phys. Z.* **1919**, 20, 183.
137. S.H. Peterson y J.N. Demas, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 7880.
138. S.H. Peterson y J.N. Demas, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, 101, 6571.
139. S.F. Bergeron y R.J. Watts, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, 101, 3151.
140. P.J. Giordano, C.R. Bock y M.S. Wrighton, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 6960.
141. C. Knapp, D. García-Fresnadillo y G. Orellana, resultados pendientes de publicación.
142. R.J. Crutchley, N. Kress y A.B.P. Lever, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 1170.

143. M. Haga, E.S. Dodsworth, G. Eryarec, P. Seymour y A.B.P. Lever, *Inorg. Chem.* **1985**, 24, 1901.
144. a) P.J. Giordano, C.R. Bock, M.S. Wrighton, L.V. Interrante y R.F.X. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 3187. b) P.A. Lay y W.H.F. Sasse, *Inorg. Chem.* **1984**, 23, 4123.
145. T. Shimidzu, T. Iyoda y K. Izaki, *J. Phys. Chem.* **1985**, 89, 642.
146. W. Hosek, S.A. Tysoe, H.D. Gafney, A.D. Baker y T.C. Streckas, *Inorg. Chem.* **1989**, 28, 1228.
147. A. Kirsch-De Mesmaeker, L. Jacquet y J. Nasielski, *Inorg. Chem.* **1988**, 27, 4451.
148. R. Wang, J.G. Vos, R.H. Schmell y R.Hage, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 1964.
149. M.K. Nazeeruddin y K. Kalyanasundaram, *Inorg. Chem.* **1989**, 28, 4251.
150. E. Lippert, *Z. Naturforsch.* **1955**, 10a, 541.
151. K. Rotkiewicz, K.H. Grellmann y Z.R. Grabowski, *Chem. Phys. Lett.* **1973**, 19, 315.
152. a) Z.R. Grabowski, K. Rotkiewicz y A. Semiarczuk, *J. Lumin.* **1979**, 18/19, 420. b) K. Rotkiewicz y W. Rubaszweska, *J. Lumin.* **1982**, 27, 221.
153. J. Lipinski, H. Chojnacki, Z.R. Grabowski y K. Rotkiewicz, *Chem. Phys. Lett.* **1980**, 70, 449.
154. W. Rettig, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **1986**, 25, 971.
155. T. Okada, N. Mataga, W. Baumann y A. Semiarczuk, *J. Phys. Chem.* **1987**, 91, 4490.
156. V. Bonacic-Kontecky y J. Michl, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 1765.
157. H. Bischof, W. Baumann, N. Detzer y K. Rotkiewicz, *Chem. Phys. Lett.* **1985**, 116, 180.
158. K. Rotkiewicz y W. Rubaszweska, *Chem. Phys. Lett.* **1980**, 70, 444.
159. J.M. Hicks, M.T. Vandersall, Z. Babagoric y K.B. Eisenthal, *Chem. Phys. Lett.* **1985**, 116, 18.
160. H.C. Chiang y A. Lukton, *J. Phys. Chem.* **1975**, 79, 1935.

161. W. Rettig, "Kinetic Studies on Fluorescence Probes Using Synchrotron Radiation", en "Fluorescence Spectroscopy. New Methods and Applications". Springer Verlag, Berlín, **1993**.
162. K. Bhattacharyya y M. Chowdhury, *Chem. Rev.* **1993**, 93, 507.
163. E.M. Kosower y H. Dodiuk, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 924.
164. G. Wermuth y W. Rettig, *J. Phys. Chem.* **1984**, 88, 2729.
165. M. Zander y W. Rettig, *Chem. Phys. Lett.* **1984**, 110, 602.
166. Y. Wang y K.B. Eisenthal, *J. Chem. Phys.* **1982**, 77, 6076.
167. D.J. Cowley, *Nature* **1986**, 319, 14.
168. S. Tazuke, R.K. Guo, T. Ikeda y T. Ikeda, *Macromolecules* **1990**, 23, 1208.
169. A. Anwald, F.W. Müller, B. Strehmel y K. Schiller, *Makromol. Chem.* **1991**, 192, 1981.
170. A. Levy, D. Avnir y M. Ottolenghi, *Chem. Phys. Lett.* **1985**, 121, 233.
171. B.M. Krasovitskii y B.M. Bolotin, "Organic Luminescent Materials". VCH, Weinheim (R.F.A.), **1988**.
172. J.N. Murrell, "The Theory of the Electronic Spectra of Organic Molecules". Chapman and Hall, Londres, **1971**.
173. A. Heller, *J. Chem. Phys.* **1964**, 40, 2839.
174. D.G. Pereyaslova, V.T. Skripkina y L.M. Yagupolsky, *Zh. prikladn. spektroskopii* **1972**, 17, 101.
175. L.P. Snagoshchenko, L.I. Bodganova y V.I. Grigoryeva, en "Stsintillyatory i organicheskie lyuminofoři". VNII Monokristallov Kharkhov, n° 2, 9, **1973**.
176. *Patente URSS*, n° 606859, **1978**.
177. L.L. Nagornaya, T.R. Mnatsakanova y A.P. Grekov, en "Promyshlennost khimicheskikh reaktivov i osobo chistykh veshchestv". NIITEKhim, n° 8 (14), 89, Moscú, **1967**.
178. Ref. 171, p. 72.
179. A.N. Fletcher, R.A. Henry, H.E. Pietrak, D.E. Bliss y J.H. Hall, *Appl. Phys.* **1987**, 1343, 155.

180. J.M. Hall, J.Y. Chien, J.M. Kauffman, P.T. Litak, J.K. Adams, R.A. Henry y R.A. Hollins, *J. Heterocycl. Chem.* **1992**, 29, 1245.
181. K.H. Drexhage, en "*Dye Lasers*". Springer Verlag, Berlín, **1977**.
182. N.A. Popova, E.G. Yushko y B.M. Krasovitskii, *Khimiya geterotsikl. soedin.* **1983**, 1, 26.
183. B.M. Krasovitskii, V.M. Shershukov y L.M. Yagupolsky, *Khimiya geterotsikl. soedin.* **1982**, 8, 1042.
184. D.J.S. Birch, A.D. Dutch, R.E. Imhof, B. Nadolski e I. Soutar, *J. Photochem.* **1987**, 38, 239.
185. D.G. Ott, F.N. Hayes y V.N. Kerr, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 1941.
186. R.C. Sangster y J.W. Irvine, *J. Chem. Phys.* **1956**, 24, 670.
187. B.M. Krasovitskii, I.V. Lysova y L.F. Afanasiadi, *Zh. vses. khim. obshchestva im D.I. Mendeleeva* **1983**, 28, 706.
188. *Patente URSS*, nº 172040, **1965**.
189. J.B. Birks, "*The Theory and Practice of Scintillation Counting*". Pergamon Press, Oxford, **1967**.
190. C.F. Sharm, *J. Chem. Phys.* **1961**, 34, 240.
191. F.P. Schäfer (ed.), "*Dye Lasers*". Springer Verlag, Berlín, **1977**.
192. a) L.A. Lee y R.A. Robb, *IEEE J. Quant. Electronics* **1988**, QE-16, 777. b) A.N. Fletcher, R.A. Henry, R.F. Kubin y R.A. Hollins, *Opt. Commun.* **1984**, 48, 352.
193. J.M. Kauffmann, C.J. Kelley, A. Ghiorgis, E. Neister y L. Armstrong, *Laser Chem.* **1987**, 7, 343.
194. R.P. Wayne, "*Principles and Applications of Photochemistry*". Oxford University Press, Oxford, **1988**; pp. 248-250.
195. L.A. Summers, *Adv. Heterocycl. Chem.* **1984**, 35, 281.
196. M.J. Cook, A.P. Lewis, G.S.G. McAuliffe, V. Skarda, A.J. Thomson, J.L. Glasper y D.J. Robbins, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II* **1984**, 1293.
197. M. Seyhan y W.C. Fernelius, *Chem. Ber.* **1958**, 91, 469.
198. F.H. Case, *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, 68, 2574.

199. S. Anderson, E.C. Constable, K.R. Seddon, J.E. Turp, J.E. Baggott y M.J. Pilling, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1985**, 2247.
200. G. Evens y P. Caluwe, *J. Org. Chem.* **1975**, 40, 1438.
201. a) J. Rebek y R.V. Wattley, *J. Heterocycl. Chem.* **1980**, 17, 749. b) H. Loth y K. Eichner, *Arch. Pharm.* **1969**, 302, 264. c) F.H. Case, *J. Org. Chem.* **1962**, 27, 640.
202. a) J. Baselga, I. Hernández-Fuentes, I.F. Piérola y M.A. Llorente, *Macromolecules* **1987**, 20, 3060. b) J. Baselga, M.A. Llorente, I. Hernández-Fuentes e I.F. Piérola, *Eur. Polym. J.* **1989**, 25, 477.
203. a) A. Kirsch-De Mesmaeker, R. Nasielski-Hinkens, D. Maetens, D. Pauwels y J. Nasielski, *Inorg. Chem.* **1984**, 23, 377. b) A. Masschelein y A. Kirsch-De Mesmaeker, *Nouv. J. Chim.* **1987**, 11, 329.
204. a) A. Masschelein, A. Kirsch-De Mesmaeker, C. Verhoeven, R. Nasielski-Hinkens, *Inorg. Chim. Acta* **1987**, 129, L13. b) A. Masschelein, L. Jacquet, A. Kirsch-De Mesmaeker y J. Nasielski, *Inorg. Chem.* **1990**, 29, 855. c) F. de Buyl, A. Kirsch-De Mesmaeker, A. Tossi y J.M. Kelly, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **1991**, 60, 27.
205. J.M. Kelly, M.M. Feeney, A.B. Tossi, J.P. Lecomte y A. Kirsch-De Mesmaeker, *Anti-Cancer Drug Design* **1990**, 5, 69.
206. a) A.R. Katritzky y C.W. Rees (eds.), "Comprehensive Heterocyclic Chemistry", vol. 6. Pergamon Press, Oxford, **1984**, p. 295. b) J.V. Metzger (ed.), "The Chemistry of Heterocyclic Compounds", vol. 34: "Thiazole and its Derivatives, Part One". John Wiley and Sons, Nueva York, **1979**, p. 169.
207. a) ref. 206a, p. 302. b) ref. 206b, p. 278.
208. H. Yasuday y V. Stannet, "Permeability of Polymers", en "Polymer Handbook". John Wiley, Nueva York, **1975**, p. 232.
209. C. de Dios, D. García-Fresnadillo, F.J. Mingoarranz, M.C. Moreno-Bondi y G. Orellana, resultados pendientes de publicación.
210. I. Klimant y M.J.P. Leiner, *Proc. 1st European Conference on Optical Sensors and Biosensors (Europt(r)ode 1)*, Graz (Austria), **1992**, p. 131.
211. a) Ref. 206a, p. 228. b) I.J. Turchi (ed.), "The Chemistry of Heterocyclic Compounds", vol. 34: "Oxazoles". John Wiley and Sons, Nueva York, **1986**.

212. G. Guilbault, "Practical Fluorescence: Theory, Methods and Techniques". Marcel Dekker, Nueva York, 1973, pp. 11-14.
213. J.V. Caspar y T.J. Meyer, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 5583.
214. a) W.H. Melhuish, *J. Phys. Chem.* **1961**, 65, 229. b) J. Olmsted III, *J. Phys. Chem.* **1979**, 83, 2581. c) J.N. Demas y G.A. Crosby, *J. Phys. Chem.* **1971**, 75, 991.
215. a) H. Focks y J. Sawtiewicz, *Acta Pol. Pharm.* **1968**, 25, 137. b) G. Orellana, C. Álvarez-Ibarra y M.L. Quiroga, *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1988**, 97, 731.
216. P. Karrer y J. Schukri, *Helv. Chim. Acta* **1945**, 28, 820.
217. S. Kushner, H. Dalalian, J.L. Sanjurjo, F.L. Bach, S.R. Kafir, V.K. Smith y J.W. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, 74, 3617.
218. H. Erlenmeyer, C. Becker, E. Sorkin, H. Bloch y E. Suter, *Helv. Chim. Acta* **1947**, 30, 2058.
219. J.D. Billimoria y N.F. MacLagan, *J. Chem. Soc.* **1954**, 3257.
220. G. Vernin y J. Metzger, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1963**, 11, 1498.
221. P.Z. Bedoukian, *J. Am. Chem. Soc.* **1944**, 66, 1325.
222. E.E. Glover y T.R. Thomas, *J. Chem. Soc.(C)* **1967**, 463.
223. R. Dahiya y H.K. Pujari, *Indian J. Chem.* **1986**, 25B, 966.
224. D.H.R. Barton, F. Comer, D.G.T. Creig, P.G. Sammes, C.M. Cooper, G. Hewitt y W.G.E. Underwood, *J. Chem. Soc. (C)* **1971**, 3540.
225. E. Felder, D. Pitre y S. Boveri, *J. Med. Chem.* **1972**, 15, 210.
226. B.S. Friedman, M. Sparks y R. Adams, *J. Am. Chem. Soc.* **1937**, 59, 2262.
227. a) R. Nasielski-Hinkens, M. Benedek-Vamos y D. Maetens, *J. Heterocycl. Chem.* **1980**, 17, 873. b) R. Nasielski-Hinkens y M. Benedek-Vamos, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1975**, 1229.
228. B. Gaugain, J. Barbet, R. Oberlin, B.P. Roques y J.B. Le Pecq, *Biochemistry* **1978**, 17, 5071.
229. B.P. Sullivan, D.J. Salmon y T.J Meyer, *Inorg. Chem.* **1978**, 17, 3334.
230. a) L.A. Summers, *Adv. Heterocycl. Chem.* **1978**, 22, 55. b) E. Koft y C.H. Case, *J. Org. Chem.* **1962**, 27, 865.

231. F.C. Schaefer y J.A. Peters, *J. Org. Chem.* **1961**, 26, 412.
232. J.L. Hughey IV, S. Knapp y H. Schugar, *Synthesis* **1980**, 489.
233. P. Oxley y W.F. Short, *J. Chem. Soc.* **1950**, 1100.
234. H. Firouzabadi y E. Ghaderi, *Tetrahedron Lett.* **1978**, 839.
235. D.G. Ott, F.N. Hayes y V.N. Kerr, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 1941.
236. C.H. Rochester, "Acidity Functions". Academic Press, Nueva York, **1970**, p. 26.
237. "Handbook of Chemistry and Physics", 42^a ed. The Chemical Rubber Publishing Co., Cleveland (Ohio), **1960**, pp. 2081-2084.
238. M.D. Marazuela, "Tesina de Licenciatura". Dpto. de Química Analítica, Universidad Complutense de Madrid, **1992**.
239. G. Orellana, "Tesis Doctoral". Dpto. Química Orgánica, Universidad Complutense de Madrid, **1988**.
240. R. Cuervo, "Tesis Doctoral". Dpto. Química Orgánica, Universidad Complutense de Madrid, **1992**.
241. D.L. Evans, D.K. Minster, U. Jordis, S.M. Hetch, A.L. Mazu y A.I. Meyers, *J. Org. Chem.* **1979**, 44, 497.
242. A. Padwa, J.K. Rasmussen y A. Tremper, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 2605.
243. R.A. Krause, *Struct. and Bonding* **1987**, 67, 1.
244. D.L. Kepert, "Inorganic Stereochemistry". Springer Verlag, Berlín, **1982**, pp. 92-111.
245. R. Hage, J.G. Haasnoot, J. Reedijk y J.G. Vos, *Inorg. Chim. Acta* **1986**, 118, 73.
246. a) B.E. Buchanan, R. Wang, J.G. Vos, R. Hage, J.G. Haasnoot y J. Reedijk, *Inorg. Chem.* **1990**, 29, 3263. b) B.E. Buchanan, J.G. Vos, M. Kaneko, W.J.M. van der Putten, J.M. Kelly, R. Hage, R.A.G. de Graff, R. Prins, J.G. Haasnoot y J. Reedijk, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1990**, 2425.
247. a) H. Nieuwenhuis, J.G. Haasnoot, R. Hage, J. Reedijk, T.L. Snoeck, D.J. Stifkens y J.G. Vos, *Inorg. Chem.* **1991**, 30, 48. b) R. Hage, J.G. Haasnoot, H. Nieuwenhuis, J. Reedijk, R. Wang y J.G. Vos, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1991**, 3271.

248. R.T. Conley, "Espectroscopía infrarroja". Alhambra, Madrid, 1979.
249. E. Pretsch, T. Clerc, J. Seibl y W. Simon, "Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos". Alhambra, Madrid, 1985.
250. A. Bax y R. Freeman, *J. Magn. Reson.* **1981**, 44, 542.
251. G. Orellana, C. Álvarez-Ibarra y J. Santoro, *Inorg. Chem.* **1988**, 27, 1025.
252. R.J. Abraham y W.A. Thomas, *J. Chem. Soc. (B)* **1966**, 127.
253. L. Jacquet, "Tesis Doctoral". Universidad Libre de Bruselas, 1990.
254. a) S. Ernst y W. Kaim, *Angew. Chem.* **1985**, 97, 43. b) S. Ernst y W. Kaim, *Inorg. Chim. Acta* **1986**, 114, 123.
255. A. Masschelein, A. Kirsch-De Mesmaeker, C.J. Wilsher y F. Wilkinson, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1991**, 87, 259.
256. Ref. 90, pp. 1173-1214.
257. G.H. Allen, R.P. White, D.P. Rillema y T.J. Meyer, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 2613.
258. S.J. Strickler y R.A. Berg, *J. Chem. Phys.* **1962**, 37, 814.
259. J.E. Huheey, "Química inorgánica". Harper and Row Latinoamericana, México, 1981, pp. 431-442.
260. S.R. Allsopp, A. Cox, T.J. Kemp y W.J. Reed, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1978**, 1275.
261. M.J. Cook, A.P. Lewis, G.S.G. McAuliffe, V. Skarda, A.J. Thomson, J.L. Glasper y D.J. Robbins, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II* **1984**, 1303.
262. E.C. Constable y K.R. Seddon, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1982**, 34.
263. S.G. Schulman (ed.), "Molecular Luminescence Spectroscopy: Methods and Applications". John Wiley, Nueva York, 1988, vol. 2, cap. 6.
264. J.F. Ireland y P.A.H. Wyatt, *Adv. Phys. Org. Chem.* **1976**, 12, 131.
265. C. Feller, J. Renault y J. Hoffelt, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1973**, 1911.
266. U. Bressel, A.R. Katritzky y J.R. Lea, *J. Chem. Soc. (B)* **1971**, 11.
267. L. Ernst, *Org. Magn. Reson.* **1976**, 8, 161.
268. H. Takai, A. Odani y Y. Sasaki, *Chem. Pharm. Bull.* **1978**, 26, 1672.

269. K. Nakamoto, "Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds" (3ª ed.). John Wiley, Nueva York, 1978.
270. F.A. Bovey, "Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy" (2ª ed.). Academic Press, San Diego (California), 1988, pp. 12-18.
271. Y. Kawanishi, N. Kitamura, Y. Kin y S. Tazuke, *Riken Q.* 1984, 78, 212.
272. J.N. Demas y J.W. Addington, *J. Am. Chem. Soc.* 1976, 98, 5800.
273. Ref. 111, pp. 213-242.
274. D.H. Evans, K.M. O'Connell, R.A. Peterson y M.J. Kelley, *J. Chem. Educ.* 1983, 60, 230.
275. P. Belser y A. von Zelewsky, *Helv. Chim. Acta* 1980, 63, 1675.
276. T. Guarr, M.E. McGuire y J. McLendon, *J. Am. Chem. Soc.* 1985, 107, 5104.
277. B. Kratochvil, E. Lovah y C. Garber, *Anal. Chem.* 1969, 41, 1793.
278. C.T. Lin, W. Böttcher, M. Chon, C. Creutz y N. Sutin, *J. Am. Chem. Soc.* 1976, 98, 6536.
279. N. Sutin y C. Creutz, *Adv. Chem. Ser.* 1978, 168, 1.
280. K. Kinoshita, "Electrochemical Oxygen Technology". John Wiley, Nueva York, 1992, p.4.
281. J.N. Demas, E.W. Harris y R.P. McBride, *J. Am. Chem. Soc.* 1977, 99, 3547.
282. Q.G. Mulazzani, H. Sun, M.Z. Hoffman, W.E. Ford y M.A. Rodgers, *J. Phys. Chem.* 1994, 98, 1145.
283. D. García-Fresnadillo, G. Orellana y A.M. Braun, resultados pendientes de publicación.
284. C. Reichardt, "Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry". VCH, Weinheim (R.F.A.), 1990, p. 365.
285. J.N. Demas, "Excited State Lifetime Measurements". Academic Press, Nueva York, 1983, pp. 59-62.
286. G. Orellana, M.C. Moreno Bondi, C. de Dios, A.A. García Martínez y A.M. Gómez Carneros, *Patente española* 9300938.