



UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

TESIS DOCTORAL

Título
Compuestos emisivos de Pt(II) e Ir(III) con aplicaciones biológicas y en iluminación de estado sólido
Autor/es
Gonzalo Millán Fernández
Director/es
Elena Lalinde Peña y Jesús Rubén Berenguer Marín
Facultad
Facultad de Ciencia y Tecnología
Titulación
Departamento
Química
Curso Académico



Compuestos emisivos de Pt(II) e Ir(III) con aplicaciones biológicas y en iluminación de estado sólido, tesis doctoral de Gonzalo Millán Fernández, dirigida por Elena Lalinde Peña y Jesús Rubén Berenguer Marín (publicada por la Universidad de La Rioja), se difunde bajo una Licencia Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Unported.

Permisos que vayan más allá de lo cubierto por esta licencia pueden solicitarse a los titulares del copyright.



**UNIVERSIDAD
DE LA RIOJA**

**TESIS DOCTORAL
2023**

Programa de Doctorado en QUÍMICA

**COMPUESTOS EMISIVOS DE PT(II) E IR(III) CON
APLICACIONES BIOLÓGICAS Y EN ILUMINACIÓN
DE ESTADO SÓLIDO**

Gonzalo Millán Fernández

Director/a: Elena Lalinde Peña

Director/a: Jesús Rubén Berenguer Marín

ELENA LALINDE PEÑA, Catedrática de Química Inorgánica del Departamento de Química de La Universidad de La Rioja.

JESÚS R. BERENGUER MARÍN, Profesor Titular de Química Inorgánica del Departamento de Química de La Universidad de La Rioja.

CERTIFICAN:

Que la presente memoria titulada *Compuestos emisivos de Pt(II) e Ir(III) con aplicaciones biológicas y en iluminación de estado sólido* ha sido realizada bajo su supervisión por el graduado en química Gonzalo Millán Fernández en el Departamento de Química de la Universidad de La Rioja, y autorizan su presentación para que sea calificada como Tesis Doctoral.

Logroño, febrero de 2023

Fdo.: Elena Lalinde Peña

Fdo.: Jesús R. Berenguer Marín

Índice

Abreviaturas y siglas	3
Introducción	7
I.1 Principios de la Luminiscencia. Fluorescencia y Fosforescencia como herramientas esenciales	11
I.2 Luminiscencia en compuestos plano cuadrados de Pt(II) d8	15
I.3 Luminiscencia en compuestos de Ir(III)	23
I.4 Actividad Biológica de compuestos de Pt	34
I.5 Terapia Fotodinámica	40
I.6 Objetivos	47
Capítulo 1	53
1.1 Introducción	55
1.2 Síntesis y caracterización	69
1.3 Propiedades fotofísicas y cálculos teóricos	80
1.4 Estudios biológicos	93
1.5 Apéndice	108
Capítulo 2	127
2.1 Introducción	129
2.2 Síntesis y caracterización	137
2.3 Propiedades fotofísicas y cálculos teóricos	146
2.4 Estudios biológicos	158
2.5 Apéndice	175
Capítulo 3	197
3.1. Introducción	199
3.2 Síntesis y caracterización	213
3.1 Propiedades fotofísicas y cálculos teóricos	221
3.4 Propiedades electroquímicas	229
3.5 Diseño y estudio de una celda electroquímica emisora de luz (LEC)	231
3.6 Apéndice	237
Resúmenes y conclusiones	245
Experimental Section	261
E.1 Instrumental and spectroscopic techniques	263
E.2 Biological studies (collaboration with CIBIR)	272
E.3 Fabrication of LECs	278
E.4 Synthesis of compounds	281
Bibliografía	315

Abreviaturas y siglas

6-MP	6-mercaptopurine / 6-mercaptopurina
AIE	Aggregation induced emission / Emisión inducida por agregación
AIQ	Aggregation induced quenching / Desactivación inducida por agregación
ATP	Adenosine triphosphate / Adenosín trifosfato
B3LYP	Becke, 3-parameter, Lee-Yang-Parr functional
bpy	2,2'-bipyridine / 2,2'-bipiridina
br	Broad / Ancha
Br-Hpbt	2-4-(bromophenyl)benzothiazole / 2-4-(bromofenil)benzotiazol
CA	Celulose acetate / Acetato de celulosa
CCC	Covalently closed circular / Forma cerrada
CO	Open circular / Forma abierta
COSY	Correlation spectroscopy / Espectroscopía de correlación
CP	Congugated Polymers / Polímeros conjugados
d	Doublet / Doblete
dasipy	4,4'-[CONH(CH ₂) ₃ CH ₃] ₂ -bipyridine / 4,4'-[CONH(CH ₂) ₃ CH ₃] ₂ -bipiridina
dbbpy	N,N'-dibutyl-2,2'-bipyridine-4,4'-dicarboxamide / N,N'-dibutil-2,2'-bipiridina-4,4'-dicarboxamida
ddobpy	N,N'-didodecyl-2,2'-bipyridine-4,4'-dicarboxamide / N,N'-didodecil-2,2'-bipiridina-4,4'-dicarboxamida
DFT	Density functional theory / Teoría del funcional de la densidad
dhbpy	N,N'-dihexadecyl-2,2'-bipyridine-4,4'-dicarboxamide / N,N'-dihexadecil-2,2'-bipiridina-4,4'-dicarboxamida
DMF	Dimethylformamide / dimetilformamida
DMSO	Dimethyl sulfoxide / Dimetilsulfóxido
DNA /ADN	Desoxyribonucleic acid / Ácido desoxirribonucleico
dobpy	N,N'-dioleil-2,2'-bipyridine-4,4'-dicarboxamide / N,N'-dioleil-2,2'-bipiridina-4,4'-dicarboxamida
dpbH	Diphenylphosphinobenzoic acid / Ácido difenilfosfinobenzoico
dPEGbpy	N,N'-di-2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl-2,2'-bipyridine-4,4'-dicarboxamide / N,N'-di-2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etil-2,2'-bipiridina-4,4'-dicarboxamida
dppe	Bis-diphenylphosphinethano / bis-difenilfosfinoetano
DRUV	Diffuse reflectance UV-Vis / UV-Vis de reflectancia difusa
ECD	Electrochemical doping model / Modelo de dopaje electroquímico
ED	Electrochemical model / Modelo electroquímico
EDC-HCl	(3-Dimethylamino-propyl)-ethyl-carbodiimide Hydrochloride / N-etil-N'-[3-(dimetilamino)propil]carbodiimida
EDL	Electrical double layer / Dobles capas eléctricas
EIS	Electrochemical impedance spectroscopy / Espectroscopia de impedancia electroquímica
ESI	Electrospray ionization / Ionización por electrospray
f	Oscillator strength / Fuerza del oscilador
FBS	Fetal bovine serum / Suero fetal bovino
FDA	Food and Drug Administration / Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos
Hbzq	7,8-benzoquinoline / 7,8-benzoquinolina

HDA	Hexadeuteroacetone / <i>Hexadeuteroacetona</i>
HdFppy	2-(2,4-difluorophenyl)pyridine / <i>2-(2,4-difluorofenil)piridina</i>
HMBC	Heteronuclear multiple bond correlation / <i>Correlacion heteronuclear a enlaces multiples</i>
HOMO	Highest energy occupied molecular orbital / <i>Orbital ocupado de mayor energía</i>
Hpbt	2-phenylbenzothiazole / <i>2-fenilbenzotiazol</i>
Hppy	2-phenylpyridine / <i>2-fenilpiridina</i>
Hpq	2-phenylquinoline / <i>2-fenilquinoleína</i>
HSA	Albumin from human serum / <i>Albumina humana</i>
HSQC	Heteronuclear single quantum correlation / <i>Correlacion heteronuclear a un enlace</i>
Hthpy	2-(2-thienyl)pyridine / <i>2-(2-tienil)piridina</i>
IC	Internal conversion / <i>Conversión interna</i>
IL / LC	Intraligand/ Ligand-centered / <i>Intraligando/ Centrado en el ligando</i>
IL	Ionic liquid / <i>Líquido iónico</i>
ILCT	Intraligand charge transfer / <i>Transferencia de carga intraligando</i>
IP	Ionic polyelectrolytes / <i>Polielectrolitos iónicos</i>
IR	Infrared / <i>Infrarrojo</i>
ISC	Intersystem crossing / <i>Cruce intersistema</i>
iTMCs	Ionic transition metal complexes / <i>Compuestos iónicos de metales de transición</i>
knr	Non- radiative rate constant / <i>Constante no-radiativa</i>
kr	Radiative rate constant / <i>Constante radiativa</i>
LEC	Light-emitting electrochemical cell / <i>Celdas electroquímicas emisoras de luz</i>
LED	Light emitting diode / <i>Diodo emisor de luz</i>
LL'CT	Ligand to ligand charge transfer / <i>Transferencia de carga de un ligando a otro ligando</i>
LMMCT	Ligand to metals charge transfer / <i>Transferencia de carga del ligando a los metales</i>
LUMO	Lowest energy unoccupied molecular orbital / <i>Orbital vacío de menor energía</i>
m	Medium / <i>Medio</i>
m	Multiplet / <i>Multiplete</i>
m-	<i>meta</i>
MALDI	Matrix-assisted laser desorption ionization
MC	Metal-centered / <i>Centrado en el metal</i>
Me₂N-Hpbt	2-(4-dimethylaminophenyl)benzothiazole / <i>2-(4-dimetilaminofenil)benzotiazol</i>
MLCT	Metal to ligand charge transfer / <i>Transferencia de carga del metal al ligando</i>
MLL'CT	Metal to ligands charge transfer / <i>Transferencia de carga del metal a dos ligandos diferentes</i>
MMLCT	Metal-metal to ligand charge transfer / <i>Transferencia de carga de los metales al ligando</i>
NADH	Nicotinamide adenine dinucleotide / <i>Nicotinamida adenina dinucleótido</i>
NCI	Non covalent interaction / <i>Interacciones no covalentes</i>
NMR / RMN	Nuclear magnetic resonance / <i>Resonancia magnética nuclear</i>
nr	Non-radiative / <i>No radiativo</i>
o-	Ortho / <i>Orto</i>
OLED	Organic/organometallic light-emitting diode / <i>Diodo orgánico/organometálico emisor de luz</i>
p-	<i>para</i>

PCM	Polarizable continuum model / <i>Modelo del continuo polarizable</i>
PDT	Photodynamic therapy / <i>Terapia fotodinámica</i>
PEG	Polyethylene glycol / <i>Polietilenglicol</i>
PHOLED	Phosphorescent organic/organometallic light emitting diode / <i>Diodo orgánico/organometálico emisor de luz fosforescente</i>
PLQY	Photoluminescence quantum yield / <i>Rendimiento cuántico de fotoluminiscencia</i>
PS	Photosensitizer / <i>Fotosensibilizador</i>
PTA	1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane / <i>1,3,5-triaza-7-fosfaadamantano</i>
q	quadruplet / <i>cuadruplete</i>
QD	Quantum Dots
ROS	Reactive oxygen species / <i>Especies reactivas de oxígeno</i>
RPMI	Roswell Park Memorial Institute medium
RT	Room temperature / <i>Temperatura ambiente</i>
s	Singlet / <i>Singlete</i>
s (f)	Strong / <i>Fuerte</i>
S ₀	Singlet ground state / <i>Estado fundamental singlete</i>
S _{1/n}	Singlet excited state / <i>Estado excitado singlete</i>
sh (h)	Shoulder / <i>Hombro</i>
SM	Small Molecules / <i>Moléculas pequeñas</i>
SOC	Spin Orbit Coupling / <i>Acoplamiento spin orbita</i>
SOMO	Single occupied molecular orbital / <i>Orbital molecular ocupado por un electrón</i>
SSL	Solid state lighting / <i>Iluminación en estado sólido</i>
t	Triplet / <i>Triplete</i>
T ₁	Triplet ground state / <i>Estado triplete de menor energía</i>
TD-DFT	Time-dependent density functional theory
THF	Tetrahydrofuran / <i>Tetrahidrofurano</i>
THT	Tetrahydrothiophene / <i>Tetrahidrotiofeno</i>
TOCSY	Total correlation spectroscopy
TOF	Time of flight
Tol	Toluene / <i>Tolueno</i>
TPPTS	3,3',3''-Phosphanetriyltris(benzenesulfonic acid) trisodium salt / <i>tris-(3-sulfonato sódico fenil) fosfina</i>
Tr	Tiempo de retención
vs (mf)	very strong / <i>muy fuerte</i>
vw (md)	very weak / <i>muy débil</i>
w (d)	weak / <i>débil</i>
WOLED	White organic/organometallic light emitting diode / <i>Diodo orgánico/organometálico emisor de luz blanca</i>
δ	NMR chemical shift / <i>Desplazamiento químico en RMN</i>
Δ ₀	Ligand field / <i>Campo ligando</i>
ε	Molar extinction coefficient / <i>Coefficiente de extinción molar</i>
λ _{abs}	Absorption wavelength / <i>Longitud de onda de absorción</i>
λ _{em}	Emission wavelength / <i>Longitud de onda de emisión</i>
λ _{ex}	Excitation wavelength / <i>Longitud de onda de excitación</i>
τ	Lifetime / <i>Tiempo de vida</i>
φ	Quantum yield / <i>Rendimiento cuántico</i>

Introducción



Introducción

En muchas ocasiones, vivimos rodeados de frases como “producto libre de químicos” que alimentan el miedo hacia la química y su entendimiento, pero ¿cuánto de realidad tienen dichas afirmaciones? La verdad es muy diferente y es que crecemos y vivimos rodeados de química. Concretamente, muchos compuestos orgánicos, inorgánicos y organometálicos son componentes fundamentales de multitud de dispositivos que empleamos en nuestro día a día como diodos sólidos emisores de luz (OLEDs, LEDs)¹, catalizadores², sensores químicos³ o biosensores⁴, biomarcadores⁵, medicamentos⁶ o, incluso, formando parte de celdas fotovoltaicas⁷. Sin ir más lejos, el correcto funcionamiento de nuestro cuerpo requiere de la presencia de hasta 20 elementos químicos considerados esenciales (Figura I.1), 10 de los cuales son metales de transición, presentes en su mayoría como biomoléculas. Muchos de ellos participan en procesos tan vitales como son el transporte y almacenamiento de oxígeno o reacciones de oxidación – reducción, como es el caso del hierro o el cobre, o formando parte de vitaminas como el cobalto en la vitamina B₁₂, o enzimas como el molibdeno en la nitrogenasa.⁸

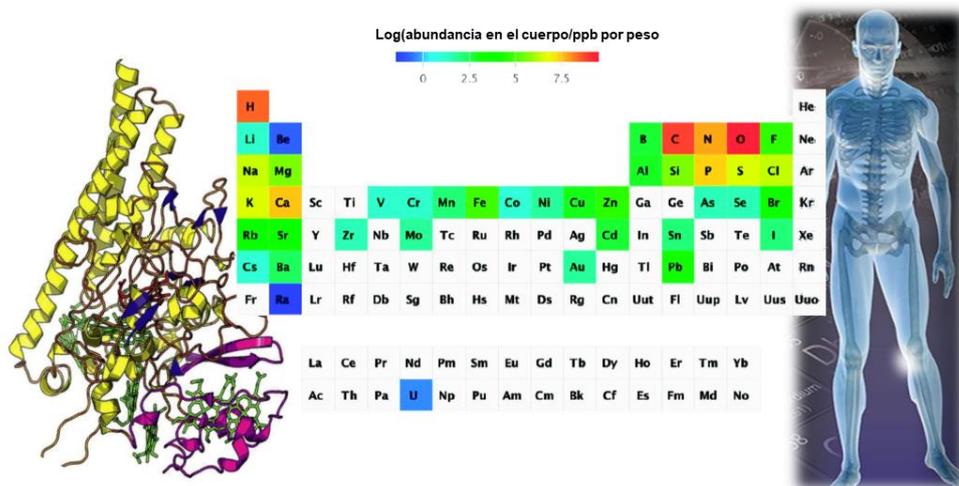


Figura I.1: Abundancia en peso de los elementos: 6 elementos (H, C, N, O, Ca, P) engloban el 98.5% en peso del cuerpo humano, 5 más hacen el 99.9% (Na, Mg, S, Cl, K). El resto están en forma de trazas, aunque no todos se consideran esenciales.

Precisamente, en esa versatilidad para ser empleados en el desempeño de funciones tan diversas radica el interés de su estudio en diferentes ámbitos de la vida.

En particular, los estudios realizados sobre compuestos organometálicos luminiscentes, su aplicabilidad en el ámbito de la iluminación y su posible potencial terapéutico (de terapia y diagnóstico), están creciendo exponencialmente en los últimos años.⁹

Por un lado, el papel de los compuestos organometálicos en medicina se ha visto ampliamente desarrollado en las últimas décadas. En un principio la gran mayoría de medicamentos eran compuestos orgánicos salvo algunas excepciones como el salvarsan,¹⁰ que contiene As, empleado contra la sífilis o ciertos complejos de oro para tratar la artritis.¹¹ Sin embargo, no fue hasta el descubrimiento de la actividad anticancerígena del cisplatino cuando se produjo el mayor impulso al desarrollo de nuevos compuestos de metales de transición que puedan actuar como medicamentos.¹² Este tipo de derivados muestra una gran versatilidad sintética y modularidad de sus propiedades dada la posibilidad de obtenerlos modificando el centro metálico, el estado de oxidación, el número y naturaleza de los ligandos coordinados, o la geometría del complejo.¹³ Incluso pueden incluir agentes de reconocimiento celular, interaccionando de una forma más selectiva en el medio biológico.¹⁴ Otro punto de interés es el empleo de estos complejos en el diagnóstico, además del tratamiento eficaz de algunas enfermedades, así como su uso en bioimagen como marcadores luminiscentes.¹⁵ De hecho, en los últimos años, se ha manifestado un fuerte interés por el desarrollo de agentes multifuncionales capaces de realizar de manera simultánea la localización, seguimiento y tratamiento de las células o tejidos involucrados en una enfermedad. Estos sistemas terapéuticos han supuesto una gran revolución en la forma de entender la biomedicina.¹⁶

Por otra parte, la gran crisis energética y ecológica que vive la humanidad en este momento ha llevado a la concienciación de establecer esfuerzos importantes por conseguir fuentes de energía limpias y renovables que sustituyan el empleo de combustibles fósiles. Este hecho ha acrecentado la investigación de nuevos materiales y procesos que sean capaces de obtener combustibles limpios, sistemas de iluminación de mayor eficiencia o dispositivos capaces de almacenar la energía solar con gran rendimiento, entre otros. En todos estos ámbitos, el desarrollo de complejos metálicos emisivos es crucial para este avance.¹⁷

Por estas razones, el gran interés actual por encontrar nuevos compuestos lumiscentes se ha centrado en gran medida en aquellos que presenten en su estructura metales de transición; en concreto, en metales de la segunda y tercera serie de transición, que presentan fosforescencias de mayor eficiencia en comparación a las emisiones de otro tipo de compuestos orgánicos, ofreciendo de este modo vidas medias largas, desplazamientos de Stokes grandes y estados excitados fácilmente modulables.¹⁸

I.1 Principios de la Luminiscencia. Fluorescencia y Fosforescencia como herramientas esenciales

A lo largo de la historia el fenómeno de la luminiscencia ha sido ampliamente estudiado, siglos atrás ya se observó como infusiones procedentes de ciertas especies vegetales (*Lignum Nephriticum*, Cinchona) emitían luz en la noche tras estar expuestas a luz solar, algo que ya daba indicios de la existencia de interacciones entre la luz y la materia. Sin embargo, no fue hasta finales del siglo XIX cuando este fenómeno tuvo nombre y se estudió desde un punto de vista físico-químico por Eilhardt Wiedemann. Así, podemos decir que una muestra es luminiscente cuando emite luz después de la absorción de energía procedente de un estímulo externo. Dependiendo del tipo de estímulo que genere la emisión de luz, esa luminiscencia puede clasificarse en electroluminiscencia (corriente eléctrica), quimioluminiscencia (reacción química), fotoluminiscencia (luz), triboluminiscencia (presión), bioluminiscencia (procesos bioquímicos), etc. Todos estos procesos implican dos pasos. En primer lugar, se produce el aumento de energía de los electrones de las moléculas que pasan desde un estado fundamental a estados energéticos de mayor energía. En segundo lugar, ocurre el posterior retorno energético de los electrones desde esos estados excitados al fundamental, con la consiguiente emisión de energía sobrante en forma de luz. Por lo general, la luz absorbida presenta menores longitudes de onda que la emitida, debido a pérdidas de energía a través de procesos no radiativos. Los procesos de absorción de luz también son responsables del color de los materiales y de los compuestos que los forman y vienen definidos por las bandas de absorción, características de cada uno de ellos.¹⁹

En el caso concreto de la fotoluminiscencia, tal y como se representa en el diagrama de Perrin-Jablonski (Figura I.2), tras la absorción de luz los electrones pasan a

poblar estados excitados singlete S_n desde un estado fundamental S_0 . De acuerdo con las reglas de selección de espín, los cambios en la multiplicidad en procesos tan rápidos, como lo es la absorción de fotones (10^{-15} s), no están permitidos por lo que se pueblan estados singlete S_n . Esto se explica por el principio de Frank-Condon, el cual establece que la transición electrónica que va a ocurrir de forma más probable es aquella que involucra estados sin muchas diferencias en las posiciones de sus núcleos.²⁰ Como las moléculas en su estado fundamental suelen presentar estados de capa cerrada singlete ($S = 0$), con todos sus electrones apareados, tras la excitación lo habitual es que el espín total continúe siendo 0, con espines antiparalelos, en lugar de $S = 1$ con espines paralelos, dando lugar a estados tripletes. Hay que tener en cuenta que el camino de desactivación más probable hacia el estado fundamental es el que implica un menor tiempo de vida del estado excitado. Además, dentro de cada estado excitado existen diferentes niveles vibracionales muy cercanos en energía entre ellos. Por todo ello, y debido a procesos no radiativos de relajación vibracional y de conversión interna, el camino más probable es la desactivación radiante desde el nivel vibracional más bajo del estado excitado S_1 generando, de este modo, fluorescencia.

La energía del fotón emitido es siempre menor que la absorbida debido a pérdidas por procesos de desactivación no radiativa, lo que provoca que la luz emitida se desplace hacia el rojo en comparación con la absorbida, lo que se denomina desplazamiento de Stokes. Este proceso emisor, que surge de transiciones electrónicas permitidas por espín ($\Delta S = 0$), se caracteriza por presentar constantes radiativas altas ($10^8 - 10^9 \text{ s}^{-1}$) y tiempos de vida del orden de nanosegundos ($< 100 \text{ ns}$).²¹

Pero la fluorescencia no es el único proceso radiativo que puede tener lugar. Ya en 1887, Becquerel realizó una primera distinción entre dos procesos radiativos, la fluorescencia y la fosforescencia, argumentando que la primera consiste en la emisión de luz que se extingue de forma inmediata al cesar la fuente de luz, mientras que la segunda persiste tiempo después de la exposición. En la actualidad, esto se explica por los mayores tiempos de vida que presentan las emisiones fosforescentes ($10^{-7} - 10^{-2}$ s) en comparación a las fluorescentes ($10^{-9} - 10^{-7}$ s). Los procesos fosforescentes implican transiciones electrónicas que no están permitidas por espín, es decir, en las que existe un cambio en la multiplicidad ($\Delta S \neq 0$) producido por un cruce intersistémico entre los

estados S_1 y T_1 .²² En el caso de moléculas orgánicas, estos procesos presentan constantes radiativas muy bajas (1 s^{-1}) y tiempos de vida muy largos, por lo que en disolución a temperatura ambiente es más favorable que ocurran otros decaimientos no radiativos que van desde el triplete al estado fundamental. A bajas temperaturas y en medios rígidos estos procesos son menos competitivos y pueden observarse emisiones fosforescentes. En contraste con este comportamiento de los cromóforos orgánicos, en compuestos que contienen en su estructura metales pesados, sobre todo de la tercera serie de transición, se produce un fuerte acoplamiento espín-órbita (SOC en su acrónimo inglés *Spin Orbit Coupling*), que favorece el cruce intersistémico entre los estados singlete y triplete de forma muy eficiente. En complejos metálicos, el cruce entre sistemas ($S_1 \rightarrow T_1$) suele ser más rápido (10^{12} s^{-1}) que la desactivación desde el estado excitado singlete (10^8 s^{-1}), lo que desfavorece la desactivación fluorescente y favorece la emisión fosforescente.

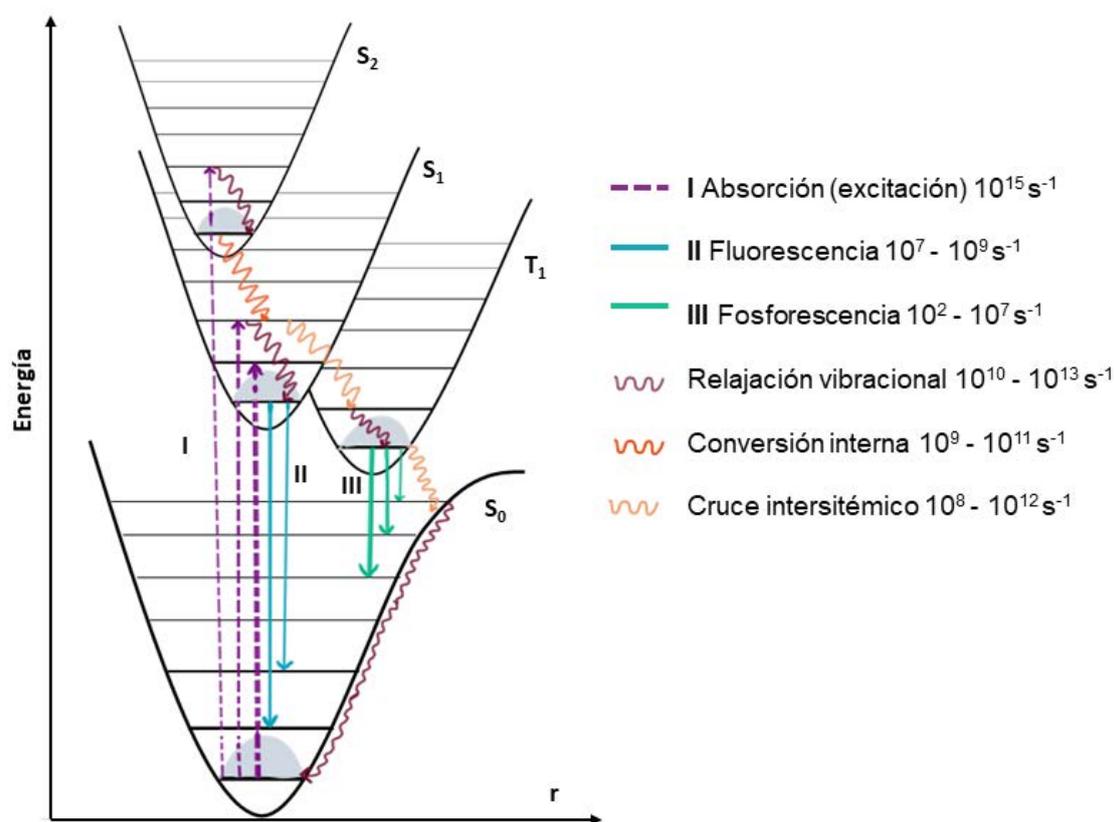


Figura I.2: Diagrama de Perrin-Jablonski en el que se representan los niveles de energía involucrados en transiciones de absorción y emisión de luz.

En cuanto a la eficiencia a la hora de emplear moléculas en dispositivos emisores de luz, es importante tener en cuenta las limitaciones que pueden tener aquellos en los

que se empleen cromóforos fluorescentes en lugar de aquellos basados en complejos fosforescentes. Tras la excitación, el 25% de los estados excitados que se generan son de tipo singlete, mientras que el 75% son triplete. Por lo tanto, solo el 25% de los posibles estados excitados contribuirán a la emisión en el caso de los sistemas orgánicos fluorescentes, siendo de esa manera la eficiencia cuántica interna máxima del 25%. Sin embargo, moléculas que puedan generar fosforescencia, como aquellas que contienen metales de transición, podrían aprovechar teóricamente el 100% de los estados excitados al sumar las transiciones desde estados singlete y triplete.²³

Por estos motivos, el estudio de la aplicación de compuestos de metales de transición fosforescentes en el diseño de dispositivos de iluminación de estado sólido (LEDs, OLEDs, LECs...)²⁴, celdas solares y nuevos fotocatalizadores, o para su empleo como sustitutos de moléculas orgánicas fluorescentes en quimiosensores²⁵, biosensores²⁶, o bioimagen²⁷ presenta un enorme interés, siendo uno de los principales pilares de la investigación en nuestros días (Figura I.3).

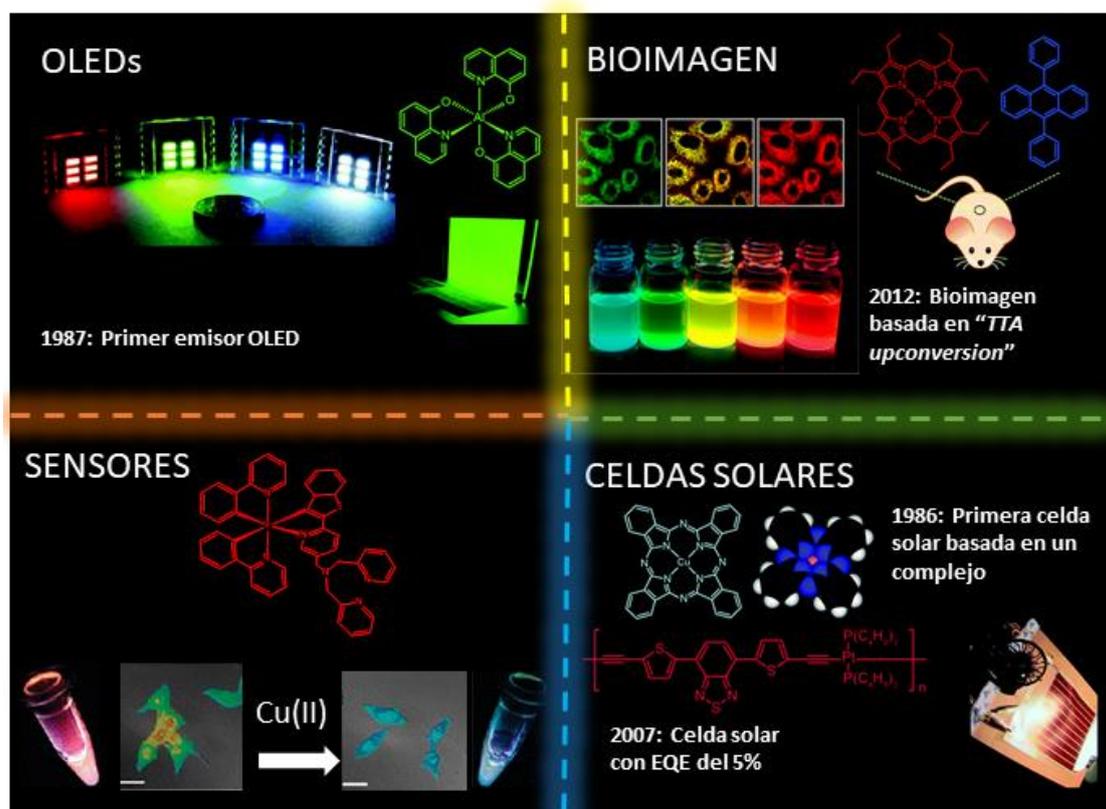


Figura I.3: Algunas aplicaciones de compuestos organometálicos fosforescentes

I.2 Luminiscencia en compuestos plano cuadrados de Pt(II) d^8

Como ya se ha mencionado, el empleo de sistemas en los que se incorporan metales de transición genera grandes mejoras en cuanto a su eficiencia en la emisión^{23b} debido a los altos valores de las constantes del acoplamiento espín-órbita (SOC) de los centros metálicos, sobre todo en los casos de los de la tercera serie de transición. De entre estos metales, el platino es el elemento que presenta una mayor constante de acoplamiento espín-órbita (4481 cm^{-1}),²⁸ por lo que el estudio de complejos de platino y su potencial aplicabilidad en diferentes ámbitos ha tenido un notable desarrollo en las últimas décadas.²⁹ Es importante prestar también atención al estado de oxidación del metal y a los ligandos que se emplean para coordinarse al centro metálico. En este caso, el platino en estado de oxidación +2 presenta una configuración d^8 , lo que confiere a sus derivados geometría plano-cuadrada dando lugar a interesantes propiedades fotofísicas, como se comenta a continuación³⁰. Sin embargo, por si sola, dicha geometría no garantiza que estos compuestos presenten fosforescencia o, incluso, fluorescencia.

Las propiedades emisivas en las que participa el estado triplete en complejos de metales de transición son complejas de explicar debido a que pueden atribuirse a una gran variedad de transiciones electrónicas que pueden ocurrir en las moléculas. Esas posibles transiciones, pueden clasificarse según la participación del metal o de los ligandos en los orbitales implicados:

- MC, transiciones centradas en el metal de tipo d-d. Son las de menor intensidad, siendo poco visibles a temperatura ambiente, debido en gran parte a la facilidad que tienen para producir desactivación no radiante. La transferencia del electrón se produce entre orbitales d no degenerados debidos al desdoblamiento de los orbitales del metal al coordinarse con los ligandos, lo que provoca fuertes distorsiones del centro metálico respecto del estado fundamental. Además, en el caso de ocuparse orbitales no enlazantes, tienden a generar distorsión de los enlaces con los ligandos, pudiendo provocar la ruptura de los mismos.
- LC ó IL, transiciones centradas en los ligandos o intraligando, se dan desde orbitales π enlazantes a orbitales π^* antienlazantes del mismo ligando. En emisiones de esta naturaleza, la participación del metal es casi nula, por lo que la

estructuración de las bandas y sus tiempos de vida son muy parecidas a las que presentan los ligandos libres.

- MLCT, transiciones de transferencia de carga metal-ligando, que involucran la migración de densidad electrónica desde un orbital d centrado en el metal a uno antienlazante π^* de uno de los ligandos. Presentan altos rendimientos cuánticos y tiempos de vida del orden de los microsegundos, algo que hace de estas transiciones las más idóneas para su aplicación en la fabricación de LEDs.
- Finalmente, están las LLCT, transiciones de transferencia de carga ligando-ligando, que van desde un orbital π de un ligando a uno π^* del otro, pudiendo ser este igual (L) o diferente (L').

Sin embargo, las transiciones reales que ocurren en estos complejos se describen mejor como mezclas de diferente contribución de las transiciones anteriores. En muchas ocasiones, la selección de los ligandos afecta notablemente a esas contribuciones. Normalmente, la emisión de los complejos de Pt(II) se atribuye a una mezcla de transiciones $^3\text{MLCT}$, $^3\text{ILCT}$ o $^3\text{LL}'\text{CT}$.

Así, tanto la eficiencia como las propiedades emisivas de estos complejos se ven comprometidas por el desdoblamiento de campo ligando, tal y como se aprecia en la Figura I.4, donde se representa un esquema de los diagramas moleculares simplificados de compuestos d^8 con geometría plano-cuadrada de Pt(II).

En estos compuestos, el orbital metálico ocupado de mayor energía (HOMO) corresponde fundamentalmente al orbital d_{xy} ; mientras que el de menor energía vacío (LUMO), que corresponde al orbital $d_{x^2-y^2}$, es de carácter fuertemente antienlazante debido a que se encuentra en la misma dirección que los enlaces y su ocupación puede llegar a disociar los ligandos (Figura I.4, izquierda). La presencia de ligandos de campo débil tales como fosfinas, aminas o halogenuros, no genera un gran desdoblamiento y a causa de ello, estas transiciones están centradas en el metal (MC, Figura I.4.A). Esto genera procesos no emisivos debido a la población de $d_{x^2-y^2}$ con carácter antienlazante, lo que provoca la distorsión en la geometría de la molécula debido a la elongación de enlaces M-L y el desplazamiento del mínimo de la superficie de energía potencial del estado excitado con respecto al fundamental, favoreciéndose así la desactivación por

procesos no radiantes, según el principio de Frank Condon.^{1d} En este tipo de complejos es posible favorecer los procesos radiativos (emisiones) restringiendo la vibración molecular a bajas temperaturas.

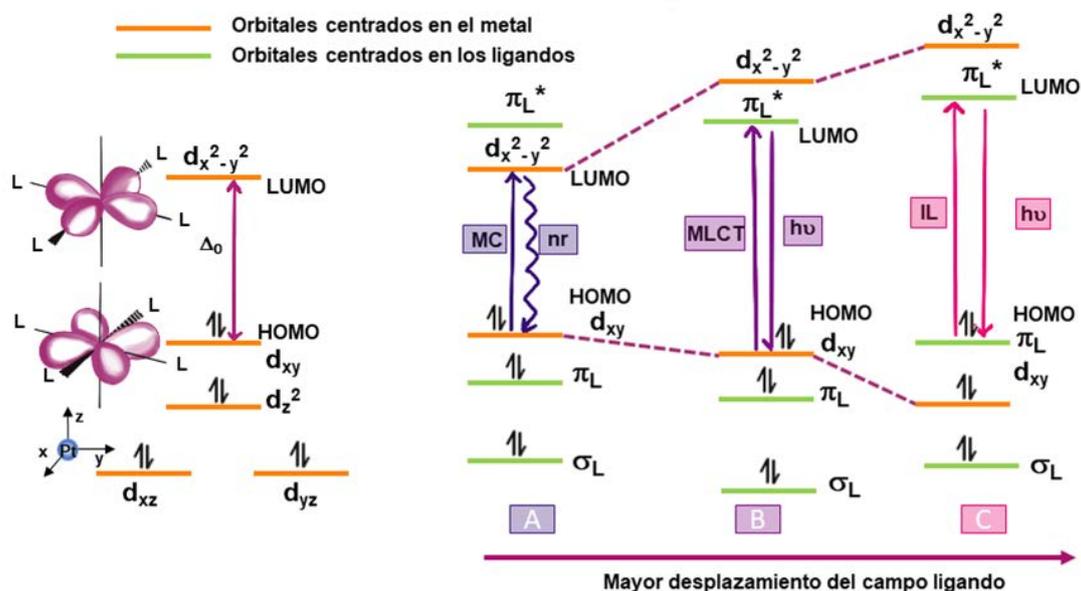


Figura I.4: Diagrama simplificado de los orbitales involucrados en las diferentes transiciones HOMO-LUMO para compuestos plano-cuadrados de Pt(II) en función del tipo de ligandos coordinados.

Sin embargo, hay otras maneras de mejorar la eficiencia de la fosforescencia en compuestos plano-cuadrados de Pt(II). Para conseguirlo, debemos disminuir o eliminar la población electrónica en los orbitales $d_{x^2-y^2}$, aumentando el *gap* de energía entre transiciones d-d para hacerlo tan inaccesible como sea posible. Esto puede llevarse a cabo al introducir en la esfera de coordinación del platino ligandos de campo fuerte, con carácter σ -dador/ π -aceptor, como son los cianuros, isocianuros y acetiluros o ligandos aromáticos conjugados de tipo diimina o ciclometalados; que, además, aumentan la rigidez del sistema evitando la desactivación por vibraciones.³¹ La coordinación de este tipo de ligandos provoca el aumento en la diferencia de energía entre el orbital d_{xy} y el $d_{x^2-y^2}$ centrados en el metal y la aparición un nuevo orbital LUMO, centrado en los ligandos, de carácter π^* . De esta manera, las transiciones MC se ven desfavorecidas, permitiendo la formación de estados excitados de tipo MLCT (Figura I.4.B) En estas transiciones, se produce el paso de electrones desde los orbitales d ocupados del metal a los π^* de los ligandos, por lo que se verán favorecidas cuanto mayor sea la densidad

electrónica localizada en el centro metálico, el cual puede perder electrones y oxidarse, recibiendo los ligandos con capacidad de reducirse. En estas transiciones no se produce una elevada distorsión estructural, dado que el orbital aceptor se encuentra deslocalizado en el ligando, lo que unido al efecto del átomo pesado genera emisiones fosforescentes con altos rendimientos cuánticos y tiempos de vida cortos.^{19b}

De hecho, existe la posibilidad de que al usar este tipo de ligandos de campo alto se produzca una mayor estabilización del orbital centrado en el metal ocupado d_{xy} , obteniéndose de esta forma transiciones de tipo IL (Figura I.4.C). Estas transiciones, más energéticas que las MLCT, van desde los orbitales π a los π^* de los ligandos coordinados o también pueden ocurrir entre orbitales de ligandos diferentes (LL'CT). En este caso, los estados triplete de carácter IL muestran tiempos de vida más largos y unas constantes radiativas bajas. Como ocurre en el caso de las MLCT, la distorsión es mínima, pero la baja participación del metal, hace que el cruce intersistémico y la emisión sean procesos más lentos que en las MLCT y, por consiguiente, los rendimientos de la fosforescencia en estos casos sean más bajos a causa de desactivaciones no radiantes. Una de las peculiaridades que tienen las transiciones en las que participa el ligando es la estructuración de las bandas en la emisión, debida a los diferentes niveles vibracionales que presentan los estados electrónicos de dichos ligandos. Esa diferencia en la energía entre los máximos de la banda estructurada coincide con las bandas vibracionales que se ven en espectros IR correspondientes a diferentes modos vibracionales de los ligandos.

Además, gracias a su estructura plano-cuadrada, los compuestos de Pt(II) pueden formar interacciones axiales Pt...Pt y/o π ... π , sobre todo cuando presentan ligandos poco voluminosos. De esta manera se establecen apilamientos intermoleculares denominados agregados si se dan en el estado fundamental o excímeros o exciplejos cuando se forman en el estado excitado. Estas interacciones pueden a su vez, inducir alteraciones en las propiedades de los estados electrónicos fundamental y excitado generando nuevas configuraciones electrónicas. Así, cambian las energías de los dímeros formados, tanto del HOMO, formado principalmente por el orbital antienlazante do^* , como del LUMO, localizado en orbitales π^* de los ligandos. Estas interacciones pueden producirse bien entre los ligandos (3LLCT) en los que se centra la transición

($\pi \cdots \pi^*$), provocando un ligero desplazamiento hacia el rojo o bien entre los orbitales ocupados $5d_{z^2}$ de los centros de platino. En el segundo caso ($Pt \cdots Pt$), esos orbitales se encuentran perpendiculares al plano de coordinación y la transición de transferencia de carga (3MMLCT) se produce desde los metales ($Pt_2 d\sigma^*$) a los ligandos (π^*). La salida del electrón del orbital $d\sigma^*$ disminuye la distancia $Pt \cdots Pt$ en el estado excitado y aumenta la rigidez del sistema, dando como resultado emisiones menos energéticas y de mayor rendimiento cuántico que las debidas a monómeros (MLCT) o en las que participan únicamente los ligandos $\pi \cdots \pi^*$. Es decir, tal y como se representa en la Figura I.5b, a medida que aumenta la interacción $Pt \cdots Pt$ o $\pi \cdots \pi$, el desplazamiento hacia el rojo es mayor.³² Estas emisiones, presentan vidas medias cortas y rendimientos cuánticos más altos que las emisiones debidas a monómeros. No obstante, en ocasiones, se dan ambos tipos de interacciones ($Pt \cdots Pt$ y $\pi \cdots \pi^*$) originando estados mixtos, en los que las contribuciones $\pi \cdots \pi^*$ pueden tener un efecto desactivante. Diversas revisiones recientes recogen las ricas propiedades ópticas de estos sistemas.³³ En estos casos, ni las bandas de absorción ni las de emisión suelen ser estructuradas y son muy sensibles a estímulos externos. De esta manera ciertas perturbaciones como la exposición a vapores (vapocromismo/ vapoluminiscencia), fuerzas mecánicas (mecanocromismo), o a variaciones de temperaturas (termocromismo), producen cambios en el color del compuesto y en el de las emisión.³³⁻³⁴ Estas propiedades generan un gran interés por su potencial como sensores.

En ciertos casos, estas interacciones pueden generar un aumento o decaimiento de la intensidad de la emisión. Al desplazarse hacia el rojo la emisión y reducir el *gap* de la transición, es posible que se desactiven las moléculas de forma no radiante o que se produzca un quenching. Se provoca así un efecto de disminución de la emisión, sobre todo en disoluciones concentradas, denominado AIQ, *aggregation induced quenching*³⁵. Por el contrario, si aumenta la emisión, este proceso se denomina AIE *aggregation induced emission*³⁶, y se debe al aumento de la rigidez del sistema.

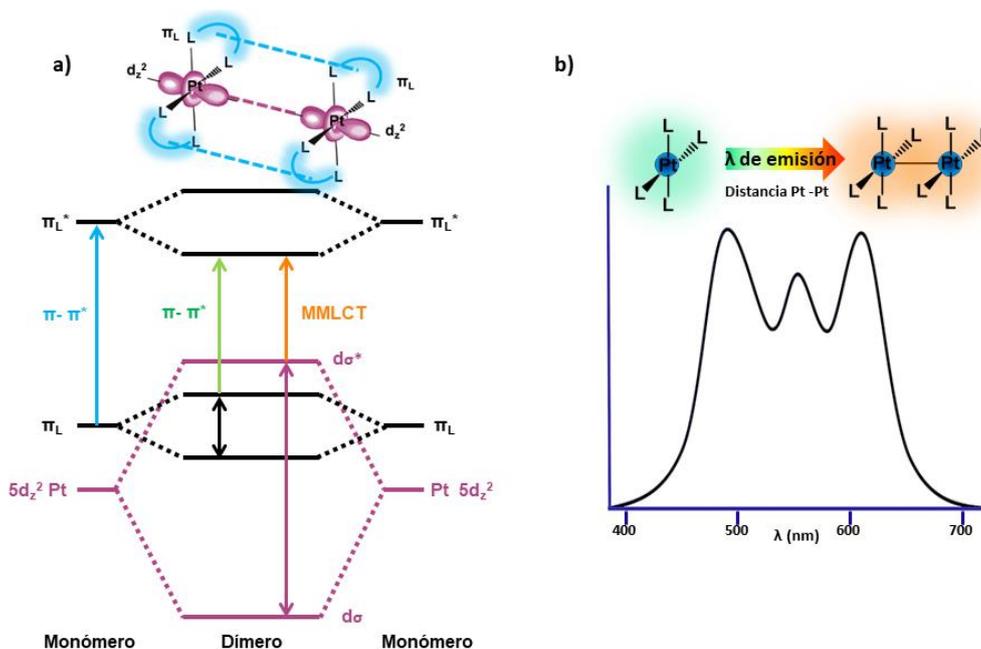


Figura I.5: a) Diagrama de orbitales moleculares simplificado de complejos plano-cuadrados dinucleares d^8 con interacciones $Pt \cdots Pt$ y $\pi \cdots \pi$ b) ilustración de un espectro de emisión en el que se combinan las emisiones monoméricas y exciméricas para dar luz blanca.^{9b}

I.2.1 Luminiscencia de los compuestos de Pt(II) con ligandos ciclometalados

Uno de los factores que pueden repercutir en la eficiencia de la emisión es la diferencia estructural entre la geometría del estado fundamental y la del excitado. Si existe una fuerte distorsión en el estado excitado, se favorecen procesos no radiativos debido al acoplamiento vibracional entre ambos estados. Por este motivo, para mejorar las propiedades emisivas de estos compuestos, conviene coordinar ligandos rígidos al centro metálico, como son los ligandos aniónicos ciclometalados, que generen la mínima distorsión en T_1 . Este tipo de ligandos se unen al centro metálico a través de un átomo de carbono aniónico y un heteroátomo (que normalmente es N). Durante este proceso de coordinación de un ligando quelato heteroaromático al centro metálico a través de un enlace covalente (M-C), se produce la activación del enlace C-H del grupo aromático y su consiguiente deprotonación (Figura I.6a). Precisamente, ese carbono aniónico que se coordinará posteriormente al centro metálico, tiene un carácter fuertemente σ -dador lo que favorece la inaccesibilidad a los orbitales d del metal, mejorando de este modo los procesos emisivos. Además, la presencia del enlace adicional entre el metal y el heteroátomo incrementa enormemente la estabilidad en estos complejos.^{31, 37} La

presencia en estos ligandos de un grupo piridínico π -aceptor aumenta la diferencia energética π - π^* y favorece la formación de estados excitados triplete $^3\text{MLCT}$ o ^3IL . Además la geometría plana de estas moléculas, unida a su rigidez desfavorece los decaimientos no radiativos debidos a la distorsión de las moléculas.^{29d}

Precisamente, esa coordinación a través de la activación del enlace C-H, fue lo que supuso el inicio de la síntesis de multitud de complejos ciclometalados de platino(II)³⁸. Todos estos complejos pueden clasificarse en tres grandes grupos, de acuerdo con la forma de coordinarse al centro metálico: bidentados ($\text{C}^{\wedge}\text{N}$), tridentados ($\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N}$, $\text{N}^{\wedge}\text{C}^{\wedge}\text{N}$, $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$) o tetradentados con otros quelatos con anillos deslocalizados como carbenos N-heterocíclicos, polipiridinas o porfirinas (Figura I.6b). Todos ellos presentan propiedades ópticas muy interesantes, pero los que han recibido mayor interés son los que presentan ligandos bidentados ($\text{C}^{\wedge}\text{N}$), cuya deslocalización se centra en el arilo y en los que se centra el estudio de esta tesis.

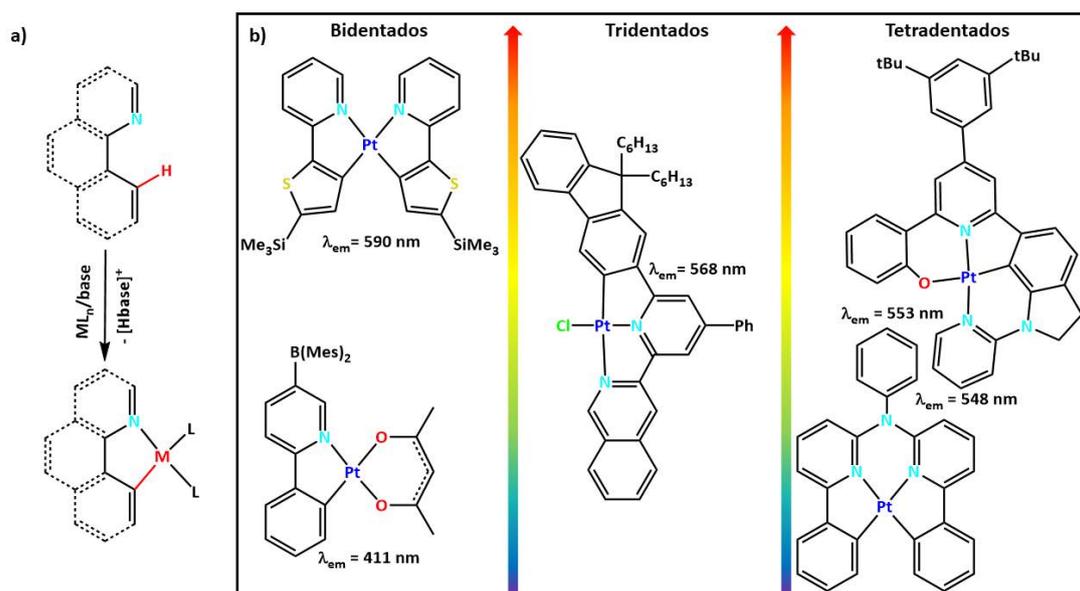


Figura I.6: a) Ciclometalación a través de la activación del enlace C-H, b) Ejemplo de complejos ciclometalados de platino (II) usados en PHOLEDs. (Figura adaptada de la referencia^{19b})

Los primeros ejemplos de complejos de Pt(II) ciclometalados con ligandos $\text{C}^{\wedge}\text{N}$, se remontan al año 1973 cuando se consiguió la carboplatinación ortodirigida del azafenantreno, lo que abrió la puerta a la síntesis de novedosos compuestos de Pt(II) luminiscentes mediante reacciones rápidas y dirigidas de ligandos N-quelatados a través de la activación previa de los enlaces C-H.³⁹ Unos años más tarde, se presentaron los

primeros estudios de las propiedades ópticas de complejos neutros homolépticos de tipo [cis-Pt(C[^]N)₂], (C[^]N = ppy, thph o bzq), en los que se pone de manifiesto el efecto de la alta influencia *trans* de los carbonos metalados al colocarse los átomos de carbono mutuamente en *cis* en todos los casos. Estos complejos presentaban emisiones estructuradas intensas, centradas en el metal y el grupo ciclometalado, y con rendimientos cuánticos altos. Sin embargo, eran altamente inestables en disolventes halogenados, mostrando reactividad fotoquímica con los halógenos al formar complejos de Pt(IV) con fosforescencias que iban al azul.⁴⁰ A partir de este momento, las publicaciones sobre el estudio de las propiedades emisivas de nuevos compuestos plano-cuadrados de Pt(II) ciclometalados han ido creciendo de forma exponencial, descubriéndose la posibilidad de emplearse como emisores en PhOLEDs (Phosphorescent organic light-emitting diodes)⁴¹ debido a sus propiedades electroluminiscentes. En los últimos años, se ha buscado la forma de encontrar complejos que emitan en blanco, para su posterior incorporación en WOLEDs (White organic light-emitting diodes) como únicos dopantes basados en excímeros fosforescentes, algo que Thompson y Forrest consiguieron en 2002, mediante la combinación de las emisiones procedentes del monómero (azul) y de los excímeros (naranja) de un único complejo Pt(C[^]N)₂.⁴² Además, otros estudios han demostrado que este tipo de compuestos son alternativas interesantes como sustitutos de moléculas orgánicas en dispositivos OLEDs como dopantes fosforescentes, algo que se estudió con el complejo [Pt(thpy)₂].^{43, 44} Con todos estos descubrimientos, la aplicabilidad de complejos plano cuadrado cicloplatinados ha ido en aumento, siendo por lo general altamente emisivos, con rendimientos fosforescentes elevados en disolución y largos desplazamientos de Stokes, lo que hace de ellos excelentes candidatos para su empleo no solo como fuentes de luz^{23a, 31, 45} sino como fotocatalizadores⁴⁶, sensores y biosensores⁴⁷ o como fluoróforos para bioimagen^{32, 48}

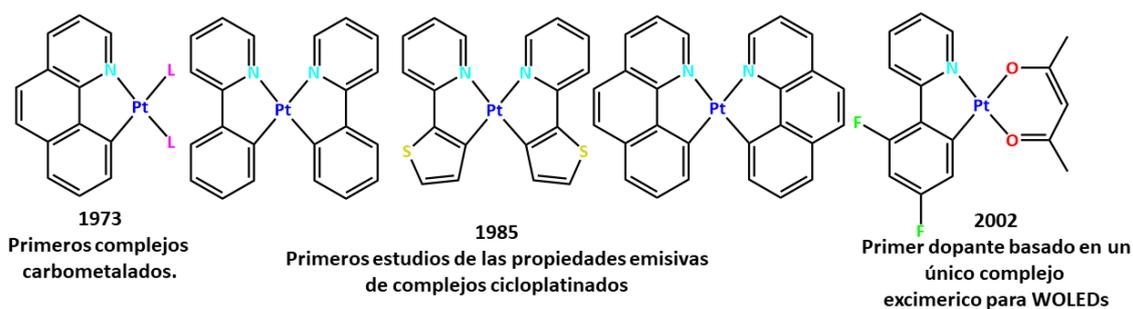


Figura I.7: Selección de algunos descubrimientos importantes en el campo de complejos ciclometalados luminiscentes de Pt(II).

En estos compuestos, existe la posibilidad de modular la longitud de onda de emisión en toda la región espectral visible manteniendo unos rendimientos cuánticos elevados. Esto es posible debido a la facilidad de cambiar la diferencia energética $\pi-\pi^*$ de los ligandos $C^{\wedge}N$. La presencia de sustituyentes de diversas naturalezas y en posiciones determinadas de los ligandos ciclometalados permite la modificación en los niveles de energía de los orbitales HOMO y LUMO y, por lo tanto, de la longitud de onda de emisión.⁴⁹ Por lo general, modificaciones en el fragmento arílico generan cambios en el HOMO, mientras que el LUMO se ve más afectado por variaciones en el piridínico. Si empleamos grupos dadores de densidad electrónica, se desestabilizan estos orbitales, mientras que, si coordinamos sustituyentes que acepten esa densidad, conseguimos estabilizarlos. De esta manera, podemos conseguir emisiones más energéticas mediante la estabilización del HOMO, incorporando en el anillo fenílico grupos aceptores como fluoruros. Además, siempre se tienen que tener en cuenta a los ligandos auxiliares, pues la fortaleza del campo ligando de estos afecta en mayor o menor medida a los estados excitados.

I.3 Luminiscencia en compuestos de Ir(III)

El interés por encontrar complejos de metales de transición que presenten altas eficiencias en la emisión ha llevado a la búsqueda de nuevas vías para incrementar sus rendimientos cuánticos, en particular de los procesos fosforescentes. A diferencia del Pt(II) con geometría plano cuadrada los complejos de iones d^6 como Ru(II) y en particular Ir(III), u Os(III), que presentan geometrías octaédricas han sido ampliamente estudiados.^{1b, 50 51} En el caso de los complejos de Ir(III), la constante de acoplamiento

espín-orbita es muy elevada ($\xi_{Ir} = 4430 \text{ cm}^{-1}$), lo que juega un papel crucial en los procesos de decaimiento del estado excitado⁵² y dentro de los diferentes complejos de Ir(III), los derivados de tipo bis- o tris-ciclometalado, con geometría octaédrica, han centrado el interés de la mayor parte de los estudios. En relación a las propiedades fotoquímicas y fotofísicas, en estos compuestos las fosforescencias se deben en gran parte a estados de tipo ³MLCT y presentan eficiencias que pueden acercarse al 100% en la conversión de energía electrónica a fotónica, debido a las altas poblaciones de los estados triplete excitados.^{1b}

La aplicabilidad de estos compuestos se extiende desde ámbitos como la fotocatalisis tanto en reacciones de transferencia electrónica como de transferencia de energía,⁵³ al diseño de sensores⁵⁴ o de celdas solares⁵⁵. Además, desde la introducción de compuestos ciclometalados de Ir(III) en OLEDs⁵⁶, se han desarrollado múltiples estudios en los que se ha mejorado tanto la eficiencia como la durabilidad de dichos dispositivos. Finalmente, este tipo de complejos han mostrado buenos resultados como biosensores o marcadores biomoleculares en bioimagen, presentando algunos de ellos excelentes propiedades anticancerígenas frente a diversas líneas celulares. Todo ello también los hace buenos candidatos para su empleo como potenciales agentes teranósticos.⁵⁷

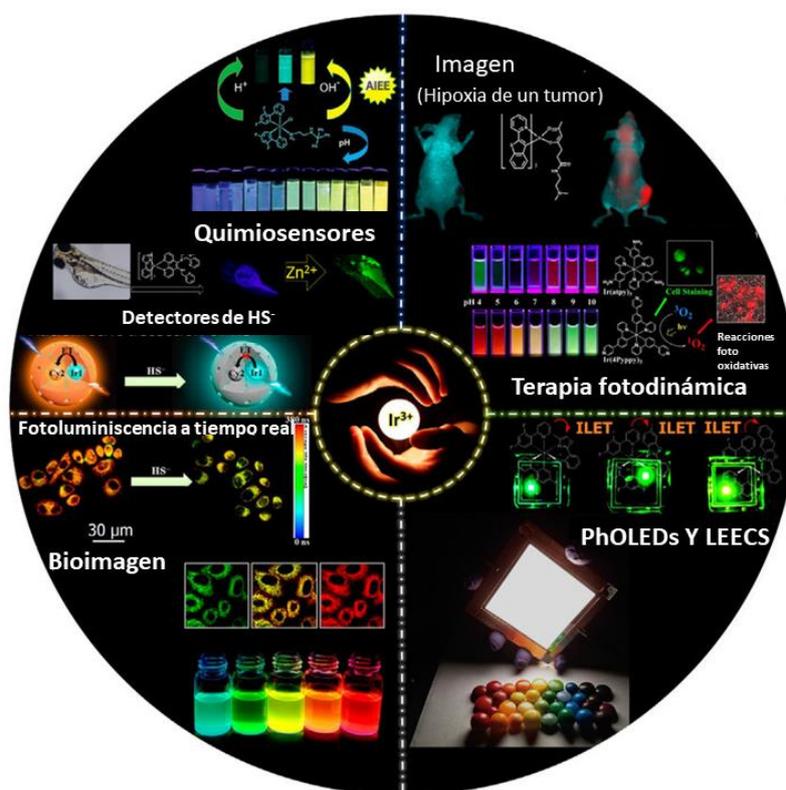


Figura I.8: Diferentes aplicaciones de derivados de Ir(III) emisivos.

La amplia versatilidad en las aplicaciones de los compuestos ciclotmetalados de Ir(III) proviene de las fuertes interacciones electrónicas que se generan entre el centro metálico y los ligandos en estos compuestos. Estos derivados presentan una gran estabilidad tanto a la luz como a la temperatura, lo que facilita su uso en diversos ambientes. Además, en ellos se modula fácilmente la emisión mediante modificaciones sobre el ligando ciclotmetalado elegido. De hecho, son muchos los estudios que muestran la posibilidad de modificar la longitud de onda de la emisión fosforescente de forma eficiente, desde el ultravioleta hasta el infrarrojo, tal y como se presenta en la Figura I.9.^{1b} Sin embargo, uno de los retos en estos sistemas, es obtener compuestos ciclotmetalados de Ir(III) que emitan en el azul con estabilidades y rendimientos cuánticos comparables a las emisiones obtenidas a longitudes de onda mayores. Ello es debido a que los estados altamente energéticos son mucho más inestables que aquellos con emisiones menos energéticas como los verdes o rojos lo que dificulta la obtención de emisores altamente eficientes en el azul.⁵⁸

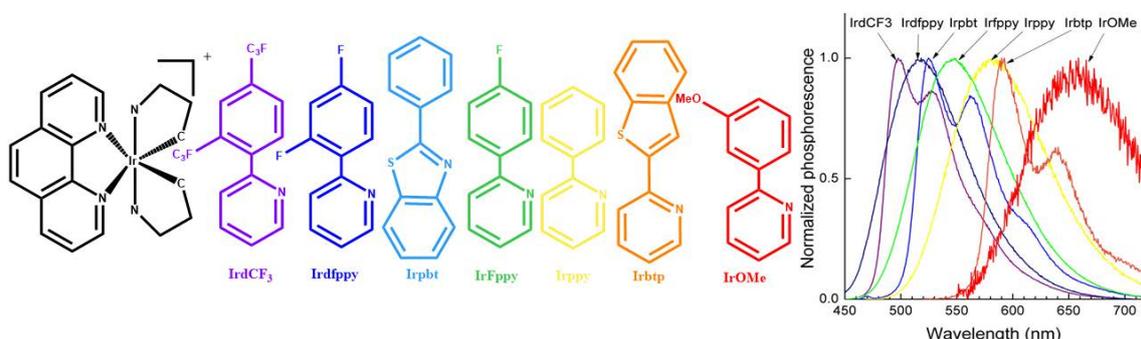


Figura I.9: Derivados bisciclotmetalados de iridio(III) con diferentes ligandos C^N y espectros de emisión normalizados de cada uno de ellos (10 μM) en acetonitrilo a temperatura ambiente.⁵⁴

Tal y como se aprecia en la Figura I.10 estos complejos se pueden dividir en homolépticos neutros, en los que los tres ligandos ciclotmetalados son iguales, o heterolépticos, con dos ligandos ciclotmetalados iguales y otro diferente o un ligando auxiliar, (L o X^Y), que determinará la carga del complejo. En este caso, nos centraremos en aquellos complejos octaédricos con la fórmula general [Ir(C^N)₂(X^Y)]ⁿ (n = 0, 1, -1). Los ligandos monoaniónicos se enlazan, por lo general, a través de átomos de C y de N, presentando el carbono carga formal negativa y generando enlaces covalentes muy fuertes con el Ir, siendo el ejemplo más típico el de la fenilpiridina (*ppy*). No obstante,

existen otros tipos de ligandos ciclometalados monoaniónicos como en los casos en los que se unen al centro metálico a través del carbono, oxígeno o azufre ($C^{\wedge}C$, $C^{\wedge}O$ o $C^{\wedge}S$). Por lo general, todos los complejos heterolépticos se sintetizan partiendo del μ -Cl-puente $[Ir(N^{\wedge}C)_2\mu-Cl]_2$ ⁵⁹ y del ligando auxiliar que se quiera incorporar, dando como resultado una disposición de los grupos ciclometalados con los átomos de nitrógeno en *trans*.⁶⁰ En general, los ligandos auxiliares pueden ser neutros o aniónicos y dar lugar a complejos con propiedades muy diferentes. Por ejemplo, a partir de ligandos neutros diimina, como las bipyridinas, se obtienen complejos catiónicos.⁶¹ Si se quieren obtener complejos neutros, se pueden emplear como ligandos auxiliares picolinatos $N^{\wedge}O$ o acetilacetatos $O^{\wedge}O$.⁶² Por su parte, los casos de complejos de Ir(III) aniónicos son más raros, aunque se han descrito algunos con cianuros o tiocianatos.⁶³

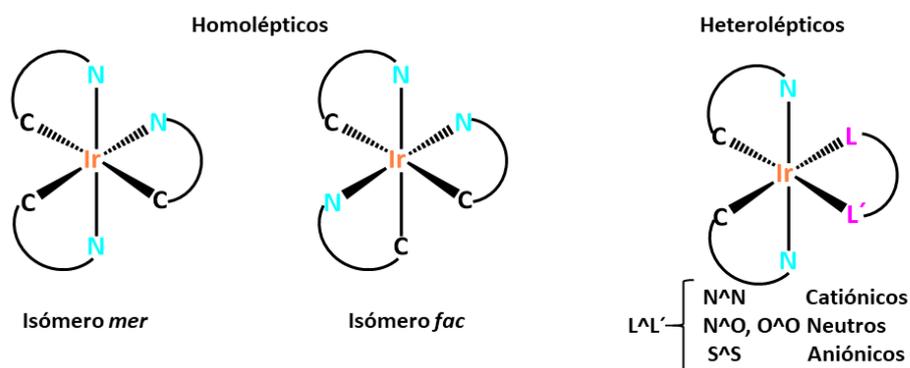


Figura I.10: Clasificación de compuestos de Ir(III) con ligando ciclometalados bidentados

Como ya se ha comentado, las propiedades emisivas de este tipo de complejos de Ir(III) vienen definidas por la naturaleza y conformación de los ligandos que los componen, tanto ciclometalados como auxiliares.⁶⁴ Modificaciones en el entorno del metal suelen provocar variaciones en las propiedades electrónicas, por lo que es importante conocer la naturaleza de los orbitales frontera que suelen estar implicados en las transiciones electrónicas y, en consecuencia, en las propiedades ópticas de estos compuestos.

Los cálculos teóricos a nivel TD-DFT son una buena herramienta para poder comprender y de esta forma modificar las propiedades electrónicas de estos compuestos. En este caso, uno de los complejos homolépticos más estudiados y empleado como arquetipo para entender sus propiedades ha sido el *fac*- $[Ir(ppy)_3]$, descrito por primera

vez en 1985 por Watts⁶⁵, mientras que para aquellos heterolépticos puede emplearse como referencia $[\text{Ir}(\text{ppy})_2(\text{bpy})]\text{PF}_6$.⁶⁶ De esta manera, pueden emplearse estos ejemplos para ilustrar las propiedades generales de los compuestos.

Por lo general, en estos compuestos el HOMO se encuentra deslocalizado entre el orbital t_{2g} del Ir y los orbitales π de los anillos fenílicos del ligando ciclometalado lo que refleja el carácter covalente del enlace Ir-C. Por su parte, el LUMO se encuentra localizado en el en los orbitales π^* de los anillos piridinicos, bien de la diimina en el caso del complejo $[\text{Ir}(\text{ppy})_2(\text{bpy})]\text{PF}_6$ o del propio ligando ciclometalado para *fac*- $[\text{Ir}(\text{ppy})_3]$.⁶⁷ Así, los procesos de absorción que se producen al irradiar en el UV-visible se pueden clasificar en dos grupos,⁶⁴ transiciones ^1LC de un orbital π a uno π^* del mismo ligando bidentado o de transferencia de carga (CT), en las que la transferencia del electrón puede ir del metal al orbital π^* de ligando ($^1\text{MLCT}$) o, en el caso de complejos heterolépticos, de un ligando a otro $^1\text{LL}'\text{CT}$. Por último suelen presentar absorciones a longitudes de onda superiores a 430 nm debido a transiciones $^3\text{MLCT}$, formalmente prohibidas, pero que tienen cierta permitividad debido al efecto del átomo pesado.⁶⁸ Estas transiciones, de acuerdo con cálculos teóricos, son promociones electrónicas desde el orbital HOMO, al LUMO. Los estados $^1\text{MLCT}$ decaen rápidamente a estados triplete $^3\text{MLCT}$ por cruce intersistémico, los cuales se relajan hasta los estados vibracionales más bajos de los mismos, para después generar procesos radiativos fosforescentes.⁶⁹ En general, en estos compuestos de Ir(III) el desdoblamiento de campo en los orbitales d es relativamente grande y mayor que en otros compuestos de iones d^6 como Ru(II) y Os(II), debido a la gran carga positiva del metal. Por otra parte, la presencia de los grupos ciclometalados de campo fuerte incrementa la energía de los orbitales antienlazantes del metal, que aparecen por encima de los π^* de los ligandos lo que dificulta las transiciones de tipo MC no emisivas.

En el caso del compuesto $[\text{Ir}(\text{ppy})_2(\text{bpy})]\text{PF}_6$, prototipo de este tipo de compuestos, la banda de emisión que presenta, centrada alrededor de 600 nm y con una vida media de 0.3 μs , se atribuye a la desactivación del estado excitado de menor energía de tipo metal-ligando ($\text{Ir} \rightarrow \text{bpy}$) $^3\text{MLCT}$ con una notable contribución ^3LC (L ciclometalado) debido a la proximidad de ambos estados.^{66b} El valor de la vida media es coherente con una alta contribución $^3\text{MLCT}$, ya que las emisiones desde estados ^3LC

suelen ser estructuradas y presentan vidas medias más largas. Como se representa en la Figura I.11, y de acuerdo con la regla de Kasha, en estos compuestos, el estado triplete de menor energía responsable de la fosforescencia puede serlo debido a distintas contribuciones de transiciones $^3\text{MLCT}$ o ^3LC . Si el estado más estable es el producido por la transición $^3\text{MLCT}$, éste será el que mayor contribución tenga para esa emisión y la banda suele ser ancha. En cambio, si el más estable es el generado por el ^3LC , las bandas generadas suelen ser estructuradas, presentando hipsocromismo en medios rígidos, así como en medios apolares y los tiempos de vida en general más largos. A pesar de esta aproximación, suele ser más correcto describir los procesos emisivos desde mezclas de estados excitados ($^3\text{MLCT}$, $^3\text{LLCT}$, $^3\text{LL}'\text{CT}$, ^3LC).

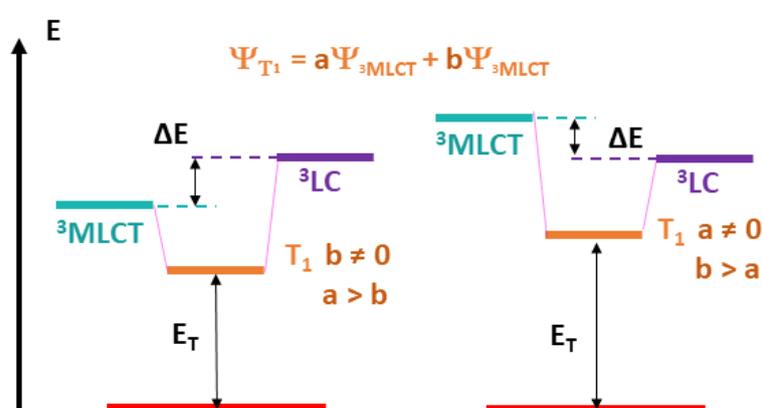


Figura I.11: Diagrama de energía de los estados $^3\text{MLCT}$ y ^3LC .

Precisamente, la variación de los ligandos auxiliares, junto con la modificación de los grupos ciclometalados, es lo que hace que se puedan variar sus propiedades ópticas con relativa facilidad. Para controlar esas propiedades, es necesario entender la naturaleza tanto del estado fundamental como del excitado mediante la ayuda de cálculos TD-DFT. Dado que este trabajo se va a centrar en complejos de Ir(III) de tipo $[\text{Ir}(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2(\text{N}^{\wedge}\text{N})]^+$ en el que $\text{C}^{\wedge}\text{N}$ es un ligando ciclometalado derivado de la fenilpiridina y $\text{N}^{\wedge}\text{N}$ representa a un ligando neutro de tipo diimina como ligando auxiliar, se van a emplear los cálculos teóricos realizados para $[\text{Ir}(\text{ppy})_2(\text{bpy})]\text{PF}_6$ como referencia.⁶⁶

Uno de los principales objetivos del diseño de nuevos complejos de Ir(III) a través de la modificación de los ligandos es el de ajustar el gap entre el HOMO y el LUMO y de esta manera conseguir estados excitados en toda la región espectral del visible obteniendo de esta manera materiales capaces de emitir luz desde el azul hasta el rojo.

En la Figura I.12a se ilustran las modificaciones de ligandos más utilizadas que afectan a la energía HOMO y/o LUMO de los complejos de Ir(III) y en la Figura I.12b de los cambios en las propiedades de los sustituyentes del grupo ciclotalado y auxiliares.

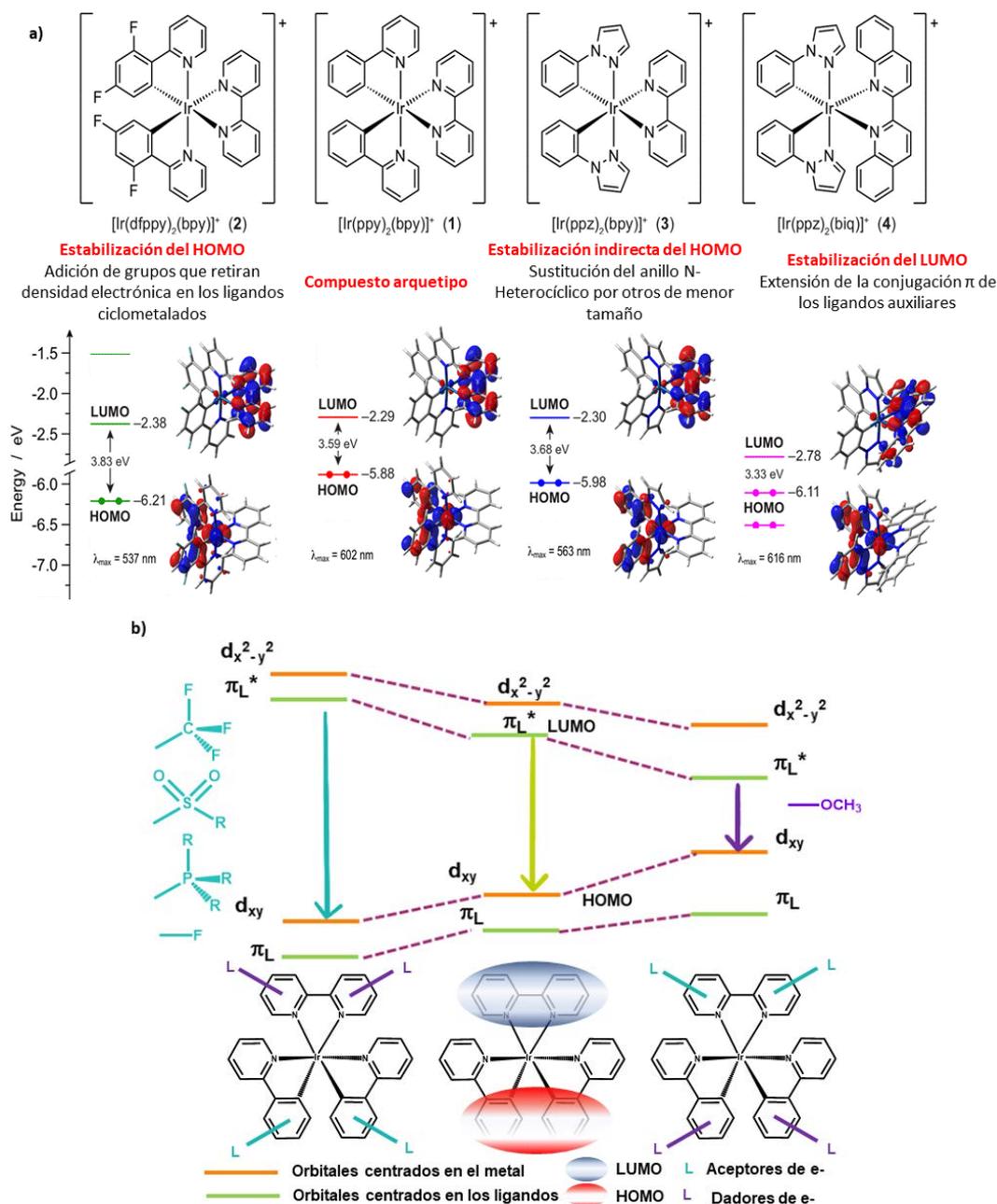


Figura I.12. a) Estructuras de los compuestos (parte superior) y diagrama de energías (parte inferior). El efecto provocado por los cambios de los sustituyentes en los orbitales frontera de los compuestos junto con la energía calculada de la transición HOMO-LUMO. En la parte inferior aparece λ_{exp} medida a temperatura ambiente en acetonitrilo. b) Estrategias para la modulación del color de la emisión en $[\text{Ir}(\text{ppy})_2(\text{bpy})]\text{PF}_6$. Se observa que el HOMO se encuentra localizado en el metal y los anillos fenólicos de los ligandos ciclotalados mientras que el LUMO se localiza en el ligando auxiliar.

Como se aprecia en la Figura 1.12b, en estos complejos el HOMO se centra casi por completo en el anillo fenílico de los grupos ciclotmetalados y en el metal, mientras que el LUMO pasa a localizarse en el ligando auxiliar, en estos casos de una biperidina. De esta manera, podemos modular la emisión mediante la modificación de los sistemas aromáticos del grupo ciclotmetalado o de los ligandos auxiliares. Es importante tener en cuenta que, en algunos casos, obtener compuestos que emitan en el rojo o en el azul puede provocar un drástico descenso en sus rendimientos cuánticos.

- *Efecto de la sustitución en el anillo fenílico de C^N*: En general, la funcionalización del anillo fenílico con grupos dadores o aceptores de electrones lleva a la desestabilización o a la estabilización del HOMO, respectivamente. Este hecho se aprecia en el ejemplo de la Figura 1.12a en el que la sustitución de la *ppy* por la *dfppy* provoca la estabilización del HOMO a causa de los átomos de F que retiran densidad electrónica del anillo fenílico donde se localiza este orbital. En muchos casos se ha tratado de evitar los grupos F, dado que los enlaces F-C_{arilo} se han identificado, a veces, como puntos electroquímicamente inestables.⁷⁰ En la mayoría de casos, los estudios se han centrado en la incorporación de grupos que retiran densidad electrónica como trifluorometilos,⁷¹ sulfonilos,⁷² fosfonios⁷³ o nitrilos⁷⁴, con la finalidad de provocar un desplazamiento hacia el azul en la emisión. Además, la ubicación del sustituyente con respecto al enlace Ir-C, juega un papel crucial. Existen ejemplos en los que la colocación en *meta* al enlace C-Ir de grupos como el SF₅ genera un mayor desplazamiento al azul que su colocación en *para* (Figura 1.13d).^{75 53c, 76 77}
- Otros estudios, se han centrado directamente en el *cambio del grupo arilo del ligando ciclotmetalado* a un heterociclo como la piridina^{60b, 78} o la pirimidina.⁷⁹ La presencia de átomos de nitrógeno en estos heterociclos produce la estabilización del HOMO, retirando densidad electrónica del centro metálico (Figura 1.13c). A pesar de todos los ejemplos que aparecen en la bibliografía sobre el empleo de diferentes grupos para provocar desplazamientos hacia el azul, son mucho menos abundantes los casos de grupos que provoquen desplazamientos hacia el rojo. Un ejemplo es el uso de grupos metoxido⁸⁰, estos estudios revelan que colocar estos grupos en *para* al enlace Ir-C genera un desplazamiento hacia

mayores longitudes de onda, mientras que colocarlos en *meta* provoca emisiones más energéticas.

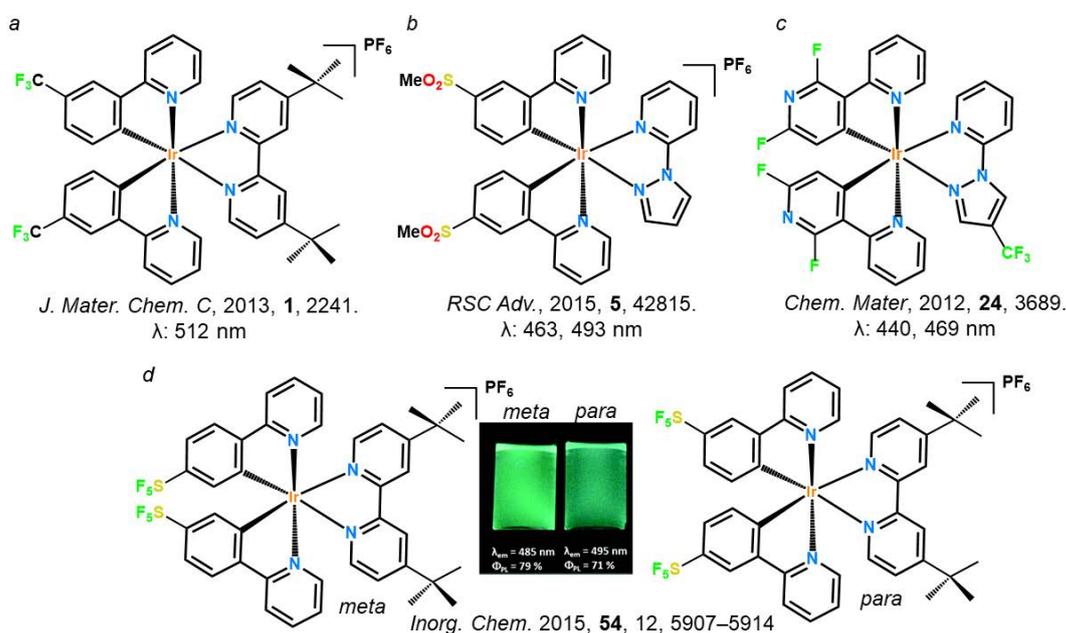


Figura I.13: Ejemplo de compuestos de Ir(III) ciclometalados

- *Efectos de la sustitución en el anillo piridínico de C[^]N:* El efecto de funcionalizar el fragmento piridínico del grupo ciclometalado o, incluso, su intercambio por otros ligandos es menos evidente. El ejemplo más común es la sustitución de fenilpiridinato por 1-fenil-1H-pirazolato (*ppz*), dado que la presencia de un segundo átomo de nitrógeno en el heterociclo provoca un aumento en la energía de emisión debido a la estabilización del HOMO.⁷² Otros ejemplos de C[^]N con heterociclos con más de un átomo de N, son los imidazoles, 1,2,3- triazoles o los 1,2,3,4-tetrazoles. En alguno de estos casos, se ha demostrado que no siempre actúan modulando la energía del HOMO, sino que como en el caso del fenil-1,2,3- triazol (*phtl*),⁸¹ lo hacen a través del LUMO.⁷² en la Figura I.12a se observa el efecto que tiene el cambio del grupo ciclometalado *ppy* por la *ppz*. Al rebajar el tamaño del anillo N-heterocíclico del grupo ciclometalado se produce una estabilización indirecta del HOMO (algunos ejemplos adicionales se ven en la Figura I.14).⁸²

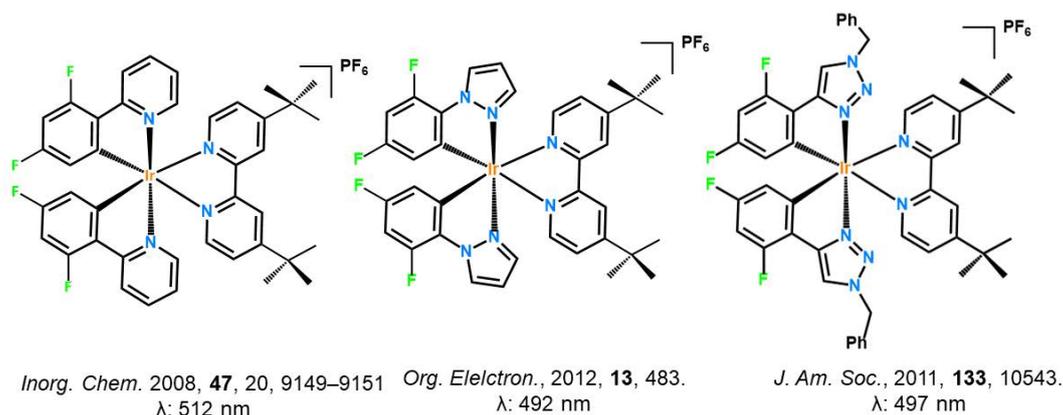


Figura I.14: Compuestos de Ir en los que el cambio en el anillo N-Heterocíclico provoca un cambio en las propiedades emisivas.

- *Efectos de la sustitución o modificación del grupo N^N:* En la figura I.12a se muestra el efecto que tiene el cambio en del ligando auxiliar en las propiedades emisivas. En este caso, la extensión de la conjugación π del ligando implica la estabilización del LUMO obteniéndose un desplazamiento hacia el rojo en los espectros de emisión. Por el contrario, una disminución de esa conjugación se refleja en desplazamientos hacia longitudes de onda más energéticas.⁸³ Así pues, la modificación de los ligandos de tipo diimina puede, de forma sencilla, facilitar la sintonización de la emisión en todo el rango del visible. Como ya se ha comentado, en este tipo de derivados el LUMO se suele localizar en este ligando. Por ello, llevar las emisiones hacia el azul es relativamente sencillo mediante la incorporación de grupos dadores de electrones, como pueden ser las aminas, o mediante la sustitución de la piridina por otros heterociclos más σ -dadores. Por el contrario, si lo que se desea son emisiones más desplazadas al rojo debemos estabilizar el LUMO mediante la incorporación de grupos que retiren densidad electrónica.⁸⁴ En la Figura I.15 se ilustra este ejemplo al sustituir el grupo metilo de la bipyridina por grupos dimetilamino que provoca un desplazamiento hacia el azul de 60 nm.^{83a}

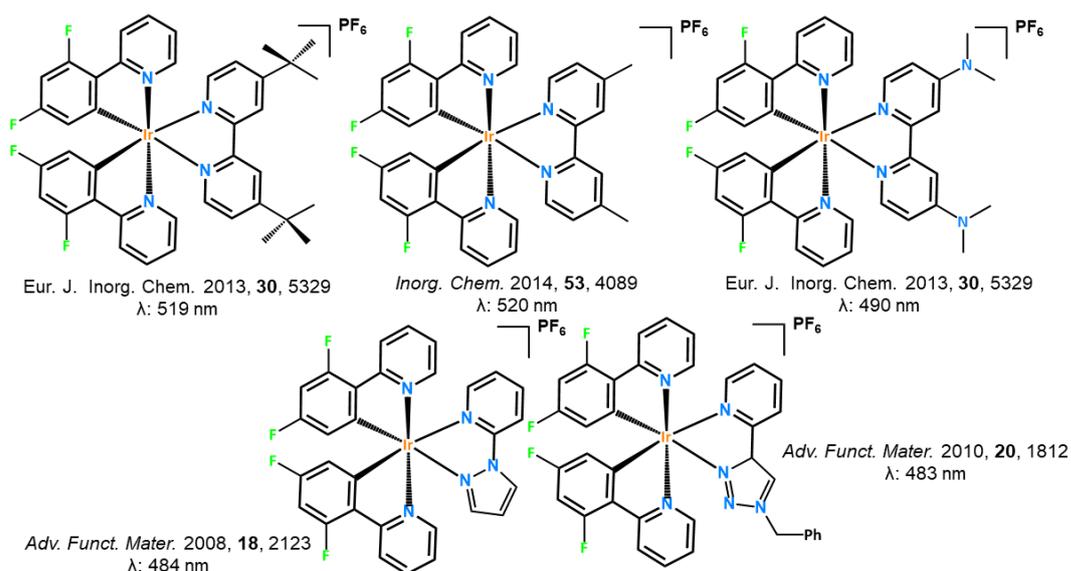


Figura I.15: Ejemplos de compuestos ciclotalados de Ir(III) en los que se modifican los ligandos auxiliares.

I.4 Actividad Biológica de compuestos de Pt

En nuestra sociedad, el cáncer genera un fuerte impacto tanto a nivel social como económico, llegando a ser la segunda causa de mortalidad en Europa, detrás de las enfermedades cardiovasculares, y la primera entre personas menores de 65 años.

Esta enfermedad pueda alterar el correcto funcionamiento de los procesos vitales de nuestro cuerpo a causa del crecimiento descontrolado de células malignas en cualquier tejido. Aparece cuando las células maduras, en lugar de morir, se dividen sin control y de forma amorfa, formando nuevos tejidos o masas denominados tumores. Entre los factores que pueden dar lugar a esta enfermedad se encuentran los genéticos y los agentes externos, tales como los físicos (radiación UV), químicos (componentes del tabaco) o biológicos (infecciones causadas por virus o bacterias).⁸⁵ Los tratamientos que se emplean dependen del tipo y del avance del cáncer o estadio de la enfermedad, así se pueden usar algunos más tradicionales como la cirugía, quimioterapia o radioterapia, u otros más novedosos como la inmunoterapia,⁸⁶ terapias dirigidas,⁸⁷ tratamientos con hormonas o terapias fotodinámicas.⁸⁸

Hasta la fecha, el tratamiento más utilizado en la mayoría de los pacientes con esta enfermedad es la quimioterapia.⁸⁹ Tal y como se refleja en la Figura I.16, la síntesis del cisplatino y el descubrimiento de su empleo en quimioterapia supuso un gran impulso en el tratamiento de esta enfermedad, así como en el desarrollo de nuevos fármacos. La síntesis del cisplatino $cis\text{-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ se remonta a 1845, denominándose en primer momento Sal de Peyrone en honor a su descubridor,⁹⁰ mientras que su estructura no fue descrita hasta unos años más tarde por Werner.⁹¹ No obstante, el descubrimiento de su actividad antineoplásica no tuvo lugar hasta el año 1965, cuando Barnett Rosenberg observó accidentalmente la inhibición de la proliferación de una familia de bacterias al exponerlas a campos eléctricos. Rosenberg llegó a la conclusión de que el electrodo de platino empleado junto con el buffer de cloruro de amonio generaban el compuesto $cis\text{-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, responsable de la inhibición del crecimiento bacteriano.⁹² Desde ese momento comenzó su evaluación en modelos murinos, llegando a realizar ensayos clínicos en el año 1971, que acabaron con su aprobación en 1979 por la FDA y, a continuación, en todo el mundo para el tratamiento de diversos tipos de cáncer. En la actualidad, cerca del 50 % de los tratamientos contra esta enfermedad emplean el

cisplatino como fármaco, incluyendo el cáncer de ovario, vejiga, pulmón, estómago o testicular, entre otros. Además, este descubrimiento abrió la puerta a la investigación de numerosos compuestos con una estructura similar a la del cisplatino, siendo sólo dos aprobados a nivel mundial, el oxaliplatino y el carboplatino,⁹³ y otros como el nedaplatino o el lobaplatino aceptados solamente en algunos países.

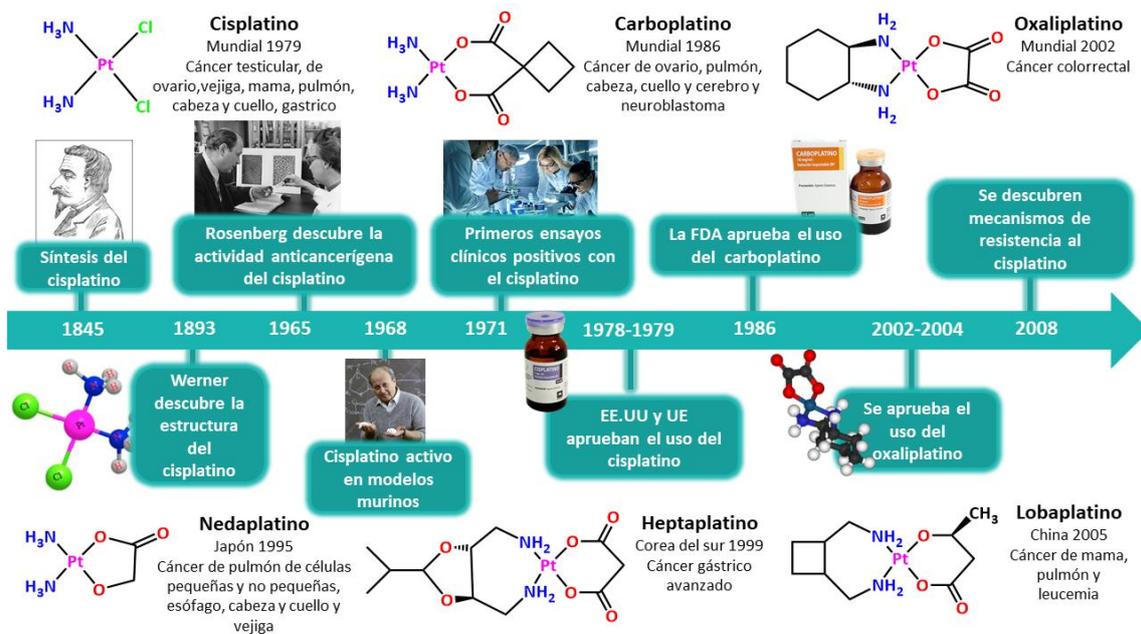


Figura I.16: Línea temporal desde el descubrimiento del cisplatino hasta su uso clínico y el desarrollo de nuevos fármacos derivados del mismo.

Desde su descubrimiento, se han invertido muchos recursos en entender el funcionamiento de estos fármacos y en conocer cómo actúan una vez suministrados. En el caso particular del cisplatino, este proceso se ilustra en la Figura I.17, al entrar al torrente sanguíneo se desencadenan una serie de eventos que contribuyen a su efecto citotóxico, siendo su interacción con el ADN el paso más decisivo de ellos. Mientras permanece en el torrente sanguíneo, su vida media es relativamente alta gracias a la gran concentración de iones cloruro en este medio (100 mM).⁹⁴ No obstante, puede interactuar con ciertas proteínas presentes en el plasma como la albumina, cisteína o la transferrina desactivando su efecto⁹⁵ y haciendo que hasta el 65-95% del cisplatino administrado se inactive, creando resistencia “antes del objetivo” (pre-target).⁹⁶

El 50% del cisplatino que queda activo entra a las células a través de transporte activo mediante proteínas transmembrana. Estas proteínas forman los canales aniónicos

reguladores de flujo por volumen (VRACs), y la pérdida de sus subunidades LRRC8A y LRRC8D puede asociarse con la resistencia adquirida por estas células al fármaco.

El otro 50 % entra a través de difusión pasiva por la membrana plasmática, gracias a la diferencia de concentración de iones cloruro o a través de otros medios de difusión activa, como el de las proteínas CTR1 involucradas en el transporte de cobre,⁹⁷ o los transportadores de cationes orgánicos OCTs, cuyas descompensaciones son otro indicio de una posible resistencia al fármaco.⁹⁸

En el interior de las células la concentración de iones cloruro en el citoplasma es mucho menor (4-20 mM), lo que facilita la activación del fármaco, formándose la especie hidrolizada del cisplatino.⁹⁹ Las moléculas activadas actúan como centros electrófilos debido a la carga positiva de la sal $cis\text{-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]^+$ o $cis\text{-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$, reaccionando con nucleófilos citoplasmáticos como el glutatión (GSH), la metionina, metalotioleínas y otras proteínas ricas en grupos cisteína¹⁰⁰. La pérdida del cisplatino activado por su interacción con ciertas moléculas que actúan como antioxidantes provoca también su agotamiento en el citoplasma y con ello provocando un estrés oxidativo y la muerte celular.

Las especies catiónicas activadas restantes, llegan al núcleo donde reaccionan con centros nucleofílicos de bases purínicas del ADN, siendo las más probables las posiciones N7 de adenina y la guanosina, tal y como se ve en la Figura I.17. De esta manera, se forma un aducto monofuncionalizado de ADN con el platino, con la consiguiente pérdida de la molécula de agua. Seguidamente se produce la pérdida del Cl⁻ para unirse a una segunda base del ADN, formando enlaces cruzados “cross-links” entre bases contiguas de la misma cadena de ADN o de cadenas distintas generando enlaces inter-cadenas.¹⁰¹ Estas distorsiones provocan una cascada de procesos que acaban con la muerte celular debido a que afectan a la correcta lectura de las señales que inician la transducción del ADN. Por otro lado, algunas proteínas son capaces de reconocer dichas lesiones y actuar, bien reparándolas o bien parando la replicación e induciendo la apoptosis de la célula. La llamada resistencia “después del objetivo” (post-target) agrupa todos los posibles defectos o fallos en las vías que llevan a la muerte celular. Un ejemplo de ellos es la inactivación del supresor tumoral p53 (causante de la resistencia de casi la mitad de las neoplasias), las proteínas NER (que actúan reparando

los aductos Pt-ADN) o las MMR (que reconocen estos fallos o aductos e intentan repararlos, pero tras fallar, inician procesos apoptóticos).

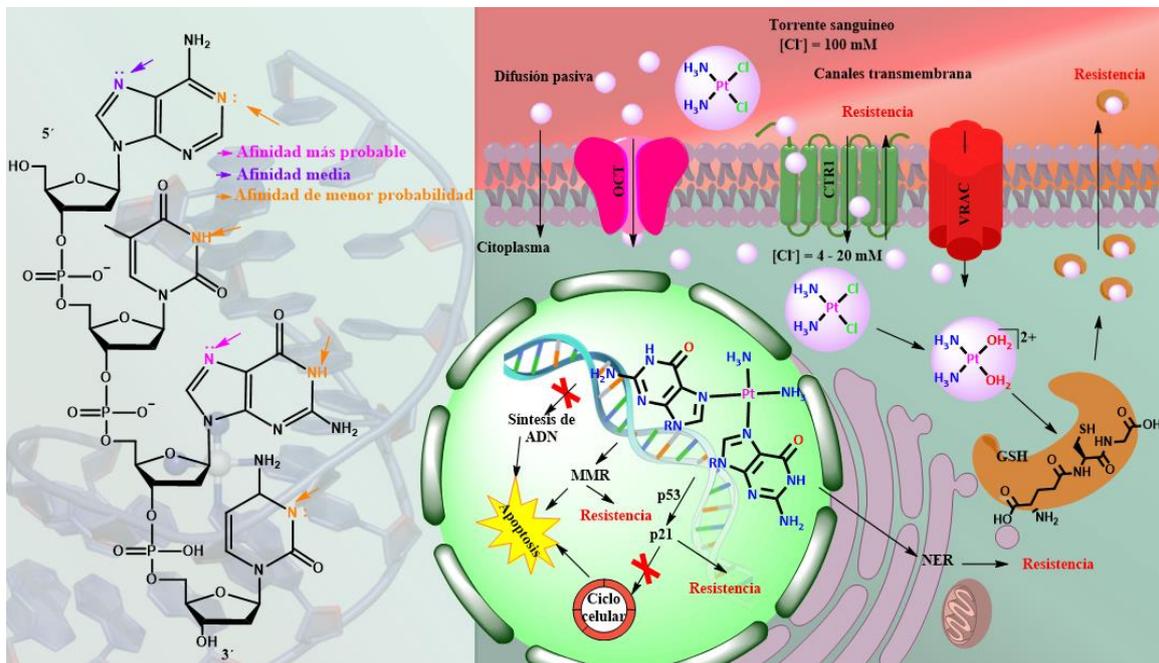


Figura I.17: Centros nucleófilos del ADN con mayor probabilidad de interacción con el cisplatino y mecanismo de acción del cisplatino.

Una vez estudiado y conocido el mecanismo de acción del cisplatino y las vías que tienen las células de crear posibles resistencias, el siguiente paso fue el del diseño de nuevos fármacos que, aun siguiendo mecanismos de acción similares, minimicen esas resistencias. En esta línea se encuentran los fármacos de 1^a, 2^a y 3^a generación:

El cisplatino encabeza el grupo de los fármacos de 1^a generación. Entre los fármacos de 2^a generación se encuentran el carboplatino o el nedaplatino. Estos compuestos siguen un mecanismo de acción similar al del cisplatino con la diferencia de presentar ligandos que reducen su reactividad, haciendo que se rebaje su neurotoxicidad y que las dosis que se empleen en estos tratamientos sean más elevadas. Finalmente, para conseguir una mayor solubilidad y reducir algunos efectos como la nefrotoxicidad, se empezaron a emplear otras aminas y grupos lábiles que se alejaban aun más de la estructura del cisplatino, llegando a los derivados de 3^a generación como el oxaliplatino. Este fármaco no actúa dañando la cadena de ADN, sino que genera un estrés en la actividad de la célula que acaba desencadenando su muerte.^{100, 102}

Sin embargo, debido a todos los inconvenientes que seguían presentando estos fármacos, en la actualidad la investigación se centra en la búsqueda de nuevos complejos de platino en los que el mecanismo de acción difiera drásticamente del anteriormente comentado, y que reduzcan la toxicidad sistémica y la resistencia adquirida. De esta manera, tal y como se representa en la Figura I.18, se eligieron diferentes estrategias de síntesis de diversos complejos como derivados polinucleares,¹⁰³ compuestos con geometría trans¹⁰⁴ o monofuncionalizados,¹⁰⁵ o la preparación de fármacos que se activen sólo en los tejidos cancerígenos. Un ejemplo de estos últimos son algunos compuestos inertes de Pt(IV) que al reducirse pasan a su forma activada.¹⁰⁶

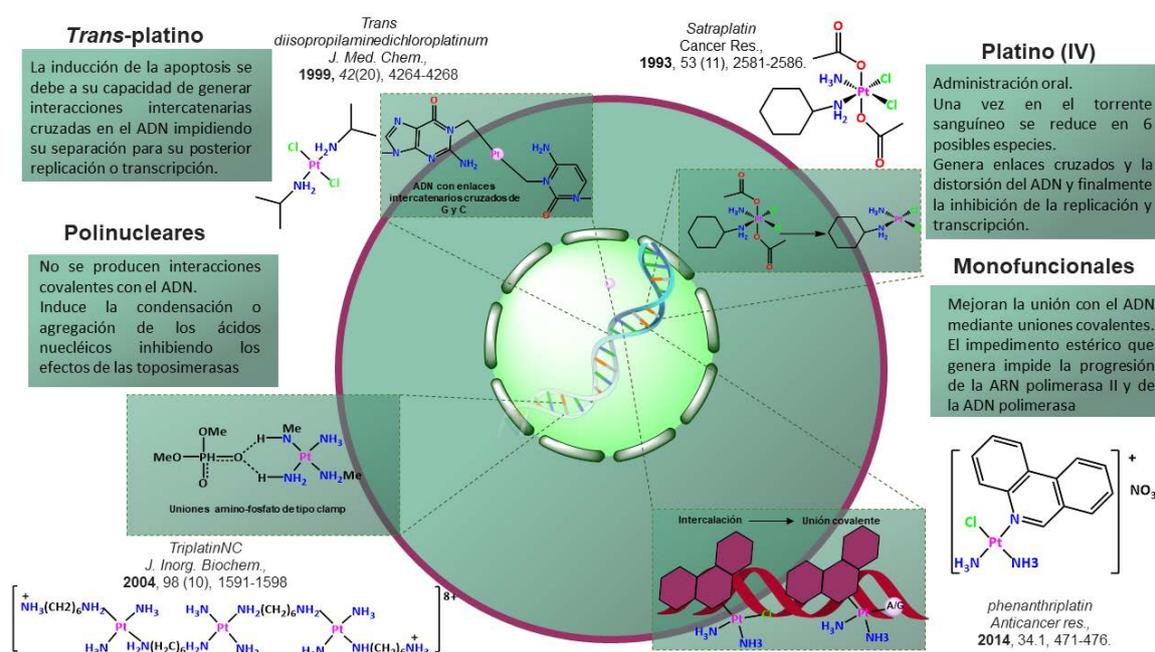


Figura I.18: Compuestos de Pt y sus propiedades para reducir la resistencia adquirida.

Una de las estrategias para aumentar la eficacia de estos compuestos es rebajar los posibles mecanismos de resistencia, como la desactivación al reaccionar con restos azufrados de proteínas o péptidos presentes en el citosol. Con esta finalidad se han empleado ligandos más voluminosos que hacen que el complejo esté estéricamente más impedido, como es el caso del picoplatino *cis*-[PtCl₂(NH₃)(2-metilpiridina)] (Figura I.19). Los resultados obtenidos demostraron que era menos susceptible a desactivarse al reaccionar con tioles y que, a su vez, mantenía la citotoxicidad del cisplatino actuando de manera eficaz frente a líneas celulares resistentes a este fármaco.¹⁰⁷ Un paso más dentro de la incorporación de grupos voluminosos a la estructura es el empleo de

ligandos que además sean biológicamente activos. Por ejemplo, la incorporación de estrógenos, como el estradiol, incrementa la citotoxicidad en complejos de platino. En esta línea, el compuesto VP-128 (Figura I.19), provocaba la apoptosis en líneas celulares de cáncer de ovarios que sobre-expresaban receptores para estos estrógenos en su membrana celular sin el incremento de su toxicidad en otras líneas no tumorales.¹⁰⁸ Otro ejemplo de bioligandos voluminosos empleados para ganar selectividad y reducir la desactivación son los azúcares conjugados. Las células cancerígenas se dividen a una mayor velocidad que las normales, por lo que requieren de una fuente extra de energía. Los carbohidratos forman parte de glicolípidos y glicoproteínas necesarios para formar los nuevos nucleótidos, y la glucosa es una de las principales fuentes de energía, por lo que las células tumorales presentan en sus membranas un mayor número de receptores de glucosa.¹⁰⁹ Hasta la fecha, se han estudiado complejos de Pt con carbohidratos funcionalizados por ligandos amino mono o bidentados, por alcoholes, fosfinas u otros grupos P, S o Se dadores.^{110 111}

Por su parte, los bisfosfonatos, poseen una elevada afinidad por tejidos calcificados debido a su tendencia de formar quelatos con Ca^{+2} . Algunos estudios han demostrado que puede ser absorbido en las superficies óseas, inhibiendo el crecimiento tumoral y mostrando en algunos casos mejores resultados que el cisplatino actuando con un mecanismo de acción que difiere de este.¹¹² Margiotta y colaboradores¹¹³ publicaron unos compuestos binucleares con estos ligandos ($[\{\text{Pt}(\text{cis-1,4-DACH})\}_2(\text{PAM-H})]^+$, Figura I.19) que resultaron ser citotóxicos hasta en 13 líneas celulares diferentes, algunas de ellas resistentes al cisplatino.

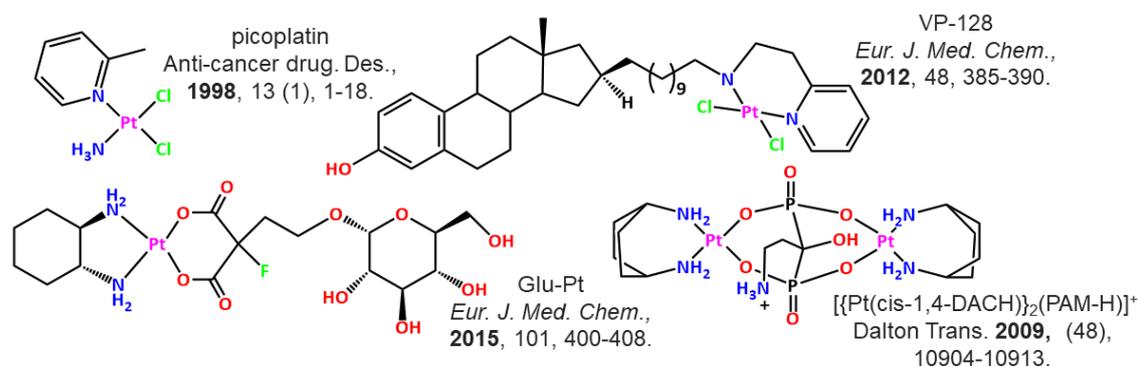


Figura I.19: Derivados de Pt que siguen mecanismos de acción diferentes a los del cisplatino

En la mayoría de tipos de cáncer, la angiogénesis juega un papel primordial para nutrir a las células, algunas proteínas de la superficie de la membrana de estas células presentan una mayor concentración de integrinas y aminopeptidasas, por lo que sirven de receptores en quimioterapia.¹¹⁴ Así la funcionalización de complejos de Pt con péptidos que puedan reconocer estas dianas, como las secuencias (Arg-Gly-Asp) o (Asn-Gly-Arg), son una buena herramienta para conseguir una gran selectividad.¹¹⁵ Otro ejemplo es el péptido formado por 36 aminoácidos, Chorotoxin (CTX), que contiene cuatro puentes disulfuro y que puede unirse a células tumorales de pulmón, próstata o melanomas. Dicho péptido ya ha sido funcionalizado en algunos derivados de Pt.¹¹⁶

En los últimos años se ha probado a cambiar otros aspectos como el empleo de complejos organometálicos de otros metales de transición (Ru, Os, Pd, Au, Rh, Ir),¹¹⁷ obteniéndose complejos que actúan sobre diversas dianas celulares mediante mecanismos de acción muy diferentes. De hecho, son muchas las posibles dianas celulares: lisosomas, retículos endoplasmáticos, endosomas, el núcleo u otros orgánulos como son las mitocondrias. Precisamente, estas últimas son unas dianas muy interesantes debido a que la alteración de su correcto funcionamiento afecta directamente al metabolismo celular, siendo uno de los primeros marcadores que diferencian a una célula maligna de una sana.

I.5 Terapia Fotodinámica

A pesar de la multitud de trabajos centrados en la búsqueda de nuevos fármacos, así como en conocer los mecanismos de acción y actividad de estos compuestos en las células tumorales, son relativamente pocos los que llegan a ser realmente eficaces y muy pocos los que llegan a ser aprobados para su uso como fármaco. Por este motivo, también es importante enfocarse en algunas técnicas ya existentes y eficaces, pero menos estudiadas. Así, la Terapia Fotodinámica (PDT del inglés *Photodynamic Therapy*) es una terapia aun emergente que consiste en un procedimiento mínimamente invasivo, empleado tanto para tratar enfermedades provocadas por infecciones bacterianas, virales o fúngicas, como para otras enfermedades cutáneas o diferentes clases de cáncer como el de pulmón, vejiga, esófago o de cerebro.¹¹⁸ Además, es un proceso relativamente sencillo en el que solo son necesarios tres componentes: un fotosensibilizador (PS del

inglés *photosensitizer*), luz y oxígeno. Por separado ninguno de ellos ha de generar toxicidad, pero al unirse inician una cascada de eventos que acaban con la generación de especies reactivas de oxígeno.

Desde la antigüedad, la luz ha tenido un papel fundamental y se ha empleado como herramienta en la curación de ciertas enfermedades tales como el vitíligo o la psoriasis.¹¹⁹ Sin embargo, no se sentaron las bases de la fototerapia hasta el inicio del siglo XX, cuando Finsen recibió el premio Nobel en 1903 por el tratamiento exitoso de una enfermedad mediante la exposición a la luz.¹²⁰ No obstante, el empleo de un PS combinado con luz para generar toxicidad y tratar una enfermedad se le atribuye por serendipia a Raab, quien observó la inactivación del protozoo *Paramecium caudatum* al ser expuesto a luz en presencia de un colorante, la acrinidina.¹²¹ Este fenómeno fue desarrollado a lo largo de la primera década del siglo XX junto con Jodlbauer, Jesionick y Von Tappeiner, quienes llevaron la PDT a la clínica obteniendo muy buenos resultados en el tratamiento del cáncer de piel.¹²² Desde entonces, se buscó la optimización la técnica y de nuevos fotosensibilizadores. En la actualidad, la terapia fotodinámica es una herramienta que se ha ido perfeccionando con el paso del tiempo; llegando a aprobarse un primer medicamento para su uso en el tratamiento de diversos tipos de cáncer por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) en 1991. Este medicamento es el porfímero de sodio (Photofrin).¹²³

En la práctica, como se aprecia en la Figura I.20, este tratamiento comienza con la administración del PS. Seguidamente, la irradiación con luz de una determinada longitud de onda lo activa. La presencia de oxígeno en los tejidos irradiados desencadena una serie de eventos que finalizan con la muerte celular.¹²⁴ Las especies reactivas de oxígeno (ROS, del inglés *Reactive Oxygen Species*) que se forman tienen tiempos de vida muy cortos (10-320 ns), por lo que su difusión alcanza únicamente de unos 10 a 55 nm en las células, favoreciendo su selectividad. Además, estos fotosensibilizadores tienden a acumularse más en células tumorales que presentan receptores de lipoproteínas de baja densidad (LDL del inglés *low density lipoproteins*). Estas células necesitan del colesterol suministrado por las LDL para crear nuevas membranas celulares en la división celular. De esta forma, la selectividad viene dada por la capacidad del compuesto de localizarse en la zona con células cancerígenas y de la

aplicación de la fuente de luz solo en el área a tratar. Así, la efectividad del PS radica en la elevada concentración de especies reactivas de oxígeno que se generan en una zona determinada, dañando proteínas o ácidos grasos, lo que provoca la muerte de las células tumorales por apoptosis y/o necrosis.¹²⁵ Normalmente, esto provoca daños en las estructuras de las mitocondrias; aunque se han descrito otros procesos como la destrucción y pérdida de la integridad de la membrana, induciendo la necrosis, o la autofagia provocada por daños en los lisosomas o en el retículo endoplasmático. Finalmente, las células que hayan resistido a los efectos directos de la terapia pueden ser destruidas por la respuesta sistémica que se genera por la hipoxia provocada por daños en el sistema vascular del tejido, debido a la obstrucción de sus vasos sanguíneos o por la respuesta inmune que se desencadena provocando la acumulación de células inflamatorias en su alrededor.⁸⁸

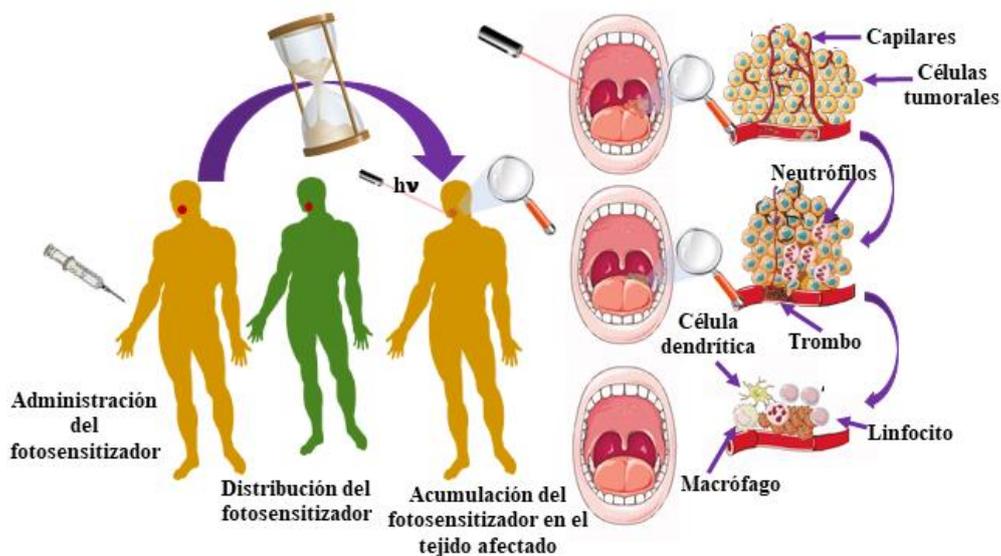


Figura I.20: el efecto antitumoral de esta terapia radica en 3 mecanismos inter-relacionados: la citotoxicidad que generan las especies reactivas de oxígeno, los daños en el sistema vascular que alimenta el tumor y la inducción de una respuesta inflamatoria.

Este tratamiento presenta muchas ventajas con respecto a los convencionales, sobre todo en casos en los que el cáncer está en estadios tempranos. En primer lugar, no es un tratamiento invasivo, por lo que es idóneo para los pacientes más vulnerables a los que la exposición a radioterapia o a una quimioterapia convencional supondría más problemas que beneficios. Por otro lado, es una técnica óptima en pacientes oncológicos en los que la cirugía no es una opción, mejorando significativamente su calidad de vida.

Por último, el PS empleado, al no ser citotóxico en condiciones de oscuridad, ofrece una mínima toxicidad en los tejidos circundantes, lo que disminuye los posibles efectos secundarios, así como la posibilidad de generar mecanismos de resistencia adquirida al tratamiento.¹²⁶

Los procesos fotofísicos y fotoquímicos involucrados en la PDT están representados en la Figura I.21, siendo la absorción de luz por parte del PS y la transferencia de energía al oxígeno, los procesos de mayor importancia. El PS en su estado fundamental (S_0) presenta dos electrones de espines opuestos en su orbital más estable. La absorción de luz induce la transferencia de uno de ellos a un orbital de mayor energía. El PS excitado (PS^* en S_1) se desestabiliza fácilmente emitiendo fluorescencia o mediante procesos de relajación no radiativos. Otra alternativa es que mediante un cruce intersistémico se obtenga un estado triplete más estable (T_1), desde donde puede decaer al estado fundamental emitiendo fosforescencia o interactuar con el oxígeno que se encuentra en los tejidos expuestos a la luz mediante dos posibles mecanismos (de tipo I o II).^{57b}

El mecanismo de tipo I implica la transferencia de un protón o de un electrón entre el PS y el oxígeno existente en el tejido cancerígeno (substrato), provocando la formación de radicales hidroxilo ($\cdot OH$) o superóxido ($O_2^{\cdot -}$). La cascada de reacciones que generan estas especies activas induce un estrés oxidativo.

En el caso del mecanismo de tipo II, el PS en el estado triplete puede desactivarse transfiriendo esa energía a una molécula de oxígeno en su estado fundamental triplete (3O_2).¹²⁷ Esta transferencia directa de energía entre las moléculas es relativamente sencilla porque ambas tienen los mismos espines. La energía transferida es suficiente para generar la especie oxígeno singlete (1O_2) (95 kJ/mol), que es una especie excitada del oxígeno y, por lo tanto, altamente reactiva. Ambos mecanismos pueden darse de manera simultánea y la contribución de cada uno depende del PS empleado, así como de la disponibilidad del sustrato y del oxígeno. Aunque al ser más simple, es más probable que las especies reactivas de oxígeno se generen por el mecanismo de tipo II.^{57b}

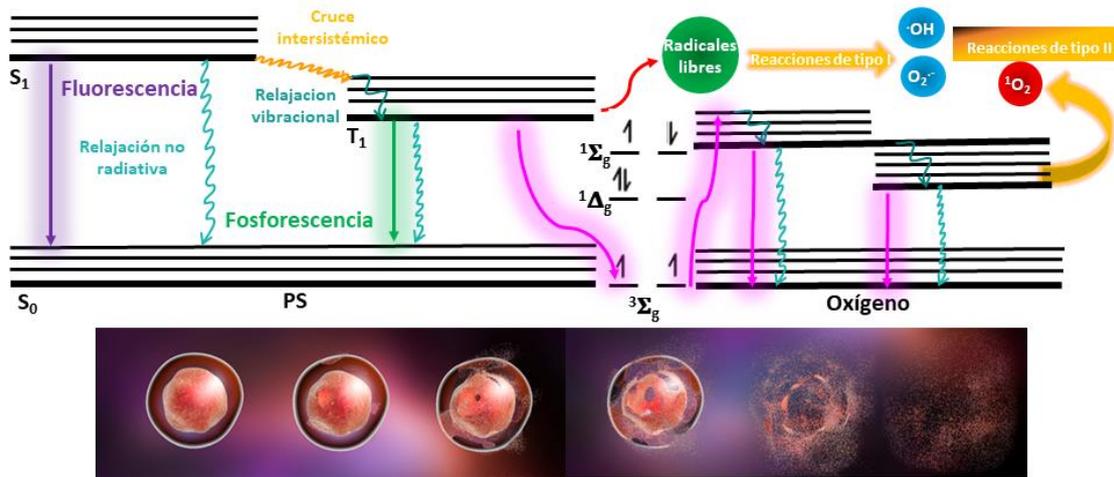


Figura I.21: Procesos fotofísicos involucrados en Terapia Fotodinámica con los posibles mecanismos de reacciones de tipo I y II.

Existe una gran variedad de compuestos que potencialmente pueden actuar como fotosensibilizadores. Sin embargo, a la hora de elegirlos hay que tener en cuenta una serie de propiedades. Han de obtenerse con una elevada pureza y de manera sencilla a partir de precursores económicos. En la oscuridad han de presentar la mínima toxicidad posible y ser estables hasta activarse, únicamente, en presencia de luz de una determinada longitud de onda. Esta λ ha de estar comprendida entre 400 y 800 nm, dado que la capacidad de la luz de penetrar en los tejidos aumenta con la longitud de onda y la energía de la luz con longitudes de onda superiores de 800 nm no es suficiente energética como para generar 1O_2 . Además, esas longitudes de onda no deben solapar con las de absorción de otras sustancias endógenas al cuerpo. También es deseable que estos compuestos sean solubles en los tejidos del cuerpo, lipofílicos, presenten afinidad por los tejidos neoplásicos y se eliminen fácilmente de los sanos.¹²⁸

Hasta la fecha, el desarrollo de nuevos fotosensibilizadores se ha dedicado en gran medida a su optimización. Algunas propiedades son fácilmente modificables, como puede ser la longitud de onda de absorción; pero otras no son tan sencillas de cambiar, por lo que la búsqueda de nuevos fotosensibilizadores ha dado lugar a varias generaciones de ellos (Figura I.22) y sigue siendo un factor importante en la mejora de esta terapia.

- Fotosensibilizadores de primera generación: tras el descubrimiento de Raab con la acrinidina, se estudió el empleo de mezclas de porfirinas solubles en agua, denominándose derivados de la hematoporfirina (HpD). Presentaban una mayor solubilidad y selectividad que las porfirinas inicialmente empleadas, aunque el potencial fotosensibilizador era menor. Por este motivo, se decidió emplear una mezcla de dímeros de porfirinas y oligómeros de la HpD denominada Photofrin.^{127, 129} Aunque han sido ampliamente empleados para el tratamiento del cáncer de vejiga, esófago o pulmón, presentan el inconveniente de ser una mezcla de más de 60 moléculas y, por tanto, muy complicados de purificar. Además exhiben una elevada fotosensibilidad cutánea durante varias semanas después del tratamiento.¹²⁹
- Fotosensibilizadores de segunda generación: con el fin de minimizar los efectos secundarios y aumentar el rendimiento en la producción de $^1\text{O}_2$. Se prepararon PSs puros que presentaban máximos de absorción comprendidos entre 650 y 800 nm, lo que les otorgaba un mayor poder de penetración en los tejidos. Estos complejos presentaban una mayor afinidad por las células tumorales en comparación con sus antecesores. Dentro de este grupo, se engloban los derivados porfirínicos (como clorinas, texafirinas o ftalocianinas), los no porfirínicos (como tiazinas o xantenos) y los precursores que al activarse dan PS endógenos, como el ácido 5-aminolevulinico (ALA), que puede administrarse de forma tópica dado que el fármaco activo es la protoporfirina IX. Aun con todas estas ventajas, esta familia de complejos son muy poco solubles en agua, lo que limitaba en gran medida su uso clínico.¹³⁰
- Fotosensibilizadores de tercera generación. La mayoría de PS de primera y segunda generación, presentaban un carácter altamente hidrófobo, lo que provocaba su agregación, rebajando drásticamente su efecto. Los pocos que eran hidrofílicos, no presentaban una elevada selectividad. De esta manera, la búsqueda de PS con una mayor afinidad a los tejidos tumorales que puedan administrarse por vía parenteral es lo que ha llevado a la búsqueda de compuestos de 3ª generación. Con este fin, se han empleado diferentes procedimientos, como la combinación de PSs de 2ª generación unidos a

receptores de marcadores cancerígenos como lipoproteínas LDL, anticuerpos monoclonales o el empleo de marcadores tumorales, como receptores de factor de crecimiento,¹³¹ de transferrina o ciertas hormonas como la insulina.^{132 133}

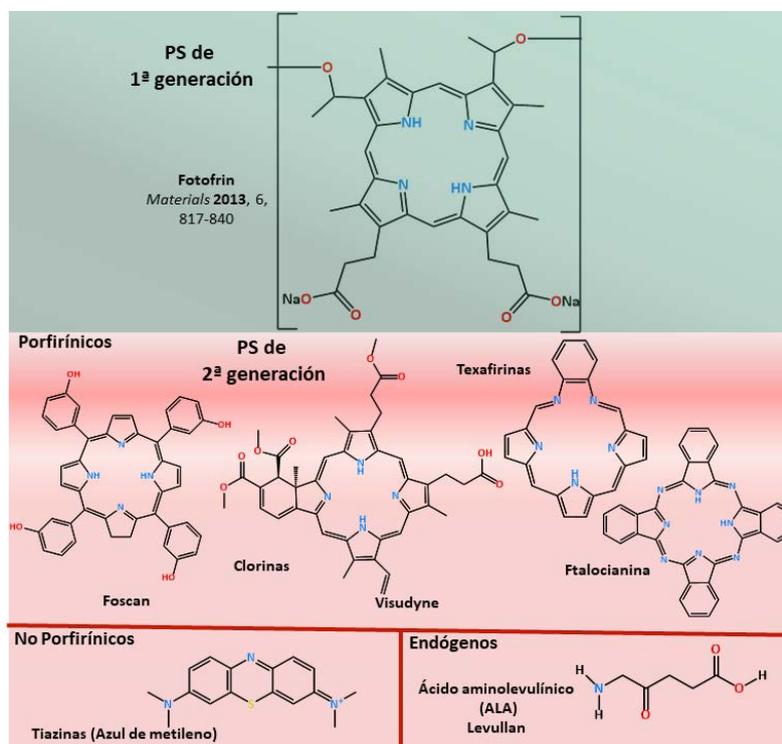


Figura I.22. Fotosensibilizadores de primera y segunda generación

En el capítulo 2 de esta tesis, se profundizará aún más en un nuevo grupo de fotosensibilizadores, complejos ciclotmetalados de iridio. Estos complejos presentan muchas de las ventajas de los fotosensibilizadores hasta ahora mencionados, además de unas mejores propiedades fotofísicas y mayor estabilidad.

I.6 Objetivos

El grupo de investigación, “Materiales Moleculares Organometálicos” (MATMO), donde se ha desarrollado esta Memoria tiene una amplia experiencia en el ámbito de la síntesis, caracterización y estudio de las propiedades optoelectrónicas de compuestos organometálicos de Pt(II) e Ir(III). Este tipo de compuestos tienen un notable interés en diferentes ámbitos como dispositivos emisores de luz, celdas solares, fotocatalisis, sensores ópticos o químicos o por sus aplicaciones en química medicinal, como biomarcadores o agentes de terapia y diagnóstico. Este trabajo pretende dar continuidad al trabajo desarrollado por el grupo y el objetivo principal ha sido sintetizar nuevas series de compuestos de Pt(II) e Ir(III) con ligandos ciclometalados, que les infiere interesantes propiedades ópticas fácilmente modulables a través de la elección de los grupos ciclometalados o de los ligando auxiliares, con el fin orientar su aplicación en el ámbito de la biomedicina o nuevos tipos de dispositivos electrónicos. Para ello se ha contado con la colaboración de los grupos de los Drs. José Manuel García Pichel e Ignacio Larráyoiz Roldán en el Centro de Investigación Biomédica de La Rioja (CIBIR) y del Prof. Dr. Rubén Costa, actualmente Director del Grupo de Materiales Biogénico Funcionales de la Universidad Técnica de Munich.

El primer objetivo, que se detalla en el primer capítulo de la Memoria, se basa en las prometedoras propiedades citotóxicas de algunos complejos de Pt(II) publicados previamente por el grupo, utilizando como precursores compuestos organometálicos cicloplatinados neutros del tipo $[Pt(C^N)(C_6F_5)(DMSO)]$. Este tipo de sistemas mostraron, además de fosforescencias intensas, interesantes propiedades biológicas.¹³⁴ En este capítulo se prepara un nuevo solvato $[Pt(dfppy)(C_6F_5)(DMSO)]$ (**1b**), que junto al anteriormente publicado $[Pt(ppy)(C_6F_5)(DMSO)]$ (**1a**), se han empleado como precursores para generar una nueva familia de compuestos con fosfinas bioactivas (L) $[Pt(C^N)(C_6F_5)(L)]$ (L = $PPh_2C_6H_4COOH$ (d**pbH**; **2**), $PPh_2C_6H_4CONHCH_2COOMe$ (d**pbGlyOMe**; **3**) o $P(C_6H_4SO_3Na)_3$ (TPPTS; **4**)). La búsqueda de nuevos derivados más biocompatibles ha hecho que se ponga especial interés en la formación de los derivados con la fosfina *d**pbGlyOMe***, obtenida mediante acoplamiento peptídico de la d**pbH** con la glicina metil éster.

Tras la síntesis y caracterización de los compuestos, se presenta un detallado estudio de sus propiedades ópticas con el apoyo de cálculos teóricos. Por otra parte, se realiza un estudio de las propiedades biológicas, poniendo especial énfasis en conocer como actúan, donde se localizan o que procesos desencadenan una vez dentro de la célula. Así, se han realizado estudios *in vitro* empleado diferentes líneas celulares tumorales (A549 y HeLa) y una no tumoral (NL-209) y se ha llevado a cabo un análisis de citolocalización de los mismos por microscopia de fluorescencia. Por último, se han realizado estudios de interacción con el ADN (plásmido pBR322) y de despolimerización de los microtúbulos que permiten arrojar luz sobre su mecanismo de acción.

Los objetivos 2 y 3 se recogen en los **capítulos 2 y 3** de la Memoria. En este caso, se focalizan en la preparación de nuevas series de complejos ciclometalados catiónicos de Ir(III) del tipo $[\text{Ir}(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2(\text{N}^{\wedge}\text{N})]^+$, en los que el ligando ciclometalado, la diimina o el contraion son modificados para su aplicación en el ámbito de la biomedicina o como dopantes en celdas electroquímicas emisoras de luz (Light-emitting electrochemical cells, LECs).

El **capítulo 2** se focaliza en la preparación de una serie compuestos ciclometalados de iridio(III) y en su posible empleo como biomarcadores y/o agentes potenciales de diagnóstico y terapia (theranostics). Las excelentes propiedades luminiscentes de estos compuestos y el rango en el que emiten los convierte, bajo irradiación con luz visible, en potenciales agentes de interés en fototerapia. Con esa finalidad se han introducido en sistemas del tipo $[\text{Ir}(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2(\text{N}^{\wedge}\text{N})]$ modificaciones biocompatibles, no sólo en los ligandos ciclometalados y en la bipyridina sino también en el contraanion. En particular, se ha estudiado la modificación del H en la posición 3 del anillo fenílico en la *dfppy* por un grupo aldehído (CHO-*dfppy* **c**) o por un grupo ácido (COOH-*dfppy* **d**) y se han introducido dos grupos amida (**dbbpy** o **dobpy**) ó ácidos (4,4'-H₂dcbpy) en la diimina. También se ha estudiado la influencia del contraión, utilizando cloruro (Cl⁻) o hexafluorofosfato (PF₆⁻). Todas estas variaciones introducen modificaciones, no solo estructurales sino también en las propiedades ópticas y en la lipofilia de los compuestos finales. Se han estudiado las mejores vías de preparación de los compuestos, que han sido caracterizados por las técnicas espectroscópicas y estructurales necesarias. Además, se ha realizado un estudio detallado de sus propiedades ópticas (absorción y emisión)

en presencia y ausencia de oxígeno, que ha sido apoyado mediante estudios teóricos (NCI, DFT, TD-DFT). Además, se ha examinado cualitativa y cuantitativamente (en algunos derivados) la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) o su actividad en la oxidación catalítica del NADH. Por último, se han realizado estudios de su actividad citotóxica *in vitro* frente a células tumorales (A549 y HeLa) y una no tumoral (BEAS-2B) en condiciones normales (condiciones de oscuridad) o foto-excitados con luz azul.

El **capítulo 3** recoge la preparación de una nueva serie de derivados catiónicos $[\text{Ir}(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2(\text{N}^{\wedge}\text{N})]^+$ con el fin de implementarlos como emisores en dispositivos LEC. Para ello, se han elegido como grupos ciclotetralados ($\text{C}^{\wedge}\text{N}$) la *ppy* (**a**) o la *dfppy* (**b**), y como ligandos auxiliares bipyridinas funcionalizadas con amidas (preparadas en esta Memoria: *dbbpy*, *dobpy*, *ddobpy*, *dhbpy* y *dPEGbpy*) en las que se modifica la longitud y lipofilia de la cadena. Se presenta la síntesis, caracterización y análisis de sus propiedades ópticas y electrónicas con ayuda de cálculos teóricos. En el capítulo se presentan los resultados del estudio llevado a cabo con el complejo $[\text{Ir}(\text{dfppy})_2(\text{dbbpy})]\text{PF}_6$ como emisor en un dispositivo LEC empleando un electrolito biogénico de acetato de celulosa. El desarrollo del dispositivo LEC ha sido realizado por Luca M. Cavinato y el Prof. Costa en el Grupo de Materiales Biogénico Funcionales de la Universidad Técnica de Munich. Este trabajo incluye no sólo la fabricación del LEC, sino también la optimización de la composición de la capa activa con el electrolito de acetato de celulosa para conseguir las mejores propiedades electroquímicas, de eficiencia y estabilidad.

Los resultados obtenidos en esta Memoria han dado lugar, hasta la fecha, a las siguientes publicaciones:

1. **Luminescent Cycloplatinated Complexes with Biologically Relevant Phosphine Ligands: Optical and Cytotoxic Properties.** Gonzalo Millán, Nora Giménez, Rebeca Lara, Jesús R. Berenguer, M. Teresa Moreno, Elena Lalinde, Elvira Alfaro-Arnedo, Iciar P. López, Sergio Piñeiro-Hermida, y José G. Pichel. *Inorg. Chem.* **2019**, 58, 2, 1657.

- 
2. **Versatile Biogenic Electrolytes for Highly Performing and Self-Stable Light-Emitting Electrochemical Cells.** Luca M. Cavinato, Gonzalo Millán, Julio Fernández-Cestau, Elisa Fresta, Elena Lalinde, Jesús R. Berenguer, Rubén D. Costa *Adv. Funct. Mater.* **2022**, 32, 2201975
 3. **A new family of luminescent Iridium Complexes: Synthesis, Optical and Cytotoxic Studies.** Gonzalo Millán, Mattia Nieddu, Iciar P. López, Cintia Ezquerro, Jesús R. Berenguer, Ignacio M. Larrayoz, José G. Pichel y Elena Lalinde. *Dalton Trans* (En revisión)

Capítulo 1

Compuestos luminiscentes cicloplatinados
con fosfinas biológicamente activas
Propiedades ópticas y biológicas



Capítulo 1

Compuestos luminiscentes cicloplatinados con fosfinas biológicamente activas. Propiedades ópticas y biológicas

1.1 *Introducción*

1.1.1 Compuestos cicloplatinados

De entre todos los compuestos luminiscentes de platino, aquellos que presentan ligandos ciclometalados en su estructura han ganado un gran interés debido al elevado número de vías sintéticas que han abierto, así como a las propiedades que estos ligandos han aportado a los compuestos.^{9b, 31, 135} Desde la publicación en 1984 de la síntesis de los primeros complejos homolépticos bis-ciclometalados de Pt(II) luminiscentes [*cis*-Pt(C[^]N)₂] por von Zelewsky y col.⁴⁰, se han desarrollado multitud de estudios sobre la posibilidad de encontrar complejos análogos que presenten una mejor estabilidad fotofísica, lo que puso el foco en la síntesis de compuestos heterolépticos.

La mayor parte de estos complejos se obtienen a partir de la ciclometalación de K₂PtCl₄ en presencia de un exceso del ligando HC[^]N, dando lugar a los derivados dinucleares del tipo [Pt(C[^]N)(μ-Cl)]₂. En ocasiones, en función del ligando y de la estequiometría empleada se generan derivados con un ligando C[^]N ciclometalado y otro HC[^]N coordinado únicamente a través del nitrógeno, [Pt(C[^]N)(HC[^]N)Cl]¹³⁶ o bien equilibrios entre ambos tipos de compuestos.¹³⁷ Ambos tipos de derivados son excelentes precursores para la preparación de diferentes complejos mononucleares (figura 1.1). Así, coligandos del tipo O[^]O como β-dicetonas (acetilacetato o sus derivados), dan complejos térmicamente estables y con elevadas eficiencias cuánticas.¹³⁸ También pueden obtenerse derivados mononucleares heterolépticos con grupos N[^]N como bipyridinas, etilendiaminas o fenantrolinas, dando complejos catiónicos de fórmula general [Pt(C[^]N)(N[^]N)]⁺.¹³⁹ Además, existen numerosos ejemplos de complejos cicloplatinados con ligandos L[^]X,^{37, 140} y de complejos en los que la ruptura del puentes Cl se produce por la adición de una base de Lewis (como una fosfina) o, directamente, por una molécula de disolvente como el dimetilsulfoxido, formando complejos con

ligandos monodentados $[\text{Pt}(\text{C}^{\wedge}\text{N})(\text{Cl})(\text{DMSO})]^{141}$ en los que la molécula lábil de DMSO puede sustituirse por otros grupos.¹⁴²

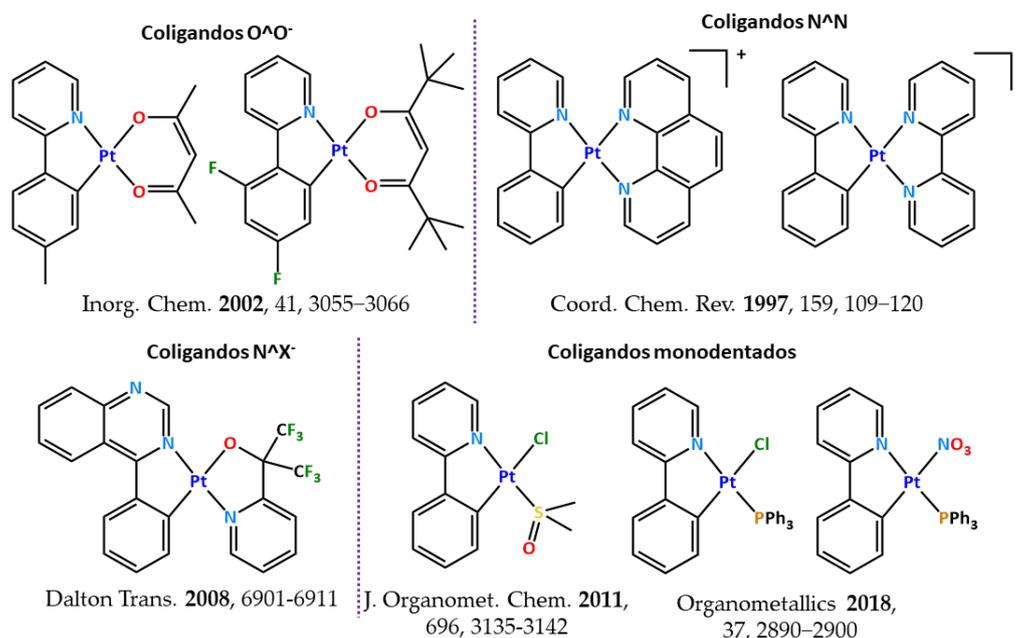


Figura 1.1. División de diferentes derivados luminiscentes ciclometalados bidentados ($\text{C}^{\wedge}\text{N}$) de Pt(II) en función de sus coligandos.

1.1.2 Compuestos cicloplatinados como agentes teranósticos

Desde el descubrimiento del cisplatino [$\text{cis-Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2$] y de su potencial como agente antineoplásico,¹⁴³ la investigación para buscar nuevos fármacos basados en compuestos organometallicos¹⁴⁴ y, en particular, de platino ha crecido de forma exponencial.^{9b, 9c, 93, 99, 145} Este interés por encontrar nuevos fármacos se basa en que en la actualidad existen pocos agentes de Pt aprobados a nivel mundial para su empleo en quimioterapia¹⁴⁶ y, en su mayoría, se basan en un mecanismo de acción similar al del cisplatino con las desventajas que esto supone, algo ya explicado en la introducción.¹⁴⁷ Debido a ello, en la última década se han emprendido nuevas vías de investigación en las que se busca mejorar la actividad antitumoral por medio de diferentes complejos metálicos con estructuras tanto análogas al cisplatino como totalmente diferentes.¹⁴⁸ Dentro de todas las posibilidades, unos de los candidatos más prometedores son los compuestos organometálicos.^{144a, 144b, 144e, 149} Esto se debe, en gran parte, a sus diversas propiedades estructurales y de enlace, que pueden modificarse con cambios en los estados de oxidación, unido a una rica estereoquímica asociada a la gran variedad de

ligandos que pueden emplearse, posibilitando de esta forma la modificación de sus propiedades. Además, estos ligandos pueden ser fácilmente funcionalizados para incrementar su solubilidad o, incluso, añadir ciertos receptores para mejorar su selectividad.

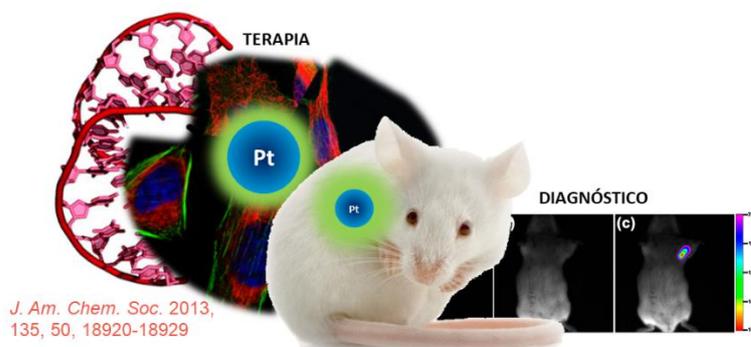


Figura 1.2.

La aplicación de los compuestos ciclotalados de Pt(II) ha atraído un especial interés en la lucha frente al cáncer en los últimos años.^{33a, 145b, 145d, 145h, 150} Estos compuestos presentan enlaces fuertes de tipo $\sigma(\text{Pt-C})$, lo que les otorga un gran estabilidad incluso en medios fisiológicos, reduciéndose drásticamente las posibles resistencias por interacciones con otras moléculas o por la propia descomposición de los mismos. Por otro lado, se ha demostrado que la presencia de anillos aromáticos favorece la intercalación de estos complejos con pares de bases de ADN mediante interacciones $\pi \cdots \pi$ ^{151, 151a} pudiéndose unir en algunos casos a grupos teloméricos de G-cuadruplex¹⁵² o a diferentes proteínas esenciales para el funcionamiento celular.^{152a, 153} Además, la incorporación en estos compuestos de moléculas lábiles como coligandos puede incrementar su acción a través de interacciones covalentes con el ADN, como ocurre con el cisplatino.¹⁵⁴ Recientes contribuciones en este campo han demostrado el gran potencial que presentan algunos compuestos cicloplatinados como agentes anti-angiogénicos.^{145d}

El interés por los complejos cicloplatinados en el ámbito terapéutico, no se debe únicamente a sus propiedades citotóxicas contra una gran variedad de líneas celulares, sino que también es debido a las propiedades luminiscentes que estos presentan.^{37, 155} Muchos de estos complejos organometálicos presentan fosforescencias atribuidas a mezclas de estados ³MLCT, ³LC, ³ILCT, ³LLCT, ³LMMCT, ³MMLCT ó ³MLLCT, lo que los convierte en excelentes candidatos para su empleo como marcadores luminiscentes

intracelulares debido a que estas emisiones no solapan con la autofluorescencia de las células.^{152a, 156}

Con estas propiedades, son muchos los ejemplos de complejos cicloplatinados que se han estudiado como posibles agentes teranósticos capaces de tratar y trazar el seguimiento de una enfermedad. Además, la gran variedad de formas en las que pueden presentarse, homolépticos o heterolépticos, con grupos ciclometalados bi, tri o tetradentados, o la gran variedad de coligandos, no es de extrañar que la cantidad de estudios sobre propiedades biológicas de compuestos cicloplatinados no haya dejado de crecer en los últimos años.^{145b, 157} Y es que la selección del grupo ciclometalado, así como de los ligandos auxiliares a unirse a la esfera de coordinación del platino, juegan un papel crucial, no solo en las propiedades emisivas de los compuestos, sino también en su actividad citotóxica, la cual se ve enormemente afectada con pequeñas modificaciones en los compuestos.

Los primeros estudios sobre las propiedades de estos complejos como agentes antineoplásicos se remontan a 1993. El grupo de Navarro-Ranninger observó que empleando complejos cicloplatinados con puentes Cl o acetato como ligandos lábiles, se obtenían mejores resultados citotóxicos frente a las líneas celulares de carcinoma de pecho (MDA-MB468) y de leucemia (HL-60) que con el cisplatino (Figura 1.3a).¹⁵⁸

Más adelante, se empezaron a emplear diferentes grupos ciclometalados publicándose los primeros resultados de complejos con la 2-fenilpiridina [Pt(ppy)(Hppy)Cl] (Figura 1.3b), en los que se observaba una elevada citotoxicidad contra líneas celulares resistentes al cisplatino.¹⁵⁹ Con estos resultados, otros grupos de investigación decidieron continuar con la investigación de compuestos de Pt(II) con 2-fenilpiridina como ligando ciclometalado empleando otros ligandos auxiliares como fosfinas, aminas, halogenuros, dimetilsulfóxido o heterociclos. En estos casos, se observó que el impedimento estérico al centro metálico que otorgaban ciertos ligandos como la 2,6-metilpiridina (Figura 1.3c) estaba relacionado con una mayor actividad citotóxica frente a la línea tumoral P388 de leucemia (IC₅₀ 1.5 μmol/L).¹⁶⁰

Aunque ya se han publicado numerosos estudios sobre la habilidad de muchos compuestos de Pt(II) con ligandos aromáticos de formar aductos de tipo “cross-links”

con el ADN, la capacidad de algunos de estos derivados para actuar como un interruptor de la luminiscencia al coordinarse al ADN hace de ellos interesantes candidatos como marcadores emisivos. En este ámbito, el grupo de Chi-Ming-Che observó que la interacción con el ADN inducía un desplazamiento batocrómico en la emisión (558 nm a 650 nm). Además, los ensayos *in vitro* con células tumorales KB-3-1 o la línea tumoral KB-V1, resistente a la mayoría de fármacos, demostraron un poder citotóxico entre 10 y 40 veces superior para cada línea en comparación con el cisplatino.¹⁶¹

Otra forma muy interesante de estudiar el efecto de los ligandos en las propiedades antitumorales es el empleo de bioligandos. Un ejemplo de ello es el del bioligando 6-mercaptopurina (6-MP), un fármaco usado para el tratamiento de la leucemia, lupus o la artritis reumatoide.¹⁶² Este bioligando se ha empleado en los derivados [Pt(C^N)(6-MP)] [C^N = ppy, bzq] (Figura 1.3e), mostrando una gran afinidad por la albumina (HSA), así como una actividad citotóxica mayor que el cisplatino frente a la línea celular K562. Estos derivados resultaron ser inocuos para MCF-7, lo que puede ser indicativo de ser selectivos para esa línea.¹⁶³ Otros ejemplos son el empleo de nucleobases¹⁶⁴, hormonas sexuales¹⁶⁵ o intercaladores del ADN.¹⁶⁶ Precisamente, el grupo del Prof. José Ruiz publicó el estudio sobre el derivado cicloplatinado con un conocido intercalador del ADN, la antraquinona^{166a} (Figura 1.3f). Este compuesto resultó ser más activo frente a líneas celulares tumorales como la A2780 que el cisplatino y el ligando libre. Además, estudios teóricos realizados revelaron que el enlace Pt-Cl presente en estos complejos era muy susceptible de romperse para sustituir este ligando lábil por N-nucleófilos (como bases del ADN). En esta familia de complejos, la actividad frente a líneas celulares no tumorales resultó ser menor que la del cisplatino, mientras que las mostradas frente a líneas celulares como las de cáncer de pecho o de ovario resultaron muy prometedoras.

Se han estudiado además otras vías como la funcionalización de estos complejos con ligandos que actúan inhibiendo algunas enzimas esenciales para procesos como la división celular, tales como la topoisomerasa II α (Figura 1.3g)¹⁶⁷ u otros que actúan inhibiendo la actividad de la telomerasa con un ligando funcionalizado con un grupo ácido (Figura 1.3h).^{152c}

Aunque en muchos casos estos compuestos se localizan en el núcleo y actúan dañando el ADN, existen muchos ejemplos de otros compuestos que van dirigidos a otras dianas celulares. El compuesto de la Figura 1.3i se localiza en otros orgánulos citoplasmáticos, concretamente en las mitocondrias, y presenta una actividad citotóxica en HeLa de 0.057 μM (cisplatino 15 μM).¹⁶⁸ Uno de los orgánulos más expuesto y que presenta mayor sensibilidad a la presencia de agentes citotóxicos es el retículo endoplasmático, aunque no se han reportado muchos ejemplos de compuestos de Pt(II) que se dirijan a él directamente. Un estudio ha publicado una familia de compuestos que no solo se localizan en este orgánulo, sino que además genera estrés oxidativo provocando finalmente la muerte celular con un IC_{50} de 3.79 μM (cisplatino 10.9 μM) (Figura 1.3j).¹⁶⁹

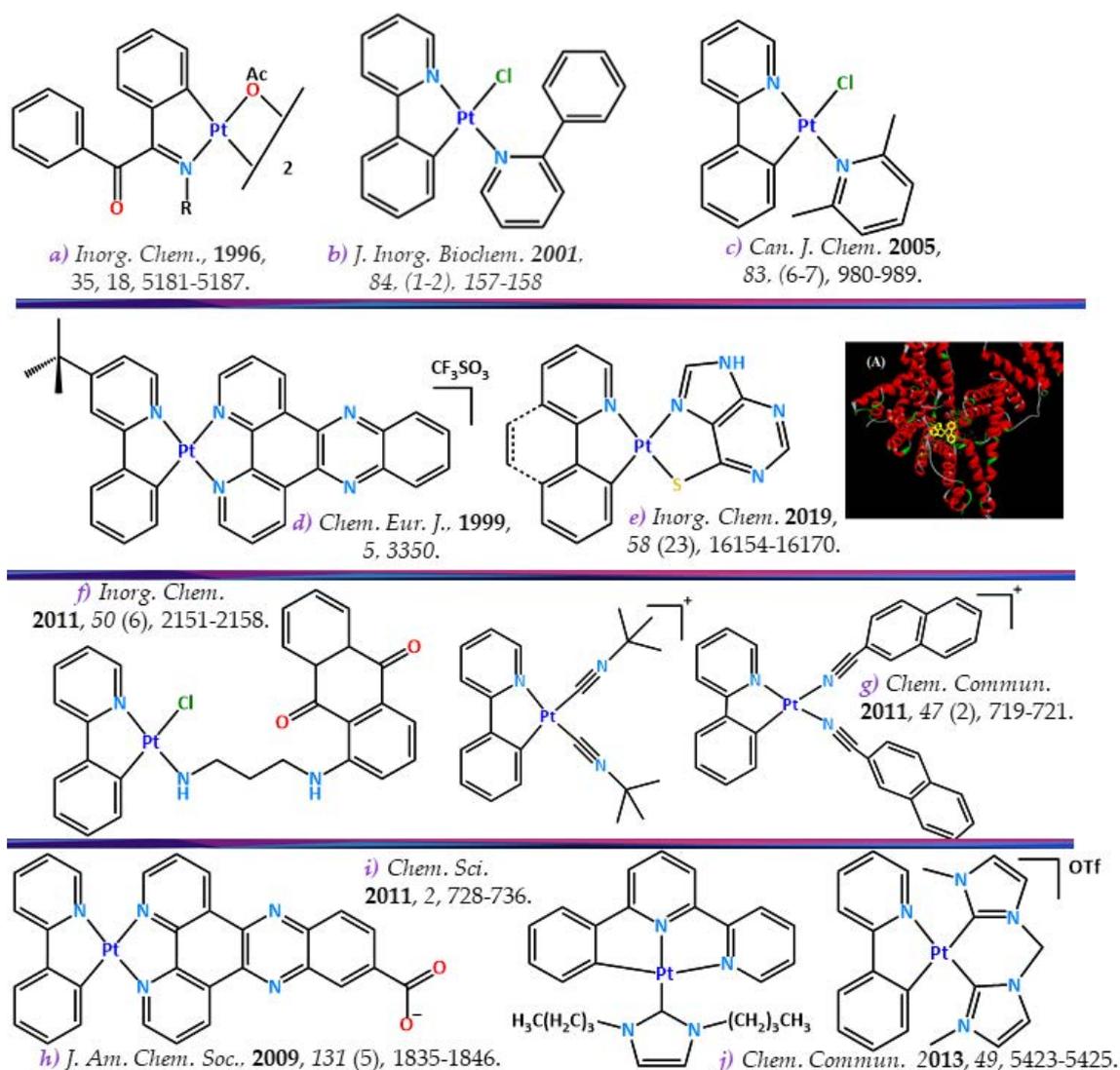
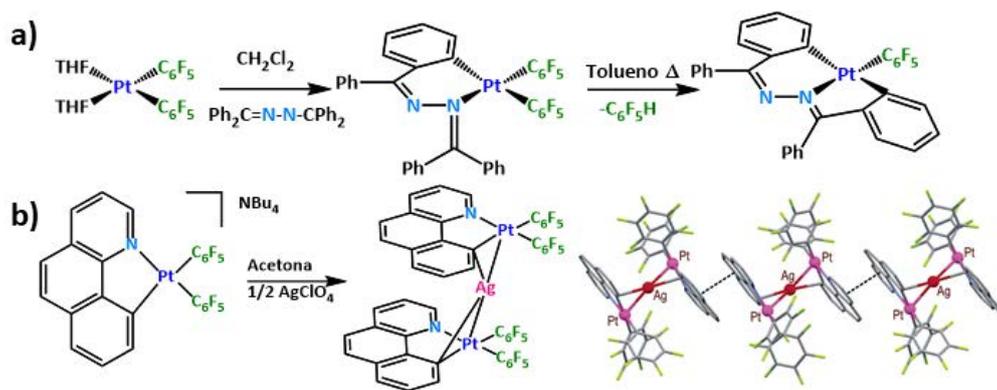


Figura 1.3. Compuestos ciclometalados de Pt(II) con potencial como agentes antineoplásicos.

1.1.3 Compuestos cicloplatinados con C₆F₅ como ligando auxiliar

Como ya se ha comentado un factor de gran importancia es la elección de los ligandos auxiliares. Estos coligandos, participan de manera decisiva tanto en la eficiencia como en la modulación de la emisión, además de mejorar la selectividad hacia ciertos receptores de membrana presentes en algunos tipos de células tumorales o, incluso, pueden modificar propiedades como la solubilidad en medios biológicos. En el desarrollo de este capítulo se ha empleado el grupo C₆F₅, el cual presenta un carbono con carga negativa sp² con carácter fuertemente dador, haciéndolo de campo fuerte. Esta característica provoca que los orbitales d del metal se hagan más inaccesibles, impidiendo las transiciones centradas en el metal y mejorando, de esta manera, las eficiencias en la emisión. Por otra parte, la presencia en este ligando de átomos de flúor en posición orto y su elevada electronegatividad provocan una fuerte estabilidad en el enlace C-M frente a posibles procesos de oxidación reducción.¹⁷⁰

En cuanto a la preparación de complejos que contengan a la vez grupos ciclometalados y pentafluorofenilo, hay que señalar que el primer ejemplo se remonta a 1992, cuando el grupo de investigación del Prof. Fornies y colaboradores publicó la síntesis de un complejo con un ligando tridentado [Pt(C₆F₅)(C₆H₄C(Ph)=N-N=CPh₂)] empleando como producto de partida el sustrato *cis*-[Pt(C₆F₅)₂(thf)₂].¹⁷¹ Sin embargo, los estudios de estos compuestos solo se centraron en su reactividad y no en el estudio de propiedades ópticas (Esquema 1.1a). Los primeros artículos que presentaban a su vez estudios sobre las propiedades fotofísicas de estos complejos fueron los relacionados con el complejo monoaniónico (NBu₄)[Pt(bzq)(C₆F₅)₂] (Hbzq 7,8-benzoquinoleína) preparado por fácil metalación de la benzoquinoleína utilizando como precursor el complejo (NBu₄)₂[Pt₂(μ-C₆F₅)₂(C₆F₅)₄]. Este complejo (NBu₄)[Pt(bzq)(C₆F₅)₂] posee una emisión verde en estado sólido (518 nm) a temperatura ambiente que de acuerdo a cálculos teóricos se atribuye a una mezcla de transiciones ³LC ³[π-π*(bzq)]/³MLCT ³[5d(Pt) - π*(bzq)].¹⁷² Estudios posteriores sobre la reactividad de este derivado, han puesto de manifiesto su potencial de actuar como precursor en la preparación de complejos polimetálicos (Esquema 1.1b).^{172a, 173}



Esquema 1.1. Síntesis de los primeros complejos de Pt(II) ciclometalados con C₆F₅ como ligando auxiliar.

Una vez abierta esta nueva línea de investigación, la familia de complejos cicloplatinados neutros mononucleares con ligandos pentafluorofenilo luminiscentes no ha parado de crecer. Uno de los ejemplos más relevantes, publicado por nuestro grupo de investigación es el del solvato [Pt(bzq)(C₆F₅)(acetona)], que se prepara partiendo de cis-[Pt(C₆F₅)₂(thf)₂] y que se produce gracias a la activación del enlace C-H del ligando benzoquinoleína en condiciones muy suaves. El estudio de la reacción reveló que tiene lugar a través de la formación inicial de 0.5 eq. del intermedio [Pt(C₆F₅)₂(Hbzq-κN)₂], que evoluciona en presencia del precursor con formación del complejo **1** de la Figura 1.4. Por otro lado, tanto el intermedio [Pt(C₆F₅)₂(Hbzq-κN)₂], como el complejo **1** pueden evolucionar a la especie [Pt(bzq-κC,N)(Hbzq-κN)(C₆F₅)] (**2a** de la Figura 1.4) en presencia de exceso de ligando.¹⁷⁴ Estos estudios abrieron la puerta a la síntesis de diversos derivados con la fórmula general [Pt(C[^]N-κC,N)(HC[^]N-κN)(C₆F₅)] con diferentes grupos ciclometalados (HC[^]N = HdFppy (**2b**),¹⁷⁵ Hpbt (**2c**),¹⁷⁵ Br-Hpbt (**2d**),¹³⁴ Hpq (**2e**),¹³⁴ Hthpy (**2f**)¹³⁴) como los que se presentan en la Figura 1.4a. Tal y como reflejan sus estructuras de rayos-X, los ligandos HC[^]N se colocan en conformación ortogonal localizándose uno de sus protones cerca del centro de Pt, lo que sugiere la presencia de interacciones Pt-H.

También se han publicado numerosos estudios sobre la síntesis, y propiedades de derivados solvato con DMSO [Pt(C[^]N)(C₆F₅)(DMSO)], como los descritos recientemente por nuestro grupo de investigación (Figura 1.4. C[^]N ppy (**3g**),¹⁷⁶ pbt (**3c**)¹³⁴ o thpy (**3f**)¹³⁴). Tanto los complejos que contiene una molécula de disolvente (acetona o

DMSO) o un segundo ligando (HC[^]N-κN) en su estructura presentan emisiones con bandas estructuradas (465 - 555 nm), tiempos de vida largos que van de 0.9 a 8.5 μs y rendimientos cuánticos moderados. Estas emisiones se asignan, de acuerdo a cálculos TD-DFT, a una mezcla de transiciones ³LC/³MLCT que se localizan en el centro de platino y en el ligando ciclotmetalado. Debido a sus interesantes propiedades fotofísicas se llevó a cabo un estudio de su actividad citotóxica en colaboración con el grupo del Prof. José Manuel García Pichel frente a la línea celular de cáncer de pulmón (A549).¹³⁴ Los experimentos de microscopía de fluorescencia confirmaron la acumulación de estos complejos en la región citoplasmática, con una emisión más brillante en la zona perinuclear.

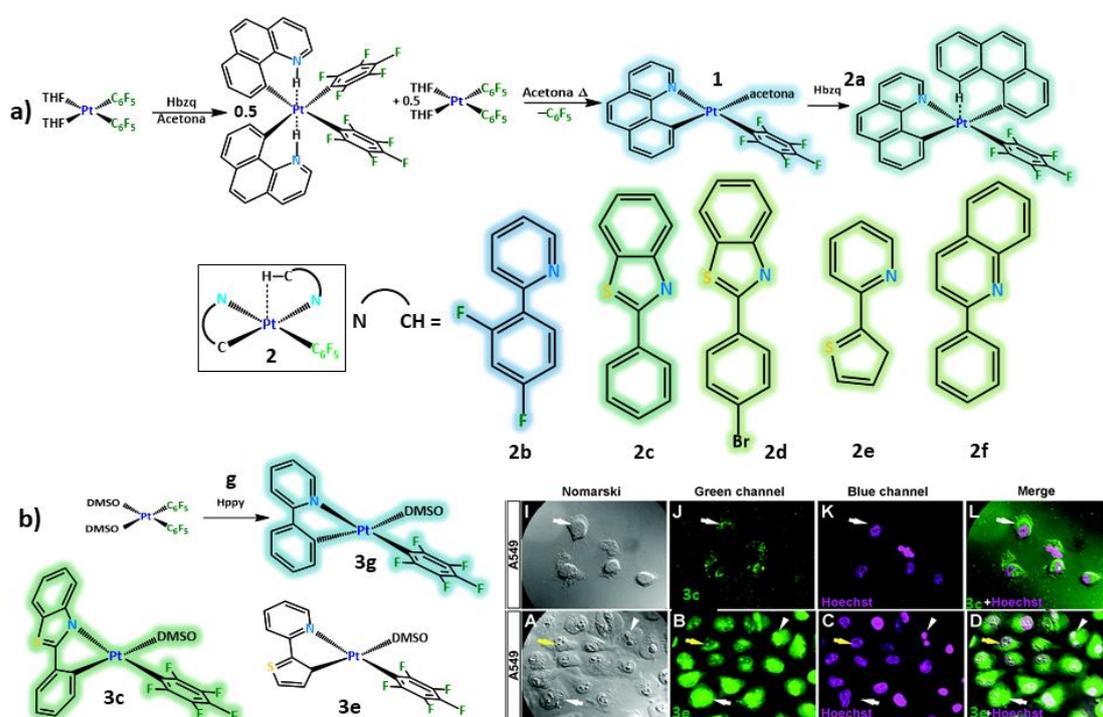
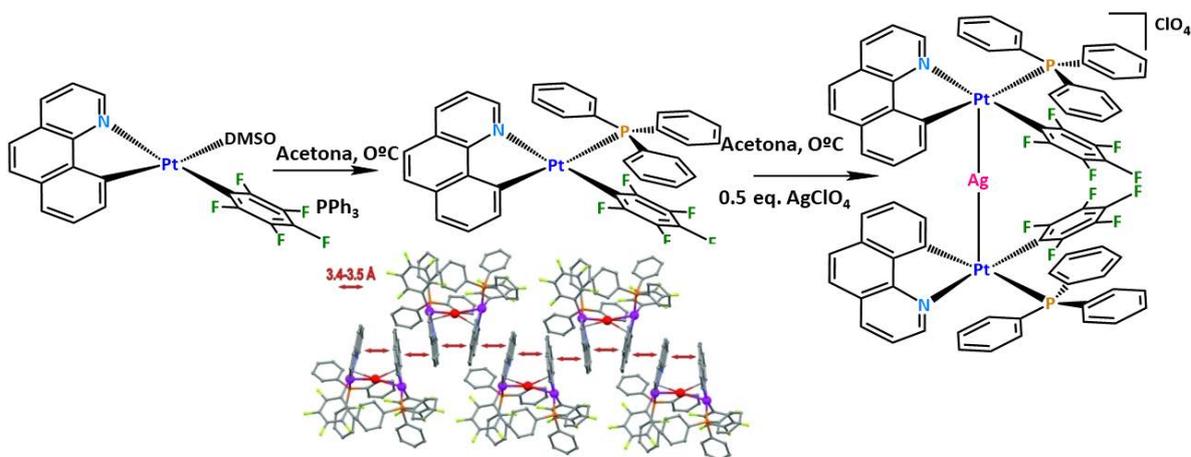


Figura 1.4. Preparación de derivados de luminiscentes de Pt(II) con el ligando auxiliar C₆F₅, a) partiendo del precursor [Pt(C₆F₅)₂(THF)₂] o b) [Pt(C₆F₅)₂(DMSO)₂].

La presencia de una molécula lábil, como el dimetilsulfóxido o la acetona, en la esfera de coordinación del platino de los solvatos de tipo [Pt(C[^]N)(C₆F₅)(S)] hace que estos derivados sean excelentes precursores para la preparación de nuevos complejos. Estas moléculas lábiles son fácilmente sustituidas por otros grupos para dar complejos con la fórmula general [Pt(C[^]N)(C₆F₅)(L)]. Algunos ejemplos que ilustran estas reacciones de sustitución son los que se dan con el derivado [Pt(bzq)(C₆F₅)(acetona)] en

presencia de grupos L tales como PPh_3 , PpyPh_2 , tht , MeCN ¹⁷⁷ o isocianuros.¹⁷⁸ Además estos derivados se han empleado a su vez para la síntesis de clústers polimetálicos, como los que se representan en el Esquema 1.2 del tipo Pt_2Ag .¹⁷⁷



Esquema 1.2. Preparación de complejos polimetálicos a partir de compuestos de Pt(II) con fosfinas y estructura de rayos-X con las distancias de las interacciones.

1.1.4 Compuestos cicloplatinados con fosfinas

En este capítulo se utilizarán las reacciones de sustitución en complejos de tipo $[\text{Pt}(\text{C}^{\wedge}\text{N})(\text{C}_6\text{F}_5)(\text{S})]$ anteriormente comentadas, centrándose en el intercambio del ligando lábil DMSO por fosfinas. Estos ligandos presentan unas propiedades electrónicas y estéricas muy variadas en función de los sustituyentes que elijamos, por lo que son muy empleados para modular las emisiones en complejos con metales de transición.¹⁷⁹ Existen muchos ejemplos de complejos cicloplatinados que presentan fosfinas en la esfera de coordinación del platino. Entre ellos, nuestro grupo de investigación ha publicado la síntesis de algunos ejemplos de derivados que contienen la fosfina PPETS ($\text{PPh}_2(\text{CH}_2)_2\text{Si}(\text{OEt})_3$), con un grupo alcoxisilano terminal, lo que ha permitido su incorporación a matrices silíceas para dar una serie de materiales mesoporosos híbridos de base silíceas con interesantes propiedades luminiscentes (Figura 1.5a).¹⁸⁰

Desde el punto de vista biológico, estos ligandos ofrecen multitud de propiedades dado que ya se ha demostrado el poder antitumoral de ciertas fosfinas como la bis-difenilfosfinoetano (dppe), tanto por si sola como coordinada a un centro metálico.¹⁸¹ En esta línea, el grupo de Jamshidi publicó un estudio sobre la actividad biológica contra la línea tumoral MCF-7 y Junkart sobre complejos catiónicos de platino

que presentaban la dppe (figura 1.5b). Estos estudios demostraron que dichos derivados presentaban mejores resultados que los obtenidos con el cisplatino y que, en alguno de los casos, el compuesto es capaz de activar la caspasa-3 (enzimas responsables de cambios en la morfología celular al iniciar la apoptosis).¹⁸² Siguiendo este ejemplo, se han publicado otros estudios con complejos con derivados de la fenilpiridina como grupo ciclometalado y diferentes fosfinas monodentadas como ligandos auxiliares. Todos los complejos que se estudiaron presentaron actividad citotóxica superior a la del cisplatino frente a las líneas celulares tumorales de pulmón, ovario y de pecho, siendo el compuesto representado en la Figura 1.5c el que mejores resultados obtuvo. Estudios computacionales de acoplamiento molecular realizados sobre este compuesto revelan como la fosfina se encaja en una de las hebras de ADN.¹⁸³

Recientemente, en nuestro grupo de investigación se ha descrito una familia de complejos basados en el 2-(4-R-fenil)-benzotiazol [Pt(R-pbt)(Cl)L] (R = Br, Me₂N), donde se emplearon como sustituyentes (L) DMSO y diferentes fosfinas como la 1,3,5-triaza-7-fosfaadamantano (PTA) o la tris-(3-sulfonato sódico fenil) fosfina (TPPTS).¹⁸⁴ Los resultados indican que los complejos que contenían la fosfina PTA presentaban mejor actividad citotóxica frente a la línea tumoral A549, y que el mecanismo de acción podía pasar por la depolimerización de los microtúbulos (Figura 1.5d).

Siguiendo en esta línea, se decidió continuar investigando el efecto de los ligandos fosfina en las propiedades de estos complejos con el ligando ciclometalado 2-(4-dimetilaminofenil)benzotiazolato y ligandos bioactivos como el ácido 4-(difenilfosfina)-benzoico [Pt(Me₂N-pbt)(C₆F₅)(o-dpbH)]¹⁸⁵. Estos estudios revelaron que estos compuestos presentaban emisiones duales ¹ILCT/³ILCT, y que dependiendo de la ratio entre ambas podían generar emisiones cercanas al blanco. Además, al exponerlas al oxígeno, la contribución fosforescente descendía, tal y como se representa en la figura 1.5e, lo que es un indicativo de la generación de ¹O₂. De hecho, el ¹O₂ generado bajo irradiación continua es capaz de oxidar el DMSO a DMSO₂, desoxigenando el microentorno de la molécula e incrementado la banda de fosforescencia (figura 1.5e). Este hecho se ha utilizado para probar la actividad biológica de esta familia de compuestos en terapia fotodinámica con excelentes resultados

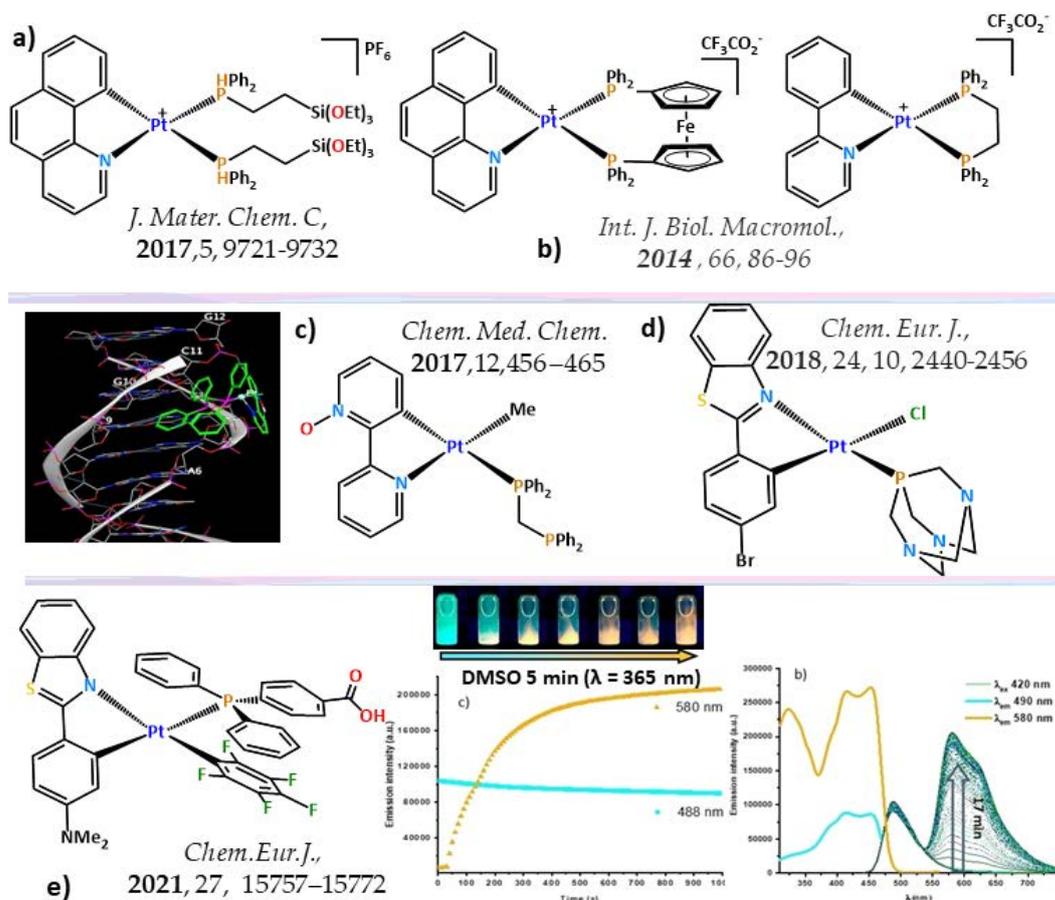


Figura 1.5. Algunos ejemplos de complejos ciclometalados de Pt(II) con ligandos fosfina e interés biológico. El apartado e muestra el estudio de la aparición de la fosforescencia al exponer la disolución en DMSO del compuesto $[\text{Pt}(\text{Me}_2\text{N-pbt})(\text{C}_6\text{F}_5)(\text{o-dpbH})]^{185}$ a luz ultravioleta. En el espectro de emisión se muestra una banda estructurada cuyo máximo a 588 nm va aumentando al irradiarlo, mientras que la banda asignada a la fluorescencia permanece sin muchos cambios en ese proceso.

Teniendo todos estos antecedentes en cuenta, en este capítulo se aborda el estudio sobre los cambios en las propiedades biológicas que genera la sustitución de la molécula de DMSO por ligandos menos lábiles de tipo fosfina funcionalizada en los dos precursores luminiscentes $[\text{Pt}(\text{C}^{\wedge}\text{N})(\text{C}_6\text{F}_5)(\text{DMSO})]$ [$\text{C}^{\wedge}\text{N} = \text{ppy}$ (**1a**), dfppy (**1b**)]. Como ya se ha comentado, son muchos los estudios focalizados en el estudio de la actividad citotóxica de compuestos de Pt con fosfinas funcionalizadas.^{145d, 186} En este caso, se ha elegido la fosfina comercialmente disponible $\text{PPh}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{COOH}$ (dpbH) para la síntesis de los compuestos $[\text{Pt}(\text{C}^{\wedge}\text{N})(\text{C}_6\text{F}_5)(\text{dpbH})]$ (**2a** y **2b**). La presencia en esta fosfina de un grupo ácido carboxílico hace de ella una excelente candidata para emplearse como

plataforma para la formación de enlaces peptídicos mediante procesos sencillos de acoplamiento (Figura 1.6).¹⁸⁷ Este método se ha empleado para realizar el acoplamiento entre el grupo carboxílico y la glicina metil éster (dpbGlyOMe) en los complejos **2a** y **2b**, en presencia de del agente de acoplamiento N-etil-N'-[3-(dimetilamino)propil]carbodiimida (EDC-HCl); reacciones que conducen a la obtención de los complejos [Pt(C[^]N)(C₆F₅)(dpbGlyOMe)] (**3a** y **3b**).

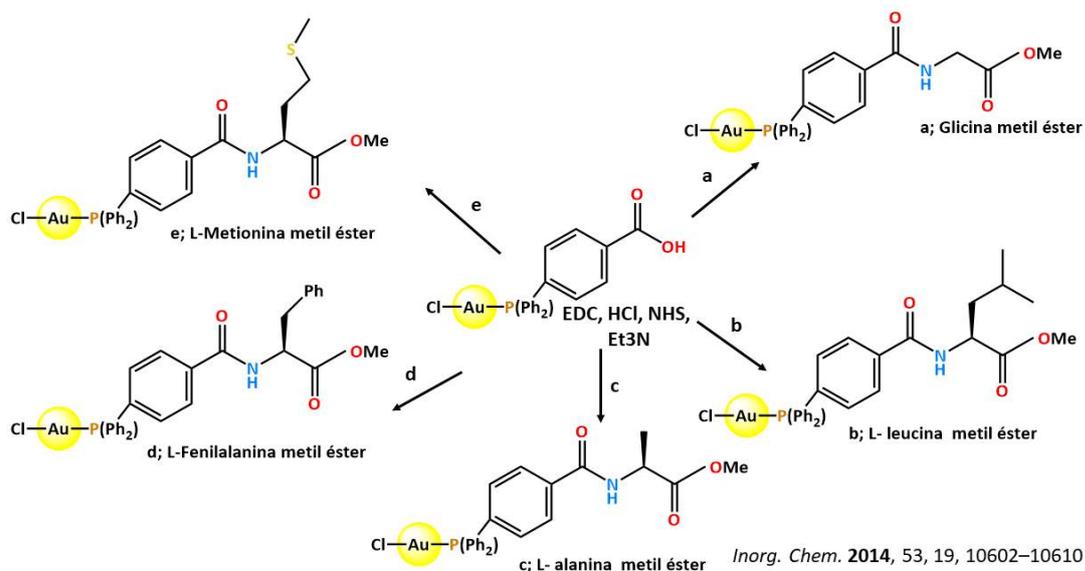


Figura 1.6. Preparación de derivados de oro con fosfanoamidas con ayuda de agentes de acoplamiento

Por último, con fines comparativos, se han preparado dos nuevos compuestos con la fosfina soluble en agua tris-(3-sulfonato sódico fenil)fosfina (TPPTS) [Pt(C[^]N)(C₆F₅)(TPPTS)] (**4a** y **4b**). Esta fosfina ha sido empleada previamente para la preparación de complejos solubles en medios acuosos con un gran potencial para su uso como agentes de contraste en bioimagen¹⁸⁸, complejos de Au(I) antimicrobianos y anticancerígenos¹⁸⁹, y de Pd(II) potencialmente antineoplásicos.¹⁹⁰

Es importante resaltar que, por lo general, el desarrollo de nuevos fármacos es un proceso largo y muy costoso que se compone de varias etapas entre las que se encuentra la síntesis del fármaco, estudios *in vitro* de su toxicidad, estudios de sus mecanismos de acción, estudios *in vivo* y por últimos ensayos clínicos (fases I, II y III). Tanto el primer capítulo de esta tesis como el segundo tratan de la síntesis, estudio de toxicidad y de los posibles mecanismos de acción de dos nuevas familias de compuestos



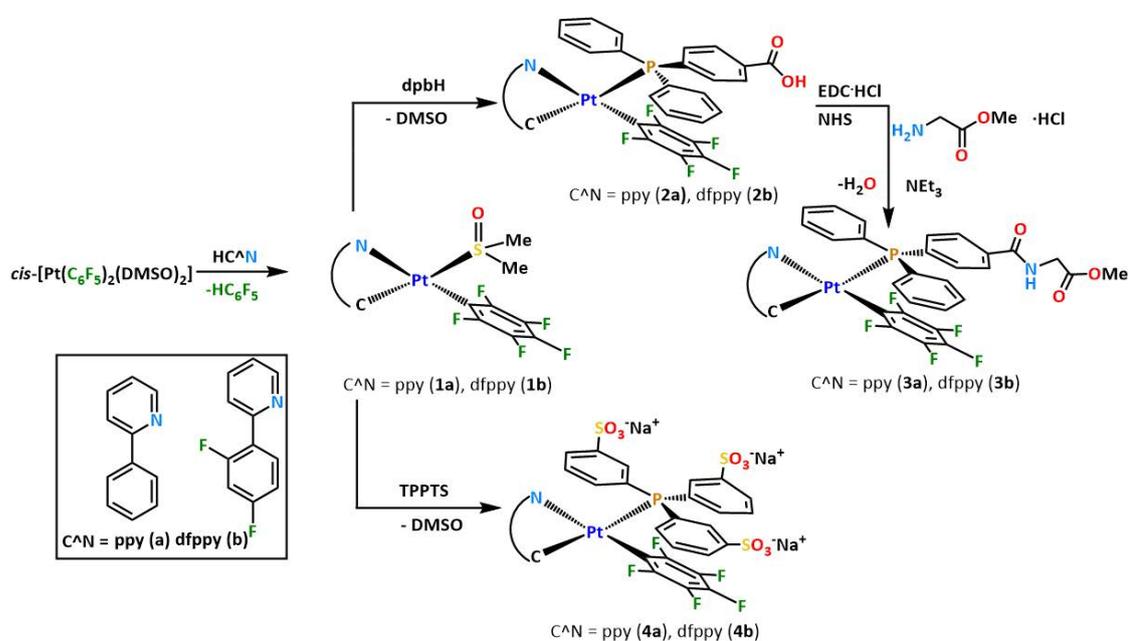
de Pt(II) e Ir(III); centrándose este primer capítulo en la síntesis, caracterización y estudio de las propiedades ópticas, acompañadas de cálculos teóricos, de los compuestos de Pt(II) 1 a 4. Además, se han estudiado las propiedades biológicas *in vitro* de todos ellos en las líneas celulares humanas de cáncer de pulmón (A549) y de cáncer de cuello uterino (HeLa). Con el fin de comparar los resultados con una línea celular no tumoral, se han realizado también los estudios de citotoxicidad frente a células del epitelio pulmonar (NL-20). Profundizando aún más en el comportamiento anticancerígeno de estos compuestos, se han realizado los estudios sobre la posible inhibición de la polimerización de los microtúbulos como su posible mecanismo de acción. Finalmente, se han realizado estudios sobre su localización celular mediante microscopia de fluorescencia.

1.2 Síntesis y caracterización

1.2.1 Síntesis

Como ya se ha señalado en la introducción, uno de los principales objetivos de este capítulo es la preparación de una nueva familia de compuestos cicloplatinados que sean luminiscentes y, además, presenten en su estructura ligandos coordinados con grupos bioactivos. Estos grupos pueden servir de vía para el incremento de su actividad biológica a través de su interacción más selectiva con células tumorales.

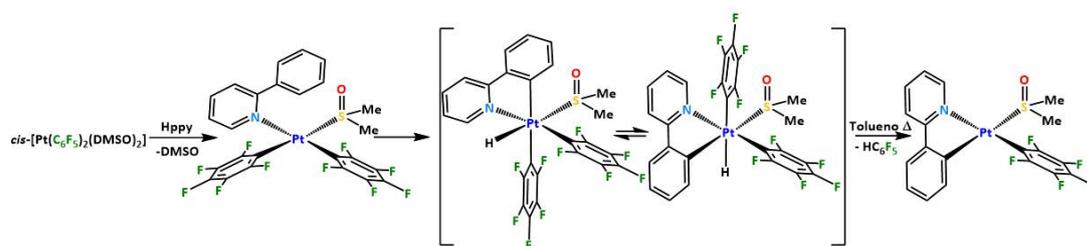
El procedimiento sintético para la preparación de los nuevos compuestos de Pt(II) 1-4 (a y b) está representado en el esquema 1.3.



Esquema 1.3. Preparación de los complejos 1-4

La síntesis del precursor con la molécula lábil de DMSO (**1a**) está descrita en un artículo publicado anteriormente por este grupo de investigación.¹⁷⁶ Siguiendo un procedimiento similar al establecido para **1a**, se obtiene el compuesto análogo con el grupo ciclometalado *dfppy* (**1b**). Este compuesto se aísla como un sólido amarillo pálido mediante la reacción de del precursor $cis-[Pt(C_6F_5)_2(DMSO)_2]$ con un equivalente de la 2-(2,4-difluorofenil) piridina (*Hdfppy*) en tolueno a reflujo durante 24 horas. De acuerdo con estudios previos, en estas condiciones se produce inicialmente la sustitución de una

de las moléculas de DMSO, coordinándose el ligando HC[^]N al centro de platino por el átomo de nitrógeno piridínico. El intermedio de reacción *cis*-[Pt(C₆F₅)₂(HC[^]N-κN)(DMSO)] forma, finalmente, los derivados **1a** o **1b** a través de la activación del enlace C-H (Esquema 1.4).^{134, 176, 191} Estas reacciones son quimio y regio selectivas, dado que la forma final es siempre el isómero en el que el grupo C₆F₅ se encuentra en una posición mutuamente *cis* con el C-metalado debido al efecto transfobia.^{174, 192} Algo que se confirma por medio de las estructuras de rayos-X obtenidas para el compuesto **1b**.



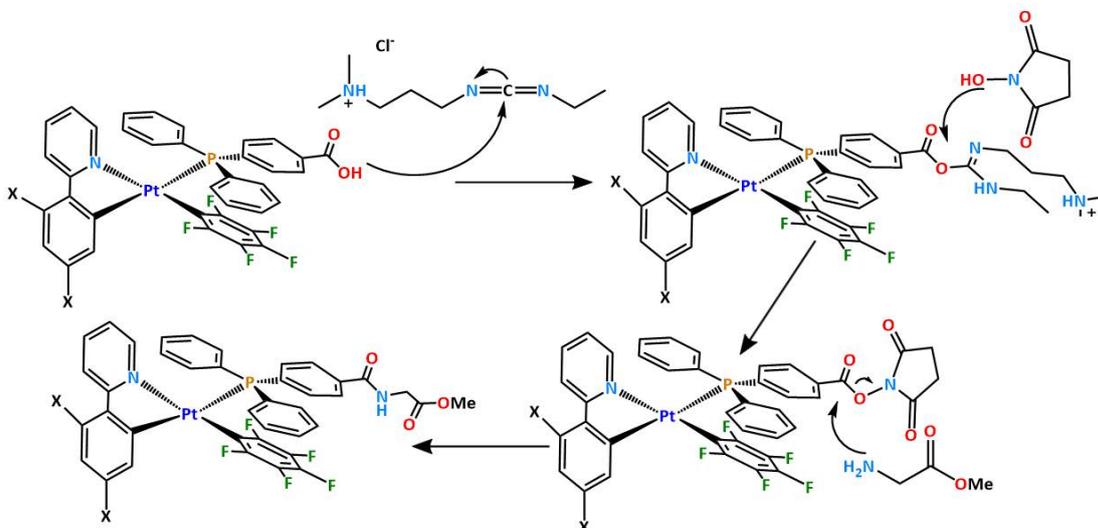
Esquema 1.4. Intermedios de reacción y activación del enlace C-H para la síntesis de **1**.

Por otra parte, la preparación de los derivados con fosfinas **2a,b** y **4a,b** se lleva a cabo fácilmente, y con rendimientos elevados, a partir de la sustitución del ligando lábil DMSO en **1a** y **1b** por la correspondiente fosfina comercialmente disponible, 4-(difenilfosfina)ácido benzoico (dpbH) (**3**) o tris-(3-sulfonato sódico fenil)fosfina [P(C₆H₄SO₃Na)₃, TPPTS] (**4**).

En los últimos años, se ha llevado a cabo preparación de ligandos de tipo fosfina unidos a derivados de aminoácidos o a pequeños péptidos, que finalmente se coordinan a complejos metálicos a través de enlaces M-P.^{186d, 187c, 193} Muchos de estos compuestos se han empleado a su vez como catalizadores o como modelos estructurales de proteínas secundarias.^{187c, 193a-e} Una manera sencilla de llevar a cabo esta funcionalización es mediante acoplamiento peptídico entre el grupo amina de derivados de aminoácidos y fosfinas con grupos ácido, publicada por Monkowius y col.^{187a} Para esta reacción, se emplea el agente de acoplamiento *N*-etil-*N'*-[3-(dimetilamino)propil]carbodiimida-hidrocloruro (EDC·HCl) y la *N*-hidroxisuccinimida (NHS). Esta estrategia se ha probado con éxito en la activación del grupo carboxílico de la fosfina dpbH en el derivado [AuCl(dp**3**H)] generando acoplamiento peptídico directo con aminoácidos protegidos con grupos metil éster.^{187b}

Teniendo en cuenta lo anterior, para la síntesis de los derivados $[\text{Pt}(\text{C}^{\wedge}\text{N})(\text{C}_6\text{F}_5)(\text{dpbGlyOMe})]$ **3a** y **3b**, se ha decidido emplear la misma estrategia partiendo de los compuestos **2a** y **2b** y la Glicina metil éster en su forma clorhidrato (HGlyOMe·HCl). Como se recoge en los esquemas 1.3 y 1.5, los precursores **2a** y **2b** se disuelven en diclorometano junto con el agente de acoplamiento EDC·HCl y la NHS (en una ratio molar de 1/1.2/1.2) durante 5 horas para generar la forma activada (éster), que posteriormente reacciona con 1.4 equivalentes de HGlyOMe·HCl en medio básico (4 equivalentes de NEt_3) durante 24 horas. De esta manera se obtienen los compuestos **3a** (71%) y **3b** (64%) con buenos rendimientos, como sólidos amarillos tras el tratamiento habitual de la reacción para aislarlos y obtenerlos puros.

El empleo en este caso de la EDC·HCl permite la formación del enlace amídico activando el ácido carboxílico sin la formación de productos secundarios como la N-acetilurea, insoluble en agua y más complicada de eliminar, mediante un proceso sencillo que permite obtener estos compuestos con un elevado grado de pureza.



Esquema 1.5. Mecanismo de formación del enlace peptídico a través del agente de acoplamiento EDC.HCl con NHS.

1.2.2 *Caracterización*

Todos los compuestos sintetizados son estables al aire y han sido caracterizados mediante las técnicas habituales de análisis elemental (excepto **4a** y **4b**), espectrometría de masas y mediante espectroscopia IR y de RMN de ^1H , $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ y $^{31}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (ver figuras del Apéndice 1 A1.1-A1.2).

Para los compuestos **2** y **3**, los espectros de masas [MALDI-TOF(+) o ESI(+)] muestran la presencia de iones moleculares M^+ (**2a** 100%, **3a** 69%) o $[M+H]^+$ (**2b** 100%, **3b** 55%). En el caso de los compuestos que presentan la TPPTS, en el espectro ESI(+) los picos más intensos corresponden a los iones $[M+Na]^+$ (**4a** 100%, **4b** 100%), al igual que en caso del solvato con DMSO **1b** ESI(+) $[M+Na]^+$ (100%).

Todos los compuestos presentan en sus espectros de infrarrojo bandas que aparecen alrededor de 800 cm^{-1} (799 **1b**; 804 **2a**; 803 **2b**; 804 **3a**; 803 **3b**; 787 **4a**; 784 cm^{-1} **4b**),¹⁹⁴ que se deben a la vibración $\nu_{\text{x-sensible}}$ de los grupos pentafluorofenilo.^{172a, 172b, 174, 177} En los compuestos que presentan un grupo carboxílico destacan bandas atribuidas a la vibración $\nu(\text{CO})$ (1696 **2a**; 1702 cm^{-1} **2b**) y $\nu(\text{OH})$ ($\approx 3000\text{ cm}^{-1}$). En cuanto a los compuestos en los que el ácido funcionalizado de la fosfina pasa a formar un enlace peptídico con la glicina metil éster, los espectros de infrarrojo reflejan la presencia de dos grupos carbonilo en la región $\nu(\text{CO})$. Las que aparecen a frecuencias más altas (**3a** 1745 y **3b** 1747 cm^{-1}) se atribuyen al grupo éster (COOMe), mientras que las que aparecen a menores energías (1667 **3a** y 1666 **3b**) se asignan al grupo amida. En estos compuestos es muy representativa la banda que aparece $\approx 3360\text{ cm}^{-1}$ que se asigna a $\nu(\text{NH})$. Finalmente, los grupos sulfonato de los derivados **4** generan bandas anchas ≈ 3460 y 1645 cm^{-1} , correspondientes con los modos de tensión $\nu(\text{OH})_{\text{sim}}$ y $\nu(\text{OH})_{\text{asim}}$ y de flexión de las moléculas de H_2O (debido a la presencia de iones Na^+ que tienden a captar moléculas de H_2O para estabilizarse).

Se ha realizado la caracterización de RMN de todos los compuestos, asignando las señales con ayuda de los espectros de correlación COSY ^1H - ^1H , HSQC ^1H - ^{13}C , HMBC ^1H - ^{13}C y TOCSY ^1H - ^1H .

Todos los espectros de $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ (Figura 1.9) confirman la presencia del grupo pentafluorofenilo mostrando las tres señales típicas de sistemas AA'MXX' (2o-F, p-F y 2m-F). Los altos valores observados para las constantes de acoplamiento entre los átomos de flúor en posición *orto* y el átomo de platino ($^3J_{\text{o-F-Pt}} \approx 463 - 505\text{ Hz}$) son comparables con los obtenidos en compuestos similares,^{134, 174, 176} y están en consonancia con la baja influencia trans del átomo de N de la piridina en el grupo ciclotometalado en coherencia al efecto *transfobia*. Además, en el caso de los compuestos de la serie **b**, aparecen dos

señales adicionales a campos más bajos, atribuidas a los átomos de flúor de la *dfppy* (F^6 y F^8). Estas señales también presentan satélites de Pt ($^4J_{Pt-F} = 33-60$ Hz) y tienen forma de multiplete por acoplamiento a los F más próximos y, en los casos de los compuestos con fosfinas (**2** - **4**), al átomo de P ($^5J_{P-F} \approx 10$ Hz).

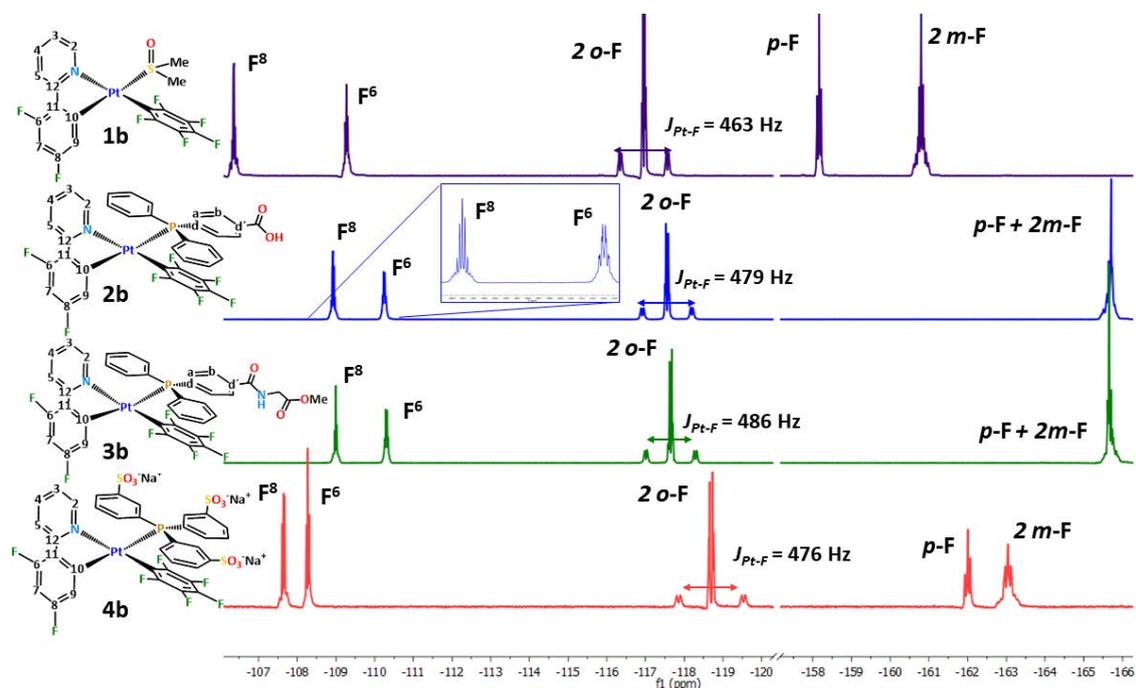


Figura 1.9. Espectros de RMN $^{19}F\{^1H\}$ de los compuestos **1b** ($CDCl_3$), **2b** y **3b** (CD_3COCD_3) y **4b** (D_2O).

Las reacciones de sustitución de la molécula lábil de DMSO en los compuestos **1** (a y b) por fosfinas en los compuestos **2** - **4** también se evidencia en los espectros de RMN $^{31}P\{^1H\}$ (Figura 1.10), en los que se observa una única señal en el rango de $\delta \approx 26.2 - 29.2$ ppm, singlete en el caso de los compuestos con *ppy* como ligando ciclotmetalado y triplete para aquellos que presentan la *dfppy* debido al acoplamiento a larga distancia con los átomos de F ($^5J_{P-F}$ 8-10 Hz). Los valores de las constantes de acoplamiento de los satélites de platino con el fósforo se encuentran en el rango $^1J_{P-Pt}$ 1936 - 2028 Hz, valores típicos de señales de P en disposición *trans* al C ciclotmetalado.^{180, 195}

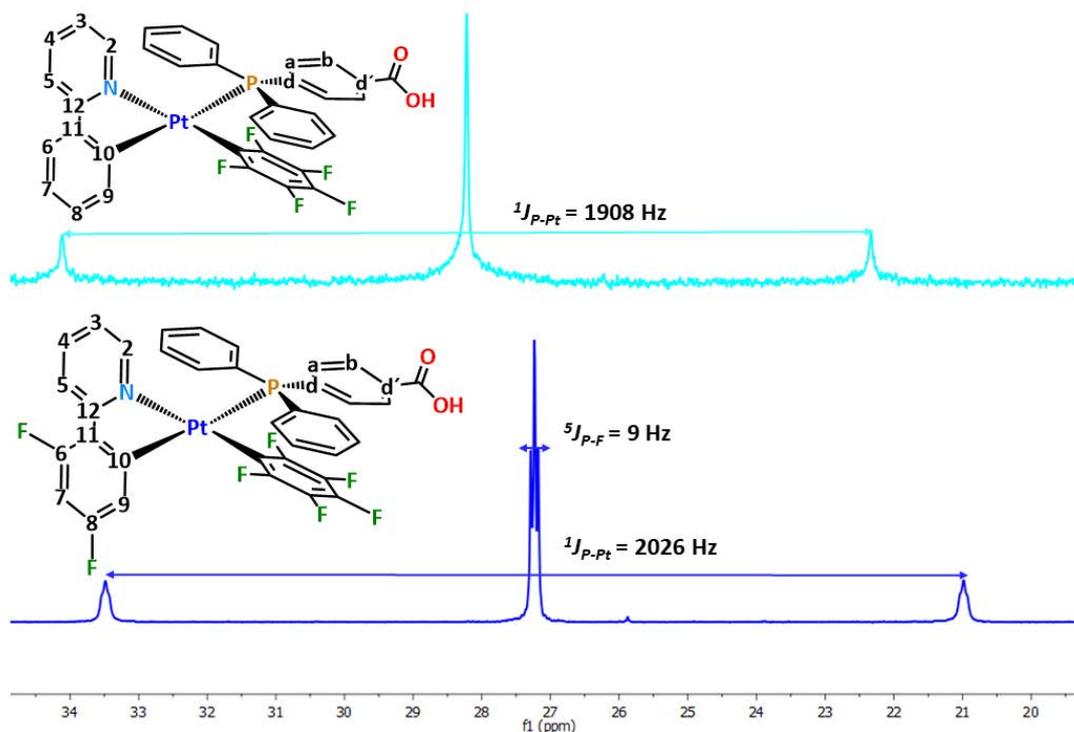


Figura 1.10. Espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ de los compuestos **2a** y **2b** en CD_3COCD_3 .

Las señales más representativas de los espectros de RMN ^1H y $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ son las correspondientes a los ligandos ciclometalados y de los fenilos sustituidos de las fosfinas. La asignación completa de estas señales se ha realizado con ayuda de los espectros bidimensionales (ver Apéndice). Como ejemplo, la Figura 1.11 muestra los espectros de RMN de ^1H del solvato de DMSO **1b** y de los derivados con fosfinas de la serie **a**.

La reacción de sustitución del DMSO por las fosfinas se refleja en la aparición de las señales correspondientes a los anillos aromáticos. Además, las señales que se deben a los protones de los grupos ciclometalados también sufren cambios, como es caso del protón H^2 que se desplaza de 9.71 ppm en **1b** a 8.00 – 8.17 ppm en los compuestos **2 – 4** (**a** y **b**). Este desplazamiento se atribuye al efecto anisotrópico diamagnético de los anillos fenílicos de las fosfinas que se encuentran en *cis* al anillo con el H^2 . Un efecto similar ocurre con el H^9 , en el que se observa un desplazamiento hacia frecuencias mayores ($\Delta\delta_{\text{H}} \approx 0.4 - 0.5$ ppm de **1** a **2 - 4**). Esta señal aparece en todos los casos como la más apantallada debido a su proximidad con las corrientes diamagnéticas generadas por el grupo C_6F_5 en posición *cis*, que se orienta perpendicular al plano de coordinación del platino y presenta

una apariencia de mayor complejidad debido a su acoplamiento a larga distancia con el átomo de P ($^4J_{H-P}$). La señal que aparece en el compuesto **1b** a 3.04 ppm, debida a los CH₃ del DMSO y con satélites por acoplamiento a Pt ($^3J_{Pt-H} = 14$ Hz), desaparece al sustituir este ligando por las fosfinas; apareciendo para los compuestos **2** una nueva señal muy ancha debida al OH de la fosfina (δ^H 11 – 12). Esta señal desaparece al realizar el acoplamiento peptídico con la glicina metil éster, tal y como refleja el espectro del compuesto **3a** de la Figura 1.11 en el que aparecen nuevas señales adicionales como la debida al NH \approx 8.02 ppm o la del metóxido a 3.69 ppm.

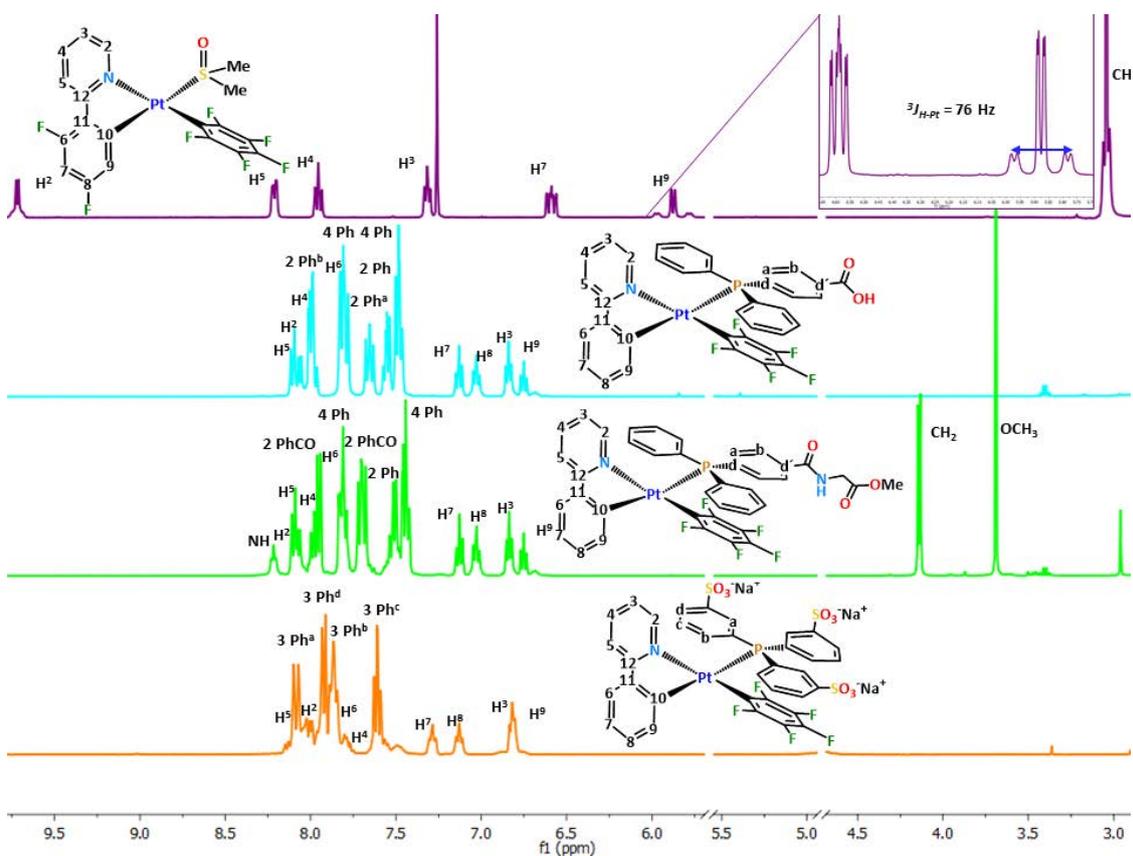


Figura 1.11. Espectros de RMN de 1H de **1b** ($CDCl_3$), **2a**, **3a** (CD_3COCD_3) y **4a** (D_2O).

Por su parte, los espectros de RMN de $^{31}C\{^1H\}$ de los compuestos **2a** y **3a** están representados en la Figura 1.12. En ellos destacan las señales más desapantalladas que se atribuyen al grupo carbonilo (δ 168.8 **2a**, 166.9 ppm **2b**) y, en el caso de los compuestos **3**, de los grupos COO (δ 170.77 **3a**, 171.0 ppm **3b**) y CONH (δ 168.7 **3a**, 166.8 ppm **3b**). Además, en el caso de los compuestos **3** aparecen a bajas frecuencias las señales debidas al carbono metilénico CH₂ (δ 41.9 **3a**, 42.2 **3b**) y OMe (δ 52.1 **3a**, 52.3 ppm **3b**)

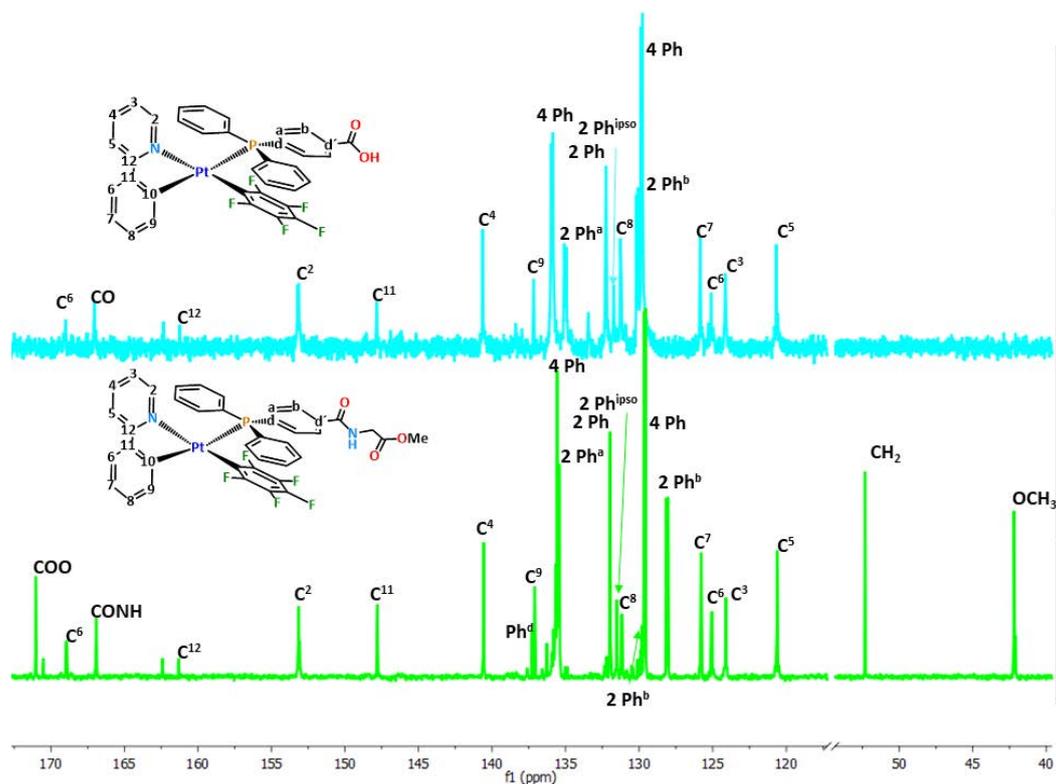


Figura 1.12. Espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de **3a** y **3b** (CD_3COCD_3).

Las estructuras moleculares de los compuestos **1b**, **2a** y **3b**, obtenidas a partir del estudio de monocristales de estos sólidos mediante difracción de rayos-X (XRD), confirman la estequiometría y estructura de los compuestos expuesta en el esquema 1.2. En la Tabla del Apéndice A.1.1 aparecen las distancias de enlace y ángulos, además de los datos cristalográficos. En los tres casos se observa, como es de esperar un entorno plano cuadrado distorsionado en el átomo de Pt(II) debido al grupo ciclotmetalado (C(12)-Pt(1)-N(1) 80.2(1) Å (**1b**), 80.9(3) Å (**2a**) 79.9(2) Å (**3b**)). Se confirma en todos los casos la disposición en *cis* del C-*ipso* del grupo pentafluorofenilo con respecto al carbono metalado y para el complejo **1b** la unión del grupo DMSO a través del átomo de azufre, como confirman también sus constantes de acoplamiento $J_{\text{Pt-H}}$ en el espectro de RMN de protón. Las distancias de enlace entre el Pt y los ligandos están dentro de lo esperado y son similares a las encontradas para compuestos descritos previamente,^{134, 196} aunque la distancia de enlace Pt-S 2.3114(7) es ligeramente superior a la observada en otros compuestos estructuralmente similares.¹⁹⁷

Los cristales del compuesto **1b** se han conseguido a partir de la difusión lenta de hexano a -30 °C en una disolución saturada de **1b** en CH_2Cl_2 . En la Figura 1.12 se recoge

la estructura molecular del compuesto junto con algunos datos seleccionados de distancias de enlace y ángulos más relevantes, así como algunas interacciones supramoleculares presentes en la estructura cristalina.

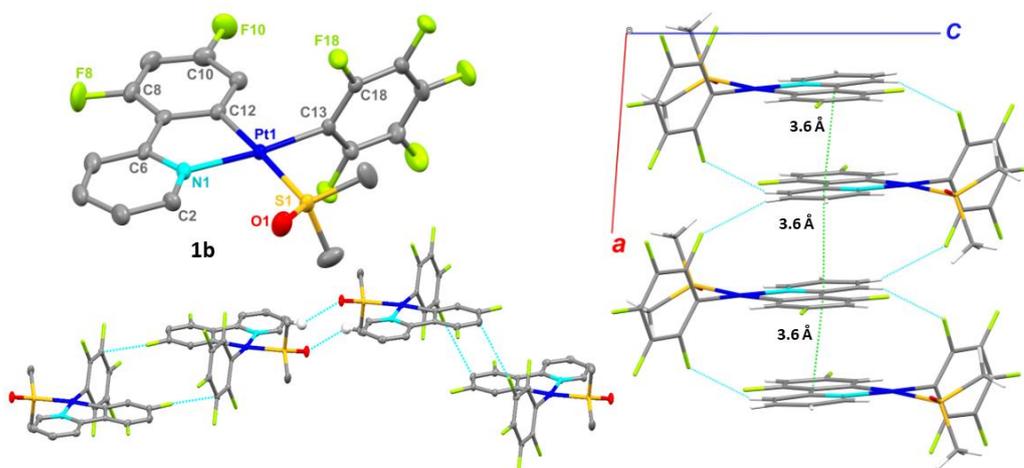


Figura 1.13. Estructura molecular del complejo $[\text{Pt}(\text{dfppy})(\text{C}_6\text{F}_5)(\text{DMSO})]$ (**1b**), mostrando el empaquetamiento de las moléculas a lo largo del eje cristalográfico *a*. Este empaquetamiento se debe a interacciones intermoleculares débiles $\pi \cdots \pi$ (≈ 3.6 Å) y $\text{C}-\text{H} \cdots \text{F}$ ($\text{C} \cdots \text{F}$ 2.6 Å; $\text{C}-\text{H} \cdots \text{F}$ 137 – 142°). Distancia de enlace seleccionadas Pt(1)-N(1) 2.090(3), Pt(1)-C(12) 2.017(3), Pt(1)-C_{ipso}(C₆F₅) 2.028(3), Pt(1)-S(1) 2.3114(7), C(12)-Pt(1)-N(1) 80.2(1), C(12)-Pt(1)-C_{ipso}(C₆F₅) 91.6(1).

Para **2a**, los cristales se obtuvieron a partir de una disolución de complejo en CH_2Cl_2 , y su estructura se recoge en la Figura 1.14 junto con la forma que tiene de cristalizar en un grupo espacial *P*-1, con un par de moléculas en la unidad asimétrica. En este caso las distancias de enlace Pt(1)-N(1) 2.090(3) y Pt(1)-C_{ipso}(C₆F₅) son muy similares a las encontradas para el complejo **1b**, mientras que la distancia Pt(1)-C(12) 2.043(7) es considerablemente mayor, posiblemente por la mayor influencia *trans* del átomo de P de la fosfina con respecto al S del DMSO. El estudio realizado sobre el empaquetamiento de este compuesto y de **1b**, revela que se ven soportados por interacciones débiles $\pi \cdots \pi$. En el caso de **2a**, se observa, en ambas moléculas, una interacción intermolecular entre el anillo benzoico y el ligando pentafluorofenilo (distancia entre los centroides de los anillos de 3.44 y 3.52 Å), como se aprecia en la Figura 1.14.

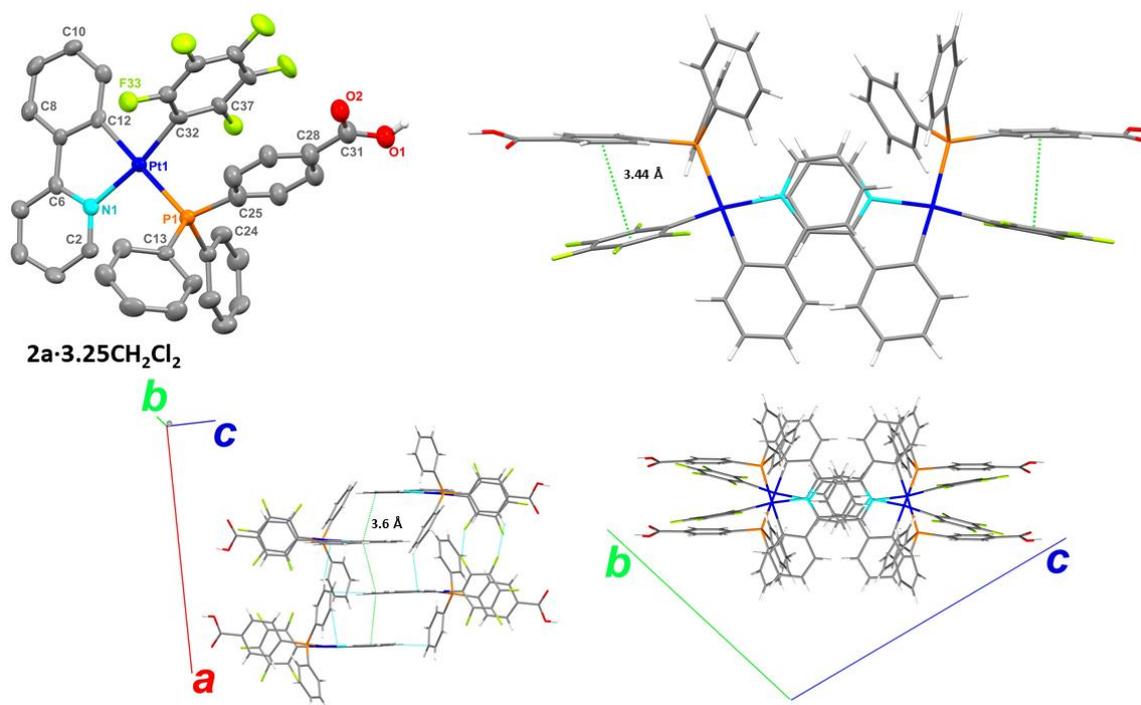


Figura 1.14. Estructura molecular del complejo $[\text{Pt}(\text{ppy})(\text{C}_6\text{F}_5)(\text{dpbH})]$ (**2a**), mostrando diferentes vistas del empaquetamiento de las moléculas a través de interacciones intramoleculares $\pi \cdots \pi$ entre los anillos benzoicos y los grupos pentafluorofenilo (distancia entre centroides 3.44 y 3.52 Å). El empaquetamiento muestra un apilamiento de las moléculas a lo largo del eje cristalográfico *a* soportado por interacciones $\pi \cdots \pi$ débiles (≈ 3.6 Å) a través de los anillos piridínicos de la *ppy* y por contactos $\text{C-H} \cdots \text{F}$ ($\text{C} \cdots \text{F}$ 3.41 - 3.61 Å; $\text{H} \cdots \text{F}$ 2.73 - 2.89 Å; $\text{C-H} \cdots \text{F}$ 116 - 159°). Distancia de enlace seleccionadas: Pt(1)-N(1) 2.104(6), Pt(1)-C(12) 2.043(7), Pt(1)-C_{ipso}(C₆F₅) 2.014(7), Pt(1)-P (1) 2.335(2), C(12)-Pt(1)-N(1) 80.9(3), C(12)-Pt(1)-C_{ipso}(C₆F₅) 91.0(3).

Como se muestra en la Figura 1.15, en el derivado **3b** la formación de un enlace peptídico con un derivado de aminoácido en la fosfina es lo que organiza la disposición supramolecular en este compuesto. Este grupo involucra varias interacciones intermoleculares $\text{C-H} \cdots \text{O}$, $\text{N-H} \cdots \text{O}$ y $\text{C-H} \cdots \pi$, que otorgan un ordenamiento bidimensional a lo largo de los ejes cristalográficos *a* y *b*. En consecuencia, se forman canales de alrededor de 5 nm de diámetro paralelos al eje *a* ($[100]$). A pesar de la presencia de los restos peptídicos voluminosos, se forman también interacciones intermoleculares entre diferentes *dfppy* [$\text{C}(4)\text{C}(8')$ 3.28 Å], dando lugar a la estructura tridimensional mostrada en la Figura 1.15.

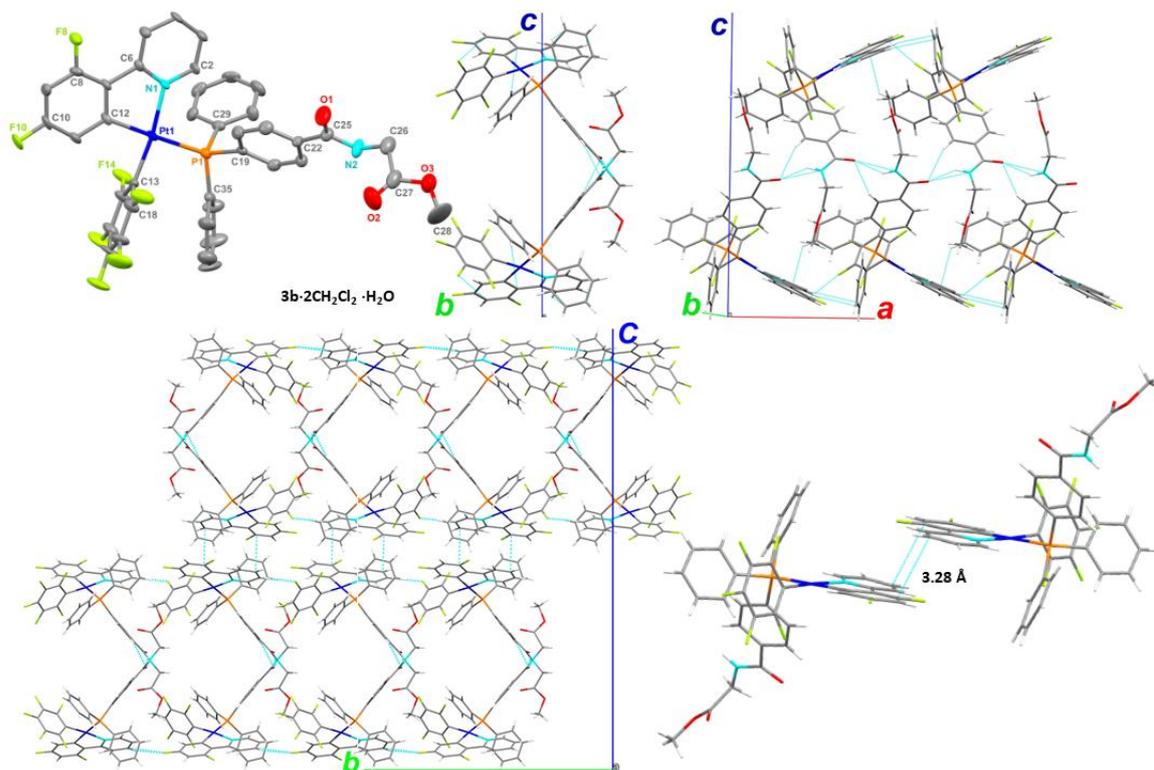


Figura 1.15. Estructura molecular del complejo $[Pt(dfppy)(C_6F_5)(dpbGlyOMe)]$ (**3b**) mostrando diferentes vistas del apilamiento de las moléculas. El grupo peptídico participa en la formación de interacciones intermoleculares débiles $C-H\cdots O$ ($C\cdots O$ 3.53 Å; $H\cdots O$ 2.64 Å; $C-H\cdots O$ 159°) y $N-H\cdots O$ ($N\cdots O$ 2.75 Å; $H\cdots O$ 2.20 Å; $N-H\cdots O$ 145°), lo que genera un ordenamiento bidimensional de las moléculas a lo largo de los ejes a y b . Este hecho origina canales de 5 nm de diámetro a lo largo del eje a , ocupados por moléculas de disolvente (CH_2Cl_2). Dichos canales se unen a lo largo del eje c a través de interacciones $\pi\cdots\pi$ entre grupos $dfppy$ [$C(4)C(8')$ 3.28 Å] para dar la estructura tridimensional final. Distancia de enlace seleccionadas Pt(1)-N(1) 2.093(4), Pt(1)-C(12) 2.024(6), Pt(1)-C_{ipso}(C₆F₅) 2.002(6), Pt(1)-P (1) 2.327(2), C(12)-Pt(1)-N(1) 79.9(2), C(12)-Pt(1)-C_{ipso}(C₆F₅) 79.9(2).

1.3 Propiedades fotofísicas y cálculos teóricos

El estudio de las propiedades fotofísicas de todos los compuestos cicloplatinados con ligandos pentafluorofenilo que componen este capítulo se han realizado en disolución, empleando CH_2Cl_2 como disolvente en los compuestos **1-3** y H_2O en **4**. Además, los espectros de emisión se han medido tanto a temperatura ambiente como a bajas temperaturas (77 K), en disolución y en estado sólido.

1.3.1 Espectros de absorción

Se han medido los espectros de absorción de los compuestos **1-3** en CH_2Cl_2 y del compuesto **4** en H_2O y MeOH (5×10^{-5} M). Los datos se recogen en la Tabla 1.1 y la Figura 1.16 muestra un ejemplo representativo de los espectros (**1b**, **2b** y **3b**), junto con una ampliación de la zona menos energética en la que aparecen los compuestos **1**, **2** y **3** (a y b).

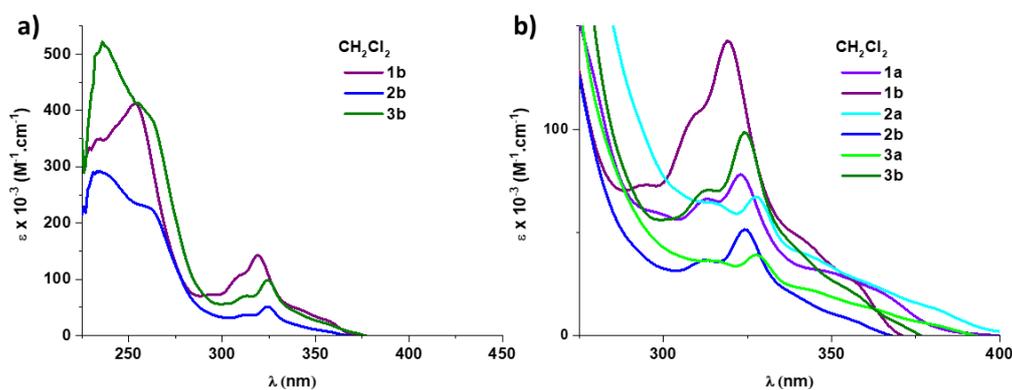


Figura 1.16. Espectros de absorción en CH_2Cl_2 de **1b** (2.5×10^{-5} M), **2b** y **3b** (5×10^{-5} M) y ampliación de la zona de menor energía de los compuestos **1-3** con *ppy* (a) o *dfppy* (b).

Con fines comparativos, se han realizado los espectros de absorción UV-Visible en DMSO en el caso de los derivados **1 – 3** (5×10^{-5} M), para confirmar su estabilidad en este medio. Los estudios biológicos realizados sobre estos compuestos se llevan a cabo disolviéndolos previamente en DMSO en concentraciones de 8 o 16 mM. Por ello, y para asegurar que sus propiedades no varían drásticamente con el cambio de disolvente, se ha realizado esta prueba. Los resultados obtenidos indican que estos compuestos son estables en este medio con pequeñas variaciones en las energías de absorción, tal y como

se ve en la Tabla 1.1, lo que sugiere una contribución muy baja de la transferencia de carga en las propiedades de absorción de estos compuestos.

Tabla 1.1. Datos de absorción para los compuestos **1-3** (a y b) en disoluciones de CH₂Cl₂ y de **4** (a y b) en H₂O (5 × 10⁻⁵ M)

Compuesto	$\lambda_{\text{abs}}/\text{nm}$ ($\epsilon \times 10^{-3}/\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$)
1a	253.4 (23.6), 312.1 _h (6.63), 320 (7.8), 360.7 _h (2.5) CH ₂ Cl ₂
	263 (28), 313 (10.6), 323.3 (12.2), 363 (4.8) DMSO
1b	270 (52.3), 307 _h (8.8), 320 (11.6), 357 (1.9) CH ₂ Cl ₂ ^(a)
	258 (16.7), 297 _h (11.8), 319 (9.1), 357 _h (3.2), 403 _h (0.9) DMSO
2a	250 _h (32.1), 267 (25.4), 274 (23.9), 315 _h (6.5), 328 (6.9), 361 _h (2.9) CH ₂ Cl ₂
	265 (35.7), 326 (9.0), 372 _h (2.4) DMSO
2b	261 _h (22.9), 313 _h (3.7), 325 (5.6), 360 _h (0.9) CH ₂ Cl ₂
	242 (17.2), 263 (20.3), 313 _h (6.0), 323 (8.7), 357 _h (1.9) DMSO
3a	266 (22.4), 271 (25.5), 327 (4.2), 361 _h (1.9) CH ₂ Cl ₂
	266 (31.8), 328 (8.8), 379 _h (1.9) DMSO
3b	258 _h (41.0), 312 _h (6.9), 325 (10.2), 356 _h (2.2) CH ₂ Cl ₂
	262 (20.7), 311 _{sh} (5.1), 325 (8.3), 357 _{sh} (2.5) DMSO
4a	263 (28), 308 _h (5.6), 324 (6.4) H ₂ O
	220 (66), 260 (28), 308 _h (6.6), 327 (7) MeOH
4b	258 (28), 308 _h (6.4), 321 (8.6) H ₂ O
	221 (66), 261 (30), 307 _h (6.6), 322 (8.8) MeOH

^a2.5 × 10⁻⁵ M

Todos los compuestos muestran, en los espectros de absorción, bandas de gran intensidad con hombros en la zona de energía más alta ($\lambda \approx 220\text{-}280\text{ nm}$) y otras bandas menos intensas a mayores longitudes de onda en el rango de 300–400 nm ($\epsilon \sim 0.9 \times 10^{-3}\text{-}10^{-4}\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$). Las bandas de absorción más energéticas se asignan a transiciones $\pi\text{-}\pi^*$ centradas en el ligando (¹IL, C[^]N, C₆F₅). De acuerdo con estudios previos¹³⁴ y con los cálculos realizados en los compuestos **1b**, **2(a,b)** y **3(a,b)**, las bandas de absorción características de baja energía que aparecen en el precursor **1b** y en los derivados **3a** y **3b** se asignan principalmente a una mezcla de transiciones ¹MLCT/¹IL, localizadas en el grupo ciclometalado, con algo de contribución de carácter ¹LLCT (C₆F₅ a C[^]N), que se ve incrementada en el caso de los complejos que presentan la fosfina *dpbGlyOMe* (**3a** y **3b**). Sin embargo, en el caso de los derivados con la *dpbH* (**2a** y **2b**), esta absorción se atribuye

a una mezcla de transiciones de mayor complejidad que implican la presencia de componente intraligando (1IL , $C^{\wedge}N$) y de transferencia de carga del metal a ambos ligandos [$^1M(L+L')CT$ ($Pt \rightarrow C^{\wedge}N$, PPh_2R)] y de unos ligandos a otros (1LLCT , $C_6F_5 \rightarrow C^{\wedge}N$); ésta última con una mayor contribución para **2b**. En todos los casos, existe cierta contribución de transiciones triplete no permitidas, debidas a la presencia del átomo de Pt, en la cola de las bandas ($\lambda > 370$ nm).^{172a, 172b, 173-174, 177, 195, 198}

Como se muestra en la Figura 1.16a, la sustitución en los precursores del DMSO por las fosfinas provoca un ligero desplazamiento al rojo en los máximos de absorción, lo que concuerda con los valores obtenidos mediante cálculos teóricos [338,6 nm (**1b**) frente a 350,0 nm (**2b**) y 350,1 nm (**3b**)] y que se explica por el mayor carácter dador de las fosfinas en relación al DMSO- κS , lo que eleva la energía del HOMO y rebaja el salto electrónico de la transición. Además, todos los complejos de la serie **b**, con la *dfppy* como grupo ciclometalado (**1b-4b**), muestran el máximo de absorción desplazado hacia el azul en relación con los complejos de la serie **a**, que presentan la *ppy* (véase la Tabla 1.1). Este desplazamiento es coherente dado que, en ambos casos, el HOMO se localiza fundamentalmente en el anillo del grupo ciclometalado, con una energía más baja en el caso de la *dfppy* (**b**), en relación a la *ppy* de la serie **a**, lo que incrementa el salto electrónico hacia el LUMO, más similar en ambos casos (**a** y **b**) y que posee una gran contribución del anillo piridínico del mismo ligando.

Con el fin de evaluar si se produce agregación en los compuestos menos voluminosos (**1a, b**), que contienen DMSO en lugar de ligando fosfina, se ha realizado un estudio de espectroscopía de absorción a concentración variable en CH_2Cl_2 (Figura 1.17). En ambos casos se observa que, al monitorizar el valor de la absorbancia a 375 nm, la banda de menor energía (361 nm, **1a**; 357 nm, **1b**) sigue la ley de Beer en el intervalo de concentración de 2.5×10^{-5} a 5×10^{-3} M; lo que sugiere que no se produce agregación de las moléculas en el estado fundamental, dentro de este intervalo de concentración. Sin embargo, sí que se aprecian bandas muy débiles ($\epsilon \sim 20$ M $^{-1}$ cm $^{-1}$) a menores energías en las muestras más concentradas (10^{-2} M para **1a** y **1b**). Estas bandas se atribuyen a la población de estados triplete ($^3LC/^3MLCT$), permitidos por el elevado efecto del acoplamiento espín-orbita causado por el átomo pesado de Pt(II).

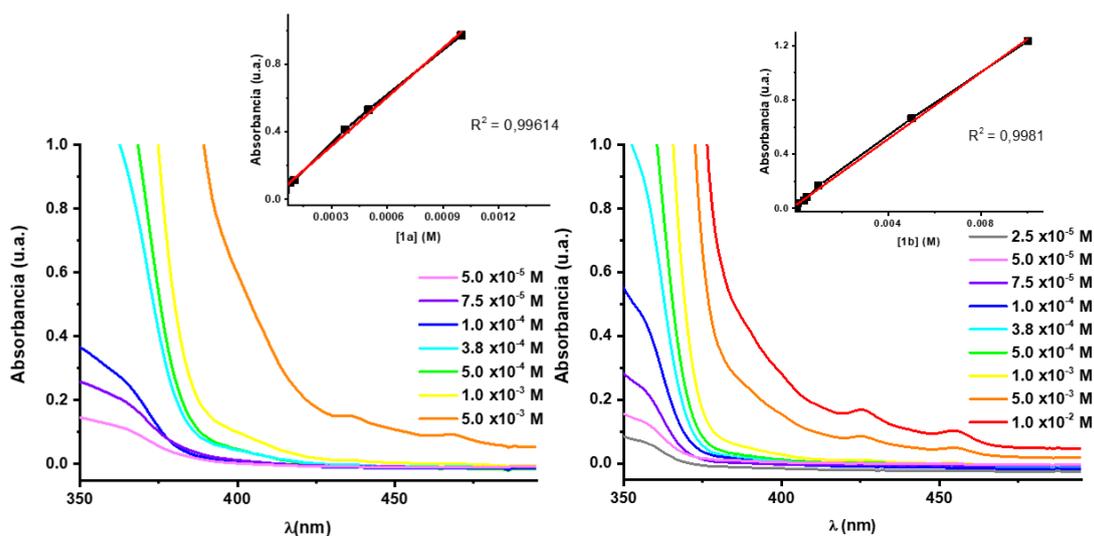


Figura 1.17. Región de baja energía de los espectros UV-Visible de los compuestos **1a** y **1b** en disoluciones de CH_2Cl_2 en concentraciones crecientes, mostrándose en ambos casos la recta que muestra la correlación entre la absorbancia a 375 nm frente a la concentración.

1.3.2 Espectros de emisión

Se han registrado los espectros de emisión de todos los compuestos en estado sólido y disolución, a 298 K y 77 K, y todos los datos se recogen en la Tabla 1.2. Los estudios de las propiedades ópticas de los derivados con la fosfina TPPTS (**4a** y **4b**) se han realizado en H_2O , dado que la presencia de esta fosfina los hace insolubles en los disolventes apróticos empleados para el estudio del resto de derivados que forman esta familia de compuestos.

Ninguno de los compuestos **4** ha mostrado emisión en disolución a temperatura ambiente al ser fotoexcitados, mientras que los derivados **1** – **3** muestran emisiones de baja intensidad en CH_2Cl_2 . Particularmente, los precursores con DMSO (**1a** y **1b**) muestran en disolución de CH_2Cl_2 una banda de emisión débil a 474 y 462 nm, respectivamente, debida a fosforescencia. La energía de emisión apenas se ve influenciada al medirse a bajas temperaturas (77 K; 475 nm, **1a**; 462 nm, **1b**); pero la intensidad de las emisiones se ve notablemente incrementada en vidrio congelado, apareciendo además fluorescencia residual a 430 nm en el caso de **1a**.

Tabla 1.2. Datos de emisión para los compuestos **1-4 (a y b)** en sólido y disolución (**1-3** en CH₂Cl₂ y **4** en H₂O)

Compuesto	Estado sólido					Disolución ^a		
	298 K			77 K		298 K	77 K	
	λ_{em} / nm	$\tau / \mu s$	Φ	λ_{em} / nm	$\tau / \mu s$	λ_{em} / nm	λ_{em} / nm	$\tau / \mu s$
1a	490	20.1	0.48	500	70.0	474 ^b	475	38.8
1b	473	40.6	0.62	477	52.2	462 ^b	462	49.0
2a	477	11.4	0.23	474	12.0	400, 475 ^b	475	41.0
2b	465	17.6	0.43	460	24.1	388, 460 ^b	458	39.0
3a	481	9.5	0.02	483	25.6	397, 478 ^b	475	41.0
3b	472	8.0	0.02	468	34.2	393, 462 ^b	459	41.0
4a	482	11.3	0.08	482	28.0		473	35.0
4b	484	9.9	0.09	472	30.0		459	46.0

^a 5×10^{-4} M, ^b emisión débil

Tal y como se refleja en la Figura 1.18, los espectros de emisión de los compuestos **1a** y **1b** no son dependientes de la concentración en el rango comprendido de 1×10^{-2} M a 5×10^{-5} M, ni a temperatura ambiente ni a 77 K, lo que excluye el fenómeno de agregación inducida por interacciones de tipo Pt...Pt o $\pi \cdots \pi$.

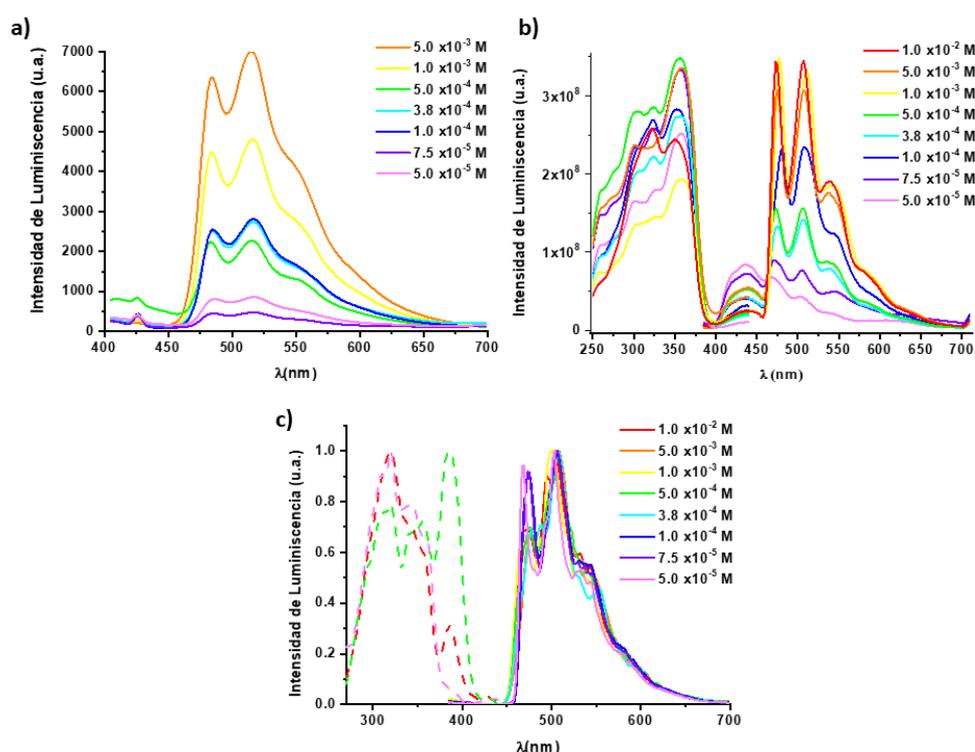


Figura 1.18. Espectro en CH₂Cl₂ a diferentes concentraciones (a) de emisión de **1a** a 298 K, (b) de emisión y excitación de **1a** a 77 K ($\lambda_{exc} = 365$ nm) y (c) de emisión y excitación normalizado de **1b** ($\lambda_{exc} = 365$ nm).

Tal y como se muestra en la Figura 1.19, los perfiles de emisión de los compuestos **2** y **3**, en disolución a temperatura ambiente se componen de una banda en la zona de alta energía atribuida a fluorescencia (~400 nm, **2a** y **3a**; ~390 nm, **2b** y **3b**) y una banda estructurada de baja energía atribuida a fosforescencia (475 nm, **2a**; 478 nm, **3a**; 460 nm, **2b**; 462 nm, **3b**); ésta última visible también en el caso de los espectros de los precursores **1**. (ver Tabla 1.2).

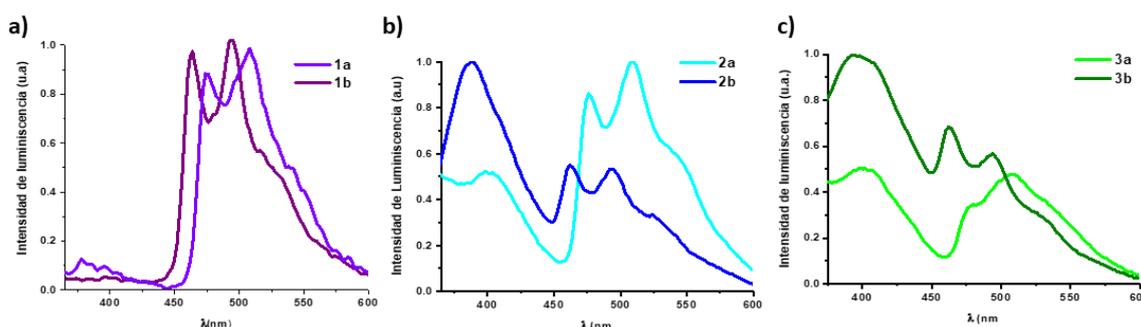


Figura 1.19. Espectros de emisión normalizados a 298 K (a) de **1** (a,b), (b) de **2** (a,b), (c) de **3** (a,b) en CH₂Cl₂ ($\lambda_{\text{ex}} = 365$ nm).

El estudio de las propiedades emisivas de estos compuestos realizado en vidrio congelado a baja temperatura (77 K) muestra un incremento en la emisión de todos los derivados; siendo los compuestos **2** y **3** fuertemente emisivos en estas condiciones. En todos los casos, únicamente se observa la emisión fosforescente, como una banda estructurada en la zona de más baja energía. Las bandas presentan los máximos de emisión entre 473-475 nm para los complejos de la serie **a**, con la *ppy* como grupo ciclotmetalado (Figura 1.20a), y desplazadas al azul para la serie con *dfppy* **1b-4b** (458-462 nm; Figura 1.20b y c).

Todos los compuestos presentan emisiones intensas de vida media larga ($\approx 38 - 49 \mu\text{s}$) con perfiles estructurados que muestran espaciados vibrónicos en el rango de 1410-1565 cm^{-1} . Esta estructuración es típica de los modos de vibración de los ligandos ciclotmetalados, lo que indica su participación en el estado emisor.^{134, 174, 176, 186b, 195, 199} Todos estos resultados, apoyados con los cálculos teóricos realizados sobre algunos de estos compuestos, indican que las emisiones observadas se atribuyen a fosforescencia centrada en el ligando (³IL) con una pequeña contribución del átomo de platino (³MLCT),

siendo L el ligando ciclometalado. Esto se observa en los espectros de las Figuras 1.20a y b, en los que la sustitución del DMSO por fosfinas en los compuestos **2**, **3** y **4** no provoca variaciones significativas en los máximos de emisión.

Por el contrario, tal y como se aprecia en los espectros de los compuestos **3a** y **3b** en la Figura 1.20c, elegidos a modo de ejemplo, la incorporación de átomos de flúor en el grupo ciclometalado provoca un desplazamiento de la emisión hacia el azul. Este hecho se justifica, al igual que en los espectros de absorción, por la estabilización del HOMO a causa de la sustitución de los átomos de H en la *ppy* (serie **a**) por F en la *dfppy* (serie **b**), incrementando el salto electrónico entre los orbitales π - π^* del ligando.

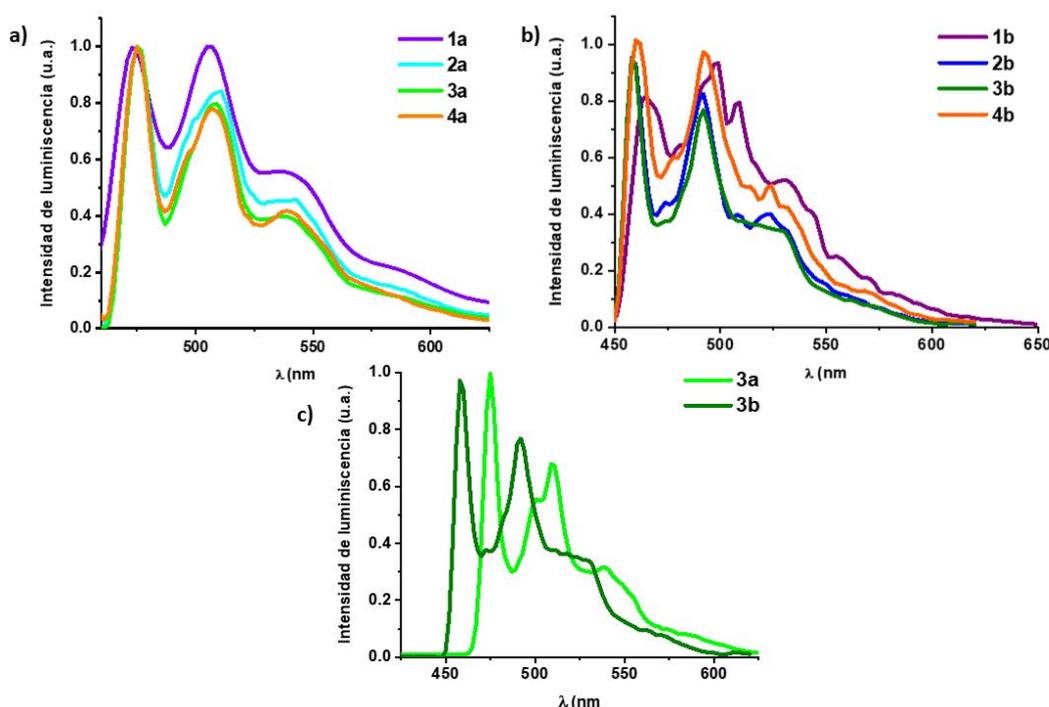


Figura 1.20. Espectros de emisión normalizados a 77 K (a) de **1** - **3** (**a**) (CH₂Cl₂) y **4a** D₂O, (b) de **1** - **3** (**b**) (CH₂Cl₂) y **4b** D₂O, (c) de **3** (**a** y **b**) en CH₂Cl₂ ($\lambda_{\text{ex}} = 365$ nm)

La desactivación en disolución de la emisión (*quenching*) de los compuestos que presentan fosfinas puede atribuirse a la fácil desactivación no radiativa a través de relajación vibracional e interacciones intermoleculares no covalentes, potenciada en los complejos **2** - **4** por la naturaleza de los sustituyentes (-COOH, -GlyOMe, -SO₃Na). Otro factor al que se le puede atribuir la pérdida de la emisión en estos compuestos es la posible distorsión estructural en el centro Pt(II) desde una simetría D_{4h} a una simetría D_{2d} ocasionada por la población de estados excitados no emisivos centrados en el metal (d-

d) o a posibles interacciones con el disolvente, las cuales conducen a reducir la eficiencia de emisión en disolución.^{175, 196, 200} Sin embargo, en los espectros medidos a bajas temperaturas y medios rígidos, todas estas posibles vías de desactivación se ven atenuadas, por lo que se obtienen mejores eficiencias en la emisión.

En línea con esto, todos los compuestos son altamente emisivos en estado sólido (Tabla 1.2 y Figura 1.21), mostrando perfiles estructurados anchos a 298 K y bandas mejor resueltas al bajar la temperatura (77 K), que están ligeramente desplazadas hacia el rojo en relación con las encontradas en vidrio congelado. Este desplazamiento batocrómico no es un fenómeno extraño en este tipo de compuestos y puede atribuirse a la contribución de formación de excímeros por medio de interacciones intermoleculares de tipo $\pi\cdots\pi$ en estado sólido.^{175, 195-196, 199}

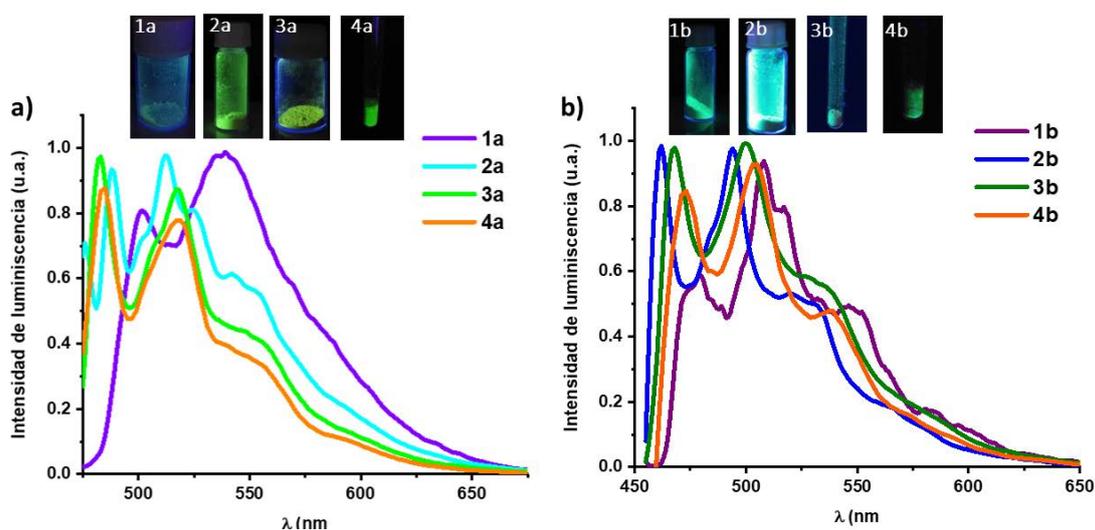


Figura 1.21. Espectros de emisión normalizados en estado sólido a 77 K (a) de 1 - 4 (a), (b) de 1 - 4 (b)

Por otro lado, la presencia de átomos de F en el grupo ciclotmetalado induce mejores rendimientos cuánticos en los complejos **1** y **2** (0.62 **1b** y 0.43 **2b** frente a 0.48 **1a** y 0.23 **2a**). Sin embargo, la presencia de sustituyentes en las fosfinas provoca un decaimiento en estos valores para los derivados con *dpbGlyOMe* (0.02 en **3a** y **3b**) y *TPPTS* (0.08 **4a**); lo que indica que la presencia de sustituyentes amino o sulfonato en los anillos aromáticos favorece las vías de desactivación no radiativa.

1.3.3 Cálculos teóricos

Con el fin de explicar estas propiedades se han realizado cálculos DFT (density functional theory) y TD-DFT (time-dependent-DFT) del precursor **1b** y los complejos **2a**, **2b**, **3a** y **3b** empleando el funcional B3LYP, con la base LaNL2DZ para el átomo más pesado Pt y la base 6-31G** para el resto de átomos. Se ha tenido en cuenta el efecto del disolvente (CH₂Cl₂) con la aproximación del modelo del continuo polarizable (PCM).

Los datos obtenidos de forma experimental, a partir del estudio de las estructuras en estado sólido por difracción de rayos-X de cristal, y los datos calculados confirman la validez del modelo teórico elegido. Las longitudes y ángulos de enlace de las estructuras optimizadas y los valores correspondientes obtenidos a partir de XRD para **1b**, **2a**, **2b**, **3a** y **3b** se recogen en la Tabla del Apéndice A.1.2. En la Figura 1.22 aparecen representados los orbitales moleculares seleccionados, y en las Figuras A.1.3 a A.1.7 del Apéndice aparecen representados los orbitales moleculares LUMO +3 a HOMO-3 junto con la Tabla A.1.3 en las que se recoge las contribuciones a los estados excitados más representativos.

Como se muestra en la Figura 1.22, el HOMO es bastante similar en todos los complejos, localizándose en el anillo arilo del grupo ciclotmetalado y en el centro de Pt, con una contribución mayor del metal en los complejos con fosfinas (27-30% vs 22% en **1b**). La contribución del centro de platino en el orbital ocupado más cercano al HOMO (HOMO-1) es muy elevada, llegando a ser en el caso del compuesto **1b** del 82%; además, el ligando C₆F₅ también tiene cierta contribución en este orbital. Por su parte, en el caso de los compuestos **1b**, **3a** y **3b**, el LUMO se centra principalmente en el orbital π^* del ligando C^N, mientras que en los complejos **2a** y **2b**, que presentan *dpbH*, la contribución se reparte entre la fosfina *dpbH* (anillo benzoico) y el respectivo grupo ciclotmetalado, *ppy* para **2a** o *dfppy* en **2b** (con una menor contribución de la fosfina *dpbH* en este último). En **2a** y **2b**, el LUMO+1 tiene una composición similar (C^N/*dpbH*), mientras que en los complejos **3a** y **3b**, la contribución se desplaza fundamentalmente a la fosfina.

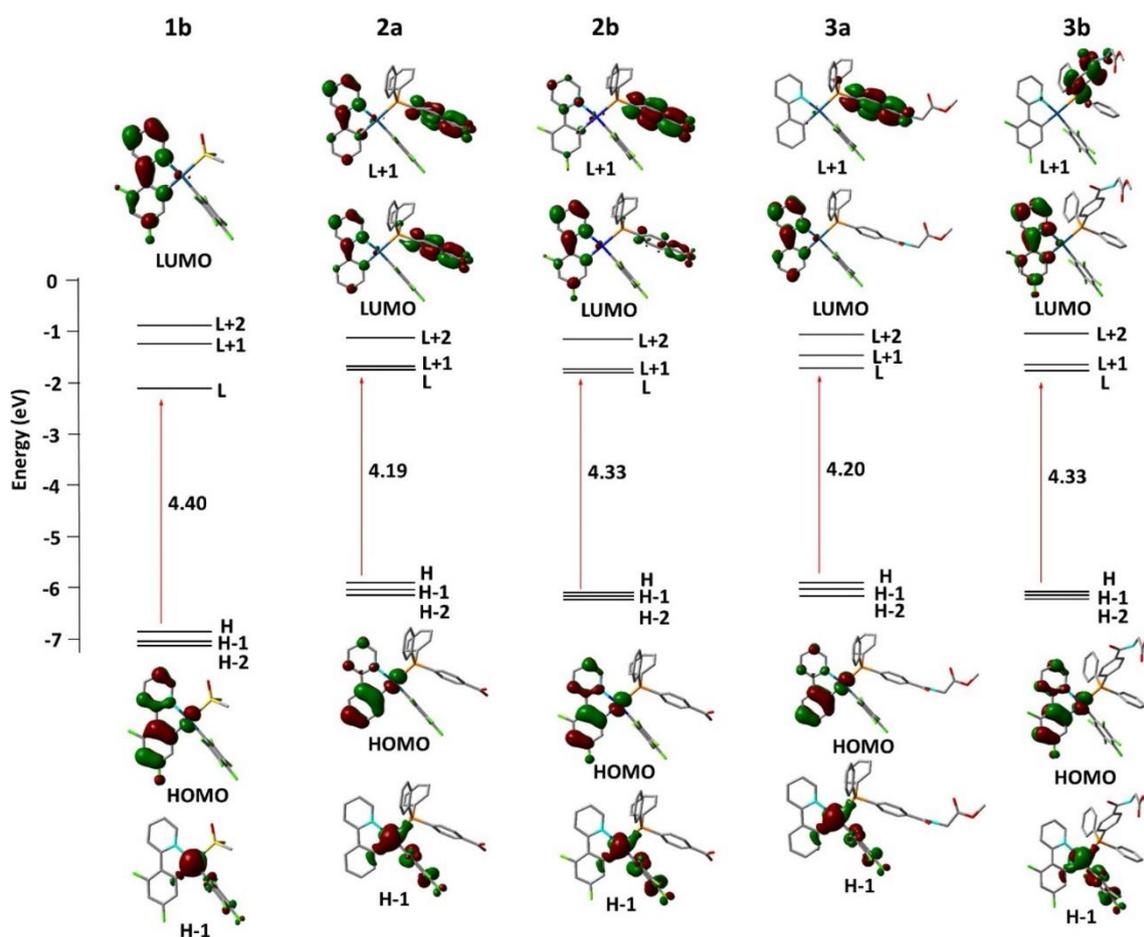


Figura 1.22. Representación esquemática de orbitales frontera de los compuestos **1b**, **2a**, **2b**, **3a** y **3b**.

La tabla A1.4 del Apéndice muestra los estados excitados calculados en disolución de CH_2Cl_2 , con la fortaleza del oscilador y sus principales contribuciones. A modo representativo, la Figura 1.23 muestra los espectros de absorción experimentales y los calculados en los compuestos **1b** y **2a**. En ambos casos aparecen bandas de baja intensidad en la zona de baja energía del espectro (**1b**; S_1 339 nm, S_2 332, **2a**; S_1 359 nm, S_2 352). En el caso de **1b**, la mayor contribución a estos estados $S_{1,2}$ son transiciones desde el HOMO u HOMO-1 a LUMO. Por ello, y teniendo en cuenta la naturaleza de estos orbitales, esta banda puede atribuirse a una mezcla de transiciones de carácter intraligando/metal-ligando (${}^1\text{IL}/{}^1\text{MLCT}$). Transiciones similares están implicadas en el caso de los derivados dppGlyOMe **3a** y **3b**, pero debido a la mayor contribución del C_6F_5 al HOMO-1, las absorciones se asignan a ${}^1\text{IL}/{}^1\text{MLCT}$ con cierta contribución ${}^1\text{LLCT}$.

El ligero desplazamiento batocrómico observado experimentalmente al sustituir el ligando DMSO en **1b** por las fosfinas en **2b** y **3b** (véanse Figura 1.16a y Tabla 1.1) concuerda con el obtenido en los cálculos teóricos (calcd: ~350 nm, **2b** y **3b**, vs 338.6 nm, **1b**) y podría atribuirse a la desestabilización ligeramente mayor que presentan los HOMOs en relación a los LUMOs. Por su parte, en los complejos que presentan la *dpbH* (**2a** y **2b**), las transiciones más bajas en energía $S_{1,2}$ calculadas (HOMO \rightarrow LUMO/LUMO+1 en **2a** y HOMO-1/HOMO \rightarrow LUMO en **2b**) se deben principalmente a una mezcla de transiciones de transferencia de carga metal-ligando tanto al grupo ciclotmetalado como a la *dpbH* ($[^1M(L+L')CT]$, 1IL en **2a**, y 1MLCT y 1LLCT ($C_6F_5 \rightarrow dfppy$) en **2b**).

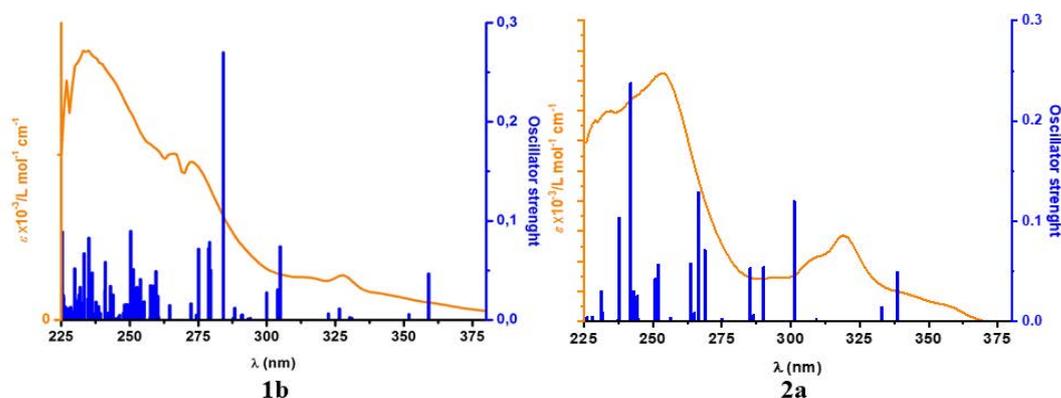


Figura 1.23. Espectros de absorción calculados (barras) y experimentales de **1b** y **2a** en CH_2Cl_2 .

Con el fin de profundizar en las propiedades fotoluminiscentes de estos compuestos, se han realizado cálculos para obtener la distribución de la densidad de espín en los mismos, así como las energías de las emisiones desde T_1 , calculadas como la diferencia de energía entre el estado triplete T_1 optimizado y el S_0 ($S_0 \rightarrow T_1$; Figura 1.24) en base a las geometrías optimizadas calculadas para estos estados.

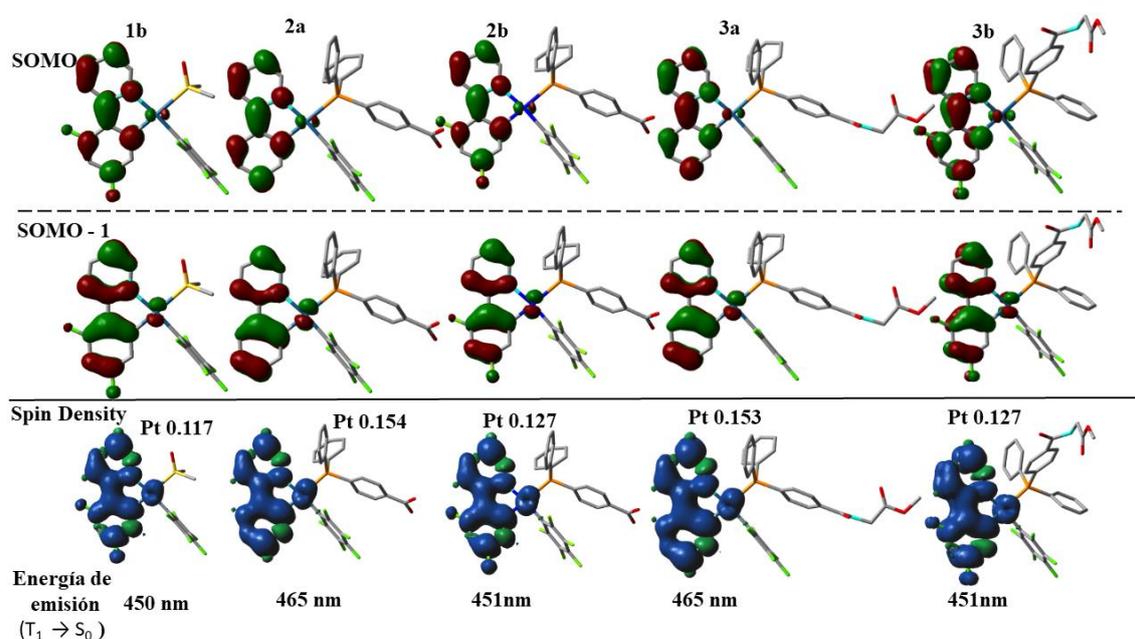


Figura 1.24. Representación de los SOMO y SOMO-1 y del densidad de espín de los compuestos **1b**, **2(a,b)** y **3 (a,b)**.

Los resultados obtenidos revelan que, en el caso del compuesto **1b**, la transición $S_0 \rightarrow T_1$ desde el estado fundamental corresponde a una mezcla de excitaciones $Pt \rightarrow dfppy$ e intraligando IL ($dfppy$), por lo que se asigna la emisión como ${}^3IL/{}^3MLCT$. Esto se ve reafirmado por los estudios realizados en la optimización del estado triplete T_1 de más baja energía. Los resultados revelan que la distribución de la densidad de espín se localiza en el ligando ciclometalado $dfppy$ y el centro de Pt (11.7%). En contraste con estos resultados, la presencia de la fosfina $dpbH$ en los derivados **2a** y **2b**, provoca que la distribución se vea modificada. En estos compuestos tanto el grupo ciclometalado como el anillo C_6H_4COOH del ligando $dpbH$ contribuyen a la transición $S_0 \rightarrow T_1$ (HOMO \rightarrow LUMO/LUMO+1), explicando las propiedades emisivas como una mezcla de transiciones intraligando IL ($C^{\wedge}N$), junto con la transferencia de carga del metal a ambos ligandos $M(L+L')CT$, de una forma análoga a sus propiedades de absorción. Sin embargo, la distribución de densidad de espín en el estado optimizado T_1 , así como los orbitales SOMO y SOMO-1 (Figura 1.24), de ambos derivados se parecen mucho a los de **1b**, localizándose también en el correspondiente grupo ciclometalado $C^{\wedge}N$ y el centro de Pt. A la vista de estos resultados, las emisiones fosforescentes de estos derivados se pueden atribuir también a una naturaleza ${}^3IL/{}^3MLCT$ (ver tabla del Apéndice A.1.5).

Los cálculos realizados en los derivados **3a** y **3b**, en los que la fosfina se funcionaliza con *GlyOMe*, revelan que el estado triplete T₁ calculado a partir de la geometría del estado fundamental S₀ tiene una contribución mayoritaria (70%) de la transición HOMO → LUMO, asignándose así a un carácter mixto MLCT (Pt → *dfppy*) e IL (C^N). Las distribuciones de densidad de espín para los estados T₁ optimizados son similares a las de **2a** y **2b**, lo que indica una influencia despreciable del sustituyente *GlyOMe* en la energía de emisión.

La energía de emisión calculada refleja valores de longitudes de onda cercanos a 450 nm para los derivados con la *dfppy* (serie **b**) y 465 nm para los complejos con *ppy* (**2a** y **3a**; valores dados en la Figura 1.22). Todos estos valores se encuentran dentro de lo esperado en comparación con los obtenidos de forma experimental, tanto en disolución como en medios rígidos.

1.4 Estudios biológicos

Como ya se ha comentado en la introducción de este capítulo, algunos complejos ciclometalados de Pt(II), incluyendo el precursor **1a** de este capítulo,¹³⁴ ya han mostrado propiedades antiproliferativas de interés.^{33a, 134, 145b, 145d, 145h, 150, 151c, 166a, 168, 170, 183, 201} Por ello, la principal finalidad por la que se ha preparado esta nueva familia de compuestos es la de su posible aplicación como agentes antineoplásicos.

En todos los casos, los compuestos se disolvieron previamente en DMSO en concentraciones 8 mM (**4a** y **4b** se disolvieron en H₂O en concentración 16 mM) para comprobar por RMN que todos ellos permanecen estables, al menos, durante una semana en este medio. En la Figura 1.25b se muestra el espectro de RMN de ¹H del compuesto **3a** como ejemplo de que, en todos los casos, los espectros se mantuvieron sin cambios durante ese tiempo. Además, con el fin de profundizar si el medio biológico en el que se preparan las muestras que se añaden a las células podía generar reacciones secundarias con los compuestos, se decidió monitorizar su estabilidad en disoluciones de 8mM en DMSO con medio de cultivo, en condiciones similares a las que se dan en estos estudios. Como se muestra en la Figura 1.25a, los espectros de absorción no muestran ningún cambio a lo largo de 92 horas.

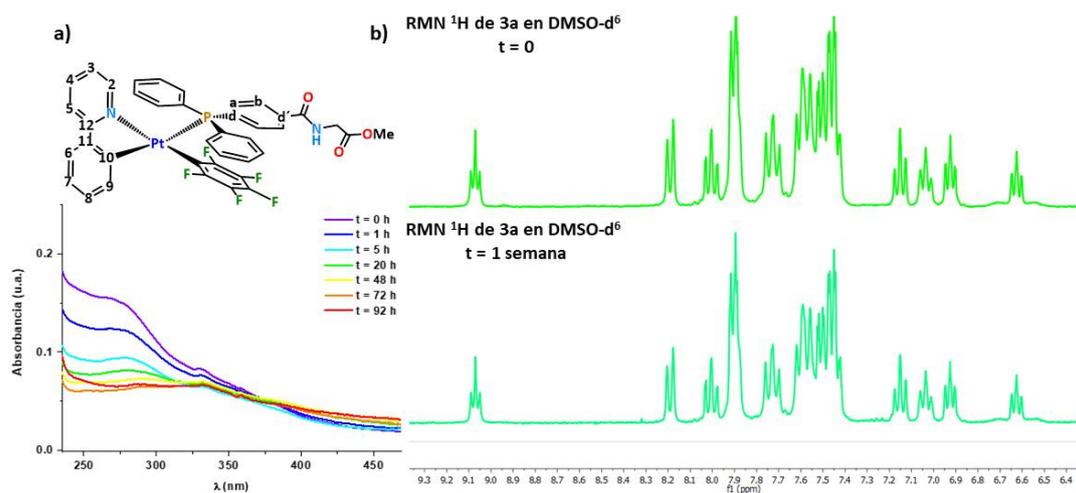


Figura 1.25. a) Espectro de absorción UV-Visible de **3a** en DMSO (8mM) empleando medio biológico RPMI a tiempo 0 hasta 92 horas. b) Espectros de RMN ¹H de **3a** en DMSO-d₆, a tiempo 0 y pasada una semana.

1.4.1 Actividad biológica e índice de selectividad (ensayo MTS):

La realización de los ensayos biológicos para los compuestos **1** - **4** se ha desarrollado empleando dos líneas celulares tumorales diferentes, A549 (derivada de un adenocarcinoma alveolar de células epiteliales basales de pulmón, aisladas por primera vez en 1972) y HeLa (derivada de un carcinoma epitelial de cérvix, aislada en 1951 de un cáncer de útero de la paciente Henrietta Lacks). Ambas líneas fueron cultivadas empleando métodos estándar recomendados por la ATCC (*American Type Culture Collection*), empleando para ello medio RPMI 1640 suplementado con suero fetal bobino (FBS) al 10%, L-glutamina 2.0 μM , penicilina (100 U/mL) y estreptomicina (100 $\mu\text{g/mL}$). Todos los cultivos se mantuvieron en incubador en condiciones de 95% de humedad, 5% de CO_2 y 37°C. Además, a modo de comparación se utilizaron células NL-20 no tumorales para evaluar su selectividad.

Para estudiar estos derivados como agentes antitumorales se ha empleado el ensayo MTS (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium). El ensayo se realiza en placas de 96 pocillos durante un periodo de incubación de los compuestos en las células de 72 horas. Pasado este tiempo, se añaden 20 μL de MTS incubándose durante 1 hora. Los resultados se obtienen a partir de la medida de la densidad óptica a 590 nm. Finalmente, los valores de citotoxicidad se obtienen a partir de la representación del porcentaje de inhibición del crecimiento celular frente al $\log[\text{C}]$, empleando para ello el programa GraphPad Prism v6.0. Estos valores hacen referencia a la dosis requerida para inhibir el 50% del crecimiento celular tras 72 horas de exposición del compuesto a las células (Figura A.1.8).

La actividad citotóxica de cada compuesto se refleja en la Tabla 1.3 y una ilustración de esos datos puede verse en la Figura 1.26. Los compuestos que presentan valores de citotoxicidad más elevados (IC_{50} más bajos) son los que presentan en su estructura la fosfina *dpbH*, llegando a ser tanto o más citotóxicos que el cisplatino para estas líneas celulares. Como era de esperar por los antecedentes estudiados, los precursores con DMSO (**1a** y **1b**) mostraron cierta citotoxicidad, aunque valores tres veces menos tóxicos que los obtenidos para los compuestos **2**. Por último, la sustitución de DMSO por fosfinas no siempre incrementa la citotoxicidad de los compuestos, como

es el caso de la incorporación del ligando *GlyOMe* a la *dpbH* en los derivados **3a** y **3b** o del empleo de la fosfina TPPTS en **4a** y **4b**. El ensayo de MTS revela que no son citotóxicos (**3a**, **3b** y **4a**) o lo son muy levemente (**4b**). Por su parte, los valores IC₅₀ de los compuestos **1a** y **1b** resultaron similares en ambas líneas celulares tumorales. Sin embargo, los complejos **2a**, **2b** y **4b** y el cisplatino mostraron cierta selectividad por la línea celular A549. La actividad citotóxica que esta familia de compuestos ha mostrado para la línea celular no tumoral NL-20 revela un mayor efecto sobre esta línea que sobre las tumorales A549 o HeLa, lo que se refleja en los índices de selectividad inferiores a 1.

Tabla 1.3. Valores de citotoxicidad IC₅₀ (μM)^a e Índice de Selectividad de los compuestos **1 - 4** en las líneas celulares humanas A549, HeLa y NL-20, comparadas con el cisplatino

Compuesto	IC ₅₀ ^a			SI ^b		Intensidad de fluorescencia ^e	
	A549	HeLa	NL-20	A549	HeLa	A549	HeLa
1a	18.92 ± 0.36 ^c	20.50 ± 1.61	9.03 ± 0.29 ^c	0.48	0.44	++++	++++
1b	13.91 ± 1.20	16.98 ± 0.82	11.32 ± 0.72	0.81	0.67	+	+
2a	6.07 ± 0.37	20.29 ± 2.10	4.36 ± 0.23	0.72	0.21	+	++
2b	6.98 ± 0.99	12.45 ± 2.50	3.89 ± 0.09	0.56	0.31	+	+
3a	>100	---	---	---	---	+	++
3b	>100	---	---	---	---	+	+/-
4a	>100	---	---	---	---	-	-
4b	93.95 ± 9.30	150.70 ± 3.69	56.02 ± 6.16	0.60	0.37	-	-
cisplatino	6.45 ± 30.47 ^c	13.60 ± 0.99 ^d	2.83 ± 0.36 ^c	0.44	0.21	-	-

^a valores de IC₅₀ se representan como la media ± el error calculado para tres experimentos diferentes. ^b Índice de selectividad (SI): IC₅₀ en células no tumorales NL-20/ IC₅₀ en células cancerígenas (A549 O HeLa)²⁰² ^c De la referencia.¹³⁴ ^d De la referencia ¹⁹⁶ ^e La intensidad se clasifica de forma cualitativa con la escala – sin fluorescencia, + fluorescencia débil, ++ fluorescencia media, ++++ fluorescencia muy intensa, en referencia a la clasificación de trabajos anteriores^{186b}

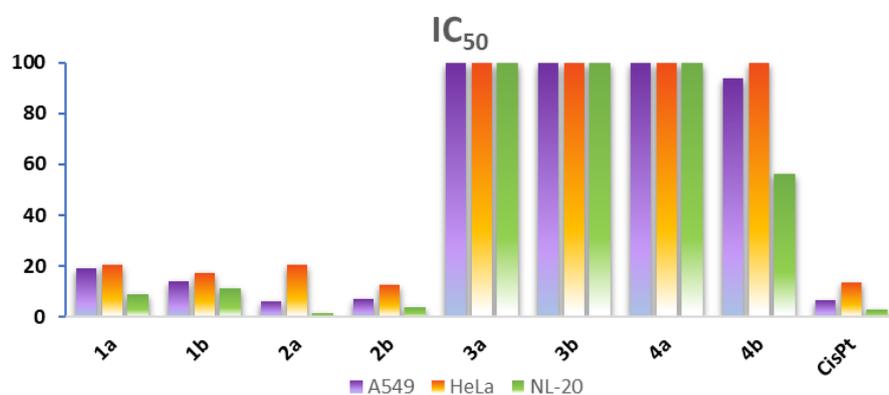


Figura 1.26. Valores de citotoxicidad IC₅₀ (μM) de los compuestos **1 – 4 (a,b)** en las líneas celulares humanas A549, HeLa y NL-20, comparadas con el cisplatino.

Como se ha comentado en la introducción, se han publicado estudios que abordan el potencial como agentes antitumorales de complejos de Pt(II) ciclometalados^{145c, 145d, 203} y que presentan en su estructura DMSO, como en el caso del derivado **1a**.¹³⁴ En la bibliografía existen también diversos ejemplos sobre el efecto que tiene la incorporación de fosfinas funcionalizadas en derivados de Pt mostrando prometedores resultados en la citotoxicidad.^{145d, 186a} En línea con estos estudios, la sustitución del DMSO en **1a** y **1b** por la fosfina *dpbH* biológicamente compatible en **2a** y **2b** incrementó la citotoxicidad. Sin embargo, la sustitución del grupo ácido por la *GlyOMe* en **3a** y **3b** o la incorporación de tres sulfatos en **4a** y **4b** reduce la citotoxicidad. La falta de citotoxicidad de **3a** y **3b** podría atribuirse a su baja solubilidad en el medio biológico, y en el caso de **4a** y **4b**, a su notable carga negativa asociada a la coordinación de fosfina iónica TPPTS, que dificulta su captación por las células.^{196, 204}

En general, los resultados obtenidos revelan que los compuestos con el grupo ciclometalado difluorofenilpiridina, *dfppy* (serie **b**) son ligeramente más citotóxicos que los homólogos con *ppy* (serie **a**). Otras publicaciones anteriores confirman esta tendencia y explican que este incremento en la citotoxicidad puede ser debida a que la formación de enlaces C-F en fármacos facilita su bio-absorción y, por tanto, su eficacia y selectividad.²⁰⁵

Cabe destacar la fuerte diferencia que se aprecia al comparar las curvas de IC₅₀ de los compuestos citotóxicos (**1a**, **1b**, **2a**, **2b** y **4b**) con la obtenida por el cisplatino, empleado como referencia (ver Apéndice), siendo en todos los casos mucho más pronunciadas que para este.^{134, 186b} Esta homogeneidad en los resultados puede sugerir una respuesta similar de las células hacia estos compuestos, que a su vez difiere de la obtenida para el cisplatino, lo que puede implicar mecanismos de acción diferentes a los que sigue este fármaco.²⁰⁶

De acuerdo con la evaluación del IC₅₀, todos los compuestos citotóxicos (**1a**, **1b**, **2a**, **2b** y **4b**), incluido el cisplatino, presentan índices de selectividad inferiores a 1 en comparación con la línea no tumoral NL-20 (Tabla 1.3). Entre todos los compuestos, el SI más bajo lo mostraron el cisplatino y **2a**. Además, la selectividad fue mejor en la línea celular HeLa que en A549. En general, se asume que a partir de índices de selectividad

inferiores a 2 los compuestos presentan toxicidad general.²⁰⁷ Sin embargo, se han descrito valores más bajos de selectividad para el cisplatino y otros derivados de platino estructuralmente similares, o para otros complejos organometálicos, todos ellos considerados citotóxicos frente a las líneas tumorales A549 y HeLa; aunque su selectividad no ha sido comparada frente a células NL-20, sino frente a otras líneas celulares no tumorales.²⁰⁸

1.4.2 Interacción de los compuestos con el ADN

Como se ha adelantado en la introducción, la mayoría de fármacos aprobados para su empleo como agentes quimioterápicos deben su efecto a la formación de enlaces covalentes fuertes con bases nitrogenadas de moléculas de ADN (Figura I.17) o a su intercalación en el ADN, en función de los ligandos auxiliares empleados,^{151, 154, 209} o a la formación de agregados.²¹⁰

Así pues, se han llevado a cabo los estudios de electroforesis en gel de agarosa para comprobar si, en el caso de los compuestos **1** – **3**, el mecanismo de acción puede pasar por la interacción con el ADN. Para ello se ha empleado el plásmido (pBR322) y las mismas concentraciones y condiciones que las usadas para el cisplatino, que se toma como referencia a fin de poder establecer una comparación estandarizada.

Como ya se ha observado en múltiples estudios, una confirmación de la interacción entre el complejo a estudiar y el ADN se basa en los cambios en la movilidad electroforética de las dos formas principales en las que puede encontrarse el ADN plasmídico pBR322. Estas formas son la superenrollada (CCC, “covalently closed circular”) y la relajada (OC “open circular”). En el caso particular del cisplatino, su unión al ADN plasmídico provoca un desplazamiento electroforético, aumentando la movilidad de la forma OC en detrimento de la CCC.²¹¹ Tal y como se aprecia en la Figura 1.27, la movilidad electroforética en el gel de ambas formas de ADN al ser expuesto a concentraciones molares crecientes de cisplatino (0.25 a 4.0) concuerda con los resultados obtenidos de publicaciones anteriores,²¹² retardando la movilidad electroforética de la forma plasmídica CCC y aumentando la OC.

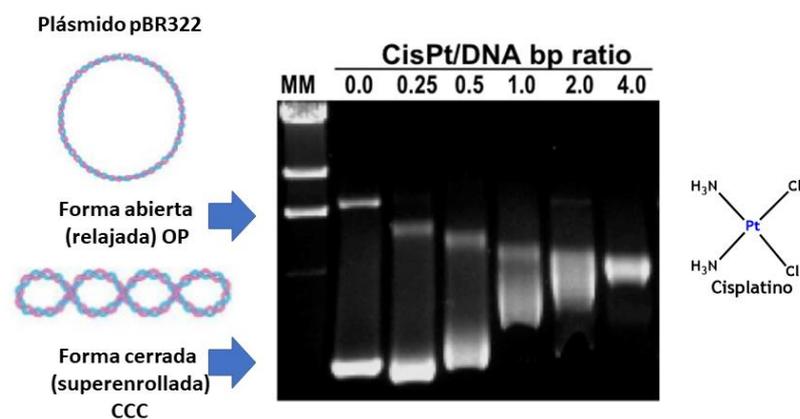


Figura 1.27. Imágenes de electroforesis de la movilidad del plásmido pBR322 en presencia del cisplatino en concentraciones molares crecientes.

Como se muestra en la Figura 1.28, no se observaron cambios en la movilidad electroforética tras el tratamiento del ADN para ninguno de nuestros complejos en las mismas condiciones; lo que indica que estos compuestos no reaccionan con el ADN o no alteran la movilidad del ADN en geles de agarosa. Recientemente, se ha observado un hecho similar para un complejo ciclotometalado catiónico con un ligando iminofosforano altamente citotóxico, $[\text{Pt}(2\text{-C}_6\text{H}_4\text{C}(\text{O})\text{N}=\text{PPh}_3)\text{COD}]\text{PF}_6$, para el que se sugirió un modo de acción diferente al del cisplatino.^{211c, 213} De hecho, se ha demostrado que, a diferencia del cisplatino, existen otros fármacos anticancerígenos derivados del platino que forman uniones covalentes monofuncionales, en lugar de bifuncionales, con el ADN que no desenrollan la superhélice y, en consecuencia, no alteran su movilidad electroforética.²¹⁴ En esta misma línea, las interacciones más débiles con los surcos menores o las interacciones electrostáticas con moléculas o complejos provocan pequeñas perturbaciones que tampoco afectan en gran medida a la movilidad electroforética.²¹³

Curiosamente, sí que se observó una reducción de la intensidad de la tinción de la banda CCC tras el tratamiento con **1a** (Figura 1.28). Incluso a la concentración más baja de **1a**, la banda de la forma superenrollada disminuye notablemente en relación con la que presenta el ADN sin tratar con el compuesto. Este hecho se intensifica a medida que aumentamos la concentración del compuesto pero que no ocurre ni en la referencia, ni en el resto de complejos. Entre otras razones, esta disminución en la intensidad de la banda podría deberse a la precipitación del ADN inducida por **1a**.

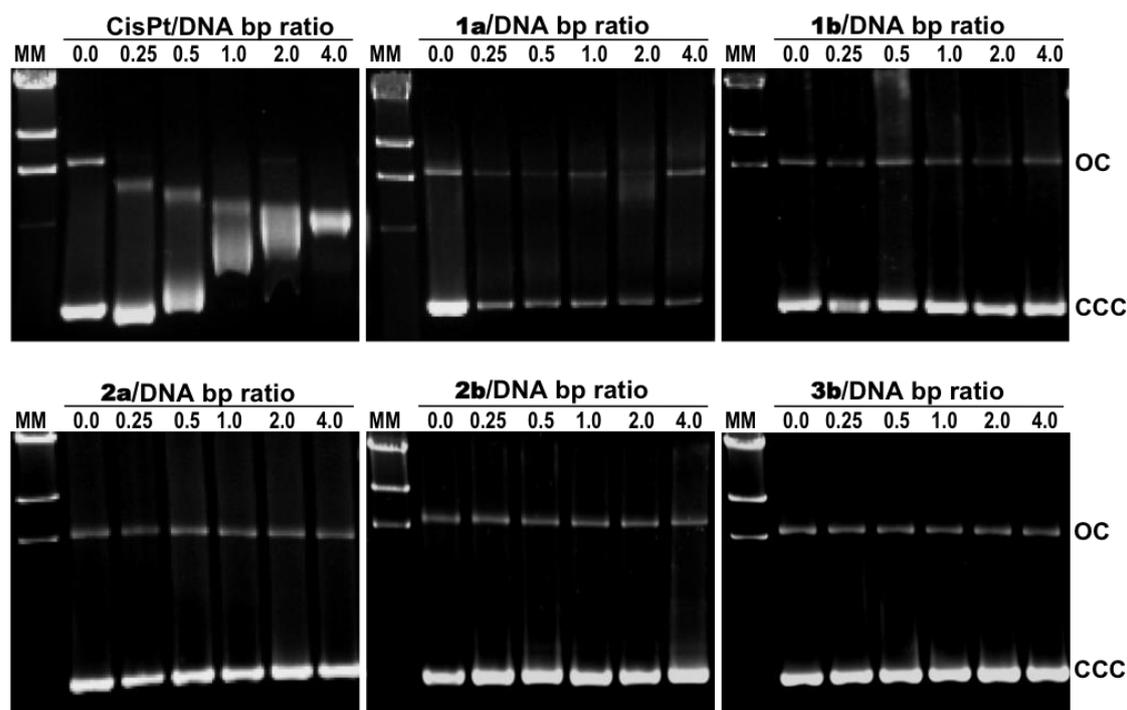


Figura 1.28. Ensayo de la movilidad del plásmido pBR322 mediante electroforesis para el cisplatino y los compuestos **1(a, b)**, **2(a, b)** y **3b**, empleando los marcadores moleculares de ADN λ HindIII. Los números hacen referencia a los ratios de incremento entre pares de bases (bp, del inglés *base pairs*), OC (del inglés *open circular*, forma relajada), CCC (del inglés *covalently closed circular*, forma superenrollada)^{211c}

1.4.3 Localización Intracelular

En base a las emisiones fosforescentes que presentan los compuestos **1 – 3** tras ser fotoexcitados, se ha estudiado su localización intracelular en células vivas (*in vitro*) mediante microscopía de fluorescencia. Para ello, los compuestos se incubaron en concentraciones de 20 μ M, en combinación con el marcador de ADN Hoechst 33342 (3,2 μ M), en células de las líneas A549 y HeLa durante 1 h. La preparación de las muestras con células vivas se monitorizó con un microscopio de fluorescencia y se realizaron pruebas para determinar el nivel de autofluorescencia basal en ambas líneas celulares incubándolas para ello únicamente con el Hoechst.^{134, 186b}

Las imágenes que aparecen en las Figuras 1.29 y 1.30 se obtienen mediante superposición de imágenes obtenidas de forma alternativa usando diferentes canales de visualización, entre los que se encuentra el canal Nomarski, (DIC del inglés, *differential interference contrast microscopy*), el canal azul en el que se visualiza la tinción con el

Hoechst del ADN nuclear y el canal verde para la emisión fluorescente de los compuestos. De esta manera conseguimos una imagen del lugar en el que se localiza la fluorescencia generada a nivel subcelular por los compuestos al ser excitados. A modo de ejemplo en la Figura 1.29 se muestran las imágenes obtenidas de los tres canales empleados y la unión de todos ellos para el compuesto **1a** en células HeLa. Su localización en células A549 fue descrita en un trabajo anterior por nuestro grupo de investigación.¹³⁴ El complejo **1a** se acumula en el citoplasma de las células HeLa con un patrón granular que se intensifica más en la zona perinuclear (flechas blancas) y de forma menos intensa en el núcleo (flechas amarillas).

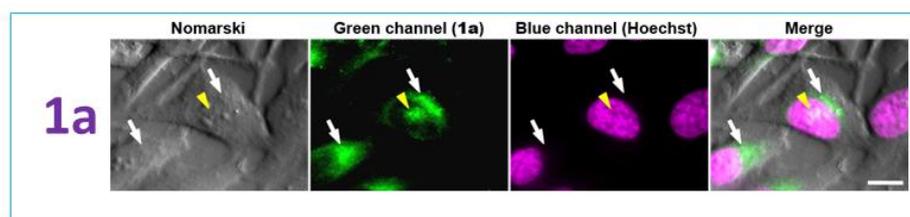


Figura 1.29. a) Imágenes de microscopía de células vivas HeLa con el precursor **1a** (barra de escala: 15 μm). Las células se visualizaron mediante microscopía Nomarski (transmisión de luz blanca) o de fluorescencia de **1a** (canal verde) y Hoerchst (canal azul).

El conjunto de imágenes obtenidas de los derivados **2** y **3** (**a** y **b**) y del precursor **1b** se recogen en la Figura 1.30 y la intensidad fluorescente intracelular relativa de todos los complejos se resume en la Tabla 1.3. Empleando concentraciones de 20 μM , todos los complejos **1** – **3** se internalizan con éxito en células vivas y se distribuyen en el citoplasma. De acuerdo con sus perfiles de emisión su internalización celular se visualiza fácilmente en el canal verde. Ninguno de los compuestos se visualiza en el canal azul, región espectral en la que se ve el ADN nuclear marcado con el Hoerchst 33342 (visible a $\lambda_{\text{em}} = 461 \text{ nm}$).²¹⁵ Los compuestos se observan en la zona perinuclear, donde la emisión es de mayor intensidad, lo que indica una mayor concentración de los mismos en esa zona de la célula. Un hecho similar ya ha sido descrito en artículos en los que se estudia la localización de complejos de Pt(II) ciclotmetalados luminiscentes en células cancerígenas, que además presentaban actividades citotóxicas en las mismas.^{134, 216}

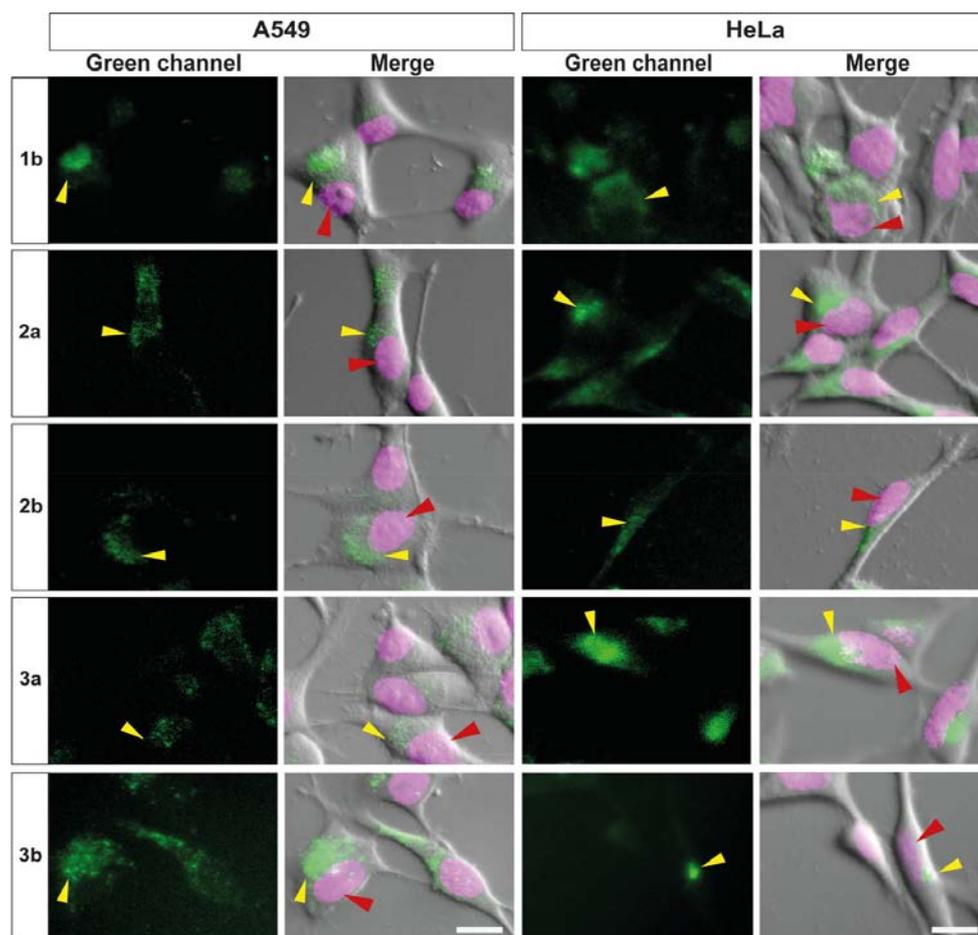


Figura 1.30. b) Imágenes de microscopía de las células A549 y HeLa con los compuestos **1b**, **2(a,b)** y **3(a,b)**. Las células fueron visualizadas mediante fluorescencia con el filtro del canal verde para visualizar la emisión de los compuestos y con filtro en el canal azul para mostrar la emisión del Hoerchst unido al ADN nuclear (no mostrado) o Nomarski (transmisión de luz blanca, no mostrada). Superposiciones de verde, magenta (pseudocolor para emisión azul, puntas de flecha rojas), y las imágenes de Nomarski se muestran en los paneles de la derecha (Barra de escala: 15 μm).

El precursor **1a** (Figura 1.29a), como ya hemos comentado, se localiza en la zona perinuclear del citoplasma y al igual que se observó con células A549 y NL-20¹³⁴ se observa también su localización en el núcleo en células HeLa. Este compuesto muestra la emisión más intensa, en comparación al resto de compuestos que integran este capítulo, tal y como se ve en la Tabla 1.4. Este hecho podría explicarse debido a un aumento de la emisión provocado por interacciones con el entorno de las moléculas. Estudios publicados anteriormente hacen referencia a que la presencia de DMSO facilita la entrada del cisplatino al interior de la célula, incrementando su permeabilidad.²¹⁷ Es

posible que, en el caso del precursor **1a**, la presencia del ligando lábil de DMSO en su estructura ayude a su internalización citoplasmática y nuclear, como se sugirió previamente para este y otros compuestos similares.¹³⁴ Sin embargo, es curioso que en el caso del compuesto análogo de la serie **b** (**1b**) no se observe dicho fenómeno de localización en el núcleo. En general, al menos en el caso de células HeLa, se observa una menor intensidad en la emisión citoplasmática de los derivados **1b**, **2b** y **3b** en comparación con sus análogos **1a** y **3a** (Tabla 1.3 y Figura 1.30).

La gran acumulación de los complejos **1b**, **2a**, **2b**, **3a** y **3b** en el citoplasma, y su nula presencia en el núcleo, sugiere que la interacción de estos compuestos con el ADN es nula o muy limitada y, por lo tanto, que el daño que puede sufrir el ADN es despreciable en comparación con la acción que ejerce el cisplatino en las células. Por ello, la actividad citotóxica que presentan los compuestos **1**, **2** y **4b** podría deberse a mecanismos de acción alternativos que impliquen dianas moleculares fuera del núcleo, como las que se han descrito tanto para el cisplatino como para otros derivados de Pt(II), entre los que se incluyen la organización y distribución defectuosa del citoesqueleto.^{146b}

186b, 206c, 218

1.4.4 Efectos en la desestabilización de los microtúbulos: tratamiento celular, inmunocitoquímica y microscopia confocal

Estudios previos han puesto de manifiesto el poder anti-angiogénico que presentan los compuestos cicloplatinados plano-cuadrados.^{145d, 186b, 203} Por este motivo, y descartado el mecanismo de acción que implica la interacción de los complejos con el ADN localizado en el núcleo celular, se ha evaluado la capacidad de estos compuestos de actuar alterando la formación del citoesqueleto como mecanismo alternativo de acción para explicar su citotoxicidad.

Existen algunos fármacos, aprobados a nivel mundial, cuyo mecanismo de acción se basa en la inhibición del huso mitótico. Estos fármacos actúan interfiriendo con la formación de algunos de los componentes esenciales del citoesqueleto, imprescindibles para la correcta división celular. De esta manera, los inhibidores de la polimerización de la tubulina (subunidades proteicas que forman los microtúbulos) actúan desestabilizando y desintegrando las fibras del huso mitótico que participan en la

separación de los cromosomas recién replicados en las dos células recién formadas. De este modo, actúan frenando el proceso de división durante la mitosis temprana del ciclo celular, desencadenando la desorganización celular y finalmente su muerte.

Dado que los agentes dirigidos a los microtúbulos son antimitóticos, muchos de ellos se han empleado en tratamientos contra el cáncer como es el caso de la Vinblastina, el Paclitaxel o taxol y el Nocodazol (Figura 1.31).²¹⁹ En el caso concreto del Nocodazol, su unión a la β -tubulina impide la formación de puentes disulfuro y su posterior oligomerización, provocando la degradación del huso mitótico y la fragmentación del aparato del Golgi. En la Figura 1.31 se muestra el efecto que tiene en las líneas celulares A549 y HeLa. En ambos casos, a las 6 horas, se produce la despolimerización completa de la tubulina, siendo incluso más rápido en el caso de A549 (30 minutos).

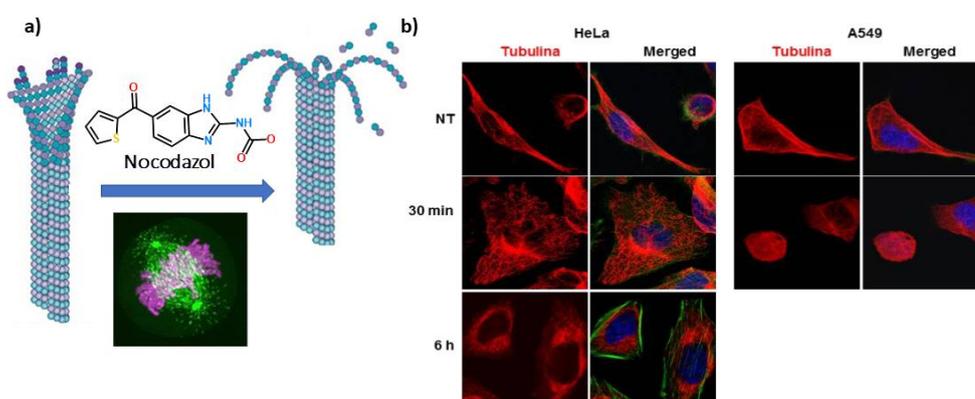


Figura 1.31. Efecto del fármaco Nocodazol actuando como despolimerizador del huso mitótico. Proceso de despolimerización en células HeLa y A549.

En base a los valores de citotoxicidad obtenidos para esta familia de compuestos, se ha elegido el que presentó mayor potencial antineoplásico para evaluar su capacidad de desestabilizar la polimerización de la tubulina, el compuesto **2b**. Este estudio se ha realizado mediante la inmuno-tinción de los microtúbulos con el anticuerpo primario monoclonal de ratón (anti- β -tubulina), el anticuerpo secundario anti-mouse Cy3 de cabra y un intercalador del ADN (DAPI, 4',6-diamino-2-fenilindol). El análisis del efecto causado por este compuesto en la morfología del citoesqueleto se ha evaluado tanto en A549 como en HeLa y se ha empleado como control positivo el Nocodazol y células sin tratar como control negativo.^{186b, 220}

Como referencia y de forma ilustrativa, en la Figura 1.32 se muestra el proceso de despolimerización de la tubulina a causa de su interacción con el Nocodazol. En las imágenes aparecen diferentes fases del proceso en las que se aprecia como la morfología rectilínea de los microtúbulos empieza a desorganizarse y romperse hasta llegar a despolimerizarse por completo.

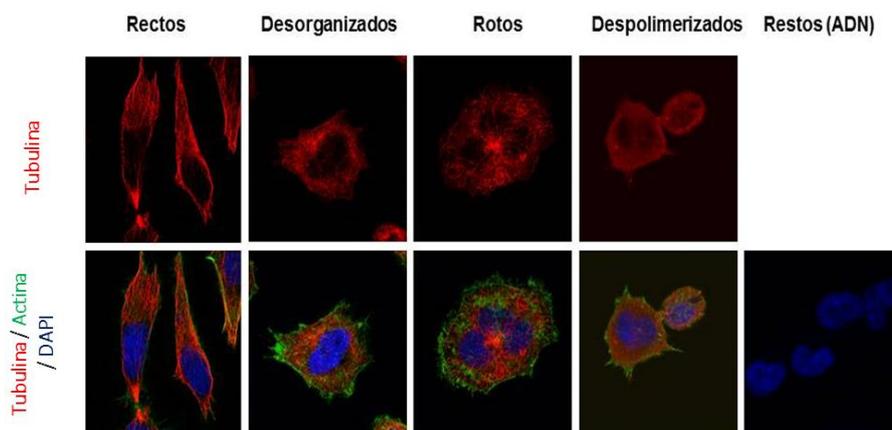


Figura 1.32. Imágenes del microscopio confocal con las posibles conformaciones de los microtúbulos causadas por su interacción con el Nocodazol. En la parte superior aparecen las células marcadas en las que se ve la Tubulina en rojo. Abajo se observan las mismas imágenes superpuestas con las contratinciones de filamentos de actina (verde) y DAPI (azul) que se intercala en el ADN. El último panel de abajo a la izquierda muestra únicamente tinción con DAPI, probablemente correspondientes a restos de DNA.

Ambas líneas celulares mostraron repuesta ante la presencia del control positivo del Nocodazol y la despolimerización de los microtúbulos fue inducida fácilmente, siendo mayor el efecto en A549, tal y como aparece en la Figura 1.33. Los efectos del Nocodazol empezaron a notarse en tal solo 30 minutos de exposición, tiempo en el que se produjo la desorganización y despolimerización completas de los microtúbulos, generando células más redondeadas, tal y como se había expuesto en artículos anteriores.^{186b, 221} En el caso de las células HeLa, fueron necesarias de 2 a 6 horas de incubación para observar efectos similares a los obtenidos con A549.^{186b, 220} Como se aprecia en la Figura 1.33, un efecto similar se observa en la morfología celular y organización de la microtubulina de las células tratadas con el compuesto **2b**. En este caso, las células A549 se vieron más afectadas (en 30 minutos se observa desorganización) por la presencia del compuesto que las células de HeLa, lo que

concuera con sus respectivos valores de IC_{50} y con la sensibilidad que presentan estas células con el Nocodazol. Este efecto se ve intensificado a mayores tiempos de incubación, provocando una mayor despolimerización y un aplanamiento de la morfología celular a las 2 horas; así como una elevada presencia de núcleos picnóticos al aumentar el tiempo de exposición al compuesto.

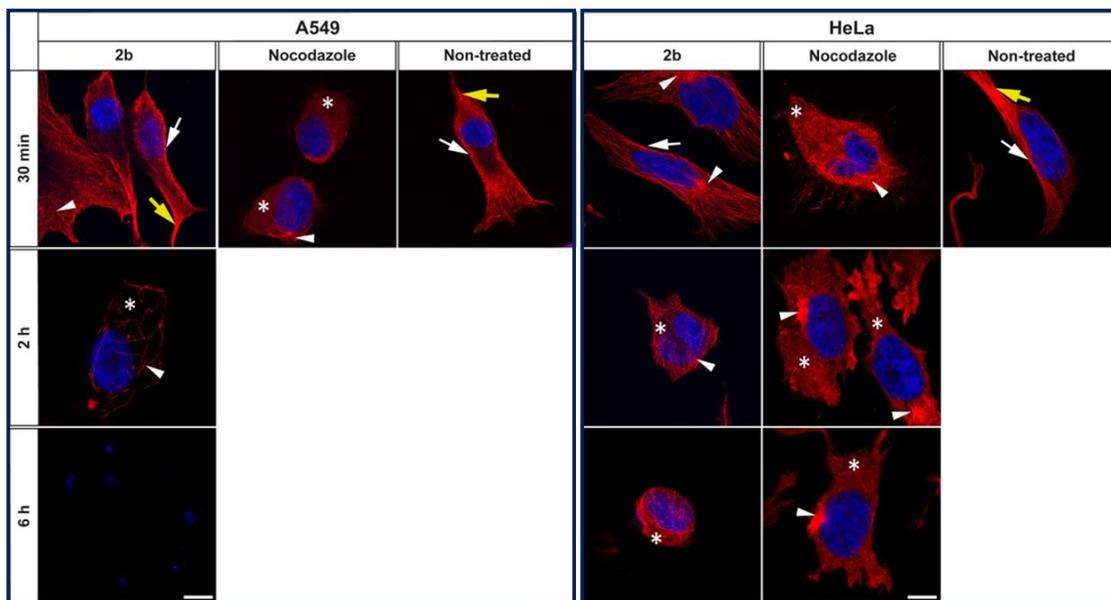


Figura 1.33. Estudio del efecto de desestabilización de los microtúbulos por el tratamiento de las células A549 y HeLa con el complejo **2b**. Imágenes representativas de microscopía confocal de las células tratadas con el compuesto **2b**, con Nocodazol como control positivo y sin tratar como control negativo. Las imágenes a dos colores de las células marcadas con el anticuerpo anti β -tubulina (microtúbulos en rojo) y con DAPI (ADN nuclear en azul). Las células no tratadas muestran formas fusiformes con microtúbulos dispuestos en paralelo bajo la membrana celular (marcados con flechas blancas) y en filopodios salientes (flechas amarillas), mientras que el Nocodazol desorganiza (puntas de flecha) y despolimeriza (asteriscos) los microtúbulos, generando células redondeadas después de 30 min en la línea celular A549 y en fases posteriores en HeLa. El tratamiento de las células A549 con el complejo **2b** provoca la desorganización de los microtúbulos en menor medida que el Nocodazol. No obstante, tras 2 h de tratamiento, los microtúbulos casi desaparecen siendo visibles únicamente los núcleos. El efecto del complejo sobre la desorganización de los microtúbulos en las células HeLa es menos eficaz que en las A549. Se observan células HeLa con desorganización de microtúbulos tras 30 min de tratamiento, alcanzando altos niveles de despolimerización tras 2 h (asteriscos). Barras de escala: 10 μ m.

Como ya se ha comentado, en el caso de la línea celular HeLa, la actividad despolimerizadora del complejo **2b** es menos pronunciada que en A549, y la tubulina seguía presente tras 24 horas de exposición (datos no mostrados en la Figura). Sí que se observaron cambios sutiles en la organización de los microtúbulos y ligeras variaciones en la morfología celular, con aplanamientos tras 30 minutos de exposición al compuesto que van acentuándose con tiempos de exposición mayores (2-6 h). Teniendo estos resultados en mente, no se puede confirmar que el efecto de desestabilización de los microtúbulos sea la única causa de su acción citotóxica o, incluso, que pueda ser una consecuencia directa. Aunque existen muchos motivos que hacen pensar que la actividad de este compuesto pasa por este mecanismo; entre ellos su rápida acción, su similitud con la acción del Nocodazol y su mayor efecto en la línea celular A549, en concordancia con los valores de los IC₅₀. Por todo ello, sería interesante realizar estudios adicionales en un futuro, para confirmar los mecanismos de acción celulares que controlan la actividad citotóxica del compuesto **2b** y los derivados similares que conforman esta familia.

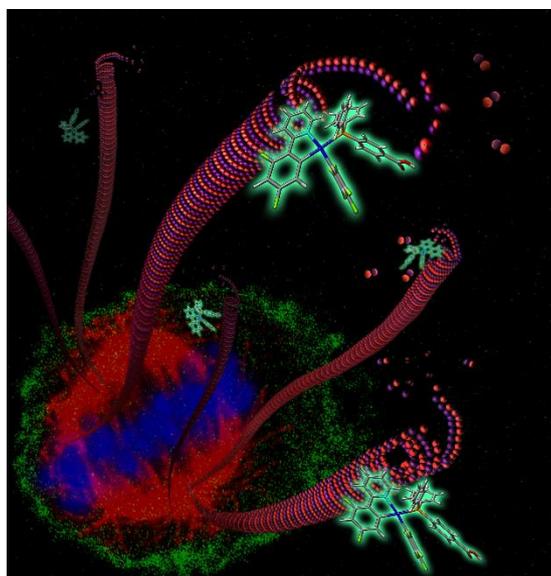
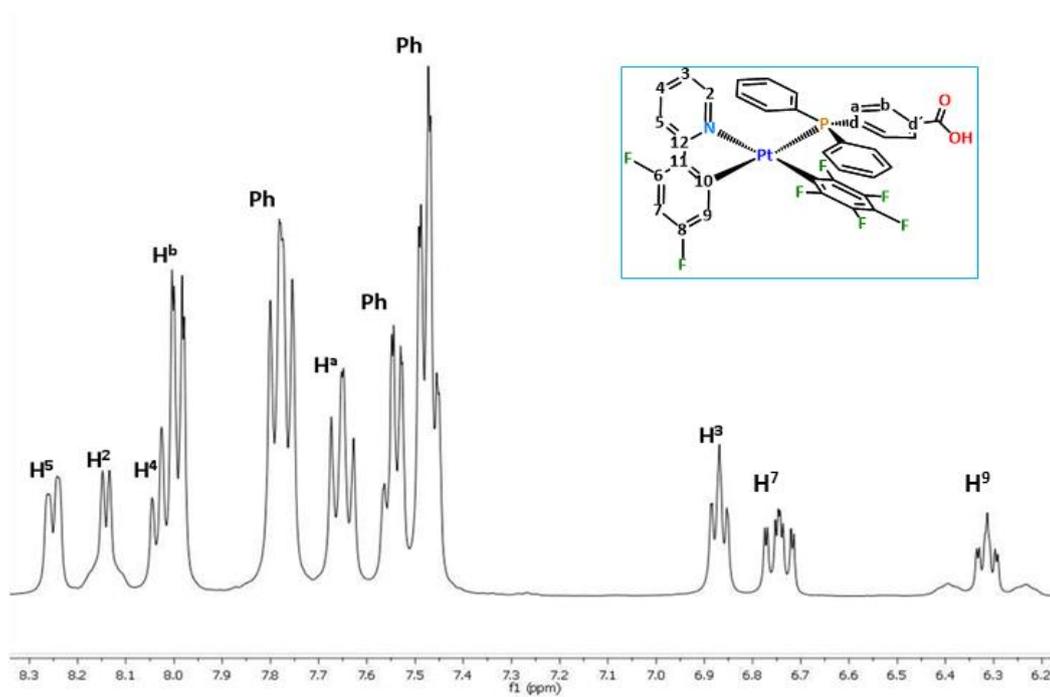


Figura 1.34. Representación gráfica del efecto que tiene el compuesto **2b**, sobre la despolimerización de los microtúbulos.

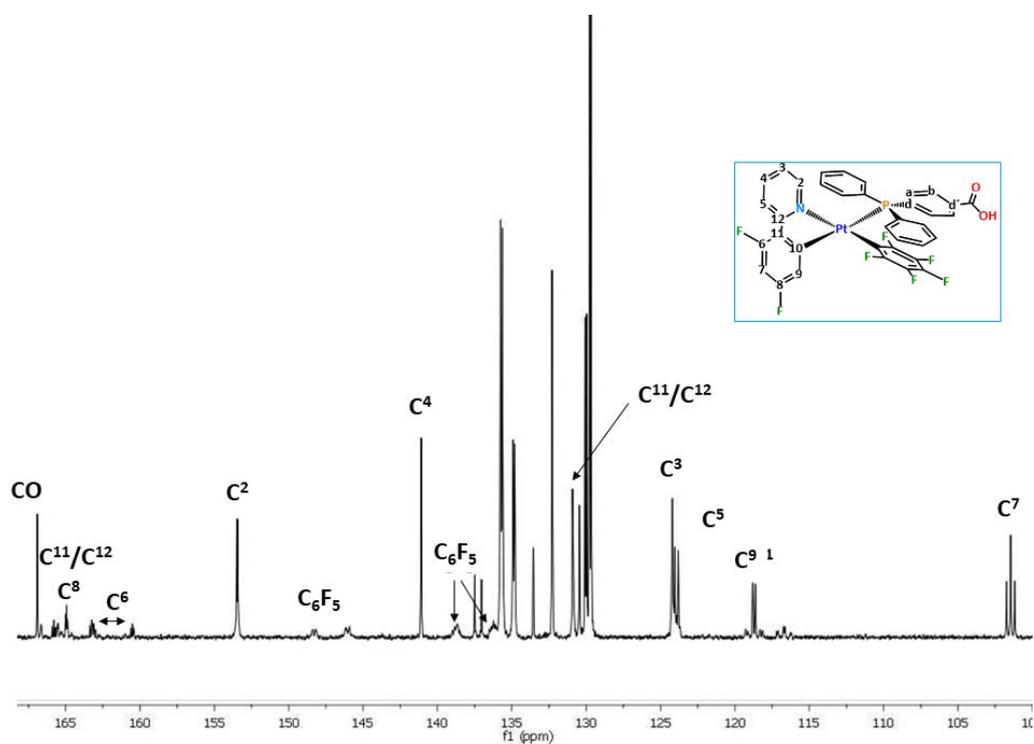
Hasta el momento, los estudios sobre la acción que ejerce el cisplatino sobre el citoesqueleto y sus componentes son muy limitados; aunque sí que se han publicado numerosos artículos sobre derivados suyos que son capaces de unirse, desorganizar y

alterar los niveles de expresión de varias proteínas del citoesqueleto.²¹⁸ Un buen ejemplo de ello es el del compuesto dicloroplatinado con un ligando 4a-O-(2",3"-diaminopropanoil) podofilotoxina, que ha demostrado poseer la capacidad de frenar el ciclo celular en la fase G2/M mediante la inhibición de la formación de microtúbulos en células HeLa.²²² Asimismo, se ha revelado que complejos N,N-dimetil-1-(2-aryl)metanamina- κ^2 C2,N-ciclometalados de tipo [Pt(C^N)Cl(DMSO)] inhiben la polimerización de la tubulina y promueven la degeneración de la organización del citoesqueleto en células de melanoma 518A2.²⁰³

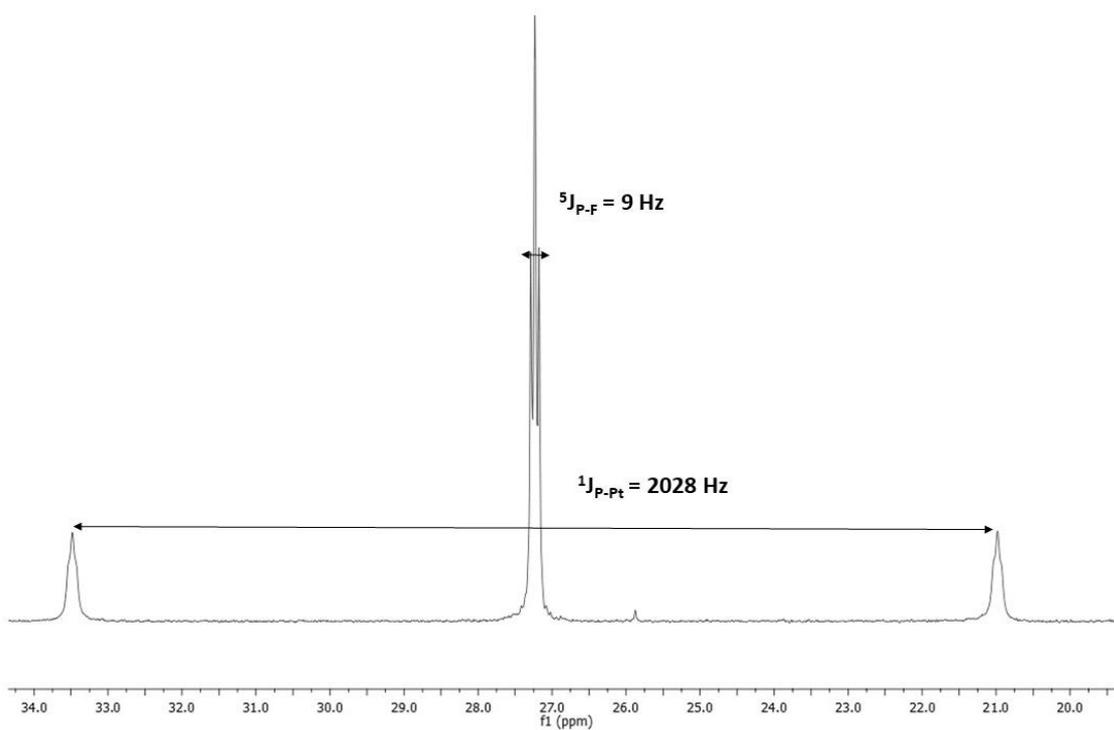
1.5 Apéndice



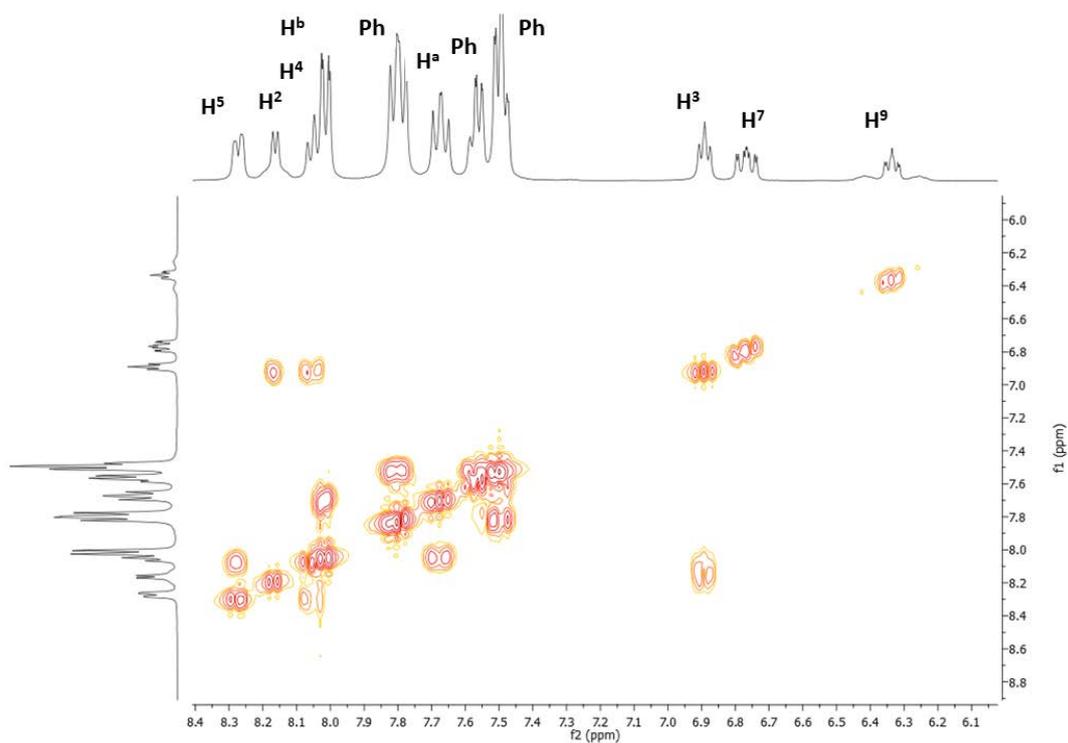
(a)



(b)

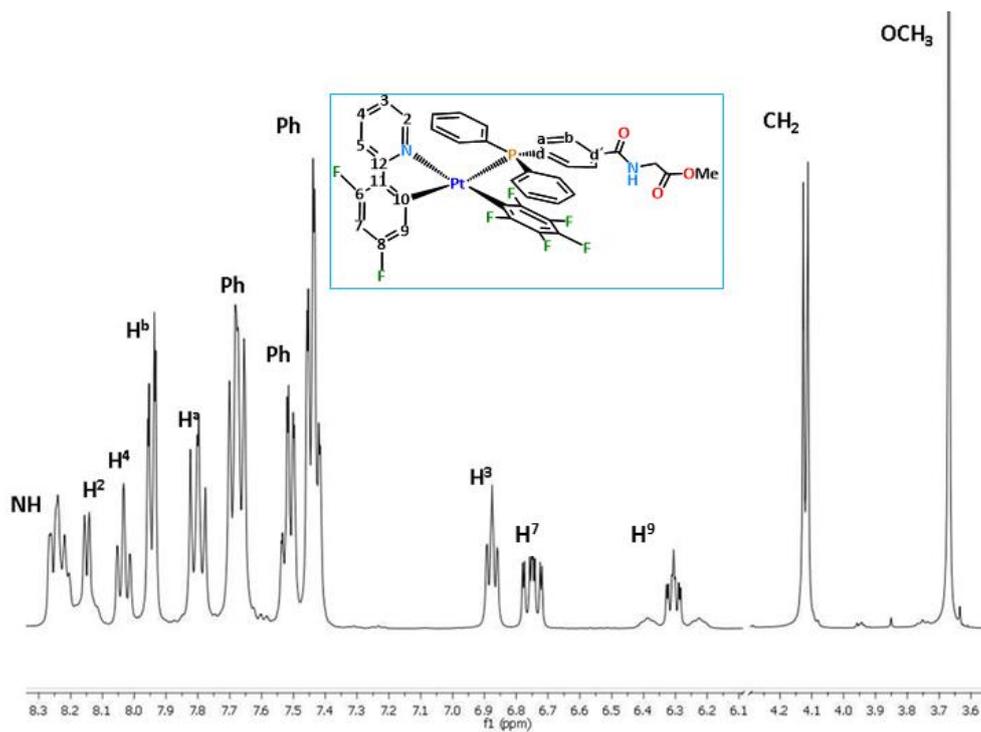


(c)

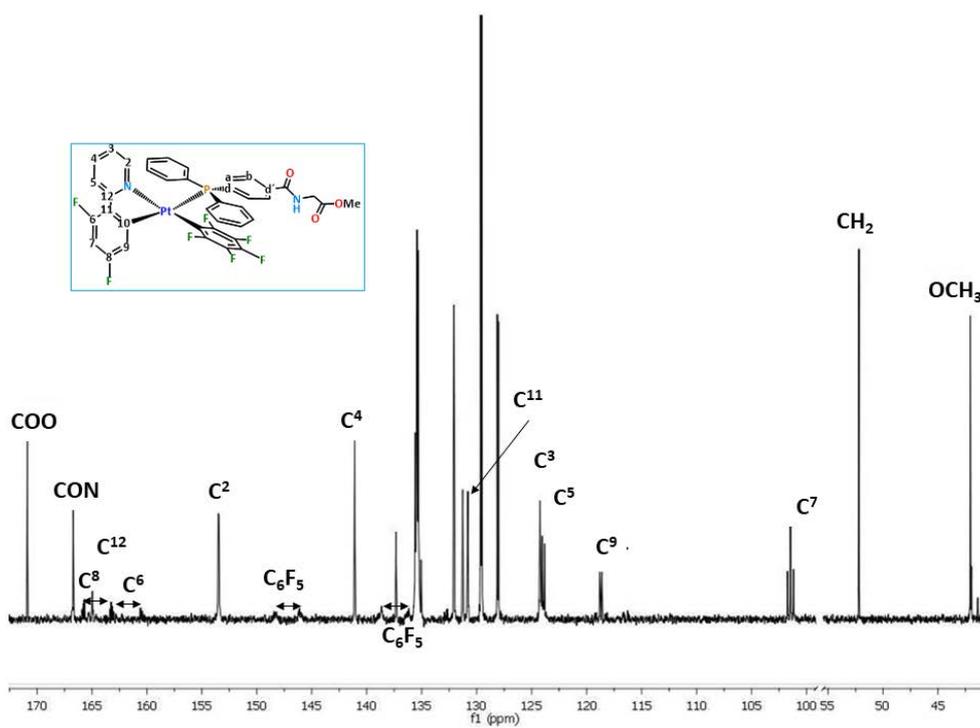


(d)

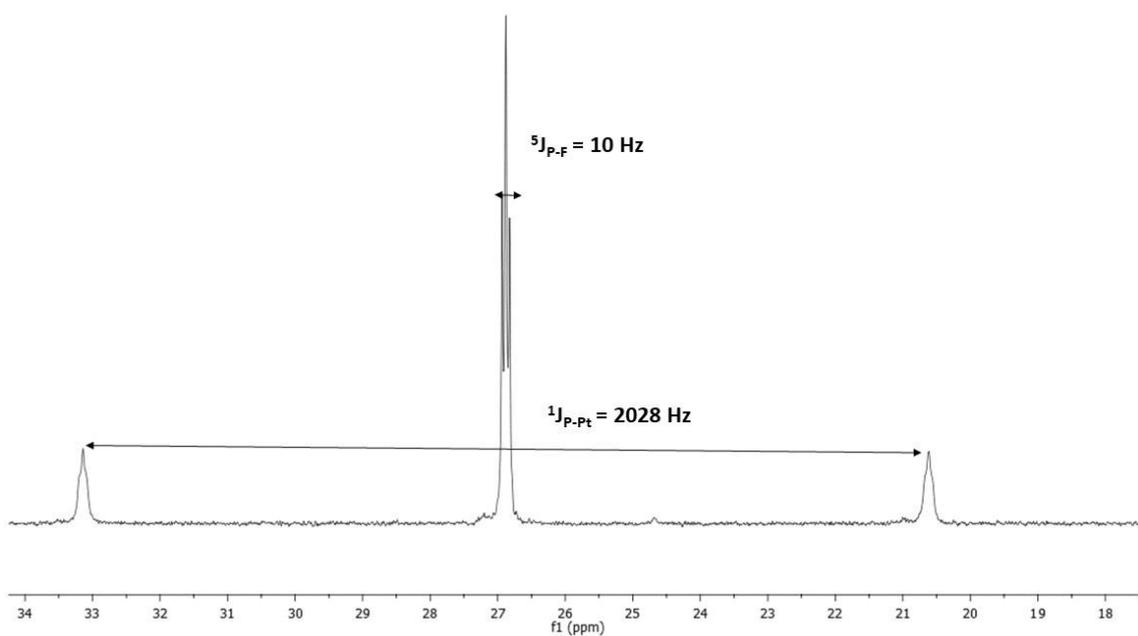
Figura A1.1. Espectro de RMN de **2b** en CD_3COCD_3 a 298 K. (a) ^1H , (b) $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, (c) $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ y (d) COSY ^1H - ^1H .



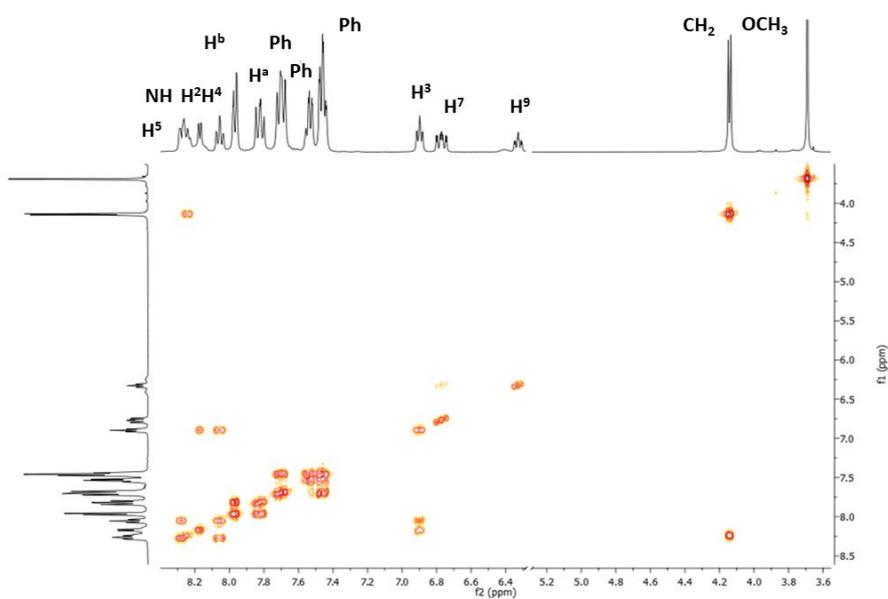
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura A.1.2. Espectro de RMN de **3b** en CD_3COCD_3 a 298 K (a) ^1H , (b) $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, (c) $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ y (d) COSY ^1H - ^1H .

Tabla A.1.1. Distancias de enlace (Å) y ángulos (°) para **1b**, **2a**·3.25CH₂Cl₂ y **3b**·2CH₂Cl₂·H₂O

1b			
Distancias (Å)		Ángulos(°)	
Pt(1)-N(1)	2.090(3)	C(12)-Pt(1)-C _{ipso} (C ₆ F ₅)	91.6(1)
Pt(1)-C(12)	2.017(3)	C(12)-Pt(1)-N(1)	80.2(1)
Pt-C _{ipso} (C ₆ F ₅)	2.028(3)	C _{ipso} (C ₆ F ₅)-Pt(1)-S(1)	88.78(8)
Pt-S(1)	2.3114(7)	N(1)-Pt-S(1)	99.47(8)
O(1)-S(1)	1.481(3)	O(1)-S(1)-Pt(1)	120.3(1)
S(1)-C(19)	1.780(4)		
S(1)-C(20)	1.780(4)		
2a ·3.25CH ₂ Cl ₂			
Distancias (Å)		Ángulos(°)	
Pt(1)-N(1)	2.104(6)	C(12)-Pt(1)-C _{ipso} (C ₆ F ₅)	91.0(3)
Pt(1)-C(12)	2.043(7)	C(12)-Pt(1)-N(1)	80.9(3)
Pt-C _{ipso} (C ₆ F ₅)	2.014(7)	C _{ipso} (C ₆ F ₅)-Pt(1)-P(1)	89.7(2)
Pt-P(1)	2.335(2)	N(1)-Pt-P(1)	98.6(2)
C(28)-C(31)	1.498(12)	C(28)-C(31)-O(1)	114.7(9)
C(31)-O(1)	1.290(11)	C(28)-C(31)-O(2)	120.3(8)
C(31)-O(2)	1.234(11)	O(1)-C(31)-O(2)	125.0(8)
3b ·2CH ₂ Cl ₂ ·H ₂ O			
Distancias (Å)		Ángulos(°)	
Pt(1)-N(1)	2.093(4)	C(12)-Pt(1)-C _{ipso} (C ₆ F ₅)	91.7(2)
Pt(1)-C(12)	2.024(6)	C(12)-Pt(1)-N(1)	79.9(2)
Pt-C _{ipso} (C ₆ F ₅)	2.002(6)	C _{ipso} (C ₆ F ₅)-Pt(1)-P(1)	90.1(2)
Pt-P(1)	2.327(2)	N(1)-Pt-P(1)	98.3(1)
C(22)-C(25)	1.502(8)	C(22)-C(25)-O(1)	121.0(6)
C(25)-O(1)	1.225(6)	N(2)-C(25)-O(1)	121.5(6)
C(25)-N(2)	1.336(8)	O(2)-C(27)-O(3)	123.9(8)
C(26)-N(2)	1.439(8)	C(26)-C(27)-O(2)	126.6(7)
C(26)-C(27)	1.521(11)	C(26)-C(27)-O(3)	109.5(7)
C(27)-O(2)	1.201(9)		
C(27)-O(3)	1.347(9)		
C(28)-O(3)	1.415(9)		

Tabla A1.2. Geometrías optimizadas por calculos DFT en los estados fundamental y triplete de los compuestos **1b**, **2a**, **2b**, **3a** y **3b** en CH₂Cl₂

1b			
	Rayos-X	S ₀	T ₁
Pt-N	2.090(3)	2.136	2.099
Pt-S	2.3114(7)	2.481	2.492
Pt-C _{ciclotmet}	2.017(3)	2.0142	1.991
Pt-C _{C6F5}	2.028(3)	2.038	2.047
N-Pt-S	99.47(8)	97.97	97.330
C _{ciclotmet} -Pt-N	80.2(1)	79.98	81.029
C _{C6F5} -Pt-C _{ciclotmet}	91.6(1)	93.39	93.157
S-Pt-C _{C6F5}	88.78(8)	88.75	88.600
2a			
	Rayos-X	S ₀	T ₁
Pt-N	2.104(6)	2.167	2.124
Pt-P	2.335(2)	2.438	2.465
Pt-C _{C6F5}	2.014(7)	2.027	2.039
Pt-C _{ciclotmet}	2.043(7)	2.043	2.007
N-Pt-P	98.6(2)	98.39	97.626
P-Pt-C _{C6F5}	89.7(2)	89.92	89.535
C _{C6F5} -Pt-C _{ciclotmet}	91.0(3)	92.31	92.040
C _{ciclotmet} -Pt-N	80.9(3)	79.35	80.805
2b			
	Rayos-X	S ₀	T ₁
Pt-N	-	2.161	2.118
Pt-P	-	2.440	2.450
Pt-C _{C6F5}	-	2.028	2.038
Pt-C _{ciclotmet}	-	2.040	2.015
N-Pt-P	-	98.58	98.05
P-Pt-C _{C6F5}	-	89.65	89.39
C _{C6F5} -Pt-C _{ciclotmet}	-	92.53	92.19
C _{ciclotmet} -Pt-N(1)	-	79.26	80.39

3a			
	Rayos-X	S ₀	T ₁
Pt-N	-	2.168	2.126
Pt-P	-	2.444	2.465
Pt-C _{C6F5}	-	2.027	2.038
Pt-C _{ciclotmet}	-	2.044	2.008
N-Pt-P	-	98.06	97.37
P-Pt-C _{C6F5}	-	90.52	89.97
C _{C6F5} -Pt-C _{ciclotmet}	-	92.10	91.95
C _{ciclotmet} -Pt-N	-	79.33	80.73
3a			
	Rayos-X	S ₀	T ₁
Pt-N	2.093(4)	2.162	2.119
Pt-P	2.327(2)	2.442	2.451
Pt-C _{C6F5}	2.002(6)	2.027	2.038
Pt-C _{ciclotmet}	2.024(6)	2.041	2.016
N-Pt-P	98.3(1)	98.58	97.98
P-Pt-C _{C6F5}	90.1(2)	89.92	89.66
C _{C6F5} -Pt-C _{ciclotmet}	91.7(2)	92.28	92.00
C _{ciclotmet} -Pt-N	79.9(2)	79.25	80.39

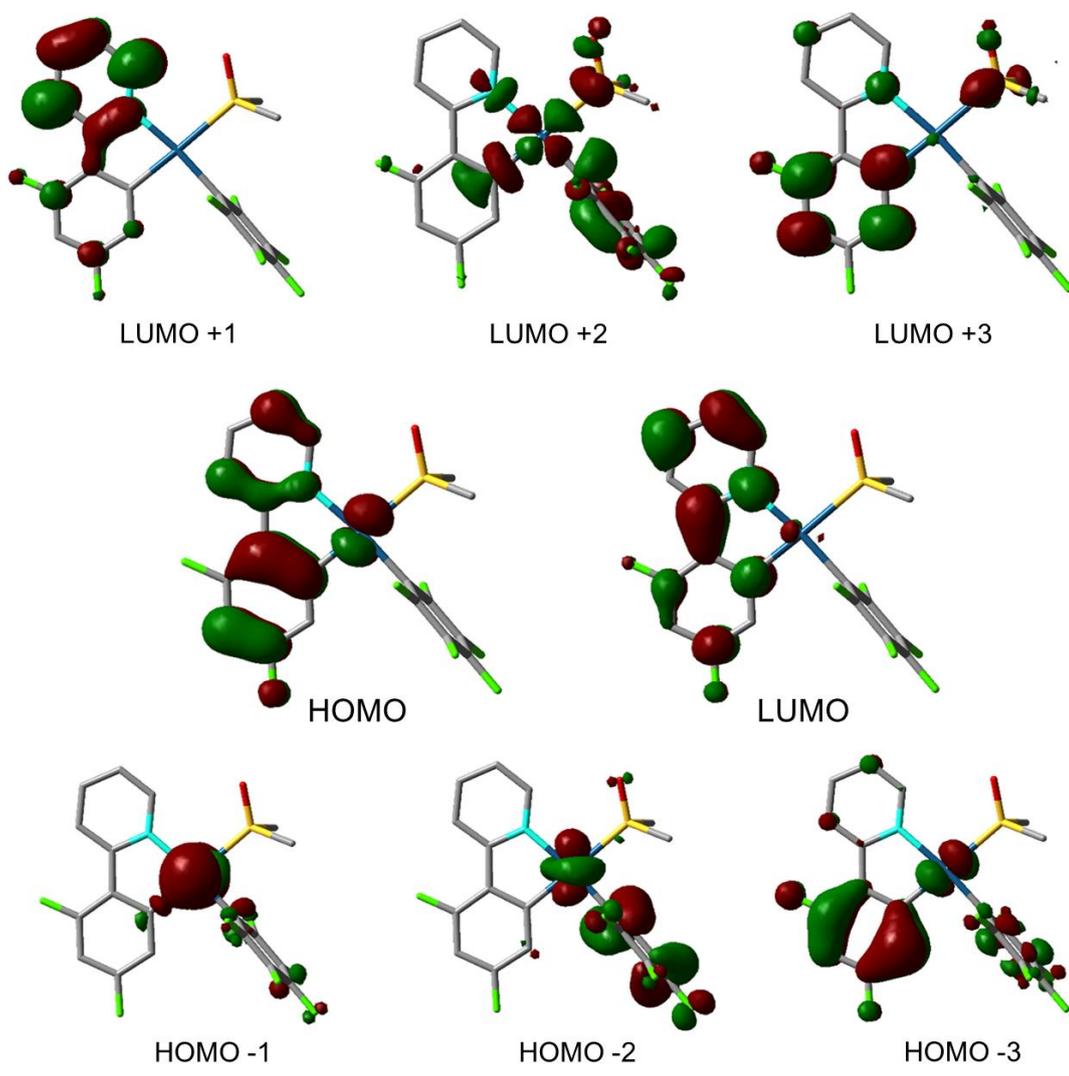


Figura A.1.3. Orbitales Moleculares frontera de **1b** para el estado fundamental

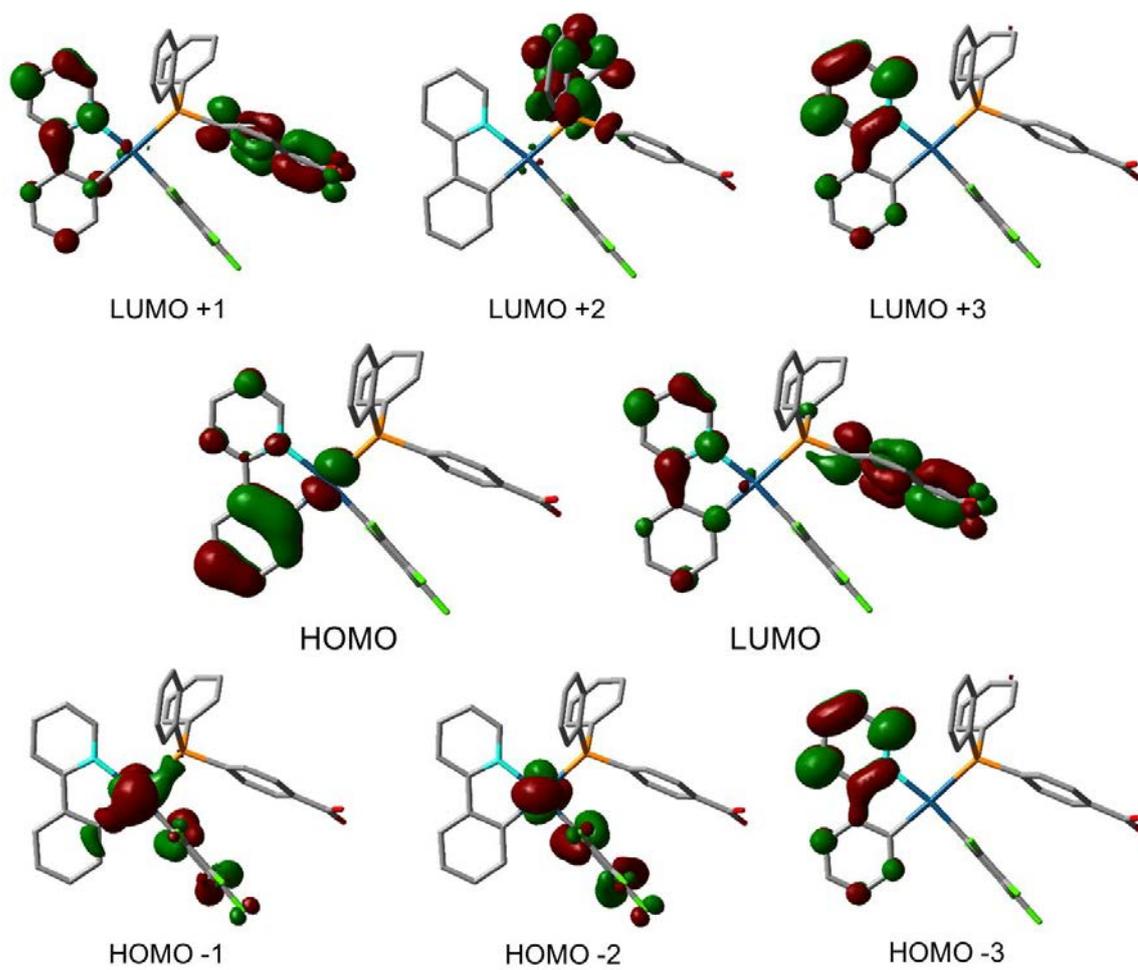


Figura A.1.4. Orbitales Moleculares frontera de **2a** para el estado fundamental

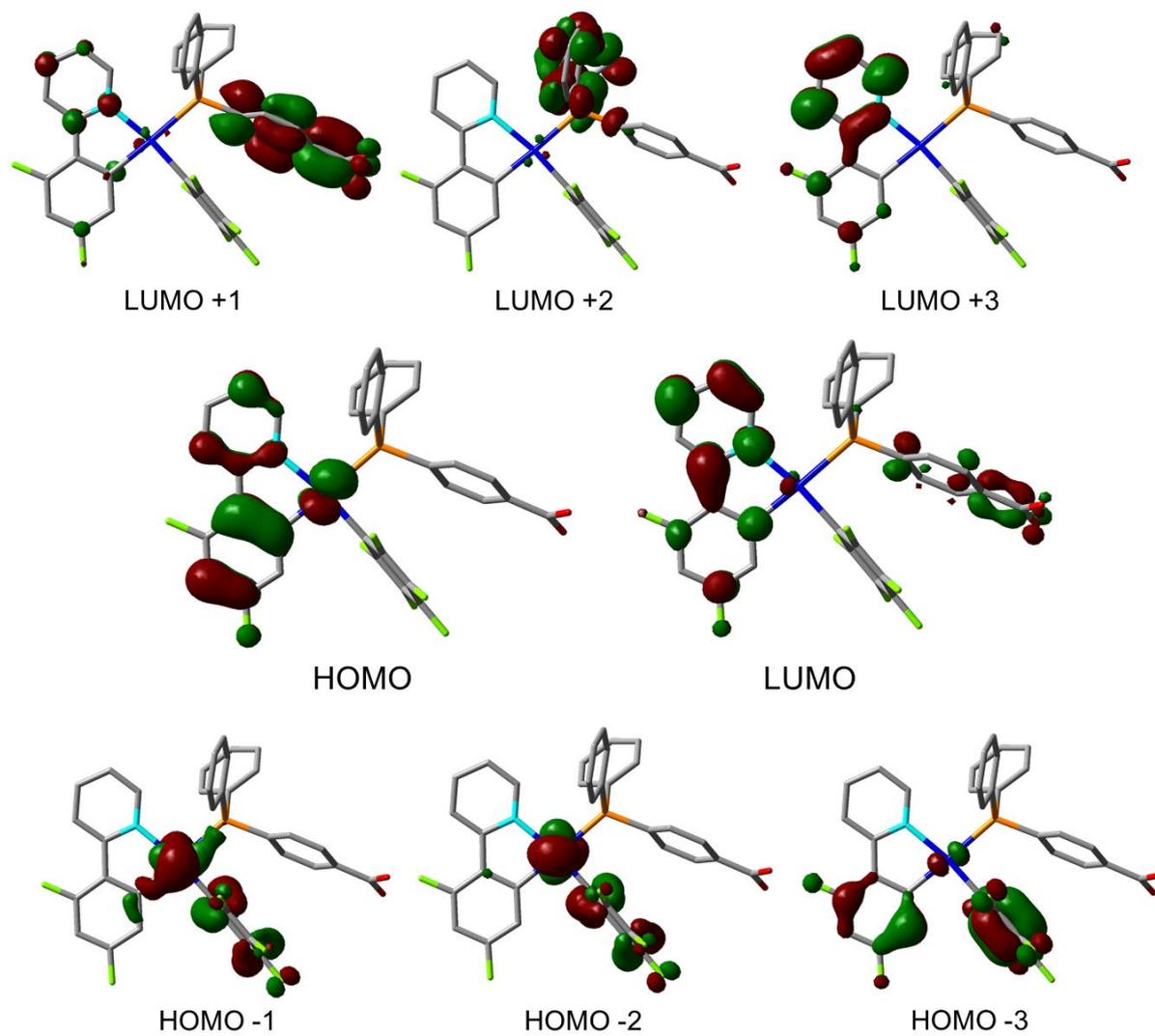


Figura A.1.5. Orbitales Moleculares frontera de **2b** para el estado fundamental

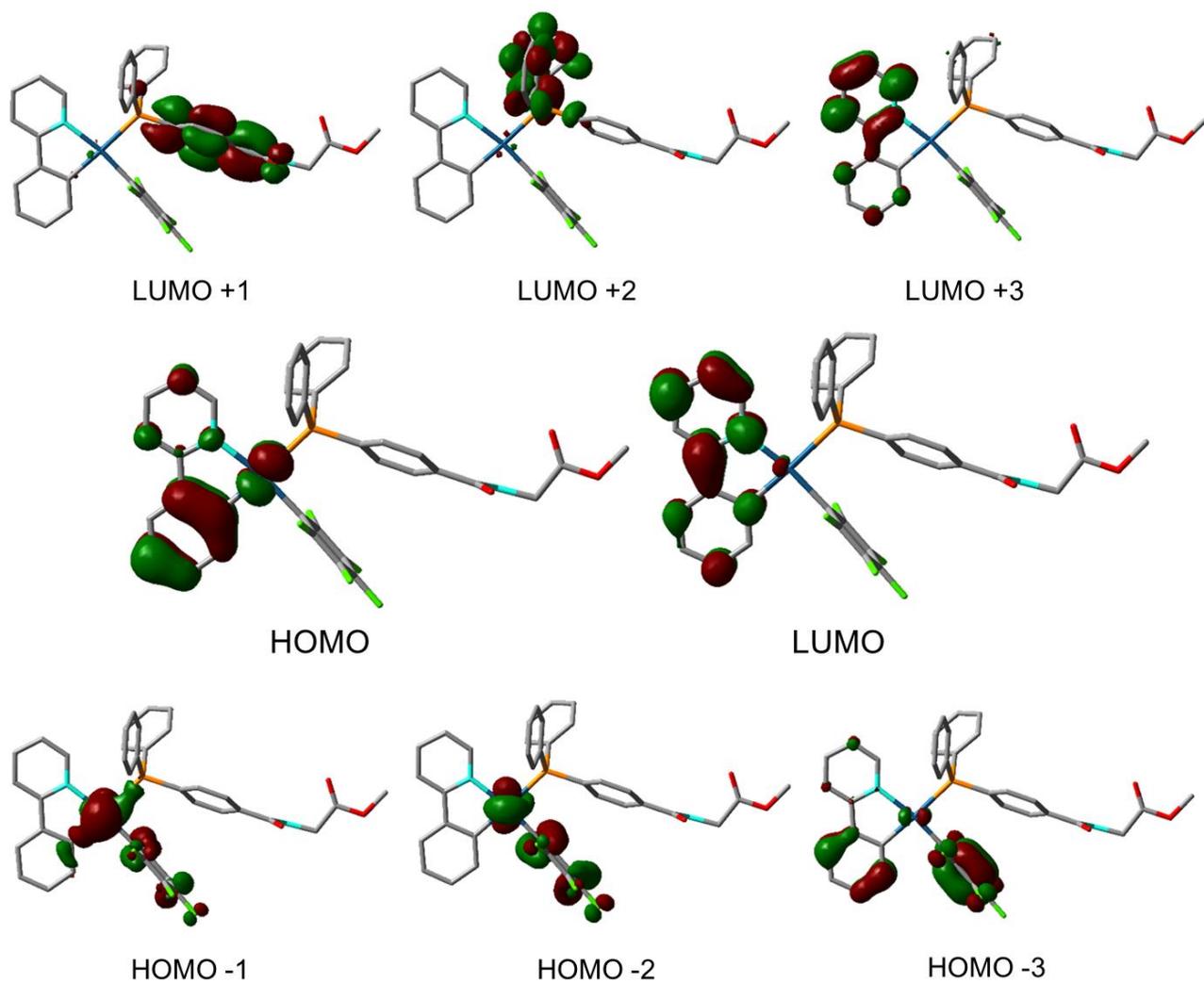


Figura A.1.6. Orbitales Moleculares frontera de 3a para el estado fundamental

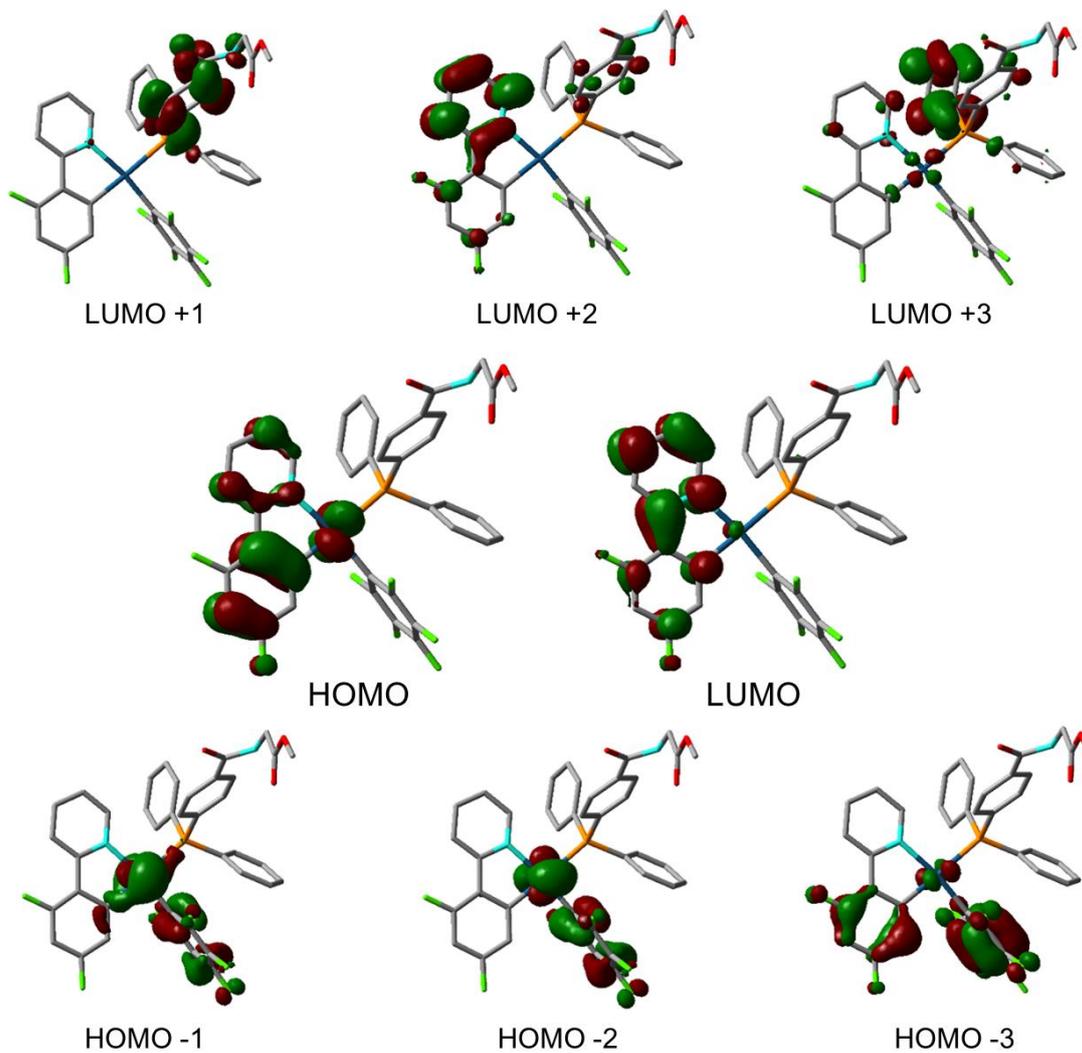


Figura A.1.7. Orbitales Moleculares frontera de **3b** para el estado fundamental

Tabla A.1.3. Composición (%) de los Orbitales Frontera MOs en términos de ligandos y metales en el estado fundamental de **1b**, **2a**, **2b**, **3a** y **3b** en CH₂Cl₂.

1b					
MO	eV	dFppy	C ₆ F ₅	DMSO	Pt
LUMO+3	-0.48	65	3	12	20
LUMO+2	-0.66	22	34	10	34
LUMO+1	-0.99	99	0	0	1
LUMO	-1.81	90	1	2	8
HOMO	-6.21	77	0	1	22
HOMO-1	-6.39	6	11	1	82
HOMO-2	-6.46	4	67	3	27
HOMO-3	-6.56	71	13	1	15
HOMO-4	-6.64	9	88	0	3

2a						
MO	eV	ppy	C ₆ F ₅	PPh ₂	PhCO ₂ H	Pt
LUMO+3	-1.04	94	0	4	1	1
LUMO+2	-1.11	2	0	92	6	0
LUMO+1	-1.68	49	1	3	43	4
LUMO	-1.73	42	1	5	48	5
HOMO	-5.92	69	0	2	0	29
HOMO-1	-6.06	10	29	3	0	58
HOMO-2	-6.16	1	46	2	1	50
HOMO-3	-6.39	24	72	0	1	3
HOMO-4	-6.45	64	27	1	0	9

2b						
MO	eV	dfppy	C ₆ F ₅	PPh ₂	PhCO ₂ H	Pt
LUMO+3	-1.03	92	0	6	1	1
LUMO+2	-1.14	2	0	91	6	1
LUMO+1	-1.73	19	1	4	73	3
LUMO	-1.79	72	1	4	18	6
HOMO	-6.12	69	1	2	0	28
HOMO-1	-6.17	8	39	2	1	51
HOMO-2	-6.25	4	39	2	1	55
HOMO-3	-6.42	31	62	0	1	5
HOMO-4	-6.48	52	35	1	1	10

3a

MO	eV	ppy	C ₆ F ₅	PPh ₂	PhCOGlyOMe	Pt
LUMO+3	-1.04	94	0	5	1	1
LUMO+2	-1.07	2	0	91	6	1
LUMO+1	-1.46	3	1	7	87	2
LUMO	-1.71	89	1	3	1	7
HOMO	-5.91	68	0	2	0	30
HOMO-1	-6.06	10	24	3	1	63
HOMO-2	-6.17	2	51	3	1	44
HOMO-3	-6.39	32	62	0	2	4
HOMO-4	-6.45	55	35	1	1	9

3b

MO	eV	dfppy	C ₆ F ₅	PPh ₂	PhCOGlyOMe	Pt
LUMO+3	-0.95	12	2	73	9	4
LUMO+2	-1.03	82	0	5	12	1
LUMO+1	-1.65	4	0	12	84	0
LUMO	-1.77	86	1	3	4	7
HOMO	-6.10	69	1	2	0	27
HOMO-1	-6.15	8	34	2	0	55
HOMO-2	-6.24	4	43	2	1	51
HOMO-3	-6.41	32	60	3	0	6
HOMO-4	-6.47	51	35	3	0	10

Tabla A.1.4. Energías de excitación verticales a estados singlete y estados triplete desde el estado (S_0) calculadas por TDDFT/SCRF (CH_2Cl_2) con los orbitales que participan en la transición para **1b**, **2a**, **2b**, **3a** y **3b**

	Estado	λ/nm	f	Transición (% Contribución)
1b	T ₁	430.12	-	HOMO→LUMO (78%)
	S ₁	338.62	0.0495	HOMO→LUMO (85%)
	S ₂	332.97	0.0138	H-1→LUMO (85%)
	S ₄	301.24	0.1201	H-3→LUMO (80%)
	S ₅	290.20	0.0546	H-5→LUMO (58%), H-1→L+2 (23%)
2a	T ₁	443.34	-	HOMO→LUMO (35%), HOMO→L+1 (35%)
	S ₁	359.04	0.0467	HOMO→LUMO (53%), HOMO→L+1 (42%)
	S ₂	351.88	0.0057	H-2→LUMO (11%), H-1→LUMO (46%), H-1→L+1 (33%)
	S ₅	326.54	0.0115	H-2→LUMO (37%), H-2→L+1 (10%), H-1→L+1 (41%)
	S ₇	304.90	0.0740	H-4→L+1 (20%), H-3→LUMO (64%), HOMO→L+3 (10%)
2b	T ₁	431.52	-	HOMO→LUMO (60%), HOMO→L+1 (13%)
	S ₁	349.99	0.0131	H-2→LUMO (17%), H-1→LUMO (35%), HOMO→LUMO (32%)
	S ₂	345.91	0.0307	H-1→LUMO (27%), HOMO→LUMO (48%)
	S ₄	323.45	0.0094	H-2→LUMO (11%), H-1→L+1 (82%)
	S ₇	306.37	0.1460	H-4→LUMO (27%), H-3→LUMO (51%)
3a	T ₁	443.53	-	HOMO→LUMO (70%), H-4→LUMO (9%)
	S ₁	359.59	0.0438	HOMO→LUMO (94%)
	S ₂	352.32	0.0084	H-2→LUMO (15%), H-1→LUMO (82%)
	S ₅	310.21	0.0114	H-1→L+1 (74%), HOMO→L+1 (21%)
	S ₆	305.14	0.1144	H-4→LUMO (28%), H-3→LUMO (31%), H-2→L+1 (20%), HOMO→L+3 (10%)
3b	T ₁	431.38	-	HOMO→LUMO (70%)
	S ₁	350.05	0.0105	H-2→LUMO (17%), H-1→LUMO (50%), HOMO→LUMO (30%)
	S ₂	345.67	0.0312	H-1→LUMO (22%), HOMO→LUMO (61%)
	S ₃	325.45	0.0028	H-2→LUMO (71%), H-1→LUMO (26%)
	S ₄	315.98	0.0030	H-2→L+1 (16%), H-1→L+1 (72%), HOMO→L+1 (10%)
	S ₆	306.46	0.1432	H-4→LUMO (36%), H-3→LUMO (49%)

Tabla A.1.5. Composición (%) de los Orbitales Frontera MOs en términos de ligandos y metales en el estado triplete de **1b**, **2a**, **2b**, **3a** y **3b** en CH₂Cl₂.

1b					
MO	eV	dFppy	C ₆ F ₅	DMSO	Pt
SOMO	-3.55	93	0	1	6
SOMO-1	-4.53	93	0	0	7

2a						
MO	eV	ppy	C ₆ F ₅	PPh ₂	PhCO ₂ H	Pt
SOMO	-3.40	93	0	1	0	5
SOMO-1	-4.33	88	0	1	0	11

2a						
MO	eV	dfppy	C ₆ F ₅	PPh ₂	PhCO ₂ H	Pt
SOMO	-3.49	93	0	1	0	6
SOMO-1	-4.49	91	0	0	0	8

3a						
MO	eV	ppy	C ₆ F ₅	PPh ₂	PhCOGlyOMe	Pt
SOMO	-3.40	93	0	1	0	5
SOMO-1	-4.33	89	0	1	0	11

3b						
MO	eV	dFppy	C ₆ F ₅	PPh ₂	PhCOGlyOMe	Pt
SOMO	-3.47	93	0	1	0	6
SOMO-1	-4.48	91	0	0	0	8

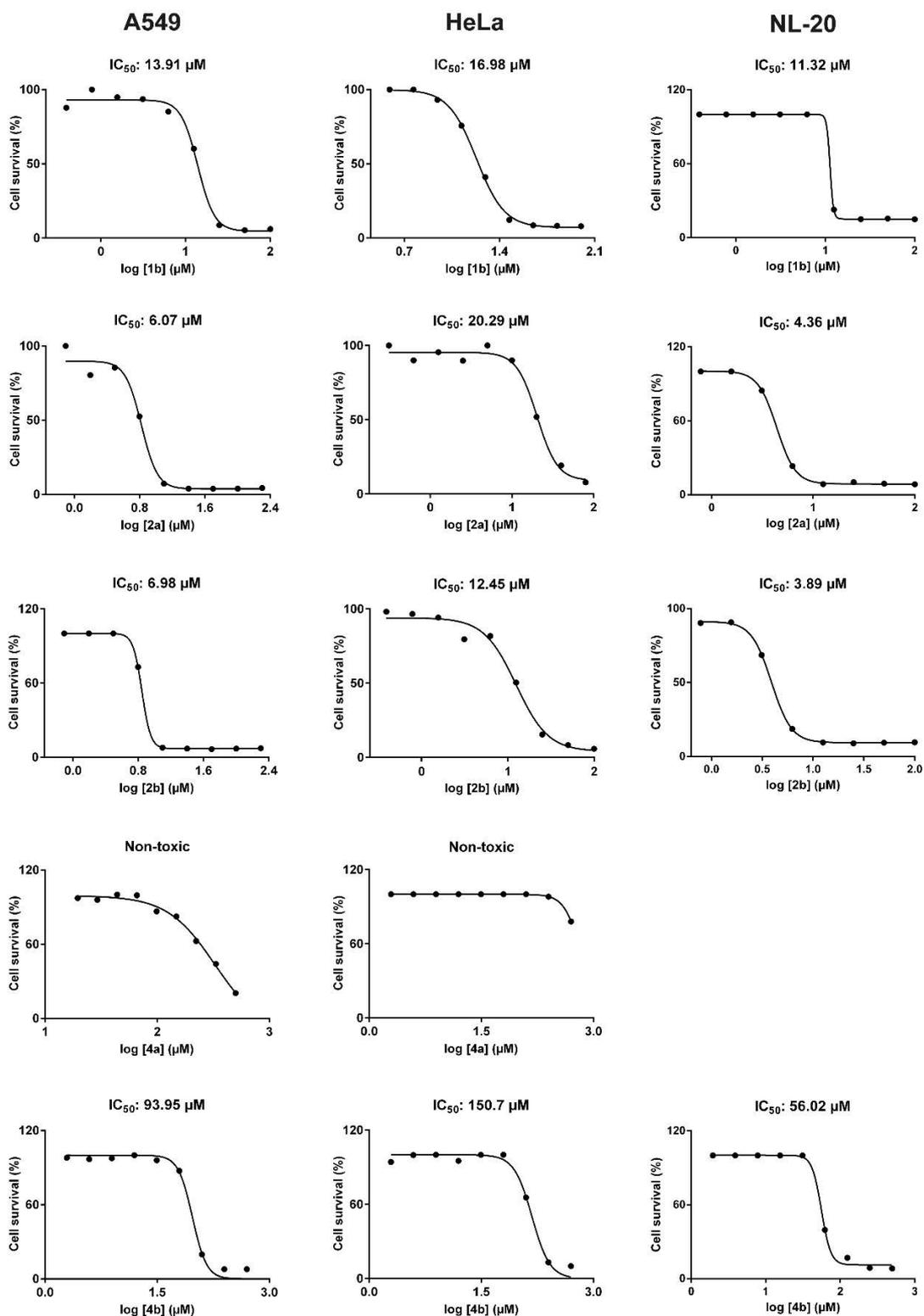


Figura A.1.8 Curvas dosis-respuesta para la determinación de los valores de citotoxicidad IC_{50} para **1b**, **2a**, **2b** y **4a**, **4b** en las líneas celulares A549, HeLa y NL-20. El valor de IC_{50} corresponde a la dosis mínima necesaria para inhibir el 50% del crecimiento celular, calculado de manera experimental con la dependencia de la supervivencia celular a la dosis de compuesto durante 72 h.

Capítulo 2

Compuestos luminiscentes de Ir(III).
Síntesis y estudio de las propiedades
ópticas y biológicas.



Capítulo 2

Compuestos luminiscentes de Ir(III). Síntesis y estudio de las propiedades ópticas y biológicas

2.1 Introducción

Como ya se ha comentado anteriormente, y debido a sus propiedades antineoplásicas, algunos compuestos de platino tales como el cisplatino, carboplatino o oxaliplatino, se encuentran entre los agentes quimioterapéuticos más prescritos en terapias frente al cáncer.^{9c, 99, 145e-h, 146b, 223} Su mecanismo de acción se basa, principalmente, en la interrupción de los procesos de transcripción del ADN debido a la formación de enlaces cruzados intracatenarios (*intrastrand cross-links*) entre guaninas.^{102a, 224} Sin embargo, a pesar de su eficiencia, este mecanismo de acción implica una gran facilidad para la adquisición de resistencia al tratamiento, además de presentar una escasa selectividad. Todo esto junto con la baja efectividad que presentan en estadios avanzados de la enfermedad, como en los casos de metástasis, ha impulsado el desarrollo de nuevos fármacos y terapias. Para ello, se ha abordado la síntesis de nuevos compuestos de coordinación que contengan platino u otros metales de transición (Figura 2.1A), y que presenten otros mecanismos de acción, dianas celulares diferentes o que incluyan receptores que incrementen la selectividad hacia las células tumorales (Ver introducción).^{16a, 225} Otra vía que ha tenido especial interés ha sido el desarrollo de sistemas que faciliten su administración, mediante su encapsulación o el empleo de nanomateriales, reduciendo de esta manera los efectos secundarios.²²⁶ Respecto de los metales de transición que se han evaluado como agentes antineoplásicos,^{225c, 227} los complejos organometálicos de iridio están ganando una gran relevancia como alternativa al uso de complejos de Pt.²²⁸ Muchos complejos de iridio han demostrado tener una prometedora actividad antiproliferativa *in vitro* y/o *in vivo* a través de varios mecanismos de acción, los cuales no tienen por qué involucrar a las cadenas de ADN, sino que se dirigen a otros orgánulos de las células como las mitocondrias o los lisosomas,^{57c} alterando la homeostasis redox celular, o interaccionando con proteínas que regulan ciertos procesos celulares.²²⁹ Además existen numerosos ejemplos de complejos

de Ir(III) en los que la citotoxicidad es inducida por la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS del inglés *reactive oxygen species*). Por último, sus propiedades fotofísicas los hacen buenos candidatos para su empleo como marcadores fosforescentes en bioimagen,²³⁰ o como sensores de niveles de hipoxia en medios celulares²³¹ (Figura 2.1 b y c).

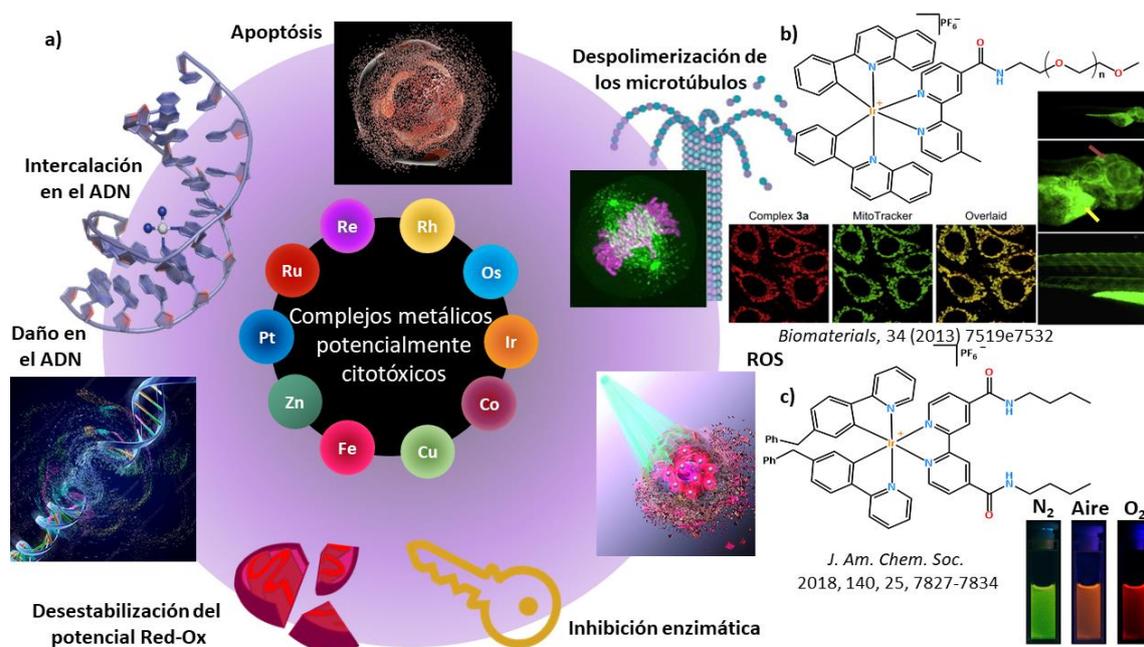


Figura 2.1 a) Complejos con metales potencialmente activos frente al cáncer y diferentes procesos que llevan a la muerte celular. **b)** Complejo de Ir(III) que se localiza en las mitocondrias y biodistribución *in vivo* del mismo en un pez cebra. **c)** Estructura de un complejo de Ir(III) con emisión dual fosforescente.

Por otra parte, el desarrollo de nuevas terapias como la termoterapia o la fototerapia, que sustituyan o permitan tratamientos sinérgicos como combinación de varias de ellas, está proporcionando excelentes resultados.⁵ Concretamente, la terapia fotodinámica (PDT) es una herramienta emergente empleada frente a numerosas enfermedades que, como ya se ha mencionado en la introducción, mejora la selectividad y reduce los efectos secundarios en relación a las terapias convencionales. La excitación mediante luz de un fotosensibilizador (PS) genera estados tripletes excitados que interaccionan con el oxígeno (3O_2) para producir ROS (oxígeno singlete, radicales hidroxilo o superóxido...), que pueden producir daños en los tejidos de su entorno. Estas especies inician una gran cantidad de procesos fisiológicos, siendo una de sus dianas

celulares las mitocondrias. Su acumulación puede llegar a generar además un estrés oxidativo en las células y, por consiguiente, dañar a diversas estructuras u orgánulos celulares provocando finalmente apoptosis y/o necrosis de la célula.²³²

Hasta la fecha, la gran mayoría de PS aprobados por la FDA eran moléculas orgánicas, como el Fotofrin, Clorin e6, Visudyne o el Foscan derivados de porfirinas con diferentes sustituyentes. Sin embargo estos PS, presentan ciertas desventajas como su baja solubilidad en agua, sus rangos de absorción de luz, la poca selectividad que presentan o incluso su baja fotoestabilidad, que puede derivar en la generación de especies como la bilirrubina que, en exceso, puede provocar hepatitis.^{57b} Han surgido numeros estudios sobre el diseños de nuevos PSs, basados en compuestos que presentan metales de transicion en su estructura. La presencia de átomos pesados en las estructuras de los compuestos incrementan su eficiencia como PS y la facilidad que presentan estos compuestos para poder acceder a estados triplete y presentar tiempos de vida largos, los hace especialmente intrerentes para su empleo como PSs en PDT, además, muchos de ellos son luminiscentes, lo que facilita enormemente su localización celular. Entre los primeros complejos que se han estudiado, alguno de los cuales se encuentra ya en ensayos clínicos, están los derivados tetrapirrólicos con metales como los de Lu(III), Sn(IV) o de Pd(II) aprobado para el tratamiento del cancer prostata (Figura 2.2).²³³

Entre los muchos ejemplos de compuestos con metales de transición, aquellos que incorporan ligandos heterocíclicos en su estructura (como polipiridilos), presentan un notable interés debido, en gran parte, a que generan fácilmente ROS. Existen muchos complejos de Ru(II) como el TLD-1433 (Figura 2.2) que ya ha entrado en fase clínica II como PS en el tratamiento del cáncer.²³⁴ Además, recientemente se han publicado algunos ejemplos de compuestos de Pt(II) que han abierto la puerta a su empleo como PS. Un ejemplo significativo es el derivado $[Pt(N^{\wedge}C^{\wedge}N)Cl]$ ($N^{\wedge}C^{\wedge}N = 2,6$ -dipiridil-4-metil-benceno) que muestra nula toxicidad en condiciones normales. Sin embargo, este compuesto se acumula en el núcleo e induce especies reactivas de oxígeno que causan ruptura en el ADN bajo irradiación..²³⁵

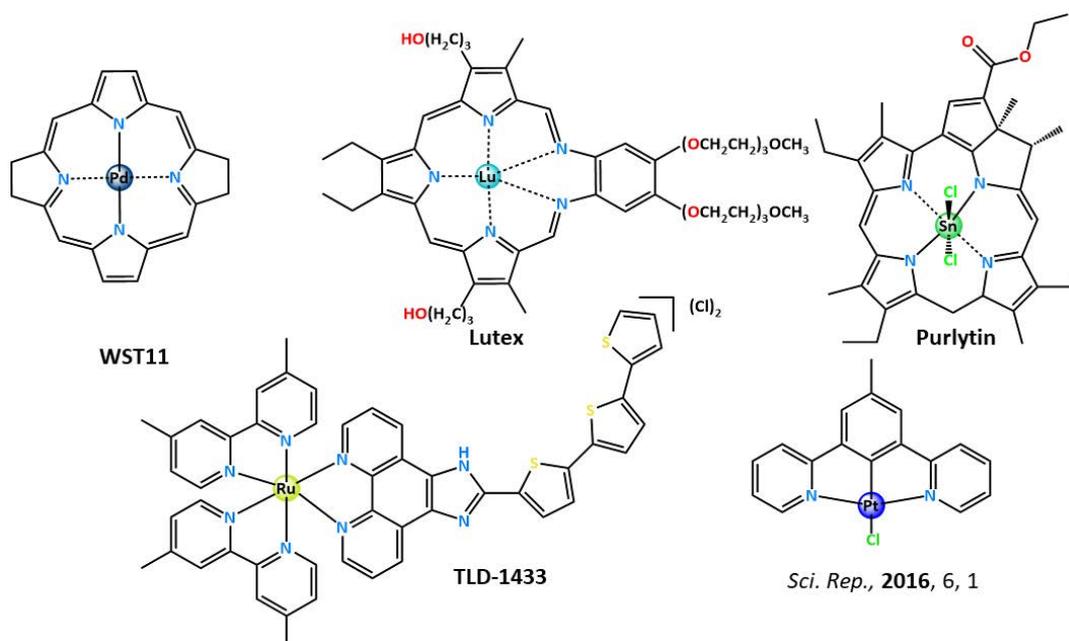


Figura 2.2: Fotosensibilizadores empleados en terapia fotodinámica con metales en su estructura.

Por su parte, los complejos ciclometalados de Ir(III), y más concretamente los derivados heterolépticos, han despertado una gran atención en los últimos años en este campo como PS. Presentan mayores desplazamientos de Stokes en comparación con los de las moléculas orgánicas y muchos de ellos son catiónicos, lo que puede incrementar su solubilidad en medios acuosos. Además, sus estados triplete excitados suelen ser muy sensibles a la presencia de oxígeno. Esta última propiedad les hace buenos PSs de tipo II (generan ROS, mediante el mecanismo de tipo II, ver Introducción) dado que pueden transferir la energía fácilmente desde el estado triplete al oxígeno para generar moléculas oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$).^{232b, 236} A todas estas propiedades debemos añadir su elevada estabilidad, tanto a los medios biológicos como a la luz, y la facilidad de modificar sus propiedades ópticas por medio de la variación de los ligandos ciclometalados y/o auxiliares, como ya se ha comentado en la introducción. Por todo ello, este tipo de complejos ciclometalados de iridio se estudian como agentes potencialmente teranósticos.^{230c, 232b, 237}

Una manera de clasificar los PSs basados en complejos de Ir(III) es mediante los orgánulos a los que van dirigidos; en su mayoría las mitocondrias, los lisosomas, el retículo endoplasmático, el núcleo y algunas proteínas celulares (Figura 2.3).

Algunos de ellos, se localizan en las mitocondrias, las cuales juegan un papel muy importante en la obtencion y almacenamiento de energia, en forma de ATP, para la correcta division celular. Por este motivo, la desregulación o alteracion de su potencial de membrana o de su funcionamiento puede acabar induciendo la apoptosis celular. En el grupo de Horobin²³⁸ se estudió la relación que existia entre los coeficientes de particion (Log P) de complejos catiónicos de iridio(III) y la probabilidad de que estos tiendan a localizarse en estos orgánulos. Se comprobó que los complejos que presentaban valores comprendidos entre 0 y 5 se localizaban más abundantemente en las mitocondrias.²³⁹ Estos orgánulos presentan potenciales de membrana negativos, y, en general, el aumento de su actividad tiende a incrementar estos potenciales. Por otra parte, la actividad mitocondrial es mayor en las celulas tumorales que en las células sanas ya que requieren de una mayor cantidad de energía para realizar los procesos de división celular por lo que se ven mas atraídas por moléculas lipofílicas catiónicas.²⁴⁰ En relacion a estos resultados, se han publicado ejemplos de complejos de iridio con bipyridinas funcionalizadas con esteres de longitudes de cadena creciente que se localizan en las mitocondrias. Los resultados mostraron que la longitud de la cadena modifica la lipofilia y tambien su actividad citotóxica, de tal forma un incremento en la longitud de la cadena producía mejores resultados citotoxicos.²⁴¹ Por otro lado, se ha puesto de manifiesto la relación entre los rendimientos de producción de oxígeno singlete con la fotocitotoxicidad inducida. Por ejemplo, con los derivados $[\text{Ir}(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2(\text{bpy-CONH-PEG})](\text{PF}_6)$ (bpy-CONH-PEG = 4-(N-(2-(ω -metoxipoli-(1-oxapropil))etil)aminocarbonil)-4'-metil-2,2'-bipyridina) se observó que mientras en condiciones normales no presentaban citotoxicidad, al irradiarlas con luz a 365 nm, su actividad antineoplásica mejoró hasta llegar a valores de IC_{50} de entre 3.4 y 23.2 μM en HeLa. Estos complejos se localizaron en las mitocondrias y debido a sus propiedades también son buenos candidatos a emplearse como marcadores en bioimagen.²⁴²

Por otra parte, los lisosomas se caracterizan por presentar un pH ácido (4.5 – 5.5) y enzimas capaces de degradar biomoléculas. Estos orgánulos juegan un papel muy importante en procesos apoptóticos, por lo que se han empleado como dianas en numerosos estudios. Un ejemplo es el del compuesto de la Figura 2.3c, cuya exposición a medios ácidos (las células cancerigenas presentan pH más bajos que las sanas)

aumentaba tanto su emisión como la generación de ROS, por lo que pueden emplearse como marcadores de los lisosomas e inhibidores de procesos metastásicos.²⁴³ Por su parte, otros complejos que presentan el ligando benzimidazol (Figura 2.3d), mostraron una elevada sensibilidad a cambios en el pH, baja citotoxicidad al administrarlos en oscuridad y valores de IC₅₀ muy bajos durante la irradiación.²⁴⁴ Además existen otras dianas, como el retículo endoplasmático, en los que algunos complejos de Ir(III) se localizan mostrando rendimiento cuánticos de producción de ¹O₂ cercanos al 95%.²⁴⁵

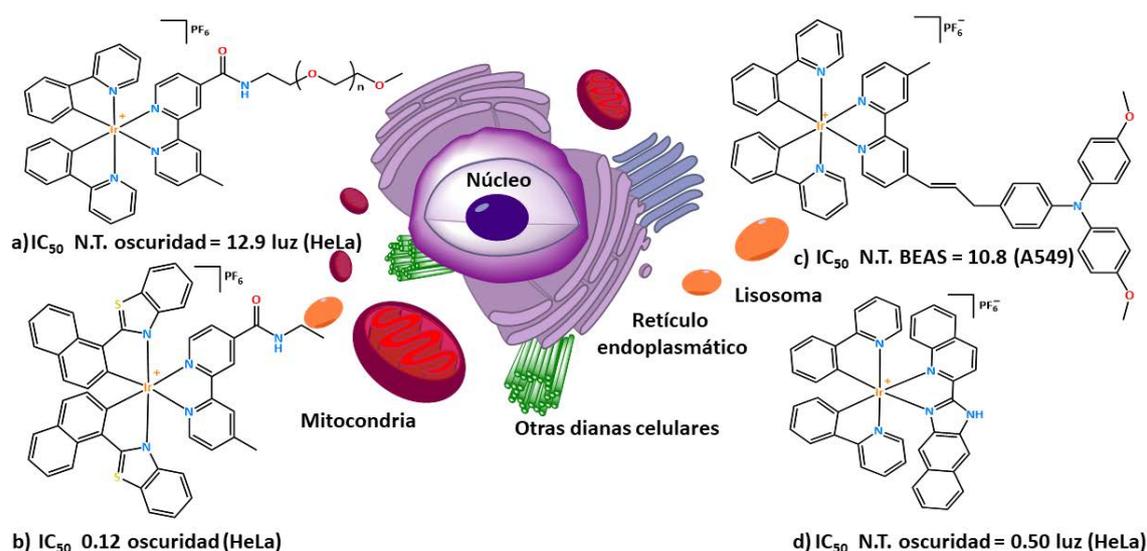


Figura 2.3: Orgánulos celulares que actúan como diana de complejos de Ir(III) y algunos ejemplos de complejos que actúan en a) y b) mitocondrias y c) o en d) lisosomas.

Existen otros muchos ejemplos de complejos catiónicos ciclometalados de iridio (III) con ligandos auxiliares diimina [Ir(C[^]N)₂(N[^]N)]⁺ que presentan un amplio abanico de dianas celulares, en los que el ligando auxiliar juega un papel fundamental. Además de las mitocondrias,²⁴⁶ los lisosomas,²⁴⁷ o el retículo endoplasmático,²⁴⁸ otros orgánulos como los endosomas²⁴⁹ o, incluso, el núcleo celular²⁵⁰ también se han usado como dianas de diferentes compuestos de este tipo. Por lo general, estos compuestos destacan en este campo por sus propiedades fotofísicas; entre las que se incluyen sus altos rendimientos cuánticos, los grandes desplazamientos de Stokes o sus emisiones fosforescentes que presentan, por lo general, largos tiempos de vida. Todas estas propiedades, incluyendo la fotoestabilidad, pueden ser fácilmente moduladas tanto por la selección de los ligandos ciclometalados, como por la de las diiminas y su posible funcionalización. En estos complejos, las emisiones se deben principalmente mezclas de transiciones de

transferencia de carga ($^3\text{MLCT}$, $^3\text{LL'CT}$) o intraligando (^3IL), con una mayor o menor contribución de ellas en los estados excitados en función de los niveles energéticos de los orbitales frontera implicados. Todas estas posibles modificaciones, junto con la naturaleza catiónica de estos compuestos, hacen posible sintonizar con relativa facilidad tanto la permeabilidad celular como las actividades biológicas y fisicoquímicas.^{1b, 57b, 69}

Entre ellos, el grupo del Dr. Gustavo Espino ha centrado su investigación en la síntesis de complejos bisciclometalados de Ir(III) empleando fenilpiridinas como ligandos ciclometalados y derivados del benzotiazol, poniendo de manifiesto el potencial de esta familia de complejos como agentes fotosensibilizadores en terapia fotodinámica, y profundizando en los posibles mecanismos que desencadenan para provocar la apoptosis celular; por ejemplo, procesos de endocitosis o daños en las membranas mitocondriales o en el ADN_{mit} provocados por estrés oxidativo.^{232a, 251}

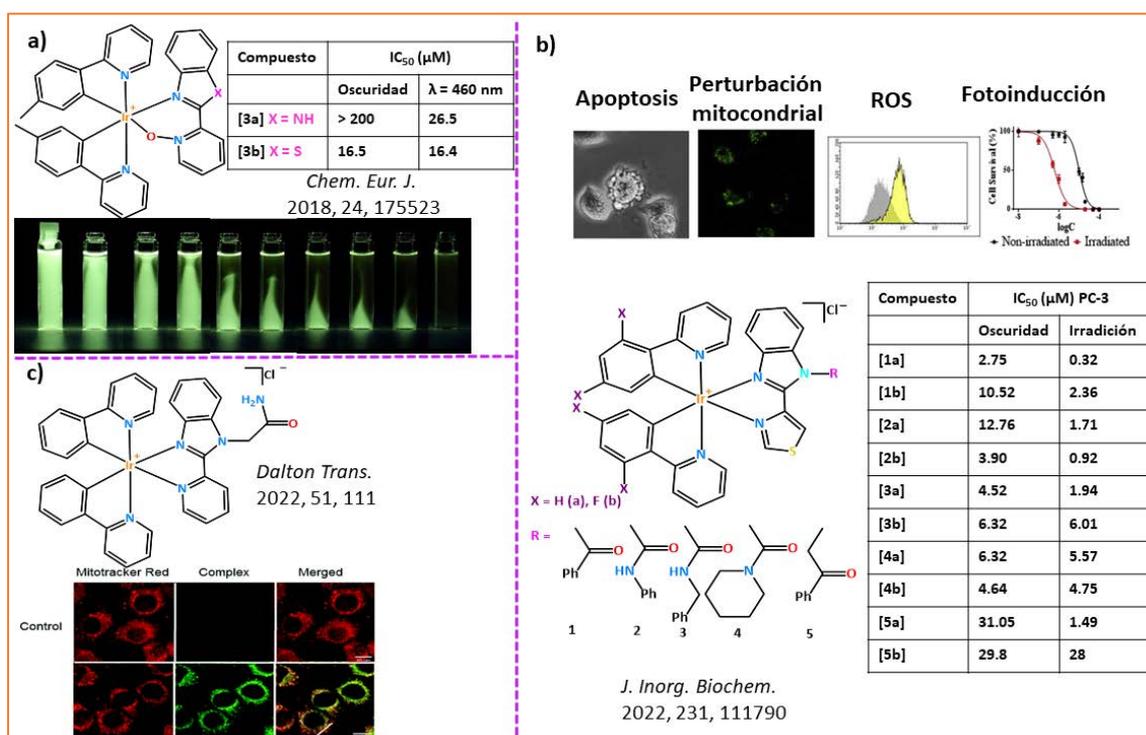


Figura 2.4: Compuestos catiónicos ciclometalados de Ir(III) con potencial como fotosensibilizadores publicados por el grupo de investigación de Gustavo Espino

Con todo esto en mente, en este capítulo se describe la síntesis y el estudio del potencial como agentes teranósticos y fotosensibilizadores de una nueva familia de compuestos catiónicos de Ir(III) ciclometalados $[\text{Ir}(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2(\text{N}^{\wedge}\text{N})]^+$ en los que se ha

utilizado la N,N-dibutil-2,2'-bipiridina-4,4'-dicarboxamida como diimina (dbbpy) y como ligandos ciclometalados se han empleado difluorofenilpiridina (dfppy), 2,6-difluoro-3-(piridin-2-il)-benzaldehído (CHO-dfppy), o ácido 2,6-difluoro-3-piridin-2-il-benzoico (COOH-dfppy). Además, se ha estudiado el efecto que tiene el contranión en las propiedades de esta familia de complejos, empleando para ello el Cl o el PF₆ en el caso de los complejos **6c** y **6d**. A modo de comparación, también se incluye el complejo [Ir(dfppy)₂(H₂dc bpy)]⁺ (**7b-PF₆**), con 3,3'-dicarboxi-2,2'-bipiridina como ligando auxiliar (N[^]N = H₂dc bpy). Con el fin de comprobar si la funcionalización del ligando auxiliar diimina con cadenas alifáticas de diferente longitud y naturaleza puede afectar a las propiedades biológicas de los derivados, también se ha sintetizado el complejo [Ir(CHO-dfppy)₂(dobpy)]Cl (**8c-Cl**) que contiene grupos oleilamida. Es destacable que los complejos que llevan ácido en el grupo ciclometalado muestran un incremento en su solubilidad, incluso en agua.²⁵² En el capítulo se incluye un estudio de las propiedades ópticas, apoyadas por cálculos teóricos. También se han realizado medidas para comprobar el potencial antineoplásico frente a las líneas celulares tumorales A549 (carcinoma de pulmón), HeLa (carcinoma de cuello uterino) y no tumorales BEAS-2B (epitelio bronquial). Con el fin de comprobar cómo actúan una vez dentro de las células, se ha realizado un seguimiento mediante microscopia confocal para comprobar su citolocalización. Finalmente se han evaluado las propiedades fotodinámicas de los complejos **2b-Cl**, **2b-PF₆**, **2c-Cl** y **3a-PF₆**.

2.2 Síntesis y caracterización

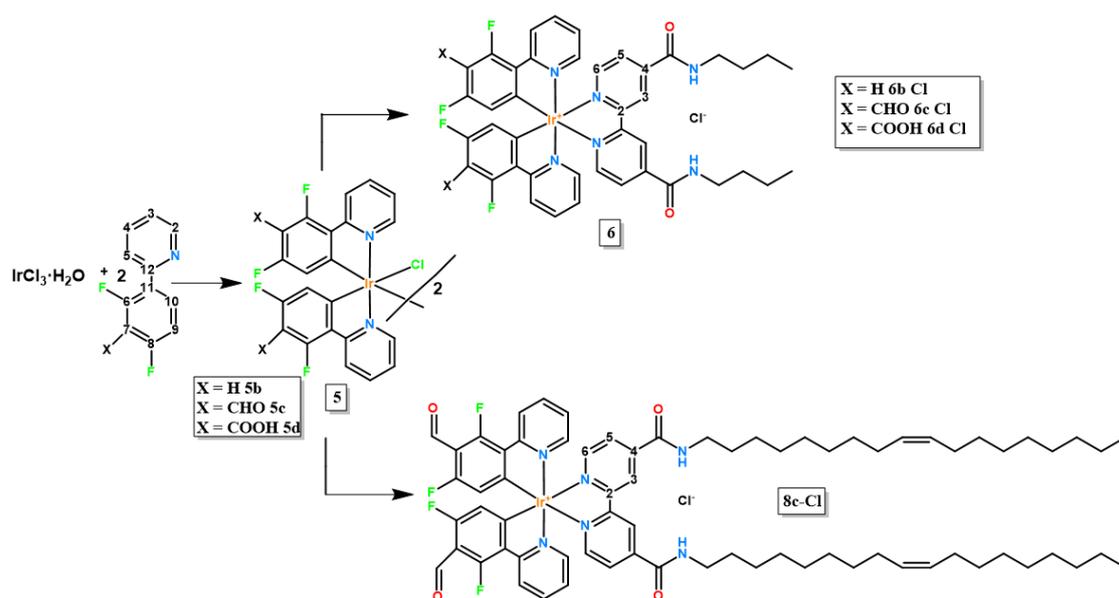
2.2.1 Síntesis

Los ligandos ciclometalados empleados para la síntesis de estos complejos se han obtenido comercialmente, como es el caso de la difluorofenilpiridina (**b**), o siguiendo procedimientos previamente publicados por otros grupos de investigación, como en el caso de sus derivados funcionalizados 2,6-difluoro-3-(piridin-2-il) benzaldehído (CHO-dfppy) (**c**)²⁵³ o ácido 2,6-difluoro-3-piridin-2-il-benzoico (COOH-dfppy) (**d**).²⁵⁴ Por su parte, las diiminas empleadas para la elaboración de esta familia de complejos se han preparado a partir de un procedimiento publicado anteriormente, en el que la bipyridina funcionalizada con grupos etóxido se pone a reflujo en butilamina para dar el derivado N,N'-dibutil-2,2'-bipyridina-4,4'-dicarboxamida (dbbpy).⁶¹ Siguiendo esta misma técnica se ha preparado la N,N'-dioleil-2,2'-bipyridina-4,4'-dicarboxamida (dobpy), empleando en este caso oleilamina como disolvente en lugar de la butilamina. Por último, la 4,4'-dicarboxi-2,2'-bipyridina se obtuvo directamente de forma comercial.

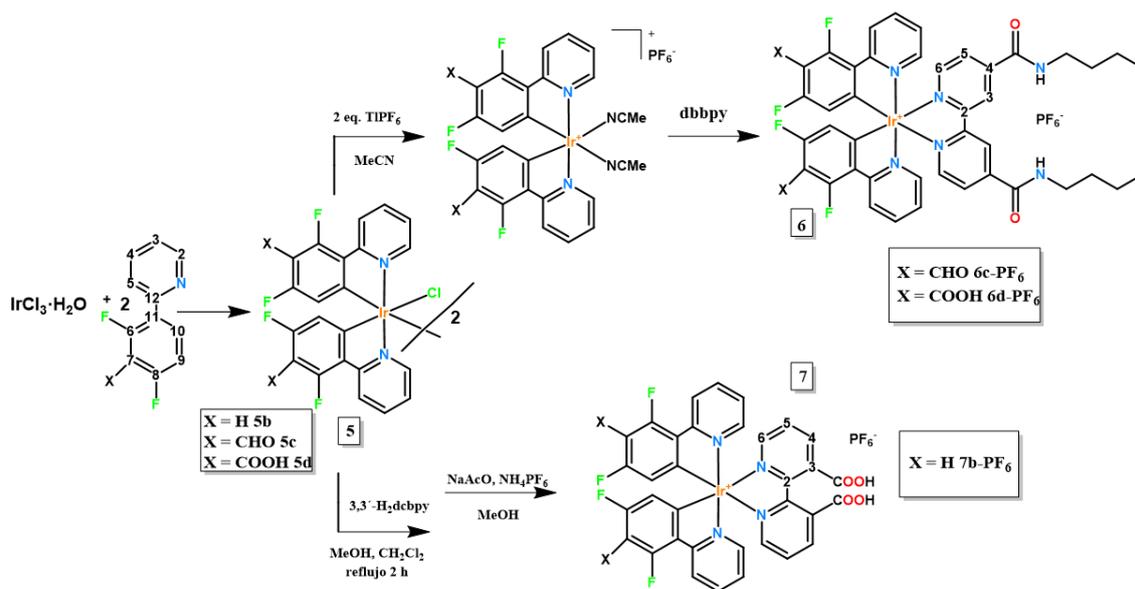
Para la preparación de los complejos organometálicos dinucleares con puentes-cloro empleados como precursores, $[\text{Ir}(\text{CHO-dfppy})_2(\mu\text{-Cl})_2]$ (**5c**) y $[\text{Ir}(\text{COOH-dfppy})_2(\mu\text{-Cl})_2]$ (**5d**), se ha empleado un procedimiento similar al llevado a cabo para la síntesis de $[\text{Ir}(\text{dfppy})_2(\mu\text{-Cl})_2]$ (**5b**).²⁵⁵ Para ello, se pusieron a reflujo dos equivalentes del ligando a ciclometalar ($\text{HC}^{\wedge}\text{N}$) correspondiente con un equivalente de $\text{IrCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ en una mezcla de 2-etoxietanol y agua destilada en una proporción 3/1. A partir de estos precursores se prepararon los complejos mononucleares **6(b,c,d)-Cl** y **8c-Cl** (Esquema 2.1A). Así, los derivados $[\text{Ir}(\text{dfppy})_2(\text{dbbpy})]_2\text{Cl}$ (**6b-Cl**), $[\text{Ir}(\text{CHO-dfppy})_2(\text{dbbpy})]_2\text{Cl}$ (**6c-Cl**), e $[\text{Ir}(\text{COOH-dfppy})_2(\text{dbbpy})]_2\text{Cl}$ (**6d-Cl**) se prepararon siguiendo el procedimiento descrito en la bibliografía para el homólogo que presenta la fenilpiridina como grupo ciclometalado,⁶¹ mediante la reacción en proporción 1:2 de los precursores dinucleares **5(b,c,d)** con la diimina funcionalizada *dbbpy* en una mezcla de MeOH/ CH_2Cl_2 durante 24 horas. El compuesto $[\text{Ir}(\text{CHO-dfppy})_2(\text{dobpy})]\text{Cl}$ (**8c-Cl**) se ha obtenido de manera similar. Este derivado se ha preparado con el fin de comprobar cómo afecta la naturaleza de las cadenas hidrocarbonadas que se incluyen en los ligandos auxiliares bipyridina a las propiedades ópticas y farmacocinéticas de los mismos.

Los complejos homólogos con PF_6^- como contraión en lugar de Cl^- , $[\text{Ir}(\text{CHO-dfppy})_2(\text{dbbpy})]\text{PF}_6$ (**6c-PF₆**) $[\text{Ir}(\text{COOH-dfppy})_2(\text{dbbpy})]\text{PF}_6$ (**6d-PF₆**) fueron preparados siguiendo el procedimiento descrito por *Zhou y col.*²⁵⁶ Este método requiere la formación inicial de los intermedios mononucleares que contienen dos ligandos acetonitrilo lábiles, $[\text{Ir}(\text{CHO-dfppy})_2(\text{NCMe})_2]\text{PF}_6$ ó $[\text{Ir}(\text{COOH-dfppy})_2(\text{NCMe})_2]\text{PF}_6$, los cuales mediante una reacción *in situ* con el ligando auxiliar *dbbpy* en cantidad estequiométrica dan los complejos **6c-PF₆** y **6d-PF₆** (Esquema 2.1B). Ambas reacciones se llevan a cabo en atmósfera de nitrógeno empleando diclorometano a reflujo para obtener los complejos con un alto grado de pureza.

Finalmente, se llevó a cabo la preparación del derivado $[\text{Ir}(\text{CHO-dfppy})_2(3,3'\text{-H}_2\text{dcbpy})_2]\text{PF}_6$ (**7b-PF₆**) siguiendo un procedimiento similar al empleado para la síntesis del complejo $[\text{Ir}(\text{ppy})_2(4,4'\text{-H}_2\text{dcbpy})_2]\text{PF}_6$, publicado por Armouri, Barviery y col.²⁵⁷ Como puede observarse en el Esquema 2.1B, la reacción estequiométrica entre el precursor de puentes-cloro y la bipyridina en una mezcla de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ genera una suspensión amarilla a la que se añade acetato de sodio para neutralizarla. La adición de una disolución saturada de NH_4PF_6 en metanol induce la precipitación del complejo como una sal de hexafluorofosfato.



Esquema 2.1A: Ruta sintética para la preparación de los complejos con Cl^- como contraión.



Esquema 2.1B: Ruta sintética para la preparación de los complejos con PF_6^- como contraión.

2.2.2 Caracterización

Todos estos productos han sido caracterizados y sus estructuras han sido confirmadas por medio de diferentes técnicas como el análisis elemental, espectrometría de masas de alta resolución y otras técnicas espectroscópicas como Infrarrojo, absorción y resonancia magnética nuclear de ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ y $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$. Además, la completa asignación de las señales de RMN se ha realizado con ayuda de experimentos de correlación bidimensionales $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY, $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ HMBC y $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ HSQC (Figuras del Apéndice A2.1 a A2.18).

En el caso de los complejos mononucleares **6 (b, c y d)-Cl**, **6 (c y d)-PF₆**, **7b-PF₆** y **8c-Cl** los espectros de masas ESI (+) confirman la presencia del pico molecular $[\text{M}]^+$, presentando todos ellos la distribución isotópica esperada en compuestos de Ir(III). Por su parte, los precursores **5c** y **5d** muestran sus picos más intensos (100%) a una m/z de 665 (**5c**, $[\text{Ir}(\text{CHO-dfppy})_2\text{Cl}+\text{H}]^+$) y 702 (**5d**, $[\text{Ir}(\text{COOH-dfppy})_2+\text{Na}+\text{H}_2\text{O}]^+$), picos derivados de la ruptura del dímero de los puentes cloro. Además, con el fin de corroborar la estructura de este último complejo (**5d**), se han realizado el ESI(-) en el que aparece el pico del complejo bimetalico $[\text{M}-1]^-$ con una m/z de 1391 y el MALDI(-) en el que aparece ese mismo pico (4%) y el correspondiente a $[\text{Ir}(\text{COOH-dfppy})_2+\text{Cl}_2]$ (100%).

En los espectros de infrarrojo de todos los derivados aparecen a frecuencias mayores de 3000 cm^{-1} las bandas correspondientes a los modos de vibración $\nu(\text{C-H})$ de los anillos aromáticos a frecuencias mayores de 3000 cm^{-1} . En el caso de los complejos **6** y **8**, estas absorciones están acompañadas de las correspondientes a las $\nu(\text{C-H})$ de las cadenas alifáticas a frecuencias ligeramente por debajo de 3000 cm^{-1} . Tanto en los complejos **6** como en **8**, se aprecia la banda característica de vibración $\text{C}=\text{O}$ (1660 cm^{-1}) y las correspondientes a las unidades N-H de las amidas funcionalizadas en las bipyridinas entre 3350 y 3250 cm^{-1} . En todos los casos, aparecen bandas de vibración debidas a los enlaces C-F de los tres grupos ciclometalados empleados en torno a 1270 cm^{-1} . Además, en los espectros de todos los derivados que tienen hexafluorofosfato como contraión (**6(c,d)-PF₆** y **7b-PF₆**) se observa la banda esperada de alta intensidad a 800 cm^{-1} .

Los espectros de RMN de los complejos binucleares de iridio, **5b** en CDCl_3 y **5c** en D_2O con **4** equivalentes de KOH (Figura A 2.1), muestran, en ambos casos, que los cuatro ligandos ciclometalados presentes en la molécula son químicamente equivalentes, tal y como se espera por la formación de un único isómero (dado que, en estos casos, existe la posibilidad de que se forme el isómero meso o un par racémico). Sin embargo, tal y como se aprecia en la Figura 2.5, en presencia de disolventes con alto potencial coordinante como el DMSO, las señales atribuidas a los grupos ciclometalados se duplican, indicando la ruptura de los puentes de cloro y la formación de los derivados $[\text{Ir}(\text{CHO-dfppy})_2\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (**5c-DMSO**) y $[\text{Ir}(\text{COOH-dfppy})_2\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (**5d-DMSO**), ilustrado en la Figura 2.5 para el primero de ellos. Este comportamiento es más habitual de lo que parece y ha sido estudiado previamente por otros grupos de investigación.

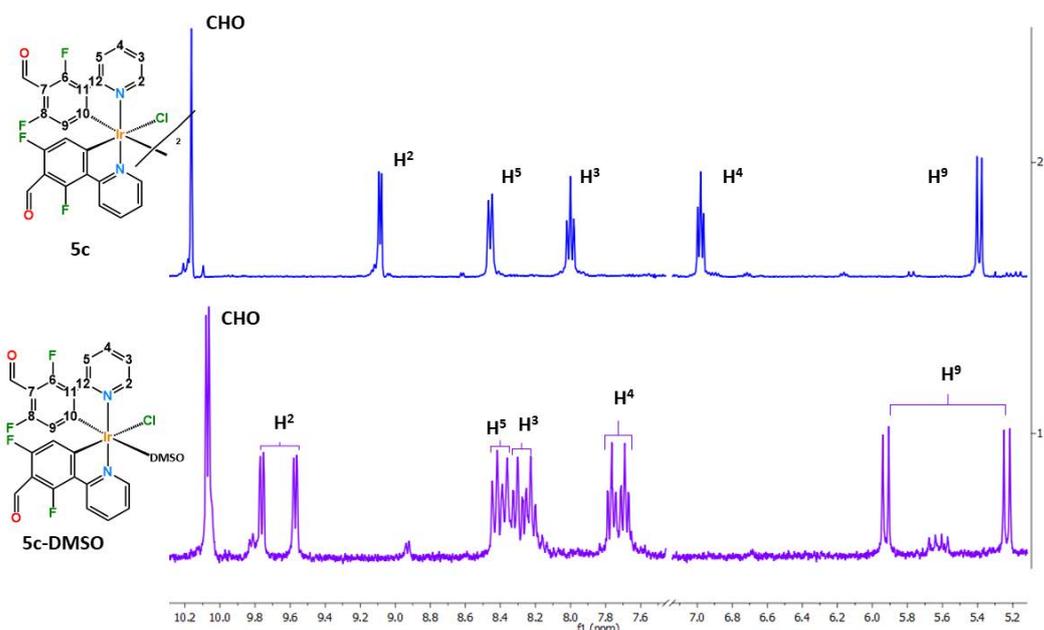


Figura 2.5. Espectros de RMN ^1H del precursor **5c** en acetona- d_6 (azul) y en $\text{DMSO-}d_6$ generándose el derivado monometálico **5c-DMSO**.

Los espectros de RMN de ^1H y $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de los complejos mononucleares [en CDCl_3 para **8c-Cl** y **6(b,c)** (Figura 2.6), en MeOD para **6d-Cl** y acetona- d_6 para **6d-PF₆** y **7b-PF₆**] muestran la presencia de las señales esperadas para una simetría C_2 , correspondiente con la presencia de dos grupos ciclometalados equivalentes y un ligando bipyridina funcionalizado simétrico (ver Parte Experimental). En los derivados **6**, que presentan la *dbbpy*, los protones H^3 que se encuentran próximos a la función amida se ven como singletes, siendo las señales más desapantalladas (~ 10.6 **6b,c-Cl**, 9.2 **6d-Cl**, 10.30 **6c-PF₆**, 9.21 **6d-PF₆**), mientras que el protón del grupo amida (CONH) de estos compuestos aparece como una señal ancha desplazada a campo ligeramente más bajo en el caso de **6-Cl** (9.63 **6b-Cl**, 9.53 **6c-Cl**) que aquellos que tienen PF_6 (9.36 **6c-PF₆**, 8.34 **6d-PF₆**). Este comportamiento puede explicarse por la interacción que se produce entre los protones amídicos y el Cl^- ($\text{CONH}\cdots\text{Cl}\cdots\text{HNCO}$), tal y como se observa por difracción de rayos X de monocristal (ver a continuación). En el caso del compuesto **6d-Cl**, esta señal no se observa, posiblemente debido al efecto que produce el disolvente (MeOD), que puede intercambiarse rápidamente. Por su parte, en el caso del complejo que presenta la bipyridina funcionalizada con oleilamida, el espectro de RMN de ^1H refleja la presencia de las señales atribuidas a la larga cadena alifática, junto con un multiplete que integra por cuatro (~ 5.53 ppm) que se asigna al doble enlace de la cadena.

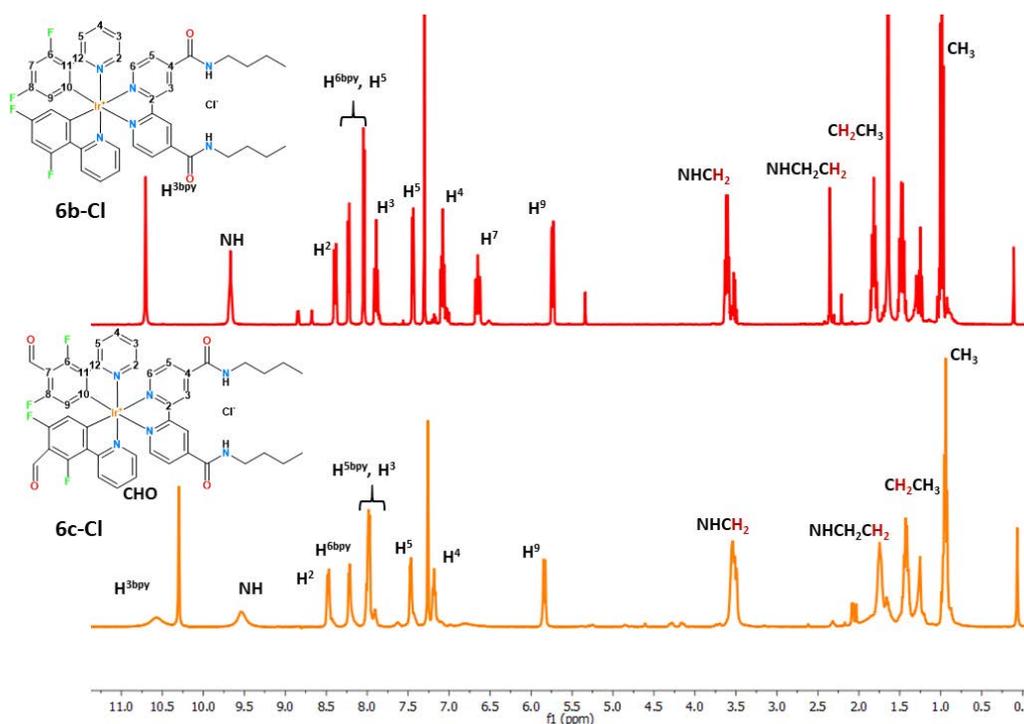


Figura 2.6 Espectros de RMN ^1H en CDCl_3 de los compuestos **6b-Cl** y **6c-Cl**.

Para terminar, los espectros de $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ también confirman la formación de los complejos, mostrando dos dobletes correspondientes a los dos átomos de flúor no equivalentes de cada grupo ciclometalado; así como un doblete más desapantallado en aquellos en los que se utiliza el PF_6 como contraión (Figuras Apéndice A.2.(2, 3, 5, 8, 11, 14, 17)).

Por otro lado, se han conseguido obtener las estructuras tanto del complejo **6b-Cl** como del catión $[\mathbf{6d}]^+$ a partir de los datos obtenidos por difracción de rayos-X de monocristal. Para ello, se obtuvieron monocristales amarillos del compuesto **6b-Cl** mediante difusión de *n*-hexano en una disolución saturada del complejo en CH_2Cl_2 a temperatura ambiente. En el caso de $[\mathbf{6d}]^+$, y a partir de la difusión lenta de *n*-heptano en una disolución saturada del complejo **6d-PF₆** en acetona, se consiguieron obtener unos cristales amarillos que, finalmente, se identificaron como el compuesto **6d-PO₂F₂-acetona** a causa de la hidrólisis parcial del contraión en este medio. Ambos compuestos han cristalizado con el grupo espacial $P2_1/n$ y, como cabe esperar en grupos espaciales centrosimétricos, ambos posibles enantiómeros (Δ y Λ) están presentes en la misma celdilla. Una visión de las estructuras moleculares de las partes catiónicas se recoge en

la Figura 2.7 junto con algunos datos seleccionados de distancias de enlace y ángulos más relevantes (ver tabla A.2.1).

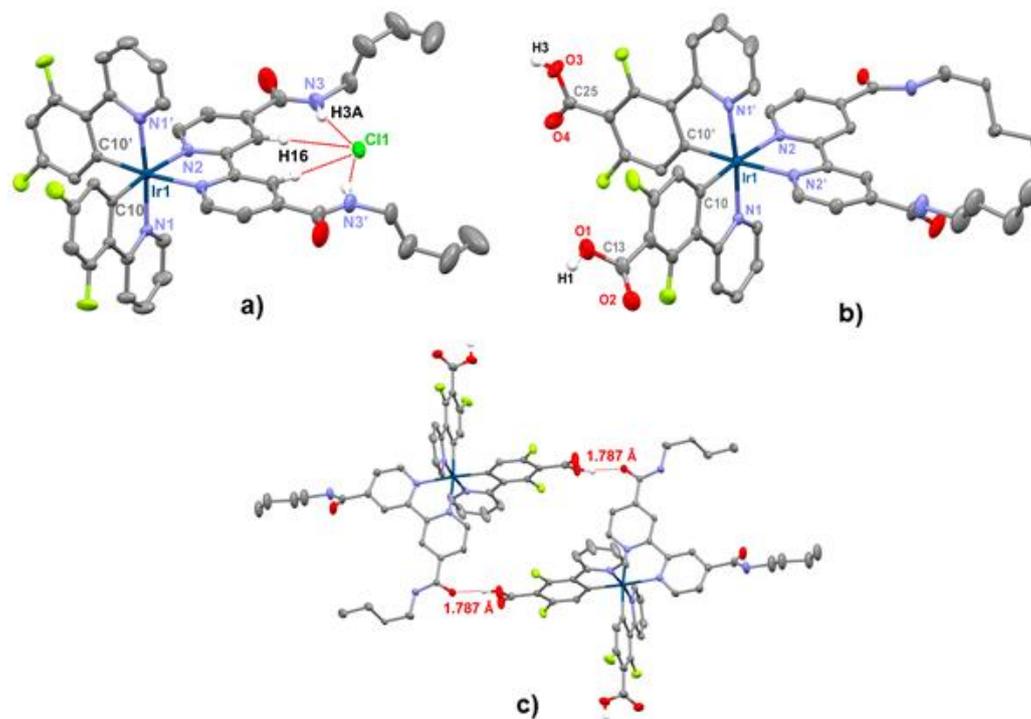


Figura 2.7 a) Estructura molecular del complejo $[\text{Ir}(\text{dfppy})_2(\text{dbbpy})]\text{Cl}$ (**6b-Cl**); b) Estructura del catión $[\text{Ir}(\text{COOH-dfppy})_2(\text{dbbpy})]^+$ (**[6d]⁺**) a partir de la estructura de **6d-PO₂F₂**; y c) Vista del dímero formado por dos cationes de **[6d]⁺** mediante enlaces de hidrógeno entre el grupo carbonilo de la amida y el grupo carboxílico de un ligando ciclometalado. Distancias de enlace seleccionadas (Å) y ángulos (°); **6b-Cl**: Ir(1)-C(10) 2.008(2), Ir(1)-N(1) 2.049(2), Ir(1)-N(2) 2.125(2), Cl(1)···H(16) 2.601(1), Cl(1)···H(3A) 2.458(1). N(1)-Ir(1)-C(10) 80.46(8), N(1)-Ir(1)-C(10') 95.74(8), N(2)-Ir(1)-N(2') 77.3(1), N(1)-Ir(1)-N(1') 174.63(9). **[6d]⁺**: Ir(1)-C(10) 2.009(4), Ir(1)-N(1) 2.042(3), Ir(1)-N(2) 2.131(3). N(1)-Ir(1)-C(10) 80.5(1), N(1')-Ir(1)-C(10) 97.3(1), N(2)-Ir(1)-N(2') 76.7(1), N(1)-Ir(1)-N(1') 174.6(1).

Ambos compuestos catiónicos presentan el característico entorno octaédrico de los derivados de Ir(III), además de la disposición *cis* de los carbonos metalados y *trans* de los nitrógenos correspondientes de los grupos *dfppy* y *CHO-dfppy*. Tal y como se ha visto en la bibliografía, los datos obtenidos son comparables, tanto en las distancias como en los ángulos de enlace, con los observados para complejos estructuralmente similares y con los resultados obtenidos mediante cálculos teóricos (Tabla A.2.2(A y B)).^{232a, 259} En ambos casos, las distancias Ir-C se encuentran comprendidas dentro de los valores

esperados (~ 2.01 Å). En cuanto a las distancias de enlace Ir-N, se observan diferencias entre las que pertenecen al ligando auxiliar *dbbpy* (Ir-N2 ~ 2.13 Å) frente a los valores más cortos de las de los ligandos ciclometalados C[^]N (Ir-N1 ~ 2.05 Å); lo que está de acuerdo con la fuerte influencia *trans* del átomo de carbono metalado. Es destacable también que tanto los ángulos C-Ir-N_(C[^]N) (80°) como N-Ir-N_(C[^]N) (174.5°) son similares a los que presentan complejos estructuralmente parecidos. El análisis de las interacciones de estos compuestos muestra la existencia de enlaces de hidrógeno en ambos casos. En el complejo **6b-Cl** se observan interacciones cortas entre el Cl⁻ que hace de contraión y el par de grupos carboxamida (CONH) (Cl⁻...H₃-N $2.458(3)$ Å). Este Cl⁻ también presenta distancias muy cortas con los hidrógenos adyacentes al grupo carboxamida de los anillos piridínicos (Cl⁻...H-C(16) $2.601(1)$ Å). Estas distancias, más cortas que las atribuidas a la suma de los radios de van der Waals (2.95 Å), son comparables con las observadas para otros complejos similares,^{24, 251a, 260} lo que apoya la teoría de la formación de un par iónico en el que el Cl⁻ actúa como aceptor de cuatro átomos de hidrógeno dadores del ligando quelatado *dbbpy*. Este hecho es muy relevante dado que puede afectar a las propiedades ópticas del compuesto debido a las modificaciones en la naturaleza electrónica de los ligandos. Por su parte, los datos obtenidos a partir de los cristales de **6d-PO₂F₂** indican que las unidades catiónicas forman dímeros a través de enlaces de hidrógeno cortos (O...H 1.79 Å) entre el carbonilo de una de las cadenas con la carboxamida y el grupo carboxílico del ligando ciclometalado *COOH-dfppy*. Tanto la distancia O...H como el ángulo O...H-O, de 164.9° , son comparables a los observados en otros sistemas.²⁶¹

Se ha realizado un estudio de las interacciones no covalentes, mediante un análisis NCI, del complejo **6b-Cl**. Para representar las fuerzas atractivas, se ha empleado un código de colores que utiliza el azul para fuerzas muy atractivas y verde para aquellas más moderadas, mientras que los colores rojo y amarillo corresponden a fuerzas repulsivas fuertes y débiles respectivamente. En la Figura 2.8, con la representación del análisis NCI, se aprecian claramente las superficies verdes ubicadas entre los protones NH y CH de la *dbbpy* y el átomo de cloro, lo que apoya la existencia de las interacciones dador-aceptor que se generan entre el anión Cl⁻ y el H-X (X= N, C). Como se puede observar en la Figura 2.8, también aparecen superficies verdes en los ligandos

ciclometalados, que se explican cómo interacciones intramoleculares C-X...(*dfppy*) (X = F, H).

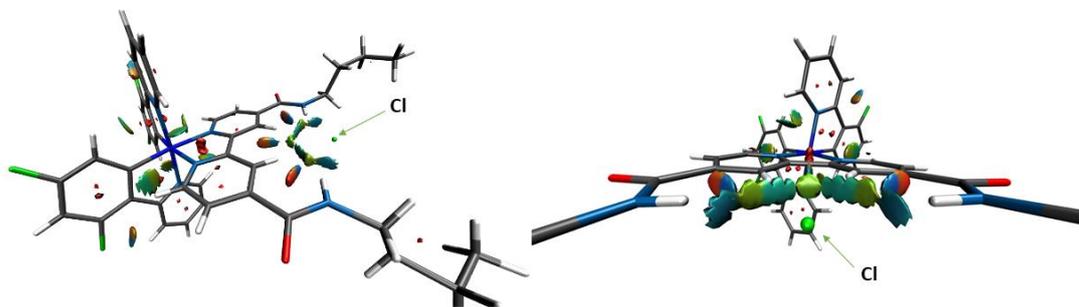


Figura 2.8 Isosuperficies NCI para el compuesto **6b-Cl** generada con $s = 0.3$

2.3 Propiedades fotofísicas y cálculos teóricos

Se ha realizado un estudio tanto de los espectros de absorción como de emisión de esta familia de complejos catiónicos ciclometalados heterolépticos de Ir(III). Además, con el fin de explicar y asignar de manera más exacta la naturaleza de las propiedades ópticas, se han realizado cálculos teóricos DFT y TD-DFT. Para ello, se ha empleado el funcional B3LYP con la base LanL2DZ para el átomo más pesado de iridio y la base 6-31G** para los átomos de los ligandos. En los casos de los complejos **6c-Cl** y el catión [**6d**]⁺, los resultados obtenidos son comparables con las distancias de enlace y ángulos obtenidos de forma experimental a partir de difracción de rayos-X (Tablas A2.2A y B).

2.3.1 Espectros de absorción

Se han medido los espectros de UV-Visible de todos los compuestos en dimetilsulfóxido 5×10^{-5} M (Figura 2.9). Todos estos datos se recogen en la Tabla 2.1. Para los compuestos con Cl⁻ como contraión (**6-Cl** y **8-Cl**), también se ha realizado un estudio sobre la influencia que tiene el disolvente sobre sus propiedades de absorción.

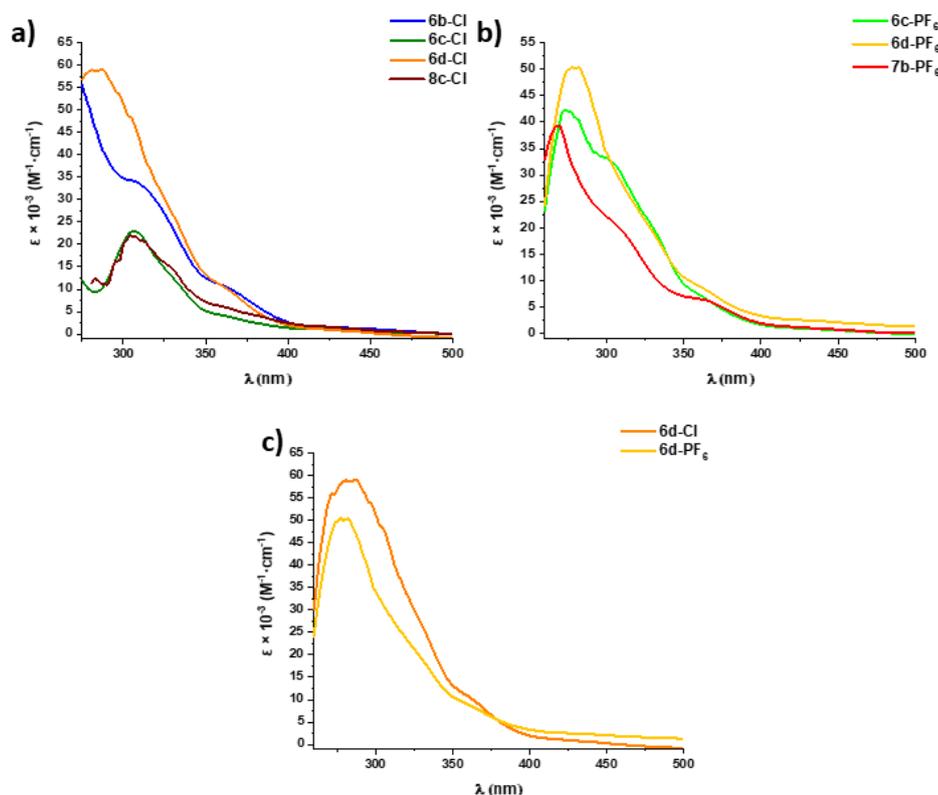


Figura 2.9. Espectros de absorción UV-Visible de a) compuestos **6(b,c,d)** y **8c** con Cl⁻ como contraión, b) compuestos **6(c,d)** y **7b** con PF₆⁻ como contraión y c) compuestos **6d(Cl y PF₆)**. Medidos en disolución de DMSO 5×10^{-5} M.

Tabla 2.1. Datos de absorción UV-visible de los compuestos de Ir(III) en disolución 5×10^{-5} M.

Compuesto	$\lambda_{\text{abs}}/ \text{nm}$ ($\epsilon \times 10^{-3}/ \text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) DMSO
5c-DMSO	293 (29.96), 333 (9.72), 366 (5.58) <i>DMSO</i>
5d-DMSO	277 (60.2), 292 (52.4), 365 (9.6) <i>DMSO</i>
	273 (62.6), 310 (33.8), 368 (9.5), 447 (1.3), 469 (0.7) <i>DMSO</i>
6b-Cl	262 (67.9), 306 (29.9), 365 (9.9), 444 (1.3), 467 (0.8) <i>THF</i>
	287 (56.9), 308 (47.8), 363 (12.3), 432 (2.8), 463 (1.6)
	328 (13.7), 358 (4.4), 421 (1.1) <i>Tolueno</i>
	306 (23.8), 328 (13.7), 358 (4.4), 421 (1.1) <i>DMSO</i>
6c-Cl	293 (40.0), 300 (37.6), 331 _h (17.6), 359 _h (7.2), 429 (0.8) <i>THF</i>
	287 (14.3), 336 _h (3.9), 361(1.8), 387 (0.7) <i>Tolueno</i>
6c-PF₆	276 (43.2), 305 (32.5), 332 (19.4), 358 (7.8), 421 (1.0) <i>DMSO</i>
	269 (54.2), 284 (60.4), 300 (52.4), 365 (9.6), 409 (1.4) <i>DMSO</i>
6d-Cl	240 (51.3), 258 (57.2), 305 (24.3), 333 (14.2), 364 (5.2) <i>THF</i>
	249 (22.2), 270 (17.2), 311 (8.6), 358 (3.0) <i>H₂O</i>
6d-PF₆	281 (51.4), 300 (34.2), 363 (8.6), 431 (2.4) <i>DMSO</i>
7b-PF₆	265(41.8), 305 _h (20.94), 361 (6.48), 450 (0.93) <i>DMSO</i>
	304 (21.80), 365 (5.64), 431 (1.48) <i>DMSO</i>
8c-Cl	295 (49.88), 425 (2.58) <i>THF</i>
	287 (45.24), 295 (40.0), 357 (10.0), 383 (5.20) <i>Tolueno</i>

Como se puede apreciar en la Figura 2.9, todos los derivados muestran un espectro de absorción muy similar. Así, en todos estos compuestos se observan bandas de elevada intensidad en la zona de alta energía (< 350 nm). De acuerdo con los cálculos teóricos realizados sobre los compuestos de la familia **6-Cl** (Tabla A2.4), estas absorciones se adscriben a transiciones permitidas por espín $\pi - \pi^*$ de los ligandos (${}^1\text{IL}$; $\text{L} \text{ C}^{\wedge}\text{N}$, $\text{L}' \text{ dbppy}$) junto con cierta contribución de transiciones del metal al ligando (${}^1\text{MLCT}$ y ${}^1\text{ML}'\text{CT}$). Todos los complejos mononucleares (**6**, **7** y **8**) presentan bandas de moderada intensidad en torno a 365 nm, que puede explicarse, de acuerdo con los cálculos de los compuestos **6** y **7** (Tabla del Apéndice A.2.3 y Figura A.19), a la intensa transición S_3 que va desde el H-1 al LUMO. En estos compuestos, el H-1 se localiza,

principalmente, en los grupos ciclotmetalados (91-92%) y el Ir (7%), mientras que el LUMO reside en el ligando auxiliar *dbbpy*. Por lo tanto, esta absorción se atribuye a una mezcla de transiciones, permitidas por el espín, de transferencia de carga ligando-ligando (${}^1LL'CT$) del orbital π ($C^{\wedge}N$) al π^* (*dbbpy*) y metal-ligando (${}^1ML'CT$, $d(Ir) \rightarrow \pi^*$ (*dbbpy*)).

Como ya se ha explicado, la presencia del átomo pesado de Ir genera un fuerte acoplamiento espín-órbita (SOC), lo que posibilita que aparezcan absorciones débiles en zonas de muy baja energía (447 **6b-Cl**, 421 **6c-Cl**, 409 nm **6d-Cl**) asociadas a transiciones prohibidas singlete-triplete HOMO \rightarrow LUMO de carácter ${}^3ML'CT/{}^3LL'CT$. Si comparamos los espectros de los compuestos **6b-Cl**, **6c-Cl** y **6d-Cl**, se puede observar un ligero desplazamiento hipsocrómico al funcionalizar el grupo ciclotmetalado con grupos aldehído y ácido. Este hecho se refleja también en los cálculos teóricos realizados (S_i , calc. 472 **6b-Cl**, 427 **6c-Cl**; 410 nm **6d-Cl**) y puede atribuirse a la estabilización del HOMO debido a la presencia de los sustituyentes CHO y COOH, que retiran densidad electrónica (Figura 2.10). Este efecto se ve más pronunciado en caso del complejo **7b-PF₆**, que tiene como ligando auxiliar una biperidina con dos ácidos carboxílicos (3,3'*H₂dcbpy*). En este caso, la banda de baja energía que aparece a 450 nm y cuya cola se extiende hasta los 500 nm presenta también un carácter $ML'CT/LL'CT$ de acuerdo con los cálculos teóricos (Ver Apéndice).

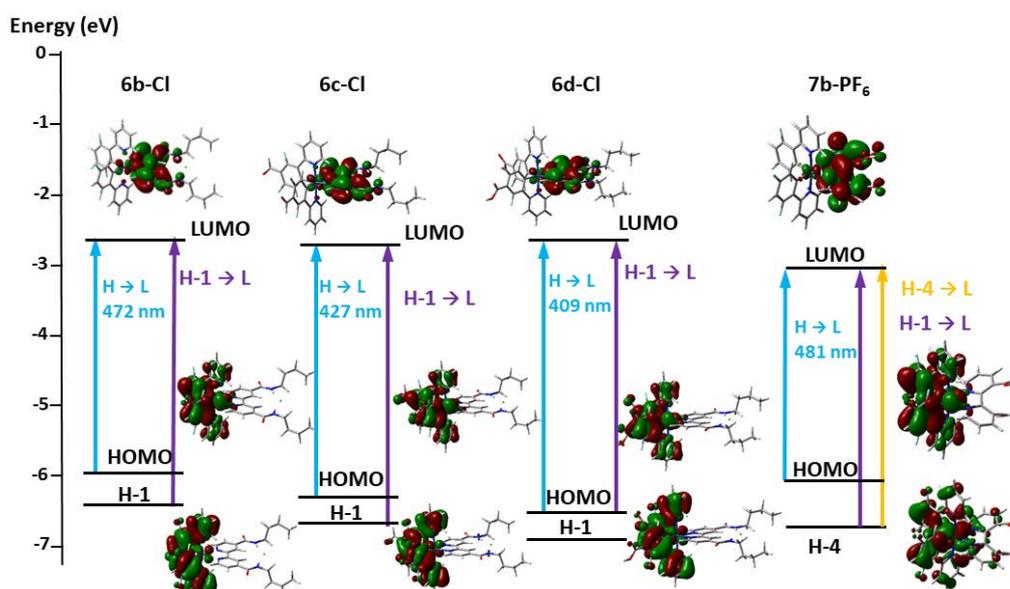


Figura 2.10. Representación esquemática de los orbitales moleculares y transiciones implicadas en las absorciones de los compuestos **6b-Cl**, **6c-Cl**, **6d-Cl** y **7b-PF₆**.

El estudio realizado sobre el efecto que tiene la polaridad del disolvente en los espectros de absorción se ha llevado a cabo para los compuestos **6-Cl**. Para ello, se han empleado THF, DMSO y tolueno, y en caso del compuesto **6d-Cl**, H₂O. Como se muestra en la Figura 2.11 y en la Tabla 2.1, el efecto de la polaridad del disolvente no genera cambios significativos en los máximos de las bandas de absorción.

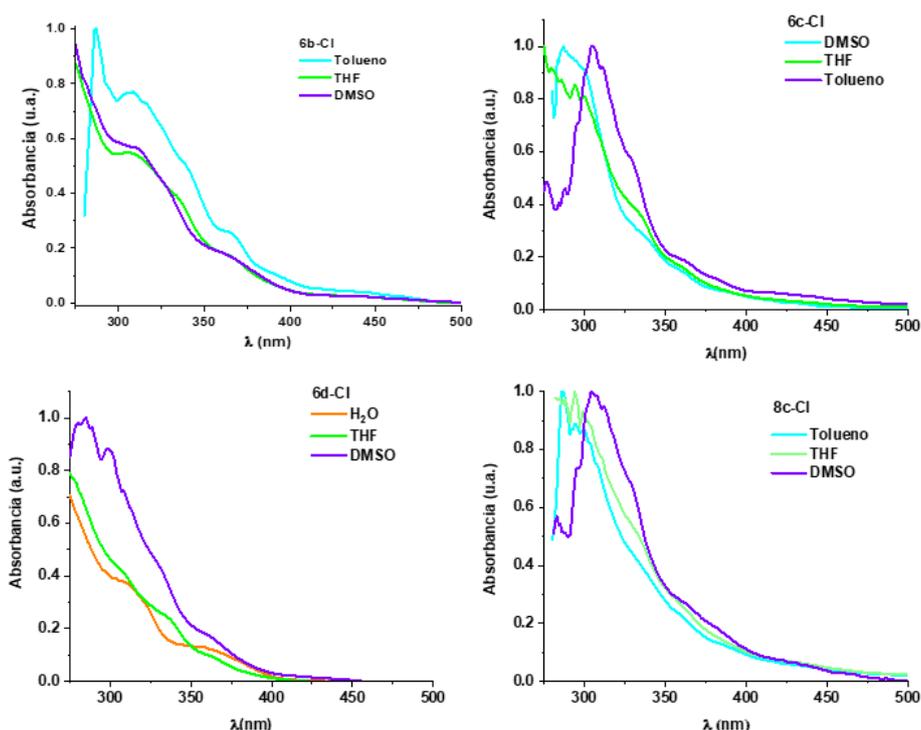


Figura 2.11. Espectros de absorción UV-Visible en distintos disolventes (5×10^{-5} M) de los compuestos **6b-Cl**, **6c-Cl**, **6d-Cl**, y **8c-Cl**.

2.3.2 Espectros de emisión

Se han estudiado los espectros de emisión en disolución y en estado sólido de los compuestos **5d**, **6**, **7** y **8**. En la Figura 2.12 aparecen representados los espectros de emisión del precursor **5d** en estado sólido y en DMSO, medio en el que se disocia (Figura 2.12a). Tanto los compuestos **6** y **7b-PF₆** como el derivado con la oleilamida (**8c-Cl**) son altamente emisivos en estado sólido (Figura 2.12b) y en disolución (Figura 2.12c), con emisiones que van desde el amarillo hasta el naranja. Todos estos datos se reflejan a su vez en la Tabla 2.2.

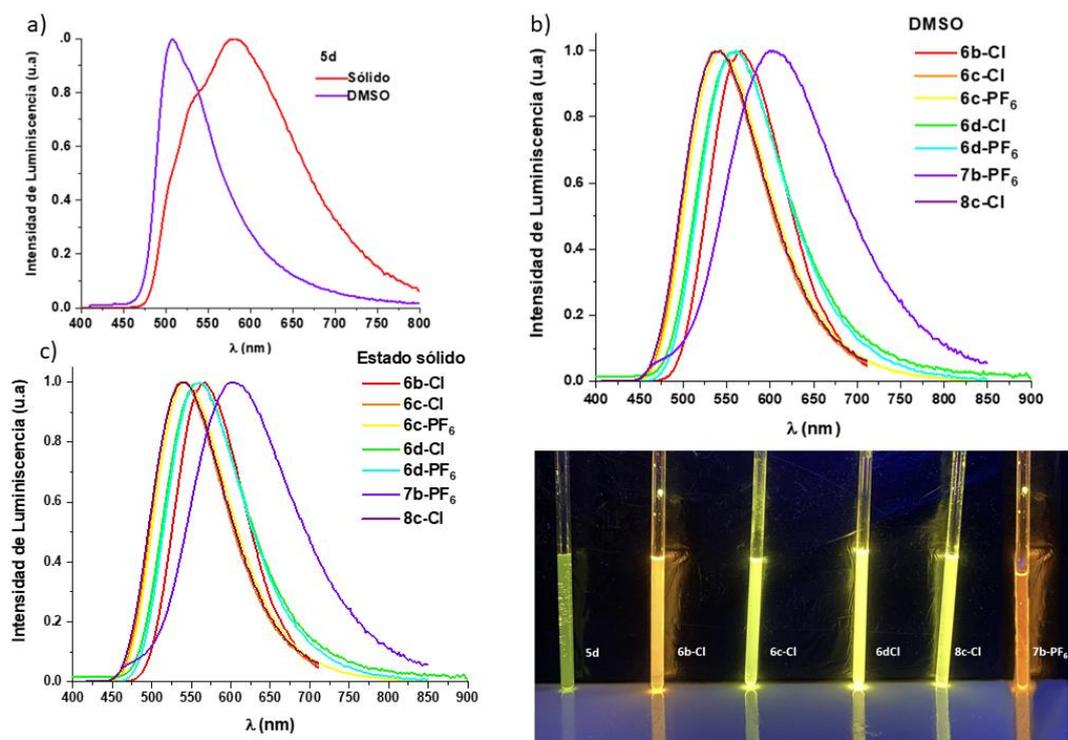


Figura 2.12. Espectros de emisión normalizados a) del precursor **5d** en estado sólido y disolución de DMSO 5×10^{-4} M; y de los compuestos **6**, **7** y **8** b) en disolución de DMSO 5×10^{-4} M y c) en estado sólido.

Como se observa en la Figura 2.12a, el precursor **5d** es altamente soluble en disolución de DMSO; sin embargo, la emisión que se observa en ese espectro se debe a la del derivado **5d-DMSO**, tal y como reflejan los espectros de RMN realizados sobre este compuesto en DMSO- d_6 . Este compuesto, presenta en disolución de DMSO, una banda ligeramente estructurada con un máximo de emisión a 511 nm, que se atribuye a transiciones de carácter 3LC con cierta contribución 3MLCT . En estado sólido, la emisión del compuesto **5d** presenta un desplazamiento batocrómico a 580 nm en relación a la emisión en disolución. Este hecho indica que la emisión puede ser debida a la agregación molecular del precursor en medios rígidos a través de apilamiento de los ligandos ciclometalados mediante interacciones $\pi \cdots \pi$.

Tal y como se observa en las Figuras 2.12b,c, los complejos **6(Cl y PF₆)** y **8c-Cl**, son altamente emisivos en DMSO y en sólido, exhibiendo todos ellos unas propiedades fotofísicas muy similares. Todos los compuestos presentan bandas anchas no estructuradas que se encuentran en el rango de 540 a 565 nm, en los que la influencia que

genera el contraión es insignificante. Esto se debe posiblemente a la facilidad que presentan los enlaces de hidrógeno formados con el anión de Cl⁻ de romperse en los complejos **6-Cl** y **8-Cl**. Tal y como reflejan los cálculos teóricos realizados de los compuestos **6-Cl** y **7-PF₆**, y algunas publicaciones anteriores,^{24, 251b, 262} estas emisiones se atribuyen a una combinación de estados excitados ³ML'CT(Ir→N[^]N)/³LL'CT (C[^]N→N[^]N), en las que el carácter predominante es el ML'CT. Los rendimientos cuánticos de fotoluminiscencia (ϕ , PLQYs de sus siglas en inglés *photoluminescence quantum yields*) en disoluciones desoxigenadas son relativamente altas (del 44.6% para **6c-PF₆** al 54.1% para **6d-PF₆**), con tiempos de vida que van desde los 0.4 a 0.81 μ s. Estos resultados, cambian drásticamente al compararlos con los obtenidos de disoluciones "oxigenadas", en las que las intensidades de las emisiones se ven notablemente reducidas, algo que se refleja de manera inequívoca en la reducción de los PLQYs obtenidos, que llega a más de la mitad en relación a los correspondientes de las disoluciones desoxigenadas (de 0.15 ϕ_{ox} a 0.53 ϕ_{desox} en **6b-Cl**).

Por su parte, en el caso del complejo **7b-PF₆**, el desplazamiento al rojo ($\lambda_{max} = 605$ nm) en comparación con el resto de derivados de esta familia, puede atribuirse a la notable estabilización del LUMO, localizado en el ligando auxiliar 3,3'-H₂dc bpy (Figura 2.12b). Esta tendencia afecta tanto al rendimiento cuántico como al decaimiento del tiempo de vida que descienden a un 4.2% y a 0.31 μ s, respectivamente. El reducido rendimiento cuántico de este complejo se refleja en los altos valores de las constantes de k_{nr} y el menor k_r en relación con los complejos **6** y podría explicarse por el fuerte efecto de *quenching* debido a vibraciones causadas por la presencia de dos grupos carboxílicos en la bipyridina. Los tiempos de vida obtenidos para los compuestos **6** (0.54-0.81 μ s) y **7b-PF₆** (0.31 μ s) son considerablemente menores que los del precursor **5d**, lo que puede ser indicativo de la mayor contribución del metal en el estado excitado de estos compuestos mononucleares.

Si comparamos los máximos de emisión de los complejos que presentan el ligando *dbbpy*, observamos que siguen el orden (540 **6c**, 560 **6d**, 565 **6b**), lo que concuerda con la estabilización del HOMO debido a la presencia de sustituyentes CHO y COOH en los grupos ciclometalados. Por su parte, tal y como se ve en la Figura 2.12b, el cambio de la bipyridina *dbbpy* por la *dobpy* no genera ningún cambio en los máximos de emisión,

tiempos de vida o rendimientos cuánticos; lo que indica que el cambio de la amida por la oleilamida no parece afectar las propiedades emisivas de dichos compuestos.

Tabla 2.2 Datos de emisiones experimentales en estado sólido y en disolución (5×10^{-4} M). Constantes radiativas (K_r) y no radiativas (K_{nr}) calculadas a temperatura ambiente.

Compuesto	Medio	$\lambda_{em}/$ nm ^a	τ/μ s	ϕ oxigenada/ desoxigenada	K_r	K_{nr}
5d	Sólido	580	5.1 ^{b)}	0.005	$9.8 \cdot 10^2$	$1.9 \cdot 10^5$
	DMSO	511	10.1	- / 0.01	$1.5 \cdot 10^3$	$9.7 \cdot 10^4$
6b-Cl	Sólido	533	0.44 ^{b)}	0.42	$9.6 \cdot 10^5$	$1.3 \cdot 10^6$
	Tolueno	495	0.90 ^{b)}	- / 0.74	$8.2 \cdot 10^5$	$2.9 \cdot 10^5$
	THF	520	0.85 ^{b)}	- / 0.70	$8.1 \cdot 10^5$	$3.6 \cdot 10^5$
	DMSO	568	0.81 ^{b)}	0.15 / 0.53	$6.6 \cdot 10^5$	$5.7 \cdot 10^5$
6c-Cl	Sólido	582	0.32	0.00	$1.3 \cdot 10^4$	$3.1 \cdot 10^6$
	Tolueno	503	0.64	- / 0.23	$3.6 \cdot 10^5$	$1.2 \cdot 10^6$
	THF	507	0.70	- / 0.28	$4.0 \cdot 10^5$	$1.0 \cdot 10^6$
	DMSO	540	0.55	0.35 / 0.51	$9.3 \cdot 10^5$	$8.9 \cdot 10^5$
6c-PF ₆	Sólido	510, 585 _h	0.40	0.03	$7.8 \cdot 10^4$	$2.4 \cdot 10^6$
	DMSO	542	0.58	0.21 / 0.45	$7.7 \cdot 10^5$	$9.6 \cdot 10^5$
6d-Cl	Sólido	530	0.47	0.21	$4.4 \cdot 10^5$	$1.7 \cdot 10^6$
	H ₂ O	615	0.06	- / 0.03	$5.6 \cdot 10^5$	$1.7 \cdot 10^7$
	THF	517	0.81	- / 0.15	$1.8 \cdot 10^5$	$1.0 \cdot 10^6$
	DMSO	558	0.54	- / 0.54	$1.0 \cdot 10^6$	$8.5 \cdot 10^5$
6d-PF ₆	Sólido	595	0.62	0.03	$5.5 \cdot 10^4$	$1.6 \cdot 10^6$
	DMSO	558	0.73	0.25 / 0.54	$7.4 \cdot 10^5$	$6.3 \cdot 10^5$
7b-PF ₆	Sólido	595	0.58	0.03	$5.7 \cdot 10^4$	$1.7 \cdot 10^6$
	DMSO	605	0.31	0.02 / 0.04	$1.4 \cdot 10^5$	$3.1 \cdot 10^6$
8c-Cl	Sólido	594	0.30	0.22	$7.5 \cdot 10^3$	$3.4 \cdot 10^6$
	Tolueno	507	0.46	10.63	$2.3 \cdot 10^5$	$1.9 \cdot 10^6$
	THF	509	0.51	11.64	$2.3 \cdot 10^5$	$1.7 \cdot 10^6$
	DMSO	540	0.56	- / 22	$3.9 \cdot 10^5$	$1.4 \cdot 10^6$

^{a)} Datos medidos excitando a una λ en el rango de 365 – 400 nm, ^{b)} Tiempos de vida de las emisiones calculados como una media de un decaimiento bi-exponencial.

De manera representativa, se han elegido los compuestos que contienen Cl⁻ como contraión, para comprobar el posible efecto solvatocrómico que genera el cambio en la polaridad del disolvente en sus propiedades emisivas; un comportamiento muy común en complejos de este tipo (Figura 2.13 y Tabla 2.2). En estos compuestos, la banda de emisión sufre un desplazamiento hipsocrómico al disminuir la polaridad del disolvente

empleado (**6b-Cl** 565 DMSO, 520 THF y 495 nm Tolueno; **6c-Cl** 540 DMSO, 507 THF y 503 nm Tolueno; **6d-Cl** 615 H₂O, 540 DMSO, 517 nm THF; **8c-Cl** 540 DMSO, 509 THF y 507 nm Tolueno). El efecto solvatocrómico positivo observado indica que el estado excitado es más polar que el estado fundamental, confirmando el carácter de transferencia de carga del estado excitado. En línea con estos resultados, en el compuesto **6b-Cl**, tanto los tiempos de vida como los PLQYs sufren una disminución al bajar el carácter polar del disolvente. Este hecho se hace más evidente en el caso del compuesto **6d-Cl** que presenta el ligando ciclotmetalado COOH-dfppy. La presencia de este ligando incrementa su solubilidad en H₂O, medio en el que el PLQY cae al 3.1% con tiempos de vida de 0.06 μ s. Esto puede explicarse por el intercambio de protones entre los grupos carboxílicos y el H₂O, lo que puede generar desactivaciones, tal y como lo refleja su constante no radiativas k_{nr} ($1.7 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$).

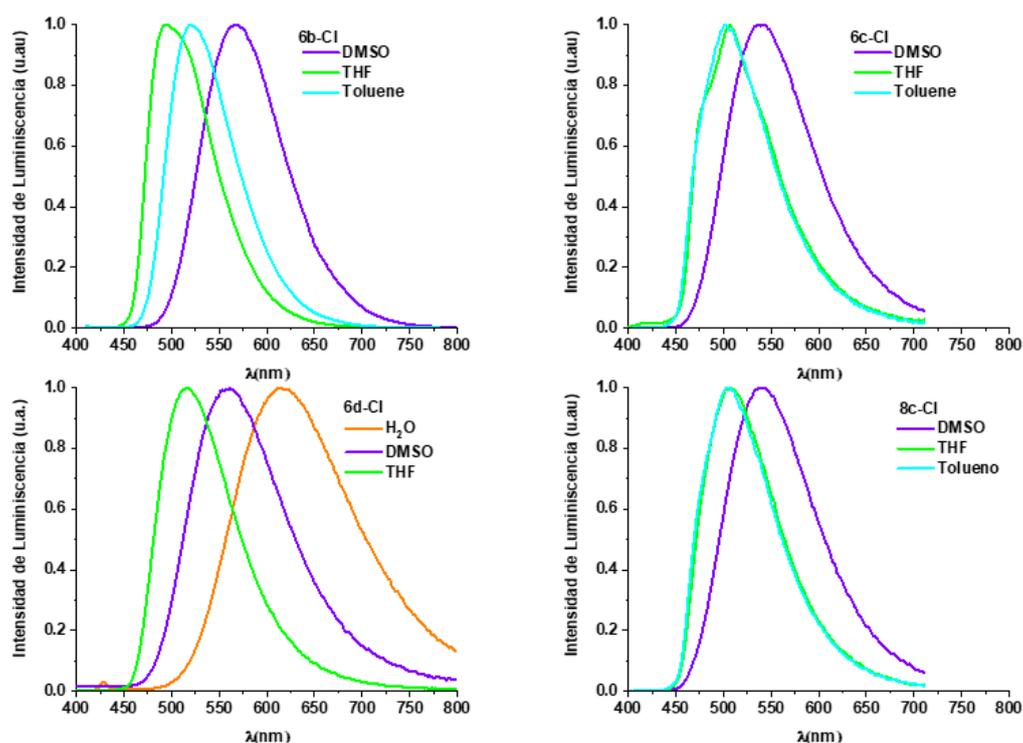


Figura 2.13. Espectros de emisión normalizados de a) **6b-Cl**, b) **6c-Cl**, c) **6d-Cl**, d) **8c-Cl** en estado sólido y disoluciones 5×10^{-4} M.

Con el objetivo de profundizar detalladamente en las propiedades del estado excitado, para los compuestos **6(b-d)** y **7b-PF₆** se ha realizado la optimización de las geometrías de los estados triplete T₁, empleando las geometrías S₀ para su cálculo y la

aproximación con el funcional híbrido B3LYP. En la Figura 2.14 se muestran las estructuras optimizadas del estado excitado de los orbitales moleculares semiocupados de mayor energía (HSOMOs del inglés *highest energy singly occupied molecular orbitals*) y de los orbitales moleculares semiocupados de más baja energía (LSOMOs, del inglés *lowest energy singly occupied molecular orbitals*), además de la representación de la distribución de la densidad de espín de todos estos compuestos (Tabla A.2.5). En todos los casos, el SOMO-1 se concentra en el centro metálico de Ir y los grupos ciclometalados, mientras que el SOMO se localiza en su mayoría en la bipyridina. Por su parte, la representación de las distribuciones de densidad de espín refleja que estas densidades se localizan sobre los ligandos auxiliares. Por todo ello, en estos casos las emisiones se atribuyen a una mezcla de transiciones de transferencia de carga ML'CT del iridio a la bipyridina y LL'CT del ligando ciclometalado a la bipyridina. Tal y como se refleja en la Tabla 2.3, las longitudes de onda de emisión experimentales concuerdan con las obtenidas en los cálculos (a partir de la diferencia energética entre los estados T₁ optimizado y la geometría T₁ en el estado S₀ en DMSO). Además, como se refleja en la Figura 2.14, el ligero desplazamiento hipsocrómico que se genera al introducir los sustituyentes CHO (**6** y **8 c**) y COOH (**6d**) en los grupos ciclometalados se debe a la estabilización del SOMO-1 en comparación con el obtenido para **6b-Cl**. Por otra parte, la incorporación de grupos carboxílicos en la bipyridina genera un desplazamiento batocrómico, en concordancia con los datos experimentales.

Tabla 2.3 Energías de emisión (eV) y λ_{em} (nm) calculadas desde el estado triplete y las experimentales en DMSO

Compuesto	λ_{em}/nm^a	Energía ^{a)}	λ_{em}/nm
6b-Cl	568	2.2 eV	556
6c-Cl	542	2.5 eV	494
6d-Cl	558	2.4 eV	510
7b-PF₆	605	1.7 eV	715

^{a)} Datos predichos a partir de cálculos teóricos DFT (B3LYP/LANL2DZ (Ir) 6-31G**) en DMSO a 298 K, mediante la diferencia de energía entre el estado triplete T₁ optimizado y la geometría T₁ en el singlete S₀.

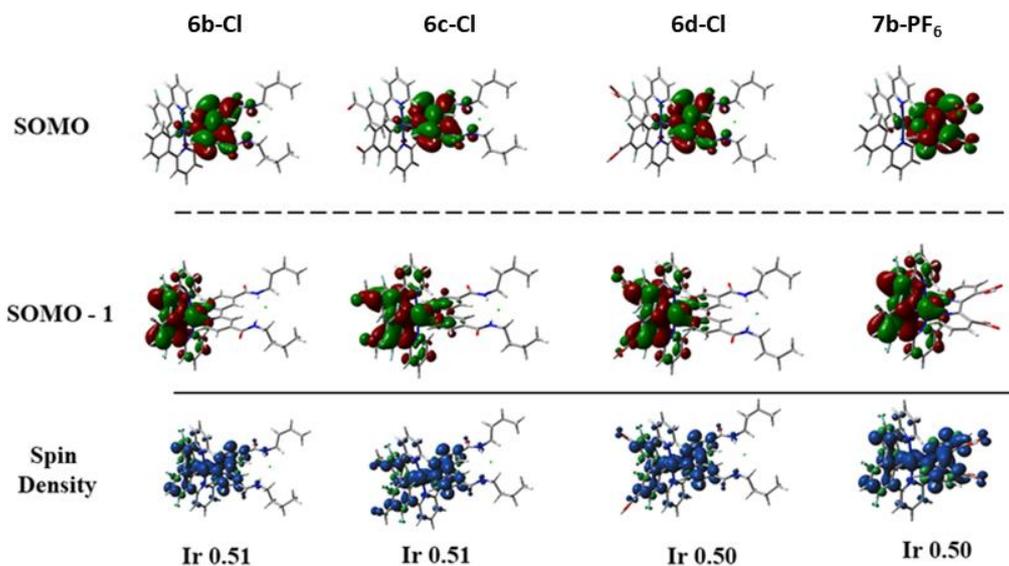


Figura 2.14. Representación de los SOMO, SOMO-1 y la densidad de espín de los compuestos **6** (b,c y d) y **7b-PF₆** en disolución de DMSO.

2.3.3 *Cuantificación del rendimiento cuántico en la generación de ¹O₂*

Uno de los factores más importantes para el incremento de la actividad citotóxica de los complejos que actúan como fotosensibilizadores en terapia fotodinámica es la posible generación de ¹O₂. En este caso, se han elegido los compuestos **6c-PF₆** y **7b-PF₆** como ejemplo para corroborar la tendencia que presentan estos compuestos para generar esta especie reactiva de oxígeno. Como se observa en el espectro de la Figura 2.15, estos compuestos tienen la habilidad de generar oxígeno singlete (¹O₂) en disoluciones de CH₂Cl₂ a temperatura ambiente. La banda que se observa al recoger el espectro de emisión de estos compuestos a 1270 nm se ha conseguido empleando un detector infrarrojo-cercano y una excitación de 425 nm.

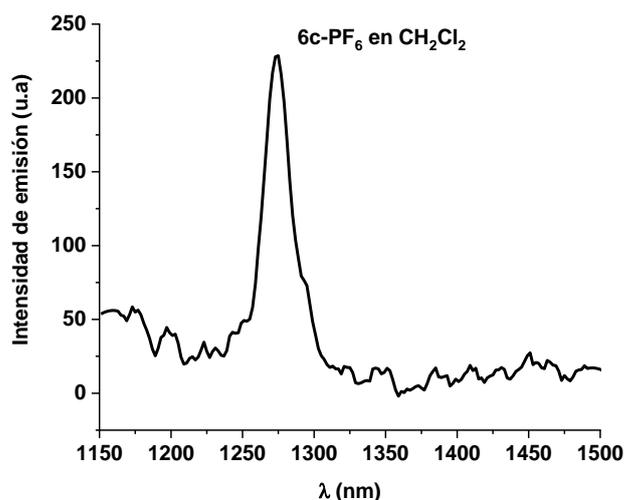
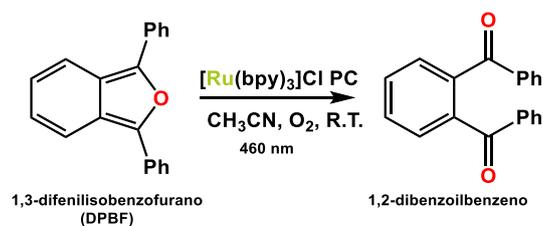


Figura 2.15. Banda de emisión correspondiente al oxígeno singlete en disolución de CH_2Cl_2 del compuesto **6c-PF₆**

Para cuantificar la capacidad de estos compuestos en la generación de $^1\text{O}_2$, hemos usado un método de referencia en el que se emplea la espectroscopia UV-Visible para medir dicha capacidad en disoluciones de los complejos en acetonitrilo (8×10^{-5} M). La generación de ROS se visualiza, en este caso, gracias a un agente capaz de reaccionar con estas especies, el 1,3-difenilisobenzofurano (DPBF). El DPBF reacciona con estas ROS para generar 1,2-benzoilbenceno (Esquema 2.2), lo que reduce la absorción generada a 410 nm debida a la DPBF.²⁶³ Los espectros de UV-Visible de la mezcla de cada compuesto a estudiar junto con la DPBF en acetonitrilo, empleando $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]\text{Cl}$ como referencia ($\phi_{\Delta^5} = 0.56$),²⁶⁴ se midieron exponiéndolas a intervalos de 0.5 segundos de irradiación de luz azul (410 nm) durante un periodo de tiempo de 3 minutos. La representación de la disminución de intensidad en la banda a 410 nm en los espectros frente al tiempo de irradiación se ajusta a una recta, tal y como se observa en las Figuras 2.16(a,b). Ambos compuestos de Ir(III) han demostrado un alto potencial de generación de $^1\text{O}_2$ con valores de ϕ de 0.32 para **6c-PF₆** y 0.15 para **7b-PF₆**, lo que sugiere que pueden ser unos excelentes candidatos para ser empleados como agentes foto-quimioterapéuticos generadores de $^1\text{O}_2$ en medios intracelulares. (Ver experimental para la técnica)



Esquema 2.2. Reacción de ruptura de ciclo de la DPBF en presencia de $^1\text{O}_2$.

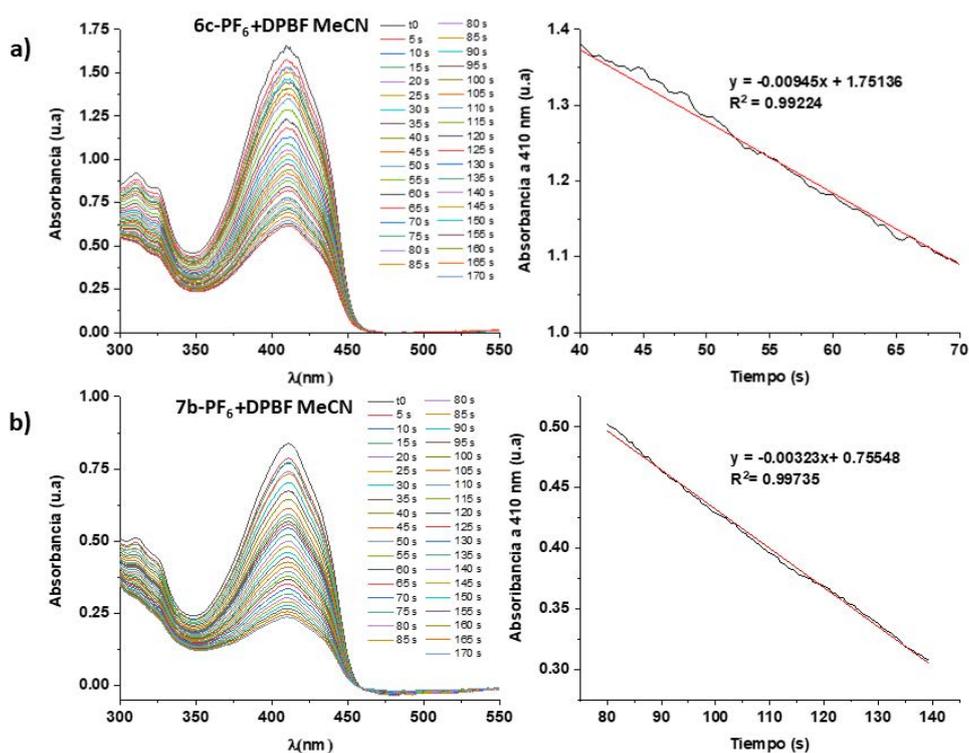


Figura 2.16. Cambios en las medidas de la absorbancia a 410 nm a causa de la reacción de la DPBF con el $^1\text{O}_2$ en disolución de acetonitrilo al irradiar a 460 nm en presencia de a) la referencia $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]\text{Cl}_2$ y **6c-PF₆**, b) la referencia $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]\text{Cl}_2$ y **7b-PF₆**.

2.4 Estudios biológicos

Uno de los principales motivos para la preparación de la familia de compuestos que componen este capítulo es el del estudio de sus propiedades biológicas. Dado que los estudios biológicos que se realizan en este trabajo implican la previa disolución de los compuestos en DMSO, se ha realizado el estudio de la estabilidad de los compuestos **6** y **7b** en este disolvente (DMSO-d₆) mediante RMN de ¹H. Tal y como muestra en la Figura 2.17, para el compuesto **6d-Cl** (y las Figura del Apéndice A.2.20 – A.2.22 para el resto) no se observan cambios en las señales ni en los desplazamientos de las mismas durante un periodo de 72 horas. Este hecho se repite con el resto de compuestos, lo que demuestra que todos ellos permanecen inalterados en este medio durante el tiempo que duran los ensayos biológicos. Además, se observó su estabilidad ante la irradiación durante 10 minutos de luz azul ($\lambda = 396$ nm), tal y como se muestran en la Figura del Apéndice A.2.23. Como en el caso de los compuestos del primer capítulo, se ha medido la actividad citotóxica de todos ellos (**6**, **8** y **7b-PF₆**) *in vitro* frente a dos líneas celulares tumorales humanas y una no tumoral utilizando el método MTS. Considerando la fácil generación de especies reactivas de oxígeno en derivados similares a los que se han preparado para este capítulo, se ha evaluado su potencial como fotosensibilizadores, comparando los resultados de citotoxicidad en ausencia de luz e irradiando con luz azul en los compuestos **6c** (Cl y PF₆), **6d-Cl** y **7b-PF₆**. Con el propósito de profundizar en el mecanismo de acción de estos compuestos, también se han realizado medidas de su interacción con el ADN mediante electroforesis, de su lipofilia y de su localización celular.

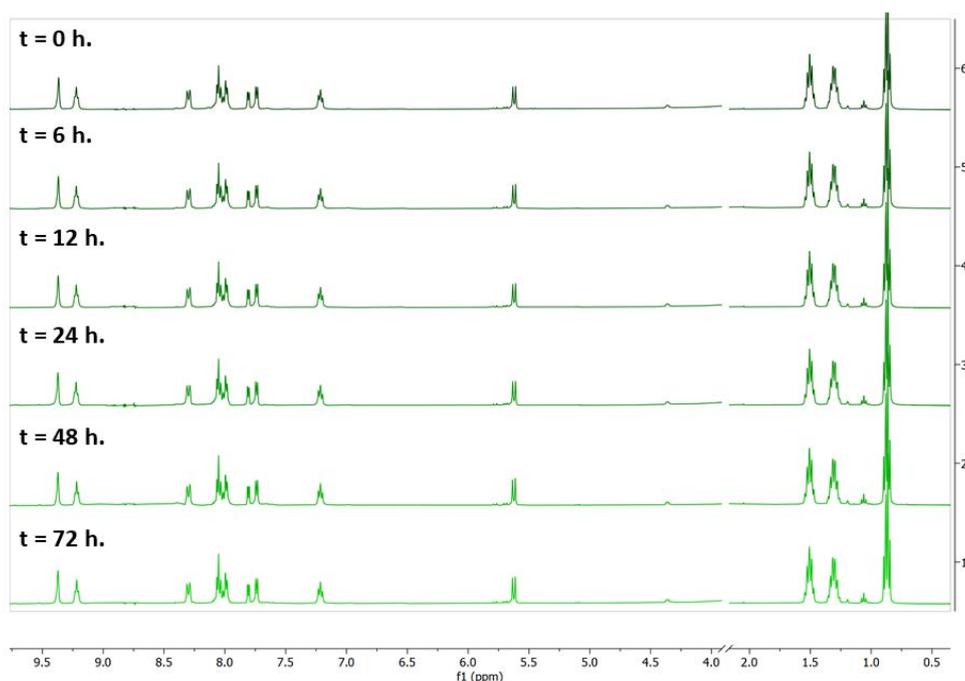


Figura 2.17. Espectros de RMN ^1H del compuesto **6d-Cl** en DMSO-d_6 .

2.4.1 *Actividad citotóxica e índice de selectividad (ensayo MTS)*

Se han determinado las propiedades citotóxicas (IC_{50} , concentración en la que los complejos inhiben la viabilidad de las células al 50%) de los compuestos **6**, **8** y **7b-PF₆**, **PF₆** frente a las líneas celulares cancerígenas A549 (carcinoma de pulmón) y HeLa (carcinoma de cérvix) y no tumoral BEAS-2B (epitelio bronquial) mediante el método de hidrólisis MTS (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium). Este método se ha desarrollado con un periodo de incubación de las células con los compuestos de 72 horas y se ha empleado el cisplatino como referencia. Los datos obtenidos se recogen en la Tabla 2.4 y aparecen representados en la Figura 2.18. las gráficas que se han empleado para dilucidar estos resultados se encuentran en el Apéndice (Figura A2.24) y se han generado mediante el uso del software Graphpad. En primer lugar, se ha realizado un primer estudio de la citotoxicidad de los compuestos en la línea celular A549, estos resultados permitieron descartar del estudio de citotoxicidad a aquellos que presentaban valores de IC_{50} superiores a 100.

Tabla 2.4. Valores de citotoxicidad IC_{50} (μM)^a e Índice de Selectividad de los compuestos **6** (Cl y PF₆) **7b**-PF₆ y **8c**-Cl en las líneas celulares humanas A549, HeLa y BEAS-2B, comparadas con el cisplatino

Compuesto	IC_{50} ^a			SI ^b	
	A549	HeLa	BEAS-2B	A549	HeLa
6b -Cl	3.73 ± 0.76	5.53 ± 0.41	12.32 ± 0.21	3.30	2.23
6c -Cl	>100	---	---	---	---
6c -PF ₆	27.17 ± 1.44	74.6 ± 0.72	51.6 ± 4.71	1.90	0.69
6d -Cl	>100	---	---	---	---
6d -PF ₆	>100	---	---	---	---
7b -PF ₆	32.87 ± 3.01	74.6 ± 0.72	51.6 ± 4.71	0.73	0.47
8c -Cl	>100	---	---	---	---
Cisplatino	6.45 ± 30.47 ^c	13.60 ± 0.99 ^d	1.74 ± 0.16	0.27	0.13

^a valores de IC_{50} se representan como la media ± el error calculado para tres experimentos diferentes. ^b Índice de selectividad (SI): IC_{50} en células no tumorales BEAS-2B/ IC_{50} en células cancerígenas (A549 o HeLa)²⁰² ^c De la referencia.¹³⁴ ^d De la referencia¹⁹⁶

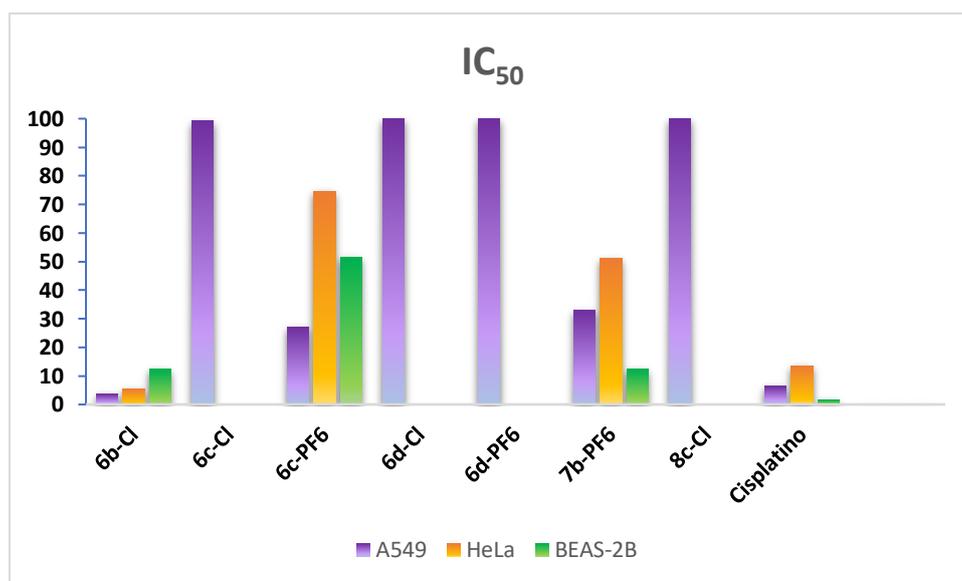


Figura 2.18. Valores de citotoxicidad IC_{50} (μM) de los compuestos **6** (Cl y PF₆) **7b**-PF₆ y **8c**-Cl en las líneas celulares humanas A549, HeLa y BEAS-2B comparadas con el cisplatino.

Para los compuestos **6c**-Cl, **6d**-Cl y **8c**-Cl, los resultados de los IC_{50} fueron superiores a 100 μM en la línea celular A549, por lo que se consideran no tóxicos y se descartó su estudio en el resto de líneas celulares (Figura 2.18). La escasa citotoxicidad de estos compuestos puede atribuirse a su baja solubilidad en el medio biológico que se emplea para realizar este estudio, por esta razón se prepararon los compuestos análogos que presentaban PF₆⁻ como contraión, en lugar de Cl⁻, para comprobar si su cambio

generaba mejoras en los resultados de citotoxicidad de los mismos. De esta manera, los complejos **6-PF₆**, resultaron ser más solubles que sus homólogos **6-Cl**, disolviéndose sin problemas en concentraciones máximas de 100 μM. Al evaluar esta nueva familia, se observó que el valor de IC₅₀ en el caso del complejo **6d-PF₆** fue superior >100 μM en A549, considerándose no tóxico para las células. Sin embargo, sí que se ha observado una mejora destacable en la actividad antiproliferativa al pasar del **6c-Cl** a **6c-PF₆**, consiguiéndose valores de IC₅₀ de 27.17 y 74.60 en células A549 y HeLa, respectivamente, frente a la nula toxicidad de **6c-Cl**. Esta mejora en los resultados de los compuestos con PF₆⁻ frente a los que presentan Cl⁻ como contraión puede atribuirse a las interacciones que se generan entre el anión Cl⁻ y los dos grupos NH de las cadenas de butilamida en la bipyridina del compuesto **6c-Cl**. Esto disminuye su carácter iónico y por tanto su solubilidad, impidiendo de esa manera que penetre en las células de una forma más sencilla. Sin embargo, es muy remarcable que los valores más bajos en los IC₅₀ de esta familia de complejos son los del derivado **6b-Cl**, que presenta una citotoxicidad superior incluso a la obtenida por el cisplatino, tanto en células A549 (3.73 vs 6.45) como HeLa (5.53 vs 13.60) (Tabla 2.4). Estos valores, son similares a los obtenidos por complejos estructuralmente parecidos [Ir(C[^]N)₂(N[^]N)]PF₆ (C[^]N = ppy, dfppy) que presentan como ligando auxiliar la bipyridina funcionalizada dibutil 2,2'-bipiridin-4,4' -dicarboxilato, y tienen valores IC₅₀ contra las líneas HeLa y A549 de 1.7 y 2.3 μM, respectivamente.²⁴¹ Por su parte, el complejo **7b-PF₆** con la diimina funcionalizada con dos grupos ácido carboxílico ha mostrado cierta actividad citotóxica con valores que se asemejan a los de **6c-PF₆** (32.87 y 51.22 en células A549 y HeLa, respectivamente). Por regla general, todos los complejos fueron más activos frente a la línea celular A549 que frente a HeLa, en concordancia con los resultados obtenidos en trabajos anteriormente publicados por este grupo de investigación.^{202b, 263a}

El estudio del índice de selectividad (SI, del inglés *selectivity index*) frente a las líneas tumorales, se ha realizado empleando la línea celular BEAS-2B procedente de epitelio bronquial humano transformadas por un virus como línea celular no tumoral. El valor IC₅₀ del cisplatino en esta línea celular fue de 1.74 μM, es decir, ligeramente más bajo que los obtenidos para las líneas A549 y HeLa, lo que hace que su SI sean inferiores a 1 (0.27 y 0.13, respectivamente) (Tabla 2.4). De acuerdo con los resultados obtenidos

bibliográficamente, los compuestos que presenten los valores de SI inferiores a 2 son considerados tóxicos para las células no tumorales, y por lo tanto su viabilidad para su empleo en clínica queda puesta en entredicho.²⁰⁷ La fiabilidad de este método se confirma a través de la reproducibilidad de los datos de IC₅₀ obtenidos en BEAS-2B y los valores de SI tanto de la línea celular A549 como para HeLa.²⁶⁵ De entre toda la familia de compuestos que integran este capítulo, el que mejores índices de selectividad ha ofrecido es el complejo **6b-Cl** tanto en la línea tumoral A549 (3.30) como en HeLa (2.23). Estos resultados se explican por los bajos resultados en los IC₅₀ en estas células tumorales (3.73 en A549 y 5.53 en HeLa) en relación con los obtenidos en BEAS-2B, en las que el valor IC₅₀ fue de 12.32 μM. Los valores SI para los complejos **6c-PF₆** y **7b-PF₆** fueron 1.90 y 0.73 (A549) y 0.69 y 0.47 (HeLa), respectivamente (Tabla 2.4), lo que implica una reducida selectividad hacia las células cancerígenas. Se han descrito previamente valores de SI bajos (<2) para otros complejos organometálicos con actividades citotóxicas hacia A549, HeLa y otras líneas celulares tumorales,^{202b, 208} incluyendo complejos organometálicos de iridio.^{9d, 225b, 266}

2.4.2 *Citotoxicidad fotoinducida*

Con el fin de ampliar los conocimientos sobre las posibles aplicaciones de estos compuestos en el campo de las terapias contra el cáncer, se ha examinado su potencial como agentes fotosensibilizadores (PS). Como ya se ha expuesto en la introducción de este capítulo, el eficiente cruce intersistémico (S₁ → T₁) que presentan los compuestos ciclotmetalados luminiscentes con estados excitados de tipo triplete y tiempos de vidas medias largas, los hace excelentes candidatos para su empleo como PS generadores de oxígeno singlete.

Así desde los primeros ejemplos de compuestos de Ir(III) (2002)²⁶⁷ o de Pt(II) (2006)²⁶⁸ que presentaron buenos resultados para este comportamiento, son muchos los complejos de Ru(II), Ir(III) y Pt(II) que están siendo investigados activamente, debido a sus excelentes resultados en la terapia del cáncer basada en PDT.^{57b, 57c, 269} De esta manera, la activación selectiva de un PS, no tóxico en condiciones normales, por su irradiación con luz se está convirtiendo en una herramienta terapéutica muy atractiva, sobre todo si el PS es capaz de presentar cierta selectividad por las células cancerígenas.²⁷⁰

Teniendo estos antecedentes en cuenta, y dada la capacidad de estos complejos de iridio para generar $^1\text{O}_2$ al ser irradiados sin sufrir fotodegradación, se ha decidido evaluar su potencial para actuar como PS en fototerapia. Se han elegido los compuestos **6c-Cl** y **6d-Cl** basándonos en su escasa toxicidad en cultivos celulares en condiciones normales (Tabla 2.4). Con el fin de evaluar también el efecto que tiene el cambio en el contraíón en la inducción de la foto-citotoxicidad, se ha elegido también el compuesto **6c-PF₆**. Por último, se ha evaluado también la foto-citotoxicidad del compuesto **7b-PF₆** para comprobar el efecto que tiene colocar los grupos ácido carboxílico en el ligando diimina, en lugar de los grupos ciclometalados (**6d-Cl**). Previamente, se corroboró la fotoestabilidad de todos los compuestos elegidos para estudiar su potencial como PS mediante espectroscopia de RMN, demostrando en todos los casos que permanecían inalterados al estar expuestos durante 10 minutos a luz azul en disolución de DMSO- d_6 .

Una vez comprobada la estabilidad de estos compuestos, se ha procedido a realizar el ensayo de MTS para estudiar su citotoxicidad frente a la línea tumoral A549 a concentraciones seriadas crecientes de los compuestos, exponiéndolas a cortos tiempos de irradiación. (Figura 2.19).

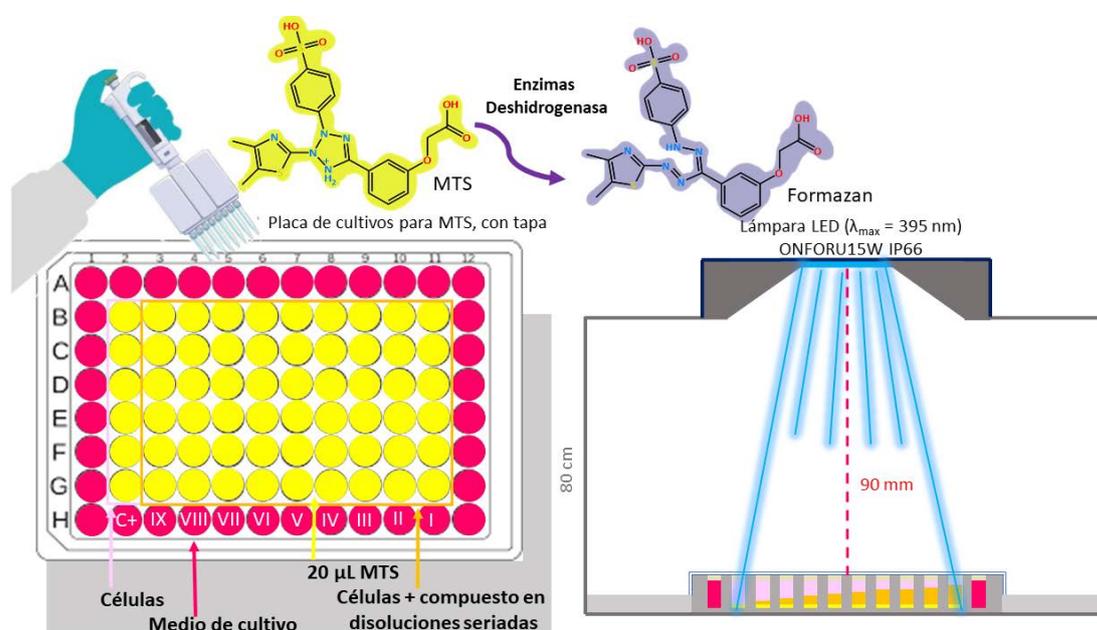


Figura 2.19. Esquema del montaje de la fotocitotoxicidad en las placas de cultivo con células A549.

De esta manera, las células A549 se incubaron inicialmente con cada uno de los complejos, durante una hora a 37°C, en un buffer salino HBSS (del inglés, *Hank's balanced salt solution*). Tal y como se ha estudiado por microscopía confocal, este tiempo es suficiente para asegurar su internalización en las células y, por tanto, su interacción con las mismas. Una vez pasado este tiempo de incubación, se procedió a su irradiación con una lámpara LED de 396 nm situada a 91 mm de distancia, consiguiendo una potencia de 5 Mw·cm⁻². Los tiempos de irradiación empleados, se optimizaron para cada uno de los compuestos: 3 min (**7b-PF₆**), 10 min (**6c-PF₆**) y 15 min (**6c-Cl** y **6d-Cl**) (Ver Apéndice).

Tras la irradiación, se retira el compuesto disuelto en HBSS y se añade un nuevo medio RPMI libre de compuesto, para incubar las células durante un periodo de 72 horas. Finalmente, se evalúa la viabilidad celular (IC₅₀) para cada compuesto mediante un ensayo de MTS. Además, para asegurarnos que tanto el tiempo de exposición de las células a la luz (hasta 30 minutos) como su potencia no daña a las células, se ha realizado una prueba con una placa sin añadir ningún compuesto, observándose que no genera ningún efecto en la viabilidad de las células. Después de realizar diferentes pruebas de tiempos de irradiación para el compuesto **6c-Cl**, se llegó a la conclusión que el tiempo máximo de exposición, para obtener los mejores resultados, sin poner en riesgo la viabilidad celular, fuese de 15 minutos.

Como era de esperar, los resultados obtenidos de IC₅₀ fueron significativamente más bajos que los observados para estos compuestos en oscuridad, medidos en las mismas condiciones. Este hecho refleja la efectividad de estos complejos como fotosensibilizadores. Así, como se muestra en la Figura 2.20, los resultados de citotoxicidad obtenidos tras la irradiación con luz a 396 nm muestran un aumento significativo de la actividad antiproliferativa, que se hace muy destacable para el compuesto **7b-PF₆**, en el que los valores de IC₅₀ bajan de 24.01 µM a 5.63 µM en un tiempo de irradiación de tan solo tres minutos (Figura 2.20).

En el caso de los compuestos **6c-Cl** y **6c-PF₆**, la irradiación durante 15 y 10 minutos respectivamente, también provoca un aumento en la actividad antiproliferativa en ambos compuestos, dando lugar a valores de IC₅₀ de 14.39 para el que contiene Cl⁻ como contraión y 18.57 µM para su homólogo con PF₆⁻. En consonancia con estos

resultados, el compuesto **6d-Cl**, que no era citotóxico en condiciones normales, mostró un moderado efecto fotoinductivo, rebajando su valor de IC_{50} a $55.22 \mu\text{M}$ con tan solo 10 minutos de irradiación. A tales efectos, podemos afirmar que en todos los compuestos se genera un mayor efecto citotóxico al ser expuestos a una fuente de irradiación que en condiciones normales, lo que puede explicarse por la habilidad que presentan de generar moléculas de oxígeno singlete en las células cancerígenas.

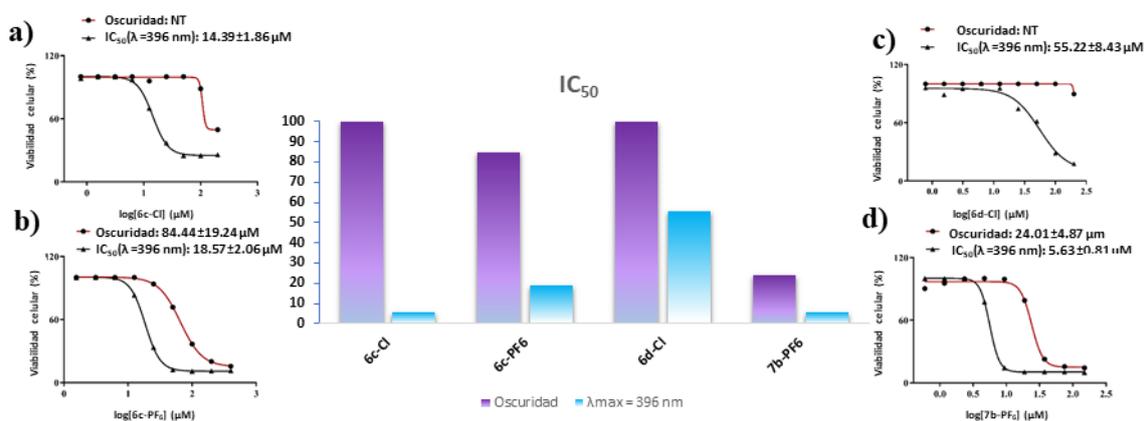


Figura 2.20. Curvas de citotoxicidad para la determinación del IC_{50} representando el logaritmo de la concentración del compuesto frente al porcentaje de supervivencia celular tras 72 horas de incubación (1 hora de ellas con el compuesto). En rojo representadas las gráficas sin irradiación con LED, en negro iluminando con el LED (396 nm). El valor se da a través del software Graphpad. Compuesto a) **6c-Cl**, b) **6c-PF₆**, c) **6d-Cl** y d) **7b-PF₆**.

2.4.3 Estudios de lipofilia relativa

Tal y como se expone en la introducción de este capítulo, una de las propiedades que juega un mayor papel en la actividad de estos compuestos como agentes antiproliferativos es su lipofilia, un aspecto crucial para las propiedades farmacocinéticas de estos compuestos. Existen muchas maneras de cuantificar esta propiedad en los derivados y una de ellas es valorar el carácter hidrófobo de las muestras mediante RP-UPLC (*Reverse-phase Ultra-high performance liquid chromatography*). Para realizarlo, se han disuelto los compuestos en acetonitrilo, en concentraciones aproximadas de 1 ppm y se ha utilizado una fase móvil compuesta de acetonitrilo con un 0.1% de HCOOH (A) y H₂O con un 0.1% de HCOOH (B). La valoración del carácter lipófilo para cada compuesto se realiza a partir de los valores de los tiempos de retención

(tR). Este método se basa en estudiar los valores de los tiempos que tarda cada compuesto en salir de la columna (en este caso una columna con fase estacionaria hidrófoba Aquity UPLC BEH C18). Así, las interacciones relativas que se generan entre la fase estacionaria y la fase móvil hidrófila con cada complejo darán, en cada caso, un valor de tR. Los tiempos de retención elevados se atribuyen a fuertes interacciones, lo que conlleva un mayor carácter lipofílico.^{263a, 271} En esta familia de compuestos de Ir(III) se observa como tendencia que la presencia de sustituyentes en los grupos ciclometalados disminuye notablemente los tR ($H > CHO > COOH$) (Figura 2.21), siendo ambos compuestos con la difluorofenilpiridina como ligando ciclometalado los que presentan tR más elevados **6b-Cl** (tR = 3.28) y **7b-PF₆** (tR = 1.99). Estos resultados concuerdan con el mayor carácter citotóxico del compuesto **6b-Cl** (Tabla 2.4), en relación al del resto de derivados que componen esta familia. En cambio, las diferencias entre los tR del resto de compuestos fueron demasiado pequeñas para asegurar una relación clara entre los resultados y sus actividades citotóxicas.

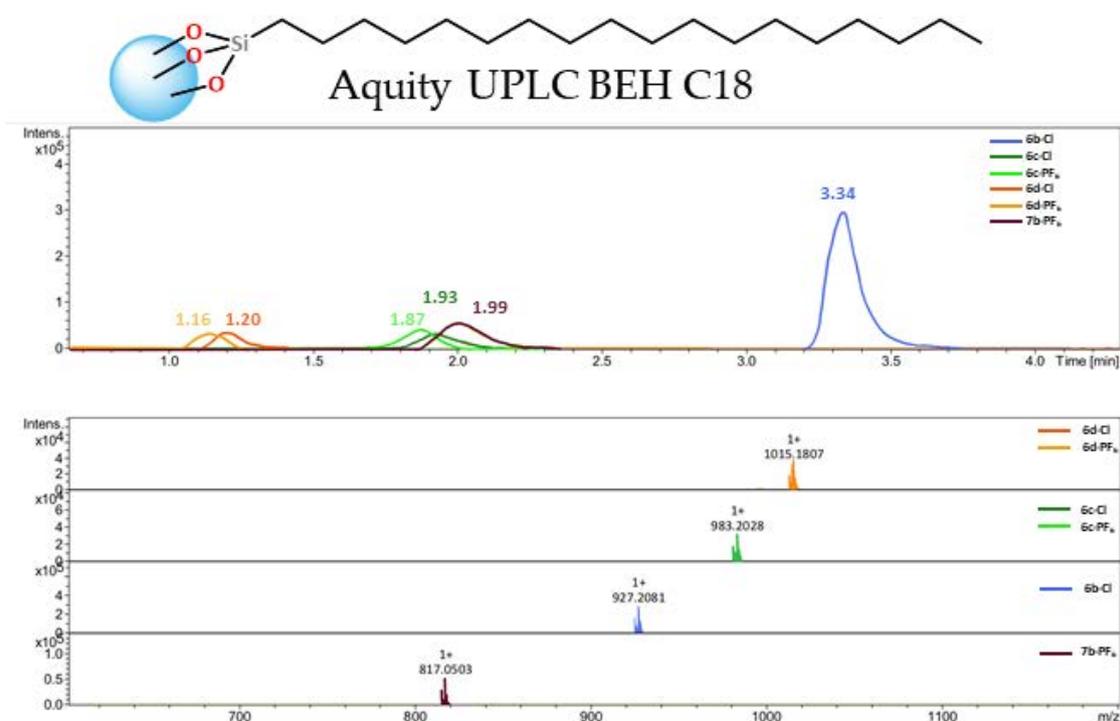


Figura 2.21. Tiempos de retención (minutos) de los picos ionizados $[M]^+$ de los compuestos.

2.4.4 Estudio de su interacción con NADH

El NADH (dinucleótido de nicotinamida adenina en su estado reducido) y la forma oxidada de este cofactor (NAD^+) son enzimas que juegan un papel crucial en reacciones red-ox o de isomerización²⁷² y numerosos procesos biológicos, tales como la muerte celular, el control del estrés oxidativo o en el metabolismo general del cuerpo. Su presencia es fundamental tanto para el equilibrio red-ox celular como para las cadenas de transporte de electrones de las mitocondrias. Por lo tanto, cualquier alteración en la concentración intracelular de esta especie podría conducir a la muerte celular.²⁷³

Se ha demostrado en ensayos *in vivo* que la transformación del NADH a su forma oxidada puede generar especies reactivas de oxígeno (ROS), como el H_2O_2 , y acabar provocando la apoptosis en la célula a través de mecanismos antineoplásicos de oxidación debidos a la acumulación de estas especies. Siguiendo esta línea, estudios recientes han demostrado que algunos complejos de Ir(III) y Os(II) presentan actividad anticancerígena a través de mecanismos de acción red-ox no muy habituales, y que implican la foto-oxidación catalítica de NADH a NAD^+ a través de la formación de H_2O_2 y ROS mediante reacciones de transferencia de hidrógeno.²⁷⁴ Por esta razón, la cuantificación de cambios en el equilibrio NADH/ NAD^+ es un método efectivo para saber si estos compuestos pueden provocar un aumento en la concentración de ROS por este mecanismo.

Como se muestra en las Figura 2.22, el estudio de la interacción con el NADH se ha realizado con el complejo que presentaba mayor potencial citotóxico **6b-Cl**. Se ha monitorizado la reacción del compuesto, en concentración $1\ \mu\text{M}$, con NADH ($100\ \mu\text{M}$) en una disolución acuosa con metanol al 20% mediante UV-Visible a 298 K, durante un periodo de 8 horas. Tal y como se observa en la Figura 2.22, la absorbancia a 339 nm, (absorbancia máxima correspondiente al NADH) sufre un significativo decaimiento con el tiempo mientras se observa el incremento en la intensidad de la banda que aparece a 259 nm (absorbancia máxima de NAD^+). Este hecho indica que se está produciendo una interacción entre el compuesto **6b-Cl** y el NADH generando NAD^+ .^{232a, 275} La diferencia entre la absorción a 339 nm en el tiempo 0 y la obtenida a las 8 horas da el conocido “número de intercambio” (TON de su acrónimo en inglés, *turnover number*), que en el

caso del compuesto **6b-Cl** fue de 14.0, lo que demuestra que este derivado puede actuar como catalizador de la oxidación endógena de NADH. Por tanto, podría ser una diana mitocondrial, induciendo la desestabilización de la homeostasis red-ox y, en última instancia, causando apoptosis.

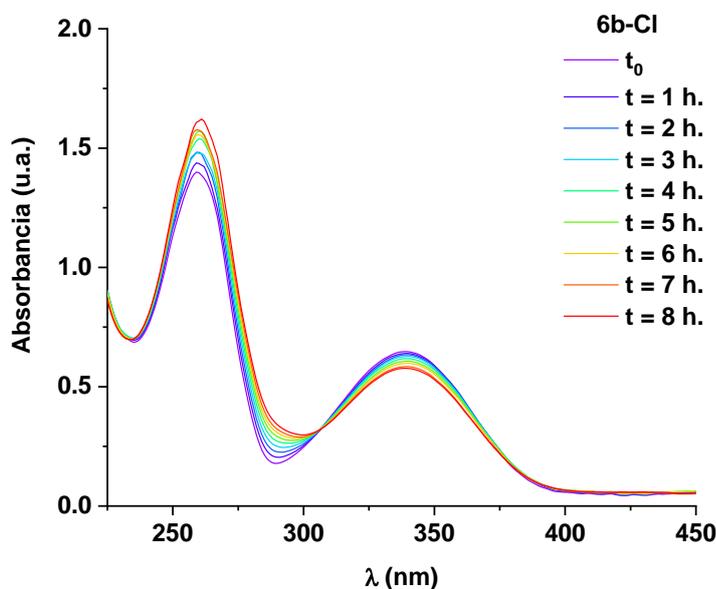


Figura 2.22. Seguimiento de la oxidación del NADH (100 μ M) a NAD⁺ por el compuesto **6b-Cl** en una mezcla H₂O/MeOH (80/20) por espectroscopia de absorción UV-Visible en condiciones de oscuridad

2.4.5 Interacción de los compuestos con el ADN

En coherencia con muchos de los estudios realizados sobre compuestos de Pt citotóxicos, se ha estudiado la posible interacción con el ADN. Esta interacción puede darse mediante enlaces covalentes de estos compuestos a las bases nitrogenadas de las cadenas de ADN o actuando como intercaladores en el ADN, en función de los ligandos auxiliares que componen dichos compuestos. En este trabajo se han elegido los compuestos **6b-Cl**, **6c-PF₆** y **7b-PF₆** que resultaron ser citotóxicos en condiciones de oscuridad para realizar el estudio de su interacción con el ADN. Para ello se llevaron a cabo estudios de electroforesis en un gel de agarosa con el fin de comprobar si estos compuestos inducían un cambio en la movilidad del plásmido pBR322, manteniendo las mismas condiciones y concentraciones molares crecientes que se emplearon para el compuesto de referencia, el cisplatino, y el derivado no citotóxico **6d-PF₆** (Figura 2.23).

Como ya es sabido, el cisplatino actúa uniéndose al ADN. En este caso, al unirse con el ADN plasmídico genera cambios en la movilidad electroforética de las dos formas principales que tiene este plásmido (pBR322) (CCC, “covalently closed circular” o superenrollado y OC “open circular” o relajado). En el caso particular del cisplatino, los cambios que se observan son un incremento de OC en detrimento de la CCC (Figura 2.23, parte superior izquierda).^{202b, 211c, 260a, 276} Sin embargo, ninguno de los compuestos estudiados en este capítulo muestran un comportamiento similar al observado en el cisplatino, tal y como se muestra en la Figura 2.23, lo que indica que estos compuestos no interaccionan con el ADN o al menos no alterando la movilidad del mismo en los geles de agarosa.

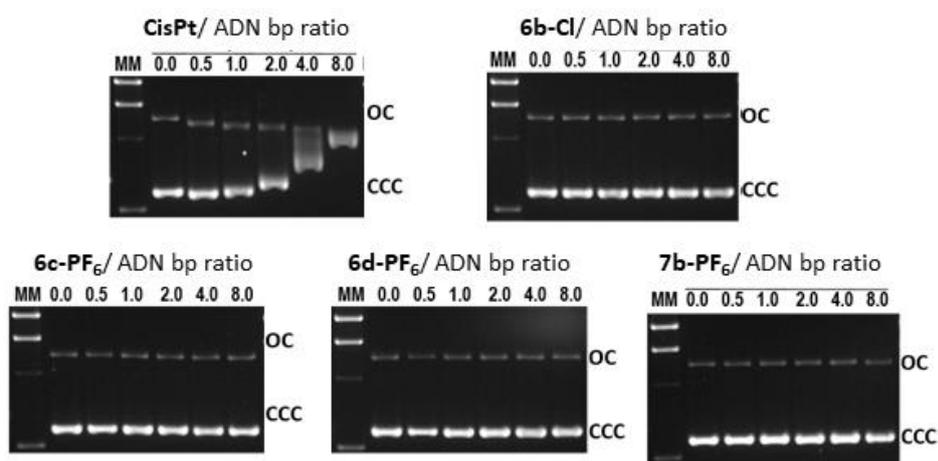


Figura 2.23. Ensayo de la movilidad del plásmido pBR322 mediante electroforesis para el cisplatino y los compuestos **6b-Cl**, **6c-PF₆**, **6d-PF₆** y **7b-PF₆** en concentraciones molares crecientes de los compuestos (ratios), (bp, *base pairs*)

2.4.6 Citolocalización

Debido a las propiedades luminiscentes de esta familia de complejos, que presentan emisiones intensas en disolución dentro del rango del visible, se han podido realizar experimentos para averiguar el tiempo que tardan en internalizarse dentro de las células y conocer su localización celular *in vitro* a través de microscopia confocal. Además de presentar estas propiedades fotofísicas propias de los compuestos catiónicos ciclotmetalados de Ir(III), algunos de ellos presentan, a su vez, una baja citotoxicidad en condiciones de oscuridad, por lo que se procedió a estudiar su posible empleo como

biomarcadores luminiscentes. Las imágenes obtenidas por microscopía confocal revelan, como ya se indicaba en los estudios de interacción con el ADN, que ninguno de los compuestos muestra una localización intranuclear en células A549, tal y como se muestra en las imágenes (Figuras 2.24 y 2.25).

Como muestra la Figura 2.24 como ejemplo de los estudios llevados a cabo, se realizó un primer ensayo del tiempo de internalización de los compuestos en las células. En concordancia con los resultados de citotoxicidad (IC_{50}), los compuestos **6c-Cl** y **6d-Cl** (además del **8c-Cl**) no entraron en las células y precipitaron en el medio como muestran las Figuras 2.24 A y B. En cambio, los compuestos homólogos que presentan PF_6 como contraión (**6c- PF_6** y **6d- PF_6**) comienzan a internalizarse en la primera hora de incubación (Figura 2.24 C y D). Además, y de acuerdo con los resultados obtenidos de la citotoxicidad de dichos compuestos, la exposición del compuesto **6c- PF_6** (32 μM) con las células durante 24 horas provoca la muerte de la mayoría de las células, mientras que no se observan efectos de toxicidad sobre las células con el compuesto **6d- PF_6** durante ese mismo periodo de tiempo (Figuras 2.24 E y F, respectivamente)

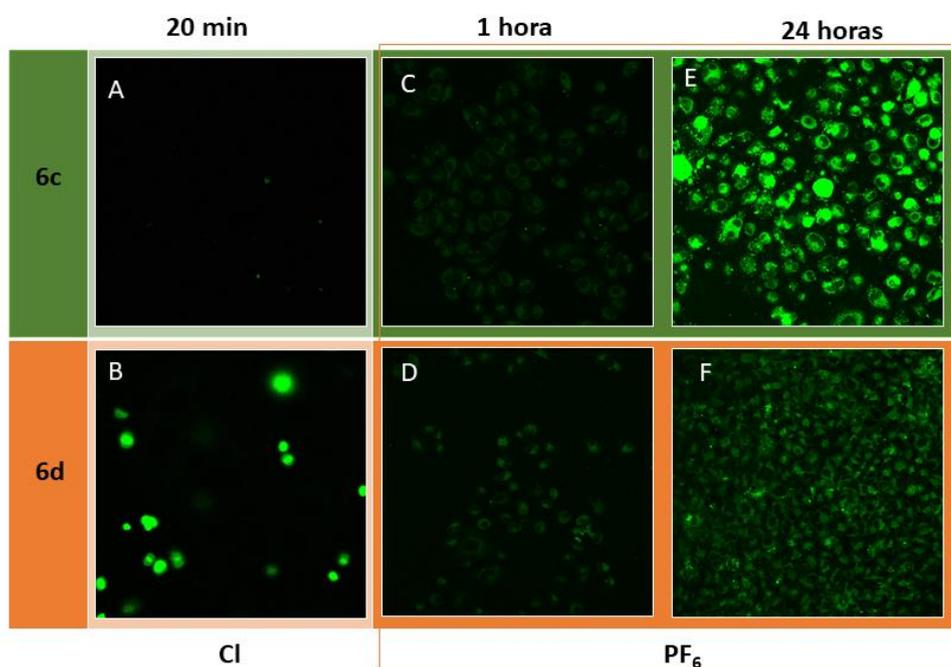


Figura 2.24. Imágenes de microscopía laser confocal de células A549 vivas incubadas con los compuestos **6c** y **6d** (Cl y PF_6) en concentración 32 μM . A y B: Células incubadas con **6c-Cl** y **6d-Cl**, respectivamente ($t = 20$ min; $\lambda_{ex} = 405$ nm). C y D: Células incubadas con **6c- PF_6** y **6d- PF_6** , respectivamente ($t = 1$ hora; $\lambda_{ex} = 405$ nm). E y F: Células incubadas con **6c- PF_6** y **6d- PF_6** , respectivamente ($t = 24$ horas; $\lambda_{ex} = 405$ nm).

Siguiendo en esta línea, se ha llevado a cabo el estudio para determinar la localización celular del compuesto **6b-Cl** en la misma línea celular A549 (Figura 2.25B). Para ello, se ha empleado una concentración de 16 μM debido a su elevada citotoxicidad (tiempo máximo de incubación de 1 hora) y velocidad de internalización. Para realizar este estudio, se han empleado diferentes marcadores con el fin de averiguar y profundizar en la localización celular de este compuesto. Se han utilizado como marcadores lysotracker (lisosomas en rojo, Figura 2.25A), Hoerchst (núcleo en azul, Figura 2.25C) y Mitotracker (mitocondrias en rojo, Figura 2.25E Y F). Al superponer los tres canales de emisión correspondientes a lisosomas, núcleos y compuesto se obtiene la Figura 2.25D, en la que se pone de manifiesto que el compuesto **6b-Cl** se localiza predominantemente en los lisosomas.

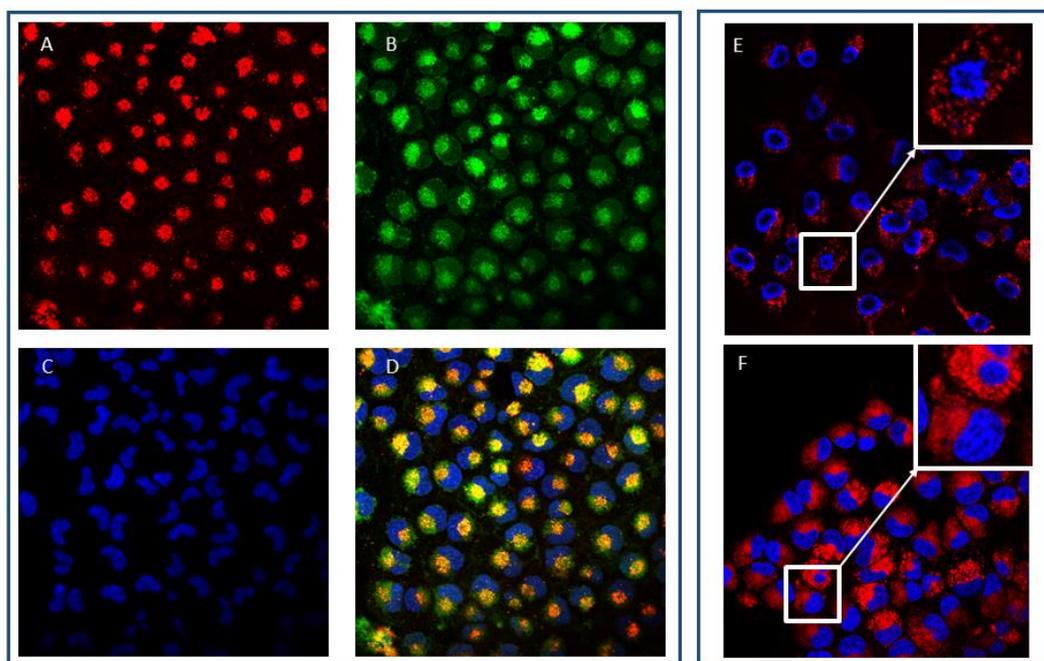


Figura 2.25. Imágenes de microscopia confocal de células vivas A549 incubadas con el compuesto **6b-Cl** durante 1 h. con una concentración de 16 μM con diferentes marcadores intracelulares. A) Lisotraker (marcador lisosomal, $\lambda_{\text{ex}} = 543 \text{ nm}$), B) **6b-Cl** ($\lambda_{\text{ex}} = 405 \text{ nm}$), C) Hoerchst (marcador nuclear, $\lambda_{\text{ex}} = 405 \text{ nm}$), D) Superposición de las imágenes de los canales A, B y C. E y F) células marcadas con el marcador mitocondrial (Myotracker, $\lambda_{\text{ex}} = 633 \text{ nm}$), en rojo y Hoerchst (marcador nuclear, $\lambda_{\text{ex}} = 405 \text{ nm}$ en azul) a tiempo 0 (E) y a 1 hora (F).

A pesar de que los resultados obtenidos revelan que el compuesto se localiza en los lisosomas, el seguimiento a tiempo real del proceso revela que actúa dañando a las mitocondrias, orgánulos en los que, de hecho, no se observa acumulación de este

compuesto. Tal y como se presenta en la Figura 2.25 (E y F), una hora de incubación de las células con el compuesto **6b-Cl**, provoca un desequilibrio en el potencial de membrana mitocondrial y de su integridad, lo que puede desencadenar la muerte celular bien por procesos apoptóticos o por necrosis.

Dados estos resultados en la línea celular A549, se decidió realizarlos con fibroblastos de pulmón de ratón. Como se observa en la Figura 2.26A, este estudio también revela un daño en las mitocondrias al pasar una hora de incubación en presencia de **6b-Cl**. Además, corrobora los resultados obtenidos con la línea celular A549, como se aprecia en la Figura 2.26G en la que la emisión verde correspondiente al compuesto **6b-Cl** se localiza en zonas muy diferenciadas con las emisiones violetas de las mitocondrias. Todo esto sugiere que el mecanismo de acción de este compuesto puede pasar por el daño a la integridad de las mitocondrias, aunque no se localice en estos orgánulos. Como se ha demostrado anteriormente, este compuesto altera el equilibrio entre el cofactor NADH y su forma oxidada NAD⁺ produciendo ROS, lo que precisamente altera las funciones mitocondriales y puede provocar la muerte celular.

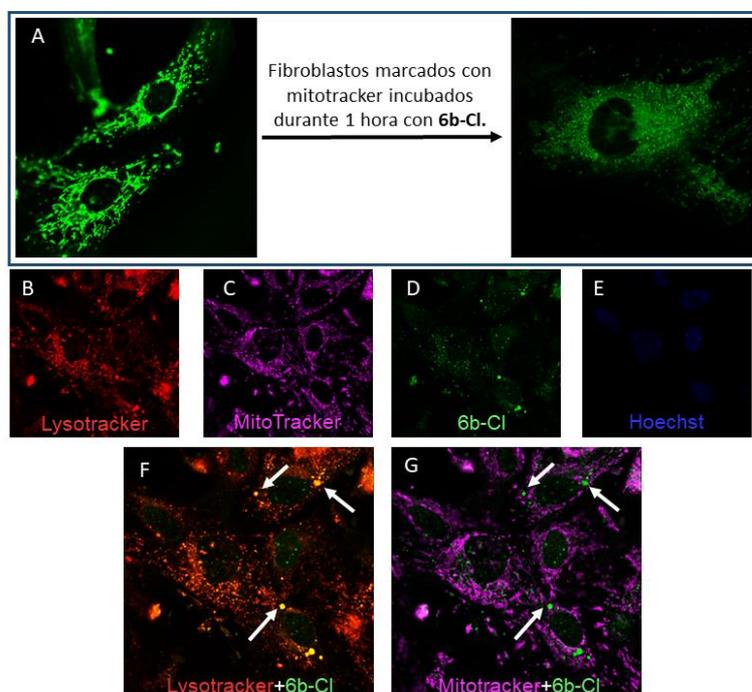


Figura 2.26. Imágenes de microscopia confocal de fibroblastos vivos estimulados con un láser y marcados con: A) Mitotracker (verde) incubados con **6b-Cl** a $t = 0$ y $t = 1$ hora. B) con Lisotraker (marcador lisosomal, $\lambda_{ex} = 543$ nm). C) con Myotracker (marcador mitocondrial, $\lambda_{ex} = 633$ nm). D) **6b-Cl** ($\lambda_{ex} = 405$ nm). E) Hoerchst (marcador nuclear, $\lambda_{ex} = 405$ nm). F) Superposición de B y D, G) Superposición de C y D.

Es muy llamativo el comportamiento que presentaron las células A549 incubadas con el compuesto **7b-PF₆** (45 μ M) al realizar el seguimiento por microscopia confocal. Se observó un comportamiento inesperado en las células que habían sido expuestas directamente a la irradiación del láser a $\lambda_{\text{ex}} = 405$ nm, mostrando un mayor incremento de la toxicidad en esas células, en relación con aquellas adyacentes que no habían sido irradiadas (Figura 2.27). Este efecto no se ha observado para el resto de los derivados estudiados en este capítulo y tampoco se observa al exponer las células sin compuesto al laser. Sin embargo, en el caso del compuesto **7b-PF₆**, la estimulación con el laser a 405 nm del microscopio confocal no solo incrementó la toxicidad del mismo, sino que también incremento su fluorescencia, como se observa en la parte central de las imágenes de la Figura 2.27. Al incubar las células con el compuesto (canal verde) y el marcador mitocondrial MitoTracker (canal violeta), se observa la pérdida de la integridad estructural de la membrana y, finalmente, de todo el orgánulo al exponerlas a $\lambda_{\text{ex}} 405$ de un láser. Se ha comprobado que la exposición al laser de $\lambda_{\text{ex}} 633$ nm de las células incubadas con **7b-PF₆** y el marcador Mitotracker no provoca daños en las mitocondrias ni tampoco incrementa la citotoxicidad del compuesto, por lo que se puede decir que este compuesto incrementa su toxicidad al excitarlo con una longitud de onda de 405 nm, provocando tanto el aumento de la fluorescencia como toxicidad mitocondrial, posiblemente debido a la formación de ROS. Este efecto sobre las mitocondrias es un factor muy importante para el estudio de su mecanismo de acción, pues estos orgánulos desempeñan funciones vitales para la supervivencia celular como la generación de energía, el mantenimiento del equilibrio red-ox intracelular y el metabolismo. Además, esto se ve reforzado por los resultados que se han obtenidos en complejos ciclotmetalados de Ir que provocan daños en estos orgánulos a través de la formación de ROS.²⁷⁷

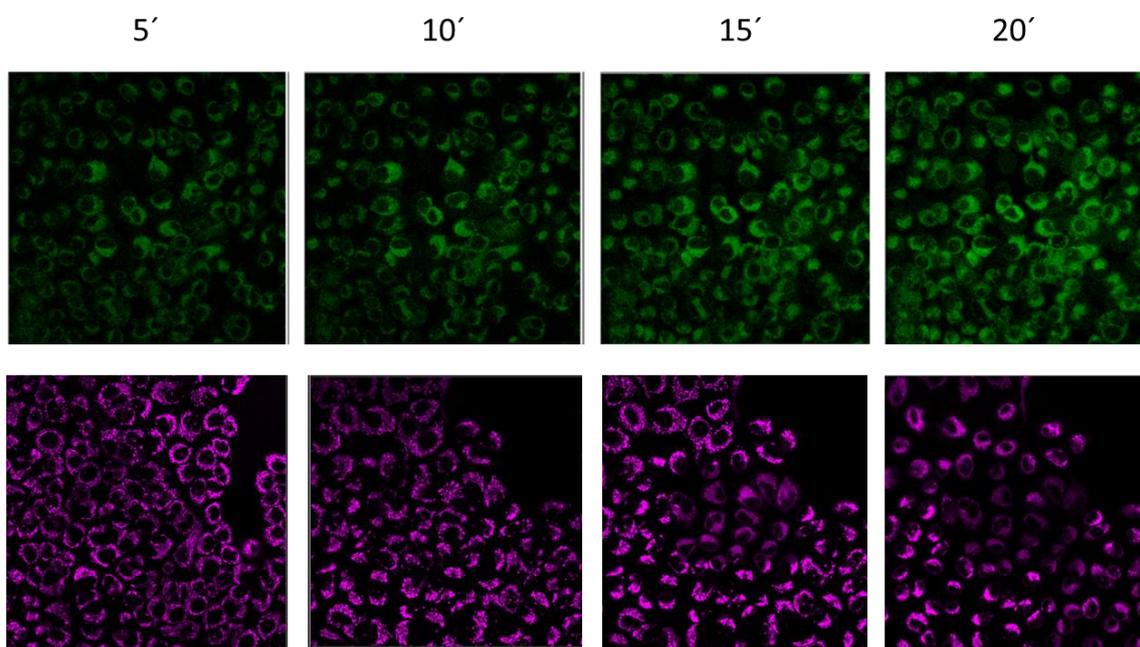


Figura 2.27. Seguimiento durante 20 minutos por imágenes de microscopia confocal de células vivas de A549 con el compuesto **7b-PF₆** (45 μ M). Imágenes superiores de las células incubadas con **7b-PF₆** (verde) irradiadas con un láser de 405 nm. Imágenes inferiores de las células incubadas con **7b-PF₆** y el marcador mitocondrial Mitotracker (violeta) irradiadas con un láser de 405 nm y 633 nm.

2.5 Apéndice

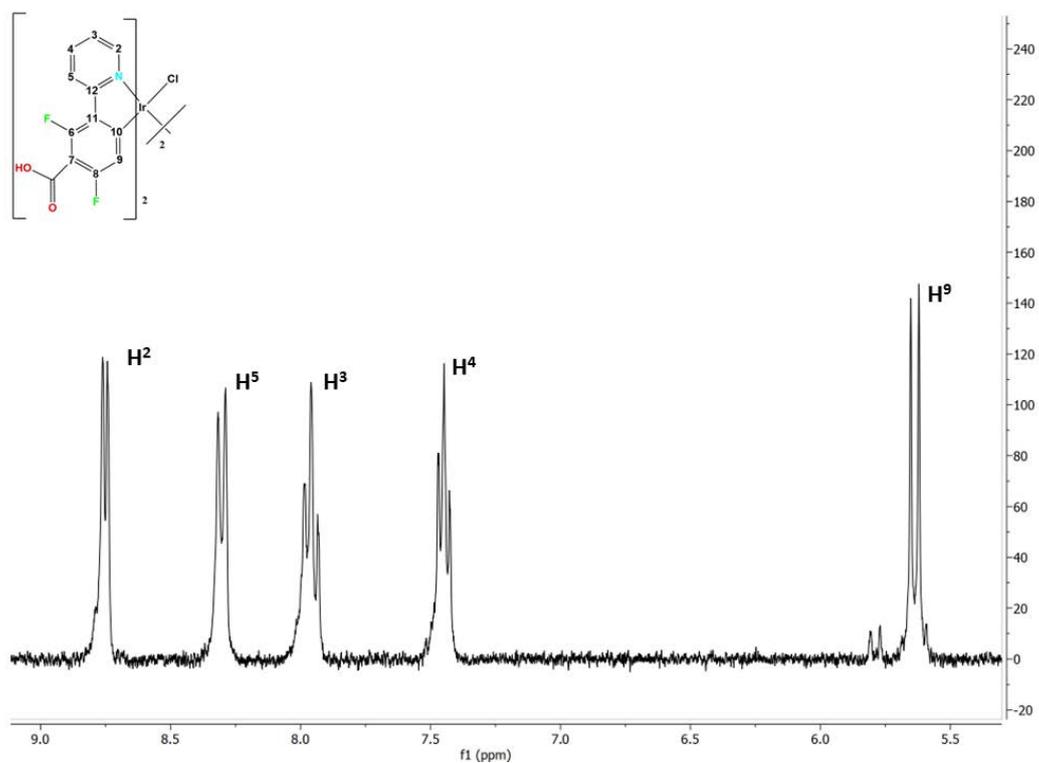


Figura A.2.1. Espectro de RMN ¹H de **5d** en D₂O + KOH.

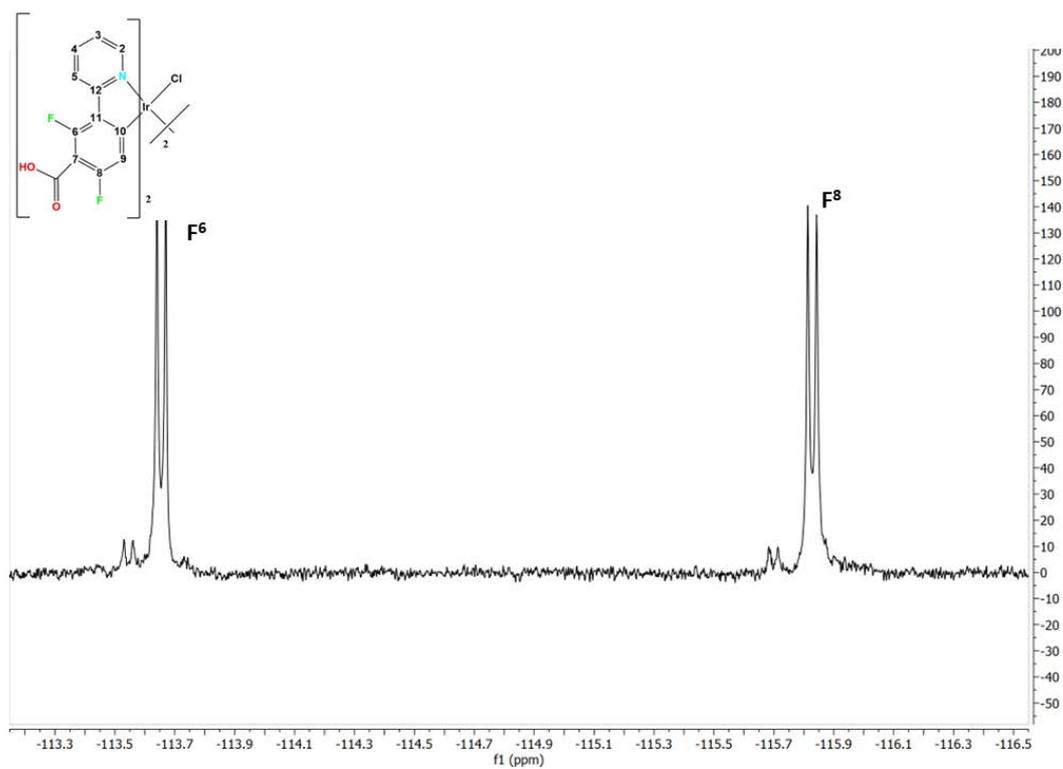


Figura A.2.2 Espectro de RMN ¹⁹F {¹H} de **5d** in D₂O + KOH.

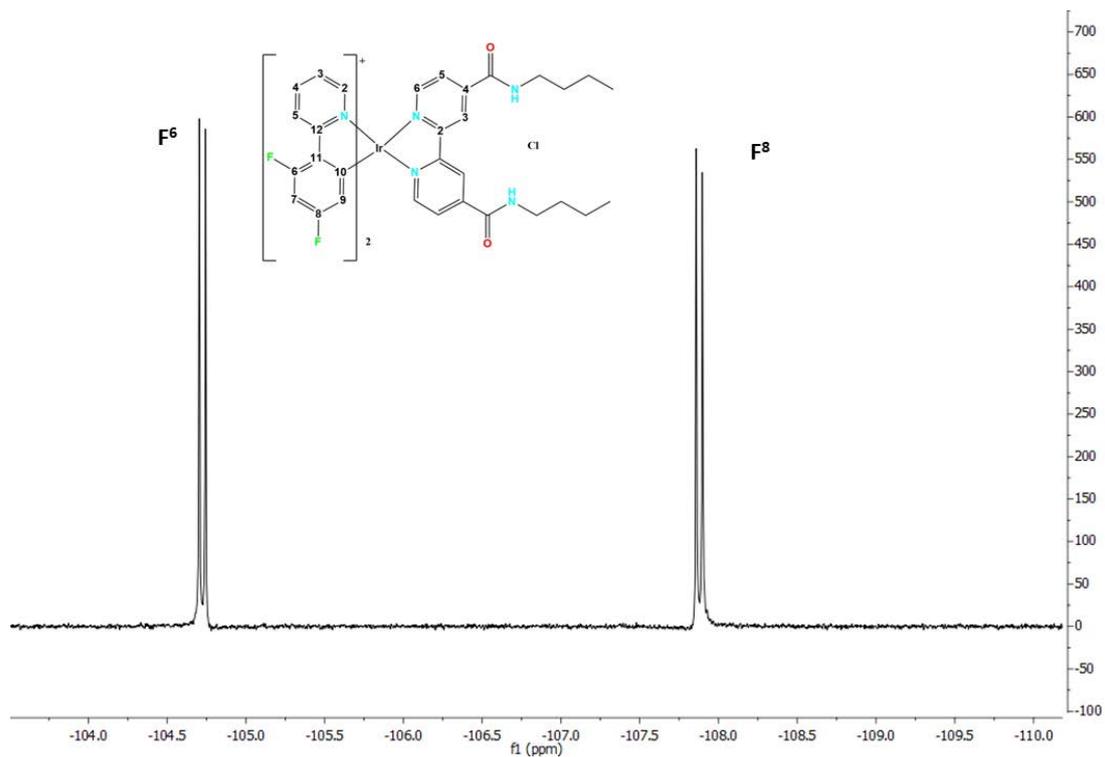


Figura A.2.3. Espectro de RMN ^{19}F (^1H) de **6b-Cl** en CDCl_3 .

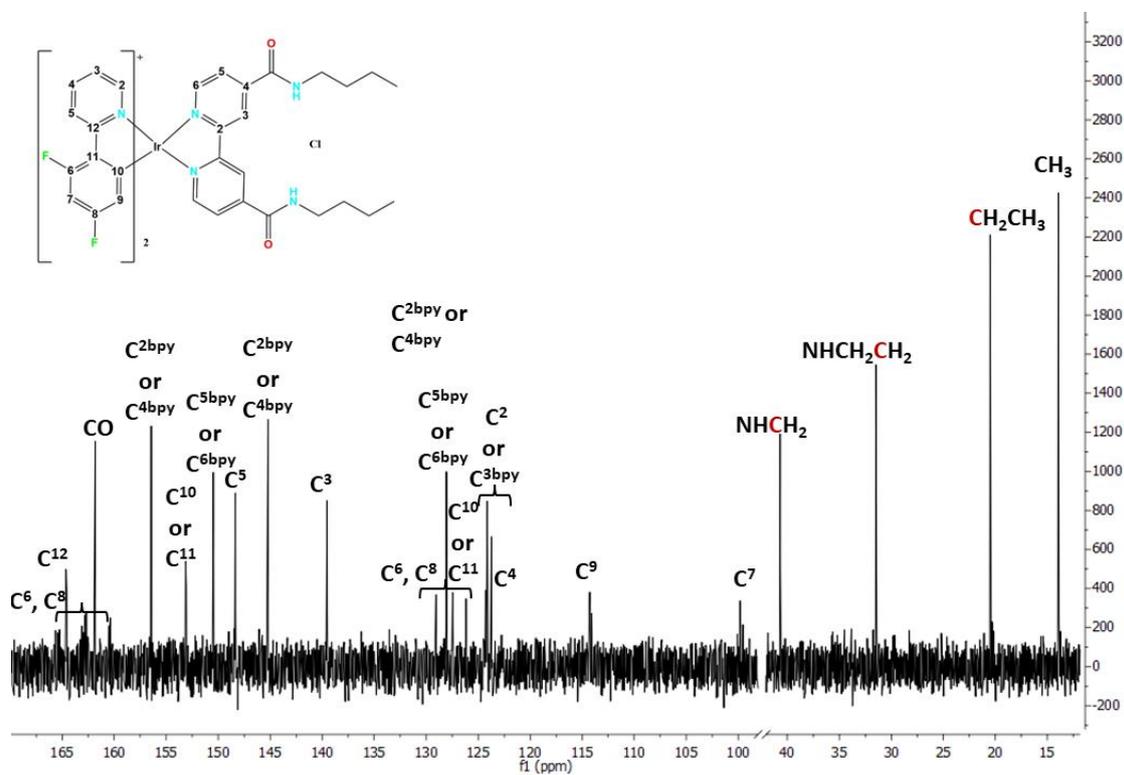


Figura A.2.4. Espectro de RMN ^{13}C (^1H) de **6b-Cl** en CDCl_3 .

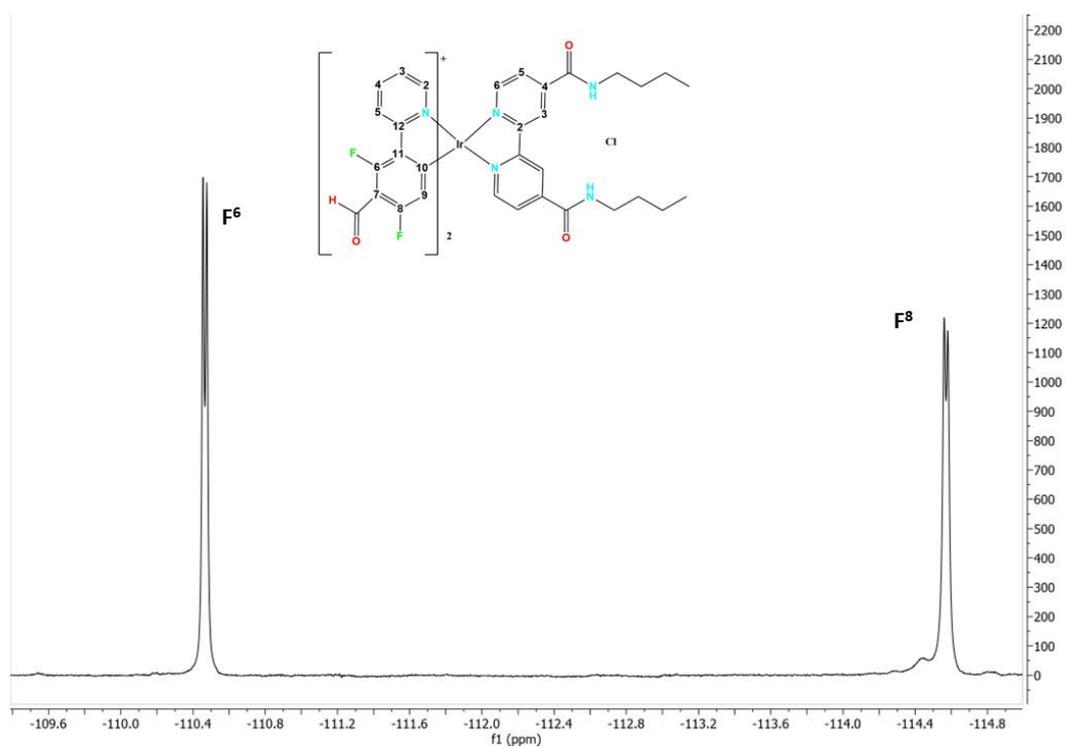


Figura A.2.5. Espectro de RMN ^{19}F $\{^1\text{H}\}$ de **6c-Cl** en CDCl_3 .

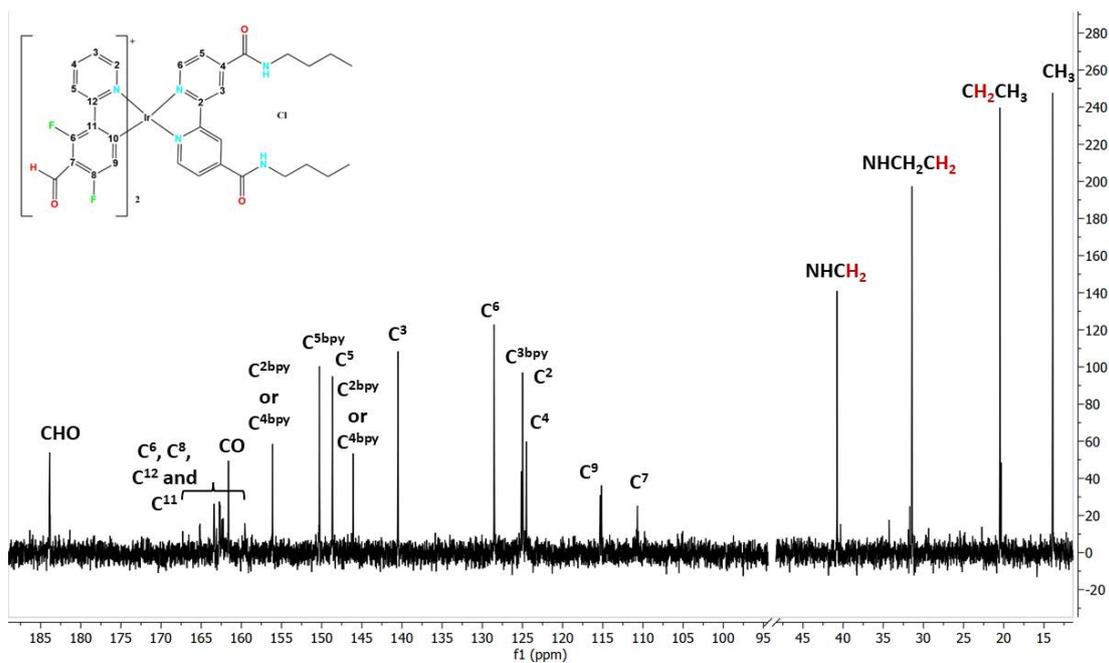


Figura A.2.6. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ de **6c-Cl** en CDCl_3 .

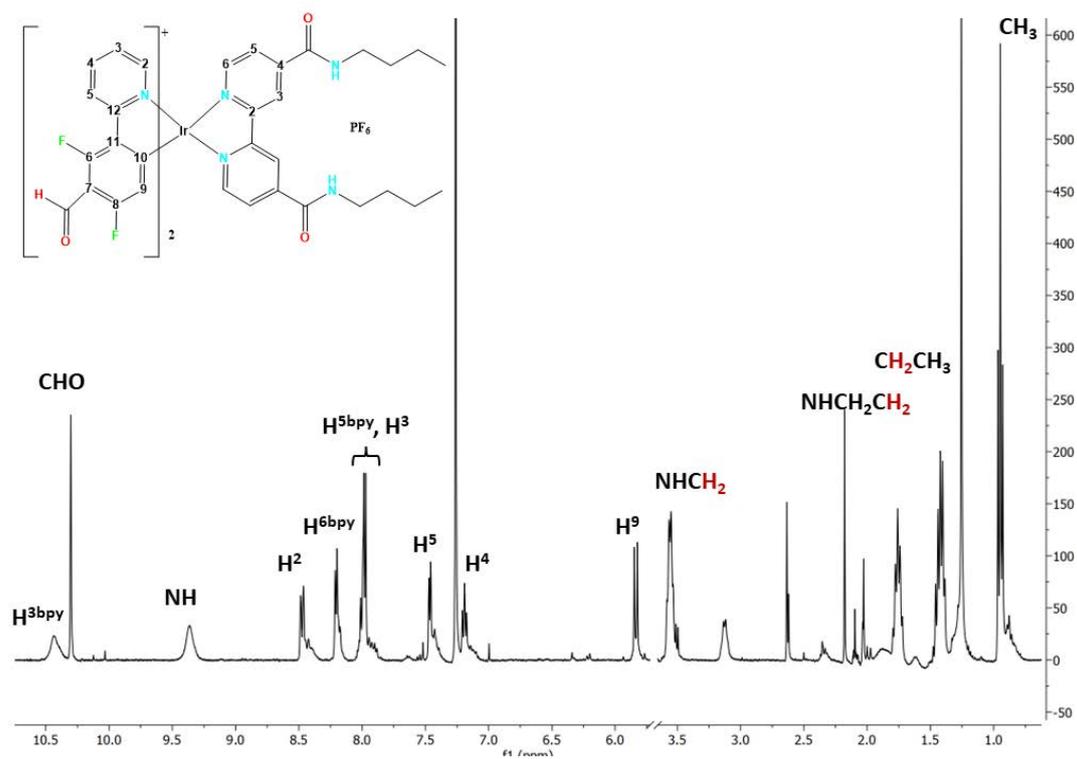


Figura A.2.7. Espectro de RMN ^1H de 6c-PF_6 en CDCl_3 .

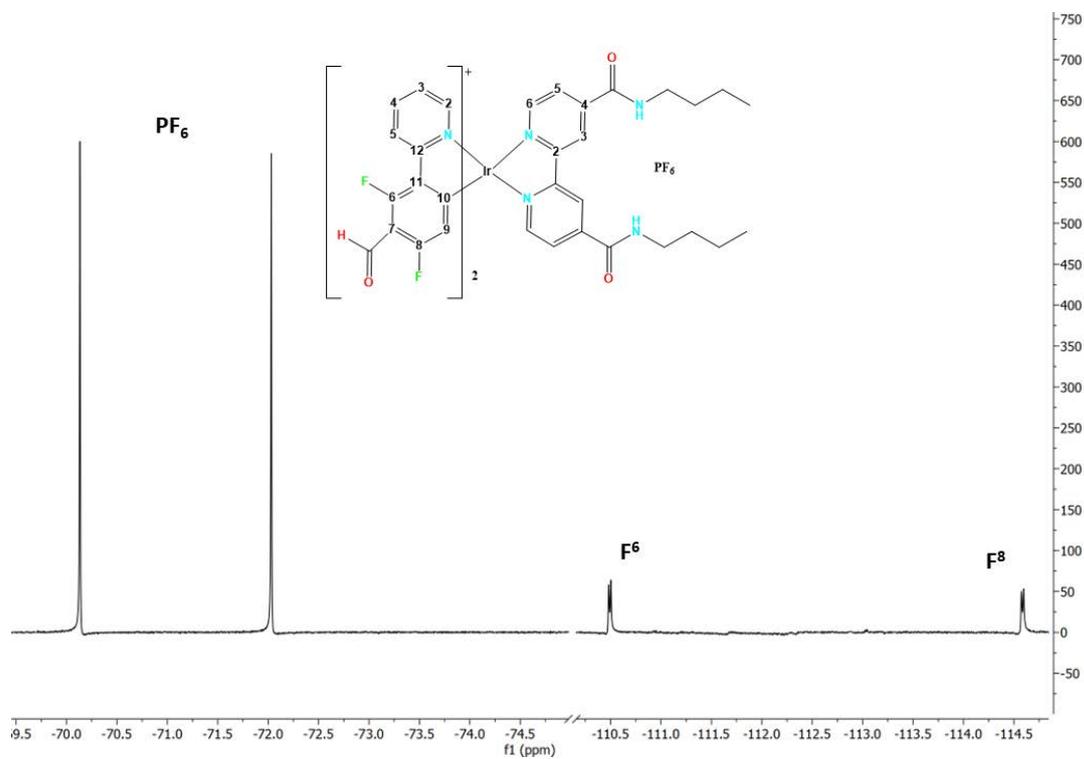


Figura A.2.8. Espectro de RMN ^{19}F $\{^1\text{H}\}$ de 6c-PF_6 en CDCl_3 .

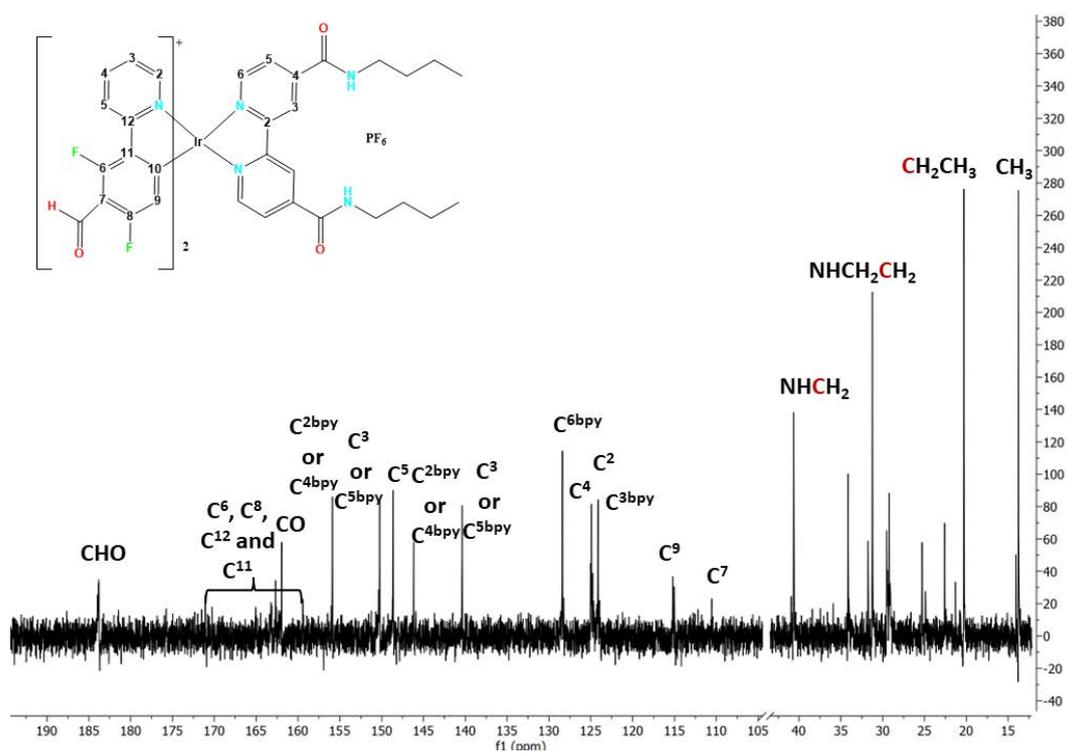


Figura A.2.9. Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de **6c-PF₆** en CDCl_3 .

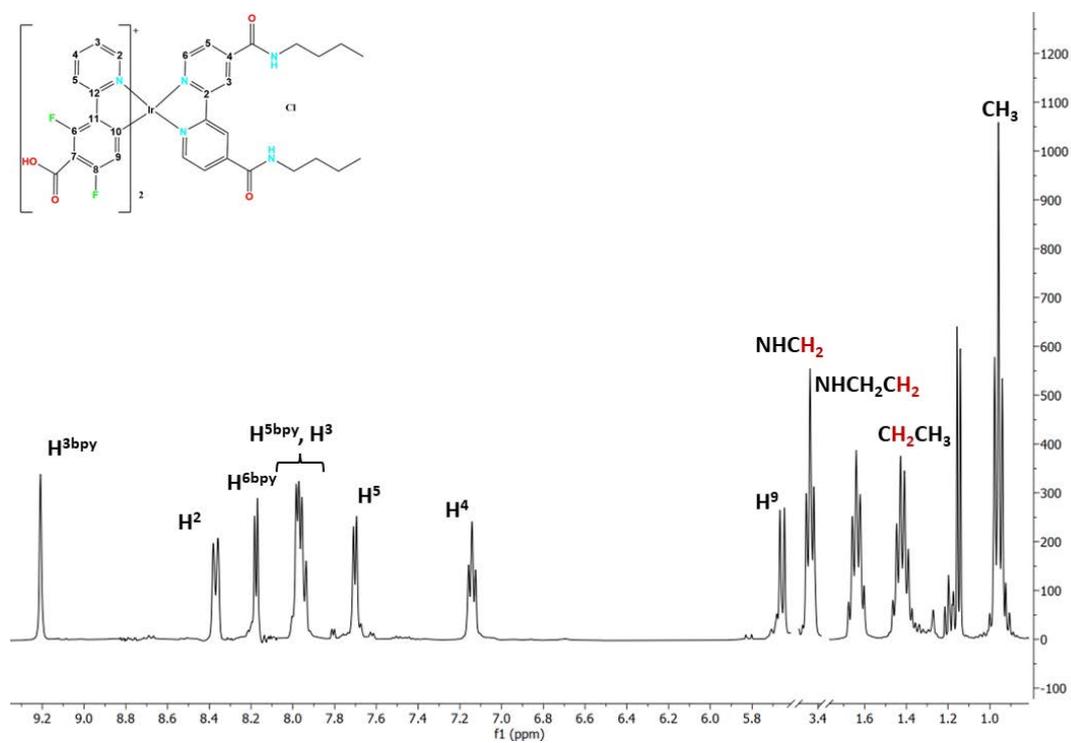


Figura A.2.10. Espectro de RMN ^1H de **6d-Cl** en MeOD .

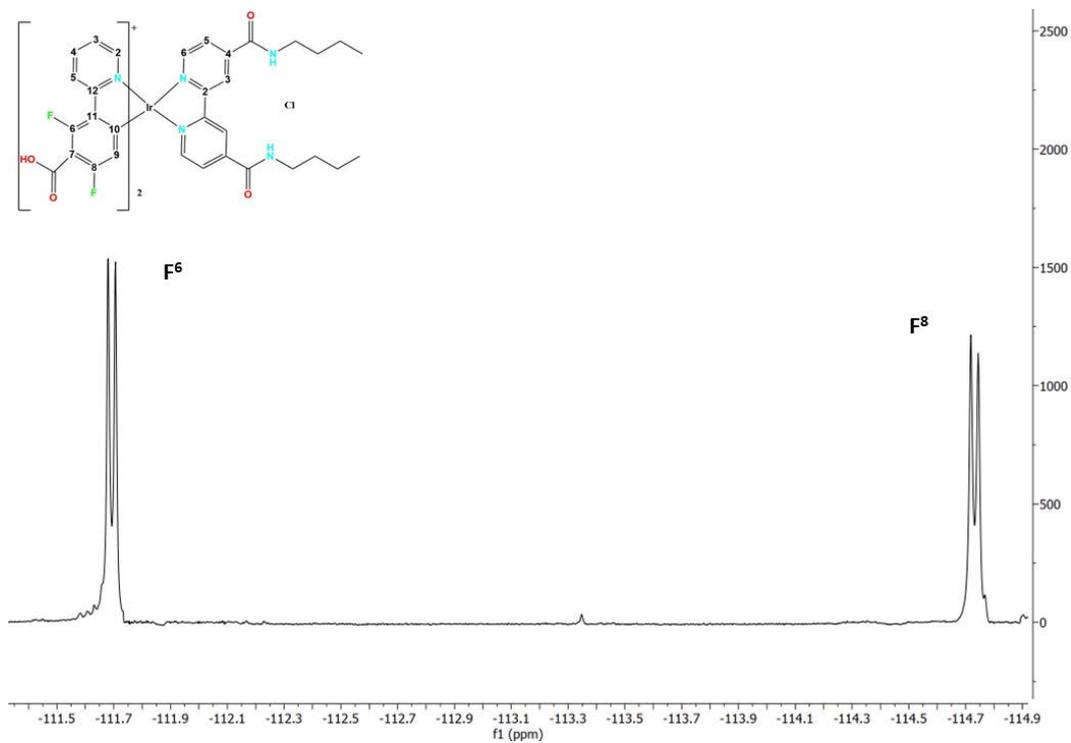


Figura A.2.11. Espectro de RMN ^{19}F $\{^1\text{H}\}$ NMR de **6d-Cl** en MeOD.

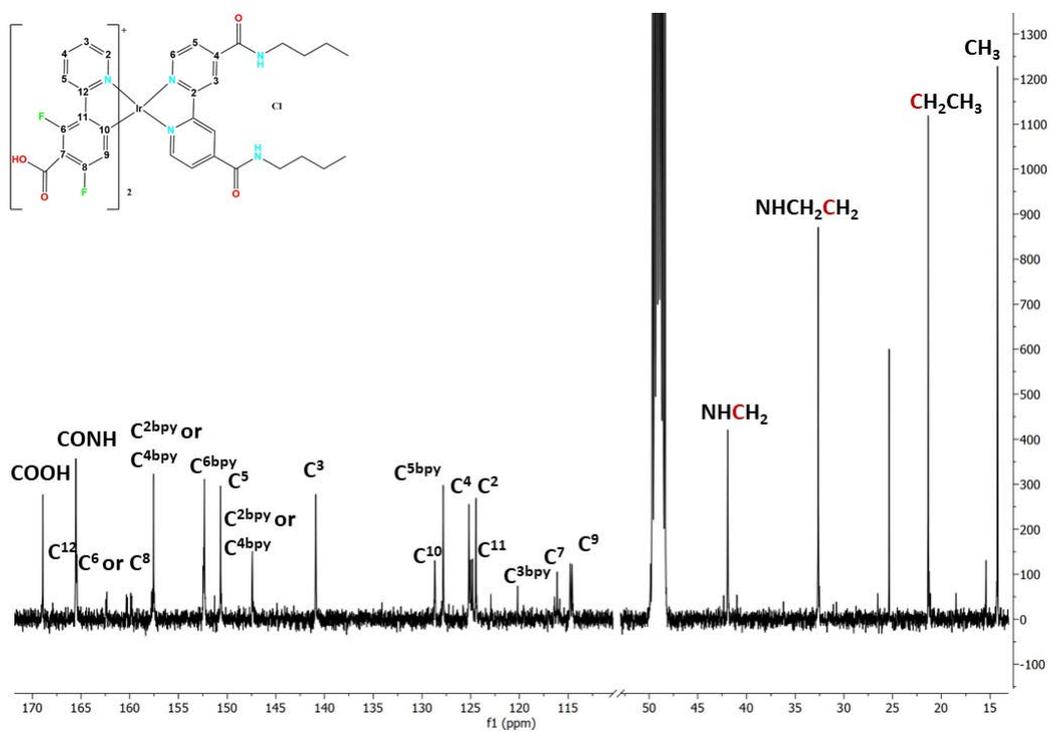


Figura A.2.12. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ de **6d-Cl** en MeOD.

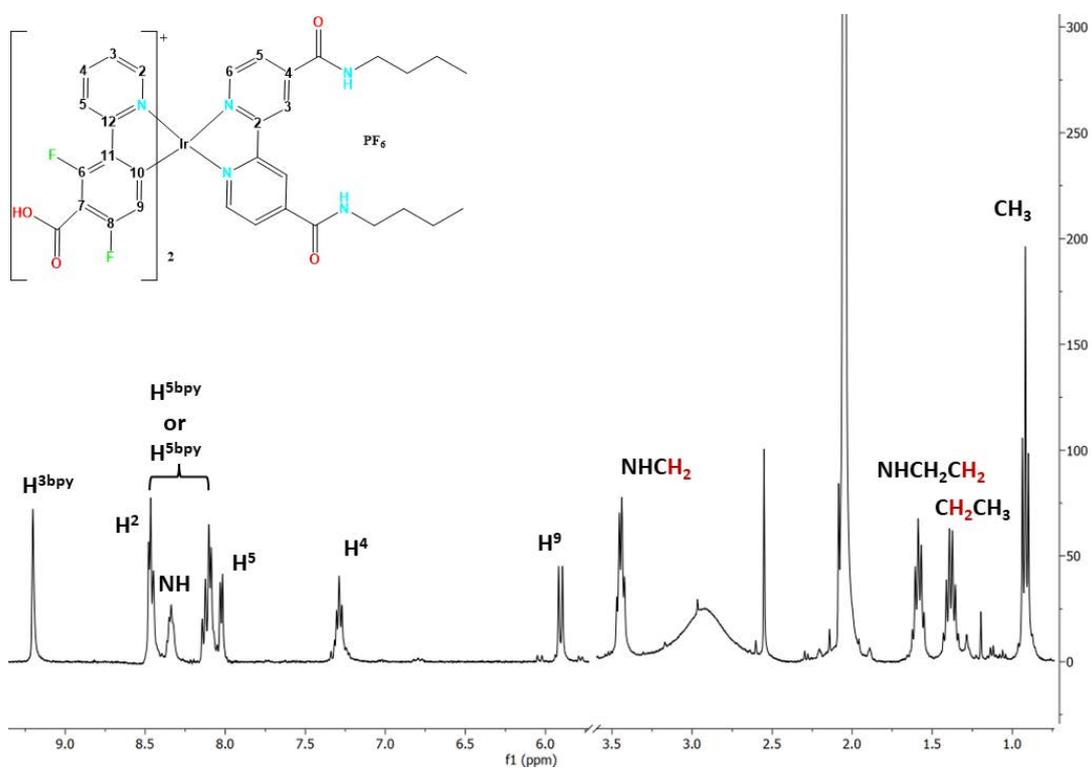


Figura A.2.13. Espectro de RMN ^1H de **6d-PF₆** en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.

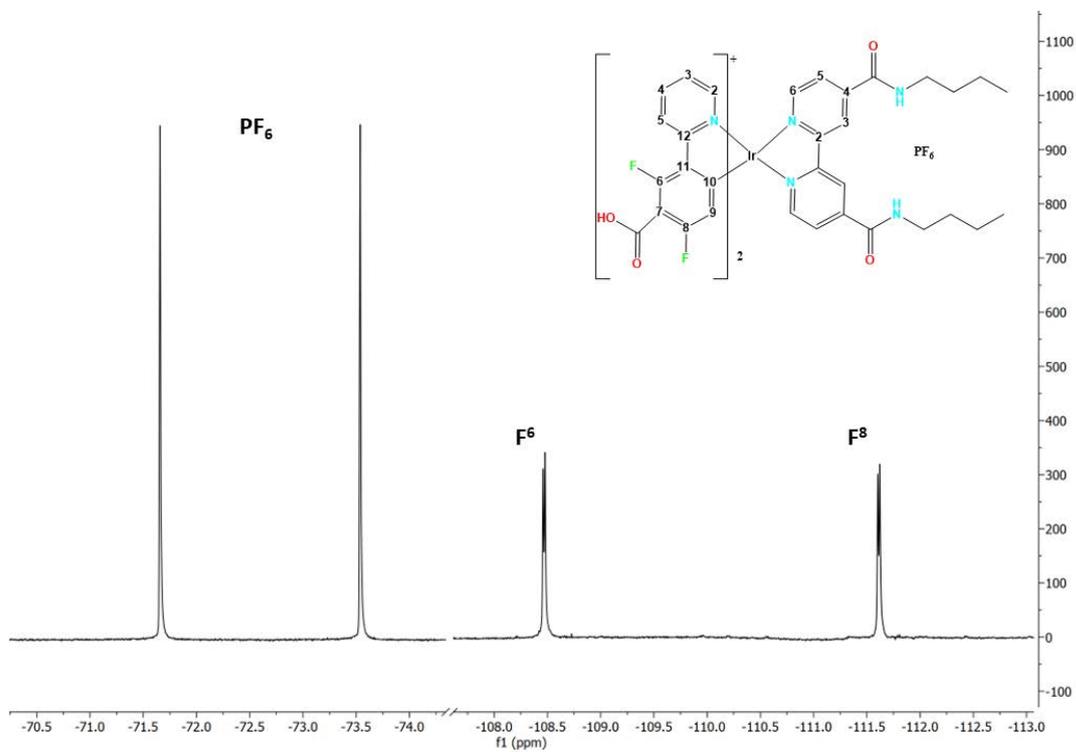


Figura A.2.14. Espectro de RMN ^{19}F (^1H) de **6d-PF₆** en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.

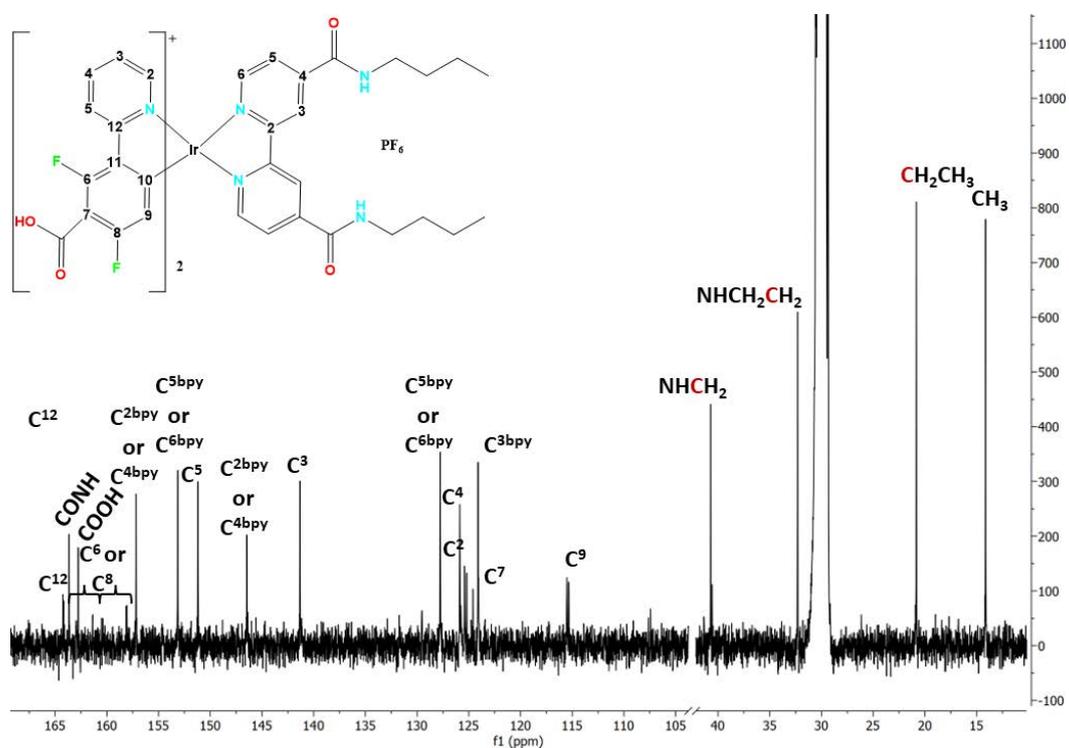


Figura A.2.15. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ de 6d-PF_6 en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.

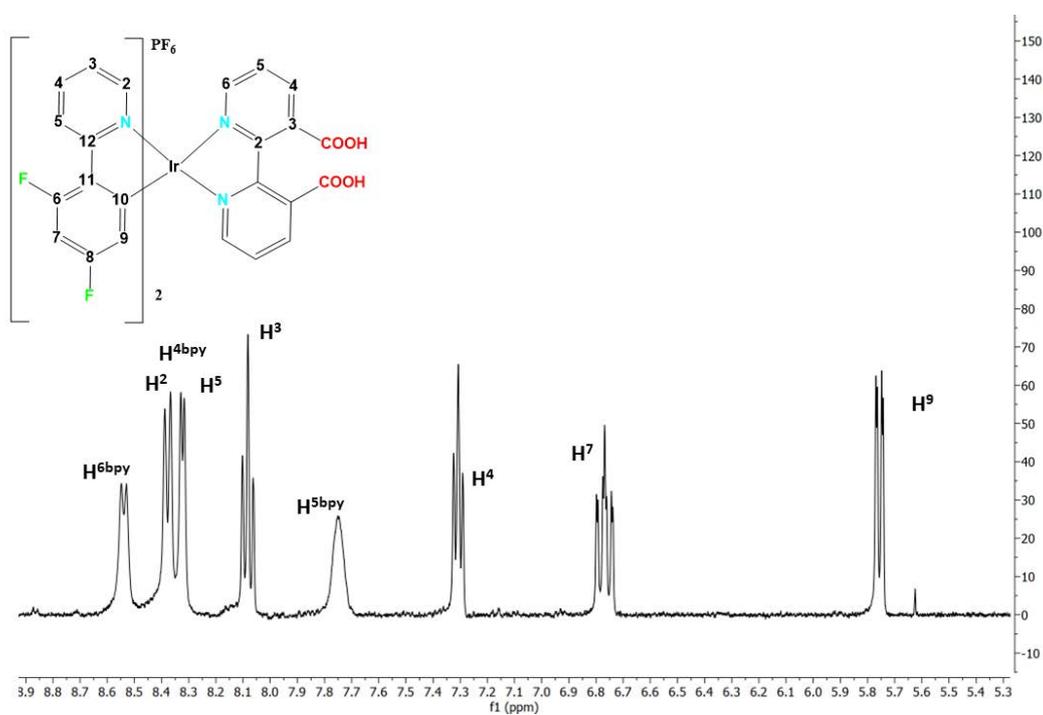


Figura A.2.16. Espectro de RMN ^1H de 7b-PF_6 en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.

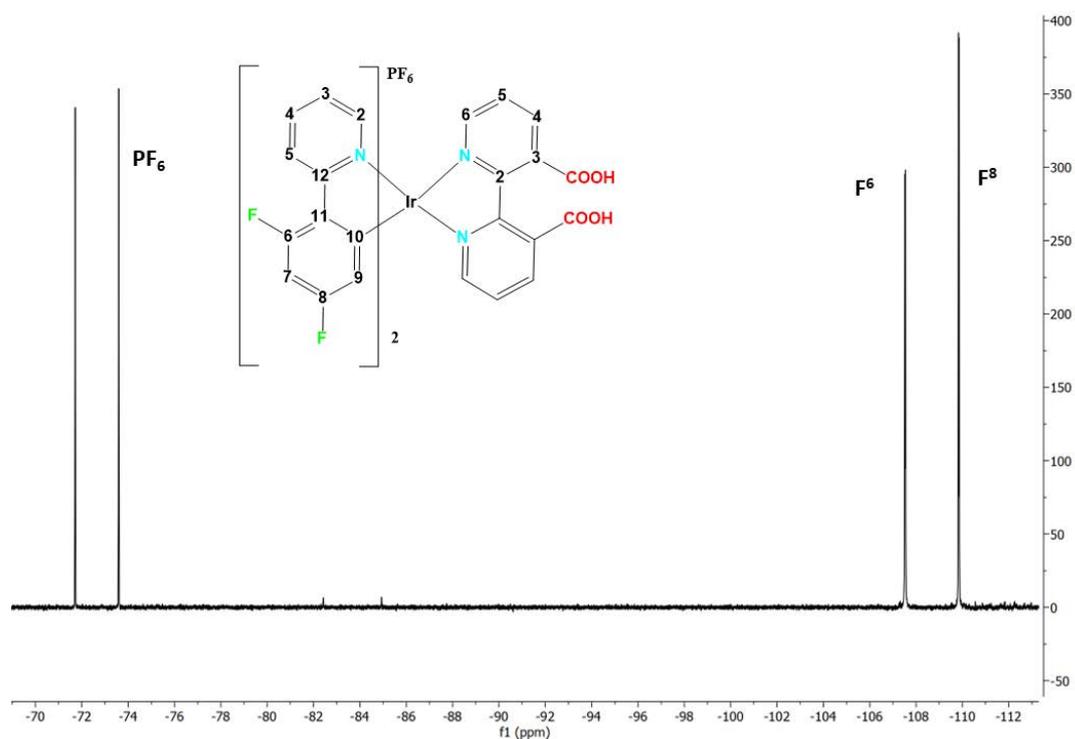


Figura A.2.17. Espectro de RMN ^{19}F $\{^1\text{H}\}$ de **7b**- PF_6 en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.

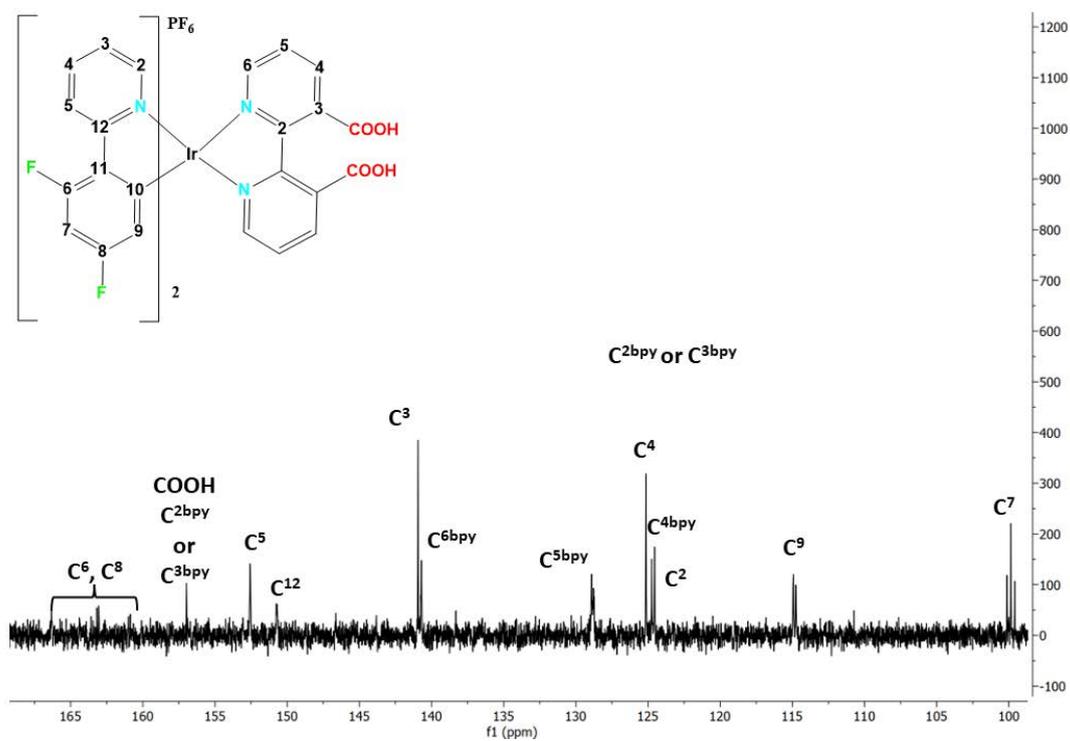


Figura A.2.18. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ de **7b**- PF_6 en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.

Tabla A.2.1. Distancias de enlace (Å) y ángulos (°) para [Ir(dfppy)₂(dbbpy)]Cl·3CHCl₃ (**6b**·3CHCl₃), [Ir(COOHdfppy)₂(dbbpy)]PO₂F₂·C₃H₆O (**6d**·PO₂F₂·C₃H₆O).

6b-Cl·2CHCl₃			
Ir(1)-N(1)	2.049(2)	Ir(1)-C(10)	2.008(2)
Ir(1)-N(2)	2.125(2)	Cl(1)···H(3A)	2.458(1)
Cl(1)···H(16)	2.601(1)		
N(1)-Ir(1)-C(10)	80.46(8)	N(1)-Ir(1)-C(10')	95.73(8)
N(1)-Ir(1)-N(1')	174.63(9)	N(2)-Ir(1)-N(2')	73.7(1)
N(1)-Ir(1)-N(2)	96.19(7)	N(1)-Ir(1)-N(2')	88.01(7)
6d-PO₂F₂·acetona			
Ir(1)-N(1)	2.042(3)	Ir(1)-N(1')	2.048(3)
Ir(1)-C(10)	2.009(4)	Ir(1)-C(10')	2.002(3)
Ir(1)-N(2)	2.131(3)	Ir(1)-N(2')	2.127(3)
C(13)-O(1)	1.316(6)	C(25)-O(3)	1.307(5)
C(13)-O(2)	1.217(6)	C(25)-O(4)	1.193(5)
N(1)-Ir(1)-C(10)	80.5(1)	N(1')-Ir(1)-C(10')	80.2(1)
N(1)-Ir(1)-N(1')	174.6(1)	N(1)-Ir(1)-C(10')	94.7(1)
N(1')-Ir(1)-	97.3(1)	N(2)-Ir(1)-N(2')	76.7(1)
N(2)-Ir(1)-N(1)	96.3(1)	N(2')-Ir(1)-N(1')	98.6(1)
N(2)-Ir(1)-N(1')	86.3(1)	N(2')-Ir(1)-N(1)	86.7(1)
O(1)-C(13)-O(2)	124.1(3)	O(3)-C(25)-O(4)	122.2(4)

Tabla A.2.2A Geometrías optimizadas por cálculos DFT en los estados fundamental y triplete de los compuestos **6b-Cl** y **6c-Cl** en DMSO

	6b-Cl			6c-Cl	
	S₀	T₁	Rayos-X	S₀	T₁
Ir(1)-N(1)	2.083	2.080	2.049	2.082	2.078
Ir(1)-N(1')	2.082	2.080	2.049	2.082	2.078
Ir(1)-C(10)	2.021	2.000	2.008	2.015	2.003
Ir(1)-C(10')	2.021	2.000	2.008	2.015	2.003
Ir(1)-N(2)	2.203	2.187	2.125	2.196	2.175
Ir(1)-N(2')	2.199	2.189	2.125	2.196	2.176
N(1)-Ir(1)-N(1')	173.57	176.44	174.63	174.21	176.4
N(1)-Ir(1)-C(10)	80.09	80.88	80.45	80.15	80.8
N(1')-Ir(1)-C(10')	80.06	80.85	80.45	80.15	80.79
N(1)-Ir(1)-C(10')	95.33	96.72	95.74	95.7	96.74
N(1')-Ir(1)-C(10)	95.28	96.70	95.73	95.7	96.73
N(2)-Ir(1)- N(2')	75.18	75.44	77.29	75.44	75.94
N(2)-Ir(1)-N(1)	87.92	87.14	88.01	87.79	86.53
N(2)-Ir(1)-C(10)	97.90	94.91	96.11	97.67	95.09
N(2)-Ir(1)-N(1')	97.18	95.71	96.19	96.8	96.3
N(2)-Ir(1)-C(10')	172.67	169.57	172.76	172.65	170.8
N(2')-Ir(1)-N(1)	97.32	95.81	96.19	96.8	96.28
N(2')-Ir(1)-C(10)	172.76	170.00	172.76	172.64	170.8
N(2')-Ir(1)-N(1')	87.80	87.00	88.02	87.79	86.56
N(2')-Ir(1)-C(10')	97.85	94.48	96.11	97.68	95.16

Tabla A.2.2B Geometrías optimizadas por cálculos DFT en los estados fundamental y triplete de los compuestos **6d-Cl** y **7b-PF₆** en DMSO

	6d-Cl			7b-PF₆	
	S₀	T₁	X-ray	S₀	T₁
Ir(1)-N(1)	2.055	2.078	2.042	2.078	2.083
Ir(1)-N(1')	2.055	2.078	2.048	2.013	2.080
Ir(1)-C(10)	1.999	2.002	2.009	2.079	1.997
Ir(1)-C(10')	1.999	2.001	2.002	2.011	1.997
Ir(1)-N(2)	2.158	2.18	2.131	2.219	2.195
Ir(1)-N(2')	2.158	2.18	2.127	2.223	2.080
N(1)-Ir(1)-N(1')	173.8	176.3	174.61	173.21	176.19
N(1)-Ir(1)-C(10)	80.33	80.75	80.49	80.23	80.79
N(1')-Ir(1)-C(10')	80.33	80.76	80.22	80.25	80.77
N(1)-Ir(1)-C(10')	95.24	96.73	94.68	95.35	96.57
N(1')-Ir(1)-C(10)	95.22	96.73	97.34	95.36	96.65
N(2)-Ir(1)- N(2')	76.25	75.71	76.66	74.56	74.72
N(2)-Ir(1)-N(1)	87.89	86.88	86.32	88.63	95.39
N(2)-Ir(1)-C(10)	97.48	94.76	99.12	98.69	95.56
N(2)-Ir(1)-N(1')	96.97	96.03	96.27	98.34	96.29
N(2)-Ir(1)-C(10')	173.3	170.3	173.90	172.62	170.03
N(2')-Ir(1)-N(1)	96.98	96.05	98.56	86.83	87.14
N(2')-Ir(1)-C(10)	173.3	170.2	175.70	173.90	169.80
N(2')-Ir(1)-N(1')	87.9	86.97	86.66	86.50	86.70
N(2')-Ir(1)-C(10')	97.44	94.89	97.94	98.13	95.95

Tabla A.2.3. Composición (%) de los Orbitales Frontera MOs en términos de ligandos y metales en el estado fundamental de **6b-Cl**, **6c-Cl**, **6d-Cl** y **7b-PF₆** en DMSO.

6b-Cl					
MO	eV	Ir	dfppy	dbbpy	Cl
LUMO+5	-1.14	2	91	7	0
LUMO+4	-1.73	3	91	6	0
LUMO+3	-1.74	1	7	92	0
LUMO+2	-1.82	4	95	1	0
LUMO+1	-1.85	1	5	94	0
LUMO	-2.63	3	1	96	0
HOMO	-5.93	38	60	2	0
HOMO-1	-6.39	7	92	1	0
HOMO-2	-6.50	16	83	1	0
HOMO-3	-6.71	10	6	23	62
HOMO-4	-6.71	59	32	8	1
HOMO-5	-6.75	42	29	8	21
6c-Cl					
MO	eV	Ir	CHOfppy	dbbpy	Cl
LUMO+5	-1.75	0	81	18	0
LUMO+4	-1.82	1	27	72	0
LUMO+3	-1.89	1	14	85	0
LUMO+2	-1.97	6	79	15	0
LUMO+1	-2.09	5	94	2	0
LUMO	-2.71	3	1	96	0
HOMO	-6.27	36	63	2	0
HOMO-1	-6.65	7	91	2	0
HOMO-2	-6.73	0	1	19	80
HOMO-3	-6.78	19	78	2	0
HOMO-4	-6.83	0	1	6	93
HOMO-5	-6.89	0	1	21	78
6d-Cl					
MO	eV	Ir	COOHdfppy	dbbpy	Cl
LUMO+5	-1.21	2	93	6	0
LUMO+4	-1.71	1	10	89	0
LUMO+3	-1.74	3	66	31	0
LUMO+2	-1.81	3	29	69	0
LUMO+1	-1.87	4	95	1	0
LUMO	-2.62	3	1	96	0
HOMO	-6.49	35	63	2	0
HOMO-1	-6.88	7	91	1	0
HOMO-2	-7.00	16	82	2	0
HOMO-3	-7.12	4	3	47	46
HOMO-4	-7.17	45	28	27	0
HOMO-5	-7.21	10	5	82	3

7b-PF ₆				
MO	eV	Ir	dfppy	3,3'-H ₂ dcppy
L+5	-1.25	2	93	5
L+4	-1.81	4	91	5
L+3	-1.91	4	94	2
L+2	-2.11	2	4	94
L+1	-2.23	1	3	96
LUMO	-3.02	2	2	96
HOMO	-6.04	37	61	2
H-1	-6.48	6	94	1
H-2	-6.59	12	87	1
H-3	-6.86	66	29	5
H-4	-6.89	49	44	7
H-5	-6.97	18	79	3

Tabla A.2.4. Energías de excitación verticales a estados singlete y estados triplete desde el estado (S_0) calculadas por TDDFT/SCRF (DMSO) con los orbitales que participan en la transición para **6b-Cl**, **6c-Cl**, **6d-Cl** y **7b-PF₆**.

	Estado	λ/nm	f	Transición (% Contribución)	
6b-Cl	T ₁	477.98	---	HOMO→LUMO (96%)	ML'CT/LL'CT
	T ₂	428.12	---	H-4→LUMO (24%), HOMO→L+2 (15%)	ML'CT/LL'CT
	T ₄	423.60	---	H-1→L+2 (34%), HOMO→L+2 (35%)	ML'CT/LL'CT/IL
	S ₁	471.67	0.0004	HOMO→LUMO (99%)	ML'CT/LL'CT
	S ₃	384.29	0.0414	H-1→LUMO (94%)	ML'CT/LL'CT
	S ₄	370.17	0.0577	HOMO→L+1 (96%)	ML'CT/LL'CT
6c-Cl	T ₁	439.69	---	HOMO→LUMO (75%)	ML'CT/LL'CT
	T ₂	427.76	---	H-1→L+2 (18%), HOMO→L+1 (50%)	LL'CT/IL/MLCT
	S ₁	426.82	0.0007	HOMO→LUMO (98%)	ML'CT/LL'CT
	S ₂	364.51	0.0004	H-8→LUMO (44%), H-3→LUMO (52%)	MLCT
	S ₃	363.62	0.0811	H-1→LUMO (91%)	ML'CT/LL'CT
	S ₄	359.64	0.0811	HOMO→L+1 (92%)	MLCT
	S ₈	345.74	0.0717	H-7→LUMO (23%), HOMO→L+2 (56%)	MLCT/ ML'CT
	S ₁₀	341.56	0.1068	H-7→LUMO (47%), HOMO→L+2 (29%)	MLCT/ ML'CT
S ₁₁	338.209	0.0422	H-6→LUMO (87%)		
6d-Cl	T ₁	443.84	---	HOMO→LUMO (82%)	ML'CT/LL'CT
	T ₃	416.23	---	H-1→L+3 (16%), HOMO→L+1 (41%)	ML'CT/LL'CT
	S ₁	409.55	0.0007	HOMO→LUMO (97%)	ML'CT/LL'CT
	S ₂	351.61	0.0008	H-5→LUMO (11%), H-4→LUMO (44%)	ML'CT/LL'CT
	S ₃	348.41	0.0973	H-2→LUMO (43%)	
	S ₄	341.07	0.0669	H-1→LUMO (86%)	ML'CT/LL'CT
	S ₅	330.18	0.0638	HOMO→L+1 (94%)	MLCT
	S ₆	327.71	0.0837	H-6→LUMO (18%), H-3→LUMO (17%), HOMO→L+2 (21%), HOMO→L+3 (30%)	L'LCT/ MLCT
			H-6→LUMO (13%), H-3→LUMO (26%), HOMO→L+2 (27%), HOMO→L+3 (12%)	IL/ML'CT/LL'CT/ L'LCT	

Tabla A.2.4. Energías de excitación verticales a estados singlete y estados triplete desde el estado (S_0) calculadas por TDDFT/SCRF (DMSO) con los orbitales que participan en la transición para **6b-Cl**, **6c-Cl**, **6d-Cl** y **7b-PF₆**.(Continuación)

	Estado	λ/nm	f	Transición (% Contribución)	
7b-PF₆	T ₁	532.34	---	HOMO→LUMO (95%)	ML'CT/LL'CT
	T ₂	439.04	---	H-6→LUMO (26%), H-3→LUMO (43%), H-2→LUMO (15%)	ML'CT/LL'CT
	T ₃	437.79	---	H-4→LUMO (22%), H-1→LUMO (57%)	ML'CT/LL'CT
	S ₁	524.60	0.0008	HOMO→LUMO (98%)	ML'CT/LL'CT
	S ₂	423.61	0.0114	H-1→LUMO (94%)	LL'CT
	S ₅	389.88	0.0178	H-4→LUMO (66%), HOMO→L+1 (18%)	ML'CT/LL'CT
	S ₆	386.89	0.0174	H-4→LUMO (16%), HOMO→L+1 (73%)	ML'CT/LL'CT
	S ₈	367.00	0.0541	HOMO→L+3 (93%)	MLCT
	S ₉	359.24	0.0104	H-5→LUMO (86%), H-4→LUMO (12%)	ML'CT/LL'CT
	S ₁₅	311.86	0.0638	H-4→L+1 (22%), H-1→L+3 (42%)	ML'CT/LL'CT
	S ₁₆	311.11	0.0143	H-4→L+1 (24%), H-1→L+3 (36%)	ML'CT/LL'CT
	S ₁₈	308.45	0.0252	H-4→L+1 (13%), H-3→L+3 (21%), H-2→L+3 (45%)	ML'CT/LL'CT
	S ₁₉	305.00	0.088	H-2→L+3 (10%), H-1→L+4 (62%), HOMO→L+5 (15%)	MLCT
	S ₂₀	303.55	0.0524	H-3→L+2 (52%), H-2→L+2 (18%)	MLCT
	S ₂₁	301.85	0.0232	H-4→L+2 (10%), HOMO→L+5 (57%)	MLCT
	S ₂₂	301.55	0.0515	H-4→L+2 (40%), H-3→L+4 (10%), H-2→L+4 (12%), HOMO→L+5 (10%)	MLCT
	S ₂₅	295.25	0.1587	H-9→LUMO (10%), H-6→LUMO (45%), H-4→L+2 (11%), H-3→L+2 (10%)	MLCT
	S ₂₆	293.22	0.0737	H-3→L+3 (42%), H-2→L+3 (25%)	MLCT
	S ₃₁	286.29	0.1598	H-4→L+4 (56%)	MLCT

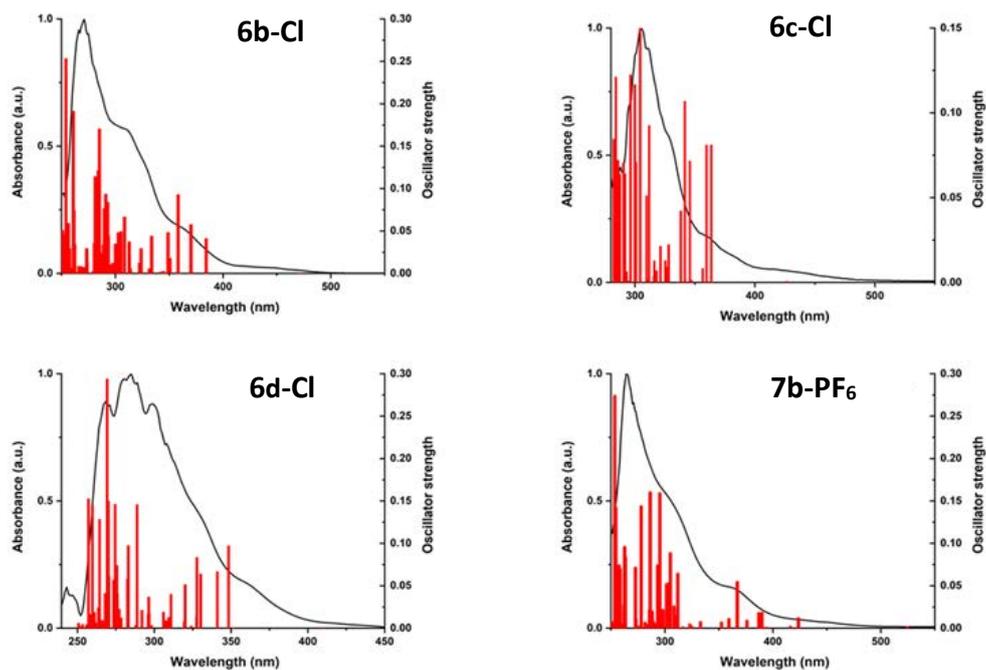


Figura A.2.19. Espectros UV-Vis calculados (en barras) y experimentales de los compuestos **6b-Cl**, **6c-Cl**, **6d-Cl** y **7b-PF₆** en DMSO

Tabla A.2.5. Composición (%) de los Orbitales Frontera MOs en términos de ligandos y metales en el estado triplete de **6b-Cl**, **6c-Cl**, **6d-Cl** y **7b-PF₆** en DMSO

6b-Cl	eV	Ir	dfppy	dbbpy	Cl
SOMO	-3.53	2	1	97	0
SOMO-1	-5.12	42	55	3	0
6c-Cl	eV	Ir	CHOdppy	dbbpy	Cl
SOMO	-3.65	2	1	97	0
SOMO-1	-5.48	41	51	8	0
6d-Cl	eV	Ir	COOHdppy	dbbpy	Cl
SOMO	-3.60	2	1	97	0
SOMO-1	-5.37	42	53	5	0
7b-PF₆	eV	Ir	dfppy	3,3'-H₂dcppy	-
SOMO	-4.15	2	2	96	-
SOMO-1	-5.27	40	57	3	-

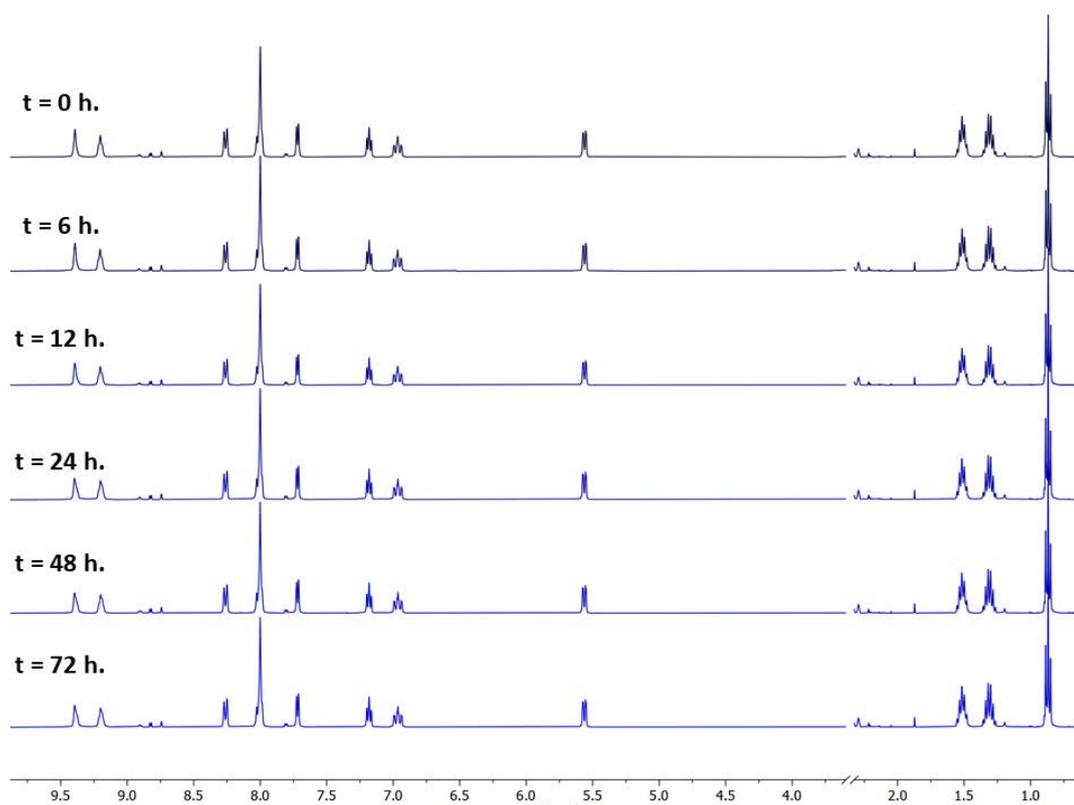


Figura A.2.20. Espectros de RMN ^1H del compuesto **6b-Cl** en DMSO-d_6 .

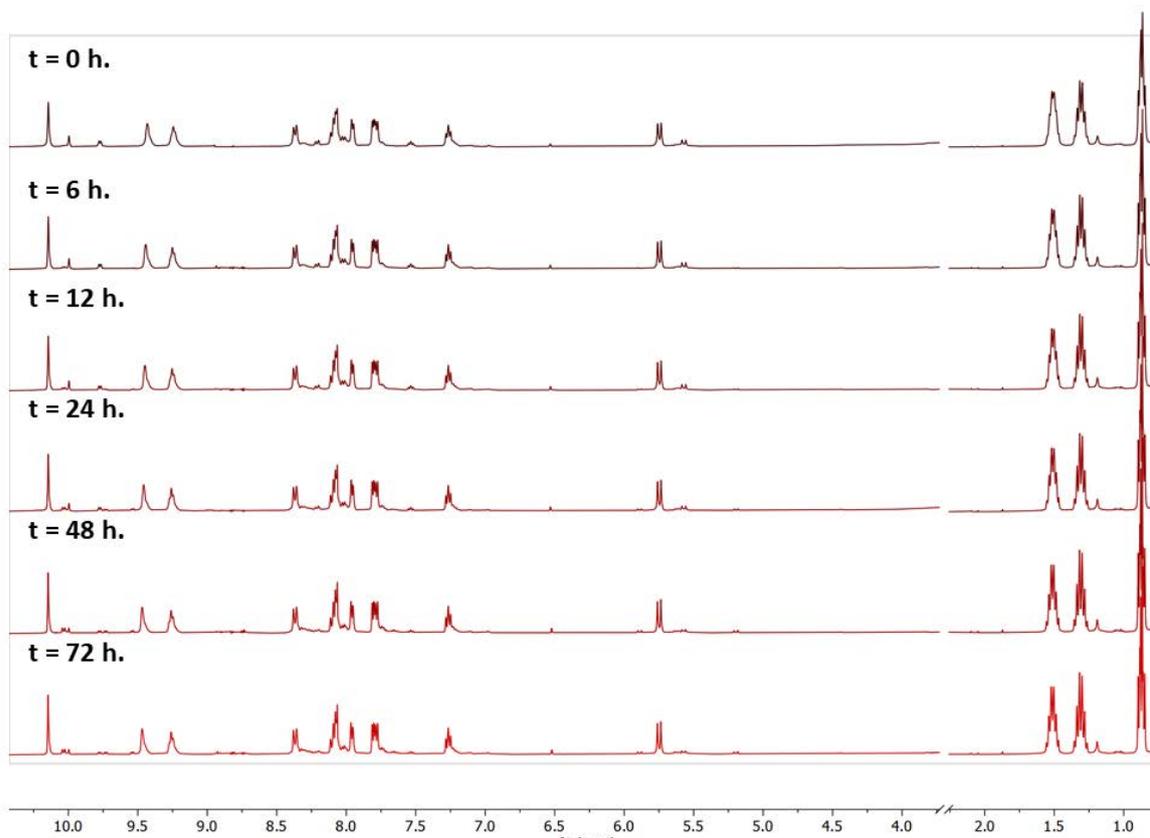


Figura A.2.21. Espectros de RMN ^1H del compuesto **6c-Cl** en DMSO-d_6 .

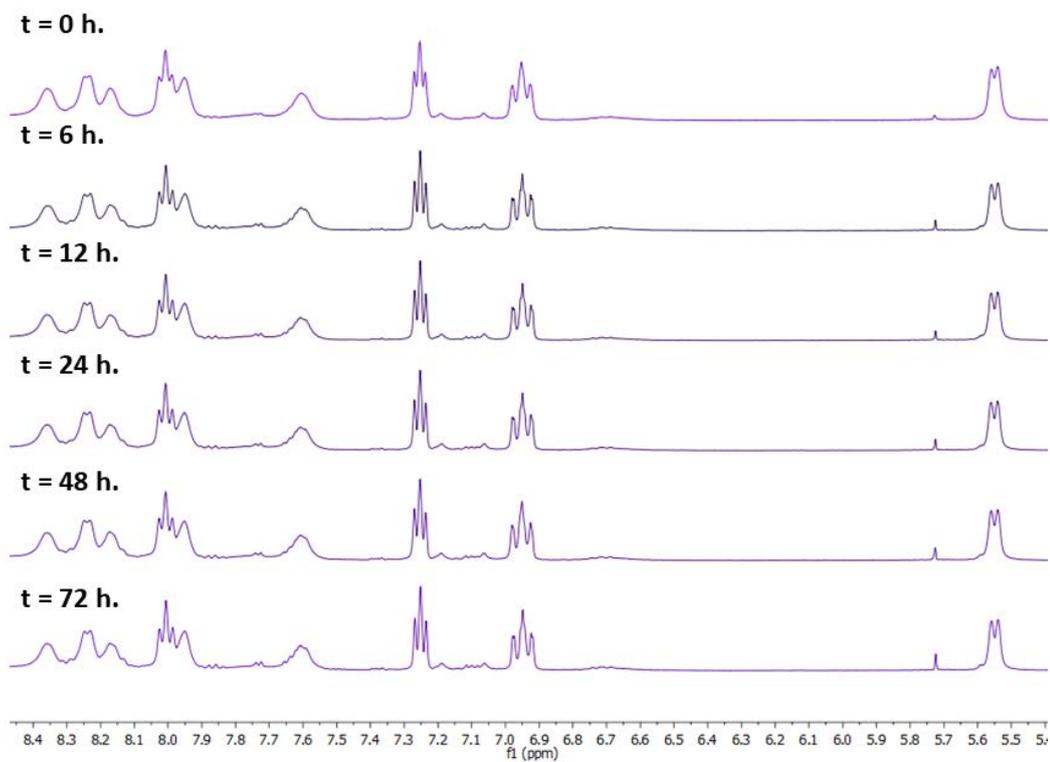


Figura A.2.22. Espectros de RMN ^1H del compuesto **7b-PF₆** en DMSO-d_6 .

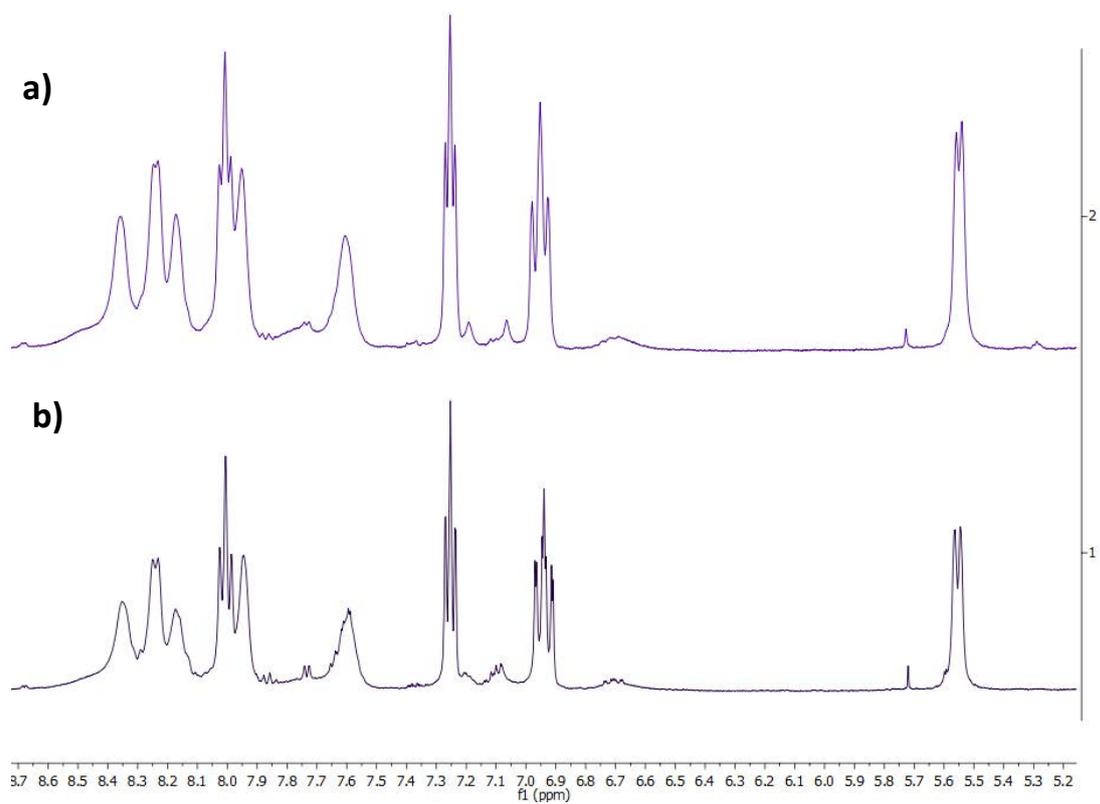


Figura A.2.23. Espectros de RMN ^1H del compuesto **7b-PF₆** en DMSO- d_6 (a) en oscuridad y (b) tras 10 minutos de irradiación con luz azul

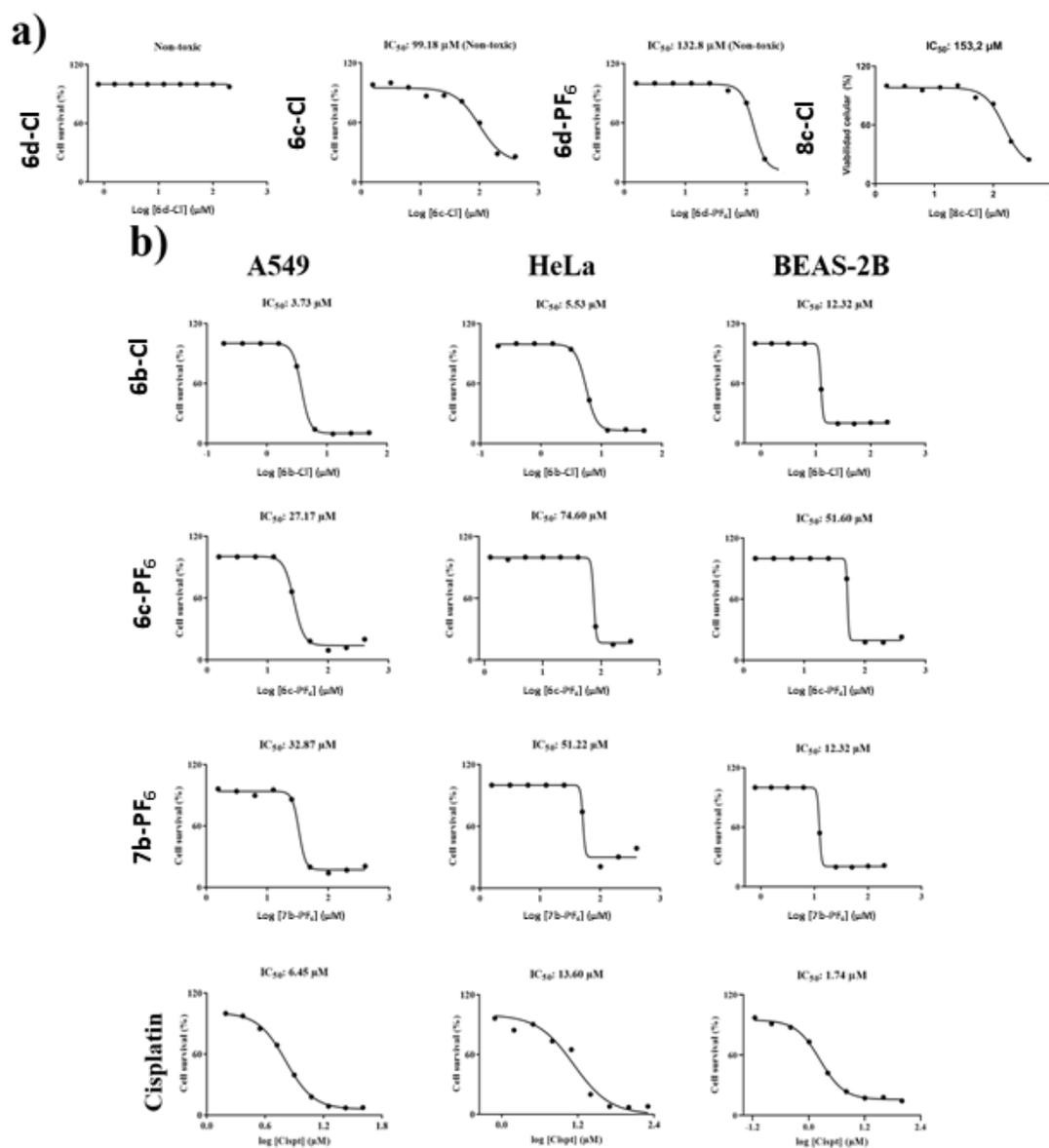


Figura A.2.24. Curvas dosis-respuesta para la determinación de los valores de citotoxicidad IC_{50} para todos los compuestos estudiados en relación a la dada por el cisplatino en las líneas celulares A549, HeLa y BEAS-2B. a) IC_{50} de los compuestos considerados no citotóxicos con $\text{IC}_{50} \geq 100$ (**6d-Cl**; **6c-Cl**: 99.8 μM , **6d-PF₆**: 132.8 μM) en A549. b) IC_{50} de **6b-Cl**, **6c-PF₆**, **7b-PF₆** y del cisplatino (CisPt) en A549, HeLa y BEAS-2B. El valor de IC_{50} corresponde a la dosis mínima necesaria para inhibir el 50% del crecimiento celular, calculado de manera experimental con la dependencia de la supervivencia celular a la dosis de compuesto durante 72 h.

Capítulo 3

Síntesis y propiedades ópticas de compuestos de Ir(III): Integración en LECs.



Capítulo 3

Síntesis y propiedades ópticas de compuestos de Ir(III):

Integración en LECs

3.1. Introducción

El desarrollo de los sistemas de iluminación en estado sólido (SSL del inglés *solid state lighting*) se basa en el concepto de la electroluminiscencia y fue uno de los principales descubrimientos de finales del siglo XX. Este descubrimiento ha generado un fuerte impacto en la vida de los seres humanos, tanto a nivel científico como cotidiano, teniendo un efecto a nivel global. Inicialmente, el fenómeno de electroluminiscencia en materiales inorgánicos, fue descubierto por Destriau y colaboradores en 1936, al observar la emisión de luz proveniente de un sólido fosforescente pulverulento de ZnS colocado entre dos electrodos en atmósfera de vacío.²⁷⁸

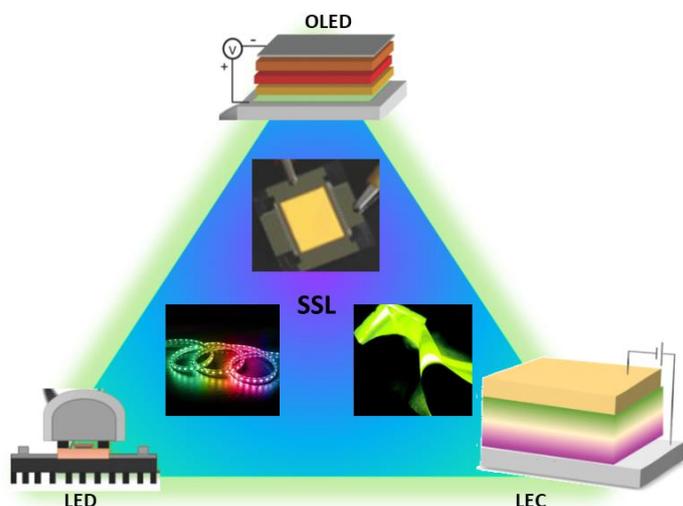


Figura 3.1. Dispositivos basados en SSL (iluminación en estado sólido).

En el caso de la electroluminiscencia, la aplicación de un campo eléctrico a un material genera la emisión de luz sin la generación adicional de energía térmica. Precisamente, esa falta de desactivación no radiativa es lo que hace tan atractiva a la electroluminiscencia en relación a la fotoluminiscencia, en la que la emisión se produce como consecuencia de la generación de estados excitados por la absorción de luz de un

material, que finalmente acaban relajándose a través de mecanismos de decaimientos radiativos y no radiativos.²⁷⁹

De hecho, la tecnología y arquitectura en la que se basan estos dispositivos electroluminiscentes son lo que hace posible la emisión de luz de forma más eficiente. Entre las formas de presentarse, estos dispositivos pueden estar formados por una única película fina o basados en una estructura multicapa formadas por materiales semiconductores orgánicos y/o inorgánicos.²⁸⁰ En estas capas, es donde se produce la emisión de luz a través de la desactivación radiativa de los excitones generados al aplicar un campo eléctrico externo. Estos excitones se forman a través de la recombinación de transportadores de cargas de signos opuestos (electrón-hueco) inyectados en la matriz de un material semiconductor. Así, en contraste con otras fuentes de luz tradicionales, la SSL permite la generación de luz de una manera más eficiente, con una mayor estabilidad y brillo y sin que se produzca calor.²⁸¹

Este descubrimiento impulsó pronto la comercialización de nuevos dispositivos basados en esta tecnología. A principios de los años 60, ya estaban a la venta y disponibles a nivel global los primeros LEDs (*light-emitting diodes*) basados en semiconductores inorgánicos de GaAsP.²⁸² Estos primeros dispositivos emitían principalmente en rojo, dado que el color depende del salto energético entre las bandas de valencia y conducción (gap electrónico) del material semiconductor empleado. Por esta razón, el desarrollo y la búsqueda de nuevos materiales impulsó el incremento de la investigación en esta área. De esta forma se estudiaron y emplearon nuevos materiales formados principalmente por compuestos de los grupos III y V de la Tabla periódica (GaAs, GaP, AlGaAs, InGaP, GaAsP, GaAsInP, o AlInGaP) para acceder así a un mayor abanico de colores.²⁸³

Profundizando un poco en la composición y funcionamiento de los LEDs, estos pueden definirse como pequeñas fuentes de luz formadas por una fina película de semiconductores inorgánicos, en la que se combinan diferentes elementos como el indio, galio, fósforo o el nitrógeno entre otros, dando lugar a la formación de un diodo.^{51a} Así, esta película consta de al menos tres capas, tal y como se muestra en el esquema de la Figura 3.2. Una capa con un semiconductor extrínseco de tipo n y exceso de cargas

negativas o electrones (capa-n), una segunda capa con un semiconductor extrínseco de tipo p, cargado positivamente con huecos o defecto de electrones (capa-p), y la zona de contacto entre ambas capas, dando lugar a la unión p-n o capa activa, en la que se produce la generación de luz. El proceso emisor comienza al aplicar una diferencia de potencial, haciendo que los electrones y los huecos se desplacen en dirección contraria hacia la capa activa, donde se produce la recombinación de cargas que genera los excitones y, finalmente, la luz. La emisión de estos dispositivos presentará una longitud de onda dependiente del salto electrónico de la transición entre la banda de valencia y la de conducción, que depende directamente del material semiconductor del que se compone el LED. De hecho, tanto la eficiencia como la estabilidad que presentan estos dispositivos junto con el ahorro económico y energético que generan²⁸⁴ son algunos de los factores que les ha colocado entre los más empleados para su uso en pantallas, iluminación, vehículos, publicidad o decoración.²⁸⁵ Sin embargo, los LEDs presentan ciertas desventajas como la sensibilidad a los cambios de temperatura o a la tensión, lo que afecta de manera drástica a la calidad de la luz generada. Además, otro aspecto preocupante y que se ha evidenciado más en estos últimos años es el del tipo de materiales que se necesitan para su fabricación. Materiales formados por elementos tales como indio, galio, fósforo y nitrógeno que, además, pueden estar dopados con metales de tierras raras como cerio o itrio. En general, estos materiales son poco accesibles y contaminantes, con una vida útil corta o escasa reciclabilidad.^{51a} En este contexto, los OLED (*organic light-emitting diodes*) y los LECs (*light emitting electrochemical cells*) se perfilan como alternativas interesantes (Figura 3.2). En estos casos, los denominados semiconductores orgánicos, tales como moléculas orgánicas, polímeros y/o compuestos de coordinación, son los responsables tanto de la inyección, como del transporte de los huecos y electrones involucrados para generar la emisión.

En 1963 se publican los primeros estudios en los que se observó como moléculas orgánicas como el antraceno podían generar electroluminiscencia.²⁸⁶ Sin embargo, las bajas eficiencias y cortos tiempos de vida de estos dispositivos hicieron que el interés se centrara más en el desarrollo de dispositivos con materiales inorgánicos. No fue hasta finales de los años 1980s cuando otros grupos como los de Tang y VanSlyke²⁸⁷ o el de Saito y Tsutsui²⁸⁸ empezaron a desarrollar nuevos dispositivos basados en materiales

orgánicos, resolviendo algunos inconvenientes como los elevados costes derivados de la fabricación de los dispositivos mediante deposición de vapor. Esto se resolvió mediante el desarrollo de OLEDs de una sola capa activa de conjugados poliméricos poly(*p*-fenilenvinileno) (PPV).²⁸⁹

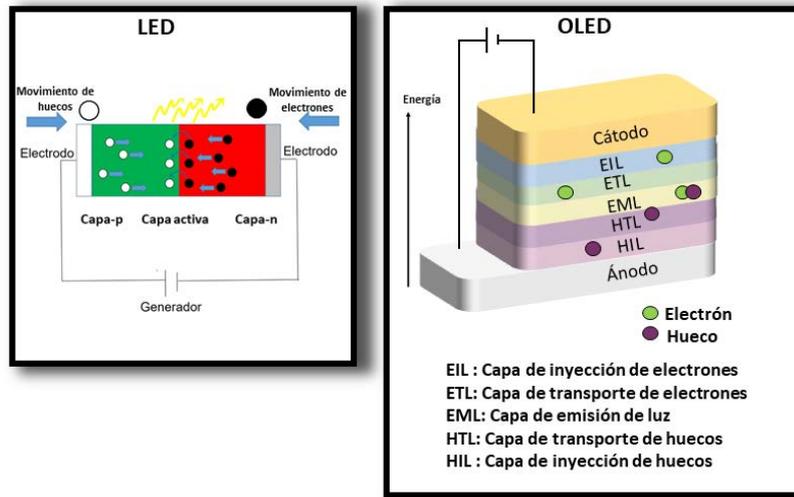


Figura 3.2. Representación esquemática de la composición de SSLs: LED y OLED.

En estos dispositivos, el ánodo suele ser un material semitransparente recubierto de óxido de indio y estaño (ITO), mientras que el cátodo suele ser de metales electropositivos como Al, Ca, Mg o In que garanticen la eficiente inyección de electrones. Al aplicar en los electrodos un voltaje, los electrones pasan desde el cátodo hasta la capa de inyección de electrones (EIL) y los huecos pasan del ánodo a la de inyección de huecos (HIL). A partir de aquí, las cargas atraviesan sus respectivas capas de transporte (capas de transporte de electrones ó ETL y de transporte de huecos ó HTL) hasta llegar a la capa activa donde, al encontrarse, forman los excitones.²⁹⁰ Para lograr una eficiencia elevada, es necesario que la HIL logre inyectar de manera eficiente los huecos desde el ánodo a la HTL (ocurriendo algo similar con los electrones a partir del cátodo). Esto se consigue si el HOMO de esta capa (HIL) se encuentra a un nivel energético próximo al de la HTL y al potencial de ionización del ánodo. En resumen, su funcionamiento depende no sólo del equilibrio entre la densidad y movilidad de los transportadores de carga, sino también entre las energías de los orbitales HOMO y LUMO tanto de la capa de emisión (EML), como de las de transporte de huecos (HTL) y electrones (ETL) (Figura 3.3).²⁹¹

La Figuras 3.2 y 3.3 muestran un esquema de la composición multicapa de los OLEDs;²⁹⁰ cada una de las cuales se prepara por deposición del compuesto que la forma por vaporización en atmósferas controladas.²⁹² Los elevados costes y complejidad en la fabricación de estos dispositivos hacen que se continúen buscando nuevas formas de optimizar la preparación de dispositivos emisores de luz con este tipo de tecnología. En esta línea, los LECs tienen una fabricación más sencilla, presentando únicamente una o dos capas.²⁹³

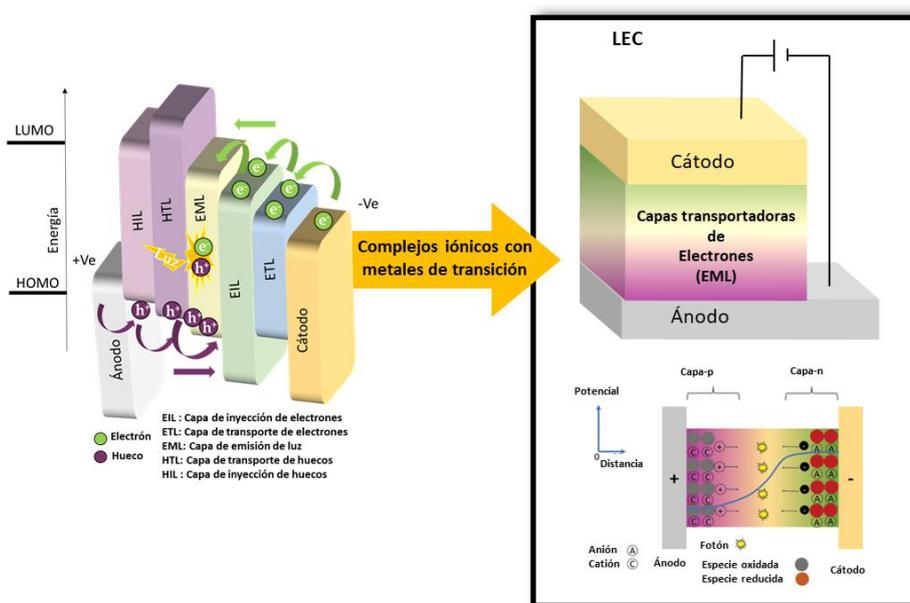


Figura 3.3. Comparación en la composición por capas de un OLED y de un LEC basado en iTMCs y de su funcionamiento.

Las celdas electroquímicas emisoras de luz (LECs) son consideradas como la próxima generación de dispositivos optoelectrónicos debido a su elevada eficiencia energética y su reducido coste de producción. Tal y como se muestra en la Figura 3.3, estos dispositivos constan de una capa activa colocada entre un ánodo transparente y un cátodo estable al aire. Esta capa activa contiene un emisor que ha de presentar un comportamiento electroquímico reversible, alta eficiencia en la fotoluminiscencia en estado sólido y ser de naturaleza iónica. Son muchas las posibilidades a la hora de elegir estos emisores, lo que incrementa en gran medida la versatilidad de estos dispositivos; desde polímeros conjugados (CP) a complejos iónicos de metales de transición (iTMC), moléculas pequeñas (SM), quantum dots (QD) o incluso perovskitas.^{51a, 262, 293-294} Además

estos dispositivos constan también de aditivos iónicos como polielectrolitos iónicos (IP, ionic polyelectrolite) o líquidos iónicos (IL, ionic liquid) (Figura 3.4). Las combinaciones más empleadas en los LECs son las de polielectrolitos con CPs, SMs y QDs²⁹⁵ o las de líquidos iónicos con iTMCs.²⁶²

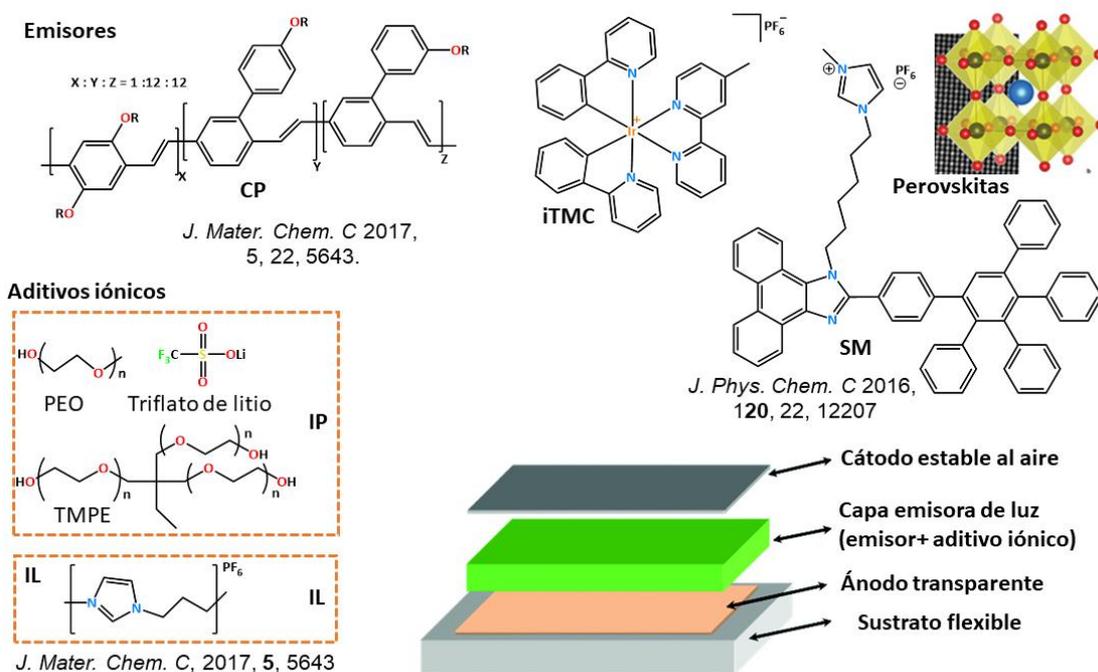


Figura 3.4. Diferentes clases de emisores y aditivos iónicos en la composición de un LEC.

Los elevados rendimientos energéticos junto con su sencilla arquitectura y funcionamiento, además de sus bajos costes de producción, auguran un futuro brillante a estos dispositivos y, por ello, su desarrollo está creciendo de manera exponencial.²⁹⁶ Tal y como se ve en la Figura 3.4, su arquitectura consta de una única capa activa en la que el material electroluminiscente o emisor^{293, 297} se mezcla con un electrolito iónico, empleado como fuente de iones móviles. Estos componentes son depositados desde disoluciones, mediante procesos fácilmente escalables,²⁹⁸ entre los dos electrodos estables al aire (ánodo normalmente de óxido de indio y estaño y cátodo de oro, plata o aluminio).²⁹⁹ Por todas estas razones, los LECs pueden formar parte de dispositivos con rendimientos moderados en diferentes formatos, tal y como se presenta en la Figura 3.5.³⁰⁰

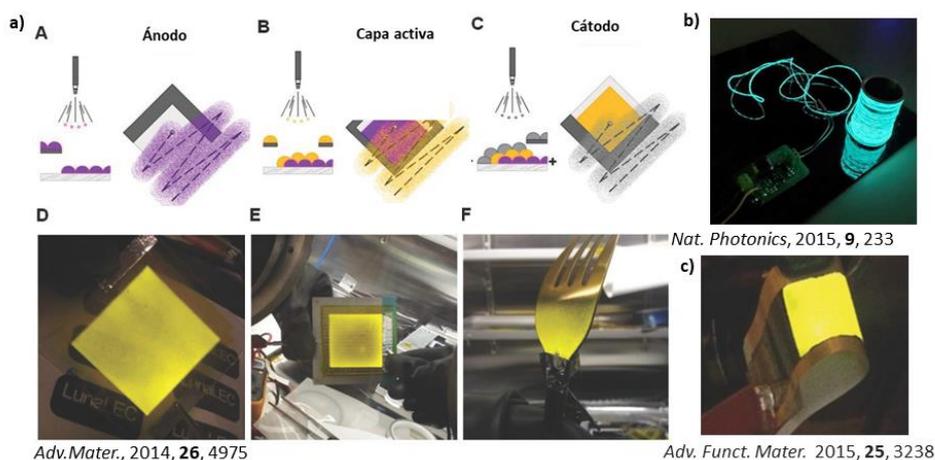


Figura 3.5. Diferentes formatos en los que se pueden implementar los LECs: a) ejemplo de formato tridimensional en lámina o en un tenedor, junto con un esquema que muestra el sencillo proceso de formación del dispositivo; b) en hilos y c) en lámina flexible.

Aunque la composición y fabricación es más sencilla, su funcionamiento no lo es tanto y se han desarrollado diferentes modelos para su correcta comprensión. Entre estas teorías se encuentran las del modelo electrodinámico^{299, 301} y el modelo electroquímico (Figura 3.6).³⁰² En un principio, las especies iónicas se encuentran distribuidas de forma aleatoria por la capa activa. Entre los electrodos y la capa emisiva existen las barreras de inyección (de electrones y huecos). Al aplicar un potencial externo, estos iones migran hacia los polos con cargas opuestas, reduciendo las barreras de inyección de los portadores de cargas y formando las llamadas capas eléctricas dobles (EDLs del inglés *electrical double layers*), que permiten la inyección de cargas desde cualquier tipo de electrodo. Las diferencias entre los modelos consisten en cómo se reduce esa barrera de inyección provocada por la migración y redistribución de los iones.

El modelo electrodinámico (ED, *electrodynamic model*) fue propuesto en 1998 por DeMello y col.^{299, 303} y apoyado años más tarde por otros estudios en los que se emplearon LECs basados en emisores iTMC.³⁰⁴ Este modelo sugiere que la formación de las EDLs se produce por acumulación de iones (cationes y aniones) en los extremos de los electrodos y los iones móviles de las capas emisivas. Esta formación conduce a la generación de un campo eléctrico que compensa el potencial interfacial, facilitando así la inyección de transportadores de cargas (electrones y huecos).²⁹³

El modelo electroquímico (ECD, *electrochemical doping model*) fue publicado por Pey y colaboradores en 1995.³⁰² En el explicaban el funcionamiento de un dispositivo que consistía en una mezcla de polímeros (emisores, conductores iónicos y una sal inorgánica) que funcionaba empleando bajos potenciales. La mayor diferencia reside en que una vez formadas las EDLs, a través de uniones iónicas entre electrodos e iones móviles, y producirse la inyección de cargas (electrones y huecos),^{299, 305} se produce la oxidación y reducción de las especies emisoras en los electrodos. De esta manera, los emisores electroquímicamente dopados de forma p (con huecos) o n (con electrones) quedan cerca de dichos electrodos. Estas regiones dopadas forman contactos óhmicos con el electrodo correspondiente facilitando la inyección de electrones a la capa activa. Con el tiempo, las regiones dopadas p y n se ensanchan creando la llamada unión p-i-n con una región neutra, no dopada. Esta unión, al expandirse y unir los electrodos, genera una brusca disminución del potencial en el LEC, favoreciendo la recombinación de las cargas (formando excitones) y por tanto la emisión de luz en la zona i. (Figura 3.3a)^{3, 31-32}

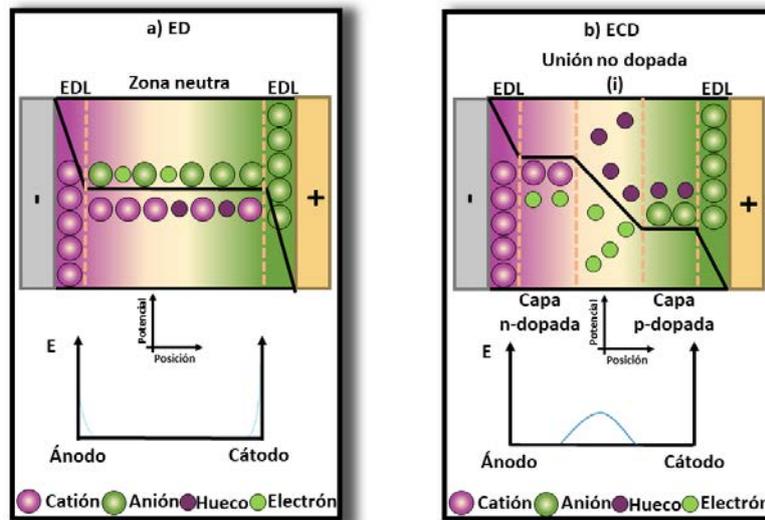


Figura 3.6. Diagramas esquemáticos que representan el perfil de potencial y la distribución electrónica e iónica de un LEC durante su funcionamiento en a) el modelo ED y b) el modelo ECD. La línea negra representa el potencial (eV). Las distribuciones electrónicas y de cargas iónicas vienen representadas en verde (cargas negativas) y morado (cargas positivas).

Por tanto, podemos decir que la disminución brusca del potencial se produce cerca de las interfases, según el modelo ED, o a través de la unión p-i-n, según el modelo ECD. Estudios recientes han demostrado que estos dos modelos pueden coexistir,

estando ambos corroborados por estudios teóricos y ensayos experimentales.³⁰⁶ El modelo depende de la naturaleza de inyección de los portadores y de la formación de los contactos óhmicos.³⁰⁶⁻³⁰⁷

Cuando se aplica un voltaje, los iones de la capa emisiva comienzan a migrar, lo que contribuye al desarrollo simultáneo de las EDL y las regiones dopadas p ó n. En caso de que las EDL se desarrollen a un ritmo más rápido que las regiones dopadas, eliminando la posibilidad de formar contactos óhmicos, el modelo que se ajusta será el ED. Es decir, una mala inyección de portadores puede conducir al modelo ED. Por el contrario, si se produce la formación lenta de la EDL, permitiendo que la formación de contactos óhmicos en las interfases de ambos electrodos, entonces nos ajustamos al modelo ECD.

Los primeros ejemplos publicados de LECs se basaban en polímeros conjugados dopados con sales inorgánicas.³⁰² Pero pronto se comenzaron a emplear emisores basados en iTMCs. Dentro de este campo, los complejos ciclotmetalados han ganado un fuerte protagonismo debido a sus interesantes propiedades fotofísicas, lo que los hace excelentes candidatos para un gran número de aplicaciones.^{200, 308} Estos compuestos presentan la fórmula general $[M(X)_{3-n}(Y)_n]^{x+}$ y suelen estar formados por un centro metálico de carácter catiónico (Ir(III), Ru(II), Os(II) o Pt(II)). Precisamente, ese carácter catiónico contribuye tanto al transporte de cargas como a la recombinación de las mismas, produciendo la emisión. Esto suprime la necesidad de emplear materiales conductores de iones, necesarios en los LECs que emplean CPs como emisores. Estos LECs no presentan tantos componentes, lo que reduce la posible formación de agregados o separaciones de fases, que pueden afectar dramáticamente a la morfología de la capa activa y limitar su correcto funcionamiento. Además, este grupo de emisores presentan una elevada estabilidad, tanto térmica como fotoquímica. Por lo general, estos emisores presentan excelentes propiedades fotoluminiscentes, tales como elevados rendimientos cuánticos y los cortos tiempos de vida propios de las emisiones fosforescentes de complejos metálicos.^{262, 309}

El primer LEC basado en iTMC fue descrito en 1996, empleándose un compuesto catiónico de Ru(II) polipiridínico.^{51a} Esto abrió la puerta al inicio de numerosos estudios

sobre el empleo de emisores de Ru(II)^{51a, 310}, Os(II)³¹¹ o Cu(II)³¹². Sin embargo, las propiedades ópticas de estos compuestos no permiten la obtención de emisiones con colores azules debido a sus limitadas energías de desdoblamiento campo-ligando. Por estas razones, comenzaron a emplearse como iTMCs algunos complejos ciclometalados de Ir(III) como los que se presentan en la Figura 3.7.

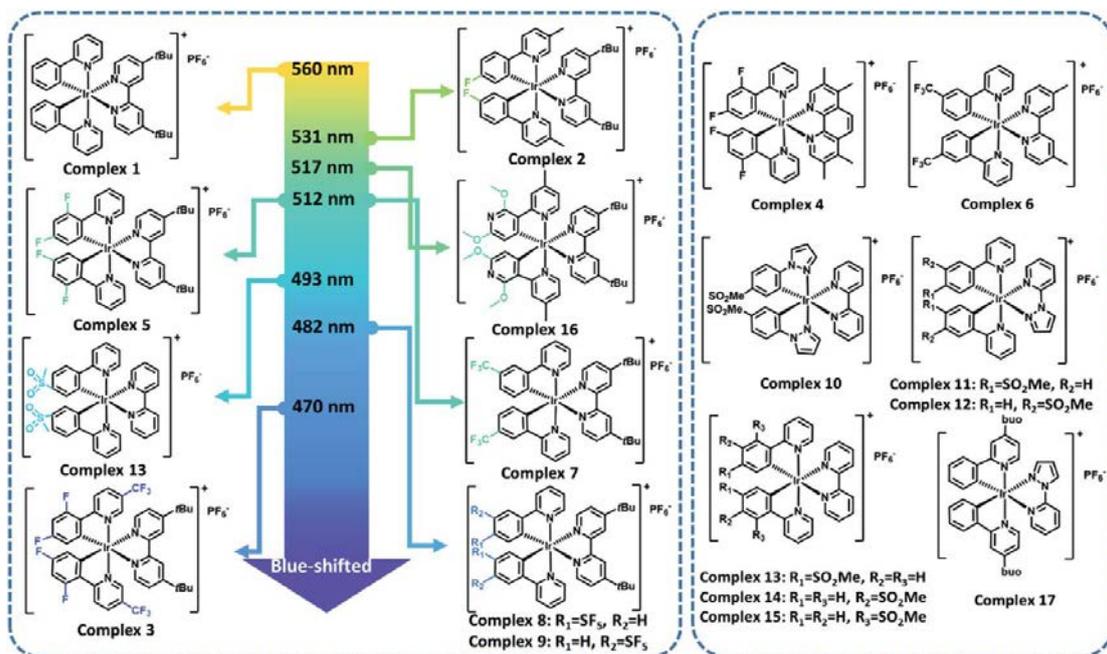


Figura 3.7. Diferentes Ir-iTMCs en los que se emplean derivados de la fenilpiridina como grupos ciclometalados.³¹³

Lo que convierte a los complejos ciclometalados de Ir(III) (Ir-iTMCs) en unos de los mejores candidatos para su empleo como emisores en LECs es que sus emisiones presentan longitudes de onda que pueden abarcar todo el espectro visible. Esto se debe al gran desdoblamiento de campo-ligando que presentan estos derivados.³¹⁴ Como ya se ha mencionado en la introducción, en estos compuestos, tanto los grupos ciclometalados como los ligandos auxiliares pueden ejercer un papel importante en la modulación de sus propiedades ópticas, además de influir en la intensidad de la emisión, su estabilidad o en el tiempo empleado en alcanzar la intensidad máxima del dispositivo (T_{max}).³¹⁵ Así, se pueden obtener LECs que emitan en azul, algo muy complicado en otros dispositivos SSL e, incluso, con otros metales. Así, la introducción de grupos aceptores (o dadores) de densidad electrónica en los grupos ciclometalados (o en los auxiliares) produce una ampliación en el gap de energía debido a la estabilización del HOMO (o a la

desestabilización del LUMO). Por ejemplo, el uso de ligandos dadores bidentados N^N, N^O, y O^O pueden compatibilizar la energía de emisión con la de generación de huecos y electrones; o el empleo de ligandos en los que se amplíe la conjugación π puede modificar tanto la longitud de onda como los rendimientos cuánticos de emisión.³¹⁶

El primer compuesto ciclotmetalado de Ir(III) empleado como emisor en un LEC se fabricó por primera vez en 2004 por Slinker y colaboradores,³¹⁷ empleando el compuesto $[\text{Ir}(\text{ppy})_2(\text{dtbbpy})]\text{PF}_6$ (dtbbpy = 4,4'-di-terc-butil-2,2'-bipiridina) (Figura 3.8a). Su objetivo era conseguir dispositivos que emitieran en el azul. Sin embargo, consiguieron emisiones amarillas con eficiencias superiores a las conseguidas por otros iTMCs publicados hasta la fecha.³¹⁷ No obstante, el dispositivo sufría una rápida degradación debido al elevado calentamiento de la capa orgánica, que acababa provocando la descomposición de la dtbbpy .³¹⁸ Este mismo grupo comprobó que podían disminuir el tiempo de encendido (T_{on}) del dispositivo introduciendo un líquido iónico (IL), el hexafluorofosfato de 1-butil-3-metil imidazolio (BMIP), en la capa de inyección de electrones.³¹⁹ Por otro lado, al introducir sustituyentes de tipo diamino en la bipiridina se produce un incremento en los rendimientos de la fosforescencia, desplazando ahora sí la emisión al azul (Figura 3.8b).³²⁰ En esta línea, la incorporación de ligandos cargados produce una disminución en el T_{max} en estos dispositivos e, incluso, se ha demostrado una mejora en la eficiencia al introducir cadenas alquílicas con grupos $-\text{NEt}_3^+$ terminales en la bipiridina. Esto lleva a la idea de que la ampliación de la cadena se ve directamente relacionada con el aumento en la eficiencia de los dispositivos, como en el caso del compuesto de la Figura (3.8c).³²¹

Pero además del interés por ajustar los colores de emisión de los LECs, muchos esfuerzos buscan producir dispositivos con alta luminancia y eficiencia. En este contexto, una buena forma de conseguir estos propósitos es el empleo de ligandos voluminosos que generen un impedimento estérico, disminuyendo las posibles interacciones intermoleculares entre compuestos, que desactiven de forma no radiante la emisión de los mismos.³²² Un buen número de estudios ha revelado que la formación de interacciones de tipo π - π intra- e inter-moleculares pueden llegar a ser perjudiciales para la estabilidad del dispositivo, rebajando su vida útil. Tenemos que pensar que en la capa activa de estos dispositivos se depositan moléculas de estos complejos emisores puros.

Por lo tanto, estas moléculas pueden establecer estas interacciones entre ellas, generando un autoapagado y un desequilibrio en la inyección y recombinación de las cargas, lo que acaba influyendo en el rendimiento de los dispositivos. El empleo de sustituyentes voluminosos ayuda a rebajar el autoapagado, debilitando las posibles interacciones de apilamiento y aumentando la distancia entre los centros metálicos (Figura 3.8d).³²³ La inserción de cadenas alquílicas en posiciones 4,4' también es una buena forma de evitar el autoapagado de los dispositivos, algo que se ha probado con el complejo de la Figura 3.8e.³²⁴ Estos ligandos no solo ayudan a rebajar la formación de interacciones moleculares, también protegen de la degradación de los Ir-iTMC en los LEC mediante posibles ataques nucleófilos al metal. En esta línea el grupo del Prof. Costa y colaboradores describieron un LEC con el complejo $[\text{Ir}(\text{ppy})_2(\text{phen})](\text{PF}_6)$ como emisor (Figura 3.8f),³²⁵ observando que la presencia de ligandos de este tipo separan las moléculas y evita considerablemente el *auto-quenching*.

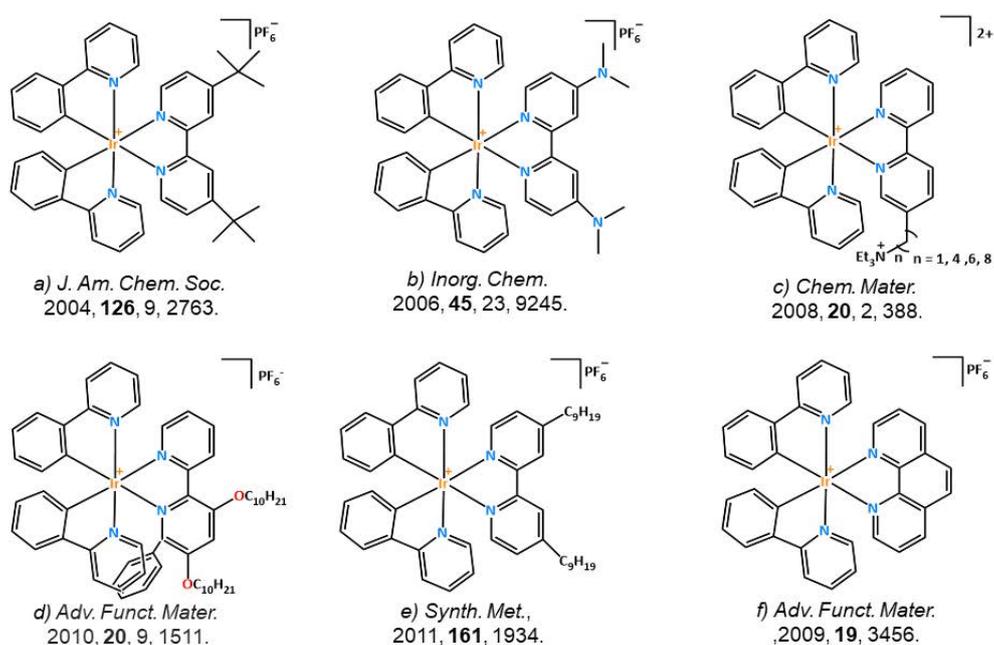


Figura 3.8. Algunos complejos catiónicos heterolépticos de Ir(III) (Ir-iTMCs) usados en la fabricación de LECs.

Más recientemente, se han publicado estudios sobre los efectos que genera la longitud de las cadenas alquílicas en los ligandos auxiliares sobre las propiedades electroluminiscentes de los LECs. Para ello emplearon los ligandos ciclometalado *ppy* o

dfppy, dando emisiones amarillas y verdes respectivamente, sin que la longitud de la cadena afecte significativamente al color de la emisión. Sin embargo, sí que modificó la intensidad de emisión, siendo esta menor en el caso de los derivados con cadenas más largas (octilo) en relación a las que presentaban un metilo.³¹⁴

Todos los estudios llevados a cabo hasta el momento en este área han hecho posible la fabricación de LECs con estabilidades superiores a las 6000 horas³²⁶ y eficiencias máximas de $\approx 60 \text{ cd}\cdot\text{A}^{-1}$.^{1a} Sin embargo, y dado que estos resultados se han conseguido en condiciones de atmosfera inerte, también ponen de manifiesto la urgente necesidad de buscar emisores que sean más estables en condiciones ambientales. Así, cambios en la morfología, fotoluminiscencia y conductividades eléctricas e iónicas de las capas activas pueden verse gravemente afectadas al funcionar en condiciones ambientales normales, al exponerlas a estrés mecánico u operando bajo diferentes modos de trabajo. En este sentido, se ha desarrollado más el diseño de LECs estables basados en CPs que contengan, además, electrolitos iónicos (IL o IP) en la fase activa.³²⁷ Sin embargo, recientemente se ha publicado un estudio que pone de manifiesto la mejora de las propiedades fotofísicas e, incluso, mecánicas, de dispositivos que emplean un Ir-*i*TMC, $[\text{Ir}(\text{ppy})_2(\text{dtbbpy})]\text{PF}_6$, junto con electrolitos iónicos (IL o IP).³²⁸

En este capítulo se desarrolla la síntesis, caracterización y estudio de propiedades ópticas de una familia de compuestos catiónicos ciclometalados de Ir(III) con la fórmula general $[\text{Ir}(\text{ppy})_2(\text{N}^{\wedge}\text{N})]\text{PF}_6$ o $[\text{Ir}(\text{dfppy})_2(\text{N}^{\wedge}\text{N})]\text{PF}_6$, donde $\text{N}^{\wedge}\text{N}$ son bipyridinas funcionalizadas en las posiciones 4,4' con amidas de cadenas alquílicas ($\text{CONH}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$) de longitudes variables [$n = 3$ (**6a-PF₆**, **6b-PF₆**), 11 (**7a-PF₆**), 15 (**8a-PF₆**) o con grupos funcionales olefina ($\text{CONH}(\text{CH}_2)_8\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$; **9a-PF₆**) o polietilenglicol (PEG, $-\text{CONH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3\text{CH}_3$, **10a-PF₆**). Todos los compuestos de esta familia se han preparado para comprobar su potencial como emisores *i*TMCs en LECs, tal y como se hizo en trabajos anteriores con el compuesto $[\text{Ir}(\text{ppy})_2(\text{bpy})]\text{PF}_6$, $[\text{Ir}(\text{ppy})_2(\text{phen})]\text{PF}_6$ ³²⁵ o con $[\text{Ir}(\text{ppy})_2(\text{dtbbpy})]\text{PF}_6$.³²⁸

Como se ha comentado, el proceso de generación de luz pasa por la recombinación de los iones móviles cerca de los extremos de los electrodos, lo que genera las EDLs en respuesta a un potencial aplicado y facilita la inyección eficiente de las

cargas. De esta forma, crecen las regiones dopadas p y n en las fronteras de los electrodos, proceso controlado también por la presencia de iones, mientras que la zona en la que se produce el decaimiento de los excitones (i) permanece neutral. Así, en la unión p-i-n formada en la capa se desarrolla tanto la inyección y transporte de cargas como la formación de excitones. Todo en una única capa electroactiva en la que la presencia y naturaleza del electrolito empleado juega un papel trascendental, tanto en la formación de las EDLs, como en la estabilización de la unión p-i-n. Por este motivo, uno de los objetivos principales de este capítulo ha sido la síntesis de complejos funcionalizados con grupos alifáticos que los hicieran compatibles con el uso de electrolitos iónicos sostenibles desde el punto de vista medioambiental. De hecho, uno de los derivados presentados en el capítulo, el complejo $[\text{Ir}(\text{dfppy})_2(\text{dbppy})]$ **6b-PF₆**, ya ha sido utilizado con éxito en el grupo del Prof. Costa en la Universidad Tecnológica de Múnich, para el desarrollo de un LEC que utiliza un electrolito biogénico (acetato de celulosa). Dicho dispositivo no sólo supera la pérdida de rendimiento observada hasta la fecha al aplicar otros “electrolitos verdes” (polímeros biodegradables y electrolitos híbridos de ADN),³²⁹ sino que proporciona una mayor estabilidad y un aumento del doble en el rendimiento del dispositivo cuando se compara con otros dispositivos de referencia que usan electrolitos iónicos tradicionales. Este trabajo ha sido publicado recientemente en *Adv. Funct. Mater.* 2022, 32, 2201975 (D.O.I. [10.1002/adfm.202201975](https://doi.org/10.1002/adfm.202201975)).

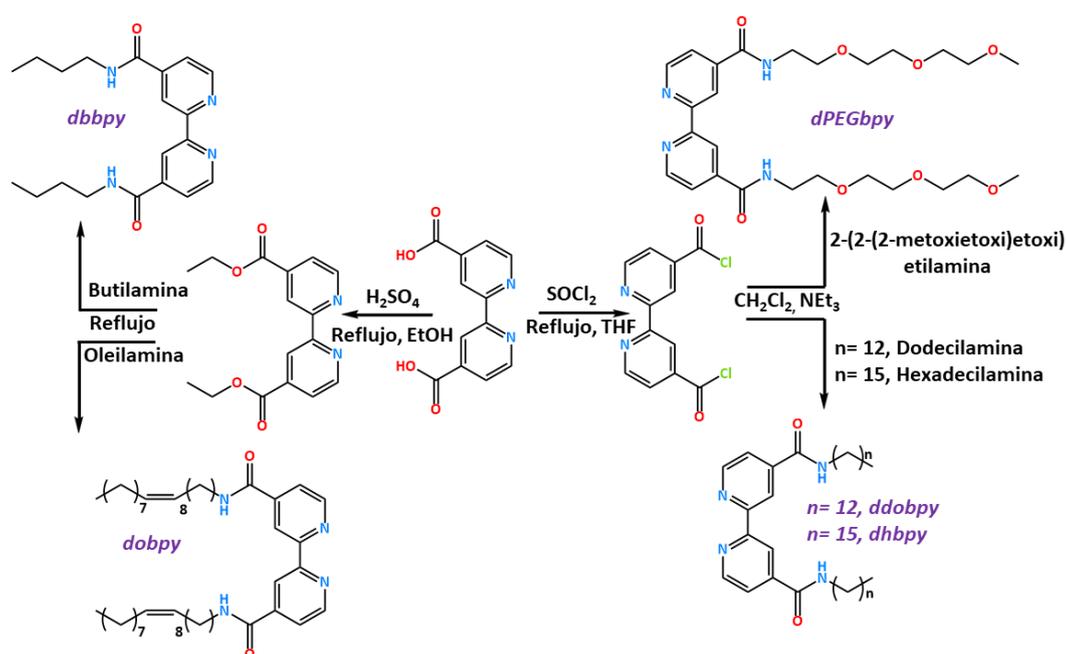
3.2 Síntesis y caracterización

3.2.2 Síntesis

Todas las reacciones llevadas a cabo para la preparación de los derivados organometálicos que constituyen esta familia de compuestos se han llevado a cabo en condiciones anhidras y de atmósfera inerte de N₂, empleando para ello disolventes recién destilados, como en el caso del metanol, para evitar la generación de reacciones secundarias. En primer lugar, los ligandos *Hppy* (**a**) y *Hdfppy* (**b**) provienen, como en casos anteriores, de proveedores comerciales. La preparación de todos los compuestos nuevos se ha realizado partiendo de los derivados bimetálicos [Ir(*ppy*)₂(μ-Cl)]₂ (**5a**) y [Ir(*dfppy*)₂(μ-Cl)]₂ (**5b**). En ambos casos, la preparación se ha realizado usando métodos ya descritos en la literatura con pequeñas modificaciones. En el caso de [Ir(*ppy*)₂(μ-Cl)]₂ (**5a**), empleando un método modificado³³⁰ respecto del descrito en 1984 por Watts y col.,³³¹ mientras que la síntesis del precursor [Ir(*dfppy*)₂(μ-Cl)]₂ (**5b**) ha sido descrita en el capítulo 2, dado que se ha empleado para la preparación del compuesto **6b-Cl**.²⁵⁵

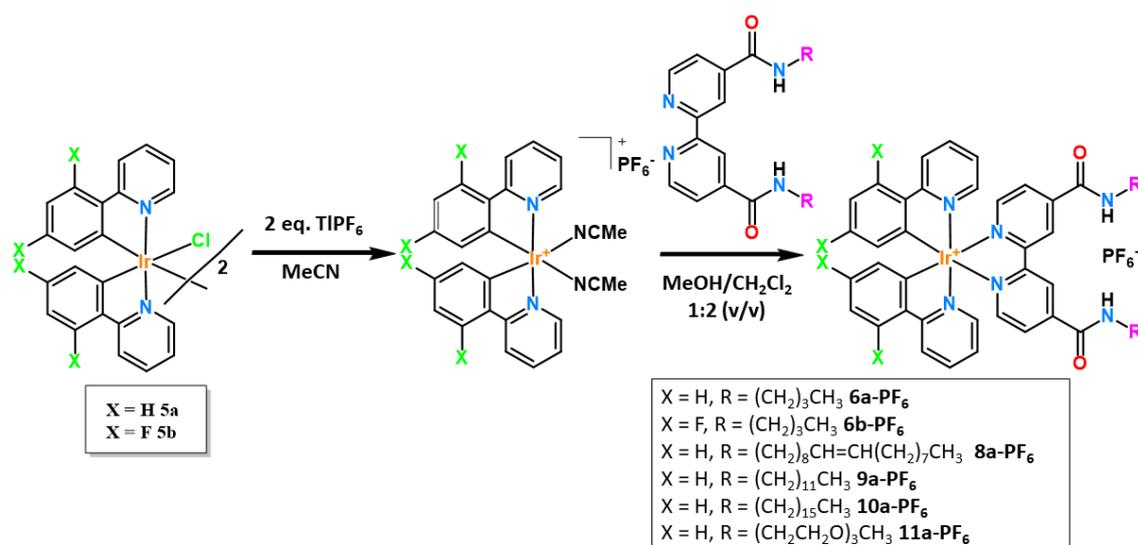
Por su parte, los ligandos auxiliares diimina (*bpy*) funcionalizados fueron sintetizados siguiendo procedimientos previamente publicados.⁶¹ Este es el caso de la preparación de las bipyridinas funcionalizadas con la dibutil-carboxamida y la dioleil-carboxamida, que en ambos casos se obtienen de manera similar (esquema 3.1, Izda). Así, como se explica en el capítulo 2 para la preparación de la *N,N'*-dibutil-2,2'-bipyridina-4,4'-dicaboxamida (*dbbpy*), la síntesis comienza con la obtención del intermedio 4,4'-bis(etoxicarbonil)-2,2'-bipyridina, por reacción a reflujo en etanol de la ácido 4,4'-dicarboxílico 2,2'-bipyridina con H₂SO₄. Este intermedio se pone a reflujo en butilamina u oleilamina para dar la *N,N'*-dibutil-2,2'-bipyridina-4,4'-dicaboxamida (*dbbpy*), o la *N,N'*-dioleil-2,2'-bipyridina-4,4'-dicaboxamida (*dobpy*), respectivamente. Para el resto de las bipyridinas funcionalizadas, se ha empleado otro procedimiento sintético debido a problemas de solubilidad (dodecilamina o hexadecilamina) o de reactividad (2-(2-(2-metoxietoxi)etoxietilamina)) de los productos de partida. Por ello, se ha seguido un procedimiento previamente establecido para la preparación de la bipyridinas funcionalizadas con grupos con 3-aminopropiltriétoxisilano.³³² Este método pasa por la preparación del intermedio 4,4'-bis(clorocarbonil)-2,2'-bipyridina a partir de

la reacción del ácido 2,2'-bipiridina-4,4'-dicarboxílico con cloruro de tionilo. Una vez obtenido, y en presencia de medio básico (trietilamina), se añade la amina correspondiente [dodecilamina, hexadecilamina o 2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etilamina] para dar la bipiridina funcionalizada respectiva: N,N'-didodecil-2,2'-bipiridina-4,4'-dicaboxamida (*ddbpy*), N,N'-dihexadecil-2,2'-bipiridina-4,4'-dicaboxamida (*dhbpy*) o N,N'-di-2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl-2,2'-bipyridine-4,4'-dicarboxamide (*dPEGbpy*) (esquema 3.1).



Esquema 3.1 Preparación de los ligandos bipiridina funcionalizados con amidas.

Todos los complejos ciclometalados de Ir(III) monometálicos que conforman esta familia se han preparado siguiendo métodos sintéticos publicados anteriormente, con pequeñas modificaciones en función de los ligando empleados. Como se aprecia en el esquema 3.2, todos ellos pasan por la preparación del solvato $[\text{Ir}(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2(\text{NCMe})_2]\text{PF}_6$ ($\text{C}^{\wedge}\text{N} = \text{ppy}$ (**a**) o *dfppy* (**b**)),²⁵⁶ partiendo de la reacción de los derivados bimetalicos $\mu\text{-Cl}$ disueltos en acetonitrilo con TlPF_6 . Estos solvatos reaccionan con un equivalente de la correspondiente bipiridina funcionalizada para dar sólidos naranjas [*dbbpy* (**6a-PF₆**) 80%), *dobpy* (**8a-PF₆**) 70%), *ddbpy* (**9a-PF₆**) 65%), *dhbpy* (**10a-PF₆**) 81%), *dPEGbpy* (**11a-PF₆**) 88%] o amarillo [*dbbpy* (**6b-PF₆**) 75%].



Esquema 3.2. Síntesis de los derivados **6(a,b)-PF₆**, **8a-PF₆**, **9a-PF₆**, **10a-PF₆** y **11a-PF₆**.

3.3.2 Caracterización

Todos los compuestos **6(a,b)-PF₆**, **8a-PF₆**, **9a-PF₆**, **10a-PF₆** y **11a-PF₆** han sido caracterizados mediante las técnicas habituales de espectrometría de masas de alta resolución y otras técnicas espectroscópicas como infrarrojo, absorción y resonancia magnética nuclear de ¹H, ¹³C {¹H} y ¹⁹F{¹H}. Se ha podido realizar la asignación completa de las señales de RMN con ayuda de los experimentos de correlación bidimensional ¹H - ¹H COSY, ¹H - ¹³C HMBC y ¹H - ¹³C HSQC.

Los espectros de masas ESI(+) de todos los compuestos muestran como pico padre (100%) la señal correspondiente al catión molecular [M]⁺, presentando la distribución isotópica adecuada.

En los espectros de infrarrojo se pueden observar las señales debidas a vibraciones de tensión C-H, tanto aromáticas (3150 – 3000 cm⁻¹) como alifáticas (3000 – 2800 cm⁻¹), así como a las señales típicas de vibración de anillo aromático (1600 a 1400 cm⁻¹), todas ellas características tanto de los ligandos ciclotalados (*ppy* y *dfppy*) como de las bipyridinas funcionalizadas. La presencia de la *dfppy* en el derivado **6b-PF₆** se refleja por la presencia de bandas a 1297 cm⁻¹ debidas a ν(C-F). La funcionalización de las bipyridinas con el grupo amida se confirma a través de las señales que aparecen a ≈ 3400 y 1660 cm⁻¹, las cuales se deben a ν(N-H) y a ν(C=O), respectivamente. Todos los

derivados que componentes esta familia presentan el PF_6 como contraión, lo que se refleja en una banda muy característica y de elevada intensidad a 830 cm^{-1} $\nu(\text{P-F})$.

Los espectros de RMN de ^1H y $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ en DMSO-d_6 de todos los compuestos muestran la presencia de las señales esperadas para derivados con simetría C_2 , formados por dos grupos ciclotmetalados *ppy* (**a**) ó *dfppy* (**b**) equivalentes y un ligando auxiliar simétrico. Tal y como se observa en la Figura 3.9 y Figura A3.1 del apéndice la funcionalización de los ligandos auxiliares de tipo diimina apenas afecta a los desplazamientos de las señales correspondientes a ambos tipos de anillos aromáticos. De todas esas señales, la que aparece más desapantallada en los espectros de RMN de ^1H es la de los protones más próximos a la función amida (H^3) de la bipyridina, que aparece como un singlete a $\delta \approx 9.19 - 9.11$ ppm. Es también notable el desplazamiento que sufre la señal NH en **11a-PF₆** ($\delta = 9.14$ ppm) por la presencia de grupos etóxido que ceden densidad electrónica en la cadena funcionalizada, provocando probablemente este desapantallamiento en relación al resto de derivados ($\delta \approx 9.04$ ppm).

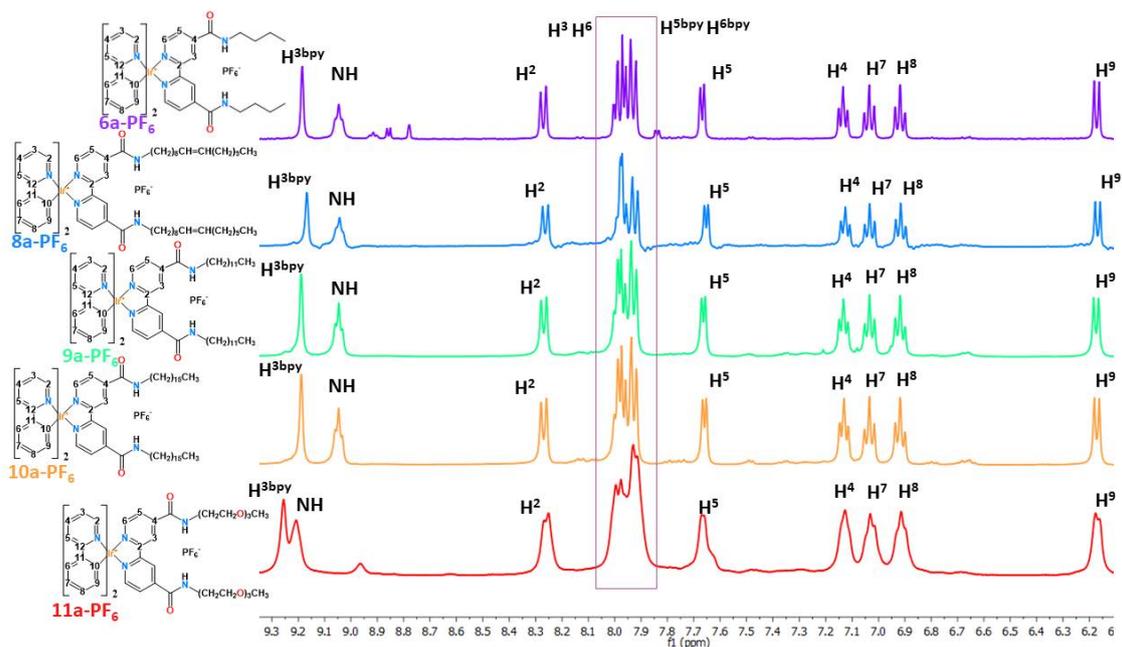


Figura 3.9. Espectros de RMN de ^1H (zona aromática) de los derivados con *ppy* (serie **a**) en DMSO-d_6 .

En la Figura 3.10 se muestra una ampliación de la zona de protones alifáticos en los espectros de RMN ^1H en DMSO-d_6 de los derivados con la *ppy* (**a**). En todos ellos aparecen las señales propias de las cadenas de las amidas funcionalizadas en las posiciones 4 y 4' de los correspondientes ligandos auxiliares N^-N ; butilamida (**6a-PF₆**),

oleilamida (**8a-PF₆**), docecilamida (**9a-PF₆**), hexadecilamida (**10a-PF₆**) y o PEGamida (**11a-PF₆**). En todos ellos la señal más apantallada es la del grupo metilo terminal. En el caso del compuesto **9a-PF₆**, las señales debidas al alqueno de la oleilamida aparecen como un multiplete a 5.24 ppm; mientras que en el caso del complejo **11a-PF₆**, las señales correspondientes a los grupos etóxido aparecen como multipletes a aproximadamente 3 ppm. Para los dos complejos con butilamida (**6a,b-PF₆**), se distinguen las tres señales de los grupos CH₂ como quintupletes o sextupletes por acoplamientos ³J_{H-H}. Sin embargo, los espectros de los derivados que presentan cadenas alifáticas de mayor extensión (**8a-PF₆**, **10a-PF₆** y **11a-PF₆**) muestran señales multiplete sobre 1.2 ppm, en las que se agrupan la mayor parte de las resonancias debidas a los protones metilénicos, con la integración adecuada. En estos casos, los grupos CH₂ más cercanos al grupo NH amídico aparecen desplazados a campos más bajos (N-CH₂, ≈3.3 ppm; N-CH₂-CH₂, ≈1.5 ppm).

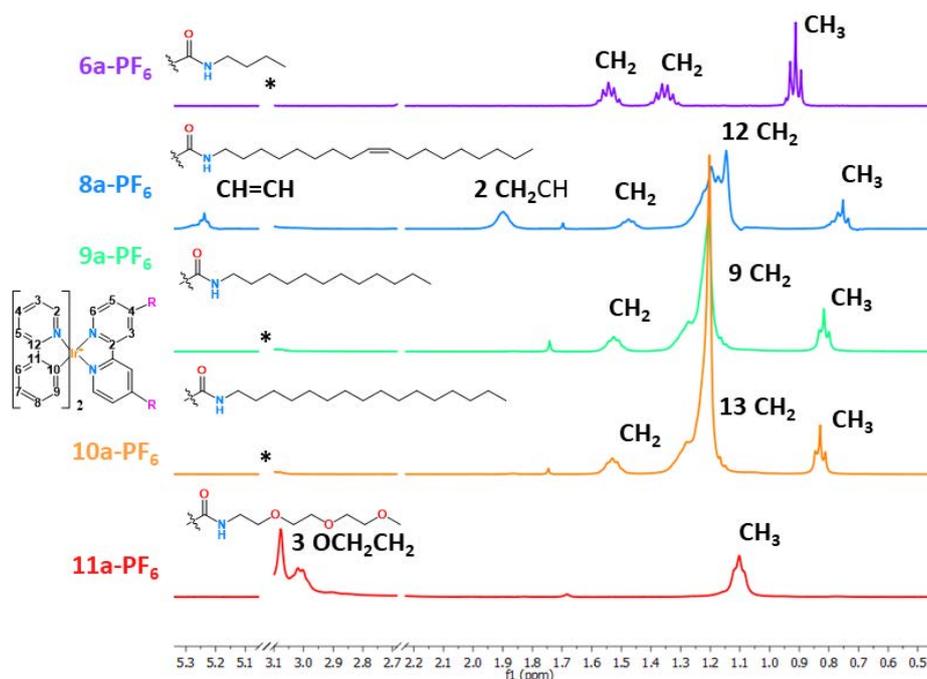


Figura 3.10. Espectros de RMN de ¹H (δ^H 5.4 – 0 ppm) de los derivados con *ppy* (serie a) en dmsod⁶. Los * se refieren señales de NCH₂ que aparecen dentro de la señal propia del DMSO-d⁶.

Los espectros de ¹³C{¹H} (Figura 3.11 (serie a en DMSO-d⁶) y apéndice Figura A3.2 de **6b-PF₆** en CDCl₃) también confirman la correcta formación de los productos finales con las bipyridinas funcionalizadas. Las señales de los dos grupos ciclotalados son equivalentes, mostrándose ambos grupos con los N piridínicos en *trans*. De igual

manera, también se observan las señales debidas a la presencia de ligandos bipyridina simétricos.

Al igual que en los espectros de protón, la Figura 3.11 muestra como la funcionalización de las amidas en las bipyridinas no afecta de forma significativa al resto de señales debidas a carbonos aromáticos. Algo llamativo, sobre todo en el caso de las señales asignadas a los carbonos de las bipyridinas funcionalizadas (p. ej. $\delta^C C^4 = 155.79$ **6a-PF₆**, 155.83 **8a-PF₆**, 155.80 **9a-PF₆**, 155.77 **10a-PF₆**, 155.92 **11a-PF₆**). La correcta funcionalización de cada bipyridina se muestra a través de las señales que aparecen en la región de campo alto. En todos los espectros, la señal que aparece más apantallada se corresponde con los grupos metilo terminales de las cadenas (δ^C 13.8 **6a-PF₆**, 13.65 **6a-PF₆**, 13.97 **8a-PF₆**, 13.93 **9a-PF₆**, 13.89 **10a-PF₆**, 8.68 ppm **11a-PF₆**). Las señales correspondientes a los CH₂ de estas cadenas se encuentran entre 32 y 20 ppm; mientras que en el caso del compuesto **11a-PF₆**, las señales de OCH₂ aparecen entre 72 y 45 ppm. Además, en el caso del compuesto **8a-PF₆**, aparece una señal adicional que se atribuye al doble enlace de la cadena de la oleilamida a $\delta = 129.68$ ppm.

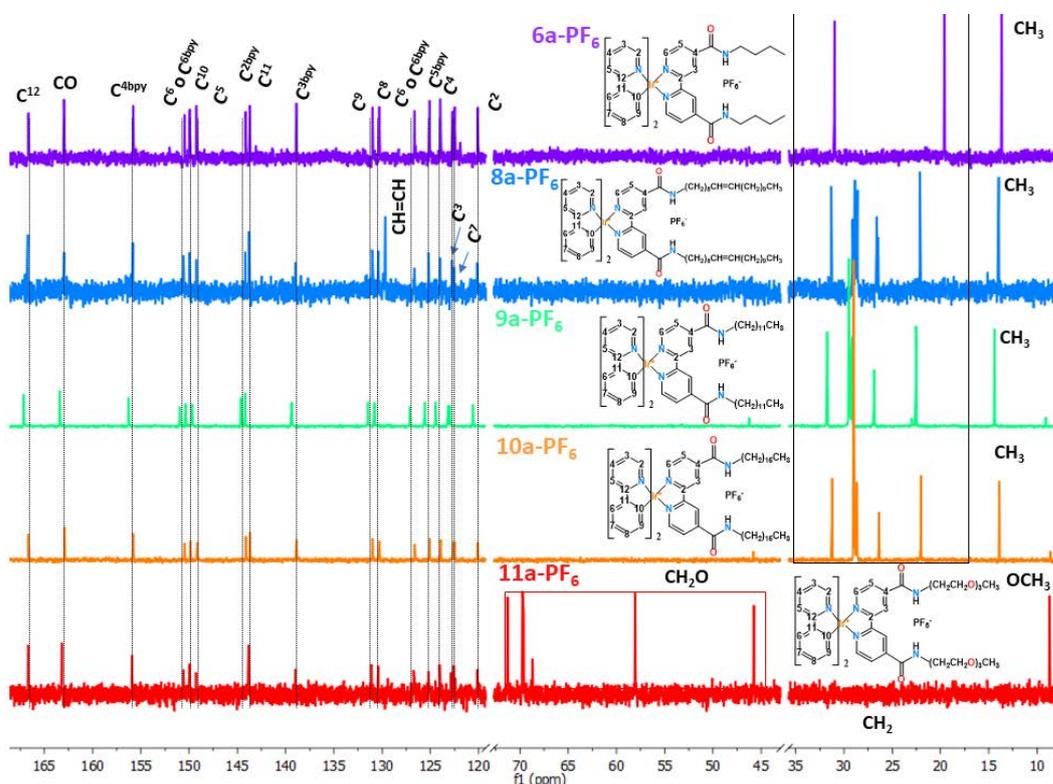


Figura 3.11. Espectros de RMN ¹³C de los derivados con *ppy* (serie a) en dms-d⁶

En el caso del derivado que presenta la difluorofenilpiridina, **6b-PF₆**, los espectros de RMN de ¹⁹F{¹H} muestran, además de las señales típicas del contraión PF₆ comunes a todos los derivados de este capítulo como un doblete (δ ≈ -70 ppm), dos dobletes que aparecen a -104.5 y -107.8 ppm propios de los átomos de F de la *dfppy*. Por último, todos los derivados presentan una señal en forma de septuplete en los espectros de RMN de ³¹P{¹H}, propia del PF₆. (Ver figura 3.12)

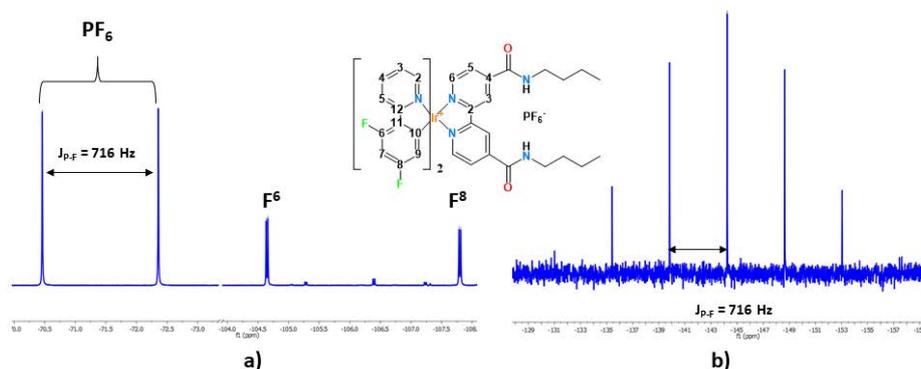


Figura 3.12. Espectros de RMN a) ¹⁹F{¹H} y b) ³¹P{¹H} de los derivados con en CDCl₃ de **6b-PF₆**

Además, se consiguieron obtener cristales del compuesto **6b-PF₆** por difusión lenta en *n*-hexano de una disolución saturada del compuesto en diclorometano, a temperatura ambiente. En este caso, el compuesto cristaliza en el grupo espacial centrosimétrico *P*₋₁, por lo que ambos enantiómeros posibles, tanto el Δ como el Λ, están presentes en la misma celdilla. En la Figura 3.13, se representa la estructura molecular obtenida de la parte catiónica del derivado **6b-PF₆**, junto con algunos datos seleccionados de distancias de enlace y ángulos más relevantes (ver Tabla A.3.1 con los datos cristalográficos y datos completos de distancias y ángulos de enlace).

Como era de esperar, la estructura del catión molecular de **6b-PF₆** es completamente similar a la que presenta el derivado homólogo **6b-Cl** del capítulo 2, con la diferencia principal de que, en este caso, cada contraión PF₆⁻ de mayor tamaño es capaz de interactuar con cuatro cationes moleculares, a través de interacciones de tipo C-H...F y π...F, que contribuyen a la formación de la red supramolecular final. Respecto del catión molecular, presenta el entorno octaédrico típico, en el que los carbonos metalados se colocan en una disposición mutuamente *cis*, mientras que los nitrógenos de la *dfppy* se colocan en *trans*. Al igual que en **6b-Cl**, las distancias de enlace Ir-N reflejan de manera

clara la fuerte influencia *trans* del átomo de carbono metalado, lo que provoca un aumento en la distancia de enlace Ir-N del ligando auxiliar *dbbpy* (Ir-N_{dbbpy} ≈ 2.13 Å vs. Ir-N_{ppy} ≈ 2.00 Å). Finalmente, y como se comentará en el siguiente apartado, los calculos teóricos realizados sobre **6b-PF₆**, muestran para el complejo en el estado fundamental (S₀) una simetría y distancias y ángulos de enlace muy similares a los observados experimentalmente.

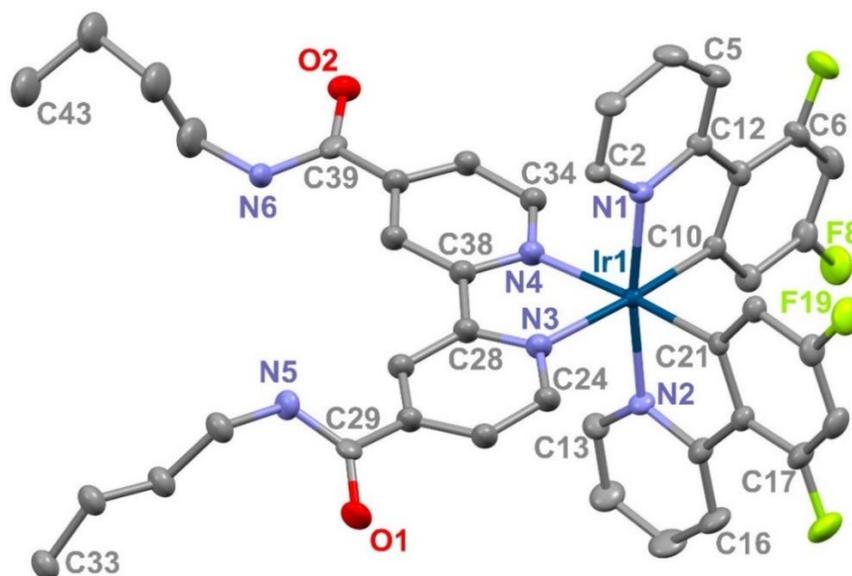


Figura 3.13. Estructura del catión molecular [Ir(dfppy)₂(dbbpy)]⁺ (**6b-PF₆**). Ir(1)-C(10) 2.014(7), Ir(1)-C(21) 1.994 (6), Ir(1)-N(1) 2.047(7), Ir(1)-N(2) 2.055(7), Ir(1)-N(3) 2.127(7), Ir(1)-N(4) 2.134(7). N(1)-Ir(1)-C(10) 80.1(3), N(1)-Ir(1)-C(21) 93.2(3), N(1)-Ir(1)-N(2) 171.6(2), N(1)-Ir(1)-N(3) 99.9(3).

3.1 Propiedades fotofísicas y cálculos teóricos

Se ha realizado el estudio de los espectros de absorción y emisión de todos los derivados catiónicos ciclometalados de Ir(III) que conforman este capítulo, tanto en estado sólido como en disolución; comprobándose que estos derivados son muy susceptibles al efecto que tiene el disolvente sobre sus propiedades fotofísicas. Por ello, se ha escogido el compuesto **6b-PF₆** como ejemplo representativo de todos ellos, para evaluar el efecto que tiene la polaridad del disolvente sobre sus propiedades ópticas. Además, con el fin de poder profundizar más en la asignación y naturaleza de las mismas, se han realizado cálculos teóricos DFT y TD-DFT sobre este compuesto (**6b-PF₆**) en acetonitrilo. Para ello, se ha empleado el método B3LYP con la base LanL2DZ para el átomo de Ir y 6-31G(d,p) para los átomos de los ligandos (Tablas del apéndice A.3.2 - A.3.4 y Figuras 3.15 y 3.18).

3.3.1 Espectros de absorción

Los espectros UV-Visible de todos los compuestos se han medido tanto en estado sólido como en acetonitrilo en disoluciones 5×10^{-5} M. Todos estos datos se recogen en la Tabla 3.1 y en la Figura 3.14. La Figura 3.16. y la Tabla 3.1 también recogen los datos correspondientes al estudio de la influencia de la polaridad del disolvente en los espectros de absorción del compuesto **6b-PF₆**.

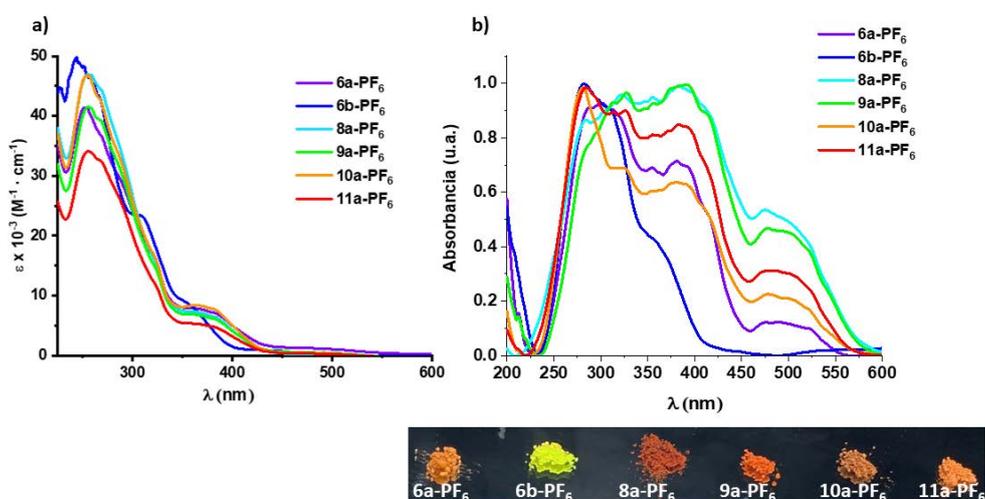


Figura 3.14 Espectros de absorción UV-Visible de los compuestos **6(a,b)**, **8a**, **9a**, **10a** y **11a** con PF₆ como contraión en a) acetonitrilo en concentración 5×10^{-5} M y b) estado sólido, junto con una fotografía que muestra el color de cada complejo en estado sólido.

Tabla 3.1 Datos de absorción de los compuestos **6 (a y b)**, **8a**, **9a**, **10a** y **11a** con **PF₆** en estado sólido y en disolución de acetonitrilo (5×10^{-5} M) y de **6b-PF₆** en diferentes (5×10^{-5} M).

Compuesto	$\lambda_{\text{abs}}/ \text{nm}$ ($\epsilon \times 10^{-3}/ \text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)
6a-PF₆	285h, 317, 380, 420h, 496 sólido
	252 (42), 289h (29.2), 324h (015.2), 371h (7.8), 486 (0.8) Acetonitrilo
6b-PF₆	283, 313, 359h, 450 sólido
	227 (44.8), 244 (49.8), 307h (23.4), 359h (8.2), 425 (1) Acetonitrilo
	270 (53), 307h (27.8), 360h (10), 438 (2.4) DMSO
	252 (60.8), 265 (58.8), 309h (24.4), 359 (8.4), 455 (0.8) CH₂Cl₂
	239 (57.2), 276 (48), 307h (30), 360h (9.8), 436 (1.8) THF
	221 (54.2), 249 (52), 309h (24), 360h (8.2), 444 (1) Metanol
8a-PF₆	284, 321, 383, 417h, 475 sólido
	256 (47.2), 324h (15.2), 371h (6.8), 468 (0.4) Acetonitrilo
9a-PF₆	293h, 328, 392, 417h, 478 sólido
	258 (41.8), 323h (14.6), 370h (6.8), 474 (0.8) Acetonitrilo
10a-PF₆	281, 325, 382, 417h, 478 sólido
	255 (47), 324h (16.2), 370h (8.4), 472 (0.6) Acetonitrilo
11a-PF₆	285, 326, 385, 414h, 481 sólido
	256 (34), 324h (11.6), 375h (5.4), 469 (0.4) Acetonitrilo

Como se muestra en la Figura 3.14a, todos los derivados muestran un perfil de absorción similar, en línea con los resultados obtenidos para compuestos similares recogidos en la bibliografía^{257, 333} y a los obtenidos para los derivados del capítulo 2. Como es de esperar, las absorciones correspondientes al derivado **6b-PF₆**, con los ligandos ciclometalados *dfppy*, aparecen a energías mayores que las correspondientes al resto de los compuestos (serie **a**), que contienen los ligandos ciclometalados *ppy*. Este efecto se explica, en general, por la presencia de átomos de flúor electrón-aceptores en los grupos ciclometalados que, al retirar densidad electrónica del sistema aromático, producen la estabilización del HOMO (muy centrado en los anillos fenílicos de los fenil-

piridinato, Figura 3.15a y Tabla A3.3 del apéndice), aumentado el salto electrónico HOMO-LUMO. Además, el espectro UV-visible obtenido experimentalmente de **6b-PF₆** en acetonitrilo se ajusta a las absorciones permitidas calculadas para este derivado en este disolvente (Figura 3.15b y Tabla A3.4 en el Apéndice). De hecho, y siempre para el caso del complejo **6b-PF₆**, la Figura 3.15a y la Tabla A3.3 del apéndice muestran los orbitales frontera más representativos en el estado fundamental, así como la contribución del metal y los ligandos a los mismos, respectivamente.

De acuerdo con dichos cálculos y a los llevados a cabo para otros compuestos similares como los del capítulo 2, la banda más energética de alta intensidad, que aparece por debajo de 300 nm, se atribuye fundamentalmente a transiciones π - π^* permitidas por espín y localizadas en los ligandos aromáticos C^N y N^N, con una pequeña contribución del metal a los ligandos. El hombro que aparece en **6b-PF₆** a 307 nm, y que en el resto de compuestos de la serie **a** aparece aproximadamente a 324 nm, puede estar relacionado con la transición calculada para **6b-PF₆** a 313 nm (S₁₅, Tabla A3.4 en el Apéndice), la cual corresponde con una combinación de transiciones de transferencia de carga intraligando y ligando-ligando (¹IL/¹LL'CT) (L: C^N, L': N^N), con cierto carácter de transferencia de carga del metal al ligando (¹ML'CT). La banda de baja energía observada a 359 nm para **6b-PF₆**, y entre 370 y 375 nm para el resto de los compuestos de la serie **a**, coincide a su vez con las transiciones calculadas a 367 (S₆) y 368 (S₅) nm, que se asocian principalmente con las transiciones HOMO→L+3 y H-4→LUMO. De acuerdo con los cálculos realizados para **6b-PF₆**, HOMO y H-4 se localizan en el centro metálico de iridio (34%) y en el grupo fenilo de los ligandos *dfppy* (60%), mientras que el LUMO está localizado fundamentalmente en el ligando *dbppy* (95%) y el L+3 en los ligandos ciclometalados. Por ello, asignamos estas transiciones de baja energía a una mezcla de transiciones ¹ML'CT/¹LL'CT. Por otro lado, y debido al fuerte acoplamiento espín-órbita (SOC) asociado al iridio, todos los compuestos presentan absorciones débiles adicionales a longitudes de onda superiores a 400 nm (acetonitrilo, 425 nm **6b-PF₆**; 470-490 nm **compuestos serie a**), atribuidas a transiciones ³ML'CT/³LL'CT prohibidas por espín que se aprecian mejor en los espectros de UV-visible en estado sólido. Estas asignaciones también coinciden con las encontradas para otros complejos de Ir(III) ciclometalados relacionados.³³⁴

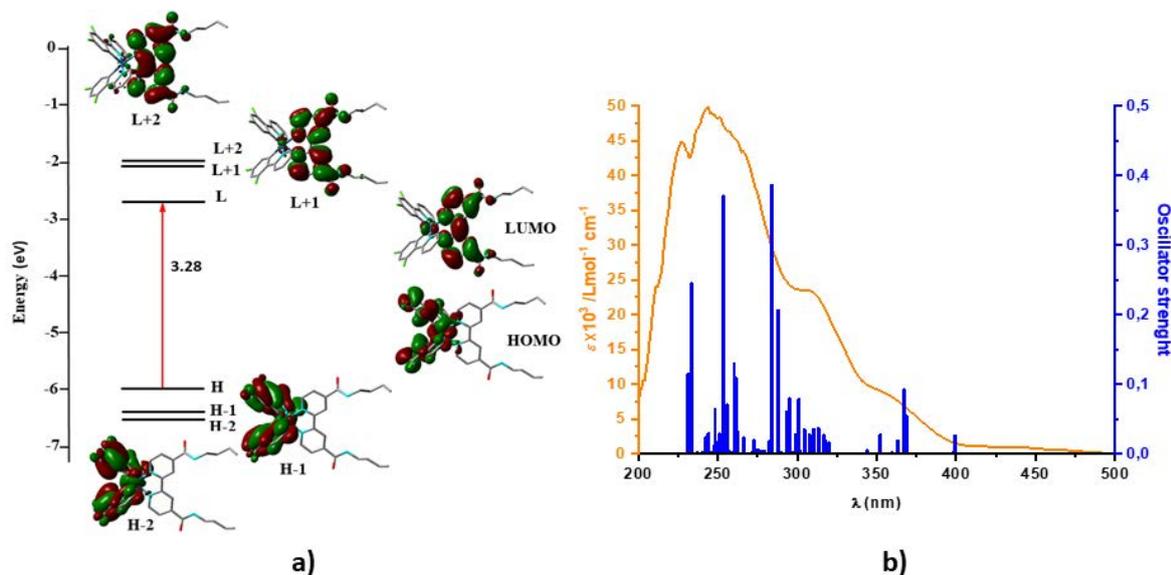


Figura 3.15. a) Orbitales moleculares más representativos del compuesto **6b-PF₆**, y representación del salto de energía entre los orbitales HOMO y LUMO. b) Espectro UV-visible calculado en acetonitrilo para el compuesto **6b-PF₆** (en barras azules) y experimental (naranja).

Tal y como se muestra en la Figura 3.14b los espectros DRUV de los sólidos revelan un comportamiento muy similar al mostrado en disolución; observándose también el desplazamiento de las bandas a menores energías al pasar del grupo ciclometalado *dfppy* (**6b-PF₆**) a *ppy* (serie **a**). Este hecho también se aprecia a simple vista en el color de los sólidos, amarillo en el caso de **6b-PF₆** y naranja-rojo para los derivados de la serie **a**.

En la Tabla 3.1 se aprecian los datos experimentales de las medidas realizadas de la absorción UV-visible del derivado **6b-PF₆** en disolventes que presentan polaridades diferentes. Como se refleja en la Figura 3.16, los cambios en las bandas de absorción no son muy significativos. No obstante, los datos apuntan a un ligero solvatocromismo negativo al aumentar la polaridad del disolvente.

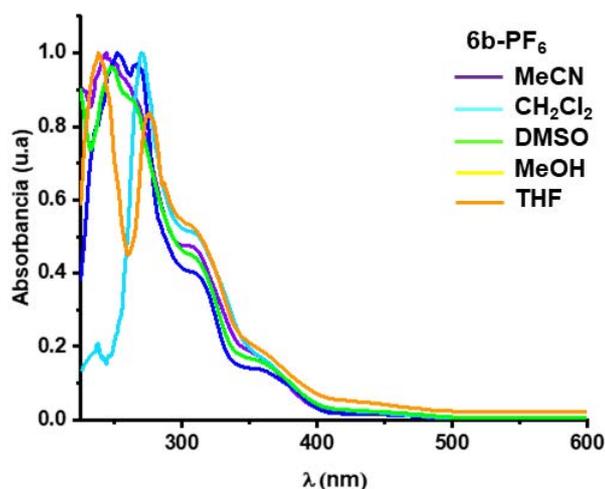


Figura 3.16. espectros de UV-Visible de **6b-PF₆** en diferentes disolventes en concentración 5×10^{-5} M.

3.3.2 Espectros de emisión

Los espectros de emisión de todos los compuestos se han registrado tanto en estado sólido como en disoluciones de acetonitrilo 5×10^{-4} M a temperatura ambiente y los datos se recogen en la Tabla 3.2 y en la Figura 3.17. Además, se ha llevado a cabo un estudio sobre el efecto que tiene la polaridad del disolvente en la emisión del compuesto **6b-PF₆**, empleándose como disolventes el, tetrahidrofurano, acetonitrilo, diclorometano y dimetilsulfóxido.

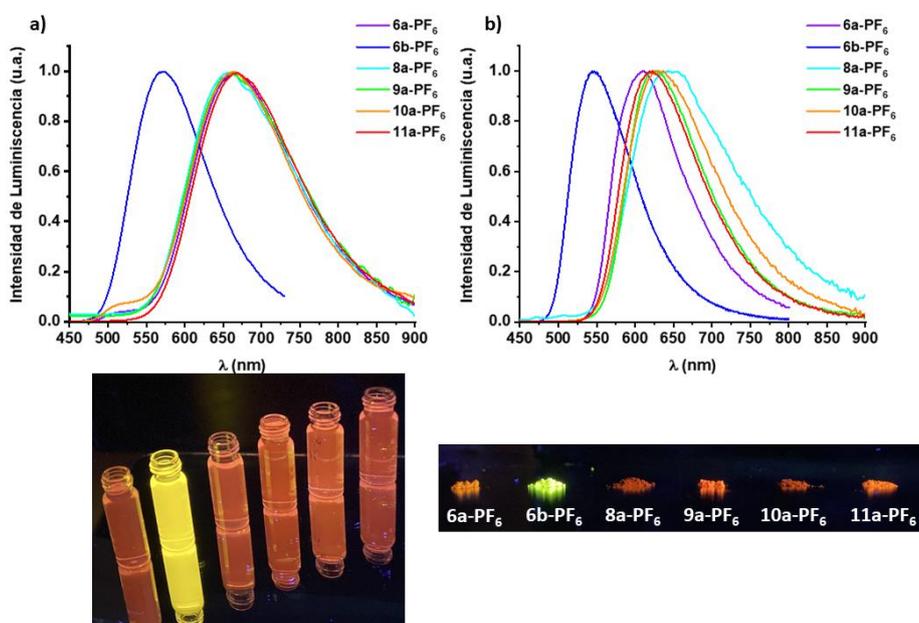


Figura 3.17. Espectros de emisión de los compuestos **6(a,b)**, **8a**, **9a**, **10a** y **11a** con **PF₆** como contraión en a) en acetonitrilo en concentración 5×10^{-4} M y b) en estado sólido.

Tal y como se observa en la Figura 3.17 (a y b) todos los compuestos muestran emisiones intensas, tanto en sólido como en disoluciones de acetonitrilo 5×10^{-4} M desoxigenadas. Estas emisiones se encuentran en la región espectral naranja evidenciándose un desplazamiento hacia menores longitudes de onda (amarillo) causado por la presencia de átomo de flúor en el grupo ciclotetralado *dfppy* del compuesto **6b-PF₆** (λ_{max} 571 nm) en relación a los que presentan la *ppy* (λ_{max} 660 – 670 nm). Todos los espectros presentan bandas anchas sin estructurar con tiempos de vida más cortos en los compuestos con bipyridinas funcionalizados con cadenas de menor longitud [**6a-PF₆** (0.59 μ s) **6b-PF₆** (0.32 μ s) **9a-PF₆** (0.66 μ s)] que aumentan al hacerlo la extensión de la cadena [**10a-PF₆** (13.6 μ s), **8a-PF₆** (1.03 μ s), **11a-PF₆** (12.4 μ s)], lo que podría sugerir una menor contribución del iridio en la transición responsable de la emisión.

Tabla 3.2. Datos de emisión para los compuestos **6(a,b)**, **8a**, **9a**, **10a** y **11a** con **PF₆** en estado sólido y en disolución de acetonitrilo (5×10^{-4} M) y de **6b-PF₆** en diferentes disolventes (5×10^{-4} M).

Compuesto	Medio	$\lambda_{\text{em}}/ \text{nm}^a$	$\tau/\mu\text{s}$
6a-PF₆	Sólido	615	0.45 ^b
	Acetonitrilo	660	0.59
6b-PF₆	Sólido	540	0.87 ^b
	THF	560	0.61
	Acetonitrilo	571	0.32
	Diclorometano	571	0.76
	DMSO	582	0.53
	Metanol	588	0.38
8a-PF₆	Sólido	645	0.15 ^b
	Acetonitrilo	660	1.03
9a-PF₆	Sólido	625	0.42
	Acetonitrilo	660	0.66
10a-PF₆	Sólido	630	0.13
	Acetonitrilo	660	13.6
11a-PF₆	Sólido	630	0.25
	Acetonitrilo	670	12.4

^a) Datos medidos excitando a una λ de 375 nm, ^b) Tiempos de vida de las emisiones calculados como una media de un decaimiento bi-exponencial,

Como ya se ha comentado anteriormente, se ha elegido el compuesto **6b-PF₆** como ejemplo representativo para realizar cálculos teóricos (en disolución de

acetonitrilo). De esta manera se ha obtenido la distribución de la densidad de espín en el primer estado triplete para este compuesto, así como las energías de emisión desde T₁ (calculada a través de la diferencia de energías entre el estado T₁ optimizado y el S₀) en base a las geometrías optimizadas calculadas para dichos estados (Figura 3.18 y Tabla 3.3). Los resultados obtenidos reflejan, que tanto el SOMO como el SOMO-1 son análogos a los HOMO y LUMO del estado fundamental, por lo que la emisión en este compuesto se atribuye fundamentalmente a una mezcla de transiciones de transferencia de carga de tipo metal ligando y ligando-ligando ³ML'CT (Ir → N[^]N)/³LL'CT (C[^]N → N[^]N), con una notable contribución del centro metálico (Tabla 3.3). En este caso, existe además una buena correlación entre los valores obtenidos de forma experimental en disolución de acetonitrilo (571 nm) y los calculados [E(T₁-S₀) 587 nm].

En cuanto a las propiedades emisivas en estado sólido, como puede verse en la Figura 3.17b, la emisión de los derivados de la serie **a** (con *ppy*) presenta un desplazamiento hacia el rojo, en relación a la observada para el complejo **6b-PF₆** (con *dfppy*). Este comportamiento se observa de la misma manera para los espectros de emisión en disolución y se explica, de manera similar a lo comentado para los espectros de absorción, por la estabilización del SOMO-1 a causa de la presencia de grupos que retiran densidad electrónica de los grupos ciclotalados *dfppy*, en comparación con los H en la *ppy*. Por otro lado, y en relación a estudios teóricos realizados sobre compuestos similares a estos, los cambios en las amidas que funcionalizan los ligandos auxiliares N[^]N, no afectan en estos compuestos a los estados emisivos de manera significativa. Finalmente, en todos los casos se observa un desplazamiento hacia el azul de los máximos de emisión en estado sólido cuando se comparan con las emisiones obtenidas en disolución de acetonitrilo.

Tabla 3.3. Composición (%) de los orbitales moleculares frontera en el primer estado triplete para **6b-PF₆** en acetonitrilo

	eV	Dfppy (1)	Dfppy (2)	dbbpy	Ir
SOMO	-3.73	0	0	97	2
SOMO-1	-5.2	28	28	3	41

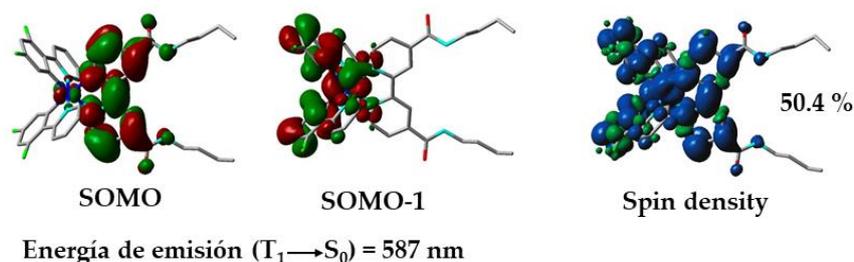


Figura 3.18 Representación del SOMO y SOMO-1 y de la Densidad de Spin sobre el átomo de Ir del compuesto **6b-PF₆** calculado en disolución de acetonitrilo.

Como se ha mencionado anteriormente, la polaridad del disolvente puede alterar las propiedades emisivas de estos compuestos. Como se aprecia en los espectros y en la fotografía de la Figura 3.19 para el compuesto **6b-PF₆**, el aumento en la polaridad del disolvente genera un desplazamiento batocrómico de las longitudes de onda de emisión (solvatocromismo positivo). Este desplazamiento hacia el rojo al aumentar la polaridad del disolvente indica un mayor carácter polar del estado excitado en relación al estado fundamental.^{61, 335} Al presentar un mayor carácter polar, el estado excitado emisor tiende a verse estabilizado por disolventes con un carácter similar, lo que disminuye el salto energético de la transición, dando como resultado un desplazamiento hacia mayores longitudes de onda. En detalle, los máximos de la emisión se desplazan al rojo con el aumento de la polaridad del disolvente (THF < MeCN < CH₂Cl₂ < DMSO < MeOH).

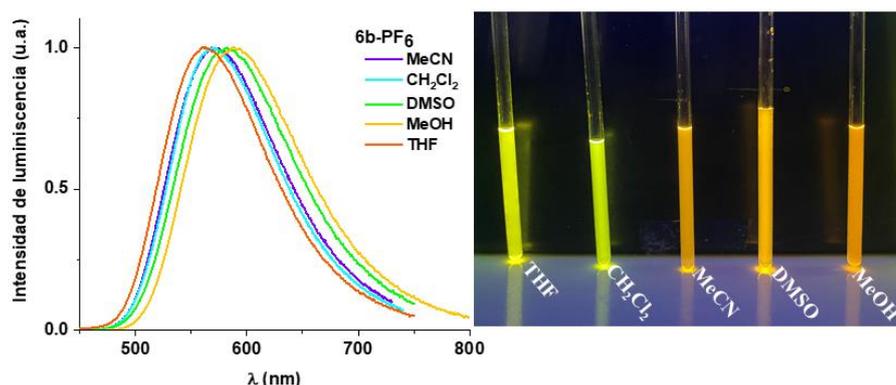


Figura 3.19. Espectros de emisión de **6b-PF₆** en diferentes disolventes en concentración 5×10^{-4} M.

3.4 Propiedades electroquímicas

Se ha realizado un estudio de las propiedades electroquímicas del compuesto **6b-PF₆** en disolución de acetonitrilo desoxigenada mediante voltamperometría cíclica (CV), estudiando sus curvas de oxidación y reducción. Esta técnica nos ayuda a profundizar en las propiedades electroquímicas de estos derivados, permitiendo conocer de forma experimental los niveles energéticos de los orbitales HOMO y LUMO y, así, comprobar su potencial aplicabilidad en el diseño de LECs. Dado que el contraión empleado es PF₆⁻, se ha escogido como electrolito una disolución de ⁿBu₄NPF₆ con el fin de rebajar posibles interacciones que generen reacciones secundarias. Los potenciales redox han sido referenciados respecto al ferroceno Fc/Fc⁺. Las curvas y los datos se recogen en la Figura 3.20 y la Tabla 3.4. Este derivado muestra un pico de oxidación cuasi-reversible a 1.67 eV ($\Delta E > 57$ mV), que involucra al centro de Ir y los ligandos ciclometalados (Ir^{III}/Ir^{IV}). En cambio, el voltamperograma muestra dos picos de reducción, cuya separación es menor que 57 mV, lo que indica que es un proceso reversible. Estos resultados, al igual que los obtenidos mediante cálculos teóricos, indican que el HOMO tiene una fuerte contribución del grupo ciclometalado con cierta contribución del metal, mientras que el LUMO se encuentra localizado exclusivamente en el ligando auxiliar *dbbpy*.

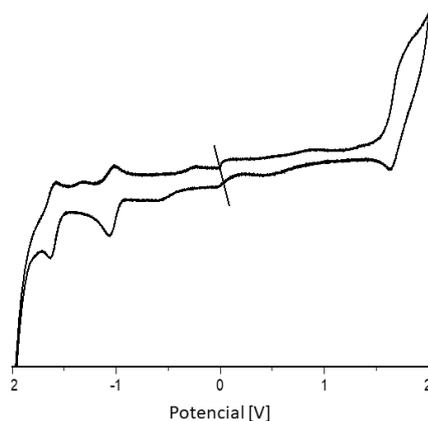


Figura 3.20. Voltamperograma del proceso redox en el compuesto **6b-PF₆** en disolución de acetonitrilo (5×10^{-4} M). Scan rate mV/s

Tal y como se refleja en la Tabla 3.4, los picos de los potenciales en el ánodo y cátodo, $E_{1/2^{ox}}$ y $E_{1/2^{red}}$, se han empleado para el cálculo de la energía del orbital HOMO y LUMO; siendo los valores obtenidos en ambos casos muy similares a los obtenidos mediante cálculos teóricos TD-DFT.

Tabla 3.4. Propiedades electroquímicas experimentales y calculadas de **6b-PF₆**

	$E_{1/2^{ox}}(V)^a$	$E_{1/2^{red}}(V)^a$	HOMO (eV) ^b	HOMO (eV) ^c	LUMO (eV) ^b	LUMO (eV) ^c
[Ir(dFppy)₂(dbbpy)]PF₆	1.67	-1.61	-6.03	-5.97	-2.75	-2.69

^a $E_{1/2^{ox}}$ y $E_{1/2^{red}}$ son los picos de los potenciales en el ánodo y cátodo. Los niveles energéticos del HOMO y del LUMO están referenciados con 0.44 V (del par de potenciales Fc/Fc⁺). ^b HOMO = $-[E_{1/2^{ox}} - 0.44 + 4.8]$, LUMO = $-[E_{1/2^{red}} - 0.44 + 4.8]$. ^c Datos obtenidos de cálculos teóricos.

3.5 *Diseño y estudio de una celda electroquímica emisora de luz (LEC)*

A la vista de los resultados obtenidos en esta familia de derivados, se ha desarrollado el estudio de la posible aplicación de estos compuestos catiónicos de Ir(III) ciclometalados como emisores de luz en dispositivos LEC. Este estudio se ha llevado a cabo por el grupo de investigación del Dr. Rubén Costa en la Universidad Tecnológica de Múnich. Concretamente se eligió, en primer lugar, el derivado **6b-PF₆** como emisor Ir-iTMCs. Dados los buenos resultados recogidos en el artículo “*Versatile Biogenic Electrolytes for Highly Performing and Self-Stable Light-Emitting Electrochemical Cells*” obtenidos con este emisor²⁴, se está desarrollando el estudio para su empleo como emisores en LECs con el resto de derivados que componen este capítulo.

Este estudio se ha centrado principalmente en el desarrollo de LECs más sostenibles, empleando para ello electrolitos basados en polisacáridos. Concretamente, se ha empleado acetato de celulosa (CA) como electrolito biogénico. La finalidad del estudio es comprobar la compatibilidad de este electrolito con emisores de tipo Ir-iTMCs (y, en concreto, con el complejo **6b-PF₆**) para obtener dispositivos que presenten unas propiedades morfológicas, electroluminiscentes, de auto-estabilidad y de conductividad óptimas (Figura 3.21). Hay que señalar que en la publicación a la que hace referencia este trabajo,²⁴ también se ha estudiado la compatibilidad de este tipo de electrolitos con un emisor de tipo CP arquetípico (denominado super yellow), que, de hecho, ha dado lugar a la preparación de dispositivos que han mostrado una compatibilidad excepcional. Sin embargo, y dado que esta tesis se centra en el desarrollo de complejos de metales de transición, se ha considerado oportuno omitir esta parte en la discusión del trabajo.

El acetato de celulosa, por su parte, se ha seleccionado como transportador de iones debido a su abundancia, precio, elevada conductividad iónica, amplia ventana de estabilidad electroquímica, solubilidad en disolventes orgánicos y sus buenas propiedades mecánicas.³³⁶ Como fuente de iones se ha elegido tetrafluoroborato de tetrahexilamonio (THABF₄).³³⁷ La optimización de la composición de la capa activa de los LECs (CA:THABF₄:**6b-PF₆**) se ha realizado manteniendo constante la cantidad de

THABF₄ y de emisor (**6b-PF₆**), aumentando la concentración de CA desde 0% en peso (LEC de referencia sin acetato de celulosa) hasta un 30%.

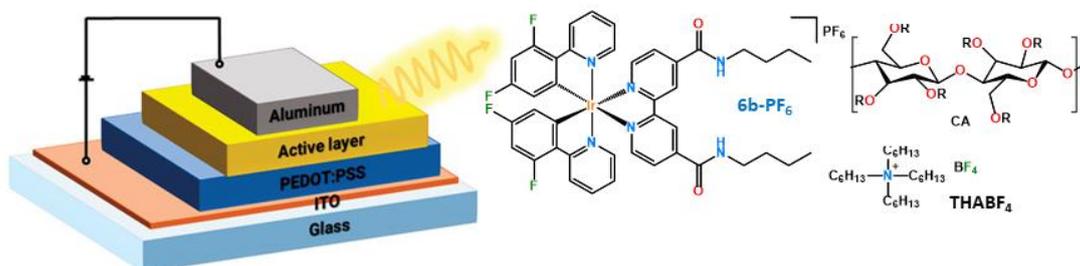


Figura 3.21. Esquema del LEC y estructuras químicas de los componentes de la capa activa.

3.5.1 Efecto de la concentración de CA en la morfología, luminiscencia y estrés térmico.

Además de la optimización de la composición de los componentes de la capa activa, también es fundamental estudiar su compatibilidad. Este trabajo comenzó probando la compatibilidad que presentaba otro derivado, también arquetípico, de Ir(III) [Ir(ppy)₂(dtbbpy)]PF₆ (dtbbpy: 4,4'-terbutil-2,2'-bipiridina). Durante la formación de las capas delgadas de las fases activas correspondientes se observó, mediante microscopía de fuerza atómica (AFM), la separación de los componentes con formación evidente de agregados que afectan a la formación y estabilización de las uniones p-i-n y, por tanto, al correcto funcionamiento del dispositivo.^{83a}

Sin embargo, los resultados obtenidos sobre la morfología de la capa activa al usar como emisor el complejo **6b-PF₆**, llevados a cabo también mediante AFM, revelan que la sustitución en la bipiridina de los grupos tertbutilo por cadenas alifáticas más largas consigue una gran compatibilidad entre dicho compuesto y la CA, sin formación de agregados que perjudiquen al funcionamiento del dispositivo. (Figura A3.4 y Tabla A3.5 en el Apéndice). La Figura 3.22 muestra la estabilidad que presentan las capas activas en diferentes escenarios. Este estudio se ha llevado a cabo a través del análisis de capas activas recién preparadas, almacenadas en oscuridad 30 días y expuestas a un estrés térmico de 50°C durante una hora. En todos los casos se observa una gran compatibilidad entre el emisor y el transportador de iones elegido. De hecho, y aunque

se observan pequeñas variaciones en la rugosidad de las capas activas a lo largo del estudio (<1.5%), sus propiedades emisivas prácticamente no varían, mostrando una emisión ancha centrada a 565 nm, debida a la transición mixta de transferencia de carga ML'CT/LL'CT del complejo emisor **6b-PF₆**, con rendimientos cuánticos de emisión estables (≈ 25) y tiempos de vida que aumentan con la concentración de CA (Tabla A.3.5 y Figura A3.5 del Apéndice). Estos resultados revelan el mejor conjunto de propiedades, tanto de la estabilidad como fotoemisivas, de la capa activa al presentar el CA en proporciones del 20 al 30% en peso.

La presencia de cadenas en el complejo **6b-PF₆** y en CA parece actuar como espaciador mecánico, separando los dominios del complejo. De este modo, se ralentizan los procesos de agregación/cristalización, lo que se traduce en una mayor autoestabilidad. En particular, la estabilidad frente al estrés térmico es crucial, ya q la temperatura de trabajo de los LEC oscila entre 40 y 70°C, dependiendo del tipo de emisor y de los modos de conducción.³³⁸

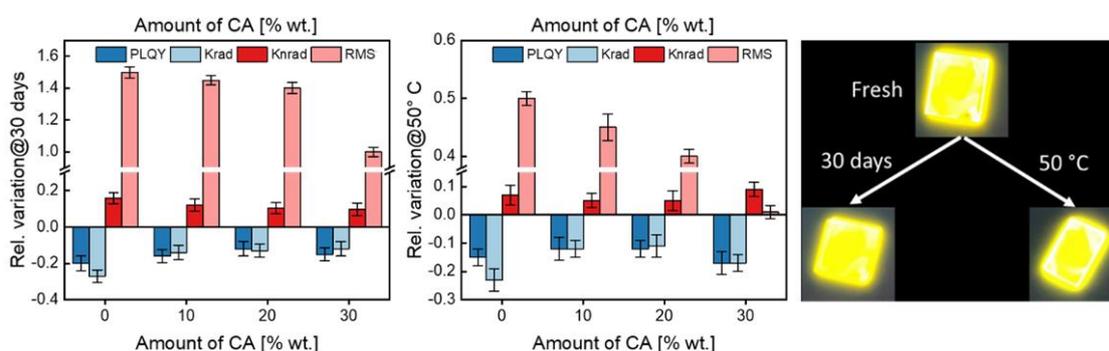


Figura 3.22 Variación relativa tras 30 días de almacenamiento en condiciones ambientales/oscuras (izquierda) y tras 1 h a 50 °C (centro) de los rendimientos cuanticos, k_{rad} , k_{nrad} y rugosidad de la capa de **6b-PF₆** frente a la cantidad de CA. Imágenes bajo iluminación UV (305 nm) de las capas de **6b-PF₆** con un 30% en peso de CA antes y después de las pruebas de autoestabilidad.

Una vez comprobada la estabilidad de la capa activa y la compatibilidad del emisor con el electrolito de celulosa, se procedió al estudio de su eficiencia demostrándose que la presencia de CA también rebaja R_{lec} (resistencia), favoreciendo la formación de las EDL a bajos potenciales. (Figura A3.4).

El estudio de la constante dieléctrica (ϵ_r) relacionada con la polarización de los iones ante la aplicación de un potencial externo para formar las EDL y de la conductividad iónica (σ) para estudiar el crecimiento de las regiones dopadas es otra forma de estudiar el impacto de uso del electrolito en estos dispositivos. A concentraciones superiores al 20% de CA se mejora la formación de las EDL debido a un incremento de la movilidad de los iones. Además, su presencia previene del colapso a la unión p-i-n mediante el control del crecimiento de las zonas dopadas lo que incrementa tanto la estabilidad como las eficiencias (Figura 3.23)

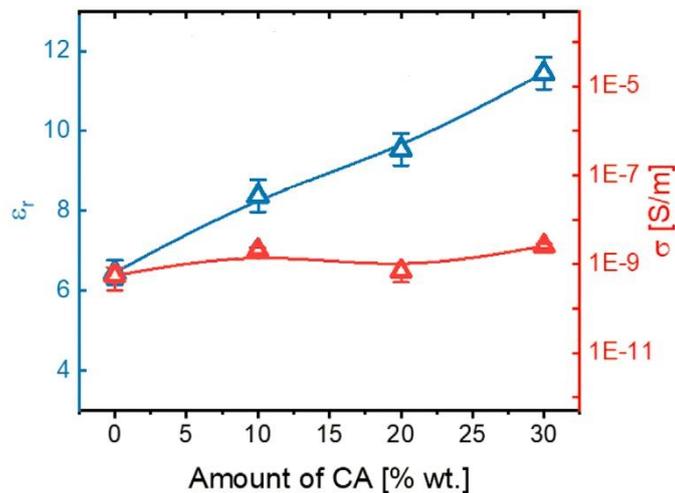


Figura 3.23 Representación de la constante dieléctrica (ϵ_r , azul) y de la conductividad iónica (σ , rojo) del LEC basado en **6b-PF₆** frente a la cantidad de CA en la capa activa.

3.5.2 Estudio de las propiedades electroluminiscentes del LEC

El comportamiento electroluminiscente de los dispositivos ha sido medido mediante Espectroscopía de Impedancia Electrónica (EIS). Los LECs muestran un comportamiento habitual en el que la tensión inicial se ve reducida hasta alcanzar un estado estacionario (a 3 V) mientras aumenta la luminancia (Figura A3.5 en Apéndice). En la Tabla 3.5 se muestran los valores de luminancia, eficiencias y tiempo de vida de los dispositivos en función de la proporción de CA. El espectro de electroluminiscencia (Figura 23, izda) muestra una emisión no estructurada con un máximo a 562 nm (muy similar a la emisión fotoluminiscente de la fase activa, λ_{em} 565 nm) con una pureza de color de 0.94, estable durante toda la vida útil del dispositivo. Además, como se muestra en las imágenes del centro y derecha de la Figura 3.23, los cambios producidos en la

luminancia y eficiencia del dispositivo a lo largo del tiempo revelan que la mejor proporción es la que emplea un 20% de CA.

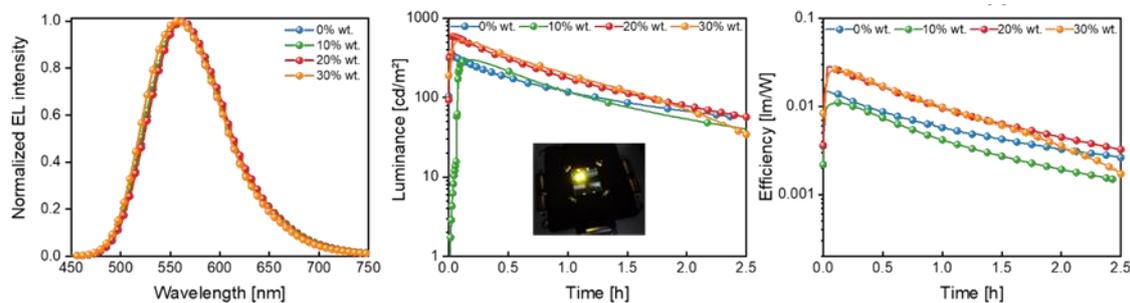


Figura 3.23. Espectros de electroluminescencia normalizado a tiempo $t=0$ (izquierda). Cambios en la luminancia (centro) y eficiencia (derecha) con respecto al tiempo de los LECs con diferentes concentraciones de CA, llevado a cabo con corrientes pulsadas de 5mA.

Tabla 3.5. Datos obtenidos del estudio de las propiedades emisivas de los LECs basados en el complejo 6b-PF6 llevados a cabo a 5 mA y 1 kHz.

CA [%wt.]	Voltaje inicial [V]	Luminancia [cd/m^2]	λ_{EL} [nm]	Eficacia [cd/A]	Tiempo de vida [h]	Eficiencia [lm/W]	Tiempo de vida $100\text{cd}/\text{m}^2$ [h]	E_{tot} [J]
0	4.55	330	562	1.3	0.60	0.15	3.6	0.42
10	3.90	300	562	1.2	0.70	0.11	3.0	0.38
20	4.00	600	562	2.4	0.50	0.28	7.4	0.70
30	3.60	550	562	2.2	0.65	0.25	8.3	0.72

Finalmente, para poder expresar de forma definitiva la estabilidad de los dispositivos en función de la composición de la fase activa, se tuvieron en cuenta dos enfoques: la vida útil del dispositivo a una determinada luminancia ($100 \text{cd}\cdot\text{m}^{-2}$)³³⁹ y la energía total emitida teniendo en cuenta el flujo radiante hasta el tiempo necesario para alcanzar la quinta parte de la luminancia máxima (E_{tot})³⁴⁰ ambos calculados según las fórmulas recogidas en las citas correspondientes. Estos resultados, mostrados en la Figura 3.24, muestran de nuevo que el empleo de CA como electrolito en una proporción de entre el 20% y el 30 % en peso conduce a los mejores valores de estabilidad. Todo esto ya muestra el avance que supone el uso del electrolito biogénico elegido, acetato de

celulosa, respecto de otros “electrolitos verdes” (polímeros biodegradables y electrolitos híbridos de ADN).³²⁹

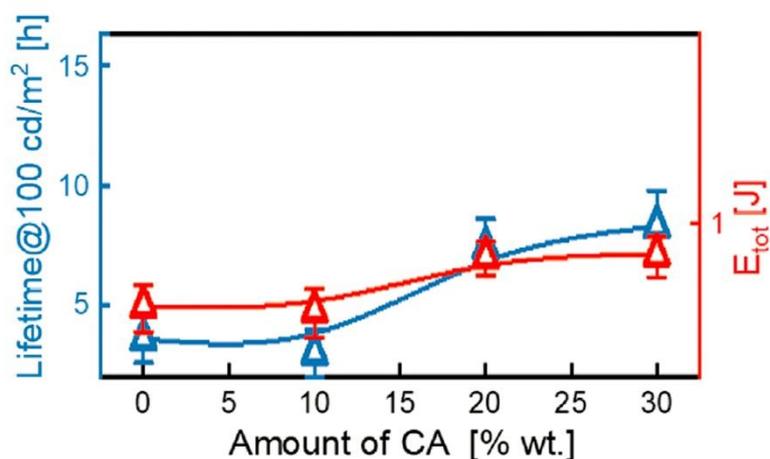


Figura 3.24. Vida útil de los dispositivos a 100 cd·m⁻² (azul) y energía total emitida (rojo) respecto a diferentes concentraciones de CA.

De hecho, y teniendo en cuenta todos los datos expuestos, se observa que la incorporación del acetato de celulosa en una proporción del 20% en peso a la capa activa da lugar a una evidente mejora de los dispositivos en relación a aquellos que no lo incorporan (dispositivo control con 0% en peso de CA), duplicando tanto su eficacia como su estabilidad

3.6 Apéndice

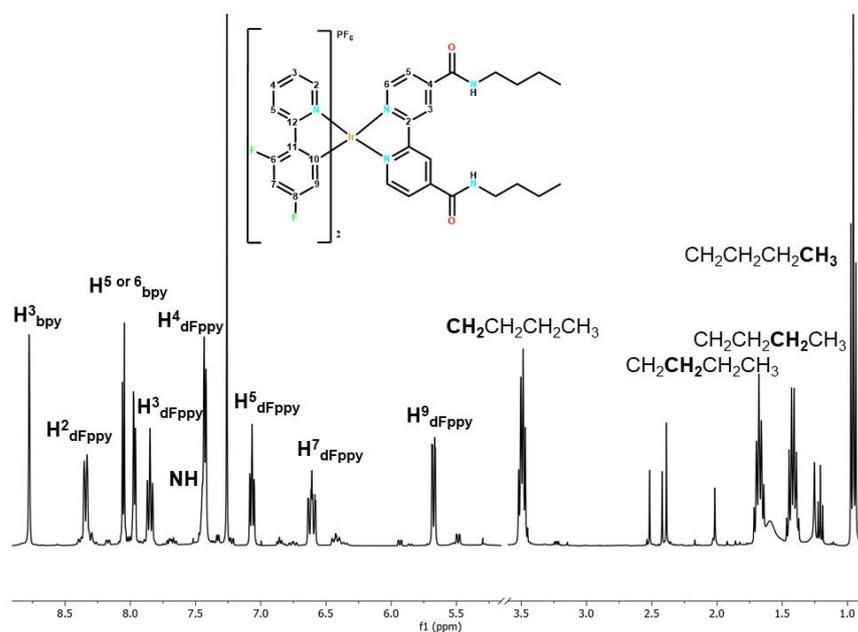


Figura A.3.1. Espectro de RMN ^1H de **6b**- PF_6 en CDCl_3 .

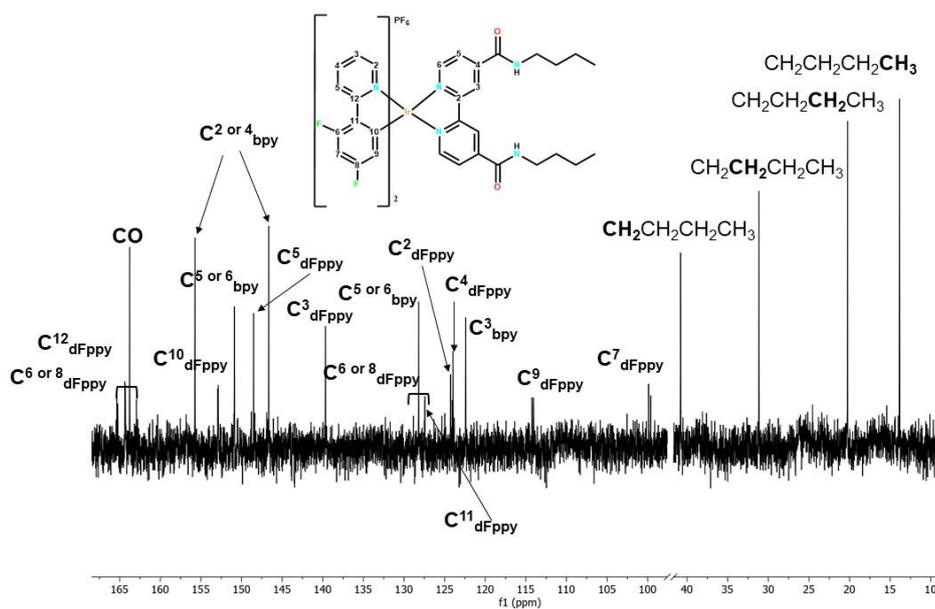


Figura A.3.2. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ de **6b**- PF_6 en CDCl_3 .

Tabla A.3.1. Distancias de enlace (Å) y ángulos (°) para [Ir(dfppy)₂(dbbpy)] PF₆ 0.75CH₂Cl₂.

6b 0.75CH₂Cl₂

6b 0.75CH ₂ Cl ₂			
Ir(1)-C(10)	2.014(7)	Ir(1)-C(21)	1.994(6)
Ir(1)-N(1)	2.047(7)	Ir(1)-N(2)	2.055(7)
Ir(1)-N(3)	2.127(7)	Ir(1)-N(4)	2.134(7)
N(1)-Ir(1)-C(10)	80.1(3)	N(1)-Ir(1)-C(21)	93.2(3)
N(1)-Ir(1)-N(3)	99.9(3)	N(1)-Ir(1)-N(4)	87.0(3)
N(1)-Ir(1)-N(2)	171.6(2)	C(10)-Ir(1)-C(21)	88.0(3)
N(2)-Ir(1)-C(10)	94.3(3)	N(2)-Ir(1)-C(21)	80.2(3)
N(2)-Ir(1)-N(3)	86.2(3)	N(2)-Ir(1)-N(4)	100.1(3)

Tabla A.3.2 Geometrías optimizadas por cálculos DFT en los estados fundamental y triplete de **6b-PF₆** en acetonitrilo.

6b-PF₆.			
	S₀	T₁	X-ray
Ir(1)-N(1)	2.081	2.080	2.047
Ir(1)-N(2)	2.081	2.080	2.055
Ir(1)-C(10)	2.021	1.999	2.014
Ir(1)-C(21)	2.021	1.999	1.994
Ir(1)-N(3)	2.199	2.188	2.127
Ir(1)-N(4)	2.199	2.188	2.134
N(1)-Ir(1)-N(2)	173.77	176.45	171.6
N(1)-Ir(1)-C(10)	80.11	80.91	80.1
N(2)-Ir(1)-C(21)	80.10	80.91	80.2
N(1)-Ir(1)-C(21)	95.41	96.69	93.2
N(2)-Ir(1)-C(10)	95.43	96.65	94.3
N(4)-Ir(1)-N(3)	75.10	75.40	76.4
N(4)-Ir(1)-N(1)	88.07	87.11	87.0
N(4)-Ir(1)-C(10)	97.97	94.78	98.6
N(4)-Ir(1)-N(2)	96.90	95.70	100.1
N(4)-Ir(1)-C(21)	172.51	169.82	173.3
N(1)-Ir(1)-N(3)	96.95	95.62	99.9
N(3)-Ir(1)-C(10)	172.63	169.80	175.0
N(2)-Ir(1)-N(3)	87.99	87.21	86.2
N(3)-Ir(1)-C(21)	97.86	94.79	97.0

Figura A3.3. Estructuras optimizadas en el estado S_0 (izquierda) y T_1 (derecha) de **6b-PF₆**.

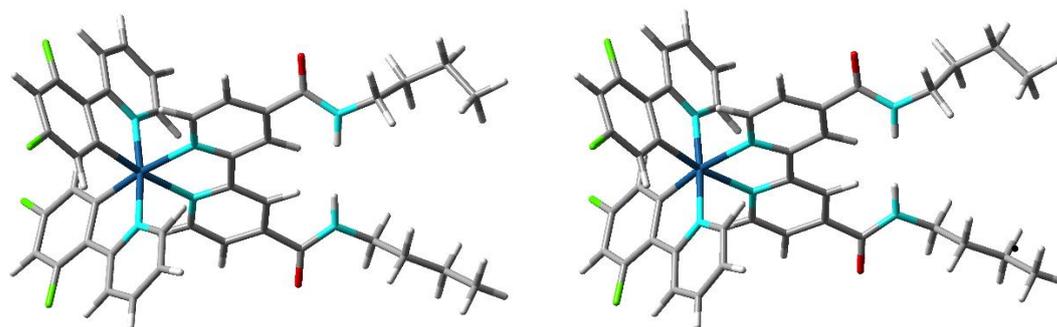


Table A3.3. Composición (%) de los Orbitales Frontera MOs en términos de ligandos y metales en el estado triplete de **6b-PF₆** en acetonitrilo.

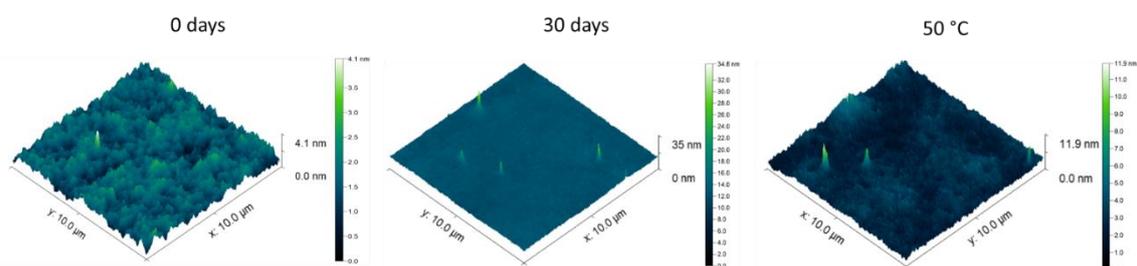
MO	eV	6b-PF₆			
		Ir	dFppy (1)	dFppy (2)	dbbpy
LUMO+5	-1.21	2	39	55	4
LUMO+4	-1.72	4	57	37	2
LUMO+3	-1.88	4	37	54	5
LUMO+2	-1.99	1	2	5	92
LUMO+1	-2.06	1	2	1	95
LUMO	-2.69	4	0	0	95
HOMO	-5.97	36	28	33	2
HOMO-1	-6.39	8	36	55	1
HOMO-2	-6.52	15	56	27	1
HOMO-3	-6.73	55	21	17	8
HOMO-4	-6.84	32	25	33	9
HOMO-5	-6.87	28	31	33	8

Tabla A.3.4. Energías de excitación verticales a estados singlete y estados triplete desde el estado (S_0) calculadas por TDDFT/SCRF (acetonitrilo) con los orbitales que participan en la transición para **6b-PF₆**.

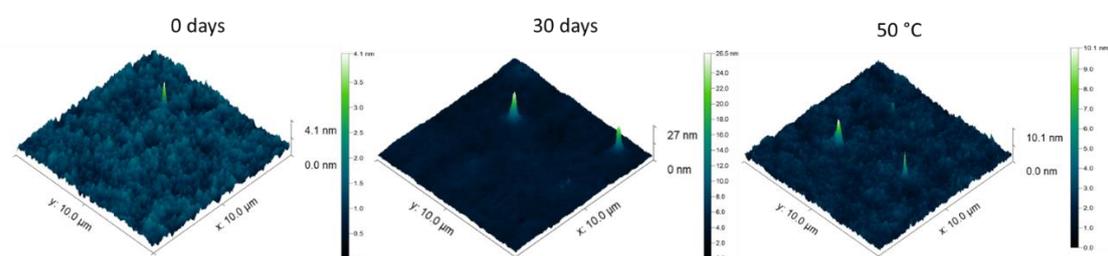
	Estado	λ/nm	f	Transición (% Contribución)	
6b-PF₆	T ₁	499	---	HOMO→LUMO (97%) H-3→LUMO (44%), H-	ML'CT/LL'CT
	T ₂	435	---	10→LUMO(13%), H- 8→LUMO(13%)	ML'CT/LL'CT
	T ₃	327	---	HOMO→L+3(49%), H-1→L+4 (24%)	MLCT/IL
	S ₁	492	0.0005	HOMO→LUMO (99%)	ML'CT/LL'CT
	S ₂	399	0.0264	H-1→LUMO (97%)	LL'CT
	S ₅	368	0.0548	HOMO→L+3 (95%)	MLCT/IL
	S ₆	367	0.092	HOMO→L+1 (13%), H-5→LUMO (6%)	ML'CT/LL'CT
	S ₉	352	0.0277	HOMO→L+1 (16%), HOMO→L+4 (73%)	MLCT
	S ₁₅	313	0.0366	H-1→L+2 (48%), H-1→L+3 (36%)	ML'CT/LL'CT
	S ₂₃	301	0.0785	H-3→L+4 (30%), H-2→L+4 (52%)	ML'CT/IL
	S ₂₆	295	0.0797	H-4→L+3 (14%), H-3→L+1 (45%), H-2→L+1 (11%)	ML'CT/LL'CT
	S ₃₁	288	0.2062	HOMO→LUMO (97%)	ML'CT/LL'CT
	S ₃₃	284	0.386	H-3→LUMO(44%), H- 10→LUMO(13%), H- 8→LUMO(13%),	ML'CT/LL'CT

Analysis AFM

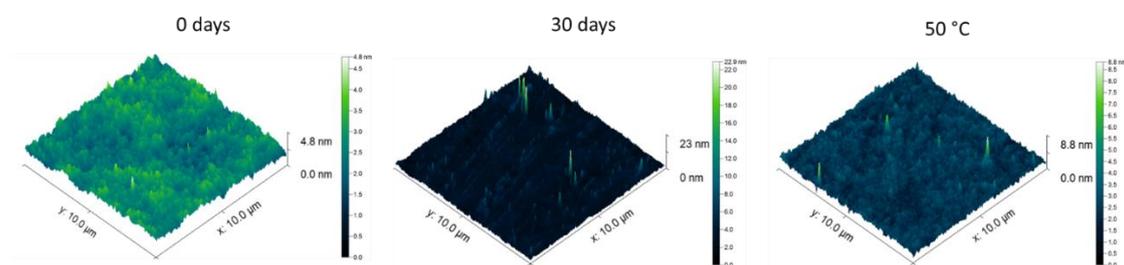
CA:THABF₄:**6b**-PF₆ 0:0.2:1



CA:THABF₄:**6b**-PF₆ 0.1:0.2:1



CA:THABF₄:**6b**-PF₆ 0.2:0.2:1



CA:THABF₄: **6b**-PF₆0.3:0.2:1

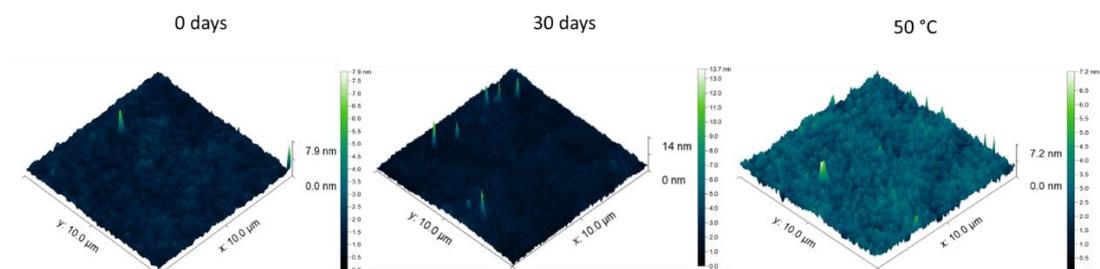


Figura A3.4. Imágenes obtenidas por topografía AFM de capas finas recién fabricadas, almacenadas 30 días y expuestas a 50°C. La composición de la mezcla aparece en la parte superior de cada figura y los valores de rugosidad RMS en la parte inferior.

Tabla A3.5. Propiedades fotofísicas de las capas con el emisor **6b-PF₆**-en relación a la cantidad de CA en peso antes y después de los test de estabilidad.

CA (%peso)	Tratamiento	λ_{em} [nm]	τ [ns]	Φ [%]	k_{rad} [s ⁻¹]	k_{nrad} [s ⁻¹]
0	T = 0 días	565	525	20	4.27×10^5	1.52×10^6
	T = 30 días	565	503	16	3.18×10^5	1.67×10^6
	50° C	565	511	17	3.32×10^5	1.62×10^6
10	T = 0 días	565	606	25	4.13×10^5	1.24×10^6
	T = 30 días	565	590	21	3.56×10^5	1.39×10^6
	50° C	565	602	22	3.65×10^5	1.30×10^6
20	T = 0 días	565	640	25	3.91×10^5	1.17×10^6
	T = 30 días	565	612	21	3.43×10^5	1.29×10^6
	50° C	565	633	22	3.48×10^5	1.23×10^6
30	T = 0 días	565	644	27	4.19×10^5	1.13×10^6
	T = 30 días	565	623	23	3.69×10^5	1.24×10^6
	50° C	565	627	22	3.51×10^5	1.24×10^6

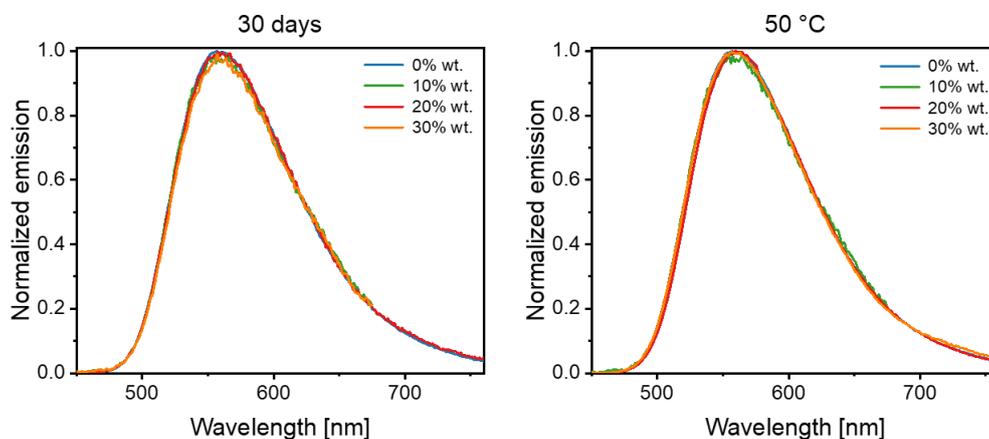


Figure A3.6. Espectros de emisión normalizados de las capas con **6b-PF₆** y diferentes proporciones de CA, después de los test de estabilidad de 1 mes (izquierda) y de exposición a una temperatura de 50C° (derecha)

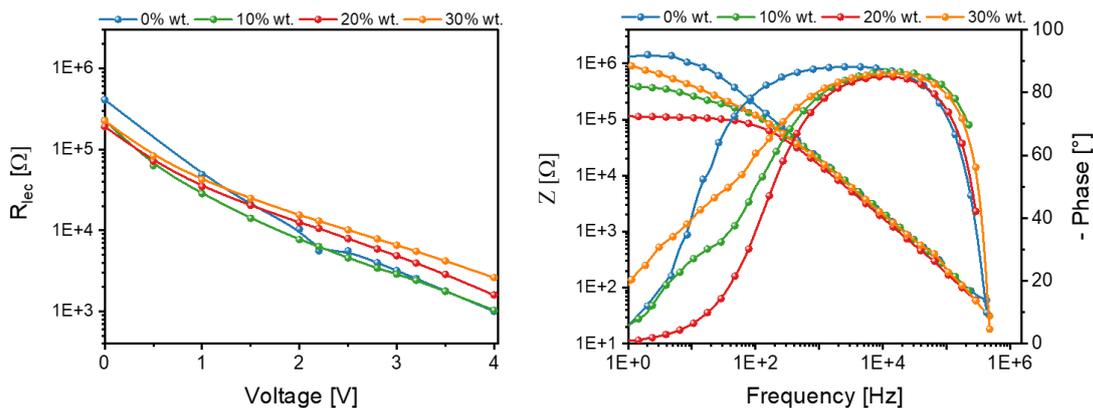


Figura A3.6. Cambios en los valores de R_{lec} al aplicar diferentes voltajes (izquierda) y Diagrama de fase de Bode para el LEC con **6b-PF₆** como emisor empleando distintas proporciones de CA

Tabla A3.6. Parámetros EIS extrapolados ajustando las gráficas de Nyquist de los LEC con **6b-PF₆** como emisor empleando distintas proporciones de CA

CA [%peso]	R_{LEC} [Ω]	$E\% R_{LEC}$	CPE	$E\% CPE$	C_{eff} [F]	ϵ_r	σ [S/m]
0	4.09×10^5	1.045	7.35×10^{-9}	0.89	7.35×10^{-9}	4.32	2.25×10^{-8}
10	2.20×10^5	1.79	7.19×10^{-9}	2.56	7.20×10^{-9}	7.07	6.42×10^{-8}
20	1.91×10^5	2.65	1.55×10^{-8}	4.66	1.86×10^{-8}	11.54	3.68×10^{-8}
30	2.28×10^5	1.16	1.08×10^{-8}	1.55	1.13×10^{-8}	11.23	3.94×10^{-8}

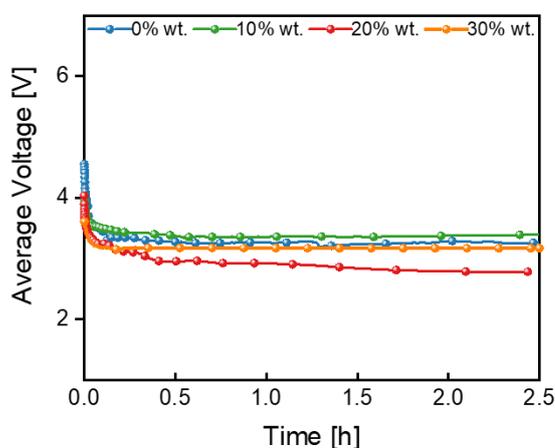


Figure A3.7. Valores De voltaje promedio en función del tiempo del dispositivo con **6b-PF₆** como emisor empleando distintas proporciones de CA

Resúmenes y Conclusiones



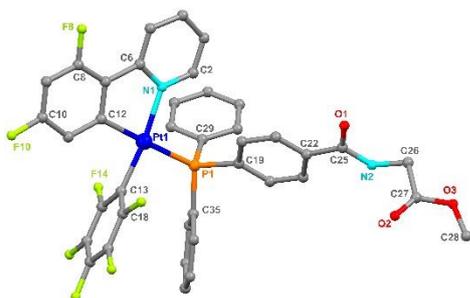
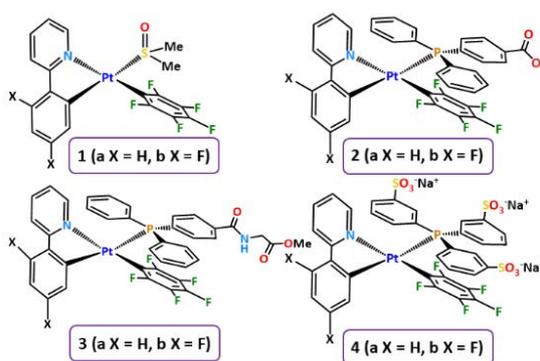
Resúmenes

R.1 Capítulo 1

El descubrimiento del potencial que presentan los derivados luminiscentes ciclometalados de Pt(II) fue un punto de partida para la síntesis de nuevos compuestos biológicamente activos frente a células tumorales.

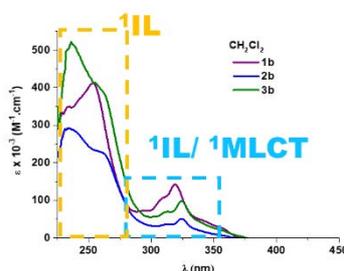
Este capítulo nace como continuación de la investigación llevada a cabo por la doctora Nora Gimenez sobre una nueva familia de compuestos luminiscentes cicloplatinados neutros con grupos pentafluorofenilo, que se divide en dos series en función del ligando

ciclometalado a emplear: serie **a** (2-fenilpiridina, *ppy*) y serie **b** (2-(2,4-difluorofenilpiridina, *dfppy*). Estos compuestos presentan la formula general $[Pt(C^N)(C_6F_5)L]$, donde L es DMSO (en los precursores **1a**, ya publicado anteriormente, y **1b**) o fosfinas biocompatibles $[PPh_2C_6H_4COOH$ (*dpbH*; **2**), $PPh_2C_6H_4CONHCH_2COOMe$ (*dpbGlyOMe*; **3**) o $P(C_6H_4SO_3Na)_3$ (TPPTS; **4**)]. Los compuestos **2** y **4** se han preparado por reacciones de sustitución del ligando lábil DMSO por la fosfina biológicamente activa correspondiente, mientras que los derivados funcionalizados con un grupo peptídico **3** han sido sintetizados mediante una reacción de acoplamiento sobre el grupo carboxílico de los precursores **2** con clorhidrato de glicina metil éster (HGlyOMe·HCl), en presencia de clorhidrato de N-etil-N'-[3-(dimetilamino)propil]carbodiimida (EDC·HCl) como agente de acoplamiento.



Todos los compuestos han sido caracterizados por análisis elemental, espectrometría de masas y espectroscopías de IR y de RMN de 1H , $^{31}P\{^1H\}$, ^{19}F , and $^{13}C\{^1H\}$. Por su parte, se han confirmado las estructuras mediante estudios de difracción de

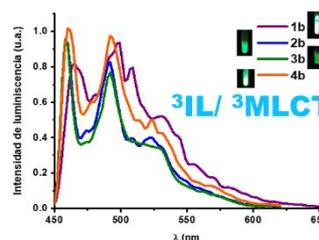
rayos-X de monocristal para los compuesto **1b**, **2a** y **3b**. Es llamativa la formación de una estructura supramolecular en el compuesto **3b** debido a interacciones intermoleculares tridimensionales.



Se han estudiado las propiedades ópticas de toda la familia de compuestos, apoyándose en cálculos teóricos DFT y TD-DFT tanto del estado fundamental como del excitado. Los espectros de absorción UV-Visible presentan una banda de absorción intensa a baja energía, atribuida a transiciones 1IL

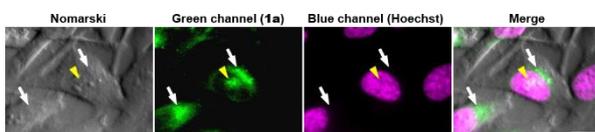
($C^{\wedge}N$, C_6F_5), mientras que las que parecen a más baja energía en **1b** y en **3** se deben a una mezcla de transiciones de carácter $^1MLCT/^1IL$. En el caso de los derivados **2** esta asignación es más compleja, asignándose a mezclas de transiciones de transferencia de carga metal-ligando [$^1M(L+L')CT$ ($Pt \rightarrow C^{\wedge}N$, PPh_2R)] y ligando-ligando (1LLCT , $C_6F_5 \rightarrow C^{\wedge}N$).

A temperatura ambiente, los complejos **4** no son emisivos, mientras que los compuestos con fosfinas **2** y **3** exhiben un perfil emisor dual débil con fluorescencia y fosforescencia. En vidrio congelado todos los compuestos



presentan emisiones intensas de vida media larga (38 - 49 μs), con perfiles estructurados que se atribuyen a estados excitados localizados en el ligando ciclometalado con una cierta contribución del platino ($^3IL/^3MLCT$). En estado sólido los compuestos **1** y **2** son altamente emisivos (23- 62%); mientras que para los compuestos **3** y **4**, con las fosfinas *dpbGlyOMe* o $P(C_6H_4SO_3Na)_3$, la eficiencia baja notablemente debido a que en ellos las vibraciones de los sustituyentes favorecen las desactivaciones no radiativas.

Se evaluaron sus actividades citotóxicas frente a las líneas celulares tumorales A549 (carcinoma de pulmón), HeLa (carcinoma de cuello uterino) y no tumorales NL-20 (epitelio pulmonar); así como su capacidad para interactuar con el ADN (plásmido pBR322). Los complejos **2** muestran una mayor citotoxicidad (IC_{50} 3.89 - 20.29 μM) que



los compuestos **1** (9.03 - 20.50 μM), mientras los complejos **3** y **4** no muestran citotoxicidad. Todos los

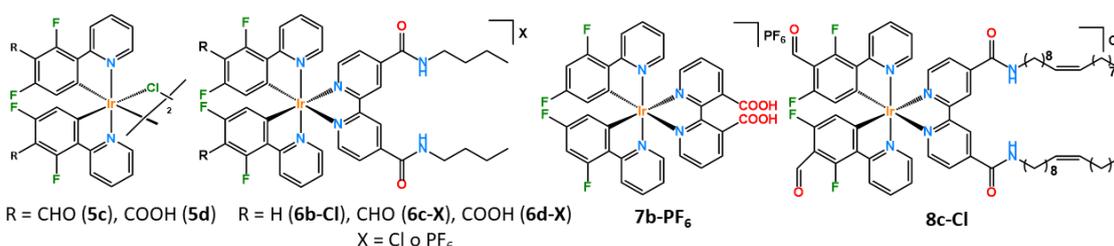
compuestos que presentaron citotoxicidad mostraron baja selectividad por las células cancerígenas. Exceptuando **1a**, ninguno de los compuestos muestra evidencias de su posible interacción con el ADN. En esta misma línea, los experimentos de microscopía de fluorescencia con Hoechst como marcador nuclear revelan que todos los complejos se internalizan fácilmente, localizándose principalmente en el citoplasma.



Para profundizar en el mecanismo por el que actúan estos compuestos, se eligió el compuesto con mayor citotoxicidad (**2b**) para comprobar su efecto sobre la despolimerización de los microtúbulos. Este complejo muestra actividad de despolimerización de la tubulina, exhibiendo una inhibición más potente de la formación de microtúbulos en células A549 que en HeLa, en concordancia con su mayor actividad antiproliferativa en la primera línea celular (IC_{50} 6.98 vs 12.45 μ M, respectivamente), situando a este complejo como un potencial agente despolimerizador de la tubulina. Este trabajo ha sido publicado en *Inorg. Chem.* 2019, 58, 1657 (D.O.I. [10.1021/acs.inorgchem.8b03211](https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.8b03211)).

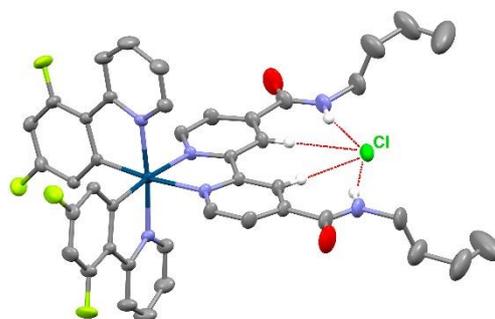
R.2 Capítulo 2

En el capítulo 2 se aborda la preparación y caracterización de una nueva familia de compuestos catiónicos fosforescentes de Ir(III) ciclometalados $[Ir(C^N)_2(N^N)]X$ en la que C^N es difluorofenilpiridina (dfppy) **b**, 2,6-difluoro-3-(piridin-2-il)benzaldehído (CHO -dfppy) **c**, o ácido 2,6-difluoro-3-piridin-2-il-benzoico ($COOH$ -dfppy) **d**. Como diimina se ha empleado la *N,N*-dibutil-2,2'-bipiridina-4,4'-dicarboxamida (*dbbpy*) y como contraión cloruro ($X = Cl^-$ **6b,c,d-Cl**) o hexafluorofosfato ($X = PF_6^-$ **6c,d-PF₆**).



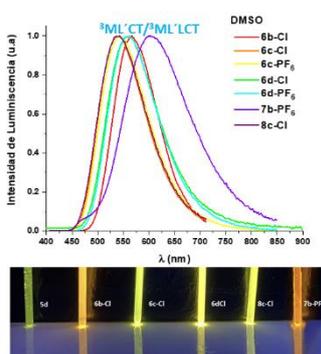
Además, con el fin de comparar los cambios en sus propiedades al modificar los ligandos auxiliares, también se han estudiado los compuestos $[\text{Ir}(\text{dfppy})_2(3,3'\text{-H}_2\text{dcbpy})]^+$ ($3,3'\text{-H}_2\text{dcbpy}$ = ácido $3,3'$ -dicarboxílico $2,2'$ -bipiridina) (**7b-PF₆**) y $[\text{Ir}(\text{CHO-dfppy})_2(\text{dobpy})]^+$ (dobpy = N,N -dioleil- $2,2'$ -bipiridina- $4,4'$ -dicarboxamida) (**8c-Cl**).

Todos los compuestos han sido caracterizados por las técnicas habituales y se han confirmado por difracción de rayos-X las estructuras de compuesto $[\text{Ir}(\text{dfppy})_2(\text{dbbpy})]\text{Cl}$ (**6b-Cl**), y del catión **[6d]⁺**. La estructura de **6b-Cl** revela que este



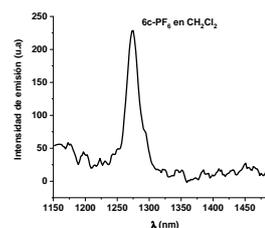
complejo (y probablemente los análogos **6-Cl**) cristaliza como un par iónico mediante la formación de interacciones dador aceptor entre 4 átomos de hidrógeno del ligando *dbbpy* y el contraión Cl. Este hecho también ha sido confirmado a través de un estudio teórico sobre interacciones no covalentes (NCI).

Los espectros de absorción UV-Visible de todos los compuestos muestran un comportamiento similar al descrito para otros compuestos heterolépticos bis-ciclometalados catiónicos de Ir(III) con bipiridinas. Todos ellos muestran una banda muy energética de elevada intensidad que se atribuye mayoritariamente a transiciones $^1\text{LL}'\text{CT}$ ($\text{C}^{\wedge}\text{N}$ ó $\text{L}' = \text{dbbpy}$) junto con una pequeña contribución de tipo $^1\text{ML}'\text{CT}$. También presentan otras bandas menos intensas debidas, fundamentalmente, a transiciones de transferencia de carga entre los ligandos $^1\text{LL}'\text{CT}$ y metal-ligando (bipiridina) $^1\text{ML}'\text{CT}$. Por último, a mayores longitudes de onda aparecen absorciones débiles de carácter $^3\text{ML}'\text{CT}/^3\text{LL}'\text{CT}$.

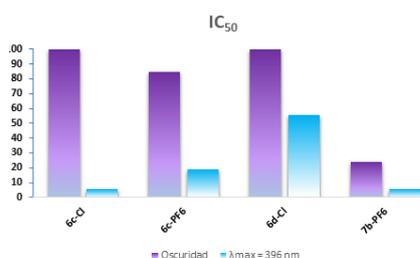


Todos los derivados son altamente emisivos, tanto en estado sólido como en DMSO, presentando espectros con bandas anchas no estructuradas con sus máximos entre 540 y 565 nm. Estas emisiones, de acuerdo con los cálculos teóricos realizados, se atribuye a transiciones de transferencia de carga de tipo $^3\text{ML}'\text{CT}$ ($\text{Ir} \rightarrow \text{N}^{\wedge}\text{N}$)/ $^3\text{LL}'\text{CT}$ ($\text{C}^{\wedge}\text{N} \rightarrow \text{N}^{\wedge}\text{N}$), mayoritariamente del centro metálico a la diimina.

La presencia de oxígeno en las disoluciones provoca una caída en los rendimientos de emisión de hasta el 50% en relación con la emisión en DMSO desoxigenadas, lo que puede indicar la desactivación por la formación de moléculas de oxígeno singlete; algo que ha sido confirmado en los espectros de los derivados **6c** y **7b** (PF₆) (banda a 1270 nm). Además, se han obtenido valores de rendimientos de generación de ¹O₂ del 32 % para **6c-PF₆**.



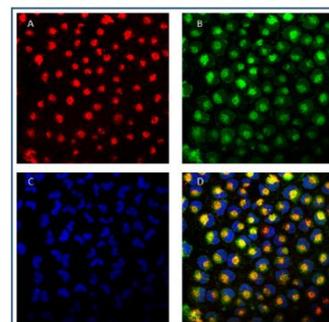
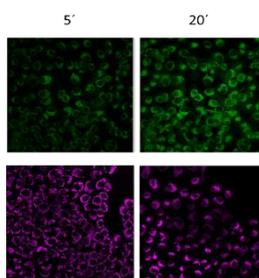
Esta propiedad que presentan estos derivados de generar especies reactivas de oxígeno, como el ¹O₂, puede emplearse en terapia fotodinámica, incrementando de gran manera el efecto citotóxico de estos compuestos. Para comprobarlo, se ha evaluado su actividad antineoplásica frente a líneas celulares tumorales A549 (carcinoma de pulmón), HeLa (carcinoma de cuello uterino) y no tumoral BEAS-2B (epitelio bronquial)



en condiciones normales. En estas condiciones, solo el compuesto **6b-Cl** presenta una actividad superior a la del cisplatino. Los compuestos, **6c-Cl** y **6d-Cl**, -PF₆ no fueron tóxicos, probablemente debido a su baja solubilidad en el medio biológico, mientras que **6c-PF₆**

y **7b-PF₆** presentaron una actividad moderada. Con estos resultados, se decidió hacer el estudio de fotocitotoxicidad de los derivados con baja o nula toxicidad **6c-Cl**, **6c-PF₆**, **6d-Cl** y **7b-PF₆**. Los resultados fueron positivos ya que, tras cortos periodos de irradiación con luz azul de las células incubadas con los compuestos, los valores de IC₅₀ disminuyeron de forma notable en todos los casos.

Los estudios de microscopía confocal realizados a **6b-Cl** revelan su internalización en las células, preferentemente en los lisosomas, provocando posteriormente la muerte celular a través del deterioro de las mitocondrias. Estudios complementarios de electroforesis revelan la nula interacción entre los



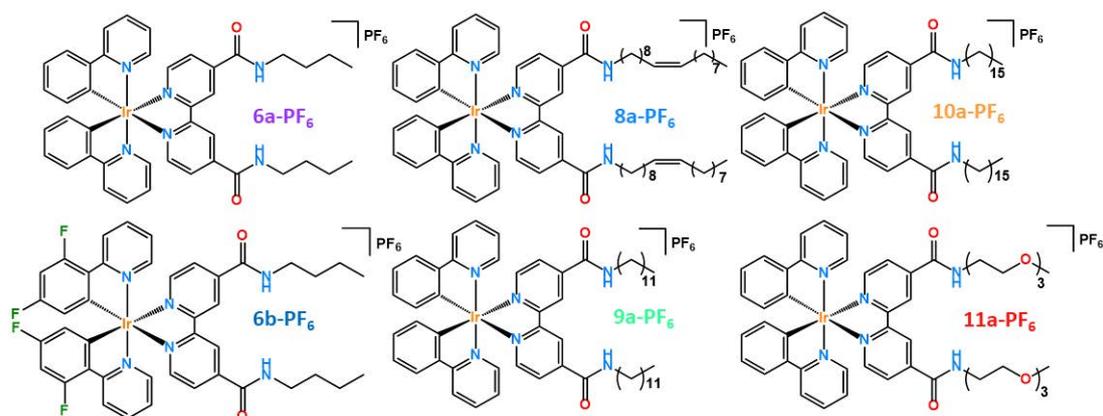
compuestos y el ADN. Su actividad citotóxica se puede atribuir, en parte, a la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) generado por una descompensación del par NADH/NAD⁺, ya que

generado por una descompensación del par NADH/NAD⁺, ya que

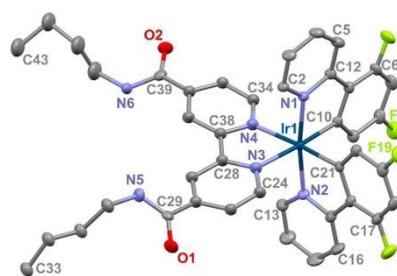
se ha observado que este compuesto es capaz de oxidar de forma catalítica el NADH. Además, se observa que en el caso del compuesto **7b-PF₆**, la irradiación con el láser provoca la destrucción de las los mitocondrias en las células irradiadas, lo que puede ser indicativo de su predisposición a actuar como fotosensibilizador para PDT. Este trabajo se encuentra en este momento en revisión para su publicación en Dalton Trans.

R.3 Capítulo 3

Este capítulo está enfocado en la búsqueda de nuevos compuestos catiónicos de Ir(III) ciclometalados (Ir-iTMCs), cuya estructura y propiedades fotoemisivas los hagan candidatos prometedores para su integración en celdas electroluminiscentes (LECs) que puedan ser desarrolladas y optimizadas de una manera más sostenible y ecológica. En base a los estudios relacionados con el desarrollo de LECs como fuentes de luz más sencilla y barata, se está poniendo especial interés en minimizar su impacto ecológico. De esta manera, la incorporación de electrolitos biogénicos que no interfieran con su eficacia o su estabilidad está generando un notable interés en los últimos años. Como se comenta más adelante, este capítulo describe el diseño de LECs que utiliza acetato de celulosa (CA) como electrolito biogénico y, como especies emisoras compatibles con dicho electrolito, complejos catiónicos de Ir(III) con ligandos auxiliares bipyridina funcionalizados con cadenas orgánicas extensas. Para ello, se sintetizaron los nuevos compuestos con ppy [Ir(ppy)₂(N[^]N)]PF₆ [N[^]N = *dbppy* **6a-PF₆**, *dobpy* **8a-PF₆**, *ddobpy* **9a-PF₆**, *dhbpy* **10a-PF₆**, o *dPEGbpy* **11a-PF₆**] o con dfppy [Ir(dfppy)₂(*dbppy*)]PF₆ **6b-PF₆**.

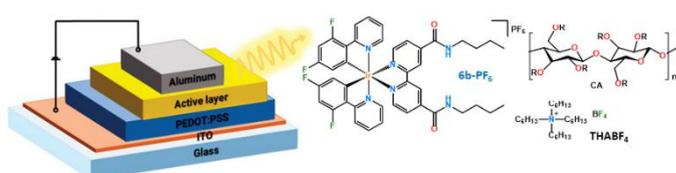
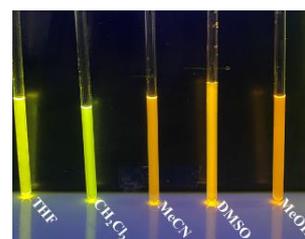


Se ha llevado a cabo una caracterización completa de todos los compuestos a partir de las técnicas espectroscópicas habituales y la estructura del complejo **6b-PF₆** se ha confirmado mediante un estudio de difracción de rayos-X. Los resultados indican que cada contraión de PF₆ interacciona con 4 cationes moleculares [**6b**]⁺ (por interacciones C-H...F y $\pi \cdots F$), lo que contribuye a la formación de una red supramolecular. Además, los datos estructurales se han utilizado como base para la realización de cálculos teóricos que han permitido calcular las transiciones electrónicas y explicar los espectros de absorción y emisión de la familia de compuestos incluida en el capítulo.



En estos derivados la modificación de los sustituyentes en la diimina no modifica de manera significativa sus propiedades fotofísicas, siendo más dependientes de la naturaleza del

grupo ciclometalado (*ppy* ó *dfppy*). De manera similar a las comentadas para los complejos del capítulo 2, éstas se atribuyen a un estado excitado con mezcla LL'CT/ML'CT. En coherencia con esta asignación, la emisión es, sin embargo, notablemente dependiente de la polaridad del disolvente, lo que confirma el carácter de transferencia de carga del estado excitado.



Finalmente, se ha utilizado el derivado **6b-PF₆** como emisor para el diseño de LECs que contienen acetato de celulosa

(CA) como electrolito transportador de iones y tetrafluoroborato de tetrahexilamonio (THABF₄) como fuente de iones. Para ello, se han realizado varios dispositivos en los que la capa activa mantiene las mismas cantidades de complejo y THABF₄, pero en las que se va aumentando la concentración de CA de forma creciente. Este estudio ha mostrado una excelente compatibilidad entre el complejo y el electrolito, probablemente debida a que la presencia de cadenas orgánicas en ambos parece actuar como espaciador mecánico, impidiendo o ralentizando los procesos de agregación/cristalización del emisor, que producen la pérdida de eficacia del dispositivo. Dicha compatibilidad

alcanza su punto óptimo con la incorporación del acetato de celulosa en una proporción del 20% en peso a la capa activa. Además, dichos estudios han mostrado que, al contrario de lo que se ha observado hasta el momento en la bibliografía, la presencia del electrolito biogénico en la capa activa no sólo se traduce en una mayor autoestabilidad frente a su almacenamiento o a condiciones de estrés por calentamiento (50°C), sino en la obtención de LECs que llegan a duplicar su luminancia, eficacia y estabilidad cuando son comparados con dispositivos de referencia sin CA como electrolito. Este trabajo ha sido publicado recientemente en *Adv. Funct. Mater.* 2022, 32, 2201975 (D.O.I. [10.1002/adfm.202201975](https://doi.org/10.1002/adfm.202201975)).

Conclusiones

A lo largo de esta Memoria se ha puesto especial interés en la síntesis de nuevos compuestos emisivos ciclotmetalados de Pt(II) y de Ir(III) y en su implementación, bien en el campo de la biología, como marcadores o agentes citotóxicos, o bien en dispositivos de iluminación en estado sólido.

- En el capítulo 1 se ha conseguido realizar la síntesis de los derivados cicloplatinados luminiscentes con grupos pentafluorofenilo $[\text{Pt}(\text{C}^{\wedge}\text{N})(\text{C}_6\text{F}_5)\text{L}]$ [$\text{C}^{\wedge}\text{N} = \text{ppy}$ (**a**), dfppy (**b**)] a partir de los precursores **1** (con $\text{L} = \text{DMSO}$) y fosfinas biocompatibles dpbH (**2**), dpbGlyOMe (**3**) y TPPTS (**4**). En la síntesis de los derivados **3**, se ha conseguido realizar con éxito la funcionalización de la fosfina con el derivado glicina metil éster a través de un acoplamiento peptídico, empleando para ello el agente de acoplamiento EDC-HCl.
- En estos compuestos las transiciones de baja energía asociadas a los espectros de absorción y emisión se corresponden con una mezcla de transiciones IL/MLCT con cierta contribución de transiciones $\text{Pt} \rightarrow \text{dpbH}$ en **2**. Los compuestos **4** no son emisivos en disolución, pero en medios rígidos todos los derivados muestran emisiones intensas en el rango 475 - 500 nm en los compuestos con ppy , que se desplazan a energías más altas en los compuestos con dfppy (450 - 475 nm). Estas propiedades ópticas, hacen posible su localización en el interior de las células.
- El estudio de las propiedades biológicas de los compuestos **1** - **4** revela que, a excepción de **1a**, ninguno de ellos altera la movilidad electroforética del ADN, algo que concuerda con la localización intracelular en el núcleo para **1a** y en el citoplasma para el resto de los derivados.
- De entre todos los compuestos, tan solo los derivados **1** y **2** presentaron actividad citotóxica con valores de IC_{50} en el rango 6.07–20.50 μM para las líneas A549 y HeLa; siendo los derivados con la dpbH , los que presentaron mejor actividad antineoplásica.
- Se ha confirmado que el compuesto **2b** ejerce un efecto despolimerizador sobre la tubulina en ambas líneas celulares, siendo más efectivo en A549. Este dato concuerda con su actividad antiproliferativa (IC_{50} 12.45 en HeLa vs 6.98 μM en

A549) y sugiere que la actividad citotóxica de este tipo de compuestos, entre otras razones, podría estar relacionada con la despolimerización de los microtúbulos de la tubulina.

- Por otro lado, se ha sintetizado y caracterizado una nueva familia de compuestos ciclometalados de Ir(III) $[\text{Ir}(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2(\text{N}^{\wedge}\text{N})]\text{A}$, en los que se ha modificado la posición 3 del grupo 2,4-difluorofenilpiridinato ($\text{C}^{\wedge}\text{N}$, H, *dfppy* **b**; CHO, CHO-*dfppy* **c** y COOH, COOH-*dfppy* **d**). Además, se han introducido dos grupos amida (*dbbpy* **6** o *dobpy* **8**) ó ácidos (4,4'-H₂dc*bpy*) **7b** en la diimina, así como la sustitución de cloruro (Cl⁻) o hexafluorofosfato (PF₆) como contraión. Todas estas variaciones introducen modificaciones, no solo estructurales sino también en las propiedades ópticas y en la lipofilia de los compuestos finales
- Se han obtenido las estructuras de rayos-X de los derivados **6b-Cl** y de **6d-PF₆**. Estos resultados revelan que para **6b-Cl** y posiblemente para **6c,d-Cl**, se establecen interacciones de hidrogeno del tipo dador aceptor entre ion cloruro con 4 átomos de H de la *dbbpy*, apoyadas también por cálculos NCI.
- El estudio de sus propiedades ópticas (absorción y emisión) en presencia y ausencia de oxígeno, apoyado mediante estudios teóricos (NCI, DFT, TD-DFT), revela que todos ellos exhiben fosforescencias intensas, modulables mediante cambios en los sustituyentes en los grupos ciclometalados y en menor grado de las diiminas auxiliares. En general, estas emisiones se atribuyen a una mezcla de transiciones de carácter ³ML'CT (Ir→N[^]N)/³LL'CT (C[^]N→N[^]N). El *quenching* observado de las emisiones en disolución aireadas indica que estos derivados pueden actuar como sensibilizadores de ¹O₂, lo que ha sido confirmado y examinado cuantitativamente para los compuestos **6c-PF₆** y **7b-PF₆**. Además, se ha determinado la actividad en la oxidación catalítica del NADH para el compuesto más citotóxico, **6b-Cl**.
- La actividad citotóxica de estos compuestos se ha estudiado en las líneas celulares tumorales A549 y HeLa y la no tumoral BEAS-2B. Los resultados indican que los cambios, tanto en los grupos ciclometalados como en las

diiminas, afectan significativamente a las propiedades biológicas, bien debido a su limitada solubilidad (escasa en **8c-Cl**) o a su lipofilia. Así, el compuesto más lipofílico, **6b-Cl**, presenta una citotoxicidad superior al cisplatino, mientras que **6c-PF₆** y **7b-PF₆** muestran citotoxicidades moderadas y el resto resultaron no tóxicos.

- Experimentos de interacción de estos derivados con el plásmido pBR322 y de localización intracelular por microscopia confocal revelan que el mecanismo de acción no pasa por su interacción con el ADN nuclear. Además, se ha confirmado que el derivado **6b-Cl** se localiza en los lisosomas y causa daño mitocondrial. Este compuesto es capaz de oxidar el NADH, por lo que se ha sugerido que su actividad citotóxica podría estar relacionada con generación de ROS asociada a un desequilibrio intracelular del par NADH/NAD⁺.
- Es destacable que algunos compuestos no citotóxicos en condiciones normales (condiciones de oscuridad) mostraron un incremento en su actividad antiproliferativa (**6c-Cl**, **6c-PF₆** y **7b-PF₆**) al ser foto-excitados con luz azul, lo que sugiere su potencial en terapia fotodinámica.
- Por último, se ha sintetizado con éxito y caracterizado otra familia de compuestos catiónicos [Ir(C^N)₂(N^N)](PF₆) [C^N *ppy* (**a**) y *dfppy* (**b**)], en los que se ha modificado longitud y lipofilia de los grupos amidas con los que se funcionalizan las bipyridinas [N^N *dbbpy* (**6a** y **6b**), *dobpy* (**8a**), *ddobpy* (**9a**) *dhbpy* (**10a**) y *dPEGbpy* (**11a**)]. La estructura del ion en **6b-PF₆** es similar a la del **6b-Cl**, aunque en este caso, la presencia de interacciones C-H...F y π...F, con el PF₆⁻ provoca la generación de una red supramolecular.
- Sus emisiones, al igual que las del capítulo anterior, dependen del disolvente (solvatocromismo) y se atribuyen a una mezcla ³ML'CT (Ir→N^N)/³LL'CT (C^N→N^N). La energía de la emisión depende del grupo ciclometalado que participa en el HOMO, mientras que las modificaciones en los sustituyentes de la diimina no influyen en la energía del LUMO localizado en los anillos de la bpy.

- En estos compuestos, la naturaleza extendida de las cadenas en la bipyridina posibilita su empleo como emisores en LECs basados en el uso de acetato de celulosa como electrolito. Para ello, se ha comenzado probando la eficacia del complejo **6b-PF₆**.
- Hay que señalar que los intentos iniciales de obtener LECs con este electrolito biogénico, utilizando como emisor el complejo de Ir(III) arquetípico [Ir(ppy)₂(dtbbpy)]PF₆ (dtbbpy: 4,4'-terbutil-2,2'-bipyridina), conducen a fases activas en las que se produce la separación de los componentes y formación de agregados que impiden el correcto funcionamiento del dispositivo. Sin embargo, la presencia de cadenas orgánicas, tanto en el complejo **6b-PF₆** como en el electrolito, conduce a una excelente compatibilidad entre ambos que se maximiza con la incorporación del acetato de celulosa en una proporción del 20% en la capa activa.
- En estas condiciones, la presencia en la capa activa del electrolito biogénico y del complejo **6b-PF₆** aportan una mayor autoestabilidad y la obtención de LECs que llegan a duplicar su luminancia, eficacia y estabilidad cuando son comparados con dispositivos de referencia sin acetato de celulosa. Estos resultados invitan a la fabricación de nuevos dispositivos basados en celulosa con emisores Ir-iTMCs como los preparados en este capítulo 3.

Experimental Section



Experimental Section

E.1 Instrumental and spectroscopic techniques

Elemental analyses

Elemental analyses have been carried out with a Carlo Erba EA1110 CHNS/O microanalyzer (**chapter 1 and 2**), or in a Perkin-Elmer 2400 CHNS/O microanalyzer (**chapter 3**)

Mass spectra

Mass spectra were recorded on a Bruker Microflex matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) spectrometer operating in the linear and reflector modes using dithranol as matrix and the Electrospray Mass spectra by electrospray ionization on an interphase ESI/APCI Bruker Microtof-Q spectrometer with positive and negative ion mode with MeOH/H₂O 90/10 and 0.1 % formic acid as a mobile phase operating in the negative FAB mode or a HP5989B mass spectrometer with interphase API-ES HP 59987A.

Infrared spectra

IR spectra were obtained on a Nicolet Nexus FT-IR spectrometer from Nujol mulls between polyethylene sheets (**chapter 1**) or on a PerkinElmer Spectrum UATR Two FT-IR Spectrometer with the diamond crystal ATR accessory covering the region between 4000 and 450 cm⁻¹. Data processing was carried out with Omnic (**chapter 2 and 3**).

Nuclear Magnetic Resonance spectra

NMR spectra were recorded on a Bruker AVANCE ARX400 or a BRUKER ARX 300 spectrometers at 298 K. Chemical shifts are reported in parts per million (ppm) relative to external standards (SiMe₄ for ¹H and ¹³C{¹H}, CFCl₃ for ¹⁹F{¹H}, H₃PO₄ for ³¹P{¹H}), and all coupling constants are given in Hertz (Hz).

UV-Visible absorption spectroscopy

The UV-vis absorption spectra in solution were measured with a Hewlett-Packard 8453 spectrophotometer. The DRUV (diffuse reflectance ultraviolet) in the solid state have been measured using a Shimadzu UV-3600 spectrometer with a Harrick Praying Mantis accessory coupled to it. Samples were prepared mixing the complex with KBr or silica, and the reflectance information was transformed following the Kubelka-Munk function.

Emission spectroscopy, quantum yields and lifetime measurements

Excitation and emission spectra in solid state as well as in solution, were obtained in a Jobin Yvon Horiba Fluorolog 3-11, Tau 3 spectrofluorometer (**Chapter 1**), Shimadzu RF-6000 spectrofluorometer (**Chapter 2**) or on an Edinburgh FLS 1000 Fluorescence spectrometer. The lifetime measurements were performed with a Jobin Yvon Horiba Fluorolog operating in the phosphorimeter mode (with an F1-1029 lifetime emission PMT assembly, using a 450 W xenon lamp) (**chapter 1**) or on an Edinburgh FLS 1000 Fluorescence spectrometer using a μ F2 microsecond lamp flashlamp (Power: 100 W, Fuse: 3.15 Amp A/S) and a Picosecond Pulsed Diode LED with a wavelength of 375 nm with pulse length of 2-20 μ s (**chapters 2 and 3**). Quantum yields in solid state were measured using a F-3018 Integrating Sphere mounted on a Fluorolog 3-11 Tau-3 spectrofluorometer for **chapter 1** while an N-M101 integrating sphere on an Edinburgh FLS 1000 Fluorescence spectrometer and Hamamatsu Absolute PL Quantum Yield Measurement System Spectrometer C11347 were employed for **chapter 2 and 3**.

Theoretical calculations

Calculations of all complexes were carried out with the Gaussian 09³⁴¹ package (**Chapters 1**) or Gaussian 16³⁴² (**Chapters 2 and 3**) using Becke's three-parameter functional combined with Lee-Yang-Parr's correlation functional (B3LYP) in the singlet state (S_0) and the unrestricted U-B3LYP in the triplet state (T_1).³⁴³ The basis set used was the LanL2DZ effective core potential for Pt and Ir and 6-31G(d,p) for the ligand atoms.³⁴⁴ The S_0 geometry was found to be a true minimum as no negative frequencies in the vibrational frequency study of the final geometry were found.

In **Chapter 1**, optimizations of **1 (a and b)**, **2a** and **3b** on the singlet state (S_0) were performed by Rebeca Lara using as starting point the molecular geometry obtained through X-ray diffraction analysis while **2b** and **3a** were modeled. The S_0 geometry was found to be a true minimum as no negative frequencies in the vibrational frequency study of the final geometry were found. DFT, UDFT, and TD-DFT calculations were carried out in the presence of dichloromethane, using the PCM approach³⁴⁵ implemented in the *Gaussian 09* software. The MO diagrams and the orbital contributions were generated with *Gaussian 09* software and *Gauss-Sum*³⁴⁶ program, respectively. The emission energies were calculated as the difference between the optimized T_1 and S_0 states (adiabatic electronic transition). The results were visualized with *GaussView*.

In **Chapter 2 and chapter 3** optimization of **6b-Cl** and **6b-PF₆** on the singlet state (S_0) were performed using as a starting point the molecular geometry obtained through X-ray diffraction analysis while the rest were modeled using **6b-Cl** modified. DFT and TD-DFT calculations were carried out using the polarized continuum model approach³⁴⁵ implemented in the *Gaussian 16* software in the presence of dimethyl sulfoxide in **chapter 2** and acetonitrile in **chapter 3**. In **chapter 2**, Non-covalent interactions isosurfaces were collected with *Multiwfn* (v 3.7).³⁴⁷ These results were visualized with the *Visual Molecular Dynamics (VMD)* program (v 19.3)³⁴⁸ for 3D plots.

Crystal structures

In **chapter 1**, X-ray intensity data were collected with a Nonius Kappa-CCD area-detector diffractometer, using graphite-monochromatic Mo-K α radiation, and images processed using the DENZO and SCALEPACK suite of programs,³⁴⁹ carrying out the absorption correction at this point for complexes **1b** and **2a**. For **3b**, the absorption correction was performed using MULTI-SCAN,³⁵⁰ with the WINGX program suite.³⁵¹ The structures were solved by intrinsic phasing using SHELXT (**3b**),³⁵² and refined by full-matrix least squares on F^2 with SHELXL.³⁵³ All non-hydrogen atoms were assigned anisotropic displacement parameters. All the hydrogen atoms were constrained to idealized geometries fixing isotropic displacement parameters 1.2 times the U_{iso} value of their attached atoms, except those of methyl and carboxylic acid groups, which were

fixed to 1.5 times the U_{iso} value of their attached carbons. The structures of **2a** and **3b** showed disordered crystallization molecules of solvent, which could not be properly modelled. For **2a**, two CH_2Cl_2 molecules were properly resolved from the difference density map. Further examination of the structure with PLATON³⁵⁴ and SQUEEZE revealed the presence of a central void of 1006 \AA^3 in the unit cell, containing $468 e^-$, which fits well with the presence of additional eleven CH_2Cl_2 molecules in the unit cell (**2a** \cdot $3.25\text{CH}_2\text{Cl}_2$). For **3b**, examination with PLATON³⁵⁴ and SQUEEZE³⁵⁴⁻³⁵⁵ of the structure revealed the presence in the unit cell of four voids of 330 \AA^3 , containing a total of $346 e^-$, and two voids of 46 \AA^3 , containing a total of $54 e^-$, which fits well with the presence of eight CH_2Cl_2 and four H_2O molecules in the unit cell (**3b** \cdot $2\text{CH}_2\text{Cl}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$). Finally, the structure of **2a** shows three residual peaks greater than $1 e^- \text{ \AA}^{-3}$, but with no chemical meaning.

Table E.1. X-ray Crystallographic Data for **1b**, **2a**·3.25CH₂Cl₂ and **3b**·2CH₂Cl₂·H₂O

	1b	2a ·3.25CH ₂ Cl ₂	3b ·2CH ₂ Cl ₂ ·H ₂ O
Empirical formula	C ₁₉ H ₁₂ F ₇ N Pt S	C _{36.5} H ₂₄ Cl F ₅ N O ₂ P Pt	C ₃₉ H ₂₆ F ₇ N ₂ O ₃ P Pt
<i>F</i> _w	630.45	865.08	929.68
T (K)	173(1)	173(1)	173(1)
crystal system, space group	Triclinic, P -1	Triclinic, P -1	Orthorhombic, P bna
a(Å)	7.2263(3)	14.3989(5)	9.5330(2)
b(Å)	10.8523(5)	14.6806(5)	21.7810(3)
c(Å)	12.0003(5)	19.7436(5)	38.4280(7)
α(deg)	94.800(2)	106.044(2)	90.
β(deg)	91.135(3)	91.047(2)	90
γ(deg)	97.103(2)	94.401(1)	90.
volume (Å ³)	930.16(7)	3995.7(2)	7979.1(2)
Z	2	4	8
<i>D</i> _{calcd} (Mg/m ³)	2.251	1.438	1.548
absorption coefficient (mm ⁻¹)	7.734	3.670	3.615
F(000)	596	1684	3632
θ range for data collection (deg)	1.898 to 27.498	1.745 to 25.350	1.870 to 27.455
no of data / restraints / params	4210 / 0 / 271	14631 / 0 / 760	8708 / 0 / 478
goodness-of-fit on F ^{2[a]}	1.049	1.038	1.081
final R indices	R1 = 0.0196,	R1 = 0.0470,	R1 = 0.0463,
[I > 2σ(I)] ^[a]	wR2 = 0.0475	wR2 = 0.1096	wR2 = 0.12361
R indices (all data) ^[a]	R1 = 0.0209,	R1 = 0.06251,	R1 = 0.0903,
	wR2 = 0.0481	wR2 = 0.1167	wR2 = 0.1575
largest diff peak and hole (e.Å ⁻³)	0.695 and -1.396	1.944 and -2.324	0.905 and -1.285

^[a] R1 = $\sum(|F_o| - |F_c|) / \sum |F_o|$; wR2 = $[\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2 / \sum w F_o^2]^{1/2}$; goodness of fit = $\{\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (N_{\text{obs}} - N_{\text{param}})\}^{1/2}$; $w = [\sigma^2(F_o) + (g_1 P)^2 + g_2 P]^{-1}$; $P = [\max(F_o^2; 0) + 2F_c^2] / 3$.

In **chapter 2 and 3** X-ray diffraction intensity data were collected with a Bruker D8 QUEST (PHOTON 100 CMOS) area-detector diffractometer, using graphite-monochromatic Mo-K_α radiation with an Oxford Cryosystem temperature controller. The images were collected and processed using Bruker APEX3 and SAINT programs,³⁵⁶ carrying out the absorption correction at this point by semi-empirical methods using SADABS.³⁵⁶ The structures were solved by intrinsic phasing using SHELXT,³⁵⁷ and refined by full-matrix least squares on F² with SHELXL,³⁵³ using the WINGX program suite.³⁵⁸ All non-hydrogen atoms were assigned anisotropic displacement parameters.

For complex **6b-Cl** and **6b-PF₆**, two CHCl₃ molecules per complex molecule were found in the electron density map. Nevertheless, further inspection of the structure with

PLATON³⁵⁹ and SQUEEZE³⁶⁰ revealed the presence of two void of $426 \text{ e} \cdot \text{\AA}^{-3}$ in the unit cell of **6b-Cl**, each of them containing 105 electrons, which fits well for the presence of one additional molecule of CHCl_3 for each iridium(III) molecule complex (**6b-Cl** $\cdot 3\text{CHCl}_3$). For **6c-PO₂F₂** \cdot acetone, two carboxylic hydrogens (H1 and H3) were found in the electronic density map and one restrain was used to fix one of them to its corresponding oxygen atom (O1). In **6b-PF₆**, a deeply inspection of the structure revealed the presence of one void of $198.3 \text{ e} \cdot \text{\AA}^{-3}$ in the unit cell, containing 62 e^- , which fits well with the presence of one and a half molecules in the unit cell (**6b-PF₆** $\cdot 0.75\text{CH}_2\text{Cl}_2$). Finally, several restrains have been used in order to model positional disorders in the n-butylamide chains. Specifically, for **6b-Cl** $\cdot 3\text{CHCl}_3$, one aliphatic chain has been modelled (C19-C22 50/50) using two restrains, while for complex **6d-PO₂F₂** \cdot acetone, both aliphatic chains have been modelled (C37-C40 y C42-C45 60/40) and only one restrain has been used. Finally, ten restrains were used to model positional disorders (50/50) in both the n-butylamide chains (C29-C33 and C39-C43) of **6b-PF₆**.

Table E.2. X-ray Crystallographic Data for $[\text{Ir}(\text{dfppy})_2(\text{dbbpy})]\text{Cl} \cdot 3\text{CHCl}_3$ (**6b** $\cdot 3\text{CHCl}_3$), $[\text{Ir}(\text{COOHdfppy})_2(\text{dbbpy})]\text{PO}_2\text{F}_2 \cdot \text{acetone}$ (**6d-PO₂F₂** \cdot acetone).

	6b $\cdot 3\text{CHCl}_3$	6d-PO₂F₂ \cdot acetone
Empirical formula	$\text{C}_{45}\text{H}_{41}\text{Cl}_{10}\text{F}_4\text{IrN}_6\text{O}_2$	$\text{C}_{47}\text{H}_{44}\text{F}_6\text{IrN}_6\text{O}_9\text{P}$
F_w	1201.17	1174.05
T (K)	135(1) K	100(2)
crystal system, space group	Monoclinic	Monoclinic
a(Å)	17.941(3)	11.1184(5)
b(Å)	28.409(5)	30.6557(17)
c(Å)	11.205(2)	13.7608(8)
α (deg)	90	90
β (deg)	110.153(6)	98.189(2)
γ (deg)	90	90
volume (Å ³)	5361.5(17)	4642.4(4)
Z	4	4
D_{calcd} (Mg/m ³)	1.488	1.680
absorption coefficient (mm ⁻¹)	2.892	2.998
F(000)	2376	2344
θ range for data collection (deg)	2.868 to 28.281	2.867 to 27.103
no of data / restraints / params	6646 // 2 // 299	10231 / 2 / 657
goodness-of-fit on F^2 ^[a]	1.041	1.208
final R indices [$I > 2\sigma(I)$] ^[a]	$R_1 = 0.0235$ $wR_2 = 0.0572$	$R_1 = 0.0326$ $wR_2 = 0.0715$
R indices (all data) ^[a]	$R_1 = 0.0273$ $wR_2 = 0.0584$	$R_1 = 0.0332$ $wR_2 = 0.0719$
largest diff peak and hole ($\text{e} \cdot \text{\AA}^{-3}$)	0.947 and -0.586	1.269 and -1.530

(a) $R_1 = \Sigma(|F_o| - |F_c|) / \Sigma|F_o|$; $wR_2 = [\Sigma w(F_o^2 - F_c^2)^2 / \Sigma w F_o^2]^{1/2}$; goodness of fit = $\{\Sigma[w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (N_{\text{obs}} - N_{\text{param}})\}^{1/2}$; $w = [\sigma^2(F_o) + (g_1P)^2 + g_2P^2]^{-1}$; $P = [\max(F_o^2; 0 + 2F_c^2)]/3$.

Table E.3. X-ray Crystallographic Data for **6b-PF₆·0.75CH₂Cl₂**

	6b·3CHCl₃
Empirical formula	C ₄₂ H ₃₈ F ₁₀ IrN ₆ O ₂ P
F_w	1071.95
T (K)	100(1) K
crystal system, space group	Triclinic, P -1
a(Å)	8.463(3)
b(Å)	15.133(6)
c(Å)	17.073(7)
α (deg)	99.13(2)
β (deg)	91.34(1)
γ (deg)	99.89(1)
volume (Å ³)	2123.8(15)
Z	2
D_{calcd} (Mg/m ³)	1.676
Absorption coefficient (mm ⁻¹)	3.2692
F(000)	1060
θ range for data collection (deg)	2.814 to 28.762
no of data / restraints / params	9330 // 10 // 496
Goodness-of-fit on F^2 ^[a]	1.132
Final R indices [$I > 2\sigma(I)$] ^[a]	R1 = 0.0574, wR2 = 0.1482
R indices (all data) ^[a]	R1 = 0.0615, wR2 = 0.1513
largest diff peak and hole (e.Å ⁻³)	2.791 and -2.705

(a) $R_1 = \Sigma(|F_o| - |F_c|) / \Sigma |F_o|$; $wR_2 = [\Sigma w(F_o^2 - F_c^2)^2 / \Sigma wF_o^2]^{1/2}$; goodness of fit = $\{\Sigma[w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (N_{\text{obs}} - N_{\text{param}})\}^{1/2}$; $w = [\sigma^2(F_o) + (g_1P)^2 + g_2P]^{-1}$; $P = [\max(F_o^2; 0 + 2F_c^2)]/3$.

Cyclic voltammetry

Cyclic voltammetry measurements were carried out on a Voltalab PST050 electrochemical workstation, using a solution of tetra-butylammonium hexafluorophosphate (NBu₄PF₆) as the supporting electrolyte. A conventional three-electrode configuration was used, consisting of a platinum spar working electrode, a platinum wire counter electrode, and an Ag/AgCl reference electrode.

Lipophilicity Determinations.

Relative Lipophilicity measurements by RP-UPLC were performed using a Waters Acquity UPLC system (Waters, Milford, MA, USA), which was interfaced to quadrupole, high resolution, TOF mass spectrometer (microTOF-Q Bruker, Bremen, Germany), using an ESI interface operating in positive ion mode. The UPLC separation was performed using an Acquity UPLC BEH C18 1.7 μm particle size analytical column 100 mm \times 2.1 mm (Waters) at a flow rate of 0.35 mL/min. The mobile phases used were A = H₂O with 0.1% HCOOH and B = acetonitrile with 0.1% HCOOH. The percentage of

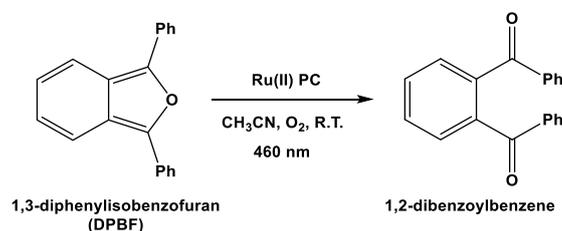
organic modifier (B) was changed linearly as follows: 0 min., 50%; 9.5 min., 99%; 11.5 min., 99%; 12 min., 20%; 12.5 min., 20%. Nitrogen (from a nitrogen generator) was used as the drying gas and nebulizing gas (2 Bar). The column temperature was set to 30°C. MS data were acquired over an m/z range of 50–3300. A capillary voltage of 4.5 kV, set end plate offset -500 V, dry gas of 7.0 L/min. and set dry heater of 190°C were used. Calibrations were conducted from m/z 50 to 3300 with a HCOONa solution (15 mg) in 100 mL of water. MS data were acquired in centroid mode and were processed by the DataAnalysis application manager (within Compass Data Analysis 4.2 SR2; Bruker Corporation). Samples were dissolved in 10% v/v methanol in water, ~10 μ M.

Studio of reaction with NADH

The interaction between complexes **6b-Cl** and **7b-PF₆** (1 μ M) with NADH (100 μ M) in a solution of 20% Methanol and 80% H₂O was monitored by UV-Vis at 298 K after intervals of 1 hour. TON can be calculated as the difference in NADH concentration after 8 hours of reaction divided by the concentration of the complex being studied. The concentration of NADH was obtained employing the extinction coefficient $\epsilon_{339} = 6220 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Determination of ¹O₂ generation quantum yields.

Singlet Oxygen quantum yields ($\phi_{\Delta}^{\text{PC}}$) were determined according to a relative procedure adapted from the literature,^{242, 361} which is based on monitoring by UV-Vis spectroscopy the oxidation of 1,3-diphenylisobenzofuran (DPBF, yellow) to 1,2-dibenzoylbenzene (colorless) photosensitized by [Ru(bpy)₃]Cl₂ in acetonitrile solution.



DPBF was selected as the ¹O₂ scavenger due to its fast reaction with ¹O₂. Air-equilibrated acetonitrile solutions containing DPBF were prepared (~8 × 10⁻⁵ M) in a cuvette and their absorbance adjusted to around 1.0 at 410 nm. Then, the photosensitizer ([Ru(bpy)₃]Cl₂, 10⁻⁵ M, corresponding to absorbance around 0.2) was introduced in the cuvette.

Low dye concentrations were used to minimize quenching of $^1\text{O}_2$ by the dyes. The mixture was irradiated with a blue LED strip ($\lambda_{\text{irr}} = 460 \text{ nm}$) at room temperature for 0.5 seconds irradiation intervals during a total exposure period of 180 seconds and absorption UV-Vis spectra were recorded after every irradiation interval.

The decrease in the absorption band at 410 nm was plotted *vs.* the irradiation time and the experimental data were fitted to a straight line.

An acetonitrile solution of DPBF without the Ru(II) complex was examined to confirm its photostability under identical irradiation conditions (20 s). The $\varphi_{\Delta}^{\text{PC}}$ were calculated by a relative method using equation (1), and $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]\text{Cl}_2$ as the reference for $^1\text{O}_2$ photosensitization in acetonitrile ($\varphi_{\Delta}^{\text{S}} = 0.56$).²⁶⁴

$$\varphi_{\Delta}^{\text{PC}} = \varphi_{\Delta}^{\text{S}} \times (\text{S}^{\text{PC}} \times \text{F}^{\text{S}}) / (\text{S}^{\text{S}} \times \text{F}^{\text{PC}}) \quad \text{eq (1)}$$

Where S, is the slope of a linear fit for the change in absorbance of DPBF (at 410 nm) with the irradiation time, and F, is the absorption correction factor, which is given by $F = 1 \times 10^{-\text{OD}}$ (where OD is the optical density at the irradiation wavelength). The superscripts PC and S stand for the Ru(II) photocatalysts and the standard sensitizer, respectively.

E.2 Biological studies (collaboration with CIBIR)

Cell culture

A549 (tumor adenocarcinomic alveolar basal epithelial cells), HeLa (tumor epitheloid cervix carcinoma cells), NL-20 (non-tumor immortalized bronchial epithelial cells) BEAS-2B (bronchial epithelium) human cell lines as well as immortalized mouse embryonic fibroblasts (3T3) obtained from lungs (LMEFs) were cultured following the American Type Culture Collection (www.atcc.org) recommendations and standard methods, as previously described.^{134, 196, 202b, 263a, 362} A549 and HeLa cell lines were maintained in RPMI 1640 medium supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) and 2.0 mM L-glutamine. The NL-20 cell line was grown in Ham's F-12 medium supplemented with 1.5 g L⁻¹ sodium bicarbonate, 2.7 g L⁻¹ glucose, 2.0 mM L-glutamine, 0.1 mM non-essential aminoacids, 0.005 mg mL⁻¹ insulin, 10 ng mL⁻¹ epidermal growth factor, 0.001 mg mL⁻¹ transferrin, 500 ng mL⁻¹ hydrocortisone and 4% FBS. Penicillin (100 U mL⁻¹) and streptomycin (100 µg mL⁻¹) were added to all media. Cultures were maintained under a humidified atmosphere of 95% air/5% CO₂ at 37 °C, and were sub-cultured before they get confluent using a 0.25% trypsin-EDTA solution.

Cytotoxicity assay

The MTS hydrolysis method 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium (MTS-based CellTiter 96, AQueous Assay; Promega Corp., Madison, WI) was used to determine the cell viability as an indicator of A549 and HeLa cell sensitivity to the complexes as previously reported.¹³⁴ Briefly, 50 µL of exponentially growing cells was seeded at densities of 1.5 × 10³ (A549 and HeLa), 7.0 × 10³ (NL-20) and 6.0 × 10³ (BEAS-2B) cells per well, in a 96-well flat-bottomed microplate in growing media, with 5% (A549), 10% (HeLa), and 2% (NL-20) FBS. A total of 24 h later, they were incubated for 72 h with the compounds.

Chapter 1: The complexes were dissolved in either DMSO at 16 mM (**1a**, **2a**, **2b**, **3a**, and **3b**) or 8 mM (**1b**) or H₂O at 16 mM (**4a** and **4b**). Cisplatin (Alfa Aesar, Karlsruhe, Germany) as a reference was dissolved at 6.4 mM in a saline solution.^{196, 363} These stock solutions were kept frozen until they were dissolved in a test medium as nine 1:2 serial dilutions for the three cell lines, except **4a** for A549 cells and **1b** for HeLa,

which were serially diluted 1:1.5. A total of 50 μL of each dilution or medium alone was added to growing cells in the 96-well plate designed as previously recommended.³⁶⁴ Final concentrations in sextuplicates ranged from 0.39 to 100 μM (**1b**), from 0.78 to 200 μM (**2** and **3**), from 19.51 to 500 μM (**4a**), and from 1.95 to 500 μM (**4b**) for A549 cells, from 3.9 to 100 μM (**1b**), from 0.31 to 80 μM (**2a**), from 0.39 to 100 μM (**2b**), from 0.78 to 200 μM (**3a** and **3b**), and from 1.95 to 500 μM (**4a** and **4b**) for HeLa cells, and from 0.39 to 100 μM (**1b**), from 0.78 to 200 μM (**2a** and **2b**), and from 1.95 to 500 μM (**4b**) for NL-20 cells. In the case of cisplatin, serial dilutions were 1:1.5 ranging from 1.56 to 40 μM for A549 cells,¹³⁴ and 1:2 ranging from 0.78 to 200 μM for HeLa cells.¹⁹⁶ After 72 h at 37 °C, 20 μL of MTS was added and plates were incubated for 1 h at 37 °C. Finally, the optical density was measured at 490 nm using a 96-well multiscanner autoreader (POLARstar Omega, BMG Labtech; Germany). Each experiment was repeated three times. Appropriate solvent controls were run along with samples to discard DMSO cytotoxic effect. The IC_{50} (drug concentration that produced 50% inhibition of cell proliferation) was calculated by plotting percentage of growing inhibition *versus* log of the drug concentration using the GraphPad Prism 6 (La Jolla, CA) software.

Chapter 2: The complexes were dissolved in DMSO at 16 mM (**6d-Cl** and **7b-PF₆**) or 8 mM (**6b-Cl**, **6c** and **6d-PF₆**). Cisplatin (Alfa Aesar, Karlsruhe, Germany) as a reference was dissolved at 6.4 mM in a saline solution.¹⁹⁶ These stock solutions were kept frozen until they were dissolved in a test medium as nine 1:2 serial dilutions for the three cell lines. A total of 50 μL of each dilution or complete medium alone was added to growing cells in the 96-well plate designed as previously recommended.³⁶⁴ Final concentrations in sextuplicates ranged from 400 to 1.56 μM (**6c-Cl**, **6cPF₆**, **6d-PF₆** and **7b-PF₆**), from 200 to 0.78 μM (**6d-Cl**) and from 50 to 0.19 μM (**6b-Cl**) for A549 cells; from 400 to 1.56 μM (**7b-PF₆**), from 320 to 1.25 μM (**6c-PF₆**) and from 50 to 0.19 μM (**6b-Cl**) for HeLa cells; and from 400 to 1.56 μM (**6c-PF₆**, and **7b-PF₆**) and from 200 to 078 μM (**6b-Cl**) for BEAS-2B cells. In the case of cisplatin, serial dilutions were 1:1.5 ranging from 40 to 1.56 μM for A549 cells and 1:2 ranging from 200 to 0.78 μM for HeLa cells.¹⁹⁶ For BEAS-2B cells cisplatin serial dilutions were 1:2,5 ranging from 100 to 0,07 μM . After 72 h at 37 °C, 20 μL of MTS was added and plates were incubated for 1 h (A549 and HeLa) or 2 h (BEAS-2B) at 37 °C. Finally, the optical density was measured at 490 nm using a 96-well

multiscanner autoreader (POLARstar Omega; BMG Labtech, Offenburg, Germany). Each experiment was repeated three times. The IC₅₀ (drug concentration that produced 50% inhibition of cell proliferation) was calculated by plotting the percentage of growing inhibition versus log of the drug concentration using the GraphPad Prism 6 (La Jolla, CA) software. The selectivity index (SI) was calculated according to the following equation:

Selectivity index

The selectivity index (SI) was calculated according to the following equation: SI = IC₅₀ non-tumor cell (NL20)/IC₅₀ tumor cells (A549 or HeLa) (**chapter 1**), (BEAS-2B)/IC₅₀ tumor cells (A549 or HeLa) (**chapter 2**), as previously reported.^{202b} Non-tumor NL20 and BEAS-2B epithelial lung cells served as the selectivity reference to match the same tissue origin of A549 lung carcinoma (epithelial origin) cells, as suggested.³⁶⁵

In vitro photocytotoxicity testing

Induction of phototoxicity in cultured cells was performed following previous reports, with modifications.³⁶⁶ A549 cell were seeded in 96-well plates as described above for the MTS assay. 24 h later, cells were washed with HBSS (Hank's Balanced Salt Solution) (with 1 g/L glucose, without phenol red and pyruvate: Cat No. 14175-046 Gibco) and incubated in 50 µL sextuplicates of HBSS alone or in 1:2 nine serial dilutions in HBSS for 1 h at 37°C in a 5% CO₂ atmosphere. Final concentrations in sextuplicates ranged from 400 to 1.56 µM (**6c-PF₆**), from 200 to 0.78 µM (**6c-Cl** and **6d-Cl**) and from 150 to 0.59 µM (**7b-PF₆**). After 1 h of exposure to the complexes, plates were laid 91 mm under a LED lamp (λ_{\max} 396 nm; Onforu 15W IP66) and irradiated ("photoinduced" plate) under room normoxic atmosphere for 15 min (**6c-Cl** and **6d-Cl**), 10 min (**6c-PF₆**) and 3 min (**7b-PF₆**). Meanwhile, an equivalent control non-irradiated plate was manipulated in the same way ("nonphotoinduced" plate). After, cells were washed with HBSS, added 100 µL of complete medium and further incubated for 72 h at 37°C in a 5% CO₂ atmosphere. Finally, 20 µL of MTS was added to each well, plates were incubated for 1 h at 37°C and the optical density was measured at 490 nm using a 96-well multi-scanner auto reader. Each experiment was repeated three times. The IC₅₀ was calculated as described above under the Cytotoxicity Assay section.

Interaction of complexes with DNA

Interaction between complexes and cisplatin with pBR322 plasmid DNA was studied by gel electrophoresis (mobility shift assay) as described by Frik *et al.*^{211c} The amount of DNA was kept constant (200 ng) while the concentrations of compounds were varied to get increasing molar ratios respect to plasmid DNA base pairs (bp) (0.25:1, 0.5:1, 1:1, 2:1 and 4:1) in **chapter 1** and (0.5:1, 1:1, 2:1, 4:1 and 8:1) in **chapter 2**. Aliquots of 2 μ L of pBR322 plasmid DNA were mixed either alone or with 0.25, 0.5, 1, 2 or 4 μ L in **chapter 1** and 0.5, 1, 2, 4 or 8 μ L in **chapter 2** of each compound solution (300 μ M), respectively, in 10 μ L final volume of interaction buffer (50 mM NaClO₄, 5 mM Tris-HCl pH = 7.5). Mixtures were incubated at 37 °C for 20 h in the dark, and after adding 2 μ L of loading dye, were loaded onto 1% (w/v) agarose gels made in Tris-acetate/EDTA buffer (TAE) and separated by electrophoresis for 4 h at 70 V in TAE. Finally, gels were dyed for 30 min by immersion in a 3X solution of GelRed Nucleic Acid Gel Stain® (Biotium Inc.; Fremont, CA) diluted in 100 mM NaCl, and images registered using a Gel-Doc System with help of Quantity One software (BioRad; Hercules, CA)

Localization in cells (chapter 1)

Chapter 1: *In vivo* cytolocalization of complexes **1a,b**, **2a,b** and **3a,b** in A549 and HeLa cells was performed as previously described.¹³⁴ Cells were cultured over one cm diameter poly-L-lysine (Sigma-Aldrich) coated coverslips into a 24-well plate in 0.5 mL of supplemented culture medium per well for 72 h. Then, 0.5 mL of medium containing 20 μ M of each compound and 3.2 μ M of Hoechst 33342 (Sigma-Aldrich), were added and cells were incubated at 37 °C for 1 h. Medium was removed and cells were washed twice with phosphate buffer saline (PBS, pH 7.2). As a control to discard emission bleeding between light channels, the incubation of cells was also performed separately with Hoechst alone. Coverslips were removed from plates and mounted on glass slides before being immediately examined under a fluorescence microscope (Leica DM600B). The microscope was equipped with a Nomarski differential interference contrast for transmitted light, and with an incident light fluorescence illuminator accommodating three filter cubes (N2.1: λ_{ex} filter BP 515-560, dichromatic mirror 580, suppression filter λ_{em} LP 590; Y5: λ_{ex} filter BP 620/60, dichromatic mirror 660, suppression filter λ_{em} BP

700/75; and A4: λ_{ex} filter BP 360/40, dichromatic mirror 400, suppression filter λ_{em} BP 470/40) (Leica), suitable for imaging switching between Nomarski DIC transmitted light, and green, red and blue fluorescent light channels. Images of the living cells were documented using a 40x objective (Leica PLAN APO), a B&W digital camera (Hamamatsu ORCA R2, mod. C10600) and additional 5x digital zoom with the help of Micro-Manager Open Source Microscopy Software and Fiji/ImageJ free software.³⁶⁷ Exposure times were 100 ms for Nomarski imaging pictures, 50 ms for Hoechst in blue and 2 s for the emissive compounds in green. Fluorescence intensity in cells was evaluated on a qualitative manner, based on *de visu* observation and considering the image setting adjustment, as reported.¹⁹⁶ Intensity was classified on a linear scale 0-4 (-, no staining; +, weak staining; ++, medium staining; +++, strong staining; and +++, very strong staining).

[Cellular localization of complexes by confocal microscopy \(chapter 2\)](#)

Cytolocalization of compounds in living cells was analyzed as we previously described.^{263a} A549 cells were seeded onto poly-D-lysine-coated glass-bottomed culture dishes (MatTek Corporation, Ashland, MA) and let then grow up to 50-70 % confluency for 24-48 h. Next, the growth medium was removed and cells were incubated with different concentrations of compounds **6b-Cl**, **6c (Cl and PF₆)**, **6d (Cl and PF₆)** and **7b-PF₆** in growth medium at 37°C in 5% CO₂ up to 24 h. To determine cytolocalization of compounds in nuclei, mitochondria or lysosomes, cells were co-stained with corresponding trackers: Hoechst 33342 (Sigma-Aldrich) and MitoTracker® Deep Red FM or LysoTracker® Red DND-99. To label mitochondria and lysosomes following treatments with compounds, media were removed and substituted with fresh media containing compounds and 3.2 μM Hoechst, 100 nM MitoTracker and/or 100 nM LysoTracker and incubated for 30 min at 37°C in 5% CO₂, in order to obtain either single or multiple fluorescent labelings.

Micrographs of living cells were taken at different incubation times with the compounds alone or combined with trackers using a Leica TCS SP5 laser scanning confocal. All images were taken at 37°C and 5% CO₂ and using immersion oil. 405 Diode, Argon, and HeliumNeon (HeNe) laser lines were S8 applied to excite the samples and tunable filters

were used to minimize crosstalk between fluorochromes. Gain, offset, and pinhole settings were identical for all samples within each experiment. The non-treated cells were used to establish the gain and offset settings to exclude non-specific and auto fluorescence. Images were documented with the help of LAS AF Lite microscopy software and projected into a single layer, or merged in one multilayered data set using the Fiji/ImageJ Open Source image processing software package.

Effects on microtubule polymerization: cell treatment, immunocytochemistry and confocal microscopy.

A549 and HeLa cells were cultured over one cm diameter poly-L-lysine (Sigma-Aldrich) coated coverslips into a 24-well plate in 0.5 mL of supplemented culture medium per well for 48 h. Then, 0.5 mL of medium containing complex **2b** or nocodazole (Sigma-Aldrich) was added in order to achieve 200 and 10 μ M, respectively. Cells were incubated with this compounds at 37 °C at different time points (30 min, 2 and 6 h), medium was removed, cells were washed twice with phosphate buffer saline (PBS, pH 7.2), and fixed in 4% paraformaldehyde in PBS. Nocodazole was used to induce microtubule depolymerization as reported.²²¹ For immunocytochemical fluorescent staining, cells were permeabilized with 0.5% IGEPAL (Sigma-Aldrich) and 100 mM glycine in PBS (pH 7.4), washed with PBS, blocked with 5% FBS in PBS, and exposed to a mouse monoclonal anti- β tubulin primary antibody (clone TUB 2.1; Sigma-Aldrich) (1:1000 dilution in blocking solution) overnight at 4°C to specifically label microtubules. The following day, after three washes in 0.02% Tween-20 (Sigma-Aldrich) in PBS, Cy3 goat antimouse IgGs (Jackson Immuno Research) (1:400 dilution in blocking solution) which bind anti-tubulin IgGs, were added to the cells for 2 h. Finally, after three PBS washes, coverslips were placed on glass slides using ProLong Gold Antifade Reagent (Molecular Probes) containing 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (Molecular Probes) as a nuclear counterstain. Slides were examined under a confocal microscope (TCS SP5, Leica Microsystems, Mannheim; Germany) and documented using a 63x oil immersion objective and additional 4x digital zoom with help of LAS AF Lite microscopy software (Leica Microsystems). Images were projected into a single layer and the resulting two-dimensional data set was merged using the Fiji/ImageJ Open Source image processing software package.^{367b}

E.3 Fabrication of LECs

The fabrication of LECs was carried out at Technical University of Munich by Prof. R. Costa's group (Biogenic Functional Materials).

Thin Film Preparation

Master solutions for each component were separately prepared. Blend solution were prepared by mixing the master solutions together in a desired mass ratio, followed by stirring on a magnetic hot plate for 1h. **6b-PF₆** was dissolved in acetonitrile (MeCN) at concentration of 15 mg·mL⁻¹ while CA and THABF₄ were dissolved at concentration of 5 and 20 mg·mL⁻¹, respectively either in THF or MeCN.

For self-stability tests, cleaned quartz substrates were used and they were stored in ambient conditions. Thin films were prepared from a filtered solution of the desired blend by spin-coating it at 800 rpm for 30 s, at 1500 rpm for 30 s, and at 3000 rpm for an additional 10 s.

AFM measurements were acquired using an MFP-3D Origin+ (Asylum Research), and further elaborate with Gwyddion evaluation software. The nano-mechanical properties were measured using AMFM mode for the acquisition of modulus in high frequency (≈1.6 MHz). The cantilever spring constants used in this work were around 20–30 N·m⁻¹. The tip radius was calibrated with internal reference.

The photoluminescence spectra and PLQY values in thin film were measured with an FS5 Spectrofluorometer with integrating sphere SC-30 (Edinburgh Instruments). The excited-state lifetimes were acquired with a TCSPC diode at λ 377.6 nm or 454 nm and their average value can be obtained using the following equation.³⁶⁸

$$\tau = \frac{A_1\tau_1^2 + A_2\tau_2^2}{A_1\tau_1 + A_1\tau_1}$$

Device Fabrication and Characterization

ITO substrates were purchased from Naranjo Substrates with an ITO thickness of 130 nm. They were extensively cleaned using detergent, water, ethanol, and propan-

2-ol as solvents in an ultrasonic bath (frequency 37–70 Hz) for 15 min each. Afterward, the slides were dried with inert gas and put in a UV–ozone cleaner for 8 min. The clean plates were coated with 70 nm PEDOT:PSS layers via spin coating to increase the device reproducibility. To this end, an aqueous solution of PEDOT:PSS was filtered and mixed with propan-2-ol in a ratio of 3:1. From this solution, 50 μL were dropped onto the substrate at a rotation speed of 2000 rpm and spun for 60 s. The resulting layers were dried on a hotplate at 120°C and stored under N_2 . The active layers were deposited from blend solutions and spin coated at 800 rpm for 30 s, at 1500 rpm for 30 s, and at 3000 rpm for an additional 10 s, resulting in 80–100 nm thick film. For functional LEC fabrication, glass/ITO/PEDOT:PSS substrates were used and after the deposition of the active layer the devices were dried under vacuum for 2 h and transferred to an inert atmosphere glovebox. Finally, aluminum cathode (90 nm) was thermally evaporated onto the active layer using a shadow mask under high vacuum ($<10^{-6}$ mbar) in an Angstrom Covap evaporator integrated into the inert atmosphere glovebox. Time dependence of luminance, voltage, and current was measured by applying constant and/or pulsed voltage and current by monitoring the desired parameters simultaneously by using Avantes spectrophotometer (Avaspec-ULS2048L-USB2) in conjunction with a calibrated integrated sphere Avasphere 30-Irrad and Botest OLT OLED Lifetime-Test System. Electroluminescence spectra were recorded using the above-mentioned spectrophotometer. Electrochemical impedance spectroscopic assays (EIS) were carried out with a potentiostat/galvanostatic (Metrohm $\mu\text{AutolabIII}$) equipped with a frequency response analyzer module (FRA2). Measurements were performed at the applied voltage range from 0 to 4 V and fitted with the Nova 2.1 software. R_{LEC} represents the effective resistance of the active layer, including injection resistances, CPE_{LEC} represents the capacitance of the two electrodes contacting the film. The second resistor (R_{series}) represents all external resistances, including those of the ITO and Al electrodes, and L_{cables} represents the inductance of the measurement cables. The AC signal amplitude was set to 10 mV, modulated in a frequency range from 10^0 to 10^6 MHz.

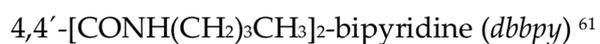
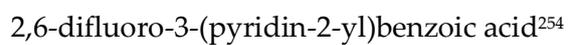
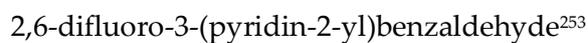
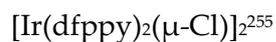
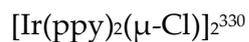
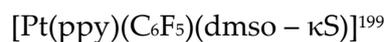
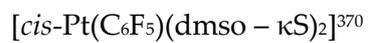
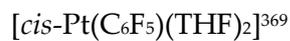
Statistical Analysis

Thin films statistics involve three replicates for each composition, while the device statistics involve up to five different devices, i.e., a total number of 20 pixels. The absence of outliers had been confirmed via t-test. The data reported in the text and in the tables refer to the average values. Relative standard deviation span from 1% to 10%. The software OriginPro 2020 has been used for data analysis and evaluation

E.4 Synthesis of compounds

Synthesis of the starting materials

The starting materials were prepared following the reported procedures:



Synthesis of N,N'-dioleoyl-2,2'-bipyridine-4,4'-dicarboxamide (*dobpy*).

N,N'-dioleoyl-2,2'-bipyridine-4,4'-dicarboxamide (*dobpy*) was prepared according to the literature procedure described for N,N'-dibutyl-2,2'-bipyridine-4,4'-dicarboxamide (*dbbpy*),⁶¹ using oleylamine instead of butylamine. 4,4'-diethoxycarbonyl-2,2'-bipyridine (100 mg, 0.30 mmol) was suspended in oleylamine (15 mL) and heated at 100 °C overnight under nitrogen atmosphere. Once the reaction was over and cooled to room temperature, a white solid precipitated that was filtered and washed with diethyl ether. Yield (60%).

ESI (+): m/z (%) 743 [M+H]⁺ (100%).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz δ): 8.81 (d, J_{H-H} = 4.8 Hz, H⁶ *dobpy*); 8.64 (s, H³ *dobpy*); 7.82 (d, J_{H-H} = 4.2 Hz, H⁵ *dobpy*); 6.44 (t, J_{H-H} = 5.1 Hz, NH); 5.34 (t, J_{H-H} = 5.1 Hz, 2H, CH=CH); 3.50 (m, 2H, NCH₂); 2.02 (m, 4H, CH₂CH=CH); 1.65 (m, 2H, NHCH₂CH₂); 1.54 - 1.26 (m, 22H, CH₂); 0.87 (m, 3H, CH₃).

¹³C{¹H} NMR (CDCl₃, 100.6 MHz, δ): 165.47 (s, CO); 156.13 (s, C⁴ *dobpy* or C² *dobpy*); 150.32 (s, C⁶ *dobpy*); 143.32 (s, C⁴ *dobpy* or C² *dobpy*); 130.15 (s, CH=CH); 129.92 (s, CH=CH); 122.54 (s, C⁵ *dobpy*); 117.53 (s, C³ *dobpy*); 40.53 (s, NHCH₂); 32.05 - 22.83 (m, CH₂); 27.35 (m, CH₂CH=CH); 14.26 (s, CH₃).

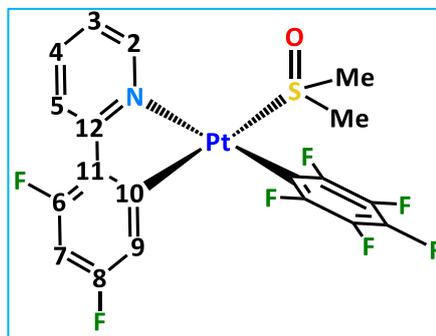
Synthesis of N,N'-disubstituted-2,2'-bipyridine-4,4'-dicarboxamide.

Ligands N,N'-didodecyl-2,2'-bipyridine-4,4'-dicarboxamide (*ddobpy*), N,N'-dihexadecyl-2,2'-bipyridine-4,4'-dicarboxamide (*dhbpy*) and N,N'-di-2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl-2,2'-bipyridine-4,4'-dicarboxamide (*dPEGbpy*) were prepared according to the literature procedure described for the synthesis of 4,4'-[CONH(CH₂)₃Si(OCH₂CH₃)₃]₂-bipyridine,³³² using the corresponding amine (dodecylamine, hexadecylamide or 2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethanamine). A suspension of 2,2'-bipyridine-4,4'-dicarboxylic acid (300 mg, 1.22 mmol) with an excess of 20 eq. of thionyl chloride was refluxed in anhydrous THF under N₂ conditions for 3 hours to obtain [2,2'-bipyridine]-4,4'-dicarbonyl dichloride. After evaporating the solvent, 2 equivalents of the corresponding amine and 3 equivalents of triethylamine were added dropwise to a solution of the precursor in 10 mL of anhydrous dichloromethane. The pink solution was stirred for 4 hours and the mixture was first washed with a saturated sodium bicarbonate aqueous solution and then with a saturated aqueous solution of NaCl. The organic phase was then dried with anhydrous magnesium sulfate, filtered and evaporated to afford the functionalized bipyridines as white solids in good yields *Ddobpy* (83 %), *Dhbpy* (86 %), *dPEGbpy* (76 %).

Synthesis of new compounds

Preparation of [Pt(dfppy)(C₆F₅)(DMSO)] (1b).

2-(2,4-difluorophenyl)pyridine (0.14 g, 0.73 mmol) was added to a toluene solution (7 mL) of *cis*-[Pt(C₆F₅)₂(DMSO)₂]³⁷¹ (0.5 g, 0.73 mmol) and the mixture was refluxed for 24 h. The resulting yellow solution was evaporated to dryness and treated with methanol (5 mL) to give **1b** as a pale yellow solid, which was filtered and washed with 5 mL of diethyl ether (0.4 g, 87%).



Elemental analysis (%): Anal. Calcd for C₁₉H₁₂F₇NOPtS: C, 36.20, H, 1.92, N, 2.22, S, 5.09. Found: C, 35.58, H, 2.17, N, 1.62, S, 5.59%.

ESI (+): *m/z* (%) 630 [M+Na]⁺ (100).

IR (cm⁻¹): ν (C-F, C₆F₅) 1094 (m), 944 (m), ν (C₆F₅)_x-sens 799 (m).

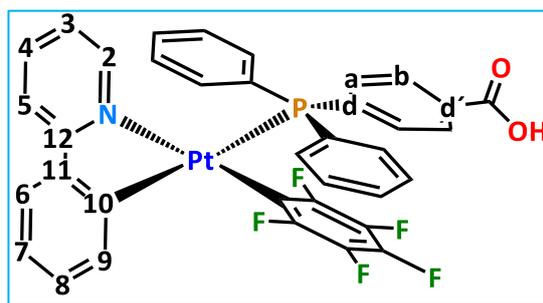
¹H NMR (CDCl₃, 400.1 MHz, 293 K, δ): 9.72 (d, *J* = 6 Hz, ³*J*_{Pt-H} = 20 Hz, H²); 8.21 (dd, ³*J* = 8 Hz, ⁴*J* = 2 Hz, H⁵); 7.95 (t, *J* = 8 Hz, H⁴); 7.32 (td, *J* = 7 Hz, *J* = 2 Hz, H³); 6.59 (ddd, ³*J*_{F-H} = 13 Hz, ³*J*_{F-H} = 9 Hz, *J* = 3 Hz, H⁷); 5.88 (dd, ³*J*_{F-H} = 9 Hz, *J* = 3 Hz, ³*J*_{H-Pt} = 76 Hz, H⁹); 3.04 (s, 6H, ³*J*_{H-Pt} = 14 Hz, CH₃).

¹³C{¹H} NMR (CDCl₃, 100.6 MHz, 293 K, δ): 162.9 (s, C¹²); 162.8 (dd, ¹*J*_{C-F} = 255 Hz, ³*J*_{C-F} = 12 Hz, C⁶); 159.2 (dd, ¹*J*_{C-F} = 260 Hz, ³*J*_{C-F} = 12, C⁸); 151.0 (s, C²); 149.1 (d, ³*J*_{C-F} = 6 Hz, C¹⁰); 140.0 (s, C⁴); 129.4 (t, ²*J*_{C-F} = 4 Hz, C¹¹); 123.0 (s, C³); 122.9 (d, 2C, *J*_{C-F} = 21 Hz, C⁵); 118.6 (dd, ²*J*_{C-F} = 19 Hz, ⁴*J*_{C-F} = 3 Hz, ²*J*_{C-Pt} = 110 Hz, C⁹); 102 (t, ²*J*_{C-F} = 27 Hz, C⁷), 45.3 (s, 2C, ²*J*_{C-Pt} = 38 Hz, CH₃).

¹⁹F{¹H} NMR (CD₃COCD₃, 376.5 MHz, 293 K, δ): -106.3 (m, ⁴*J*_{F-Pt} = 60 Hz, F⁸); -109.3 (m, ⁴*J*_{F-Pt} = 45 Hz, F⁶); -116.9 (m, *J*_{Pt-oF} = 463, 2 Hz, *o*-F); -158.2 (m, 1*p*-F); -160.8 (m, 2*m*-F).

Preparation of [Pt(ppy)(C₆F₅)(dpbH)] (2a).

To a solution of 4-(diphenylphosphino) benzoic acid (0.19 g, 0.6 mmol) in anhydrous dichloromethane (20 mL) was added [Pt(ppy)(C₆F₅)(DMSO)] (1a) (0.3 g, 0.5 mmol). The resulting yellow solution



was stirred for 2 h, concentrated to a small volume (5 mL) and then treated with diethyl ether (10 mL) to afford **2a** as a pale yellow solid (0.3 g, 75%).

Elemental analysis (%): Anal. Calcd for C₃₆H₂₃F₅NO₂Ppt: C, 52.56, H, 2.82, N 1.70. Found: C, 52.30, H, 2.88, N, 2.0%.

MALDI-TOF (+): *m/z* (%) 822 [M]⁺ (100).

IR (cm⁻¹): ν(OH) 3060-2600, ν(C-H) 2911, ν(C=O) 1696, ν(C-O) 1293, ν(C-F, C₆F₅) 1063 (m); 955 (m); 752 (m); ν(C₆F₅)_{x-sens} 804 (m).

¹H NMR (CD₃COCD₃, 400.1 MHz, 293 K, δ): 11.55 (s, OH); 8.11 (d, *J* = 8 Hz, H⁵); 8.06 (d, *J* = 6 Hz, H²); 8.01 - 7.99 (m, 3H, H⁴, PhCO); 7.83-7.78 (m, 5H, H⁶, Ph); 7.66 (m, 2H, PhCO); 7.61 - 7.5 (m, 2H, Ph); 7.52 - 7.42 (m, 4H, Ph); 7.13 (td, *J* = 7 Hz, *J* = 1 Hz, H⁷); 7.03 (tt, ³*J*_{H-H} = 7 Hz, ⁴*J*_{H-H} ≈ ⁵*J*_{P-H} = 2 Hz, H⁸); 6.84 (ddd, *J* = 7 Hz, *J* = 6 Hz, *J* = 1 Hz, H³); 6.75 (td, ²*J*_{H-H} ≈ ⁴*J*_{P-H} = 6 Hz, *J* = 1 Hz, ³*J*_{P-H} = 54 Hz, H⁹).

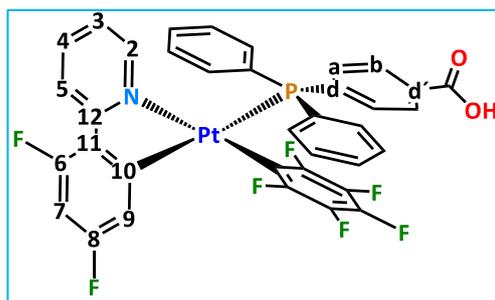
¹³C{¹H} NMR (CD₃COCD₃, 100.6 MHz, 293 K, δ): 168.9 (s, C¹²); 168.8 (s, CO); 161.6 (d, ²*J*_{C-P} = 110 Hz, C¹⁰); 153.0 (d, ³*J*_{C-P} = 7 Hz, C²); 147.7 (s, C¹¹); 140.5 (s, C⁴); 138.2 (s, C); 137.0 (s, ²*J*_{C-Pt} = 96 Hz, C⁹); 135.7 (d, 4C, *J*_{C-P} = 13 Hz, Ph); 134.8 (d, 2C, ²*J*_{C-P} = 13 Hz, C^a); 133.3 (s, C); 132.0 (d, 2C, *J*_{C-P} = 2 Hz, Ph); 131.2 (d, 2C, *J*_{C-P} = 52 Hz, C_{ipso} Ph); 131.09 (s, C⁸); 129.9 (d, 2C, ³*J*_{C-P} = 10 Hz, C^b); 129.6 (d, 4C, *J*_{C-P} = 11 Hz, Ph); 125.7 (s, C⁷); 124.9 (d, *J*_{C-P} = 5 Hz, C⁶); 123.96 (s, C³); 120.5 (s, C⁵).

¹⁹F{¹H} NMR (CD₃COCD₃, 376.5 MHz, 293 K, δ): -117.2 (m, ³*J*_{Pt-F} = 504.6 Hz, 2*o*-F); -166.4 (m, 2*m*-F); -166.9 (m, 1*p*-F).

³¹P{¹H} NMR (CD₃COCD₃, 162.11 MHz, 293 K, δ): 28.22 (s, ¹*J*_{Pt-P} = 1908 Hz)

Preparation of [Pt(dfppy)(C₆F₅)(dpbH)] (2b).

This compound was obtained as a yellow solid (0.11 g, 55%) following a similar procedure to that described for 2a, using [Pt(dfppy)(C₆F₅)(DMSO)] (1b) (0.15 g, 0.24 mmol) and 4-(diphenylphosphino) benzoic acid (0.07 g, 0.24 mmol) as starting precursors.



Elemental analysis (%): Anal. Calcd for C₃₆H₂₁F₇NO₂PPt: C, 50.36, H, 2.96, N, 0.97. Found: C, 49.09, H, 2.96, N, 0.97.

ESI (+): *m/z* (%) 858 [M+H]⁺ (100).

IR (cm⁻¹): ν (COOH); ν (OH) 3130 -2830, ν (C-H) 2660, 2554, ν (C=O) 1702, ν (C-O) 1100, ν (C-F, C₆F₅) 1061 (m); 950 (m); ν (C₆F₅)_{X-sens} 803 (m).

¹H NMR (CD₃COCD₃, 400.1 MHz, 293 K, δ): δ 11.72 (s, OH); 8.27 (dd, *J* = 8 Hz, *J* = 2 Hz, H⁵); 8.16 (d, *J* = 6 Hz, H²); 8.05 (t, *J* = 8 Hz, H⁴); 8.03 – 8.00 (m, 2H, H^b); 7.82 -7.78 (m, 4H, Ph); 7.68 (dd, 2H, ³*J*_{H-P} = 10 Hz, *J* = 8 Hz, H^a); 7.59 - 7.55 (m, 2H, Ph); 7.51 - 7.47 (m, 4H, Ph); 6.89 (td, *J* = 7, *J* = 2, H³); 6.77 (ddd, ³*J*_{H-F} = 13 Hz, ³*J*_{H-F} = 9 Hz, ⁴*J*_{H-H} = 2 Hz, H⁷); 6.34 (ddd, ³*J*_{H-F} = 9 Hz, ⁴*J*_{H-P} = 7 Hz, ⁴*J*_{H-H} = 2 Hz, ³*J*_{H-Pt} = 65 Hz, H⁹).

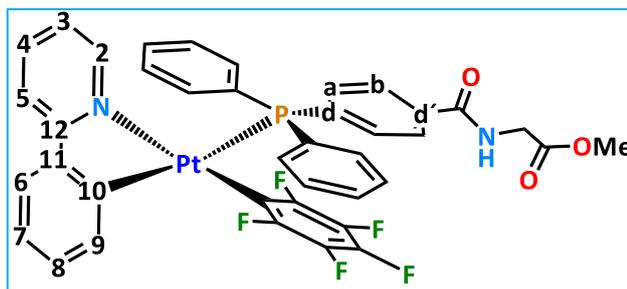
¹³C{¹H} NMR (CD₃COCD₃, 100.6 MHz, 293 K, δ): 166.9 (s, CO) 164.9 (m, ²*J*_{C-Pt} = 67 Hz, C^{11/12}); 164.5 (d, ¹*J*_{C-F} = 255 Hz, C⁸), 161.9 (d, ¹*J*_{C-F} = 254 Hz, C⁶), 153.5 (d, ²*J*_{C-P} = 6 Hz, C²), 141.1 (s, C⁴), 137.3 (d, ¹*J*_{C-P} = 46 Hz, C_{ipso}^d), 135.7 (d, 4C, *J*_{C-P} = 13 Hz, Ph), 134.9 (d, 2C, *J*_{C-P} = 12 Hz, C^a), 133.6 (d, ⁴*J*_{C-P} = 2 Hz, C_{ipso}^d), 132.3 (d, 2C, *J*_{C-P} = 2 Hz, Ph), 130.8 (s, C^{11/12}), 130.7 (d, 2C, ¹*J*_{C-P} = 47 Hz, C_{ipso} Ph) 130.0 (d, 2C, *J*_{C-P} = 10 Hz, C^b), 129.7 (d, 4C, *J*_{C-P} = 11 Hz, Ph), 124.3 (s, C³), 123.9 (d, *J*_{C-F} = 22 Hz, C⁵), 118.7 (dd, ²*J*_{C-F} = 18 Hz, ⁴*J*_{C-F} = 3 Hz, ²*J*_{C-Pt} = 100 Hz, C⁹), 101.5 (t, ²*J*_{C-F} = 27 Hz, C⁷).

¹⁹F NMR (CD₃COCD₃, 376.5 MHz, 293 K, δ): -108.9 (m, ⁴*J*_{F-Pt} = 53 Hz, F⁸), -110.3 (m, ⁴*J*_{F-Pt} = 51 Hz, F⁶), -117.6 (m, *J*_{Pt-oF} = 479 Hz, 2o-F), -165.7 (m, 3-F).

³¹P{¹H} NMR (CD₃COCD₃, 162.11 MHz, 293 K, δ): 27.2 (t, ⁵*J*_{P-F} = 9, ¹*J*_{P-Pt} = 2028 Hz).

Preparation of [Pt(ppy)(C₆F₅)(dpbGlyOMe)] (3a).

A yellow solution of [Pt(ppy)(C₆F₅)(dpbH)] (2a) (0.1 g, 0.12 mmol) in anhydrous dichloromethane (5 mL) was treated with EDC.HCl (0.03 g, 0.15 mmol) and *N*-hydroxysuccinimide (0.017 g, 0.16



mmol) and the mixture stirred for 5 h. Then, glycine methyl ester chlorhydrate (0.02 g, 0.17 mmol) and triethylamine (0.15 mL, 1 mmol) were added and the mixture was stirred for 24 h. The resulting solution was diluted with 80 mL of ethyl acetate and washed with a solution of HCl (1N, 2 × 20 mL), water (40 mL), and with saturated NaHCO₃ (2 × 20 mL) and NaCl (2 × 20 mL) solutions. The organic phase was dried with anhydrous Na₂SO₄ and evaporated to dryness. Treatment of the residue with CH₂Cl₂ (1 mL) and hexane yielded 3a as a yellow solid (77.1 mg, 71%).

Elemental analysis (%): Anal. Calcd for C₃₉H₂₈F₅N₂O₃PPt: C, 52.41, F, 10.63, H, 3.16, N, 3.13, P, 3.47. Found: C, 52.96, F, 10.63, H, 3.32, N, 2.48, P, 3.47.

MALDI-TOF (+): m/z (%) 893 [M]⁺ (69).

IR (cm⁻¹): ν(N-H) 3360, ν(C-H) 3055, 2941, ν(C=O) 1745, 1667, ν(C-O-C) 1200, ν(C-F, C₆F₅) 1059 (m); 955 (s); ν(C₆F₅)_{X-sens} 804 (m).

¹H NMR (CD₃COCD₃, 400.1 MHz, 293 K, δ): 8.22 (t, *J* = 6 Hz, NH); 8.10 (d, *J* = 8 Hz, H⁵); 8.07 (d, *J* = 6 Hz, H²); 8.00-7.94 (m, 3H, H⁴, PhCO); 7.84-7.79 (m, 5H, H⁶, Ph); 7.72 - 7.68 (m, 2H, PhCO); 7.54 - 7.50 (m 2H, Ph); 7.46 - 7.42 (m, 4H, Ph); 7.13 (t, *J* = 8 Hz, H⁷); 7.03 (tt, ³*J*_{H-H} = 7 Hz, ⁴*J*_{H-H} ≈ ⁵*J*_{P-H} = 2 Hz, H⁸); 6.84 (ddd, *J* = 7 Hz, *J* = 6 Hz, *J* = 1 Hz, H³); 6.75 (t, *J*_{H-H} ≈ ⁴*J*_{P-H} = 6 Hz, ³*J*_{Pt-H} = 54 Hz, H⁹); 4.14 (d, 2H, *J* = 6 Hz, CH₂); 3.69 (s, 3H, OMe).

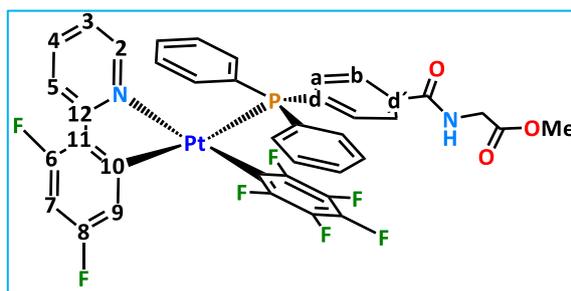
¹³C{¹H} NMR (CD₃COCD₃, 100.6 MHz, 293 K, δ): 170.77 (s, COO); 168.72 (s, CONH); 168.7 (d, ³*J*_{C-P} = 6 Hz, C¹²); 166.64 (s, CONH); 161.6 (d, ³*J*_{C-P} = 111 Hz, C¹⁰); 152.9 (d, ³*J*_{C-P} = 7 Hz, C²); 147.5 (s, C⁷); 140.3 (s, C⁴); 137 (d, *J*_{C-P} = 2 Hz, C_{ipso}^d); 136.8 (s, ³*J*_{C-Pt} = 101 Hz, C⁹); 135.8 (d, *J*_{C-P} = 36 Hz, C_{ipso}^d); 135.4 (d, 4C, *J*_{C-P} = 13 Hz, Ph); 135.2 (d, 2C, *J*_{C-P} = 13 Hz, C^a); 131.7 (d, 2C, *J*_{C-P} = 2 Hz, Ph); 131.1 (d, 2C, *J*_{C-P} = 38 Hz, C_{ipso}Ph); 131.0 (s, C⁸); 129.4 (d, 4C, *J*_{C-P} = 11 Hz, Ph); 127.8 (d, 2C, *J*_{C-P} = 10 Hz, C^b); 125.5 (s, C⁷); 124.8 (d, *J*_{C-P} = 5 Hz, C⁶); 123.85 (s, C³); 120.4 (s, C⁵); 52.1 (s, OMe); 41.9 (s, CH₂).

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (CD_3COCD_3 , 376.5 MHz, 293 K, δ): -117.2 (m, $^3J_{\text{Pt-F}} = 503$ Hz, 2o-F); -166.4 (m, 2m-F); -166.7 (m, 1p-F).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (CD_3COCD_3 , 162.11 MHz, 293 K, δ): 27.9 (s, $^1J_{\text{P-Pt}} = 1915$ Hz).

Preparation of [Pt(dfppy)(C₆F₅)(dpglyOMe)] (3b).

This complex was prepared as a yellow solid (0.10 g, 63%) in a similar way to 3a starting from [Pt(dfppy)(C₆F₅)(dpglyH)] (2b) (0.15 g, 0.18 mmol) and glycine methyl ester chlorhydrate (0.03 g, 1 mmol).



Elemental analysis (%): Anal. Calcd for C₃₉H₂₆F₇N₂O₃PPt: C, 50.39, H, 2.82, N, 3.01.

Found: C, 50.74, H, 3.10, N, 2.53.

ESI (+): *m/z* (%) 929 [M+H]⁺ (55).

IR (cm⁻¹): ν (N-H) 3355, ν (C-H) 3070, 2951, ν (C=O) 1747, 1666, ν (C-O-C) 1210, ν (C-F, C₆F₅) 1059.

¹H NMR (CD₃COCD₃, 400.1 MHz, 293 K, δ): 8.28 (dd, *J* = 8, *J* = 2 Hz, H⁵); 8.24 (t, *J* = 6 Hz, NH); 8.17 (d, ²*J*_{Pt-H} = 6 Hz, H²); 8.06 (td, *J* = 8, Hz *J* = 1 Hz, H⁴); 7.97 (dd, 2H, *J* = 8 Hz, ⁴*J*_{Pt-H} = 20 Hz, H^b); 7.82 (dd, 2H, ³*J*_{H-P} = 10 Hz, *J* = 8 Hz, H^a); 7.72 -7.68 (m, 4H, Ph); 7.54 (m, 2H, Ph); 7.48 - 7.44 (m, 4H, Ph); 6.90 (td, *J* = 7 Hz, *J* = 2 Hz, H³); 6.77 (ddd, ³*J*_{H-F} = 13 Hz, ³*J*_{H-F} = 9 Hz, *J* = 2, Hz H⁷); 6.33 (ddd, ³*J*_{H-F} \approx ⁴*J*_{H-P} = 8 Hz, *J* = 2 Hz, ³*J*_{H-Pt} = 65 Hz, H⁹); 4.14 (d, 2H, *J* = 6 Hz, CH₂); 3.69 (s, 3H, OMe).

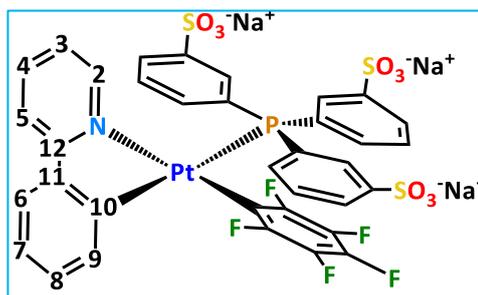
¹³C{¹H} NMR (CD₃COCD₃, 100.6 MHz, 293 K, δ): 171.0 (s, COO); 166.8 (s, CONH); 165.1 (m, ²*J*_{C-Pt} = 67 Hz, C¹²); 164.6 (d, ¹*J*_{C-F} = 256 Hz, C⁸); 161.9 (d, ¹*J*_{C-F} = 259 Hz, C⁶); 153.6 (d, ²*J*_{C-P} = 6, C²); 141.2 (s, C⁴); 137.5 (d, ¹*J*_{C-P} = 2 Hz, C_{ipso}^d); 135.6 (d, 2C, *J*_{C-P} = 12, C^a); 135.5 (d, 4C, *J*_{C-P} = 13 Hz, Ph); 135.2 (s, C_{ipso}^d); 132.2 (d, 2C, *J*_{C-P} = 2, Ph); 131.14 (d, 2C, ¹*J*_{C-P} = 46 Hz, C_{ipso} Ph); 131.0 (s, C¹¹); 129.7 (d, 4C, *J*_{C-P} = 11 Hz, Ph); 128.2 (d, 2C, *J*_{C-P} = 10 Hz, C^b); 124.3 (s, C³); 124.0 (d, *J*_{C-F} = 22 Hz, C⁵); 118.9 (dd, ²*J*_{C-F} = 18 Hz, ⁴*J*_{C-F} = 3, ²*J*_{C-Pt} = 98 Hz, C⁹); 101.6 (t, ²*J*_{C-F} = 27, C⁷); 52.3 (s, OMe); 42.2 (s, CH₂).

¹⁹F{¹H} NMR (CD₃COCD₃, 376.5 MHz, 293 K, δ): -109.0 (m, ⁴*J*_{F-Pt} = 53 Hz, F⁸); -110.3 (m, ⁴*J*_{F-Pt} = 33 Hz, F⁶); -117.7 (m, *J*_{Pt-oF} = 486 Hz, 2o-F); -165.7 (m, 3F).

³¹P{¹H} NMR (CD₃COCD₃, 162.11 MHz, 293 K, δ): 26.9 (t, ⁵*J*_{P-F} = 10 Hz, ¹*J*_{P-Pt} = 2028 Hz).

Preparation of [Pt(ppy)(C₆F₅)(TPPTS)₃] (4a).

[Pt(ppy)(C₆F₅)(DMSO)] (**1a**) (0.24 g, 0.40 mmol) was treated with triphenylphosphine-3,3',3''-trisulfonic acid trisodium salt P(C₆H₄SO₃Na)₃ (TPPTS, 0.2 g, 0.35 mmol) in a mixture of acetone/H₂O (10/5 mL) and the mixture stirred for 72 h. The resulting yellow solution was



evaporated to dryness, treated with H₂O (15 mL) and filtered through Celite to eliminate the excess of **1a**. The aqueous filtrate was evaporated again and residue treated with acetone (10 mL) to yield a yellow solid identified as **4a.nH₂O** which was filtered and washed with acetone (0.3 g).

ESI (+): *m/z* (%) 1106.9 [M+Na]⁺ (100).

IR (cm⁻¹): ν(OH, H₂O) 3460, 1640, ν(S=O) 3060, 1603, 1176, ν(C-F, C₆F₅) 1035 (m); 955 (m); 753 (m); ν (C₆F₅)_{x-sens} 787 (m).

¹H NMR (D₂O, 400.1 MHz, 293 K, δ): 8.14 (d, *J* = 8, H⁵); 8.09 (d, 3H, ³*J*_{P-H} = 11, H^a); 8.00 (d, *J* = 6 Hz, H²); 7.92 (d, 3H, *J* = 8 Hz, H^d); 7.86 (m, H⁶ and 3H^b); 7.79 (m, H⁴); 7.61 (td, 3H, ³*J*_{H-H} = 8 Hz, ³*J*_{H-P} = 2 Hz H^c); 7.28 (td, *J* = 7, *J* = 2 Hz, H⁷); 7.13 (t, ³*J*_{H-H} = 7 Hz, H⁸); 6.82 (m, 2H, ³*J*_{Pt-H} = 54 Hz, H^{3,9}).

¹⁹F{¹H} NMR (D₂O, 376.5 MHz, 293 K, δ): -118.4 (dm, ³*J*_{Pt-F} = 495.4 Hz, 2*o*-F); -162.7 (t, 1*p*-F); -163.5 (m, ⁴*J*_{Pt-F} = 105 Hz, 2*m*-F).

³¹P{¹H} NMR (D₂O, 162.11 MHz, 293 K, δ): 29.22 (s, ¹*J*_{Pt-P} = 1936 Hz).

Preparation of [Pt(dfppy)(C₆F₅)(TPPTS)₃] (4b).

Starting from [Pt(dfppy)(C₆F₅)(DMSO)] (0.22 g, 0.35 mmol) and 0.17 g (0.30 mmol) of TPPTS and following a similar procedure to 4a, a yellow solid identified as 4b.nH₂O was obtained (0.36 g).

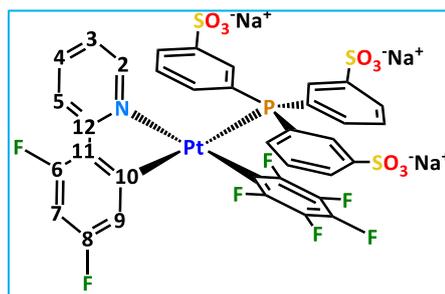
ESI (+): *m/z* (%) 1142.9 [M+Na]⁺ (100), 1121.9 [M+2H]²⁺ (25).

IR (cm⁻¹): ν(OH, H₂O) 3455, 1644, ν(S=O) 2970, 1593, 1193, ν(C-F, C₆F₅) 1034 (m), 955 (m), ν(C₆F₅)_{X-sens} 784 (m),

¹H NMR (D₂O, 400.1 MHz, 293 K, δ): δ 8.31 (d, *J* = 8 Hz, H⁵); 8.10 (m, 4H, *J*_{P-Ha} = 11 Hz, H² and 3H^a); 7.96 (t, *J* = 8 Hz, H⁴); 7.93 (d, 3H, *J* = 8 Hz, H^d); 7.86 (t, 3H, *J* = 8 Hz, H^b); 7.62 (td, ³*J*_{H-H} = 8, ³*J*_{H-P} = 2 Hz, 3H, H^c); 6.82 (m, 2H, H^{3,7}); 6.37 (ddd, ³*J*_{H-F} = 9 Hz, ⁴*J*_{H-P} = 7 Hz, ⁴*J*_{H-H} = 2 Hz, ³*J*_{H-Pt} = 65 Hz, H⁹).

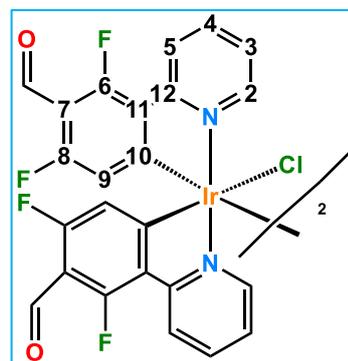
¹⁹F{¹H} NMR (D₂O, 376.5 MHz, 293 K, δ): -107.6 (m, ⁴*J*_{F-Pt} = 52 Hz, F⁸); -108.3 (dm, ⁴*J*_{F-Pt} = 51 Hz, F⁶); -118.9 (m, *J*_{Pt-oF} = 476 Hz, 2o-F); -162.0 (m, 1 *p*-F); -162.04 (m, 2 *m*-F).

³¹P{¹H} NMR (D₂O, 162.11 MHz, 293 K, δ): δ 28.4 (t, ⁵*J*_{P-F} = 8 Hz, ¹*J*_{P-Pt} = 2026 Hz).



Synthesis of $[\text{Ir}(\text{CHOdfppy})_2(\mu\text{-Cl})_2]$ (**5c**).

$\text{IrCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (455 mg, 1.27 mmol) was refluxed overnight at 110°C with 2-fluoro-3-(2-pyridinyl) benzaldehyde (699 mg, 3.18 mmol) in 2-ethoxyethanol and distilled water (3:1). Once the reaction was over, it was cooled to room temperature. A yellow solid precipitated by addition of 30 mL of distilled water, which was filtered and further washed with ethanol and hexane. Yield: 433 mg (54%).



Elemental analysis (%): Anal. Calc. for $\text{C}_{48}\text{H}_{24}\text{Cl}_2\text{F}_8\text{Ir}_2\text{N}_4\text{O}_4$: C, 43.41, H, 1.82, N 4.22. Best analyses found: C, 41.78, H, 2.34, N, 3.72, (Elemental analyses fit well for **1b**· $3\text{H}_2\text{O}$. $\text{C}_{48}\text{H}_{30}\text{Cl}_2\text{F}_8\text{Ir}_2\text{N}_4\text{O}_7$: C, 41.71, H, 2.19, N, 4.05).

ESI (+): m/z 665.02 [$1/2 \text{M}+\text{H}$] $^+$ (100%).

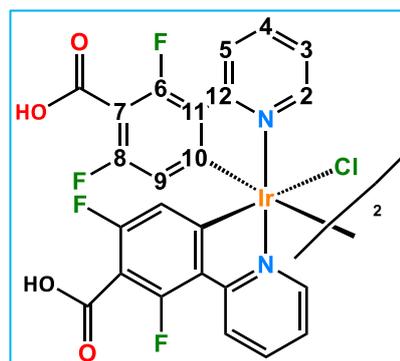
IR (KBr, cm^{-1}): (C-H) 3268 (m); 3057 (m); 2956 (m); 2876 (m); (C=O) 1689 (s); (C-H ring) 1590 (s); 1536 (s); 1426 (m); (C-F) 1294 (m).

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz, 293 K, δ): 10.16 (s, 2H, CHO); 9.09 (d, $J_{\text{H-H}} = 5.6$ Hz, 2H, H^2dfppy); 8.46 (d, $J_{\text{H-H}} = 8.6$ Hz, 2H, H^3dfppy); 8.00 (t, $J_{\text{H-H}} = 7.8$ Hz, 2H, H^3dfppy); 6.98 (t, $J_{\text{H-H}} = 8.0$ Hz, 2H, H^4dfppy); 5.39 (d, $^3J_{\text{F-H}} = 10.6$ Hz, 2H, H^9dfppy).

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (CDCl_3 , 376.5 MHz, 293 K, δ): -113.03 (d, $J_{\text{F-F}} = 7.5$ Hz, 2F, F^6); -116.52 (d, $J_{\text{F-F}} = 7.5$ Hz, 2F, F^8).

Synthesis of $[\text{Ir}(\text{COOHdfppy})_2(\mu\text{-Cl})_2]$ (**5d**).

$\text{IrCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (250 mg, 0.699 mmol) was refluxed for 24 hours at 110°C with 2-fluoro-3-(2-pyridinyl) benzoic acid (333 mg, 1.398 mmol) in a mixture of 2-ethoxyethanol and distilled water (3:1). After the reaction was completed, the mixture was cooled to room temperature and the solvent evaporated under reduced pressure to obtain a dark oil. **1c** was obtained



as a yellow colored precipitate by addition of an aqueous solution of HCl (0,1 M). The solid was filtered and washed with distilled water and diethyl ether. Yield: 320 mg (65%).

Elemental analysis (%): Anal. Calc. for $\text{C}_{48}\text{H}_{24}\text{Cl}_2\text{F}_8\text{Ir}_2\text{N}_4\text{O}_8$: C, 41.42, H, 1.74, N, 4.02. Best analyses found: C, 41.07, H, 2.33, N, 3.65. (**1c**· H_2O . $\text{C}_{48}\text{H}_{26}\text{Cl}_2\text{F}_8\text{Ir}_2\text{N}_4\text{O}_9$: C, 40.89, H, 1.86, N, 3.97).

ESI (+): m/z (%) 702 [$1/2\text{M-Cl}+\text{Na}+\text{H}_2\text{O}$] $^+$ (100%); m/z 661 [$1/2\text{M-Cl}$] $^+$ (38%).

ESI (-): m/z (%) 1391 [M-1] $^-$ (6%),). **MALDI (-)**: m/z 1391 [M-1] $^-$ (4%), m/z 731 [$1/2\text{M}+\text{Cl}$] $^-$ (100%).

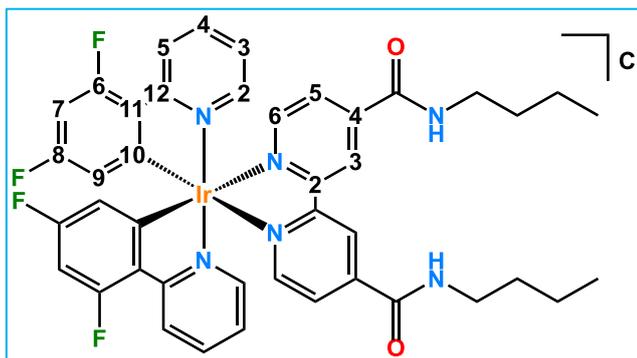
IR (KBr, cm^{-1}): (N-H) 3385 (m), 2987 (m), 2779 (m), (C=O) 1690 (s), (C-H ring) 1593 (vs), 1539 (s), 1422 (m), (C-F) 1294 (m).

^1H NMR ($\text{D}_2\text{O} + \text{KOH}$, 400 MHz, 293 K, δ): 8.75 (d, $J_{\text{H-H}} = 5.6$ Hz, 2H, H^2dfppy); 8.30 (d, $J_{\text{H-H}} = 8.7$ Hz, 2H, H^5dfppy); 7.96 (t, $J_{\text{H-H}} = 7.8$ Hz, 2H, H^3dfppy); 7.45 (t, $J_{\text{H-H}} = 7.1$ Hz, 2H, H^4dfppy); 5.64 (d, $^3J_{\text{F-H}} = 9.4$ Hz, 2H, H^9dfppy).

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR ($\text{D}_2\text{O} + \text{KOH}$, 376 MHz, 293 K, δ): -113.66 (d, $J_{\text{F-F}} = 8.3$ Hz, 2F); -115.83 (d, $J_{\text{F-F}} = 9.2$ Hz, 2F).

Synthesis of [Ir(dfppy)₂(dbbpy)]Cl (**6b-Cl**).

250 mg (0.21 mmol) of [Ir(dfppy)₂(μ-Cl)]₂ and 180 mg (0.49 mmol) of *dbbpy* were refluxed under N₂ atmosphere in a mixture of methanol and CH₂Cl₂ (1:2 v/v) for 12 hours. After cooling, the



solution was concentrated to 2 ml with a rotary evaporator. Then the addition of diethyl ether yields **6b-Cl** as a yellow solid (270 mg, 70%).

Elemental analysis (%): Anal. Calc. for C₄₂H₃₈ClF₄IrN₆O₂: C, 52.41, H, 3.98, N, 8.76. Best analyses found: C, 50.73, H, 4.29, N, 8.82 (Elemental analyses fit well for **6b-Cl**·0.5CH₂Cl₂. C_{42.5}H₃₉Cl₂F₄IrN₆O₂: C, 50.80, H, 3.91, N, 8.36).

ESI (+): *m/z* (%) 927 [M]⁺ (100%).

IR (KBr, cm⁻¹): (N-H) 3427 (m), (C-H) 3297 (m), 3240 (m), 3060 (m), 2956 (m), 2920 (m), 2863 (m), (C=O) 1660 (s), (C-H ring) 1603 (vs), 1570 (s), 1553 (s), 1473 (s), 1426 (m), 1403 (s), (C-F) 1286 (m).

¹H NMR (CDCl₃, 400.1 MHz, 293 K δ): 10.66 (s, 2H, H³dbbpy); 9.63 (s br, 2H, NH); 8.35 (d, J_{H-H} = 8.5 Hz, 2H, H²dfppy); 8.18 (d, J_{H-H} = 5.7 Hz, 2H, H⁶dbbpy or H⁵dbbpy); 8.00 (d, J_{H-H} = 5.7 Hz, 2H, H⁶dbbpy or H⁵dbbpy); 7.85 (t, J_{H-H} = 8.1 Hz, 2H, H³dfppy); 7.40 (d, J_{H-H} = 5.9 Hz, 2H, H⁵dfppy); 7.03 (t, J_{H-H} = 6.8 Hz, 2H, H⁴dfppy); 6.60 (pst, 3J_{F-H} = 10.7 Hz, 2H, H⁷dfppy); 5.69 (dd, ³J_{F-H} = 8.2 Hz, J_{H-H} = 2.3 Hz, 2H, H⁹dfppy); 3.56 (c, J_{H-H} = 7.0 Hz, 4H, NHCH₂); 1.77 (q, J_{H-H} = 7.5 Hz, 4H, NHCH₂CH₂); 1.43 (sx, J_{H-H} = 7.5 Hz, 4H, CH₂CH₃); 0.94 (t, J_{H-H} = 7.3 Hz, 6H, CH₃).

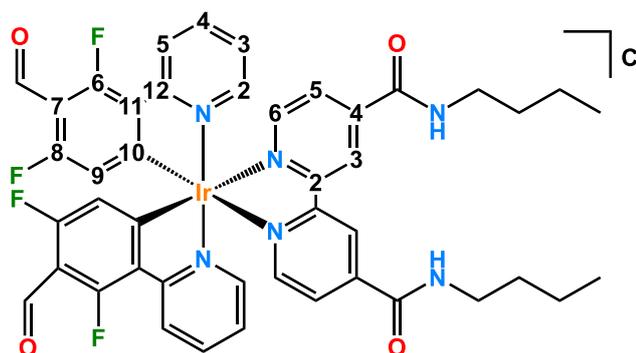
¹³C{¹H} NMR (CDCl₃, 100.6 MHz, 293 K, δ): 164.6 (s, C¹²dfppy); 161.8 (s, CO); 161.6 (dd, J_{F-C} = 232 Hz, ³J_{F-C} = 13 Hz, C⁶dfppy or C⁸dfppy); 156.4 (s, C⁴dbbpy or C²dbbpy); 153.2 (m, C¹⁰dfppy or C¹¹dfppy); 150.4 (s, C⁶dbbpy or C⁵dbbpy); 148.3 (s, C⁵dfppy); 145.2 (s, C⁴dbbpy or C²dbbpy); 139.0 (s, C³dfppy); 128.1 (s, C⁶dbbpy or C⁵dbbpy); 127.6 (d, J_{F-C} = 280 Hz, C⁶dfppy or C⁸dfppy); 127.5 (C¹⁰dfppy or C¹¹dfppy); 124.3 (s, C²dfppy or C³dbbpy); 124.1 (s, C²dfppy or C³dbbpy); 123.7 (s, C⁴dfppy); 114.2 (d, ²J_{F-C} ≈ 20 Hz,

C⁹dfppy); 99.8 (pst, ²J_{F-C} ≈ 28 Hz, C⁷dfppy); 40.7 (s, NHCH₂); 31.5 (s, NHCH₂CH₂); 20.5 (s, CH₂CH₃); 14.0 (s, CH₃).

¹⁹F{¹H} NMR (CDCl₃, 376.5 MHz, 293 K, δ): -104.71 (d, J_{F-F} = 11.5 Hz, 2F, F⁶); -107.86 (d, J_{F-F} = 11.5 Hz, 2F, F⁸).

Synthesis of [Ir(CHOdffppy)₂(dbbpy)]Cl (**6c-Cl**).

This compound was obtained as an orange solid (160 mg, 88%) following a similar procedure to that described for **6b**. By using *dbbpy* (80 mg, 0.22 mmol) and [Ir(CHOdffppy)₂(μ-Cl)]₂ (110 mg, 0.09 mmol) as precursors.



Elemental analysis (%): Anal. Calc. for C₄₄H₃₈ClF₄IrN₆O₄: C, 51.89, H, 3.76, N, 8.25. Best analyses found: C, 49.97, H, 4.01, N, 7.82). (Elemental analyses fit well for **6c-Cl**·0.5CH₂Cl₂. C_{44.5}H₃₉Cl₂F₄IrN₆O₄: C, 50.37, H, 3.71, N, 7.92).

ESI (+): *m/z* (%) 983 [M]⁺ (100%).

IR (KBr, cm⁻¹): (N-H) 3437 (m), (C-H) 3300 (m), 3216 (m), 3060 (m), 2956 (m), 2935 (m), 2867 (m), (C=O) 1690 (s), (C-H ring) 1632 (vs), 1594 (s), 1530 (s), 1471 (s), 1423 (m), 1354 (s), (C-F) 1231 (m).

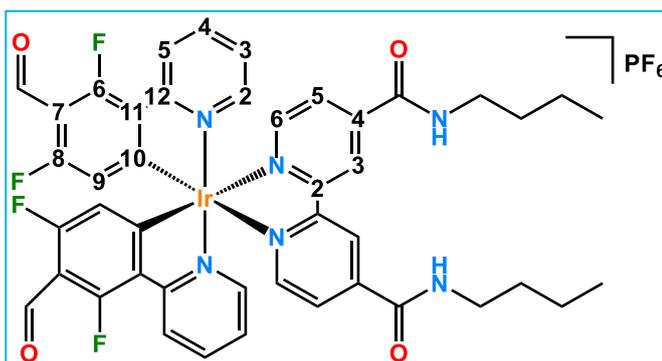
¹H NMR (CDCl₃ 400 MHz, 293 K, δ): 10.56 (s, br, 2H, H³dbbpy); 10.30 (s, 2H, CHO); 9.53 (s br, 2H, NH); 8.48 (d, J_{H-H} = 8.5 Hz, 2H, H²dfppy); 8.22 (d, J_{H-H} = 5.5 Hz, 2H, H⁶dbbpy); 7.98 (m, 4H, H⁵dbbpy and H³dfppy); 7.47 (d, J_{H-H} = 5.5 Hz, 2H, H⁵dfppy); 7.19 (t, J_{H-H} = 6.3 Hz, 2H, H⁴dfppy); 5.84 (d, ³J_{F-H} = 9.5 Hz, 2H, H⁹dfppy); 3.54 (m, 4H, NHCH₂); 1.74 (q, J_{H-H} = 7.5 Hz, 4H, NHCH₂CH₂); 1.43 (sx, J_{H-H} = 7.5 Hz, 4H, CH₂CH₃); 0.96 (t, J_{H-H} = 7.3 Hz, 6H, CH₃).

¹³C{¹H} NMR (CDCl₃ 100.6 MHz, 293 K, δ): 183.9 (t, J_{F-C} = 5 Hz, CHO); 165 – 159 (m, 4C, C⁶dfppy, C⁸dfppy, C¹²dfppy and C¹¹dfppy); 161.60 (s, CO); 156.1 (s, C⁴dbbpy or C²dbbpy); 150.3 (s, C⁵dbbpy); 148.7 (s, C⁵dfppy); 146.1 (s, C⁴dbbpy or C²dbbpy); 140.5 (s, C³dfppy); 128.5 (s, C⁶dbbpy); 128.4 (s, C¹⁰dfppy); 125.2 (s, C³dbbpy); 125.0 (s, C²dfppy); 124.5 (s, C⁴dfppy); 115.3 (d, J_{F-C} = 18 Hz, C⁹dfppy); 110.7 (t, J_{F-C} = 11 Hz C⁷dfppy); 40.7 (s, NHCH₂); 31.4 (s, NHCH₂CH₂); 20.5 (s, CH₂CH₃); 13.9 (s, CH₃).

¹⁹F{¹H} NMR (CDCl₃ 376.5 MHz, 293 K, δ): -110.47 (d, J_{F-F} = 7.9 Hz, 2F, F⁶); -114.57 (d, J_{F-F} = 7.6 Hz, 2F, F⁸).

Synthesis of $[\text{Ir}(\text{CHOd}f\text{ppy})_2(\text{dbbpy})]\text{PF}_6$ (**6c-PF₆**).

This compound was synthesized as an orange solid by the addition of 2 equiv. (100 mg, 0.28 mmol.) of TlPF₆ to a solution of (**5c**) Ir(CHOd f ppy)₂(μ -Cl)₂ (177 mg, 0.14 mmol.) in 10 ml of anhydrous



acetonitrile. The suspension was refluxed 2 hours and then was filtered through celite. The resulting solution was evaporated to dryness to give $[\text{Ir}(\text{CHOd}f\text{ppy})_2(\text{NCMe})_2]\text{PF}_6$ as a yellow solid. The solid was redissolved in 10 ml of anhydrous CH₂Cl₂ and the yellow solution treated with a solution of *dbbpy* (100 mg, 0.28 mmol) in 20 ml of distilled methanol (20 ml) was refluxed for 48 hours and finally evaporated to dryness to give **6c-PF₆** as an orange solid which was filtered and washed with diethylether.

Elemental analysis (%): Anal. Calc. for C₄₄H₃₈F₁₀IrN₆O₄P: C, 46.85, H, 3.40, N, 7.45. Best analyses found: C, 44.98, H, 3.12, N, 6.51. (Elemental analyses fit well for **6c-PF₆·CH₂Cl₂**. C₄₅H₄₀Cl₂F₁₀IrN₆O₄P: C, 44.56, H, 3.32, N, 6.93).

ESI (+): *m/z* (%) 983 [M]⁺ (100%).

IR (KBr, cm⁻¹): (N-H) 3285 (m), (C-H) 2932 (m), 2866 (m), (C=O) 1700 (s), (C-H ring) 1600 (vs), 1545 (s), 1528 (s), 1473 (s), (C-F) 1235 (m), $\nu(\text{P-F})$ 838 (m).

¹H NMR (CD₃)₂CO, 400.1 MHz, 293 K, δ): 10.44 (s, br, 2H, H³*dbbpy*); 10.30 (s, 2H, CHO); 9.36 (s br, 2H, NH); 8.47 (d, $J_{\text{H-H}} = 8.6$ Hz, 2H, H²*dfppy*); 8.21 (d, $J_{\text{H-H}} = 5.6$ Hz, 2H, H⁶*dbbpy*); 7.99 (t, $J_{\text{H-H}} = 7.5$ Hz, 2H, H³*dfppy*); 7.98 (d, $J_{\text{H-H}} = 5.7$ Hz, 2H, H⁵*dbbpy*); 7.47 (d, $J_{\text{H-H}} = 5.6$ Hz, 2H, H⁵*dfppy*); 7.19 (t, $J_{\text{H-H}} = 6.6$ Hz, 2H, H⁴*dfppy*); 5.83 (d, $^3J_{\text{F-H}} = 9.8$ Hz, 2H, H⁹*dfppy*); 3.56 (m, 4H, NHCH₂); 1.76 (q, $J_{\text{H-H}} = 7.5$ Hz, 4H, NHCH₂CH₂); 1.42 (m, 4H, CH₂CH₃); 0.95 (t, $J_{\text{H-H}} = 7.4$ Hz, 6H, CH₃).

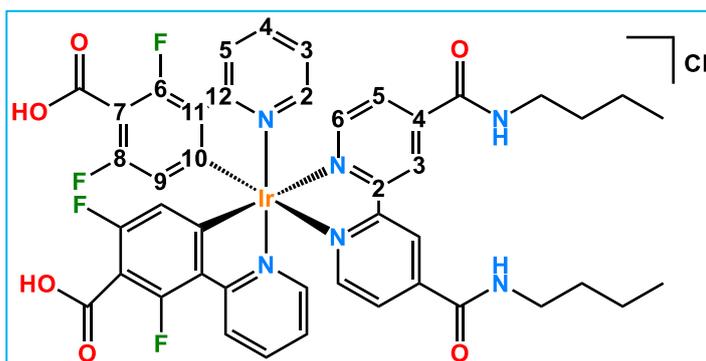
¹³C{¹H} NMR (CD₃)₂CO, 100.6 MHz, 293 K, δ): 184.0 (t, $J_{\text{F-C}} = 6$ Hz, CHO); 165 – 159 (m, 4C, C⁶*dfppy*, C⁸*dfppy*, C¹²*dfppy* and C¹¹*dfppy*); 162.11 (s, CO); 156.1 (s, C⁴*dbbpy* or C²*dbbpy*); 150.4 (s, C⁵*dbbpy* or C³*dfppy*); 148.8 (s, C⁵*dfppy*); 146.3 (s, C⁴*dbbpy* or C²*dbbpy*); 140.5 (s, C⁵*dbbpy* or C³*dfppy*); 128.6 (s, C⁶*dbbpy*); 128.4 (s, C¹⁰*dfppy*); 125.1 (s, C⁴*dbbpy*); 125.0 (s, C²*dfppy*); 124.3 (s, C³*dbbpy*); 115.2 (d, $J_{\text{F-C}} = 16$ Hz, C⁹*dfppy*); 110.7 (m, C⁷*dfppy*); 40.8 (s, NHCH₂); 31.4 (s, NHCH₂CH₂); 20.5 (s, CH₂CH₃); 13.9 (s, CH₃).

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 376.5 MHz, 293 K δ): -71.25 (d, $J_{\text{P-F}} = 715$ Hz, PF_6); -110.49 (d, $J_{\text{F-F}} = 7.8$ Hz, 2F, F^6); -114.59 (d, $J_{\text{F-F}} = 7.6$ Hz, 2F, F^8).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 162.1 MHz, 293 K, δ): -144.3 (sp, $J_{\text{P-F}} = 708.0$ Hz, PF_6).

Synthesis of $[\text{Ir}(\text{COOHdfppy})_2(\text{dbbpy})]\text{Cl}$ (**6d-Cl**).

This compound was obtained as an orange solid (80 mg, 54%) following a procedure similar to that described for **6d-Cl**, using *dbbpy* (56 mg, 0.158 mmol) and



$\text{Ir}(\text{COOHdfppy})_2(\mu\text{-Cl})_2$ (100 g, 0.08 mmol) as starting precursors. These precursors were refluxed for 6 hours in a mixture of methanol and CH_2Cl_2 (1:2 v/v), under nitrogen conditions. The solution was cooled, concentrated, and finally precipitated with diethyl ether.

Elemental analysis (%): Anal. Calc. for $\text{C}_{44}\text{H}_{38}\text{ClF}_4\text{IrN}_6\text{O}_6$: C, 50.31, H, 3.65, N, 8.00 Best analyses found: C, 48.61, H, 4.15, N, 8.02). (Elemental analyses fit well for **6d-Cl**·0.5 CH_2Cl_2 . $\text{C}_{44.5}\text{H}_{39}\text{Cl}_2\text{F}_4\text{IrN}_6\text{O}_6$: C, 48.90, H, 3.60, N, 8.78).

ESI (+): m/z (%) 1015.21 $[\text{M}]^+$ (100%).

IR (KBr, cm^{-1}): (N-H) 3302 (m), (C-H) 3054 (m), 2956 (m), 2867 (m), (C=O) 1600 (s), (C-F) 1293 (m).

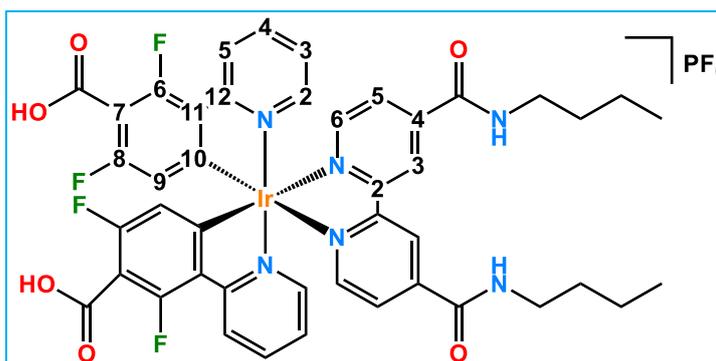
^1H NMR (MeOD, 400.1 MHz, 293K δ): 9.21 (s, 2H, H^3dbbpy); 8.37 (d, $J_{\text{H-H}} = 8.5$ Hz, 2H, H^2dfppy); 8.17 (d, $J_{\text{H-H}} = 5.6$ Hz, 2H, H^6dbbpy); 7.98 (d, $J_{\text{H-H}} = 5.6$ Hz, 2H, H^5dbbpy); 7.96 (t, $J_{\text{H-H}} = 8.5$ Hz, 2H, H^3dfppy); 7.70 (d, $J_{\text{H-H}} = 5.7$ Hz, 2H, H^5dfppy); 7.14 (t, $J_{\text{H-H}} = 6.5$ Hz, 2H, H^4dfppy); 5.66 (d, $^3J_{\text{F-H}} = 8.5$ Hz, 2H, H^9dfppy); 3.44 (t, $J_{\text{H-H}} = 7.2$ Hz, 4H, NHCH_2); 1.64 (q, $J_{\text{H-H}} = 7.4$ Hz, 4H, NHCH_2CH_2); 1.42 (m, $J_{\text{H-H}} = 7.6$ Hz, 4H, CH_2CH_3); 0.97 (t, $J_{\text{H-H}} = 7.2$ Hz, 6H, CH_3).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (MeOD, 100.6 MHz, 293, δ): 168.92 (s, COOH); 165.53 (s, CONH); 165.42 (s, C^{12}); 161.13 (dd, $J_{\text{F-C}} = 258$, $^3J_{\text{F-C}} = 10$ Hz, C^6dfppy or C^8dfppy); 159.10 (dd, $J_{\text{F-C}} = 258$, $^3J_{\text{F-C}} = 10$ Hz, C^6dfppy or C^8dfppy); 157.55 (s, C^4dbbpy or C^2dbbpy); 152.33 (s, C^6dbbpy); 150.68 (s, C^5dfppy); 147.41 (s, C^4dbbpy or C^2dbbpy); 140.91 (s, C^3dfppy); 128.68 (d, $J_{\text{F-C}} = 3.8$ Hz, $\text{C}^{10}\text{dfppy}$); 127.82 (s, C^5dbbpy); 125.18 (s, C^4dfppy); 124.91 (d, $J_{\text{F-C}} = 19.8$ Hz, $\text{C}^{11}\text{dfppy}$); 124.46 (s, C^2dfppy); 120.18 (s, C^3dbbpy); 116.13 (t, $J_{\text{F-C}} = 27.3$ Hz, C^7dfppy); 114.70 (d, $J_{\text{F-C}} = 19.0$ Hz, C^9dfppy); 41.9 (s, NHCH_2); 32.64 (s, NHCH_2CH_2); 21.34 (s, CH_2CH_3); 14.23 (s, CH_3).

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (MeOD, 376.5 MHz, 293 K, δ): -114.73 (d, $J_{\text{F-F}} = 10.0$ Hz, 2F, F⁸); -118.7 (d, $J_{\text{F-F}} = 10.0$ Hz, 2F, F⁶).

Synthesis of [Ir(COOHdfppy)₂(dbbpy)]PF₆ (6d-PF₆).

This compound was synthesized as an orange solid following a similar procedure to that employed for the synthesis of complex 6d-PF₆. 2 equivalents 100 mg, (0.28



mmol.) of TlPF₆ were added to a solution of (1c) Ir(COOHdfppy)₂(μ-Cl)₂ (123 mg, 0.14 mmol.) in 10 ml of anhydrous acetonitrile. The suspension was refluxed 2 hours and later, when the reaction was completed, the TlCl was filtered through celite. Evaporation of the solvent gives [Ir(CHOdFppy)₂(NCMe)₂]PF₆ as a yellow solid. The solid was redissolved in CH₂Cl₂ (10 ml) and treated with a solution of *dbbpy* (95 mg, 0.28 mmol) in distilled methanol (20 ml). The mixture was refluxed 48 hours and finally evaporated to dryness to give 6d-PF₆ as an orange solid which was filtered and washed with diethylether.

Elemental analysis (%): Anal. Calc. for C₄₄H₃₈F₁₀IrN₆O₆P: C, 45.56; H, 3.30; N, 7.25. Best analyses found: C, 44.57; H, 3.83; N, 6.45. (Elemental analyses fit well for 6d-PF₆·0.5CH₂Cl₂·0.5CH₂Cl₂. C_{44.5}H₃₉Cl₂F₁₀IrN₆O₆P: C, 44.45; H, 3.27; N, 6.99).

ESI (+): *m/z* (%) 1015.21 [M]⁺ (100%).

IR (KBr, cm⁻¹): (N-H) 3440 (m); (C-H) 3058 (m); 2950 (m), 2866 (m); (C=O) 1700 (s); (C-H ring) 1605 (vs), 1527 (s), 1411 (s); (C-F) 1235 (m); ν(P-F) 819 (vs).

¹H NMR ((CD₃)₂CO, 400.1 MHz, 293 K, δ): 9.20 (s, H³bpy); 8.47 (m, H²dfppy and H⁵dbbpy or H⁶dbbpy); 8.34 (t, J_{H-H} = 6.5 Hz, NH); 8.12 (t, J_{H-H} = 8.4 Hz, H³dfppy); 8.10 (d, J_{H-H} = 6.4 Hz H⁵dbbpy or H⁶dbbpy); 8.03 (d, J_{H-H} = 5.8 Hz, H⁵dfppy); 7.29 (t, J_{H-H} = 6.6 Hz, H⁴dfppy); 5.90 (d, ³J_{F-H} = 9.4 Hz, H⁹dfppy); 3.45 (q, J_{H-H} = 7.4 Hz, 2H, NHCH₂); 1.59 (q, J_{H-H} = 7.5 Hz, 2H, NHCH₂CH₂); 1.38 (sx, J_{H-H} = 7.5 Hz, 2H, CH₂CH₃); 0.92 (t, J_{H-H} = 7.5 Hz, 3H, CH₃).

¹³C{¹H NMR (, (CD₃)₂CO, 100.6 MHz, 293 K, δ): 163.54 (s, CONH); 164.13 (s, C¹²); 162.65(s, COOH); 162.61 (dd, J_{F-C} = 288, ³J_{F-C} = 10 Hz, C⁶dfppy or C⁸dfppy); 159.06 (dd, J_{F-C} = 237, ³J_{F-C} = 8 Hz, C⁶dfppy or C⁸dfppy); 157.06 (s, C²dbbpy or C⁴dbbpy); 153.02(s, C⁵dbbpy or C⁶bpy); 151.08 (s, C⁵dfppy); 146.35 (s, C²dbbpy or C⁴dbbpy); 141.21 (s,

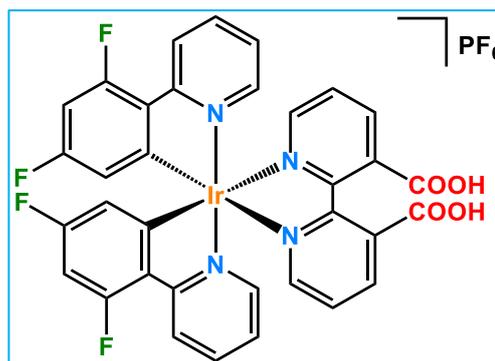
C³dfppy); 127.65 (s, C⁵dbbpy or C⁶dbbpy); 125.76 (s, C⁴dfppy); 125.20 (d, J_{F-C} = 21, C²dfppy); 125.20 (d, J_{F-C} = 21 Hz, C²dfppy); 124.48 (t, J_{F-C} = 15.0 Hz, C⁷dfppy); 123.99 (s, C³dbbpy); 115.30 (t, J_{F-C} = 19.1 Hz, C⁹dFppy); 40.60 (s, NHCH₂); 32.19 (s, NHCH₂CH₂); 19.93 (s, CH₂CH₃); 14.01 (s, CH₃).

¹⁹F{¹H} NMR ((CD₃)₂CO, 376.5 MHz, 293 K, δ): -72.6 (d, J_{P-F} = 707.7 Hz, PF₆); -108.5 (d, J_{F-F} = 7.0 Hz, F⁶); -116.6 (d, J_{F-F} = 7.0 Hz, F⁸).

³¹P{¹H} NMR ((CD₃)₂CO, 162.1 MHz, 293 K, δ): -144.3 (sp, J_{P-F} = 708.0 Hz, PF₆).

Synthesis of $[\text{Ir}(\text{dfppy})_2(3,3'\text{-H}_2\text{dcbpy})]\text{PF}_6$ (**7b-PF₆**).

A yellow solution of 0.25 g (0.21 mmol) of $[\text{Ir}(\text{dfppy})_2(\mu\text{-Cl})_2]$ in CH_2Cl_2 (20 ml) was treated with a solution of 100 mg (0.42 mmol) of 2,2'-bipyridin-3,3'-dicarboxylic acid (3,3'-H₂dcbpy) in methanol (20 ml) and the mixture was refluxed for 2 hours. Then, 5 ml of a saturated solution of NaAcO in MeOH were added and



the mixture was refluxed again for 1 hour. A saturated solution of NH_4PF_6 in methanol (5 ml) was added to the mixture and stirred for 30 minutes. The resulting solution was evaporated to dryness and the residue treated with 20 ml of HCl (1M) and stirred for 10 minutes. The yellow solid obtained was filtered, washed with water (2 x 10 ml) and extracted with methanol. The solution was treated with 5 ml of a saturated solution of NH_4PF_6 in methanol and the mixture further stirred for 30 min. and solvent evaporation under reduced pressure gives **7b-PF₆** as yellow solid (260 mg, 65%).

Elemental analysis (%): Anal. Calc. for $\text{C}_{34}\text{H}_{20}\text{F}_{10}\text{IrN}_4\text{O}_4\text{P}$: C, 42.46; H, 2.10; N, 5.83. Best analyses found: C, 42.81; H, 2.57; N, 5.73.

ESI (+): m/z (%) 817 $[\text{M}]^+$ (100%).

IR (KBr, cm^{-1}): (N-H) 3400 (s, broad); (C-H) 3070 (m), (C=O) 1716 (s); (C-H ring) 1602 (vs), 1569 (s), 1542 (s), 1471 (s), 1393 (s); (C-F) 1242 (m).

^1H NMR ((CD_3)₂CO, 400 MHz, 293 K, δ): 8.54 (d, $J_{\text{H-H}} = 7.9$ Hz, 2H, H⁶dcbpy); 8.38 (d, $J_{\text{H-H}} = 8.5$ Hz, 2H, H²dfppy); 8.35 (s, br, 2H, H⁴dcbpy); 8.33 (d, $J_{\text{H-H}} = 5.2$ Hz, 2H, H⁵dfppy); 8.08 (t, $J_{\text{H-H}} = 7.9$ Hz, 2H, H³dfppy); 7.75 (s, br, 2H, H⁵dcbpy); 7.31 (t, $J_{\text{H-H}} = 7.0$ Hz, 2H, H⁴dfppy); 6.77 (ddd, $^3J_{\text{F-H}} = 12$ Hz, $^3J_{\text{F-H}} = 12.5$ Hz, $^3J_{\text{F-H}} = 2.2$ Hz, 2H, H⁷dfppy); 5.76 (dd, $J_{\text{F-H}} = 8.7$ Hz, $J_{\text{H-H}} = 2.2$ Hz, H⁹dfppy);

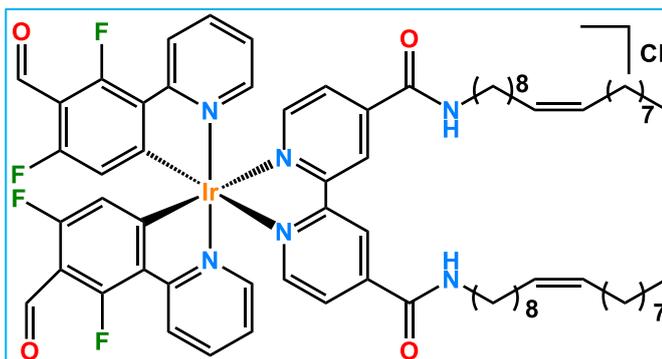
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR ((CD_3)₂CO, 100.6 MHz, 293 K, δ): 164.6 (dd, $J_{\text{F-C}} = 219$, $^3J_{\text{F-C}} = 12$ Hz, C⁶dfppy or C⁸dfppy); 162.0 (dd, $J_{\text{F-C}} = 219$, $^3J_{\text{F-C}} = 12$ Hz, C⁶dfppy or C⁸dfppy); 157.0 (s, C²dcbpy or C³dcbpy or COOH); 152.6 (s, C⁵dfppy); 150.7 (d, $J_{\text{F-C}} = 7$ Hz, C¹²dfppy) 140.0 (s, C³dfppy); 140.7 (s, C⁶dcbpy); 128.9 (m, C¹⁰dfppy and C¹¹dfppy); 128.8 (s, C⁵dcbpy); 125.1 (s, C⁴dfppy); 124.7 (s, C⁴dcbpy); 124.5 (s, C²dfppy); 114.8 (d, $J_{\text{F-C}} = 18$ Hz, C⁹dfppy); 99.9 (t, $J_{\text{F-C}} = 27$ Hz C⁷dfppy);

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR ((CD_3) $_2\text{CO}$, 376.5 MHz, 293 K, δ): -72.6 (d, $J_{\text{P-F}} = 707.7$ Hz, PF_6); -107.5 (d, $J_{\text{F-F}} = 10.0$ Hz, 2F, F^6); -109.9 (d, $J_{\text{F-F}} = 10.0$ Hz, 2F, F^8).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR ((CD_3) $_2\text{CO}$, 162.1 MHz, 293 K, δ): -144.3 (sp, $J_{\text{P-F}} = 710.0$ Hz, PF_6).

Synthesis of [Ir(CHOdFppy)₂(dobpy)]Cl (8c-Cl).

[Ir(CHOdFppy)₂(μ-Cl)]₂ (0.10 g, 0.08 mmol) and *dobpy* (0.14 g, 0.19 mmol) were refluxed for 7 hours in a mixture of methanol and dichloromethane (1:2 v/v), under nitrogen conditions. The solution



was cooled, concentrated and finally precipitated with diethyl ether to give **8c-Cl** as an orange solid (0.14 g, 63%).

Elemental analysis: (%): Anal. Calc. for C₇₂H₉₀ClF₄IrN₆O₄: C, 61.45; H, 6.45; N, 5.97. Best analyses found: C, 55.31; H, 5.82; N, 7.14).

ESI (+): *m/z* (%) 1371.74 [M]⁺ (100%).

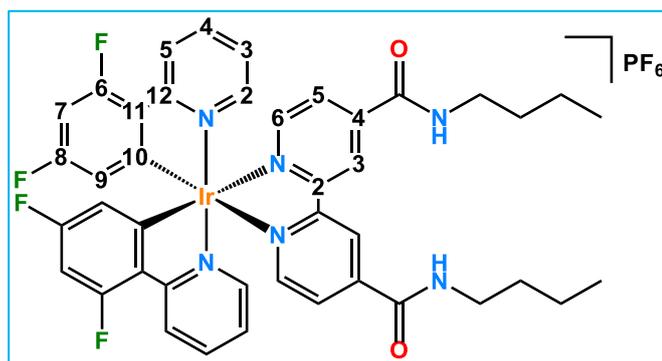
IR (KBr, cm⁻¹): (N-H) 3303 (m); (m), 2925 (m), 2853 (m); (C=O) 1695 (s); (C-H ring) 1534 (s), 1478 (s), 1422 (m), 1399 (s); (C-F) 1296 (m).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz, 293 K, δ): 10.71 (s, 2H, H³dobpy); 10.30 (s, 2H, CHO); 9.63 (s broad, NH); 8.48 (d, J_{H-H} = 9.2 Hz, 2H, H²dFppy); 8.24 (t, J_{H-H} = 8.3 Hz, 2H, H⁶dobpy); 7.98 (m, 4H, H⁵dobpy and H³dfppy); 7.45 (d, J_{H-H} = 5.6 Hz, 2H, H⁵dfppy); 7.18 (t, J_{H-H} = 6.8 Hz, 2H, H⁴dfppy); 5.84 (d, ³J_{F-H} = 10.3 Hz, 2H, H⁹dfppy); 5.53 (m, 4H, (CH=CH)); 3.54 (m, 4H, N(CH₂)); 1.99 (m, 8H, (CH₂)(CH=CH)); 1.77 (m, 4H, NH(CH₂)(CH₂)(CH₂)₆CH=CH(CH₂)₇CH₃); 1.26 (m, 44H, NH(CH₂)₂(CH₂)₅(CH₂)CH=CH(CH₂)(CH₂)₆CH₃); 0.87 (m, 6H, CH₃)

¹⁹F{¹H} NMR (CDCl₃, 376.5 MHz, 293 K, δ): -110.49 (d, J_{F-F} = 7.2 Hz, 2F, F⁶); -114.60 (d, J_{F-F} = 7.2 Hz, 2F, F⁸).

Synthesis of [Ir(dfppy)₂(dbbpy)]Cl (6b-PF₆).

A solution of 0.21 g (0.26 mmol) of [Ir(dfppy)₂(CH₃CN)₂PF₆ in a mixture of methanol and dichloromethane (1:2 v/v) was treated with 0.09 g (0.26 mmol) of dbbpy. The resulted yellow



mixture was stirred for six hours at room temperature and the solution evaporated to dryness. The solid residue obtained was treated with diethyl ether, yielding complex **6b-PF₆** as a yellow solid (0.21 g, 75%).

Elemental analysis: (%): Anal. Calc. for C₄₂H₃₈F₁₀IrN₆O₂P: C, 47.06; H, 3.57; N, 7.84. Best analyses found: C, 43.93; H, 3.37; N, 7.85 (Elemental analyses fit well for **B**·1.5CH₂Cl₂. C_{43.5}Cl₃H₄₁F₁₀IrN₆O₂P: C, 43.56; H, 3.45; N, 7.01).

ESI(+): *m/z* (%) 927 [M]⁺ (100%).

IR (cm⁻¹): ν(N-H) 3463(m); ν(C-H) 3127 (w), 3072 (w), 2959 (m), 2926 (w), 2871 (w), 2852 (w); ν(C=O) 1674 (s); ν(C-H ring) 1600 (s), 1575 (s), 1540 (s), 1478 (s), 1432 (m), 1406 (s); ν(C-F) 1297 (m); ν(P-F) 835 (vs); ν(C-H) 749, ν(Ir-N) 835.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz, 293 K, δ): 8.78 (s, 2H, H³dbbpy); 8.33 (d, J_{H-H} = 8.8 Hz, 2H, H²dfppy); 8.05 (d, J_{H-H} = 5.7 Hz, 2H, H⁵dbbpy or H⁶dbbpy), 7.97 (d, J_{H-H} = 5.7 Hz, 2H, H⁵dbbpy or H⁶dbbpy); 7.85 (t, J_{H-H} = 7.9 Hz, 2H, H³dfppy); 7.43 (d broad, J_{H-H} = 5.6 Hz, 3H, NH and H⁵dfppy); 7.07 (t, J_{H-H} = 6.8 Hz, 2H, H⁴dfppy); 6.61 (pst, ³J_{F-H} = 11.5 Hz, 4H, H⁷dfppy); 5.68 (dd, ³J_{F-H} = 8.3 Hz, J_{H-H} = 2.2 Hz, 2H, H⁹dfppy); 3.50 (quad, J_{H-H} = 6.9 Hz, 4H, NHCH₂); 1.68 (quint, J_{H-H} = 7.6 Hz, 4H, CH₂-CH₂); 1.42 (sx, J_{H-H} = 7.6 Hz, 4H, CH₂CH₃); 0.95 (t, J_{H-H} = 7.2 Hz, 6H, CH₃).

¹³C{¹H} NMR (CDCl₃, 100.6 MHz, 293 K, δ): 164.3 (d, ³J_{F-C} ≈ 8 Hz, C¹²dfppy); 164.1 (d, ¹J_{F-C} ≈ 230 Hz, C⁶dfppy or C⁸dfppy); 163.8 (s, CO), 155.7 (s, C²dbbpy or C⁴dbbpy); 152.9 (d, J_{F-C} = 6 Hz, C¹⁰dfppy or C¹¹dfppy); 150.88 (s, C⁶dbbpy or C⁵dbbpy); 148.5 (s, C⁵dfppy); 146.7 (s, C²dbbpy or C⁴dbbpy); 139.7 (s, C³dfppy); 128.2 (s, C⁶dbbpy or C⁵dbbpy); 127.6 (d, J_{F-C} ≈ 250 Hz, C⁶dfppy or C⁸dfppy); 127.4 (d, J_{F-C} ≈ 6 Hz, C¹⁰dfppy or C¹¹dfppy); 124.3 (s, C²dfppy); 124.0 (s, C⁴dfppy); 122.4 (s, C³dbbpy); 114.1 (d, ²J_{F-C} ≈ 20 Hz, C⁹dfppy); 99.7

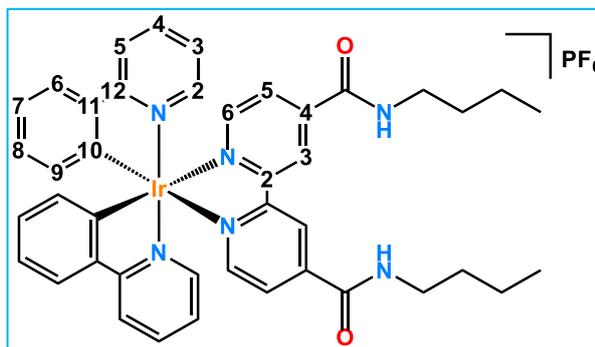
(d, $^2J_{F-C} \approx 26$ Hz, C^7dfppy); 40.8 (s, $NHCH_2$); 31.2 (s, CH_2-CH_2); 20.3 (s, CH_2CH_3); 13.8 (s, CH_3).

^{19}F NMR ($CDCl_3$, 376.5 MHz, 293 K, δ): -70.4 (d, $J_{P-F} = 715.8$ Hz); -104.5 (d, $J_{F-F} = 11.3$ Hz, 2F, F^6); -107.8 (d, $J_{F-F} = 11.1$ Hz, 2F, F^8).

$^{31}P\{^1H\}$ NMR ($CDCl_3$, 162.1 MHz, 293 K, δ): -144.2 (sp, $J_{P-F} = 716.1$ Hz, PF_6).

Synthesis of [Ir(ppy)₂(dbbpy)]PF₆ (6a-PF₆)

A solution of 0.2 g (0.27 mmol) of [Ir(ppy)₂(CH₃CN)₂]⁺PF₆⁻ in a mixture of methanol and dichloromethane (1:2 v/v) was treated with 0.10 g (0.27 mmol) of *dbbpy*. The yellow mixture was stirred for six hours at room temperature to give an orange suspension, which was filtered. The orange solid obtained was cleaned with dichloromethane and hexane (0.22 g, 80%).



Elemental analysis: (%): Anal. Calc. for C₄₂H₄₂F₆IrN₆O₂P: C, 50.44; H, 4.23; N, 8.40. Best analyses found: C, 49.51; H, 4.08; N, 9.68.

ESI(+): *m/z* (%) 855 [M]⁺ (100%).

IR (cm⁻¹): ν (N-H) 3457(m); ν (C-H) 3210 (m), 3033 (m), 2972 (m), 2932 (m), 2868 (m); ν (C=O) 1666 (s); ν (C-H ring) 1606 (vs), 1530 (s), 1474 (s), 1411 (s); ν (P-F) 800 (s), δ (C-H) 749, ν (Ir-N) 550.

¹H NMR (DMSO-d₆, 400.1 MHz, 293 K, δ): 9.20 (s, 2H, H³dbbpy); 9.06 (t, ³J = 5.0 Hz, 2H, NH); 8.28 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, H²ppy); 8.02 – 7.93 (m, 8H, H⁶ppy, H³ppy, H⁶dbbpy, H⁵dbbpy); 7.68 (d, ³J = 5.4 Hz, 2H, H⁵ppy); 7.15 (pst, ³J = 7.2 Hz, 2H, H⁴ppy); 7.05 (t, ³J = 7.9 Hz, 2H, H⁷ppy); 6.93 (t, ³J = 7.4 Hz, 2H, H⁸ppy); 6.19 (d, ³J = 7.2 Hz, 2H, H⁹ppy); 3.36 (m, 4H, NCH₂); 1.54 (quint, ³J = 7.1 Hz, 4H, CH₂); 1.36 (sext, ³J = 8.0 Hz, 4H, CH₂CH₃); 0.91 (t, ³J = 7.4 Hz, 6H, CH₃).

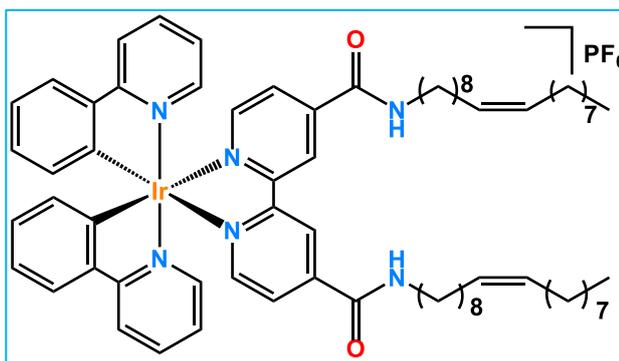
¹³C{¹H} NMR (DMSO-d₆, 100.6 MHz, 293 K, δ): 166.63 (s, C¹² ppy); 162.97 (s, CONH); 155.79 (s, C⁴dbbpy); 150.47 (s, C⁶ppy or C⁵dbbpy or C⁶dbbpy); 149.93 (s, C¹⁰ppy or C¹¹ppy); 149.23 (s, C⁵ppy); 144.13 (s, C²dbbpy); 143.73 (s, C¹⁰ppy, C¹¹ppy); 138.90 (s, C³ppy); 130.94 (s, C⁹ppy); 130.31 (s, C⁸ppy); 126.65 (s, C⁶ppy or C⁵dbbpy or C⁶dbbpy); 125.10 (s, C⁶ppy or C⁵dbbpy or C⁶dbbpy); 123.96 (s, C³dbbpy); 122.70 (s, C⁷ppy); 122.47 (s, C⁴ppy); 120.07 (s, C²ppy); 39.52 (s, NCH₂); 30.99 (s, CH₂); 19.57 (s, CH₂Me); 13.65 (s, CH₃).

¹⁹F{¹H} NMR (DMSO-d₆, 376.5 MHz, 293 K, δ): -70.16 (d, J_{P-F} = 711.9 Hz).

³¹P{¹H} NMR (DMSO-d₆, 162.1 MHz, 293 K, δ): -144.2 (sp, J_{P-F} = 720.1 Hz, PF₆)

Synthesis of [Ir(ppy)₂(dobpy)]Cl (8a-PF₆).

Complex (8a-PF₆) was synthesized following the same procedure carried out for the preparation of complex 6a-PF₆. 0.20 g (0.27 mmol) of [Ir(ppy)₂(CH₃CN)₂PF₆] and 0.2 g (0.27 mmol) of dobpy were employed. The



resulted mixture was refluxed for 24 hours to finally obtain a dark orange solid. (0.26 g, 69%).

ESI(+): *m/z* (%) 1243.7 [M]⁺ (100%).

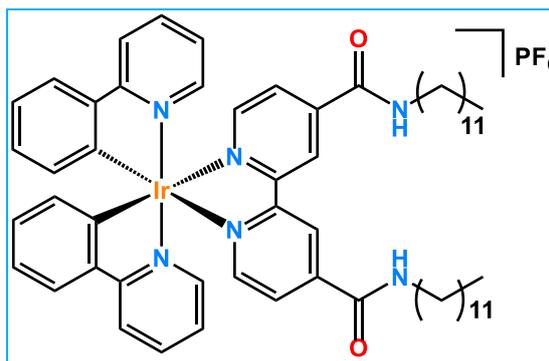
IR (cm⁻¹): ν (N-H) 3430(m); ν (C-H) 3112 (w), 3072 (w), 2922 (w), 2868 (m), 2871 (w), 2805 (w); ν (C=O) 1664 (s); ν (C-H ring) 1607 (s), 1538 (s), 1476 (s), 1415 (m); ν (P-F) 832 (vs); δ (C-H) 757, ν (Ir-N) 551.

¹H NMR (DMSO-d₆, 400.1 MHz, 293 K, δ): 9.11 (s, 2H, H³dobpy); 8.99 (t, ³J = 4.9 Hz, 2H, NH); 8.21 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, H²ppy); 7.91– 7.86 (m, 8H, H⁶ppy, H³ppy, H⁶dobpy, H⁵dobpy); 7.60 (d, ³J = 5.9 Hz, 2H, H⁵ppy); 7.07 (t, ³J = 6.3 Hz, 2H, H⁴ppy); 6.98 (t, ³J = 7.4, 2H, H⁷ppy); 6.86 (t, ³J = 7.4 Hz, 2H, H⁸ppy); 6.11 (d, ³J = 7.4 Hz, 2H, H⁹ppy); 5.24 (m, 4H, CH=CH); 1.90 (m, 8H, CH₂-CH=CH); 1.48 (m, 4H, CH₂); 1.16 (m, 48H, CH₂); 0.75 (t, ³J = 6.6 Hz, 6H, CH₃).

¹³C{¹H} NMR (DMSO-d₆, 100.6 MHz, 293 K, δ): 166.71 (s, C¹²ppy); 162.97 (s, CONH); 155.83 (s, C⁴dobpy); 150.58 (s, C⁶ppy or C⁵dobpy or C⁶dobpy); 149.95 (s, C¹⁰ppy or C¹¹ppy); 149.23 (s, C⁵ppy); 144.17 (s, C²dobpy); 143.78 (C¹⁰ppy or C¹¹ppy); 138.98 (s, C³ppy); 131.05 (s, C⁹ppy); 130.40 (s, C⁸ppy); 129.68 (s, 2C, C=C); 126.67 (s, C⁶ppy or C⁵dobpy or C⁶dobpy); 125.17 (s, C⁶ppy or C⁵dobpy or C⁶dobpy); 124.01 (s, C⁴ppy); 122.75 (s, C³dobpy); 122.57 (s, C⁷ppy); 120.16 (s, C²ppy); 31.97 – 26.62 (CH₂); 13.97 (s, CH₃).

Synthesis of [Ir(ppy)₂(ddobpy)]PF₆ (9a-PF₆)

Complex (9a-PF₆) was synthesized following the same procedure carried out for the preparation of complex (6a-PF₆). 0.10 g (0.14 mmol) of [Ir(ppy)₂(CH₃CN)₂]PF₆ and 0.08 g (0.14 mmol) of ddobpy were employed. The resulted orange mixture was refluxed for 24 hours to finally obtain an orange solid. (0.11 g, 65%).



Elemental analysis: (%): Anal. Calc. for C₅₈H₇₄F₆IrN₆O₂P: C, 56.89; H, 6.09; N, 6.86. Best analyses found: C, 64.53; H, 6.91; N, 7.79.

ESI(+): *m/z* (%) 1079.6 [M]⁺ (100%).

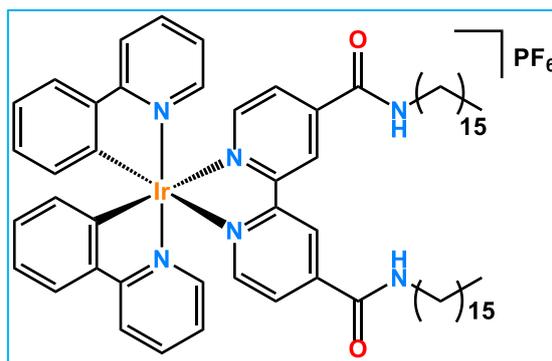
IR (cm⁻¹): ν (N-H) 3410(m); ν (C-H) 3303 (m), 3050 (m), 2927 (m), 2849 (m); ν (C=O) 1664 (s); ν (C-H ring) 1606 (vs), 1534 (s), 1475 (s), 1435 (vw); 1415 (vw); ν (P-F) 836 (s), δ (C-H) 757, ν (Ir-N) 556.

¹H NMR (DMSO-d₆, 400.1 MHz, 293 K, δ): 9.18 (s, 2H, H³ddobpy); 9.03 (t, ³J = 5.2 Hz, 2H, NH); 8.26 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, H²ppy); 7.99– 7.91 (m, 8H, H⁶ppy, H³ppy, H⁶ddobpy, H⁵ddobpy); 7.65 (d, ³J = 5.6 Hz, 2H, H⁵ppy); 7.12 (t, ³J = 6.6 Hz, 2H, H⁴ppy); 7.02 (t, ³J = 7.2 Hz, 2H, H⁷ppy); 6.90 (t, ³J = 7.2 Hz, 2H, H⁸ppy); 6.16 (d, ³J = 7.2 Hz, 2H, H⁹ppy); 3.33 (m, 4H, NCH₂); 1.53 (quint, ³J = 7.1 Hz, 4H, CH₂); 1.21 (m, 36H, CH₂); 0.82 (t, ³J = 6.3 Hz, 6H, CH₃).

¹³C{¹H} NMR (DMSO-d₆, 100.6 MHz, 293 K, δ): 166.66 (s, C¹²ppy); 162.94 (s, CONH); 155.80 (s, C⁴ddobpy); 150.51 (s, C⁶ppy or C⁵ddbopy or C⁶ddobpy); 149.92 (s, C¹⁰ppy); 149.21 (s, C⁵ppy); 144.13 (s, C²ddobpy); 143.74 (s, C¹¹ppy); 138.92 (s, C³ppy); 131.01 (s, C⁹ppy); 130.33 (s, C⁸ppy); 126.66 (s, C⁶ppy or C⁵ddbopy or C⁶ddobpy); 125.12 (s, C⁶ppy or C⁵ddbopy or C⁶ddobpy); 123.97 (s, C⁴ppy); 122.70 (s, C³ddobpy); 122.50 (s, C⁷ppy); 120.10 (s, C²ppy); 31.97 – 26.62 (CH₂); 22.08 (s, CH₂CH₃); 13.93 (s, CH₃).

Synthesis of [Ir(ppy)₂(dhbpy)]PF₆ (10a-PF₆)

Complex (10a-PF₆) was synthesized following the same procedure carried out for the preparation of complex (6a-PF₆). 0.10 g (0.14 mmol) of [Ir(ppy)₂(CH₃CN)₂]PF₆ and 0.10 g (0.14 mmol) of dhbpy were employed. The resulted orange mixture was refluxed for 24 hours to finally obtain an orange solid. (0.15 g, 81%).



Elemental analysis: (%): Anal. Calc. for C₆₆H₉₀F₆IrN₆O₂P: C, 59.31; H, 6.79; N, 6.29. Best analyses found: C, 54.48; H, 5.70; N, 7.47.

ESI(+): *m/z* (%) 1192 [M]⁺ (100%)

IR (cm⁻¹): ν (N-H) 3415(m); ν (C-H) 3318 (m), 3046 (m), 2927 (m), 2849 (m); ν (C=O) 1669 (s); ν (C-H ring) 1606 (vs), 1538 (s), 1475 (s), 1475 (s); 1432 (m); 1416 (w); ν (P-F) 836 (s), δ (C-H) 749, ν (Ir-N) 560.

¹H NMR (DMSO-d₆, 400.1 MHz, 293 K, δ): 9.18 (s, 2H, H³dhbpy); 9.04 (t, ³J = 5.4 Hz, 2H, NH); 8.26 (d, ³J = 8.1 Hz, 2H, H² ppy); 8.00– 7.91 (m, 8H, H⁶ppy, H³ppy, H⁶dhbpy, H⁵dhbpy); 7.66 (d, ³J = 5.6 Hz, 2H, H⁵ppy); 7.12 (t, ³J = 6.5 Hz, 2H, H⁴ppy); 7.03 (t, ³J = 7.3 Hz, 2H, H⁷ppy); 6.91 (t, ³J = 7.3 Hz, 2H, H⁸ppy); 6.16 (d, ³J = 7.3 Hz, 2H, H⁹ppy); 3.33 (m, 4H, NCH₂); 1.53 (quint, ³J = 7.1 Hz, 4H, CH₂); 1.21 (m, 52H, CH₂), 0.83 (t, ³J = 6.5 Hz, 6H, CH₃).

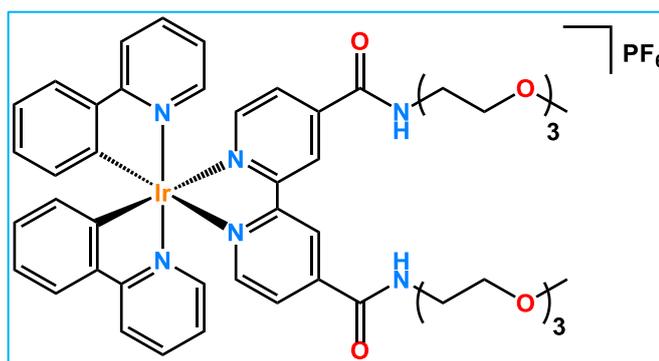
¹³C{¹H} NMR (DMSO-d₆, 100.6 MHz, 293 K, δ): 166.65 (s, C¹²ppy); 162.90 (s, CONH); 155.77 (s, C⁴dhbpy); 150.48 (s, C⁶ppy or C⁵dhbpy or C⁶dhbpy); 149.87 (s, C¹⁰ppy); 149.16 (s, C⁵ppy); 144.12 (s, C²dhbpy); 143.71 (C¹¹ppy); 138.88 (s, C³ppy); 130.98 (s, C⁹ppy); 130.30 (s, C⁸ppy); 126.61 (s, C⁶ppy or C⁵dhbpy or C⁶dhbpy); 125.08 (s, C⁶ppy or C⁵dhbpy or C⁶dhbpy); 123.92 (s, C⁴ppy); 122.67 (s, C³dhbpy); 122.47 (s, C⁷ppy); 120.07 (s, C²ppy); 31.25 (CH₂NH); 29.89 – 22.04 (CH₂); 13.89 (s, CH₃).

¹⁹F{¹H} NMR (376.5 MHz, DMSO, δ): -70.17 (d, J_{P-F} = 714.0 Hz).

³¹P{¹H} NMR (162.1 MHz, DMSO, δ): -144.2 (sp, J_{P-F} = 711.1 Hz, PF₆).

Synthesis of [Ir(ppy)₂(dPEGbpy)]PF₆ (11a-PF₆)

Complex (11a-PF₆) was synthesized following the same procedure carried out for the preparation of complex (6a-PF₆). 0.15 g (0.21 mmol) of [Ir(ppy)₂(CH₃CN)₂]PF₆ and 0.11 g (0.21 mmol) of dPEGbpy



were employed. The resulted orange mixture was refluxed for 24 hours to finally obtain an orange solid. (0.21 g, 87.8%).

ESI(+): *m/z* (%) 1035 [M]⁺ (100%)

IR (cm⁻¹): ν (N-H) 3415(m); ν (C-H) 3318 (m), 3047 (m), 2927 (m), 2849 (m); ν (C=O) 1664 (s); ν (C-H ring) 1607 (vs), 1582 (s), 1535 (s), 1475 (s); 1437 (m); 1420 (w); ν (P-F) 836 (s), δ (C-H) 751, ν (Ir-N) 558.

¹H NMR (DMSO-d₆, 400.1 MHz, 293 K, δ) 9.18 (s, 2H, H³dPEGbpy); 9.14 (t, 2H, NH); 8.19 (d, ³J = 7.1 Hz, 2H, H²ppy); 7.92– 7.84 (m, 8H, H⁶ppy, H³ppy, H⁶dPEGbpy, H⁵dPEGbpy); 7.60 (d, 2H, H⁵ppy); 7.05 (t, 2H, H⁴ppy); 6.96 (t, 2H, H⁷ppy); 6.84 (t, 2H, H⁸ppy); 6.10 (d, ³J = 5.7 Hz, 2H, H⁹ppy); 3.08 – 3.02 (m, 24H, OCH₂); 1.17 (t, ³J = 6.7, 6H, CH₃).

¹³C{¹H} NMR (DMSO-d₆, 100.6 MHz, 293 K, δ) 166.69 (s, C¹²ppy); 163.19 (s, CONH); 155.92 (s, C⁴dPEGbpy); 150.60 (s, C⁶ppy or C⁵dPEGbpy or C⁶dPEGbpy); 149.94 (s, C¹⁰ppy); 149.30 (s, C⁵ppy); 143.84 (s, C²dPEGbpy); 143.81 (s, C¹¹ppy); 138.99 (s, C³ppy); 131.08 (s, C⁹ppy); 130.40 (s, C⁸ppy); 126.73 (s, C⁶ppy or C⁵dPEGbpy or C⁶dPEGbpy); 125.18 (s, C⁶ppy or C⁵dPEGbpy or C⁶dPEGbpy); 124.05 (s, C⁴ppy); 122.59 (s, C³dPEGbpy); 122.36 (s, C⁷ppy); 120.14 (s, C²ppy); 71.30 (OCH₂); 69.74 (OCH₂); 69.60 (OCH₂); 68.73(OCH₂); 58.07 (OCH₂); 45.77 (OCH₂); 8.68 (s, CH₃).

Bibliografía



Bibliografía

1. (a) K. P. S. Zanoni, R. L. Coppo, R. C. Amaral and N. Y. M. Iha, *Dalton Trans.*, 2015, **44**, 14559; (b) S. Lee and W.-S. Han, *Inorg. Chem. Front.*, 2020, **7**, 2396; (c) T. Fleetham, G. Li and J. Li, *Adv. Mater.*, 2017, **29**, 1601861; (d) P. T. Chou and Y. Chi, *Chem. Eur. J.*, 2007, **13**, 380.
2. (a) U. Dhawa, N. Kaplaneris and L. J. O. C. F. Ackermann, *Org. Chem. Front.*, 2021, **8**, 4886; (b) N. Mohd Adli, W. Shan, S. Hwang, W. Samarakoon, S. Karakalos, Y. Li, D. A. Cullen, D. Su, Z. Feng and G. Wang, *Angew. Chem.*, 2021, **133**, 1035.
3. (a) N. Kajal, V. Singh, R. Gupta and S. Gautam, *Environ.*, 2022, **204**, 112320; (b) Q. Zhao, F. Li and C. J. C. S. R. Huang, *Chem. Soc. Rev.*, 2010, **39**, 3007.
4. H. Sun, D. Li, X. Yue, R. Hong, W. Yang, C. Liu, H. Xu, J. Lu, L. Dong and G. Wang, *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 2022, **10**.
5. G.-X. Xu, E. C.-L. Mak and K. K.-W. J. I. C. F. Lo, *Inorg. Chem. Front.*, 2021, **8**, 4553.
6. (a) S. J. B. c. Ghosh, *bioorg. Chem.*, 2019, **88**, 102925; (b) Y. Lin, H. Betts, S. Keller, K. Cariou and G. J. C. S. R. Gasser, *Chem. Soc. Rev.*, 2021, **50**, 10346.
7. (a) T. Mede, M. Jäger and U. S. J. C. S. R. Schubert, *chem. Soc. Rev.*, 2018, **47**, 7577; (b) W. Xiang, S. Liu and W. Tress, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2021, **60**, 26440.
8. R. Crichton, in *Biological Inorganic Chemistry*, ed. R. Crichton, Academic Press, 2019, pp. 1.
9. (a) X. S. Chen, *Theranostics*, 2011, **1**, 1; (b) K. Li, G. S. Ming Tong, Q. Wan, G. Cheng, W. Y. Tong, W. H. Ang, W. L. Kwong and C. M. Che, *Chem. Sci.*, 2016, **7**, 1653; (c) X. Wang, X. Wang and Z. Guo, *Acc. Chem. Res.*, 2015, **48**, 2622; (d) C. Caporale and M. Massi, *Coord. Chem. Rev.*, 2018, **363**, 71; (e) N. Lu, Y. Luo, Q. Zhang and P. Zhang, *Dalton Trans.*, 2020, **49**, 9182.
10. (a) P. Ehrlich and A. Berthelm, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 1912, **45**, 756; (b) N. C. Lloyd, H. W. Morgan, B. K. Nicholson and R. S. Ronimus, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2005, **44**, 941.
11. M. L. HEALY, K. K. T. LIM and R. TRAVERS, *Int. J. Rheumatic Disease*, 2009, **12**, 145.
12. R. Crichton, in *Biological Inorganic Chemistry*, ed. R. Crichton, Academic Press, 2019, pp. 599.
13. R. Lengacher, A. Marlin, D. Śmiłowicz and E. Boros, *Chem. Soc. Rev.*, 2022, **51**, 7715.
14. (a) V. Del Solar and M. Contel, *J. Inorg. Biochem.*, 2019, **199**, 110780; (b) J. Karges, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2022, **61**, e202112236; (c) I. Amarsy, S. Papot and G. Gasser, *Angewandte Chemie*, 2022, **134**, e202205900.
15. R. R. Crichton, *Elsevier*, 2019.
16. (a) P.-Y. Ho, C.-L. Ho and W.-Y. J. C. C. R. Wong, *Coord. Chem. Rev.*, 2020, **413**, 213267; (b) B. Bertrand, K. Passador, C. Goze, F. Denat, E. Bodio and M. Salmain, *Coord. Chem. Rev.*, 2018, **358**, 108; (c) J. Li and T. Chen, *Coord. Chem. Rev.*, 2020, **418**, 213355; (d) C.-P. Tan, Y.-M. Zhong, L.-N. Ji and Z.-W. Mao, *Chem. Sci.*, 2021, **12**, 2357; (e) X. Wang, X. Wang and Z. Guo, *Coord. Chem. Rev.*, 2018, **362**, 72.
17. (a) S. A. Mazari, N. Hossain, W. J. Basirun, N. M. Mubarak, R. Abro, N. Sabzoi and A. Shah, *Process Saf. Environ. Prot.*, 2021, **149**, 67; (b) D. M. Alonso, S. G. Wettstein and J. A. Dumesic, *Chem. Soc. Rev.*, 2012, **41**; (c) M. Bellini, M.

- Bevilacqua, A. Marchionni, H. A. Miller, J. Filippi, H. Grützmacher and F. Vizza, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2018, **2018**, 4393.
18. (a) E. V. Puttock, M. T. Walden and J. G. J. C. C. R. Williams, *Coord. Chem. Rev.*, 2018, **367**, 127; (b) A. F. Rausch, H. H. Homeier and H. J. P. o. O. Yersin, 2010, 193.
 19. (a) B. Valeur and M. N. Berberan-Santos, *Molecular fluorescence: principles and applications*, John Wiley & Sons, 2012; (b) L. Bischoff, C. Baudequin, C. Hoarau and E. P. Urriolabeitia, in *Adv. Organomet. Chem*, Elsevier, 2018, vol. 69, pp. 73.
 20. A. D. McNaught and A. Wilkinson, *Compendium of chemical terminology*, Blackwell Science Oxford, 1997.
 21. C. Albrecht, *Journal*, 2008.
 22. (a) H. Xiang, J. Cheng, X. Ma, X. Zhou and J. J. Chruma, *Chem Soc Rev*, 2013, **42**, 6128; (b) L. Murphy and J. Williams, *Top Organomet. Chem.*, 2010, 75.
 23. (a) M.-C. Tang, A. K.-W. Chan, M.-Y. Chan and V. W.-W. Yam, in *Photoluminescent Materials and Electroluminescent Devices*, eds. N. Armaroli and H. J. Bolink, Springer International Publishing, Cham, 2017, DOI: 10.1007/978-3-319-59304-3_3, pp. 67; (b) H. Yersin, A. F. Rausch, R. Czerwieniec, T. Hofbeck and T. Fischer, *Coord. Chem. Rev.*, 2011, **255**, 2622.
 24. L. M. Cavinato, G. Millán, J. Fernández-Cestau, E. Fresta, E. Lalinde, J. R. Berenguer and R. D. Costa, *Adv. Funct. Mater.*, 2022, **32**, 2201975.
 25. (a) J. Ma, Y. Li, J. Li, X. Yang, Y. Ren, A. A. Alghamdi, G. Song, K. Yuan and Y. Deng, *Adv. Funct. Mater.*, 2022, **32**, 2107439; (b) H. Yuan, N. Li, W. Fan, H. Cai and D. Zhao, *Adv. Sci.*, 2022, **9**, 2104374.
 26. (a) M. D. Pandey, *Mat. Lett.*, 2022, **308**, 131230; (b) H. Zhao and M. L. Zastrow, *Biochem.*, 2022, **61**, 494.
 27. (a) Y. Ning, G.-Q. Jin, M.-X. Wang, S. Gao and J.-L. Zhang, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2022, **66**, 102097; (b) D.-Y. Fu, X. Liu, X. Zheng, M. Zhou, W. Wang, G. Su, T. Liu, L. Wang and Z. Xie, *Coord. Chem. Rev.*, 2022, **456**, 214393.
 28. S. Fraga, J. Karwowski and K. Saxena, 1976.
 29. (a) C. Cebrián and M. Mauro, *Beilstein J. Org. Chem.*, 2018, **14**, 1459; (b) K. Li, G. S. M. Tong, Q. Wan, G. Cheng, W.-Y. Tong, W.-H. Ang, W.-L. Kwong and C.-M. Che, *Chem. Sci.*, 2016, **7**, 1653; (c) Z. Feng, Y. Sun, X. Yang and G. Zhou, *Chem. Rec.*, 2019, **19**, 1710; (d) J. Williams, *Top. Curr. Chem.*, 2007, **281**, 205; (e) A. Jacko, R. H. McKenzie and B. Powell, *J. Mater. Chem.*, 2010, **20**, 10301; (f) S. Fuertes, L. Mardegan, I. Martínez, S. Ventura, I. Ara, D. Tordera, H. J. Bolink and V. Sicilia, *J. Mater. Chem. C*, 2022, **10**, 15491; (g) P. Pander, A. Sil, R. J. Salthouse, C. W. Harris, M. T. Walden, D. S. Yufit, J. A. G. Williams and F. B. Dias, *J. Mater. Chem. C*, 2022, **10**, 15084.
 30. V. W.-W. Yam and A. S.-Y. Law, *Coord. Chem. Rev.*, 2020, **414**, 213298.
 31. J. Kalinowski, V. Fattori, M. Cocchi and J. G. Williams, *Coord. Chem. Rev.*, 2011, **255**, 2401.
 32. M. L. Saha, X. Yan and P. J. Stang, *Acc. Chem. Res.*, 2016, **49**, 2527.
 33. (a) K. Li, G. S. Ming Tong, Q. Wan, G. Cheng, W.-Y. Tong, W.-H. Ang, W.-L. Kwong and C.-M. Che, *Chem. Sci.*, 2016, **7**, 1653; (b) M. H.-Y. Chan and V. W.-W. Yam, *J. Am. Chem. Soc.*, 2022, **144**, 22805; (c) S. Horiuchi and K. Umakoshi, *Coord. Chem. Rev.*, 2023, **476**, 214924; (d) S. Pullen and G. H. Clever, *Acc. Chem. Res.*, 2018, **51**, 3052; (e) M. Yoshida and M. Kato, *Coord. Chem. Rev.*, 2018, **355**, 101; (f)

- M. Sadeghian, M. G. Haghghi, E. Lalinde and M. T. Moreno, *Coord. Chem. Rev.*, 2022, **452**, 214310.
34. J. Ni, G. Liu, M. Su, W. Zheng and J. Zhang, *Dyes and Pigments*, 2020, **180**, 108451.
 35. (a) D. K. C. Tears and D. R. McMillin, *Coord. Chem. Rev.*, 2001, **211**, 195; (b) M. D. Perez, P. I. Djurovich, A. Hassan, G. Y. Cheng, T. J. Stewart, K. Aznavour, R. Bau and M. E. Thompson, *Chem. Com.*, 2009, 4215; (c) W. Z. Yuan, P. Lu, S. Chen, J. W. Lam, Z. Wang, Y. Liu, H. S. Kwok, Y. Ma and B. Z. Tang, *Adv. Mater.*, 2010, **22**, 2159.
 36. X. Ma, R. Sun, J. Cheng, J. Liu, F. Gou, H. Xiang and X. Zhou, *J. Chem. Educ.*, 2016, **93**, 345.
 37. S. Huo, J. Carroll and D. A. K. Vezzu, *Asian J. Org. Chem.*, 2015, **4**, 1210.
 38. I. Omae, *Cyclometalation Reactions: Five-Membered Ring Products as Universal Reagents*, Springer Tokyo, 1 edn.
 39. H. Onoue, K. Minami and K. Nakagawa, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1970, **43**, 3480.
 40. D. Sandrini, M. Maestri, V. Balzani, L. Chassot and A. Von Zelewsky, *A. J. Chem. Soc.*, 1987, **109**, 7720.
 41. M. Cocchi, J. Kalinowski, V. Fattori, J. G. Williams and L. Murphy, *Appl. Phys. Lett.*, 2009, **94**, 55.
 42. V. Adamovich, J. Brooks, A. Tamayo, A. M. Alexander, P. I. Djurovich, B. W. D'Andrade, C. Adachi, S. R. Forrest and M. E. Thompson, *New J. Chem.*, 2002, **26**, 1171.
 43. S. Lamansky, R. C. Kwong, M. Nugent, P. I. Djurovich and M. E. Thompson, *Org. Electron.*, 2001, **2**, 53.
 44. M. Cocchi, D. Virgili, C. Sabatini, V. Fattori, P. Di Marco, M. Maestri and J. Kalinowski, *Synt. met.*, 2004, **147**, 253.
 45. (a) X. Yang, C. Yao and G. Zhou, *Platinum Metals Rev*, 2013, **57**, 2; (b) L. Gildea and J. Williams, in *Organic Light-Emitting Diodes (OLEDs)*, Elsevier, 2013, pp. 77.
 46. W. J. Choi, S. Choi, K. Ohkubo, S. Fukuzumi, E. J. Cho and Y. You, *Chem. Sci.*, 2015, **6**, 1454.
 47. (a) O. S. Wenger, *Chem. Rev.*, 2013, **113**, 3686; (b) M. Zhang, M. L. Saha, M. Wang, Z. Zhou, B. Song, C. Lu, X. Yan, X. Li, F. Huang and S. Yin, *J. Am. Chem. Soc*, 2017, **139**, 5067.
 48. F. L. Thorp-Greenwood, R. G. Balasingham and M. P. Coogan, *Organomet. Chem.*, 2012, **714**, 12.
 49. V. W. Yam and K. M. Wong, *Chem. Commun.*, 2011, **47**, 11579.
 50. X. Zhang, Y. Hou, X. Xiao, X. Chen, M. Hu, X. Geng, Z. Wang and J. Zhao, *Coord. Chem. Rev.*, 2020, **417**, 213371.
 51. (a) B. Pashaei, S. Karimi, H. Shahroosvand, P. Abbasi, M. Pilkington, A. Bartolotta, E. Fresta, J. Fernandez-Cestau, R. D. Costa and F. Bonaccorso, *Chem. Soc. Rev.*, 2019, **48**, 5033; (b) M. L. Buil, M. A. Esteruelas and A. M. López, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2021, **2021**, 4731.
 52. A. R. Smith, P. L. Burn and B. J. Powell, *ChemPhysChem*, 2011, **12**, 2429.
 53. (a) E. J. A. C. Antolini, *Acs Catalysis*, 2014, **4**, 1426; (b) J. M. Ketcham, I. Shin, T. P. Montgomery and M. J. J. A. C. I. E. Krische, *Angew. Chem., Int. Ed*, 2014, **53**, 9142; (c) K. Teegardin, J. I. Day, J. Chan and J. Weaver, *Org. Process. Res. Dev.*, 2016, **20**, 1156.
 54. Y. You, S. Cho and W. Nam, *Inorg. Chem.*, 2014, **53**, 1804.

55. Y.-J. Yuan, J.-Y. Zhang, Z.-T. Yu, J.-Y. Feng, W.-J. Luo, J.-H. Ye and Z.-G. Zou, *Inorg. chem.*, 2012, **51**, 4123.
56. C. Adachi, M. A. Baldo, S. R. Forrest, S. Lamansky, M. E. Thompson and R. C. Kwong, *Appl. Phys. Lett.*, 2001, **78**, 1622.
57. (a) B. S. McGhie and J. R. Aldrich-Wright, *Biomedicines*, 2022, **10**, 578; (b) H. Huang, S. Banerjee and P. J. Sadler, *ChemBioChem*, 2018, **19**, 1574; (c) R. Guan, L. Xie, L. Ji and H. Chao, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2020, **2020**, 3978.
58. D. Jacquemin and D. Escudero, *Chem. Sci.*, 2017, **8**, 7844.
59. M. Nonoyama, *Bullet. Chem. Soc. Jpn*, 1974, **47**, 767.
60. (a) S. Lamansky, P. Djurovich, D. Murphy, F. Abdel-Razzaq, R. Kwong, I. Tsyba, M. Bortz, B. Mui, R. Bau and M. E. Thompson, *Inorg. Chem.*, 2001, **40**, 1704; (b) F. Monti, A. Baschieri, L. Sambri and N. Armaroli, *Acc. Chem. Res.*, 2021, **54**, 1492.
61. C. Sahin, A. Goren, S. Demir and M. S. Cavus, *New. J. Chem.*, 2018, **42**, 2979.
62. S. Lamansky, P. Djurovich, D. Murphy, F. Abdel-Razzaq, H.-E. Lee, C. Adachi, P. E. Burrows, S. R. Forrest and M. E. Thompson, *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 4304.
63. M. K. Nazeeruddin, R. Humphry-Baker, D. Berner, S. Rivier, L. Zuppiroli and M. Graetzel, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 8790.
64. Y. You and S. Y. Park, *Dalton Trans.*, 2009, DOI: 10.1039/b812281d, 1267.
65. K. King, P. Spellane and R. J. Watts, *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, **107**, 1431.
66. (a) M. G. Colombo and H. U. J. I. C. Guedel, *Inorg. Chem.*, 1993, **32**, 3081; (b) M. G. Colombo, A. Hauser and H. U. J. I. C. Guedel, *Inorg. chem.*, 1993, **32**, 3088.
67. E. Jansson, B. Minaev, S. Schrader and H. Ågren, *Chem. phys.*, 2007, **333**, 157.
68. T. Hofbeck and H. Yersin, *Inorg. Chem.*, 2010, **49**, 9290.
69. A. F. Henwood and E. Zysman-Colman, *Chem. Com.*, 2017, **53**, 807.
70. D. Tordera, J. J. Serrano-Perez, A. Pertegas, E. Ortí, H. J. Bolink, E. Baranoff, M. K. Nazeeruddin and J. Frey, *Chemistry of Materials*, 2013, **25**, 3391.
71. N. M. Shavaleev, R. Scopelliti, M. Grätzel, M. K. Nazeeruddin, A. Pertegás, C. Roldán-Carmona, D. Tordera and H. J. Bolink, *J. Mater. Chem.*, 2013, **1**, 2241.
72. C. D. Ertl, J. Cerdá, J. M. Junquera-Hernández, A. Pertegás, H. J. Bolink, E. C. Constable, M. Neuburger, E. Ortí and C. E. Housecroft, *RSC Adv.*, 2015, **5**, 42815.
73. H. J. Bolink, L. Cappelli, E. Coronado, A. Parham and P. Stössel, *Chem. mat.*, 2006, **18**, 2778.
74. X. Yang, X. Xu and G. Zhou, *J. Mater. Chem.*, 2015, **3**, 913.
75. (a) N. M. Shavaleev, G. Xie, S. Varghese, D. B. Cordes, A. M. Slawin, C. Momblona, E. Ortí, H. J. Bolink, I. D. Samuel and E. Zysman-Colman, *Inorg. Chem.*, 2015, **54**, 5907; (b) P. R. Savoie and J. T. Welch, *Chem. Rev.*, 2015, **115**, 1130; (c) N. M. Shavaleev, G. Xie, S. Varghese, D. B. Cordes, A. M. Z. Slawin, C. Momblona, E. Ortí, H. J. Bolink, I. D. W. Samuel and E. Zysman-Colman, *Inorg. Chem.*, 2015, **54**, 5907.
76. B. J. Coe, M. Helliwell, S. Sánchez, M. K. Peers and N. S. Scrutton, *Dalton Trans.*, 2015, **44**, 15420.
77. J. Frey, B. F. Curchod, R. Scopelliti, I. Tavernelli, U. Rothlisberger, M. K. Nazeeruddin and E. Baranoff, *Dalton Trans.*, 2014, **43**, 5667.
78. Y. Kang, Y.-L. Chang, J.-S. Lu, S.-B. Ko, Y. Rao, M. Varlan, Z.-H. Lu and S. Wang, *J. Mater. Chem.*, 2013, **1**, 441.

79. T. Duan, T.-K. Chang, Y. Chi, J.-Y. Wang, Z.-N. Chen, W.-Y. Hung, C.-H. Chen and G.-H. Lee, *Dalton Trans.*, 2015, **44**, 14613.
80. K. Dedeian, P. Djurovich, F. Garces, G. Carlson and R. J. I. C. Watts, *Inorg. Chem.*, 1991, **30**, 1685.
81. P. Pla, J. M. Junquera-Hernández, H. J. Bolink and E. Ortí, *Dalton Trans.*, 2015, **44**, 8497.
82. H. J. Bolink, E. Coronado, R. D. Costa, N. Lardiés and E. Ortí, *Inorg. Chem.*, 2008, **47**, 9149.
83. (a) S. Ladouceur, K. N. Swanick, S. Gallagher-Duval, Z. Ding and E. Zysman-Colman, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2013, **2013**, 5329; (b) M. Mydlak, C. Bizzarri, D. Hartmann, W. Sarfert, G. Schmid and L. De Cola, *Adv. Funct. Mater.*, 2010, **20**, 1812; (c) L. He, L. Duan, J. Qiao, R. Wang, P. Wei, L. Wang and Y. Qiu, *Adv. Funct. Mater.*, 2008, **18**, 2123.
84. K. P. Zanoni, B. K. Kariyazaki, A. Ito, M. K. Brennaman, T. J. Meyer and N. Y. Murakami Iha, *Inorg. Chem.*, 2014, **53**, 4089.
85. C. B. J. W. j. o. c. o. Blackadar, *J. Clin. Oncol.*, 2016, **7**, 54.
86. Z. Y. Li, Q. H. Shen, Z. W. Mao and C. P. Tan, *Chem. Asian. J.*, 2022, e202200270.
87. A. B. D. Troy, J Current drug discovery technologies, *Curr. drug discov. technol.*, 2015, **12**, 3.
88. P. Agostinis, K. Berg, K. A. Cengel, T. H. Foster, A. W. Girotti, S. O. Gollnick, S. M. Hahn, M. R. Hamblin, A. Juzeniene and D. J. C. a. c. j. f. c. Kessel, *CA: a cancer journal for clinicians*, 2011, **61**, 250.
89. A. Eastman, *J Oncotarget*, 2017, **8**, 8854.
90. M. J. J. L. A. d. C. Peyrone, *J Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 1844, **51**, 1.
91. N. P. Barry, P. J. Sadler and A. Chemistry, *J. Pure App. Chem.*, 2014, **86**, 1897.
92. B. Rosenberg, L. Van Camp and T. J. N. Krigas, *J Nature*, 1965, **205**, 698.
93. T. C. Johnstone, K. Suntharalingam and S. J. Lippard, *Chem. Rev.*, 2016, **116**, 3436.
94. M. Petrović and D. Todorović, *Facta Universitatis, Series: Medicine Biology* 2016, **18**.
95. C. A. Rabik and M. E. J. C. t. r. Dolan, *Cancer treatment reviews*, 2007, **33**, 9.
96. A. I. Ivanov, J. Christodoulou, J. A. Parkinson, K. J. Barnham, A. Tucker, J. Woodrow and P. J. J. J. o. B. C. Sadler, *J. Bio. Chem.*, 1998, **273**, 14721.
97. R. Safaei, *Cancer Lett*, 2006, **234**, 34.
98. S. Rottenberg, C. Disler and P. Perego, *Nat. Rev. Cancer*, 2021, **21**, 37.
99. N. J. Wheate, S. Walker, G. E. Craig and R. Oun, *Dalton Trans.*, 2010, **39**, 8113.
100. S. Dilruba and G. V. Kalayda, *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 2016, **77**, 1103.
101. P. M. Takahara, A. C. Rosenzweig, C. A. Frederick and S. J. Lippard, *Nature*, 1995, **377**, 649.
102. (a) A. Khoury, K. M. Deo and J. R. J. J. o. I. B. Aldrich-Wright, *J. Inorg. Biochem.*, 2020, **207**, 111070; (b) P. M. Bruno, Y. Liu, G. Y. Park, J. Murai, C. E. Koch, T. J. Eisen, J. R. Pritchard, Y. Pommier, S. J. Lippard and M. T. Hemann, *Nature med.*, 2017, **23**, 461.
103. (a) L. Ma, L. Li and G. Zhu, *Inorg. Chem. Front.*, 2022, **9**, 2424; (b) Y. Zou, B. Van Houten and N. Farrell, *Biochem.*, 1994, **33**, 5404; (c) Y. Qu, A. Harris, A. Hegmans, A. Petz, P. Kabolizadeh, H. Penazova and N. Farrell, *J. Inorg. Biochem*, 2004, **98**,

- 1591; (d) J. Malina, N. P. Farrell and V. Brabec, *Angew. Chem.*, 2014, **126**, 13026; (e) S. Komeda, T. Moulaei, K. K. Woods, M. Chikuma, N. P. Farrell and L. D. Williams, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 16092.
104. E. I. Montero, S. Díaz, A. M. González-Vadillo, J. M. Pérez, C. Alonso and C. Navarro-Ranninger, *J. Mat. Chem.*, 1999, **42**, 4264.
105. T. C. Johnstone, G. Y. Park and S. J. Lippard, *Anticancer res.*, 2014, **34**, 471.
106. (a) A. Kozubík, V. Horváth, L. Švihálková-Šindlerová, K. Souček, J. Hofmanová, P. Sova, A. Kroutil, F. Žák, A. Mistr and J. Turánek, *Biochem. pharmacol.*, 2005, **69**, 373; (b) L. R. Kelland, G. Abel, M. J. McKeage, M. Jones, P. M. Goddard, M. Valenti, B. A. Murrer and K. R. Harrap, *Cancer Res.*, 1993, **53**, 2581.
107. (a) J. Holford, F. Raynaud, B. Murrer, K. Grimaldi, J. Hartley, M. Abrams and L. Kelland, *Anti-cancer drug des*, 1998, **13**, 1; (b) L. Kelland, *Nat. Rev. Cancer*, 2007, **7**, 573.
108. P. Saha, C. Descôteaux, K. Brasseur, S. Fortin, V. Leblanc, S. Parent, É. Asselin and G. Bérubé, *Eur. J. Med. Chem.*, 2012, **48**, 385.
109. T. Storr, K. H. Thompson and C. Orvig, *Chem. Soc. Rev.*, 2006, **35**, 534.
110. C. G. Hartinger, A. A. Nazarov, S. M. Ashraf, P. J. Dyson and B. K. Keppler, *Curr. Med. Chem.*, 2008, **15**, 2574.
111. H. Li, X. Gao, R. Liu, Y. Wang, M. Zhang, Z. Fu, Y. Mi, Y. Wang, Z. Yao and Q. Gao, *Eur. J. Med. Chem.*, 2015, **101**, 400.
112. V. Stresing, F. Daubiné, I. Benzaid, H. Mönkkönen and P. Clézardin, *Cancer lett.*, 2007, **257**, 16.
113. N. Margiotta, R. Ostuni, V. Gandin, C. Marzano, S. Piccinonna and G. Natile, *Dalton Trans.*, 2009, 10904.
114. S. P. Wisnovsky, J. J. Wilson, R. J. Radford, M. P. Pereira, M. R. Chan, R. R. Laposa, S. J. Lippard and S. O. Kelley, *Chemistry & biology*, 2013, **20**, 1323.
115. S. Mukhopadhyay, C. M. Barnés, A. Haskel, S. M. Short, K. R. Barnes and S. J. Lippard, *Bioconjugate chem.*, 2008, **19**, 39.
116. (a) L. Battistini, K. Bugatti, A. Sartori, C. Curti and F. Zanardi, *Eur. J. Org. Chem.*, 2021, **2021**, 2506; (b) N. Graf, T. E. Mokhtari, I. A. Papayannopoulos and S. J. Lippard, *J. Inorg. Biochem.*, 2012, **110**, 58.
117. Y. Li, B. Liu, H. Shi, Y. Wang, Q. Sun and Q. Zhang, *Dalton Trans*, 2021, **50**, 14498.
118. F. Heinemann, J. Karges and G. Gasser, *Acc. Chem. Res.*, 2017, **50**, 2727.
119. C. N. Lee, R. Hsu, H. Chen and T. W. Wong, *Molecules*, 2020, **25**.
120. X. Li, S. Lee and J. Yoon, *Chem. Soc. Rev.*, 2018, **47**, 1174.
121. O. Raab, *Z Biol*, 1900, **39**, 524.
122. H. Von Tappeiner and A. Jodlbauer, *Deutsch Arch Klin Medizin*, 1904, **39**, 427.
123. D. Kessel, *J. Clin. Med.*, 2019, **8**, 1581.
124. J. H. Correia, J. A. Rodrigues, S. Pimenta, T. Dong and Z. Yang, *Pharmaceutics*, 2021, **13**.
125. D. Kessel and N. L. Oleinick, in *Photodynamic Therapy*, Springer, 2010, pp. 35.
126. M. Ethirajan, Y. Chen, P. Joshi and R. K. Pandey, *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40**, 340.
127. C. Schweitzer and R. Schmidt, *Chem. Rev.*, 2003, **103**, 1685.
128. R. R. Allison and C. H. Sibata, *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 2010, **7**, 61.
129. A. B. Ormond and H. S. Freeman, *Materials*, 2013, **6**, 817.
130. I. Yoon, J. Z. Li and Y. K. Shim, *Clin Endosc*, 2013, **46**, 7.
131. M. D. Savellano and T. Hasan, *Photochemistry and photobiology*, 2003, **77**, 431.

132. H. Kataoka, H. Nishie, N. Hayashi, M. Tanaka, A. Nomoto, S. Yano and T. Joh, *Ann Transl Med*, 2017, **5**, 183.
133. L. B. Josefsen and R. W. Boyle, *Br J Pharmacol*, 2008, **154**, 1.
134. J. R. Berenguer, J. G. Pichel, N. Giménez, E. Lalinde, M. T. Moreno and S. Piñeiro-Hermida, *Dalton Trans.*, 2015, **44**, 18839.
135. (a) H. B. Gray, S. Zális and A. Vlček, *Coordination Chemistry Reviews*, 2017, **345**, 297; (b) J. G. Williams, S. Develay, D. L. Rochester and L. Murphy, *Coord. Chem. Rev.*, 2008, **252**, 2596; (c) Á. Díez, E. Lalinde and M. T. Moreno, *Coord. Chem. Rev.*, 2011, **255**, 2426.
136. J.-Y. Cho, K. Y. Suponitsky, J. Li, T. V. Timofeeva, S. Barlow and S. R. Marder, *J. Organomet. Chem.*, 2005, **690**, 4090.
137. Á. Vivancos, D. Poveda, A. Muñoz, J. Moreno, D. Bautista and P. González-Herrero, *Dalton Trans.*, 2019, **48**, 14367.
138. (a) J. Brooks, Y. Babayan, S. Lamansky, P. I. Djurovich, I. Tsyba, R. Bau and M. E. Thompson, *Inorg. Chem.*, 2002, **41**, 3055; (b) A. Colombo, C. Dragonetti, D. Marinotto, S. Righetto, D. Roberto, S. Tavazzi, M. Escadeillas, V. r. Guerchais, H. Le Bozec and A. Boucekkine, *Organometallics*, 2013, **32**, 3890.
139. K. P. Balashev, M. V. Puzyk, V. S. Kotlyar and M. V. Kulikova, *Coord. Chem. Rev.*, 1997, **159**, 109.
140. D. G. de Segura, R. Lara, M. Martínez-Junquera, E. Lalinde and M. T. Moreno, *Dalton Trans.*, 2022, **51**, 274.
141. A. Esmailbeig, H. Samouei, S. Abedanzadeh and Z. Amirghofran, *J. Organomet. Chem.*, 2011, **696**, 3135.
142. H. R. Shahsavari, R. Babadi Aghakhanpour, M. Nikraves, J. Ozdemir, M. Golbon Haghighi, B. Notash and H. Beyzavi, *Organometallics*, 2018, **37**, 2890.
143. B. Rosenberg, L. Vancamp, J. E. Trosko and V. H. Mansour, *Nature*, 1969, **222**, 385.
144. (a) G. Gasser, I. Ott and N. Metzler-Nolte, *J. Med. Chem.*, 2011, **54**, 3; (b) R. H. Fish, *J. Organomet. Chem.*, 2015, **782**, 3; (c) M. Hanif and C. G. Hartinger, in *Advances in Inorganic Chemistry*, Elsevier, 2020, vol. 75, pp. 339; (d) Y. C. Ong and G. Gasser, *Drug Discov. Today Technol.*, 2020, **37**, 117; (e) A. L. Noffke, A. Habtemariam, A. M. Pizarro and P. J. Sadler, *Chem. Commun.*, 2012, **48**, 5219.
145. (a) C. Cullinane, G. B. Deacon, P. R. Drago, A. P. Erven, P. C. Junk, J. Luu, G. Meyer, S. Schmitz, I. Ott, J. Schur, L. K. Webster and A. Klein, *Dalton Trans.*, 2018, **47**, 1918; (b) N. Cutillas, G. S. Yellol, C. de Haro, C. Vicente, V. Rodríguez and J. Ruiz, *Coord. Chem. Rev.*, 2013, **257**, 2784; (c) A. Zamora, S. A. Pérez, V. Rodríguez, C. Janiak, G. S. Yellol and J. Ruiz, *J. Med. Chem.*, 2015, **58**, 1320; (d) A. Zamora, S. A. Pérez, V. Rodríguez, C. Janiak, G. S. Yellol and J. Ruiz, *J. Med. Chem.*, 2015, **58**, 1320; (e) M. Fanelli, M. Formica, V. Fusi, L. Giorgi, M. Micheloni and P. Paoli, *Coord. Chem. Rev.*, 2016, **310**, 41; (f) V. Brabec, O. Hrabina and J. Kasparkova, *Coord. Chem. Rev.*, 2017, **351**, 2; (g) B. J. Pages, K. B. Garbutcheon-Singh and J. R. Aldrich-Wright, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2017, 1613; (h) W.-P. To, T. Zou, R. W.-Y. Sun and C.-M. Che, *Philos. Trans. R. Soc. A*, 2013, **371**, 20120126; (i) X. Wang and Z. Guo, *Dalton Trans.*, 2008, DOI: 10.1039/B715903J, 1521; (j) J. D. White, M. M. Haley and V. J. DeRose, *Acc. Chem. Res.*, 2016, **49**, 56; (k) S. Medici, M. Peana, V. M. Nurchi, J. I. Lachowicz, G. Crisponi and M. A. Zoroddu, *Coord. Chem. Rev.*, 2015, **284**, 329; (l) J. J. Wilson and S. J. Lippard, *Chem. Rev.*, 2014, **114**, 4470; (m) I. Eryazici, C. N. Moorefield and G. R. Newkome, *Chem. Rev.*, 2008, **108**, 1834.

146. (a) M. Galanski, M. A. Jakupec and B. K. Keppler, *Curr. Med. Chem.*, 2005, **12**, 2075; (b) T. C. Johnstone, K. Suntharalingam and S. Lippard, *Chem. Rev.*, 2016, **116**, 3436.
147. (a) T. Boulikas, *Cancer Ther.*, 2007, **5**, 351; (b) M. Fuertes, J. Castilla, C. Alonso and J. M. Pérez, *Curr. Med. Chem.*, 2003, **10**, 257; (c) F. Muggia, *Gynecol. Oncol.*, 2009, **112**, 275.
148. (a) K. Cheung-Ong, K. T. Song, Z. Ma, D. Shabtai, A. Y. Lee, D. Gallo, L. E. Heisler, G. W. Brown, U. Bierbach, G. Giaever and C. Nislow, *ACS Chem. Biol.*, 2012, **7**, 1892; (b) M. Yang and U. Bierbach, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2017, **2017**, 1561; (c) K. Wang and E. Gao, *Anti-Cancer Agents Med. Chem.*, 2014, **14**, 147.
149. (a) W. Liu and R. Gust, *Chem. Soc. Rev.*, 2013, **42**, 755; (b) C. G. Hartinger and P. J. Dyson, *Chem. Soc. Rev.*, 2009, **38**, 391; (c) N. Chavain and C. Biot, *Curr. Med. Chem.*, 2010, **17**, 2729.
150. (a) I. Omae, *Coord. Chem. Rev.*, 2014, **280**, 84; (b) J. Sophie, E. K. Fritz and C. Angela, *Curr. Med. Chem.*, 2017, **24**, 1.
151. (a) J. Suryadi and U. Bierbach, *Chem. Euro. J.*, 2012, **18**, 12926; (b) H.-K. Liu and P. J. Sadler, *Acc. Chem. Res.*, 2011, **44**, 349; (c) T. Zou, J. Liu, C. T. Lum, C. Ma, R. C.-T. Chan, C.-N. Lok, W.-M. Kwok and C.-M. Che, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2014, **53**, 10119; (d) J. Ruiz, C. Vicente, C. d. Haro and A. Espinosa, *Inorg. Chem.*, 2011, **50**, 2151.
152. (a) D.-L. Ma, H.-Z. He, K.-H. Leung, D. S.-H. Chan and C.-H. Leung, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2013, **52**, 7666; (b) K. Suntharalingam, A. Łęczkowska, M. A. Furrer, Y. Wu, M. K. Kuimova, B. Therrien, A. J. P. White and R. Vilar, *Chem. Eur. J.*, 2012, **18**, 16277; (c) D.-L. Ma, C.-M. Che and S.-C. Yan, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 1835.
153. R. W.-Y. Sun, A. L.-F. Chow, X.-H. Li, J. J. Yan, S. Sin-Yin Chui and C.-M. Che, *Chem. Sci.*, 2011, **2**, 728.
154. (a) S. E. Sherman and S. J. Lippard, *Chem. Rev.*, 1987, **87**, 1153; (b) E. R. Jamieson and S. J. Lippard, *Chem. Rev.*, 1999, **99**, 2467; (c) J. Reedijk, *Platinum Met. Rev.*, 2008, **52**, 2.
155. (a) V. W.-W. Yam, V. K.-M. Au and S. Y.-L. Leung, *Chem. Rev.*, 2015, **115**, 7589; (b) J. A. G. Williams, S. Develay, D. L. Rochester and L. Murphy, *Coord. Chem. Rev.*, 2008, **252**, 2596; (c) J. Kalinowski, V. Fattori, M. Cocchi and J. A. G. Williams, *Coord. Chem. Rev.*, 2011, **255**, 2401; (d) X. Yang, C. Yao and G. Zhou, *Platinum Met. Rev.*, 2013, **57**, 2; (e) A. Alessandro, G. Damiano, M. Matteo and D. C. Luisa, *Chem. Lett.*, 2015, **44**, 1152; (f) T. Fleetham, G. Li and J. Li, *Adv. Mater.*, 2017, **29**, 1601861.
156. (a) M. Mauro, A. Aliprandi, D. Septiadi, N. S. Kehr and L. De Cola, *Chem. Soc. Rev.*, 2014, **43**, 4144; (b) E. Baggaley, J. A. Weinstein and J. A. G. Williams, *Coord. Chem. Rev.*, 2012, **256**, 1762; (c) Q. Zhao, C. Huang and F. Li, *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40**, 2508.
157. (a) D. A. Vezzu, Q. Lu, Y.-H. Chen and S. Huo, *J. Inorg. Biochem.*, 2014, **134**, 49; (b) S. Sen, M. Won, M. S. Levine, Y. Noh, A. C. Sedgwick, J. S. Kim, J. L. Sessler and J. F. Arambula, *Chem. Soc. Rev.*, 2022, **51**, 1212.
158. C. Navarro-Ranninger, I. López-Solera, V. M. González, J. M. Pérez, A. Alvarez-Valdés, A. Martín, P. R. Raithby, J. R. Masaguer and C. Alonso, *Inorg. Chem.*, 1996, **35**, 5181.

159. I. M. El-Mehasseb, M. Kodaka, T. Okada, T. Tomohiro, K.-i. Okamoto and H. Okuno, *J. Inorg. Biochem.*, 2001, **84**, 157.
160. G. L. Edwards, D. S. C. Black, G. B. Deacon and L. P. Wakelin, *Can. J. Chem.*, 2005, **83**, 980.
161. C. M. Che, M. Yang, K. H. Wong, H. L. Chan and W. Lam, *Chem. Eur. J.*, 1999, **5**, 3350.
162. J. Qiu, R. Cheng, J. Zhang, H. Sun, C. Deng, F. Meng and Z. Zhong, *Biomacromolecules*, 2017, **18**, 3207.
163. M. D. Aseman, S. Aryamanesh, Z. Shojaeifard, B. Hemmateenejad and S. M. Nabavizadeh, *Inorg. Chem.*, 2019, **58**, 16154.
164. J. Ruiz, N. Cutillas, C. Vicente, M. D. Villa, G. López, J. Lorenzo, F. X. Avilés, V. Moreno and D. Bautista, *Inorg. Chem.*, 2005, **44**, 7365.
165. C. Sánchez-Cano and M. J. Hannon, *Dalton Trans.*, 2009, 10765.
166. (a) J. Ruiz, C. Vicente, C. n. d. Haro and A. Espinosa, *Inorg. Chem.*, 2011, **50**, 2151; (b) A. V. Klein and T. W. Hambley, *Chem. Rev.*, 2009, **109**, 4911.
167. J. Liu, C.-H. Leung, A. L.-F. Chow, R. W.-Y. Sun, S.-C. Yan and C.-M. Che, *Chem. Commun.*, 2011, **47**, 719.
168. R. W.-Y. Sun, A. L.-F. Chow, X.-H. Li, J. J. Yan, S. S.-Y. Chui and C.-M. Che, *Chem. Sci.*, 2011, **2**, 728.
169. T. Zou, C.-N. Lok, Y. M. E. Fung and C.-M. Che, *Chem. Commun.*, 2013, **49**, 5423.
170. J. R. Berenguer, E. Lalinde and M. T. Moreno, *Coord. Chem. Rev.*, 2018, **366**, 69.
171. J. Fornies, B. Menjon, N. Gomez and M. Tomas, *Organometallics*, 1992, **11**, 1187.
172. (a) J. Forniés, S. Ibáñez, A. Martín, M. Sanz, J. R. Berenguer, E. Lalinde and J. Torroba, *Organometallics*, 2006, **25**, 4331; (b) J. Forniés, S. Ibáñez, A. Martín, B. Gil, E. Lalinde and M. T. Moreno, *Organometallics*, 2004, **23**, 3963; (c) J. M. Casas, L. R. Falvello, J. Forniés, A. Martín and A. J. Welch, *Inorg. Chem.*, 1996, **35**, 6009.
173. J. Forniés, S. Ibáñez, E. Lalinde, A. Martín, M. T. Moreno and A. C. Tsipis, *Dalton Trans.*, 2012, **41**, 3439.
174. J. R. Berenguer, E. Lalinde, M. T. Moreno, S. Sánchez and J. Torroba, *Inorg. Chem.*, 2012, **51**, 11665.
175. N. Giménez, R. Lara, M. T. Moreno and E. Lalinde, *Chem. Eur. J.*, 2017, **23**, 5758.
176. J. R. Berenguer, E. Lalinde, A. Martín, M. T. Moreno, S. Ruiz, S. Sanchez and H. R. Shahsavari, *Inorg. Chem.*, 2014, **53**, 8770.
177. A. Martín, Ú. Belío, S. Fuertes and V. Sicilia, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2013, **2013**, 2231.
178. M. Baya, Ú. Belío, J. Forniés, A. Martín, M. Perálvarez and V. Sicilia, *Inorg. Chim. Acta.*, 2015, **424**, 136.
179. C. A. Tolman, *J. Am. Chem. Soc.*, 1970, **92**, 2956.
180. C. Ezquerro, A. E. Sepúlveda, A. Grau-Atienza, E. Serrano, E. Lalinde, J. R. Berenguer and J. García-Martínez, *J. Mat. Chem. C.*, 2017, **5**, 9721.
181. (a) R. M. Snyder, C. K. Mirabelli, R. K. Johnson, C.-M. Sung, L. F. Faucette, F. L. McCabe, J. P. Zimmerman, M. Whitman, J. C. Hempel and S. T. Croke, *Cancer research*, 1986, **46**, 5054; (b) G. Hoke, F. McCabe, L. Faucette, J. Bartus, C. M. Sung, B. Jensen, J. Heys, G. Rush, D. Alberts and R. Johnson, *Molecular pharmacology*, 1991, **39**, 90; (c) V. Gandin, A. P. Fernandes, M. P. Rigobello, B. Dani, F. Sorrentino, F. Tisato, M. Björnstedt, A. Bindoli, A. Sturaro and R. Rella, *Biochem. Pharmacol.*, 2010, **79**, 90.

182. M. Jamshidi, R. Yousefi, S. M. Nabavizadeh, M. Rashidi, M. G. Haghghi, A. Niazi and A.-A. Moosavi-Movahedi, *Int. J. Biol. Macromol.*, 2014, **66**, 86.
183. M. Fereidoonzhad, M. Niazi, M. Shahmohammadi Beni, S. Mohammadi, Z. Faghhih, Z. Faghhih and H. R. Shahsavari, *ChemMedChem*, 2017, **12**, 456.
184. E. Lalinde, R. Lara, I. P. López, M. T. Moreno, E. Alfaro-Arnedo, J. G. Pichel and S. Piñeiro-Hermida, *Chem. Eur. J.*, 2018, **24**, 2440.
185. R. Lara, G. Millán, M. T. Moreno, E. Lalinde, E. Alfaro-Arnedo, I. P. López, I. M. Larráyoz and J. G. Pichel, *Chem. Eur. J.*, 2021, **27**, 15757.
186. (a) M. Ravera, E. Gabano, M. Sardi, E. Monti, M. B. Gariboldi and D. Osella, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2012, DOI: 10.1002/ejic.201200282, 3441; (b) E. Lalinde, M. T. Moreno, R. Lara, I. P. López, E. Alfaro-Arnedo, J. G. Pichel and S. Piñeiro-Hermida, *Chem. Eur. J.*, 2018, DOI: 10.1002/chem.201705267, n/a; (c) S. J. Sabounchei, M. Hosseinzadeh, S. Salehzadeh, F. Maleki and R. W. Gable, *Inorg. Chem. Front.*, 2017, **4**, 2107; (d) Z. Kokan, B. Perić, G. Kovačević, A. Brozovic, N. Metzler-Nolte and S. I. Kirin, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2017, DOI: 10.1002/ejic.201700679, 3928.
187. (a) M. Kriechbaum, M. List, M. Himmelsbach, G. J. Redhammer and U. Monkowius, *Inorg. Chem.*, 2014, **53**, 10602; (b) A. Gutiérrez, J. Bernal, M. D. Villacampa, C. Cativiela, A. Laguna and M. C. Gimeno, *Inorg. Chem.*, 2013, **52**, 6473; (c) Z. Kokan and S. I. Kirin, *RSC Advances*, 2012, **2**, 5729.
188. Z.-Q. Zhao, Y. Yang, W. Fang and S. Liu, *Nucl. Med. Biol.*, 2016, **43**, 661.
189. E. Vergara, E. Cerrada, C. Clavel, A. Casini and M. Laguna, *Dalton Trans.*, 2011, **40**, 10927.
190. M. Carreira, R. Calvo-Sanjuan, M. Sanau, I. Marzo and M. Contel, *Organometallics*, 2012, **31**, 5772.
191. T. Yagyu, J.-i. Ohashi and M. Maeda, *Organometallics*, 2007, **26**, 2383.
192. A. I. Díez, J. Forniés, C. Larraz, E. Lalinde, J. A. López, A. Martín, M. T. Moreno and V. Sicilia, *Inorg. Chem.*, 2010, **49**, 3239.
193. (a) Z. Kokan, Z. Glasovac, M. Majerić Elenkov, M. Gredičak, I. Jerić and S. I. Kirin, *Organometallics*, 2014, **33**, 4005; (b) Z. Kokan and S. I. Kirin, *Eur. J. Org. Chem.*, 2013, **2013**, 8154; (c) A. C. Laungani and B. Breit, *Chem. Commun.*, 2008, 844; (d) A. C. Laungani, J. M. Slattery, I. Krossing and B. Breit, *Chem. Eur. J.*, 2008, **14**, 4488; (e) P.-A. R. Breuil, F. W. Patureau and J. N. H. Reek, *Angew Chem. Int. Ed.*, 2009, **48**, 2162; (f) S. R. Gilbertson and R. V. Pawlick, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, 1996, **35**, 902.
194. B. J. Reedijk, *Platinum Met. Rev.*, 2008, **52**, 2.
195. A. Díez, J. Forniés, A. García, E. Lalinde and M. T. Moreno, *Inorg. Chem.*, 2005, **44**, 2443.
196. E. Lalinde, R. Lara, I. P. Lopez, M. T. Moreno, E. Alfaro-Arnedo, J. G. Pichel and S. Pineiro-Hermida, *Chem. Eur. J.*, 2018, **24**, 2440.
197. (a) M. Calligaris, *Coord. Chem. Rev.*, 2004, **248**, 351; (b) V. Khlebnikov, M. Heckenroth, H. Müller-Bunz and M. Albrecht, *Dalton Trans.*, 2013, **42**, 4197.
198. (a) J. Forniés, S. Fuertes, J. A. López, A. Martín and V. Sicilia, *Inorg. Chem.*, 2008, **47**, 7166; (b) A. Diez, J. Fornies, S. Fuertes, E. Lalinde, C. Larraz, J. A. Lopez, A. Martin, M. T. Moreno and V. Sicilia, *Organometallics*, 2009, **28**, 1705; (c) S. Fernández, J. Forniés, B. Gil, J. Gómez and E. Lalinde, *Dalton Trans.*, 2003, 822.

199. J. R. Berenguer, E. Lalinde, A. Martín, M. T. Moreno, S. Ruiz, S. Sánchez and H. R. Shahsavari, *Inorg. Chem.*, 2014, **53**, 8770.
200. Y. Chi and P.-T. Chou, *Chem. Soci. Rev.*, 2010, **39**, 638.
201. M. Fereidoonzhad, H. R. Shahsavari, S. Abedanzadeh, B. Behchenari, M. Hossein-Abadi, Z. Faghieh and M. H. Beyzavi, *New J. Chem.*, 2018, **42**, 2385.
202. (a) O. A. Peña-Morán, M. L. Villarreal, L. Álvarez-Berber, A. Meneses-Acosta and V. Rodríguez-López, *Molecules*, 2016, **21**, 1013; (b) G. Millan, N. Gimenez, R. Lara, J. R. Berenguer, M. T. Moreno, E. Lalinde, E. Alfaro-Arnedo, I. P. Lopez, S. Pineiro-Hermida and J. G. Pichel, *Inorg. Chem.*, 2019, **58**, 1657.
203. A. Zamora, S. A. Pérez, M. Rothmund, V. Rodríguez, R. Schobert, C. Janiak and J. Ruiz, *Chem. Eur. J.*, 2017, **23**, 5614.
204. Y. Yang, S. Ji and S. Liu, *Bioconjugate Chem.*, 2014, **25**, 1720.
205. (a) K. Muller, C. Faeh and F. Diederich, *science*, 2007, **317**, 1881; (b) T. Liang, C. N. Neumann and T. Ritter, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2013, **52**, 8214.
206. (a) L. M. Levasseur, H. K. Slocum, Y. M. Rustum and W. R. Greco, *Cancer Res.*, 1998, **58**, 5749; (b) S. B. Hassan, E. Jonsson, R. Larsson and M. O. Karlsson, *J. Pharmac. Exp. Ther.*, 2001, **299**, 1140; (c) S. Dasari and P. B. Tchounwou, *Eur. J. Pharmacol.*, 2014, **740**, 364.
207. (a) R. B. Badisa, S. F. Darling-Reed, P. Joseph, J. S. Cooperwood, L. M. Latinwo and C. B. Goodman, *Anticancer Res.*, 2009, **29**, 2993; (b) J. A. Valderrama, V. Delgado, S. Sepúlveda, J. Benites, C. Theoduloz, P. Buc Calderon and G. G. Muccioli, *Molecules*, 2016, **21**, 1199.
208. (a) C. Li, K.-W. Ip, W.-L. Man, D. Song, M.-L. He, S.-M. Yiu, T.-C. Lau and G. Zhu, *Chem. Sci.*, 2017, **8**, 6865; (b) E. Petruzzella, R. Sirota, I. Solazzo, V. Gandin and D. Gibson, *Chem. Sci.*, 2018, **9**, 4299; (c) P. Wiji Prasetyaningrum, A. Bahtiar and H. Hayun, *Sci. Pharma.*, 2018, **86**, 25; (d) N. Pantelić, B. B. Zmejovski, D. D. Marković, J. M. Vujić, T. P. Stanojković, T. J. Sabo and G. N. Kaluđerović, *Metals*, 2016, **6**, 226.
209. J. C. Dabrowiak, in *Metals in Medicine*, ed. J. W. a. S. Ltd, 2009, ch. 4, pp. 109.
210. J. K. Muenzner, T. Rehm, B. Biersack, A. Casini, I. A. de Graaf, P. Worawutputtpong, A. Noor, R. Kempe, V. Brabec and J. Kasparkova, *J. Med. Chem.*, 2015, **58**, 6283.
211. (a) K. R. Fox, *Drug-DNA interaction protocols*, Springer, 1997; (b) L. Quental, P. Raposinho, F. Mendes, I. Santos, C. Navarro-Ranninger, A. Alvarez-Valdes, H. Huang, H. Chao, R. Rubbiani and G. Gasser, *Dalton Trans.*, 2017, **46**, 14523; (c) M. Frik, J. Jiménez, V. Vasilevski, M. Carreira, A. De Almeida, E. Gascón, F. Benoit, M. Sanaú, A. Casini and M. Contel, *Inorg. Chem. Front.*, 2014, **1**, 231; (d) S. Richter, S. Singh, D. Draca, A. Kate, A. Kumbhar, A. S. Kumbhar, D. Maksimovic-Ivanic, S. Mijatovic, P. Lönnecke and E. Hey-Hawkins, *Dalton Trans.*, 2016, **45**, 13114.
212. H. M. Ushay, T. D. Tullius and S. J. Lippard, *Biochemistry*, 1981, **20**, 3744.
213. M. Frik, J. Fernández-Gallardo, O. Gonzalo, V. Mangas-Sanjuan, M. González-Alvarez, A. Serrano del Valle, C. Hu, I. González-Alvarez, M. Bermejo and I. Marzo, *J. Med. Chem.*, 2015, **58**, 5825.
214. K. S. Lovejoy, R. C. Todd, S. Zhang, M. S. McCormick, J. A. D'Aquino, J. T. Reardon, A. Sancar, K. M. Giacomini and S. J. Lippard, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2008, **105**, 8902.
215. R. M. Martin, H. Leonhardt and M. C. Cardoso, *Cytometry, Part A*, 2005, **67**, 45.

216. H. Sun, J. He, S. Xing, L. Zhu, Y. J. Wong, Y. Wang, H. Zhai and H. Chen, *Chem. Sci.*, 2011, **2**, 2109.
217. S. W. Tanley, A. M. Schreurs, L. M. Kroon-Batenburg, J. Meredith, R. Prendergast, D. Walsh, P. Bryant, C. Levy and J. R. Helliwell, *Acta Crystallogr., Sect. D: Biol. Crystallogr.*, 2012, **68**, 601.
218. D.-W. Shen, X.-J. Liang, M. A. Gawinowicz and M. M. Gottesman, *Mol. Pharmacol.*, 2004, **66**, 789.
219. Y. Lu, J. Chen, M. Xiao, W. Li and D. D. Miller, *Pharm. Res.*, 2012, **29**, 2943.
220. L. U. Cassimeris, P. Wadsworth and E. Salmon, *J. Cell Biol.*, 1986, **102**, 2023.
221. D. L. Sackett, L. Ozbun, E. Zudaire, L. Wessner, J. M. Chirgwin, F. Cuttitta and A. Martínez, *Endocrinology*, 2008, **149**, 2888.
222. X. Liu, L.-L. Zhang, X.-H. Xu, L. Hui, J.-B. Zhang and S.-W. Chen, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2013, **23**, 3780.
223. (a) Q. Cheng and Y. Liu, *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.*, 2017, **9**, e1410; (b) L. G. Marcu, *Pharmaceuticals*, 2022, **15**, 255; (c) S. A. Aldossary, *Biomed. Pharmacol. J.*, 2019, **12**, 7.
224. C. Yu, Z. Wang, Z. Sun, L. Zhang, W. Zhang, Y. Xu and J.-J. J. o. M. C. Zhang, *J. Med. Chem.*, 2020, **63**, 13397.
225. (a) Z. Yang, G. Jiang, Z. Xu, S. Zhao and W. J. C. C. R. Liu, *Coord. Chem. Rev.*, 2020, **423**, 213492; (b) U. Das, B. Kar, S. Pete and P. J. D. T. Paira, *Dalton Trans.*, 2021, **50**, 11259; (c) N. Nayeem and M. J. C. A. E. J. Contel, *Eur. J. Chem.*, 2021, **27**, 8891; (d) Y. Liu, Y. Wang, S. Song and H. Zhang, *Chem. Sci.*, 2021, **12**, 12234; (e) P. Sudhindra, S. A. Sharma, N. Roy, P. Moharana and P. J. P. Paira, *Polyhedron*, 2020, **192**, 114827; (f) C. C. Konkankit, S. C. Marker, K. M. Knopf and J. J. J. D. T. Wilson, *Dalton Trans.*, 2018, **47**, 9934; (g) E. Ortega, G. Viguera, F. J. Ballester and J. J. C. C. R. Ruiz, *Coord. Chem. Rev.*, 2021, **446**, 214129.
226. (a) L. Feng, M. Gao, D. Tao, Q. Chen, H. Wang, Z. Dong, M. Chen and Z. J. A. F. M. Liu, *Adv. Funct. Mater.*, 2016, **26**, 2207; (b) L. He, K. Xiong, L. Wang, R. Guan, Y. Chen, L. Ji and H. J. C. C. Chao, *Chem. Commun.*, 2021, **57**, 8308.
227. S. Pete, N. Roy and P. J. I. C. A. Paira, *Inorganica Chim. Acta*, 2021, **517**, 120184.
228. Z. Liu and P. J. J. A. o. C. R. Sadler, *Acc. Chem. Res.*, 2014, **47**, 1174.
229. (a) X.-D. Song, X. Kong, S.-F. He, J.-X. Chen, J. Sun, B.-B. Chen, J.-W. Zhao and Z.-W. J. E. j. o. m. c. Mao, *Eur. J. Med. Chem.*, 2017, **138**, 246; (b) G. Li, H. Liu, R. Feng, T.-S. Kang, W. Wang, C.-N. Ko, C.-Y. Wong, M. Ye, D.-L. Ma and J.-B. J. R. b. Wan, *Redox Biol.*, 2021, **48**, 102129; (c) W.-Y. Zhang, F. Du, M. He, L. Bai, Y.-Y. Gu, L.-L. Yang and Y.-J. J. E. j. o. m. c. Liu, *Eur. J. Med. Chem.*, 2019, **178**, 390; (d) M.-M. Wang, X.-L. Xue, X.-X. Sheng, Y. Su, Y.-Q. Kong, Y. Qian, J.-C. Bao, Z. Su and H.-K. J. R. A. Liu, *RSC Adv.*, 2020, **10**, 5392; (e) B.-B. Chen, N.-L. Pan, J.-X. Liao, M.-Y. Huang, D.-C. Jiang, J.-J. Wang, H.-J. Qiu, J.-X. Chen, L. Li and J. J. J. o. I. B. Sun, *J. Inorg. Biochem.*, 2021, **219**, 111450.
230. (a) N. Roy, U. Sen, S. R. Chaudhuri, V. Muthukumar, P. Moharana, P. Paira, B. Bose, A. Gauthaman and A. J. D. T. Moorthy, *Dalton Trans.*, 2021, **50**, 2268; (b) X. Liu, K. Li, L. Shi, H. Zhang, Y.-H. Liu, H.-Y. Wang, N. Wang and X.-Q. Yu, *Chem. Commun.*, 2021, **57**, 2265; (c) S. Shaikh, Y. Wang, F. ur Rehman, H. Jiang and X. J. C. C. R. Wang, *Coord. Chem. Rev.*, 2020, **416**, 213344.
231. K. Y. Zhang, P. Gao, G. Sun, T. Zhang, X. Li, S. Liu, Q. Zhao, K. K.-W. Lo and W. Huang, *J. Am. Chem. Soc.*, 2018, **140**, 7827.

232. (a) E. Zafon, I. Echevarría, S. Barrabés, B. R. Manzano, F. A. Jalón, A. M. Rodríguez, A. Massaguer and G. Espino, *Dalton Trans.*, 2022, **51**, 111; (b) A. Bonfiglio, C. McCartin, U. Carrillo, C. Cebrian, P. C. Gros, S. Fournel, A. Kichler, C. Daniel and M. J. E. J. o. I. C. Mauro, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2021, **2021**, 1551.
233. R. Baskaran, J. Lee and S.-G. Yang, *Biomaterials Res.*, 2018, **22**, 1.
234. S. Monro, K. L. Colon, H. Yin, J. Roque III, P. Konda, S. Gujar, R. P. Thummel, L. Lilge, C. G. Cameron and S. A. McFarland, *Chem. Rev.*, 2018, **119**, 797.
235. R. E. Doherty, I. V. Sazanovich, L. K. McKenzie, A. S. Stasheuski, R. Coyle, E. Baggaley, S. Bottomley, J. A. Weinstein and H. E. Bryant, *Sci. Rep.*, 2016, **6**, 1.
236. P. K.-K. Leung, L. C.-C. Lee, H. H.-Y. Yeung, K.-W. Io and K. K.-W. J. C. C. Lo, *Chem. Commun.*, 2021, **57**, 4914.
237. J. Hao, H. Zhang, L. Tian, L. Yang, Y. Zhou, Y. Zhang, Y. Liu and D. Xing, *J. Inorg. Biochem.*, 2021, **221**, 111465.
238. (a) R. W. Horobin and F. Rashid-Doubell, *Biotech. Histochem*, 2013, **88**, 461; (b) R. W. Horobin, F. Rashid-Doubell, J. D. Padiani and G. Milligan, *Biotech. Histochem.*, 2013, **88**, 440.
239. K. Qiu, Y. Liu, H. Huang, C. Liu, H. Zhu, Y. Chen, L. Ji and H. Chao, *Dalton Trans.*, 2016, **45**, 16144.
240. D. E. Dolmans, D. Fukumura and R. K. Jain, *Nat. Rev. Cancer*, 2003, **3**, 380.
241. F.-X. Wang, M.-H. Chen, X.-Y. Hu, R.-R. Ye, C.-P. Tan, L.-N. Ji and Z.-W. Mao, *Sci. Rep.*, 2016, **6**, 1.
242. S. P.-Y. Li, C. T.-S. Lau, M.-W. Louie, Y.-W. Lam, S. H. Cheng and K. K.-W. Lo, *Biomaterials*, 2013, **34**, 7519.
243. X. Liu, H. Hao, X. Ge, X. He, Y. Liu, Y. Wang, H. Wang, M. Shao, Z. Jing and L. Tian, *J. Inorg. Biochem.*, 2019, **199**, 110757.
244. F.-X. Wang, M.-H. Chen, Y.-N. Lin, H. Zhang, C.-P. Tan, L.-N. Ji and Z.-W. Mao, *Appl. Mater. Interfaces*, 2017, **9**, 42471.
245. A.-A. Masum, K. Yokoi, Y. Hisamatsu, K. Naito, B. Shashni and S. Aoki, *Bioorg. Med. Chem.*, 2018, **26**, 4804.
246. (a) W. Lv, Z. Zhang, K. Y. Zhang, H. Yang, S. Liu, A. Xu, S. Guo, Q. Zhao and W. Huang, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2016, **55**, 9947; (b) L. K. McKenzie, I. V. Sazanovich, E. Baggaley, M. Bonneau, V. Guerchais, J. G. Williams, J. A. Weinstein and H. E. Bryant, *Chem. Eur. J.*, 2017, **23**, 234.
247. L. He, Y. Li, C.-P. Tan, R.-R. Ye, M.-H. Chen, J.-J. Cao, L.-N. Ji and Z.-W. Mao, *Chem. Sci.*, 2015, **6**, 5409.
248. S. Mandal, D. K. Poria, R. Ghosh, P. S. Ray and P. Gupta, *Dalton Trans.*, 2014, **43**, 17463.
249. V. Novohradsky, A. Zamora, A. Gandioso, V. Brabec, J. Ruiz and V. Marchán, *Chem Commun* 2017, **53**, 5523.
250. X. Tian, Y. Zhu, M. Zhang, L. Luo, J. Wu, H. Zhou, L. Guan, G. Battaglia and Y. Tian, *Chem Commun*, 2017, **53**, 3303.
251. (a) M. Martínez-Alonso, P. Sanz, P. Ortega, G. Espino, F. A. Jalon, M. Martin, A. M. Rodríguez, J. A. Lopez, C. Tejel and B. R. Manzano, *Inorg. Chem.*, 2020, **59**, 14171; (b) I. Echevarría, E. Zafon, S. Barrabés, M. Á. Martínez, S. Ramos-Gómez, N. Ortega, B. R. Manzano, F. A. Jalón, R. Quesada and G. Espino, *J. Inorg. Biochem.*, 2022, **231**, 111790.

252. M. R. Schreier, X. Guo, B. r. Pfund, Y. Okamoto, T. R. Ward, C. Kerzig and O. S. Wenger, *Acc. Chem. Res.*, 2022, **55**, 1290.
253. N. Okamura, T. Nakamura, S. Yagi, T. Maeda, H. Nakazumi, H. Fujiwara and S. Koseki, *RSC Adv.*, 2016, **6**, 51435.
254. A. Kimyonok, B. Domercq, A. Haldi, J.-Y. Cho, J. R. Carlise, X.-Y. Wang, L. E. Hayden, S. C. Jones, S. Barlow and S. R. Marder, *Chem. of materials*, 2007, **19**, 5602.
255. F. Lafalet, S. Welter, Z. Popović and L. De Cola, *J. Mater. Chem.*, 2005, **15**, 2820.
256. Y. Zhou, W. Li, Y. Liu and M. Zhou, *ChemPlusChem*, 2013, **78**, 413.
257. J. B. Waern, C. Desmarests, L.-M. Chamoreau, H. Amouri, A. Barbieri, C. Sabatini, B. Ventura and F. Barigelletti, *Inorg. Chem.*, 2008, **47**, 3340.
258. (a) S. Bettington, M. Tavasli, M. R. Bryce, A. S. Batsanov, A. L. Thompson, H. A. Al Attar, F. B. Dias and A. P. J. J. o. M. C. Monkman, *J. Mat. Chem.*, 2006, **16**, 1046; (b) C. Lorenzo-Aparicio, M. G. Gallego, C. R. de Arellano and M. A. Sierra, *Dalton Trans.*, 2022, **51**, 5138; (c) B. Orwat, M. J. Oh, M. Zaranek, M. Kubicki, R. Januszewski and I. Kownacki, *Inorg. Chem.*, 2020, **59**, 9163.
259. (a) E. Martínez-Vollbert, C. Ciambone, W. Lafargue-Dit-Hauret, C. Latouche, F. Loiseau and P.-H. Lanoë, *Inorg. Chem.*, 2022, **61**, 3033; (b) F.-X. Wang, M.-H. Chen, X.-Y. Hu, R.-R. Ye, C.-P. Tan, L.-N. Ji and Z.-W. J. S. r. Mao, *Sci. Rep.*, 2016, **6**, 1.
260. (a) M. Martínez-Junquera, E. Lalinde, M. T. Moreno, E. Alfaro-Arnedo, I. P. López, I. M. Larráyo and J. G. Pichel, *Dalton Trans.*, 2021, **50**, 4539; (b) V. Nemeč, K. Lisac, N. Bedeković, L. Fotović, V. Stilić and D. J. C. Cinčić, *crystengcomm*, 2021, **23**, 3063; (c) G. R. J. A. o. c. r. Desiraju, *Acc. Chem. Res.*, 2002, **35**, 565; (d) S. Bhattacharjee and S. J. C. C. Bhattacharya, *Chem. Commun.*, 2015, **51**, 7019.
261. M. Rico-Santacruz, Á. E. Sepúlveda, C. Ezquerro, E. Serrano, E. Lalinde, J. R. Berenguer and J. J. A. C. B. E. García-Martínez, *Applied Catalysis B*, 2017, **200**, 93.
262. R. D. Costa, E. Orti, H. J. Bolink, F. Monti, G. Accorsi and N. Armaroli, *Angew. Chem.*, 2012, **51**, 8178.
263. (a) R. Lara, G. Millan, M. T. Moreno, E. Lalinde, E. Alfaro-Arnedo, I. P. Lopez, I. M. Larrayoz and J. G. Pichel, *Chem. Eur. J.*, 2021, **27**, 15757; (b) R. H. Young, K. Wehrly and R. L. Martin, *J. Am. Chem. Soc.*, 1971, **93**, 5774.
264. Y. Lu, R. Conway-Kenny, J. Wang, X. Cui, J. Zhao and S. M. Draper, *Dalton Trans.*, 2018, **47**, 8585.
265. (a) D. GI, N. Chuwang, U. Essien, T. Choji, B. Echeonwu and M. Lugos, *Int. Res. J. Med & Med. Sci*; (b) J. Chen, J. Wang, Y. Deng, T. Wang, T. Miao, C. Li, X. Cai, Y. Liu, J. Henri and L. Chen, *Bioinorg. Chem. Appl.*, 2020, **2020**; (c) M. S. Costa, Y. G. Gonçalves, B. C. Borges, M. J. B. Silva, M. K. Amstalden, T. R. Costa, L. M. G. Antunes, R. S. Rodrigues, V. d. M. Rodrigues and E. de Faria Franca, *Sci. Rep.*, 2020, **10**, 1.
266. A. Zamora, G. Viguera, V. Rodríguez, M. D. Santana and J. Ruiz, *Coord. Chem. Rev.*, 2018, **360**, 34.
267. R. Gao, D. G. Ho, B. Hernandez, M. Selke, D. Murphy, P. I. Djurovich and M. E. Thompson, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 14828.
268. N. M. Shavaleev, H. Adams, J. Best, R. Edge, S. Navaratnam and J. A. Weinstein, *Inorg. Chem.*, 2006, **45**, 9410.
269. (a) B. Kar, U. Das, N. Roy and P. Paira, *Coord. Chem. Rev.*, 2023, **474**, 214860; (b) D. Wei, Y. Huang, B. Wang, L. Ma, J. Karges and H. Xiao, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2022, **61**, e202201486; (c) G. De Soricellis, F. Fagnani, A. Colombo, C. Dragonetti

- and D. Roberto, *Inorg. Chim. Acta.*, 2022, **541**, 121082; (d) D. Ashen-Garry and M. Selke, *Photochem. Photobiol.*, 2014, **90**, 257; (e) Y. Wu, S. Li, Y. Chen, W. He and Z. Guo, *Chem. Sci.*, 2022, **13**, 5085.
270. T. C. Pham, V.-N. Nguyen, Y. Choi, S. Lee and J. Yoon, *Chem. Rev.*, 2021, **121**, 13454.
271. J. Yellol, S. A. Perez, A. Buceta, G. Yellol, A. Donaire, P. Szumlas, P. J. Bednarski, G. Makhloufi, C. Janiak and A. Espinosa, *J. Med. Chem.*, 2015, **58**, 7310.
272. Z. Liu, I. Romero-Canelón, B. Qamar, J. M. Hearn, A. Habtemariam, N. P. Barry, A. M. Pizarro, G. J. Clarkson and P. J. Sadler, *Angew. Chem.*, 2014, **126**, 4022.
273. H. Huang, S. Banerjee, K. Qiu, P. Zhang, O. Blacque, T. Malcomson, M. J. Paterson, G. J. Clarkson, M. Staniforth and V. G. Stavros, *Nat. Chem.*, 2019, **11**, 1041.
274. (a) C. Huang, C. Liang, T. Sadhukhan, S. Banerjee, Z. Fan, T. Li, Z. Zhu, P. Zhang, K. Raghavachari and H. Huang, *Angew. Chem.*, 2021, **133**, 9560; (b) Z. Fan, J. Xie, T. Sadhukhan, C. Liang, C. Huang, W. Li, T. Li, P. Zhang, S. Banerjee and K. Raghavachari, *Chem. Eur. J.*, 2022, **28**, e202103346.
275. X. Liu, X. He, X. Zhang, Y. Wang, J. Liu, X. Hao, Y. Zhang, X. A. Yuan, L. Tian and Z. Liu, *ChemBioChem*, 2019, **20**, 2767.
276. G. L. Cohen, W. R. Bauer, J. K. Barton and S. J. Lippard, *Science*, 1979, **203**, 1014.
277. R. L. Panchangam, R. N. Rao, M. M. Balamurali, T. B. Hingamire, D. Shanmugam, V. Manickam and K. Chanda, *Inorg. Chem.*, 2021, **60**, 17593.
278. G. Destriau, *J. Chim. Phys.*, 1936, **33**, 587.
279. Y. Ono, *Journal*, 1993, **5**, 295.
280. C. J. Humphreys, *MRS Bull.*, 2008, **33**, 459.
281. M. R. Krames, O. B. Shchekin, R. Mueller-Mach, G. O. Mueller, L. Zhou, G. Harbers and M. G. Craford, *J. Disp. Technol.*, 2007, **3**, 160.
282. N. Holonyak Jr and S. F. Bevacqua, *Appl. Phys. Lett.*, 1962, **1**, 82.
283. M. G. Craford and F. Steranka, *Journal*, 1994, **8**, 485.
284. R. Haitz and J. Y. Tsao, *Phys. Status Solidi A*, 2011, **208**, 17.
285. A. Nardelli, E. Deuschle, L. D. de Azevedo, J. L. N. Pessoa and E. Ghisi, *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 2017, **75**, 368.
286. M. Pope, H. Kallmann and P. Magnante, *J. Chem. Phys.*, 1963, **38**, 2042.
287. C. W. Tang and S. A. VanSlyke, *Appl. Phys. Lett.*, 1987, **51**, 913.
288. C. Adachi, T. Tsutsui and S. Saito, *Appl. Phys. Lett.*, 1990, **56**, 799.
289. J. H. Burroughes, D. D. Bradley, A. Brown, R. Marks, K. Mackay, R. H. Friend, P. L. Burns and A. B. Holmes, *Nature*, 1990, **347**, 539.
290. U. Mitschke and P. Bäuerle, *J. Mat. Chem.*, 2000, **10**, 1471.
291. J. Bauri, R. B. Choudhary and G. Mandal, *J. Mater. Sci.*, 2021, **1**.
292. N. Miller and F. Leon, *OLED lighting products: Capabilities, challenges, potential*, Pacific Northwest National Lab.(PNNL), Richland, WA (United States), 2016.
293. E. Fresta and R. D. Costa, *J. Mater. Chem. C*, 2017, **5**, 5643.
294. (a) E. C. Constable and C. E. Housecroft, *Coord. Chem. Rev.*, 2017, **350**, 84; (b) E. Fresta, G. Volpi, C. Garino, C. Barolo and R. D. Costa, *Polyhedron*, 2018, **140**, 129; (c) A. J. Norell Bader, A. A. Ilkevich, I. V. Kosilkin and J. M. Leger, *Nano lett.*, 2011, **11**, 461; (d) J. D. Slinker, J. Rivnay, J. S. Moskowitz, J. B. Parker, S. Bernhard, H. D. Abruña and G. G. Malliaras, *J. Mat. Chem.*, 2007, **17**, 2976; (e) A. F. Henwood and E. Zysman-Colman, *Top. Curr. Chem.*, 2016, **374**, 36; (f) M. S. Subeesh, K.

- Shanmugasundaram, C. D. Sunesh, R. K. Chitumalla, J. Jang and Y. Choe, *J. Phys. Chem. C* . 2016, **120**, 12207.
295. (a) J. Gao, *Curr. Opin. Electrochem.*, 2018, **7**, 87; (b) S. Tang, W.-Y. Tan, X.-H. Zhu and L. Edman, *Chem. Commun.*, 2013, **49**, 4926; (c) J. Frohleiks, F. Wefers, S. Wepfer, A. R. Hong, H. S. Jang and E. Nannen, *Adv. Mater. Technol.*, 2017, **2**, 1700154.
296. S. Tang, A. Sandström, P. Lundberg, T. Lanz, C. Larsen, S. van Reenen, M. Kemerink and L. Edman, *Nat. Commun.*, 2017, **8**, 1.
297. R. D. Costa, *Light-Emitting Electrochemical Cells*, Springer International Publishing: Basel, Switzerland., 1 edn., 2017.
298. J. Xu, A. Sandström, E. M. Lindh, W. Yang, S. Tang and L. Edman, *Appl. Mater. Interfaces*, 2018, **10**, 33380.
299. J. DeMello, N. Tessler, S. Graham and R. Friend, *Phys. Rev. B*, 1998, **57**, 12951.
300. (a) Z. Zhang, K. Guo, Y. Li, X. Li, G. Guan, H. Li, Y. Luo, F. Zhao, Q. Zhang and B. Wei, *Nat. Photonics*, 2015, **9**, 233; (b) A. Sandström, A. Asadpoordarvish, J. Enevold and L. Edman, *Adv. Mater.*, 2014, **26**, 4975; (c) A. Asadpoordarvish, A. Sandström, C. Larsen, R. Bollström, M. Toivakka, R. Österbacka and L. Edman, *Adv. Funct. Mater.*, 2015, **25**, 3238.
301. J. DeMello, *Phys. Rev. B*, 2002, **66**, 235210.
302. Q. Pei, G. Yu, C. Zhang, Y. Yang and A. J. Heeger, *Science*, 1995, **269**, 1086.
303. J. DeMello, J. Halls, S. Graham, N. Tessler and R. Friend, *Phys. Rev. Lett.* , 2000, **85**, 421.
304. J. D. Slinker, J. A. DeFranco, M. J. Jaquith, W. R. Silveira, Y.-W. Zhong, J. M. Moran-Mirabal, H. G. Craighead, H. D. Abruna, J. A. Marohn and G. G. Malliaras, *Nat. mater.*, 2007, **6**, 894.
305. S. Van Reenen, R. Janssen and M. Kemerink, *Org. Electron.*, 2011, **12**, 1746.
306. G. G. Malliaras, J. D. Slinker, J. A. Defranco, M. J. Jaquith, W. R. Silveira, Y.-W. Zhong, J. M. Moran-Mirabal, H. G. Craighead, H. D. Abruña and J. A. Marohn, *Nat. Mater.*, 2008, **7**, 168.
307. S. van Reenen, P. Matyba, A. Dzwilewski, R. A. Janssen, L. Edman and M. Kemerink, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **132**, 13776.
308. (a) E. Baranoff, J.-H. Yum, M. Graetzel and M. K. Nazeeruddin, *J. Organomet. Chem.*, 2009, **694**, 2661; (b) M. S. Lowry and S. Bernhard, *Chem. – Eur. J.*, 2006, **12**, 7970; (c) Y. You and W. Nam, *Chem. Soc. Rev.*, 2012, **41**, 7061.
309. C. E. Housecroft and E. C. Constable, *Coord. Chem. Rev.*, 2017, **350**, 155.
310. (a) J. Slinker, D. Bernards, P. L. Houston, H. D. Abruña, S. Bernhard and G. G. Malliaras, *Chem. Com.*, 2003, 2392; (b) H. Rudmann and M. Rubner, *J. Appl. Phys.* , 2001, **90**, 4338.
311. A. R. Hosseini, C. Y. Koh, J. D. Slinker, S. Flores-Torres, H. D. Abruña and G. G. Malliaras, *Chem. Mater*, 2005, **17**, 6114.
312. M. Felici, P. Contreras-Carballada, J. M. Smits, R. J. Nolte, R. M. Williams, L. D. Cola and M. C. Feiters, *Molecules*, 2010, **15**, 2039.
313. C. Zhang, R. Liu, D. Zhang and L. Duan, *Adv. Funct. Mater.*, 2020, **30**, 1907156.
314. C. D. Sunesh, G. Mathai and Y. Choe, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2014, **6**, 17416.
315. (a) V. I. Adamovich, S. R. Cordero, P. I. Djurovich, A. Tamayo, M. E. Thompson, B. W. D'Andrade and S. R. Forrest, *Org. Electron.*, 2003, **4**, 77; (b) C. M. Cardona, W. Li, A. E. Kaifer, D. Stockdale and G. C. Bazan, *Adv. Mater.*, 2011, **23**, 2367.

316. (a) A. Endo, K. Suzuki, T. Yoshihara, S. Tobita, M. Yahiro and C. Adachi, *Chem. Phys. Lett.*, 2008, **460**, 155; (b) T. Tsuboi, H. Murayama, S.-J. Yeh, M.-F. Wu and C.-T. Chen, *Opt. Mater.*, 2008, **31**, 366.
317. J. D. Slinker, A. A. Gorodetsky, M. S. Lowry, J. Wang, S. Parker, R. Rohl, S. Bernhard and G. G. Malliaras, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 2763.
318. V. Goldberg, M. D. Kaplan, L. Soltzberg, D. Armira, M. Bigelow, S. Bitzas, R. Brady, S. Browne, B. Dichiario and H. Foley, *MRS Online Proceedings Library*, 2008, **1154**, 1.
319. S. T. Parker, J. D. Slinker, M. S. Lowry, M. P. Cox, S. Bernhard and G. G. Malliaras, *Chem. Mater.*, 2005, **17**, 3187.
320. M. K. Nazeeruddin, R. Wegh, Z. Zhou, C. Klein, Q. Wang, F. De Angelis, S. Fantacci and M. Grätzel, *Inorg. Chem.*, 2006, **45**, 9245.
321. E. Zysman-Colman, J. D. Slinker, J. B. Parker, G. G. Malliaras and S. Bernhard, *Chem. Mater.*, 2008, **20**, 388.
322. H. C. Su, F. C. Fang, T. Y. Hwu, H. H. Hsieh, H. F. Chen, G. H. Lee, S. M. Peng, K. T. Wong and C. C. Wu, *Adv. Funct. Mater.*, 2007, **17**, 1019.
323. R. D. Costa, E. Ortí, H. J. Bolink, S. Graber, C. E. Housecroft and E. C. Constable, *Adv. Funct. Mater.*, 2010, **20**, 1511.
324. F. Dumur, D. Bertin, C. R. Mayer, A. Guerlin, G. Wantz, G. Nasr, E. Dumas, F. Miomandre, G. Clavier and D. Gigmes, *Synth. Met.*, 2011, **161**, 1934.
325. R. D. Costa, E. Ortí, H. J. Bolink, S. Graber, S. Schaffner, M. Neuburger, C. E. Housecroft and E. C. Constable, *Advanced functional materials*, 2009, **19**, 3456.
326. C. D. Ertl, C. Momblona, A. Pertegás, J. M. Junquera-Hernandez, M.-G. La-Placa, A. Prescimone, E. Ortí, C. E. Housecroft, E. C. Constable and H. J. Bolink, *J. Am. Chem. Soc.*, 2017, **139**, 3237.
327. (a) A. Asadpoordarvish, A. Sandström, S. Tang, J. Granström and L. Edman, *Appl. Phys. Lett.*, 2012, **100**, 193508; (b) F. AlTal and J. Gao, *Org. Electron.*, 2015, **18**, 1.
328. E. Fresta, M. A. Monclús, M. Bertz, C. Ezquerro, J. M. Molina-Aldareguia, J. R. Berenguer, M. Kunimoto, T. Homma and R. D. Costa, *Adv. Optical Matter.*, 2020, **8**, 2000295.
329. (a) J. Zimmermann, N. Jürgensen, A. J. Morfa, B. Wang, S. Tekoglu and G. Hernandez-Sosa, *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 2016, **4**, 7050; (b) S. Tekoglu, M. Held, M. Bender, G. N. Yeo, A. Kretzschmar, M. Hamburger, J. Freudenberg, S. Beck, U. H. Bunz and G. Hernandez-Sosa, *Adv. Sustain. Syst.*, 2021, **5**, 2000203.
330. M. Mauro, G. De Paoli, M. Otter, D. Donghi, G. D'Alfonso and L. De Cola, *Dalton Trans.*, 2011, **40**, 12106.
331. S. Sprouse, K. King, P. Spellane and R. J. Watts, *J. Am. Chem. Soc.*, 1984, **106**, 6647.
332. G. Greenway, A. Greenwood, P. Watts and C. Wiles, *Chem. Com.*, 2006, 85.
333. (a) Y. Lan, D. Liu, J. Li, H. Wan and Y. Mei, *Dyes Pigm.*, 2023, **210**, 111032; (b) J. Kang, R. Zaen, J. H. Lee, H. Hwang, K.-M. Park, S. C. Kim, J. Y. Lee and Y. Kang, *Chem. Eng. J.*, 2022, **431**, 134249.
334. C. Ezquerro, E. Fresta, E. Serrano, E. Lalinde, J. García-Martínez, J. R. Berenguer and R. D. J. M. H. Costa, 2019, **6**, 130.
335. J. Xu, C. Yang, B. Tong, Y. Zhang, L. Liang and M. Lu, *J. Fluoresc.*, 2013, **23**, 865.

336. (a) H.-M. Park, M. Misra, L. T. Drzal and A. K. Mohanty, *Biomacromolecules*, 2004, **5**, 2281; (b) A. Mohanty, A. Wibowo, M. Misra and L. Drzal, *Polym. Eng. Sci.*, 2003, **43**, 1151.
337. E. Auroux, A. Sandström, C. Larsen, E. Zäll, P. Lundberg, T. Wågberg and L. Edman, *Adv. Electron. Mater.*, 2021, **7**, 2100253.
338. (a) J. Ràfols-Ribé, N. D. Robinson, C. Larsen, S. Tang, M. Top, A. Sandström and L. Edman, *Adv. Funct. Mater.*, 2020, **30**, 1908649; (b) E. Fresta, J. Dosso, J. Cabanillas-Gonzalez, D. Bonifazi and R. D. Costa, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2020, **12**, 28426.
339. (a) M. H. Bowler, A. Mishra, A. C. Adams, C. L. D. Blangy and J. D. Slinker, *Adv. Funct. Mater.*, 2020, **30**, 1906715; (b) M. D. Moore, M. H. Bowler, J. E. Reynolds III, V. M. Lynch, Y. Shen, J. D. Slinker and J. L. Sessler, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2018, **10**, 24699.
340. (a) A. Mishra, M. Alahbakhshi, R. Haroldson, L. D. Bastatas, Q. Gu, A. A. Zakhidov and J. D. Slinker, *Adv. Opt. Mater.*, 2020, **8**, 2000226; (b) M. D. Weber, E. Fresta, M. Elie, M. E. Miehlisch, J. L. Renaud, K. Meyer, S. Gaillard and R. D. Costa, *Adv. Funct. Mater.*, 2018, **28**, 1707423; (c) E. Fresta, M. D. Weber, J. Fernandez-Cestau and R. D. Costa, *Adv. Opt. Mater.*, 2019, **7**, 1900830; (d) G. Kalyuzhny, M. Buda, J. McNeill, P. Barbara and A. J. Bard, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 6272.
341. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski and D. J. Fox, *Gaussian 09, Revision B.01*, Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2010**.
342. M. Frisch, G. Trucks, H. Schlegel, G. Scuseria, M. Robb, J. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. Petersson and H. Nakatsuji, *Revision A*, 2016, **3**.
343. (a) A. D. Becke, *Phys. Rev. A*, 1988, **38**, 3098; (b) A. D. Becke, *J. Chem. Phys.*, 1993, **98**, 5648; (c) C. Lee, W. Yang and R. G. Parr, *Phys. Rev. B*, 1988, **37**, 785.
344. P. J. Hay and W. R. Wadt, *J. Chem. Phys.*, 1985, **82**, 299.
345. V. Barone and M. Cossi, *J. Phys. Chem. A*, 1998, **102**, 1995.
346. N. M. O'Boyle, A. L. Tenderholt and K. M. Langner, *J. Comput. Chem.*, 2008, **29**, 839.
347. T. Lu and F. Chen, *J. Comput. Chem.*, 2012, **33**, 580.
348. W. Humphrey, A. Dalke and K. Schulten, *J. Mol. Graph.*, 1996, **14**, 33.
349. Z. Otwinowski and W. Minor, in *Methods in Enzymology*, eds. C. V. Carter, Jr. and R. M. Sweet, Academic Press, New York, 1997, vol. 276A, p. 307.
350. R. H. Blessing, *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr.*, 1995, **51**, 33.
351. L. J. Farrugia, *J. Appl. Crystallogr.*, 1999, **32**, 837.

352. G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr.*, 2015, **71**, 3.
353. G. Sheldrick, *Acta Crystallogr., Sect. C*, 2015, **71**, 3.
354. A. L. Speck, *J. Appl. Cryst.*, 2003, **36**, 7.
355. A. L. Speck, *Acta Crystallogr., Sect C*, 2015, **71**, 9.
356. M. W. Cooke and G. S. Hanan, *Chem. Soc. Rev.*, 2007, **36**, 1466.
357. G. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. A*, 2015, **71**, 3.
358. L. J. Farrugia, *J. Appl. Crystallogr.*, 1999, **32**, 837.
359. A. Spek, *J. Appl. crystallogr.*, 2003, **36**, 7.
360. A. L. Spek, *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.*, 2015, **71**, 9.
361. (a) N. Adarsh, R. R. Avirah and D. Ramaiah, *Org. Lett.*, 2010, **12**, 5720; (b) P. Majumdar, X. Yuan, S. Li, B. Le Guennic, J. Ma, C. Zhang, D. Jacquemin and J. Zhao, *J. Mat. Chem. B*, 2014, **2**, 2838.
362. G. Millán, N. Giménez, R. Lara, J. R. Berenguer, M. T. Moreno, E. Lalinde, E. Alfaro-Arnedo, I. P. López, S. Piñeiro-Hermida and J. G. Pichel, *Inorg. Chem.*, 2019, **58**, 1657.
363. M. D. Hall, K. A. Telma, K.-E. Chang, T. D. Lee, J. P. Madigan, J. R. Lloyd, I. S. Goldlust, J. D. Hoeschele and M. M. Gottesman, *Cancer Res.*, 2014, **74**, 3913.
364. OECD, *OECD Series Test Assess*, 2010, **20**, 1.
365. M. López-Lázaro, *Oncoscience*, 2015, **2**, 91.
366. (a) J. Pracharova, G. Viguera, V. Novohradsky, N. Cutillas, C. Janiak, H. Kosthunova, J. Kasparkova, J. Ruiz and V. Brabec, *Chem. Eur. J.*, 2018, **24**, 4607; (b) V. Novohradsky, A. Rovira, C. Hally, A. Galindo, G. Viguera, A. Gandioso, M. Svitelova, R. Bresolí-Obach, H. Kosthunova and L. Markova, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2019, **131**, 6377.
367. (a) A. Edelstein, N. Amodaj, K. Hoover, R. Vale and N. Stuurman, in *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc., 2010, DOI: 10.1002/0471142727.mb1420s92; (b) J. Schindelin, I. Arganda-Carreras, E. Frise, V. Kaynig, M. Longair, T. Pietzsch, S. Preibisch, C. Rueden, S. Saalfeld, B. Schmid, J.-Y. Tinevez, D. J. White, V. Hartenstein, K. Eliceiri, P. Tomancak and A. Cardona, *Nat Meth*, 2012, **9**, 676.
368. R. W. K. Leung, S.-C. A. Yeh and Q. Fang, *Biomed. Opt. Express*, 2011, **2**, 2517.
369. R. Usón, J. Forniés, M. Tomás and B. Menjón, *Organometallics*, 1985, **4**.
370. T. Yagyu, J. I. Ohashi and M. Maeda, *Organometallics*, 2007, **26**, 2383.
371. C. Cullinane, G. B. Deacon, P. R. Drago, T. W. Hambley, K. T. Nelson and L. K. Webster, *J. Inorg. Biochem.*, 2002, **89**, 293.