(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 644 997**

(51) Int. CI.:

G01N 21/66 (2006.01)
G01N 21/76 (2006.01)
C09K 11/07 (2006.01)
C09K 11/06 (2006.01)
B82Y 20/00 (2011.01)
B82Y 15/00 (2011.01)
C07C 2/64 (2006.01)
G01N 21/64 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.04.2009 PCT/US2009/002534**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **12.11.2009 WO09137002**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.04.2009 E 09742989 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.08.2017 EP 2294387**

(54) Título: **Materiales nanoestructurados luminiscentes para su uso en quimioluminiscencia electrogenerada**

(30) Prioridad:

08.05.2008 US 126892 P
12.05.2008 US 127311 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.12.2017

(73) Titular/es:

BOARD OF REGENTS OF THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM (100.0%)
201 West 7th Street
Austin, TX 78701, US

(72) Inventor/es:

BARD, ALLEN, J.;
FAN, FU-REN, F.;
YU, JIAGUO y
OMER, KHALID

(74) Agente/Representante:

SERRAT VIÑAS, Sara

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Materiales nanoestructurados luminiscentes para su uso en quimioluminiscencia electrogenerada

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta solicitud de patente reivindica el beneficio de la solicitud de patente provisional estadounidense 61/126.892, presentada el 8 de mayo de 2008; y la solicitud de patente provisional estadounidense 61/127.311, presentada el 12 de mayo de 2008.

Antecedentes

Se ha notificado que las nanopartículas ("NP") tienen una amplia gama de aplicaciones en electrónica, óptica, catálisis y biotecnología. Las propiedades físicas (por ejemplo, alta razón de superficie con respecto a volumen, elevada energía de superficie, ductilidad aumentada tras carga de presión, dureza superior, mayor calor específico y similares) de las NP han conducido a una variedad de aplicaciones en la industria dirigida a materiales y la ciencia de materiales. Por ejemplo, se han usado una variedad de NP de metal para catalizar numerosas reacciones y se usan NP semiconductoras como sondas fluorescentes.

También se han notificado sensores electroquímicos de partícula individual, que emplean un dispositivo electroquímico para detectar partículas individuales. Se han descrito métodos para usar un dispositivo de este tipo para lograr una alta sensibilidad para detectar partículas tales como bacterias, virus, agregados, complejos inmunitarios, moléculas o especies iónicas.

También se ha notificado el uso de partículas coloidales en matrices de detección. Éstas son sensores químicos para detectar analitos en fluidos por medio de matrices que tienen una pluralidad de regiones conductoras y regiones no conductoras alternas de materiales de NP conductores. Se notifica que la variabilidad en la sensibilidad química de sensor a sensor está proporcionada por la variación cualitativa o cuantitativa de la composición de las regiones conductoras y/o no conductoras.

El tamaño de los materiales nanoestructurados ("NSM") oscila generalmente entre menos de 1 nm y varios cientos de nm al menos en una dimensión y la configuración de la banda de energía electrónica es una propiedad dependiente del tamaño, que a su vez puede afectar a las propiedades físicas y químicas. Una distinción fundamental entre NSM y materiales a granel es que la fracción de átomos de superficie y el radio de curvatura de la superficie de NSM son comparables con la constante de red cristalina. Como resultado, los materiales nanoestructurados tienen generalmente una actividad superior en comparación con sus análogos basados en materiales a granel. El experto en la técnica conoce varios métodos de formación de NSM e incluyen formación mediante combinación de átomos (o moléculas y radicales más complejos) y mediante dispersión de materiales a granel, por ejemplo, evaporación térmica, pulverización iónica, reducción a partir de una disolución, reducción en microemulsiones y condensación.

El documento US 20040175742 da a conocer un método para detectar biopolímeros macromoleculares usando una unidad que inmoviliza un biopolímero macromolecular integrada en o montada sobre un sustrato. La unidad que inmoviliza biopolímero macromolecular está dotada de moléculas de captura que se unen a biopolímeros macromoleculares. Se pone en contacto una muestra con la unidad que inmoviliza biopolímero macromolecular, y la muestra contiene los biopolímeros macromoleculares que van a detectarse y unirse a las moléculas de captura. Puede inducirse una señal quimioluminiscente usando un marcado ubicado sobre las moléculas de captura y la señal de quimioluminiscencia puede detectarse usando una unidad de detección, que es un circuito integrado en el sustrato.

El documento WO 87/06706 da a conocer un método para detectar un analito en una muestra que incluye poner en contacto la muestra con un reactivo marcado con un resto químico electroquimioluminiscente y que puede combinarse con el analito. La mezcla de muestra resultante se expone a energía electroquímica y posteriormente se detecta la radiación electromagnética emitida por el resto químico electroquimioluminiscente.

El documento WO 2009/126249 da a conocer métodos, composiciones y kits para analizar un analito químico usando una célula electroquímica conectada a un aparato de medición. La célula electroquímica contiene una disolución que contiene nanopartículas conductoras o activas redox, unos o más analitos químicos y un indicador. Se generan una o más propiedades de ECL catalítica mediante la interacción de las nanopartículas y la muestra líquida y pueden medirse con un sistema de detección óptico o en uno o más electrodos en la célula electroquímica en comunicación con la disolución.

Sumario

La presente invención se refiere a un método de determinación de la presencia de un analito de interés en una muestra que comprende:

(a) formar una mezcla de reactivo, que comprende un reactivo químico y la muestra; en el que el reactivo químico comprende nanopartículas de un compuesto iónico y/u orgánico luminiscente, activo redox; (b) inducir la emisión de luz por el reactivo químico; y (c) detectar la luz emitida;

en el que inducir la emisión de luz por el reactivo químico comprende exponer la mezcla de reactivo a energía electroquímica.

La presente divulgación se refiere, en general, al campo de los materiales nanoestructurados, tales como nanopartículas (NP), incluyendo la síntesis y caracterización de materiales nanoestructurados luminiscentes iónicos y/u orgánicos. Tales materiales nanoestructurados ("NSM") formados a partir de materiales iónicos y/u orgánicos luminiscentes pueden emplearse para quimioluminiscencia electrogenerada (ECL). Se han reconocido las dificultadas en la generación, localización y caracterización de NP, especialmente a la escala de nm y en la medición de la intensidad de ECL y de corriente muy pequeña generada por las reacciones de electrodos en NP. La presente solicitud proporciona un método y aparato que pueden usarse para observar la ECL generada durante las colisiones de materiales nanoestructurados en el electrodo. El presente método puede proporcionar información con respecto a los procesos electroquímicos de los materiales nanoestructurados, así como proporcionar la base para métodos electroanalíticos altamente sensibles. Las propiedades electroquímicas medidas en el presente método pueden ser cualquier propiedad que pueda medirse mediante el aparato; sin embargo, la propiedad más común implica generación de ECL a partir de una reacción redox de los materiales nanoestructurados. Otra propiedad monitorizada comúnmente puede ser una corriente.

El presente dispositivo incluye comúnmente una célula electroquímica en una cámara de muestra. La célula electroquímica tiene normalmente dos o más electrodos, uno o más orificios para introducir materiales nanoestructurados en la cámara de muestra, y un aparato electroquímico en comunicación con los electrodos. La célula electroquímica puede estar conectada a un aparato de medición que incluye un aparato electroquímico y un detector de fotones. Los materiales nanoestructurados inyectados pueden interaccionar con el electrodo y generar uno o más fotones que pueden recogerse mediante un detector de fotones.

Se da a conocer además un kit para analizar uno o más analitos químicos que tiene al menos un NSM de ECL, al menos dos electrodos, un correactante opcional y un aparato de medición que lee una o más de las propiedades de ECL y corriente generadas por las interacciones entre los NSM, el/los electrodo(s) y el/los analito(s) químico(s).

Una realización proporciona un método para detectar un analito en una disolución de muestra a la que se le han añadido materiales nanoestructurados luminiscentes. El método incluye introducir la disolución de muestra en una célula electroquímica que contiene dos o más electrodos en comunicación con la disolución; generar una o más propiedades de ECL a través de una interacción de los materiales nanoestructurados luminiscentes, la muestra líquida y uno o más de los electrodos; y medir al menos una propiedad de ECL generada por la interacción. Los materiales nanoestructurados luminiscentes incluyen un compuesto iónico y/u orgánico luminiscente, activo redox. Puede añadirse un correactante a la muestra líquida para potenciar la generación de las propiedades de ECL. Los ejemplos de correactantes adecuados incluyen sales de oxalato (por ejemplo, oxalato de sodio), persulfato, peróxido de benzoílo y trialquilaminas (por ejemplo, tripropilamina).

Una realización proporciona un método para detectar un analito en una disolución de muestra a la que se le han añadido una pluralidad de materiales nanoestructurados luminiscentes. El método incluye introducir la disolución de muestra en una célula electroquímica que contiene dos o más electrodos en comunicación con la disolución; generar una o más propiedades de ECL a través de una interacción de los materiales nanoestructurados luminiscentes, la muestra líquida y uno o más de los electrodos; y medir al menos una propiedad de ECL generada por la interacción. Los materiales nanoestructurados luminiscentes incluyen un compuesto iónico y/u orgánico luminiscente, activo redox.

Otra realización proporciona un método para observar la interacción de un material nanoestructurado con una superficie de electrodo que comprende:

poner en contacto una dispersión de materiales nanoestructurados luminiscentes en una muestra líquida con uno o más electrodos;

exponer la dispersión a energía electroquímica a través del uno o más electrodos;

medir al menos una propiedad de ECL generada por una interacción de un material nanoestructurado luminiscente con uno de los electrodos. Medir la(s) propiedad(es) de ECL puede incluir medir una propiedad electroquímica, tal como una corriente, generada por la interacción. Medir la(s) propiedad(es) de ECL puede incluir medir una propiedad óptica, tal como ECL, generada por la interacción. Medir la(s) propiedad(es) de ECL puede incluir medir una o más propiedades de ECL generadas por una interacción de un material nanoestructurado luminiscente con una superficie de uno de los electrodos. La dispersión es normalmente una disolución coloidal acuosa de materiales nanoestructurados, que se forman a partir de un compuesto organometálico u orgánico luminiscente, activo redox.

Breve descripción de los dibujos

Para una comprensión más completa de las características y ventajas de las presentes composiciones, métodos y dispositivos, se hace referencia ahora a la descripción detallada junto con las figuras adjuntas y en las que:

la figura 1 muestra una imagen de SEM de nanovarillas de 9,10-difenilantraceno ("DPA").

La figura 2A muestra una imagen de SEM de nanocintas de Ru-LCE ("NB") y la figura 2B muestra una imagen de TEM de nanocintas Ru-LCE ("NB"). Los recuadros en la figura 2A y la figura 2B muestran una imagen de SEM de la cara lateral y el patrón de SAED de una NB individual, respectivamente.

La figura 3A, la figura 3C y la figura 3D muestran imágenes de TEM y la figura 3B muestra el patrón de SAED de muestras de Ru-LCE obtenidas a temperatura ambiente en fases tempranas tras la reprecipitación. (Figura 3A y Figura 3B) 5 min. (Figura 3C) 30 min. (Figura 3D) 2 horas. ([Ru-LCE] = 1,35 x 10^{-5} M, pH 7,0).

La figura 4A muestra los espectros de absorción normalizada (línea discontinua) y emisión de fluorescencia (línea continua) de NB de Ru-LCE ("NB-Ab" y "NB-Em" respectivamente) en agua y los espectros de absorción normalizada (línea discontinua) y emisión de fluorescencia (línea continua) de monómeros de Ru-LCE en MeCN (es decir, moléculas de Ru-LCE en disolución; "Mono-Ab" y "Mono-Em" respectivamente). Las concentraciones de monómeros de Ru-LCE y NB son de 6,75 x 10^{-6} M y 2,25 x 10^{-14} M, respectivamente. La figura 4B es una imagen de fluorescencia de NB individual.

La figura 5A muestra la curva de ECL y voltamograma cíclico ("CV") de una suspensión de NB de Ru-LCE; la figura 5B muestra la corriente y ECL para etapas de potencial entre -1,25 V y 1,25 V. Las duraciones de las etapas son de 2, 6, 10, 14 y 18 segundos a cada potencial. El electrolito de soporte y correactante son disolución de tampón fosfato 0,1 M (pH 7,2) y tripropilamina 0,1 M ("TPrA"), respectivamente. La concentración de NB es de 2,2 x 10^{-14} M. Electrodo de platino, 1,5 mm, (figura 5A) velocidad de barrido de potencial, 0,1 V/s y (figura 5B) anchura de pulso, 2 segundos.

La figura 6A muestra la curva de ECL y CV de NB de Ru-LC individual depositada sobre un ultramicroelectrodo de platino (UME) en disolución de tampón fosfato 0,1 M (pH 7,2) que contiene TPrA 0,1 M. Velocidad de barrido de potencial, 0,1 V/s. La figura 6B es una imagen de microscopio óptico de UME con NB individual.

La figura 7A muestra la cronoamperometría (línea discontinua) y ECL transitoria (línea continua) para nanocristales de rubreno (NC) (preparados a partir de THF), TPrA 0,1 M, $NaClO_4$ 0,1 M, anchura de pulso 0,1 s (figura 7B) CV, ECL de exploración de NC de rubreno, experimento de blanco; TPrA 0,1 M, $NaClO_4$ 0,1 M, velocidad de barrido: 500 mV/s. La figura 7C muestra la cronoamperometría (línea discontinua) y ECL transitoria (línea continua) para NC de rubreno (preparados a partir de DMF), TPrA 0,1 M, $NaClO_4$ 0,1 M, anchura de pulso 0,1 s (figura 7D) ECL transitoria (línea continua) para NC de rubreno (preparados a partir de THF), TPrA 0,1 M, $NaClO_4$ 0,1 M, anchura de pulso 0,05 segundos.

La figura 8 muestra la ECL (línea continua) y la corriente (línea discontinua) de nanovarillas de DPA en disolución acuosa que contiene $Na_2C_2O_4$ 0,1 M (oxalato de sodio) como correactante.

Descripción detallada

En el presente documento se proporcionan métodos, aparato y kits para analizar un analito químico usando una célula electroquímica conectada a un aparato de medición. La célula electroquímica contiene una disolución que incluye uno o más materiales nanoestructurados luminiscentes activos redox, uno o más analitos químicos, y opcionalmente, correactante. Además, la célula electroquímica contiene dos o más electrodos en comunicación eléctrica con la disolución. Se generan dos o más propiedades de ECL por la interacción de los materiales nanoestructurados luminiscentes y la muestra líquida y se miden en uno o más de los electrodos.

Modificando la concentración de partículas, el tamaño de partícula y la concentración del correactante (si se usa un correactante), pueden usarse los perfiles de i-t y/o las curvas de intensidad de ECL frente al tiempo para obtener información sobre la cinética de reacción del indicador y el correactante. En comparación con las señales ópticas, de conductividad y de masa usando materiales nanoestructurados, la presente técnica de ECL basada en nanopartículas puede permitir la detección con un aparato sencillo a alta sensibilidad.

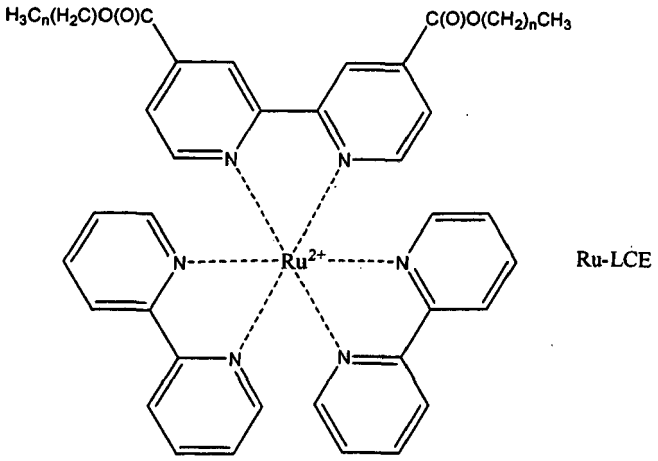
La presente solicitud incluye métodos, composiciones y kits para analizar un analito químico que tiene una célula electroquímica conectada a un aparato de medición. La célula electroquímica contiene una disolución que tiene uno o más materiales nanoestructurados, con o sin correactante. Además, la célula electroquímica contiene dos o más electrodos en comunicación con la disolución. Se generan uno o más acontecimientos de emisión por la interacción del uno o más materiales nanoestructurados y el correactante (si está presente el correactante) y se miden en los electrodos o un detector óptico conectado a la célula.

La presente solicitud proporciona dispositivos que pueden incluir uno o más materiales nanoestructurados luminiscentes activos redox en disolución dentro de la célula electroquímica. Por ejemplo, el uno o más materiales nanoestructurados luminiscentes activos redox pueden ser materiales nanoestructurados iónicos (por ejemplo, formados a partir de un compuesto organometálico) o materiales nanoestructurados de polímeros o compuestos orgánicos pequeños. Los materiales nanoestructurados pueden ser de un tamaño de entre aproximadamente 1 nm y menos de aproximadamente 1000 nm, al menos en una dimensión. Además, la distribución de tamaño del material nanoestructurado puede ser generalmente uniforme, dispersa o variable. Los materiales nanoestructurados pueden tener diferentes grupos de partículas que tienen generalmente un tamaño similar dentro del grupo pero un tamaño diferente en relación con otros grupos en la disolución. Por ejemplo, en muchas realizaciones los materiales particulados nanoestructurados tienen al menos una dimensión que tiene un tamaño promedio no mayor de aproximadamente 250 nm y, en algunos casos, no mayor de aproximadamente 100 nm. Los materiales particulados nanoestructurados pueden ser de un tamaño y forma tal que ninguna dimensión promedio es mayor de aproximadamente 500 nm.

La presente solicitud proporciona métodos para la preparación de materiales nanoestructurados que incluyen compuestos luminiscentes iónicos y/u orgánicos. Los ejemplos de compuestos luminiscentes orgánicos adecuados pueden incluir compuestos aromáticos luminiscentes, por ejemplo, hidrocarburos aromáticos policíclicos luminiscentes. Los ejemplos de compuestos luminiscentes iónicos adecuados que pueden emplearse en los presentes métodos incluyen complejos que contienen metal luminiscente, por ejemplo, complejos polidentados de un ión de metal. Los ejemplos adecuados que pueden incluirse en tales compuestos incluyen rutenio, osmio, renio, iridio, platino, cerio, europio, terbio y/o iterbio. Se emplean comúnmente compuestos organometálicos que contienen rutenio en los presentes métodos y materiales nanoestructurados. Los métodos también incluyen realizaciones, en las que el material nanoestructurado incluye nanopartículas luminiscentes formadas a partir de hidrocarburos aromáticos policíclicos luminiscentes sustituidos con fenilo, tales como rubreno y difenilantraceno (DPA).

Tal como se usa en el presente documento, la frase “material nanoestructurado” se refiere a materiales que tienen una estructura a granel a nanoescala, es decir, tienen al menos una dimensión que no es mayor de aproximadamente 250 nm. En otras palabras, cuando los materiales están en estado sólido, se forman cristales o materiales de una estructura dada a partir de los compuestos que comprenden el material a granel. Los materiales nanoestructurados, tal como se usa en el presente documento, no son compuestos individuales.

El compuesto orgánico que contiene metal incluye ligandos polidentados, por ejemplo, ligandos polidentados heteroaromáticos tales como bipiridilo, bipiridilo sustituido, 1,10-fenantrolina y/o 1,10-fenantrolina sustituida, en donde uno o más de los ligandos polidentados incluyen al menos un grupo hidrocarburo de cadena larga, por ejemplo, un grupo alquilo de cadena larga lineal que tiene normalmente desde 12 hasta 22 átomos de carbono. Por ejemplo, los compuestos orgánicos que contienen metal incluyen compuestos de fórmula $[M(PD)_2(C(O)O(CH_2)_nCH_3)_2\text{-}PD)]X_2$, en donde PD es un ligando polidentado; M es un ión de metal, tal como un ión de Ru u Os; n es un número entero de desde 10 hasta 30; y X es un anión. Compuestos a modo de ejemplo en donde M es Ru y PD es un grupo bipiridilo (bpy), pueden tener la siguiente fórmula, denominada Ru-LCE, que se refiere a un compuesto de rutenio que tiene un grupo alquilo de cadena larga unido como un éster, de ahí el término LCE (éster de cadena larga):



Ru-LCE

Los ejemplos específicos de restos de ECL adecuados incluyen compuestos que incluyen al menos un resto de bis(2,2’-bipiridil)rutenio (II) o tris(2,2’-bipiridil)rutenio (II) sustituido con alquilo de cadena larga. Un grupo de tales compuestos que puede actuar como marcador de ECL son sales de $Ru(bpy)_3^{2+}$ sustituidas con alquilo de cadena larga, por ejemplo, $Ru(bpy)_2(4,4'\text{-}(C(O)O(CH_2)_nCH_3)_2\text{-bpy})\ Cl_2$ y $Ru(bpy)_2(4,4'\text{-}(C(O)O(CH_2)_nCH_3)_2\text{-bpy})\ (ClO_4)_2$, en donde n es un número entero de desde 10 hasta 30. Los ejemplos específicos incluyen sales de Ru(bpy)2(4,4’-

$(C(O)O(CH_2)_{14}CH_3)_2$-bpy)$^{2+}$ (también denominadas en el presente documento “sales de $Ru(bpy)_2(bpy\text{-}C_{16}Est)^{2+}$”).

Otros ejemplos adecuados de sales de $Ru(bpy)_3^{2+}$ sustituidas con alquilo de cadena larga incluyen compuestos tales como sales de $Ru(bpy)_2(LCsub\text{-}bpy)^{2+}$, en donde el ligando “LCsub-bpy” es un compuesto de bipiridilo sustituido con alquilo de cadena larga. Pueden prepararse compuestos de bipiridilo sustituidos con alquilo de cadena larga mediante varios métodos conocidos por los expertos en la técnica. Los ejemplos incluyen el producto de reacción de sales de bis(2,2’-bipiridin)(4-metil-4’-aminometil-2,2’-bipiridina) de metal con un ácido carboxílico activado, tal como cloruro de estearoílo u otro derivado de ácido alcanoico de cadena larga activado (por ejemplo, $CH_3(CH_2)_nCO_2$-X, en donde n es un número entero de desde aproximadamente 10 hasta 25), para formar la correspondiente diamida. En el presente documento las sales de Ru (II)-bis(2,2’-bipiridin)(4-metil-4’-aminometil-2,2’-bipiridina) también se denominan “sales de $Ru(bpy)_2(bpy\text{-}C_{19}Amd)^{2+}$”. Se describen ejemplos de métodos de síntesis para producir bipiridinas sustituidas con alquilo de cadena larga en las patentes estadounidenses n.^{os} 5.324.457 y 6.808.939 y Fraser *et al*., J. Org. Chem., 62, 9314-9317 (1997).

Pueden producirse bipiridinas sustituidas con alcóxido de cadena larga mediante reacción de un alcóxido de cadena larga (por ejemplo, $NaO(CH_2)_nCH_3$, en donde n es un número entero de desde aproximadamente 10 hasta 25) con 4,4’-bis-bromometilbipiridina.

Pueden producirse bipiridinas sustituidas con alquilmercaptano de cadena larga mediante reacción de un alquilomercaptano de cadena larga (por ejemplo, $NaS(CH_2)_nCH_3$ en donde n es un número entero de desde aproximadamente 10 hasta 25) con 4,4’-bis-bromometilbipiridina.

Pueden producirse bipiridinas sustituidas con alcoxilo de cadena larga mediante reacción de un haluro de alquilo de cadena larga (por ejemplo, $Br(CH_2)_nCH_3$, en donde n es un número entero de desde aproximadamente 10 hasta 25) con 4,4’-bis-hidroximetil-2,2’-bipiridina. Por ejemplo, véase la patente estadounidense n.º 6.808.939.

Pueden producirse bipiridinas sustituidas con éster alquílico de cadena larga mediante esterificación de ácido 4-(4-metil-2,2-bipiridin-4’-il)-butírico con un alcanol de cadena larga (por ejemplo, $HO(CH_2)_nCH_3$ en donde n es un número entero de desde 6 hasta 25). Por ejemplo, véase la patente estadounidense n.º 6.808.939.

También pueden producirse bipiridinas sustituidas con éster alquílico de cadena larga mediante esterificación de 4,4’-bis-(carboxi)bipiridina con alcoholes grasos de cadena larga, tales como alcohol estearílico.

Los complejos orgánicos que contienen metal que incluyen ligandos polidentados (por ejemplo, ligandos de bipiridilo) descritos anteriormente pueden incluir uno o más de varios iones de metal diferentes siempre que el complejo sea luminiscente. Tal como se indicó anteriormente, los ejemplos de iones de metal adecuados que pueden emplearse en tales complejos incluyen iones de rutenio, osmio, renio, cerio, europio, terbio y/o iterbio. Tales compuestos pueden conocerse de manera diversa como compuestos de coordinación o compuestos organometálicos. Tal como se usa en el presente documento, los compuestos organometálicos son los compuestos que tienen un metal y un grupo orgánico, aunque puede no estar presente un enlace metal-carbono directo en el complejo, aunque “organometálico” también se refiere a compuestos con un enlace metal-carbono. Los expertos en la técnica conocen bien compuestos de coordinación.

Las nanopartículas empleadas en los métodos descritos en el presente documento pueden producirse mediante una variedad de métodos conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, pueden producirse estructuras a nanoescala de compuestos luminiscentes iónicos y/u orgánicos a partir de una disolución de un compuesto luminiscente en un disolvente adecuado para el compuesto, y luego, normalmente con mezclado vigoroso, añadiendo la primera disolución a un antidisolvente para el compuesto. La primera disolución puede inyectarse rápidamente o añadirse de una manera de gota a gota al antidisolvente. Este “método de reprecipitación” puede realizarse con o sin la presencia de un agente de ocupación de extremos, tal como un tensioactivo de bajo peso molecular, por ejemplo, Triton X-100, un polímero de carga neutra o un polímero cargado. Para determinadas realizaciones, puede ser ventajoso formar nanopartículas introduciendo una disolución del compuesto luminiscente en un disolvente orgánico en una disolución acuosa que está libre de cualquier tensioactivo añadido. La presencia de tensioactivo puede tener un efecto negativo sobre la generación de ECL usando las nanopartículas resultantes, posiblemente debido a la presencia de una capa de tensioactivo en el exterior de las nanopartículas. Tal como se emplea en el presente documento, el término “sustancialmente libre de tensioactivo” se refiere a nanopartículas que se han preparado a partir de una mezcla de disolvente orgánico y disolución acuosa que no contiene tensioactivo añadido.

Se describen ejemplos específicos de la producción de estructuras a nanoescala de compuestos orgánicos formados mediante métodos de reprecipitación en Kasai *et al*., Jpn. J. Appl. Phys. (1992), 31, 1132. Los ejemplos de disolventes adecuados que pueden emplearse en tales métodos de reprecipitación incluyen disolventes orgánicos miscibles con agua, polares tales como acetonitrilo (MeCN), acetona (MeCOMe), tetrahidrofurano (THF), N,N-dimetilformamida (DMF) y similares. Se emplea comúnmente agua como disolvente malo en la formación de los presentes materiales nanoestructurados, aunque también pueden usare otros disolventes, por ejemplo, hexano, como disolvente malo.

Sin querer restringirse a la teoría, se cree que el esquema general representado en el esquema I a continuación proporciona una ilustración del mecanismo básico mediante el cual se genera un estado excitado de emisión de un resto electroquimioluminiscente. Tal como se representa, se generan especies radicales que tienen un electrón más o un electrón menos (con respecto a su estado normal) y posteriormente pueden combinarse para crear un estado excitado del resto quimioluminiscente.

Esquema I $R - e^- \rightarrow R^{\cdot}+$

$R + e^- \rightarrow R^{\cdot -}$

$R^{\cdot}+ + R^{\cdot}- \rightarrow R^* + R$

Se sintetizaron nanocintas de Ru-LCE (NB) mediante un método de reprecipitación sencillo a partir de una disolución al 4% p/v en MeCN a temperatura ambiente. Tales NB de Ru-LCE son normalmente insolubles en agua, pero son solubles en disolventes orgánicos polares que son miscibles con agua. Por ejemplo, $[Ru(bpy)_2(4,4'-(C(O)O(CH_2)_{14}CH_3)_2\text{-bpy})]^{2+}$ es insoluble en agua, pero es muy soluble en o bien acetonitrilo o bien acetona. En una preparación típica, se inyectaron rápidamente 4 μl de esta disolución en 10 ml de agua altamente pura (Millipore) bajo agitación ultrasónica a temperatura ambiente durante 30 s, seguido por envejecimiento en un vial cerrado a temperatura ambiente durante 24 h. La disolución coloidal resultante es una disolución naranja-amarillenta transparente que presenta dispersión de luz fuerte, confirmando la formación de nanopartículas. Con un tiempo de envejecimiento creciente (un mes), sedimentó una pequeña cantidad de precipitado de nanocintas naranjas-amarillas. Las nanocintas pueden dispersarse fácilmente y puede volverse a obtener una disolución clara mediante agitación ligera.

Las imágenes de SEM y TEM, tal como se muestra en la figura 2A y la figura 2B, indican que las partículas obtenidas tras un envejecimiento de tiempo prolongado tienen una morfología larga, recta, de tipo cinta con anchuras de aproximadamente 200 a 1000 nm y longitudes de aproximadamente 5 a 15 mm. También puede usarse FESEM (microscopía electrónica de barrido de emisión de campo) para caracterizar las NB. El grosor de las NB oscila entre alrededor de 50 y 120 nm, tal como se estima a partir de la imagen de SEM de la cara lateral de las NB y las razones de anchura con respecto a grosor son de aproximadamente 5 a 10. El patrón de difracción electrónica de área seleccionada (SAED) (recuadro en la figura 2B) revela que las NB así preparadas tienen estructuras monocristalinas y crecen a lo largo de la dirección [001]. Esto también se confirma mediante el contraste del patrón de difracción de rayos X (XRD) que indica la orientación preferente de los planos de red cristalina [001] en las NB. Las señales de XRD fuertes y nítidas sugieren una estructura altamente cristalina de NB de Ru-LCE, y el pico principal a 2,231º corresponde al plano de crecimiento preferente [001] del monocristal de Ru-LCE. Según el volumen de la célula y el tamaño de NB (10000 x 500 x 100 nm), una NB individual contiene aproximadamente 3,0 x 10^8 moléculas de Ru-LCE. En comparación con los nanoalambres habituales con una sección transversal redonda, una estructura de nanocinta debe proporcionar una superficie de contacto de área grande cuando se deposita sobre los electrodos, facilitando así la fabricación de dispositivos con contacto eléctrico mejorado.

Las muestras recogidas 5 min tras la inyección consistían en aproximadamente NP de un tamaño de aproximadamente 10 nm de Ru-LCE amorfo (véase la figura 3A y la figura 3B), que posteriormente se agregaron en el plazo de 30 min para dar una estructura de tipo cinta (véase la figura 3C). La prolongación del tiempo de envejecimiento hasta 2 horas dio como resultado un aumento progresivo en la longitud de las NB (véase la figura 3D). El análisis de difracción electrónica indicó que la NB formada inicialmente era Ru-LCE amorfo. La prolongación del tiempo de envejecimiento hasta 24 h dio como resultado un aumento progresivo en la cristalinidad de las NB. Sin querer restringirse a la teoría, según las observaciones anteriores, la formación de NB monocristalinas de Ru-LCE implica un proceso de múltiples etapas que implica nucleación, ensamblaje orientado y reestructuración de elementos estructurales de NP formados inicialmente, en vez de crecimiento directo a partir de la disolución según los mecanismos clásicos de cristalización.

La figura 4A muestra una comparación de los espectros de emisión de fluorescencia y absorción de NB de Ru-LCE y los correspondientes monómeros en disolución. El monómero en MeCN presenta una banda de absorción de transferencia de carga intramolecular ancha (de 360 a 480 nm), que se asigna a la transición de transferencia de carga de metal a ligando (MLCT) (es decir, $d\pi \rightarrow \pi^*$). La transición de transferencia de carga de metal a ligando de menor energía de las NB en disolución acuosa presenta un desplazamiento al azul obvio (desde 480 hasta 458 nm) en comparación con monómeros en acetonitrilo, lo que sugiere la formación de agregados de H en las NB debido a las interacciones fuertes de apilamiento π. Los espectros de fluorescencia de las NB también muestran un desplazamiento hipsocrómico similar que los espectros de absorción y una emisión de fluorescencia potenciada (a aproximadamente 640 nm), lo que implica que las NB son agregados de J, en donde las moléculas se disponen en una dirección de cabeza a cola, induciendo una eficacia de fluorescencia relativamente alta. La imagen de fluorescencia de una NB puede observarse fácilmente (véase la figura 4B). Sin querer restringirse a la teoría, se cree que la coexistencia de dos clases de agregados (de tipo H y J) conduce a la formación espontánea de las NB.

Se usaron dos métodos para observar la ECL de las NB en un ultramicroelectrodo (UME) o un electrodo de platino.

En primer lugar, la ECL de las NB dispersadas en agua que contenía tripropilamina 0,1 M (TPrA) como correactante y tampón fosfato 0,1 M pudo observarse fácilmente durante los barridos (desde 0 hasta 1,5 V) o los pulsos (de -1,25 a 1,25 V) de potencial (véase la figura 5A y la figura 5B). En segundo lugar, también se observó la curva de ECL de una NB de Ru-LCE individual depositada sobre un UME de platino (véase la figura 6A). El voltamograma cíclico (CV) muestra una onda anódica irreversible bastante amplia debido a la oxidación directa de TPrA, y la NB de Ru-LCE individual tiene poca influencia sobre el voltamograma cíclico (CV). La corriente de oxidación comienza a picos de aproximadamente 1,1 V a un potencial de aproximadamente 1,38 V, y es irreversible. Tal comportamiento de oxidación anódica es similar al de TPrA en disoluciones acuosas neutras en un electrodo de carbono vítreo. El mecanismo sigue probablemente el de $Ru(bpy)_3^{2+}$ en disolución, en donde el barrido del potencial positivo del electrodo de 1,25 V, provoca la oxidación de $Ru(bpy)_2(bpy\text{-}C_{16}Est)^{2+}$ en la NB absorbida para dar la forma +3, o bien directamente, o bien por medio de cationes de radicales de TPrA (ilustrado en los esquemas IIA y IIB a continuación). La reacción de la forma +3 con o bien el radical de TPrA reductor o bien la forma +1 produce el estado excitado. La intensidad de emisión de ECL aumenta con el potencial creciente. Es de destacar que no se observa ECL para una disolución acuosa que está saturada con $Ru(bpy)_2(bpy\text{-}C_{16}Est)^{2+}$ preparado poniendo un portaobjetos con una película de este material (colado a partir de una disolución de acetonitrilo) en la disolución durante la noche con agitación suave.

Esquema IIA $R - e^- \rightarrow R^{\cdot+}$

$Pr_2NCH_2CH_2CH_3 - e^- \rightarrow Pr_2NCH_2CH_3CH_2^{\cdot+}$

$Pr_2NCH_2CH_2CH_3^{\cdot+} \rightarrow Pr_2NC^{\cdot}HCH_3CH_3 + H^+$

$R^{\cdot+} + Pr_2NC^{\cdot}HCH_2CH_3 \rightarrow R^* + Pr_2N^+CHCH_2CH_3$

Esquema IIB $R + Pr_2NC^{\cdot}HCH_3CH_3 \rightarrow R^{\cdot-} + Pr_2N{+}CHCH_2CH_3$

$R^{\cdot+} + R^{\cdot-} \rightarrow R^* + R$

Se prepararon NC de rubreno mediante un método de reprecipitación tal como sigue: se inyectaron rápidamente 100 µl de disolución de rubreno 5 mM en tetrahidrofurano (THF) en 10 ml de agua desionizada bajo una atmósfera de argón con agitación vigorosa a temperatura ambiente. Entonces se filtró la disolución de NC de color rojo pálido claro resultante con un filtro de 0,22 µm. El radio hidrodinámico de NP de rubreno en agua determinado mediante dispersión de luz dinámica (DLS) es de aproximadamente 20 nm y hay una pequeña cantidad de agregados de alrededor de 75-100 nm de tamaño. La cinética de la formación de los agregados se determina por la interacción entre las partículas, el tamaño de partícula y las condiciones de flujo dentro del sistema. La adición de agentes de ocupación de extremos, tales como un tensioactivo de bajo peso molecular o polímeros neutros o cargados puede afectar drásticamente al proceso de formación y/o agregación de las NP. También puede estabilizar las partículas. Por ejemplo, la adición de Triton X-100 en agua favorece la formación de NC de rubreno muy pequeños (~ 4 nm), y la distribución de tamaño es estrecha.

La ECL de los NC de rubreno dispersados en agua que contenía tripropilamina 0,1 M (TPrA) como correactante y tampón fosfato 0,1 M pudo observarse fácilmente durante barridos (desde 0 hasta 0,9 V frente a Ag/AgCl) (véase la figura 7B) o pulsos (de 0 a 1,1 V) de potencial (véase la figura 7A, la figura 7C y la figura 7D). La señal de ECL durante el pulso de potencial puede observarse pero declina de manera abrupta con el tiempo dentro de la duración del pulso (más rápido que la velocidad de transferencia de masa limitada por la difusión normal) quizá debido a la inestabilidad de los iones de radicales generados en el medio acuoso. La CV en el intervalo de potencial mostrado en la figura 7B es indiferenciado, pero alcanzará un pico de oxidación limitado por la difusión de TPrA a un potencial positivo (se hace referencia a la figura 6A). Los NC de rubreno preparados en diferentes disolventes, tales como N,N-dimetilformamida, DMF, muestran una señal de ECL mucho más baja en la misma condición de preparación, es decir inyección de 100 µl de rubreno 5 mM en DMF en 10 ml de agua desionizada. El aumento de la concentración de NC de rubreno 5 veces aumenta la señal de ECL, lo que sugiere que la polaridad y solubilidad en disolvente del compuesto orgánico o iónico en disolventes podría afectar sutilmente al proceso de nanocristalización en el método de reprecipitación.

Se prepararon NC de DPA usando THF, DMF o MeCN como buen disolvente y agua como mal disolvente. El radio hidrodinámico promedio de NC de DPA usando MeCN como disolvente de disolución es de aproximadamente 45 nm, que es considerablemente más grande que las NC de rubreno descritas anteriormente. Una imagen de SEM de las NC de DPA revela que son nanovarillas polidispersas con diámetros de desde aproximadamente 20 hasta 100 nm y longitudes de desde aproximadamente 100 - 600 nm (véase la figura 1).

Se examinó la ECL de NC de DPA comparando TPrA u oxalato como correactante. No se observó intensidad de ECL significativa a partir de NC de DPA usando TPrA como correactante al tiempo que se detectó algo de ECL en presencia de oxalato tal como se muestra en la figura 8. Esto concuerda con informes publicados, que muestran que $CO_2^{\cdot-}$ (el producto intermedio activo producido durante la oxidación de oxalato) es más energético que TPrA (el producto intermedio activo generado a partir de la oxidación de TPrA). Se cree que el esquema representado en el

esquema 1 puede ilustrar el esquema mediante el cual un correactante (por ejemplo, TPrA) puede interaccionar con los compuestos luminiscentes activos redox en los presentes materiales nanoestructurados para generar una especie luminiscente en estado excitado que puede emitir luz.

Se han sintetizado materiales nanoestructurados orgánicos o iónicos (por ejemplo, compuestos organometálicos o complejos de metal-ligando), tales como NSM, y se ha examinado su ECL usando Ru-LCE, rubreno y DPA como indicadores y TPrA u oxalato como correactante. El experto en la técnica reconocerá que pueden usarse otras NP, correactantes y otras combinaciones de disolventes. Con el fin de reducir la corriente de fondo y potenciar la eficacia de ECL relativa, un electrodo o las NP puede someterse a determinados tratamientos de superficie. Pueden formarse electrodos adecuados a partir de materiales tales como ITO, oro, carbono vítreo, diamante dopado con boro, y otros materiales similares.

En general, “sustituido” se refiere a un grupo orgánico tal como se define a continuación (por ejemplo, un grupo alquilo) en el que uno o más enlaces a un átomo de hidrógeno contenido en el mismo se reemplazan por un enlace a átomos distintos de hidrógeno o distintos de carbono. Los grupos sustituidos también incluyen grupos en los que uno o más enlaces a átomo(s) de carbono o hidrógeno se reemplazan por uno o más enlaces, incluyendo dobles o triples enlaces, a un heteroátomo. Por tanto, un grupo sustituido estará sustituido con uno o más sustituyentes, a menos que se especifique otra cosa. En algunas realizaciones, un grupo sustituido está sustituido con 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 sustituyentes. Los ejemplos de grupos sustituyentes incluyen: halógenos (es decir, F, Cl, Br y I); hidroxilos; grupos alcoxilo, alquenoxilo, alquinoxilo, ariloxilo, aralquiloxilo, heterocicliloxilo y heterociclilalcoxilo; carbonilos (oxo); carboxilos; ésteres; éteres; uretanos; oximas; hidroxilaminas; alcoxiaminas; aralcoxiaminas; tioles; sulfuros; sulfóxidos; sulfonas; sulfonilos; sulfonamidas; aminas; N-óxidos; hidrazinas; hidrazidas; hidrazonas; azidas; amidas; ureas; amidinas; guanidinas; enaminas; imidas; isocianatos; isotiocianatos; cianatos; tiocianatos; iminas; grupos nitro; nitrilos (es decir, CN); y similares.

Los grupos alquilo incluyen grupos alquilo ramificados y de cadena lineal que tienen desde 1 hasta aproximadamente 20 átomos de carbono, y normalmente desde 1 hasta 12 carbonos o, en algunas realizaciones, desde 1 hasta 8, de 1 a 6 o de 1 a 4 átomos de carbono. Los grupos alquilo incluyen además grupos cicloalquilo tal como se definen a continuación. Los ejemplos de grupos alquilo de cadena lineal incluyen aquellos con desde 1 hasta 8 átomos de carbono tales como grupos metilo, etilo, n-propilo, n-butilo, n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo y n-octilo. Los ejemplos de grupos alquilo ramificados incluyen, pero no se limitan a, grupos isopropilo, iso-butilo, sec-butilo, terc-butilo, neopentilo, isopentilo y 2,2-dimetilpropilo. Los grupos alquilo sustituidos representativos pueden estar sustituidos una o más veces con sustituyentes tales como los enumerados anteriormente.

Los grupos arilo son hidrocarburos aromáticos cíclicos que no contienen heteroátomos. Los grupos arilo incluyen sistemas de anillos monocíclicos, bicíclicos y policíclicos. Por tanto, los grupos arilo incluyen, pero no se limitan a, grupos ciclopentadienilo, fenilo, azulenilo, heptalenilo, bifenilenilo, indacenilo, fluorenilo, fenantrenilo, trifenilenilo, pirenilo, naftacenilo, crisenilo, bifenilo, antracenilo, indenilo, indanilo, pentalenilo y naftilo. En algunas realizaciones, los grupos arilo contienen 5-14 carbonos, y en otros desde 5 hasta 12 o incluso 6-10 átomos de carbono en las partes de anillo de los grupos. Aunque la frase “grupos arilo” incluye grupos que contienen anillos condensados, tales como sistemas de anillos aromáticos-alifáticos condensados (por ejemplo, indanilo, tetrahidronaftilo, y similares), no incluye grupos arilo que tienen otros grupos, tales como grupos alquilo o halo, unidos a uno de los miembros de anillo. Más bien, grupos tales como tolilo se denominan grupos arilo sustituidos. Los grupos arilo sustituidos representativos pueden estar monosustituidos o sustituidos más de una vez. Por ejemplo, los grupos arilo monosustituidos incluyen, pero no se limitan a, grupos fenilo o naftilo sustituidos 2, 3, 4, 5 ó 6 veces, que pueden estar sustituidos con sustituyentes tales como los enumerados anteriormente.

Los grupos heterociclilo incluyen compuestos de anillo aromáticos (también denominados heteroarilo) y no aromáticos que contienen 3 o más miembros de anillo, de los cuales uno o más es un heteroátomo tal como, pero sin limitarse a, N, O y S. En algunas realizaciones, los grupos heterociclilo incluyen de 3 a 20 miembros de anillo, mientras que otros de tales grupos tienen de 3 a 6, de 3 a 10, de 3 a 12 o de 3 a 15 miembros de anillo. Los grupos heterociclilo abarcan sistemas de anillos insaturados, parcialmente saturados y saturados, tales como, por ejemplo, grupos imidazolilo, imidazolinilo e imidazolidinilo. La frase “grupo heterociclilo” incluye especies de anillos condensados incluyendo los que comprenden grupos aromáticos y no aromáticos condensados, tales como, por ejemplo, benzotriazolilo, 2,3-dihidrobenzo[1,4]dioxinilo y benzo[1,3]dioxolilo. La frase también incluye sistemas de anillos policíclicos en puente que contienen un heteroátomo tal como, pero sin limitarse a, quinuclidilo. Sin embargo, la frase no incluye grupos heterociclilo que tienen otros grupos, tales como grupos alquilo, oxo o halo, unidos a uno de los miembros de anillo. Más bien, estos se denominan “grupos heterociclilo sustituidos”. Los grupos heterociclilo incluyen, pero no se limitan a, grupos aziridinilo, azetidinilo, pirrolidinilo, imidazolidinilo, pirazolidinilo, tiazolidinilo, tetrahidrotiofenilo, tetrahidrofuranilo, dioxolilo, furanilo, tiofenilo, pirrolilo, pirrolinilo, imidazolilo, imidazolinilo, pirazolilo, pirazolinilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, tiazolinilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, piperidilo, piperazinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, tetrahidropiranilo, tetrahidrotiopiranilo, oxatiano, dioxilo, ditianilo, piranilo, piridilo, bipiridilo, pirimidinilo, piridazinilo, pirazinilo, triazinilo, dihidropiridilo, dihidroditiinilo, dihidroditionilo, homopiperazinilo, quinuclidilo, indolilo, indolinilo, isoindolilo, azaindolilo (pirrolopiridilo), indazolilo, indolizinilo, benzotriazolilo, bencimidazolilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, benztiazolilo, benzoxadiazolilo, benzoxazinilo, benzoditiinilo, benzoxatiinilo, benzotiazinilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzotiadiazolilo,

benzo[1,3]dioxolilo, pirazolopiridilo, imidazopiridilo (azabencimidazolilo), triazolopiridilo, isoxazolopiridilo, purinilo, xantinilo, adeninilo, guaninilo, quinolinilo, isoquinolinilo, quinolizinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, cinnolinilo, ftalazinilo, naftiridinilo, pteridinilo, tianaftalenilo, dihidrobenzotiazinilo, dihidrobenzofuranilo, dihidroindolilo, dihidrobenzodioxinilo, tetrahidroindolilo, tetrahidroindazolilo, tetrahidrobencimidazolilo, tetrahidrobenzotriazolilo, tetrahidropirrolopiridilo, tetrahidropirazolopiridilo, tetrahidroimidazopiridilo, tetrahidrotriazolopiridilo y tetrahidroquinolinilo. Los grupos heterociclilo sustituidos representativos pueden estar monosustituidos o sustituidos más de una vez, tal como, pero sin limitarse a, grupos piridilo o morfolinilo, que están sustituidos 2, 3, 4, 5 ó 6 veces, o disustituidos con diversos sustituyentes tales como los enumerados anteriormente.

Los grupos alcoxilo son grupos hidroxilo (-OH) en los que el enlace al átomo de hidrógeno se reemplaza por un enlace a un átomo de carbono de un grupo alquilo sustituido o no sustituido tal como se definió anteriormente. Los ejemplos de grupos alcoxilo lineales incluyen pero no se limitan a metoxilo, etoxilo, propoxilo, butoxilo, pentoxilo, hexoxilo, y similares. Los ejemplos de grupos alcoxilo ramificados incluyen pero no se limitan a isopropoxilo, sec-butoxilo, terc-butoxilo, isopentoxilo, isohexoxilo, y similares. Los ejemplos de grupos cicloalcoxilo incluyen pero no se limitan a ciclopropiloxilo, ciclobutiloxilo, ciclopentiloxilo, ciclohexiloxilo, y similares. Los grupos alcoxilo sustituidos representativos pueden estar sustituidos una o más veces con sustituyentes tales como los enumerados anteriormente.

Realizaciones ilustrativas

Mientras que se comentan la realización y el uso de diversas realizaciones de la presente invención en detalle en el presente documento, debe apreciarse que la presente invención proporciona muchos conceptos inventivos aplicables que pueden realizarse en una amplia variedad de contextos específicos. Las realizaciones específicas comentadas en el presente documento son meramente ilustrativas de modos específicos para realizar y usar la invención y no limitan el alcance de la invención.

Una realización proporciona un material particulado nanoestructurado formado a partir de un compuesto luminiscente activo redox. El material nanoestructurado tiene comúnmente al menos una dimensión que tiene un tamaño promedio no mayor de aproximadamente 250 nm, más comúnmente de no más de aproximadamente 150 nm y, en algunas realizaciones, al menos una dimensión puede tener un tamaño promedio no mayor de aproximadamente 100 nm. Por ejemplo, el material nanoestructurado puede ser una nanopartícula (“NP”) en la que una dimensión tiene un tamaño promedio mayor de aproximadamente 200 nm. Otros ejemplos incluyen nanocristales (“NC”) en los que, normalmente, al menos dos y, a menudo tres, dimensiones no son de más de aproximadamente 200 nm y comúnmente no más de aproximadamente 100 nm. Otras realizaciones pueden incluir nanocintas (“NB”), que tienen una morfología larga, recta y de tipo cinta, con una anchura de al menos aproximadamente 150 nm y un grosor de aproximadamente 50 a 125 nm. Tales nanocintas pueden tener anchuras de aproximadamente 200 a 1000 nm y longitudes de aproximadamente 5 a 15 μm, y normalmente tienen una razón de anchura con respecto a grosor de aproximadamente 5 a 10 y pueden tener una razón de aspecto de aproximadamente 10 o más. En todavía otras realizaciones, el material nanoestructurado puede ser una nanovarilla que tiene un diámetro promedio de no más de aproximadamente 250 nm, comúnmente de aproximadamente 10 a 150 nm, y una longitud promedio de aproximadamente 50 nm a 1 micrómetro.

Una realización proporciona un método para detectar un analito en una disolución de muestra a la que se le han añadido materiales particulados nanoestructurados luminiscentes. El método incluye poner en contacto la disolución de muestra con una célula electroquímica que contiene dos o más electrodos en comunicación con la disolución; y generar una o más propiedades de ECL a través de una interacción de los materiales nanoestructurados luminiscentes, la muestra líquida y dos o más de los electrodos; y medir al menos una propiedad de ECL generada por la interacción. Los materiales nanoestructurados luminiscentes incluyen un compuesto orgánico u organometálico luminiscente activo redox.

Otra realización proporciona un método de determinación de la presencia de un analito de interés que comprende:

(a) poner en contacto el analito con un resto químico en condiciones adecuadas para formar una mezcla de reactivo; en el que el resto químico incluye un material particulado nanoestructurado que comprende un compuesto orgánico u organometálico luminiscente activo redox;

(b) inducir la emisión de radiación electromagnética por el resto químico exponiendo la mezcla de reactivo a energía química o electroquímica; y

(c) detectar la radiación electromagnética emitida y determinar de ese modo la presencia del analito de interés.

Los compuestos luminiscentes activos redox adecuados, que pueden usarse para formar los presentes materiales nanoestructurados, pueden seleccionarse de una variedad de compuestos luminiscentes iónicos y/u orgánicos. Los ejemplos incluyen hidrocarburos aromáticos luminiscentes, por ejemplo, hidrocarburos aromáticos luminiscentes sustituidos con fenilo tales como compuestos aromáticos policíclicos sustituidos con fenilo, y complejos que contienen metal luminiscente, por ejemplo, complejos polidentados heteroaromáticos de un ión de metal tal como

rutenio.

Los ejemplos de compuestos aromáticos policíclicos sustituidos con fenilo adecuados, a menudo en forma de materiales luminiscentes nanoestructurados (que pueden estar en forma de nanocristales o nanovarillas), incluyen rubreno ("Rub"), difenilantraceno ("DPA") y otros compuestos aromáticos policíclicos sustituidos con fenilo luminiscentes. Los complejos polidentados heteroaromáticos incluyen compuestos aromáticos con uno o más heteroátomos en los que el complejo puede unirse a más de un metal o puede unirse más de una vez a un único metal.

Los ejemplos de complejos que contienen metal luminiscente adecuados incluyen complejos polidentados de un ión de metal tal como rutenio, osmio, renio, cerio, europio, terbio y/o iterbio. Los ejemplos particulares de complejos polidentados heteroaromáticos adecuados incluyen restos que contienen bis(2,2'-bipiridil)rutenio (II) o tris(2,2'-bipiridil)rutenio (II) sustituidos, en los que al menos uno de los grupos bipiridilo ("bpy") está sustituido con uno o más grupos alquilo de cadena larga.

Los grupos bpy sustituidos con alquilo de cadena larga adecuados ("LCsub-bpy") incluyen: 4-metil-4'-alcanoilaminometil-2,2'-bipiridinas; 4,4'-bis-(alcoximetil)bipiridinas; 4,4'-bis-(alquilmercaptometil)bipiridinas; ésteres alquílicos de ácidos omega-(4-metil-2,2-bipiridin-4'-il)-alcanoicos; 4,4'-bis-(carboxilato) de di-n-alquilo-bipiridinas; diésteres n-alquílicos de 4,4'-bis-(carboxi)-2,2-bipiridinas; y diésteres ácido graso de cadena larga con 4,4'-bis-(hidroximetil)bipiridinas.

Los ejemplos de complejos de metal luminiscentes adecuados, incluyendo diésteres n-alquílicos de 4,4'-bis-(carboxi)-2,2-bipiridinas, incluyen sales de Ru (II)-bis(2,2'-bipiridin)(di-n-alquil-4,4'-bis-(carboxilato)-bipiridina)$^{2+}$, por ejemplo, sales de Ru (II)-bis(2,2'-bipiridin)(di-n-pentadecil-4,4'-bis-(carboxilato)-bipiridina)$^{2+}$ de u otros complejos de rutenio relacionados, en donde el grupo éster alquílico contiene cada uno de aproximadamente 10 a 25 átomos de carbono. Los ejemplos adecuados de tales grupos éster alquílico incluyen tales ésteres de alcohol estearílico, alcohol palmitílico y alcohol dodecílico.

Los ejemplos de complejos de metal luminiscentes adecuados basados en 4-metil-4'-alcanoilaminometil-2,2'-bipiridinas incluyen sales de Ru (II)-bis(2,2'-bipiridin)(4-metil-4'-alcanoilaminometil-2,2'-bipiridina)$^{2+}$, por ejemplo, sales de Ru (II)-bis(2,2'-bipiridin)(4-metil-4'-estearoilaminometil-2,2'-bipiridina)$^{2+}$.

Los ejemplos de complejos de metal luminiscentes adecuados basados en 4,4'-bis-(alcoximetil)bipiridinas incluyen sales de Ru (II)-bis(2,2'-bipiridin)(4,4'-bis-(n-alcoximetil)bipiridina)$^{2+}$ por ejemplo, sales de Ru (II)-bis(2,2'-bipiridin)(4,4'-bis-(n-hexadeciloximetil)bipiridina)$^{2+}$.

Los ejemplos de complejos de metal luminiscentes adecuados basados en 4,4'-bis-(alquilmercaptometil)bipiridinas incluyen sales de Ru (II)-bis(2,2'-bipiridin)(4,4'-bis-(n-alquilmercaptometil)bipiridina)$^{2+}$ por ejemplo, sales de Ru (II)-bis(2,2'-bipiridin)(4,4'-bis-(nalquilmercaptometil)bipiridina)$^{2+}$.

Otros ejemplos de complejos de metal luminiscentes adecuados basados en ésteres alquílicos de ácidos omega-(4-metil-2,2-bipiridin-4'-il)-alcanoicos incluyen sales de Ru (II)-bis(2,2'-bipiridin)éster alquílico de ácido (4-metil-2,2-bipiridin-4'-il)-alcanoico)$^{2+}$, por ejemplo, sales de Ru (II)-bis(2,2'-bipiridina)éster decílico de ácido 4-(4-metil-2,2-bipiridin-4'-il)-butírico)$^{2+}$. Los ejemplos adicionales incluyen sales de Ru (II)-bis(2,2'-bipiridin)(éster di-n-alcanoílico de 4,4'-bis-(hidroximetil)bipiridina)$^{2+}$, por ejemplo, sales de Ru (II)-bis(2,2'-bipiridin)(éster di-estearoílico de 4,4'-bis-(hidroximetil)bipiridina)$^{2+}$; y sales de Ru (II)-bis(2,2'-bipiridina)(éster di-palmitoílico de 4,4'-bis-(hidroximetil)bipiridina)$^{2+}$.

Otra realización proporciona un método para detectar la presencia de un analito de interés en una muestra líquida, comprendiendo el método:

(a) poner en contacto la muestra con un reactivo que comprende un material nanoestructurado; en el que puede inducirse repetidamente la electroquimioluminiscencia del reactivo y el material nanoestructurado comprende un compuesto iónico y/u orgánico luminiscente activo redox;

(b) inducir repetidamente la electroquimioluminiscencia del reactivo; y

(c) detectar la presencia de luminiscencia emitida detectando de ese modo la presencia del analito de interés en la muestra. El método puede incluir también poner en contacto la muestra con el reactivo y un correactante de ECL, tal como una sal de oxalato (por ejemplo, oxalato de sodio) o una trialquilamina (por ejemplo, tripropilamina). Por ejemplo, en muchas realizaciones del método, el material nanoestructurado puede incluir un complejo de metal polidentado (tal como un complejo de rutenio-bipiridilo) y correactante de trialquilamina (por ejemplo, tripropilamina). En otras realizaciones del método, el material nanoestructurado puede incluir un hidrocarburo aromático policíclico sustituido con fenilo (tal como rubreno) y correactante de trialquilamina (por ejemplo, tripropilamina). En todavía otras realizaciones del método, el material nanoestructurado puede incluir un hidrocarburo aromático policíclico sustituido con fenilo (tal como difenilantraceno) y un correactante de sal de oxalato (por ejemplo, oxalato de sodio).

Otra realización proporciona un método para determinar cuantitativamente la cantidad de un analito de interés presente en una muestra líquida, comprendiendo el método:

(a) poner en contacto la muestra con un reactivo que comprende un material nanoestructurado; en el que puede inducirse repetidamente la electroquimioluminiscencia del reactivo; (b) inducir repetidamente la electroquimioluminiscencia del reactivo; y (c) determinar la cantidad de luminiscencia emitida y de ese modo determinar cuantitativamente la cantidad del analito de interés presente en la muestra. El material nanoestructurado incluye normalmente un compuesto iónico y/u orgánico luminiscente activo redox. El método puede incluir también poner en contacto la muestra con el reactivo y un correactante de ECL, tal como oxalato de sodio o trialquilamina (por ejemplo, tripropilamina).

Otra realización proporciona un método para detectar la presencia de un analito de interés en una muestra líquida, comprendiendo el método:

(a) poner en contacto la muestra con un reactivo que comprende un material nanoestructurado; en el que puede inducirse repetidamente la electroquimioluminiscencia del reactivo y el material nanoestructurado comprende un compuesto orgánico y/u organometálico luminiscente activo redox;

(b) inducir repetidamente la electroquimioluminiscencia del reactivo; y

(c) detectar la presencia de luminiscencia emitida detectando de ese modo la presencia del analito de interés en la muestra. El método puede incluir también poner en contacto la muestra con el reactivo y un correactante de ECL, tal como una sal de oxalato (por ejemplo, oxalato de sodio) o trialquilamina (por ejemplo, tripropilamina).

Otra realización proporciona un método para determinar cuantitativamente la cantidad de un analito de interés presente en una muestra líquida, comprendiendo el método:

(a) poner en contacto la muestra con un reactivo que comprende un material nanoestructurado; en el que puede inducirse repetidamente la electroquimioluminiscencia del reactivo; (b) inducir repetidamente la electroquimioluminiscencia del reactivo; y (c) determinar la cantidad de luminiscencia emitida y determinar cuantitativamente de ese modo la cantidad del analito de interés presente en la muestra. El material nanoestructurado incluye normalmente un compuesto iónico y/u orgánico luminiscente activo redox. El método puede incluir también poner en contacto la muestra con el reactivo y un correactante de ECL, tal como oxalato de sodio o trialquilamina (por ejemplo, tripropilamina).

Otra realización proporciona un método de determinación de la presencia de un analito de interés en una muestra que comprende:

(a) poner en contacto la muestra con un resto químico en condiciones adecuadas para formar una mezcla de reactivo; en el que el resto químico incluye un material particulado nanoestructurado que comprende un compuesto luminiscente activo redox;

(b) inducir la radiación electromagnética del resto químico; y

(c) detectar la radiación electromagnética emitida y determinar de ese modo la presencia del analito de interés;

en el que inducir la radiación electromagnética del resto químico comprende exponer la mezcla de reactivo a energía química, electroquímica y/o electromagnética;

y el compuesto luminiscente activo redox incluye un hidrocarburo aromático policíclico luminiscente, tal como un hidrocarburo aromático policíclico sustituido con fenilo. La mezcla de reacción puede incluir también un correactante de ECL, tal como oxalato de sodio, persulfato, peróxido de benzoílo, o una trialquilamina (por ejemplo, tripropilamina).

El material nanoestructurado que comprende hidrocarburo aromático policíclico luminiscente puede estar en forma de nanopartículas luminiscentes activas redox que tienen un radio hidrodinámico promedio de no más de aproximadamente 100 nm. Tales nanopartículas pueden formarse a partir de un hidrocarburo aromático policíclico sustituido con fenilo tal como rubreno. Por ejemplo, los nanocristales formados a partir de hidrocarburos aromáticos policíclicos sustituidos con fenilo pueden tener un radio hidrodinámico de no más de aproximadamente 50 nm (tal como se determina como una dispersión en agua determinado mediante dispersión de luz dinámica (DLS)) que puede incluir también una pequeña cantidad de agregados de nanocristales de alrededor de 75-100 nm de tamaño. En otras realizaciones, el material nanoestructurado que comprende hidrocarburo aromático policíclico luminiscente puede estar en forma de nanovarillas, por ejemplo, nanovarillas que tienen un diámetro de aproximadamente 10 a 150 nm y una longitud de aproximadamente 50 nm a 1 micrómetro. Tales nanovarillas pueden formarse a partir de un hidrocarburo aromático policíclico sustituido con fenilo tal como difenilantraceno. Las nanovarillas que pueden

formarse con difenilantraceno pueden tener un diámetro de aproximadamente 20 a 100 nm y una longitud de aproximadamente 100 nm a 600 nm.

Un método de determinación de la presencia de un analito de interés en una muestra que comprende:

(a) poner en contacto la muestra con un reactivo químico en condiciones adecuadas para formar una mezcla de reactivo; en el que el reactivo químico incluye un material particulado nanoestructurado que comprende un compuesto luminiscente activo redox

(b) inducir la emisión de radiación electromagnética del reactivo químico; y

(c) detectar la radiación electromagnética emitida y determinar de ese modo la presencia del analito de interés;

en el que inducir la emisión de radiación electromagnética del reactivo químico comprende exponer la mezcla de reactivo a energía química, electroquímica y/o electromagnética; y el compuesto luminiscente activo redox incluye un complejo de metal polidentado, tal como un complejo de metal que contiene bipiridilo. La mezcla de reacción puede incluir también un correactante de ECL, tal como sal de oxalato, sal de persulfato, peróxido de benzoílo, o una trialquilamina (por ejemplo, tripropilamina).

El material particulado nanoestructurado que comprende el compuesto luminiscente activo redox puede incluir un complejo de metal polidentado luminiscente, activo redox, tal como un complejo de metal polidentado heteroaromático luminiscente. Los ejemplos de complejos de metal polidentados heteroaromáticos luminiscentes adecuados pueden incluir un ión de rutenio, osmio, renio, cerio, europio, terbio y/o iterbio. Los materiales nanoestructurados adecuados que comprenden complejos de metal polidentados incluyen nanocintas luminiscentes formadas a partir de complejos de metal polidentados heteroaromáticos que contienen uno o más ligandos sustituidos con alquilo de cadena larga. Un ejemplo de tales materiales nanoestructurados son nanocintas formadas a partir de complejos de rutenio polidentados heteroaromáticoes que incluyen al menos un ligando de bipiridina sustituido con alquilo de cadena larga. Tales nanocintas pueden tener anchuras de aproximadamente 200 a 1000 nm y longitudes de aproximadamente 5 a 15 μm. El grosor de estas nanocintas puede oscilar entre alrededor de 50 y 120 nm (tal como se caracteriza mediante microscopía electrónica de barrido de emisión de campo).

Otras realizaciones se refieren a métodos que emplean materiales particulados nanoestructurados formados a partir de hidrocarburos aromáticos policíclicos luminiscentes, activos redox. Tales materiales particulados nanoestructurados tienen comúnmente al menos una dimensión que tiene un tamaño promedio no mayor de aproximadamente 250 nm y, en algunos casos, no mayor de aproximadamente 100 nm.

Se entenderá que las realizaciones particulares descritas en el presente documento se muestran a modo de ilustración y no como limitaciones de la invención. Las principales características de esta invención pueden emplearse en diversas realizaciones sin apartarse del alcance de la invención.

El uso de la palabra “un” o “una” cuando se usa conjuntamente con el término “que comprende” en las reivindicaciones y/o la memoria descriptiva puede significar “uno”, pero también concuerda con el significado de “uno o más”, “al menos uno” y “uno o más de uno”. El uso del término “o” en las reivindicaciones se usa queriendo decir “y/o” a menos que se indique explícitamente que se refiere a las alternativas sólo o las alternativas son mutuamente excluyentes, aunque la divulgación apoya una definición que se refiere a sólo las alternativas e “y/o”. A lo largo de toda esta solicitud, el término “aproximadamente” se usa para indicar que un valor incluye la variación de error inherente para el dispositivo, empleándose el método para determinar el valor, o la variación que existe entre los sujetos de estudio.

El término “o combinaciones de los mismos” tal como se usa en el presente documento se refiere a todas las permutaciones y combinaciones de los puntos enumerados que preceden al término. Por ejemplo, “A, B, C, o combinaciones de los mismos” pretende incluir al menos uno de: A, B, C, AB, AC, BC o ABC, y si el orden es importante en un contexto particular, también BA, CA, CB, CBA, BCA, ACB, BAC o CAB. Continuando con este ejemplo, se incluyen expresamente combinaciones que contienen repeticiones de uno o más puntos o términos, tal como BB, AAA, MB, BBC, AAABCCCC, CBBAAA, CABABB, y así sucesivamente. El experto en la técnica entenderá que normalmente no hay ningún límite en el número de puntos o términos en cualquier combinación, a menos que resulte evidente lo contrario a partir del contexto.

REIVINDICACIONES

1. Método de determinación de la presencia de un analito de interés en una muestra que comprende:

(a) formar una mezcla de reactivo, que comprende un reactivo químico y la muestra; en el que el reactivo químico comprende nanopartículas de un compuesto iónico y/u orgánico luminiscente, activo redox;

(b) inducir la emisión de luz por el reactivo químico; y

(c) detectar la luz emitida;

en el que inducir la emisión de luz por el reactivo químico comprende exponer la mezcla de reactivo a energía electroquímica.

2. Método según la reivindicación 1, en el que inducir la emisión de luz por el reactivo químico comprende inducir repetidamente la electroquimioluminiscencia del compuesto iónico y/u orgánico luminiscente, activo redox.

3. Método según la reivindicación 1, en el que la mezcla de reactivo comprende además un correactante de quimioluminiscencia electrogenerada.

4. Método según la reivindicación 1, en el que el material nanoestructurado comprende nanopartículas de un hidrocarburo aromático policíclico luminiscente sustituido con fenilo.

5. Método según la reivindicación 4, en el que las nanopartículas luminiscentes comprenden rubreno o 9,10-difenilantraceno.

6. Método según la reivindicación 1, en el que el compuesto iónico y/u orgánico luminiscente, activo redox comprende un complejo de metal polidentado luminiscente, activo redox.

7. Método según la reivindicación 6, en el que el compuesto iónico luminiscente, activo redox comprende un complejo de rutenio polidentado heteroaromático, luminiscente.

8. Método según la reivindicación 7, en el que el complejo de rutenio polidentado heteroaromático, luminiscente incluye al menos un ligando de bipiridina sustituido con alquilo de cadena larga.

9. Método según la reivindicación 6, en el que el compuesto iónico luminiscente, activo redox es un complejo de metal polidentado heteroaromático que comprende un ión de rutenio, osmio, renio, cerio, europio, terbio y/o iterbio.

10. Método según la reivindicación 1, en el que el material nanoestructurado comprende nanocintas luminiscentes de un complejo de rutenio polidentado heteroaromático, que incluye uno o más ligandos sustituidos con alquilo de cadena larga.

11. Método según la reivindicación 6, en el que la mezcla de reactivo comprende además correactante de trialquilamina; e inducir la emisión de luz por el reactivo químico comprende inducir repetidamente la electroluminiscencia del compuesto iónico luminiscente, activo redox.

12. Método según la reivindicación 1, en el que el reactivo químico comprende nanopartículas luminiscentes de un hidrocarburo aromático sustituido con fenilo, que tienen un radio hidrodinámico promedio de no más de 100 nm.

13. Método según la reivindicación 12, en el que las nanopartículas luminiscentes comprenden nanovarillas de 9,10-difenilantraceno luminiscentes que tienen un diámetro de 10 a 150 nm y una longitud de aproximadamente 50 nm a 1 micrómetros.

14. Método según la reivindicación 1, en el que el material nanoestructurado comprende nanopartículas que tienen al menos una dimensión que no es mayor de 250 nm.

15. Método según la reivindicación 1, en el que el material nanoestructurado comprende nanopartículas de un compuesto luminiscente iónico y/u orgánico que están libres de cualquier tensioactivo añadido.

FIG. 1

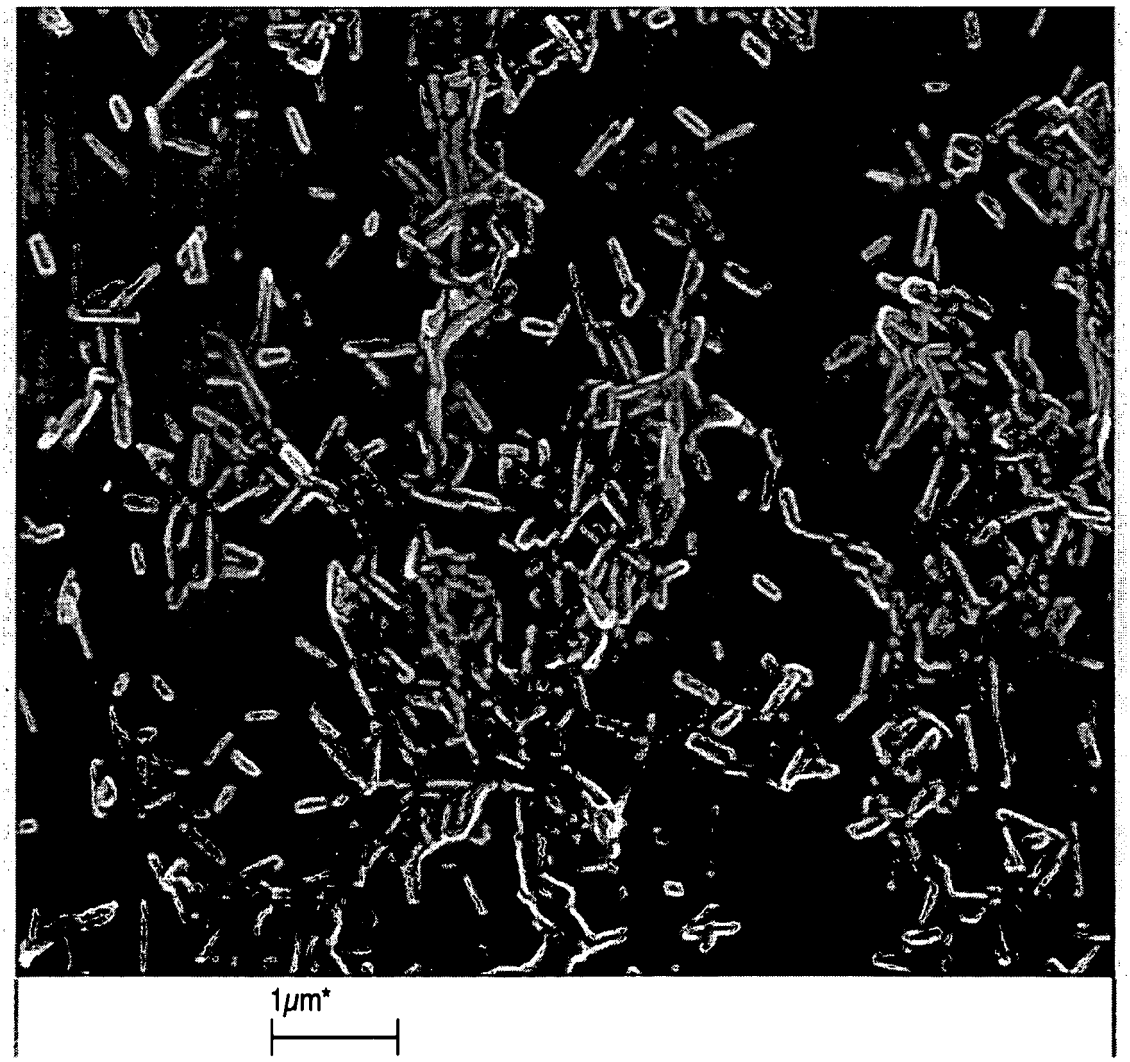


FIG. 2A

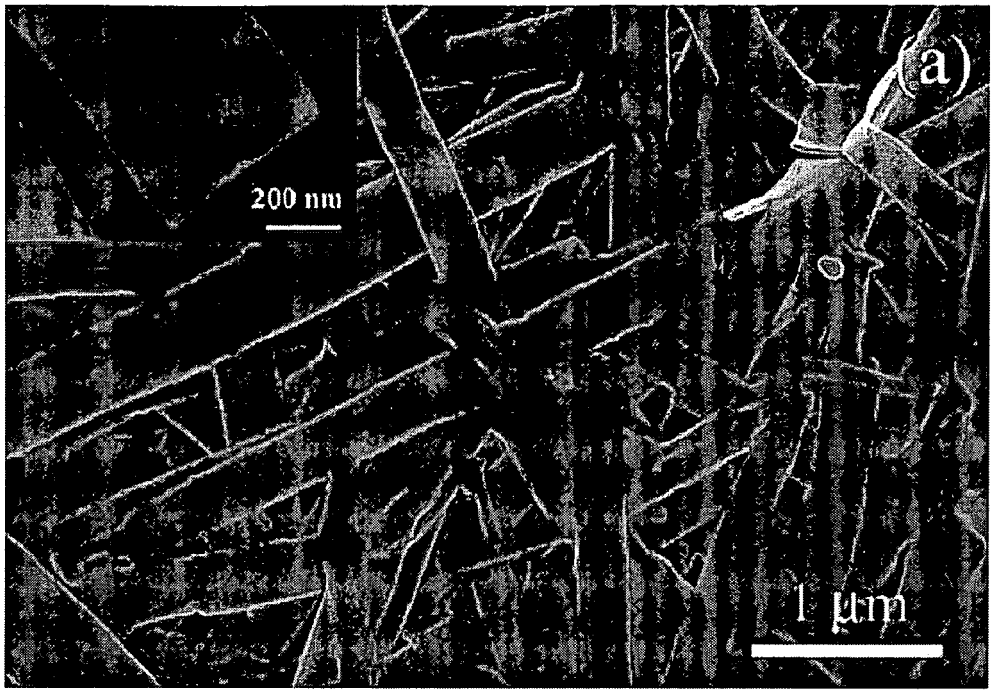


FIG. 2B

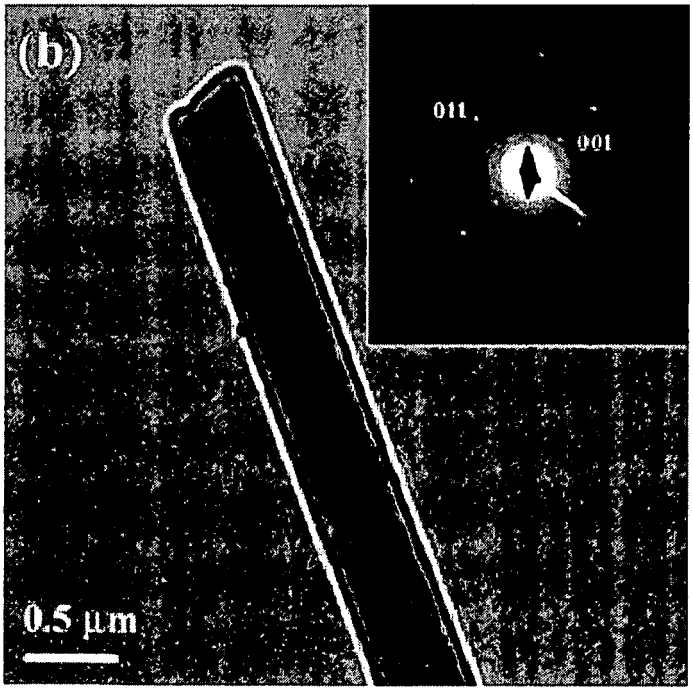


FIG. 3A

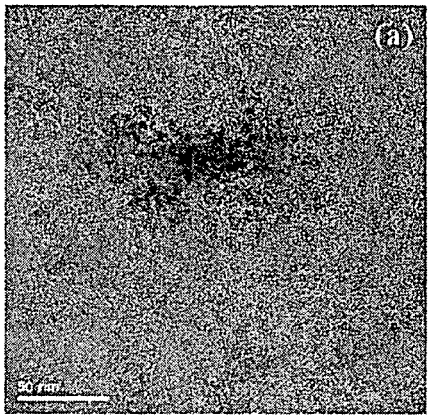


FIG. 3B

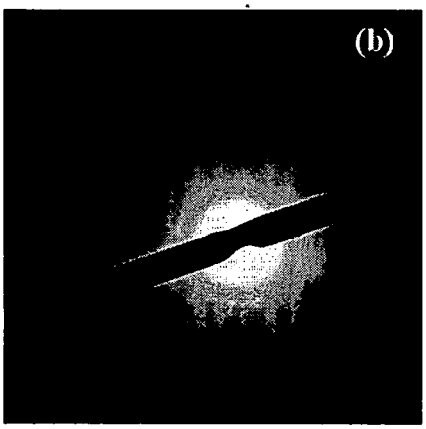


FIG. 3C

FIG. 3D

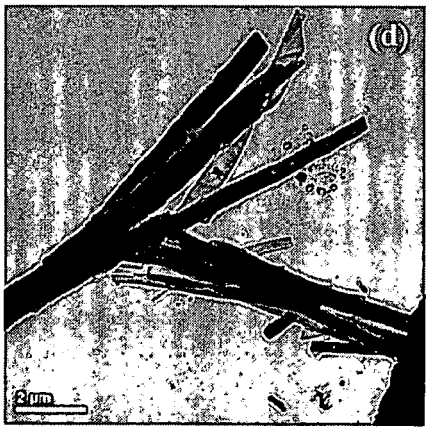


FIG. 4A

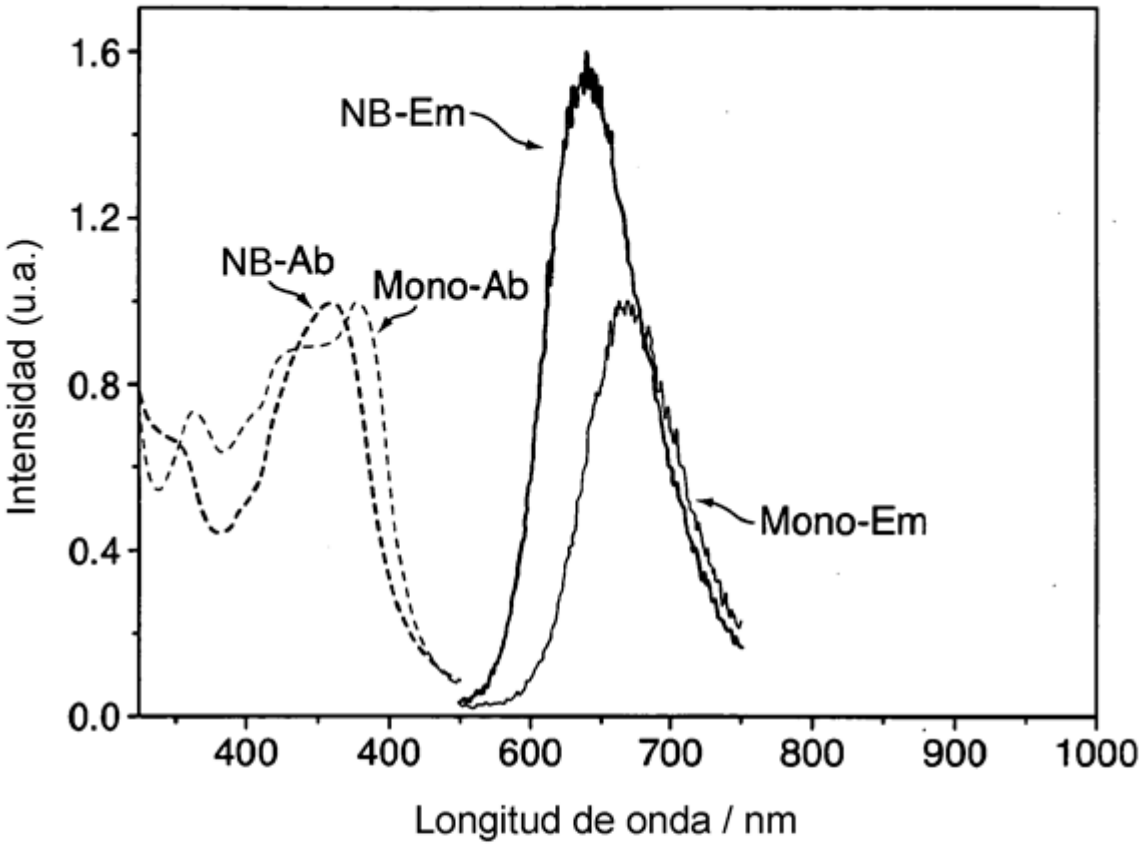

1.6
1.2
0.8
0.4
0.0
Intensidad (u.a.)
NB-Em
NB-Ab
Mono-Ab
Mono-Em
400
400
600
700
800
900
1000
Longitud de onda / nm

FIG. 4B

5 µm

FIG. 5A

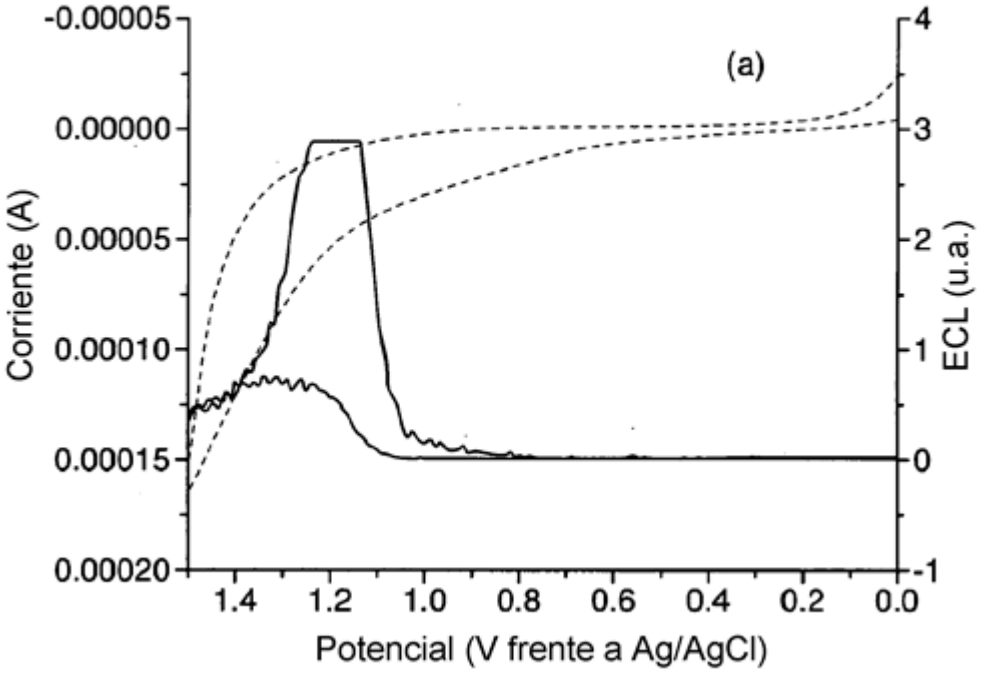

(a)
Corriente (A)
ECL (u.a.)
Potencial (V frente a Ag/AgCl)
-0.00005
0.00000
0.00005
0.00010
0.00015
0.00020
4
3
2
1
0
-1
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0

FIG. 5B

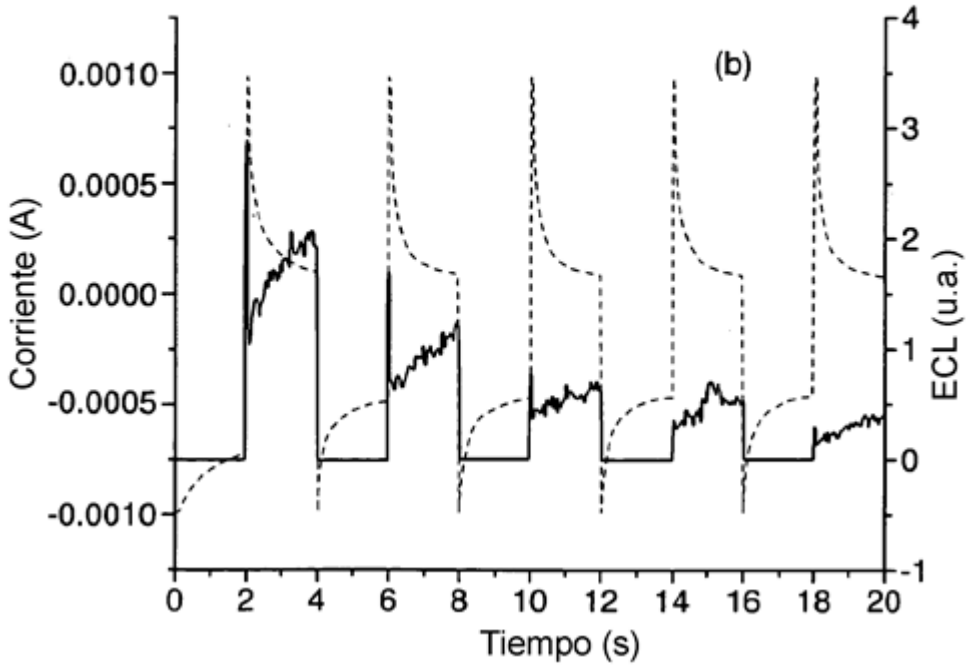

(b)
Corriente (A)
ECL (u.a.)
Tiempo (s)
0.0010
0.0005
0.0000
-0.0005
-0.0010
4
3
2
1
0
-1
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20

FIG. 6A

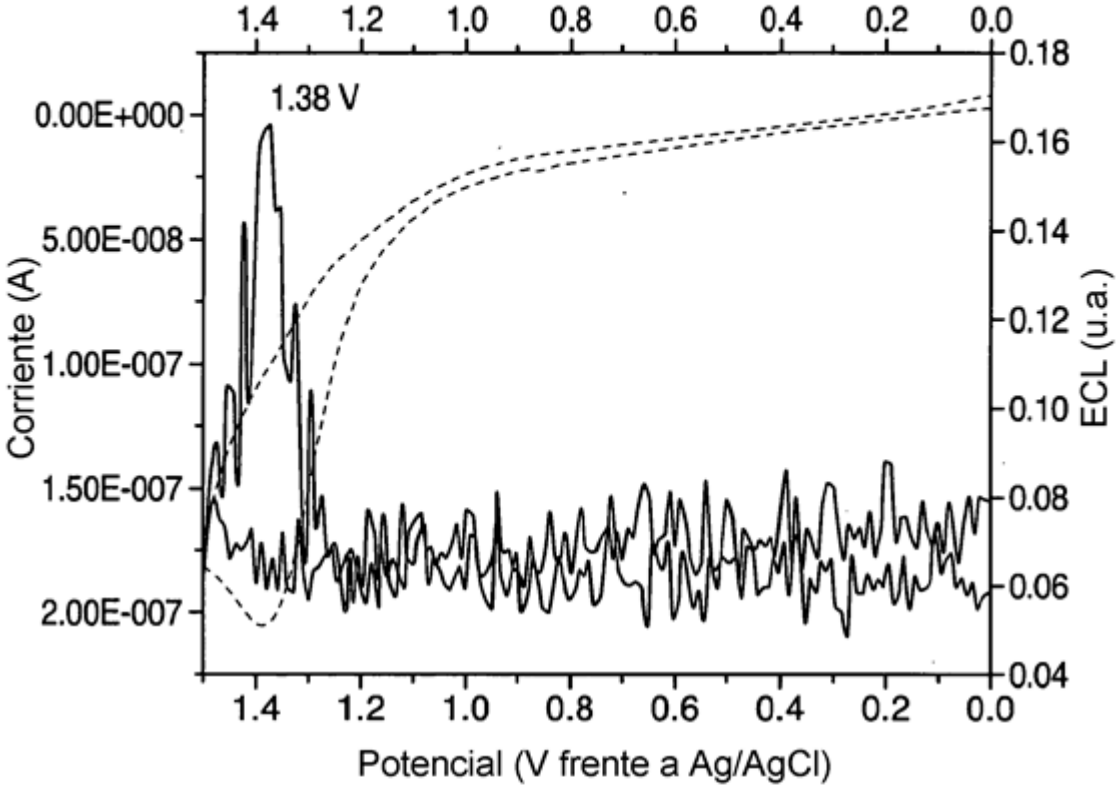

1.38 V
0.00E+000
5.00E-008
1.00E-007
1.50E-007
2.00E-007
Corriente (A)
ECL (u.a.)
0.18
0.16
0.14
0.12
0.10
0.08
0.06
0.04
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
Potencial (V frente a Ag/AgCl)

FIG. 6B

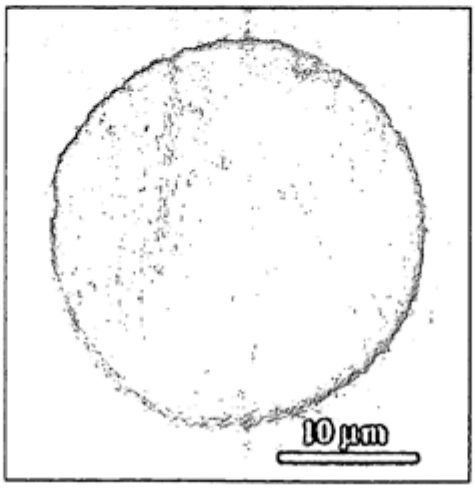

10 µm

FIG. 7A

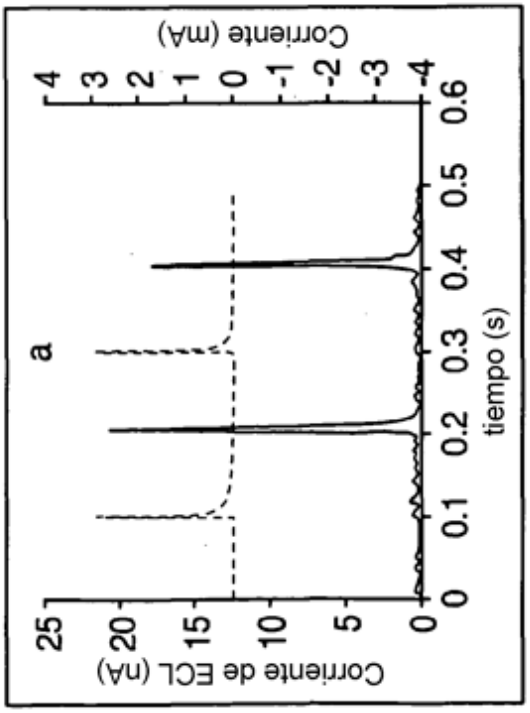


FIG. 7B

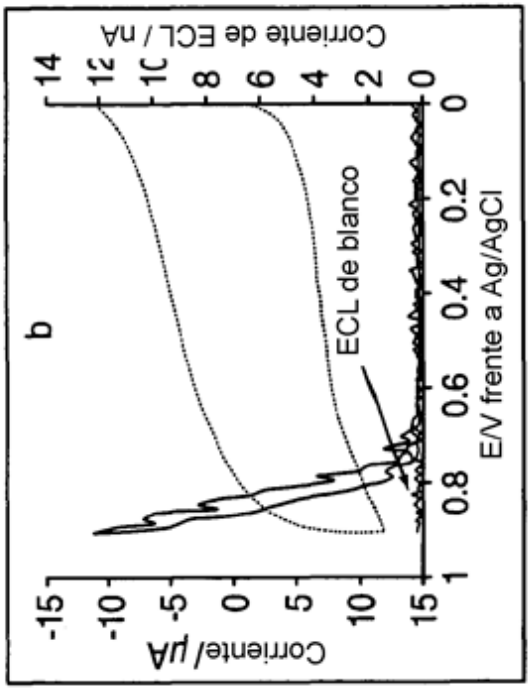


FIG. 7C

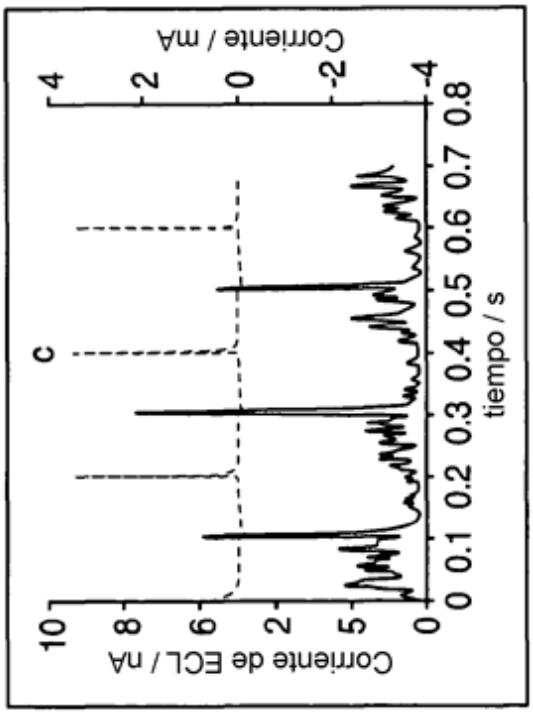


FIG. 7D

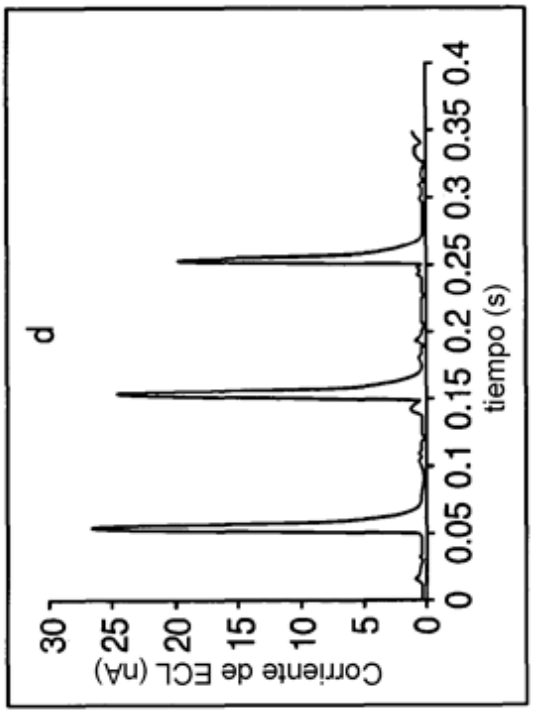
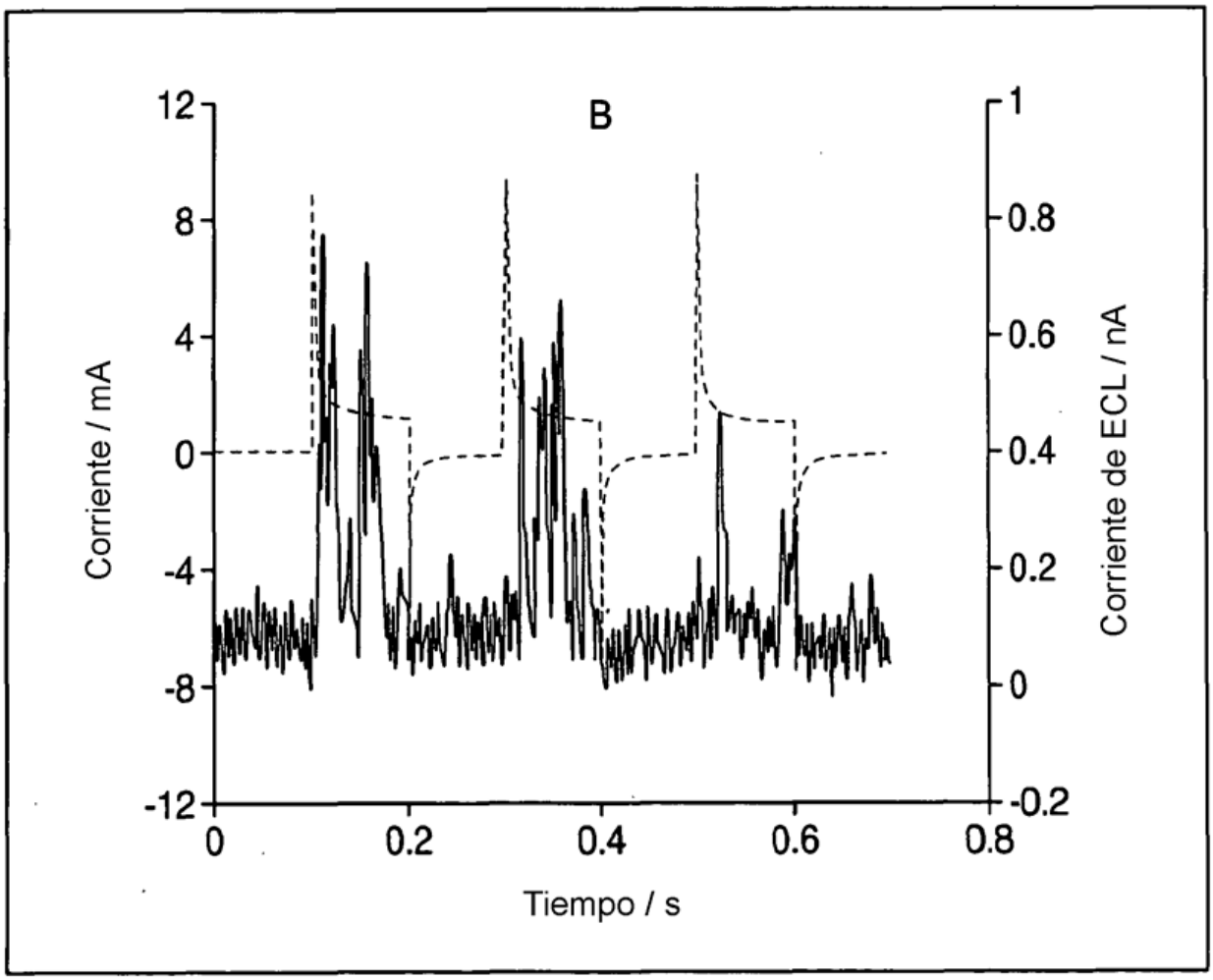


FIG. 8


B
12
8
4
0
-4
-8
-12
Corriente / mA
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
-0.2
Corriente de ECL / nA
0
0.2
0.4
0.6
0.8
Tiempo / s