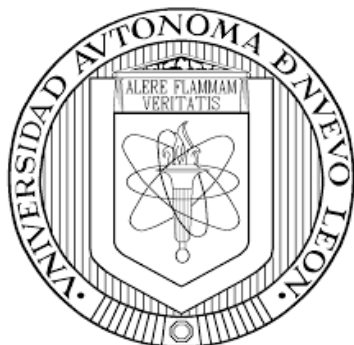


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



“SÍNTESIS DE ROTORES MOLECULARES FLUORESCENTES DE BORO DERIVADOS DE AMINOÁCIDOS: ESTUDIOS HALOCRÓMICOS, VISCOCRÓMICOS Y SU POTENCIAL USO COMO TINTE CELULAR”

POR:

XIADANI GONZÁLEZ VELÁZQUEZ

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN QUÍMICA DE LOS MATERIALES


MONTERREY, NUEVO LEÓN A 06 DE ABRIL DE 2022

“Síntesis de rotores moleculares fluorescentes de boro derivados de aminoácidos: estudios halocrómicos, viscocrómicos y su potencial uso como tinte celular”

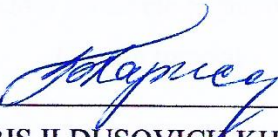
Aprobación tesis




DR. VÍCTOR MANUEL JIMÉNEZ PÉREZ
Presidente



DRA. THELMA ELIZABETH SERRANO QUEZADA
Secretario (a)



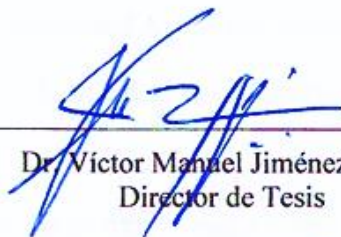
DR. BORIS ILDUSOVICH KHARISSOV
Vocal



DRA. MARÍA ELENA CANTÚ CÁRDENAS
Sub-Directora de Posgrado

“Síntesis de rotores moleculares fluorescentes de boro derivados de aminoácidos: estudios halocrómicos, viscosocrómicos y su potencial uso como tinte celular”

Comité de Tesis



Dr. Víctor Manuel Jiménez Pérez
Director de Tesis



Dr. Jesús Alfredo Lara Cerón
Co-Director de Tesis



Dra. Thelma Elizabeth Serrano Quezada
Comité tutorial



Dr. Boris Ildusovich Kharissov
Comité tutorial



Dr. Rodrigo Alonso Chan Navarro
Comité tutorial

RESUMEN

Q. Xiadani González Velázquez

Fecha de graduación: 06 de abril 2022

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Químicas

Título del estudio: “Síntesis de rotores moleculares fluorescentes de boro derivados de aminoácidos: estudios halocrómicos, viscocrómicos y su potencial uso como tinte celular”

Número de páginas: 97

Candidato para el grado en Maestro en Ciencias con Orientación en Química de los Materiales.

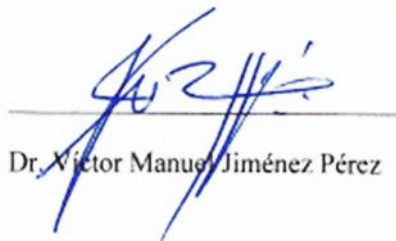
Área de estudio: Química de los Materiales

Propósito y método de estudio: Este trabajo está enfocado al diseño de dos nuevos rotores moleculares fluorescentes usando BOSCHIBAs derivadas de aminoácidos (fenilalanina y triptófano) para la aplicación en el área de la biología celular con el fin de responder a estímulos externos como el pH y la viscosidad celular, observando un incremento en la intensidad de fluorescencia. Los estudios de halocromismo y viscrocromismo se realizaron usando mezclas MeOH-base o ácido y MeOH-glicerol respectivamente para simular las características fisiológicas de la célula.

Conclusiones y contribuciones: la síntesis de los rotores moleculares se realizó a través una reacción multicomponentes, los compuestos fueron caracterizados mediante espectroscopias de RMN (^1H , ^{13}C , ^{11}B) y masas. La recristalización del rotor molecular derivado de la fenilalanina dio lugar a un compuesto cristalino con estructura monoclinica

y grupo espacial $P2_1/n$. Los estudios fotofísicos de los rotores moleculares fluorescentes mostraron un cambio de intensidad de fluorescencia a diferentes escalas de pH así como a diferentes rangos viscosidad. Estos compuestos presentan una potencial aplicación para ser usado como tintes fluorescentes para la observación de células cancerígenas *in vitro*. Y por último se realizaron estudios de DFT para evaluar las propiedades ópticas de los rotores moleculares con el cambio de viscosidad del sistema, tomando en consideración la restricción de los grados de rotación interna de las moléculas.

FIRMA DEL ASESOR:



Dr. Víctor Manuel Jiménez Pérez

Esta tesis se realizó en el Laboratorio de Materiales III, en el área de posgrado de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la dirección del Dr. Víctor Manuel Jiménez Pérez y contando con el apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) a través de la beca No. 760467.

AGRADECIMIENTOS

En primera instancia agradezco a la Universidad Autónoma de Nuevo León, así como a la Facultad de Ciencias Químicas por permitir ser parte de esta renombrada institución y darme la oportunidad de desarrollar un objetivo importante en mi vida que es la culminación de la Maestría en Ciencias con orientación en química de los Materiales.

Por otro lado, también quiero agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico del a través de la beca No. 760467.

Así como también quiero agradecer al grupo de investigación Jiménez-Muñoz, compañeros y formadores, personas de gran sabiduría quienes se han esforzado por ayudarme a llegar a este punto en el que me encuentro.

Sencillo no ha sido el proceso, pero gracias a las ganas de transmitirme sus conocimientos y dedicación que los ha regido, he logrado importantes objetivos como culminar el desarrollo del presente proyecto que se ve reflejado en la presente tesis.

Finalmente, pero no menos importante quiero agradecer a Dios otorgado una familia maravillosa y un entorno tan amigable para mi desarrollo, a mi esposo el Dr. Rodolfo Mendoza Gómez por impulsarme a seguir desarrollándome en la Ciencia, a mi hija por adaptarse a todos los cambios, así como a mis padres, hermanos y compañeros que gracias a su fe en mi, he podido crecer tanto como intelectual, profesional y personalmente.

Xiadani González

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	IV
AGRADECIMIENTOS	VII
TABLA DE CONTENIDO.....	VIII
LISTA DE FIGURAS.....	X
LISTA DE TABLAS	XIII
CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN.....	14
CAPITULO 2. ANTECEDENTES.....	19
2. 1. Factores diferenciables a nivel celular.....	20
2. 2. Sondas fluorescentes: rotor molecular fluorescente	21
2. 3. Compuestos de boro como rotor molecular fluorescente (RMF).....	23
2. 4. RMFs para la evaluación de la viscosidad y pH celular.....	24
2. 4. 1. BODIPYs	25
2. 4. 2. Dioxaborinos	27
2. 4. 3. BOSCHIBAs.....	29
CAPITULO 3. HIPÓTESIS, OBJETIVOS Y APORTACIÓN CIENTÍFICA.....	33
3. 1. Hipótesis	34
3. 2. Objetivos.....	34
3. 2. 1. Objetivo general	34
3. 2. 2. Objetivos específicos	34
3. 3. Aportación científica	34
CAPITULO 4. MATERIALES Y MÉTODOS	36
4. 1. Equipos y reactivos.....	37
4. 2. Parte experimental	38
4. 2. 1. Síntesis general.....	38
4. 3. Caracterización	40
4. 3. 1. Resonancia magnética nuclear (RMN)	40
4. 3. 2. Espectrometría de masas	40
4. 3. 3. Difracción de rayos X de monocristal (DRX)	40
4. 3. 4. Caracterización fotofísica.....	40

4. 4. Modelado Molecular.....	42
4. 5. Citotoxicidad y bioimágen de fluorescente	42
4. 5. 1. Ensayo de viabilidad celular <i>in vitro</i>	42
4. 5. 2. Bioimágen <i>in vitro</i>	42
4. 6. Disposición de residuos	43
CAPITULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	44
5. 1. Síntesis de los rotores moleculares	45
5. 2. Caracterización estructural	46
5. 2. 1. Resonancia magnética nuclear (RMN)	46
5. 2. 2. Espectrometría de masas de alta resolución (EMAR).....	55
5. 2. 3. Difracción de rayos X de monocristal.....	58
5. 3. Estudio fotofísico.....	61
5. 3. 1. Espectroscopia UV-vis.....	61
5. 3. 2. Espectroscopia de fluorescencia	61
5. 4. Ensayo de pH.....	62
5. 5 Ensayo de viscosidad.....	65
5.6.Modelado molecular	68
5. 7. Citotoxicidad y bioimágen de fluorescente	74
CAPITULO 6. CONCLUSIONES.....	77
7. REFERENCIAS	79
8. ANEXOS	85
A1. Nomenclatura de los compuestos	86
A2. Espectros de resonancia magnética nuclear (RMN).....	87
A3. Ángulos calculados mediante difracción de rayos X de monocristal	90
A4. Distancias de enlace calculadas mediante difracción de rayos X de monocristal. 92	
A5. Espectro de emisión del compuesto 2.....	92
A6. Tablas de DFT	93

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de Jablonski.....	16
Figura 2. Diferencia de viscosidad en célula cancerosa, normal y apoptótica respectivamente [15].	20
Figura 3. Desregularización del pH celular. Las células cancerosas tienen un gradiente de pH inverso, comparados con las células adultas [18].	21
Figura 4. a) Estructura grafica del funcionamiento de los rotores moleculares fluorescentes (RMF); b) la intensidad de la fluorescencia incrementa conforme incrementa la viscosidad; c) área de aplicación de los rotores [27].	23
Figura 5. Ejemplo de estructuras tipo BODIPY, dioxaborinos y BOSCHIBAs.....	23
Figura 6. Rotor molecular derivado de BODIPY; a) Espectro de fluorescencia con diferente viscosidad con mezclas de metanol/glicerol, la intensidad es directamente proporcional a la viscosidad; b) el tiempo de vida media de la fluorescencia incrementa con forme incrementa la viscosidad [2].	25
Figura 7. Pruebas en medios con diferente pH: a) Esquema de la activación fluorescente reversible y pH ácido inducido, b) Perfiles de pH de las diferentes moléculas sintetizadas en un rango de pH de 2 a 9, c) Cambios en el rendimiento cuántico dependiente del pH, d) Cambios en la intensidad de emisión dependientes del pH [37].	26
Figura 8. Aplicación de una sonda basada en BODIPY para la identificación y localización de células de glioma C6, con cáncer, normales y apoptóticas en función de la viscosidad [15].	27
Figura 9. Imágenes de microscopia confocal de células HeLa vivas teñidas con un derivado de dioxaborino a) imagen de campo brillante, b) imagen de fluorescencia [41].	28
Figura 10. Ejemplo de rotor molecular derivado de dioxaborino: a) Estructura del rotor molecular DXB red, b) Incremento de la intensidad de fluorescencia del rotor molecular DBX red en presencia de medio viscoso y c) Bioimágen fluorescente de células HEK293T tratadas con el dioxaborino DBXred, tiñendo selectivamente la membrana celular [42].	29
Figura 11. En la parte superior se muestran dos rotores moleculares de boro tipo O-N-O (mono- y di-nucleares) derivados de Bases de Schiff, así como su respectiva aplicación en la tinción del citoplasma de células B16F10 [29].	30
Figura 12. Rotores moleculares de boro derivados de Bases de Schiff con aminoácidos, tinción al citoplasma y nucleolo, de células de melanoma B16F10 [20].	31
Figura 13. Estructura general de los rotores moleculares fluorescentes derivados de boro propuestos.	32
Figura 14. Ruta general de síntesis de los compuestos 1 y 2	38
Figura 15. Ruta de síntesis del compuesto 1 y las imágenes del compuesto en estado sólido bajo la luz de día y UV (365 nm).	45
Figura 16. Ruta de síntesis del compuesto 2 y las imágenes del compuesto en estado sólido bajo la luz de día y UV (365 nm).	46

Figura 17. Espectro [δ , ppm] de RMN ^1H en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ del compuesto 1	47
Figura 18. Espectro [δ , ppm] de RMN ^{13}C en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ del compuesto 1	48
Figura 19. Espectro [δ , ppm] de RMN COSY en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ del compuesto 1 región alifática.....	49
Figura 20. Espectro [δ , ppm] de RMN COSY en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ del compuesto 1 región aromática.....	49
Figura 21. Espectro [δ , ppm] de RMN HSQC del compuesto 1 relación del C-H imínicos.....	50
Figura 22. Espectro [δ , ppm] de RMN HSQC del compuesto 1 correlaciones presentes en la molécula, zona aromática.....	51
Figura 23. Espectro [δ , ppm] de RMN HSQC del compuesto 1 correlaciones presentes en la molécula, zona alifática.....	51
Figura 24. Espectro [δ , ppm] de RMN ^{11}B en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ del compuesto 1	52
Figura 25. Espectro [δ , ppm] de RMN ^1H en DMSO- d_6 del compuesto 2	53
Figura 26. Espectro [δ , ppm] de RMN ^{13}C en DMSO- d_6 del compuesto 2	54
Figura 27. Espectro [δ , ppm] de RMN ^{11}B en DMSO- d_6 del compuesto 2	54
Figura 28. Espectro de masas de alta resolución para el compuesto 1 , mostrando los picos m/z más relevantes.....	55
Figura 29. Espectro de masas de alta resolución para el compuesto 2 , mostrando los picos m/z más relevantes.....	56
Figura 30. Patrón isotópico de a) compuesto 1 , b) compuesto 2	57
Figura 31. Estructura molecular del compuesto.....	58
Figura 32. Plano de la estructura que muestra el átomo de boro fuera del plano.....	59
Figura 33. Celda unitaria del compuesto 1	60
Figura 34. Interacciones intermoleculares.....	60
Figura 35. Espectro de absorción UV-vis del compuesto 1 y 2	61
Figura 36. Espectro de emisión del compuesto 1 y 2	62
Figura 37. Espectro de emisión a diferentes medidas de pH del compuesto 1 λ_{abs} de 400 nm.....	63
Figura 38. pH vs intensidad de emisión del compuesto 1	64
Figura 39. Espectro de emisión a diferentes medidas de pH del compuesto 2 λ_{abs} de 400 nm.....	64
Figura 40. pH vs intensidad de emisión del compuesto 2	65
Figura 41. Espectro de emisión a diferentes medidas de viscosidad del compuesto 1 ...66	66
Figura 42. Tendencia de la viscosidad vs intensidad de emisión hasta 80% del compuesto 1	66
Figura 43. Espectro de emisión a diferentes medidas de viscosidad del compuesto 2 a λ_{abs} de 400 nm.....	67
Figura 44. Tendencia de la viscosidad vs intensidad de emisión del compuesto 2	67
Figura 45. Representación de los ángulos de torsión seleccionados para este estudio, donde α y γ son los ángulos de torsión de los grupos quirales, y β es el ángulo de torsión del “linker” (benceno).....	68

Figura 46 Representaciones esquemáticas del efecto mayor y bajo en la emisión debido a la rotación de los ángulos a) α , b) β y c) γ en 1 / S1. Donde λ_a y λ_e son las longitudes de onda teóricas de absorción (negro) y emisión (azul) respectivamente. f y k_r son la fuerza del oscilador y la tasa de radiación, respectivamente. Los valores de contorno de isosuperficie se establecen en 0,03.....	71
Figura 47 Representaciones esquemáticas del efecto mayor y bajo en la emisión debido a la rotación de los ángulos a) θ y b) σ en 2 / S1. Donde λ_a y λ_e son las longitudes de onda teóricas de absorción (negro) y emisión (azul) respectivamente. f y k_r son la fuerza del oscilador y la tasa de radiación, respectivamente. Los valores de contorno de isosuperficie se establecen en 0,03.....	73
Figura 48. Efecto citotóxico en células HeLa con diferentes concentraciones del compuesto durante 20 minutos. Como control se utilizó células tratadas con DMSO y células no tratadas. a) compuesto 1 y b) compuesto 2.	75
Figura 49. Bioimágenes fluorescentes en células HeLa tratadas con el compuesto correspondiente.	76

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Equipos utilizados y ubicación	37
Tabla 2. Clasificación de residuos peligrosos y contenedor en el cual depositarlos	43
Tabla 3. Datos de espectrometría de masas para los compuestos 1 y 2.	55
Tabla 4. Datos cristalográficos del compuesto 1.....	58
Tabla 5. Propiedades fotofísicas de los compuestos 1 y 2.....	62
Tabla 6. Excitaciones singulete - singulete más intensas en 1 y 2 en la fase gaseosa.....	69
Tabla 7. Datos de emisión singulete - singulete en 1 y 2 en la fase gaseosa.	69
Tabla 8. Datos de emisión singulete-singulete en 2_{θ} y 2_{σ} a través de método teórico TD-DFT/CAM-B3LYP/Def2-TZPP	74

CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN

Introducción

La luminiscencia es una propiedad que tienen algunos cuerpos de emitir luz sin elevar su temperatura [1]. Este fenómeno se puede clasificar de acuerdo a su fuente que lo origina, por ejemplo: quimioluminiscencia (proceso químico), electroluminiscencia (campo eléctrico), termoluminiscencia (calentamiento), triboluminiscencia (fuerzas de fricción y electrostáticas), radioluminiscencia (radiación ionizante), bioluminiscencia (procesos bioquímicos) y fotoluminiscencia (absorción de fotones) siendo esta última de nuestro interés puesto que la energía activadora está en función de la radiación que incita la emisión de luz.

Hablando específicamente de la fotoluminiscencia, esta exhibe dos fenómenos interesantes denominados fluorescencia y fosforescencia. La fluorescencia es un proceso de emisión resultado de la relajación de una especie excitada por la absorción de energía (fotones). El tiempo de vida media de una especie excitada diferencia la fluorescencia de la fosforescencia, puesto que para el primer caso es un fenómeno instantáneo (nanosegundos) mientras que para fosforescencia la luminiscencia puede perdurar minutos e incluso horas. Una de las maneras gráficas de entender la fluorescencia y la fosforescencia es mediante el diagrama de Jablonski, que ilustra las maneras o caminos que puede tomar una molécula o átomo para pasar del estado electrónico excitado (S_1) a su estado basal (S_0) como se observa en la **Figura 1**.

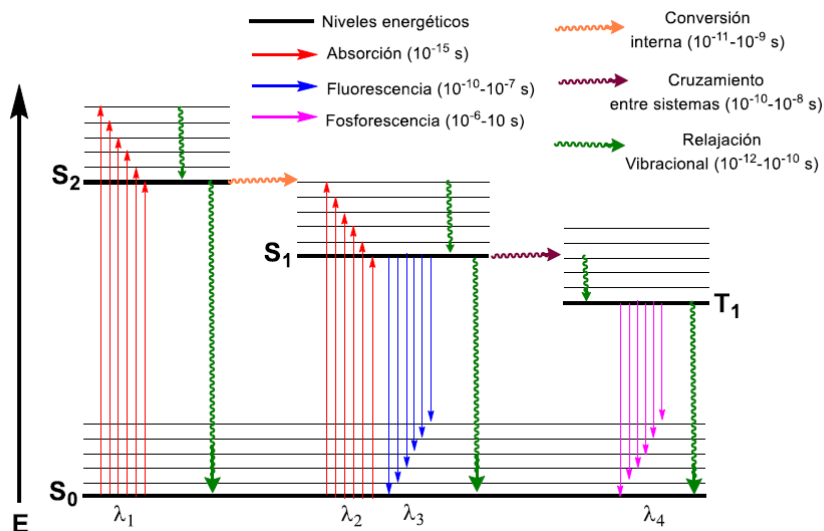


Figura 1. Diagrama de Jablonski.

Debido a la sensibilidad y a las buenas características de la fluorescencia, existen métodos que proporcionan información útil para análisis de especies inorgánicas y orgánicas cuando se encuentran en cantidades de trazas en una muestra de forma cualitativa y cuantitativa, puesto que la sensibilidad de métodos luminiscentes es de uno a tres órdenes de magnitud inferiores a la espectroscopia de absorción. También, este fenómeno puede ser aplicado en diversas áreas como lo son: la iluminación, en química analítica, en gemología, mineralogía, geología, ciencias forenses, así como bioquímica y medicina.

La fluorescencia es dependiente de diversos factores como lo son: la viscosidad [2, 3], el pH [4, 5], la temperatura [6], el estrés mecánico [4] y la polaridad del solvente [5]. Debido a ello en la actualidad se han desarrollado materiales fluorescentes sensibles a múltiples estímulos (MSRF), a estos materiales se les conoce como “materiales multirespuesta” debido a que pueden cambiar sus propiedades fotofísicas tras la aplicación de dos o más estímulos, de modo que, la respuesta a estos estímulos hace que los materiales multirespuesta presenten características muy atractivas para una potencial aplicación [7], ya sea como sensores [8], sondas, diagnóstico [9], etc. En particular, se ha puesto un gran interés en los materiales que son capaces de evaluar la microviscosidad cuya función se logra bajo condiciones específicas que están basados en la intensidad de la energía emitida a causa del grado de interacción material-muestra; los BODIPYs, Push-pull y los

derivados de porfirinas son algunos materiales que presentan esta propiedad, en pocas palabras, a estos materiales se les conoce como rotores moleculares debido a que su arreglo estructural les permite tener algún tipo de rotación molecular con el fin de responder a cualquier perturbación estimulada por un agente externo. Hoy en día encontramos una gran diversidad de nuevos materiales capaces de evaluar las propiedades anteriormente mencionadas; Así, por ejemplo, los compuestos fluorescentes derivados del boro han mostrado muchas ventajas para su uso en imagenología para la obtención de bioimágenes fluorescentes (FBI) en función de la viscosidad, pH, estrés mecánico, etc. [10]. Algunos de los beneficios de esta clase de compuestos se incluyen: la capacidad de penetrar en las células, una buena solubilidad y estabilidad en medios biológicos, así como una capacidad de excitación y emisión de longitudes de onda no dañinas [11, 12]. Los compuestos derivados del boro han sido estudiados anteriormente dentro del equipo de trabajo con estructuras tipo boronatos, demostrando buenas propiedades ópticas, altos rendimientos cuánticos, estabilidad fisicoquímica, buena biocompatibilidad, baja citotoxicidad, además de presentar respuesta a múltiples estímulos [13].

Debido a las características que presentan las células en diversas enfermedades como el cambio de la viscosidad celular y el pH intra- y extracelular, es de interés el desarrollo de nuevos materiales fluorescentes capaces de detectarlas de manera específica y oportuna, además de presentar buenas características con fines prácticos como su alta sensibilidad, buena fotoestabilidad y biocompatibilidad, haciendo a estos sensores no invasivos y sensibles al medio con un gran potencial en el análisis clínico o intervención médica mediante imagenología. Esto debido a que actualmente de acuerdo con cifras de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2020, el cáncer ocasionó 10 millones de muertes, y estadísticamente casi un 16.6% de muertes en el mundo se debe a esta enfermedad [14]. El cáncer es un término que se usa para definir una amplia gama de enfermedades que afectan una parte del organismo, una característica que presentan estas enfermedades es la multiplicación rápida de células anormales, por lo que la detección temprana y el tratamiento adecuado de esta enfermedad permitirá disminuir dichas cifras. Es por ello, por lo que en el presente trabajo se expone la síntesis, caracterización química-óptica de nuevos materiales luminiscentes multi-respuesta derivados del boro con un potencial uso como sensor molecular de microviscosidad en el área de la biología celular.

CAPITULO 2. ANTECEDENTES

2. 1. Factores diferenciables a nivel celular

La viscosidad, es una característica física que comparten todos los fluidos y que está relacionada con la fricción interna entre las partículas del fluido. En la vida cotidiana, nos encontramos con diversos líquidos que presentan diferente viscosidad, por ejemplo, el agua, el aceite e incluso, por más difícil de creer, el vidrio de las ventanas. Pero no solo la propiedad de viscosidad la encontramos a nivel macroescala sino que también en tamaños microscópicos, y el ejemplo más ostensible son las células, y aquí nos referimos tanto a la membrana plasmática como al citoplasma. Haciendo énfasis en el último punto, el citoplasma es un fluido de gran importancia, puesto que a través de él se realizan un sinnúmero de procesos biológicos, como es el transporte de biomoléculas o reacciones bioquímicas, por lo tanto, la viscosidad celular es un factor importante ya que rige la difusión en procesos celulares [2, 15], por lo que este parámetro se ha utilizado para investigaciones biológicas y también para el diagnóstico clínico [16, 17] debido a que en biosistemas los cambios en la viscosidad están ligados a enfermedades o mal funcionamiento celular [2]. Debido al cambio en la morfología al presentarse mal funcionamiento hay una tendencia a la disminución de la viscosidad celular, por otro lado si se presentan procesos apoptóticos la viscosidad tiende a aumentar (**Figura 2**) [15]. Es por ello por lo que el desarrollo de nuevos materiales capaces de evaluar la viscosidad celular es de suma importancia, ya que, si existen anomalías a nivel celular esto nos permitiría relacionarlo con alguna enfermedad como Alzheimer, diabetes, Parkinson y/o cáncer.

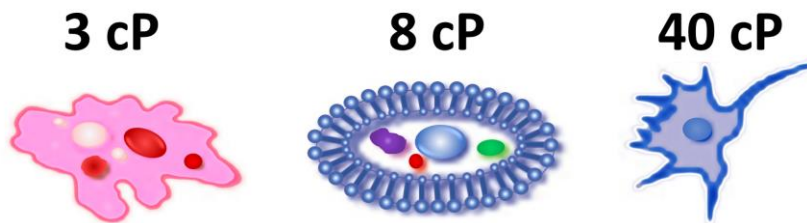


Figura 2. Diferencia de viscosidad en célula cancerosa, normal y apoptótica respectivamente [15].

No obstante, no solo la viscosidad es un factor determinante para clasificar una célula enferma, sino que, la desregularización del pH en las células (**Figura 3**), también es una característica adaptativa en la mayoría de los cánceres o enfermedades, independientemente si es tisular o genético. En las células normales adultas el pH intracelular (pH_i) es generalmente ~ 7.2 en comparación con el pH extracelular (pH_e) ~ 7.5 . Sin embargo, las células cancerosas tienen un pH_i mayor a 7.5 y un pH_e entre ~ 6.7 - 7.1 [18].

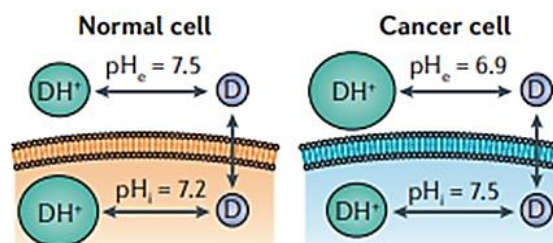


Figura 3. Desregularización del pH celular. Las células cancerosas tienen un gradiente de pH inverso, comparados con las células adultas [18].

2. 2. Sondas fluorescentes: rotor molecular fluorescente

Con el fin de obtener un diagnóstico oportuno y veraz para la identificación de células enfermas, se ha incrementado el interés de sintetizar nuevas sondas fluorescentes, con el objetivo de poder evaluar alguno de los parámetros que determinan a las células enfermas (incremento potencial de replicación, viscosidad, pH, evasión de apoptosis, etc). En este sentido, la imagenología, es una herramienta para la biología celular e investigación biomédica que permite la obtención de bioimágenes fluorescentes (FBI) de una manera no invasiva de los componentes internos de la célula [19]. Esta técnica se basa en el uso de una sonda o tinte fluorescente para la localización y visualización de las células y sus orgánulos, además de la ventaja de poder realizar estos experimentos tanto *in vivo* como *in vitro* [20]. En la literatura encontramos una gran diversidad de materiales capaces de teñir el citoplasma como lo son: las nanopartículas [21], los puntos cuánticos [22] y pequeñas moléculas orgánicas [23]. No obstante, hay materiales capaces de teñir el citoplasma en función de la viscosidad, que conforme incrementa la viscosidad la

intensidad de fluorescencia se ve aumentada; a estos materiales se les conoce como rotores moleculares fluorescentes.

El término rotor molecular fluorescente (RMF) se ha utilizado para describir a las moléculas que tienen la capacidad de experimentar un movimiento de torsión intramolecular en el estado de excitación [24]. Los rotores moleculares fluorescentes de viscosidad son una clase de materiales sensibles al medio en el que se encuentren [25]. Esta clase de compuestos presentan enlaces π -conjugados, lo que determina su carácter de fluoróforo [26]. En los RMF la intensidad de la fluorescencia varía con el grado de rotación intramolecular a través del enlace sigma entre dos carbonos con hibridación sp^2 que es afectada por un medio viscoso (**Figura 4**) [27]. Es necesario recalcar que una característica que de los RMF es que en estado excitado presentan transferencia de carga intramolecular torsional (TICT), además la intensidad de luminiscencia se ve relacionada con las propiedades ópticas, concentración y la interacción del rotor con el medio [28]. Estos compuestos han demostrado un aumento en el rendimiento cuántico cuando hay una tendencia a aumentar la viscosidad del medio, por lo que esta característica es muy funcional en estudios a escala celular relacionados con la viscosidad [13] [29].

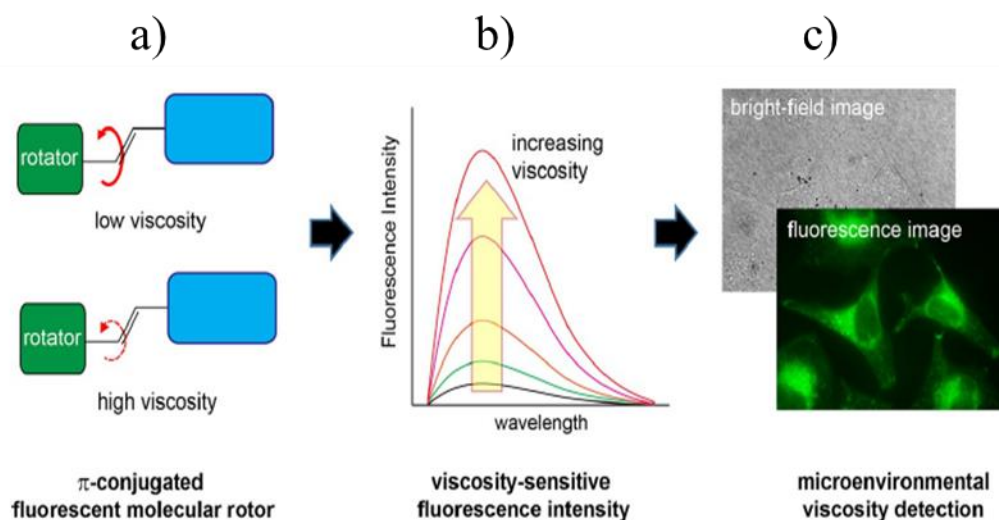


Figura 4. a) Estructura grafica del funcionamiento de los rotores moleculares fluorescentes (RMF); b) la intensidad de la fluorescencia incrementa conforme incrementa la viscosidad; c) área de aplicación de los rotores [27].

De manera análoga, en sistemas de RMF su sensibilidad al cambio de pH se da por la naturaleza de los grupos sustituyentes y su capacidad de fungir como base o ácido [30]. La fluorescencia de compuestos con grupo sustituyentes con propiedades ácido-base pueden presentar dependencia a los cambios de pH, esto se puede observar en la longitud de onda y la intensidad de emisión ya que las formas ionizada y no ionizada muestran una tendencia a ser distintas [1].

2. 3. Compuestos de boro como rotor molecular fluorescente (RMF)

Los complejos de boro como los dioxaborinos y los BODIPYs, se encuentran entre los emisores fluorescentes más comunes y mejor explorados [4, 31], no obstante, en la última década se han dado a conocer nuevos compuestos de boro (BOSCHIBAs) (**Figura 5**) que han presentado excelentes propiedades fluorescentes, además de ser obtenidos de manera sencilla mediante, síntesis verde en comparación con los complejos de boro antes mencionados y además de presentar excelentes propiedades ópticas lineales y no lineales [4].

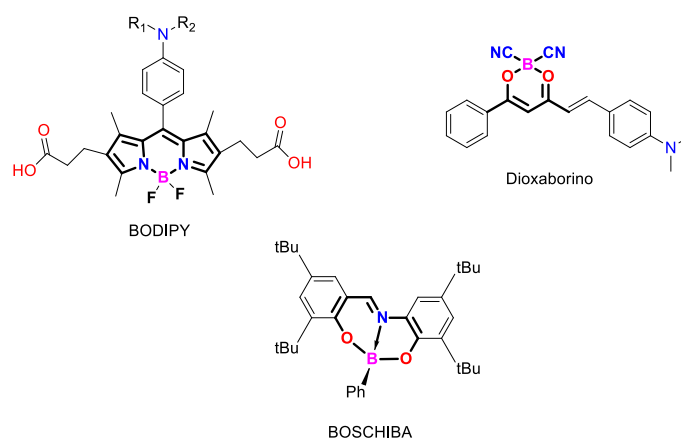


Figura 5. Ejemplo de estructuras tipo BODIPY, dioxaborinos y BOSCHIBAs

El término BOSCHIBA, es un acrónimo resultado de la unión de las palabras “Boro Schiff Base”, y hace referencia a los compuestos que en su estructura contienen una base de Schiff y un átomo de boro. La excelente fluorescencia que presentan estos compuestos radica en la conjugación π que presentan las bases de Schiff, la rigidez estructural y a la posible transferencia de carga intramolecular mediante hiperconjugación.

Por otra parte, las bases de Schiff se conocen generalmente como iminas o azometinas y actúan como ligandos en diversos complejos metálicos, son el resultado de la reacción de condensación entre aminas primarias y aldehídos o cetonas [32]. Las bases de Schiff funcionalmente sustituidas por grupos donantes adicionales ejemplifican la clase más importante de ligandos con heteroátomos y polidentados que son capaces de formar complejos multinucleares con metales de transición [33], metales nobles y con los elementos representativos de un grupo (como boro, estaño y silicio) [34]. En este contexto, los ligandos de aminoácidos forman quelatos estables de cinco miembros con una gran cantidad de iones metálicos a través de los restos amina y carboxilato (N, O-quelación). Los grupos funcionales, que poseen quiralidad y asimetría electrónica pueden ofrecer también propiedades y topologías fascinantes cuando se emplean como bloques de construcción en el autoensamblaje supramolecular [33]. Es por ello por lo que los aminoácidos y sus derivados son excelentes candidatos a ligandos debido a sus propiedades de coordinación e importancia biológica. Además, sus propiedades de solubilidad y mecanismos específicos de transporte pueden facilitar su absorción biológica. Por estas razones, se ha reportado que los complejos de aminoácidos de bases de Schiff con varios metales exhiben actividad fungicida, bactericida, antiviral y antituberculosis [35].

2. 4. RMFs para la evaluación de la viscosidad y pH celular

Hoy en día, existe una inmensa cantidad de RMF capaces de evaluar la viscosidad y pH celular y poder ser observadas mediante microscopia confocal de fluorescencia, sin embargo, la mayoría de los RMFs de boro reportados son de tipo BODIPY y dioxaborinos, debido a sus propiedades ópticas útiles, baja citotoxicidad y a su solubilidad a nivel celular [25, 15]. Por ello, a continuación, se describen algunas de las propiedades y comportamientos que estos RMF tienen frente a la viscosidad y pH a nivel celular.

2. 4. 1. BODIPYs

Lo compuestos que han despertado mayor interés son la familia de los BODIPYs (boron-dipyrromethene, por sus siglas en inglés), por sus características ópticas útiles, tales como altos rendimientos cuánticos, pequeños desplazamientos de Stokes, una fuerte intensidad de fluorescencia y fotoestabilidad [36]. En 2008, Kuimova *et al.* reportaron el estudio del comportamiento de rotores moleculares derivados de BODIPYs en medio viscoso, los resultados que se obtuvieron se observan en la **Figura 6**, el rendimiento cuántico aumenta considerablemente al incrementar el disolvente viscoso, la vida útil de la fluorescencia aumenta de 0.7 ± 0.05 a 3.8 ± 0.1 ns al aumentar la viscosidad de la solución de 0.6 a 950 cP. El incremento en la intensidad de fluorescencia se explica por los grados de libertad de rotación del grupo linker [2].

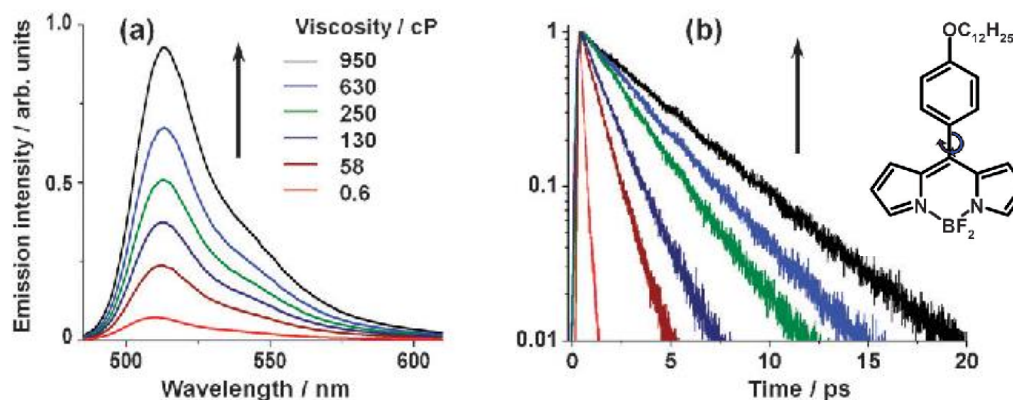


Figura 6. Rotor molecular derivado de BODIPY; a) Espectro de fluorescencia con diferente viscosidad con mezclas de metanol/glicerol, la intensidad es directamente proporcional a la viscosidad; b) el tiempo de vida media de la fluorescencia incrementa con forme incrementa la viscosidad [2].

Por otra parte, en 2009, Urano *et al.*, sintetizaron nuevos sensores de pH basados en BODIPYs, mediante estos compuestos con grupos sustituyentes derivados de anilinas en C8 (**Figura 7**) lograron visualizar las células cancerígenas *in vivo* con alta especificidad, el tiempo de respuesta de dichos compuestos estudiados fue en promedio de 4 horas [37].

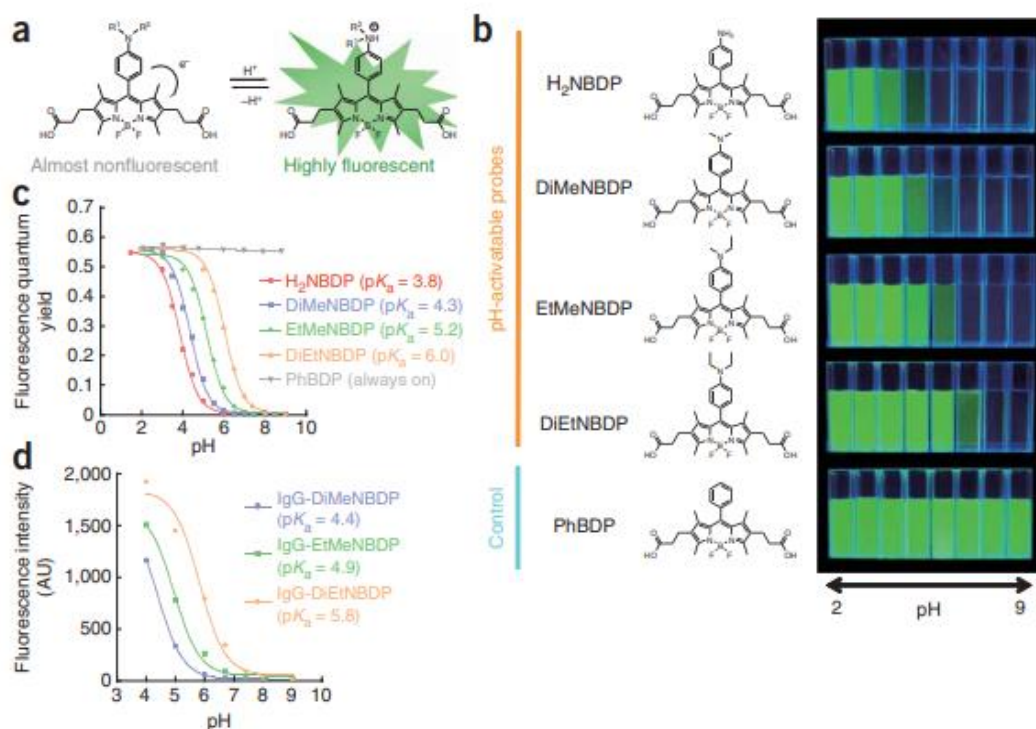


Figura 7. Pruebas en medios con diferente pH: a) Esquema de la activación fluorescente reversible y pH ácido inducido, b) Perfiles de pH de las diferentes moléculas sintetizadas en un rango de pH de 2 a 9, c) Cambios en el rendimiento cuántico dependiente del pH, d) Cambios en la intensidad de emisión dependientes del pH [37].

En 2016 Gupta *et al.*, de igual manera sintetizaron un RMF basado en una estructura tipo BODIPY, el cual se probó como viscosímetro a nivel celular, en células con cáncer, normales y apoptóticas, como se observa en la **Figura 8**.

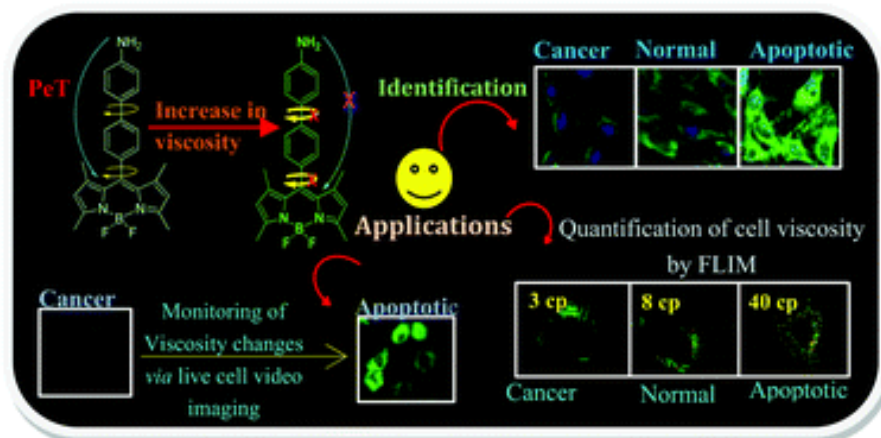


Figura 8. Aplicación de una sonda basada en BODIPY para la identificación y localización de células de glioma C6, con cáncer, normales y apoptóticas en función de la viscosidad [15].

En 2019 Radunz *et al.*, diseñaron y sintetizaron sensores de dos componentes sensibles a pH, basados en nanopartículas de conversión ascendente (UCNP) y colorantes BODIPY, con el fin de controlar los cambios de pH dependientes del tiempo de una suspensión de *E. coli* que metaboliza la D-glucosa [38]. Sin embargo, una desventaja de estos compuestos es el requerimiento de varios pasos y condiciones específicas de reacción como atmósfera anhidra [29], debido a ello se han hecho nuevos estudios para obtener compuestos derivados de boro, pero con condiciones menos estrictas.

2. 4. 2. Dioxaborinos

Las observaciones notables de la fuerte luminiscencia de compuestos orgánicos que contienen boro fueron reportadas inicialmente por Fraser y colaboradores en 2007, a partir de complejos de difluoroboron β -dicetonato, tales compuestos pueden mostrar una fuerte fluorescencia desplazada al rojo en estado sólido. Además, la incorporación de tales estructuras en sistemas poliméricos se pueden obtener sensores luminiscentes en respuesta a la temperatura, el oxígeno, la polaridad y rigidez del medio local [39, 40].

Zhou *et al.*, reportaron en 2015 la síntesis de compuestos derivados de dioxaborinos con buenas propiedades ópticas, así como la emisión hacia longitudes de onda no dañinas, amplio desplazamiento de Stokes, solvatochromismo y buen porcentaje de viabilidad

celular, lo cual permitió la tinción satisfactoria del citoplasma en células HeLa (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.) [41]

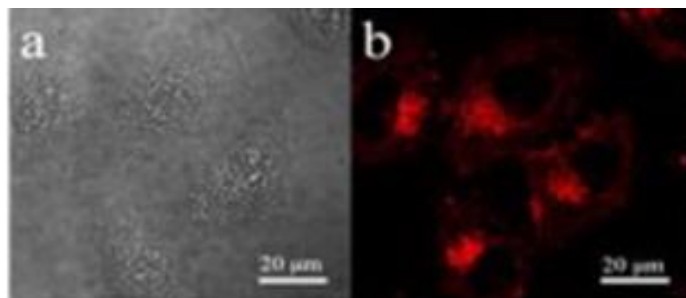
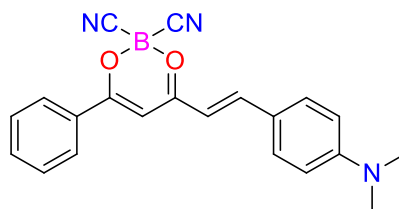


Figura 9. Imágenes de microscopía confocal de células HeLa vivas teñidas con un derivado de dioxaborino a) imagen de campo brillante, b) imagen de fluorescencia [41].

En 2016 Karpenko *et al.*, sintetizaron un colorante derivado de dioxaborino tipo push-pull, que presenta un comportamiento espectroscópico único que combina propiedades de solvatocromismo y rotor molecular. De hecho, en los solventes orgánicos, muestra fuertes cambios al rojo debido al aumento de la polaridad del disolvente, típico de los colorantes push-pull. Por otro lado, el tinte muestra una fuerte dependencia de su rendimiento cuántico debido a la viscosidad del solvente (**Figura 10**) [42].

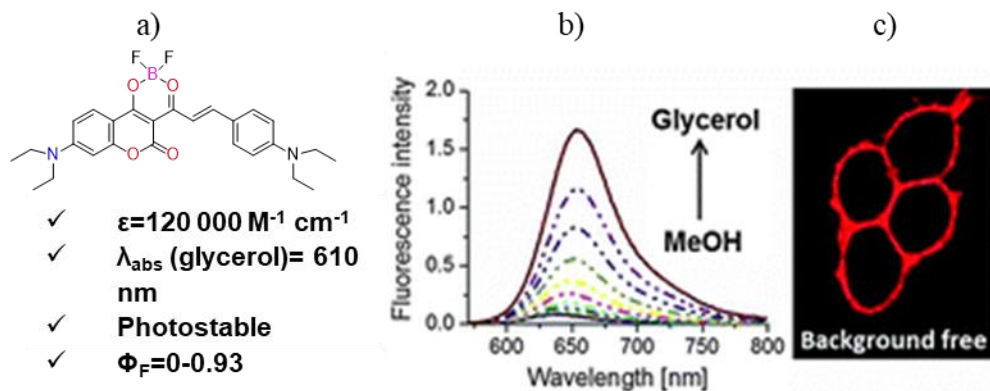


Figura 10. Ejemplo de rotor molecular derivado de dioxaborino: a) Estructura del rotor molecular DXB red, b) Incremento de la intensidad de fluorescencia del rotor molecular DBX red en presencia de medio viscoso y c) Bioimagen fluorescente de células HEK293T tratadas con el dioxaborino DBXred, tiñendo selectivamente la membrana celular [42].

2. 4. 3. BOSCHIBAs

En la actualidad han atraído la atención ligandos derivados de bases de Schiff, por su versatilidad estructural, por lo que hay reportes donde se han desarrollado compuestos de boro derivados de bases de Schiff (BOSCHIBAs), se caracterizan por el grupo imina (C=N) el cual es donador electrones debido al par electrónico libre sobre el átomo de nitrógeno. En el 2017 el grupo de investigación reportó nuevos rotores moleculares derivados de bases de Schiff sintetizados por métodos sencillos y que no requieren condiciones anhidras en comparación con los derivados de BODIPY. Estos rotores moleculares (**Figura 11**), mostraron diferentes propiedades útiles como el termocromismo reversible, viscocromismo y piezocromismo. Mostraron baja citotoxicidad, pero en la obtención de bioimágenes *in vitro* y se observó una tinción tenue al citoplasma debido a la baja solubilidad que presentaron los rotores [29].

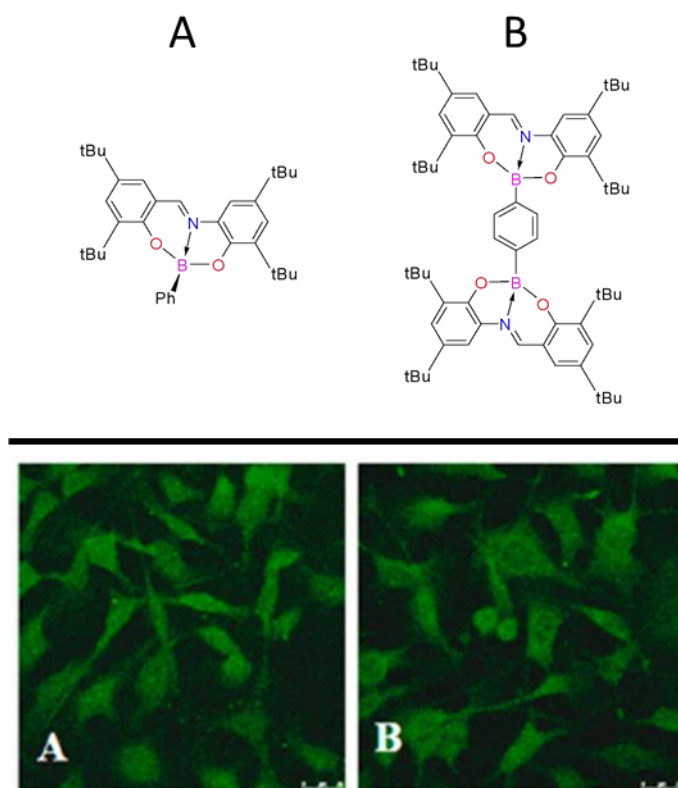


Figura 11. En la parte superior se muestran dos rotores moleculares de boro tipo O-N-O (mono- y di-nucleares) derivados de Bases de Schiff, así como su respectiva aplicación en la tinción del citoplasma de células B16F10 [29].

Recientemente Lara *et al.*, reportaron la síntesis y caracterización de compuestos derivados de boro con bases de Schiff (BOSCHIBA), derivadas de α -aminoácidos, dichos compuestos se pusieron a prueba para tinción celular y lograron obtener una tinción notable del nucleolo y citoplasma en células B16F10 (melanoma murino) (**Figura 12**). Es la primera vez que las bases de Boron Schiff derivadas de α -aminoácidos actúan como notorias sondas fluorescentes de tinción celular dual (nucleólos y citoplasma). Los derivados de boro no solo mostraron buena fotoestabilidad y buenos rendimientos cuánticos en solución, sino que también exhibieron baja citotoxicidad, lo que los convierte en buenos candidatos para ser utilizados en diagnóstico médico [20].

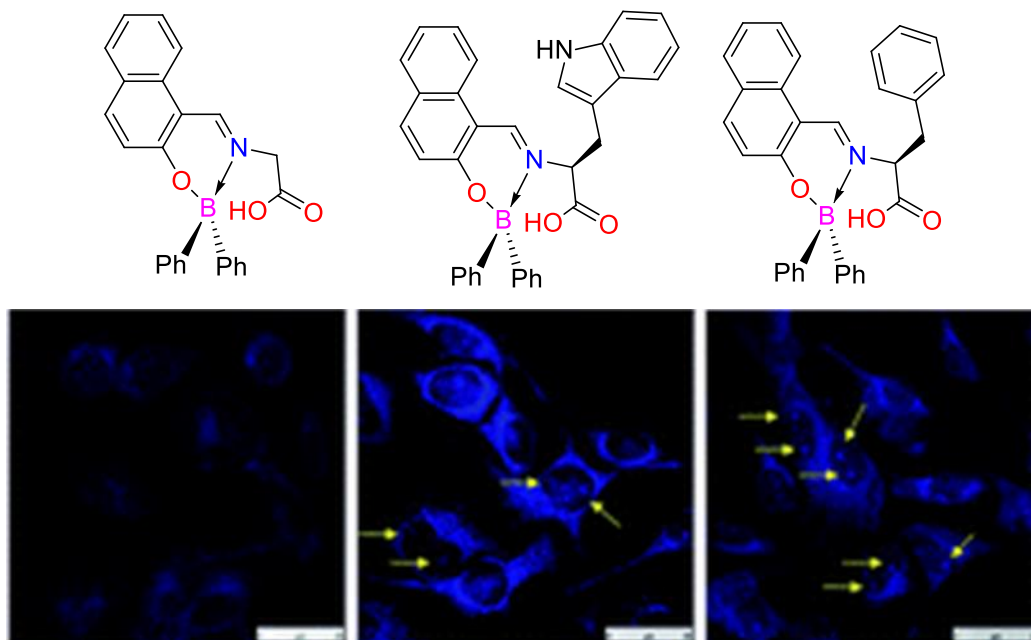


Figura 12. Rotores moleculares de boro derivados de Bases de Schiff con aminoácidos, tinción al citoplasma y nucleolo, de células de melanoma B16F10 [20]

Con base en la revisión bibliográfica y lo descrito anteriormente, en la presente trabajo de investigación se plantea realizar la síntesis de dos nuevos rotors moleculares fluorescentes quirales tipo BOSCHIBA, usando derivados de bases de Schiff provenientes de aminoácidos (su estructura general se muestra en la **Figura 13**), los cuales, en un principio le conferirán mayor solubilidad, selectividad y afinidad a la célula [35]. Por otra parte, debido a que los aminoácidos contienen grupos electro donadores o sistemas deslocalizados, fungirán como fluoróforos intrínsecos. Dichos compuestos serán sometidos a un estudio de luminiscencia a diferentes rangos de viscosidad y de pH, además de un posible uso como tinte fluorescente celular. Adicionalmente, se espera llevar a cabo una síntesis menos estricta y en menos pasos en comparación con la síntesis de derivados de BODIPY.

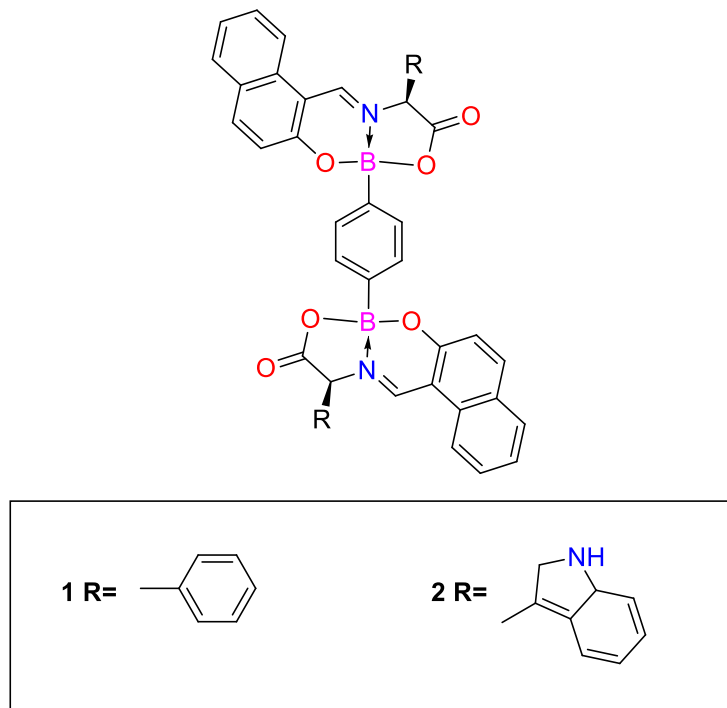


Figura 13. Estructura general de los rotores moleculares fluorescentes derivados de boro propuestos.

CAPITULO 3. HIPÓTESIS, OBJETIVOS Y APORTACIÓN CIENTÍFICA

3. 1. Hipótesis

Con base en el diseño molecular los rotores moleculares fluorescentes derivados de aminoácidos muestran cambios en su fluorescencia en diferentes medidas de viscosidad y pH, además estos compuestos son útiles como tinte celular.

3. 2. Objetivos

3. 2. 1. Objetivo general

Sintetizar y caracterizar dos rotores moleculares fluorescentes derivados de boro para censado de viscosidad y pH, y evaluar su posible aplicación en la obtención de bioimágenes *in vitro*.

3. 2. 2. Objetivos específicos

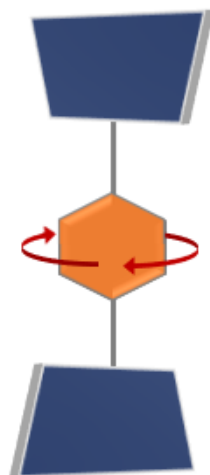
1. Sintetizar dos nuevos rotores moleculares fluorescentes derivados de boro con fragmentos de aminoácidos.
2. Caracterizar los compuestos obtenidos mediante técnicas espectroscópicas: Resonancia Magnética Nuclear (RMN) ^1H , ^{13}C , ^{11}B , Espectrofotometría de Ultravioleta Visible, Espectroscopía de fluorescencia y espectrometría de masas de alta resolución
3. Estudiar las propiedades fotofísicas de los nuevos rotores en medio viscoso y a diferentes valores de pH.
4. Realizar estudios de modelado molecular de ambos compuestos a diferentes medidas de viscosidad
5. Obtener bioimágenes en células cancerígenas *in vitro* con los rotores moleculares fluorescentes.

3. 3. Aportación científica

En el presente proyecto se busca darle continuidad al trabajo de Ibarra- Rodríguez (2017) en el cual se sintetizaron rotores moleculares fluorescentes derivados de bases de Schiff, aunque presentaron propiedades emergentes interesantes, algunas desventajas que

presentaron fueron la baja solubilidad y una tinción tenue al citoplasma. Actualmente se busca mejorar la solubilidad de los rotores moleculares con la adición de fragmentos de aminoácidos, así como la sensibilidad al medio viscoso y halocromismo.

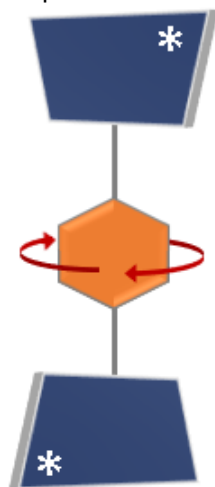
Ibarra et al. JOC 2017



Anteriormente dentro del grupo de investigación se sintetizaron rotores moleculares de boro, estos compuestos mostraron las siguientes características:

- ✓ Baja solubilidad
- ✓ Tinción tenue al citoplasma
- ✓ Piezocromismo
- ✓ Sensibilidad al medio viscoso
- ✓ Termocromismo

Propuesta de trabajo



En el presente trabajo se propone:

- ✓ La adición de fragmentos de aminoácidos para aumentar la solubilidad del compuesto y obtener así mejores bioimágenes.
- ✓ Halocromismo
- ✓ Sensibilidad al medio viscoso
- ✓ Posibilidad de obtener compuestos que contengan dos centros de rotación (grupo fenilo y grupos aminoácidos)

CAPITULO 4. MATERIALES Y MÉTODOS

4. 1. Equipos y reactivos

El desarrollo experimental para la síntesis de los nuevos rotores moleculares fluorescente se efectuó en el Laboratorio de materiales III que se encuentra ubicado en División de estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Los reactivos utilizados en este proyecto fueron adquiridos en Sigma Aldrich®. El presente proyecto se desarrolló haciendo uso de diversas instalaciones y equipos caracterización lo cual se muestran en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Equipos utilizados y ubicación

Análisis	Equipo	Ubicación
Espectroscopía UV-Vis	Espectrofotómetro PerkinElmer Lambda 365	FCQ-UANL (Laboratorio de Materiales III)
Espectroscopía de fluorescencia	Espectrofotómetro Horiba Scientific Fluorolog-3	
Espectros de RMN de ^1H , ^{13}C y ^{11}B	Bruker Advance DPX-400 MHz	Facultad de Medicina-UANL
Espectrometría de masa	Espectrómetro AB Sciex API 2000 TM Sistema LC/MS/MS	CINVESTAV-IPN (CDMX)
Difracción de rayos-X	Espectrómetro Bruker SMART APEX CCD	
Obtención de bioimágenes	Microscopio confocal	Facultad de Biología-UANL

4. 2. Parte experimental

4. 2. 1. Síntesis general

Los compuestos se obtuvieron mediante una reacción multicomponentes, como se aprecia en el esquema sintético general (**Figura 14**), usando una relación estequiométrica 2:2:1, de 2-hidroxi-1-naftaldehído, aminoácido (fenilalanina o triptófano) y ácido 1,4-bencendiborónico, respectivamente. Esta reacción se llevó a cabo mediante calentamiento convencional, la cual se colocó a reflujo y agitación, la reacción se monitoreo mediante cromatografía de capa fina. En ambos casos al alcanzar la temperatura ambiente, se observó la formación de precipitado color amarillo, el cual se separó por medio de filtración y posteriormente se hicieron lavados con hexano.

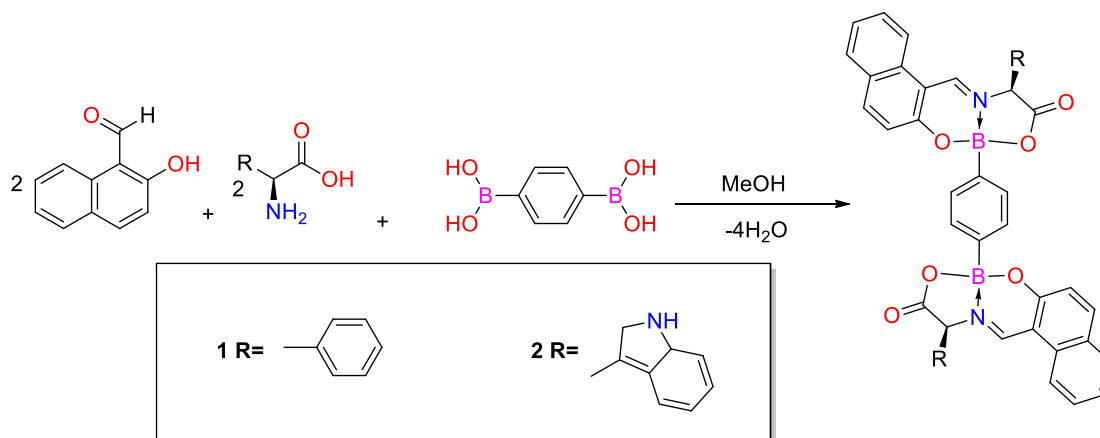


Figura 14. Ruta general de síntesis de los compuestos **1** y **2**.

4. 2. 1. 1. Síntesis específica

Compuesto 1

En un matraz de 100 ml previsto de una barra de agitación, se adicionó 2-hidroxi-1-naftaldehído (344.36 mg, 2.0 mmol), fenilalanina (330.38 mg, 2.0 mmol), ácido benceno 1,4-diborónico (165.75 mg, 1.0 mmol) y 50 ml de MeOH. Posteriormente, al matraz de reacción se le colocó un condensador y se llevó a calentamiento con agitación vigorosa

por 24 horas o hasta observar el consumo de las materias primas. La mezcla de reacción se enfrió y se observó la formación de un precipitado. Finalmente, la mezcla de reacción se filtró y el precipitado fue lavado con hexano obteniendo como producto un sólido ligeramente amarillo. (ver nomenclatura en anexos A1) Rendimiento químico de 89.03%. Punto de fusión 284-287°C. ^1H NMR (400 MHz, Acetona- d_6) δ 8.15 (s, 1H, H-11), 8.14 – 8.11 (m, 1H, H-2), 7.14 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H-5), 7.52 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, H-7), 7.41 (dd, $J = 9.0, 4.5$ Hz, 1H, H-6), 7.37 – 7.30 (m, 6H, H-8, H-15, H-17), 7.26 – 7.16 (m, 2H, H-20), 7.14 (dd, $J = 7.4, 3.6$ Hz, 2H, H-3, H-16), 4.74 (dd, $J = 11.4, 4.7$ Hz, 1H, H-12), 3.42 (dd, $J = 13.4, 4.8$ Hz, 1H, H-13), 2.90 (dd, $J = 11.6, 11.6$ Hz, 1H, H-13'). ^{13}C NMR (101 MHz, Acetona- d_6) δ 171.21 (C-18) 162.56 (C-1), 158.43 (C-11), 140.72 (C-2), 136.64 (C-14), 132.55 (C-10), 131.12 (C-20), 130.61 (C-16), 130.22 (C-5), 130.17 (C-7), 129.67 (C-15), 129.52 (C-19), 128.78 (C-4), 128.26 (C-17), 125.70 (C-6), 121.35 (C-3), 120.99 (C-8), 112.34 (C-9), 66.56 (C-12), 38.78 (C-13). COSY correlation ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{H}}$): 8.14 – 8.11/7.14 (H-2/H-3), 7.14/7.41 (H-5/H-6), 7.52 /7.41 (H-7/H-6), 7.52/7.37 – 7.30 (H-7/H-8), 7.37 – 7.30/7.14 (H-15/H-16), 4.74/3.42 (H-12/H-13), 4.74/2.90 (H-12/H-13'), 3.42/2.90 (H-13/H-13'). HSQC correlation ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$): 8.15/158.43 (H-11/C-11), 8.14 – 8.11/140.72 (H-2/C-2), 7.14/130.22 (H-5/C-5), 7.52/130.17 (H-7/C-7), 7.41/125.70 (H-6/C-6), 7.37 – 7.30/120.99 (H-8/C-8), 7.37 – 7.30/129.67 (H-15/C-15), 7.37 – 7.30/128.26 (H-17/C-17), 7.26 – 7.16/131.12 (H-20/C-20), 7.14/121.35 (H-3/C-3), 7.14/130.61 (H-16/C-16), 4.74/66.56 (H-12/C-12), 3.42/38.78 (H-13/C-13), 2.90/38.78 (H-13'/C-13). ^{11}B NMR (128 MHz, Acetone- d_6 , 298 K): $\delta = 6.44$ ppm. HRMS m/z : calculado para $[\text{C}_{46}\text{H}_{34}\text{B}_2\text{N}_2\text{O}_6 + \text{H}]^+$ 733.267574; encontrado: 733.267677, error ppm: 0.140090.

Compuesto 2

La síntesis del compuesto **2** fue obtenido bajo las mismas condiciones de reacción del compuesto **1**. Rendimiento químico de 78.65%. Punto de fusión 296-300°C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.79 (dd, $J = 6.6, 2.7$ Hz, 1H, N-H), 9.39 (dd, $J = 24.4, 2.6$ Hz, 1H, H-11), 8.24 – 8.06 (m, 2H, H-2), 7.93 – 7.78 (m, 2H, H-16), 7.74 – 7.57 (m, 1H, H-8, H-5), 7.42 (dt, $J = 17.0, 7.7$ Hz, 3H, H-6, H-19), 7.29 – 7.10 (m, 7H, H-7, H-21, H-24), 7.06 – 6.81 (m, 4H, H-17, H-18), 6.59 (dd, $J = 14.7, 7.3$ Hz, 1H, H-3), 4.82 – 4.75 (m, 1H,

H-12), 3.75 – 3.56 (m, 1H, H-13), 3.22 – 3.06 (m, 1H, H-13'). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 171.76 (C-22), 159.95 (C-1), 157.94 (C-11), 139.64 (C-2), 136.11 (C-20), 135.72 (C-10), 131.10 (C-23), 130.10 (C-24), 129.07 (C-6), 127.36 (C-4), 126.93 (C-9), 124.84 (C-21), 124.55 (C-3), 123.11 (C-7), 121.25 (C-18), 120.16 (C-8), 118.67 (C-16), 118.52 (C-17), 118.27 (C-5), 111.32 (C-19), 107.99 (C-15), 107.08 (C-14), 64.64 (C-12), 27.96 (C-13). ^{11}B NMR (128 MHz, DMSO- d_6 , 298 K): δ = 7.48 ppm. MS (m/z): calculado para $[\text{C}_{50}\text{H}_{36}\text{B}_2\text{N}_4\text{O}_6 + \text{H}]^+$ 811.289372; encontrado: 811.289822, error ppm: 0.554213.

4. 3. Caracterización

4. 3. 1. Resonancia magnética nuclear (RMN)

Para los análisis de resonancia magnética nuclear de ^1H , ^{13}C , ^{11}B y 2D (Heteronuclear Single Quantum Correlation y Correlation Spectroscopy) de los compuestos **1** y **2** se hizo uso de un espectrómetro Bruker Advance DPX-400: ^1H (400 MHz) usando como disolventes deuterado la acetona y DMSO. Se utilizó el desplazamiento químico del disolvente de anclaje (locked) como referencia para los núcleos analizados, este es un método predeterminado en el software del equipo y una reciente convención propuesta por la IUPAC (NMR nomenclature. Nuclear spin properties and conventions for chemical shifts)

4. 3. 2. Espectrometría de masas

Para la determinación del pico ion/molecular y masas de alta resolución se hizo uso de un equipo AB Sciex API 2000TM Sistema LC/MS/MS acoplado a un cromatógrafo de líquidos, equipado con un detector de masas y analizador de tiempo de vuelo.

4. 3. 3. Difracción de rayos-X de monocristal (DRX)

Los datos cristalográficos de los compuestos de **1** se registraron en un equipo Nonius Kappa-CCD (λ CuK α = 1.54178 Å, con monocromador de grafito, T = 297 K-CCD en modo de detención de imágenes giratorias). El cristal se soportó en un tubo Lindeman. Las estructuras se ajustaron mediante métodos directos haciendo uso de SHELXS-97 y se refinaron frente a F2 todos los datos mediante mínimos cuadrados de matriz completa con el programa SHELXL-9. Todas las operaciones del software se realizaron bajo el

grupo de programas del entorno WIN-GX. Los átomos pesados se encontraron por diferenciación de mapa de Fourier y se afinaron anisotrópicamente. Los átomos de hidrógeno fueron encontrados por diferenciación de mapa de Fourier y refinados isotrópicamente y los átomos de hidrógeno restantes se modelaron geométricamente y no se refinaron.

4. 3. 4. Caracterización fotofísica

Para el caso de la caracterización fotofísica, los espectros de absorción de los compuestos **1** y **2** se determinaron en un espectrofotómetro PerkinElmer Lambda 365 en grado espectroscópico de metanol, realizando barridos entre la región de 190 a 600 nm con una velocidad de barrido de 600 nm por seg. Por otra parte, los espectros de emisión se obtuvieron en un espectrofotómetro fluorómetro Horiba Scientific Fluorolog-3. Los rendimientos cuánticos (Φ) de los compuestos **1** y **2** se realizaron en solución de acuerdo con el procedimiento descrito en la literatura [43] y utilizando como estándar el sulfato de quinina en H_2SO_4 0.1 M ($\Phi = 0.54$ a 310 nm). Para cada muestra se analizaron tres soluciones con absorbancia menor a 0.1 y se realizó un método gráfico para la compensación de las observaciones mediante una línea recta. De manera similar, los coeficientes de extinción molar se determinaron a partir de tres concentraciones molares y utilizando una línea de compensación.

4. 3. 4. 1. Ensayo de viscosidad

Para conocer la sensibilidad de los compuestos al cambio de viscosidad se prepararon soluciones de Metanol/glicerol de 0 a 90%, y se les adicionó una solución del compuesto correspondiente con una concentración de $3 \times 10^{-5} \text{M}$. para determinar la intensidad de la luminiscencia las muestras, estas fueron analizadas en un fluorómetro Horiba Scientific Fluorolog-3.

4. 3. 4. 2. Ensayo de pH

El cambio de intensidad de luminiscencia a diferentes medidas de pH se determinó en el espectrofotómetro de emisión fluorómetro Horiba Scientific Fluorolog-3, para ello se prepararon soluciones de ambos compuestos a una concentración de entre 2×10^{-5} y $3 \times 10^{-5} \text{M}$, a las soluciones se les modifico el pH con soluciones de HCl 0.01M y NaOH 0.01M.

4. 4. Modelado Molecular

Todos los cálculos se realizaron para todos los átomos a través de los 3 parámetros de Becke, el funcional híbrido de Lee-Yang-Parr (B3LYP) [44] y el triple zeta de valencia con dos conjuntos de funciones de polarización (def2-TZVPP) [45], usando el paquete de programa ORCA 4.2. [46] Las excitaciones verticales se calculan mediante el método de la teoría funcional de la densidad dependiente del tiempo (TD-DFT), considerando también el funcionamiento de rango separado mediante el método de atenuación de Coulomb (CAM-B3LYP) para evaluar las posibles desviaciones en las energías de excitación de transferencia de carga que B3LYP puede subestimar [47, 48, 49]

4. 5. Citotoxicidad y bioimágen de fluorescente

4. 5. 1. Ensayo de viabilidad celular *in vitro*

En este estudio se utilizaron células de cancer de cervix (HeLa ATCC CCL-2), el cual se sembraron 5×10^3 células en una placa con 96 pocillos. Posteriormente, las células en la placa se incubaron durante 24 h a 37 °C en un medio de cultivo DMEM/F12 complementado con suero fetal bovino al 10 % y antibiótico-antimicótico al 1 %. Las células se lavaron dos veces con un buffer PBS, se agregaron los compuestos **1** y **2** en concentraciones entre 0,1 y 5.0 $\mu\text{g/mL}$ en un medio recién preparado libre de suero y fueron incubadas durante 20 min a 37°C. Una vez cumplido el tiempo de incubación se realizaron lavados a los cultivos dos veces con agua destilada y se agregaron 50 μL de solución cristal violeta al 0.5 % en cada pocillo y la placa se incubó durante 20 min a 25°C, luego las células se lavaron cuatro veces con agua destilada y se secaron a 25°C por 24 h. Posteriormente, se adicionaron 200 μL de MeOH a cada pocillo y la placa se incubó nuevamente por 20 min a 25°C. Finalmente, la densidad óptica se determinó a 570 nm utilizando un equipo VARIOSKAN LUX (Thermo Scientific). Se agregó un grupo control usando solo DMSO al 10%.

4. 5. 2. Bioimágen *in vitro*

Se sembraron en una placa de 6 pocillos células HeLa sobre un cubreobjetos a una concentración de 1.5×10^5 células en 1.5 ml de medio de cultivo DMEM/F12

complementado con 10 % de suero fetal bovino y 1 % de antibiótico-antimicótico. Las placas con células se incubaron por 24 h a una temperatura de 37 °C, las células se lavaron con un buffer PBS, posteriormente, el compuesto **1** y **2** se adiciono a una concentración de 1.0 µg/mL en cada pocillo, utilizando medio fresco libre de suero. Finalmente, las células se fijaron con 500 µL de paraformaldehído al 4.0 % por 10 min y los cubreobjetos se examinaron mediante microscopía de fluorescencia.

4. 6. Disposición de residuos

Los residuos generados durante el desarrollo de este proyecto fueron dispuestos conforme al “plan de gestión integral de residuos peligrosos establecido en la Universidad Autónoma de Nuevo León” como se indica en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Clasificación de residuos peligrosos y contenedor en el cual depositarlos

Residuo generado	Tipo	Disposición
Solución acuosa de HCl y NaOH	Soluciones salinas, sales ácidos y bases.	Colector A
Na ₂ SO ₄	Sólidos inorgánicos, sales inorgánicas.	Colector B
Aminoácidos, metanol, hexano, etanol, etilenglicol, acetona	Tóxicos e inflamables, aminas, solventes orgánicos no halogenados.	Colector C
CH ₂ Cl ₂ , CHCl ₃	Tóxicos e inflamables, aminas, solventes orgánicos halogenados.	Colector D
Residuos sólidos derivados de la reacción	Combinaciones orgánicas sólidas.	Colector G

CAPITULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5. 1. Síntesis de los rotores moleculares

De acuerdo con los antecedentes, se puede notar que se han sintetizado una gran variedad de rotores moleculares fluorescentes (RMF) derivados de boro, sin embargo, los métodos de síntesis involucran múltiples pasos, así como condiciones estrictas de reacción. Actualmente, ha llamado la atención las reacciones por multicomponentes debido a que los productos son obtenidos en un solo paso y en un menor tiempo de reacción, lo que las convierte en un método muy atractivo con la ventaja de lograr una diversidad de productos simplemente variando los componentes de la reacción [50], así como la reducción de disolventes para llevar a cabo la reacción, esto hace que metodologías que involucran reacciones multicomponentes tengan un enfoque sustentable y amigable con el medio ambiente. En la **Figura 15** y **Figura 16** se muestra las síntesis de los rotores moleculares por multicomponentes.

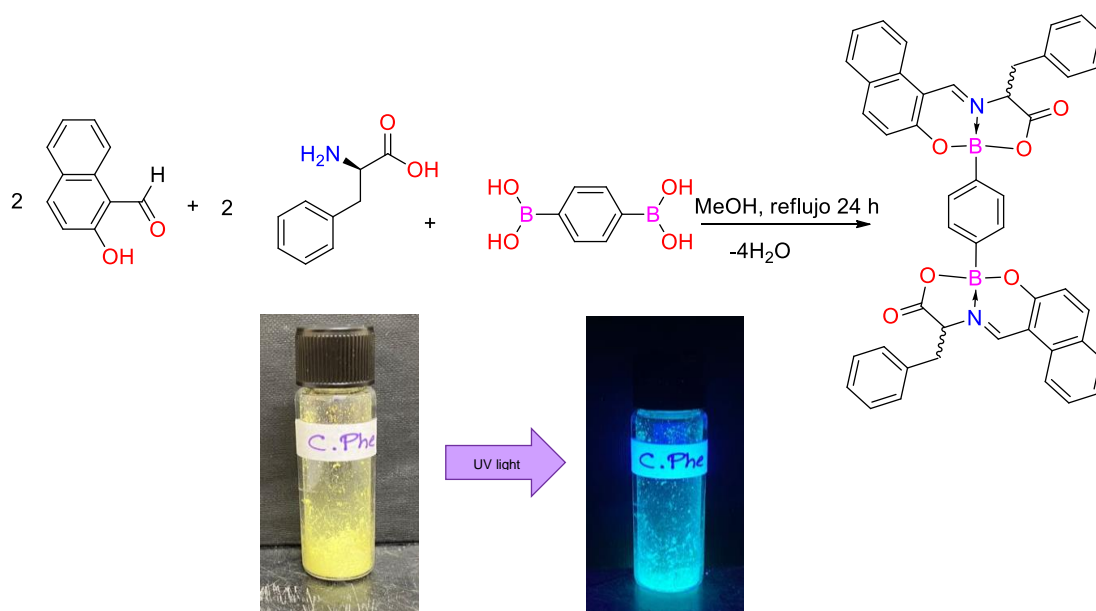


Figura 15. Ruta de síntesis del compuesto **1** y las imágenes del compuesto en estado sólido bajo la luz de día y UV (365 nm).

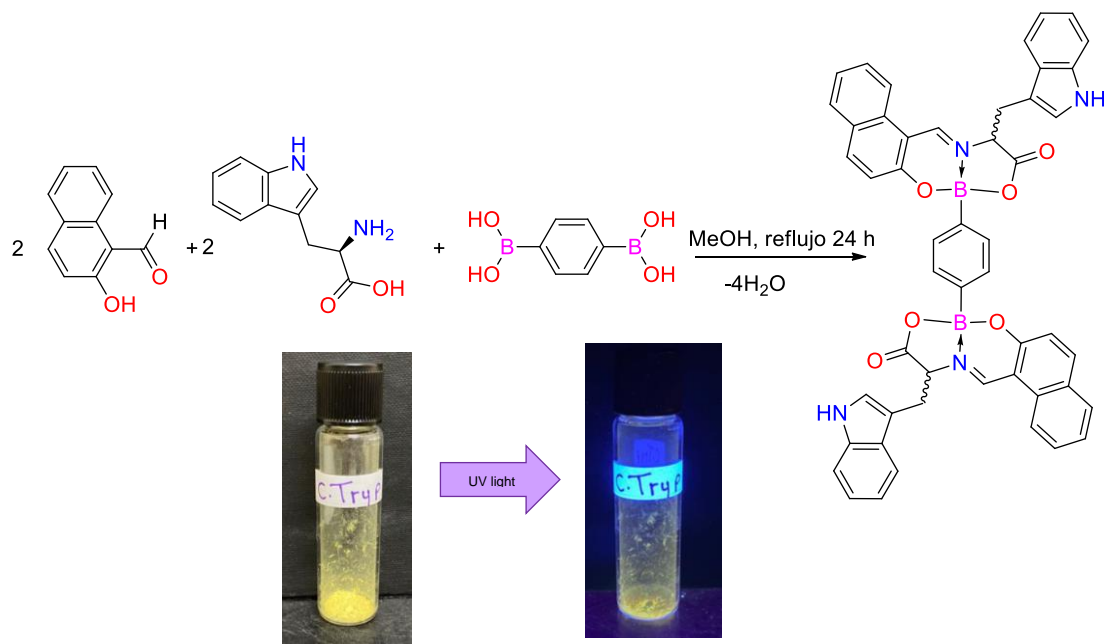


Figura 16. Ruta de síntesis del compuesto **2** y las imágenes del compuesto en estado sólido bajo la luz de día y UV (365 nm).

En comparación con el trabajo de Ibarra-Rodríguez (2017) [29] los rotores moleculares se obtenían en un tiempo de 96 h con rendimientos de entre 80-85%, su metodología sintética consta de 3 etapas involucrando el uso excesivo de CNCH_3 como disolvente. En el actual trabajo se reporta una síntesis por multicomponentes en 24 h por lo que se reduce a una cuarta parte del tiempo de reacción y con rendimientos entre 89 y 78%, evitando el uso de disolventes tóxicos y en consecuencia haciendo más eficiente el método.

5. 2. Caracterización estructural

5. 2. 1. Resonancia magnética nuclear (RMN)

Los compuestos **1** y **2** se analizaron mediante RMN de ^1H , ^{13}C y ^{11}B . En cuanto a RMN de ^1H para el compuesto **1** (ver espectro completo en anexos A2 a), se puede observar en el espectro una molécula altamente simétrica y con componentes aromáticos (**Figura 17**; Error! No se encuentra el origen de la referencia.). Entre el rango de 7.2 a 7.8 ppm se observan las señales correspondientes a los protones de los anillos aromáticos. Por otra parte, el protón imínico (H-11) se encuentra desplazado a 8.15 ppm como una señal simple e intensa, en la literatura se reporta que el protón imínico del ligante tiene un

desplazamiento de 8.8 ppm [20, 51], mientras que al coordinarse el nitrógeno de la imina este protón tiende a desplazarse hacia frecuencias más bajas debido a una “protección” o desplazamiento de densidad electrónica a causa de la formación del enlace $N \rightarrow B$.

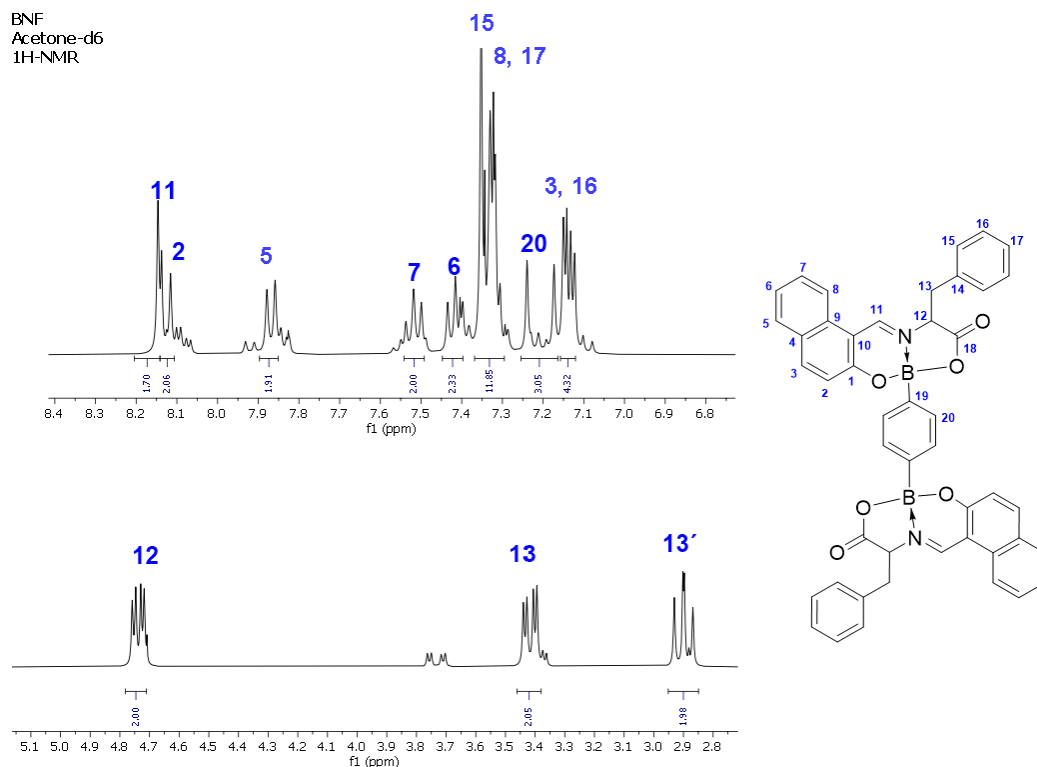


Figura 17. Espectro $[\delta, \text{ppm}]$ de RMN ^1H en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ del compuesto **1**.

Por otra parte, en el espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **1** (**Figura 18**) se pueden apreciar 20 señales definidas (ver espectro completo en anexos A2 b). Entre el rango de 120-140 ppm se encuentran los carbonos correspondientes al sistema aromático, mientras que la señal desplazada a 158.43 ppm pertenece al carbono de la azometina (C-11), la señal en 171.21 ppm corresponde al carbono del grupo carboxilo (C-18), estos desplazamientos son consistentes con lo reportado en la literatura [52]. De manera análoga, el carbono quiral (C-12) se encuentra desplazado a 66.56 ppm, típico desplazamiento de un carbono unido a nitrógeno (C-N), mientras que el carbono desplazado a 38.78 ppm corresponde a C-13 debido a su naturaleza y ambiente químico característico.

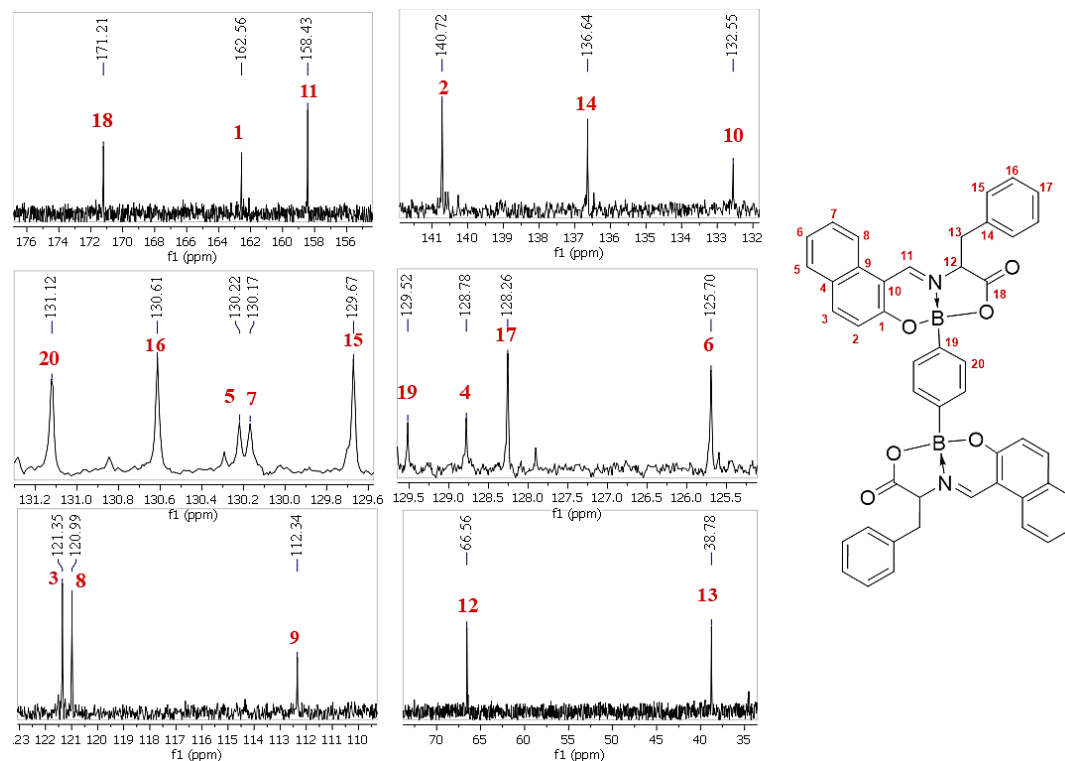


Figura 18. Espectro [δ , ppm] de RMN ^{13}C en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ del compuesto **1**.

Posteriormente, con la finalidad de corroborar una correcta asignación de las señales en los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C del compuesto **1**, se realizaron estudios de RMN en 2D obteniendo principalmente los experimentos de COSY (*Correlation Spectroscopy*) y HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Coherence*).

Con el fin de distinguir las señales e interacciones ^1H - ^1H en el compuesto **1**, el espectro de COSY se dividió en dos secciones: la zona alifática y la zona aromática (**Figura 19** y **Figura 20**). En la zona alifática se puede apreciar el acoplamiento que presenta el protón quiral H-12 con los protones adyacentes H-13 y H-13', así como un acoplamiento geminal entre H-13 y H-13'. Por otro lado, en la zona aromática se observa las correlaciones del H-2/H-3, H5-/H-6, H6-/H-7, H-7/H-8 y H-15/H-16. Y finalmente, debido a que el protón imínico no cuenta con protones adyacentes, no presenta ninguna correlación. El cuidadoso análisis del COSY nos indica la correcta asignación de los protones en la estructura molecular del compuesto **1**.

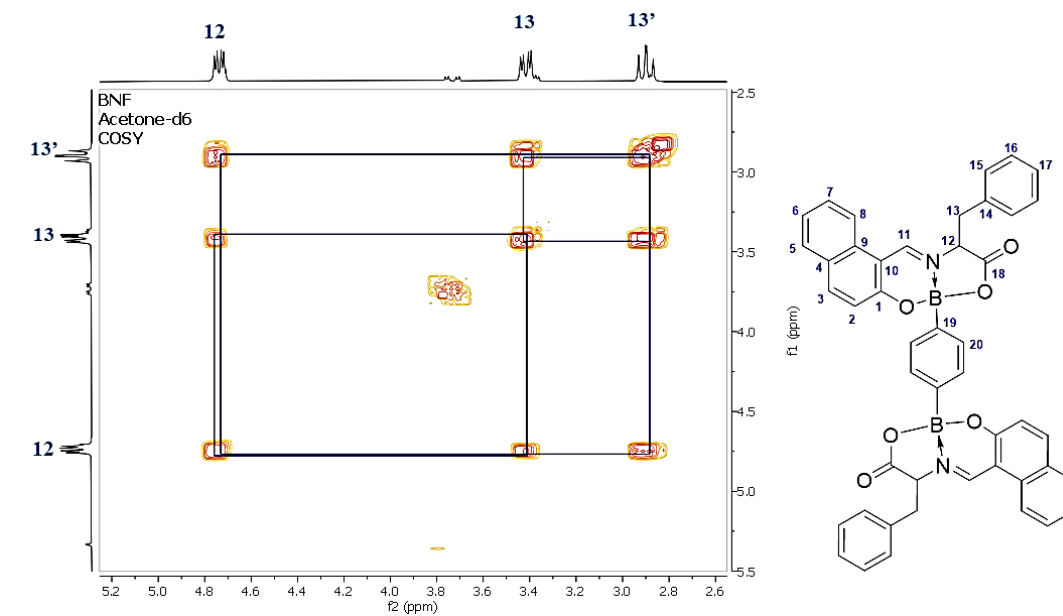


Figura 19. Espectro $[\delta, \text{ppm}]$ de RMN COSY en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ del compuesto **1** región alifática.

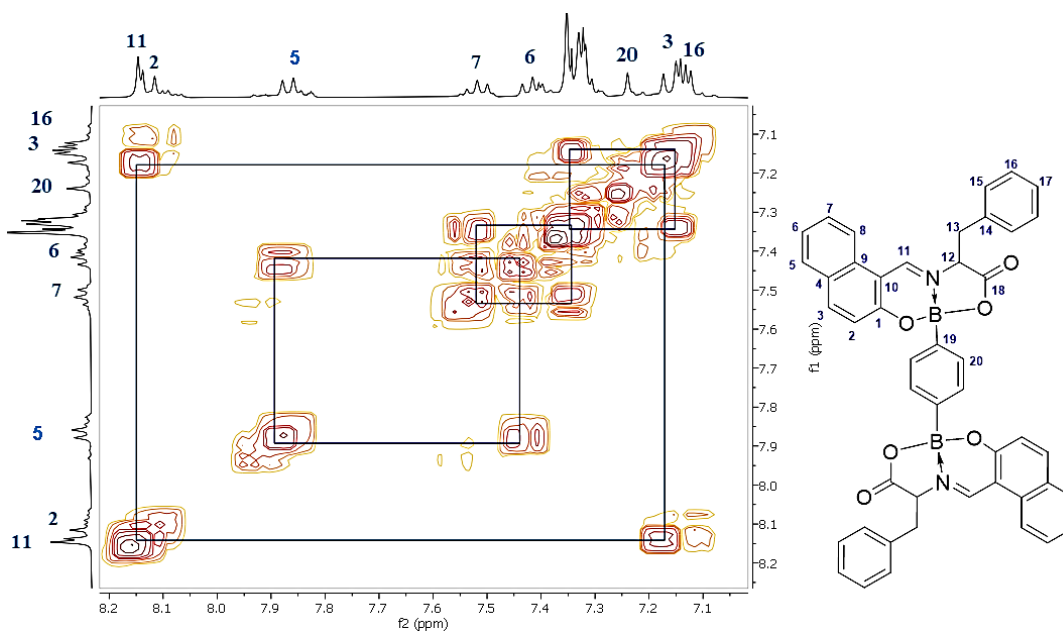


Figura 20. Espectro $[\delta, \text{ppm}]$ de RMN COSY en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ del compuesto **1** región aromática.

Continuando con el análisis espectroscópico de RMN en 2D, en el espectro de HSQC se logró determinar las correlaciones a un enlace entre ^{13}C - ^1H (ver espectro completo en anexos A2 c). De manera análoga al experimento de COSY, el espectro se dividió en 3 secciones; en la primera sección (**Figura 21**) se denota el acoplamiento entre el protón desplazado a 8.15 ppm en ^1H con el carbono desplazado a 158.43 ppm en ^{13}C , correspondiente a la función imínica. En la **Figura 22** y **Figura 23** se observan las correlaciones ^1H - ^{13}C del sistema aromático y zona alifática, es importante mencionar que en este experimento se pueden observar los carbonos cuaternarios, los cuales se diferencian por no presentar acoplamiento directo con protones, como es el caso de C-1, C-4, C-9, C-10, C-14, C-18.

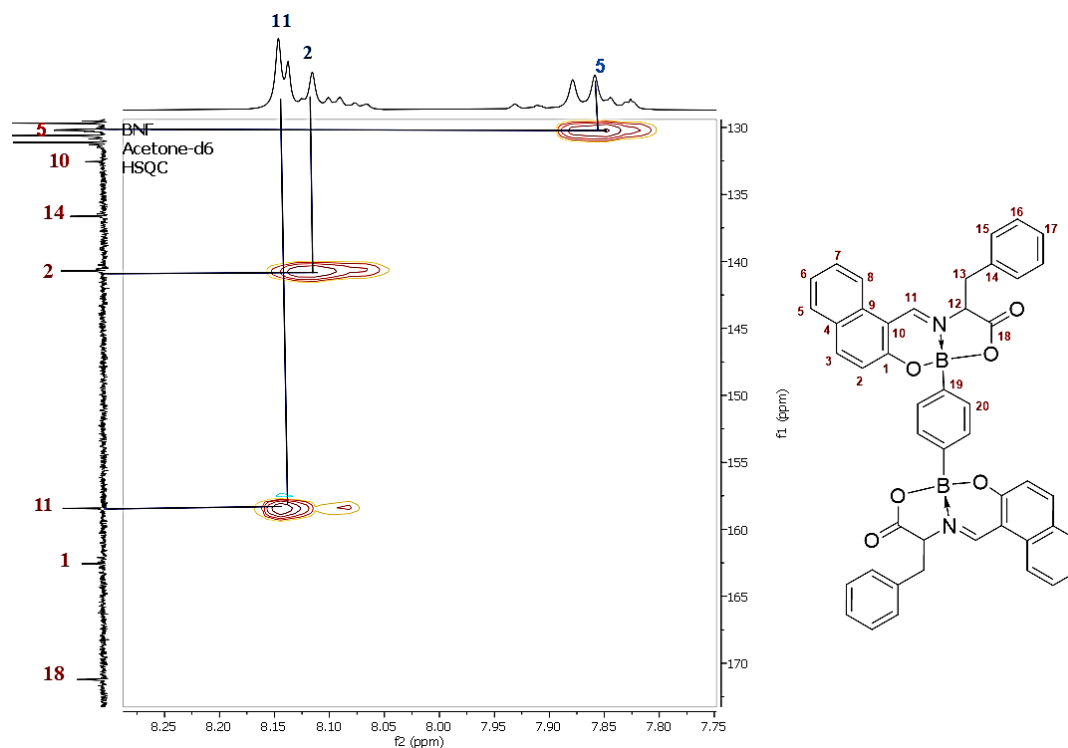


Figura 21. Espectro [δ , ppm] de RMN- HSQC del compuesto **1**- relación del C-H imínicos.

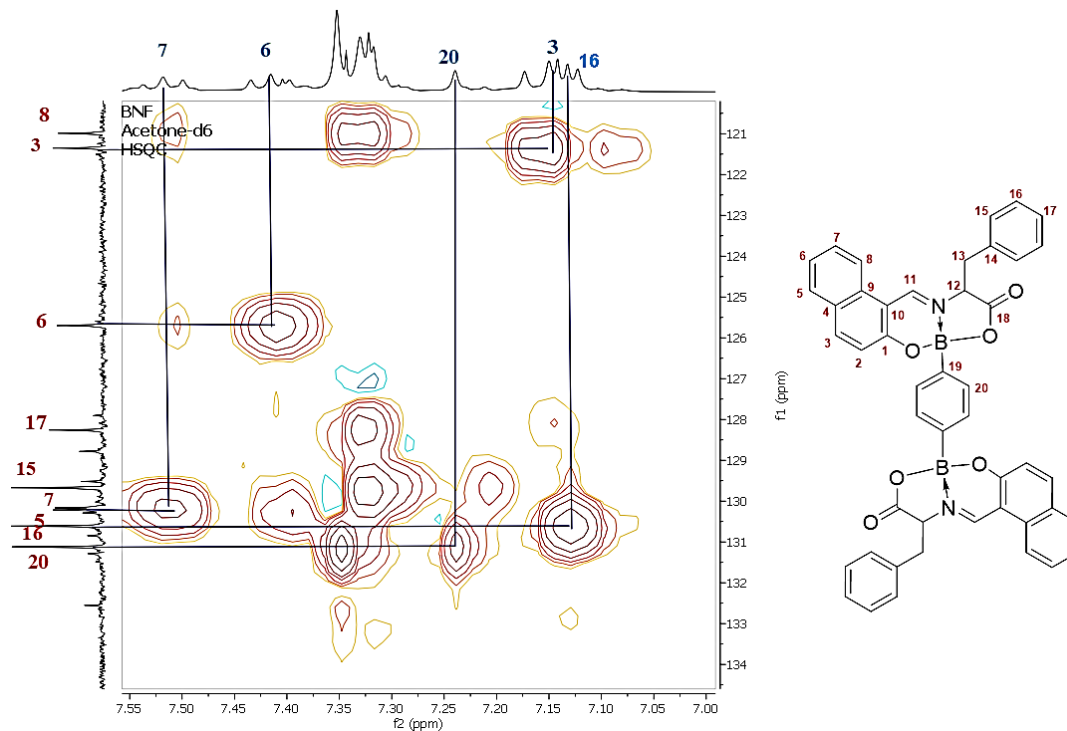


Figura 22. Espectro $[\delta, \text{ppm}]$ de RMN HSQC del compuesto **1** correlaciones presentes en la molécula, zona aromática.

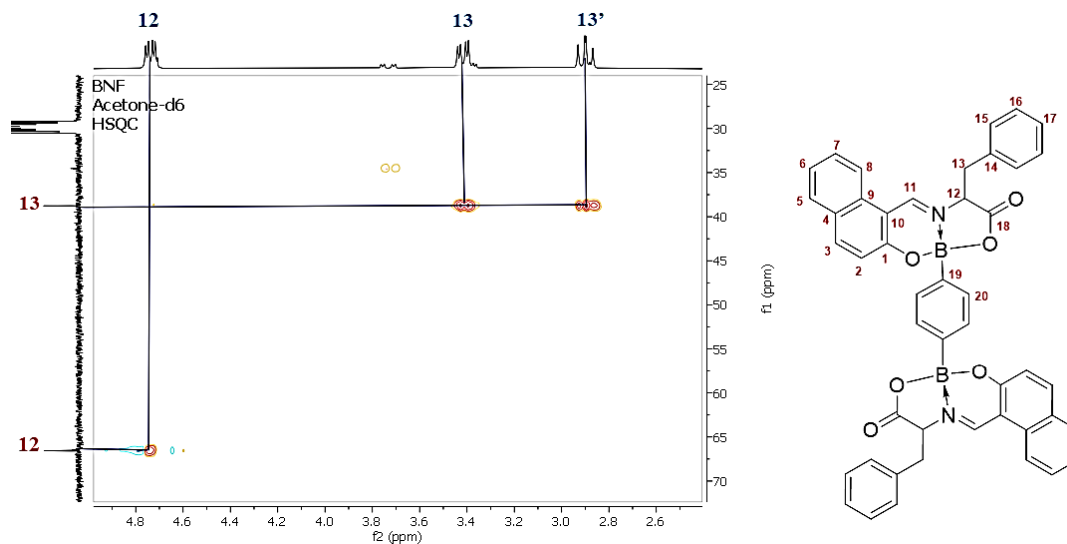


Figura 23. Espectro $[\delta, \text{ppm}]$ de RMN HSQC del compuesto **1** correlaciones presentes en la molécula, zona alifática.

Finalmente, en el espectro de RMN de ^{11}B se observa una señal ancha desplazada a 6.44 ppm (**Figura 24**), esto debido a que el isótopo de ^{11}B tiene un spin de $3/2$ y presenta un bajo momento cuadrupolar con relajación lenta [53]. El desplazamiento de boro a esa frecuencia indica un átomo de boro tetracoordinado y con hibridación sp^3 , ya que átomos de boro tricoordinados con hibridación sp^2 presentan un desplazamiento entre el rango de 15 a 125 ppm de acuerdo con la literatura [54]. Es importante mencionar que al hacer una ampliación en el espectro de ^{11}B solo se observa una señal, esto nos indica que no hay presencia del precursor de boro trivalente.

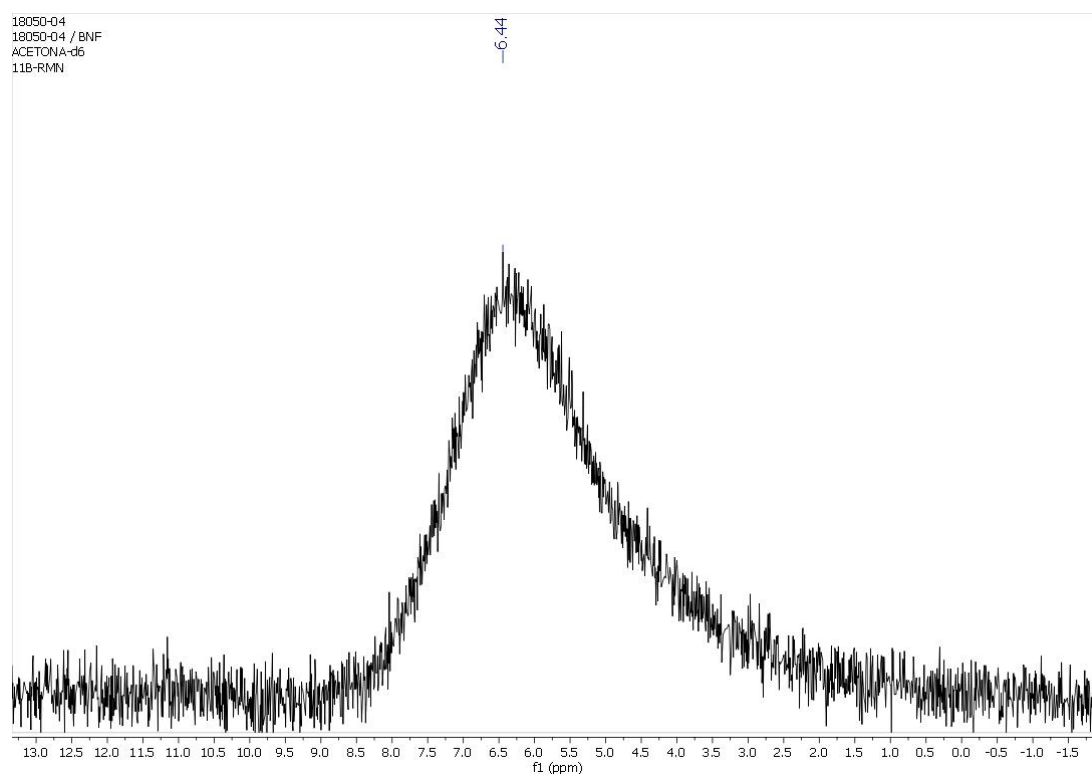


Figura 24. Espectro [δ , ppm] de RMN ^{11}B en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ del compuesto **1**.

Por otro lado, para el compuesto **2**, se hizo la asignación de señales de RMN de ^1H , ^{13}C y ^{11}B basada en el compuesto **1** y previos reportes [7, 20, 29]. En el espectro de RMN de ^1H (**Figura 25**), se observó la presencia de 17 señales (ver espectro completo en anexos A2 e), de las cuales el protón imínico se encuentra a un desplazamiento de 9.4 ppm, que concuerda con un desplazamiento similar a lo reportado por Lara y colaboradores [20]. Cabe destacar que la significativa diferencia entre el desplazamiento del protón imínico

del compuesto **1** (8.15 ppm) y el compuesto **2** (9.4 ppm) es debido a la posible protección provocada por el anillo aromático del fragmento de la fenilalanina puesto que existe una conformación en el que el cono de protección del anillo aromático del grupo fenilalanina se encuentra paralelo al protón imínico del compuesto **1**, sin embargo, en el compuesto **2** no se puede observar una conformación similar al compuesto **1** debido al impedimento estérico por parte del triptófano. En cuanto al espectro de RMN de ^{13}C se observan 24 señales (**Figura 26**), destacando la señal desplazada a 157.94 ppm perteneciente al carbono imínico (C-11). Y finalmente, con el análisis de RMN de ^{11}B se confirmó la presencia del átomo de boro tetracoordinado con un desplazamiento a 7.48 ppm al igual que su homólogo (compuesto**1**) (**Figura 27**).

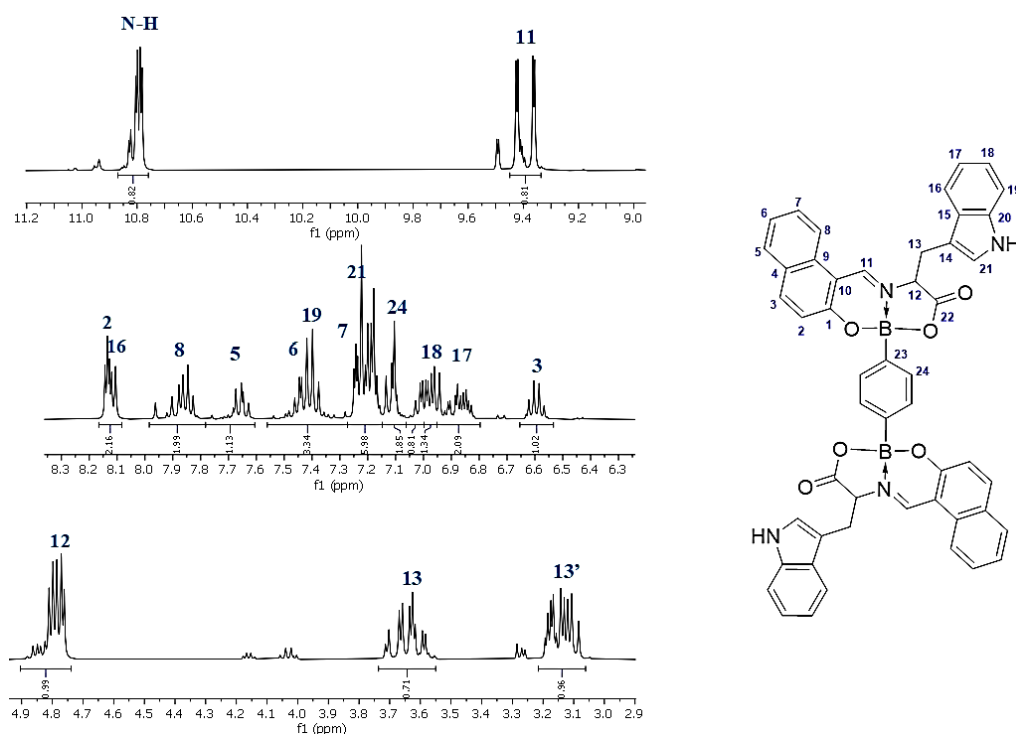


Figura 25. Espectro [δ , ppm] de RMN ^1H en $\text{DMSO-}d_6$ del compuesto **2**.

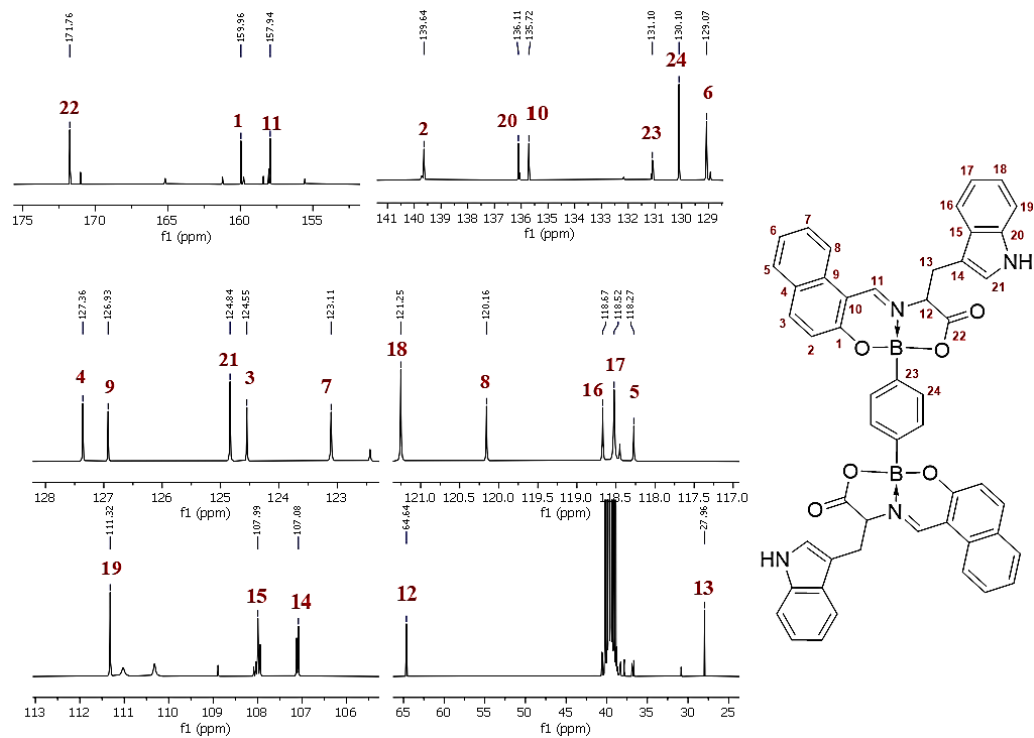


Figura 26. Espectro $[\delta, \text{ppm}]$ de RMN ^{13}C en DMSO-d_6 del compuesto **2**.

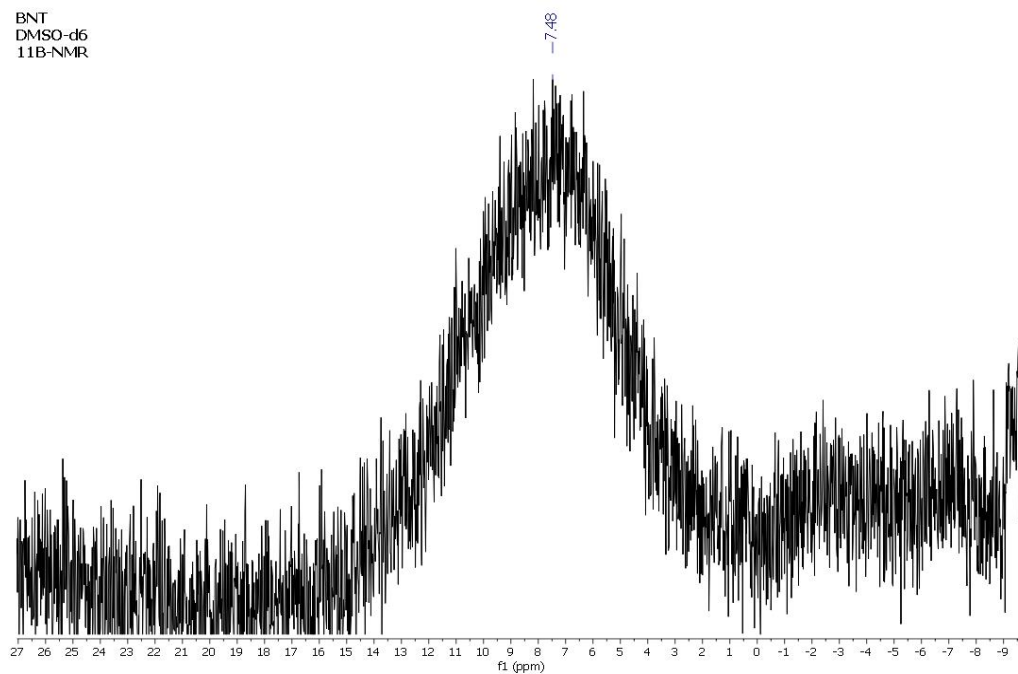


Figura 27. Espectro $[\delta, \text{ppm}]$ de RMN ^{11}B en DMSO-d_6 del compuesto **2**.

5. 2. 2. Espectrometría de masas de alta resolución (EMAR)

Mediante espectrometría de masas de alta resolución se determinó la presencia del ion molecular del compuesto **1** (Figura 28) y del compuesto **2** (Figura 29) correspondiendo de manera satisfactoria con la masa molecular teórica de los compuestos (Tabla 3).

En el espectro de masas del compuesto **1** se observó la formación de un dímero al observar una señal a 1465.52 m/z (Figura 28), la formación del dímero podría deberse a interacciones débiles de tipo π - π entre anillos aromáticos. Por otra parte, en el espectro del compuesto **2** se observaron dos señales destacables una a 811.28 m/z y otra a 767.30 m/z, perteneciente al ion molecular y al fragmento por descarboxilación respectivamente.

Tabla 3. Datos de espectrometría de masas para los compuestos **1** y **2**.

Compuesto	Formula molecular	Masa calculada (uma)	Masa obtenida (uma)	Error ppm
1	$C_{46}H_{34}B_2N_2O_6$	733.267574	733.267677	0.140090
2	$C_{50}H_{36}B_2N_4O_6$	811.289372	811.289822	0.554213

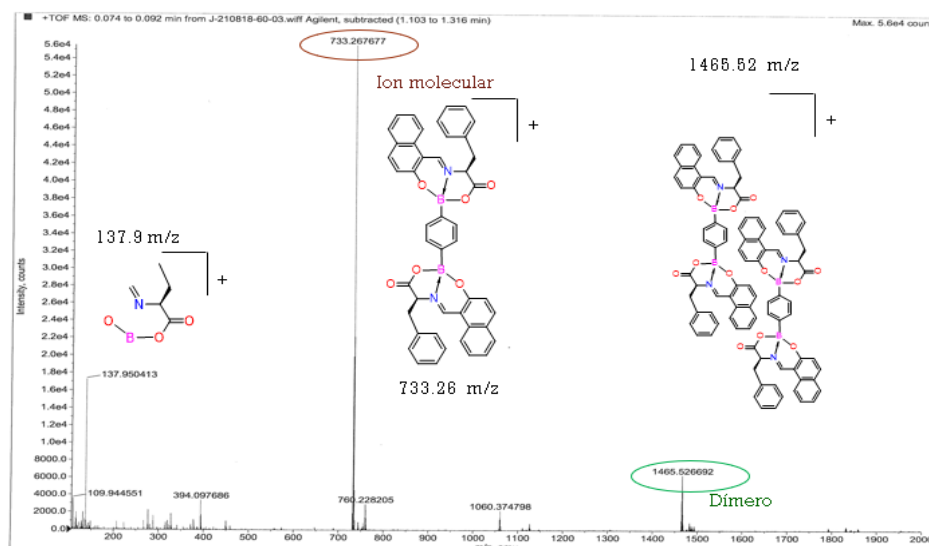


Figura 28. Espectro de masas de alta resolución para el compuesto **1**, mostrando los picos m/z más relevantes.

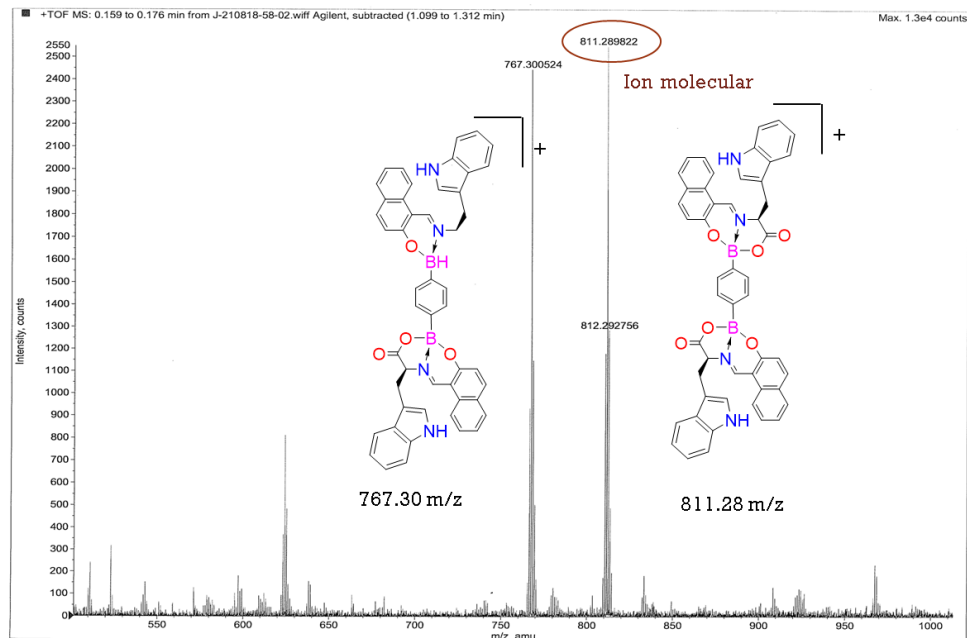


Figura 29. Espectro de masas de alta resolución para el compuesto **2**, mostrando los picos m/z más relevantes.

Una característica peculiar que presentan los espectros de masas de alta resolución es el patrón isotópico observado en la región de la señal del ion molecular donde se aprecian 6 picos con diferente intensidad (**Figura 30**). La relación m/z e intensidad es debido a las posibles combinaciones entre los isotopos del B y su abundancia, así como la combinación con otros isotopos de distintos elementos. El patrón isotópico de los compuestos indica la presencia de dos átomos de boro; la presencia de un solo átomo de boro solo presentaría dos señales con una relación 8:2 [55].

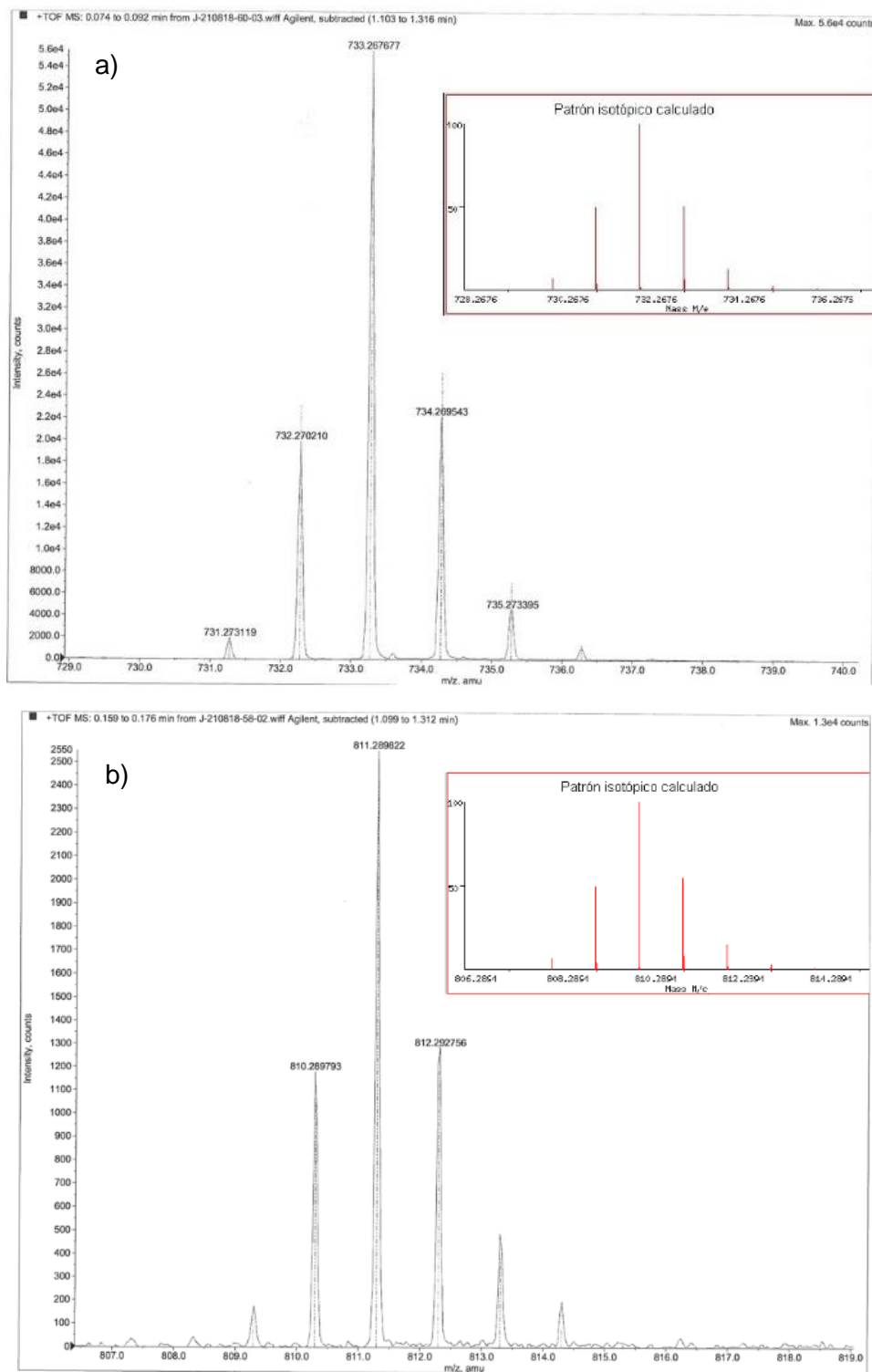


Figura 30. Patrón isotópico de a) compuesto 1, b) compuesto 2.

5. 2. 3. Difracción de rayos X de monocristal

Para el análisis por difracción de rayos-X de monocristal es necesario la obtención de cristales apropiados. Desafortunadamente solo fue posible la obtención de cristales del compuesto **1**, su estructura molecular en estado sólido se muestra en la **Figura 31**, así como los datos cristalográficos más relevantes se exhiben en la **Tabla 4**.

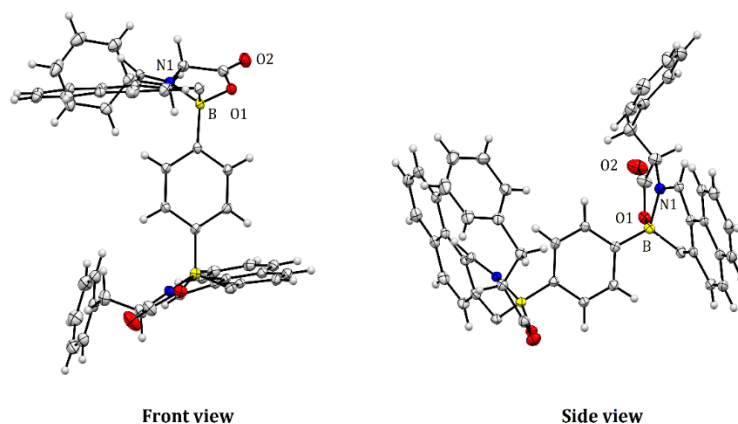


Figura 31. Estructura molecular del compuesto

Tabla 4. Datos cristalográficos del compuesto **1**

Formula empírica	C₄₆ H₃₄ B₂ N₂ O₆
Peso molecular (g/mol)	733.372 g/mol
Grupo espacial	P 2 ₁ /n
Sistema cristalino	monoclínico
a (Å)	10.2847(9)
b (Å)	14.2570(12)
c (Å)	27.340(2)
α (°)	90
β (°)	95.570(3)
γ (°)	90
Volumen (Å ³)	3989.91

Al analizar la estructura por difracción de rayos-X del compuesto **1**, se observa un complejo binuclear de boro, notando que el átomo de boro está tetracoordinado además de la formación de un biciclo [4,3,0] debido al enlace de coordinación N→B.

Dentro de las distancias más importantes se tiene la de B1→N1 y B2→N2 de 1.57 Å y 1.56 Å respectivamente, indicando una coordinación fuerte del átomo de nitrógeno, esta distancia de enlace es comparable a un enlace covalente de acuerdo con lo reportado en la literatura [29, 56]. El ángulo entre O1-B1-N1 y O1'-B2'-N2' es de 100.51° y 105.06° respectivamente, esto nos indica una geometría tetraédrica irregular. Usando los valores de ángulos diedros entre los átomos de O, B y C, se calculó el carácter tetraédrico mediante la ecuación de Höpfl [56] obteniendo un resultado de 99.80% mostrando una coordinación entre B→N de carácter covalente. Por otra parte, la geometría tetraédrica del boro no permite que los anillos de 5 y 6 miembros se encuentren planos, por lo que la deslocalización del sistema π no es óptimo perjudicando las propiedades ópticas no lineales, ya que están dependientes de gran magnitud de la deslocalización de electrones π y de la naturaleza del sistema conjugado (**Figura 32**).

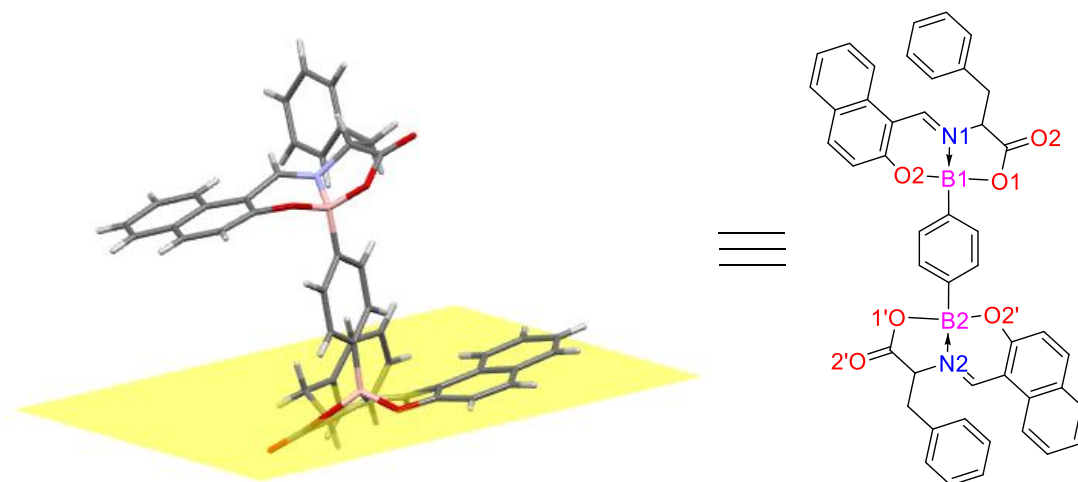


Figura 32. Plano de la estructura que muestra el átomo de boro fuera del plano.

La celda unidad está conformada por cuatro moléculas, con un grupo espacial P2₁/n el cual pertenece a un sistema monoclinico como se aprecia en la **Figura 33**, las interacciones que presenta son de tipo π intermoleculares entre el grupo naftilo y el grupo

fenilo, con una distancia entre 2.7 a 2.8 Å (**Figura 34**). Es probable que este tipo de interacciones favorezcan la formación de excímeros, mostrando bandas de absorción con un desplazamiento batocrómico, ensanchamiento y menor estructura vibracional.

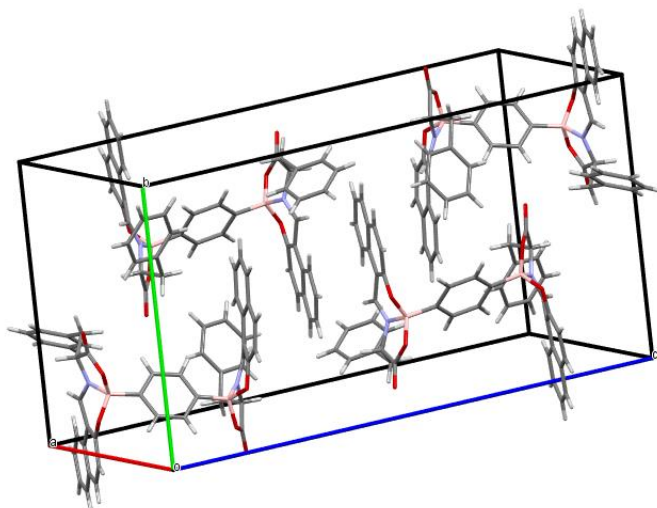


Figura 33. Celda unitaria del compuesto 1.

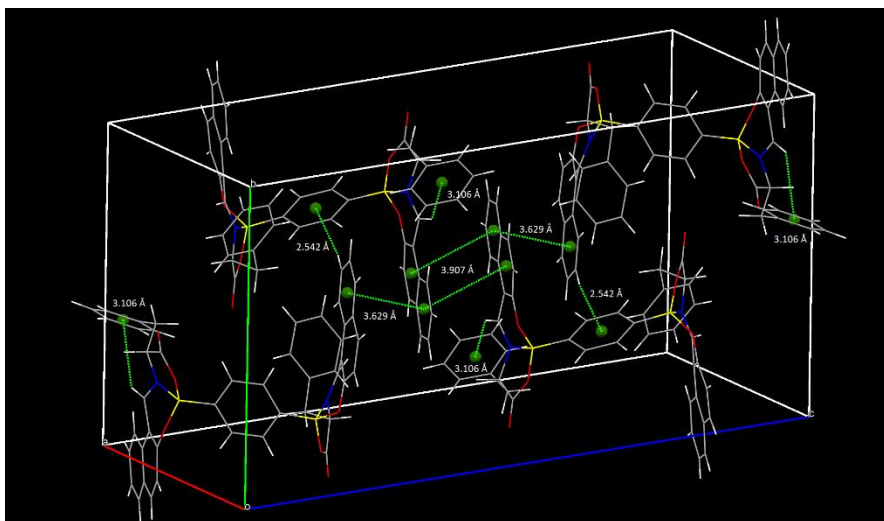


Figura 34. Interacciones intermoleculares.

5. 3. Estudio fotofísico

5. 3. 1. Espectroscopia UV-vis

En la **Figura 35** se presenta los espectros de absorción de ambos compuestos en metanol y a temperatura ambiente. Para cada compuesto se pueden notar dos bandas de absorción, la primera con una $\lambda_{\text{max}} = 400 - 420$ nm y la segunda banda a 335 nm atribuyéndolas a transiciones tipo $\pi \rightarrow \pi^*$.

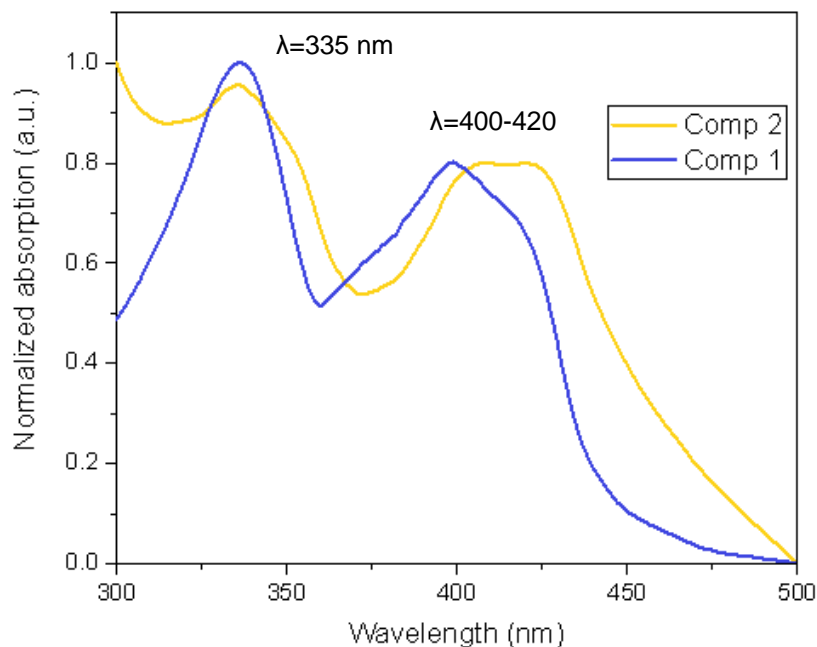


Figura 35.Espectro de absorción UV-vis del compuesto 1 y 2.

5. 3. 2. Espectroscopia de fluorescencia

Los espectros de emisión del compuesto **1** y **2** se determinaron en metanol y a temperatura ambiente con una λ de excitación a 400 nm correspondiente a la longitud de onda de absorción de menor energía, en ambos casos se presentó una banda de emisión, para el compuesto **1** a $\lambda_{\text{em}} = 473$ nm, mientras que para el compuesto **2** a $\lambda_{\text{em}} = 504$ nm (**Figura 36**). Aunque ambos compuestos presentan una banda estrecha con un máximo de emisión entre 470-510 nm la diferencia más notable es la intensidad relativa, puesto que el compuesto **1** tiene una intensidad 10 veces mayor que el compuesto **2**.

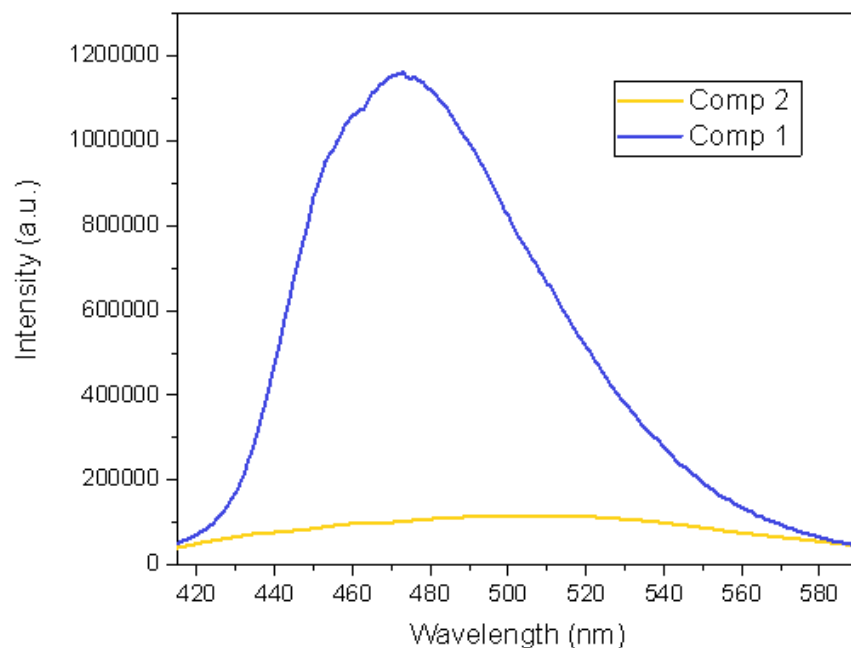


Figura 36. Espectro de emisión del compuesto **1** y **2**

En la **Tabla 5** se encuentran resumidas las propiedades fotofísicas del compuesto **1** y **2**, en la cual se aprecia que el compuesto **2** tiene un rendimiento cuantico bajo en comparación con el compuesto **1**, además se puede observar que tienen una λ_{max} semejante con un coeficiente de absorción elevado debido a las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$. Por otra parte, los compuestos presentan un desplazamiento Stokes elevado, lo que evita tener alguna interferencia entre la longitud de excitación y emisión.

Tabla 6. Propiedades fotofísicas de los compuestos **1** y **2**

Compuesto	$\lambda_{\text{abs}}[\text{nm}]$	$\epsilon \cdot 10^4 [\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}]$	$E_g [\text{eV}]$	$\lambda_{\text{em}}[\text{nm}]$	$\Delta\nu [\text{nm}]$	$\Phi [\%]$
1	335, 400	1.071	3.0995	473	73	12.72
2	335, 409	0.98	3.0313	504	95	0.41

5. 4. Ensayo de pH

Con el fin de evaluar la versatilidad de los rotores a diferentes estímulos aplicados, primeramente, se realizaron estudios de halocromismo. Cabe mencionar que la

imagenología es una herramienta que da la posibilidad de visualizar cambios que dependan de esta propiedad halocrómica, con el fin identificar y diferenciar las células sanas de las células enfermas en función del pH. Estos ensayos se realizaron con diferentes medidas cercanas al pH intracelular y al pH extracelular, que posteriormente fueron analizados mediante espectroscopia fluorescente.

En la **Figura 37** se muestran apilados los espectros de emisión del compuesto **1** en función del pH. Los resultados evidencian que la intensidad de la fluorescencia es diferente a cada pH, estos cambios se pueden corroborar con la tendencia que se muestra en **Figura 38**, es rescatable mencionar que mediante la intensidad de fluorescencia si se pudiese dar esta diferenciación entre células sanas, cancerígenas y apoptóticas. Dentro de la tendencia se observa que a pH ácido se mostró un incremento de la intensidad de luminiscencia, del mismo modo ocurrió con el compuesto **2** (**Figura 39** y **Figura 40**).

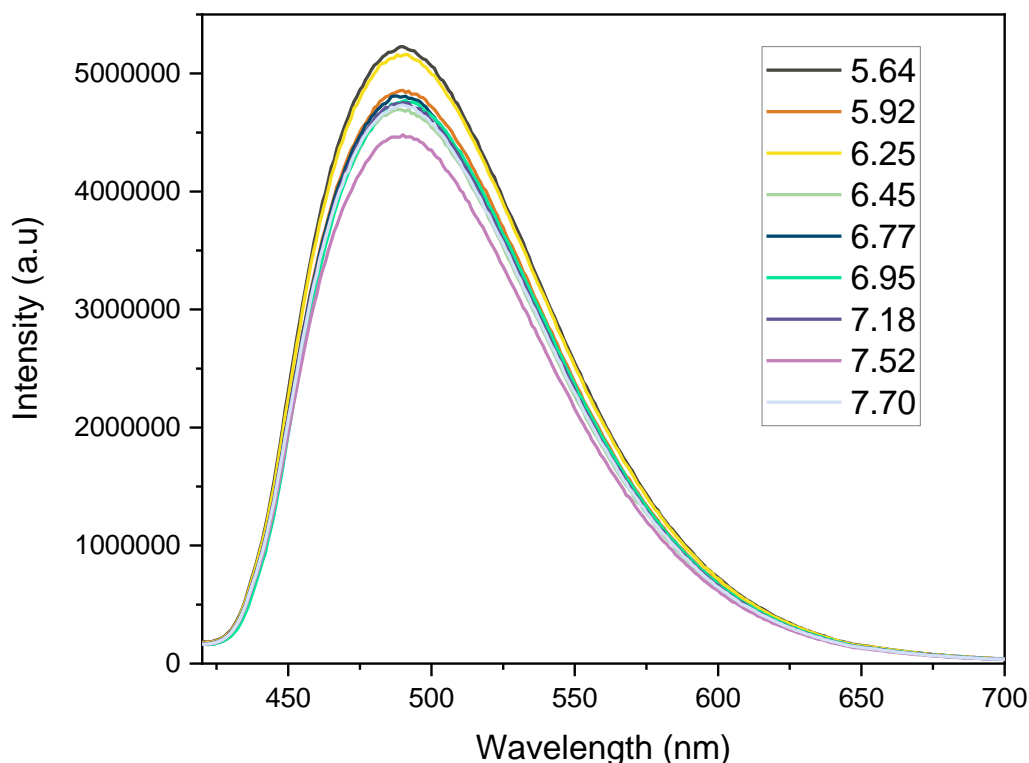


Figura 37. Espectro de emisión a diferentes medidas de pH del compuesto **1** λ_{abs} de 400 nm.

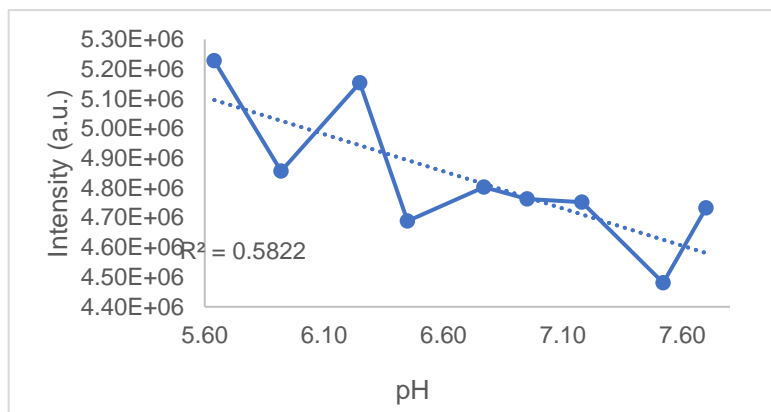


Figura 38. pH vs intensidad de emisión del compuesto 1.

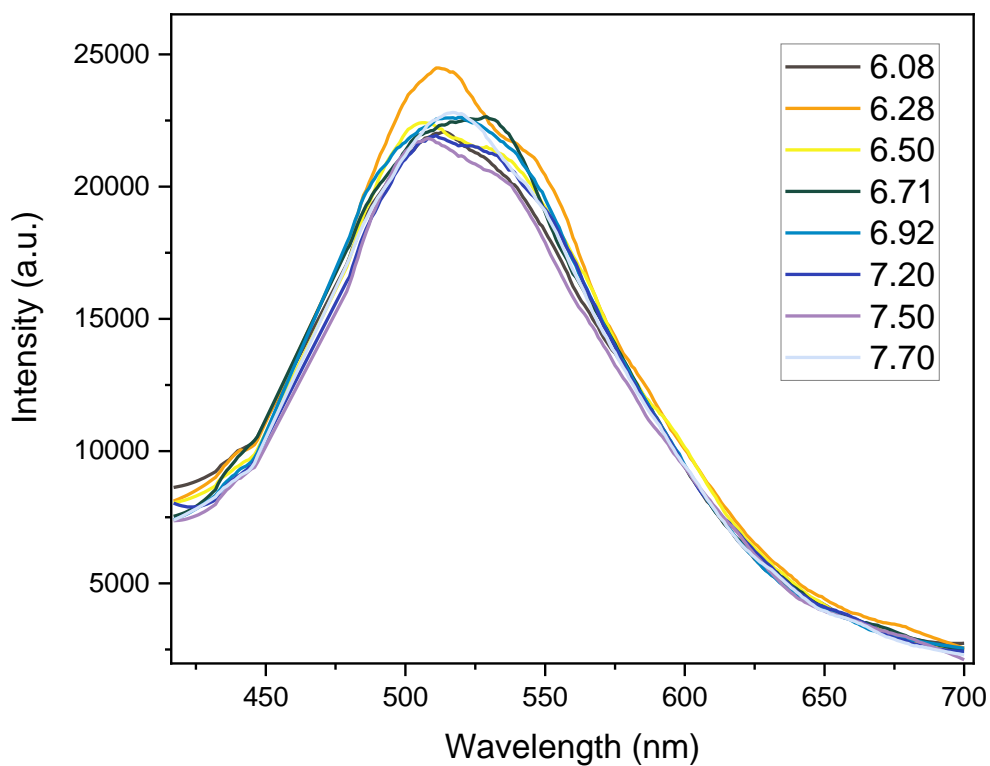


Figura 39. Espectro de emisión a diferentes medidas de pH del compuesto 2
 λ_{abs} de 400 nm.

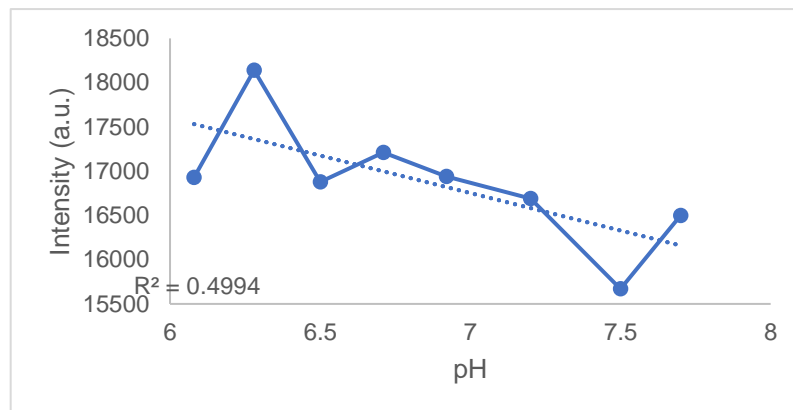


Figura 40. pH vs intensidad de emisión del compuesto **2**.

5.5 Ensayo de viscosidad

Finalmente, con el propósito de evaluar el comportamiento de los rotores moleculares **1** y **2** en función de la viscosidad, se realizaron estudios de intensidad de emisión en mezclas de metanol-glicerol a diferentes proporciones que van del 0% hasta 90% de glicerol en aumentos del 10%. Los resultados obtenidos muestran que para ambos compuestos la intensidad de emisión es directamente proporcional al aumento de viscosidad del medio. Sin embargo, en ambos compuestos el aumento de la intensidad de fluorescencia fue relativamente bajo en comparación con otros compuestos reportados por nuestro grupo de investigación, el compuesto **1** aumento 1.37 veces la intensidad de emisión, mientras que el compuesto **2** aumento 3.72 veces la intensidad de emisión. La intensidad de luminiscencia con respecto a la viscosidad del medio se muestra la **Figura 41** para el compuesto **1** y en la **Figura 42** para el compuesto **2**, mientras que la tendencia lineal se observa en la **Figura 43** y **Figura 44** respectivamente.

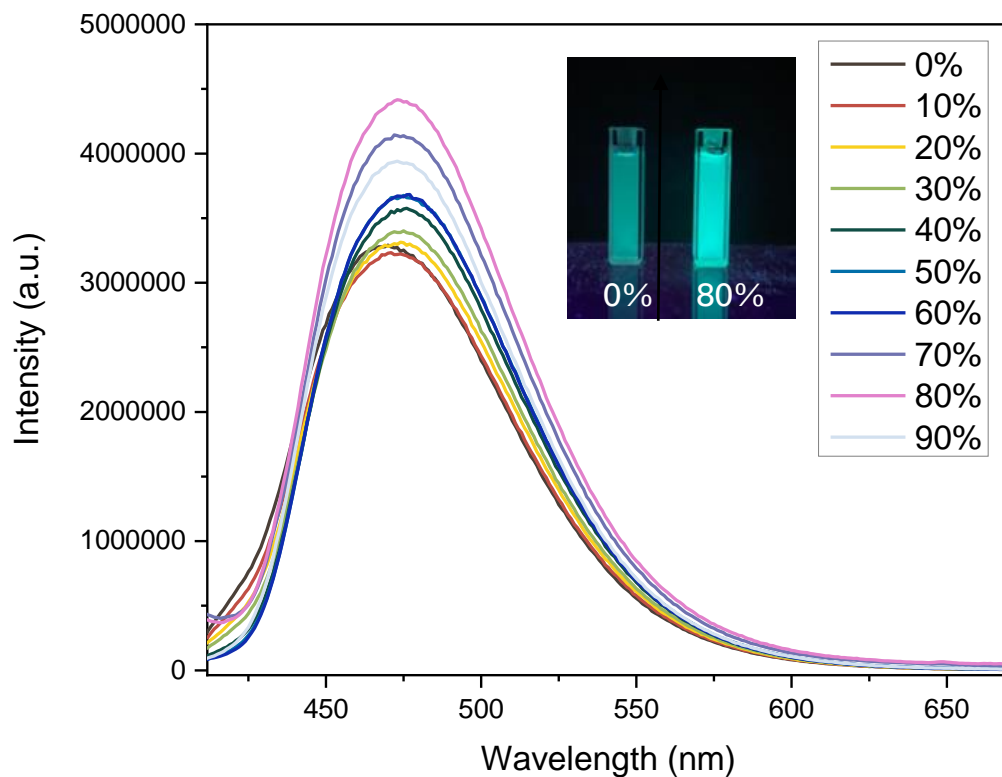


Figura 41. Espectro de emisión a diferentes medidas de viscosidad del compuesto **1**.

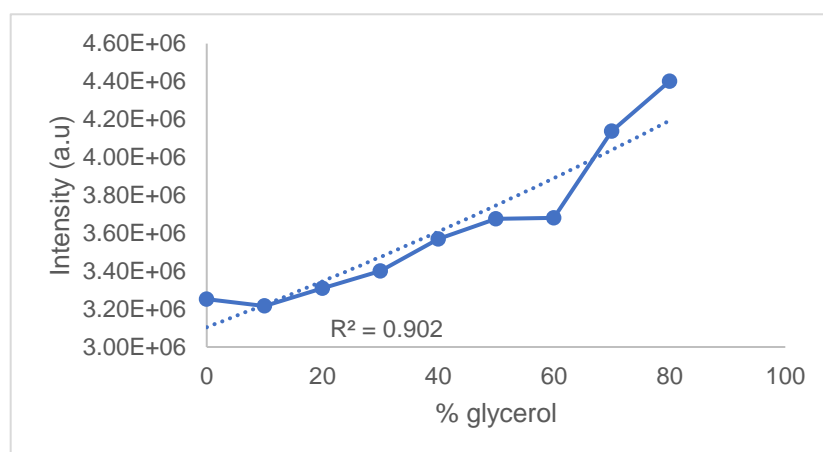


Figura 42. Tendencia de la viscosidad vs intensidad de emisión hasta 80% del compuesto **1**.

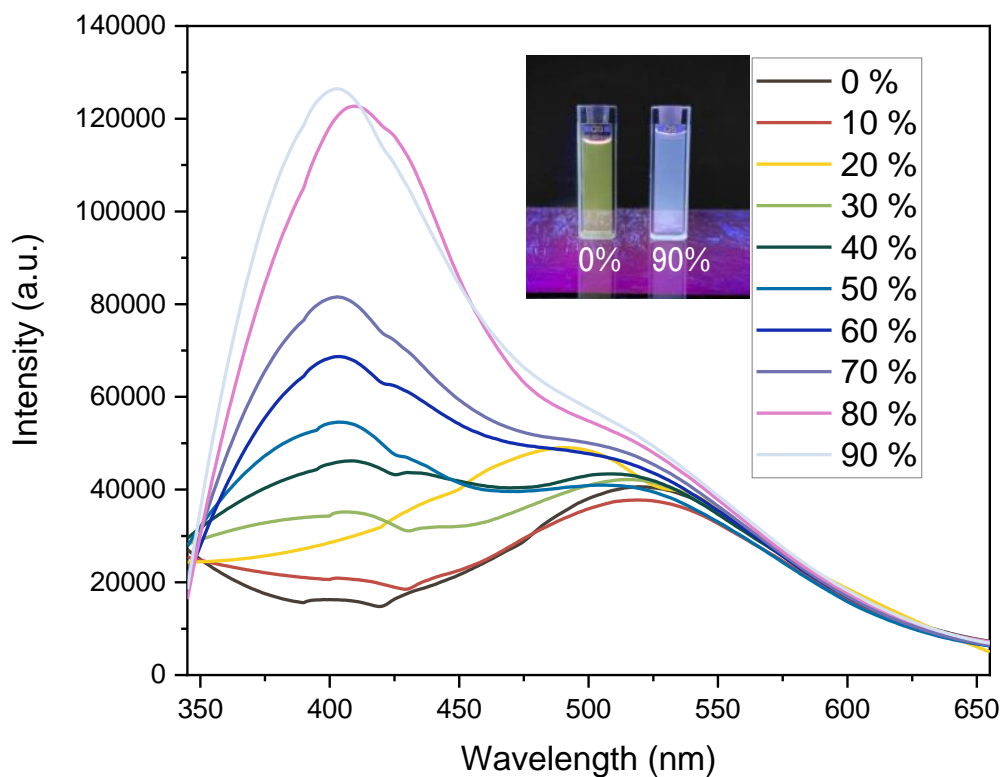


Figura 43. Espectro de emisión a diferentes medidas de viscosidad del compuesto **2** a λ_{abs} de 400 nm.

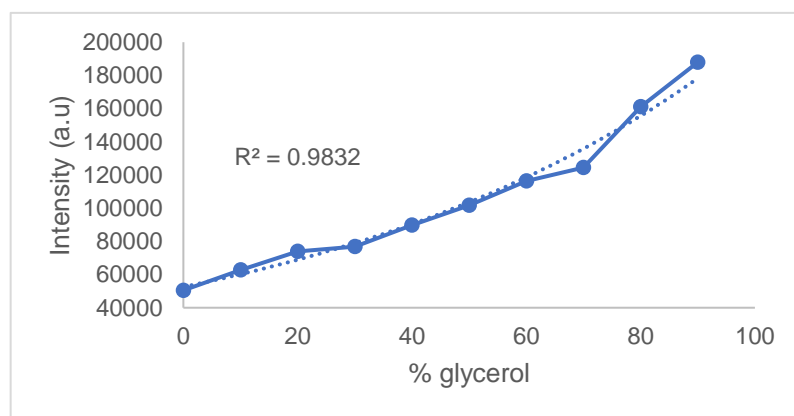


Figura 44. Tendencia de la viscosidad vs intensidad de emisión del compuesto **2**.

5.6. Modelado molecular

Para estudiar el comportamiento de los compuestos **1** y **2** con el cambio de viscosidad del medio de manera teórica, se consideró que el cambio de la intensidad de la luminiscencia esta dado sobre los cambios en los grados de libertad internos de la molécula por la influencia del medio. Con base en esto, las moléculas se optimizaron en el estado basal y en el estado excitado (S_0 y S_1) para realizar un estudio dependiente del tiempo que permitió determinar los espectros de absorción UV-Vis y de emisión de cada sistema, a través de la fuerza del oscilador (f) como una medida de la intensidad de la emisión.

Para el compuesto **1**, se realizaron rotaciones consecutivas de 30° , a los dos grupos quirales con centro en los átomos de Boro y al grupo “linker” (benceno) en el estado excitado, (**Figura 45**); las rotaciones nombradas como α , β y γ , corresponden a las rotaciones realizadas variando los ángulos de torsión que conllevan a la rotación de un fragmento determinado. De manera similar se realizó para el compuesto **2**. Este parámetro permitió analizar los cambios que sufre la luminiscencia dependiente de los cambios conformaciones.

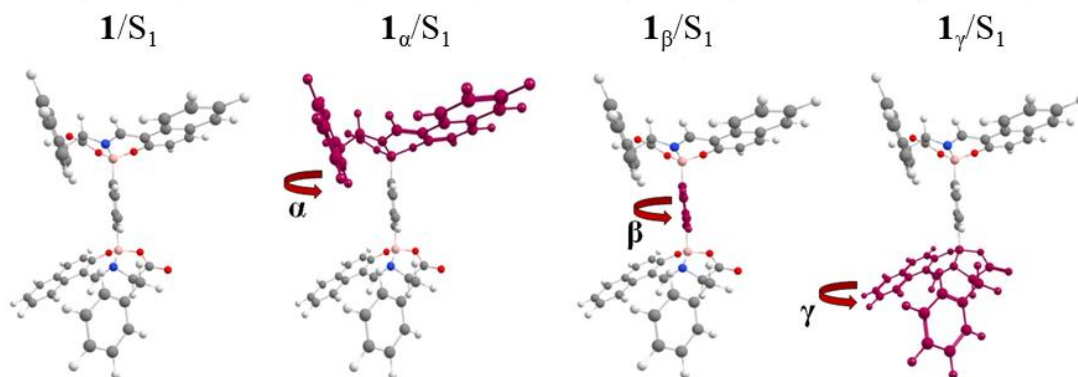


Figura 45. Representación de los ángulos de torsión seleccionados para este estudio, donde α y γ son los ángulos de torsión de los grupos quirales, y β es el ángulo de torsión del “linker” (benceno).

A partir estructuras optimizadas se reprodujeron los espectros de absorción y emisión para **1** y **2**. Las **Tabla 7** y **Tabla 8** muestran los resultados obtenidos mediante el método TD-

DFT para la simulación de los espectros de absorción y emisión de UV-Vis de los sistemas en fase gaseosa.

Tabla 7. Excitaciones singulete - singulete más intensas en **1** y **2** en la fase gaseosa.

CAM-B3LYP				
Sistema	λ_a	f	MOs activos	A
1	342	0.349	H→L	(ICT) $\pi \rightarrow \pi^*$
	299	0.207	H-2→L	$\pi \rightarrow \pi^*$
	236	0.140	H-2→L+1	$\pi \rightarrow \pi^*$
	204	0.448	H-3→L+3	(ICT) $\pi \rightarrow \pi^*$
	196	0.853	H-6→L+3	$\pi \rightarrow \pi^*$
2	351	0.162	H→L	(ICT) $\pi \rightarrow \pi^*$
	343	0.172	H-1→L+1	(ICT) $\pi \rightarrow \pi^*$
	331	0.226	H-3→L	(ICT) $\pi \rightarrow \pi^*$
	297	0.145	H-3→L+1	$\pi \rightarrow \pi^*$
	288	0.184	H-8→L+1	(ICT) $\pi \rightarrow \pi^*$
	240	0.104	H-1→L+10	(ICT) $\pi \rightarrow \pi^*$

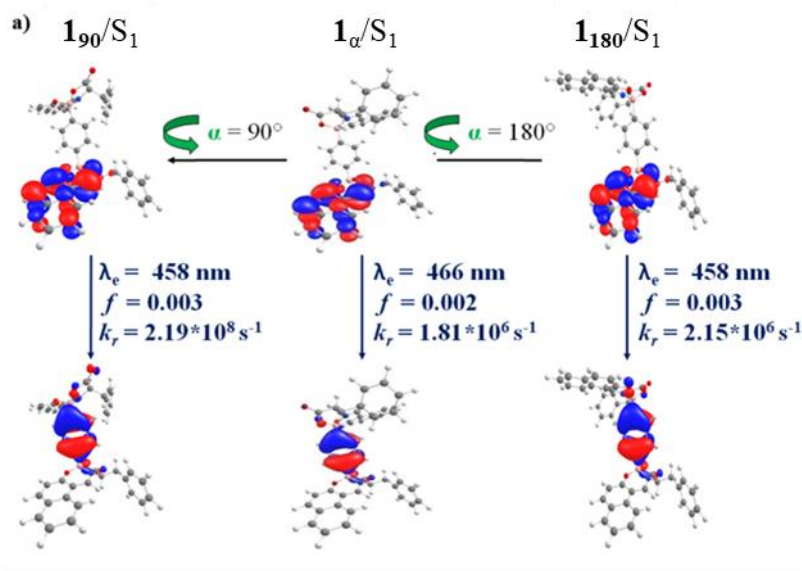
Tabla 8. Datos de emisión singulete - singulete en **1** y **2** en la fase gaseosa.

B3LYP					
Sistema	λ_e	f	$k_{rd} * 10^6$	$\tau * 10^{-6}$	A
1	788	0.002	3.18	0.31	(ICT) $\pi^* - \pi$
2	884	0.008	1.63	0.61	(ICT) $\pi^* - \pi$
CAM-B3LYP					
1	466	0.002	1.81	0.55	(ICT) $\pi^* - \pi$
2	436	0.116	0.97	1.03	(ICT) $\pi^* - \pi$

Los resultados obtenidos concuerdan con la evidencia experimental en términos de energía e intensidad (fuerza del oscilador (f)) (ver **Figura 35** y **Figura 36**), aunque el cálculo teórico vía B3LYP de los espectros de emisión para **1** y **2** no eran consistentes, esto se resolvieron implementando el método CAM-B3LYP ya que este método combina las cualidades híbridas del B3LYP y la corrección de largo alcance del Método de Atenuación de Coulomb (CAM) que minimiza las desviaciones en los cálculos de las transiciones de transferencia de carga [57].

En el estado excitado, los sistemas pueden experimentar una estabilización adicional con las moléculas de solvente que pueden lograr en un estado relajado llamado Transferencia de Carga Intramolecular (ICT) [58, 59]. Si la transferencia de carga implica rotación intramolecular, entonces puede resultar en un estado llamado Transferencia de Carga Intramolecular Torcida (TICT) que puede regresar al estado de basal (S_0) ya sea por emisión o por desactivación no radiativa [60, 61]. Los sistemas **1** y **2** mostraron un cambio en la intensidad de luminiscencia con el aumento de la viscosidad.

La **Figura 46** muestra la fuerza del oscilador (f) y los cambios de energía relativa (E_r) relacionados con los ángulos de torsión seleccionados en el sistema **1**. Los grandes cambios se observan para las rotaciones de los ángulos β y γ . En el caso de α , la intensidad de la emisión no cambió con la rotación mientras que los ángulos β y γ muestran sus valores grandes y bajos alrededor de 90° y 180° , respectivamente. Estos resultados vienen dados por la localización de los orbitales moleculares (MO) implicados en la desactivación del estado excitado. Este proceso ocurre desde el grupo quiral (que cambia con la rotación γ) al linker (anillo de benceno que cambia con la rotación β) Por tanto, esta desactivación implica un proceso ICT que se ve alterado por las rotaciones en β y γ . Estas rotaciones, a diferencia de la rotación de α , implican cambios en la localización y disposición de estos MO. Este hecho se puede demostrar mediante los cálculos de la fuerza del oscilador (f) y la tasa de radiación (k_{rd}) de los procesos de desactivación.



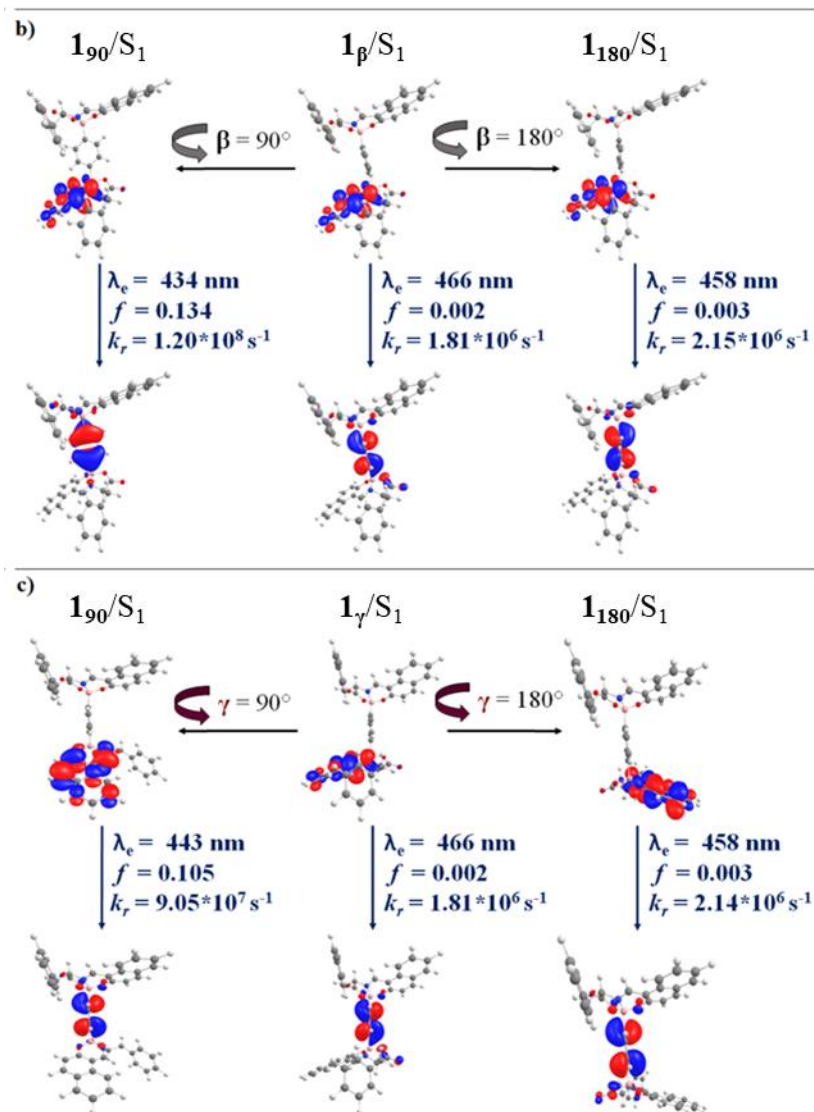


Figura 46 Representaciones esquemáticas del efecto mayor y bajo en la emisión debido a la rotación de los ángulos a) α , b) β y c) γ en $1 / S_1$. Donde λ_a y λ_e son las longitudes de onda teóricas de absorción (negro) y emisión (azul) respectivamente. f y k_r son la fuerza del oscilador y la tasa de radiación, respectivamente. Los valores de contorno de isosuperficie se establecen en 0,03.

De acuerdo con estos resultados teóricos, el aumento de la viscosidad del solvente produce cambios conformacionales (rotaciones β y γ) en 1 , lo que promueve estructuras con fluorescencia. Específicamente, la estructura del estado excitado hace girar el benceno y el grupo quiral (principalmente en los ángulos β y γ) durante el proceso de reorganización; de tal manera que los estados emisivos cambian su densidad y distribución electrónica.

Estos cambios producen una emisión de fluorescencia progresiva en **1** que se evidencia por el aumento significativo de los valores calculados de f .

En el caso del compuesto **2**, a diferencia de **1**, el proceso de absorción se caracteriza por un proceso local-ICT que ocurre en los grupos quirales, desde el triptófano hasta el resto naftaleno (**Figura 47**). Esta ICT conduce a una desactivación local-radiativa en sentido opuesto. Por esta razón, en el caso de **2**, a diferencia de **1**, la intensidad de la emisión no cambió con las rotaciones de los ángulos α , β y γ . En cambio, el proceso ICT produce una gran rotación del grupo Triptófano debido al cambio en los ángulos diedros, denominados θ y σ .

La **Figura 47**(**Tabla 9**) muestra los cambios de fuerza del oscilador (f) con respecto a los ángulos θ y σ seleccionados. Los grandes cambios se observan para las rotaciones θ y σ que muestran una disminución progresiva en diferentes direcciones de rotación. En el caso de σ , la intensidad de la emisión presenta una disminución con el rango de rotación de 0° a 240° mientras que los ángulos θ muestran el mismo comportamiento en sentido opuesto (de 0 a 240°). Las rotaciones de 60° y -60° en θ y σ muestran los arreglos conformacionales con gran intensidad de emisión y k_{rd} , por el contrario, los valores más pequeños se presentan a rotaciones a 120° . Estos resultados sugieren que el aumento de la viscosidad del solvente genera los cambios conformacionales del sistema **2** generando una mayor planicidad entre el grupo naftaleno y triptófano, lo que favorece un encendido fluorescente. Por el contrario, a menor viscosidad del sistema con respecto al glicerol favorece la rotación del grupo Triptófano (principalmente en los ángulos θ y σ) lo que disminuye la planaridad entre ambos grupos y, por lo tanto, el apagado de la luminiscencia de **2**.

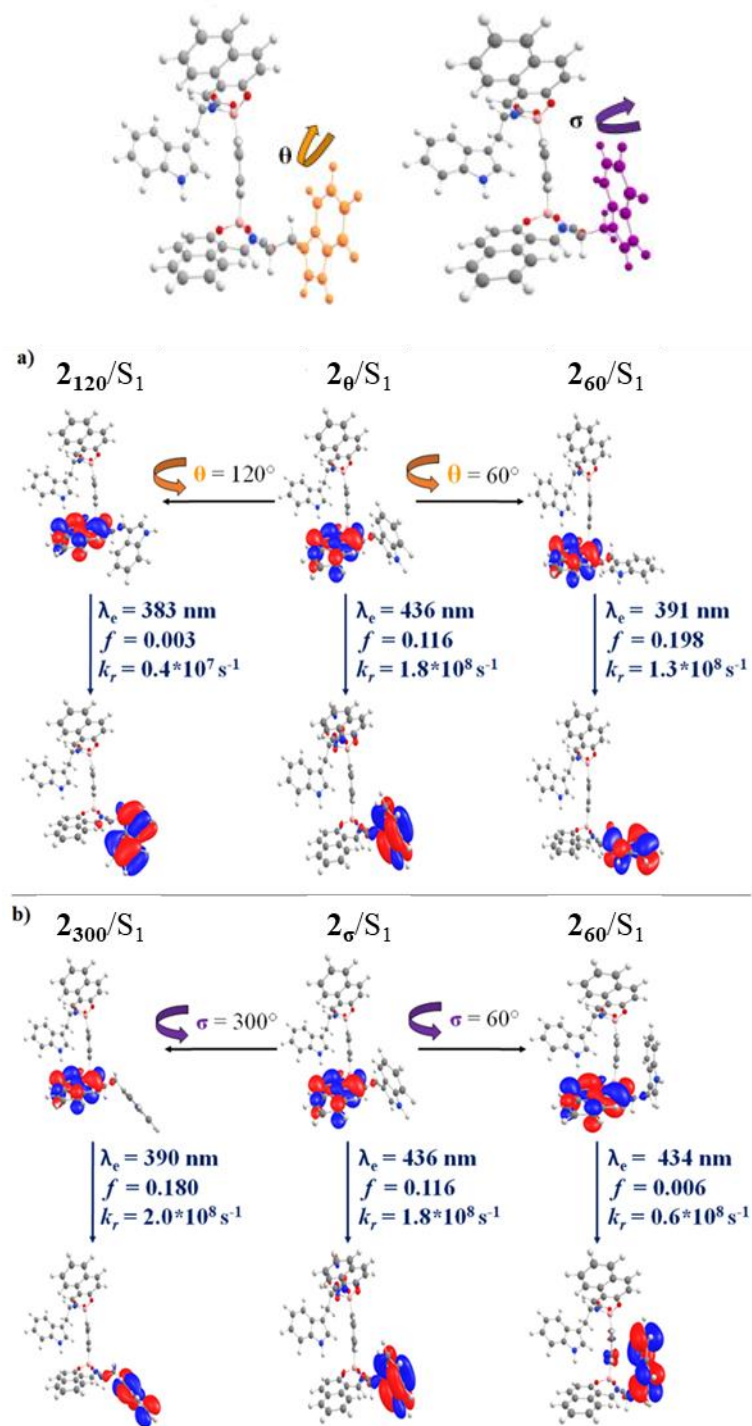


Figura 47 Representaciones esquemáticas del efecto mayor y bajo en la emisión debido a la rotación de los ángulos a) θ y b) σ en $2/S_1$. Donde λ_a y λ_e son las longitudes de onda teóricas de absorción (negro) y emisión (azul) respectivamente. f y k_r son la fuerza del oscilador y la tasa de radiación, respectivamente. Los valores de contorno de isosuperficie se establecen en 0,03.

Tabla 9. Datos de emisión singulete-singulete en 2_θ y 2_σ a través de método teórico TD-DFT/CAM-B3LYP/Def2-TZPP

α	2_θ					2_σ				
	λ_e	f	$k_{rd} \cdot 10^8$	$\tau \cdot 10^{-8}$	A	λ_e	f	$k_{rd} \cdot 10^8$	$\tau \cdot 10^{-8}$	A
0°	436	0.116	1.81	0.55	(ICT) $\pi^*-\pi$	436	0.116	0.97	1.03	(ICT) $\pi^*-\pi$
30°	393	0.157	1,72	0.58	(ICT) $\pi^*-\pi$	409	0.064	0.64	1.56	(ICT) $\pi^*-\pi$
60°	391	0.198	1,86	0.54	(ICT) $\pi^*-\pi$	434	0.006	0.06	18.07	(ICT) $\pi^*-\pi$
90°	391	0.186	0.33	2.99	(ICT) $\pi^*-\pi$	456	0.005	0.04	24.94	(ICT) $\pi^*-\pi$
120°	406	0.084	0.86	1.16	(ICT) $\pi^*-\pi$	479	0.002	0.01	70.04	(ICT) $\pi^*-\pi$
150°	396	0.029	0.24	4.12	(ICT) $\pi^*-\pi$	466	0.014	0.11	9.16	(ICT) $\pi^*-\pi$
180°	391	0.021	0.24	4.16	(ICT) $\pi^*-\pi$	444	0.045	0.39	2.58	(ICT) $\pi^*-\pi$
210°	387	0.001	0.06	15.71	(ICT) $\pi^*-\pi$	445	0.084	0.71	1.40	(ICT) $\pi^*-\pi$
240°	383	0.003	0.04	24.71	(ICT) $\pi^*-\pi$	434	0.111	0.99	1.01	(ICT) $\pi^*-\pi$
270°	384	0.092	0.78	1.28	(ICT) $\pi^*-\pi$	404	0.150	1.56	0.64	(ICT) $\pi^*-\pi$
300°	433	0.028	0.14	7.35	(ICT) $\pi^*-\pi$	390	0.180	2.00	0.50	(ICT) $\pi^*-\pi$
330°	436	0.064	0.80	1.25	(ICT) $\pi^*-\pi$	388	0.166	1.87	0.54	(ICT) $\pi^*-\pi$

λ_e es la longitud de onda de emisión teórica en nm, A es la asignación de transiciones, f es la fuerza del oscilador, k_{rd} es la tasa de radiación de emisión (s^{-1}) y τ es el tiempo de vida de emisión-radiativa (s)

5. 7. Citotoxicidad y bioimagen de fluorescente

Para los estudios de aplicación a nivel celular, se realizaron experimentos de viabilidad celular mediante ensayos en células HeLa para evaluar el efecto citotóxico en un rango de concentración de 0.1 a 5 $\mu\text{g/mL}$ mediante el método de cristal violeta. Después de 20 minutos se analizó mediante la densidad óptica a 570 nm, obteniendo para ambos compuestos una viabilidad alta superior al 90%, como se observa en la **Figura 48**.

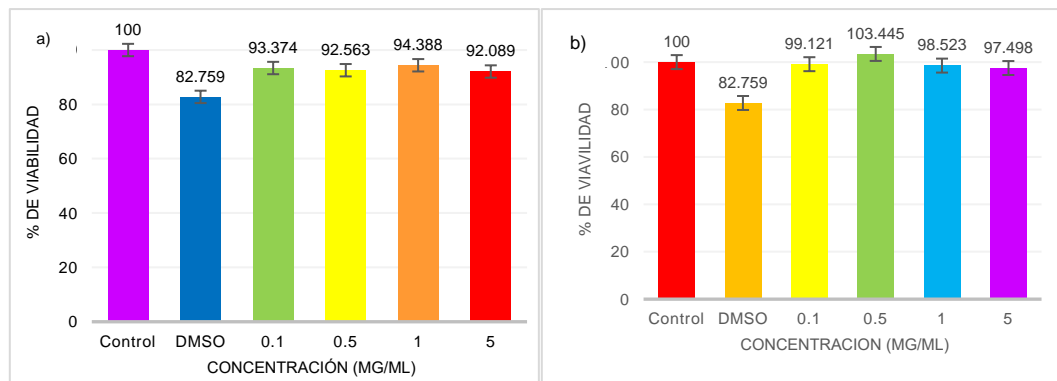


Figura 48. Efecto citotóxico en células HeLa con diferentes concentraciones del compuesto durante 20 minutos. Como control se utilizó células tratadas con DMSO y células no tratadas. a) compuesto 1 y b) compuesto 2.

Para determinar la capacidad de los compuestos 1 y 2 como marcador celular fluorescente, los compuestos se evaluaron con la línea celular HeLa a una concentración de 1 $\mu\text{g/mL}$ con un tiempo de exposición con el compuesto de 10 minutos. Los análisis de bioimagen revelan que los compuestos son capaces de teñir el citoplasma el compuesto uno con mayor nitidez en comparación con el compuesto 2. Esta tinción tenue puede deberse entre otros factores a la formación de cristales dentro de la célula lo que conlleva a la formación de excímeros lo cual impide una tinción satisfactoria.

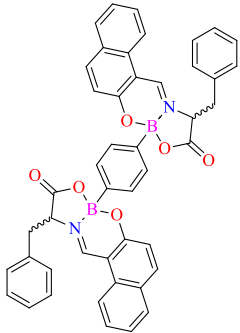
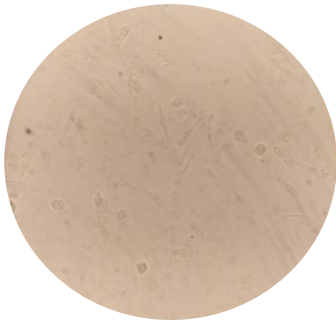
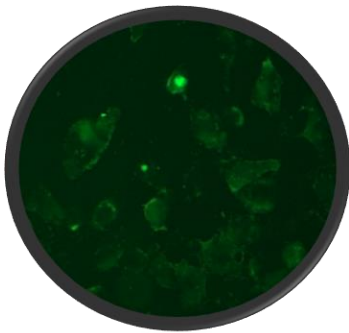
Compuesto	Microscopio convencional	Microscopio fluorescente
 Compuesto 1		



Figura 49. Bioimágenes fluorescentes en células HeLa tratadas con el compuesto correspondiente.

CAPITULO 6. CONCLUSIONES

Se logró sintetizar dos nuevos rotores moleculares binucleares de boro derivados de aminoácidos (fenilalanina y triptófano) a través de una reacción por multicomponentes.

Se realizó la elucidación inequívoca de los compuestos **1** y **2** por técnicas espectroscópicas de RMN ^1H , ^{13}C , ^{11}B , y espectrometría de masas, así como difracción de rayos X de monocristal para el compuesto **1**, confirmando la presencia de los dos átomos de boro y el fragmento de la base de Schiff derivada del aminoácido correspondiente.

En cuanto a propiedades fotofísicas, el mayor rendimiento cuántico lo presenta el compuesto **1** con un valor de $\phi = 0.06868$ (12.72 %) con respecto al sulfato de quinina ($\phi = 0.54$ (100 %)).

Los compuestos **1** y **2** mostraron propiedades de rotor molecular al denotar un incremento en la intensidad de la emisión de fluorescencia (1.37 veces para el compuesto **1** y 3.72 veces para el compuesto **2**) a causa de la restricción de los grados de libertad rotacionales en un medio viscoso. Además, debido a la respuesta de incremento de la intensidad de la emisión en función del pH los compuestos se consideran como materiales multi-respuesta, sin embargo, esta propiedad no presenta linealidad. Una causa de este problema podría deberse a la ausencia de grupos susceptibles al pH, por lo que la concentración de iones H^+ u OH^- actúan sobre partes de la molécula con deficiencia o exceso de carga electrónica.

Por otra parte, los datos obtenidos en modelado molecular tienen gran similitud con los datos experimentales en cuanto a la longitud de onda de absorción y emisión de los rotores sintetizados, sin embargo, los estudios teóricos revelan que la influencia del medio afecta los movimientos rotacionales de manera diferente y en consecuencia su respectiva intensidad de emisión; para el compuesto **1** la viscosidad del medio afecta en mayor magnitud la transferencia de carga intramolecular (ITC) a través de la rotación del anillo de benceno que a la parte rotatoria del fragmento del aminoácido, mientras que para el compuesto **2** sucede lo contrario, el fragmento de la molécula que tiene mayor aportación a la intensidad de emisión sucede a través de los grupos naftilo – triptófano cuando adopta una mayor planaridad y no como ha de esperarse a través del anillo de benceno.

Al evaluar los compuestos en viabilidad celular, se concluyo que estos muestran baja citotoxicidad en células de cáncer de cérvix (HeLa ATCC CCL-2), adicionalmente al evaluarlos como tinte celular en celulas HeLa en una concentración de $1\mu\text{g}/\text{mL}$ para ambos compuesto lograron una tinción tenue al citoplasma.

7. REFERENCIAS

- [1] V. B., *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*, Alemania: WILEY-VCH Verlag GmbH, 2002.
- [2] M. Kuimova, G. Yahioglu, J. A. Levitt y K. Suhling, «Molecular Rotor Measures Viscosity of Live Cells via Fluorescence Lifetime Imaging,» *Journal of the American Chemical Society*, vol. 130, nº 21, pp. 6672-6673, 2008.
- [3] S. C. Lee, J. Heo, R. J. W., C. Lee, S. Kim, J. S. Tae, B. O. Rhee, S. W. Kim y O. P. Kwon, «Pyrrolic molecular rotors acting as viscosity sensors with high fluorescence contrast,» *Chemical Communications*, vol. 52, nº 94, pp. 13695-13698, 2016.
- [4] M. Ibarra-Rodríguez, B. M. Muñoz-Flores, A. Gómez-Treviño, R. Chan-Navarro, J. C. Berrones-Reyes, A. Chávez-Reyes, H. V. Rasika Dias, M. Sánchez Vázquez y V. M. Jiménez-Pérez, «Organoboron Schiff bases as cell-staining fluorescent probes: Synthesis, Chemio-photophysical characterization, DFT, and X-ray structures,» *Applied Organometallic Chemistry*, vol. 33, nº 4, 2019.
- [5] F. Wang, C. A. DeRosa, M. L. Daly, D. Song, M. Sabat y C. L. Fraser, «Multi-stimuli responsive luminescent azepane-substituted β -diketones and difluoroboron complexes,» *Materials Chemistry Frontiers*, vol. 1, pp. 1866-1874, 2017.
- [6] D. Wang, R. Miyamoto, Y. Shiraishi y H. T., «BODIPY-Conjugated Thermoresponsive Copolymer as a Fluorescent Thermometer Based on Polymer Microviscosity,» *Langmuir*, vol. 25, nº 22, pp. 13176-13182, 2009.
- [7] M. Ibarra-Rodríguez y et.al., «Multi-stimuli fluorescent behaviour of boron compounds derived from hydrazones in the solid state (Thermochromism, vapochromism, and piezochromism): Synthesis, characterization, and photophysical studies,» *Journal of Luminescence*, pp. 342-349, 2018.
- [8] X. Cheng, H. Jia, T. Long, J. Feng, J. Qin y Z. Li, «A “turn-on” fluorescent probe for hypochlorous acid: convenient synthesis, good sensing performance, and a new design strategy by the removal of C[double bond, length as m-dash]N isomerization,» *Chemical Communications*, vol. 47, pp. 11978-11980, 2011.
- [9] M. Ibarra-Rodríguez, B. M. Muñoz-Flores, R. Chan-Navarro, N. Waksman, A. Saucedo-Yañez, M. Sánchez y V. M. Jiménez-Pérez, «Fluorescent molecular rotors (FMRs) of organoboron derived from Schiff bases and their multi-stimuli responsive,» *Optical Materials*, vol. 89, nº 1, pp. 123-131, 2019.
- [10] M.-P. A. Muñoz-Flores B. M., J. Lara-Cerón y J.-P. V. M., «Recent advances of synthesis of Boron derivatives and their applications in bioimaging,» *International Journal Of Advances In Medical Biotechnology*, vol. 1, nº 1, pp. 8-12, 2018.
- [11] X. Hong, Z. Wang, J. Yang, O. Zheng, S. Zong, D. Zhu, C. Tang y Y. Cui, «Silylated BODIPY dyes and their use in dye-encapsulated silica nanoparticles with switchable emitting wavelengths for cellular imaging,» *Analyst*, vol. 137, nº 18, p. 4140–4149, 2012.

- [12] Y. Ni y J. Wu, «Far-red and near infrared BODIPY dyes: synthesis and applications for fluorescent pH probes and bio-imaging,» *Organic & Biomolecular Chemistry*, vol. 12, nº 23, p. 3774–3791, 2014.
- [13] J. Berrones-Reyes, C. C. Vidyasagar, B. M. Muñoz-Flores y J.-P. V. M., «Luminescent molecules of main group elements: Recent advances on synthesis, properties and their application on fluorescent bioimaging (FBI),» *Journal of Luminescence*, vol. 195, pp. 290-313, 2018.
- [14] OMS, «<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>,» 2018.
- [15] N. Gupta, S. I. Reja, V. Bhalla, M. Gupta, G. Kaur y M. Kumar, «A bodipy based fluorescent probe for evaluating and identifying cancer, normal and apoptotic C6 cells on the basis of changes in intracellular viscosity,» *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 4, pp. 1968-1977, 2016.
- [16] F. Zhou, J. Shao, Y. Yang, J. Zhao, H. Guo, X. Li, X. Ji y Z. Zhang, «Molecular Rotors as Fluorescent Viscosity Sensors: Molecular Design, Polarity Sensitivity, Dipole Moments Changes, Screening Solvents, and Deactivation Channel of the Excited States,» *European Journal of Organic Chemistry*, vol. 2011, nº 25, p. 4773–4787, 2011.
- [17] J. A. Levitt, M. K. Kuimova, G. Yahioglu, P. H. Chung, H. Suhling y D. Phillips, «Membrane-Bound Molecular Rotors Measure Viscosity in Live Cells via Fluorescence Lifetime Imaging,» *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 113, nº 27, p. 11634–11642, 2009.
- [18] B. A. Webb, M. Chimenti, M. P. Jacobson y B. D. L., «Dysregulated pH: a perfect storm for cancer progression,» *NATURE REVIEWS*, vol. 11, nº 9, pp. 671-677, 2011.
- [19] M. M. Corona-López, V. M. Jiménez-Pérez, R. Chan-Navarro, M. Ibarra-Rodríguez, H. V. Rasika Dias, A. Chávez-Reyes y B. M. Muñoz-Flores, «Synthesis, characterization, photophysical properties of new fluorescent boron Schiff bases (BOSCHIBAs) and their application as cytoplasm staining dyes in vitro,» *Journal of Organometallic Chemistry*, vol. 852, pp. 64-73, 2017.
- [20] J. A. Lara-Cerón, V. M. Jimenez-Pérez, L. Xochicale-Santana, M. E. Ochoa, A. Chavez-Reyes y B. M. Muñoz-Flores, «Boron Schiff bases derived from α -amino acids as nucleoli/cytoplasm cell-staining fluorescent probes in vitro,» *RSC Advances*, vol. 10, p. 31748–31757, 2020.
- [21] O. S. Wolfbeis, «An overview of nanoparticles commonly used in fluorescent bioimaging,» *Chemical Society Reviews*, vol. 44, pp. 4743-4768, 2015.
- [22] K. D. Wegner y N. Hildebrandt, «Quantum dots: bright and versatile in vitro and in vivo fluorescence imaging biosensors,» *Chemical Society Reviews*, vol. 44, pp. 4792-4834, 2015.
- [23] T. Terai y T. Nagano, «Fluorescent probes for bioimaging applications,» *Current Opinion in Chemical Biology*, vol. 12, nº 5, pp. 515-521, 2008.

- [24] M. A. Haidekker y E. A. Theodorakis, «Environment-sensitive behavior of fluorescent molecular rotors,» *Journal of Biological Engineering*, vol. 4, pp. 4-11, 2010.
- [25] A. Vyšniauskas, I. López-Duarte, N. Duchemin, T.-T. Vu, Y. Wu, E. M. Budynina, Y. A. Volkova, E. Peña Cabrera, D. E. Ramírez-Ornelas y M. K. Kuimova, «Exploring viscosity, polarity and temperature sensitivity of BODIPY-based molecular rotors,» *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 19, nº 37, pp. 25252-25259, 2017.
- [26] T. Kowada, S. Yamaguchi y K. Ohe, «Highly Fluorescent BODIPY Dyes Modulated with Spirofluorene Moieties,» *Organic Letters*, vol. 12, nº 2, pp. 296-299, 2010.
- [27] S. C. Lee, J. Heo, H. C. Woo, J. A. Lee, Y. H. Seo, L. C. L., S. Kim y O. P. Kwon, «Fluorescent Molecular Rotors for Viscosity Sensors,» *Chemistry a European Journal*, vol. 24, nº 52, pp. 13706-13718, 2018.
- [28] E. Xochitiotzi-Flores, A. Jiménez-Sánchez, H. García-Ortega, N. Sánchez-Puig, M. Romero-Ávila, R. Santillan y N. Farfán, «Optical properties of two fluorene derived BODIPY molecular rotors as fluorescent ratiometric viscosity probes,» *New J. Chem.*, vol. 40, nº 5, pp. 4500-4512, 2016.
- [29] M. Ibarra-Rodríguez, B. M. Muñoz-Flores, H. V. Rasika Dias, A. Gomez-Treviño, R. Santillan, N. Farfán y J.-P. V. M., «Fluorescent molecular rotors of organoboron compounds from Schiff bases: Synthesis, viscosity, reversible thermochromism, cytotoxicity and bioimaging cells.,» *The Journal of Organic Chemistry*, vol. 82, nº 5, pp. 2375-2385, 2017.
- [30] T. Jokic, S. M. Borisov, R. Saf, D. A. Nielsen, M. Kühl y I. Klimant, «Highly Photostable Near-Infrared Fluorescent pH Indicators and Sensors Based on BF₂-Chelated Tetraarylazadipyromethene Dyes,» *Analytical Chemistry*, vol. 84, nº 15, p. 6723-6730, 2012.
- [31] J. Huang, Y. Wang, K. Van Hecke, O. P. Pereshivko y V. A. Peshkov, «Studies on Functionalization of N,O-Chelated Isoquinoline-Enol Boron Complexes,» *European Journal of Organic Chemistry*, vol. 2019, nº 14, pp. 2490-2497, 2019.
- [32] A. Lealem Barhanu, Gauray, I. Mohiuddin, A. Kumar Malik, J. Singh Aulakh, V. Kumar y K. Kim, «A review of the applications of Schiff bases as optical chemical sensors,» *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 116, pp. 74-91, 2019.
- [33] T. S. Basu-Baul, A. Chaurasiya, A. Lycka, I. Rojas-León y H. Höpfl, «Molecular aggregations of bicyclodioxazastannone produced from multicomponent reactions involving functionalized 2-hydroxybenzaldehydes, a- or b-amino acids and a dimethyltin precursor,» *Journal of Organometallic Chemistry*, vol. 898, p. 120859, 2019.
- [34] N. Singh, N. Srivastav, R. Singh, V. Kaur, E. Brendler, J. Wagler y E. Kroked, «Fluorescent biogenic Schiff base compounds of dimethyltin,» *New Journal of Chemistry*, vol. 42, nº 3, pp. 1655-1664, 2018.
- [35] C. Camacho-Camacho, I. Rojas-Oviedo, A. Garza-Ortiz, R. A. Toscano, L. Sánchez-Sánchez, J. Cardenas y H. López-Muñoz, «Tributyltin(IV) Schiff base complexes with

- amino acid derivatives: synthesis, characterization and biological activity,» *Applied Organometallic Chemistry*, vol. 30, nº 4, p. 199–207, 2016.
- [36] R. I. Roacho, A. J. Metta-Magaña, E. Peña-Cabrera y K. H. Pannell, «Synthesis, structural characterization, and spectroscopic properties of the ortho, meta and para isomers of 8-(HOCH₂-C₆H₄)-BODIPY and 8-(MeOC₆H₄)-BODIPY.,» *Journal of Physical Organic Chemistry*, vol. 26, nº 4, p. 345–351, 2013.
- [37] Y. Urano, D. Asanuma, Y. Hama, Y. Koyama, T. Barrett, M. Kamiya, T. Nagano, T. Watanabe, A. Hasegawa, P. L. Choyke y H. Kobayashi, «Selective molecular imaging of viable cancer cells with pH-activatable fluorescence probes,» *NATURE MEDICINE*, vol. 15, nº 1, pp. 104-109, 2009.
- [38] S. Radunz, E. Andresen, C. Würth, A. Koerdts, H. R. Tschiche y U. Resch-Genger, «Simple Self-Referenced Luminescent pH Sensors Based on Upconversion Nanocrystals and pH-Sensitive Fluorescent BODIPY Dyes,» *Analytical Chemistry*, vol. 91, nº 12, p. 7756–7764, 2019.
- [39] G. Zhang, J. Chen, S. J. Payne, S. ... Kooi, J. N. Demas y C. L. Fraser, «Multi-emissive difluoroboron dibenzoylmethane polylactide exhibiting intense fluorescence and oxygen-sensitive room-temperature phosphorescence.,» *Journal of the American Chemical Society*, vol. 129, nº 29, pp. 8942-8943, 2007.
- [40] S. Mukherjee y P. Thilagar, «Stimuli and shape responsive 'boron-containing' luminescent organic materials,» *Journal of Materials Chemistry C*, vol. 4, nº 14, pp. 2647--2662, 2016.
- [41] Y. C. Y.-Z. Zhou, J.-H. Cao, Q.-Z. W. L.-Z. Yang, C.-H. Tung y D.-Y. Wu, «Dicyanoboron diketonate dyes: Synthesis, photophysical properties and bioimaging,» *Dyes and Pigments*, vol. 112, pp. 162-169, 2015.
- [42] I. A. Karpenko, Y. Niko, V. P. Yakubovskiy, A. O. Gerasov, B. Bonnet, Y. P. Kovtunc y A. S. Klymchenko, «Push–pull dioxaborine as fluorescent molecular rotor: far-red fluorogenic probe for ligand–receptor interactions,» *Journal of Materials Chemistry C*, vol. 4, nº 14, pp. 3002-3009, 2016.
- [43] A. Williams, S. Winfield y J. Miller, «Relative Fluorescence Quantum Yields Using a Computer-controlled Luminescence Spectrometer,» *Analyst*, vol. 108, pp. 1067-1071, 1983.
- [44] A. D. Becke, «Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange,» *The Journal of Chemical Physics*, vol. 7, pp. 5648-5652, 1993.
- [45] F. Weigend y R. Ahlrichs, «Balanced basis sets of split valence, triple zeta valence and quadruple zeta valence quality for H to Rn: Design and assessment of accuracy,» *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 7, pp. 3297-3305, 2005.
- [46] F. Neese, «The ORCA program system,» *Wiley Interdisciplinary Reviews Computational Molecular Science*, vol. 2, nº 1, pp. 73-78, 2011.
- [47] M. A. Treto-Suárez, Y. Hidalgo-Rosa, E. Schott, D. Páez-Hernández y Z. Z., «Fluorescence Turn-On and Turn-Off Mechanisms of a Dual-Selective Chemosensor

- of Bi³⁺ and pH Changes: Insights from a Theoretical Perspective,» *Dyes and Pigments*, vol. 185, p. 108934, 2020.
- [48] N. Klinhom, N. Saengsuwan, S. Sriyab, P. Prompinit, S. Hannongbua y S. Suramitr, «Photophysical properties for excited-state intramolecular proton transfer (ESIPT) reaction of N-salicylidene-o-aminophenol: Experimental and DFT based approaches,» *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 206, pp. 359-366, 2019.
- [49] M. A. Treto-Suarez, J. Tapia, Y. Hidalgo-Rosa, P.-H. D., E. Molins, X. Zarate y E. E. Schott, «New Sensitive and Selective Chemical Sensors for Ni²⁺ and Cu²⁺ Ions, Sensing Mechanism Insights through DFT Methods,» *The Journal of Physical Chemistry A*, vol. 124, n° 32, p. 6493–6503, 2020.
- [50] A. Khalafi-Nezhad y F. Panahi, «Synthesis of New Dihydropyrimido[4,5-b]quinolinetrione Derivatives Using a Four-Component Coupling Reaction,» *Synthesis*, vol. 6, pp. 984-992, 2011.
- [51] G. Warncke, S. Fels, E. Brendler y U. Bohme, «Tautomerism in N-(2-hydroxy-1-naphthylidene)amino acids and the search for an answer to the difficult question about where the proton belongs,» *Journal of Molecular Structure*, vol. 1117, pp. 37-48, 2016.
- [52] H. I. Singh y J. Singh, «Synthesis, spectral, 3D molecular modeling and antibacterial studies of dibutyltin (IV) Schiff base complexes derived from substituted isatin and amino acids,» *Natural Science*, vol. 4, n° 3, pp. 170-178, 2012.
- [53] A. Graham, *Modern magnetic resonance*, Springer (ISBN 978-1-4020-3894-5), 2006.
- [54] M. Gao, S. B. Thorpe y W. L. Santos, «sp²-sp³ Hybridized Mixed Diboron: Synthesis, Characterization, and Copper-Catalyzed beta-Boration of alfa,beta-Unsaturated Conjugated Compounds,» *Organic Letters*, vol. 11, n° 15, pp. 3478-3481, 2009.
- [55] «<https://www.sisweb.com/mstools/isotope.htm>,» [En línea].
- [56] H. Höpfl, «The tetrahedral character of the boron atom newly defined—a useful tool to evaluate the N–B bond,» *Journal of Organometallic Chemistry*, vol. 581, p. 129–149, 1999.
- [57] T. Yanai, D. P. Tew y N. C. Handy, «A new hybrid exchange–correlation functional using the Coulomb-attenuating method (CAM-B3LYP),» *Chemical Physics Letters*, vol. 393, pp. 51-57, 2004.
- [58] T. Wei, J. Wang, Y. Chen y Y. Han, «Combining PeT and ICT Mechanism into One Chemosensor for the Highly Sensitive and Selective Detection of Zinc,» *RSC Advances*, vol. 5, n° 70, pp. 57141-57146, 2015.
- [59] S. Mukherjee, A. K. Paul, K. Rajak y H. Stoeckli-Evans, «ICT based ratiometric fluorescent pH sensing using quinoline hydrazones,» *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 203, pp. 150-156, 2014.
- [60] M. A. Treto-Suárez, Y. Hidalgo-Rosa, E. Schott, X. Zarate y D. Páez-Hernández, «Radiative decay channel assessment to understand the sensing mechanism of a

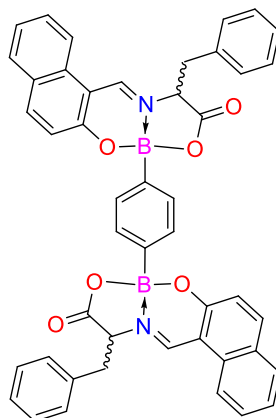
fluorescent turn-on Al³⁺ chemosensor,» *International Journal of Quantum Chemistry* , vol. 120, nº 3, p. e26083, 2019.

- [61] S. Sasaki, G. P. C. Drummen y G. Konishi, «Recent advances in twisted intramolecular charge transfer (TICT) fluorescence and related phenomena in materials chemistry,» *Journal of Materials Chemistry C*, vol. 4, p. 2731, 2016.
- [62] B. M. Muñoz-Flores, A. Molina-Paredes, J. Lara-Cerón y V. M. Jiménez-Pérez, «Recent advances of synthesis of Boron derivatives and their applications in bioimaging,» *International Journal Of Advances In Medical Biotechnology*, vol. 1, nº 1, pp. 8-12, 2018.
- [63] A. Ettinger y T. Wittmann, «Fluorescence live cell imaging.,» de *Methods in Cell Biology*, United States, Elsevier and Book Aid, 2014, p. 77–94.

8. ANEXOS

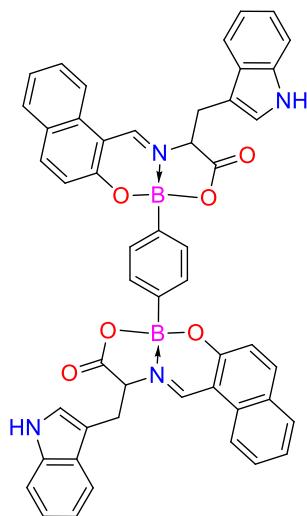
Anexos

A1. Nomenclatura de los compuestos



8,8'-(1,4-phenylene)bis(11-benzyl-10-oxo-10,11-dihydro-8*H*-naphtho[1,2-*e*][1,3,2]oxazaborolo[2,3-*b*][1,3,2]oxazaborinin-12-ium-8-uide)

Compuesto 1



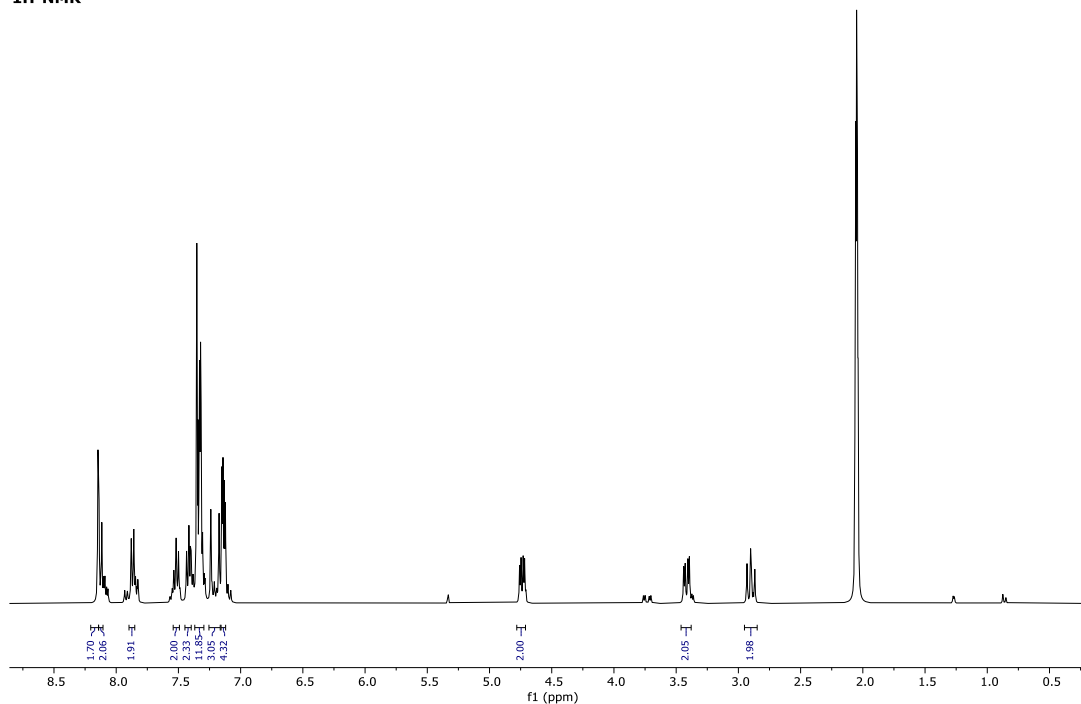
8,8'-(1,4-phenylene)bis(11-((1*H*-indol-3-yl)methyl)-10-oxo-10,11-dihydro-8*H*-naphtho[1,2-*e*][1,3,2]oxazaborolo[2,3-*b*][1,3,2]oxazaborinin-12-ium-8-uide)

Compuesto 2

A2. Espectros de resonancia magnética nuclear (RMN)

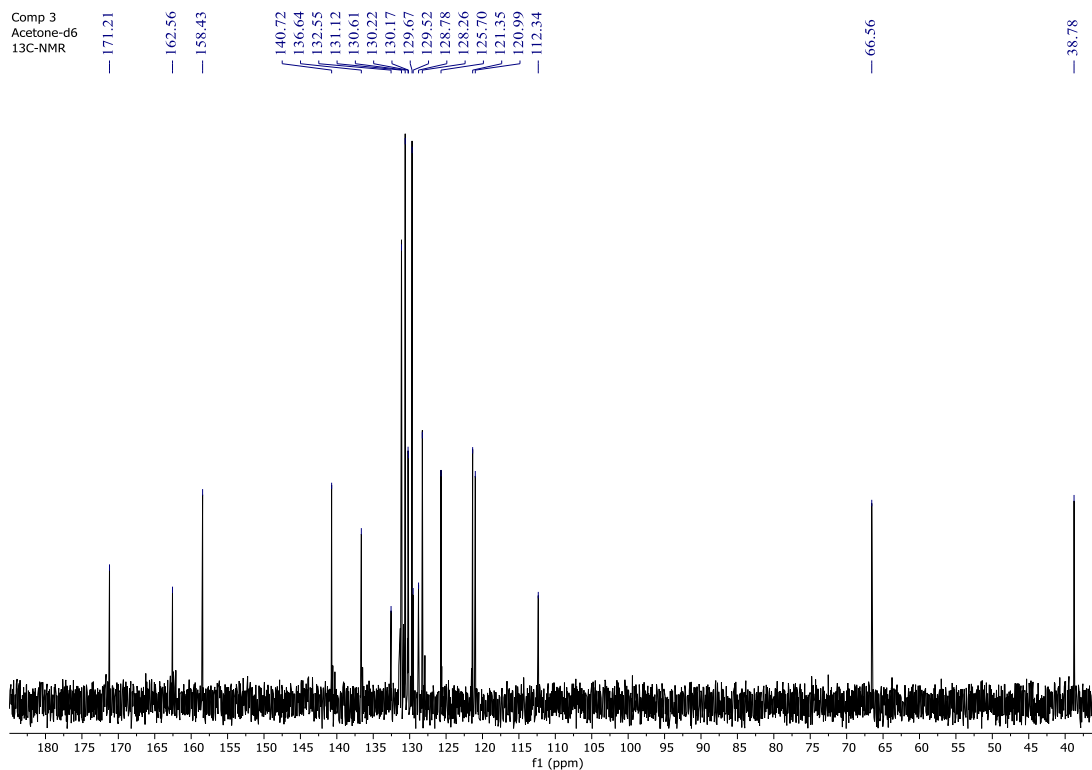
a. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 1

BNF
Acetone-d6
1H-NMR

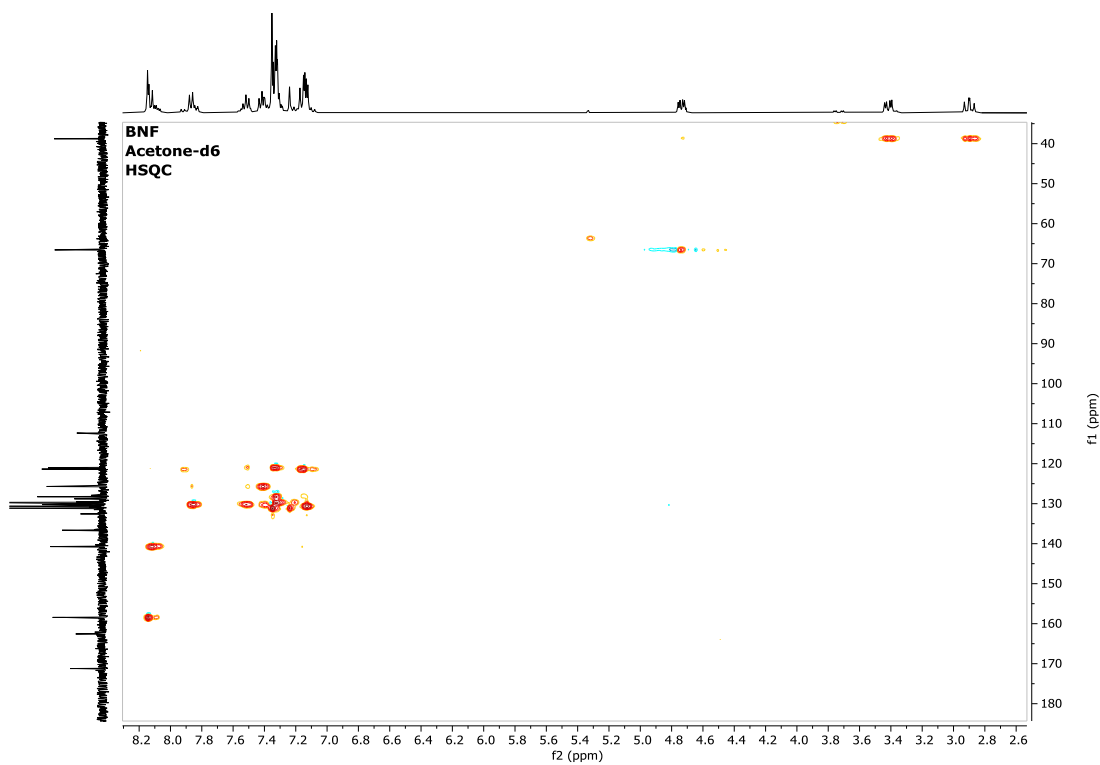


b. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 1

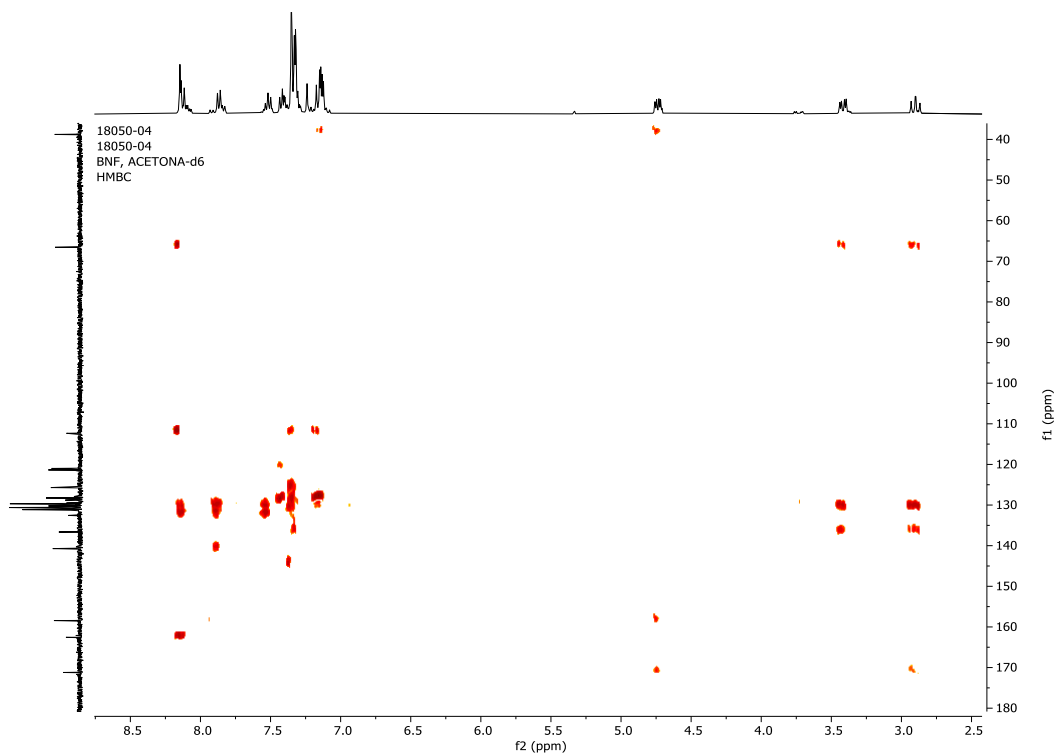
Comp 3
Acetone-d6
13C-NMR



c. Espectro 2D HSQC compuesto 1

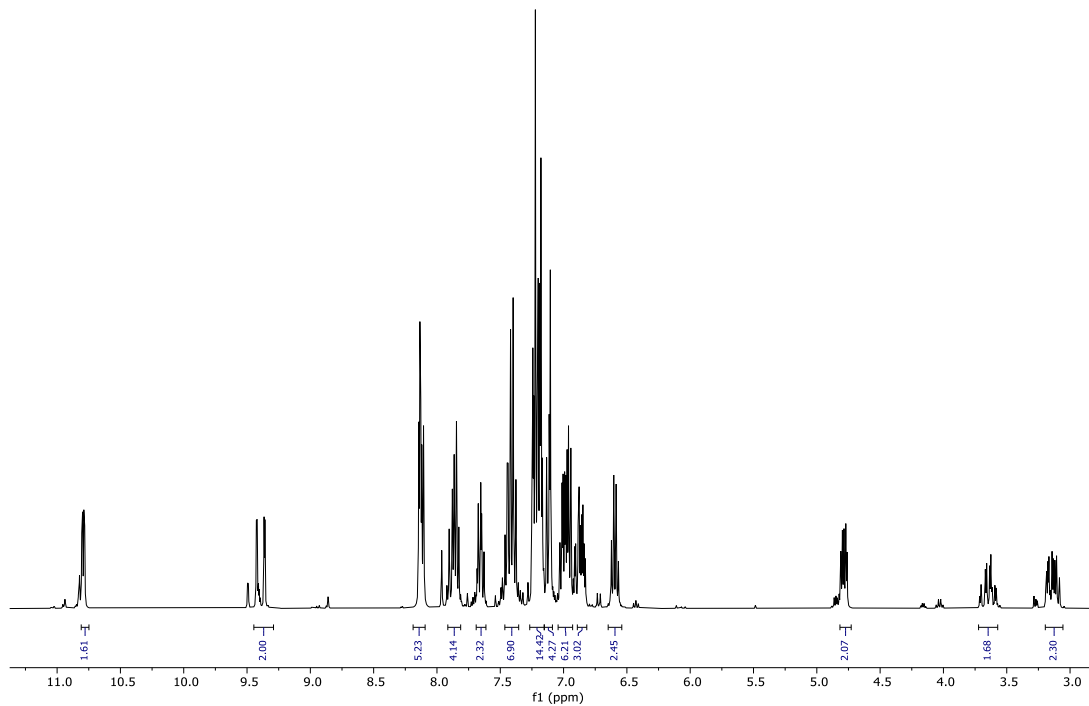


d. Espectro 2D HMBC de compuesto 1



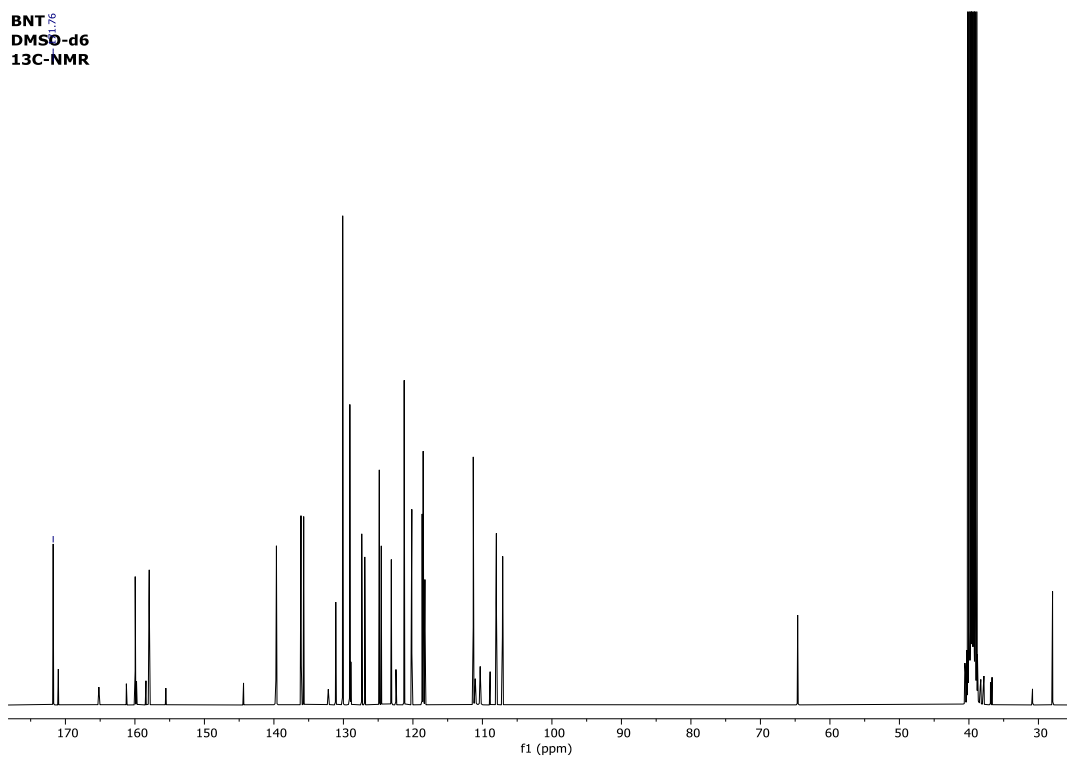
e. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 2

BNT
DMSO-d6
1H-NMR



f. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 2

BNT
DMSO-d6
13C-NMR



A3. Ángulos calculados mediante difracción de rayos X de monocristal

Número	Atom1	Atom2	Atom3	Angulo	Número	Atom1	Atom2	Atom3	Angulo
1	C6	O1	B1	113.4(3)	46	C9	C10	C11	109.9(4)
2	O2	B2	O3	109.4(4)	47	H13	C10	H8	108.2
3	O2	B2	N4	105.0(4)	48	H13	C10	C11	109.7
4	O2	B2	C46	112.4(4)	49	H8	C10	C11	109.7
5	O3	B2	N4	100.5(4)	50	C7	C8	H32	122(3)
6	O3	B2	C46	112.9(4)	51	C7	C8	C47	123.0(5)
7	N4	B2	C46	115.7(4)	52	H32	C8	C47	114(3)
8	B2	O2	C20	114.1(4)	53	C10	C11	C12	120.5(5)
9	B2	O3	C25	112.8(4)	54	C10	C11	C26	120.2(5)
10	C41	O6	B1	114.2(4)	55	C12	C11	C26	119.1(5)
11	B2	N4	C9	110.2(3)	56	C11	C12	H11	119.6
12	B2	N4	C48	120.6(4)	57	C11	C12	C13	120.7(6)
13	C9	N4	C48	127.9(4)	58	H11	C12	C13	119.6
14	C32	N6	C33	126.8(4)	59	C12	C13	H12	120.3
15	C32	N6	B1	119.8(4)	60	C12	C13	C14	119.4(7)
16	C33	N6	B1	110.8(4)	61	H12	C13	C14	120.3
17	H1	C1	C2	119.8	62	C13	C14	H2	119.5
18	H1	C1	C30	119.8	63	C13	C14	C27	121.1(9)
19	C2	C1	C30	120.4(6)	64	H2	C14	C27	119.4
20	C1	C2	H18	119.8	65	H3	C15	C16	120.3
21	C1	C2	C3	120.4(5)	66	H3	C15	C24	120.2
22	H18	C2	C3	119.8	67	C16	C15	C24	119.5(5)
23	C2	C3	C4	119.4(5)	68	C15	C16	H4	119.4
24	C2	C3	C28	121.2(5)	69	C15	C16	C17	121.1(5)
25	C4	C3	C28	119.4(5)	70	H4	C16	C17	119.5
26	C3	C4	C5	118.4(4)	71	C16	C17	H34	119.4
27	C3	C4	C31	118.8(4)	72	C16	C17	C18	121.2(4)
28	C5	C4	C31	122.8(4)	73	H34	C17	C18	119.4
29	C4	C5	C6	120.2(4)	74	C17	C18	C19	123.2(4)
30	C4	C5	C32	122.4(4)	75	C17	C18	C23	118.2(4)
31	C6	C5	C32	116.8(4)	76	C19	C18	C23	118.6(4)
32	O1	C6	C5	121.7(4)	77	C18	C19	C20	120.3(4)
33	O1	C6	C29	118.2(4)	78	C18	C19	C48	122.7(4)
34	C5	C6	C29	120.1(4)	79	C20	C19	C48	116.5(4)
35	H15	C7	C8	118.9	80	O2	C20	C19	122.0(4)
36	H15	C7	C46	118.9	81	O2	C20	C21	117.7(4)
37	C8	C7	C46	122.1(4)	82	C19	C20	C21	120.3(5)
38	N4	C9	H14	109.2	83	C20	C21	H5	120.4
39	N4	C9	C10	113.9(4)	84	C20	C21	C22	119.3(5)
40	N4	C9	C25	102.2(4)	85	H5	C21	C22	120.4
41	H14	C9	C10	109.2	86	C21	C22	H7	118.6
42	H14	C9	C25	109.2	87	C21	C22	C23	122.8(5)
43	C10	C9	C25	112.9(4)	88	H7	C22	C23	118.6
44	C9	C10	H13	109.6	89	C18	C23	C22	118.3(4)

45	C9	C10	H8	109.7	90	C18	C23	C24	119.4(5)
Número	Atom1	Atom2	Atom3	Angulo	Número	Atom1	Atom2	Atom3	Angulo
91	C22	C23	C24	122.2(5)	136	H25	C36	C37	119.2
92	C15	C24	C23	120.6(5)	137	C36	C37	H29	120.1
93	C15	C24	H6	119.7	138	C36	C37	C38	119.7(7)
94	C23	C24	H6	119.7	139	H29	C37	C38	120.2
95	O3	C25	O4	123.4(5)	140	C37	C38	H28	119.8
96	O3	C25	C9	112.0(4)	141	C37	C38	C39	120.3(8)
97	O4	C25	C9	124.6(5)	142	H28	C38	C39	119.9
98	C11	C26	H9	120	143	C38	C39	H27	120.8
99	C11	C26	C27	120.2(7)	144	C38	C39	C40	118.3(7)
100	H9	C26	C27	119.8	145	H27	C39	C40	120.8
101	C14	C27	C26	119.5(8)	146	C35	C40	C39	122.4(6)
102	C14	C27	H10	120.3	147	C35	C40	H26	118.8
103	C26	C27	H10	120.2	148	C39	C40	H26	118.9
104	C3	C28	H16	119.2	149	O5	C41	O6	124.2(6)
105	C3	C28	C29	121.7(5)	150	O5	C41	C33	124.2(6)
106	H16	C28	C29	119.1	151	O6	C41	C33	111.6(5)
107	C6	C29	C28	120.2(5)	152	H30	C42	C43	118.7
108	C6	C29	H17	119.9	153	H30	C42	C47	118.7
109	C28	C29	H17	120	154	C43	C42	C47	122.6(4)
110	C1	C30	H19	119.7	155	C42	C43	H31	118.8
111	C1	C30	C31	120.6(5)	156	C42	C43	C46	122.3(4)
112	H19	C30	C31	119.7	157	H31	C43	C46	118.9
113	C4	C31	C30	120.4(4)	158	B2	C46	C7	120.2(4)
114	C4	C31	H20	119.8	159	B2	C46	C43	124.6(4)
115	C30	C31	H20	119.8	160	C7	C46	C43	115.1(4)
116	N6	C32	C5	119.4(4)	161	C8	C47	C42	114.8(4)
117	N6	C32	H21	120.2	162	C8	C47	B1	121.9(4)
118	C5	C32	H21	120.3	163	C42	C47	B1	123.3(4)
119	N6	C33	H22	108	164	N4	C48	C19	118.7(4)
120	N6	C33	C34	116.3(5)	165	N4	C48	H33	117(2)
121	N6	C33	C41	102.8(4)	166	C19	C48	H33	124(2)
122	H22	C33	C34	108	167	O1	B1	O6	111.6(4)
123	H22	C33	C41	107.9	168	O1	B1	N6	105.1(4)
124	C34	C33	C41	113.5(5)	169	O1	B1	C47	111.4(4)
125	C33	C34	H24	108.8	170	O6	B1	N6	99.5(4)
126	C33	C34	H23	108.9	171	O6	B1	C47	113.5(4)
127	C33	C34	C35	113.6(5)	172	N6	B1	C47	115.0(4)
128	H24	C34	H23	107.7	173	N7	C44	C45	179.4(8)
129	H24	C34	C35	108.8	174	C44	C45	H37	109.4
130	H23	C34	C35	108.8	175	C44	C45	H36	109.5
131	C34	C35	C36	120.7(5)	176	C44	C45	H35	109.5
132	C34	C35	C40	121.6(5)	177	H37	C45	H36	109.4
133	C36	C35	C40	117.6(5)	178	H37	C45	H35	109.5
134	C35	C36	H25	119.2	179	H36	C45	H35	109.5
135	C35	C36	C37	121.6(6)					

A4. Distancias de enlace calculadas mediante difracción de rayos X de monocristal.

Número	Atom1	Atom2	Distancia	Número	Atom1	Atom2	Distancia	Número	Atom1	Atom2	Distancia
1	O1	C6	1.354(5)	35	C9	C25	1.528(7)	68	C26	C27	1.39(1)
2	O1	B1	1.473(6)	36	C10	H13	0.97	69	C27	H10	0.929
3	B2	O2	1.487(6)	37	C10	H8	0.97	70	C28	H16	0.93
4	B2	O3	1.481(6)	38	C10	C11	1.522(7)	71	C28	C29	1.352(8)
5	B2	N4	1.565(6)	39	C8	H32	0.93(4)	72	C29	H17	0.93
6	B2	C46	1.587(7)	40	C8	C47	1.396(7)	73	C30	H19	0.93
7	O2	C20	1.348(6)	41	C11	C12	1.371(9)	74	C30	C31	1.373(7)
8	O3	C25	1.330(6)	42	C11	C26	1.38(1)	75	C31	H20	0.93
9	O4	C25	1.206(7)	43	C12	H11	0.93	76	C32	H21	0.93
10	O5	C41	1.198(8)	44	C12	C13	1.39(1)	77	C33	H22	0.98
11	O6	C41	1.319(8)	45	C13	H12	0.929	78	C33	C34	1.465(8)
12	O6	B1	1.482(7)	46	C13	C14	1.36(2)	79	C33	C41	1.518(8)
13	N4	C9	1.459(6)	47	C14	H2	0.93	80	H33	C48	1.08(4)
14	N4	C48	1.288(6)	48	C14	C27	1.37(1)	81	C34	H24	0.97
15	N6	C32	1.287(6)	49	C15	H3	0.929	82	C34	H23	0.97
16	N6	C33	1.456(7)	50	C15	C16	1.397(8)	83	C34	C35	1.532(9)
17	N6	B1	1.575(7)	51	C15	C24	1.369(9)	84	C35	C36	1.353(8)
18	C1	H1	0.93	52	C16	H4	0.93	85	C35	C40	1.366(9)
19	C1	C2	1.35(1)	53	C16	C17	1.355(7)	86	C36	H25	0.931
20	C1	C30	1.394(8)	54	C17	H34	0.93	87	C36	C37	1.39(1)
21	C2	H18	0.929	55	C17	C18	1.404(6)	88	C37	H29	0.931
22	C2	C3	1.419(8)	56	C18	C19	1.434(6)	89	C37	C38	1.35(1)
23	C3	C4	1.406(7)	57	C18	C23	1.415(7)	90	C38	H28	0.93
24	C3	C28	1.417(8)	58	C19	C20	1.394(6)	91	C38	C39	1.37(1)
25	C4	C5	1.437(6)	59	C19	C48	1.420(6)	92	C39	H27	0.93
26	C4	C31	1.401(7)	60	C20	C21	1.405(7)	93	C39	C40	1.38(1)
27	C5	C6	1.389(7)	61	C21	H5	0.93	94	C40	H26	0.929
28	C5	C32	1.414(6)	62	C21	C22	1.360(8)	95	C42	H30	0.929
29	C6	C29	1.407(7)	63	C22	H7	0.93	96	C42	C43	1.390(7)
30	C7	H15	0.93	64	C22	C23	1.418(7)	97	C42	C47	1.377(6)
31	C7	C8	1.376(8)	65	C23	C24	1.410(8)	98	C43	H31	0.93
32	C7	C46	1.390(6)	66	C24	H6	0.93	99	C43	C46	1.391(6)
33	C9	H14	0.98	67	C26	H9	0.93	100	C47	B1	1.587(7)
34	C9	C10	1.514(7)								

A5. Espectro de emisión del compuesto 2

Espectro de emisión a diferentes medidas de viscosidad del compuesto 2 a una λ_{abs} de 400

A6. Tablas de DFT

Tabla a1. Datos de emisión singlete \rightarrow singlete en 1α y 2α vía TD-DFT/CAM-B3LYP/Def2-TZPP nivel teórico*.

α	1α					2α				
	λ_e	f	$k_{rd} \cdot 10^6$	$\tau \cdot 10^{-6}$	A	λ_e	f	$k_{rd} \cdot 10^8$	$\tau \cdot 10^{-8}$	A
0°	466	0.0023	1.81	0.55	(ICT) $\pi^*-\pi$	436	0.116	0.97	1.03	(ICT) $\pi^*-\pi$
30°	467	0.0022	1.94	0.51	(ICT) $\pi^*-\pi$	449	0.102	0.79	1.27	(ICT) $\pi^*-\pi$
60°	464	0.0028	2.23	0.45	(ICT) $\pi^*-\pi$	482	0.113	0.69	1.46	(ICT) $\pi^*-\pi$
90°	458	0.0027	2.19	0.46	(ICT) $\pi^*-\pi$	485	0.186	1.04	0.96	(ICT) $\pi^*-\pi$
120°	460	0.0027	1.96	0.51	(ICT) $\pi^*-\pi$	410	0.144	1.39	0.72	(ICT) $\pi^*-\pi$
150°	467	0.0024	1.89	0.53	(ICT) $\pi^*-\pi$	415	0.165	1.51	0.66	(ICT) $\pi^*-\pi$
180°	468	0.0024	1.89	0.53	(ICT) $\pi^*-\pi$	423	0.162	1.40	0.72	(ICT) $\pi^*-\pi$
210°	468	0.0022	1.71	0.59	(ICT) $\pi^*-\pi$	448	0.154	1.67	0.60	(ICT) $\pi^*-\pi$
240°	467	0.0021	1.66	0.60	(ICT) $\pi^*-\pi$	402	0.171	1.06	0.95	(ICT) $\pi^*-\pi$
270°	466	0.0027	2.12	0.45	(ICT) $\pi^*-\pi$	477	0.131	0.80	1.25	(ICT) $\pi^*-\pi$
300°	466	0.0028	2.23	0.45	(ICT) $\pi^*-\pi$	452	0.137	0.98	1.02	(ICT) $\pi^*-\pi$
330°	466	0.0025	1.96	0.51	(ICT) $\pi^*-\pi$	436	0.137	1.10	0.91	(ICT) $\pi^*-\pi$

* λ_e es la longitud de onda de emisión teórica en nm, A es la asignación de transiciones, f es la fuerza del oscilador, H (HOMO), L (LUMO), k_{rd} es la tasa de emisión radiativa (s^{-1}) y τ es el tiempo de vida de la emisión-radiativa (s).

Tabla a2. Datos de emisión singlete \rightarrow singlete en 1β y 2β vía TD-DFT/CAM-B3LYP/Def2-TZPP nivel teórico*.

α	1β					2β				
	λ_e	f	$k_{rd} \cdot 10^6$	$\tau \cdot 10^{-6}$	A	λ_e	f	$k_{rd} \cdot 10^8$	$\tau \cdot 10^{-8}$	A
0°	466	0.002	1.81	0.55	(ICT) $\pi^*-\pi$	436	0.116	0.97	1.03	(ICT) $\pi^*-\pi$
30°	460	0.052	41.33	0.02	(ICT) $\pi^*-\pi$	434	0.105	0.89	1.12	(ICT) $\pi^*-\pi$
60°	446	0.119	101.47	0.10	(ICT) $\pi^*-\pi$	447	0.094	0.71	1.39	(ICT) $\pi^*-\pi$
90°	434	0.134	120.11	0.008	(ICT) $\pi^*-\pi$	467	0.086	0.58	1.72	(ICT) $\pi^*-\pi$
120°	435	0.090	80.65	0.012	(ICT) $\pi^*-\pi$	466	0.142	0.92	1.09	(ICT) $\pi^*-\pi$
150°	448	0.033	28.11	0.036	(ICT) $\pi^*-\pi$	437	0.151	1.19	0.84	(ICT) $\pi^*-\pi$
180°	458	0.003	2.15	0.47	(ICT) $\pi^*-\pi$	415	0.146	1.34	0.74	(ICT) $\pi^*-\pi$
210°	448	0.041	15.32	0.07	(ICT) $\pi^*-\pi$	428	0.138	1.16	0.86	(ICT) $\pi^*-\pi$
240°	443	0.073	62.64	0.02	(ICT) $\pi^*-\pi$	452	0.144	1.02	0.98	(ICT) $\pi^*-\pi$
270°	441	0.070	60.83	0.02	(ICT) $\pi^*-\pi$	505	0.109	0.57	1.75	(ICT) $\pi^*-\pi$

300°	444	0.055	47.10	0.02	(ICT) $\pi^*-\pi$	490	0.122	0.70	1.43	(ICT) $\pi^*-\pi$
330°	456	0.019	15.33	0.07	(ICT) $\pi^*-\pi$	448	0.131	0.99	1.01	(ICT) $\pi^*-\pi$

* λ_e es la longitud de onda de emisión teórica en nm, A es la asignación de transiciones, f es la fuerza del oscilador, H (HOMO), L (LUMO), k_{rd} es la tasa de emisión radiativa (s^{-1}) y τ es el tiempo de vida de la emisión-radiativa (s).

Tabla a3. Datos de emisión singlete \rightarrow singlete en 1_γ y 2_γ vía TD-DFT/CAM-B3LYP/Def2-TZPP nivel teórico*.

α	1_γ					2_γ				
	λ_e	f	$k_{rd} \cdot 10^6$	$\tau \cdot 10^{-6}$	A	λ_e	f	$k_{rd} \cdot 10^8$	$\tau \cdot 10^{-8}$	A
0°	466	0.002	1.81	0.55	(ICT) $\pi^*-\pi$	436	0.116	0.97	1.03	(ICT) $\pi^*-\pi$
30°	459	0.050	40.58	0.024	(ICT) $\pi^*-\pi$	388	0.152	0.97	1.03	(ICT) $\pi^*-\pi$
60°	449	0.108	90.86	0.011	(ICT) $\pi^*-\pi$	388	0.149	1.71	0.59	(ICT) $\pi^*-\pi$
90°	443	0.105	90.51	0.011	(ICT) $\pi^*-\pi$	391	0.152	1.65	0.61	(ICT) $\pi^*-\pi$
120°	442	0.070	60.53	0.017	(ICT) $\pi^*-\pi$	390	0.159	1.62	0.62	(ICT) $\pi^*-\pi$
150°	450	0.024	20.08	0.050	(ICT) $\pi^*-\pi$	437	0.151	1.22	0.82	(ICT) $\pi^*-\pi$
180°	458	0.003	2.14	0.470	(ICT) $\pi^*-\pi$	415	0,146	1.39	0.72	(ICT) $\pi^*-\pi$
210°	452	0.044	36.54	0.027	(ICT) $\pi^*-\pi$	428	0,138	1.35	0.74	(ICT) $\pi^*-\pi$
240°	446	0.085	72.32	0.014	(ICT) $\pi^*-\pi$	452	0.097	1.16	0.86	(ICT) $\pi^*-\pi$
270°	443	0.084	72.75	0.014	(ICT) $\pi^*-\pi$	506	0.109	0.71	1.42	(ICT) $\pi^*-\pi$
300°	445	0.063	53.22	0.019	(ICT) $\pi^*-\pi$	491	0.122	0.57	1.76	(ICT) $\pi^*-\pi$
330°	457	0.020	15.83	0.063	(ICT) $\pi^*-\pi$	449	0.131	0.70	1.44	(ICT) $\pi^*-\pi$

* λ_e es la longitud de onda de emisión teórica en nm, A es la asignación de transiciones, f es la fuerza del oscilador, H (HOMO), L (LUMO), k_{rd} es la tasa de emisión radiativa (s^{-1}) y τ es el tiempo de vida de la emisión-radiativa (s).

Tabla a4. Datos de emisión singlete \rightarrow singlete en $V2_\theta$ y $V2_\sigma$ vía TD-DFT/CAM-B3LYP/Def2-TZPP nivel teórico*.

α	$V2_\theta$					$V2_\sigma$				
	λ_e	f	$k_{rd} \cdot 10^8$	$\tau \cdot 10^{-8}$	A	λ_e	f	$k_{rd} \cdot 10^8$	$\tau \cdot 10^{-8}$	A
0°	436	0.116	1.81	0.55	(ICT) $\pi^*-\pi$	436	0.116	0.97	1.03	(ICT) $\pi^*-\pi$
30°	393	0.157	1,72	0.58	(ICT) $\pi^*-\pi$	409	0.064	0.64	1.56	(ICT) $\pi^*-\pi$
60°	391	0.198	1,86	0.54	(ICT) $\pi^*-\pi$	434	0.006	0.06	18.07	(ICT) $\pi^*-\pi$
90°	391	0.186	0.33	2.99	(ICT) $\pi^*-\pi$	456	0.005	0.04	24.94	(ICT) $\pi^*-\pi$
120°	406	0.084	0.86	1.16	(ICT) $\pi^*-\pi$	479	0.002	0.01	70.04	(ICT) $\pi^*-\pi$
150°	396	0.029	0.24	4.12	(ICT) $\pi^*-\pi$	466	0.014	0.11	9.16	(ICT) $\pi^*-\pi$

180°	391	0.021	0.24	4.16	(ICT) $\pi^*-\pi$	444	0.045	0.39	2.58	(ICT) $\pi^*-\pi$
210°	387	0.001	0.06	15.71	(ICT) $\pi^*-\pi$	445	0.084	0.71	1.40	(ICT) $\pi^*-\pi$
240°	383	0.003	0.04	24.71	(ICT) $\pi^*-\pi$	434	0.111	0.99	1.01	(ICT) $\pi^*-\pi$
270°	384	0.092	0.78	1.28	(ICT) $\pi^*-\pi$	404	0.150	1.56	0.64	(ICT) $\pi^*-\pi$
300°	433	0.028	0.14	7.35	(ICT) $\pi^*-\pi$	390	0.180	2.00	0.50	(ICT) $\pi^*-\pi$
330°	436	0.064	0.80	1.25	(ICT) $\pi^*-\pi$	388	0.166	1.87	0.54	(ICT) $\pi^*-\pi$

* λ_e es la longitud de onda de emisión teórica en nm, A es la asignación de transiciones, f es la fuerza del oscilador, H (HOMO), L (LUMO), k_{rd} es la tasa de emisión radiativa (s^{-1}) y τ es el tiempo de vida de la emisión-radiativa (s).