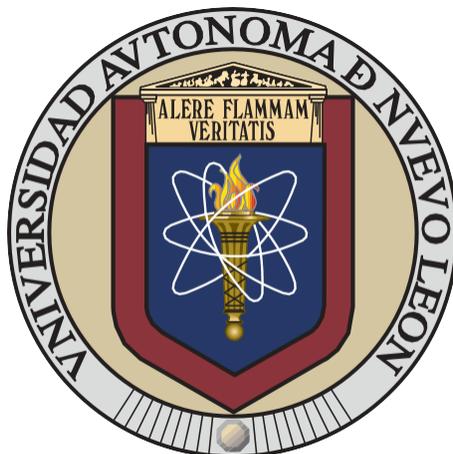


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



**“SÍNTESIS SUSTENTABLE Y CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE BOSCHIBAS
FLUORESCENTES DERIVADAS DE BENZILIBENZOHIDRAZIDAS PARA LA
TINCIÓN DE FIBROÍNA DE SEDA (*BOMBYX MORI*) PARA SU POTENCIAL
CRECIMIENTO CELULAR”**

**POR
MARIZÉ HERNÁNDEZ SANTANA**

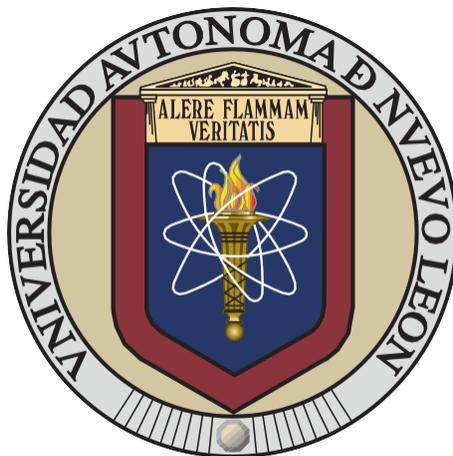
FIRMA DEL ASESOR

Dr. Víctor M. Jiménez Pérez

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

ENERO, 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



**“SÍNTESIS SUSTENTABLE Y CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE BOSCHIBAS
FLUORESCENTES DERIVADAS DE BENZILBENZOHIDRAZIDAS PARA LA
TINCIÓN DE FIBROÍNA DE SEDA (*BOMBYX MORI*) PARA SU POTENCIAL
CRECIMIENTO CELULAR”**

POR

MARIZÉ HERNÁNDEZ SANTANA

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

ENERO, 2025

Síntesis sustentable y caracterización química de BOSCHIBAs fluorescentes derivadas de benzilbenzohidrazidas para la tinción de fibroína de seda (*Bombyx mori*) para su potencial crecimiento celular

Aprobación de la Tesis

Dr. Víctor M. Jiménez Pérez

Presidente

Dr. Jesús Alberto Gómez Treviño

Secretario

Dra. Marisol Ibarra Rodríguez

Vocal

Dra. María Elena Cantú Cárdenas

Subdirectora de Estudios de Posgrado

Síntesis sustentable y caracterización química de BOSCHIBAs fluorescentes derivadas de benzilbenzohidrazidas para la tinción de fibroína de seda (*Bombyx mori*) para su potencial crecimiento celular

Los miembros del comité de tesis aprueban la tesis realizada por la alumna Marizé Hernández Santana con matrícula **2172358**.

Revisión de la tesis:

Dr. Víctor M. Jiménez Pérez

Director de tesis

Dra. Blanca M. Muñoz Flores

Codirector de tesis

Dra. Marisol Ibarra Rodríguez

Revisor

Dr. Rodrigo A. Chan Navarro

Revisor

Dr. Alberto Gómez Treviño

Revisor

Dra. María Elena Cantú Cárdenas

Subdirectora de estudios de Posgrado

RESUMEN

Marizé Hernández Santana

Fecha de graduación: Enero 2025

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Químicas

Título del Estudio: Síntesis sustentable y caracterización química de BOSCHIBAs fluorescentes derivadas de benzilbenzohidrazidas para la tinción de fibroína de seda (*Bombyx mori*) para su potencial crecimiento celular.

Número de páginas: 77

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

Área de estudio: Química de los Materiales

Propósito y método de estudio: Actualmente, se han investigado compuestos de boro y bases de Schiff novedosas, conocidas como BOSCHIBAs, que han demostrado destacadas propiedades de fluorescencia, al mismo tiempo que exhiben niveles bajos o inexistentes de toxicidad celular. La investigación presente está centrada en la síntesis y caracterización química y fotofísica de BOSCHIBAs con el objetivo de realizar la tinción de la fibroína de seda para su potencial aplicación en crecimiento celular. La síntesis se llevó a cabo por la técnica de ultrasonido y para la caracterización química se utilizaron técnicas espectroscópicas y espectrométricas, como también se realizó la caracterización fotofísica.

Contribuciones y Conclusiones: Los métodos utilizados para la síntesis de los ligantes y BOSCHIBAs fueron métodos amigables con el medio ambiente. Se realizó la caracterización química y fotofísica, obteniendo resultados significativos. También se comprobó que los compuestos son biocompatibles y pueden usarse como potencial aplicación en la tinción de biomateriales y en el crecimiento celular.

FIRMA DEL ASESOR

Dr. Víctor M. Jiménez Pérez

AGRADECIMIENTOS

Quiero comenzar este espacio dedicando mis más profundos agradecimientos a mis padres **María Esther y Luis Enrique** y a mi hermano **Luis Enrique** quienes han sido mi mayor apoyo en cada paso de este proceso. Su amor incondicional y su confianza en mí han sido la fuerza que me ha impulsado a seguir adelante, a pesar de la distancia que nos separa físicamente.

A mi esposo **Yordanis Fonseca**, cuyo apoyo y comprensión han hecho posible que pudiera concentrarme en mis estudios y en esta investigación. Gracias por estar siempre a mi lado y apoyarme siempre.

A mi hermana, **Clarissé Hernández** por ser mi cómplice en esta aventura que nos deparó el destino y que no hubiera sido posible sin su compañía y su cariño invaluable en las buenas y en las malas.

A mis asesores, **Dr. Víctor M. Jiménez Pérez y Dra. Blanca M. Muñoz Flores**, por su orientación y sabiduría. Su dedicación y compromiso han sido clave en el desarrollo de esta tesis, y su crítica constructiva me ha ayudado a crecer como investigadora.

Agradezco también profundamente a la **Dra. Marisol Ibarra Rodríguez**, por su invaluable apoyo en la parte experimental de esta tesis. Su experiencia y dedicación no solo enriquecieron mi investigación, sino que también me brindaron una guía esencial en cada etapa del proceso. A **Dr. Rodrigo Alonso Chan Navarro y Dr. Jesús Alberto Gómez Treviño** miembros de mi comité tutorial, por su invaluable apoyo y dedicación en la revisión de tesis. Sus sugerencias y observaciones han sido fundamentales para enriquecer mi trabajo, y su orientación ha sido clave para mi crecimiento académico y profesional.

A mis compañeros de grupo de investigación y de generación, **ISE. Jiliany y Alberto, M.C. Valeria, M.C. Marcos, M.C. Diego, LQI. Pablo, LQC. Mariana, LBG.Julio, IQ. Kelly, LQI Luís, LQI Koresh, Dr. Raúl, Esme, Estibaliz, Sulma, Yonari, Javi** por compartir este camino. La colaboración y el apoyo mutuo han enriquecido mi experiencia, y juntos hemos creado un ambiente de aprendizaje inigualable.

A todos y cada uno de los profesores que me brindaron su experiencia y conocimiento en cada clase impartida. A la Facultad de Ciencias Químicas (**FCQ**), la Facultad de Ciencias Biológicas (**FCB**) por brindarme acceso a sus equipos e instalaciones, así como por su invaluable apoyo en el desarrollo de este estudio.

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (**CONAHCYT**) por la beca otorgada (CVU: 1268307) y la confianza en la realización de este proyecto **03-97179QMT- 23-102**.

A todos ustedes, mi más sincero agradecimiento.

DEDICATORIA

“Se el cambio que quieres ver en el mundo”

— Mahatma Gandhi

Para mis padres, por su amor incondicional y por haberme enseñado la importancia del esfuerzo y la perseverancia. También a mi esposo y a mi hermana, quienes han sido mi apoyo constante en cada paso de este camino. Su confianza en mí ha sido la luz que me ha guiado.

ÍNDICE

1. Introducción	15
2. Antecedentes	19
2.1. BODIPYs	19
2.2. BODIKes	20
2.3. BOSCHIBAs	20
2.4. Los 12 principios de la Química Verde	21
2.5. Tinción de biomateriales y crecimiento celular	23
2.6. Aportación científica	25
3. Hipótesis y objetivos	26
3.1. Hipótesis	26
3.2. Objetivos y Metas	26
4. Materiales y métodos	27
4.1. Reactivos y equipos	27
4.2. Síntesis general	28
4.3. Disposición de residuos	33
4.4. Caracterización química y fotofísica de las BOSCHIBAs	34
4.6. Desgomado de seda	38
4.7. Tinción de la fibroína de seda	38
4.8. Crecimiento celular	38
5. Discusión de resultados	39
5.1. Síntesis	39
5.2. Caracterización espectroscópica	40
5.3. Caracterización de espectrometría	47
5.4. Análisis de datos de difracción de Rayos-X de monocristal	49
5.5. Caracterización Fotofísica de los compuestos de boro	54
5.6. Citotoxicidad de los compuestos de boro	56
5.7. Fibroína de seda teñida por microscopia confocal	57
6. Conclusiones	58
7. Referencias	59
8. Anexos	66

8.1. Espectros de IR ligantes	66
8.2. Espectros de IR compuestos de boro	68
8.3. Espectros de masas	70
8.4. Espectros de RMN.....	72

Índice de figuras

Figura 1. Tipos de luminiscencia en cuanto al modo de excitación.	15
Figura 2. Esquema general del proyecto de investigación.	18
Figura 3. Aplicaciones de los compuestos de boro.....	19
Figura 4. 12 Principios de la Química Verde.....	22
Figura 5. Biomateriales teñidos con materiales fluorescentes, izquierda: fibroína de seda, derecha quitosano, ácido glutámico, algodón, alginato de sodio.	23
Figura 6. Crecimiento celular con rodamina B de fibroblastos de colon humano en un andamio de fibroína de seda.	24
Figura 7. Crecimiento celular con CQDs/ZnS en un andamio de fibroína de seda.	24
Figura 8. Espectro de IR para el compuesto 1.	41
Figura 9. Espectro de RMN de ^1H en Acetona- d_6 para el Ligante L2	42
Figura 10. Espectro de RMN de ^{13}C en Acetona- d_6 para el Ligante L2	43
Figura 11. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 para el compuesto 2	44
Figura 12. Espectro de RMN de ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto 2	45
Figura 13. Espectro de RMN de ^{11}B en CDCl_3 para el compuesto 2	45
Figura 14. Espectro de masas para el compuesto 4	48
Figura 15. Estructura de rayos X de compuesto 2	49
Figura 16. Estructura de rayos X de compuesto 3	49
Figura 17. Interacciones intermoleculares protón-nube π para el compuesto 2	51
Figura 18. Interacciones moleculares grupo nitro y nube π para el compuesto 2	52
Figura 19. Interacciones moleculares de puente de hidrógeno para el compuesto 2 ..	52
Figura 20. Interacciones moleculares apilamiento paralelo desplazado para el compuesto 3	53
Figura 21. Interacciones moleculares protón-nube π en el compuesto 3	53
Figura 22. Espectro de absorción de compuestos 1-4 (izquierda) y Espectro de emisión compuestos 1-4 (derecha).....	54
Figura 23. Fluorescencia de compuestos en solución 1-4 expuestos a radiación UV...	55
Figura 24. Imágenes de compuestos en polvo 1-4 , en luz visible (izquierda) y luz UV (derecha).....	55
Figura 25. Viabilidad celular de los compuestos 1-4 en la línea celular HUVEC.....	56
Figura 26. Tinción de fibroína de seda con los compuestos de boro. a) y b) compuesto 1 ;	57
Figura 27. Espectro de IR para el Ligante L1	66
Figura 28. Espectro de IR para el Ligante L2	66
Figura 29. Espectro de IR para el Ligante L3	67
Figura 30. Espectro de IR para el Ligante L4	67
Figura 31. Espectro de IR para el compuesto 2	68
Figura 32. Espectro de IR para el compuesto 3	68
Figura 33. Espectro de IR para el compuesto 4	69
Figura 34. Espectro de masas para el compuesto 1	70
Figura 35. Espectro de masas para el compuesto 2	70

Figura 36. Espectro de masas para el compuesto 3	71
Figura 37. Espectro de RMN de ^1H en DMSO- d_6 para el Ligante L1	72
Figura 38. Espectro de RMN de ^{13}C en DMSO- d_6 para el Ligante L1	72
Figura 39. Espectro de RMN de ^{13}C en DMSO- d_6 para el Ligante L3	73
Figura 40. Espectro de RMN de ^1H en DMSO- d_6 para el Ligante L4	74
Figura 41. Espectro de RMN de ^{13}C en DMSO- d_6 para el Ligante L4	74
Figura 42. Espectro de RMN de ^1H en Acetona- d_6 para el compuesto 1	75
Figura 43. Espectro de RMN de ^{13}C en Acetona- d_6 para el compuesto 1	75
Figura 44. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 para el compuesto 3	76
Figura 45. Espectro de RMN de ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto 3	76
Figura 46. Espectro de RMN de ^{11}B en CDCl_3 para el compuesto 3	77
Figura 47. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 para el compuesto 4	77
Figura 48. Espectro de RMN de ^{11}B en CDCl_3 para el compuesto 4	78

Índice de tablas

Tabla 1. Equipos y su ubicación.....	27
Tabla 2. Lista de Reactivos.....	28
Tabla 3. Tipo de residuo peligroso y ubicación según su clasificación.....	33
Tabla 4. Parámetros de síntesis con radiación ultrasónica para los ligantes y BOSCHIBAs, a temperatura ambiente.....	39
Tabla 5. Propiedades físicas de los ligantes y BOSCHIBAs.	40
Tabla 6. Datos de infrarrojo en cm^{-1} para los ligantes.	40
Tabla 7. Datos de infrarrojo en cm^{-1} para los compuestos de boro.	41
Tabla 8. Desplazamientos químicos en RMN de ^1H y ^{13}C para los ligantes L1-L4	43
Tabla 9. Desplazamientos químicos en RMN de ^1H , ^{13}C y ^{11}B para los compuestos 1-4 . ..	46
Tabla 11. Datos cristalográficos de los compuestos 2 y 3	50
Tabla 12. Ángulos de enlace de los compuestos 2 y 3	51
Tabla 13. Propiedades fotofísicas de los compuestos 1-4 en CH_2Cl_2	55

Índice de esquemas

Esquema 1. Mecanismo de reacción para la formación del enlace imínico. _____	29
Esquema 2. Mecanismo de reacción para la formación del ligante. _____	30
Esquema 3. Mecanismo de reacción para la formación de los compuestos de boro. _	31
Esquema 4. Ruta de síntesis de ligantes (1-4)._____	31
Esquema 5. Reacción de obtención de ácido difenilborónico. _____	32
Esquema 6. Ruta de síntesis de compuestos de boro (1-4). _____	33
Esquema 7. Fragmentación para los compuestos 1 y 2. _____	47
Esquema 8. Fragmentación para los compuestos 3 y 4. _____	47

Abreviaturas

Me-O:	Oxígeno-Metilo	Ph₂BOH	Ácido difenilborónico
°C	Grados Celcius	Å	Armstrong
mL	Mililitros	LED	Diodo Emisor de Luz
ppm	Partes por millón	OLED	Diodo Orgánico emisor de luz
h	Horas	BOSCHIBAs	Boro y base de Schiff
min	Minutos	BODIPYs	Boro dipirrometano
nm	Nanómetros	BODIKes	Boro Diketona
µg	Microgramos	CQDs/ZnS	Puntos Cuánticos de grafeno
µL	Microlitros	UANL	Universidad Autónoma de Nuevo León
mg	Miligramos	FCQ	Facultad de Ciencias Químicas
Ph	Fenilo	FCB	Facultad de Ciencias Biológicas
Φ	Rendimiento Cuántico	H₂O	Agua
m/z	Relación masa-carga	HCl	Ácido clorhídrico
IR	Infrarrojo	Ch₂Cl₂	Diclorometano
λ	Longitud de onda	DMSO-d₆	Dimetilsulfóxido deuterado
RMN	Resonancia Magnética Nuclear	H₂SO₄	Ácido sulfúrico
CDCl₃	Cloroformo deuterado	Na₂CO₃	Carbonato de sodio
Acetona-d₆	Acetona deuterada	P.F	Punto de Kelvin Fusión
Ar	Aromático	K	Kelvin
MeOH	Metanol	THC_{DA}	Carácter tetraédrico
UV-Vis	Ultravioleta visible		

1. Introducción

La luminiscencia, un fenómeno óptico fascinante que ha sido objeto de estudio en diversas disciplinas científicas. Fue introducida por primera vez por el físico e historiador de la ciencia Eilhard Wiedemann en 1888, donde describe que ocurre la emisión de fotones mediante la absorción de energía en un material, sin elevar su temperatura.¹ Existe una gran variedad de tipos de luminiscencia dependiendo de la fuente de excitación que incide sobre el material como se muestra en la Figura 1.² En el caso de la fotoluminiscencia es cuando se lleva a cabo la excitación por fotones.

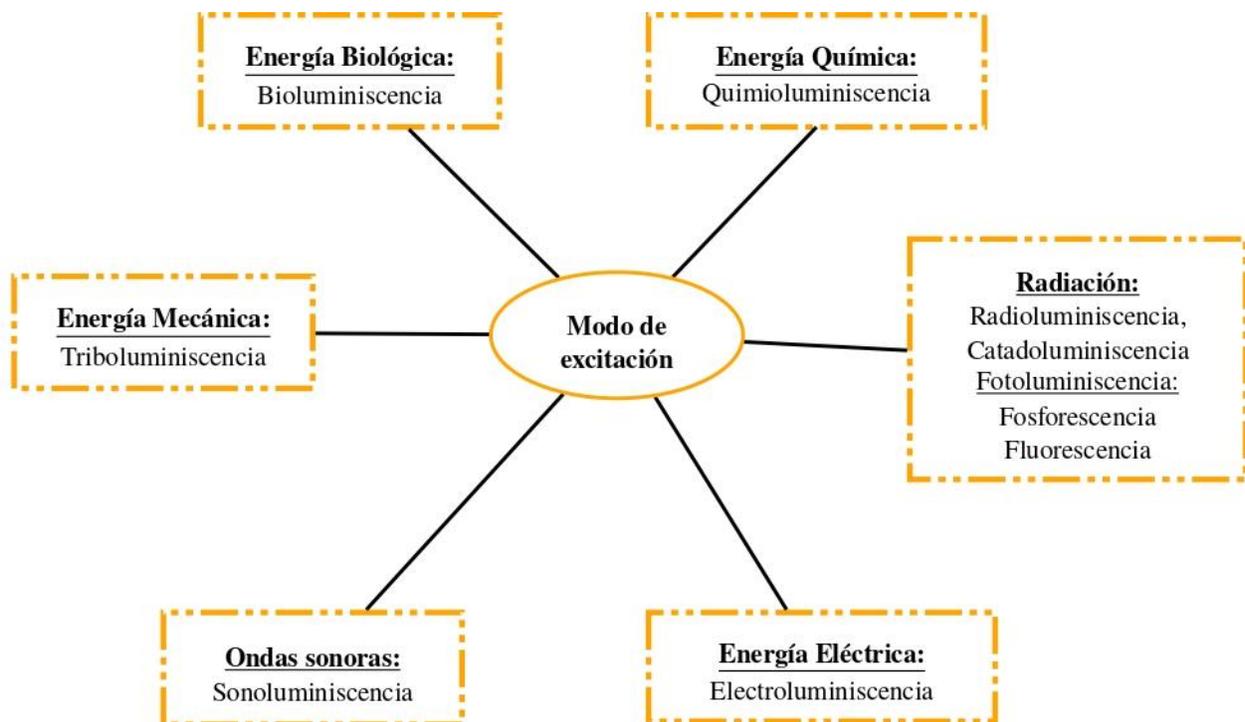


Figura 1. Tipos de luminiscencia en cuanto al modo de excitación.

El área de estudio de los materiales ha dado a la luminiscencia una gran importancia ya que la misma en todas sus clasificaciones presenta potenciales aplicaciones especialmente en el campo de la medicina y la biomedicina. Por mencionar algunas se encuentran: la detección de muestras de sangre en medicina forense,³ en la obtención de imágenes y terapia de tumores,⁴ en el diagnóstico de infecciones y detección de bacterias y hongos,⁵ como sensores para la detección de múltiples y diversos biomarcadores,⁶ en la fabricación de cátodos fríos utilizados en la industria de las pantallas, en la fabricación de LEDs,⁷ tinción celular,⁸ entre otros. Uno de los aspectos más importantes en esta área es el desarrollo y aplicación de tintes para materiales, que desempeñan un papel crucial en la visualización y diagnóstico de enfermedades, así como en la ingeniería de tejidos y la

regeneración celular. En cuanto a la aplicación de ingeniería de tejidos los biomateriales juegan un papel fundamental ya que permiten la mejora, restauración o remplazo de tejidos y órganos dañados en el cuerpo humano.⁹ Estos materiales están diseñados para interactuar de manera compatible con sistemas biológicos, su selección y diseño se basan en propiedades específicas que promueven la integración con el entorno. También al estar en contacto con el cuerpo humano, incluyendo tejidos, sangre y otros fluidos biológicos, esto hace que prevalezca la biocompatibilidad de estos.¹⁰ Entre otras de las interesantes propiedades de los biomateriales se encuentran: la no toxicidad, bioactividad y biodegradación.^{11, 12, 13} En la actualidad los biomateriales se clasifican en cuatro generaciones:

1. **Biomateriales inertes:** Remplazan a los tejidos dañados con una respuesta tóxica mínima del receptor.
2. **Biomateriales bioactivos y biodegradables:** Interaccionan con el medio biológico para mejorar la respuesta, degradándose progresivamente en el nuevo tejido.
3. **Biomateriales funcionalizados:** Son capaces de estimular una respuesta celular a nivel molecular.
4. **Biomateriales funcionalizados e inteligentes:** Estimulan a células específicas para ayudar al cuerpo a auto curarse.

Uno de los biomateriales más destacados es la fibroína de seda, derivada del capullo del gusano (*Bombyx mori*), que ha demostrado ser altamente biocompatible y versátil en una variedad de aplicaciones biomédicas, específicamente en la ingeniería de tejidos, ya sea en la regeneración ósea,^{14,15} como andamio y en regeneración celular,¹⁶ entre otras. La fibroína de seda provee un ambiente propicio para el crecimiento y diferenciación celular, degradándose con el tiempo para permitir el desarrollo de nuevo tejido.¹⁷ A pesar del potencial que presenta, se busca mejorar sus propiedades y ampliar sus aplicaciones. Con el fin de aumentar su compatibilidad y permitir una mejor visualización y seguimiento se hace necesario la tinción de la fibroína de seda con materiales fluorescentes. Se ha estudiado que esta técnica de tinción ofrece varias ventajas en la administración de fármacos, en bioimágenes y como biosensores.^{18, 19, 20, 21} Hay varios métodos para generar fibroína de seda luminiscente: mediante la modificación genética del gusano,^{22, 23} haciendo que el gusano, en su alimentación, absorba los tintes de manera natural^{24, 25} y mediante el método de inmersión.^{26, 27} Siendo este último el método más sencillo, de menor costo, tiempo y muy importante que no se afecta la vida del gusano, a comparación con el método de modificación de alimentación en donde se ha demostrado que algunos

compuestos fluorescentes usados para ello son tóxicos.²⁴

Se han estudiado varios tipos de compuestos fluorescentes en la tinción de fibroína de seda, tanto orgánicos como inorgánicos. Los compuestos fluorescentes orgánicos, como los tintes y pigmentos, ofrecen la ventaja de una mayor compatibilidad biológica y una mayor facilidad para modificar sus propiedades ópticas mediante cambios estructurales.²⁸ Por otro lado, los compuestos inorgánicos, como los nanomateriales, pueden proporcionar una mayor estabilidad y durabilidad.²⁹ Sin embargo, la flexibilidad y versatilidad de los compuestos orgánicos los convierten en una opción preferida para aplicaciones donde se requiere un ajuste fino de las propiedades luminiscentes de la seda.

En este contexto, los compuestos de boro han demostrado ser especialmente prometedores. El boro, como elemento químico, ofrece ventajas únicas en aplicaciones biomédicas, como su capacidad para actuar como agente de tinción fluorescente, así como su participación en la modificación de biomateriales para mejorar sus propiedades.³⁰

Por otra parte, las bases de Schiff son el producto de condensación entre un aldehído o una cetona con una amina primaria, tienen como una de sus ventajas su fácil preparación y la posibilidad de modificar su estructura con distintos sustituyentes, dada la diversidad existente de aminas primarias, aldehídos y cetonas. En la química orgánica se utilizan como intermediarios sintéticos o estructuras como base para la síntesis de productos con una importante actividad biológica.³¹

En los últimos tiempos se han estudiado nuevos compuestos de boro y bases de Schiff (BOSCHIBAs), las cuales se destacan por sus excelentes propiedades fluorescentes y su baja o nula citotoxicidad. Además, la facilidad de síntesis de las BOSCHIBAs mediante métodos sustentables las convierte en una opción atractiva para aplicaciones biomédicas.⁸

Se han desarrollado numerosas aplicaciones utilizando fibroína de seda teñida con materiales orgánicos fluorescentes, destacando su versatilidad en campos como la bioimagen y la creación de textiles innovadores. No obstante, en muy pocos trabajos se ha explorado su potencial para promover el crecimiento celular. Esta área poco investigada presenta una oportunidad valiosa para avanzar en aplicaciones biomédicas, especialmente en la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa, donde la combinación de propiedades fluorescentes y biocompatibles de la fibroína de seda podría resultar en soluciones innovadoras y eficaces. Por tanto, el objetivo principal de este proyecto es sintetizar y caracterizar cuatro BOSCHIBAs fluorescentes para la tinción de fibroína de seda y desarrollar el crecimiento celular (Figura 2).

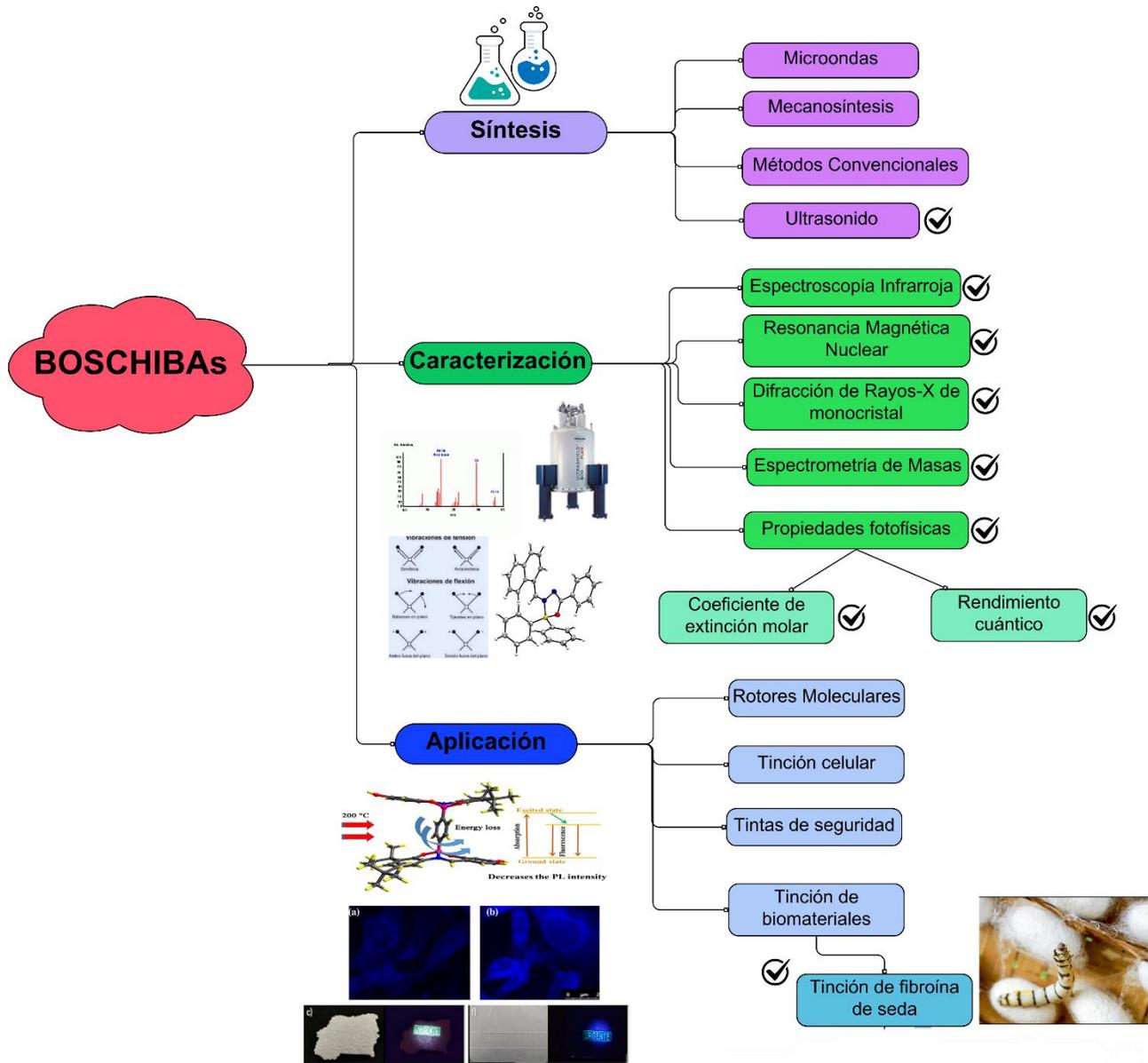


Figura 2. Esquema general del proyecto de investigación.

2. Antecedentes

Los compuestos de boro han surgido como componentes cruciales en diversas disciplinas científicas y tecnológicas debido a sus propiedades únicas y versátiles. En el ámbito de la biomedicina, principalmente, estos compuestos han mostrado un gran potencial en el diseño de nuevos agentes terapéuticos y en la entrega selectiva de fármacos, aprovechando su capacidad para formar complejos estables con biomoléculas, lo que permite una mayor especificidad y eficacia en los tratamientos. Así como también en la tecnología y electrónica, que se utilizan en la fabricación de dispositivos avanzados, como sensores y transistores, debido a su capacidad para modificar las propiedades electrónicas de los materiales semiconductores. Dentro de estos tipos de compuestos se destacan los BODIPYs, los BODIKEs y las BOSCHIBAs que tienen características similares para el objetivo que se quiere desarrollar en este proyecto, y entre otras aplicaciones específicas de cada tipo de compuesto se muestra en la siguiente figura.

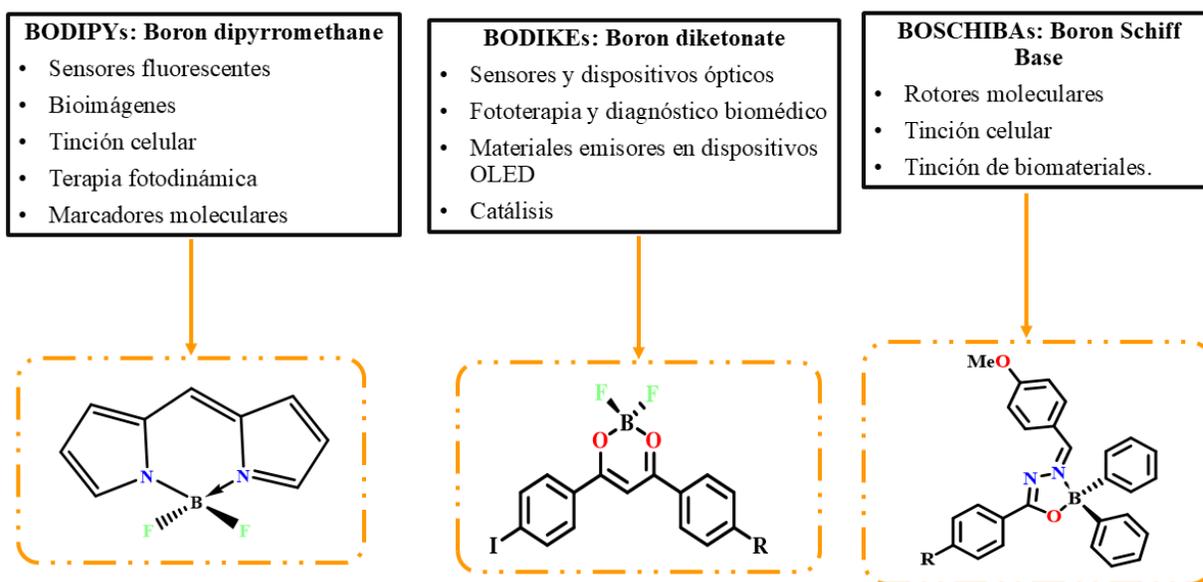


Figura 3. Aplicaciones de los compuestos de boro.

2.1. BODIPYs

Los BODIPYs son conocidos por su estabilidad térmica y alto rendimiento cuántico de fluorescencia.³² Su estructura básica consiste en dos anillos de pirrol unidos por un grupo metino central y un átomo de boro coordinado a dos átomos de nitrógeno y conectados a dos átomos de flúor, como se muestra en la Figura 3.³³ Los BODIPYs se han utilizado

como colorantes fluorescentes para teñir una amplia gama de lípidos, incluyendo fosfolípidos, colesterol y ceramidas, y en comparación con otros compuestos usados para la tinción de lípidos, se destacan los BODIPYs debido a que su espectro de emisión es más estrecho y con un mayor rendimiento cuántico. Además, esta familia de compuestos es altamente resistente a los cambios de pH y polaridad, y también posee buena estabilidad fotoquímica.³⁴

Estas características han despertado interés en los campos de la química, bioquímica y física, ya que los BODIPYs se han probado como sensores químicos, tintes de láser, marcadores fluorescentes, capas activas en celdas fotovoltaicas, colectores solares y OLEDs.³⁵ Además de las propiedades mencionadas, estos compuestos tienen la capacidad de rotación libre, lo que significa que su fluorescencia puede verse afectada según el plano del cromóforo sustituyente. Esta característica especial hace que los BODIPYs sean herramientas útiles para el análisis de micro viscosidad en medios como el citoplasma o la matriz mitocondrial.³⁶

2.2. BODIKEs

Por otro lado, los borodicetonas o β -dicetonas, conocidos como BODIKEs, son colorantes clásicos con impresionantes propiedades luminiscentes, así como también presentan una emisión intensa tanto en solución como en estado sólido, y fosforescencia a temperatura ambiente.³⁷ Estas propiedades los han llevado a ser utilizados en diversas aplicaciones, como la imagen de hipoxia tumoral, receptores de aniones y estudios sobre el Alzheimer,³⁸ como sensores y en fotocátalisis debido a sus propiedades foto-ópticas. También pueden presentarse como colorantes mecanocrómicos,³⁹ cambiando su color o intensidad de luminiscencia bajo fuerzas mecánicas inducidas.⁴⁰ Estas características los hacen útiles en sensores ópticos, transistores y diodos orgánicos emisores de luz (OLEDs).⁴¹

2.3. BOSCHIBAs

La combinación de "Boron Schiff Base" se refiere a compuestos que contienen un átomo de boro y una base de Schiff, conocidas generalmente como iminas, las cuales, debido a su estructura molecular y naturaleza de enlaces, poseen excelentes propiedades fluorescentes. Estos compuestos se destacan por su menor costo de producción, síntesis sencilla y altos rendimientos cuánticos, en comparación con otros derivados de boro.⁴² Además, presentan baja citotoxicidad y pueden ser preparados mediante síntesis verde. Sus propiedades fluorescentes los hacen especialmente adecuados para la tinción celular y otras aplicaciones tecnológicas, como la fabricación de OLEDs y celdas solares. Investigaciones adicionales han demostrado que los BOSCHIBAs, formados por clústeres aniónicos de boro,⁴³ son efectivos como pigmentos fluorescentes para teñir el núcleo y

citoplasma celular.⁴⁴ Por todas estas razones, los BOSCHIBAs son de gran interés científico por sus características excepcionales.

2.4. Los 12 principios de la Química Verde

La química verde busca diseñar productos y procesos que reduzcan o eliminen el uso y la generación de sustancias peligrosas. Este enfoque se basa en doce principios fundamentales que dan paso a la creación de procesos más sostenibles y seguros para el medio ambiente y la salud humana, Figura 4.⁴⁵ Estos principios son los siguientes:

- **Prevención de residuos:** Este principio promueve la eficiencia y la reducción de desechos en el origen ya que es preferible evitar la generación de estos, a tratar de gestionarlos después de que se han producido.
- **Economía atómica:** Las reacciones químicas deben diseñarse para utilizar la mayor cantidad posible de átomos de los reactivos en el producto.
- **Síntesis química menos peligrosa:** Los métodos de síntesis deben utilizar y generar sustancias con poca o ninguna toxicidad para los seres humanos y el medio ambiente. Esto implica elegir reactivos y condiciones de reacción que minimicen los riesgos.
- **Diseño de productos más seguros:** Los productos químicos deben ser diseñados para cumplir su función deseada mientras que sean lo menos tóxicos posible, promoviendo así la efectividad y el menor daño posible.
- **Uso de solventes y reacciones más seguras:** Los disolventes y otros agentes auxiliares deben ser evitados cuando sea posible o, si son necesarios, deben ser inocuos o lo menos peligroso posible.
- **Eficiencia energética:** Siempre que sea posible, las reacciones deben llevarse a cabo a temperatura y presión ambiente, optimizando el uso de energía.
- **Uso de fuentes renovables:** Los productos deben estar basados en materias primas renovables en lugar de fuentes no renovables, como el petróleo. Esto apoya la sostenibilidad a largo plazo y reduce la dependencia de recursos finitos.
- **Reducción de derivados:** Toda aquella modificación química adicional, como la protección o desprotección de grupos funcionales, deben minimizarse para reducir el uso de reactivos y la generación de subproductos.

- **Uso de catalizadores:** Los catalizadores deben utilizarse en lugar de reactivos estequiométricos, que se consumen en cantidades iguales a los reactivos.
- **Diseño para la degradación:** Los productos químicos deben ser diseñados para que, después de cumplir su función, se degraden en productos inofensivos y no persistan en el medio ambiente.
- **Análisis y monitoreo en tiempo real:** Se deben desarrollar y utilizar metodologías analíticas que permitan un monitoreo y control en tiempo real de los procesos químicos para prevenir la formación de sustancias peligrosas.
- **Minimizar potencial riesgo de accidente:** Las sustancias y la forma en que se usan deben elegirse para minimizar el riesgo de accidentes, como explosiones o incendios, haciendo los procesos más seguros.

Estos principios, en conjunto, proporcionan una guía integral para la innovación y el desarrollo de la química con un enfoque en la sostenibilidad y la seguridad ambiental y humana.^{46,47}



Figura 4. 12 Principios de la Química Verde.

2.5. Tinción de biomateriales y crecimiento celular

La tinción de biomateriales usando materiales fluorescentes ha sido una técnica esencial en biología y medicina, permitiendo observar y estudiar minuciosamente estructuras celulares y tejidos. Desde la aparición de los primeros colorantes fluorescentes, como la fluoresceína y la rodamina, se ha avanzado considerablemente en la investigación de procesos biológicos a nivel molecular.^{9, 48} Estos colorantes facilitan el etiquetado de componentes celulares específicos, permitiendo el análisis de funciones celulares, interacciones de proteínas y localización de ácidos nucleicos. En las últimas décadas, el desarrollo de nuevos materiales fluorescentes ha producido compuestos más estables, menos tóxicos y con mejor rendimiento cuántico: las BOSCHIBAs, que sus características los hacen ideales no solo para la tinción celular, sino también para teñir biomateriales como la fibroína de seda, que es el enfoque principal de esta investigación.^{49, 50} El gusano de seda (*Bombyx mori*) es una especie de insecto lepidóptero de la familia *Bombycidae*. Proviene de polillas salvajes chinas y se cría hoy en muchas regiones del mundo para aprovechar el capullo, constituido por un extenso filamento, producido por la oruga al retraerse para su metamorfosis. La seda producida es una fibra natural y está compuesta de proteínas con una capa exterior gomosa (llamada sericina) y dos filamentos centrales (llamados fibroína).⁵¹ Además, la literatura ha documentado con éxito la tinción fluorescente de otras fibras, destacando el potencial y la versatilidad de estos materiales en diversas aplicaciones biomédicas y tecnológicas, Figura 5.^{52, 53, 54, 55, 56, 57, 58}

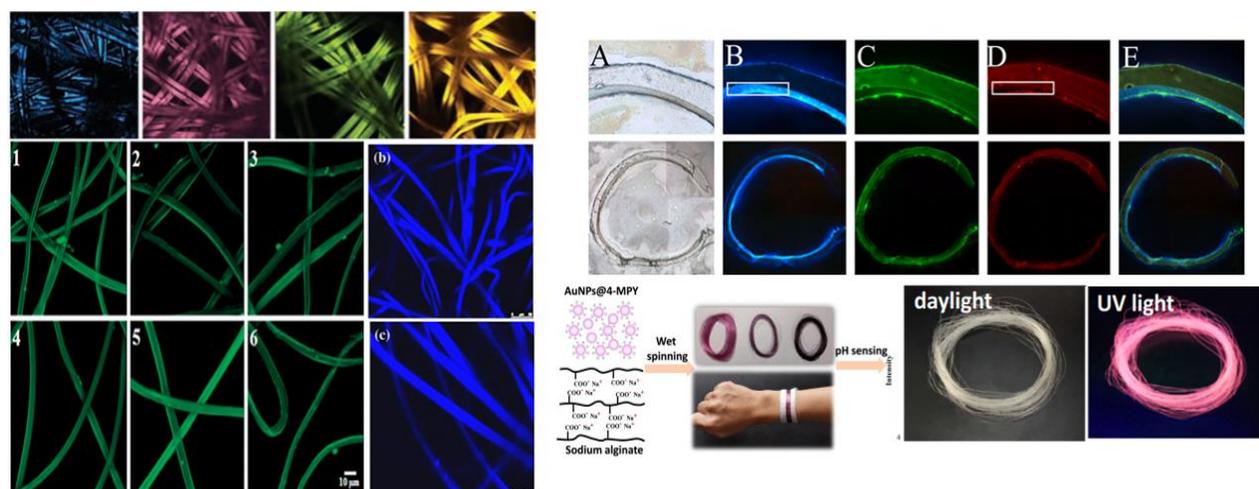


Figura 5. Biomateriales teñidos con materiales fluorescentes, izquierda: fibroína de seda, derecha quitosano, ácido glutámico, algodón, alginato de sodio.

En cuanto a la tinción de fibroína de seda para el crecimiento celular, existen reportes limitados. En 2011, se reportó el uso de seda teñida con rodamina para la promoción del crecimiento celular, demostrando que es posible lograr el crecimiento de las células, Figura 6. Sin embargo, la rodamina presenta problemas de toxicidad, lo que limita su uso en aplicaciones de crecimiento celular dentro del organismo humano, ya que la liberación de este compuesto tóxico podría ser perjudicial.²⁴

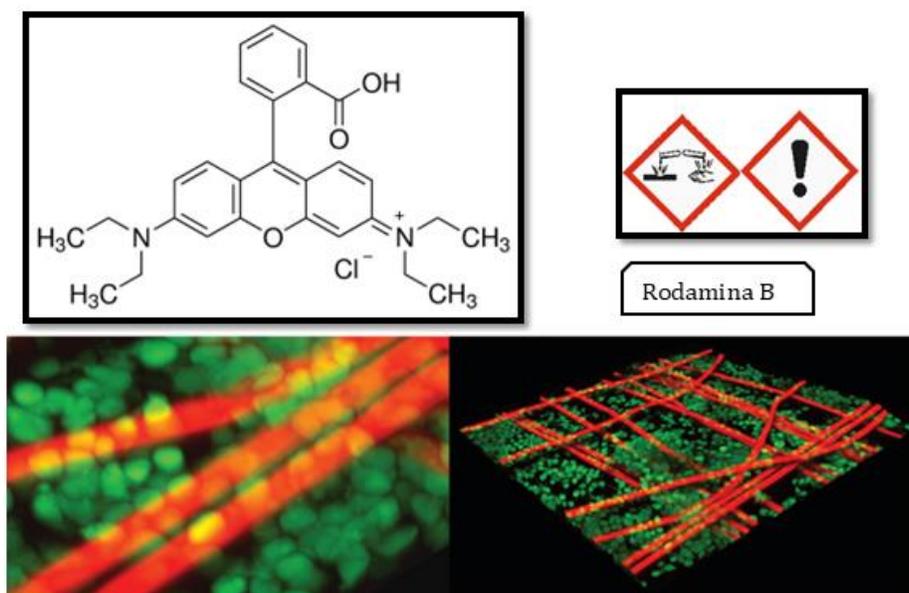


Figura 6. Crecimiento celular con rodamina B de fibroblastos de colon humano en un andamio de fibroína de seda.

En 2019, se realizó un procedimiento similar, incorporando puntos cuánticos de grafeno y rodamina B en la seda. Sus resultados no fueron favorables debido a la toxicidad e irritación causadas por la rodamina, al contrario de los puntos cuánticos que, si fueron satisfactorios, como se muestra en la Figura 7.⁵⁹

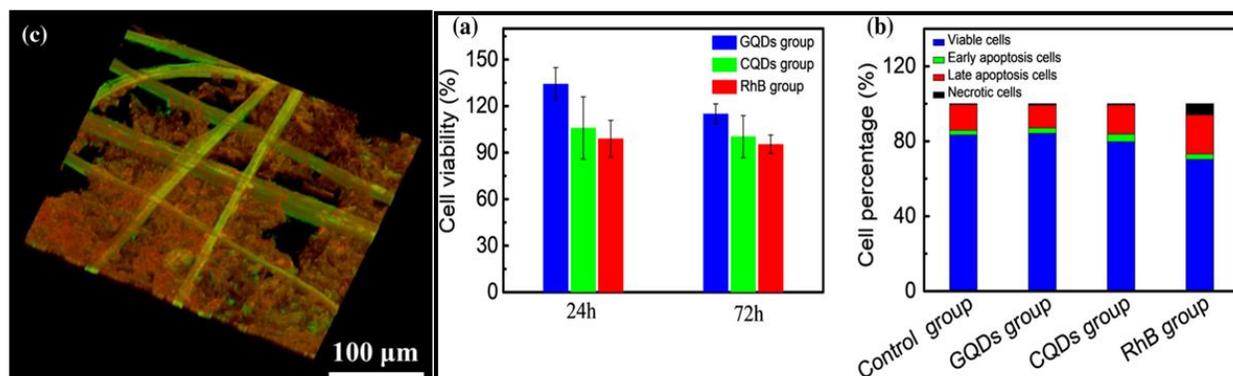


Figura 7. Crecimiento celular con CQDs/ZnS en un andamio de fibroína de seda.

Estos estudios resaltan la necesidad de desarrollar métodos de tinción más seguros y efectivos para la fibroína de seda, que permitan el crecimiento celular sin los riesgos asociados a la toxicidad de la rodamina. Nuestro enfoque busca mejorar estos resultados utilizando materiales fluorescentes menos tóxicos, lo que podría ofrecer una solución más viable y segura para aplicaciones biomédicas en la regeneración de tejidos y la ingeniería de tejidos.

2.6. Aportación científica

En el presente proyecto se realiza la síntesis sustentable y caracterización química de BOSCHIBAs, para la tinción de fibroína de seda, con una baja o nula citotoxicidad para su potencial crecimiento celular.

3. Hipótesis y objetivos

3.1. Hipótesis

Los compuestos derivados de bases de Schiff y de boro con propiedades fluorescentes sintetizados mediante ultrasonido poseen excelentes aplicaciones como tintes en los biomateriales, además, de brindar viabilidad en el crecimiento celular debido a la biocompatibilidad que presentan.

3.2. Objetivos y Metas

3.2.1. Objetivo general

Sintetizar por un método sustentable y caracterizar química y fotofísicamente las BOSCHIBAs fluorescentes para la tinción de fibroína de seda con un potencial crecimiento celular.

3.2.2. Objetivos específicos

- Realizar la síntesis química de los ligantes y los compuestos de boro por ultrasonido.
- Caracterizar las BOSCHIBAs por métodos espectroscópicos: RMN (^1H , ^{13}C , ^{11}B), IR, espectrometría de masas, difracción de rayos-X de monocristal, UV-Vis y fluorescencia.
- Determinar la citotoxicidad de los complejos de boro obtenidos.
- Teñir fibroína de seda con los compuestos de boro por el método de inmersión y caracterizar por microscopía fluorescente.

3.2.3. Metas

- Publicar los resultados de la tesis de maestría en una revista indizada internacional.
- Presentar los resultados de esta tesis en un congreso nacional en su modalidad de poster o presentación oral.
- Obtener el grado de Maestría en Ciencias con Orientación en Química de los Materiales.

4. Materiales y métodos

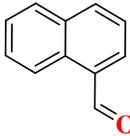
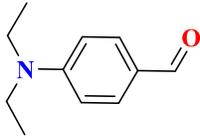
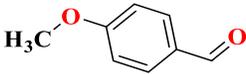
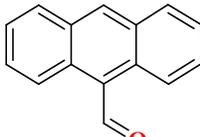
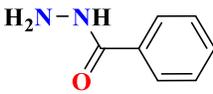
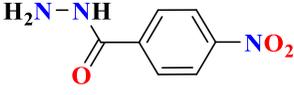
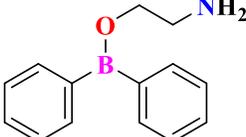
4.1. Reactivos y equipos

Este proyecto se desarrolló en el Laboratorio de Materiales III, ubicado en el área de posgrado de la Facultad de Ciencias Químicas de la UANL. Los reactivos necesarios la síntesis de los compuestos de boro fueron adquiridos de la empresa Aldrich, Tabla 2. La caracterización química y fotofísica de los compuestos se realizó utilizando diversos equipos localizados en la Facultad de Ciencias Químicas, Ciencias Biológicas y Medicina de la UANL, así como en el Instituto de Química, UNAM. En la Tabla 1 se presenta un desglose detallado de los equipos utilizados y su ubicación.

Tabla 1. Equipos y su ubicación

Análisis que realiza el equipo	Nombre y modelo del equipo	Ubicación del equipo
Síntesis química	Branson 2510E-MT 25110EMT Ultrasonic Cleaner	FCQ-UANL
Espectroscopía UV-Vis	Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 365	Posgrado (Laboratorio de Materiales III)
Espectroscopía de fluorescencia	Horiba Scientific Fluorolog-3	
Espectroscopía infrarroja	FT-IR Perkin Elmer	FCQ-UANL
Espectroscopía RMN ^1H , ^{13}C , ^{11}B	Bruker Advance DPX-400	Facultad de Medicina-UANL
Espectrometría de masas	AB Sciex API 2000TM Sistema LC/MS/MS	CINVESTAV-IPN (CDMX)
Difracción de rayos X	Bruker SMART APEX CCD	
Análisis de citotoxicidad	VARIOSKAN LUX Thermo Scientific	FCB-UANL
Microscopía de fluorescencia	Zess Axio Imager	

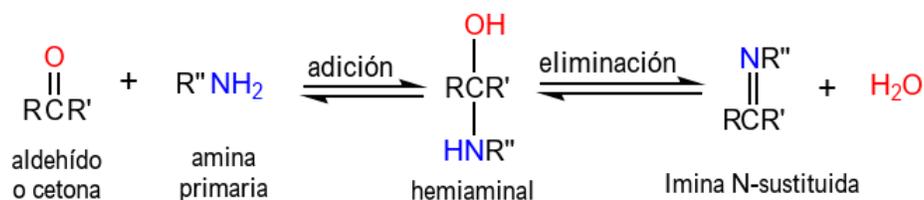
Tabla 2. Lista de Reactivos.

Nombre del Reactivo	Molécula	Número CAS
1-Naftaldehído		66-77-3
4-Dietilamino benzaldehído		120-21-8
4-Metoxi benzaldehído		0123-11-5
Antraceno-9-carbaldehído		642-31-9
Benzohidrazida		613-94-5
4-Nitrobenzohidrazida		636-97-5
2-Aminoetil difenilborinato		524-95-8

4.2. Síntesis general

4.2.1. Mecanismo de reacción para la formación de la Base de Schiff

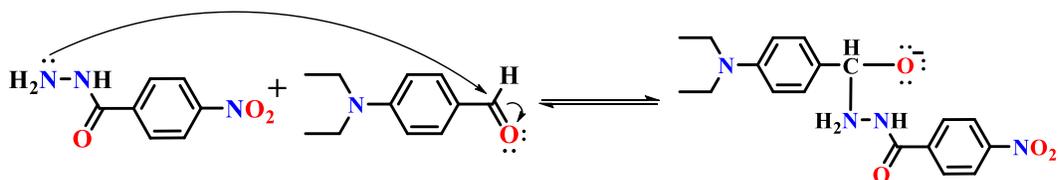
La reacción de aldehídos y cetonas con aminas primarias, como RNH_2 y ArNH_2 , se desarrolla en dos fases. En la primera fase, la amina se añade nucleofílicamente al grupo carbonilo, formando un hemiaminal. En la segunda fase, ocurre la deshidratación, resultando en la formación de la imina.⁶⁰ En el Esquema 1 se muestra el mecanismo general de reacción para la formación del enlace imínico.



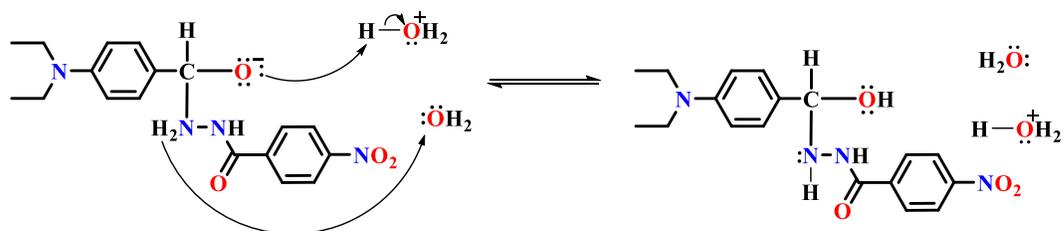
Esquema 1: Mecanismo de reacción para la formación del enlace imínico.

Para la formación de los ligantes que se utilizarán en la síntesis de las BOSCHIBAs se pone de manifiesto el mecanismo anterior propuesto, quedando como se muestra en el Esquema 2. El par de electrones libres del átomo de nitrógeno (N1) es más accesible en la molécula, Esquema 3. Entonces, ocurre la formación del enlace de coordinación con el átomo de boro, así como también el átomo de oxígeno dona su par de electrones, lo que provoca la eliminación de una molécula de H₂O.

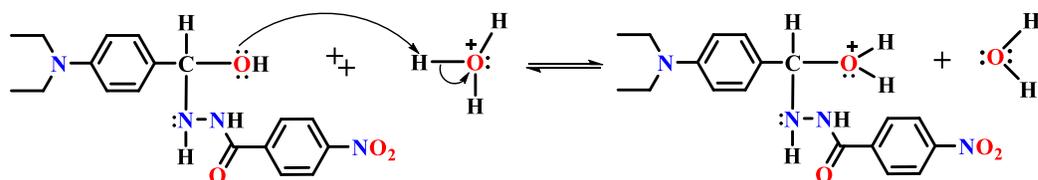
Paso 1: La amina actúa como nucleófilo y ataca al grupo carbonilo, formando un enlace C-N



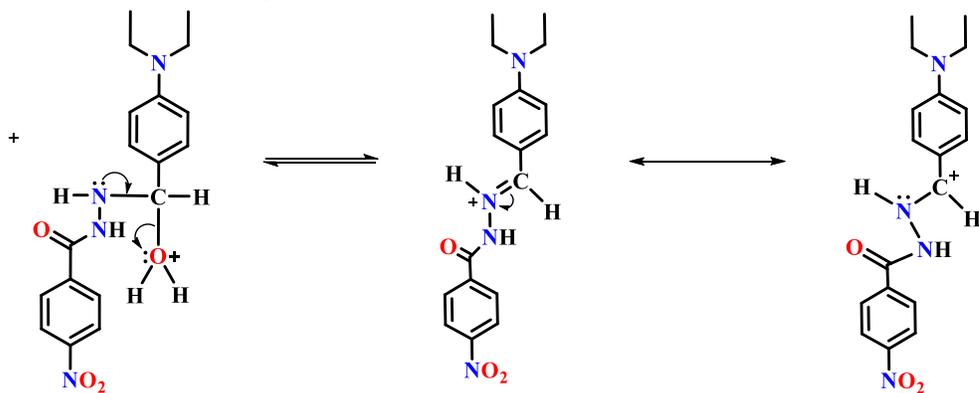
Paso 2: La transferencia de un protón produce el hemiaminal



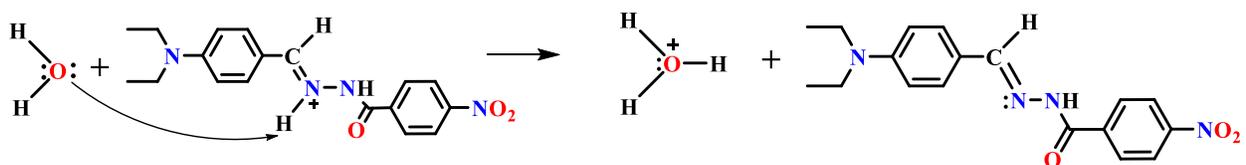
Paso 3: La etapa de deshidratación comienza con la protonación del hemiaminal en el oxígeno.



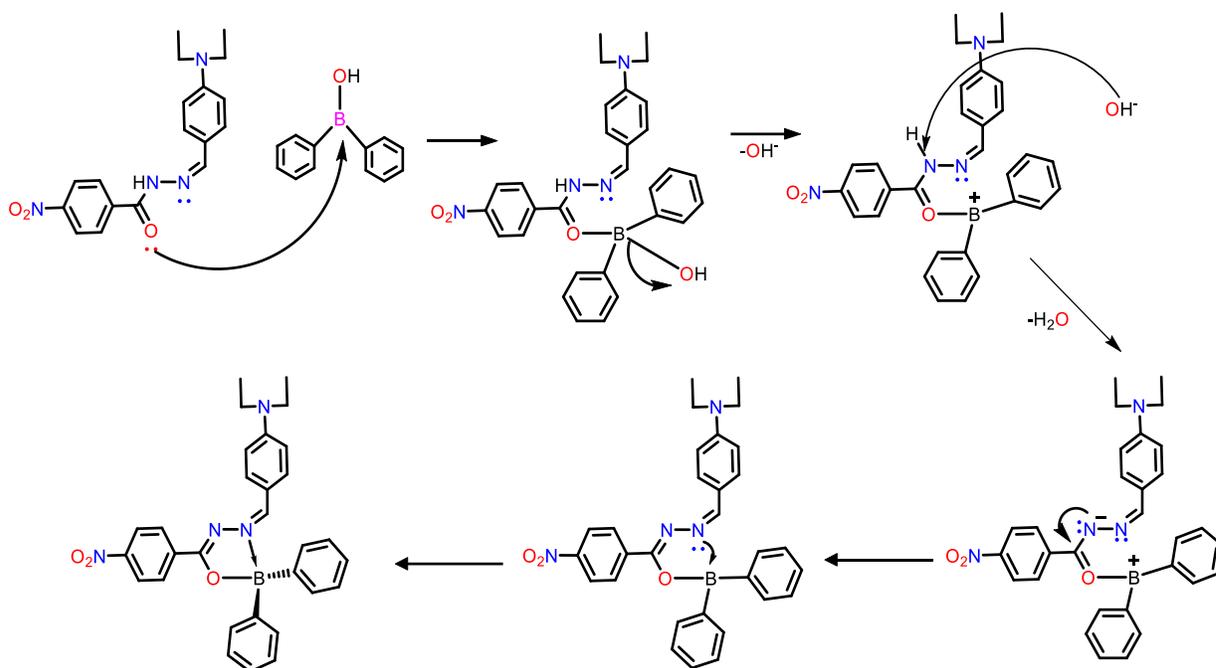
Paso 4: El hemiaminal protonado en el oxígeno pierde agua para formar un carbocatión estabilizado por el nitrógeno.



Paso 5: El carbocatión estabilizado por el nitrógeno es el ácido conjugado de la imina. Por transferencia de un protón al agua se forma la imina.



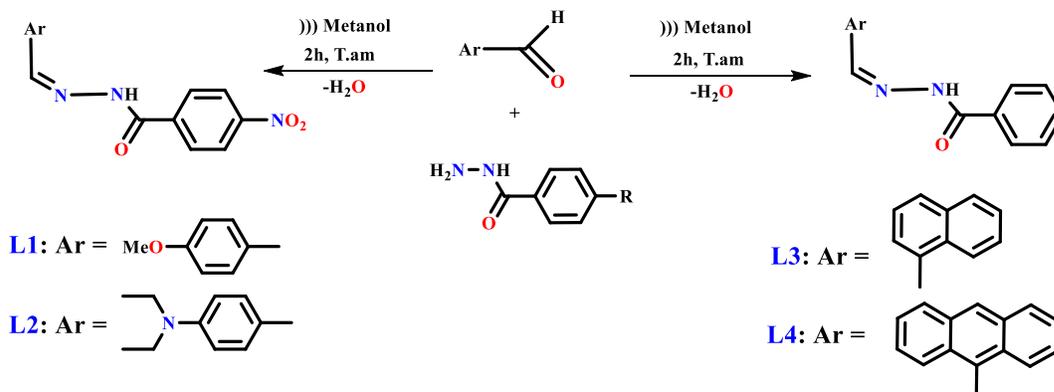
Esquema 2: Mecanismo de reacción para la formación del ligante.



Esquema 3: Mecanismo de reacción para la formación de los compuestos de boro.

4.2.2. Síntesis de los ligantes

La síntesis de los ligantes se realizará mediante la reacción de condensación entre el correspondiente aldehído y la Benzohidrazida para los ligantes **L3** y **L4** y la 4-Nitrobenzohidrazida para los ligantes **L1** y **L2**, en una proporción 1:1 utilizando metanol como solvente, en ultrasonido, durante 2 horas a temperatura ambiente, como se muestra en el Esquema 4.

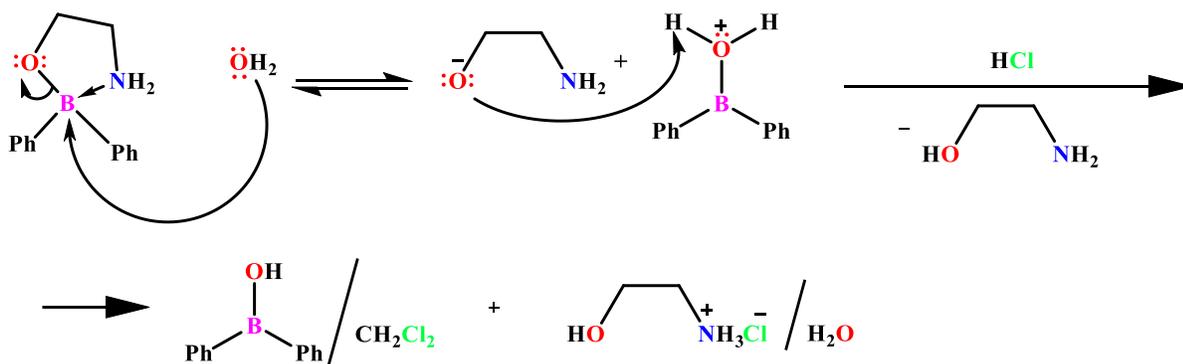


Esquema 4: Ruta de síntesis de ligantes (**L1-L4**).

4.2.3. Síntesis del ácido difenilborónico

La obtención del ácido difenilborónico (Ph_2BOH) se realiza *in situ* a partir del 2-Aminoetil difenilborinato, como se muestra en el mecanismo propuesto en el Esquema 5. El procedimiento general es el siguiente:

1. Se prepara la solución contenida por el reactivo mencionado anteriormente y 2 mL de metanol, luego se le adiciona HCl 1M gota a gota y por último 2 mL de agua destilada hasta que se forme una solución “lechosa”. Esta solución se mantiene en agitación durante 5 minutos.
2. La solución anterior se pasa a un embudo de separación para realizar la extracción con CH_2Cl_2 realizando 3 lavados.
3. Seguido de esto, se rotoevapora la fase orgánica en donde se elimina el solvente, y luego se adicionan los ligantes correspondientes para llevar a cabo la reacción.

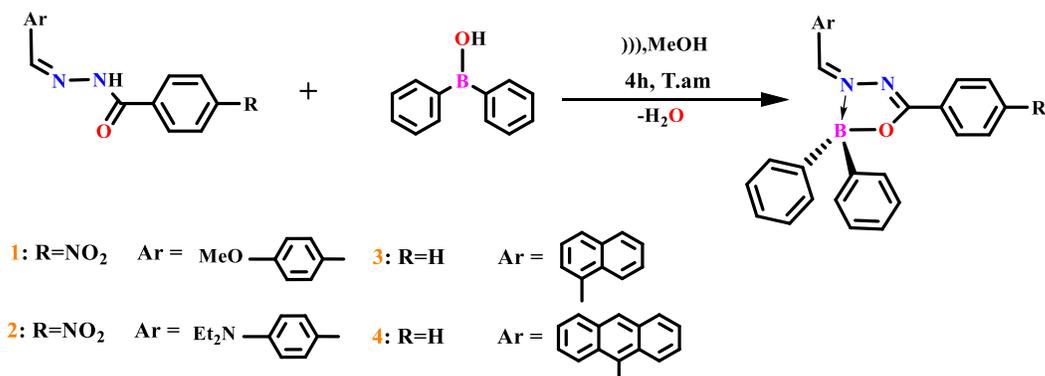


Esquema 5: Reacción de obtención de ácido difenilborónico.

4.2.4. Síntesis de las BOSCHIBAs

Para la síntesis de las cuatro BOSCHIBAs se utilizaron las mismas condiciones y método de reacción usadas en los ligantes. Es decir, ya obtenido el ácido difenilborónico y los ligantes en un matraz, se procedió a realizar la reacción de condensación con 5 mL de metanol. Posteriormente, en el equipo de ultrasonido, se establecieron los parámetros necesarios y luego de cuatro horas se corrieron las reacciones. Luego la mezcla de la reacción se enfrió a temperatura ambiente y el precipitado se filtró y se lavó con hexano. Para comprobar la pureza de los compuestos se realizó cromatografía en capa fina. En

el Esquema 6 se muestra la ruta de síntesis para los compuestos de boro.



Esquema 6: Ruta de síntesis de compuestos de boro (**1-4**).

4.3. Disposición de residuos

Conforme al plan de gestión integral de residuos peligrosos establecido por la Facultad de Ciencias Químicas, los residuos obtenidos en la etapa experimental del proyecto serán depositados en distintos tipos de colector de acuerdo con la naturaleza química de los mismos, en la siguiente tabla se muestra la ubicación y clasificación de dichos residuos.

Tabla 3. Tipo de residuo peligroso y ubicación según su clasificación

Tipo de residuo	Ubicación del residuo
Soluciones salinas, sales ácidas y bases	Contenedor A
Sólidos y sales inorgánicas	Contenedor B
Tóxicos e inflamables, aminas, solventes orgánicos no halogenados	Contenedor C
Tóxicos e inflamables, aminas, solventes orgánicos halogenados	Contenedor D
Muy tóxico, cancerígeno, orgánico e inorgánico	Contenedor E
Sales de metales preciosos	Contenedor F
Combinaciones orgánicas sólidas	Contenedor G

4.4. Caracterización química y fotofísica de las BOSCHIBAs

4.4.1. Caracterización por espectroscopia infrarroja

La espectroscopia infrarroja (IR) es una técnica analítica que permite identificar grupos funcionales en compuestos químicos mediante la absorción de radiación infrarroja. Permite observar señales características de los enlaces principales, como por ejemplo los de C=N y C-O entre otros representativos de la molécula, así como también la formación de los compuestos esperados en la síntesis y además proporciona información sobre la conformación molecular.⁶¹ Para la determinación de los espectros se utilizó el FT-IR Perkin Elmer, su rango espectral se encuentra entre 350 a 7800 cm^{-1} , con accesorios equipados de transmisión y reflexión.

4.4.2. Caracterización por Resonancia Magnética Nuclear

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) es una técnica utilizada para la elucidación estructural, así como para fines cuantitativos y el estudio de mecanismos de reacción. Esta técnica se basa en la capacidad de ciertos núcleos atómicos para absorber radiación electromagnética en la región de las radiofrecuencias cuando se encuentran bajo un campo magnético externo.⁶² Las señales que detecta el equipo de RMN provienen de la propiedad cuántica de los núcleos de que presentan un “espín”. Para que un núcleo sea susceptible a un campo magnético, debe tener un espín diferente de cero. Por ejemplo, el isótopo ^{13}C es sensible a la RMN, mientras que el isótopo ^{14}C no lo es. Otros elementos utilizados en la caracterización de compuestos orgánicos como ^1H , ^{15}N , ^{19}F y ^{31}P , tienen un espín de $\frac{1}{2}$. Esto significa que, cuando se colocan en un campo magnético, tienen dos posibles orientaciones: a favor o en contra del campo.⁶³ Hay otros núcleos que pueden ser analizados por RMN pero no tienen un espín de $\frac{1}{2}$; estos son conocidos como núcleos cuadrupolares. A diferencia de los núcleos esféricos o de espín $\frac{1}{2}$, los núcleos cuadrupolares tienen una forma elipsoidal que afecta la distribución de carga, lo cual determina su interacción con el campo magnético externo.⁶⁴ Como se describió en la Tabla 1 la espectroscopía por resonancia magnética nuclear (RMN) se realizará en un espectrómetro Bruker Advance DPX-400. Se disolvieron los ligantes y compuestos en tubos de borosilicato para RMN y se disolvieron en cloroformo deuterado CDCl_3 , $\text{DMSO}-d_6$ y $\text{Acetona}-d_6$. Se determinará la estructura molecular y la composición química de los compuestos además de analizar la interacción de los núcleos que giran en el campo magnético.

Los espectros a utilizar son los del tipo ^1H , ^{13}C , ^{11}B , los cuales mediante su interpretación se puede analizar cualitativa y cuantitativamente el control de las reacciones, la identificación de las estructuras y la evaluación de la pureza. Para la asignación e interpretación de espectros se utilizó el programa MestreNova.

4.4.3. Caracterización por Espectrometría de Masas

La Espectrometría de Masas es una técnica analítica muy versátil en la actualidad. Sus características destacadas incluyen su capacidad incomparable para identificar una amplia gama de sustancias, desde átomos simples hasta biopolímeros de alta masa molecular. Además, no solo proporciona una identificación inequívoca de las sustancias mediante la determinación de su peso molecular, en donde se ioniza la muestra en iones gaseosos y luego son identificados por sus relaciones masa y carga su espectro característico, sino que también permite cuantificar su concentración. Es capaz de analizar mezclas complejas, distinguir sustancias similares y detectar elementos en concentraciones extraordinariamente bajas, como partes por cuatrillón.⁶⁵

4.4.4. Caracterización por Difracción de Rayos-X de monocristal

La técnica de difracción de rayos X de monocristal es fundamental en la caracterización de materiales moleculares cristalinos debido a su capacidad para revelar la disposición atómica precisa dentro de un cristal. Este método se basa en el principio de que los rayos X, al incidir sobre un cristal, experimentan difracción debido a la disposición regular de los átomos en la red cristalina. La información obtenida permite determinar la estructura tridimensional de los materiales, incluyendo la posición exacta de los átomos y los enlaces químicos.⁶⁶ La caracterización por difracción de rayos X se llevó a cabo en Bruker SMART APEX CCD donde los datos son introducidos por el sistema detector de área que se compone por un refrigerador Oxford Cryosystems 700, un monocromador de grafito y un tubo sellado de enfoque.

4.4.5. Caracterización fotofísica

La espectroscopía UV-Visible mide la absorbancia de una muestra en el rango ultravioleta-visible del espectro electromagnético. Los materiales fotoluminiscentes tienen bandas de absorción UV y visible debido a subniveles de energía vibracional.⁶⁷ La absorbancia depende de la concentración del analito según la ley de Lambert-Beer:

$$A = \epsilon bc$$

donde A es la absorbancia, ϵ es el coeficiente de absortividad molar, b es la longitud del haz luminoso y c es la concentración. La concentración del analito permite calcular el coeficiente de extinción molar y determinar la longitud de onda de absorción máxima para la medición del espectro de fluorescencia.⁶⁸

El espectrofluorímetro mide la emisión de fotones por las moléculas, utilizando dos monocromadores para controlar la excitación y la emisión. Esto permite obtener espectros de emisión y determinar el rendimiento cuántico de una muestra, definido como la proporción de fotones emitidos respecto a los absorbidos, con un valor máximo de 1. En términos matemáticos,⁶⁹ se expresa como:

$$\phi = \frac{\text{Número de fotones absorbidos}}{\text{Número de Fotones emitidos}}$$

Para determinar el rendimiento cuántico de fluorescencia, existen dos métodos principales: el método directo y el método indirecto. El método directo se basa en el uso de una esfera integradora, que es una cavidad esférica recubierta internamente con un material altamente reflectante, capaz de capturar y redistribuir de manera uniforme toda la luz emitida por una muestra y permite una medición precisa de la intensidad de fluorescencia.⁷⁰

Por otro lado, el método indirecto calcula el rendimiento cuántico de fluorescencia mediante la comparación de la muestra con un patrón de referencia conocido. La muestra y el patrón se miden bajo las mismas condiciones, y el rendimiento cuántico de la muestra se determina en relación con el del patrón, considerando las diferencias en la intensidad de emisión y la absorción. Para este proyecto se seleccionó el método indirecto y se utilizó el método de Williams et al., utilizando sulfato de quinina como estándar de referencia, que tiene un rendimiento cuántico conocido de $\phi = 0,54$ a 310 nm en H₂SO₄. La fórmula general para calcular el rendimiento cuántico ajustado es:

$$\phi = \phi_R \left(\frac{A_R \cdot m_X}{A_X \cdot m_R} \right) \left(\frac{\eta_X}{\eta_R} \right)^2$$

Donde:

- ϕ es el rendimiento cuántico.
- ϕ_R es el rendimiento cuántico del estándar de referencia.
- A_R es la absorbancia en la longitud de onda de excitación del estándar.

- m_X es el área bajo el pico de emisión del compuesto en estudio.
- A_X es la absorbancia en la longitud de onda de excitación del compuesto en estudio.
- m_R es el área bajo el pico de emisión del estándar.
- η_X es el índice de refracción del disolvente para el compuesto en estudio.
- η_R es el índice de refracción del disolvente para el estándar de referencia.

Los espectros de absorción UV-Vis de los compuestos de boro se obtuvieron a temperatura ambiente utilizando diclorometano de calidad espectroscópica, empleando un espectrofotómetro PerkinElmer Lambda 365 equipado con lámparas de deuterio y tungsteno. Los barridos se realizaron desde 600 hasta 200 nm. Los espectros de emisión se midieron en solución y a temperatura ambiente, usando un fluorómetro Horiba Scientific Fluorolog-3. La excitación se basó en la longitud de onda máxima determinada en los espectros de absorción y los barridos se llevaron a cabo de 250 a 700 nm. Para cada muestra, se midieron tres soluciones con una absorbancia menor a 0,1 y se promedió el rendimiento cuántico.

4.5. Ensayo de viabilidad celular *in vitro*

En una placa de 96 pocillos, las células endoteliales de la vena umbilical humana (HUVEC, ATCC CRL-1730) se sembraron a razón de 5×10^3 por pocillo e incubaron durante 24 h a 37 °C, 5 % de CO₂, y 50 % de RH en un medio de cultivo DMEM/F12 con 10 % de suero bovino fetal (SFB) y 1% de antibiótico-antimicótico. Después, las células se enjuagaron dos veces con tampón PBS y se les agregaron los compuestos **1** y **2** en diferentes concentraciones (0.1 a 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$) en medio fresco libre de suero, incubándolas nuevamente por 20 minutos a la misma temperatura. Posteriormente, se enjuagaron dos veces con agua desionizada, se les añadieron 50 μL de solución de cristal violeta al 0.5 % y se incubaron 20 minutos a temperatura ambiente. Las células se enjuagaron cuatro veces con agua desionizada y se secaron al aire por 24 h. Finalmente, se añadieron 200 μL de metanol a cada pocillo y se incubaron 20 minutos a temperatura ambiente, determinando la densidad óptica a 570 nm con un VARIOSKAN LUX (Thermo Scientific). Se incluyó un grupo de control usando solo DMSO al 10 %.⁷¹

$$\% \text{ Viabilidad Celular} = \left(\frac{DO_{\text{Muestra}}}{DO_{\text{control negativo}}} \right) \times 100$$

Donde:

- DO es la densidad óptica.

4.6. Desgomado de seda

En una solución acuosa previamente calentada de Na_2CO_3 durante 30 minutos, se añade la seda y se calienta durante 1 hora. Luego, la solución se deja enfriar a temperatura ambiente. Las fibras húmedas de fibroína obtenidas se someten a un baño ultrasónico durante 5 minutos para eliminar cualquier posible contaminación. Finalmente, se secan en un horno a 60°C durante 1 hora.

4.7. Tinción de la fibroína de seda

Se añaden 100 mg de fibroína de seda y 10 mg del compuesto de boro en 10 mL de THF. La mezcla se agita durante 1 hora y luego se deja alcanzar la temperatura ambiente. Finalmente, se deja secar la fibroína a temperatura ambiente. Luego se analizan las fibras teñidas por microscopía de fluorescencia.

4.8. Crecimiento celular

La fibroína de seda teñida se utilizará para analizar y observar si existen cambios positivos o negativos en el crecimiento celular en una celda de células.

5. Discusión de resultados

5.1. Síntesis

La técnica utilizada para la síntesis de los ligantes y de las BOSCHIBAs, como se mencionó anteriormente, fue por ultrasonido y por síntesis en múltiples pasos. Nuestro grupo de investigación se caracteriza por implementar este tipo de técnicas de química sustentable, cumpliendo con varios principios de la química verde. El uso del ultrasonido permite reducir los tiempos de síntesis, además que es un método amigable con el medio ambiente, ya que ahorra energía, es reproducible y escalable a nivel industrial (Principio 6: Eficiencia energética), evita la necesidad de condiciones anhidras (Principio 3: Síntesis menos peligrosa) y aumenta los rendimientos químicos en comparación con las técnicas tradicionales (Principio 2: Economía atómica).⁷² La obtención del ácido difenilborónico sintetizado in situ también se optimizó siguiendo los principios de la química verde. En reportes previos se utilizaba éter dietílico para su extracción, un solvente de mayor toxicidad.⁷³ En este caso, se optó por utilizar un solvente menos tóxico, (Principio 5: Solventes y auxiliares más seguros), contribuyendo así a la reducción de riesgos y al desarrollo de procesos más seguros y sostenibles.⁷⁴

En la Tabla 4 se muestra los parámetros de síntesis para los ligantes y para los compuestos de boro respectivamente. Los puntos de fusión fueron determinados con un equipo de Mel-Temp. Las propiedades físicas se muestran en la Tabla 5.

En el caso del ligante **L3** y el compuesto **3** fueron los que menor rendimiento químico presentaron, esto puede deberse a distintos factores como, por ejemplo, la poca solubilidad, que la reacción requería mayor energía (calentamiento), así como también ocurría la descomposición del complejo ya culminada la reacción.

Tabla 4. Parámetros de síntesis con radiación ultrasónica para los ligantes y BOSCHIBAs, a temperatura ambiente.

Ligante	Tiempo	Rendimiento	BOSCHIBAs	Tiempo	Rendimiento
L1		97 %	1		74 %
L2		93 %	2		85 %
L3	2 horas	75 %	3	4 horas	65 %
L4		91 %	4		89 %

Tabla 5. Propiedades físicas de los ligantes y BOSCHIBAs.

Ligante	Color	P.F	BOSCHIBAs	Color	P.F
L1	amarillo	216°C	1	amarillo	180°C
L2	rojo	211°C	2	rosa	191°C
L3	blanco	151°C	3	amarillo	159°C
L4	amarillo	241°C	4	amarillo	251°C

5.2. Caracterización espectroscópica

5.2.1. Espectroscopía de IR para los ligantes

Los resultados de espectroscopía IR para los ligantes mostraron la banda característica de estiramiento de una base de Schiff alrededor de 1637-1659 cm^{-1} . Así como también las bandas correspondientes al enlace carbonilo C=O, grupo nitro (Ligantes L1 y L2) y C-H aromáticos presentes en la molécula. En la tabla siguiente se muestran estos resultados.

Tabla 6. Datos de infrarrojo en cm^{-1} para los ligantes.

Ligante	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\nu(\text{C}=\text{O})$	$\nu(\text{Es}-\text{NO}_2)$	$\nu(\text{N}-\text{N})$	$\nu(\text{C}-\text{H}_{\text{ar}})$
L1	1659	1598	1249-1510	2938	3010
L2	1637	1601	1514-1594	2964	3081
L3	1646	1539	-	2815	3200
L4	1648	1546	-	2995	3190

5.2.2. Espectroscopía de IR para los compuestos de Boro

El análisis realizado para el espectro infrarrojo en estado sólido demostró para los compuestos del 1-4 la presencia de la banda de vibración correspondiente al enlace imínico entre 1570-1660 cm^{-1} respectivamente, y los otros datos más relevantes correspondientes a los enlaces C-O y a N-N, así como también se presenta la banda de estiramiento simétrico del grupo nitro entre 1343-1510 cm^{-1} , y también la presencia de las bandas de estiramiento y flexión para la unión de C-H, Tabla 7. Como ejemplo, se presenta el espectro de infrarrojo en estado sólido para el compuesto 1 (Figura 8).

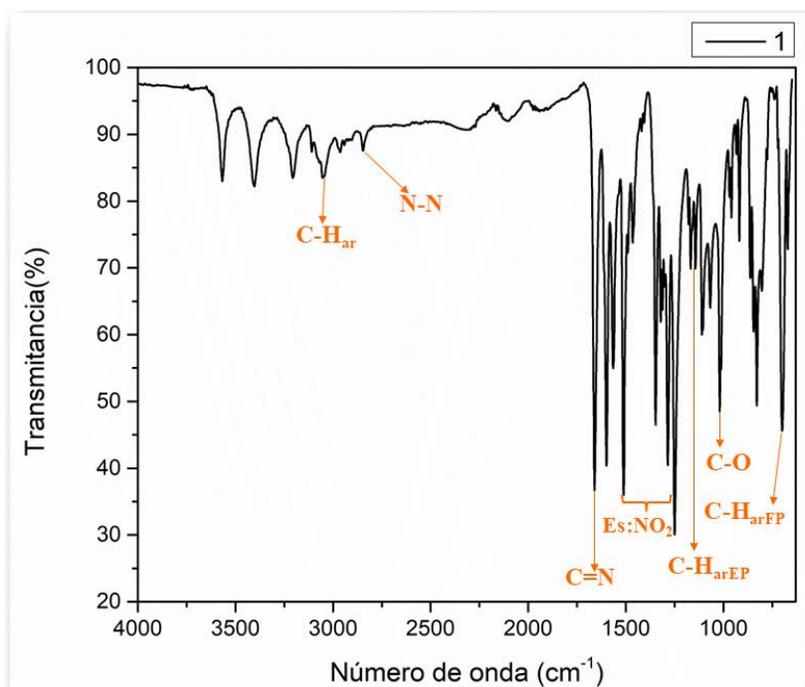


Figura 8. Espectro de IR para el compuesto 1.

Tabla 7. Datos de infrarrojo en cm⁻¹ para los compuestos de boro.

BOSCHIBAs	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\nu(\text{C}-\text{O})$	$\nu(\text{Es}-\text{NO}_2)$	$\nu(\text{N}-\text{N})$	$\nu(\text{C}-\text{H}_{\text{ar}})$	$\nu(\text{C}-\text{H}_{\text{arEP}})$	$\nu(\text{C}-\text{H}_{\text{arFP}})$
1	1660	1020	1343-1510	2846	3050	1170	703
2	1574	1077	1337-1518	2910	3012	1187	708
3	1641	1022	-	2853	3054	1257	696
4	1644	1077	-	2850	3048	1145	730

5.2.3. Caracterización de los ligantes por Resonancia Magnética Nuclear

El análisis de RMN de ^1H del ligante **L2**, Figura 9 mostró 7 señales características de una base de Schiff. Primeramente, se observaron las señales de la zona alifática del grupo dietilamino y posteriormente las 4 señales de la zona aromática, a 8,36 se observó el protón imínico y a frecuencias más altas el protón del NH en 11,02 ppm.⁷⁵

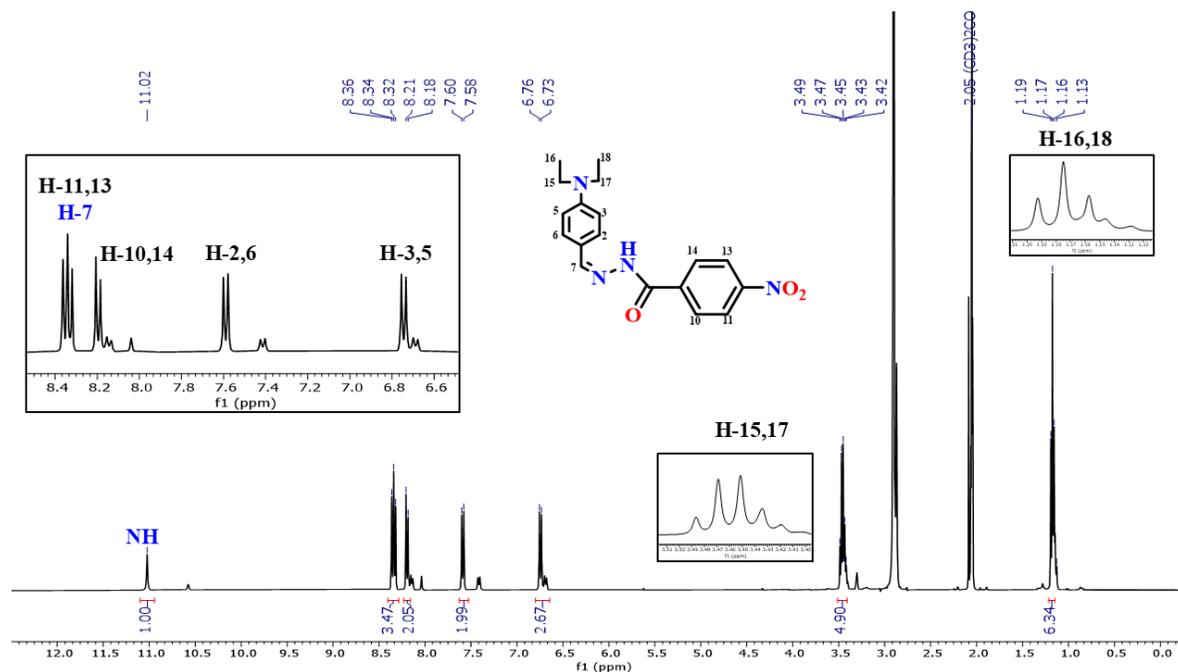


Figura 9. Espectro de RMN de ^1H en $\text{Acetona-}d_6$ para el Ligante **L2**.

En el espectro de RMN de ^{13}C para el ligante **L2** mostró 12 señales, en donde a 140,95 ppm se observó el desplazamiento del carbono imino, Figura 10.

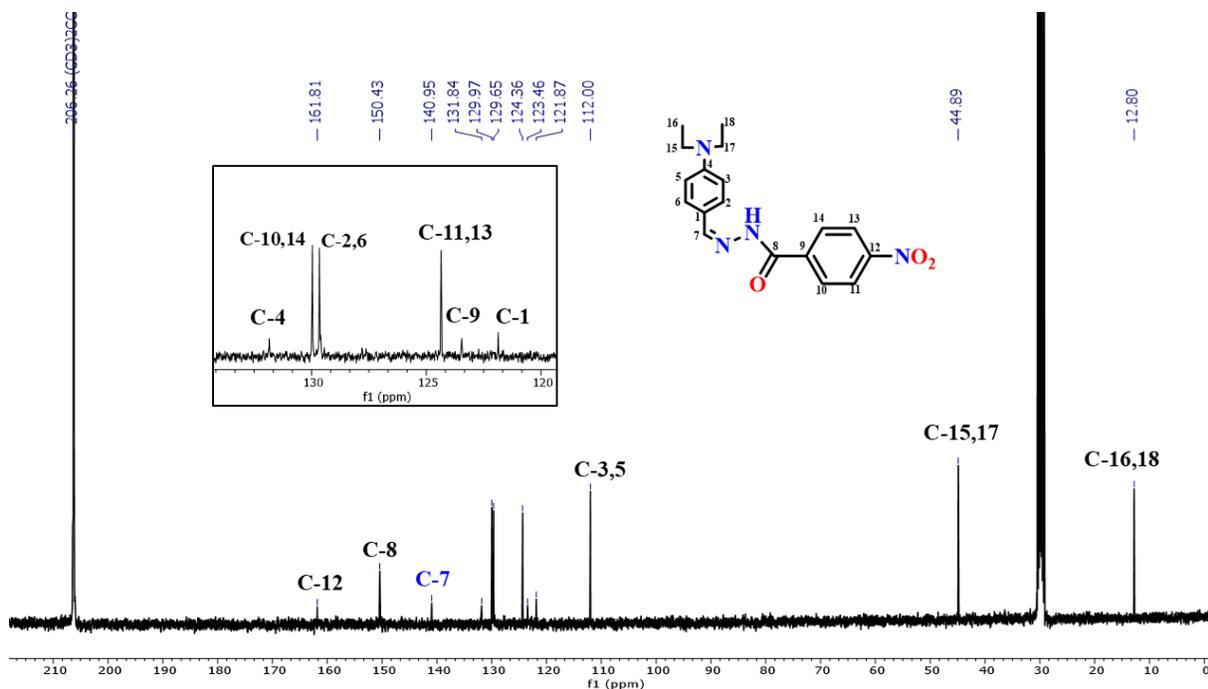


Figura 10. Espectro de RMN de ^{13}C en Acetona- d_6 para el Ligante **L2**.

En la Tabla 8 se muestra los principales desplazamientos correspondientes al enlace imínico para los ligantes **L1-L4**.

Tabla 8 Desplazamientos químicos en RMN de ^1H y ^{13}C para los ligantes **L1-L4**.

Ligante	H imínico (ppm)	C imínico (ppm)
L1	8,41	149,21
L2	8,36	140,95
L3	9,12	147,71
L4	9,69	147,05

5.2.4. Caracterización de los compuestos de boro por Resonancia Magnética Nuclear

El análisis de RMN de ^1H muestra en la Figura 11 una señal a 8,72 ppm, correspondiente al protón imínico, característico de la base de Schiff. Además, el desplazamiento de esta señal es consistente con el de protones en otros BOSCHIBAs.^{8, 44, 76} En el espectro de protón para el compuesto **2** se observan diversas señales a diferentes desplazamientos químicos (Figura 11) por ejemplo, a frecuencias bajas se encuentran los protones correspondientes a los grupos metilos, representado por un triplete (1,10 ppm) y los grupos metilenos, representado por un cuarteto (3,30 ppm) siendo estos últimos los que tienen mayor desplazamiento químico debido a que están más desprotegidos por el enlace al nitrógeno que es un átomo más electronegativo.

A desplazamientos alrededor de 6,5-8,5 ppm se observa la zona aromática en donde se encuentran también los protones que representan las posiciones orto meta y para de los fenilos representativos del compuesto de boro.

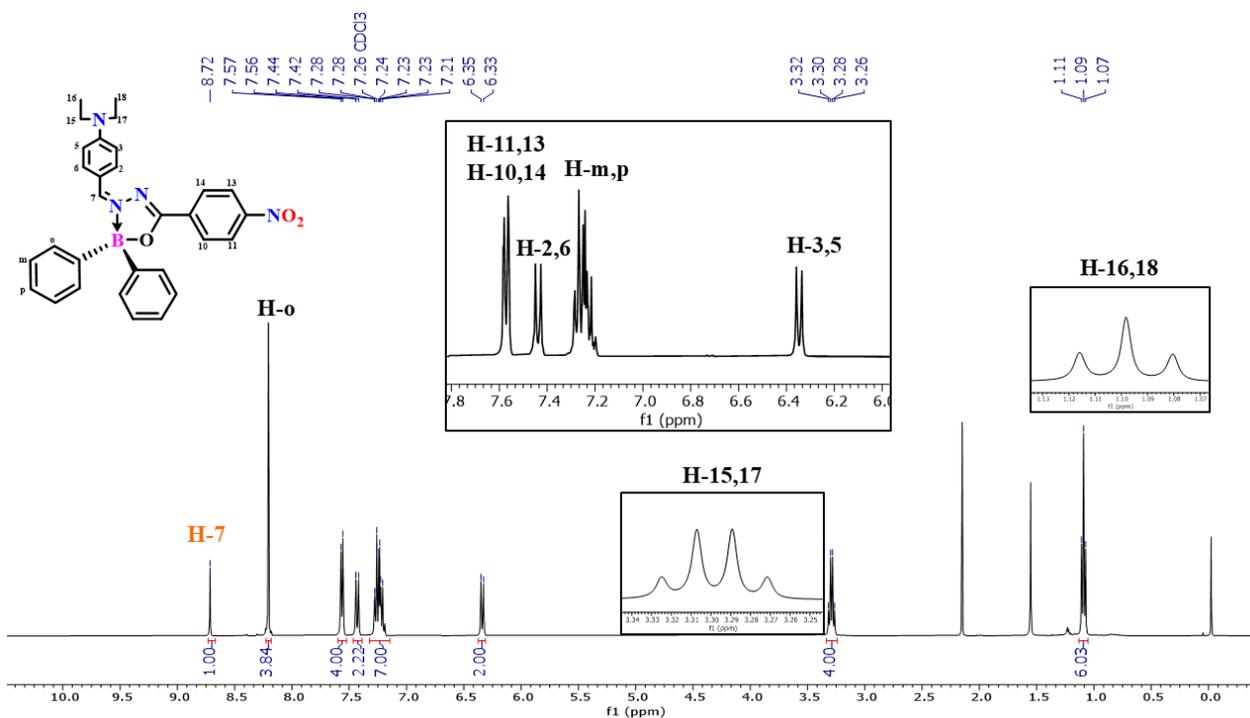


Figura 11. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 para el compuesto **2**.

En el espectro de ^{13}C del mismo compuesto, se observaron una serie de señales correspondientes al compuesto, Figura 12. A frecuencias bajas cerca de 10-50 ppm se encuentran los carbonos de los grupos metilos y metilenos. En el rango de 111-140 ppm se muestran las señales correspondientes a los carbonos que pertenecen a los anillos aromáticos presentes en la estructura, incluyendo a los de las posiciones orto, meta y para. El carbono enlazado al nitrógeno y al oxígeno representado por el número 8 se observa en la señal por sobre los 156 ppm y el carbono ipso a 150 ppm. El carbono ipso tiende a ser una señal pequeña y ancha debido al momento cuadrupolar del boro.⁷⁷ Por último a 151,59 ppm se muestra la señal del carbono correspondiente al enlace imínico.

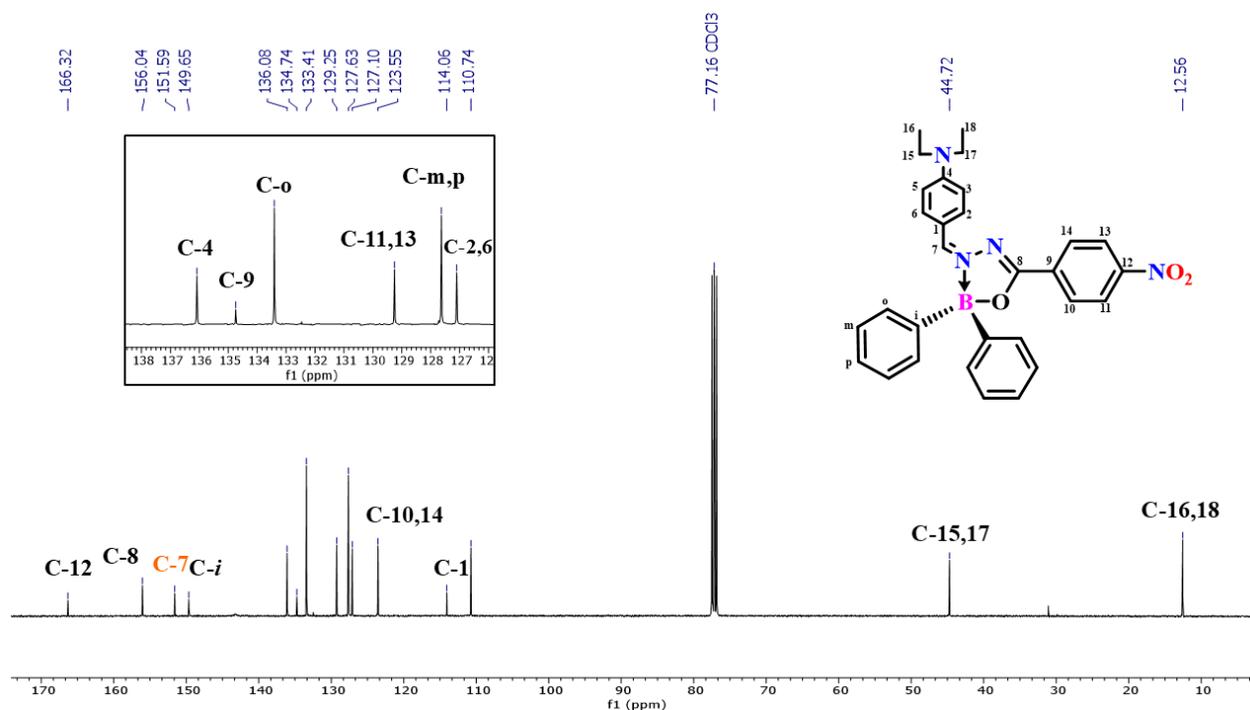


Figura 12. Espectro de RMN de ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto 2.

Los espectros de ^{11}B muestran un singlete de banda ancha, como se muestra en la Figura 13. Esto se debe a que el boro, con un espín de $3/2$, tiene un momento cuadrupolar, el cual incrementa el tiempo de relajación, y por lo tanto se ensancha la señal obtenida. Los desplazamientos químicos obtenidos están en el rango de 8,91 a 9,42 ppm. En estudios previos, los valores de desplazamiento químico para el boro tetracoordinado se han reportado en el rango de δ 8,87 a 9,67 ppm.⁷⁶

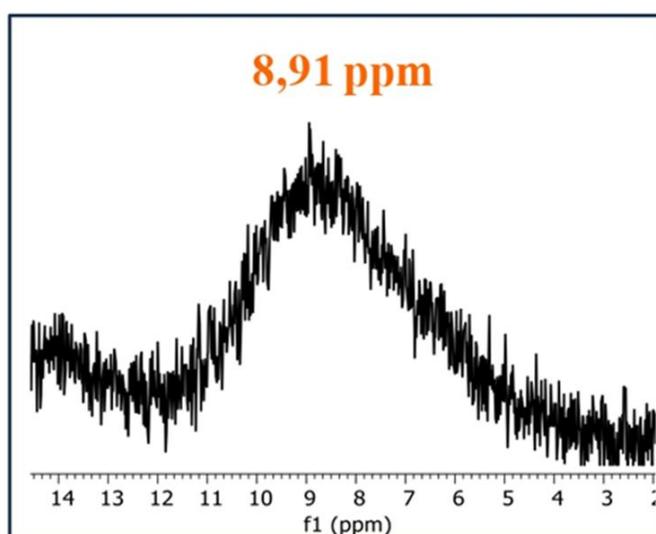


Figura 13. Espectro de RMN de ^{11}B en CDCl_3 para el compuesto 2.

En la Tabla 9 se muestra los desplazamientos químicos correspondiente al enlace imínico en RMN de ^1H , ^{13}C y ^{11}B para los compuestos **1-4**.

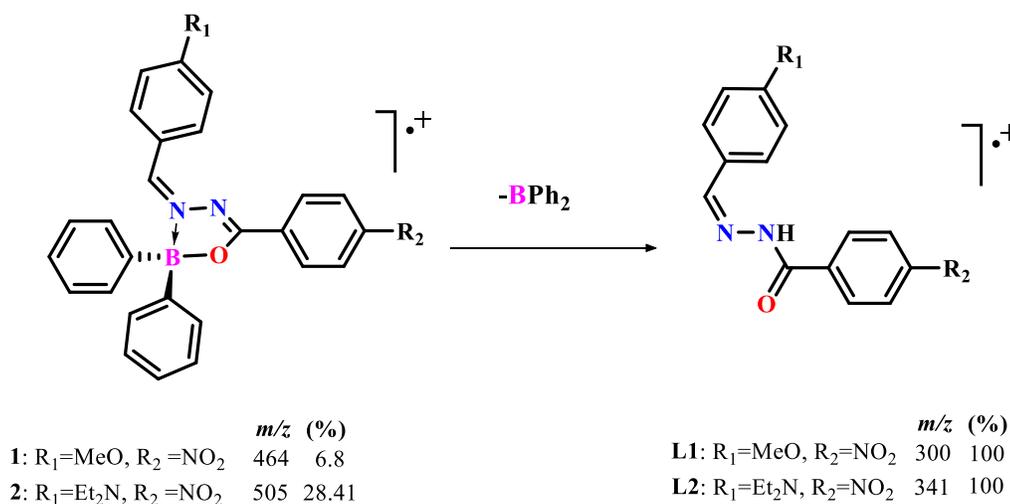
Tabla 9 Desplazamientos químicos en RMN de ^1H , ^{13}C y ^{11}B para los compuestos **1-4**.

BOSCHIBAs	H imínico (ppm)	C imínico (ppm)	^{11}B (ppm)
1	8,44	158,63	-
2	8,72	151,59	8,91
3	9,71	153,57	8,94
4	9,77	155,91	9,42

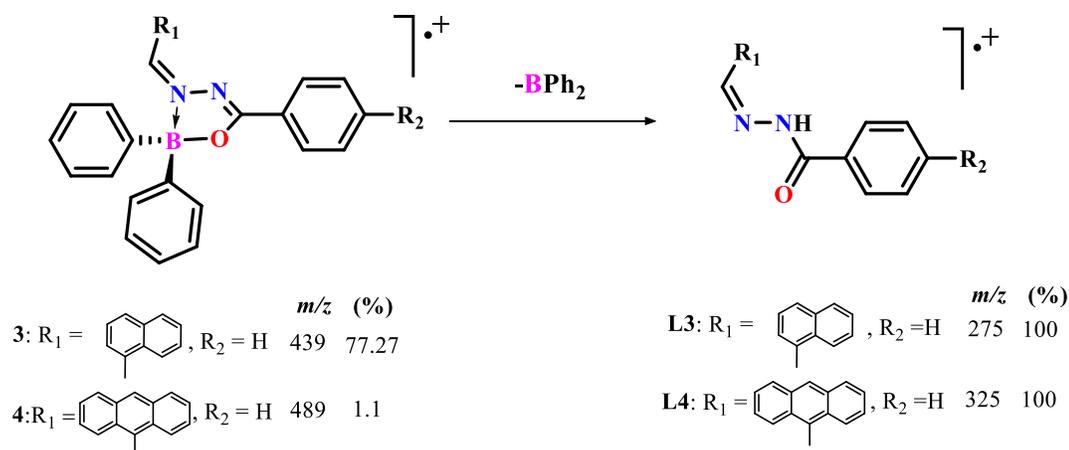
5.3. Caracterización de espectrometría

5.3.1. Espectrometría de masas

En el análisis de los compuestos de boro mediante espectrometría de masas, se observaron los espectros obtenidos utilizando el método de ionización denominado Análisis directo en tiempo real o por sus siglas en inglés **DART**, revelando la presencia de los iones moleculares. Estos compuestos inicialmente mostraron una pérdida de masa correspondiente a los grupos fenilos y el átomo de boro, quedando únicamente la estructura de los ligantes de cada molécula, la fragmentación para cada uno de los compuestos de boro se muestra en los Esquemas 7 y 8. Los iones moleculares observados en los compuestos de boro concuerdan con la masa molecular teórica. A modo de ejemplo, se muestra el espectro de masas del compuesto **4** (Figura 14).⁷⁶



Esquema 7. Fragmentación para los compuestos **1** y **2**.



Esquema 8. Fragmentación para los compuestos **3** y **4**.

Para el compuesto **4** hay una particularidad que, si se muestra el pico base en 325, pero el ion molecular se observa a muy baja intensidad. Se observa, además, un valor de relación masa carga de 649 y 650 que no corresponde al ion molecular. Esto es debido a que en los sistemas aromáticos la distribución de electrones se distorsiona con gran facilidad y lo que ocurre es un apilamiento π - π debido a que estas interacciones ocurren cuando los planos de los anillos aromáticos se apilan paralelamente entre sí, ya sea en modo de sándwich o apilamiento desplazado²⁴, esto sugiere que ocurre la formación de un dímero, pero en este caso del ligante.

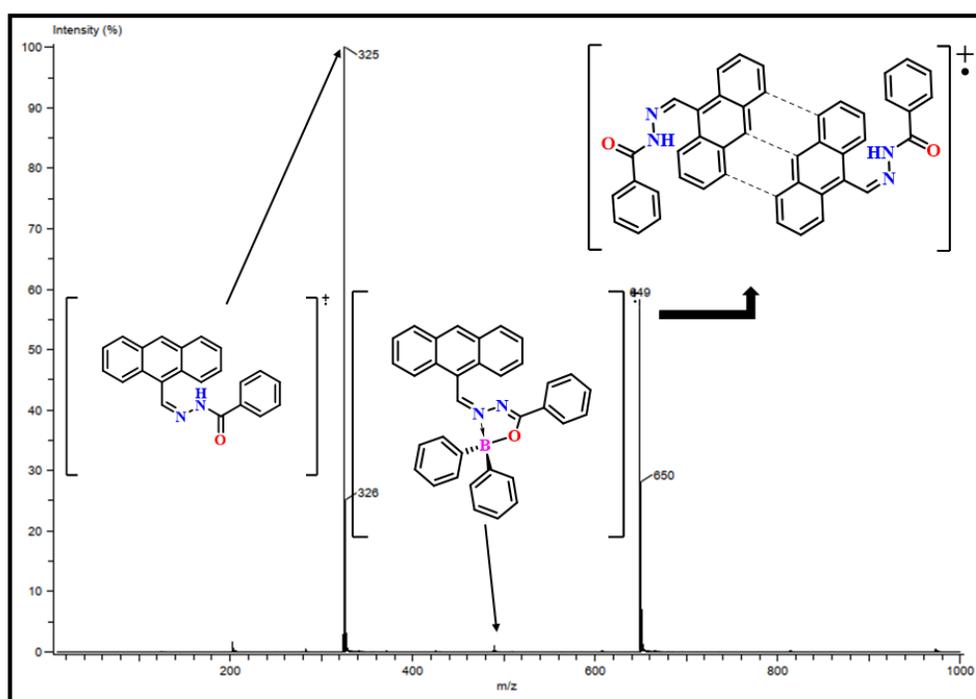


Figura 14. Espectro de masas para el compuesto **4**.

5.4. Análisis de datos de difracción de Rayos-X de monocristal

Los resultados de difracción de rayos X de monocristal fueron obtenidos para los compuestos **2** y **3** los cuales están representados en las Figuras 15 y 16. El compuesto **2** cristalizó en un sistema triclinico con grupo espacial P-1 mientras que el compuesto **3** mostró un sistema ortorrómbico con un grupo espacial Pbca. Los parámetros cristalográficos relevantes se presentan en la Tabla 11.

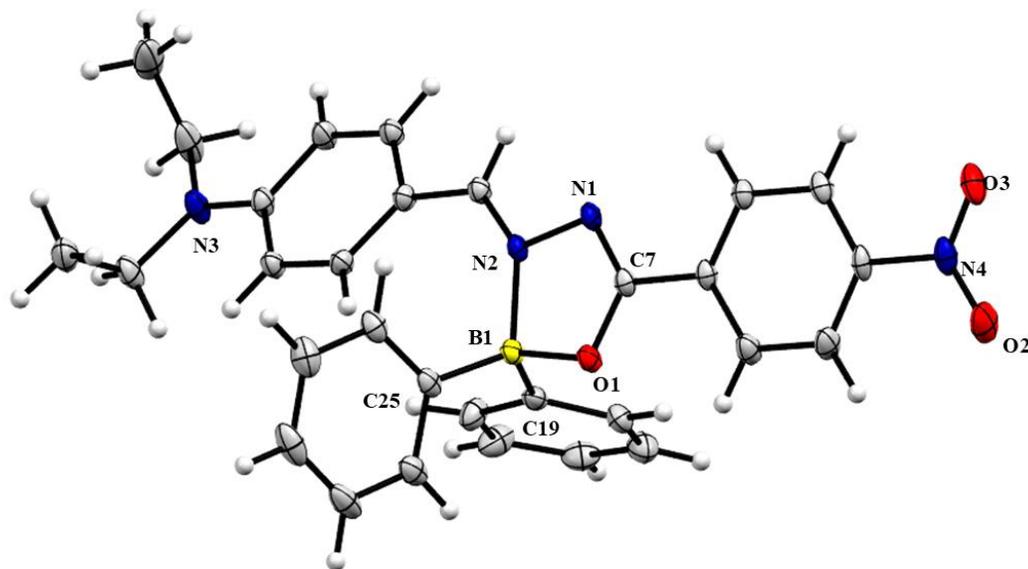


Figura 15. Estructura de rayos X de compuesto **2**.

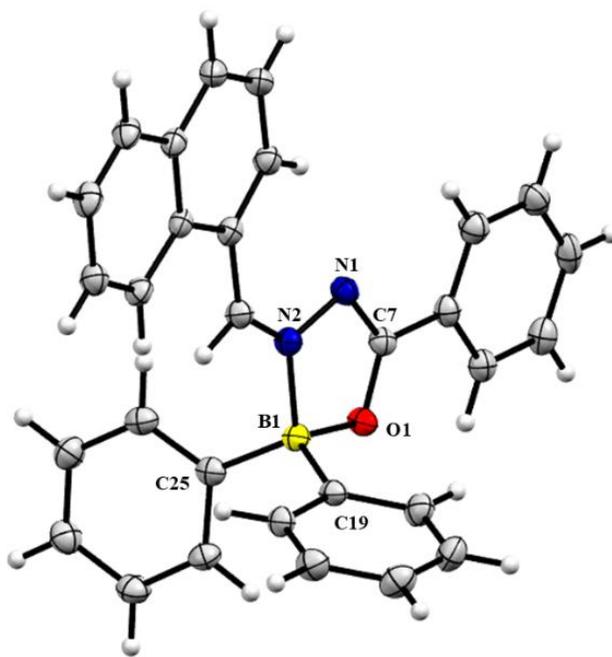


Figura 16. Estructura de rayos X de compuesto **3**.

Tabla 10. Datos cristalográficos de los compuestos **2** y **3**.

	2	3
Fórmula empírica	C ₃₀ H ₂₉ BN ₄ O ₃	C ₃₀ H ₂₃ BN ₂ O
Peso molecular (g/mol)	543,43	438,31
Sistema cristalino	triclínico	ortorrómbico
Grupo espacial	P -1	P bca
Temperatura (K)	100(2)	100(2)
a, (Å)	8,5359(6)	20,1672(10)
b, (Å)	14,7590(10)	10,5185(5)
c, (Å)	24,0249(16)	21,1924(10)
α	72,8430(10)	90
β	86,8750(10)	90
γ	80,0820(10)	90
Volumen, (Å³)	2848,8(3)	4495,5(4)
Z	4	8
ρ, g·cm⁻³	1,267	1,295
μ, mm⁻¹	0,082	0,078
F(000)	1148	1840
Tamaño de cristal, mm³	0,328 x 0,327 x 0,142	0,278 x 0,258 x 0,223
GoF on F2	1,02	1,022
R₁,a wR₂b (I > 2σ(I))	0.0463, 0.1143	0.0371, 0.0894
R₁,a wR₂b (all data)	0.0667, 0.1266	0.0486, 0.0978

Ambas estructuras muestran un átomo de boro tetracoordinado debido al enlace de coordinación N → B con una longitud de 1,640 Å y 1,608 Å, mientras que la longitud del enlace B-O es 1,523 Å y 1,520 Å respectivamente. Debido al enlace dativo que se da entre el átomo de nitrógeno que tiene un par de electrones libres y el orbital p vacío que presenta el boro, este último adopta una geometría tetraédrica, lo cual se confirma calculando el carácter tetraédrico de los compuestos **2** y **3**. Utilizando la ecuación propuesta por Höpf.⁷⁸ Este carácter tetraédrico está relacionado con la fuerza de interacción que existe entre el enlace de coordinación de ahí que se incluyen los valores de los ángulos formados por el boro y sus cuatro enlaces. La fórmula es la siguiente:

$$\text{THC}_{\text{DA}}[\%] = \left[1 - \frac{\sum_{n=1-6} |109.5 - \theta_n|^\circ}{90^\circ} \right] \times 100$$

En la siguiente tabla se muestran las mediciones de los ángulos necesarios para el cálculo del carácter tetraédrico para ambos compuestos, los resultados fueron de 67,32 y 71,18 % respectivamente:

Tabla 11. Ángulos de enlace de los compuestos **2** y **3**.

Compuestos	2	3
O(1)-B(1)-C(19)	109,22(9)	111,03(14)
O(1)-B(1)-C(25)	107,93(9)	110,74(19)
C(25)-B(1)-C(19)	118,90(9)	116,11(16)
O(1)-B(1)-N(2)	96,15(7)	96,12(11)
C(19)-B(1)-N(2)	108,68(9)	108,95(15)
C(25)-B(1)-N(2)	113,49(9)	112,12(15)

Ambos compuestos también presentaron interacciones intermoleculares en su fase cristalina, el compuesto **2** presentó interacciones protón-nube π con una distancia de 2,748 Å, interacciones entre el grupo nitro y la nube del anillo aromático con distancia de 3,170 Å y 3,033 Å respectivamente, y por último interacciones tipo puente de hidrógeno ($\text{H}_{29}\text{-O}_2=2,664$ Å) y ($\text{H}_{27}\text{-N}_3 = 2,748$ Å), Figuras 17 a 19.

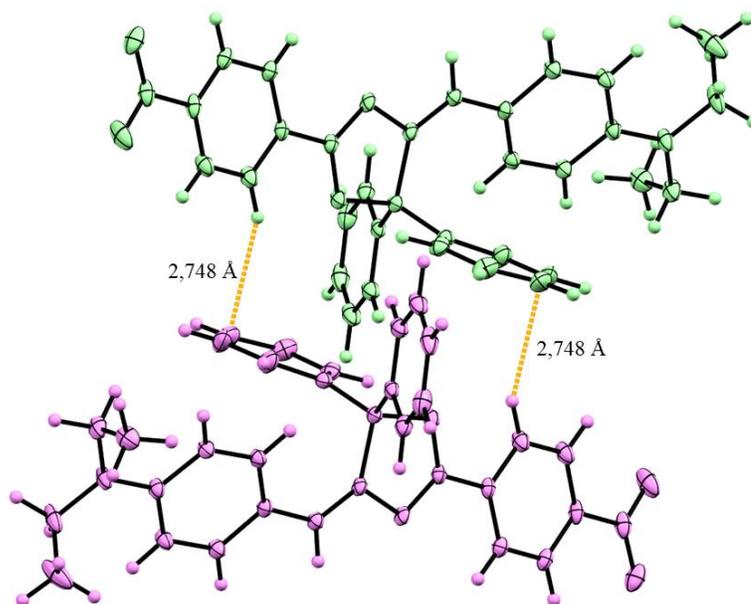


Figura 17. Interacciones intermoleculares protón-nube π para el compuesto **2**.

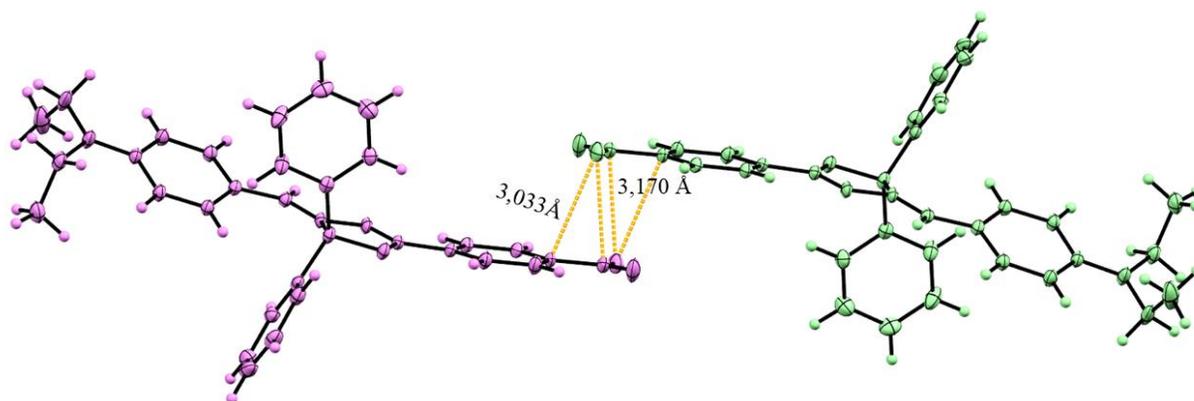


Figura 18. Interacciones moleculares grupo nitro y nube π para el compuesto **2**.

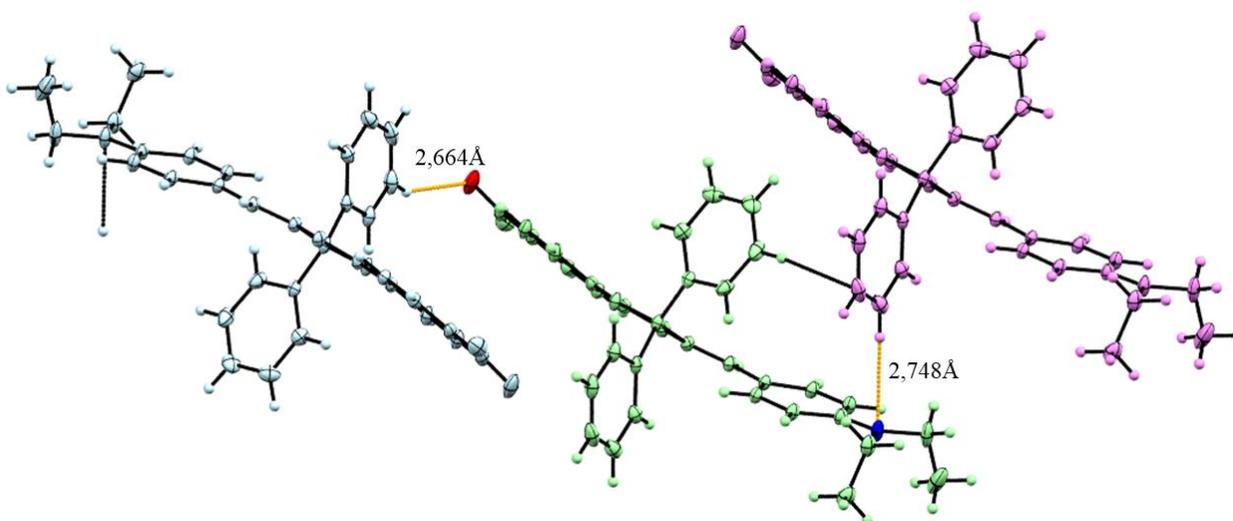


Figura 19. Interacciones moleculares de puente de hidrógeno para el compuesto **2**.

Por otro lado, el compuesto **3** presentó dos tipos de interacciones: las de apilamiento paralelo desplazado entre los enlaces π de los anillos aromáticos (3,328 Å) Figura 20, y las de protón-benceno (2,838 Å), Figura 21.

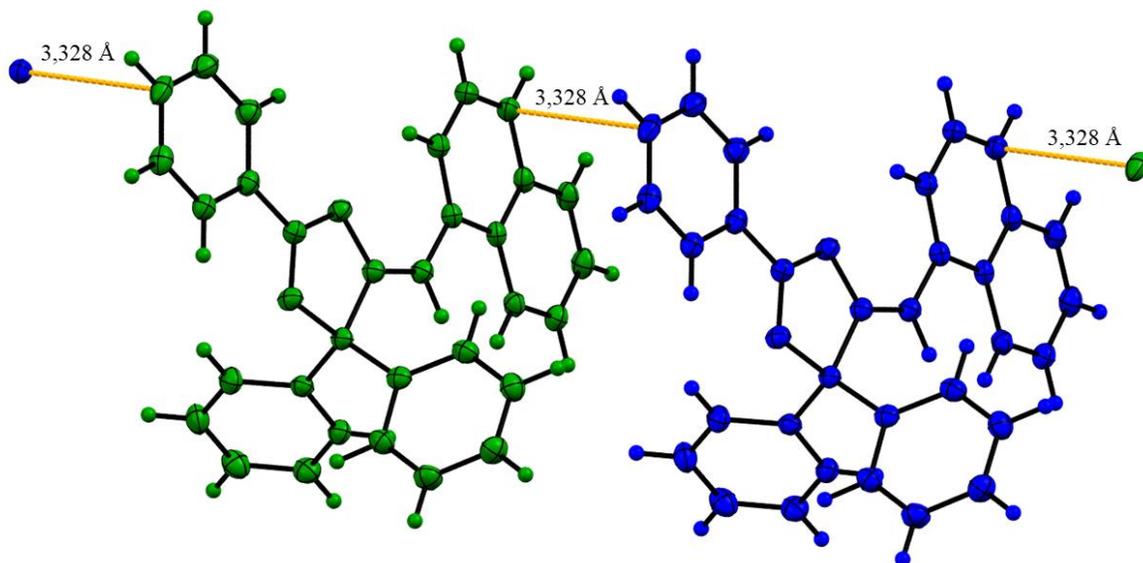


Figura 20. Interacciones moleculares apilamiento paralelo desplazado para el compuesto **3**.

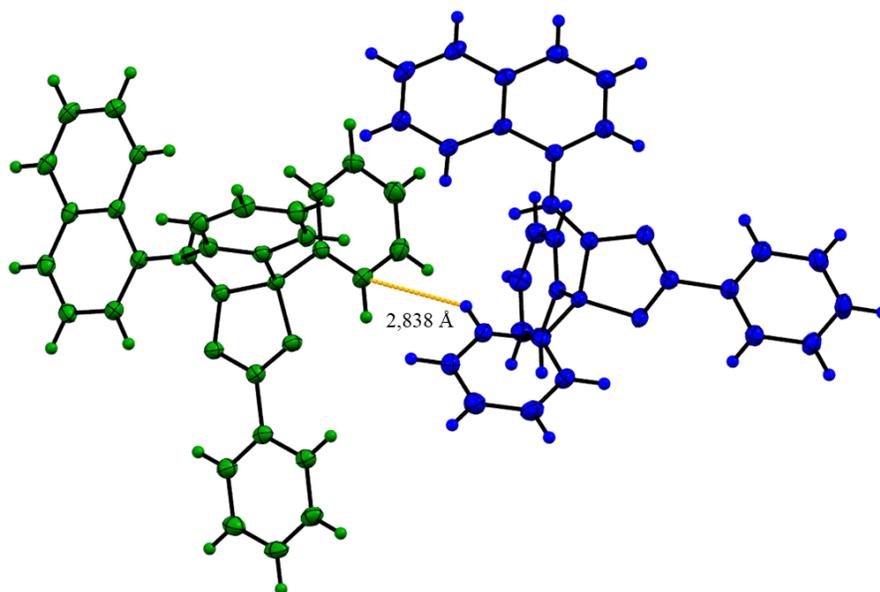


Figura 21. Interacciones moleculares protón-nube π en el compuesto **3**.

5.5. Caracterización Fotofísica de los compuestos de boro

La caracterización fotofísica de las cuatro BOSCHIBAs fueron determinadas en solución en este proyecto. En la Figura 22 se muestran las bandas de absorción asociadas a transiciones electrónicas tipo $\pi \rightarrow \pi^*$. Los máximos de absorción para los compuestos **1** y **2** cambian de 283 - 447 nm, debido al efecto push-pull presente en las moléculas, en donde el grupo nitro actúa como aceptor de electrones y los sustituyentes (metoxi y dietilamino) en los fenilos como donadores de electrones. Por lo tanto, el compuesto **2** mostró un efecto donador mayor en comparación con el compuesto **1**, debido a una diferencia de longitud de onda de 164 nm entre ellos; un comportamiento similar ya se había observado anteriormente en otros compuestos de boro.⁷⁹ Para los compuestos **3** y **4** los máximos de absorción fueron de 381 y 369 nm respectivamente, esto se corresponde con el cambio de conjugación de naftilo a antraceniilo.⁷⁶

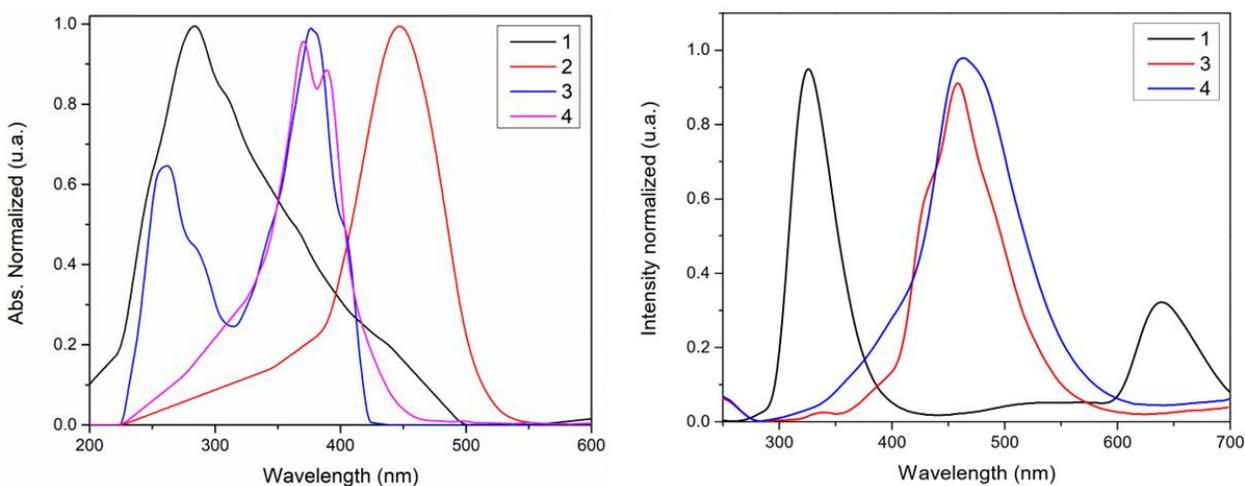


Figura 22. Espectro de absorción de compuestos **1-4** (izquierda) y Espectro de emisión compuestos **1-4** (derecha).

Para la determinación de los espectros de emisión y rendimiento cuántico, la muestra se excitó a ± 10 nm de la longitud de onda de máxima absorbancia. Como se observa en la Figura 22 derecha, solo se observa la emisión para los compuestos **1**, **3** y **4** ya que la emisión del compuesto **2** quedó fuera de los límites de detección del equipo. Para el caso del compuesto **1** fue el de mayor emisión con respecto a los compuestos **3** y **4**, siendo el de mayor rendimiento cuántico con un valor de 14,52 %. Los máximos de emisión varían aproximadamente entre 325 y 463 nm respectivamente, Anteriormente se observó un comportamiento similar para otros BOSCHIBAs.⁷⁶



Figura 23. Fluorescencia de compuestos en solución 1-4 expuestos a radiación UV.

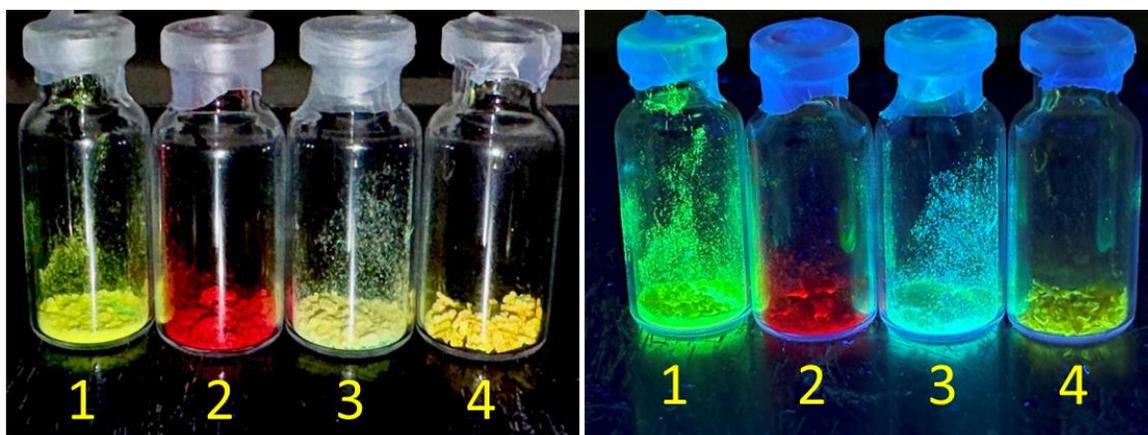


Figura 24. Imágenes de compuestos en polvo 1-4, en luz visible (izquierda) y luz UV (derecha).

Tabla 12. Propiedades fotofísicas de los compuestos 1-4 en CH_2Cl_2 .

BOSCHIBAs	λ_{abs} Máx(nm)	ϵ ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)	λ_{emi} Máx(nm)	Desplazamiento de Stokes (nm)	ϕ (%)
1	283	25495	325	42	14,52
2	447	72144	-	-	-
3	381	211827	458	77	3,43
4	369	5188	463	94	2,95

5.6. Citotoxicidad de los compuestos de boro

Las BOSCHIBAs sintetizadas se sometieron a un ensayo de citotoxicidad utilizando células HUVEC (células endoteliales de vena umbilical humana), que son células sanas. Las células HUVEC se expusieron a los compuestos de boro en un rango de concentraciones entre 0.1 y 5 $\mu\text{g/mL}$. Un compuesto se considera citotóxico cuando la viabilidad celular es menor al 70 % y no citotóxico cuando es mayor al 70 %. Los resultados mostraron que en el caso del compuesto **1**, la viabilidad se mantuvo por encima del 70 % hasta la concentración de 5 $\mu\text{g/mL}$, en donde comenzó a disminuir (Figura 24). Aunque los datos obtenidos para el compuesto **2** mostraron resultados no favorables en su comportamiento citotóxico debido que los valores varían entre 49 y 61 %. En contraste, los compuestos **3** y **4** mostraron una viabilidad máxima en todo el rango de concentraciones evaluadas, destacándose por su no toxicidad incluso a las concentraciones más altas, lo que sugiere un comportamiento aún más favorable en comparación con los otros compuestos. Estos resultados son consistentes con BOSCHIBAs previamente reportadas por el grupo de investigación, que también muestran baja citotoxicidad.⁷⁶

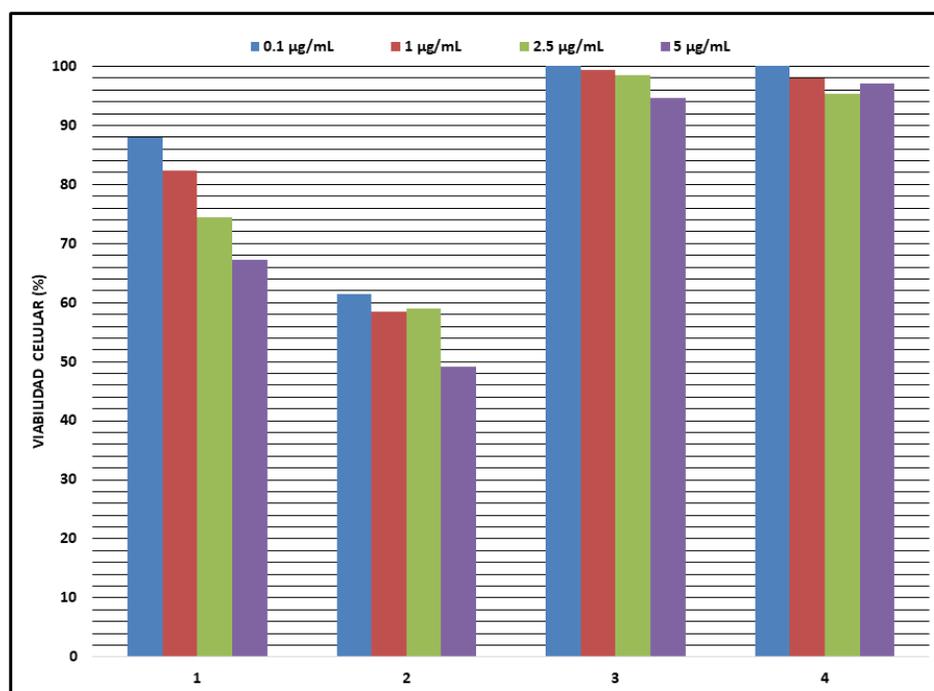


Figura 25. Viabilidad celular de los compuestos 1-4 en la línea celular HUVEC.

5.7. Fibroína de seda teñida por microscopia confocal

En las figuras se muestran las imágenes obtenidas por microscopia confocal de la tinción de la fibroína de seda con los compuestos de boro. Estas muestras exhiben luminiscencia cuando se irradian con luz UV y muestran una tinción fuerte y uniforme en las fibras del compuesto **1**, **3** y **4**. En el caso del compuesto **2** no se observó un patrón de tinción en el rango de luz ultravioleta.

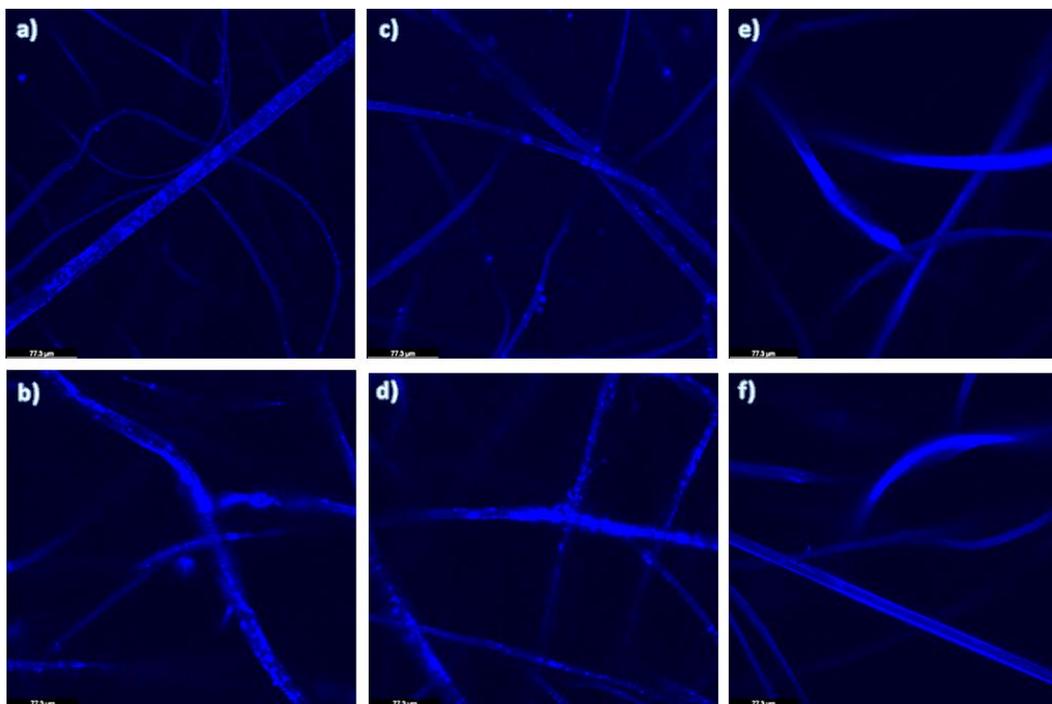


Figura 26. Tinción de fibroína de seda con los compuestos de boro. a) y b) compuesto **1**; c) y d) compuesto **3**; e) y f) compuesto **4**.

6. Conclusiones

En este proyecto se logró la síntesis, caracterización, análisis fotofísico, pruebas de citotoxicidad y la obtención de imágenes por microscopia confocal a partir de la tinción de la fibroína de seda con los BOSCHIBAs propuestas. La síntesis mediante la técnica de ultrasonido mostró una reducción significativa en los tiempos de síntesis para este tipo de compuestos, además de ser un método reproducible y escalable a nivel industrial. La caracterización química de las BOSCHIBAs fue exitosa y se verificó que se obtuvieron las estructuras deseadas utilizando diversas técnicas de análisis. Se logró determinar la estructura de rayos X de los compuestos **2** y **3**, demostrándose así la formación de un heterociclo de boro tetracoordinado y la presencia del enlace imínico. El estudio de sus propiedades fotofísicas evidenció la capacidad de estos materiales para ser fluorescentes, mostrando rendimientos cuánticos que coinciden con los de otras BOSCHIBAs sintetizadas por el grupo de investigación. Las pruebas de citotoxicidad confirmaron que las BOSCHIBAs, (a excepción del compuesto **2**) no representan un riesgo para las células sanas. Las fibras de fibroína de seda teñidas mostraron un patrón de tinción considerable, lo que sugiere su posible aplicación en el crecimiento celular.

7. Referencias

1. B. Valeur, *Molecular Fluorescence Principles and Applications*. **2001**.
2. A. Badía Carrillo. LUMINISCENCIA: APLICACIONES ANALÍTICAS. **2021**, 40.
3. R. R. Da Silva, B. C. Agustini, A. L. L. Da Silva, H. R. Frigeri. Luminol in the Forensic Science. *J. Biotechnol. Biodivers.* **2012**, 3, 172-177.
4. Q. Ma, Y. Cao, X. Ge, Z. Zhang, S. Gao, J. Song. X-Ray Excited Luminescence Materials for Cancer Diagnosis and Theranostics. *Laser & Photonics Reviews.* **2024**, 2300565.
5. E. Zhang, Y. Huang, S. Wang. Self-Luminescent Photodynamic Therapy and Pathogen Detection for Infectious Diseases. *Drug Delivery Transl Res.* **2021**, 11, 1451-1455.
6. X.-P. He, X.-L. Hu, T. D. James, J. Yoon, H. Tian. Multiplexed Photoluminescent Sensors: Towards Improved Disease Diagnostics. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, 46, 6687-6696.
7. C. Ronda. Challenges in Application of Luminescent Materials, a Tutorial Overview. *Prog. Electromagn. Res.* **2014**, 147.
8. M. Ibarra-Rodríguez, B. M. Muñoz-Flores, A. Gómez-Treviño, R. Chan-Navarro, J. C. Berrones-Reyes, A. Chávez-Reyes, H. V. R. Dias, M. Sánchez Vázquez, V. M. Jiménez-Pérez. Organoboron Schiff Bases as Cell-Staining Fluorescent Probes: Synthesis, Chemio-photophysical Characterization, DFT, and X-ray Structures. *Appl. Organomet. Chem.* **2019**, 33, e4718.
9. M. Chelu, A. M. Musuc. Advanced Biomedical Applications of Multifunctional Natural and Synthetic Biomaterials. *Processes.* **2023**, 11.
10. L. Ghasemi-Mobarakeh, D. Kolahreez, S. Ramakrishna, D. Williams. Key Terminology in Biomaterials and Biocompatibility. *Curr. Opin. Biomed. Eng.* **2019**, 10, 45-50.
11. E. Fakhri, H. Eslami, P. Maroufi, F. Pakdel, S. Taghizadeh, K. Ganbarov, M. Yousefi, A. Tanomand, B. Yousefi, S. Mahmoudi, H. S. Kafil. Chitosan Biomaterials Application in Dentistry. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, 162, 956-974.
12. M. Prakasam, J. Locs, K. Salma-Ancane, D. Loca, A. Largeteau, L. Berzina-Cimdina. Biodegradable Materials and Metallic Implants—A Review. *JFB.* **2017**, 8, 44.
13. Z. U. Arif, M. Y. Khalid, R. Noroozi, M. Hossain, H. H. Shi, A. Tariq, S.

- Ramakrishna, R. Umer. Additive Manufacturing of Sustainable Biomaterials for Biomedical Applications. *Asian J. Pharm. Sci.* **2023**, 18, 100812.
14. X. Ding, X. Wei, Y. Huang, C. Guan, T. Zou, S. Wang, H. Liu, Y. Fan. Delivery of Demineralized Bone Matrix Powder Using a Salt-Leached Silk Fibroin Carrier for Bone Regeneration. *J. Mater. Chem. B.* **2015**, 3, 3177-3188.
15. S. Tandon, B. Kandasubramanian, S. M. Ibrahim. Silk-Based Composite Scaffolds for Tissue Engineering Applications. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2020**, 59, 17593-17611.
16. A. M. Shabbirahmed, R. Sekar, L. A. Gomez, M. R. Sekhar, S. P. Hiruthyaswamy, N. Basavegowda, P. Somu. Recent Developments of Silk-Based Scaffolds for Tissue Engineering and Regenerative Medicine Applications: A Special Focus on the Advancement of 3D Printing. *Biomimetics.* **2023**, 8, 16.
17. S. Zha, Y. K. S. Utomo, L. Yang, G. Liang, W. Liu. Mechanic-Driven Biodegradable Polyglycolic Acid/Silk Fibroin Nanofibrous Scaffolds Containing Deferoxamine Accelerate Diabetic Wound Healing. *Pharmaceutics.* **2022**, 14, 601.
18. N. Lin, Z. Meng, G. W. Toh, Y. Zhen, Y. Diao, H. Xu, X. Y. Liu. Engineering of Fluorescent Emission of Silk Fibroin Composite Materials by Material Assembly. *Small.* **2015**, 11, 1205-1214.
19. O. J. Lee, M. T. Sultan, H. Hong, Y. J. Lee, J. S. Lee, H. Lee, S. H. Kim, C. H. Park. Recent Advances in Fluorescent Silk Fibroin. *Front. Mater.* **2020**, 7, 50.
20. F. Hu, N. Lin, X. Y. Liu. Interplay between Light and Functionalized Silk Fibroin and Applications. *iScience.* **2020**, 23, 101035.
21. L. Xu, X. Liang, S. Zhong, Z. Li, Y. Gao, X. Cui. Natural Silk Fibroin Based on Aggregation-Induced Emission with a Clustering-Triggered Mechanism and Its Multiple Applications. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2021**, 9, 12043-12048.
22. Z. Li, Y. Jiang, G. Cao, J. Li, R. Xue, C. Gong. Construction of Transgenic Silkworm Spinning Antibacterial Silk with Fluorescence. *Mol. Biol. Rep.* **2015**, 42, 19-25.
23. D. W. Kim, O. J. Lee, S.-W. Kim, C. S. Ki, J. R. Chao, H. Yoo, S.-I. Yoon, J. E. Lee, Y. R. Park, H. Kweon, K. G. Lee, D. L. Kaplan, C. H. Park. Novel Fabrication of Fluorescent Silk Utilized in Biotechnological and Medical Applications. *Biomaterials.* **2015**, 70, 48-56.
24. N. C. Tansil, L. D. Koh, M. Y. Han. Functional Silk: Colored and Luminescent.

Adv. Mater. **2012**, 24, 1388-1397.

25. T. Daimon, C. Hirayama, M. Kanai, Y. Ruike, Y. Meng, E. Kosegawa, M. Nakamura, G. Tsujimoto, S. Katsuma, T. Shimada. The Silkworm Green b Locus Encodes a Quercetin 5-O-Glucosyltransferase That Produces Green Cocoons with UV-shielding Properties. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2010**, 107, 11471-11476.

26. C. Liu, H. Bai, B. He, X. He, J. Zhang, C. Chen, Y. Qiu, R. Hu, F. Zhao, Y. Zhang, W. He, J. H. C. Chau, S. Chen, J. W. Y. Lam, B. Z. Tang. Functionalization of Silk by AlEgens through Facile Bioconjugation: Full-Color Fluorescence and Long-Term Bioimaging. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, 60, 12424-12430.

27. N. Lin, G. W. Toh, Y. Feng, X. Y. Liu, H. Xu. Two-Photon Fluorescent Bombyx Mori Silk by Molecular Recognition Functionalization. *J. Mater. Chem. Bprueba.* **2014**, 2, 2136-2143.

28. W. Chen, P. Gao, H. Jiang, Z. Cui. A Novel Reactive Dyeing Method for Silk Fibroin with Aromatic Primary Amine-Containing Dyes Based on the Mannich Reaction. *Dyes Pigments.* **2019**, 168, 300-310.

29. A. Salama. Cellulose/Silk Fibroin Assisted Calcium Phosphate Growth: Novel Biocomposite for Dye Adsorption. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, 165, 1970-1977.

30. Z. Huang, S. Wang, R. D. Dewhurst, N. V. Ignat'ev, M. Finze, H. Braunschweig. Boron: Its Role in Energy-Related Processes and Applications. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, 59, 8800-8816.

31. E. Raczuk, B. Dmochowska, J. Samaszko-Fiartek, J. Madaj. Different Schiff Bases—Structure, Importance and Classification. *Molecules.* **2022**, 27, 787.

32. K. Chen, Y. Dong, X. Zhao, M. Imran, G. Tang, J. Zhao, Q. Liu. Bodipy Derivatives as Triplet Photosensitizers and the Related Intersystem Crossing Mechanisms. *Front. Chem.* **2019**, 7, 821.

33. Y. W. Wang, A. B. Descalzo, Z. Shen, X. Z. You, K. Rurack. Dihydronaphthalene-Fused Boron-Dipyrromethene (BODIPY) Dyes: Insight into the Electronic and Conformational Tuning Modes of BODIPY Fluorophores. *Chemistry A European J.* **2010**, 16, 2887-2903.

34. I. C. Elle, L. C. B. Olsen, D. Pultz, S. V. Rødkær, N. J. Færgeman. Something Worth Dyeing for: Molecular Tools for the Dissection of Lipid Metabolism in *Caenorhabditis Elegans*. *FEBS Lett.* **2010**, 584, 2183-2193.

35. S. Radunz, E. Andresen, C. Würth, A. Koerdt, H. R. Tschiche, U. Resch-Genger. Simple Self-Referenced Luminescent pH Sensors Based on Upconversion Nanocrystals and pH-Sensitive Fluorescent BODIPY Dyes. *Anal. Chem.* **2019**, 91, 7756-7764.
36. Z. Yang, Y. He, J.-H. Lee, N. Park, M. Suh, W.-S. Chae, J. Cao, X. Peng, H. Jung, C. Kang, J. S. Kim. A Self-Calibrating Bipartite Viscosity Sensor for Mitochondria. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 9181-9185.
37. W. A. Morris, T. Butler, M. Kolpaczynska, C. L. Fraser. Stimuli Responsive Furan and Thiophene Substituted Difluoroboron β -Diketonate Materials. *Mater. Chem. Front.* **2017**, 1, 158-166.
38. N. D. Nguyen, G. Zhang, J. Lu, A. E. Sherman, C. L. Fraser. Alkyl Chain Length Effects on Solid-State Difluoroboron β -Diketonate Mechanochromic Luminescence. *J. Mater. Chem.* **2011**, 21, 8409.
39. T. Butler, M. Zhuang, C. L. Fraser. Color Tuning of Mechanochromic Luminescent β -Diketones via Boron Coordination and Donor-Acceptor Effects. *J. Phys. Chem. C.* **2018**, 122, 19090-19099.
40. W. A. Morris, T. Liu, C. L. Fraser. Mechanochromic Luminescence of Halide-Substituted Difluoroboron β -Diketonate Dyes. *J. Mater. Chem. C.* **2015**, 3, 352-363.
41. H. P. Santos, E. S. Gomes, M. V. Dos Santos, K. A. D'oliveira, A. Cuin, J. S. Martins, W. G. Quirino, L. F. Marques. Synthesis, Structures and Spectroscopy of Three New Lanthanide β -Diketonate Complexes with 4,4'-Dimethyl-2,2'-Bipyridine. Near-infrared Electroluminescence of Ytterbium(III) Complex in OLED. *Inorg. Chim. Acta.* **2019**, 484, 60-68.
42. A. A. Molina-Paredes, V. M. J. Pérez, M. R. Bahena-Villarreal, M. Sánchez, A. A. Cavazos-Jaramillo, J. M. Alcocer-González, A. Saucedo-Yañez, G. C. P. D. U. T. Family=Ángel Mosqueda, J. A. Lara-Cerón, B. M. M. Flores. Green Synthesis of BOSCHIBAs: Photo- and Water Stability, Cytotoxicity Assays, and Theoretical Calculations. *J. Mol. Struct.* **2023**, 1271, 134122.
43. M. M. Corona-López, B. M. Muñoz-Flores, M. Chaari, R. Nuñez, V. M. Jiménez-Pérez. Far-Red and Near-Infrared Boron Schiff Bases (BOSCHIBAs) Dyes Bearing Anionic Boron Clusters. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2021**, 2021, 2047-2054.
44. M. M. Corona-López, V. M. Jiménez Pérez, R. Chan-Navarro, M. Ibarra-Rodríguez, H. V. Rasika Dias, A. Chávez-Reyes, B. M. Muñoz-Flores. Synthesis,

- Characterization, Photophysical Properties of New Fluorescent Boron Schiff Bases (BOSCHIBAs) and Their Application as Cytoplasm Staining Dyes in Vitro. *J. Organomet. Chem.* **2017**, 852, 64-73.
45. T. Schaub. Efficient Industrial Organic Synthesis and the Principles of Green Chemistry. *Chemistry – A European Journal.* **2021**, 27, 1865–1869.
46. W. Abdussalam-Mohammed, A. Q. Ali, A. O. Errayes. Green chemistry: principles, applications, and disadvantages. *Chem. Methodol.* **2020**, 4, 408–423.
47. P. Mukherjee. Green chemistry–A novel approach towards sustainability. *Journal of the Chilean Chemical Society.* **2021**, 66, 5075–5080.
48. L. Zhao, Y. Wang. Applications of BOSCHIBAs in Cell Staining and OLEDs. *J. Lumin.* **2019**, 210, 87-98.
49. H. Lee, S. Kim. Fluorescent Schiff Base Boron Complexes: Synthesis, Properties, and Applications. *Mater. Chem. Front.* **2021**, 5, 450-462.
50. J. Smith, A. Johnson. Advances in Fluorescent Staining Techniques for Biomaterials. *J. Biomed. Sci.* **2020**, 15, 123-135.
51. F. Costa, R. Silva, A. R. Boccaccini, Fibrous Protein-Based Biomaterials (Silk, Keratin, Elastin, and Resilin Proteins) for Tissue Regeneration and Repair. In *Peptides and Proteins as Biomaterials for Tissue Regeneration and Repair*, Elsevier: **2018**; pp 175-204.
52. Y. He, E. Du, X. Zhou, J. Zhou, Y. He, Y. Ye, J. Wang, B. Tang, X. Wang. Wet-Spinning of Fluorescent Fibers Based on Gold Nanoclusters-Loaded Alginate for Sensing of Heavy Metal Ions and Anti-Counterfeiting. *Spectrochim. Acta, Part A.* **2020**, 230, 118031.
53. Y.-H. Lee, J.-J. Chang, W.-F. Lai, M.-C. Yang, C.-T. Chien. Layered Hydrogel of Poly(γ -Glutamic Acid), Sodium Alginate, and Chitosan: Fluorescence Observation of Structure and Cytocompatibility. *Colloids Surf., B.* **2011**, 86, 409-413.
54. M. S. Birajdar, K. S. Halake, J. Lee. Blood-Clotting Mimetic Behavior of Biocompatible Microgels. *J. Ind. Eng. Chem.* **2018**, 63, 117-123.
55. M. Souhangir, S. M. Bidoki, K. Gharanjig. Synthesis and Application of a Novel Fluorescent Reactive Dye Based on Fused Iminocoumarin on Cotton Fabric. *Prog. Color Colorants Coat.* **2023**, 16.
56. Y. Zhang, Z. Ji, Y. He, Y. Ye. SERS Active Fibers from Wet-Spinning of Alginate

- with Gold Nanoparticles for pH Sensing. *Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2022**, 271, 120848.
57. A. R. Murphy, D. L. Kaplan. Biomedical Applications of Chemically-Modified Silk Fibroin. *J. Mater. Chem.* **2009**, 19, 6443-6450.
58. N. C. Tansil, Y. Li, C. P. Teng, S. Zhang, K. Y. Win, X. Chen, X. Y. Liu, M. Y. Han. Intrinsically Colored and Luminescent Silk. *Adv. Mater.* **2011**, 23, 1463-1466.
59. L. Cheng, H. Zhao, H. Huang, B. Li, R. K. Y. Li, X.-Q. Feng, F. Dai. Quantum Dots-Reinforced Luminescent Silkworm Silk with Superior Mechanical Properties and Highly Stable Fluorescence. *J. Mater. Sci.* **2019**, 54, 9945-9957.
60. F. A. Carey, *Química orgánica*. McGraw-Hill Interamericana: **2014**.
61. L. D. Field, S. Sternhell, J. R. Kalman, *Organic Structures from Spectra*. Wiley: **2013**.
62. S. A. Richards, J. C. Hollerton, *Essential Practical NMR for Organic Chemistry*. John Wiley & Sons: **2023**.
63. T. N. Mitchell, B. Costisella, *NMR - from Spectra to Structures: An Experimental Approach*. Springer: **2007**.
64. J. B. Lambert, E. P. Mazzola, C. D. Ridge, *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy: An Introduction to Principles, Applications, and Experimental Methods*. John Wiley & Sons: **2019**.
65. L. Esteban, *La espectrometría de masas en imágenes*. ACK: **1993**.
66. J. J. M. Martínez. Estructura de los sólidos. Cristalografía, difracción y defectos. **2015**.
67. M. Picollo, M. Aceto, T. Vitorino. UV-Vis Spectroscopy. *Phys. Sci. Rev.* **2019**, 4, 20180008.
68. M. S. H. Akash, K. Rehman, Ultraviolet-Visible (UV-VIS) Spectroscopy. In *Essentials of Pharmaceutical Analysis*, Akash, M. S. H.; Rehman, K., Eds. Springer Nature Singapore: **2020**; 29-56.
69. C. Würth, M. Grabolle, J. Pauli, M. Spieles, U. Resch-Genger. Relative and Absolute Determination of Fluorescence Quantum Yields of Transparent Samples. *Nat. Protoc.* **2013**, 8, 1535-1550.
70. S. Fiedler, F. Frenzel, C. Würth, I. Tavernaro, M. Grüne, S. Schweizer, A. Engel, U. Resch-Genger. Interlaboratory Comparison on Absolute Photoluminescence Quantum

- Yield Measurements of Solid Light Converting Phosphors with Three Commercial Integrating Sphere Setups. *Analytical Chemistry*. **2024**, 96, 6730–6737.
71. V. Cannella, R. Altomare, G. Chiamonte, S. Di Bella, F. Mira, L. Russotto, P. Pisano, A. Guercio. Cytotoxicity Evaluation of Endodontic Pins on L929 Cell Line. *BioMed Research International*. **2019**, 2019, 1-5.
72. A. R. Bendale, R. Bhatt, A. Nagar, A. G. Jadhav, G. Vidyasagar. Schiff base synthesis by unconventional route: An innovative green approach. *Der Pharma Chemica*. **2011**, 3, 34–38.
73. G. Chremos, H. Weidmann, H. Zimmerman. Communications-Preparation and Storage of Diphenylborinic Acid and Its Anhydride. *ACS Publications*. **1961**, 26, 1683.
74. F. G. A. Calvo-Flores. Parámetros para el análisis de las reacciones en Química Sostenible. *Anales de Química de la RSEQ*. **2009**, 42–49.
75. M. Ibarra-Rodríguez, B. M. Muñoz-Flores, R. Chan-Navarro, N. Waksman, A. Saucedo-Yañez, M. Sánchez, V. M. Jiménez-Pérez. Fluorescent Molecular Rotors (FMRs) of Organoboron Derived from Schiff Bases and Their Multi-Stimuli Responsive. *Opt. Mater*. **2019**, 89, 123-131.
76. A. A. Molina. Paredes, V. M. Jiménez. Pérez, J. A. Lara.Cerón, I. Moggio, E. Arias, R. Santillán, M. Sánchez, A. Saucedo. Yañez, B. M. Muñoz. Flores. Fluorescent Boron Schiff Bases Dyes for Staining Silk Fibroin: Green Synthesis, Structural Characterization, DFT, and Photophysical Properties. *Applied Organom Chemis*. **2019**, 33, e4609.
77. R. Thaler, H. Kopacka, K. Wurst, T. Müller, D. F. Dinu, K. R. Liedl, F. R. Neururer, S. Hohloch, B. Bildstein. Borylated Cymantrenes and Tromancenium Salts with Unusual Reactivity. *Organometallics*. **2022**, 41, 1464–1473.
78. H. Höpfl. The Tetrahedral Character of the Boron Atom Newly Defined—a Useful Tool to Evaluate the N→B Bond. *J. Organomet. Chem*. **1999**, 581, 129-149.
79. R. Chan-Navarro, V. M. Jiménez-Pérez, B. M. Muñoz-Flores, H. V. R. Dias, I. Moggio, E. Arias, G. Ramos-Ortiz, R. Santillan, C. García, M. E. Ochoa, Others. Luminescent organoboron compounds derived from salicylidenebenzohydrazide: Synthesis, characterization, structure, and photophysical properties. *Dyes Pigments*. **2013**, 99, 1036-1043.

8. Anexos

8.1. Espectros de IR ligantes

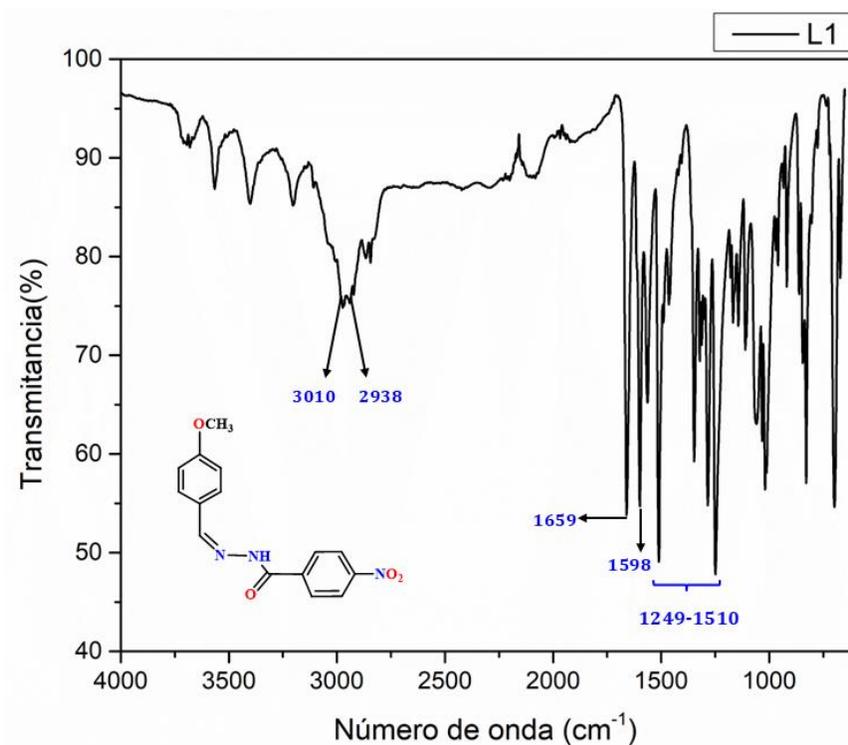


Figura 27. Espectro de IR para el Ligante L1.

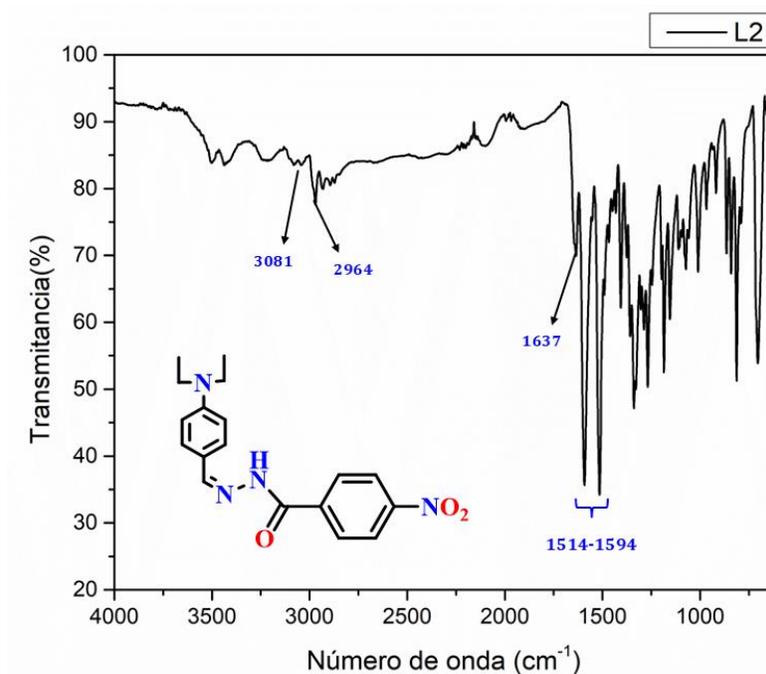


Figura 28. Espectro de IR para el Ligante L2.

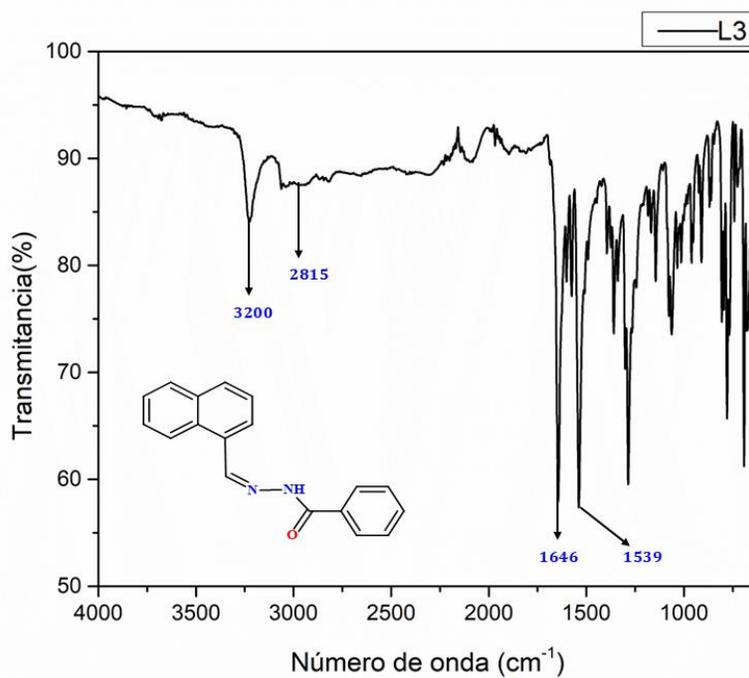


Figura 29. Espectro de IR para el Ligante L3.

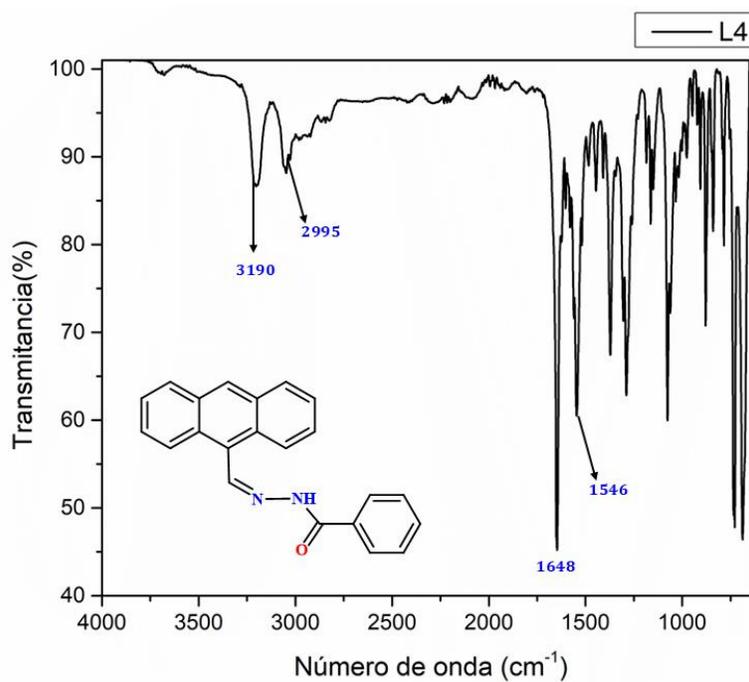


Figura 30. Espectro de IR para el Ligante L4.

8.2. Espectros de IR compuestos de boro

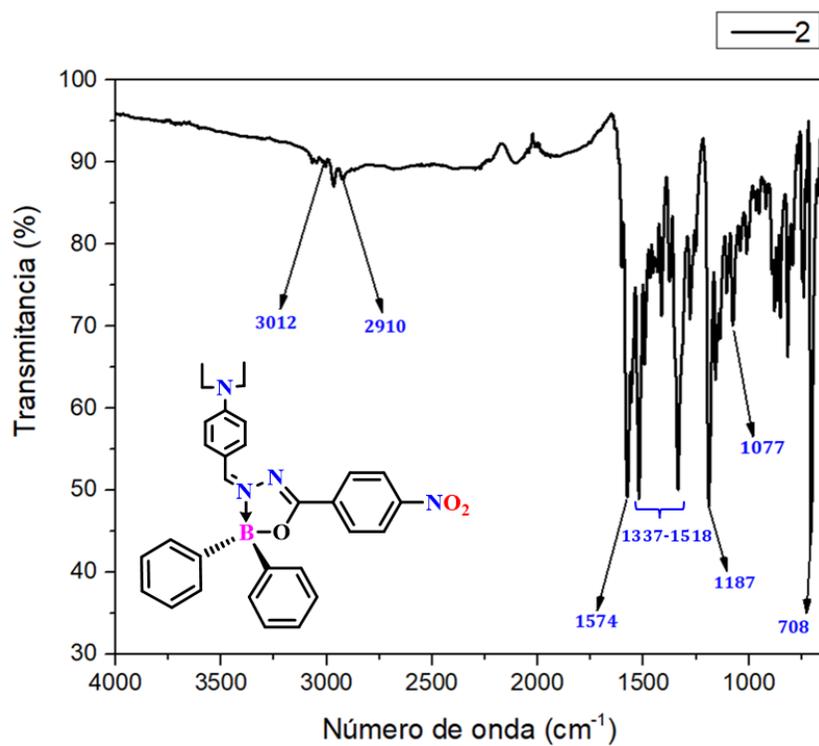


Figura 31. Espectro de IR para el compuesto 2.

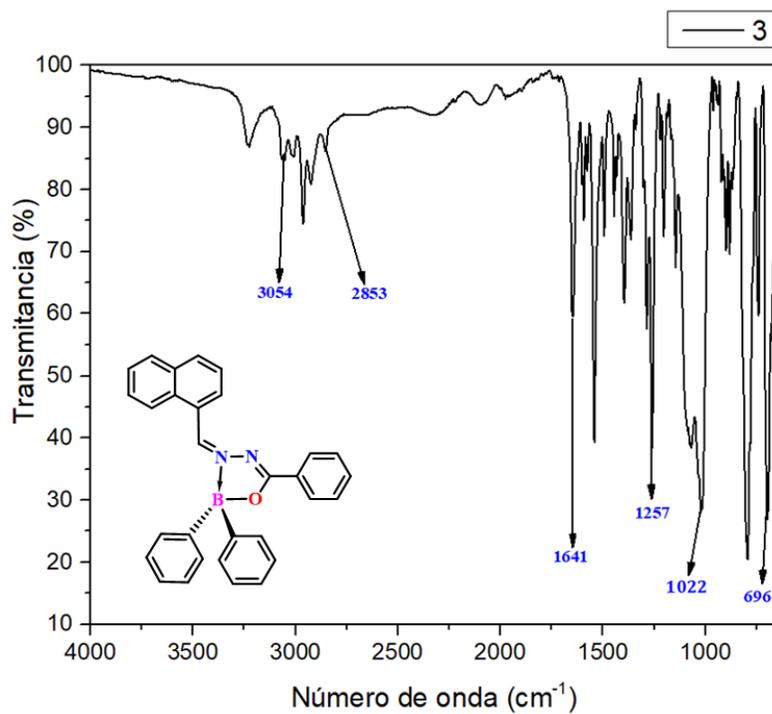


Figura 32. Espectro de IR para el compuesto 3.

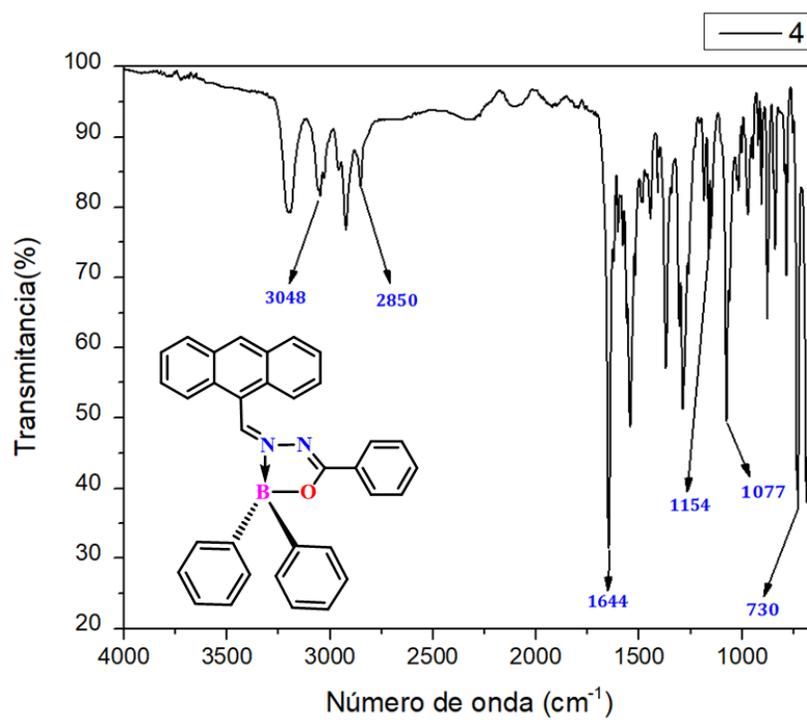


Figura 33. Espectro de IR para el compuesto **4**

8.3. Espectros de masas

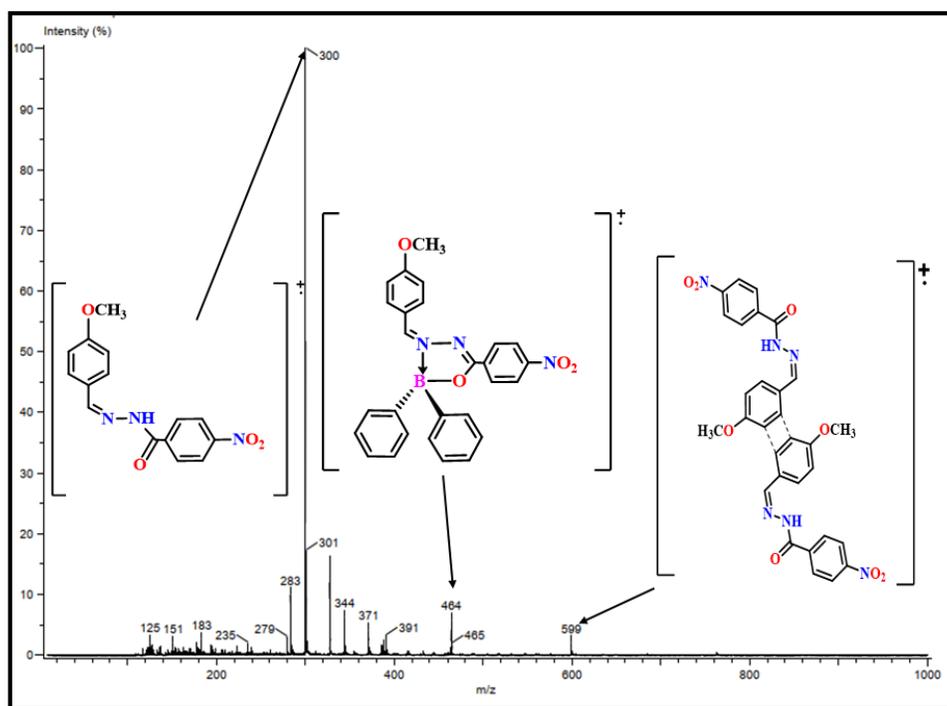


Figura 34. Espectro de masas para el compuesto 1.

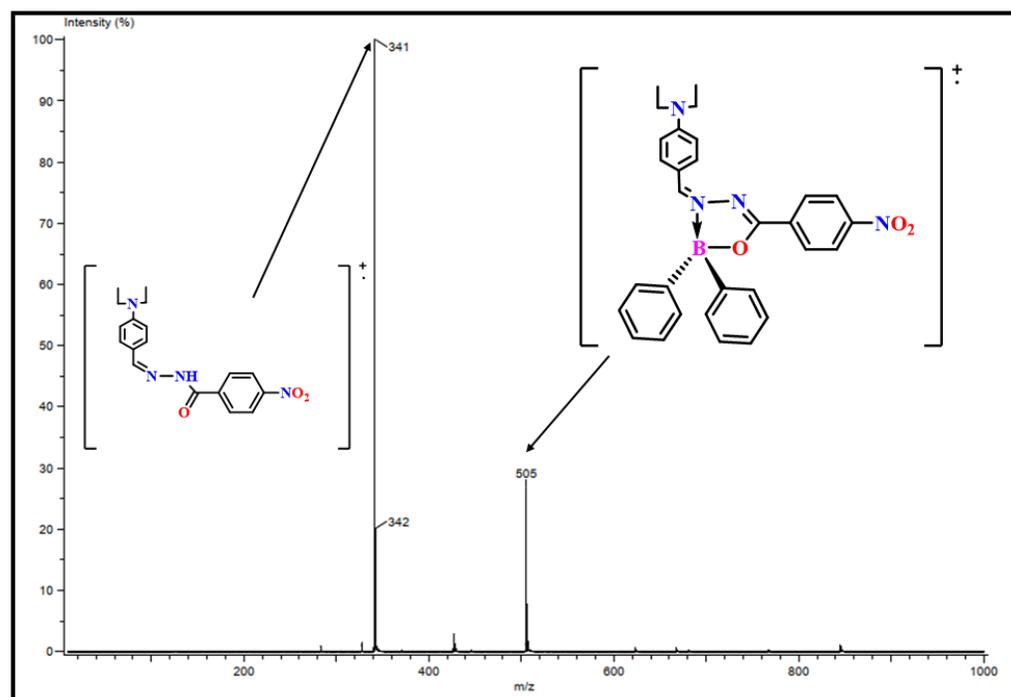


Figura 35. Espectro de masas para el compuesto 2.

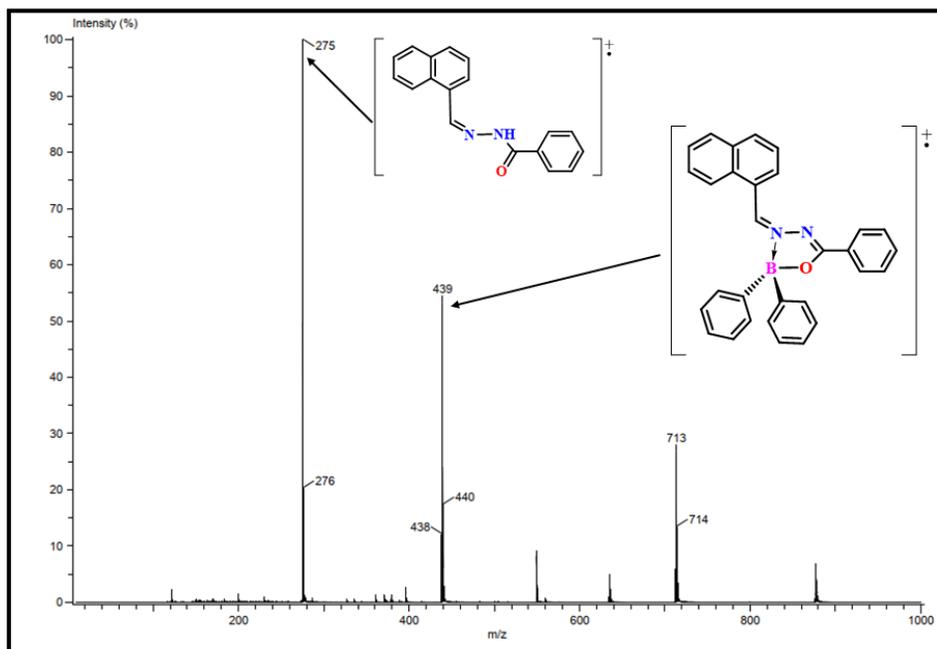
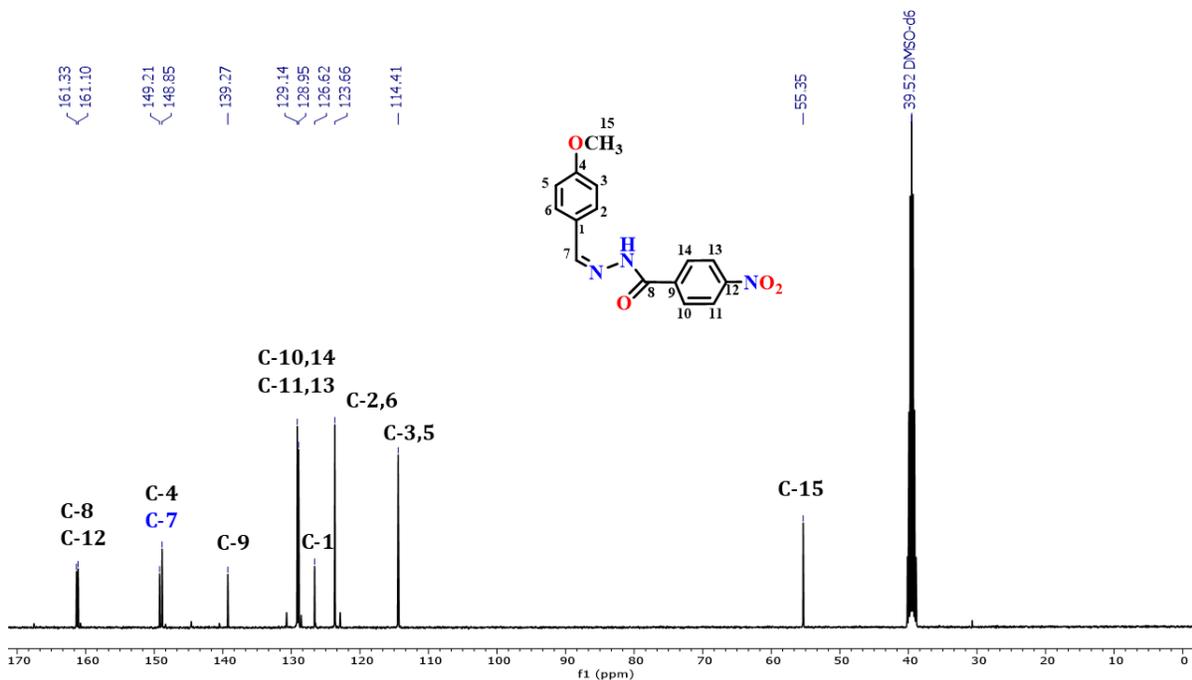
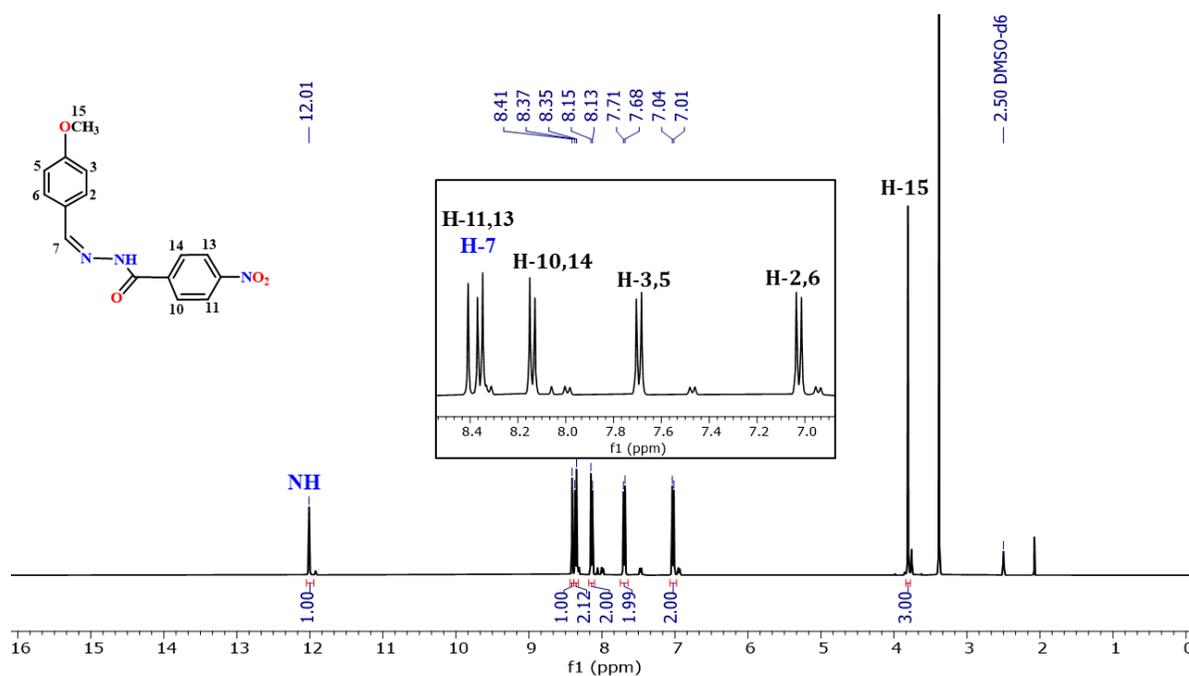


Figura 36. Espectro de masas para el compuesto **3**

8.4. Espectros de RMN

8.4.1. Espectros de Ligantes



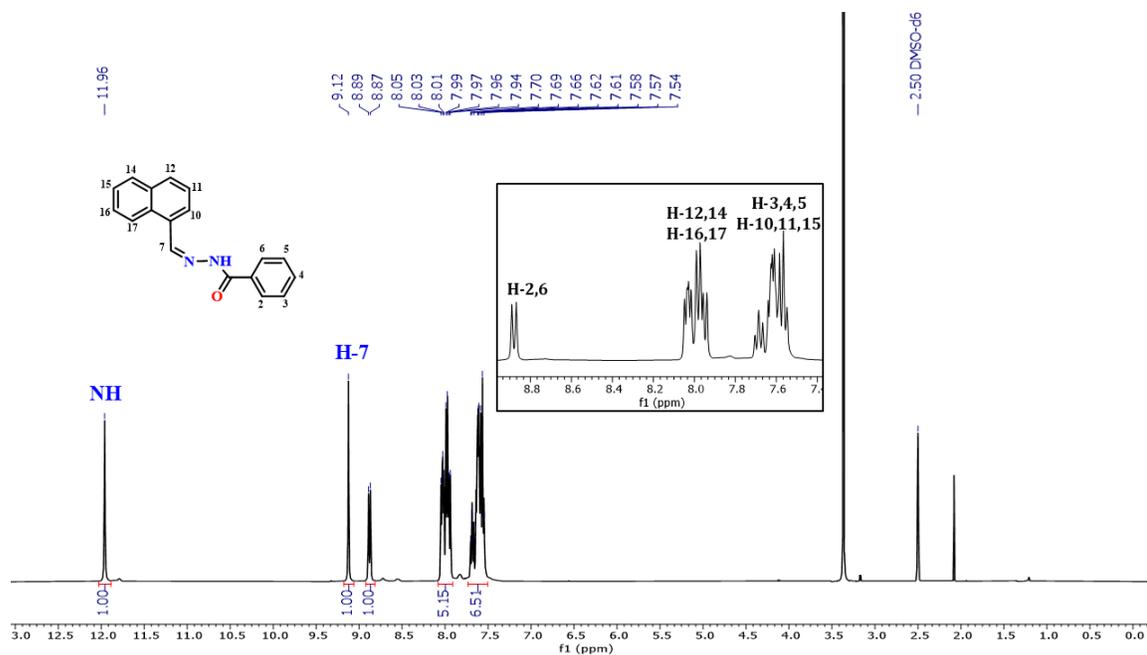


Figura 39. Espectro de RMN de ^1H en DMSO- d_6 para el Ligante L3

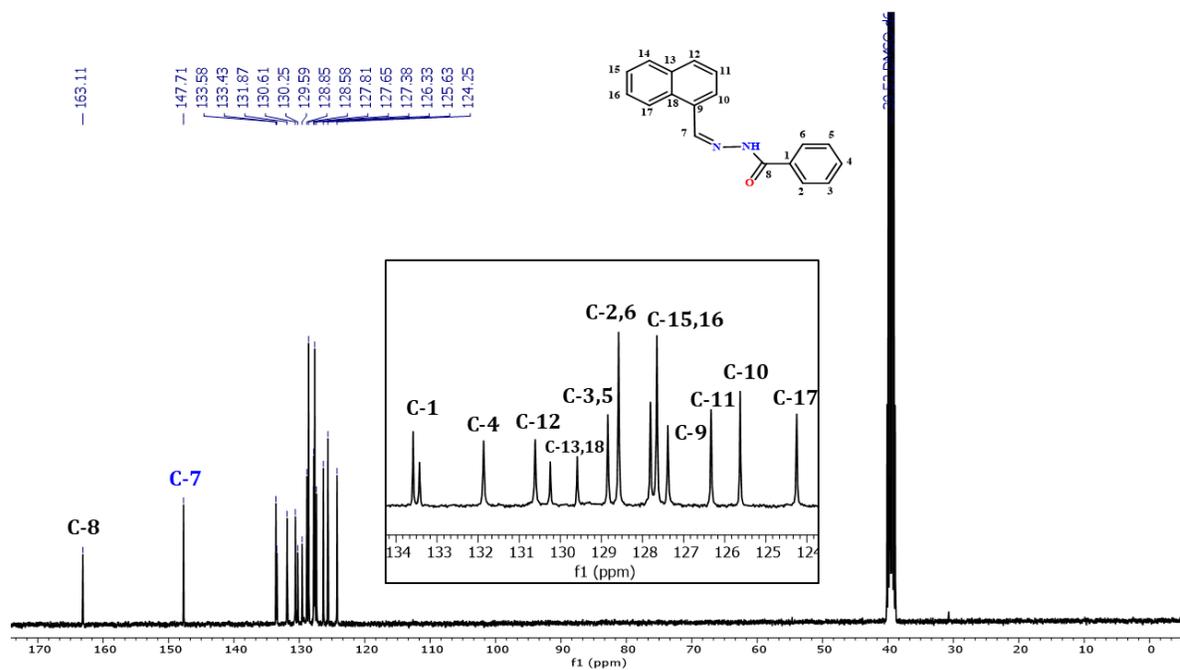


Figura 39. Espectro de RMN de ^{13}C en DMSO- d_6 para el Ligante L3.

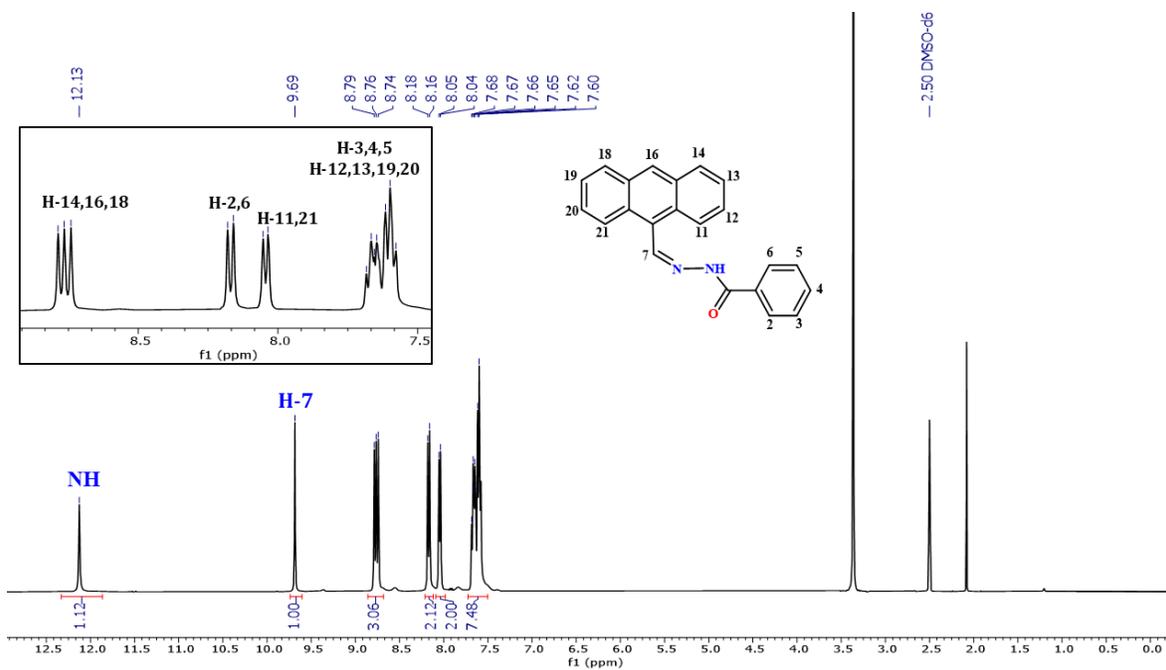


Figura 40. Espectro de RMN de ^1H en $\text{DMSO-}d_6$ para el Ligante L4.

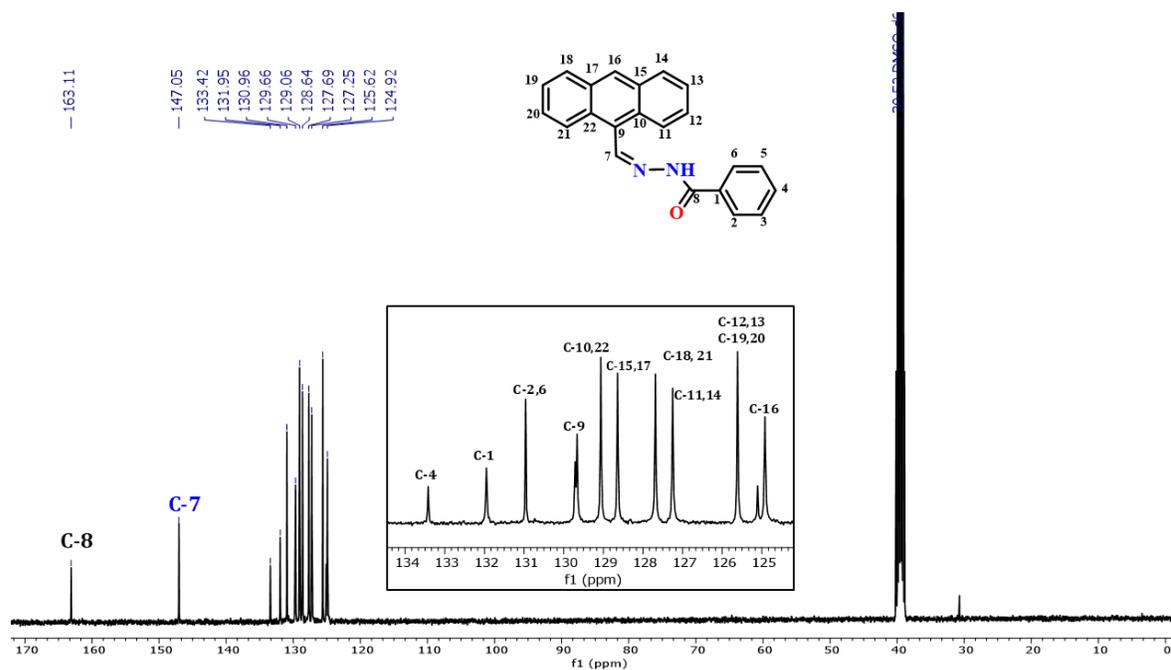
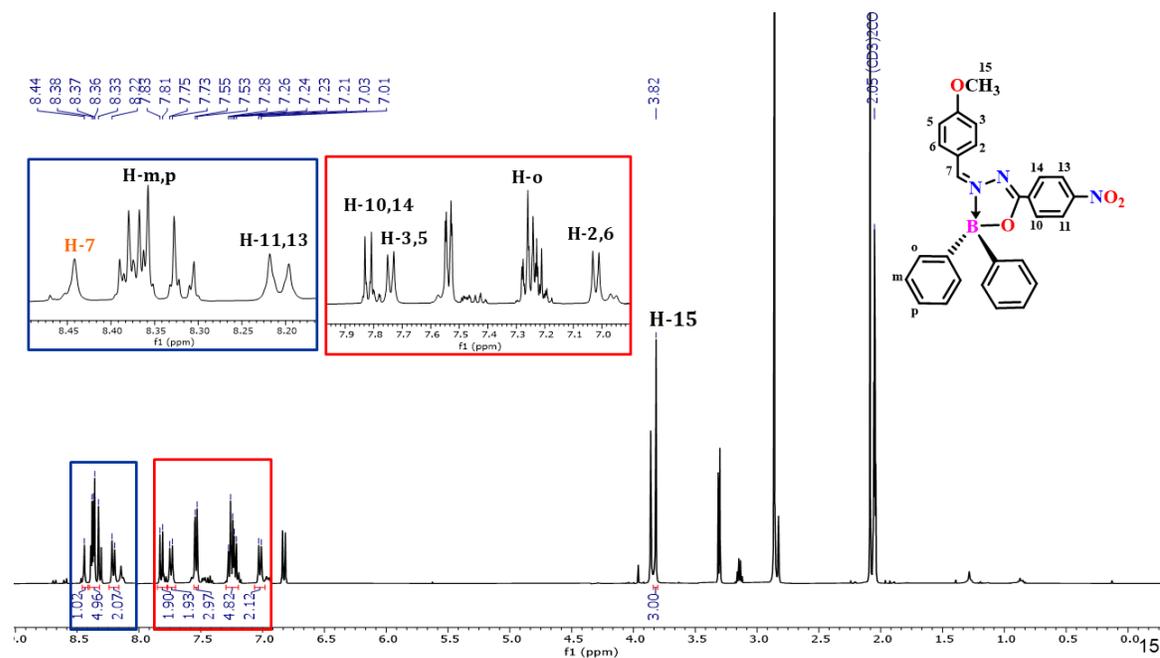
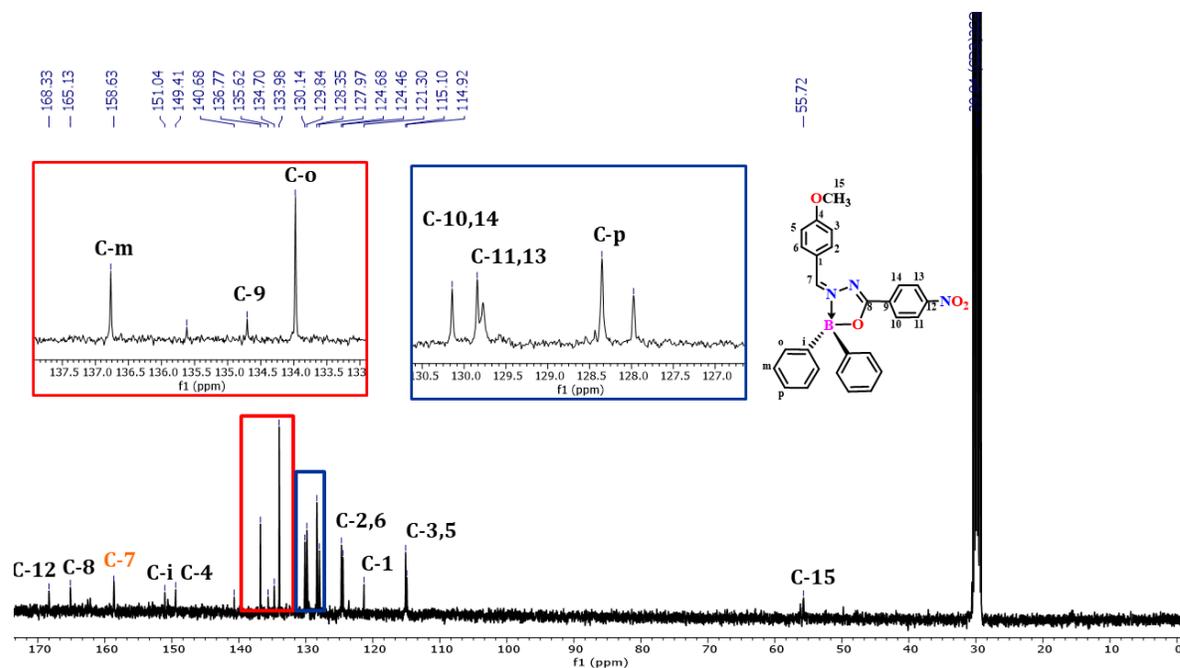


Figura 41. Espectro de RMN de ^{13}C en $\text{DMSO-}d_6$ para el Ligante L4.

8.4.2. Espectros de BOSCHIBAs

Figura 42. Espectro de RMN de ¹H en Acetona-d₆ para el compuesto 1.Figura 43. Espectro de RMN de ¹³C en Acetona-d₆ para el compuesto 1.

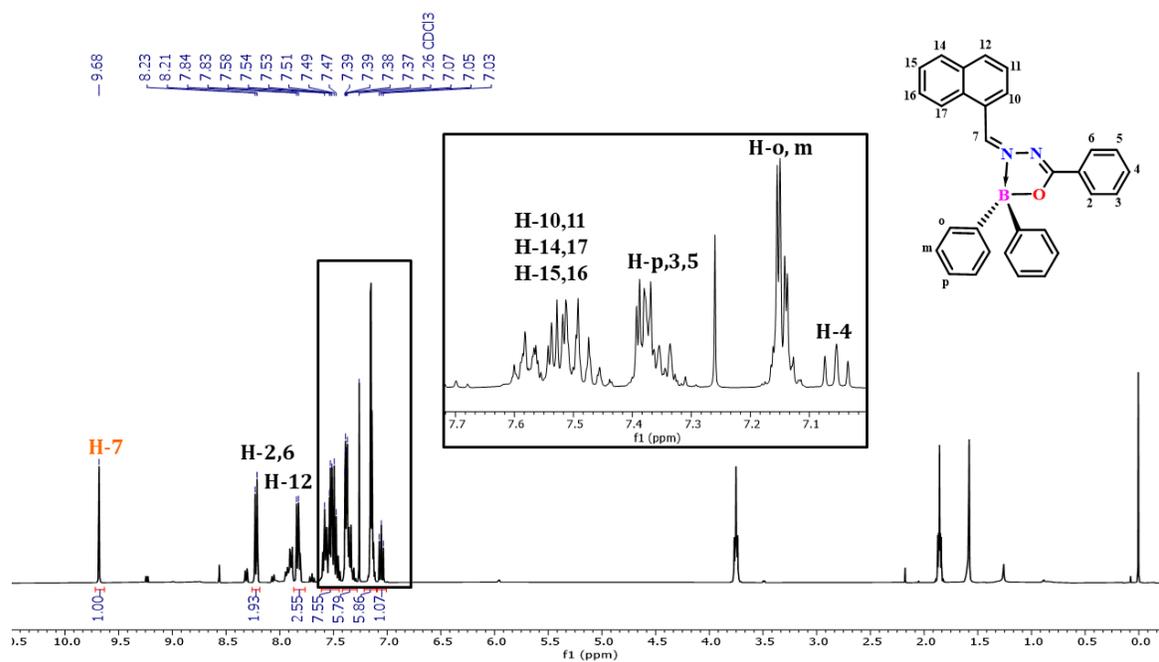


Figura 44. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 para el compuesto **3**.

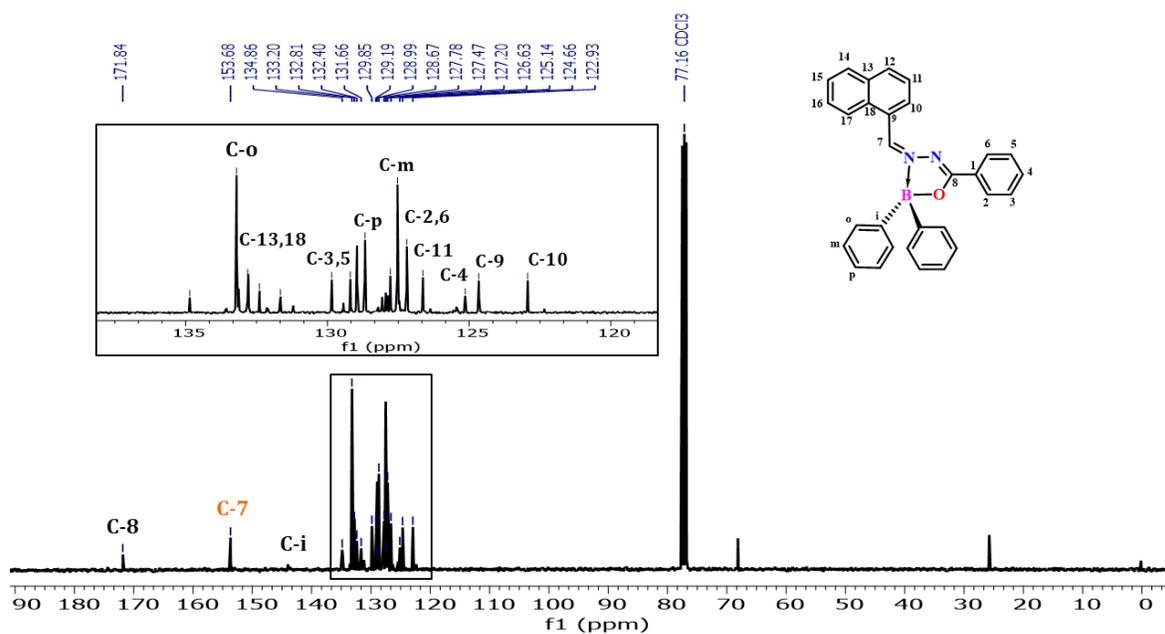


Figura 45. Espectro de RMN de ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto **3**.

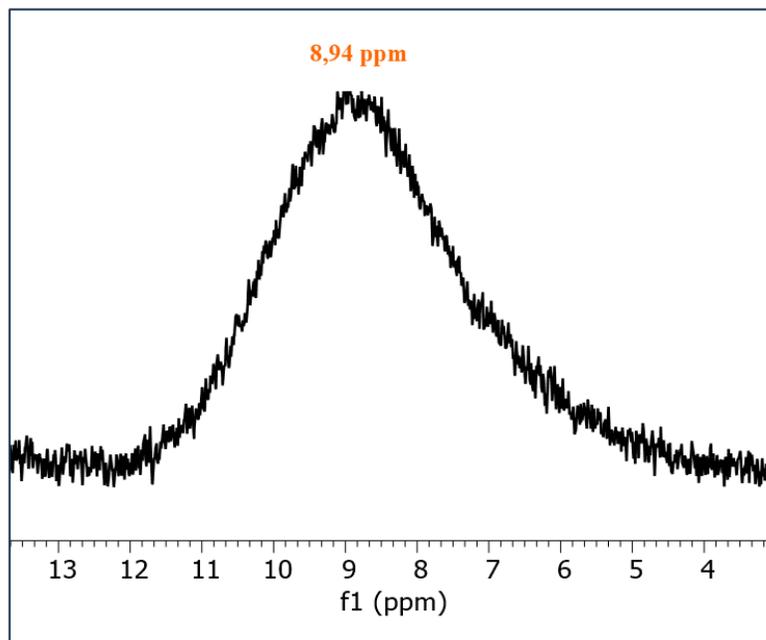


Figura 46. Espectro de RMN de ^{11}B en CDCl_3 para el compuesto **3**.

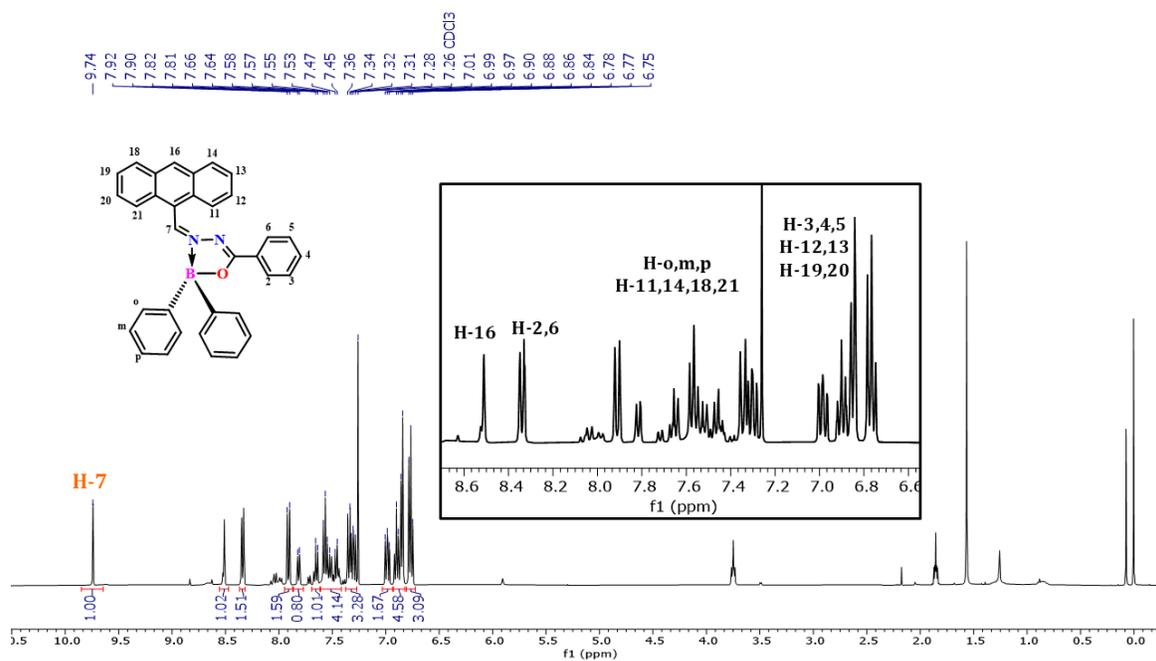


Figura 47. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 para el compuesto **4**.

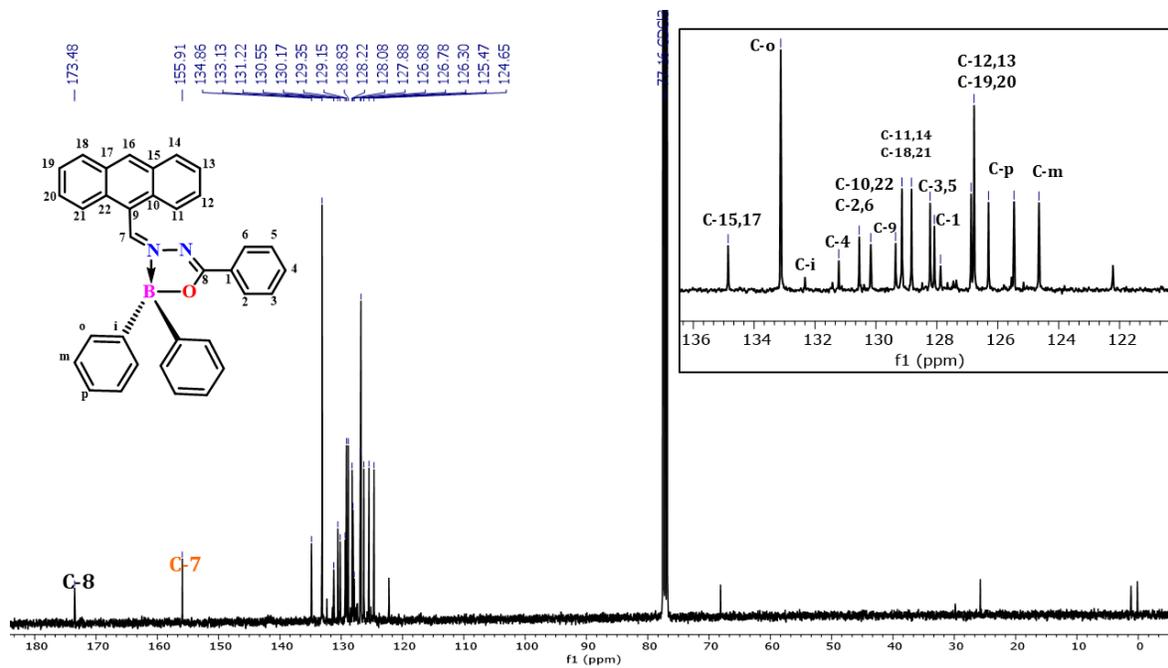


Figura 49. Espectro de RMN de ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto 4.

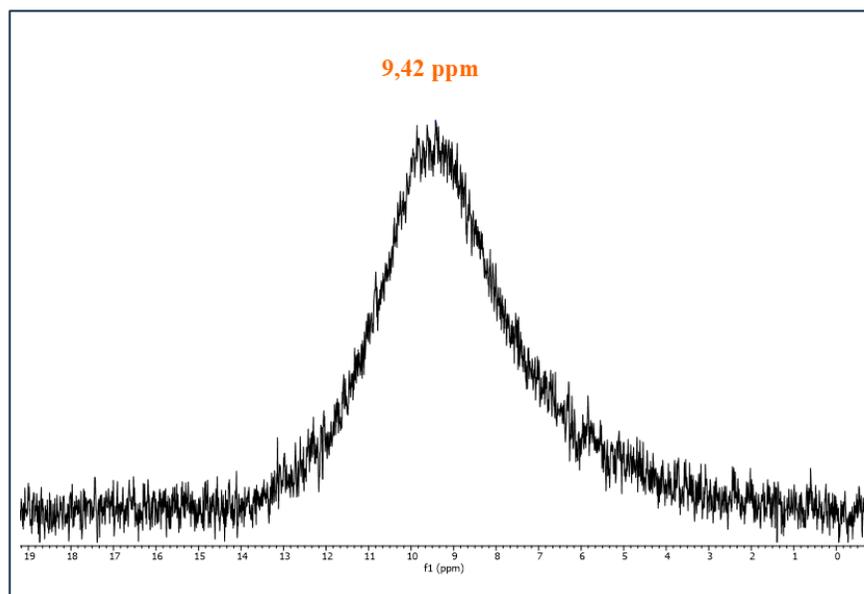


Figura 48. Espectro de RMN de ^{11}B en CDCl_3 para el compuesto 4.