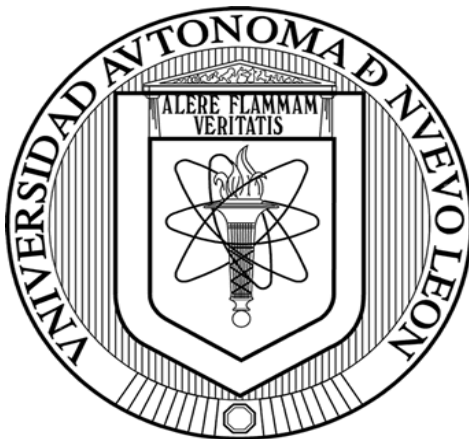


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



**SÍNTESIS Y ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES DE EMISIÓN DE
IMINOBORONATOS LUMINISCENTES CON POTENCIAL
APLICACIÓN EN MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA**

Por

LIZETH ESCAMILLA GARCÍA

**Como requisito parcial para obtener el Grado de MAESTRÍA EN
CIENCIAS con Orientación en Química de los Materiales**

Octubre, 2023

**SÍNTESIS Y ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES DE EMISIÓN DE
IMINOBORONATOS LUMINISCENTES CON POTENCIAL
APLICACIÓN EN MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA**

Aprobación de la Tesis

Dr. Rodrigo Alonso Chan Navarro
Asesor

Dr. Víctor Manuel Jiménez Pérez
Comité Tutorial

Dra. Blanca Margarita Muñoz Flores
Comité Tutorial

Dr. Pablo Francisco Martínez Ortiz
Comité Tutorial

Dra. María Elena Cantú Cárdenas
Subdirectora de Estudios de Posgrado

**SÍNTESIS Y ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES DE EMISIÓN DE
IMINOBORONATOS LUMINISCENTES CON POTENCIAL
APLICACIÓN EN MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA**

Revisión de la Tesis

Dr. Rodrigo Alonso Chan Navarro

Asesor

Dra. María Concepción García López

Coasesor interno

Dra. Rosa Martha Jiménez Barrera

Coasesor externo

Dra. María Elena Cantú Cárdenas

Subdirectora de Estudios de Posgrado

RESUMEN

Lizeth Escamilla García

Fecha de graduación: Octubre 2023

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Químicas

Título del Estudio: Síntesis y estudio de las propiedades de emisión de iminoboronatos luminiscentes con potencial aplicación en microscopía de fluorescencia.

Número de páginas: 81

**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:

En el presente proyecto se propone la síntesis de una serie de cinco nuevos iminoboronatos mediante reacciones de condensación por multicomponente. Estos iminoboronatos fueron diseñados con una serie de sustituyentes distintos en el anillo de fenileno con el fin de potencialmente favorecer las propiedades fotofísicas que presenten los compuestos. Se espera que esta serie de iminoboronatos presenten las propiedades fotofísicas y actividad biológica necesarias para su uso como agente de tinción en microscopía de fluorescencia.

Conclusiones y Contribuciones:

En este proyecto de investigación se reportó la síntesis de cinco nuevos iminoboronatos a través de reacciones de condensación por multicomponentes de 2-hidroxi-1-naftaldehído, ácido antranílico y análogos de ácido fenilborónico. Dichos compuestos fueron caracterizados a través de técnicas espectroscópicas con el fin de confirmar la formación de los iminoboronatos propuestos. Se emplearon técnicas como espectroscopía UV-Vis y Fluorescencia molecular para determinar sus propiedades ópticas. Adicionalmente, se realizaron pruebas microbiológicas para determinar la citotoxicidad de los compuestos, y se obtuvieron bioimágenes de las muestras generadas. Los resultados de dichas pruebas destacaron las propiedades del compuesto **1** para la aplicación propuesta.

Firma del Asesor

Dr. Rodrigo Alonso Chan Navarro

Esta tesis se realizó en el Laboratorio de Química Industrial, ubicado en el Centro de Laboratorios Especializados (CELAES) de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la dirección del Dr. Rodrigo Alonso Chan Navarro.

Agradecimientos al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCyT) por la beca de maestría otorgada.

ESTANCIA REALIZADA

Se realizó una estancia de investigación en el periodo del 01 de Noviembre al 01 de Diciembre del 2022 bajo la dirección de la Dra. Rosa Martha Jiménez Barrera como Coasesor externo en el Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) en el Laboratorio de Materiales Avanzados.



AGRADECIMIENTOS

Primeramente, me gustaría agradecer a mi asesor de tesis, el Dr. Rodrigo Alonso Chan Navarro, por su paciencia, sus ganas de transmitir sus conocimientos y experiencias a través de los años que he tenido el gusto de trabajar en su grupo de investigación, y en especial la confianza que puso en mí para el desarrollo de este proyecto de tesis. A mis compañeros de posgrado dentro del grupo de investigación, por hacer de este camino una experiencia integral e increíblemente agradable.

Agradezco a mi familia, porque siempre han estado a mi lado para darme su apoyo, comprensión y ánimos cuando más lo he necesitado. Porque nunca han limitado mi camino, y en cambio me han impulsado a hacer y ser más.

Agradezco al Dr. Julio Silva Mendoza y a su grupo de investigación, por todo su apoyo y paciencia durante la evaluación de la aplicación dentro de la rama microbiológica. Agradezco a todas aquellas amistades que he encontrado a lo largo de mi camino en la facultad, y a todas las personas que de alguna u otra manera han dejado su marca en mí para ayudarme a crecer en muchos sentidos, y me han levantado cuando lo he necesitado.

Finalmente agradezco a la Facultad de Ciencias Químicas por las instalaciones y equipos prestados, así como al CONAHCyT por la beca otorgada, sin la cual no habría sido posible la realización de esta maestría.

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	5
2.1. Síntesis de Compuestos de Boro Derivados de Bases de Schiff	5
2.2. Uso de Compuestos de Boro Derivados de Bases de Schiff en Aplicaciones Biológicas	6
2.3. Uso de Compuestos de Boro Derivados de Bases de Schiff en Tinción de Estructuras Celulares.....	6
2.4. Otros Usos de Compuestos de Boro Derivados de Bases de Schiff	7
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	11
3.1. Hipótesis	11
3.2. Objetivos	11
3.2.1. Objetivo General	11
3.2.2. Objetivos Específicos	11
4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	12
4.1. Reactivos y Equipo	12
4.2. Síntesis	12
4.3. Caracterización	16
4.3.1. Resonancia Magnética Nuclear (RMN).....	16
4.3.2. Espectroscopía Infrarroja (IR-ATR)	16
4.3.3. Espectrometría de Masas (DART-MS).....	16
4.3.4. Espectroscopía Ultravioleta-Visible (UV-Vis).....	17

4.3.5. Espectroscopía de Fluorescencia Molecular.....	17
4.4. Estudios de Citotoxicidad.....	17
4.4.1. Reactivación de las bacterias.....	18
4.4.2. Adición de los compuestos sintetizados.....	18
4.4.3. Dilución y Siembra en Cajas Petri.....	18
4.5. Estudios de Inhibición.....	18
4.6. Estudios de Emisión Inducida por Agregación (AIE).....	19
4.7. Obtención de Bioimágenes.....	19
4.7.1. Preparación de frotis.....	19
4.7.2. Análisis y obtención de bioimágenes.....	19
4.8. Manejo de Residuos.....	20
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
5.1. Síntesis.....	21
5.2. Caracterización Estructural.....	23
5.2.1. Resonancia Magnética Nuclear de ^1H , ^{13}C y ^{11}B	23
5.2.2. Espectroscopía Infrarroja.....	26
5.2.3. Espectrometría de Masas.....	28
5.3. Caracterización Óptica.....	29
5.3.1. Espectroscopía Ultravioleta-Visible y Espectroscopía de Fluorescencia Molecular.....	29
5.3.2. Estudios de Emisión Inducida por Agregación.....	33
5.4. Actividad Biológica.....	35
5.4.1. Estudios de Inhibición.....	35
5.4.2. Estudios de Citotoxicidad.....	35
5.4.3. Evaluación en Microscopía de Fluorescencia.....	37
5.4.4. Trabajo Adicional.....	39
6. CONCLUSIONES.....	46
7. REFERENCIAS.....	48

8. ANEXOS	51
-----------------	----

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Resumen de antecedentes relacionados a compuestos de boro derivados de bases de Schiff.....	8
2. Ubicación de los equipos utilizados	12
3. Disposición de los residuos generados durante la síntesis y caracterización de los compuestos 1-5	20
4. Condiciones y rendimientos de reacción de los compuestos sintetizados	21
5. Solubilidad de los compuestos 1-5 en distintos solventes orgánicos	22
6. Propiedades físicas de los compuestos 1-5	23
7. Datos espectroscópicos selectos para los compuestos 1-5	26
8. Señales seleccionadas de IR de los compuestos 1-5	27
9. Masas moleculares calculadas y encontradas de los compuestos 1-5	28
10. Propiedades fotofísicas de los compuestos 1-5	31
11. Radios de inhibición de los compuestos frente a las dos bacterias seleccionadas.....	35

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Estructura química de los compuestos 1-5 sintetizados en este proyecto	4
2. Espectro de RMN ^1H del compuesto 1 en CDCl_3 a 400.14 MHz	24
3. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto 1 en CDCl_3 a 100.14 MHz	25
4. Espectro de RMN ^{11}B del compuesto 1 en CDCl_3 a 128 MHz	25
5. Espectro de IR-ATR del compuesto 1	27
6. Patrón de fragmentación propuesto para la serie de iminoboronatos 1-5 sintetizada en este proyecto	29
7. Espectros de absorción normalizada de los compuestos 1-5 en cloroformo	30
8. Espectros de emisión normalizada de los compuestos 1-5 en cloroformo	31
9. Espectros de emisión normalizada de los compuestos 1, 2, 3 y 5 en la región visible	33
10. Gráfico comparativo del efecto del volumen de agua Vs. Rendimiento cuántico de los compuestos 1, 3 y 5	34
11. Gráfico de viabilidad celular de <i>E. coli</i> frente a los compuestos a concentraciones de 1, 10 y 100 ppm.....	36
12. Gráfico de viabilidad celular de <i>S. aureus</i> frente a los compuestos a concentraciones de 1, 10 y 100 ppm.....	37

13. Bioimágenes obtenidas a un objetivo de 40x de <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> , posterior a 2 h de exposición con los compuestos 2 y 3.....	38
14. Bioimágenes obtenidas a un objetivo de 100x de <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> , posterior a 2 h de exposición con los compuestos 2 y 3.....	39
15. Gráfico de viabilidad celular de <i>B. subtilis</i> frente a los compuestos a concentraciones de 1, 10 y 100 ppm.....	40
16. Gráfico de viabilidad celular de <i>S. typhimurium</i> frente a los compuestos a concentraciones de 1, 10 y 100 ppm.....	41
17. Bioimágenes obtenidas a un objetivo de 100x de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> y <i>S. typhimurium</i> posterior a 2 h de exposición con el compuesto 1	42
18. Bioimágenes obtenidas a un objetivo de 100x de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> y <i>S. typhimurium</i> posterior a 2 h de exposición con el compuesto 2	43
19. Bioimágenes obtenidas a un objetivo de 100x de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> y <i>S. typhimurium</i> posterior a 2 h de exposición con el compuesto 3	44
20. Bioimágenes obtenidas a un objetivo de 100x de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> y <i>S. typhimurium</i> posterior a 2 h de exposición con el compuesto 5	45

NOMENCLATURA

2FPBA	Ácido 2-formilfenilborónico
2ABBA	Ácido 2-acetilbencenborónico
3PBA	Ácido 3-piridinborónico
4PBA	Ácido 4-piridinborónico
9C9BF	9-cloro-9-borafluoreno
ACN	Acetonitrilo
BF ₃ ·Et ₂ O	Dietileterato trifluoruro de boro
BODIPY	Borodipirrometano
CY	Rendimiento Químico
DART-MS	Espectrometría de Masas
DMSO	Dimetilsulfóxido
IR-ATR	Infrarrojo (con accesorio de Reflectancia Total Atenuada)
LB	Caldo Luria-Bertani
Mes ₂ BF	Fluoruro de dimesitilboro
OLEDs	Diodos Orgánicos Emisores de Luz
PhB(OH) ₂	Ácido fenilborónico
QY	Rendimiento Cuántico
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
THF	Tetrahidrofurano
T _{eb}	Temperatura de Ebullición
UV-Vis	Ultravioleta-Visible

1. INTRODUCCIÓN.

La resistencia bacteriana a los antibióticos se está convirtiendo en una importante amenaza para la salud, y la rápida detección e identificación de bacterias resistentes a los antibióticos es esencial para salvar vidas y reducir la propagación de la resistencia a los antibióticos. Es por esta razón que la Organización Mundial de la Salud publicó en 2017 una lista de bacterias contra las cuales es urgente desarrollar antibióticos, pues representan una amenaza contra la salud humana. Dicha lista se encuentra subdividida de acuerdo al orden de prioridad, pero es importante notar que se encuentran tanto bacterias Gram-positivas, donde destaca *Staphylococcus aureus*, como bacterias Gram-negativas, entre las cuales destaca *Pseudomonas aeruginosa*. En particular, cabe destacar que las bacterias Gram-negativas son resistentes a múltiples antibióticos, ya que tienen la capacidad de transmitir el material genético, permitiendo que otras bacterias desarrollen resistencia a los medicamentos.

Entre las técnicas moleculares disponibles para la detección e identificación de microorganismos patógenos resistentes a los antibióticos, destacan la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés), las pruebas inmunológicas, espectroscopía Raman, así como técnicas colorimétricas como la tinción de Gram. Algunas de estas técnicas, principalmente la tinción de Gram, toman provecho de las diferencias estructurales entre ambos tipos de bacterias, dentro de las cuales destaca la diferencia del grosor de la capa de peptidoglicano ubicada en la pared celular de las bacterias, siendo de menor grosor en las bacterias Gram-negativas.

Aún con las bondades que ofrecen estas metodologías, es importante estar consciente de sus áreas de oportunidad. Por ejemplo, las técnicas moleculares no constituyen protocolos estandarizados, lo que dificulta su utilidad en casos específicos. En el caso de la tinción de Gram, el uso de un único colorante reduce la capacidad de diferenciar entre tipos de células o microorganismos, además de las excepciones y ambigüedades dentro de la técnica, donde para algunos géneros bacterianos resulta imposible una tinción determinante. Por esta razón, y considerando la creciente resistencia bacteriana a los antibióticos, es necesario desarrollar agentes de contraste emisivos que permitan la detección e identificación oportuna de bacterias infecciosas-resistentes que, en complemento con la microscopia óptica de imagen, superen tales desventajas y permitan su aplicación en sistemas biológicos complejos como los tejidos.

Los materiales luminiscentes han recibido considerable atención en los últimos años debido a sus interesantes propiedades ópticas [1]. Es importante considerar que la estructura de un material luminiscente debe ser cuidadosamente diseñada en base a la aplicación que se pretenda darle, para evitar características posiblemente indeseadas como alta toxicidad, baja biocompatibilidad, baja absorbancia, entre otras [2]. A este tipo de materiales se les ha encontrado aplicaciones en fototerapia [3], diodos orgánicos emisores de luz (OLEDs) [4], administración de fármacos [5], óptica de imagen [6], sensores de iones metálicos [7] o gases [8], celdas solares [9], entre muchas otras aplicaciones.

Debido a la importancia de estos materiales luminiscentes, uno de los métodos más recurridos para la síntesis de este tipo de materiales, incluyendo los compuestos de coordinación de boro luminiscentes, son las reacciones de condensación. Este tipo de reacciones tiene entre sus principales ventajas el hecho que las condiciones de reacción son suaves, las cuales limitan la generación de productos indeseados y favorecen la formación de productos. Sin embargo, su mayor ventaja es su elevada economía atómica barata, ya que durante la reacción solo se pierde agua, y el resto de los átomos presentes quedan incorporados al esqueleto de la estructura final.

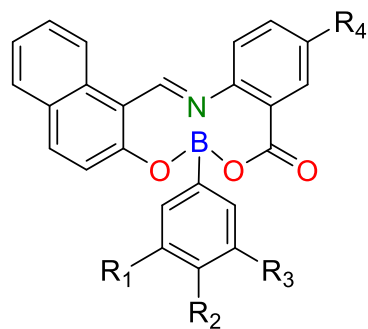
No obstante, los compuestos de coordinación de boro más comunes dentro de aplicaciones que requieren propiedades luminiscentes son los BODIPYs, los dicetonatos y cetoiminatos de boro se pueden considerar como posibles alternativas. Otro tipo de compuestos de coordinación de boro emergente es el de los boranilos, los cuales pueden ser preparados de manera relativamente sencilla por medio de bloques de construcción de los cuales dependen las propiedades del material final [10]. Entre ellos, los iminoboronatos han sido reportados anteriormente como ligeramente luminiscentes en solución, ya que usualmente este tipo de materiales sufren una desactivación de su emisión de fluorescencia en el momento en el que forman agregados, limitando su aplicación como material luminiscente. Sin embargo, también pueden presentar un comportamiento opuesto: si se sustituyen adecuadamente con grupos aromáticos rotantes, se puede observar un mejoramiento de la emisión inducida por agregación.

En ese sentido, la emisión inducida por agregación (AIE) es un fenómeno en el cual el sistema en el que se encuentra un material luminiscente favorece la intensidad de dicha luminiscencia, principalmente cuando el material, generalmente en solución, no presenta luminiscencia considerable [11]. Este

fenómeno se da debido a la restricción del movimiento molecular, donde generalmente se pierde parte de la energía en forma de calor, y la ausencia de formación de excímeros. El propósito provocar este fenómeno a través del uso de ciertos sustituyentes aromáticos es incrementar la emisión de fluorescencia de estos materiales, mejorando así sus propiedades y, por ende, su desempeño dentro de la aplicación dada [12].

La microscopía de fluorescencia es una técnica ampliamente utilizada en el área médica y biológica con el fin de monitorear estructuras celulares. Las ventajas de generar imágenes a través de esta técnica son la resolución y sensibilidad que presenta el uso de sondas fluorescentes, ya que incluso a bajas concentraciones es posible observar con claridad las estructuras de interés [13]. Uno de los mayores retos dentro de esta aplicación ha sido evitar la desactivación de la emisión fluorescente de las moléculas cuando se llega a una concentración determinada. El uso de materiales que presentan el fenómeno de AIE son especialmente valiosos, pues el aumento de la concentración dentro del tejido celular favorece la emisión de fluorescencia en lugar de desactivarla, como generalmente ocurre con aquellos materiales que no lo presentan.

El propósito de este proyecto es contribuir con una serie de nuevos materiales luminiscentes derivados de iminoboronatos (**Figura 1**), que pueda tener como potencial aplicación su uso como sonda fluorescente en microscopia de fluorescencia. Los iminoboronatos se obtuvieron a partir de la reacción de un derivado del ácido antranílico, el 2-hidroxi-1-naftaldehído y una serie de análogos orgánicos de boro. Los materiales obtenidos fueron caracterizados mediante Espectroscopia UV-Vis, IR-ATR, experimentos de RMN, DART-MS, Espectroscopia de Fluorescencia Molecular y Difracción de Rayos X en monocristal. Adicionalmente se determinó su citotoxicidad, y su aplicación como sonda fluorescente fue evaluada frente a dos bacterias de importancia clínica (*Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*) mediante microscopia de fluorescencia.



- 1:** R₁ = R₂ = R₃ = H; R₄ = Me
2: R₁ = R₃ = R₄ = Me; R₂ = H
3: R₁ = R₃ = H; R₂ = OMe; R₄ = Me
4: R₁ = R₃ = H, R₂ = (Et)₂N; R₄ = Me
5: R₁ = NO₂; R₂ = R₃ = R₄ = H

Figura 1. Estructura química de los compuestos **1-5** sintetizados en este proyecto.

2. ANTECEDENTES.

2.1. Síntesis de Compuestos de Boro Derivados de Bases de Schiff.

En 2017, V. S. Sadu y colaboradores [14] realizaron una serie de síntesis de compuestos tetracoordinados de boro a partir de 8-hidroxiquinolina, variando condiciones como solventes, fuentes de boro y medios básicos, con el fin de optimizar sus condiciones de reacción. Sus rendimientos químicos fueron variados, siendo más altos los casos en los que se utilizó K_3PO_4 como base y ácido fenilborónico como fuente de boro, obteniendo 86 y 87% al utilizar 1,4-dioxano 0.02 y 0.01 M como solvente, respectivamente. La única instancia en la que se adicionó acetonitrilo 0.07 M y ácido fenilborónico, el rendimiento obtenido fue de tan solo 32%, y la base utilizada fue Cs_2CO_3 . Es importante destacar que la mayoría de esta serie de reacciones se llevó a cabo a temperaturas de 110 °C y agitación por 20 h.

Asimismo, S. Samal y colaboradores [15] llevaron a cabo la síntesis de compuestos de coordinación de boro tetracoordinado a partir de tetraarilimidazoles y $BF_3 \cdot Et_2O$ como fuente de boro. Las reacciones se llevaron a cabo en atmósfera de nitrógeno, donde a una mezcla de imidazol y $BF_3 \cdot Et_2O$ se le añadió N,N-diisopropiletilamina (DIEA), y la mezcla final se dejó en agitación a 40 °C por 2 h. Se determinó que los rendimientos químicos obtenidos para los dos compuestos de boro sintetizados fueron de 60 y 65%, con rendimientos cuánticos de 31 y 34%, respectivamente.

Por otra parte, en 2020, S. Guieu y colaboradores [10] realizaron la síntesis de una serie de iminoboronatos a través de una reacción por multicomponentes de una sola etapa, utilizando ácido borónico, ácido antranílico y distintos salicilaldehídos sustituidos como reactivos principales. Los materiales se prepararon por una doble condensación (12 h a reflujo, con metanol como solvente) entre los salicilaldehídos con ácido antranílico y posteriormente con ácido fenilborónico, obteniendo compuestos de coordinación de boro con rendimientos químicos entre 40 y 95%. En soluciones diluidas, los materiales presentaron rendimientos cuánticos bajos, entre 0.1 y 6.0%. Sin embargo, presentaron el fenómeno de luminiscencia en forma de polvos, siendo el compuesto **1a** el que exhibió un comportamiento AIE, mientras que los demás presentaron desactivación de su emisión en estado sólido, lo cual justificaron a la posible formación de excímeros.

En 2022, G. Y. Ruelas-Álvarez y colaboradores [16] llevaron a cabo la síntesis de compuestos tetracoordinados de boro a partir de 8-hidroxiquinolin-5-sulfonato (8HQSA) y ácidos 3 y 4-piridinborónicos (3PBA y 4PBA), y una mezcla de EtOH/H₂O/DMF como solvente. Dichas reacciones se llevaron a reflujo durante 1 h y se menciona la formación de cristales al enfriarse. Los rendimientos químicos

determinados fueron de 64 y 73% cuando se utilizó 3PBA y 4PBA, respectivamente. Los compuestos resultantes presentaron solvatocromismo, y cuando realizaron pruebas de AIEE en la mezcla de solventes MeOH-THF, observaron un aumento de emisión máximo al 70% THF en concordancia con el resultado esperado a altas concentraciones de THF en la mezcla. Debido a su emisión cercana a 500 nm al excitar a una longitud de onda de 324 nm, presentaron como potencial aplicación su uso en tintas de seguridad.

2.2. Compuestos de Boro Derivados de Bases de Schiff con Aplicaciones Biológicas.

En 2016, D. Ailincal y colaboradores [17] sintetizaron una serie de hidrogeles derivados de iminoboronatos y quitosano por entrecruzamiento dual con un enfoque al estudio de sus propiedades antifúngicas, específicamente contra el género *Candida*. Llevaron a cabo la síntesis con ácido 2-formilfenilborónico y quitosano de bajo peso molecular a una temperatura de 55°C con agitación vigorosa. Los hidrogeles que obtuvieron eran elásticos y altamente resistentes a la deformación, y cuando se realizaron estudios adicionales sobre hongos del género *Candida* comprobaron que presentaban actividad antifúngica intensa.

Por su parte, en 2018, R. M. López y colaboradores [18] reportaron la síntesis de iminoboronatos reversibles de tipo N,O con aplicación en tratamiento de cáncer. Dicha síntesis se llevó a cabo empleando cantidades equimolares de bencilamina, aminofenol y ácido 2-acetilbencenborónico. El arreglo molecular resultante le dio al material la capacidad de presentar un mecanismo de encendido y apagado de fluorescencia, debido a la formación e hidrólisis de un enlace B-O formado. Se hicieron pruebas de transporte de aminocumarina a una muestra de la línea celular MDA-MB-231 (células de cáncer de mama en seres humanos), proceso que se pudo llevar a cabo de manera selectiva.

2.3. Compuestos de Boro Derivados de Bases de Schiff en Tinción de Estructuras Celulares.

En 2017, Y. Wu y colaboradores [19] sintetizaron una serie de compuestos de coordinación de fluoruro de boro derivados de imidazo[1,2-a]piridina y borodipirrometano, a los cuales se les conoce como BODIPYs. Los materiales exhibieron luminiscencia tanto en estado sólido como en solución. Específicamente,

uno de ellos (**4a**) se destaca por su aplicación en tinción de células, específicamente células embrionarias de riñón humano, y su rendimiento cuántico de 90%.

Con ese propósito, en 2018, J. Gao y colaboradores [20] desarrollaron la síntesis de nuevos compuestos de coordinación derivados de BODIPYs. Los compuestos obtenidos fueron capaces de teñir, de manera selectiva, cisteína y homocisteína intracelular. El motivo de su enfoque en cisteína y homocisteína en células es debido a una posible relación entre valores altos o bajos de estos componentes y enfermedades vasculares, renales y neurológicas.

En 2019, M. Ibarra-Rodríguez y colaboradores [21] sintetizaron cuatro nuevos complejos de boro a partir de bases de Schiff. Dichos complejos fueron el resultado de la reacción entre los distintos ligantes y ácido fenilborónico, con acetonitrilo como solvente. Del grupo de complejos sintetizados, los compuestos 1 y 2 fueron los que mostraron baja citotoxicidad, propiedad que les podría permitir ser utilizados en la tinción de células para la elaboración de bioimágenes. Concluyeron que dichos compuestos no presentaron citotoxicidad considerable cuando se hicieron pruebas en células de melanoma, adenocarcinoma colorrectal y carcinoma epidermoide.

2.4. Otros Usos de Compuestos de Boro Derivados de Bases de Schiff.

En 2017, R. Hecht y colaboradores [22] sintetizaron y caracterizaron una serie de moléculas derivadas del 2-(3-boril-2-tienil)tiazol con la finalidad de darles una aplicación como electrónicos orgánicos, y fueron probados en transistores orgánicos de capa fina depositados por vacío (OTFT). Este tipo de compuestos fueron evaluados dada cierta tendencia de los compuestos de coordinación de boro a bajar el nivel LUMO, y combinarlos con la característica de que los heterociclos aromáticos con enlaces C=N tienen una alta afinidad electrónica. Su uso como un potencial semiconductor orgánico tipo N se destacó por un valor moderado de movilidad electrónica de $1.5 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

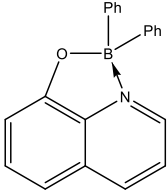
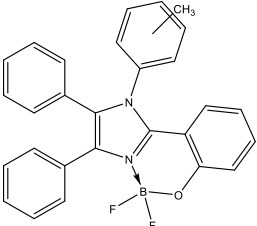
Asimismo, en 2021, K. Paramasivam y colaboradores [23] sintetizaron una serie de compuestos tetracoordinados de boro derivados de quelatos de boro y 2-(*N*-fenilformimino)pirrolil con la intención de ser utilizados en dispositivos OLEDs. El compuesto con el mejor desempeño en su aplicación a OLEDs fue el producto de reacción del 2-(*N*-fenilformimino)pirrol y un exceso de NaH puesto a reflujo en THF por 1 h a temperatura ambiente, para posteriormente añadir 9-cloro-9-borafluoreno y dejarlo en reflujo en tolueno por 12 h. A pesar de haber tenido el rendimiento químico más bajo, de tan solo 35%, resultó ser aquel con el rendimiento cuántico más alto de la serie (40%) y el que presentó la mayor luminancia y eficiencia electroluminiscente al ser aplicado en OLEDs, siendo características deseadas para

este tipo de dispositivos. Aunque estos resultados fueron descritos como decentes en comparación con otros compuestos tetracoordinados de boro previamente reportados para esta aplicación, la optimización de la estructura química de estos compuestos podría incrementar su potencial en dispositivos OLEDs.

Recientemente, en 2022, N. Mehiaoui y colaboradores [24] llevaron a cabo la síntesis de una serie de dicetonatos asimétricos de boro e integrando sistemas *push-pull* caracterizados por grupos donadores y aceptores dentro de la misma molécula. Los ligantes β -dicetona previamente sintetizados se colocaron a reflujo con cloroformo por 30 min seguido de tres extracciones con agua y diclorometano. Obtuvieron rendimientos químicos en un rango de 53 a 95%, y rendimientos cuánticos de hasta 90% en tolueno utilizando cumarina 153 en etanol como referencia para determinar dichos valores. Aunque no se presenta una potencial aplicación, se sabe que las β -dicetonas tienen usos como dispositivos optoelectrónicos o tintes luminiscentes para el campo de generación de bioimágenes o de materiales fotoactivos.

En la **Tabla 1** se presenta una comparativa entre los compuestos de boro reportados en la literatura, resaltando las características de la síntesis realizada y los resultados más relevantes con el propósito de visualizar las bondades de los materiales de boro obtenidos en este trabajo de investigación.

Tabla 1. Resumen de antecedentes relacionados a compuestos de boro derivados de bases de Schiff.

Síntesis de Compuestos de Boro Derivados de Bases de Schiff				
Autor/Año	Estructura química	Fuente de boro	Condiciones de reacción	Aportación
V. S. Sadu, <i>et. al</i> / 2017		PhB(OH) ₂	1,4-dioxano y K ₃ PO ₄ 110 °C / 20 h	Optimización de condiciones para un método de síntesis
S. Samal <i>et. al</i> / 2018		BF ₃ ·Et ₂ O	Atmósfera de N ₂ 40 °C / 2 h	Obtención a partir de tetraarilimidazoles CY = 60 y 65% QY = 31 y 34%

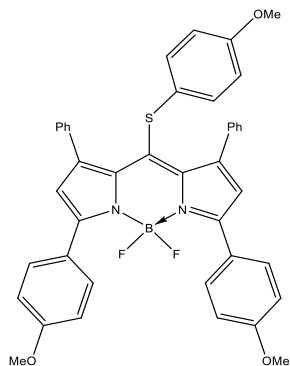
S. Guieu <i>et. al</i> / 2020		PhB(OH) ₂	Multicomponente Metanol Reflujo / 12 h	Obtención de iminoboronatos por multicomponente CY = 40-95% QY = 0.1-6.0%
G. Y. Ruelas- Álvarez <i>et. al</i> / 2022		3PBA 4PBA	EtOH/H ₂ O/DMF Reflujo / 1 h	Solvatocromismo CY = 64 y 73% AIEE en MeOH-THF Potencial uso en tintas de seguridad

Uso de Compuestos de Boro Derivados de Bases de Schiff en Aplicaciones Biológicas

D. Ailincal <i>et. al</i> / 2016		2FPBA	Quitosano de bajo peso molecular 55 °C / agitación	Hidrogeles derivados de iminoboronatos con actividad contra <i>Candida</i>
R. M. Lopes <i>et. al</i> / 2018		2ABBA	H ₂ O y TEA Condensación / 48 h	Encendido y apagado de fluorescencia CY = 42 y 72% Trasporte de aminocumarina a MDA-MB-231

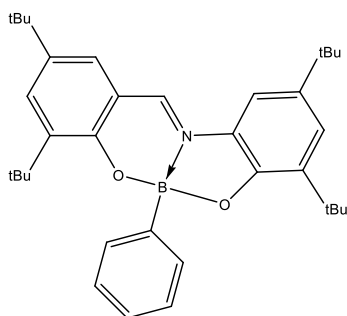
Uso de Compuestos de Boro Derivados de Bases de Schiff en Tinción de Estructuras Celulares

Y. Wu <i>et. al</i> / 2017		BF ₃ ·Et ₂ O	CH ₂ Cl ₂ Agitación T _{amb} / 1 h Adición de fuente de boro y agitación 6 h	Tinción de células embrionarias de riñón humano QY = 90%
-------------------------------	--	------------------------------------	--	---

J. Gao *et. al* /
2018 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$

Trifosgeno

Conversión a
meso-cloro-
BODIPY en
presencia de TMA
y $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$

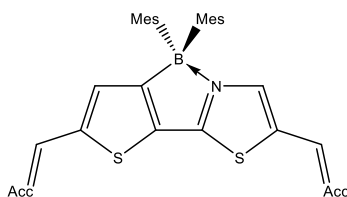
Tinción selectiva de
CYS y HCyIbarra-
Rodríguez *et. al* /
2019 $\text{PhB}(\text{OH})_2$

ACN

Reflujo / 48 h

Baja citotoxicidad
frente a melanoma,
adenocarcinoma
colorrectal y
carcinoma
epidermoide

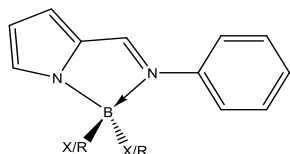
Otros Usos de Compuestos de Boro Derivados de Bases de Schiff

R. Hecht *et. al* /
2017 Mes_2BF *n*BuLi y DMF

Condensación de
Knoevenagel
posterior / 60 °C

Movilidad electrónica
de $1.5 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$

Potencial uso como
semiconductor
orgánico tipo N

K. Paramasivam
et. al / 2021

9C9BF

Reflujo THF / 1 h

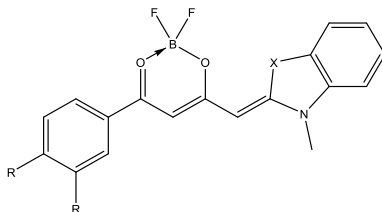
Adición de 9C9BF
y reflujo en tolueno
/ 12 h

Mejor candidato para
la aplicación:

CY = 35%

QY = 40%

Potencial uso en
OLEDs

N. Mehiaoui *et. al* / 2022 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ Reflujo en CHCl_3 /
30 min

Tres extracciones
en $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$

Dicetonatos
asimétricos con
sistema *push-pull*

CY = 53-95%
QY = 90% (más alto)

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.

3.1. Hipótesis.

Los materiales luminiscentes basados en iminoboronatos presenta el fenómeno de emisión inducida por agregación, lo cual permite su potencial aplicación en microscopía de imagen.

3.2. Objetivos.

3.2.1. Objetivo General.

Sintetizar cuatro nuevos materiales luminiscentes derivados de iminoboronatos para su potencial uso como sonda fluorescente frente bacterias mediante microscopia de fluorescencia.

3.2.2. Objetivos Específicos.

1. Sintetizar cuatro nuevos materiales luminiscentes derivados de iminoboronatos mediante reacciones de condensación en medio aprótico
2. Caracterizar los iminoboronatos resultantes mediante Espectroscopia UV-Vis, IR-ATR, experimentos de RMN (^1H , ^{13}C y ^{11}B), DART-MS, Espectroscopia de Fluorescencia Molecular y Difracción de Rayos X de monocristal
3. Estudiar las propiedades de emisión inducida de agregación de los nuevos materiales luminiscentes
4. Determinar la viabilidad de los nuevos materiales luminiscentes derivados de iminoboronatos
5. Obtener bioimágenes de las bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* a través de un microscopio de fluorescencia

4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.

4.1. Reactivos y Equipos.

Este trabajo de tesis se llevó a cabo en el Laboratorio de Química Industrial ubicado en el Centro de Laboratorios Especializados (CELAES) de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León (FCQ-UANL). Los reactivos utilizados en este proyecto fueron obtenidos del proveedor Sigma Aldrich, y los solventes fueron empleados sin purificación adicional. En la **Tabla 2** se resumen los equipos utilizados y sus respectivas ubicaciones.

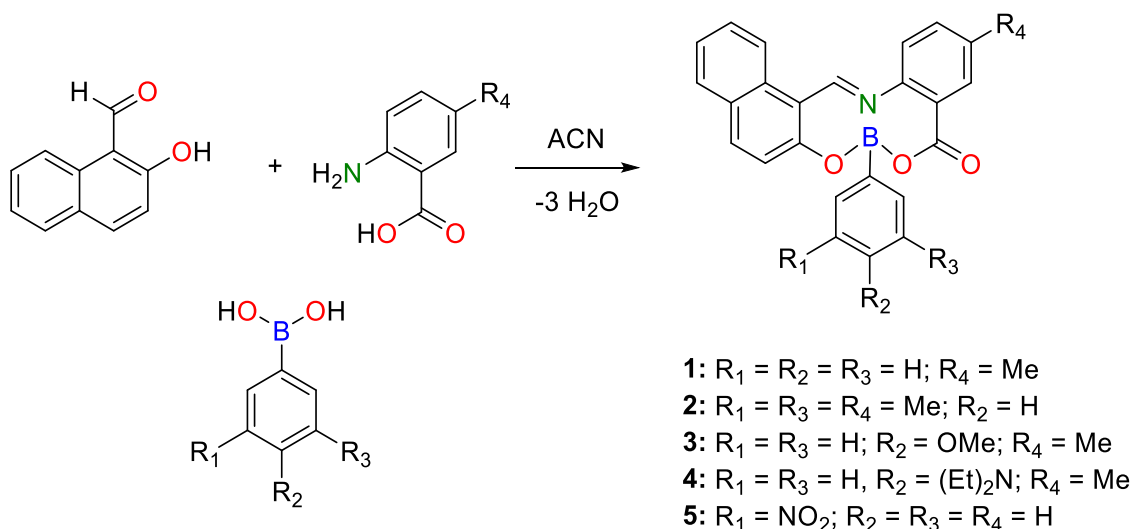
Tabla 2. Ubicación de los equipos utilizados.

<i>Equipo</i>	<i>Ubicación</i>
Resonancia Magnética Multinuclear Bruker Advance DPX	CIQA-Salttillo
IR 1600 Perkin Elmer	FCQ-UANL
Espectrometría de Masas DART-TOF- MS	Laboratorio de Análisis y Diagnóstico del Patrimonio-Colegio de Michoacán
UV-Vis Espectrofotómetro Shimadzu 2401 PC	FCQ-UANL
Fluorómetro Perkin Elmer LS 50B	FCQ-UANL

4.2. Síntesis

La síntesis de los compuestos **1-5** se realizó a través de una serie de reacciones de condensación en una sola etapa en un solvente aprótico bajo calentamiento convencional así como vía microondas. Para los compuestos **1-4**, se utilizaron cantidades equimolares de 2-hidroxi-1-naftaldehído (100 mg, 0.58 mmol), ácido 2-amino-5-metilbenzoico (87.8 mg, 0.58 mmol) y distintos análogos orgánicos de boro. En el caso del compuesto **5**, se emplearon cantidades equimolares de 2-

hidroxi-1-naftaldehído (100 mg, 0.58 mmol), ácido antranílico (79.6 mg, 0.58 mmol) y un análogo nitrado de boro (97.0 mg, 0.58 mmol). En todos los casos, la formación del producto de interés se monitoreó mediante cromatografía de capa delgada (**Esquema 1**). Los precipitados sólidos obtenidos se lavaron y filtraron con hexano.



Esquema 1. Ruta de síntesis para la serie de iminoboronatos **1-5**.

(E)-3-metil-7-fenil-5H-benzo[h]nafto[2,1-d][1,3,7,2]dioxazaborecin-5-ona (**1**):

Sólido naranja; 96% (218.4 mg, 0.557 mmol); T_{fus}: 266-268 °C; FT/IR_{νmax}(cm⁻¹): 3065 (C-H_{Ar}), 1681 (C=O), 1611 (C=C_{Ar}), 1595 (C=C_{Ar}), 1541 (C=N), 1458, 1311 (-CH_{3sim}), 1196 (B-O), 1029 (-CH_{3asim}), 957 (B-N), 825, 742, 699; UV/Vis (CHCl₃): λ_{Abs}(nm), [ε_{max}*10⁴(M⁻¹cm⁻¹): 452 (1.05), 361 (0.85); Fluorescencia (CHCl₃): λ_{fluor}(nm): 385, 403; ¹H NMR (CDCl₃, 400.16 MHz), δ (ppm): 9.30 (s, 1H, H-11), 8.10 (d, J=8.4 Hz, 1H, H-13), 8.06 (s, 1H, H-16), 8.03 (d, J=8.0 Hz, 1H, H-14), 7.80 (d, J=8.4 Hz, 1H, H-4), 7.66 (t, J=8.0 Hz, 1H, H-8), 7.63 (t, J=8.0 Hz, 1H, H-7), 7.46-7.49 (m, 2H, H-6, H-9), 7.31-7.33 (m, 2H, H-20, H-24), 7.20 (d, J=8.0 Hz, 1H, H-3), 7.11-7.13 (m, 3H, H-21, H-22, H-23), 2.40 (s, 3H, H-25); ¹³C RMN {¹H}(100.14 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 162.88 (C-18), 161.98 (C-2, C-12), 151.91 (C-11), 142.14 (C-14), 139.92 (C-19), 138.01 (C-17), 135.14 (C-6), 132.56 (C-16), 131.81 (C-15), 130.75 (C-20, C-24), 130.11 (C-4), 129.86 (C-8), 128.18 (C-5), 128.09 (C-22), 127.68 (C-21, C-23), 125.31 (C-9), 124.37 (C-10), 121.16 (C-3), 119.17 (C-13), 117.49 (C-7), 109.02 (C-1), 21.22 (C-25); ¹H/¹³C HETCOR correlación [δ_H/δ_C]: 9.30/151.91 (H-11/C-11), 8.10/119.17 (H-13/C-13), 8.06/132.56 (H-16/C-16), 8.03/142.14 (H-14/C-14), 7.80/130.11 (H-4/C-4),

7.66/129.86 (H-8/C-8), 7.63/117.49 (H-7/C-7), 7.46-7.49/135.14 (H-6/C-6), 7.46-7.49/125.31 (H-9/C-9), 7.31-7.33/130.75 (H-20, H-24/C-20, C-24), 7.20/121.16 (H-3/C-3), 7.11-7.13/128.09 (H-22/C-22), 7.11-7.13/127.68 (H-21, H-23/C-21, C-23), 2.40/21.22 (H-25/C-25); ^{11}B RMN (128 MHz, CDCl_3) δ : 5.67 ppm; DART-HRMS calc. para $[(\text{C}_{25}\text{H}_{18}\text{BNO}_3 + \text{H})^+]$: 392.2343; Encontrada: 392.2309 u.m.a.

(E)-7-(3,5-dimetilfenil)-3-metil-5H-benzo[h]nafto[2,1-d][1,3,7,2]dioxazaborecin-5-ona (**2**):

Sólido amarillo, 94% (229.1 mg, 0.545 mmol). T_{fus} : 242-244 °C; FTIR $_{\text{vmax}}$ (cm^{-1}): 2908 (C-H $_{\text{Ar}}$), 1681 (C=O), 1621 (C=C $_{\text{Ar}}$), 1597 (C=C $_{\text{Ar}}$), 1544 (C=N), 1459, 1390, 1322(-CH $_{3\text{sim}}$), 1200 (B-O), 1162 (-CH $_{3\text{asim}}$), 1021 (B-N), 846, 828, 741; UV/Vis (CHCl_3): λ_{Abs} (nm), $[\epsilon_{\text{max}} \cdot 10^4 (\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1})]$: 453 (0.55), 350 (0.85); Fluorescencia (CHCl_3): λ_{fluor} (nm): 407; ^1H RMN (CDCl_3 , 400.16 MHz), δ (ppm): 9.31 (s, 1H, H-11), 8.12 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H-13), 8.07 (s, 1H, H-16), 8.05 (d, J =9.2 Hz, 1H, H-14), 7.81 (d, J =8.0 Hz, 1H, H-4), 7.68 (t, J =8.0 Hz, 1H, H-8), 7.63 (t, J =8.5 Hz, 1H, H-7), 7.49 (d, J =9.1 Hz, 2H, H-6, H-9), 7.21 (d, J =9.1 Hz, 1H, H-3), 6.94 (s, 2H, H-20, H-24), 6.79 (s, 1H, H-22), 2.42 (s, 3H, H-25), 2.14 (s, 6H, H-26, H-27); ^{13}C RMN $\{^1\text{H}\}$ (100.14 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 162.94 (C-18), 162.01 (C-2, C-12), 152.04 (C-11), 142.06 (C-14), 139.84 (C-19), 138.20 (C-17), 136.89 (C-21, C-23), 135.06 (C-6), 132.64 (C-16), 131.86 (C-15), 130.14 (C-4), 129.95 (C-22), 129.79 (C-8), 128.53 (C-20, C-24), 128.19 (C-5), 125.26 (C-9), 124.51 (C-10), 121.37 (C-3), 119.12 (C-13), 117.45 (C-7), 108.85 (C-1), 21.50 (C-26, C-27), 21.24 (C-25); $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HETCOR correlación [$\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$]: 9.31/152.04 (H-11/C-11), 8.12/119.12 (H-13/C-13), 8.07/132.64 (H-16/C-16), 8.05/142.06 (H-14/C-14), 7.81/130.14 (H-4/C-4), 7.68/129.79 (H-8/C-8), 7.63/117.46 (H-7/C-7), 7.49/135.06 (H-6/C-6), 7.49/125.26 (H-9/C-9), 7.21/121.37 (H-3/C-3), 6.94/128.53 (H-20, H-24/C-20, C-24), 6.79/129.95 (H-22/C-22), 2.42/21.24 (H-25/C-25), 2.14/21.50 (H-26, H-27/C-26, C-27); ^{11}B RMN (128 MHz, CDCl_3) δ : 5.71 ppm; DART-HRMS calc. para $[(\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{BNO}_3 + \text{H})^+]$: 420.2874; Encontrada.: 420.2735 u.m.a.

(E)-7-(4-metoxifenil)-3-metil-5H-benzo[h]nafto[2,1-d][1,3,7,2]dioxazaborecin-5-ona (**3**):

Sólido naranja; 98% (240.0 mg, 0.568 mmol). T_{fus} : 278-280 °C; FT/IR $_{\text{vmax}}$ (cm^{-1}): 3343, 3035 (C-H $_{\text{Ar}}$), 1672 (C=O), 1598 (C=C $_{\text{Ar}}$), 1543 (C=N), 1460, 1391, 1315 (-CH $_{3\text{sim}}$), 1287, 1164 (B-O), 1027 (-CH $_{3\text{asim}}$), 956 (B-N), 818, 782, 742; UV/Vis (CHCl_3): λ_{Abs} (nm), $[\epsilon_{\text{max}} \cdot 10^4 (\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1})]$: 451 (1.22), 360 (1.10); Fluorescencia (CHCl_3): λ_{fluor} (nm): 409; ^1H RMN (CDCl_3 , 400.16 MHz), δ (ppm): 9.29 (s, 1H, H-11), 8.09 (d, J =8.3 Hz, 1H, H-13), 8.08 (s, 1H, H-16), 8.05 (d, J =9.2 Hz, 1H, H-

14), 7.81 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-4), 7.67 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, H-8), 7.62 (t, $J=8.2$ Hz, 1H, H-7), 7.48 (d, $J=7.8$ Hz, 2H, H-6, H-9), 7.25 (s, 2H, H-21, H-23), 7.23 (d, $J=10.5$ Hz, 1H, H-3), 6.67 (d, $J=8.5$ Hz, 2H, H-20, H-24), 3.67 (s, 3H, H-26), 2.43 (s, 3H, H-25); ^{13}C RMN $\{^1\text{H}\}$ (100.14 Hz, CDCl_3) δ (ppm): 162.97 (C-18), 162.00 (C-2, C-12), 159.67 (C-22), 151.65 (C-11), 142.09 (C-14), 139.91 (C-19), 138.07 (C-17), 135.08 (C-6), 132.64 (C-16), 132.09 (C-21, C-23), 131.83 (C-15), 130.14 (C-4), 129.83 (C-8), 128.19 (C-5), 125.30 (C-9), 124.42 (C-10), 121.27 (C-3), 119.11 (C-13), 117.40 (C-7), 113.25 (C-20, C-24), 108.97 (C-1), 55.04 (C-26), 21.25 (C-25); $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HETCOR correlación [$\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$]: 9.31/151.65 (H-11/C-11), 8.09/119.11 (H-13/C-13), 8.08/132.64 (H-16/C-16), 8.05/142.09 (H-14/C-14), 7.81/130.14 (H-4/C-4), 7.67/129.83 (H-8/C-8), 7.62/117.40 (H-7/C-7), 7.48/135.08 (H-6/C-6), 7.48/125.30 (H-9/C-9), 7.25/132.09 (H-21, H-23/C-21, C-23), 7.23/121.27 (H-3/C-3), 6.67/113.25 (H-20, H-24/C-20, C-24), 3.67/55.04 (H-26/C-26), 2.43/21.25 (H-25/C-25); ^{11}B RMN (128 MHz, CDCl_3) δ : 5.77 ppm; DART-HRMS calc. para $[(\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{BNO}_4 + \text{H})^+]$: 422.2602; Encontrada: 422.2594 u.m.a

(E)-7-(4-(dietilamino)fenil)-3-metil-5H-benzo[h]nafto[2,1-d][1,3,7,2]dioxazaborecin-5-ona (4):

Sólido rojo-marrón, 65% (174.7 mg, 0.377 mmol). T_{fus} : >390 °C; FT/IR $_{\text{vmax}}$ (cm^{-1}): 2969 (C-H $_{\text{Ar}}$), 1673 (C=O), 1610 (C=C $_{\text{Ar}}$), 1598 (C=C $_{\text{Ar}}$), 1544 (C=N), 1460, 1393, 1323 (-CH $_{3\text{sim}}$), 1191 (B-O), 1151, 1027 (-CH $_{3\text{asim}}$), 948 (B-N), 829, 746; UV/Vis (CHCl_3): λ_{Abs} (nm), [$\epsilon_{\text{max}} \cdot 10^4 (\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1})$]: 429 (1.22), 357 (0.96); Fluorescencia (CHCl_3): λ_{fluor} (nm): Sin emisión; ^1H RMN (CDCl_3 , 400.16 MHz) δ (ppm): 9.26 (s, 1H, H-11), 8.08 (d, $J=7.5$ Hz, 1H, H-13), 8.07 (s, 1H, H-16), 8.02 (d, $J=9.1$ Hz, 1H, H-14), 7.79 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-4), 7.65 (t, $J=7.3$ Hz, 1H, H-8), 7.61 (t, $J=8.2$ Hz, 1H, H-7), 7.46 (d, $J=7.4$ Hz, 2H, H-6, H-9), 7.22 (d, $J=9.0$ Hz, 1H, H-3), 7.16 (d, $J=8.6$ Hz, 2H, H-21, H-23), 6.44 (d, $J=8.6$ Hz, 2H, H-20, H-24), 3.21 (q, $J_1=13.9$ Hz, $J_2=7.0$ Hz, 4H, H-26, H-27), 2.42 (s, 3H, H-25), 1.04 (t, $J=7.0$ Hz, 6H, H-28, H-29); ^{13}C RMN $\{^1\text{H}\}$ (100, CDCl_3) δ (ppm): 163.05 (C-18), 162.17 (C-2, C-12), 151.20 (C-11), 147.81 (C-22), 141.64 (C-14), 139.64 (C-19), 138.22 (C-17), 134.90 (C-6), 132.60 (C-16), 132.04 (C-21, C-23), 131.91 (C-15), 130.05 (C-4), 129.65 (C-8), 128.11 (C-5), 125.10 (C-9), 124.47 (C-10), 121.45 (C-3), 119.10 (C-13), 117.41 (C-7), 110.89 (C-20, C-24), 109.02 (C-1), 44.16 (C-26, C-27), 21.23 (C-25), 12.75 (C-28, C-29); $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HETCOR correlación [$\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$]: 9.26/151.20 (H-11/C-11), 8.08/119.10 (H-13/C-13), 8.07/132.60 (H-16/C-16), 8.02/141.64 (H-14/C-14), 7.79/130.05 (H-4/C-4), 7.65/129.65 (H-8/C-8), 7.61/117.41 (H-7/C-7), 7.46/134.90 (H-6/C-6), 7.46/125.10 (H-9/C-9), 7.22/121.45 (H-3/C-3), 7.16/132.04 (H-21, H-23/C-21, C-23), 6.44/110.89 (H-20, H-24/C-20, C-24), 3.21/44.16 (H-26, H-27/C-26, C-27), 2.42/21.23 (H-25/C-25), 1.04/12.75 (H-28, H-29/C-28, C-29); ^{11}B RMN (128 MHz, CDCl_3) δ : 6.20 ppm; DART-HRMS calc. para $[(\text{C}_{29}\text{H}_{27}\text{BN}_2\text{O}_3 + \text{H})^+]$: 463.3552; Encontrada: 463.3479

(E)-7-(3-nitrofenil)-5H-benzo[h]nafto[2,1-d][1,3,7,2]dioxazaborecin-5-ona (5):

Sólido amarillo, 90% (220.4 mg, 0.522 mmol). T_{fus} : 252-254 °C; FT/IR $_{\text{umax}}$ (cm⁻¹): 3082 (C-H_{Ar}), 1705 (C=O), 1619 (C=C_{Ar}), 1596 (C=C_{Ar}), 1545 (C=N), 1461 (-NO_{2sim}), 1397 (-NO_{2asim}), 1338, 1299, 1201 (B-O), 1095, 968 (B-N), 836, 753, 723; UV/Vis (CHCl₃): λ_{Abs} (nm), [$\epsilon_{\text{max}} \cdot 10^4$ (M⁻¹cm⁻¹)]: 450 (0.95), 365 (0.76); Fluorescencia (CHCl₃): λ_{fluor} (nm): 515; ¹H RMN (DMSO-d₆, 400.16 MHz), δ (ppm): 10.03 (s, 1H, H-11), 8.71 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, H-3), 8.55 (d, $J=8.2$ Hz, 1H- H-13), 8.34 (d, $J=9.1$ Hz, 1H, H-16), 8.06 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, H-22), 8.03 (s, 1H, H-24), 7.98 (d, $J=7.8$ Hz, 2H, H-6, H-9), 7.89 (t, $J=7.4$ Hz, 1H, H-14), 7.77 (t, $J=7.5$ Hz, 1H, H-15), 7.67 (d, $J=7.3$ Hz, 1H, H-4), 7.59 (t, $J=7.5$ Hz, 1H, H-8), 7.55 (t, $J=7.5$ Hz, 1H, H-7), 7.43 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, H-21), 7.30 (d, $J=9.0$ Hz, 1H, H-20); ¹³C NMR {¹H} (100, CDCl₃) δ (ppm): 161.57 (C-18), 161.27 (C-2, C-12), 158.37 (C-11), 148.05 (C-23), 143.02 (C-16), 140.64 (C-19), 137.62 (C-4), 135.38 (C-14), 132.39 (C-17), 131.14 (C-22), 130.12 (C-15), 130.03 (C-6), 129.84 (C-21), 129.75 (C-8), 128.43 (C-5), 125.90 (C-7), 124.82 (C-24), 123.69 (C-10), 123.29 (C-9), 122.46 (C-3), 121.23 (C-13), 120.48 (C-20), 109.65 (C-1); ¹H/¹³C HETCOR correlación [$\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$]: 10.03/158.37 (H-11/C-11), 8.71/122.46 (H-3/C-3), 8.55/121.23 (H-13/C-13), 8.34/143.02 (H-16/C-16), 8.06/131.14 (H-22/C-22), 8.03/124.82 (H-24/C-24), 7.98/130.03 (H-6/C-6), 7.98/123.29 (H-9/C-9), 7.89/135.38 (H-14/C-14), 7.77/130.12 (H-15/C-15), 7.67/137.62 (H-4/C-4), 7.59/129.75 (H-8/C-8); ¹¹B RMN (128 MHz, DMSO-d₆) δ : 4.68 ppm; DART-HRMS calc. para [(C₂₄H₁₅BN₂O₅+H)⁺]: 422.2030 u.m.a; Encontrada: Resultado pendiente*

4.3. Caracterización.

4.3.1. Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

Los espectros de RMN de ¹H, ¹³C y ¹¹B de las moléculas sintetizadas fueron obtenidos en cloroformo deuterado (CDCl₃) en un equipo Bruker Advance DPX 400. Los desplazamientos químicos (en ppm) fueron relativos al (CH₃)₄Si para ¹H y ¹³C y al BF₃·OEt₂ para ¹¹B.

4.3.2. Espectroscopía Infrarroja (IR-ATR).

Los espectros de IR de los compuestos sintetizados fueron obtenidos por medio de un espectrofotómetro FT-IR Bruker Tensor 27 equipado con un accesorio ATR Pike Miracle, con un cristal de ZnSe de reflexión única.

4.3.3. Espectrometría de Masas (DART-MS).

Los espectros de masas de alta resolución fueron obtenidos a través de un sistema DART-HRMS compuesto de un DART SI-140-GIST (DART Thermo Ion

Max Vapor Interface, Ion Sense Inc. Saugus, MA, USA) acoplado a un espectrómetro de masas Exactive™ non-hybrid single-stage Orbitrap. El equipo de DART-HRMS fue operado en modo positivo.

4.3.4. Espectroscopía Ultravioleta-Visible (UV-Vis).

Para realizar la caracterización fotofísica, se utilizó acetonitrilo grado espectroscópico para preparar las soluciones. Los espectros de absorción de UV-Vis fueron medidos en un espectrofotómetro Varian Cary 100. La brecha energética óptica ($E_{g\text{ opt}}$) se determinó por la intersección entre una tangente en el espectro de absorción normalizado (al inicio de la banda de absorción) y el eje X.

4.3.5. Espectroscopía de Fluorescencia Molecular.

Los espectros de emisión y excitación fueron obtenidos a través de un espectrofluorómetro Perkin Elmer LS 50B. Los espectros de emisión se obtuvieron excitando a 10 nm debajo del máximo de absorción, mientras que los espectros de excitación se generaron a la longitud de onda del máximo de emisión. Los rendimientos cuánticos de fluorescencia (ϕ) fueron determinados utilizando un estándar de sulfato de quinina en H_2SO_4 0.1 M ($\phi = 0.546$ a 310 nm), como ha sido reportado en la literatura [25]. Se prepararon tres soluciones para cada compuesto, cuya absorbancia a la longitud de onda de excitación fue menor a 0.1, y se determinó un rendimiento cuántico promedio. La energía del primer estado excitado $E_{1,0}$ se obtuvo a partir de la intersección entre los espectros normalizados de absorción y emisión para cada caso.

4.4. Estudios de Citotoxicidad.

Con la finalidad de observar la actividad biológica de la serie de compuestos, se utilizaron tres concentraciones diferentes para cada uno de los cinco compuestos sintetizados, siendo estas 1, 10 y 100 ppm. Dichos compuestos fueron probados frente a dos bacterias: *Escherichia coli* como modelo Gram negativo, y *Staphylococcus aureus* como modelo Gram positivo. El agar utilizado en los tubos de siembra y las cajas Petri fue elaborado con agar bacteriológico y caldo Luria-Bertani (LB). El total de experimentos por cada bacteria a cada concentración fue de 18, considerando los cinco compuestos diferentes, su respectivo control positivo y la realización de dichos experimentos por triplicado.

4.4.1. Reactivación de las bacterias.

Con el propósito de trabajar con cultivos jóvenes, las cepas proporcionadas fueron sembradas en tubos con agar inclinado, y se incubaron a 37 °C por 16 h. Se prepararon cultivos previos en tubos con caldo LB, los cuales se incubaron a 37 °C por 16 h. A partir de los tubos preparados se realizó una resiembra en matraces con caldo LB, adicionando 1 mL de cultivo previo y ajustando al estándar 2 de la escala McFarland de turbidez, el cual se alcanzó después de un periodo de incubación de 4 h a 37 °C.

4.4.2. Adición de los compuestos sintetizados.

Posterior al tiempo de incubación se transfirió 1 mL a cada tubo eppendorf a utilizar. Los eppendorf fueron centrifugados en una microcentrífuga Beckman Coulter Microfuge 16 Centrifuge a 14,000 rpm por 10 min. Los eppendorf se decantaron y a los pellets resultantes se les añadieron los compuestos de boro según fuese el caso: se partió de una solución patrón de 1000 ppm de cada compuesto disuelto en DMSO, y se añadieron 1, 10 y 100 µL para los tubos de 1, 10 y 100 ppm, respectivamente, y se completaron a 1 mL con agua desionizada; al control positivo se le añadió únicamente 1 mL de agua desionizada. Los tubos se dejaron incubar por 2 h a 37 °C.

4.4.3. Dilución y siembra en cajas Petri.

Previo a la siembra en cajas Petri, se realizaron lavados con agua desionizada, centrifugando a 14,000 rpm por 10 min antes de añadir 1 mL de agua desionizada y resuspender las muestras para centrifugar una vez más y repitiendo este proceso dos veces adicionales, finalmente añadiendo 0.5 mL de agua desionizada. A partir de estas muestras se tomaron 10 µL para realizar la primera dilución, y 100 µL de cada dilución para las diluciones sucesivas. Las cajas Petri se sembraron utilizando 100 µL de la última dilución realizada, distribuyendo el inóculo sobre el agar con una varilla de vidrio. En el caso de *E. coli* la dilución sembrada fue la quinta, mientras que para *S. aureus*, se trabajó con la cuarta dilución, con el fin de obtener cajas Petri con una cantidad moderada de colonias al realizar el conteo.

4.5. Estudios de Inhibición.

Para llevar a cabo las pruebas de actividad inhibitoria se utilizaron cajas Petri con 20 mL de agar LB. El inóculo a utilizar se ajustó de manera similar a la descrita en la sección 4.4.2. (con el fin de obtener una concentración celular de

aproximadamente 3×10^8 UFC/mL), y se colocaron 200 μ L de inóculo en la caja. Posteriormente, a cada disco se le añadió 10 μ L de compuesto (así como amikacina al control positivo y agua desionizada al control negativo), y se dejó absorber por aproximadamente 20 min antes de un periodo de incubación de 24 h a 37 °C.

4.6. Estudios de Emisión Inducida por Agregación (AIE).

Con el propósito de evaluar la presencia del fenómeno de emisión inducida por agregación en los compuestos sintetizados, se elaboraron soluciones con fracciones variables de THF y agua, con el fin de que fueran mezclas miscibles. Para esto se ajustaron soluciones de los compuestos en THF a absorbancias menores a 0.1. En una serie de viales se prepararon soluciones a 0, 20, 40, 60, 80 y 90% de agua respecto al volumen total. A los viales previamente preparados con las cantidades de agua necesarias se les inyectaron cantidades variables de las soluciones en THF hasta alcanzar los porcentajes previamente mencionados. Los rendimientos cuánticos se calcularon de la misma manera descrita en la sección 4.3.5, con sulfato de quinina en H₂SO₄ 0.1 M como referencia.

4.7. Obtención de Bioimágenes.

4.7.1. Preparación de frotis.

Las muestras a utilizar para llevar a cabo la obtención de las bioimágenes se prepararon colocando sobre un portaobjetos una gota de agua desionizada. Con un asa bacteriológica previamente flameada se tomó una pequeña muestra de cada eppendorf, para ser dispersada en la gota de agua colocada en el portaobjetos. Después de un periodo de secado a temperatura ambiente, se fijaron los portaobjetos y se prepararon para su análisis.

4.7.2. Análisis y obtención de bioimágenes.

Los frotis preparados fueron analizados en un microscopio de epifluorescencia en el Instituto de Neurobiología-UNAM Campus Juriquilla. Las propiedades fotofísicas de absorción y emisión de cada uno de los compuestos fueron consideradas para las condiciones de análisis en el microscopio. Se tomaron imágenes en campo claro y oscuro, además de una transición intermedia con el fin de distinguir casos de internalización de compuesto de oclusión de cristales.

4.8. Manejo de Residuos.

Los residuos peligrosos generados fueron dispuestos de acuerdo con el plan integral de residuos peligrosos de la Universidad Autónoma de Nuevo León, de la manera descrita en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Disposición de los residuos generados durante la síntesis y caracterización de los compuestos **1-5**.

Residuo	Clasificación	Disposición
THF/ACN	Solventes orgánicos no halogenados	Contenedor C
CHCl ₃	Solventes orgánicos halogenados	Contenedor D
H ₂ SO ₄ 0.1 M	Ácidos inorgánicos	Contenedor A

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Síntesis.

La síntesis de la serie de compuestos derivados de iminoboronatos fueron obtenidos como sólidos de colores variables entre amarillo y rojo. Para el método convencional, los rendimientos químicos de los productos de reacciones de condensación fueron determinados y se encontró que estuvieron en un rango de 90 a 98%, con excepción del compuesto **4** cuyo rendimiento químico fue considerablemente más bajo, siendo de 63%. Dentro de las posibles justificaciones consideradas para este valor más bajo se encuentra la inestabilidad de dicho éster de iminoboronato en el solvente aprótico seleccionado, pero serían necesarios estudios posteriores para confirmarlo, ya que los compuestos **1-3** cuya estructura química es bastante similar no parecen presentar este problema, por lo que la complicación podría radicar en la presencia del grupo dietilamino.

Por otro lado, se realizaron las mismas síntesis por el método asistido por microondas, donde los rendimientos químicos obtenidos fueron más bajos que aquellos obtenidos por el método convencional, ya que los valores se encontraron en un rango de 82 a 86%. En la **Tabla 4** se encuentran detallados los rendimientos químicos para cada compuesto y sus respectivos métodos de síntesis, así como las condiciones bajo las cuales se realizaron los experimentos.

Tabla 4. Condiciones y rendimientos de reacción de los compuestos sintetizados.

Comp	Fuente de boro	Convencional			Microondas			Parámetros verdes	
		Tiempo (min)	Temp (°C)	Rend químico (%)	Tiempo (min)	Temp (°C)	Rend químico (%)	Economía atómica (%)	Factor ambiental (%)
1	C ₆ H ₇ BO ₂	25	82	96	5	110	86	88	12
2	C ₈ H ₁₁ BO ₂			94			83	89	11
3	C ₇ H ₉ BO ₃			98			82	89	11
4	C ₁₀ H ₁₆ BO ₂			63			83	90	10
5	C ₆ H ₆ BNO ₄			90	-	-	-	89	11

Cabe destacar que la obtención de iminoboronatos a través de reacciones de condensación cuenta con importantes ventajas sobre otros métodos de obtención

de este tipo de compuestos, como lo son tiempos cortos de reacción, condiciones atmosféricas de presión, ausencia de catalizadores o atmósferas especiales, obtención de agua como único subproducto de reacción, y rendimientos químicos altos.

Posterior a su síntesis, se realizaron pruebas de solubilidad de cada uno de los compuestos sintetizados en una variedad de solventes de uso común en el laboratorio (**Tabla 5**). Se encontró que los compuestos son altamente solubles en solventes orgánicos comunes como cloroformo, tetrahidrofurano y acetona.

Tabla 5. Solubilidad de los compuestos **1-5** en distintos solventes orgánicos.

<i>Compuesto</i>	<i>Hexano</i>	<i>Acetona</i>	<i>AcOEt</i>	<i>THF</i>	<i>CHCl₃</i>	<i>MeOH</i>	<i>ACN</i>
1	-	++	+	++	++	+	+
2	-	++	+	++	++	+	+
3	-	++	+	++	++	+	+
4	-	++	+	++	+	+	+
5	-	++	+	++	+	+	+

-: Insoluble, +: Moderadamente soluble, ++: Soluble

Adicional a las pruebas de solubilidad, se determinaron los puntos de fusión de los compuestos obtenidos, que alcanzaron temperaturas cercanas entre 240 y 280 °C (**Tabla 6**). En el caso del compuesto **4**, se alcanzó el límite del termómetro empleado sin observar cambios significativos de color o estado de la materia, por lo que se estableció que su punto de fusión debe ser mayor a 390 °C.

Tabla 6. Propiedades físicas de los compuestos **1-5**.

<i>Compuesto</i>	<i>T_{fus} (°C)</i>	<i>Color</i>	<i>Imagen</i>
1	256-258	Naranja	
2	278-281	Amarillo	
3	242-245	Naranja	
4	>390	Rojo-marrón	
5	252-254 °C	Amarillo	

5.2. Caracterización Estructural.

5.2.1. Resonancia Magnética Nuclear de ¹H, ¹³C y ¹¹B.

Para llevar a cabo la primera parte de la caracterización estructural, se realizaron experimentos de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de ¹H, ¹³C y ¹¹B. En la **Figura 2** se encuentra el espectro de RMN ¹H correspondiente al compuesto **1**, cuya señal más destacable es aquella que corresponde al H-11, es decir, al protón imínico, ya que confirma la formación del grupo imino posterior a la reacción de condensación por multicomponente. Se observó que el desplazamiento de esta señal se ve afectado por los grupos donadores presentes en posiciones *meta* y *para* del anillo de fenilo terminal en los compuestos **1-4** (encontrando valores entre 9.26 y 9.31 ppm), así como la presencia de un grupo electro sustractor para el caso del compuesto **5**, cuyo valor se desplazó a 10.03 ppm.

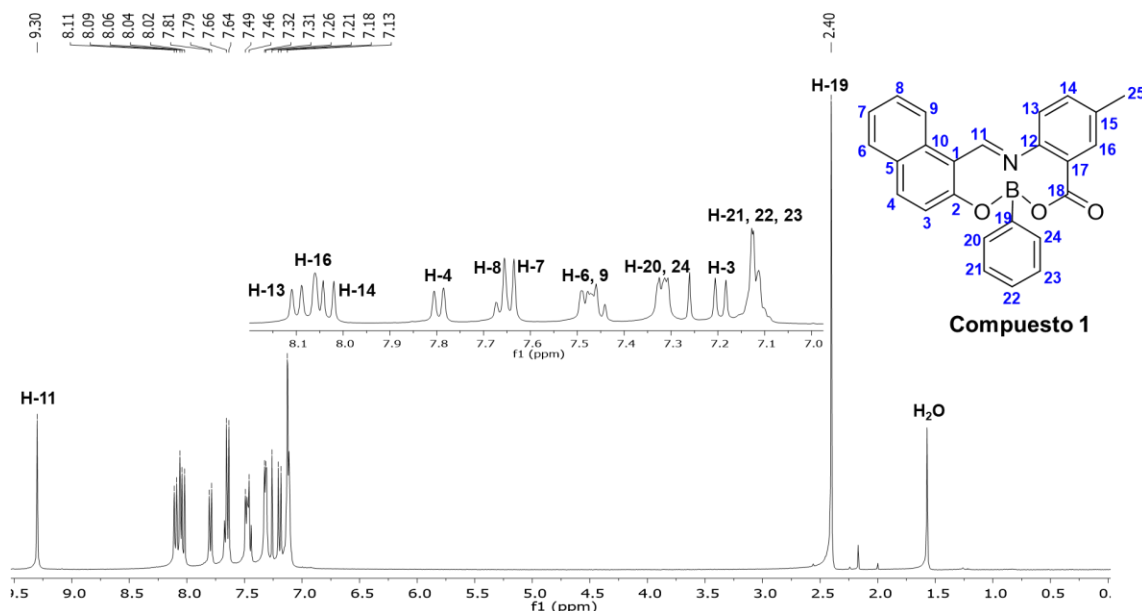


Figura 2. Espectro de RMN ^1H del compuesto **1** en CDCl_3 a 400.14 MHz.

Posterior a la asignación de los protones presentes en el compuesto **1**, se llevó a cabo la asignación del espectro de RMN ^{13}C (**Figura 3**). Para realizar una asignación inequívoca de las 22 señales visibles en el espectro, se empleó un experimento en 2D (HETCOR) para observar la correlación de las señales de protón previamente asignadas con sus respectivos carbonos a 1 enlace de distancia. Para distinguir correctamente los carbonos cuaternarios de los carbonos aromáticos se realizó un experimento de DEPT 135. Con el uso de ambos tipos de espectros (**Anexos**) se realizó la asignación inequívoca de las señales de carbono presentes en los espectros.

Se determinó que la señal de carbono correspondiente al carbono enlazado al grupo imino es la que aparece a un desplazamiento de 151.91 ppm, de acuerdo a la correlación observada con el H-11 en el espectro HETCOR. Adicionalmente, se observó que de las 23 señales esperadas solo aparecían 22, y se concluyó que la señal del C-17 se encontraba prácticamente suprimida por su cercanía al grupo éster y al enlace de coordinación $\text{N} \rightarrow \text{B}$.

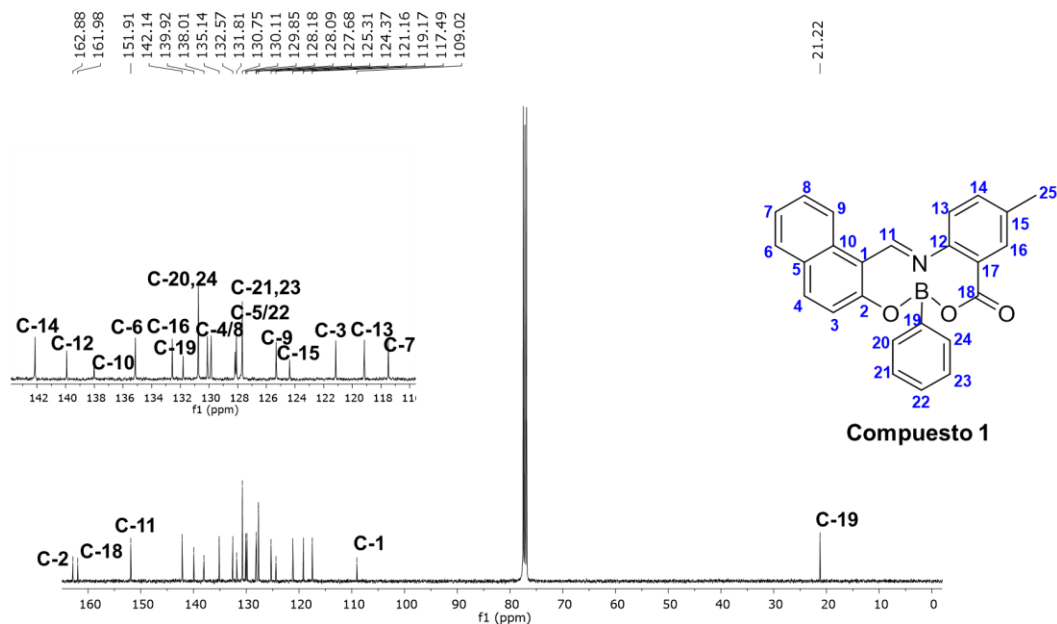


Figura 3. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **1** en CDCl_3 a 100.14 MHz.

Por otro lado, el espectro de RMN ^{11}B del compuesto **1** muestra una señal ancha en un desplazamiento de 5.67 ppm, característico para una geometría tetraédrica [26, 27] del enlace de coordinación $\text{N} \rightarrow \text{B}$ (**Figura 4**).

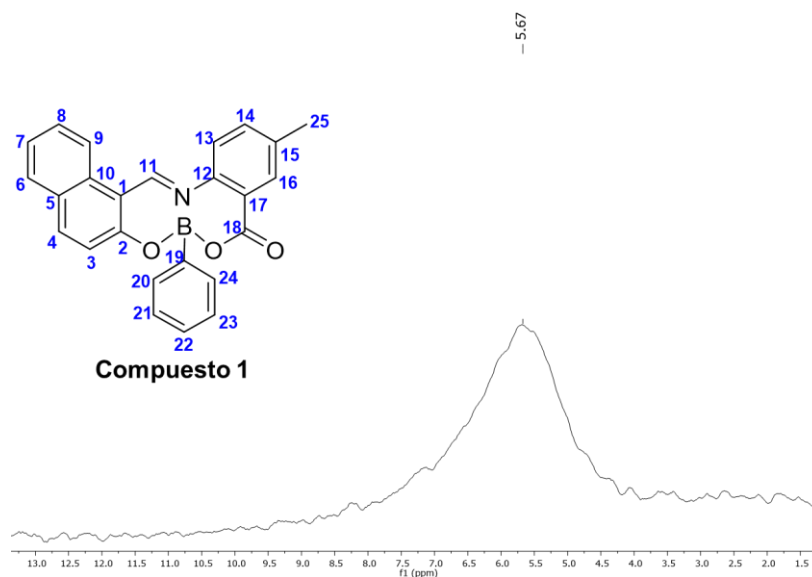


Figura 4. Espectro de RMN ^{11}B del compuesto **1** en CDCl_3 a 128 MHz.

Cabe destacar que se encontró que los grupos electro-donadores tenían un efecto de desprotección sobre el átomo de boro, pues los desplazamientos fueron más altos conforme se aumentó la fuerza del grupo electro-donador, llegando hasta un valor de 6.20 ppm en el caso del compuesto **4**. En cambio, el grupo electro-sustractor del compuesto **5** desplazó la señal a un desplazamiento más bajo, de 4.68 ppm. Dicha comparación se puede percibir en la **Tabla 7**, donde se resumen algunas señales seleccionadas de cada uno de los compuestos sintetizados.

Tabla 7. Datos espectroscópicos selectos para los compuestos **1-5**.

Comp	¹ H	¹³ C						¹¹ B
	H-11	C-1	C-2/C-12	C-11	C-17	C-18	C-19	
1	9.30	109.02	161.98	151.91	138.01	162.88	139.92	5.67
2	9.31	108.85	162.01	152.04	138.20	162.94	139.84	5.71
3	9.29	108.97	162.00	151.65	138.07	162.97	139.91	5.77
4	9.26	109.02	162.17	151.20	138.22	163.05	139.64	6.20
5	10.03	109.65	161.27	158.37	132.39	161.57	140.64	4.68

5.2.2. Análisis de absorción vibracional

En el caso de los experimentos de IR se obtuvieron los espectros correspondientes a los cinco compuestos sintetizados, en los cuales se asignaron algunas de las bandas más importantes de grupos funcionales seleccionados. En la **Figura 5** se presenta el espectro de IR del compuesto **1**, donde se identificaron bandas correspondientes al grupo imino (resultado de la reacción de condensación) a 1541 cm⁻¹, el carbonilo del grupo éster a 1681 cm⁻¹, enlaces C-H aromáticos a 3065 cm⁻¹, enlaces C=C aromáticos a 1611 y 1595 cm⁻¹, por mencionar algunos.

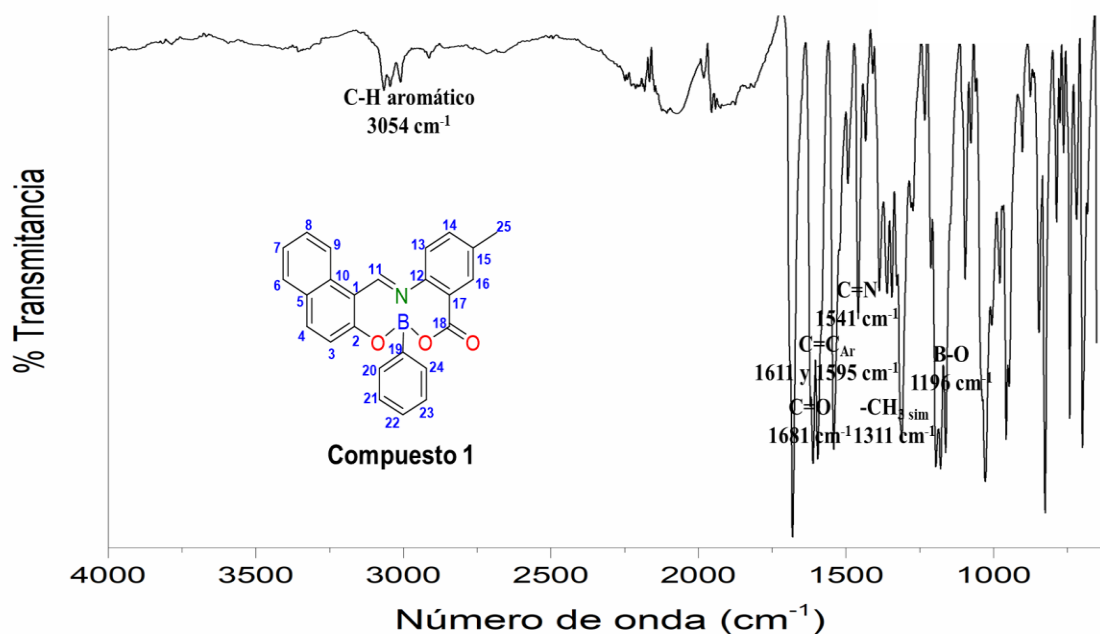


Figura 5. Espectro de IR-ATR del compuesto **1**.

De manera similar se identificaron estas bandas en los compuestos **2-5**, cuya información se encuentra resumida en la **Tabla 8**.

Tabla 8. Señales seleccionadas de IR de los compuestos **1-5**.

Número de onda (cm ⁻¹)					
Compuesto	C-H _{Ar}	C=O	C=C _{Ar}	C=N	B-O
1	3065	1681	1611	1541	1196
			1595		
2	298	1681	1621	1544	1200
			1597		
3	3035	1672	1598	1543	1164
4	2969	1673	1610	1544	1191
			1598		

5	3067	1706	1621 1596	1544	1201
---	------	------	--------------	------	------

5.2.3. Espectrometría de Masas.

A través de los experimentos de Espectrometría de Masas fue posible determinar la masa molecular exacta para cada uno de los compuestos sintetizados, cuyo valor correspondió a los valores de masa molecular previamente calculados. Con esta información fue posible confirmar la formación de los ésteres de iminoboronato planteados en este proyecto. En la **Tabla 9** se resumen y comparan los valores calculados y encontrados en los espectros de masas en fase positiva de los compuestos **1-5**.

Tabla 9. Masas moleculares calculadas y encontradas de los compuestos **1-5**.

Compuesto	Masa calculada	Masa encontrada
1	392.2343	392.2309
2	420.2874	420.2735
3	422.2602	422.2594
4	463.3552	463.3479
5	422.2030	-

- El resultado del análisis se encuentra pendiente.

Adicionalmente, en la **Figura 6** se presenta el patrón de fragmentación propuesto de acuerdo con las señales observadas en los espectros de masas de los compuestos. Para todos los compuestos se encontraron señales correspondientes a sus masas moleculares, así como para la formación de dímeros. Cabe destacar que los espectros de masas obtenidos tiende a mostrar una baja fragmentación, la cual es un indicativo de la notable estabilidad de los iminoboronatos bajo las condiciones experimentales de análisis.

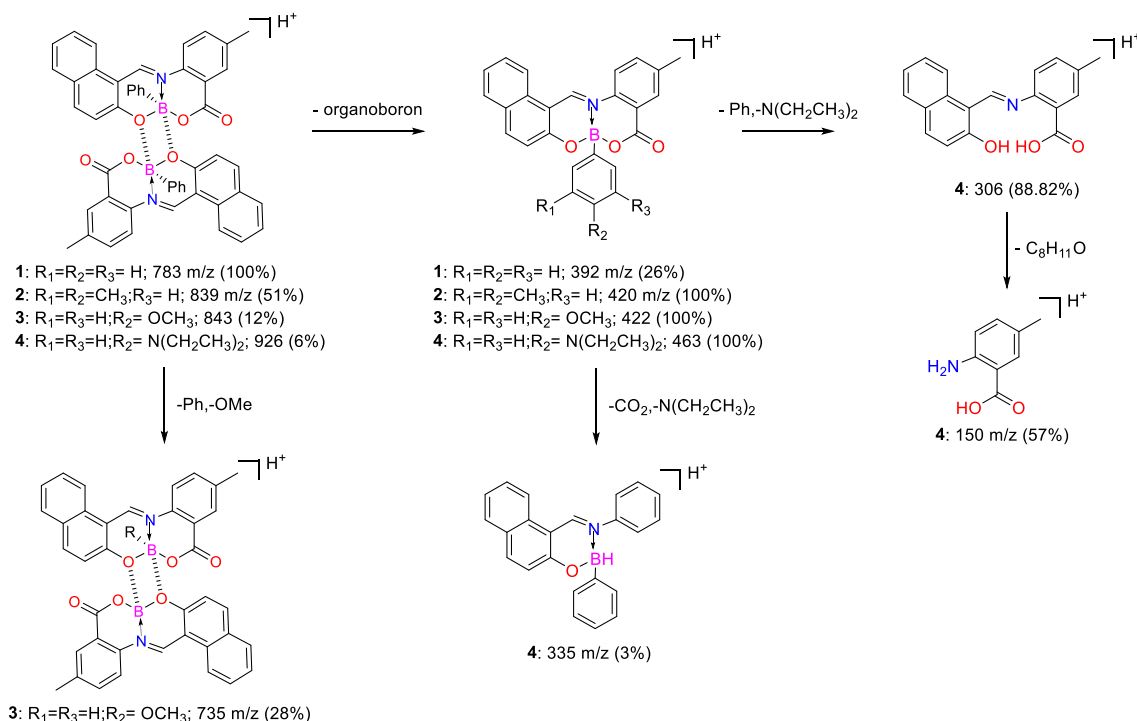


Figura 6. Patrón de fragmentación propuesto para la serie de iminoboronatos 1-5 sintetizada en este proyecto.

5.3. Caracterización Óptica.

5.3.1. Espectroscopía Ultravioleta-Visible y Espectroscopía de Fluorescencia Molecular.

A partir de los espectros de absorción de los compuestos sintetizados fue posible determinar parámetros ópticos como máximos de absorción (necesarios para establecer el rango de trabajo y longitud de onda de excitación de los espectros de emisión posteriores) y coeficientes de extinción molar. En la **Figura 7** se encuentran los espectros normalizados correspondientes a los cinco compuestos obtenidos, con el fin de comparar su comportamiento. En todos los casos se encontraron dos máximos de absorción: una banda alrededor de los 350-360 nm correspondiente a una transición $\pi \rightarrow \pi^*$, y una banda alrededor de los 450 nm, correspondiente a otra transición $\pi \rightarrow \pi^*$.

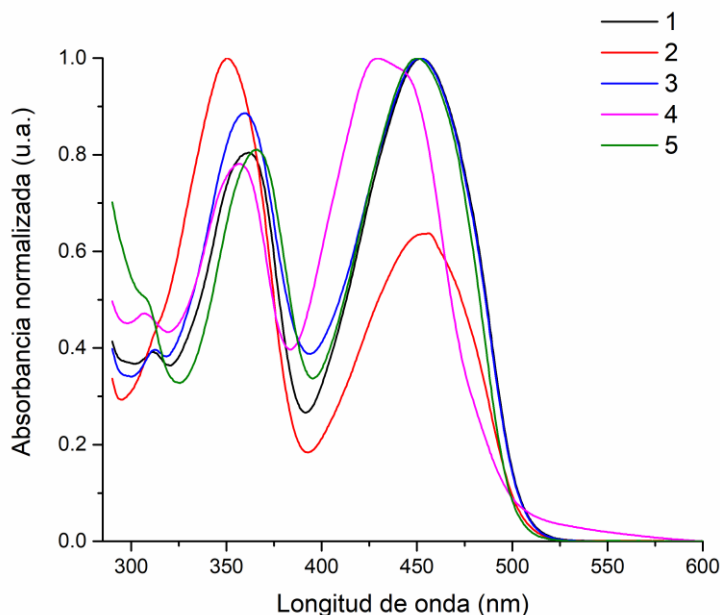


Figura 7. Espectros de absorción normalizados de los compuestos **1-5** en cloroformo grado espectroscópico.

Para la obtención de los espectros de emisión normalizados presentados en la **Figura 8**, las soluciones de los compuestos **1-5** en cloroformo fueron ajustadas a absorbancias menores a 0.09 a la longitud de onda correspondiente al primer máximo de absorción (en el rango de 350-360 nm). En dicha figura es posible observar que en el caso del compuesto **1** se puede apreciar la réplica vibriónica característica de los anillos de naftaleno, con máximos de emisión a 385 y 403 nm. En el resto de los casos ocurre un traslape de estos máximos, posiblemente siendo un efecto de los grupos donadores, en los casos de los compuestos **2-4**, o del grupo atractor, en el caso del compuesto **5**, presentes en el anillo de fenilo terminal.

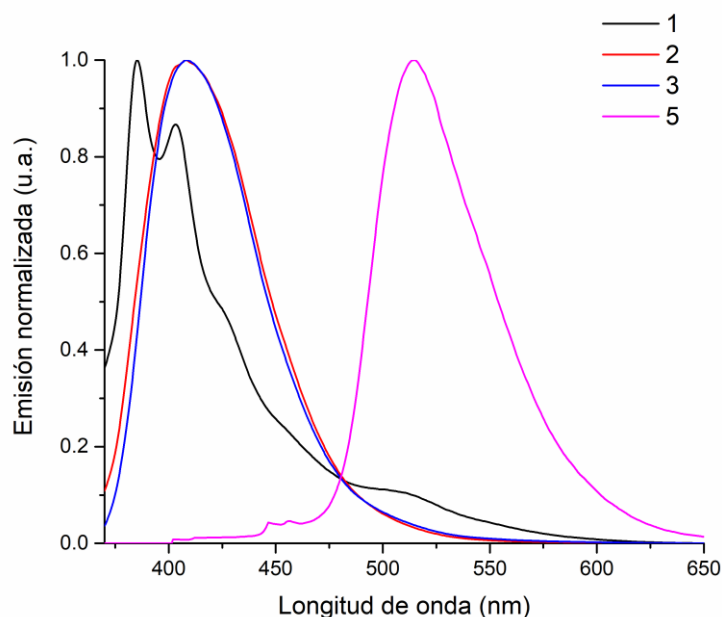


Figura 8. Espectros de emisión normalizados de los compuestos **1-5** en cloroformo grado espectroscópico.

A partir de los espectros de absorción y emisión fue posible determinar parámetros fotofísicos necesarios para poder definir la aplicación de estos compuestos como sondas fluorescentes. En la **Tabla 10** se encuentran dichos parámetros resumidos. En base al rendimiento cuántico calculado, el compuesto **2** es el mejor candidato para aplicaciones fluorescentes, mientras que en el caso del compuesto **4**, que dada la fuerza electrodonadora del grupo dietilamino se esperaba que fuese el mejor candidato, no presenta emisión cuantificable.

Tabla 10. Propiedades fotofísicas de los compuestos **1-5**.

Comp	$\lambda_{\text{abs max}}$	λ_{em}	ϵ ($\times 10^4$ L/mol cm)	FWHM (nm)	$E_{\text{g opt}}$ (eV)	$E_{1,0}$ (eV)	ϕ_{f} (%)
1	452, 361	403, 385 (351)	1.05, 0.84	61, 34	2.04	2.72	1.5 (351)
		517 (442)					0.7 (442)
2	453, 350	407 (340)	0.55, 0.85	60, 44	2.06	2.76	32.3 (340)
		515 (443)					1.4 (443)
3	451, 360	409 (350)	1.22, 1.08	56, 37	2.04	2.72	20.1 (350)

516 (441)							1.2 (441)
4	429, 357	-	1.23, 0.96	56, 31	2.07	2.75	*
5	450, 365	515 (355, 440)	0.95, 0.76	56, 35	2.07	2.74	2.6 (355) 1.6 (440)

*No fue posible determinar el rendimiento cuántico.

Es necesario mencionar que en los primeros análisis realizados las muestras ajustadas para espectroscopía de fluorescencia no fueron analizadas el mismo día en que se ajustaron, por lo que no era posible observar con claridad emisiones adicionales a las que fueron determinadas cerca de los 400 nm (en el caso del compuesto **4** solo es posible observar la banda cerca de los 500 nm porque la emisión fue muy baja y el espectro se encuentra normalizado). Un análisis con muestras frescas reveló la presencia de emisiones en alrededor de 515 nm (**Figura 9**). Esta característica se vuelve particularmente interesante para los compuestos **1**, **2** y **3**, pues implica una doble emisión en la región visible, de color azul (cerca de los 400 nm) y color verde (cercana a 515 nm). La dualidad en la emisión resulta interesante ya que abre un panorama adicional respecto a la utilidad de esta clase de moléculas, por ejemplo su utilidad como sonda fluorescente sugiere una alternativa de solución que se presenta al momento de seleccionar las fuentes de fotoexcitación utilizados para en la obtención de bioimágenes mediante técnicas espectroscópicas basadas en epifluorescencia o microscopía confocal.

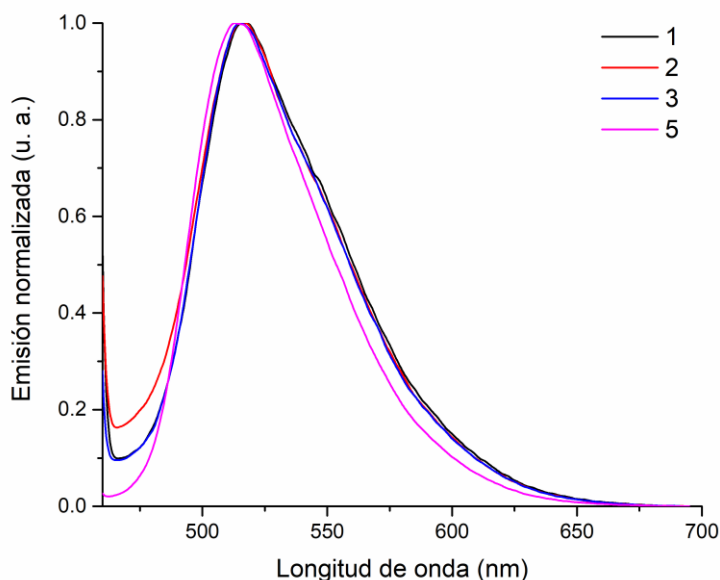


Figura 9. Espectros de emisión normalizada de los compuestos **1**, **2**, **3** y **5** en la región visible.

5.3.2. Estudios de Emisión Inducida por Agregación.

Con el fin de comprobar si los compuestos sintetizados presentaban el fenómeno de emisión inducida por agregación, se prepararon soluciones con cantidades variables de THF/agua. Se realizaron pruebas cualitativas a las proporciones de THF/agua ya establecidas para determinar aquellos compuestos que potencialmente presentaran el fenómeno, para posteriormente hacer un análisis cuantitativo de las mismas. A partir de las pruebas cualitativas se seleccionaron a los compuestos **1**, **3** y **5** como potenciales candidatos, ya que el compuesto **2** no presentó aumento aparente y el compuesto **4** no presenta emisión. En la **Figura 10** se presentan de manera gráfica los valores de rendimiento cuántico calculados para cada una de las composiciones THF/agua elaboradas (los valores se calcularon con las emisiones cercanas a 400 nm).

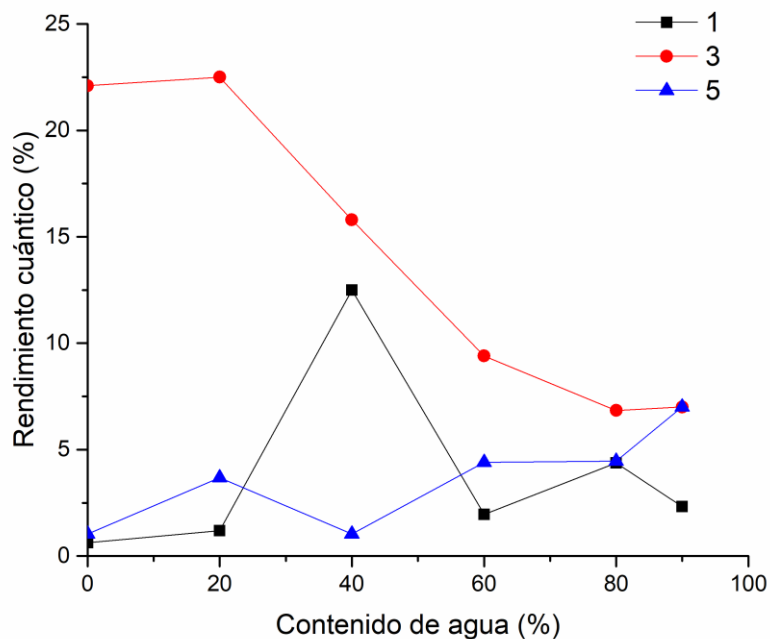


Figura 10. Gráfico comparativo del efecto del volumen de agua Vs. Rendimiento cuántico de los compuestos **1**, **3** y **5**.

A partir de estos datos es posible destacar que en el caso del compuesto **3** no hay un aumento en el rendimiento cuántico que indique que este compuesto presente el fenómeno de AIE. Por otra parte, en el caso del compuesto **5** se puede observar un ligero aumento en el rendimiento cuántico al 20% de agua adicionada, con lo que se puede determinar que podría presentar un efecto de emisión inducida débil.

Es únicamente en el caso del compuesto **1** donde se observa un aumento considerable a medida que se incrementó la cantidad de agua añadida a las muestras (es decir, que se forman agregados y se impiden rotaciones moleculares), hasta al menos un 40% de agua adicionada. El aumento del valor de rendimiento cuántico fue de 1.19% al 20% de agua adicionada hasta un 12.5% a la composición de 40% de agua en el sistema, por lo que se concluyó que el compuesto **1** presenta el efecto más intenso del fenómeno de emisión inducida por agregación.

5.4. Actividad Biológica.

5.4.1. Estudios de Inhibición.

Como experimento preliminar al estudio de la citotoxicidad de las moléculas sintetizadas, se realizaron estudios de inhibición, donde se midió el radio del halo de inhibición presentado alrededor de las muestras (**Tabla 11**). La ausencia de un halo de inhibición alrededor de los espacios donde se colocaron los compuestos dio indicios de la ausencia de actividad inhibitoria visible de éstos frente a las dos bacterias expuestas en el experimento, donde fueron elegidas una bacteria Gram positiva y una bacteria Gram negativa.

Tabla 11. Radios de inhibición de los compuestos frente a las dos bacterias seleccionadas.

Compuesto	Radio de inhibición (mm)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
*C+	10	10
C-	0	0

*Antibiótico comercial amikacina como control positivo.

5.4.2. Estudios de Citotoxicidad.

Con el propósito de evaluar la capacidad de los derivados de iminoboronatos sintetizados para ser aplicados en la generación de bioimágenes, se hicieron estudios de citotoxicidad para observar el comportamiento de los compuestos frente a bacterias Gram positiva y Gram negativa a distintas concentraciones, y poder estimar la ausencia o presencia de actividad antimicrobiana de los mismos.

La primera prueba se realizó en la bacteria Gram negativa seleccionada, *Escherichia coli*.

En la **Figura 11** se encuentra un gráfico de barras representando el porcentaje de viabilidad o supervivencia celular después de un periodo de incubación de 2 h con los compuestos. En la mayoría de los casos se puede apreciar una viabilidad promedio superior al 80%, requisito para considerar a un compuesto como poco citotóxico. Destacando a los compuestos **1**, **2** y **3** como potenciales candidatos a la aplicación seleccionada por sus propiedades ópticas, son aquellos que también presentan viabilidades celulares cercanas o superiores al 80% en prácticamente todos los casos, siendo un resultado favorable para su consideración en la aplicación ya mencionada.

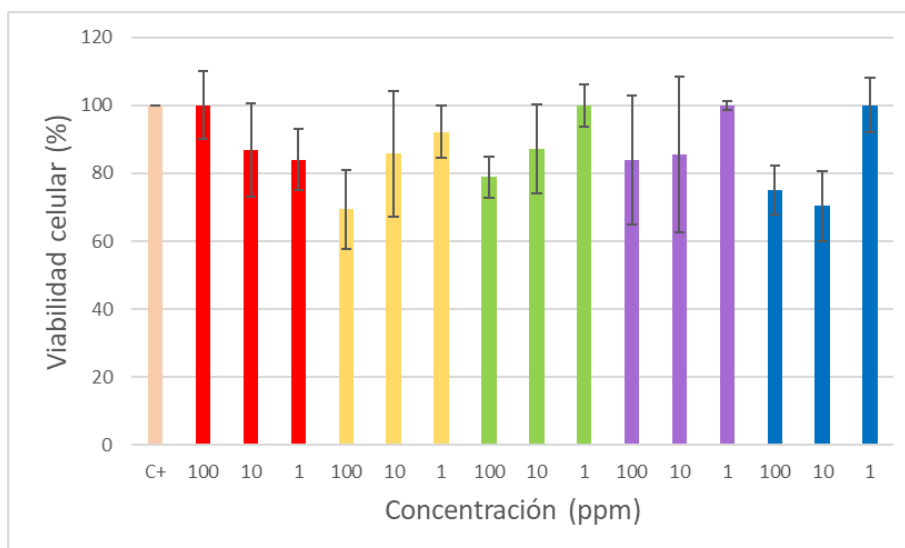


Figura 11. Gráfico de viabilidad celular de *E. coli* frente a los compuestos a concentraciones de 1, 10 y 100 ppm. En color rojo: **1**, amarillo: **2**, verde: **3**, morado: **4**, y azul: **5**.

Por otra parte, en la **Figura 12** se presenta el gráfico de viabilidad celular correspondiente a la interacción con la bacteria Gram positiva seleccionada, *Staphylococcus aureus*. En este caso, las concentraciones de 1 y 10 ppm de los cinco compuestos son las que presentan viabilidad celular superior al 80%, indicando una baja citotoxicidad. Aunque las concentraciones de compuesto de 100 ppm son aquellas con mayor citotoxicidad, para los casos de los compuestos **1** y **2** que, como ya se mencionó, resultan candidatos prometedores para la elaboración de bioimágenes, la viabilidad celular calculada se encuentra alrededor del 70%. Aunque numéricamente no se puede considerar como baja

citotoxicidad, el valor obtenido no se encuentra considerablemente alejado del límite inferior del intervalo utilizado para concluir una baja citotoxicidad.

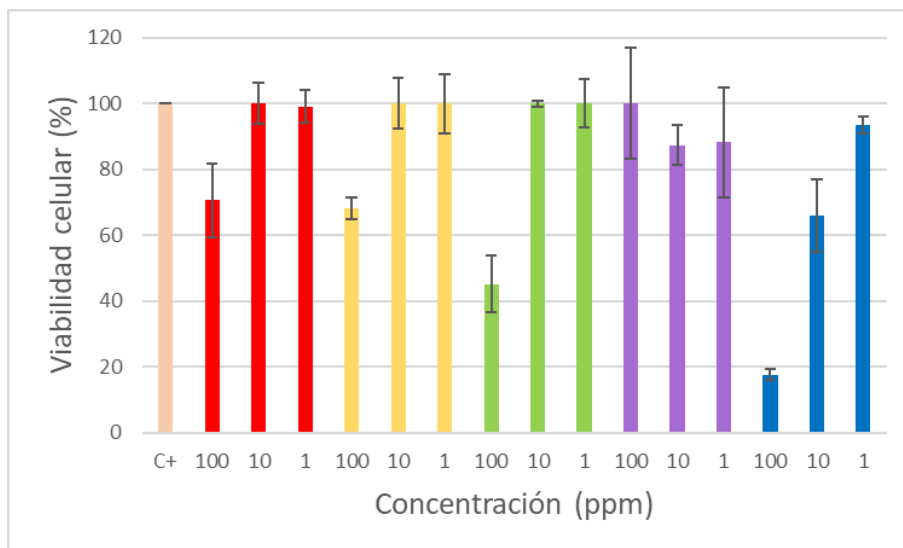


Figura 12. Gráfico de viabilidad celular de *S. aureus* frente a los compuestos a concentraciones de 1, 10 y 100 ppm. En color rojo: **1**, amarillo: **2**, verde: **3**, morado: **4**, y azul: **5**.

5.4.3. Evaluación en Microscopía de Fluorescencia.

Se realizó la evaluación de los ésteres de organoboro con la mejor respuesta óptica y comportamiento idóneo en la generación de bioimágenes a través del uso de un microscopio de epifluorescencia, siendo los candidatos más prometedores los compuestos **2** y **3** al tener los valores de rendimiento cuántico y desplazamiento de Stokes más altos de la serie. Estas características son esenciales para obtener bioimágenes con un buen medio de contraste y evitar el fenómeno de reabsorción de la emisión de los compuestos, respectivamente.

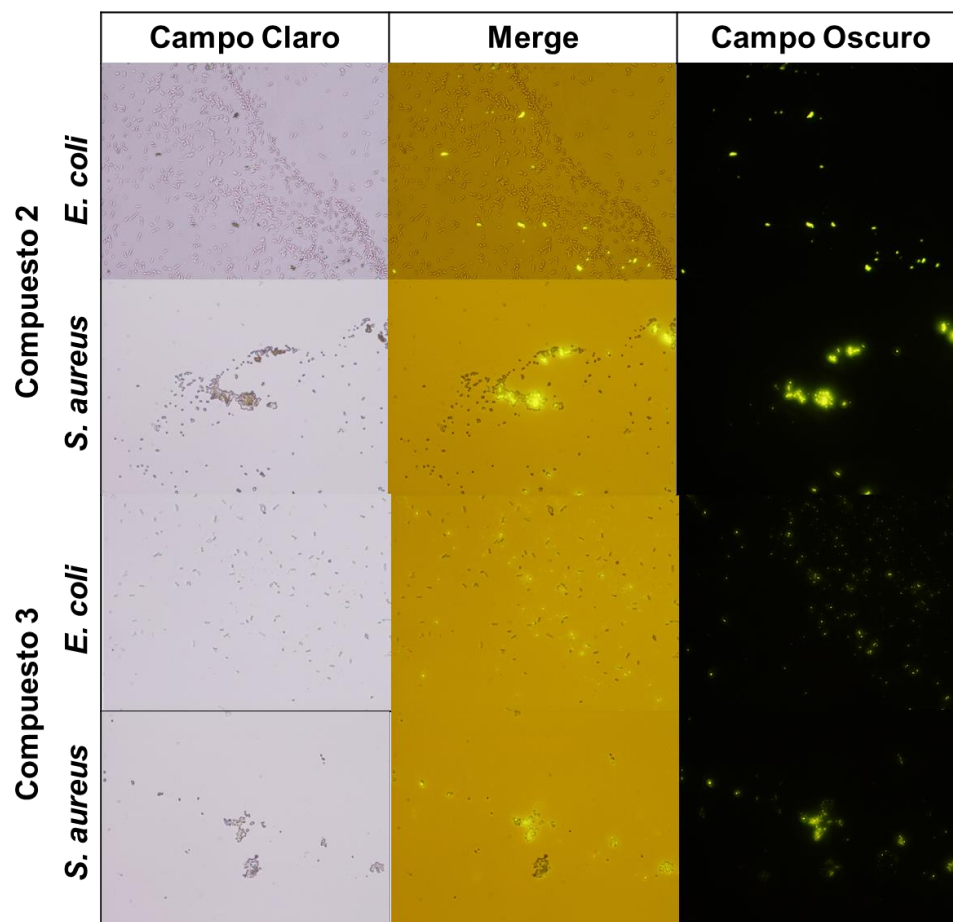


Figura 13. Bioimágenes obtenidas a un objetivo de 40x de *E. coli* y *S. aureus*, posterior a 2 h de exposición con los compuestos **2** y **3**.

En la **Figura 13** se presentan las bioimágenes obtenidas en el objetivo de 40x de las muestras de *E. coli* y *S. aureus* posterior a un periodo de incubación de 2 h con los compuestos **2** y **3**. A partir de dichas bioimágenes es posible observar emisión proveniente de los compuestos utilizados, pero no es posible distinguir con claridad si los compuestos se encuentran internalizados por las bacterias o si la emisión proviene de cristales residuales que se encuentran ocluidos en algunos cúmulos de bacterias. Por esta razón se obtuvieron imágenes a un objetivo de 100x (**Figura 14**).

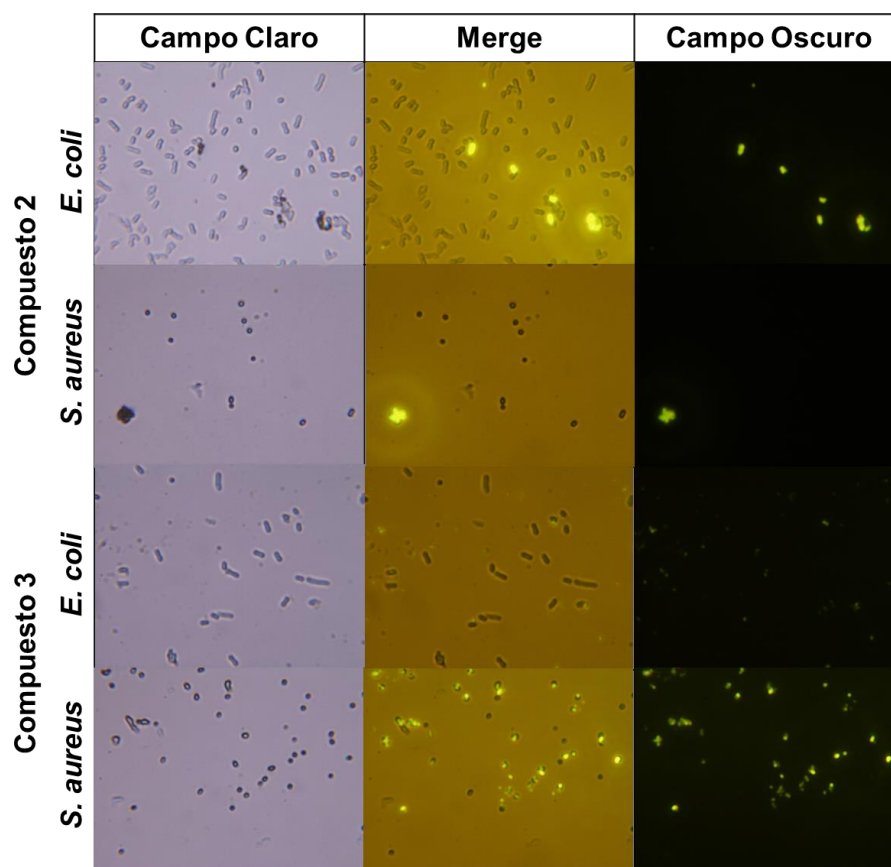


Figura 14. Bioimágenes obtenidas a un objetivo de 100x de *E. coli* y *S. aureus*, posterior a 2 h de exposición con los compuestos **2** y **3**.

A partir de las bioimágenes obtenidas a un objetivo de 100x es posible concluir con mayor seguridad que la emisión observada con los compuestos **2** y **3** no parece provenir del interior de las bacterias, sino de cristales de compuesto ocluidos, siendo particularmente destacable en las muestras que fueron expuestas al compuesto **2**. En el caso del compuesto **3** no se observa una distribución uniforme, y se observan puntos de emisión que parecen sobreponerse a las bacterias, por lo que también se descartó una internalización del compuesto.

5.4.4. Trabajo Adicional.

En este trabajo de tesis se evaluó la citotoxicidad de los imionoboronatos sintetizados contra dos bacterias adicionales a aquellas mencionadas en

secciones previas: *Bacillus subtilis* como otro modelo Gram positivo, y *Salmonella typhimurium* como Gram negativo. Se realizaron los estudios de citotoxicidad correspondientes para *B. subtilis* y *S. typhimurium* de manera análoga a los estudios realizados sobre *E. coli* y *S. aureus*, con la finalidad de evaluar su potencial aplicación en microscopía de fluorescencia.

En la **Figura 15**, se presenta el gráfico de viabilidad celular obtenido para el caso de *B. subtilis*, en el cual puede observarse que ninguno de los compuestos evaluados presenta un grado de citotoxicidad considerable, en base a los valores de viabilidad celular superiores al 80%. Aunque en casos anteriores el compuesto **5** provocó una disminución de la viabilidad celular superior a los otros compuestos, en el caso de *B. subtilis* no se observa una disminución considerable respecto al resto de la serie de iminoboronatos.

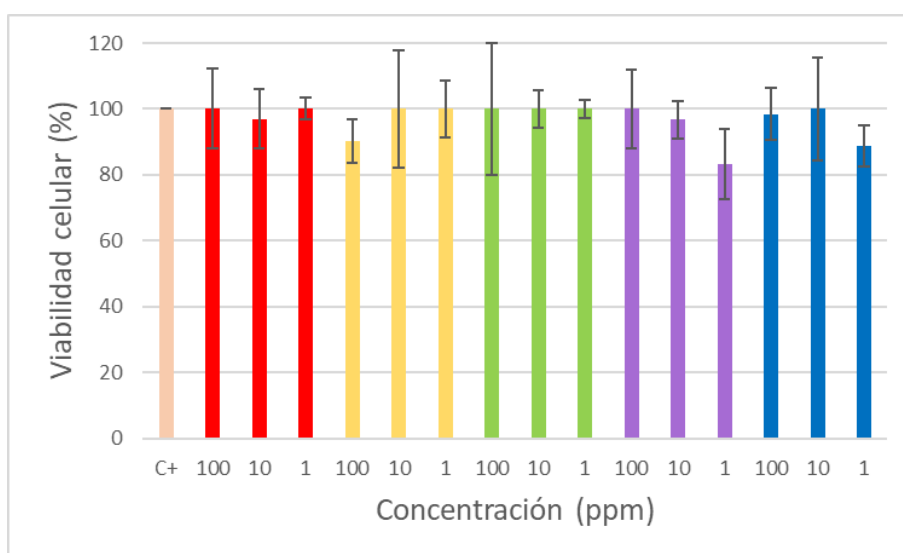


Figura 15. Gráfico de viabilidad celular de *B. subtilis* frente a los compuestos a concentraciones de 1, 10 y 100 ppm. En color rojo: **1**, amarillo: **2**, verde: **3**, morado: **4**, y azul: **5**.

Por último, en el caso de *S. typhimurium* (**Figura 16**) se observan valores de viabilidad celular cercanos o superiores al 80%, con lo cual puede concluirse un grado de citotoxicidad bajo en la mayoría de los casos, con excepción del compuesto **5**, donde dos de las concentraciones consideradas presentan citotoxicidad moderada o alta. Dada la tendencia observada en los cuatro casos estudiados en este trabajo de investigación, puede concluirse de manera

preliminar que el compuesto **5** presenta citotoxicidad moderada o alta hacia la mayoría de las bacterias estudiadas.

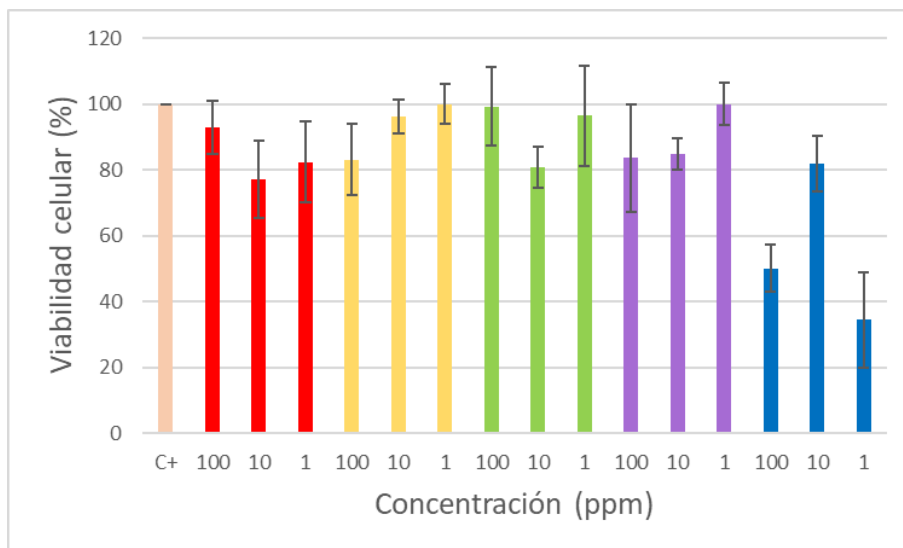


Figura 16. Gráfico de viabilidad celular de *S. typhimurium* frente a los compuestos a concentraciones de 1, 10 y 100 ppm. En color rojo: **1**, amarillo: **2**, verde: **3**, morado: **4**, y azul: **5**.

En la **Figura 17**, correspondiente a las bioimágenes obtenidas para el compuesto **1**, los hallazgos sugieren la internalización del compuesto en las muestras de *S. aureus* y *B. subtilis*, ya que los bordes de las bacterias aún son perceptibles (es decir, la emisión no parece sobreponerse) y la emisión observada aparenta la forma de las bacterias, descartando que la emisión sea proveniente de cristales depositados sobre las bacterias. Es importante agregar que se puede apreciar un mayor número de bacterias teñidas en el caso de *S. aureus*, con lo cual podemos suponer una afinidad o selectividad hacia esta bacteria. Considerando los casos en los que se observó internalización, el compuesto **1** parece tener una afinidad por la tinción de bacterias Gram positivas.

En el caso de las dos bacterias restantes, particularmente destacando la muestra de *S. typhimurium*, la emisión parece encontrarse superpuesta a las bacterias, por lo que potencialmente no se llevó a cabo una internalización del compuesto.

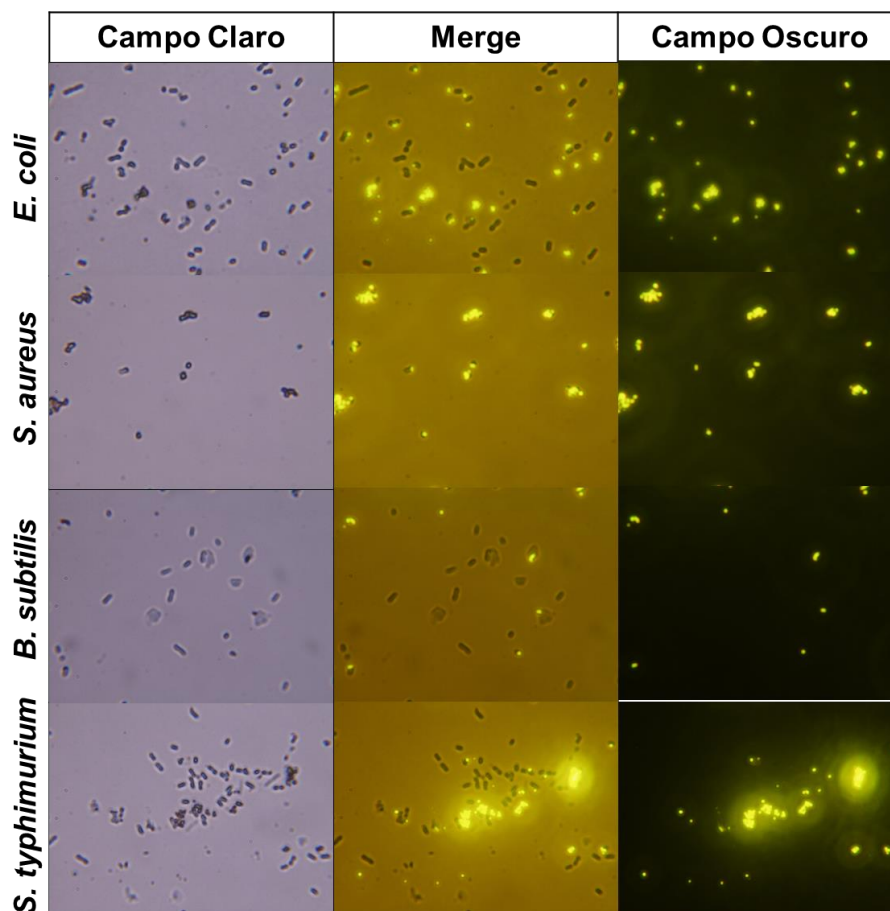


Figura 17. Bioimágenes obtenidas a un objetivo de 100x de *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* y *S. typhimurium* posterior a 2 h de exposición con el compuesto **1**.

En el caso del compuesto **2** (**Figura 18**), las bacterias que se emplearon como experimentos adicionales tampoco parecen haber internalizado el compuesto. en el caso de la muestra de *B. subtilis* se puede destacar claramente que la emisión se observa únicamente en un cúmulo de bacterias, donde las probabilidades de que se trate de compuesto residual ocluido son muy altas. De manera similar, en la muestra de *S. typhimurium* se observa una superposición de la emisión, que también puede adjudicarse a compuesto residual ocluido entre las bacterias.

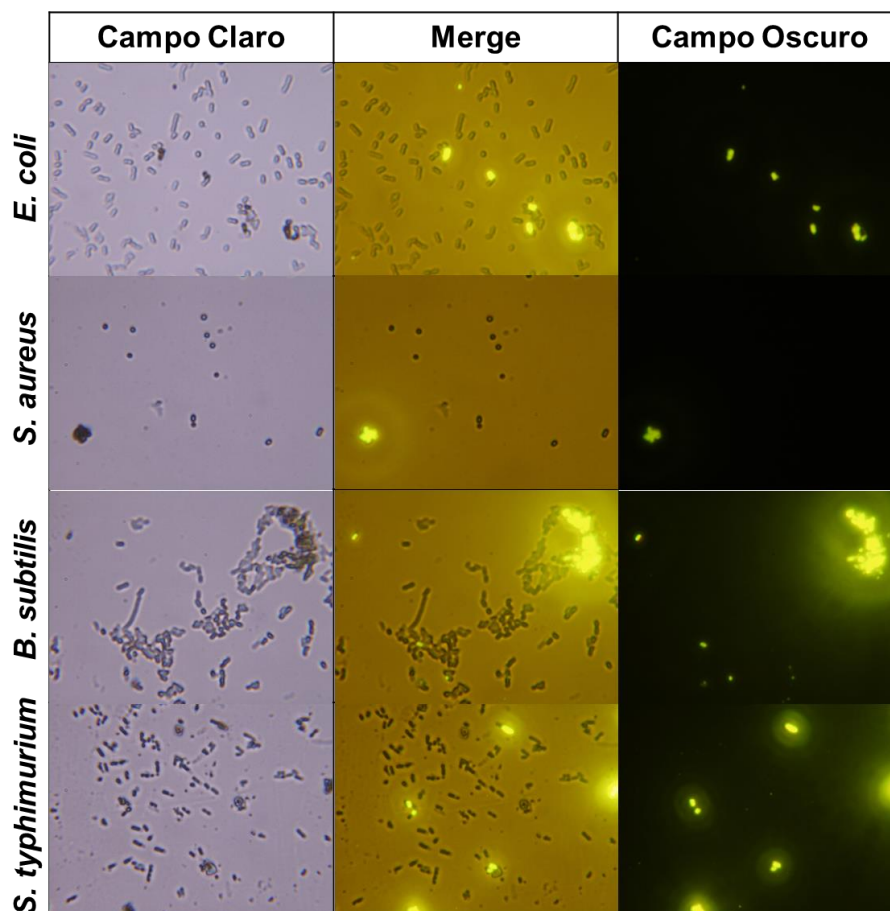


Figura 18. Bioimágenes obtenidas a un objetivo de 100x de *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* y *S. typhimurium* posterior a 2 h de exposición con el compuesto **2**.

En la **Figura 19** se encuentran las bioimágenes correspondientes a las muestras expuestas con el compuesto **3**, donde de manera análoga a las muestras del compuesto **2** no se observa una internalización aparente del compuesto. Para los experimentos adicionales con *B. subtilis* y *S. typhimurium* se observan emisiones provenientes de cúmulos de bacterias, siendo particularmente observable en el caso de *S. typhimurium* (esquina inferior derecha).

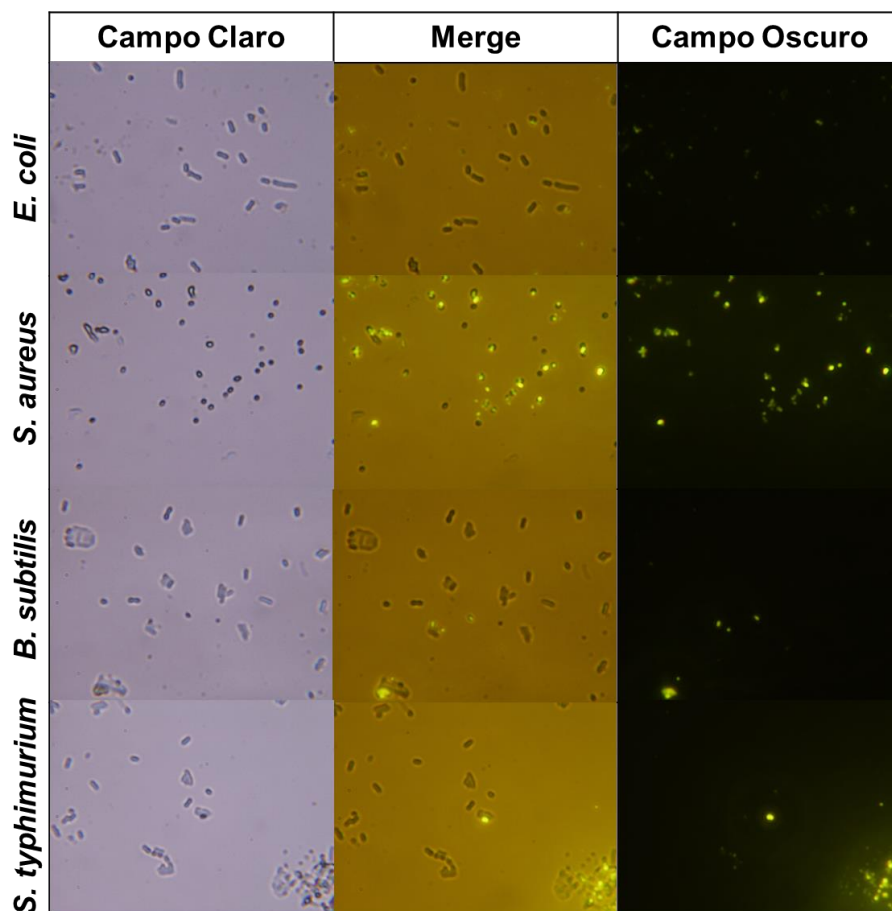


Figura 19. Bioimágenes obtenidas a un objetivo de 100x de *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* y *S. typhimurium* posterior a 2 h de exposición con el compuesto **3**.

Finalmente, en la **Figura 20** se compilaron las bioimágenes de las bacterias expuestas al compuesto **5**. La primera observación que puede realizarse es que las imágenes en campo oscuro no presentan emisión de ningún tipo, en ninguna parte del campo. Puesto que se hizo una determinación de las propiedades ópticas de dicho compuesto, se sabe que emite, y que, aunque su rendimiento cuántico no es tan alto como los valores obtenidos para los compuestos **2** y **3**, debería ser claramente suficiente para ser observado (el compuesto **1** también tiene rendimiento cuántico bajo, pero la emisión es suficiente para observarse bajo el microscopio de epifluorescencia). Es por esto que puede concluirse que no se llevó a cabo ningún tipo de internalización ni oclusión de cristales en cúmulos de bacterias, por lo que los lavados con agua desionizada debieron eliminar el compuesto remanente.

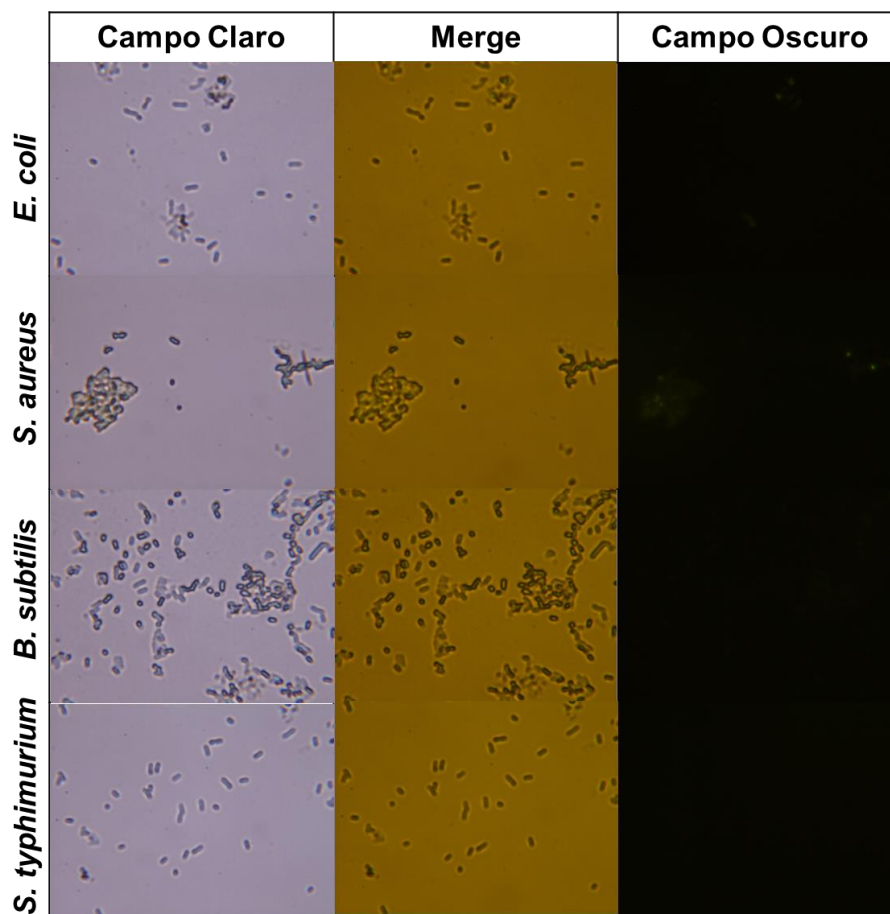


Figura 20. Bioimágenes obtenidas a un objetivo de 100x de *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* y *S. typhimurium* posterior a 2 h de exposición con el compuesto **5**.

6. CONCLUSIONES.

Se logró la obtención de cinco nuevos iminoboronatos sustituidos con grupos electrodonadores (donde en el último caso se utilizó un grupo electrosustractor) por medio de reacciones de condensación en una sola etapa con tiempos cortos de reacción. Su obtención se confirmó mediante caracterización por análisis vibracional, experimentos de RMN y DART-MS. Con experimentos en 2D y DEPT 135 se logró una asignación inequívoca de los átomos de carbono cuaternarios y aromáticos presentes en las moléculas.

Por otra parte, los resultados de los experimentos de RMN de ^{11}B corroboraron la presencia de átomos de boro con geometría molecular tetraédrica en un rango de desplazamientos de 4.68 a 6.20 ppm, en concordancia con lo reportado en la literatura. Adicional a esto, el desplazamiento de las señales a la región de alta frecuencia a medida que se aumentó la fuerza del grupo electrodonador sustituido en el anillo de fenileno pudo observarse, así como un desplazamiento hacia regiones de frecuencias más bajas cuando se utilizó un grupo electroatractor. Asimismo, el análisis de DART-MS reveló la presencia de los iones moleculares esperados para los iminoboronatos sintetizados, correspondientes a sus respectivas masas moleculares.

En el caso de la evaluación del fenómeno de AIE, los análisis revelaron que la mayoría de los compuestos no presentan el fenómeno esperado, siendo el caso del compuesto **1** el único incremento considerable hasta una composición de 40% de agua. Además, la dualidad observada para la emisión de los compuestos **1**, **2** y **3** resulta prometedora para la aplicación explorada en este trabajo de investigación.

Respecto a los estudios de actividad inhibitoria y citotoxicidad, los resultados obtenidos revelaron que los compuestos no presentan cualidades inhibitorias frente a *E. coli* o *S. aureus*, y en la mayoría de los casos los compuestos exhibieron baja citotoxicidad. La ausencia de actividad inhibitoria y citotoxicidad elevada mantiene abierta la posibilidad de su uso en microscopía de fluorescencia, sin embargo, esto debe ser confirmado a través de la generación de bioimágenes con un microscopio confocal.

Las bioimágenes obtenidas en el microscopio confocal pueden destacar al compuesto **1** como el mejor candidato para llevar a cabo una tinción bacteriana, ya que en los casos de *S. aureus* y *B. subtilis* puede apreciarse una internalización del compuesto al no observarse una superposición de la emisión percibida en las imágenes, así como la ausencia de cúmulos grandes de bacterias donde podrían encontrarse cristales ocluidos como responsables de la emisión.

Los resultados obtenidos en estos experimentos permiten visualizar un panorama de estructuras nuevas de iminoboronatos capaces de internalizar bacterias para llevar a cabo tinciones bacterianas. La variación de sustituyentes y su efecto en las propiedades fotofísicas y biológicas en este estudio complementa el camino hacia compuestos de coordinación de boro más hidrofílicos, menos citotóxicos y con mejores propiedades fotofísicas.

7. REFERENCIAS.

- [1] C. Ronda. (2007). Luminescence: From Theory to Applications
- [2] L. Li, W. Wang, J. Tang, Y. Wang, J. Liu, L. Huang, Y. Wang, F. Guo, J. Wang, W. Shen, L. A. Belfiore. (2019). Classification, Synthesis, and Application of Luminescent Silica Nanoparticles: a Review. *Nanoscale Res. Lett.*, 14(190), 1-23. DOI: 10.1186/s11671-019-3006-y
- [3] M. Nimbalkar, M. Yawalkar, N. Mahajan, S. J. Dhoble. (2021). Potential of luminescent materials in phototherapy. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, 33, 102082. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2020.102082
- [4] A. Ugale, T. N. Kalyani, S. J. Dhoble. 2 - Potential of europium and samarium β -diketonates as red light emitters in organic light-emitting diodes. En: P. Martín-Ramos, M. Ramos Silva. Lanthanide-Based Multifunctional Materials. India: Elsevier (2018) 59-97
- [5] J. Shen, L. Zhao, G. Han. (2013). Lanthanide-doped upconverting luminescent nanoparticle platforms for optical imaging-guided drug delivery and therapy. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 65(5), 744-755. DOI: 10.1016/j.addr.2012.05.007
- [6] T. Maldiney, A. Bessière, J. Seguin, E. Teston, S. K. Sharma, B. Viana, A. J. J. Bos, P. Dorenbos, M. Bessodes, D. Gourier, D. Scherman, C. Richard. (2014). The *in vivo* activation of persistent nanophosphors for optical imaging of vascularization, tumours and grafted cells. *Nat. Mater.*, 13, 418-426
- [7] A. Bilgiç, A. Çimen. (2020). Two Novel BODIPY-Functional Magnetite Fluorescent Nano-Sensors for Detecting of Cr(VI) Ions in Aqueous Solutions. *J. Fluoresc.*, 30(4), 867-881. DOI: 10.1007/s10895-020-02559-2
- [8] V. M. Zhyrovetsky, D. I. Popovych, S. S. Savka, A. S. Serednytski. (2017). Nanopowder Metal Oxide for Photoluminescent Gas Sensing. *Nanoscale Res. Lett.*, 12, 132
- [9] X. Huang, S. Han, W. Huang, X. Liu. (2013). Enhancing solar cell efficiency: the search for luminescent materials as spectral converters. *Chem. Soc.*, 42, 173-201. DOI: 10.1039/C2CS35288E
- [10] S. Guieu, C. I. C. Esteves, J. Rocha, A. M. S. Silva. (2020). Multicomponent Synthesis of Luminescent Iminoboronates. *Molecules*, 25(24), 6039. DOI: 10.3390/molecules25246039
- [11] Y. Hong, J. W. Y. Lam, B. Z. Tang. (2009). Aggregation-induced emission: phenomenon, mechanism and applications. *Chem. Comm.*, 29, 4332. DOI: 10.1039/b904665h

- [12] W. Wu, B. Liu. (2021). Aggregation-induced emission: challenges and opportunities. *Natl. Sci. Rev.*, 8(6). DOI: 10.1093/nsr/nwaa222
- [13] M. J. Sanderson, I. Smith, I. Parker, M. D. Bootman. (2014). Fluorescence Microscopy. *Cold Spring Harb. Protoc.*, 10. DOI: 10.1101/pdb.top071795
- [14] V. S. Sadu, H.-R. Bin, D.-M. Lee, K.-I. Lee. (2017). One-pot synthesis of four-coordinate boron (III) complexes by the ligand-promoted organic group migration between boronic acids. *Sci. Rep.*, 7, 242. DOI: 10.1038/s41598-017-00236-2
- [15] S. Samal, B. P. R. Aradhyula, K. Venkatasubbaiah. (2018). Effect of methyl at the 1-phenyl of tetraaryl substituted imidazole boron difluoride complexes: synthesis, characterization, photophysical and electrochemical studies. *J. Chem. Sci.*, 130, 95. DOI: 10.1007/s12039-018-1507-3
- [16] G. Y. Ruelas-Álvarez, A. J. Cárdenas-Valenzuela, L. L. Galaviz-Moreno, A. Cruz-Enríquez, J. J. Campos-Gaxiola, H. Höpfl, J. Baldenebro-López, E. C. Vargas-Olvera, V. Miranda-Soto, B. A. García-Grajeda, D. Glossman-Mitnik. (2022). Four-Coordinate Monoboron Complexes with 8-Hydroxyquinolin-5-Sulfonate: Synthesis, Crystal Structures, Theoretical Studies, and Luminescence Properties. *Crystals*, 12, 783. DOI: 10.3390/cryst12060783
- [17] D. Ailincăi, L. Marin, S. Morariu, M. Mares, A. C. Bostanaru, M. Pinteala, B. C. Simionescu, M. Barboiu. (2016). Dual crosslinked iminoboronate-chitosan hydrogels with strong antifungal activity against *Candida* planktonic yeasts and biofilms. *Carbohydr. Polym.*, 152, 306-316. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.07.007
- [18] R. M. R. M. Lopes, A. E. Ventura, L. C. Silva, H. Faustino, P. M. P. Gois. (2018). N,O-Iminoboronates: Reversible Iminoboronates with Improved Stability for Cancer Cells Targeted Delivery. *Chemistry*, 24(48), 12495-12499. DOI: 10.1002/chem.201802515
- [19] Y. Wu, W. Yuan, H. Ji, Y. Qin, J. Zhang, H. Li, Y. Li, Y. Wang, Y. Sun, W. Liu. (2017). New fluorescent imidazo[1,2-a]pyridine-BODIPY chromophores: experimental and theoretical approaches, and cell imaging exploration. *Dyes Pigm.*, 142, 330-339. DOI: 10.1016/j.dyepig.2017.03.052
- [20] J. Gao, Y. Tao, N. Wang, J. He, J. Zhang, W. Zhao. (2018). BODIPY-based turn-on fluorescent probes for Cysteine and Homocysteine. *Spectrochim Acta A*, 203, 77-84. DOI: 10.1016/j.saa.2018.05.114
- [21] M. Ibarra-Rodríguez, B. M. Muñoz-Flores, A. Gómez-Treviño, R. Chan-Navarro, J. C. Berrones-Reyes, A. Chávez-Reyes, H. V. Rasika Dias, M. Sánchez-Vázquez, V. M. Jiménez-Pérez. (2019). Organoboron Schiff bases as cell-staining fluorescent probes: Synthesis, Chemio-photophysical

characterization, DFT, and X-ray structures. *Appl. Organometal Chem.*, 33(4), 1-11. DOI: 10.1002/aoc.4718

[22] R. Hecht, J. Kade, D. Schmidt, A. Nowak-Król. (2017). N-Channel Organic Semiconductors Derived from Air-Stable Four-Coordinate Boron Complexes of Substituted Thienylthiazoles. *Chem. Eur. J.*, 23, 11620-11628. DOI: 10.1002/chem.201701922

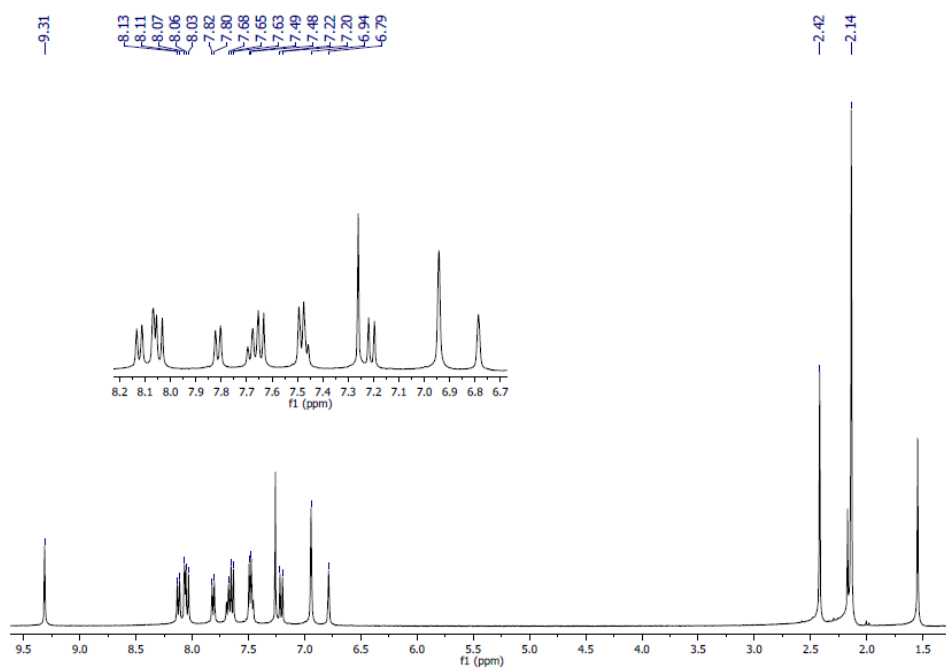
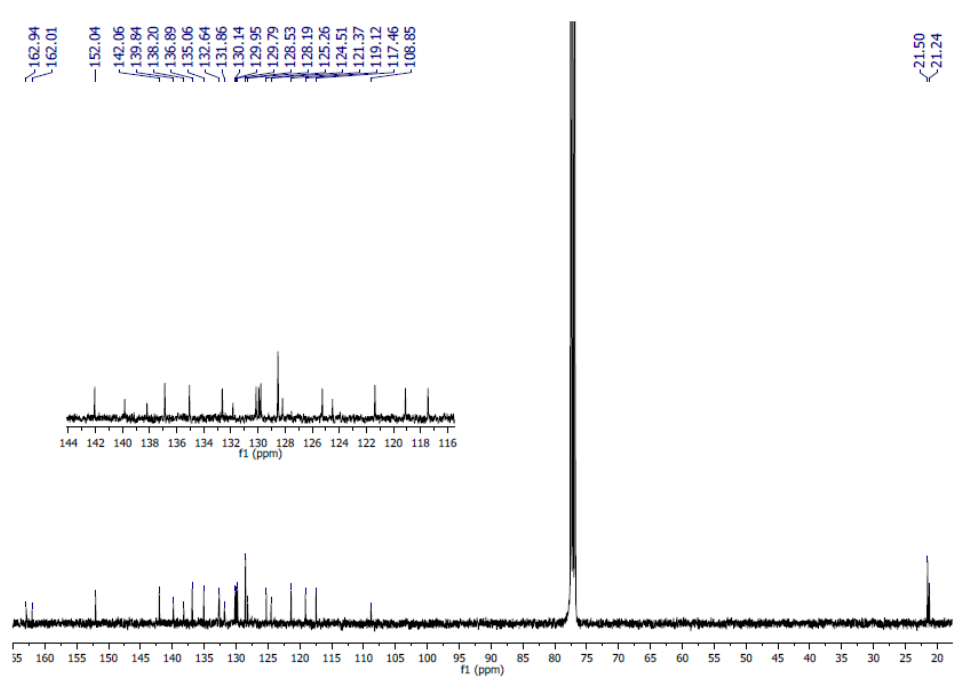
[23] K. Paramasivam, C. B. Fialho, T. F. C. Cruz, A. I. Rodrigues, B. Ferreira, C. S. B. Gomes, D. Vila-Viçosa, A. Charas, J. M. S. S. Esperança, L. F. V. Ferreira, M. J. Calhorda, A. L. Mançanita, J. Morgado, P. T. Gomes. (2021). New luminescent tetracoordinate boron complexes: an in-depth experimental and theoretical characterization and their application in OLEDs. *Inorg. Chem. Front.*, DOI: 10.1039/d1qi00403d

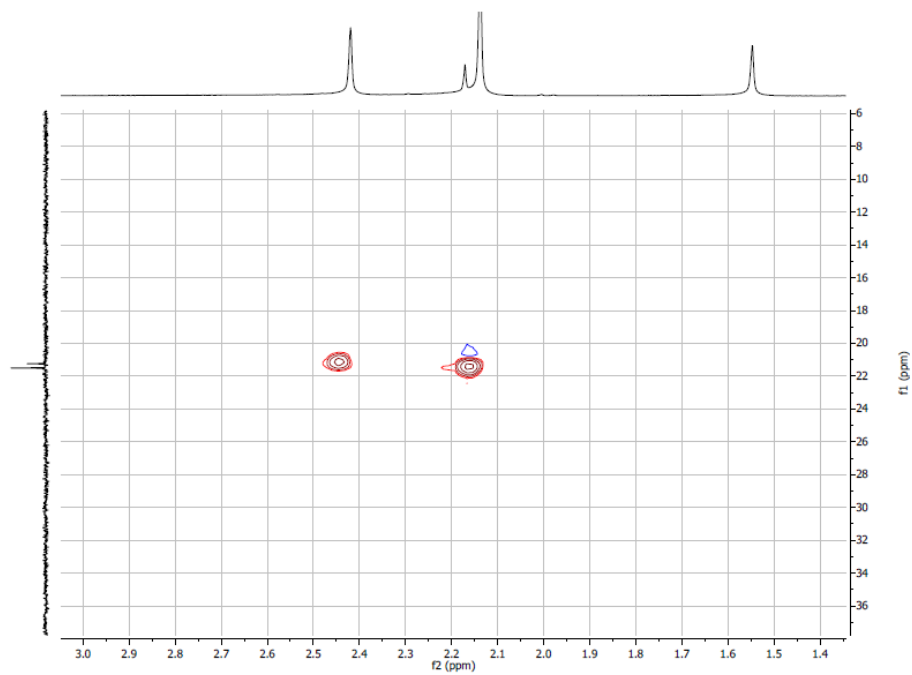
[24] N. Mehiaoui, S. Leleu, Z. Kibou, N. Choukchou-Braham, X. Franck, T. Gallavardin. (2022). Unsymmetrical boron diketonates containing strong electron-donating groups as mechanochromic fluorescent solids. *Dyes Pigm.*, 208, 110829. DOI: 10.1016/j.dyepig.2022.110829

[25] A. T. R. Williams, S. A. Winfield, J. N. Miller. (1983). Relative Fluorescence Quantum Yields Using a Computer-controlled Luminescence Spectrometer. *Analyst*, 108, 1067-1071. DOI: 10.1039/AN9830801067

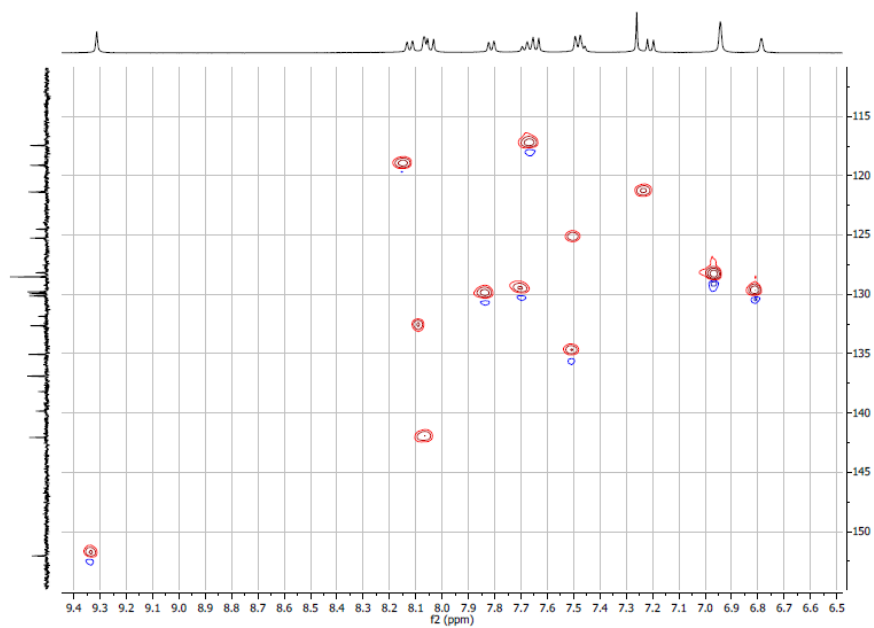
[26] S. Shimo, K. Takahashi, N. Iwasawa. (2019). 1,2-Dihydro-1-hydroxy-2,3,1-benzodiazaborine Bearing an Acridine Moiety as a Circular Dichroism Probe for Determination of Absolute Configuration of Mono-Alcohols. *Chem.-Eur. J.*, 25(15), 3790-3794. DOI: 10.1002/chem.201900350

[27] L. Zhu, S. H. Shabbir, M. Gray, V. M. Lynch, S. Sorey, E. V. Anslyn. (2006). Structural Investigation of the N-B Interaction in an o-(N,N-Dialkylaminomethyl)arylboronate System. *J. Am. Chem. Soc.*, 128(4), 1222-1232. DOI: 10.1021/ja055817c

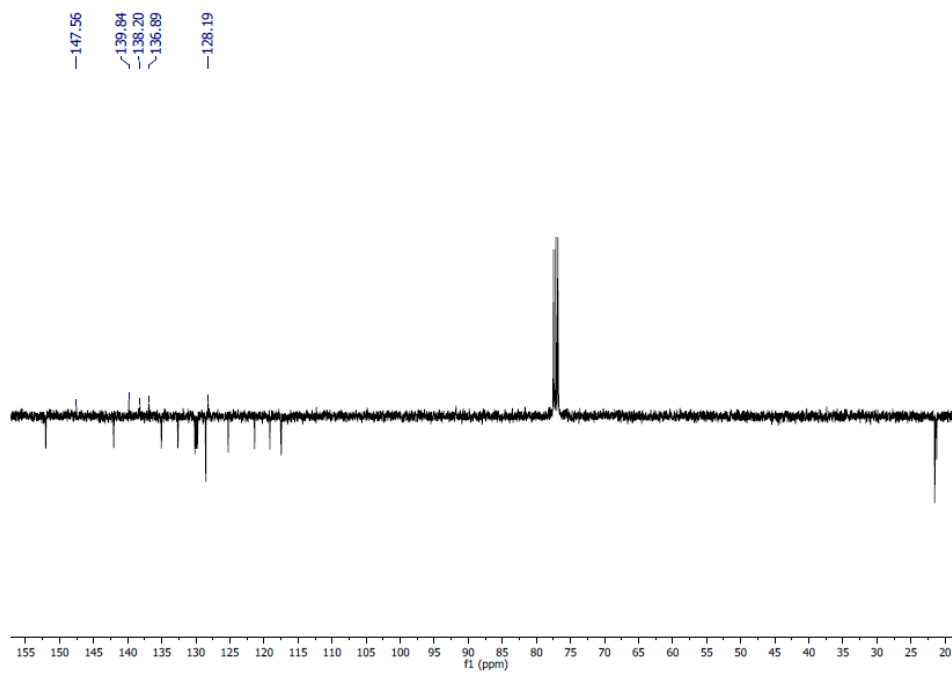
8. ANEXOS.**Anexo 1.** Espectro de RMN ¹H del compuesto **2** en CDCl₃ a 400.14 MHz.**Anexo 2.** Espectro de RMN ¹³C del compuesto **2** en CDCl₃ a 100.14 MHz.



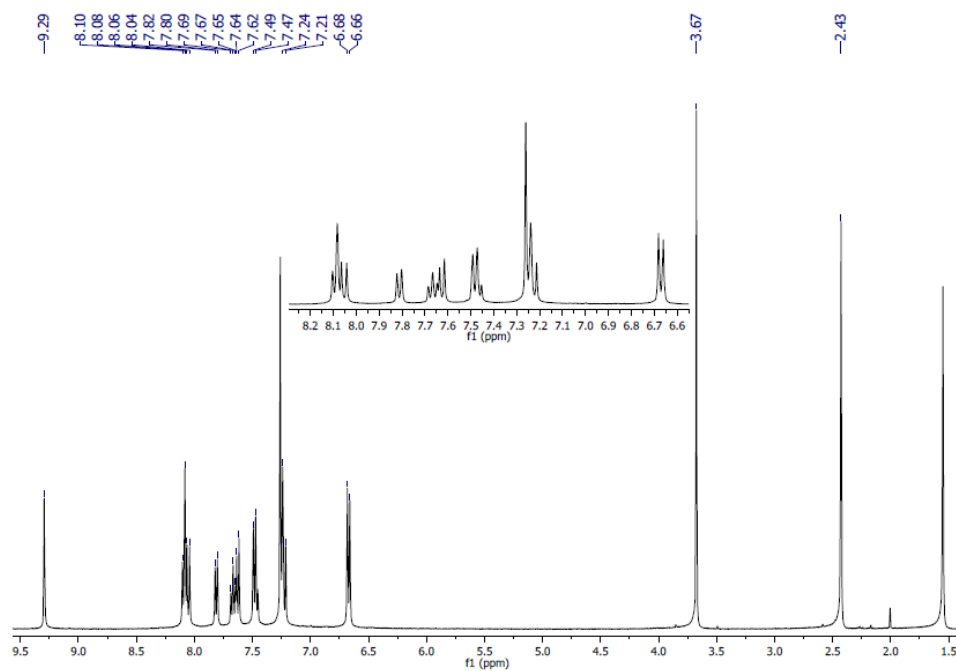
Anexo 3. Región alifática del espectro HETCOR de 2D del compuesto **2**.



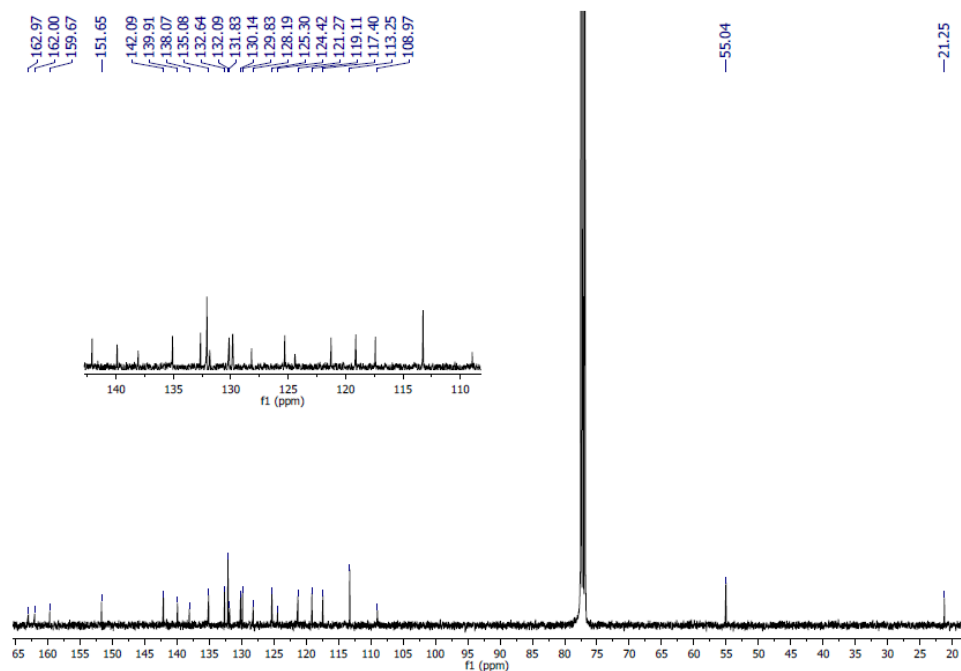
Anexo 4. Región aromática del espectro HETCOR de 2D del compuesto **2**.



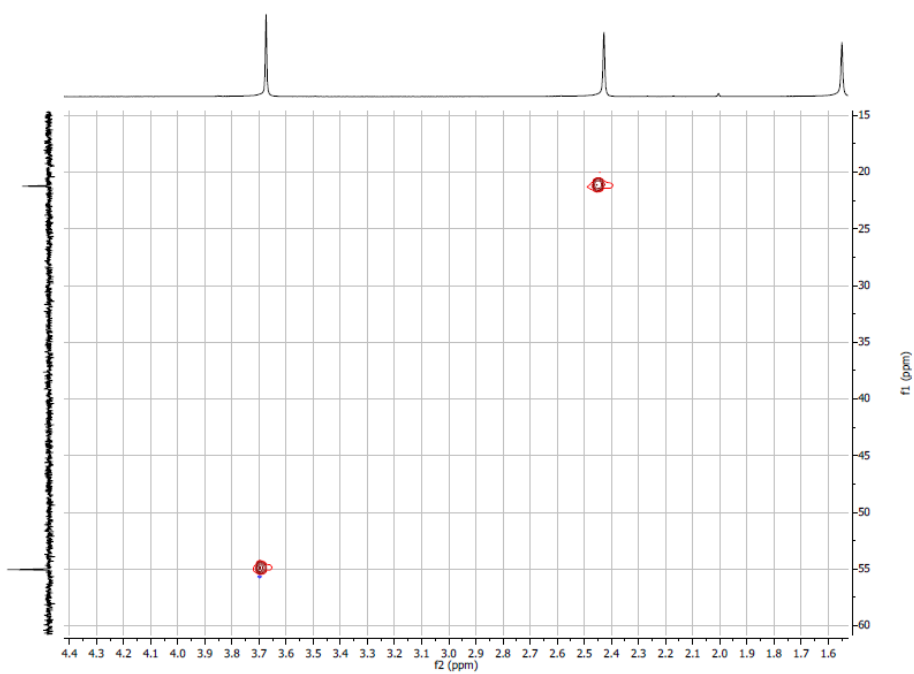
Anexo 5. Espectro DEPT 135 del compuesto **2**.



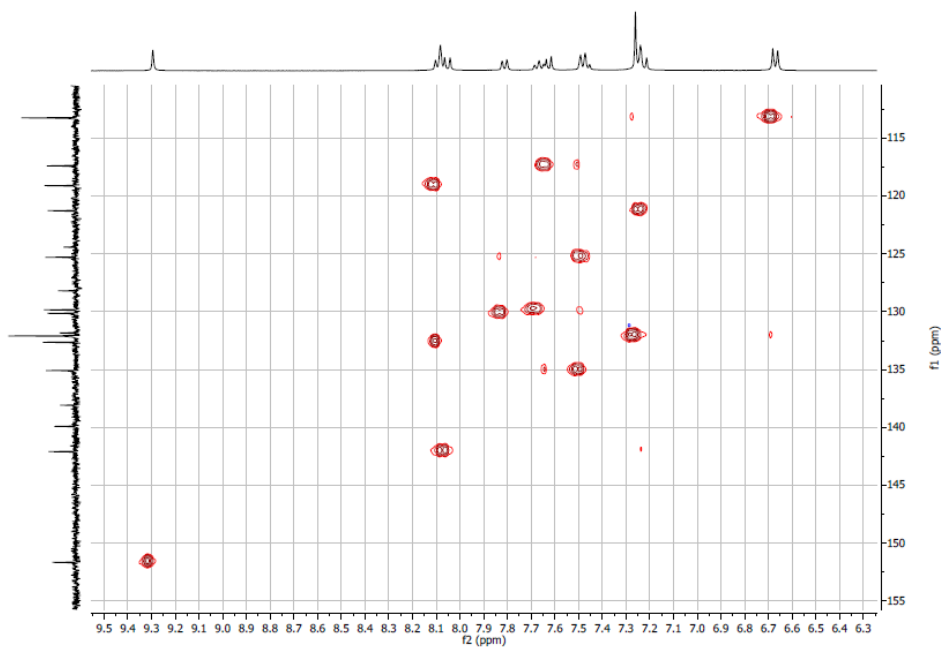
Anexo 6. Espectro de RMN ¹H del compuesto **3** en CDCl₃ a 400.14 MHz.



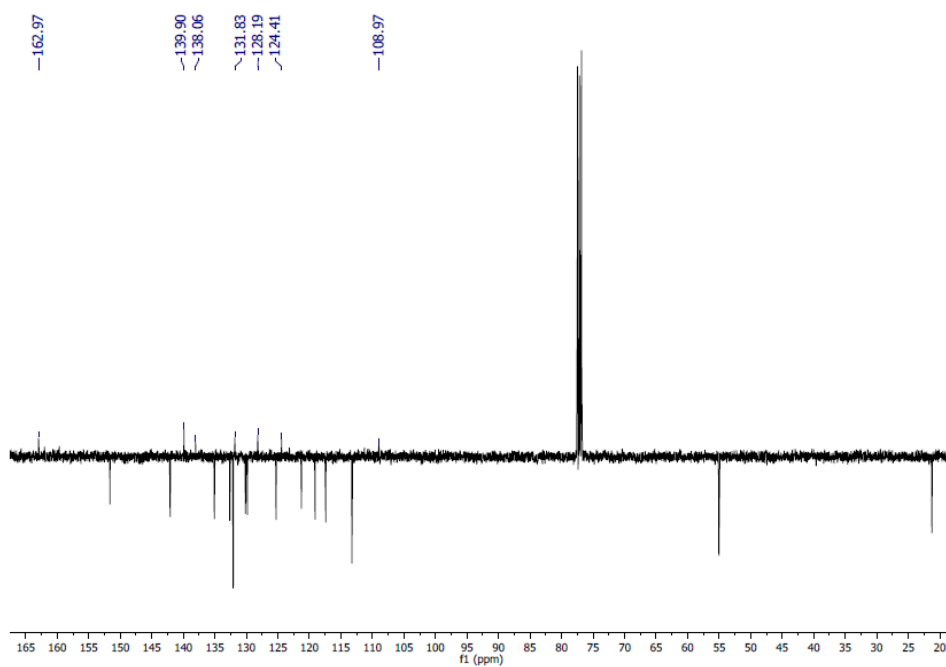
Anexo 7. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **3** en CDCl_3 a 100.14 MHz.



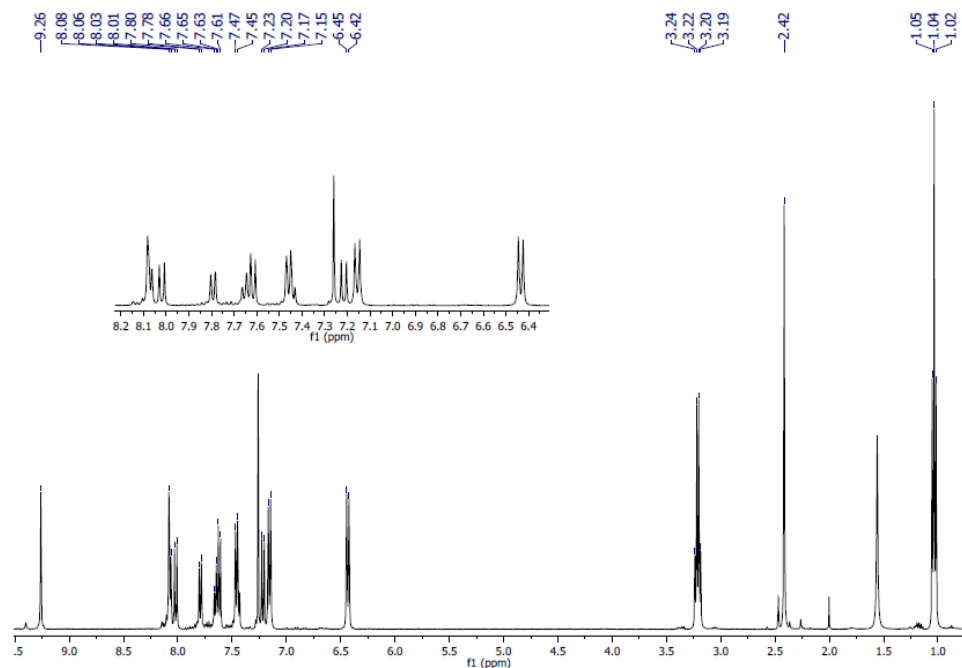
Anexo 8. Región alifática del espectro HETCOR de 2D del compuesto **3**.



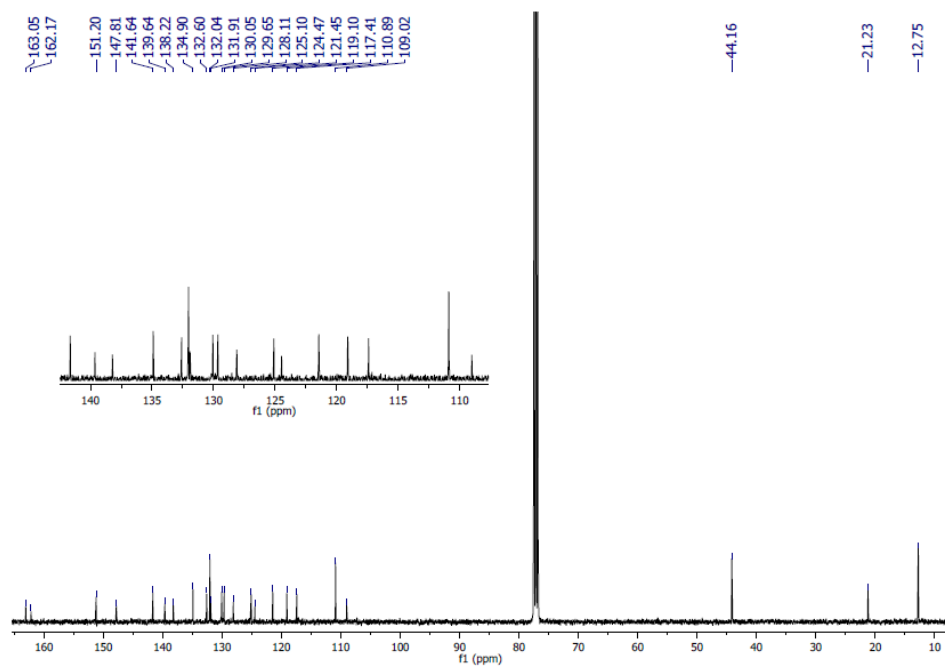
Anexo 9. Región aromática del espectro HETCOR de 2D del compuesto **3**.



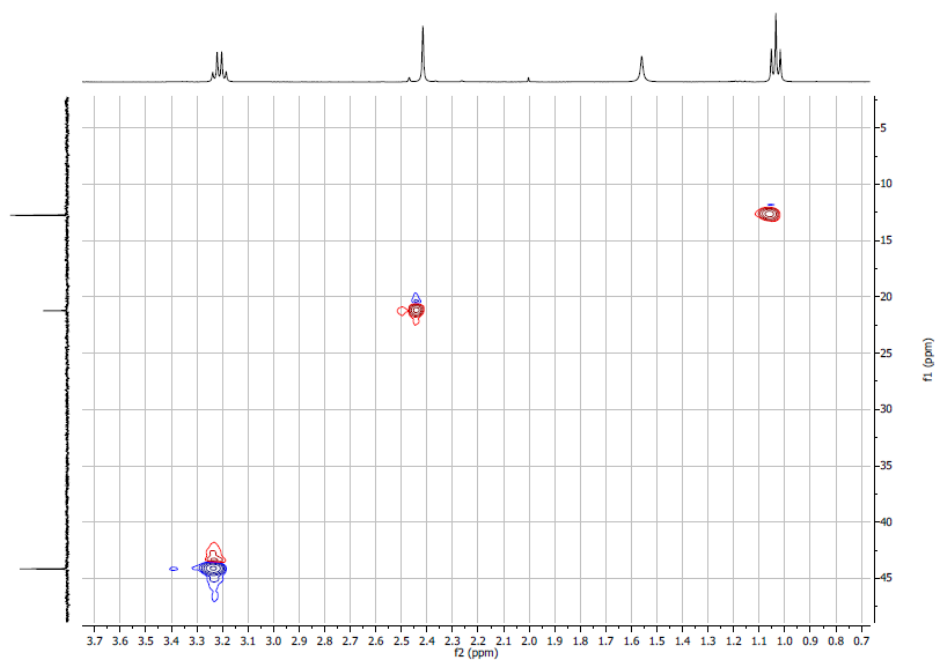
Anexo 10. Espectro DEPT 135 del compuesto **3**.



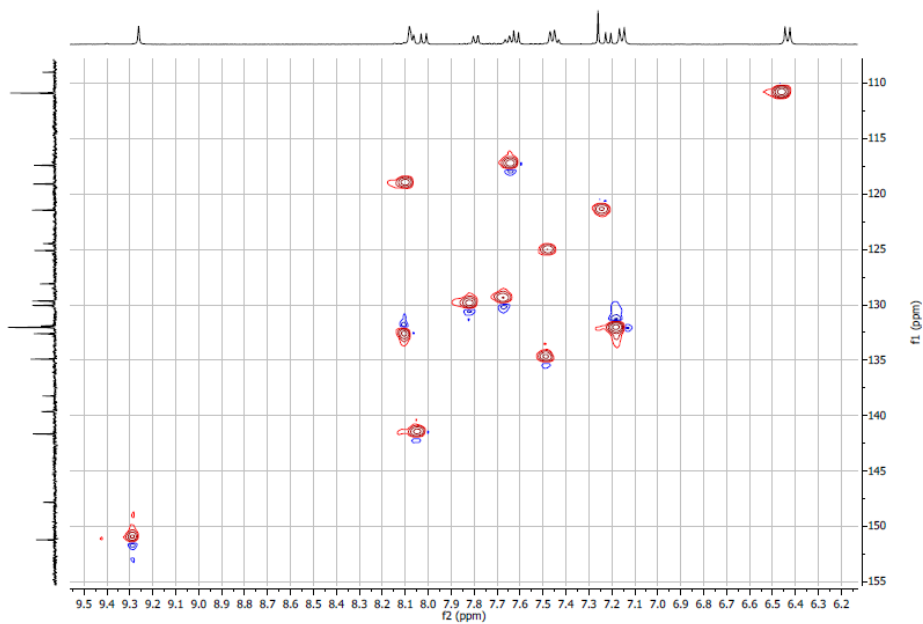
Anexo 11. Espectro de RMN ¹H del compuesto **4** en CDCl₃ a 400.14 MHz.



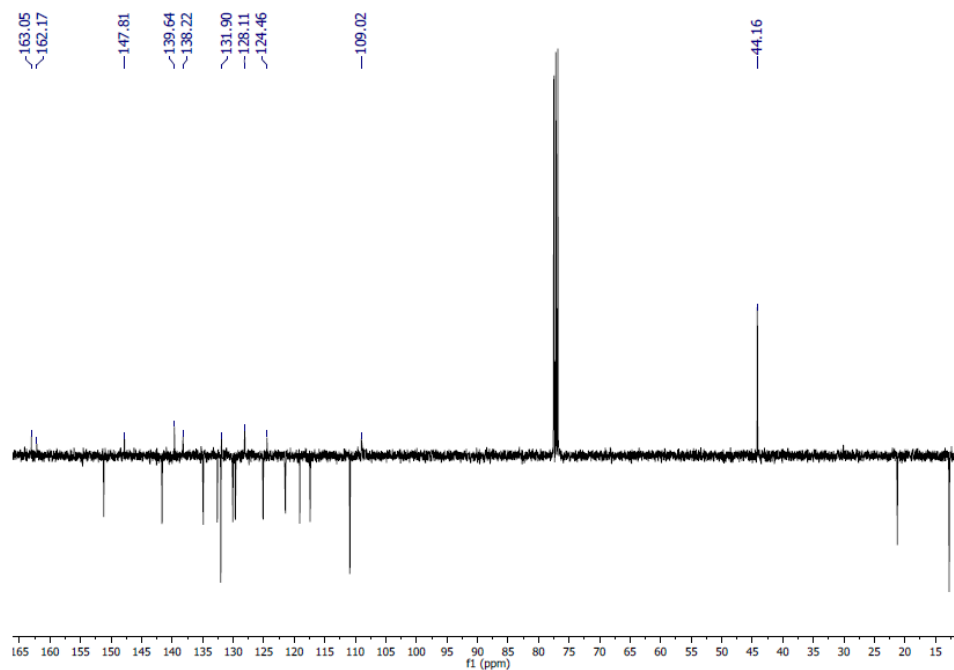
Anexo 12. Espectro de RMN ¹³C del compuesto **4** en CDCl₃ a 100.14 MHz.



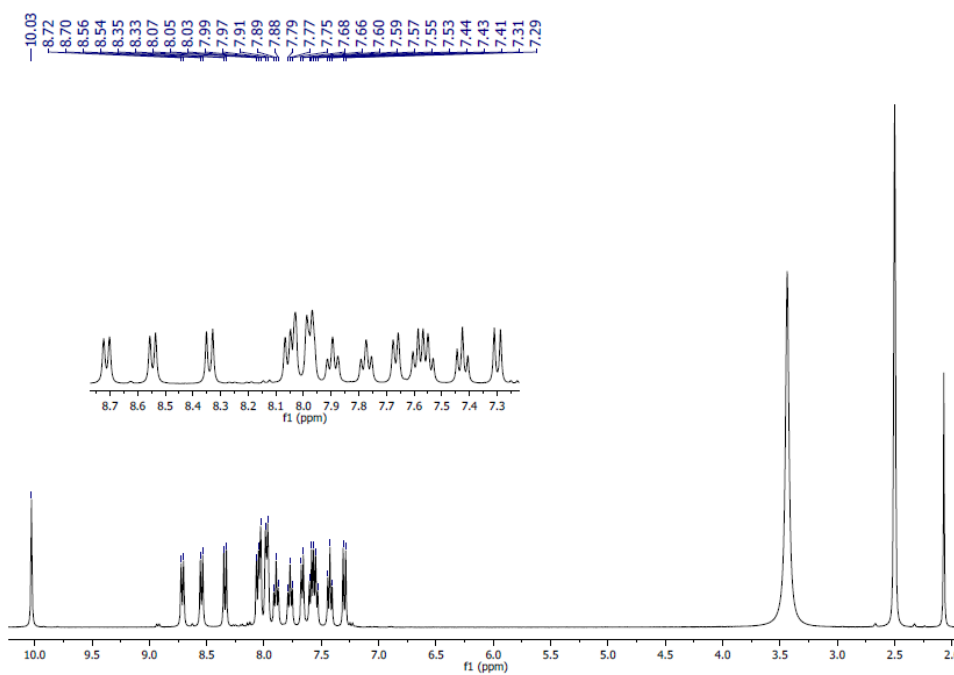
Anexo 13. Región alifática del espectro HETCOR de 2D del compuesto **4**.



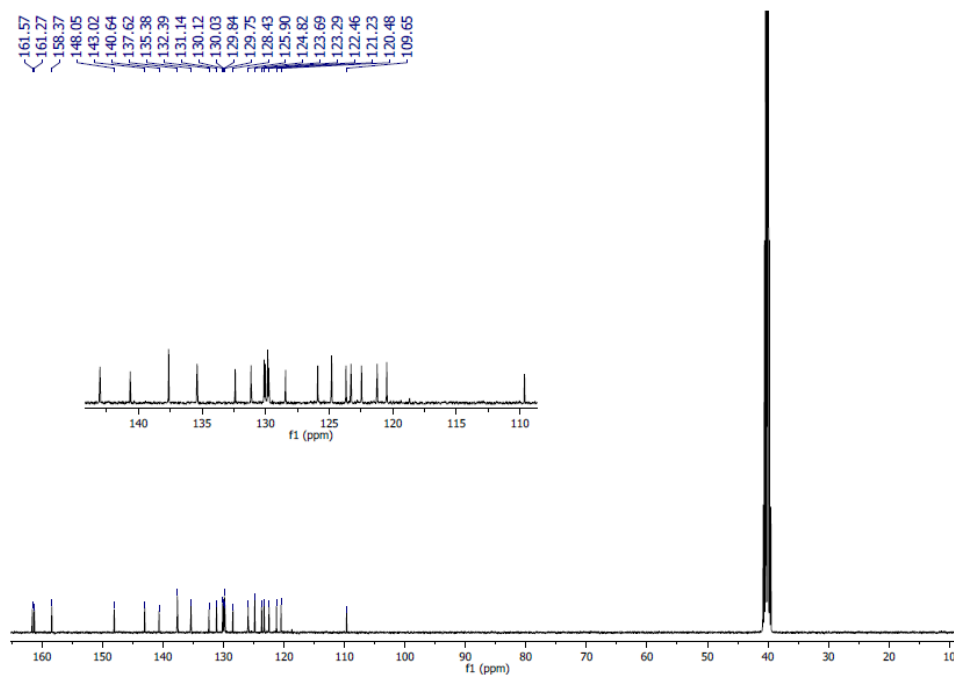
Anexo 14. Región aromática del espectro HETCOR de 2D del compuesto **4**.



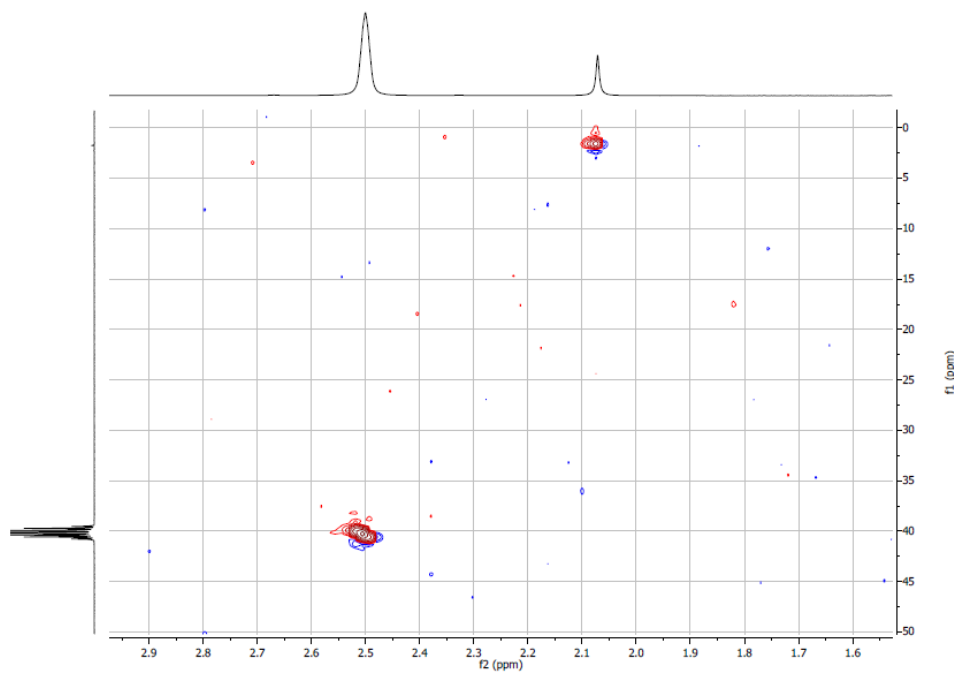
Anexo 15. Espectro DEPT 135 del compuesto **4**.



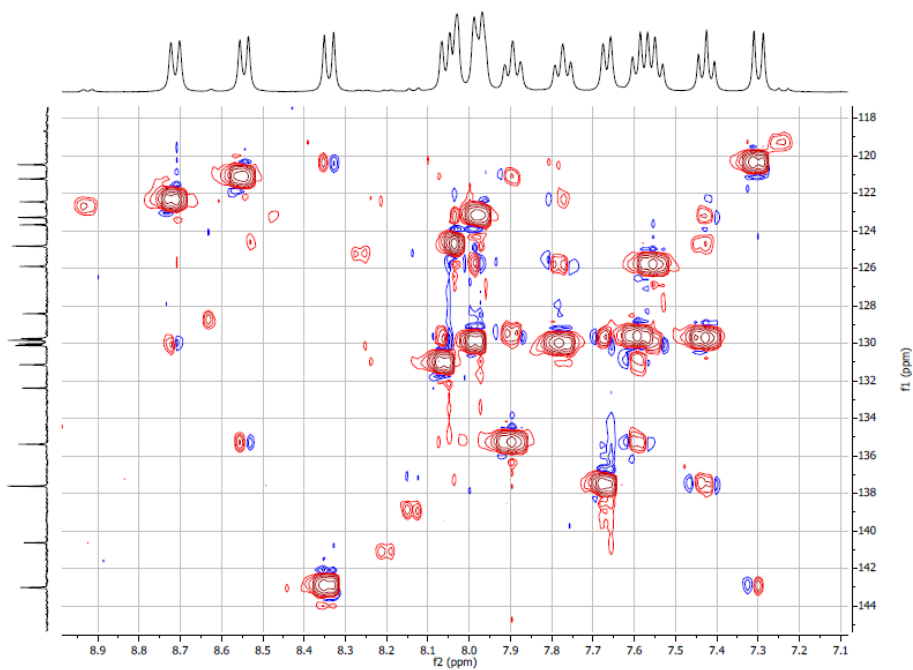
Anexo 16. Espectro de RMN ¹H del compuesto **5** en DMSO-d₆ a 400.14 MHz.



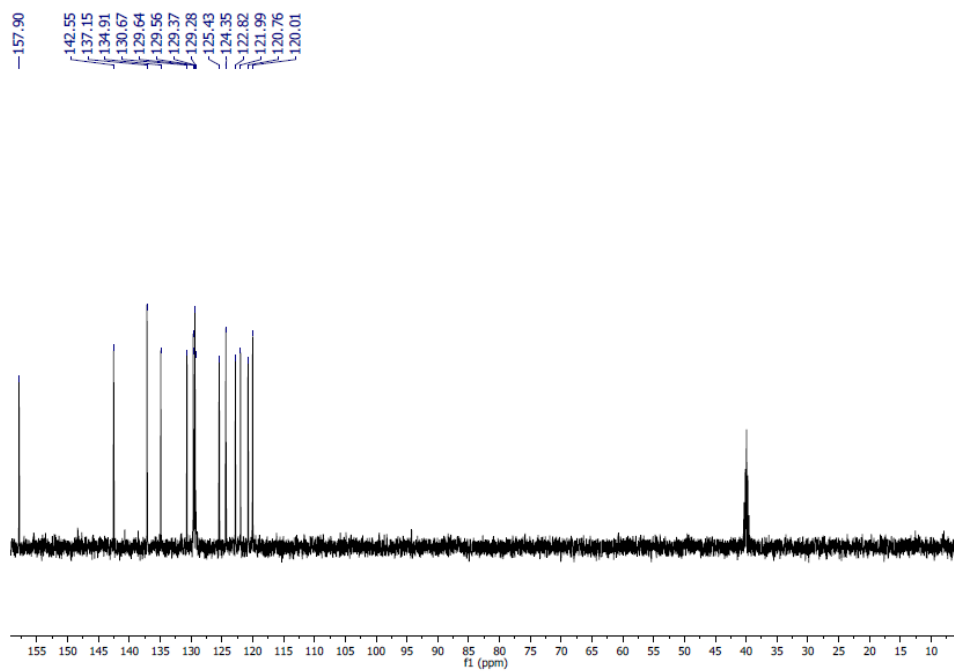
Anexo 17. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **5** en DMSO- d_6 a 400.14 MHz.



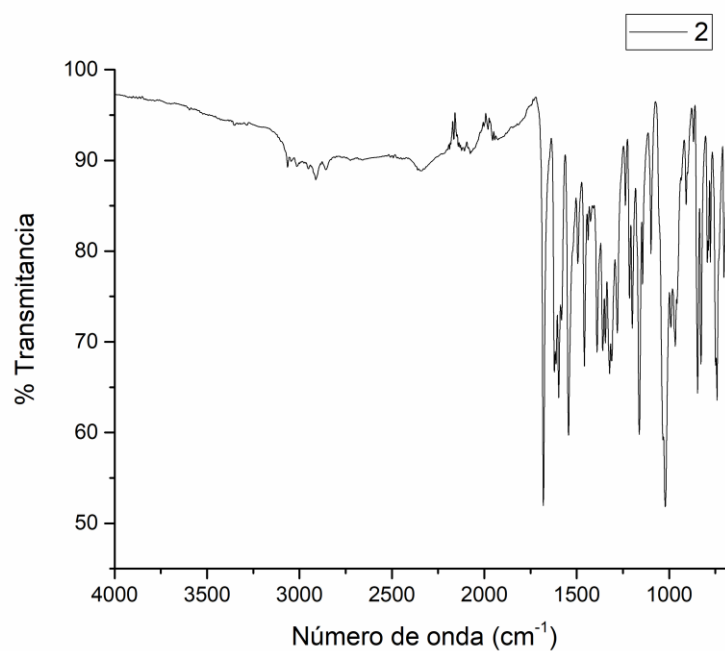
Anexo 18. Región alifática del espectro HETCOR de 2D del compuesto **4**.



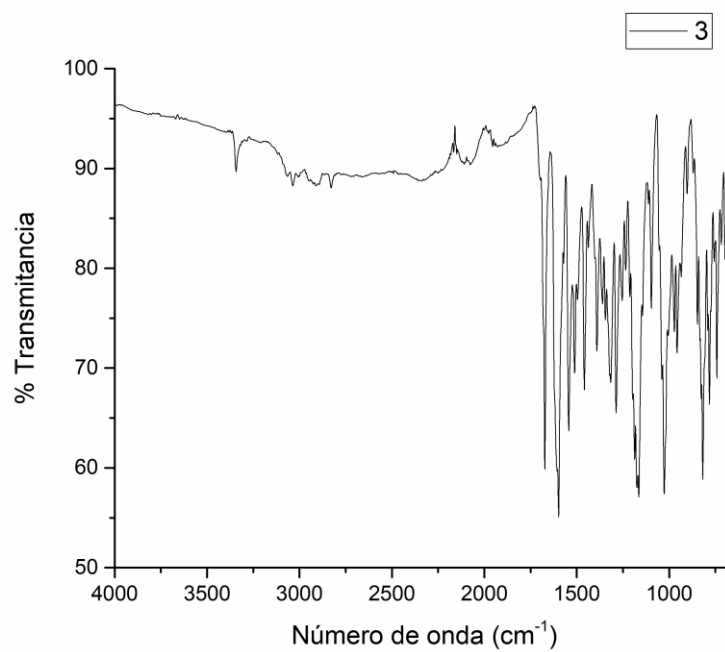
Anexo 19. Región aromática del espectro HETCOR de 2D del compuesto **4**.



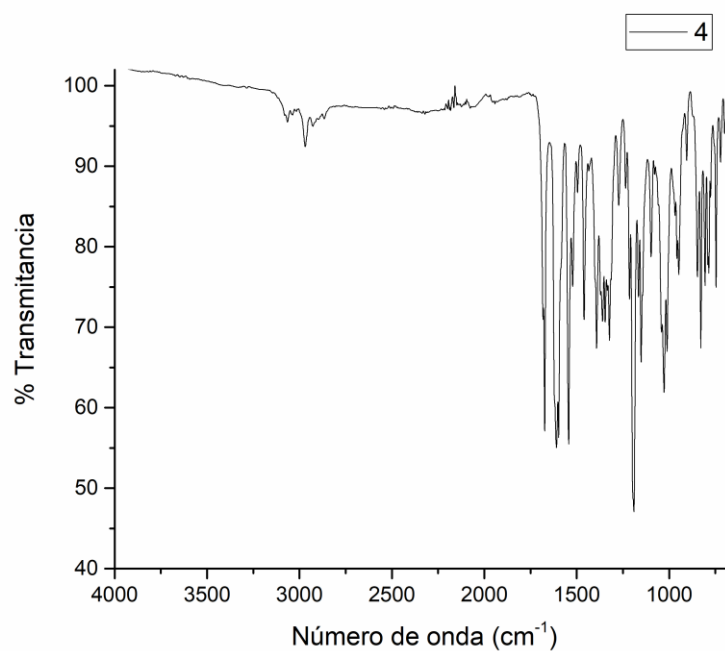
Anexo 20. Espectro DEPT 135 del compuesto **5**.



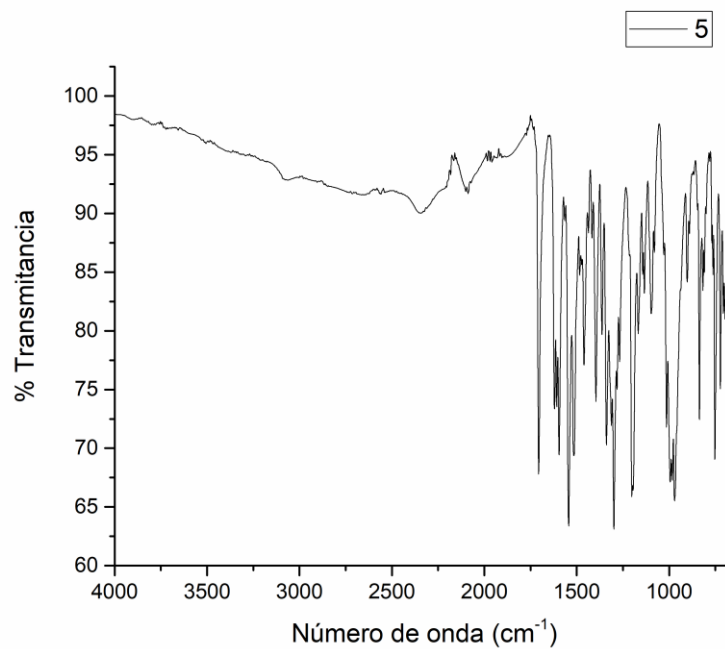
Anexo 21. Espectro de IR del compuesto **2**.



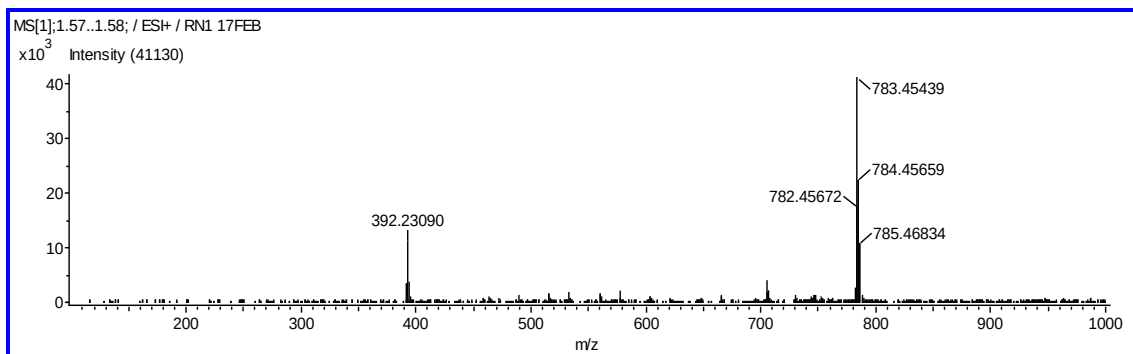
Anexo 22. Espectro de IR del compuesto **3**.



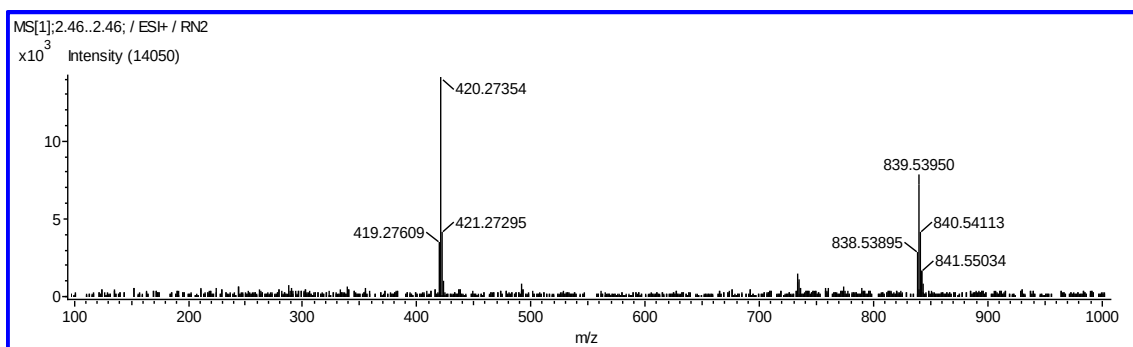
Anexo 23. Espectro de IR del compuesto **4**.



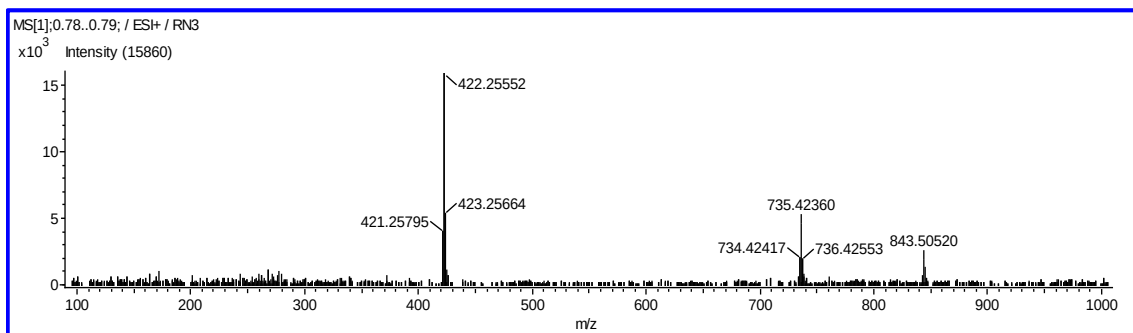
Anexo 24. Espectro de IR del compuesto **5**.



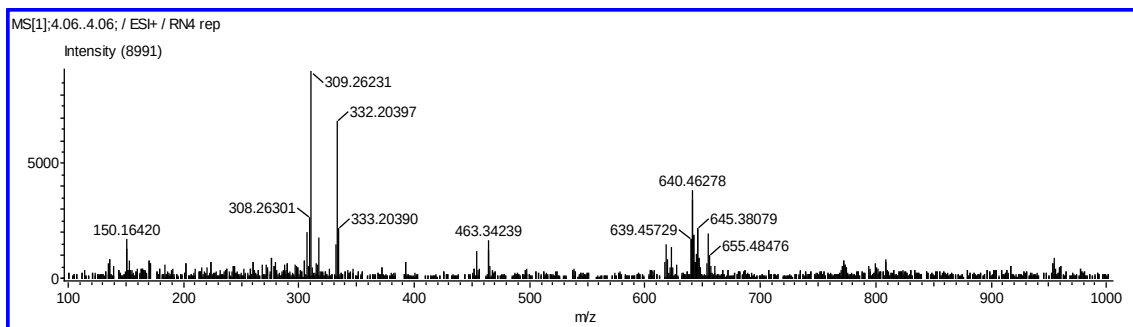
Anexo 25. Espectro de DART-MS del compuesto **1**.



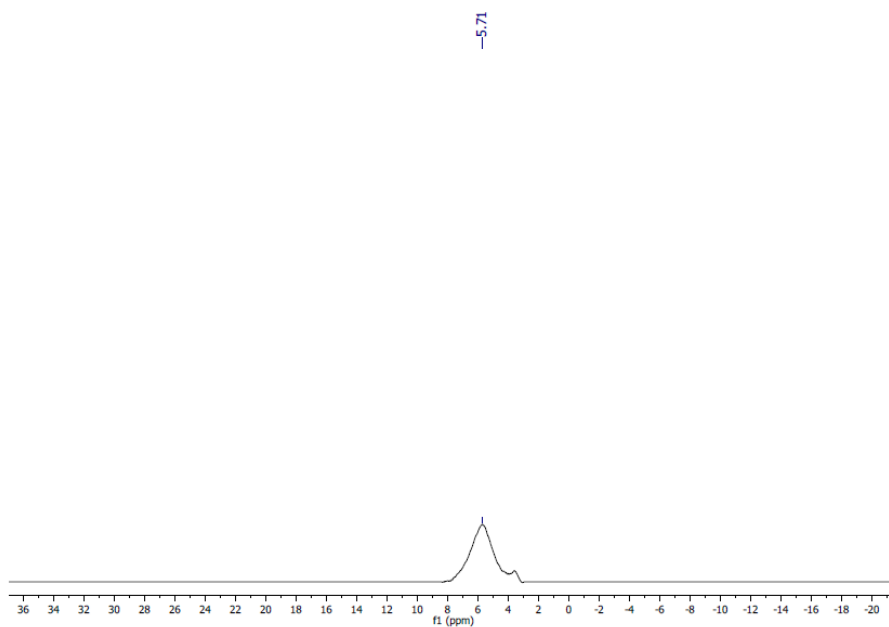
Anexo 26. Espectro de DART-MS del compuesto **2**.



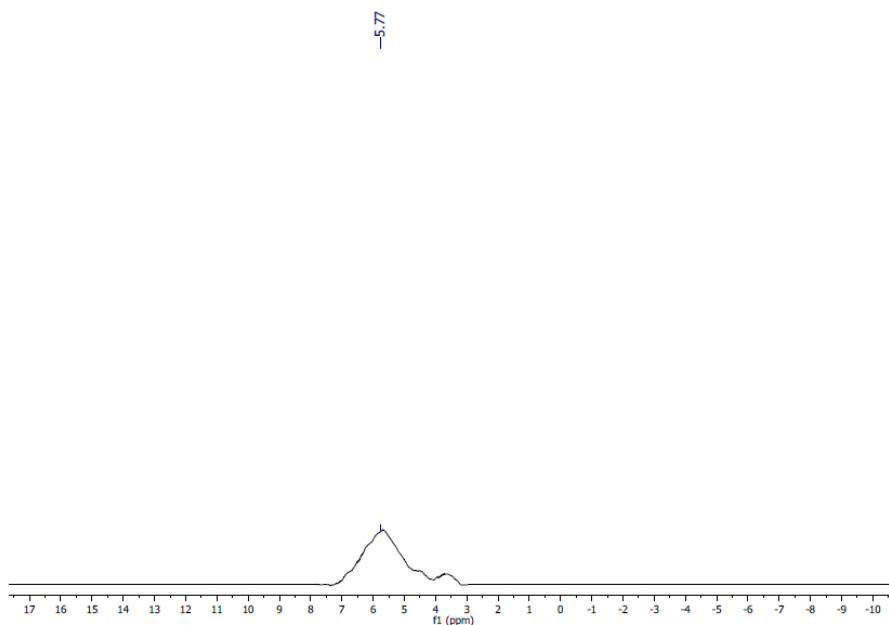
Anexo 27. Espectro de DART-MS del compuesto **3**.



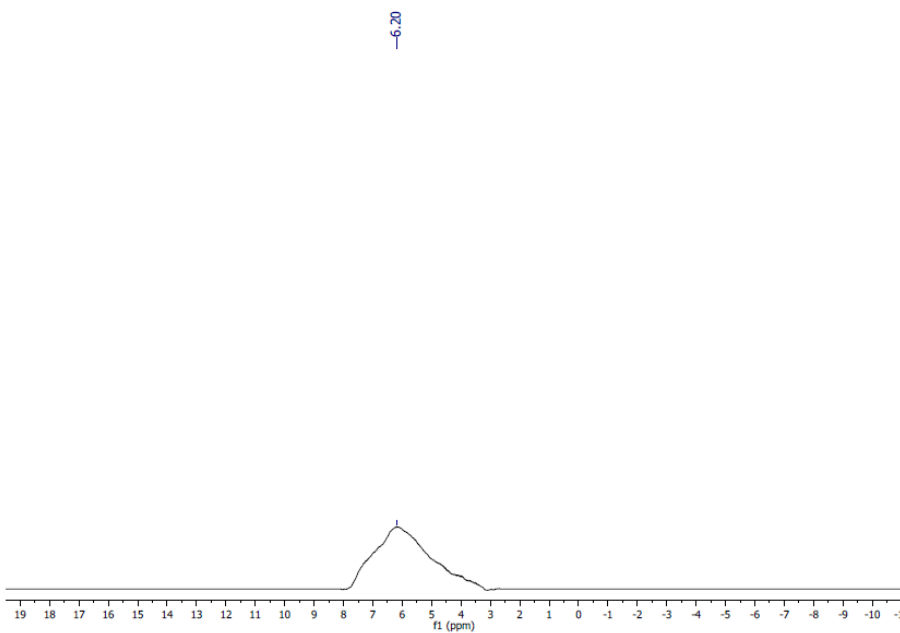
Anexo 28. Espectro de DART-MS del compuesto **4**.



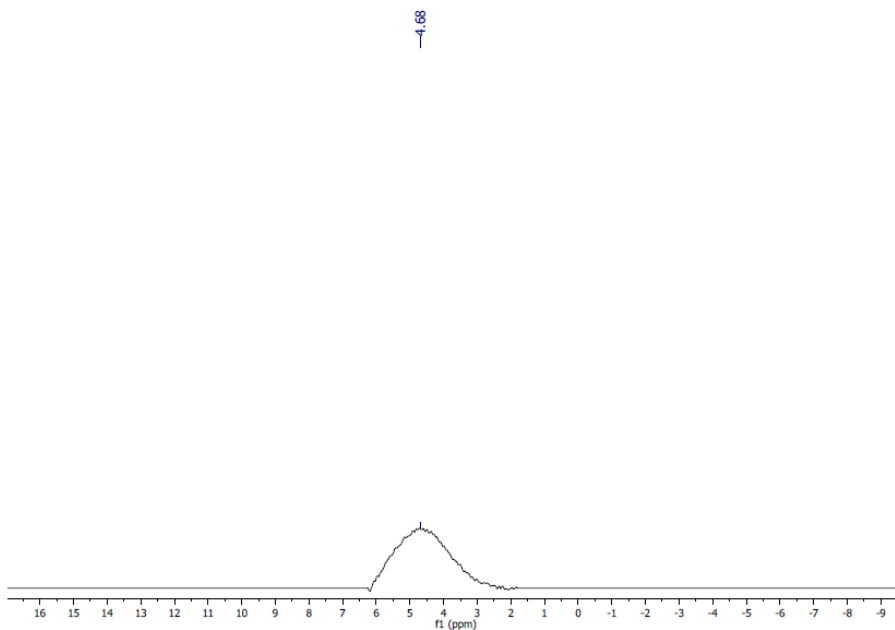
Anexo 29. Espectro de RMN ^{11}B del compuesto **2** en CDCl_3 a 128 MHz.



Anexo 30. Espectro de RMN ^{11}B del compuesto **3** en CDCl_3 a 128 MHz.



Anexo 31. Espectro de RMN ^{11}B del compuesto **4** en CDCl_3 a 128 MHz.



Anexo 32. Espectro de RMN ^{11}B del compuesto **5** en DMSO- d_6 a 128 MHz.