

1

2

6

7

8

9

10

20 Índice

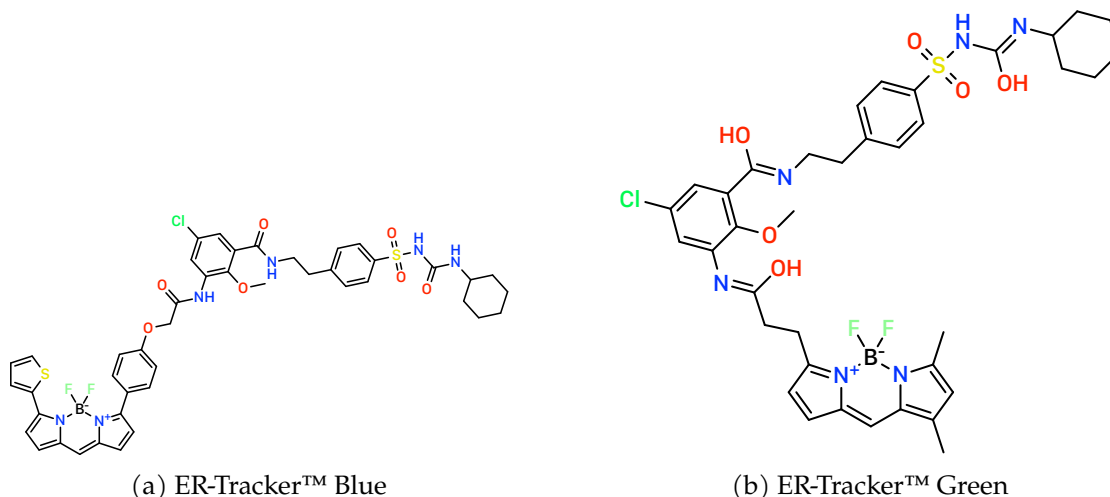
21	1	Introducción	3
22	2	Antecedentes	4
23	2.1	Análisis crítico de los antecedentes	6
24	3	Aportación científica	6
25	4	Hipótesis	6
26	5	Objetivos y metas	6
27	5.1	Objetivo general	6
28	5.2	Objetivos específicos	6
29	6	Metodología	7
30	6.1	Materiales	7
31	6.2	Experimental	7
32	6.2.1	Síntesis	7
33	6.2.2	Determinación de propiedades ópticas	7
34	6.2.3	Determinación de citotoxicidad	7
35	6.2.4	Modelado molecular	8
36	6.3	Disposición de residuos	8
37	6.4	Costos	9
38	7	Planificación	10

39 Índice de figuras

40	1	Diagrama de Gantt de la investigación.	10
----	---	--	----

41 Índice de tablas

42	1	Antecedentes de la investigación.	5
43	2	Equipos que se utilizarán para la caracterización de los compuestos de esta investigación.	7
44	3	Residuos que se generarán derivados de esta investigación.	8



Scheme 1: Los ER-Tracker™ Green y ER-Tracker™ Red de Thermo Fischer Scientific™ son BODIPY comerciales utilizados como agentes para la tinción celular.

List of Schemes

1	Los ER-Tracker™ Green y ER-Tracker™ Red de Thermo Fischer Scientific™ son BORON-DIPYRROMETHENE (BODIPY) comerciales utilizados como agentes para la tinción celular.	3
2	Compuestos que se sintetizarán en esta investigación.	5

1. Introducción

Recientemente, se ha acrecentado el interés por los compuestos fluorescentes de boro debido a su amplio campo de aplicaciones; (1) ya sea en sensores, como en tintas de seguridad, o bien los BODIPY comercialmente disponibles utilizados como agentes para la tinción celular, ER-Tracker™ Green y ER-Tracker™ Red (ver esquema 1).

Los Rotadores Moleculares Fluorescentes (*Del inglés Fluorescent Molecular Rotor*) (FMR) son fluoróforos sensibles a la viscosidad que presentan una rotación libre que se vuelven fluorescentes, o en su defecto, aumentan la fluorescencia solo si su rotación se ve restringida. Algunas interacciones de carácter intramolecular para detener la rotación de los FMR son i. formar interacciones de hidrógeno, (2) ii. a través del impedimento estérico, (3) o iii. por la formación de complejos estables con iones metálicos. (4)

Se ha determinado que la polarización del solvente y la viscosidad del mismo afectan considerablemente la fluorescencia de los FMR. Esto es porque se limita la tasa de

Citar

64 formación del complejo transferencia de carga intramolecular retorcida (*del inglés "twisted*
65 *intramolecular charge transfer"*) (TICT), el cual se de-exita de forma *no-radiativa*, y se
66 promueve la formación del complejo Local Excitado (*del inglés "locally excited"*) (LE), el
67 cual fluórese. El efecto que tiene la polarización del solvente, aunque se sabe que es
68 importante, no se ha logrado elucidar de forma aislada a la viscosidad.(5)

69 Diferentes estrategias para el diseño de FMR se han propuesto para realizar sensores
70 de viscosidad altamente sensibles, por ejemplo, incorporando grupos rotacionales asimé-
71 tricos,(6) rotadores con alta capacidad rotacional,(7) variación de puentes π -conjugados
72 *push-pull*,(7) la aplicación de rotadores di- o trímeros,(8) y la introducción de dos rota-
73 dores con diferentes capacidades rotacionales y electrondonantes.(9)

74 Por lo que, obtener tanto una alta eficiencia de fluorescencia como un contraste fluores-
75 cente simultáneamente es muy difícil, debido a que, en muchos casos, las moléculas de
76 alto rendimiento cuántico tienen una capacidad de contraste deficiente. El rendimiento
77 cuántico y el contraste de fluorescencia de los FMR están inversamente correlacionados,
78 una relación llamada "intensidad de fluorescencia—contraste".(10)

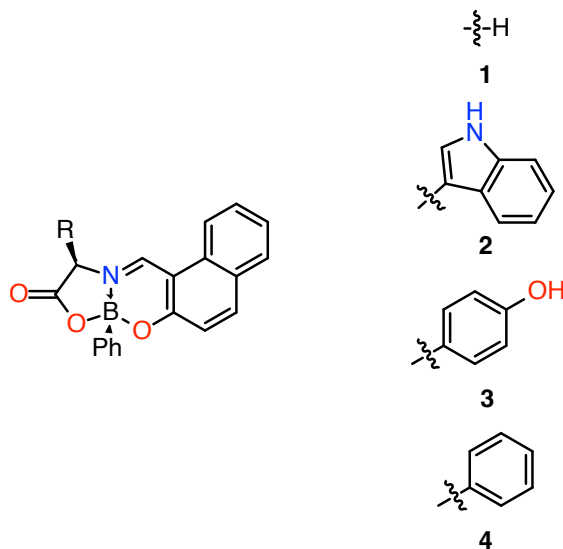
79 En la actualidad existe una amplia variedad de FMR derivados de compuestos de
80 boro, donde los BODIPY y los dioxaborinos son los protagonistas debido a su elevado
81 rendimiento cuántico, sin embargo, muestran algunas desventajas como la síntesis en
82 varias etapas, condiciones de atmósfera anhidra y, en muchas ocasiones, una capacidad
83 de contraste baja, aumentando escasamente el rendimiento cuántico del valor inicial.(7,
84 11-13)

85 Recientemente, nuestro grupo de trabajo ha informado sobre la síntesis de BOSCHIBA
86 y su uso como FMR en la detección de viscosidad y la bioimagen de células.(14) Los
87 resultados encontrados indican que los BOSCHIBA pueden aumentar hasta 34 veces
88 su valor de rendimiento cuántico en medios de alta viscosidad, sin embargo, a pesar
89 de teñir selectivamente el citoplasma en las células de melanoma, presentaron un bajo
90 tñido atribuido principalmente a la baja solubilidad de los compuestos.

91 Para lograr mejorar el contraste de fluorescencia y la bioimagen celular, se diseñó una
92 serie de BOSCHIBA derivados de aminoácidos (ver esquema 2), donde las moléculas
93 presentan rotación libre a través del anillo fenilborónico, y el aminoácido podría dar una
94 mayor compatibilidad y solubilidad en medios celulares. Los compuestos de boro fluo-
95 rescentes **1-4** se obtuvieron por irradiación ultrasónica en combinación con una reacción
96 multicomponente con altos rendimientos químicos (>90 %) y un tiempo de reacción
97 corto de 20 min a 50 °C. Este método resulta más eficiente y rápido en comparación con
98 moléculas similares reportadas en la literatura.

100 2. Antecedentes

101



Scheme 2: Compuestos que se sintetizarán en esta investigación.

102

Tabla 1: Antecedentes de la investigación.

Investigación	Aportación	Referencia
«Organotin Schiff Bases as Halofluorochromic Dyes: Green Synthesis, Chemio-Photophysical Characterization, DFT, and Their Fluorescent Bioimaging <i>in Vitro</i> »	Síntesis de BOSCHIBA con Sn	(15)
«Far-Red and Near-Infrared Boron Schiff Bases (BOSCHIBAs) Dyes Bearing Anionic Boron Clusters»	Síntesis de BOSCHIBA con clusters de boro	(16)
«Organoboron Schiff Bases as Cell-Staining Fluorescent Probes: Synthesis, Chemio-photophysical Characterization, DFT, and X-ray Structures: BOSCHIBAs, Low Cytotoxicity, High Photostability, Bioimaging»	Síntesis de BOSCHIBA y su uso como sondas fluorescentes	(1)
«One-Pot Microwave-Assisted Synthesis of Organotin Schiff Bases: An Optical and Electrochemical Study towards Their Effects in Organic Solar Cells»	Síntesis <i>one-pot</i> de BOSCHIBA	(17)
«Synthesis, Characterization, Photophysical Properties of New Fluorescent Boron Schiff Bases (BOSCHIBAs) and Their Application as Cytoplasm Staining Dyes in Vitro»	Síntesis de BOSCHIBA y su aplicación para teñir citoplasma	(18)

103

104 **2.1. Análisis crítico de los antecedentes**

Hacer!

106 **3. Aportación científica**

Verificar

108 Plantear una metodología para la síntesis de compuestos de boro fluorescentes, con
109 un alto rendimiento cuántico y un alto contraste de fluorescencia en medios de alta
110 viscosidad, a partir de aminoácidos, así como su aplicación en la bioimagen de células.
111 También se realizarán estudios *in silico* para determinar las propiedades fotofísicas de
112 los compuestos.

113 **4. Hipótesis**

Verificar

115 La incorporación de aminoácidos en la estructura de los BOSCHIBA logrará una mejor
116 penetración de las membranas celulares, además de que se espera que los compuestos
117 presenten un alto rendimiento cuántico y un alto contraste de fluorescencia en medios
118 de alta viscosidad.

119 **5. Objetivos y metas**

Verificar

121 **5.1. Objetivo general**

Verificar!

123 Realizar la síntesis de una serie de BOSCHIBA con su posible aplicación en tinción
124 celular y estudiar sus propiedades fotofísicas por medio de cálculos *in silico*.

125 **5.2. Objetivos específicos**

Verificar!

- 127 ■ **Sintetizar** una serie de BOSCHIBA derivadas de triptófano **1**, fenilalanina **2**, tirosi-
128 na **3** y glicina **4**;
- 129 ■ **Elucidar** los mecanismos involucrados en el efecto supresor de la luminiscencia en
130 BO-Trp **5**;
- 131 ■ **Caracterizar** los compuestos por métodos espectroscópicos;

6. Metodología

Hacer!

6.1. Materiales

Tabla 2: Equipos que se utilizarán para la caracterización de los compuestos de esta investigación.

Instrumento	Marca y modelo	Locación
Espectrofotómetro	Perkin-Elmer, Lambda 365	FCQ
Espectrofluorímetro	Horriba Scientificm, Fluorolog-3	FCQ
Sistema LC/MS/MS	EMAR, AB Sciex API 2000	CINVESTAV—IPN (DF)
Difractómetro de rayos X	Bruker, SMART APEX CCD	CINVESTAV—IPN (DF)
NMR (^1H -NMR, ^{11}B -NMR, ^{13}C -NMR)	Bruker, Avance DPX 400	Facultad de Medicina, UANL
Microscopio confocal	—	Facultad de Biología, UANL

6.2. Experimental

6.2.1. Síntesis

Detallar

Se llevará acabo la síntesis de los compuestos **1-4** (ver esquema 2) utilizando condiciones de reacción ecológicas y materiales de partida accesibles. Se optimizarán los parámetros de reacción para obtener rendimientos elevados y selectividad adecuada.

6.2.2. Determinación de propiedades ópticas

Detallar

Se determinará el rendimiento cuántico de los compuestos **1-4**, así como su contraste de fluorescencia en medios de viscosidad variable.

6.2.3. Determinación de citotoxicidad

Verificar!

149 Se determinará la citotoxicidad de los compuestos **1-4** en la línea celular de melanoma
150 murino *B16F10* (ATCC® CCL-6475™) derivado de ratón C57BL/6J.

verificar si
este es el
melanoma
con el que
se hará el
estudio

151 **6.2.4. Modelado molecular**

152

153 Se realizarán cálculos *in silico* por medio de DFT y TDDFT para estudiar las propiedades
154 fotofísicas de los compuestos y comprobar los mecanismos involucrados en el efecto
155 supresor de la luminiscencia en dichos compuestos así como estudios de topológicos
156 sobre estos.

Hacer!

157 **6.2.4.1. Preoptimización** En caso de no contar con datos cristalográficos en el mo-
158 mento del estudio *in silico*, se hará una búsqueda conformacional con ayuda del programa
159 *Conformer-Rotamer Ensemble Sampling Tool* (CREST) (19) para obtener los conformeros
160 más estables de los compuestos.

161 En caso de que se cuenten con datos cristalográficos, se utilizarán las coordenadas de
162 la estructura cristalográfica para realizar la optimización geométrica en DFT.

163 **6.2.4.2. Optimización geométrica** Se hará la optimización geométrica de los com-
164 puestos **1-4** empleando el funcional meta-GGA r^2 SCAN-3c¹ (20) hasta llegar a un nivel
165 de teoría de *DFT/def2-TZVP*, o superior en caso de que sea necesario.

Verificar!

166 **6.2.4.3. Obtención de espectro de emisión** Se obtendrá el espectro de emisión de
167 los compuestos **1-4** por medio de cálculos TDDFT con el funcional ω B97X-V y con el fin
168 de aproximarse al límite CBS, ~~se requiere de aumentación con funciones difusas dobles,~~
169 por lo que se usará el conjunto de funciones base *def2-TZVPD* o *def2-QZVPPD* si es
170 necesario obtener estados de Rydberg

Verificar

Verificar
si es plau-
sible usar
 r^2 SCAN-3c
para
calculos
TDDFT.

171 **6.3. Disposición de residuos**

172

¹La selección de este funcional para la optimización geométrica se debe a su desempeño comparable o superior con funcionales híbridos meta-GGA como M06-2X-D3(0)/TZP que costarían más tiempo de computo, así como su inclusión de correcciones relativísticas como ECP y corrección para dispersión y su buen desempeño con el *benchmark* LMGB35 (Enlaces ligeros del grupo principal) y ROT34 (constantes rotacionales de moléculas orgánicas pequeñas)

Tabla 3: Residuos que se generarán derivados de esta investigación.

Resiudo	Tipo	Disposición
MeOH, hexano	Solventes orgánicos	C
DCM, Cloroformo	Solventes orgánicos halogenados	C
Sales inorgánicas	Sales	A

6.4. Costos

Se estima un costo aproximado de 70 000 MXN para la realización de esta investigación, el cual se desglosa en la ??.

Glosario

BODIPY BORON-DIPYRROMETHENE. 3, 4

BOSCHIBA Bases de Schiff de Boro (*del inglés "Boron Schiff Bases"*). 1, 4–6

CREST Conformer-Rotamer Ensemble Sampling Tool. 8

DFT Teoría del funcional de la densidad (*del inglés "Density Functional Theory"*). 1, 8

FMR Rotores Moleculares Fluorescentes (*Del inglés Fluorescent Molecular Rotor*). 3, 4

LE Local Excitado (*del inglés "locally excited"*). 4

NMR Resonancia Magnética Nuclear (*del inglés "Nuclear Magnetic Resonance"*). 7

TDDFT Teoría del funcional de la densidad tiempo-dependiente (*del inglés "Time-Dependant Density Functional Theory"*). 1, 8

TICT transferencia de carga intramolecular retorcida (*del inglés "twisted intramolecular charge transfer"*). 4

preguntar
por costos
de las tec-
nicas de
caracteri-
zacion y
miscela-
nos

7. Planificación

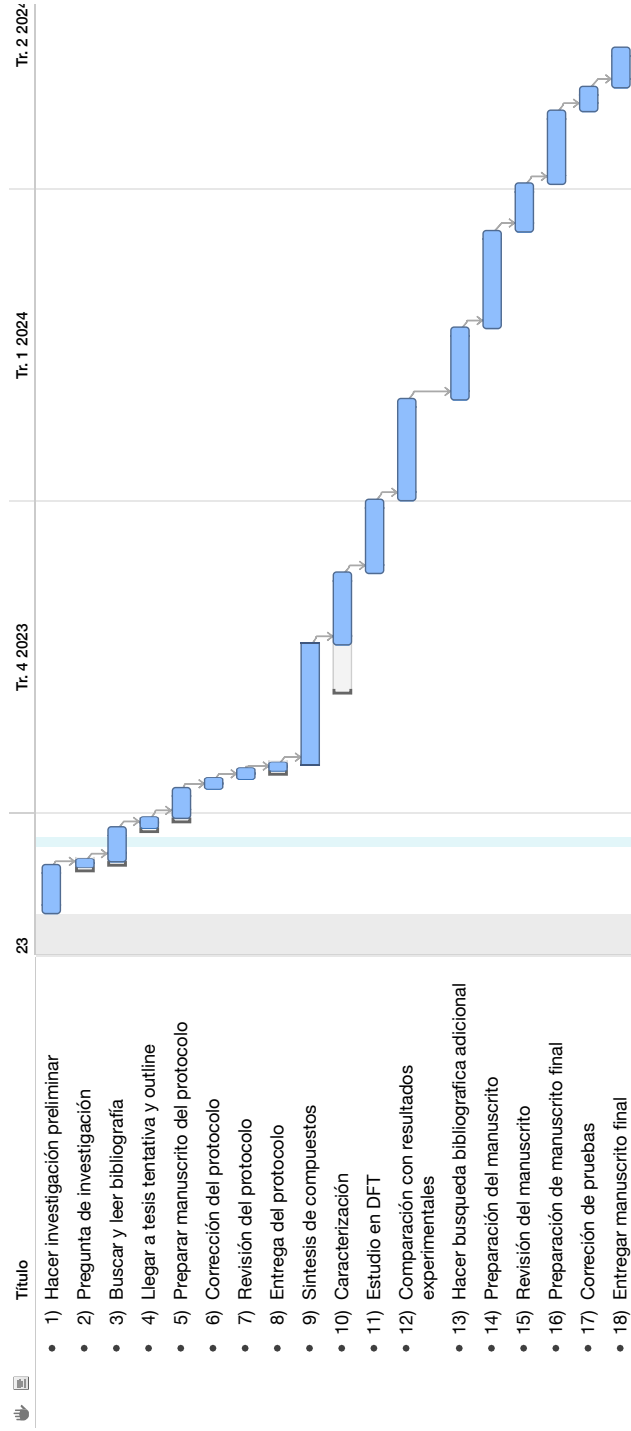


Figura 1: Diagrama de Gantt de la investigación.

Referencias

1. M. Ibarra-Rodríguez *et al.*, *Applied Organometallic Chemistry* **33**, e4718, ISSN: 02682605 (abr. de 2019).
2. Y. Wu *et al.*, *Nature Communications* **9**, 1953, ISSN: 2041-1723 (16 de mayo de 2018).
3. A. Faulkner, T. Van Leeuwen, B. L. Feringa y S. J. Wezenberg, *Journal of the American Chemical Society* **138**, 13597-13603, ISSN: 0002-7863, 1520-5126 (19 de oct. de 2016).
4. R. Yadav *et al.*, *New Journal of Chemistry* **43**, 7109-7119, ISSN: 1144-0546, 1369-9261 (2019).
5. M. Haidekker, T. Brady, D. Lichlyter y E. Theodorakis, *Bioorganic Chemistry* **33**, 415-425, ISSN: 00452068 (dic. de 2005).
6. S.-C. Lee *et al.*, *Chemical Communications* **52**, 13695-13698, ISSN: 1359-7345, 1364-548X (2016).
7. J. Karpenko *et al.*, *Journal of Materials Chemistry C* **4**, 3002-3009, ISSN: 2050-7526, 2050-7534 (2016).
8. J. D. Kimball *et al.*, *RSC Advances* **5**, 19508-19511, ISSN: 2046-2069 (2015).
9. S. L. Raut *et al.*, *Physical Chemistry Chemical Physics* **18**, 4535-4540, ISSN: 1463-9076, 1463-9084 (2016).
10. S.-C. Lee *et al.*, *Chemistry – A European Journal* **24**, 13688-13688, ISSN: 0947-6539, 1521-3765 (18 de sep. de 2018).
11. N. Gupta *et al.*, *Journal of Materials Chemistry B* **4**, 1968-1977, ISSN: 2050-750X, 2050-7518 (2016).
12. L.-L. Li *et al.*, *Analytical Chemistry* **90**, 5873-5878, ISSN: 0003-2700, 1520-6882 (1 de mayo de 2018).
13. E. Kim *et al.*, *Organic & Biomolecular Chemistry* **14**, 1311-1324, ISSN: 1477-0520, 1477-0539 (2016).
14. M. Ibarra-Rodríguez *et al.*, *The Journal of Organic Chemistry* **82**, 2375-2385, ISSN: 0022-3263, 1520-6904 (3 de mar. de 2017).
15. M. López-Espejel *et al.*, *Journal of Materials Chemistry B* **9**, 7698-7712, ISSN: 2050-750X, 2050-7518 (2021).
16. M. M. Corona-López, B. M. Muñoz-Flores, M. Chaari, R. Nuñez y V. M. Jiménez-Pérez, *European Journal of Inorganic Chemistry* **2021**, 2047-2054, ISSN: 1434-1948, 1099-0682 (7 de jun. de 2021).
17. A. M. Cantón-Díaz *et al.*, *New Journal of Chemistry* **42**, 14586-14596, ISSN: 1144-0546, 1369-9261 (2018).
18. M. M. Corona-López *et al.*, *Journal of Organometallic Chemistry* **852**, 64-73, ISSN: 0022328X (dic. de 2017).

- 225 19. P. Pracht, F. Bohle y S. Grimme, *Physical Chemistry Chemical Physics* **22**, 7169-7192,
226 ISSN: 1463-9076, 1463-9084 (2020).
- 227 20. T. Gasevic, J. B. Stückrath, S. Grimme y M. Bursch, *The Journal of Physical Chemistry*
228 *A* **126**, 3826-3838, ISSN: 1089-5639, 1520-5215 (16 de jun. de 2022).

229 Pendientes

230	<input type="checkbox"/> Citar	3
231	<input type="checkbox"/> Esta figura no corresponde a los compuestos que se plantean en la introducción	
232	del proyecto.	4
233	<input type="checkbox"/> Hacer!	4
234	<input type="checkbox"/> Hacer!	6
235	<input type="checkbox"/> Verificar	6
236	<input type="checkbox"/> Verificar	6
237	<input type="checkbox"/> Verificar	6
238	<input type="checkbox"/> Verificar!	6
239	<input type="checkbox"/> Verificar!	6
240	<input type="checkbox"/> Hacer!	7
241	<input type="checkbox"/> Detallar	7
242	<input type="checkbox"/> Detallar	7
243	<input type="checkbox"/> Verificar!	7
244	<input type="checkbox"/> verificar si este es el melanoma con el que se hará el estudio	8
245	<input type="checkbox"/> Hacer!	8
246	<input type="checkbox"/> Hacer!	8
247	<input type="checkbox"/> Hacer!	8
248	<input type="checkbox"/> preguntar por costos de las tecnicas de caracterizacion y miscelanos	9