

# **Síntesis sustentable, caracterización química-fotofísica, y por DFT de BOSCHIBA derivadas de aminoácidos y su aplicación *in vitro***

Protocolo de tesis de maestría

---

Pablo E. Alanis

2023–11–30

Universidad Autónoma de Nuevo León, División de Posgrado

# Contenido i

Resumen

Introducción

Antecedentes

Análisis crítico de los antecedentes

Aportación científica

Hipótesis

Objetivos y metas

Objetivo general

Objetivos específicos

# Contenido ii

## Experimental

Síntesis

Determinación de propiedades ópticas

Determinación de citotoxicidad

Modelado molecular

# Resumen

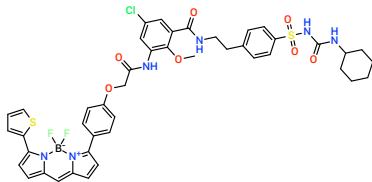
---

Se sintetizarán una serie de Bases de Schiff de Boro (*del inglés “Boron Schiff Bases”*) (BOSCHIBA) derivadas de glicina, L-triptófano, L-tirosina y L-fenilalanina. Se caracterizarán por métodos espectroscópicos y se realizarán cálculos *in silico* por medio de Teoría del funcional de la densidad (*del inglés “Density Functional Theory”*) (DFT) y Teoría del funcional de la densidad tiempo-dependiente (*del inglés “Time-Dependant Density Functional Theory”*) (TDDFT) para estudiar las propiedades fotofísicas de los compuestos y comprobar los mecanismos involucrados en el efecto supresor de la luminiscencia en dichos compuestos así como estudios de topológicos sobre los mismos. A su vez, se realizarán estudios de citotoxicidad y tinción *in vitro* para determinar su actividad biológica de los compuestos.

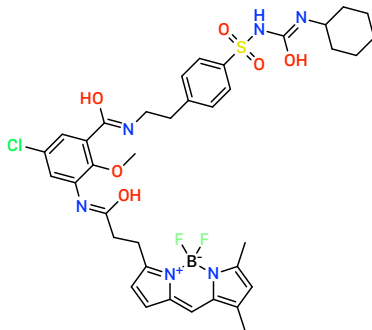
# Introducción

---

- Interés en compuestos fluorescentes de boro;
- Amplio campo de aplicaciones;
- BODIPY comercialmente disponibles;
  - Utilizados como agentes para la tinción celular:
    1. ER-Tracker™ Green, y;
    2. ER-Tracker™ Red.



**(a)** ER-Tracker™ Blue



**(b)** ER-Tracker™ Green

**Esquema 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.



- Los Rotores Moleculares Fluorescentes (*Del inglés “Fluorescent Molecular Rotor”*) (FMR) son fluoróforos sensibles a la viscosidad.
- Presentan una rotación libre que se vuelven fluorescentes.
- 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;<sup>1</sup>
  - II. A través del impedimento estérico;<sup>2</sup> o
  - III. Por la formación de complejos estables con iones metálicos.<sup>3</sup>

---

<sup>1</sup>1.

<sup>2</sup>2.

<sup>3</sup>3.

## Fluoróforos sensibles a la viscosidad iii

- Se ha determinado que la polaridad del solvente y la viscosidad del mismo afectan considerablemente la fluorescencia de los FMR.
- El efecto que tiene la polaridad del solvente, aunque se sabe que es importante, no se ha logrado elucidar de forma aislada a la viscosidad.<sup>4</sup>

---

<sup>4</sup>M. Haidekker *et al.*, *Bioorganic Chemistry* **33**, 415-425, ISSN: 00452068 (dic. de 2005).

- Diferentes estrategias para el diseño de FMR se han propuesto para realizar sensores de viscosidad altamente sensibles.
- Ejemplos incluyen: incorporando grupos rotacionales asimétricos,<sup>5</sup> usando grupos con alta capacidad para rotar,<sup>6</sup> variación de puentes  $\pi$ -conjugados tipo *push-pull*,<sup>7</sup> la aplicación de rotadores di- o trímeros,<sup>8</sup> y la introducción de dos rotadores distintos con diferentes capacidades rotacionales y electrondonantes.<sup>9</sup>

---

<sup>5</sup>5.

<sup>6</sup>6.

<sup>7</sup>6.

<sup>8</sup>7.

<sup>9</sup>8.

- Obtener tanto una alta eficiencia de fluorescencia como un contraste fluorescente simultáneamente es muy difícil.
- El rendimiento cuántico y el contraste de fluorescencia de los FMR están inversamente correlacionados, una relación llamada “intensidad de fluorescencia—contraste”.<sup>10</sup>

---

<sup>10</sup>9.

- En la actualidad existe una amplia variedad de FMR derivados de compuestos de boro, donde los BODIPY y los dioxaborinos son los protagonistas debido a su elevado rendimiento cuántico.
- Sin embargo, muestran algunas desventajas como la síntesis en varias etapas, condiciones de atmósfera anhidra y, en muchas ocasiones, una capacidad de contraste baja.<sup>11</sup>

---

<sup>11</sup>6, 10-12.

- Recientemente, nuestro grupo de trabajo ha informado sobre la síntesis de BOSCHIBA y su uso como FMR en la detección de viscosidad y la bioimagen de células.<sup>12</sup>
- Los resultados encontrados indican que los BOSCHIBA pueden aumentar hasta 34 veces su valor de rendimiento cuántico en medios de alta viscosidad.

---

<sup>12</sup>13.

## Mejoramiento del Contraste y la Bioimagen

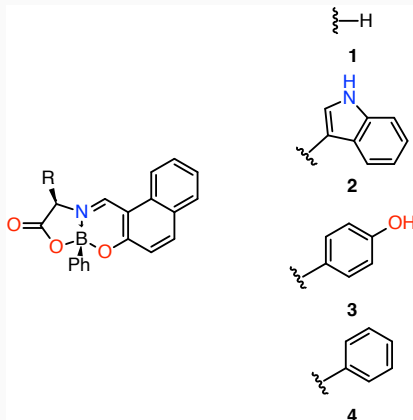
- Para lograr mejorar el contraste de fluorescencia y la bioimagen celular, se diseñó una serie de BOSCHIBA derivados de aminoácidos.
- Las moléculas presentan rotación libre a través del anillo fenilborónico, y el aminoácido podría dar una mayor compatibilidad y solubilidad en medios celulares.



## Síntesis de Compuestos de Boro Fluorescentes

- Los compuestos de boro fluorescentes **1-4** se sintetizarán por una reacción multicomponente en Microondas (*del inglés “Microwave”*) (MW).
- El objetivo es tener altos rendimientos químicos en un tiempo de reacción corto.
- Este método resulta más eficiente y rápido en comparación con BOSCHIBA similares reportados en la literatura sintetizados por métodos convencionales.

# Compuestos a Sintetizar



**Figura 1:** Compuestos que se sintetizarán en esta investigación.

# Antecedentes

---

Investigación	Aportación(es)	Referencia
«Organotin Schiff Bases as Halofluorochromic Dyes: Green Synthesis, Chemio-Photophysical Characterization, DFT, and Their Fluorescent Bioimaging <i>in Vitro</i> »	Síntesis por MW de BOSCHIBA con Sn	(15)
«New Luminescent Organoboron Esters Based on Damnacanthal: One-Pot Multicomponent Synthesis, Optical Behavior, Cytotoxicity, and Selectivity Studies against MDA-MBA-231 Breast Cancer Cells»	Síntesis de BOSCHIBA por reacción <i>one-pot</i> multicomponente (3-MCR)	(16)
«Far-Red and Near-Infrared Boron Schiff Bases (BOSCHIBAs) Dyes Bearing Anionic Boron Clusters»	Síntesis de BOSCHIBA con clusters de boro	(17)
«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)

*Continúa en la siguiente página*

---

«One-Pot Microwave-Assisted Synthesis of  
Organotin Schiff Bases: An Optical and  
Electrochemical Study towards Their Effects in  
Organic Solar Cells»

Síntesis *one-pot* de BOSCHIBA

(18)

«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

(19)

---

- Preparación de BOSCHIBA por reacción de condensación.
- Incorporación de sustituyentes voluminosos para mejorar la estabilidad.

- Uso de BOSCHIBA para detección de células cancerígenas.
- Propuesta de síntesis de BOSCHIBA derivada de aminoácidos para mejorar solubilidad y tñido del citoplasma.

- Preparación de BOSCHIBA por reacción de condensación.
- Propuesta de síntesis por MW para reducir tiempo de reacción.



- Síntesis de BOSCHIBA tetracoordinados por reacción de condensación de tres componentes.
- Rendimientos elevados y tiempo de reacción corto.

- Síntesis de bases de Schiff basadas en Sn por medios convencionales y por MW.
- Reducción drástica del tiempo de reacción y mejora en los rendimientos.
- Evaluación del uso de bases de Schiff basadas en Sn como agentes de tinción celular.

# Aportación científica

---

- Plantear una metodología para la síntesis de BOSCHIBA fluorescentes, con un alto rendimiento cuántico y un buen contraste de fluorescencia en medios de alta viscosidad, a partir de aminoácidos, así como su aplicación en la tinción celular.
- También se realizarán estudios *in silico* para determinar las propiedades fotofísicas de los compuestos.

# Hipótesis

---

- La incorporación de aminoácidos en la estructura de los BOSCHIBA logrará una mejor penetración de las membranas celulares.
- Se espera que los compuestos presenten un alto rendimiento cuántico y un alto contraste de fluorescencia en medios de alta viscosidad.

## Objetivos y metas

---

## Objetivo general

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

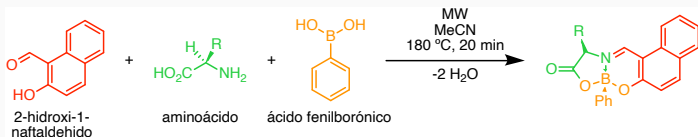


## Objetivos específicos

- **Sintetizar** una serie de BOSCHIBA derivadas de L-triptófano **1**, L-fenilalanina **2**, L-tirosina **3** y glicina **4**;
- **Elucidar** los mecanismos involucrados en el efecto supresor de la luminiscencia en BO-Trp **5**;
- **Caracterizar** los compuestos por métodos espectroscópicos.

# Experimental

- Se llevará a cabo la síntesis de los compuestos **1-4** (ver figura 1 y 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.



**Esquema 2:** Método de síntesis para las BOSCHIBA **1-4** por MW.

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

## Referencias

---

1. Y. Wu *et al.*, *Nature Communications* **9**, 1953, ISSN: 2041-1723 (16 de mayo de 2018).
2. 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).
3. R. Yadav *et al.*, *New Journal of Chemistry* **43**, 7109-7119, ISSN: 1144-0546, 1369-9261 (2019).

4. M. Haidekker, T. Brady, D. Lichlyter y E. Theodorakis, *Bioorganic Chemistry* **33**, 415-425, ISSN: 00452068 (dic. de 2005).
5. S.-C. Lee *et al.*, *Chemical Communications* **52**, 13695-13698, ISSN: 1359-7345, 1364-548X (2016).
6. J. Karpenko *et al.*, *Journal of Materials Chemistry C* **4**, 3002-3009, ISSN: 2050-7526, 2050-7534 (2016).
7. J. D. Kimball *et al.*, *RSC Advances* **5**, 19508-19511, ISSN: 2046-2069 (2015).
8. S. L. Raut *et al.*, *Physical Chemistry Chemical Physics* **18**, 4535-4540, ISSN: 1463-9076, 1463-9084 (2016).

## Referencias iii

9. S.-C. Lee *et al.*, *Chemistry – A European Journal* **24**, 13688-13688, ISSN: 0947-6539, 1521-3765 (18 de sep. de 2018).
10. N. Gupta *et al.*, *Journal of Materials Chemistry B* **4**, 1968-1977, ISSN: 2050-750X, 2050-7518 (2016).
11. L.-L. Li *et al.*, *Analytical Chemistry* **90**, 5873-5878, ISSN: 0003-2700, 1520-6882 (1 de mayo de 2018).
12. E. Kim *et al.*, *Organic & Biomolecular Chemistry* **14**, 1311-1324, ISSN: 1477-0520, 1477-0539 (2016).
13. M. Ibarra-Rodríguez *et al.*, *The Journal of Organic Chemistry* **82**, 2375-2385, ISSN: 0022-3263, 1520-6904 (3 de mar. de 2017).

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

## Glosario

---

BODIPY	Boron-DIPYrrromethene.
BOSCHIBA	Bases de Schiff de Boro ( <i>del inglés "Boron Schiff Bases"</i> ).
CREST	<i>Conformer-Rotamer Ensemble Sampling Tool.</i>
DFT	Teoría del funcional de la densidad ( <i>del inglés "Density Functional Theory"</i> ).

FMR	Rotores Moleculares Fluorescentes ( <i>Del inglés “Flurescent Molecular Rotor”</i> ).
MW	Microondas ( <i>del inglés “Microwave”</i> ).
TDDFT	Teoría del funcional de la densidad tiempo-dependiente ( <i>del inglés “Time-Dependant Density Functional Theory”</i> ).