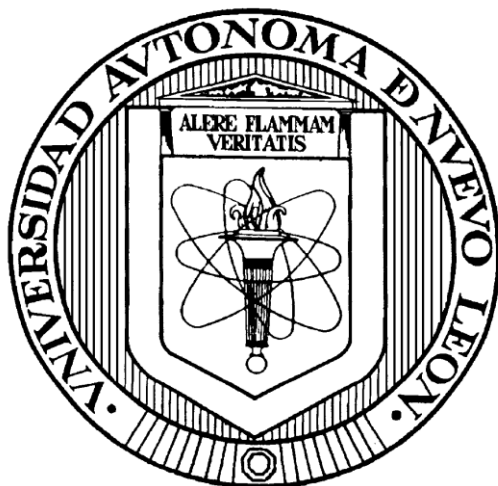


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



**“SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS ORGANOBORO
LUMINISCENTES CON POTENCIAL APLICACIÓN PARA LA
OBTENCIÓN DE BIOIMÁGENES IN-VITRO”**

**POR
MARISOL IBARRA RODRÍGUEZ**

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

DICIEMBRE, 2 0 1 7

RESUMEN

Marisol Ibarra Rodríguez
Diciembre 2017

Fecha de graduación:

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Químicas

Título del Estudio: Síntesis y caracterización de compuestos organoboro luminiscentes con potencial aplicación para la obtención de bioimágenes in-vitro.

Número de páginas:

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

Área de Estudio: Química de los Materiales

Propósito y Método de estudio: Hoy en día el diseño y la síntesis de nuevos materiales luminiscentes han permitido la interacción de la física, la química y biología haciendo un área multidisciplinaria dando como resultado una aplicación materiales luminiscentes para la obtención de bioimágenes como un medio para el diagnóstico oportuno de enfermedades. Debido a lo anterior es importante desarrollar materiales luminiscentes con metodologías sencillas, con la capacidad de teñir células con porcentajes de viabilidades altas.

Conclusiones y contribuciones: Fueron sintetizados mediante método tradicional y caracterizados por IR, RMN, masas de alta resolución, UV, fluorescencia y rayos-X de monocristal cuatro ligantes bases de Schiff, y siete compuestos de boro. Se realizó el estudio de modelado molecular para los organoboro y determinó la citotoxicidad y bioimágenes. Observando una alta viabilidad frente a células A-431, los complejos 5, 6 y 9 mostraron buenas características como marcadores celulares y los complejos 6, 7, 9 y 11 presentaron el comportamiento de rotores moleculares.

FIRMA DEL ASESOR:

Dr. Víctor Manuel Jiménez Pérez

Esta tesis se realizó en el Laboratorio de Materiales III, en el área de posgrado de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la dirección del Dr. Víctor Manuel Jiménez Pérez. Este proyecto fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (240011) y fue complementado con una estancia corta con la colaboración del Dr. Mario Sánchez en Centro de Investigación en Materiales Avanzados, Unidad Monterrey.

DIVULGACIÓN DEL PROYECTO

El estudio realizado en esta tesis se ha presentado en dos congresos internacionales y ha generado hasta el momento dos artículos publicados y dos en evaluación.

I. Rodríguez Marisol, V. Jiménez-Pérez, R. Dias, B. Muñoz-Flores. Mono- and dinuclear organoboron compounds bearing to Schiff bases ligand. 252nd American Chemical Society National Meeting & Exposition. Philadelphia, EUA, August 21-25 2016.

Marisol Ibarra-Rodríguez, Blanca M. Muñoz-Flores, H. V. Rasika-Dias, Víctor Jiménez-Pérez. Rotor molecular foto-degradable con potencial aplicación de biomarcador celular. IV Congreso Internacional de Química e Ingeniería Verde. Monterrey N. L. 6-8 septiembre 2017.

M. Ibarra-Rodríguez, B. M. Muñoz-Flores, H. V. Rasika Dias, M. Sánchez, A. Gómez-Treviño, R. Santillan, N. Farfan, V. M. Jiménez-Pérez. Fluorescent Molecular Rotors of Organoboron Compounds from Schiff Bases: Synthesis, Viscosity, Reversible Thermochromism, Cytotoxicity, and Bioimaging Cells. *J. Org. Chem.* (2017), 82, 2375-2385.

María M. Corona-López, Víctor M. Jiménez Pérez, Rodrigo Chan-Navarro, **Marisol Ibarra-Rodríguez**, H.V. Rasika Dias, Arturo Chávez-Reyes, Blanca M. Muñoz-Flores. Synthesis, characterization, photophysical properties of new fluorescent boron Schiff bases (BOSCHIBAs) and their application as cytoplasmic biomarkers in vitro. *J. Organomet. Chem.* (2017), On-line <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2017.10.003>

Marisol Ibarra-Rodríguez, Rodrigo Chan-Navarro, Blanca M. Muñoz-Flores, H. V. Rasika Dias, Mario Sánchez, and Víctor M. Jiménez-Pérez. Multi-stimuli responsive fluorescent behaviors of Boron Schiff bases (BOSCHIBAs) and their bioimaging applications. *Inorg. Chem.* Enviado 15 de noviembre 2017, IC-2017-02907.

Marisol Ibarra-Rodríguez, Blanca M. Muñoz-Flores, and Víctor M. Jiménez-Pérez. Multi-stimuli fluorescent behaviour of Boron Schiff bases (BOSCHIBAs) in the solid state (Thermochromism, vapochromism, and piezochromism): Synthesis, characterization and photophysical studies. *J. Lumin.* Enviado 17 de noviembre 2017, LUMIN_2017_1791.

Fue realizada una estancia corta:

1 de septiembre 2016 – 31 de noviembre 2016 en el laboratorio de simulación de Física y Química teórica (CIMAV), con la colaboración del Dr. Mario Sánchez.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Víctor Manuel Jiménez Pérez director de mi tesis, por su apoyo, el tiempo brindado para realizar el proyecto de investigación.

Así mismo agradezco al Dr. Mario Sánchez por el tiempo brindado durante la estancia en CIMAV. Gracias al Comité de Tesis, al Dr. Eduardo Sánchez, Dr. Alberto Gómez, Dr. Marcelo Videa y a la Dra. Perla Elizondo de Cota, por sus correcciones, sugerencias e interés, en la revisión del presente trabajo.

Agradezco a mi FAMILIA que incondicionalmente me apoyaron y dieron fuerzas en aquellos momentos difíciles y ahora festejan un triunfo más.

DEDICO ESTA TESIS

A mis hijos

CONTENIDO

Capítulo	Página
Portada.....	0
Hoja de aprobación.....	0
Resumen.....	0
Hoja de datos.....	I
Divulgación del proyecto	II
Agradecimientos.....	III
Dedicatoria.....	V
Contenido.....	VI
Lista de figuras.....	IX
Lista de esquemas.....	XIII
Lista de tablas.....	XIV
Lista de abreviaturas.....	XVI
Índice de compuestos sintetizados.....	XVIII
1.1 Introducción.....	1
2. Antecedentes.....	3
2.1. Compuestos luminiscentes de boro.....	3
2.2. Bioimágenes luminiscentes.....	5
2.2.1. Compuestos de boro luminiscentes aplicados para la obtención de bioimágenes	7
2.3. Rotores moleculares fluorescentes.....	11
3.1. Aportación Científica	14
3.2. Hipótesis.....	15
3.3. Objetivo general.....	15
3.4.1 Objetivos específicos.....	15
4. Metodología general.....	16
4.1.- Síntesis de los ligantes	16

4.2. Síntesis de los complejos mononucleares y binucleares.....	17
4.3. Determinación de propiedades fotofísicas.....	18
4.3.1. Determinación de espectros de emisión	18
4.4. Determinación de citotoxicidad y obtención de bioimágenes.....	19
4.5. Material, equipo y ubicación de equipo.....	19
4.6. Disposición de residuos.....	20
5. Discusión de resultados	21
5.1. Caracterización de los ligantes bases de Schiff.....	21
5.1.1. Datos de RMN de los ligantes 1-4	21
5.1.2. Ion molecular y fragmentación de los ligantes 1-4	24
5.1.3. Análisis de los datos de IR de los ligantes 1-4	26
5.2. Caracterización de los complejos de boro	27
5.2.1. Datos de RMN de los complejos mononucleares de boro 5-7	28
5.2.2. Datos de los espectros de masas de alta resolución para los complejos 5 al 7	33
5.2.3. Análisis de los datos de IR de los complejos de boro 5-7	34
5.2.4. Análisis de las estructuras en estado sólido por difracción de rayos X de los complejos mononucleares.	35
5.3. Caracterización de RMN de los complejos binucleares 8-11	41
5.3.1. Caracterización de RMN de los complejos binucleares 8-11	41
5.3.2. Análisis de masas de alta resolución de los complejos binucleares 8-11	44
5.3.3. Datos de IR para los complejos binucleares 8,10 y 11	48
5.3.4. Análisis de la estructura en estado sólido por difracción de rayos X para el complejo binuclear 11	49
5.4. Caracterización óptica de ligantes y complejos de boro.....	54

5.4.1. Análisis de espectros de Uv-Vis y emisión.....	54
5.4.2. Efecto de viscosidad del medio.....	59
5.4.3. Efecto de flujo de oxígeno y CO ₂	63
5.4.4. Efecto de pH del medio.....	65
5.4.5. Efecto de acidez y alcalinidad.....	66
5.4.6. Termocromismo y Mecanocromismo.....	68
5.5. Modelado molecular	73
5.6. Determinación de citotoxicidad de complejos y obtención de bioimágenes	80
5.7. Estudio de fotoestabilidad de los complejos de boro.....	87
6. Conclusiones	90
7. Sección experimental detallada.....	92
8. Referencias.....	108
Anexos.....	125

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Posibles aplicaciones de los compuestos organoboro	5
2. Compuestos tipo BODIPY con aplicaciones para la obtención de bioimágenes.....	8
3. Compuestos organoboro que presentan fluorescencia para la obtención de bioimágenes.....	9
4. Compuestos organoboro tetracoordinados derivados de bases de Schiff.....	14
5. Espectro [δ ,ppm] de RMN de ^1H en $\text{DMSO}-d_6$ para el ligante 1	22
6. Espectro [δ ,ppm] de RMN de ^{13}C en $\text{DMSO}-d_6$ para el ligante 1	23
7. Espectro [δ ,ppm] de RMN de ^1H en C_6D_6 para el ligante 4	25
8. Espectro de masas de alta resolución para el ligante 2	27
9. Espectro [δ ,ppm] de RMN de ^1H en CDCl_3 para el complejo 5	29
10. Espectro [δ ,ppm] de RMN (COSY) en $\text{THF}-d_8$ para el complejo 6	31
11. Espectro [δ ,ppm] de RMN (HETCOR) en $\text{THF}-d_8$ para el complejo 6	31
12. Espectro [δ ,ppm] de RMN (HETCOR) en $\text{THF}-d_8$ para el complejo 7	32
13. Espectro [δ ,ppm] de RMN de ^{11}B para el complejo 5	33
14. Espectro de masas de alta resolución para el complejo 5	34
15. Estructura de rayos X monocristal para el complejo 5	37
16. Estructura de rayos X monocristal para el complejo 6	37
17. Estructura de rayos X monocristal para el complejo 7	38

18. Interacciones intramoleculares de la estructura de rayos X para el complejo 5	40
19. Estructura de rayos X e Interacciones intermolecular del complejo 6 ...	41
20. Plano del ligante en la estructura de rayos X para el complejo 6	42
21. Espectro de RMN de ^1H en THF- d_8 para el complejo 8	43
22. Espectro de correlacion heteronuclear $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ (HETCOR) en THF- d_8 para el complejo 8	44
23. Espectro [δ ,ppm] de RMN de ^1H en THF- d_8 para el complejo 11	44
24. Espectro de masas de alta resolución para el complejo 8	46
25. Comparación de patrón isotópico obtenido y el calculado para el complejo 8	47
26. Estructuras de rayos X para el complejo 11 , con una molécula de disolvente, A) THF, B) acetona.....	51
27. Interacciones intramoleculares del complejo 11B	54
28. Planos de la estructura de rayos X del complejo 11B	55
29. Espectro de absorción de los ligantes 1-4 en THF.....	56
30. Espectro de absorción de los complejos 5-11 en THF.....	57
31. Espectro de emisión de los ligantes 1-4 en THF.....	57
32. Espectro de emisión de los complejos 5-11 en THF	58
33. Espectro de fluorescencia de los complejos 6 y 9 en mezclas de metanol y glicerol	62
34. Correlación del rendimiento cuántico luminiscente de los complejos 6 y 9 con la viscosidad del medio	62

35. Espectro de fluorescencia de los complejos 7 y 11 en mezclas de metanol y glicerol	63
36. Correlación del rendimiento cuántico luminiscente de los complejos 7 y 11 con la viscosidad del medio	63
37. Espectro de emisión de los compuestos 5 , 6 y 9 en acetonitrilo bajo flujo de aire y oxígeno.....	65
38. Espectro de emisión de los compuestos 6 y 9 en acetonitrilo bajo flujo de aire y CO ₂	66
39. Espectros de Uv-Vis y emisión del compuesto 9 a pH 1-11.....	67
40. Imagen de fluorescencia de los compuestos 5-6 bajo vapor de HCl y NH ₃ a 25 °C	69
41. Espectros de Uv-Vis y emisión del compuesto 9 a pH 1-11.....	69
42. Imagen de fluorescencia de los complejos 5-11 . Bajo luz Uv-Vis a 25 °C, bajo luz Uv-Vis (compuestos 5-6 a 130 °C, compuestos 8-11 a 210°C) y después de enfriar bajo luz Uv-Vis a 25°C	70
43. Espectro de fluorescencia del complejos 11 antes y después de calentar a 210°C.....	71
44. Imagen de fluorescencia del compuesto 11 a 25 °C y después de ser expuesto a fricción.....	71
45. Imagen de luz de día y Uv de los complejos 9 y 10 antes y después de aplicar presión de 2, 4 y 8 t.....	73
46. Espectro de fluorescencia del complejo 9 antes y después de aplicar presión de 8 t.....	73

47. Rayos X en polvos del complejo 9 antes y después de aplicar presión de 8 t.....	74
48. Estructuras optimizadas de los complejos de boro 5-7	75
49. Estructuras optimizadas de los complejos de boro 8-11	75
50. Orbitales moleculares de los complejos de boro 5-7	76
51. Orbitales moleculares de los complejos de boro 8-11	77
52. Estructuras de los complejos 7-11 , rotándolas cada 30°	79
53. Energía interna rotacional de los complejos de boro 9 y 11	80
54. Estructura de complejo de boro 11 con los átomos de boro dentro del plano del ligante	81
55. Viabilidad de los complejos 5-11 en la línea celular A-431.....	83
56. Bioimágenes obtenidas para los complejos 5-7 y 11 en las líneas celulares CaCo y A-431.....	84
57. Bioimágenes obtenidas de los complejos 7 y 11 en la línea celular B16F10.....	84
58. Bioimágenes obtenidas de los complejos 5, 7 y 9 en la línea celular B16F10 a una concentración de 10 µg/mL	86
59. Viabilidad de los complejos 5, 6 y 9 en la línea celular B16F10 a 48 h ..	87
60. Fotoestabilidad de los complejos 5 y 6 (1mg/50ml) en cloroformo	88
61. Degradación de los complejos 5 y 6 cuando son irradiados a UV 365 nm.....	89
62. Degradación de los complejos 5 y 6 cuando son irradiados bajo Uv a 312 nm.....	89

63. Comparación de la foto-degradación del compuesto 2 cuando es irradiado bajo UV a 312 nm y el espectro del ligante 2	90
--	----

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema	Página
1. Rotores moleculares luminiscentes de compuestos organoboro	12
2. Síntesis de los ligantes (1-4) bases de Schiff	16
3. Síntesis de los complejos de boro.	17
4. Síntesis de los complejos organoboro con cuatro grupos <i>ter</i> -butilos ...	18
5. Bandas de absorción en IR para los ligantes 1-4	27
6. Fragmentos moleculares para los compuestos 5 y 6	34
7. Fragmentación para el complejo 8	45
8. Fragmentación para el complejo 10	47
9. Fragmentación para el complejo 11	47
10. Protonación del complejo 6 al contacto con vapor ácido.....	68

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Resumen de propiedades de complejos organoboro utilizados para obtención de bioimágenes.	10
2. Equipo utilizado.	20
3. Disposición de los residuos generados durante las síntesis de compuestos organoboro	20
4. Señales de ^{13}C RMN (ppm) para los ligantes 1-4	23
5. Datos de masas de alta resolución para los ligantes 1- 4	25
6. Desplazamientos de ^1H , ^{13}C y ^{11}B para los complejos mononucleares, comparando con los ligantes.....	32
7. Ion molecular de los complejos 5 - 7	34
8. Principales bandas (cm^{-1}) de IR para los complejos 5-7	35
9. Comparación de longitudes de enlace y ángulos para los complejos 5-7 y la molécula XXIII	37
10. Carácter tetrahedral para las moléculas 5 – 7	38
11. Iones moleculares de los complejos 8, 10-11	48
12. Principales bandas (cm^{-1}) de IR para los complejos 8 – 11	49
13. Principales enlaces y ángulos para el binuclear 11	51
14. Carácter tetrahedral para las estructuras de rayos X del complejo 11(A y B)	52
15. Absorción y emisión de los compuestos THF.....	58

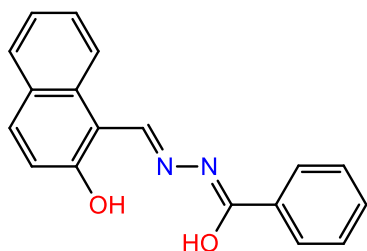
16. Absorción y emisión de los compuestos Cloroformo.....	58
17. Comparación de longitudes de onda (Absorción) experimental y calculada.....	77
18. Viabilidad de los complejos 5-11 a diferentes concentraciones, en la línea celular A-431.....	81

LISTA DE ABREVIATURAS

Ab.	Significado	Ab.	Significado
OLED	Organic light emitting diodes	GHB	Gamma hydroxybutyric acid
BODIPY	4,4-difluoro-4-borata-3a,4a-diazo-s-indaceno	LEDs	Light-emitting diode
B16F10	Cáncer de piel-roedor	HEp2	Human Epidermoid carcinoma strain #2
HeLa	Células de cáncer cérvico-uterino	Φ	Rendimiento cuántico luminiscente
π - π	Transiciones electrónicas pi-pi	RMN	Resonancia Magnética Nuclear
IR	Radiación Infrarrojo	UV-Vis	Ultravioleta-Visible
THF	Tetrahidrofurano	HPLC	High performance liquid chromatography
$\mu\text{g/mL}$	Microgramos sobre mililitro	CO_2	Dióxido de carbono
DMSO- d_6	Dimetilsulfoxido deuterado	ppm	Partes por millón
C_6D_6	Benceno deuterado	TOF	Time of flight
CDCl_3	Cloroformo	HETCOR	Correlación Heteronuclear
THF- d_8	Tetrahidrofurano deuterado	HOMO	Orbital molecular más alto ocupado
LUMO	Orbital molecular más bajo desocupado	λ_{abs}	Longitud de onda de absorción
ϵ	Epsilon	E_g	Band gap
λ_{em}	Longitud de onda de	$\Delta\nu$	Desplazamientos Stokes

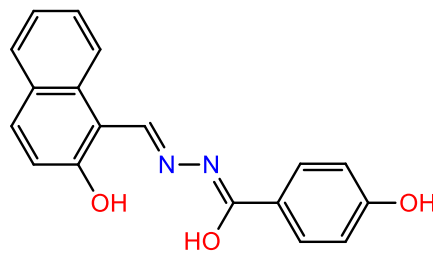
	emisión		
cm	Centímetros	nm	Nanómetros
M	Molaridad	Kg/cm ²	Kilogramos sobre centímetros cuadrado
HCl	Ácido clorhídrico	NH ₃	Amoniaco
°C	Grados centígrados	Mg	Miligramos
ml	Mililitros	DFT	Density Functional Theory
B3LYP	Becker, three-parameter, Lee-yang Parr	°	Grados
eV	Electrón volts	A-431	Cáncer de piel-humano
CaCo	Cáncer de colon-humano	P.F.	Punto de fusión
K	Kelvin	δ	Sigma-Desplazamiento
E.M.	Espectro de masas	COSY	Correlation Spectroscopy
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico	DMEM	Dulecco's Modified Eagle's medium

ÍNDICE DE COMPUESTOS SINTETIZADOS



1

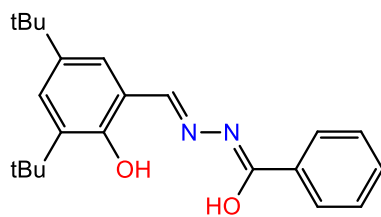
(1*Z,N'E*)-*N'*-((2-hydroxynaphthalen-1-yl)methylene)benzohydrazonic acid



2

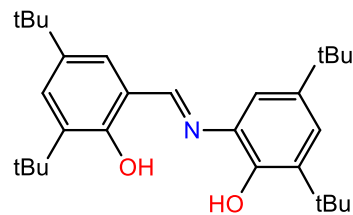
(1*Z,N'E*)-4-hydroxy-*N'*-((2-hydroxynaphthalen-1-yl)methylene)benzohydrazonic acid

Figura I. Ligantes (1 y 2) bases de Schiff.



3

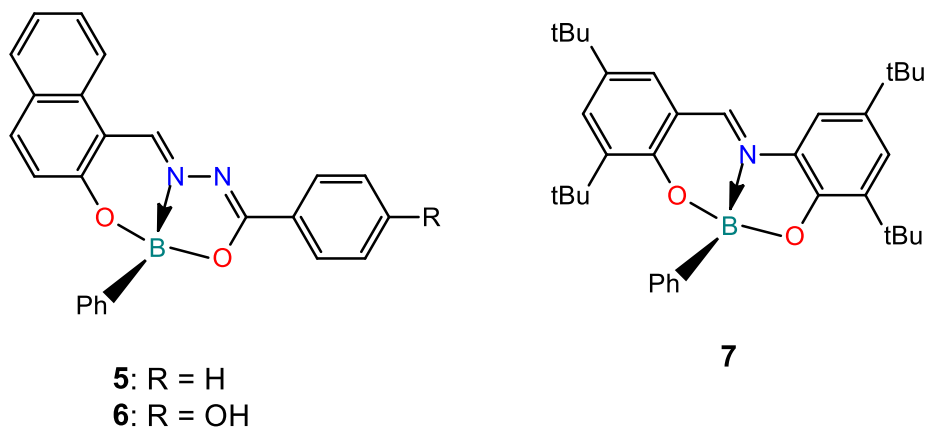
(1*Z,N'E*)-*N'*-(3,5-di-*tert*-butyl-2-hydroxybenzylidene)benzohydrazonic acid



4

(*E*)-2,4-di-*tert*-butyl-6-((3,5-di-*tert*-butyl-2-hydroxybenzylidene)amino)phenol

Figura II. Ligantes (3 y 4) bases de Schiff, con grupos terbutilos.

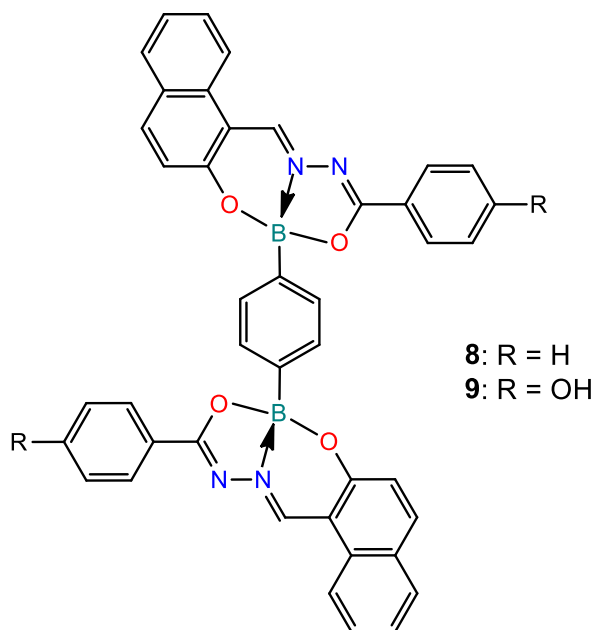


5: 4,6-difenilnafto[1,2-h][1,3,5,6,2]
dioxadiazaboronina

6: 4-(6-Fenilnafto[1,2-h][1,3,5,6,2]
dioxadiazaboronin-4-yl) fenol

2,4,8,10-tetra-*tert*-butyl-6-
phenyldibenzo[*d,h*][1,3,6,2]dioxazaboronine

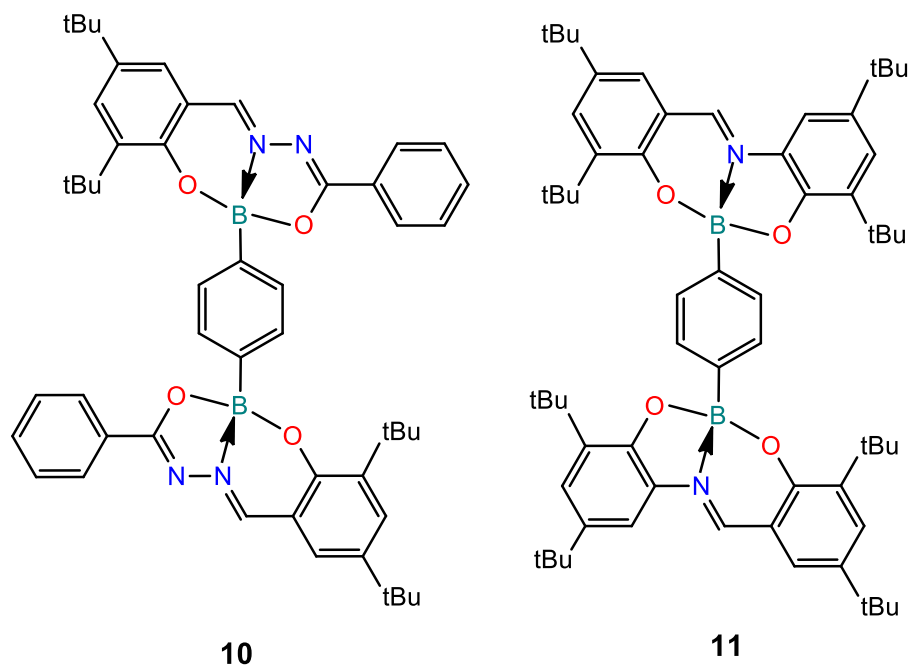
Figura III. Compuestos de boro mononucleares 5-7.



8: 1,4-bis(4-fenilnafto[1,2-h][1,3,5,6,2]dioxadiazaboronin-6-yl) benceno

9: 4,4'-(6,6'-(1,4-phenylene)bis(naphtho[1,2-h][1,3,5,6,2]dioxadiazaboronine-6,4-diyl))diphenol

Figura IV. Compuestos de boro binucleares 8 y 9.



10: 1,4-bis(9,11-di-*tert*-butyl-4-phenylbenzo[*h*][1,3,5,6,2]dioxadiazaboronin-2-yl)benzene

11: 1,4-bis(2,4,8,10-tetra-*tert*-butyldibenzo[*d,h*][1,3,6,2]dioxazaboronin-6-yl)benzene

Figura V. Compuestos de boro binucleares derivados de bases de Schiff con grupos *tert*butilo como sustituyentes **10** y **11**.

1.1. Introducción

Las imágenes celulares con fluorescencia han mostrado una gran importancia en la biología, medicina y áreas afines, ya que son una herramienta poderosa, no invasiva, con alta sensibilidad y resolución.¹ Típicamente las técnicas de imágenes fluorescentes dependen de fluoróforos como: nanopartículas, polímeros, moléculas pequeñas, etc. los cuales son excitados principalmente con luz ultravioleta. Estas técnicas de bioimágenes son usadas comúnmente para observar fenómenos biológicos tanto *in vivo*, como *in-vitro*, a través del uso del microscopio Confocal.² Hoy en día el diseño y la síntesis de nuevos materiales luminiscentes han permitido la interacción de la física, la química y biología haciendo un área multidisciplinaria dando como resultado una aplicación de materiales luminiscentes para la obtención de bioimágenes como un medio para el diagnóstico oportuno de enfermedades.

Así mismo encontramos que los materiales orgánicos luminiscentes han mostrado potenciales aplicaciones en optoelectrónica (OLED por sus siglas en inglés, organic light emitting diodes), materiales transportadores de electrones, materiales para la obtención de bioimágenes.³ Una de las ventajas de los compuestos organometálicos frente a otros materiales en la obtención de bioimágenes, es su fácil modificación estructural; esto permite variar propiedades ópticas (fotoestabilidad, rendimiento cuántico, etc.), químicas

(solubilidad, baja reactividad, etc) y citotóxicas.⁴ Derivados de boro muestran una baja o nula citotoxicidad,⁵ sin embargo los métodos de síntesis son largos y requieren condiciones específicas como atmósferas anhidras.⁶

Las bases de Schiff derivadas del aldehído salicílico han sido objeto de numerosos estudios debido a sus diversas aplicaciones en química, biología y tecnología.⁷ Durante las últimas décadas, han sido intensamente estudiadas debido a su fuerte capacidad de coordinación, así como a sus diversas actividades biológicas, como antibacteriano, antitumoral, etc.⁸ Estas moléculas han recibido mucha atención debido a sus potenciales aplicaciones en diversas actividades farmacológicas, como lo destacan sus propiedades anticancerígenas,⁹ anti-VIH,¹⁰ antibacterianas y antifúngicas. Las bases de Schiff pueden formar fácilmente complejos estables con la mayoría de los metales de transición, en los cuales algunos pueden exhibir propiedades interesantes, por ejemplo se han reportado bases de Schiff luminiscentes con la capacidad de sensor iones de Zn(II) y Cu(II) en soluciones acuosas.¹¹ Debido a la flexibilidad estructural y su aplicación para modificar las propiedades de los materiales, los compuestos de bases de Schiff son moléculas interesantes prometedoras de síntesis de materiales luminiscentes.

Recientemente nuestro grupo de investigación ha reportado la síntesis de una serie de nuevos compuestos de boro luminiscentes tetracoordinados derivados de ligantes tridentados. Además, presentan solubilidad en disolventes polares; lo que permite proponer la obtención de bioimágenes celulares.²⁷

Con base en lo anterior, en el presente proyecto se propone la síntesis de siete nuevos compuestos de boro tetracoordinados, mediante métodos de condensación, posteriormente estudiar sus propiedades fotofísicas esperando un incremento en el rendimiento cuántico al aumentar la nuclearidad de mono a compuestos binucleares; utilizando sustituyentes *tert*-butilos para minimizar la citotoxicidad para posibles aplicaciones en la obtención de bioimágenes en células *in-vitro*.

2. Antecedentes

2.1. Compuestos luminiscentes de boro

Los compuestos de boro están siendo ampliamente estudiados debido a sus diversas aplicaciones como: materiales luminiscentes,¹² láser,¹³ OLEDs,¹⁴ materiales para óptica no-lineal,¹⁵ materiales químicos usados en pruebas fluorescentes,¹⁶ entre otros. Se han reportado varios compuestos organoboro tricoordinados, sintetizados por métodos de condensación, los cuales presentan propiedades como emisores de luz con color azul brillante, en la Figura 1 se muestra el compuesto II con la capacidad de funcionar como material transportador de electrones.¹⁷

Recientemente fue desarrollado un compuesto de boro I (Figura 1) como el primer sensor fluorescente para GHB (ácido gama hidroxibutirico), el cual

exhibe la extinción de la fluorescencia de la propiedad GHB y permite su detección en diversas bebidas; observando la interacción como mecanismo de transferencia de carga intramolecular inducida por un enlace de hidrógeno. Este descubrimiento ayudará a resolver los problemas de asalto sexual facilitado por drogas.¹⁸

Los compuestos tipo BODIPY (4,4-difluoro-4-borata-3a, 4a-diaza-s-indaceno), ejemplo de ellos el complejo III, Figura 1, son fluoróforos que están atrayendo cada vez mayor atención en bioaplicaciones debido a su excepcionales propiedades fotofísicas tales como su excelente fotoestabilidad, grandes coeficientes de absorción molar y espectro de fluorescencia con alto rendimiento cuántico.¹⁹ Las sondas fluorescentes activadas por el pH incluyendo un BODIPY se han desarrollado recientemente para la detección de cánceres y monitorización de la terapia en tiempo real. Sin embargo, la propiedad óptica indeseable de la mayoría de los compuestos BODIPY, con absorción y emisión situado debajo 600 nm, sigue siendo una de las graves limitaciones para sus aplicaciones en obtención de bioimágenes.²⁰

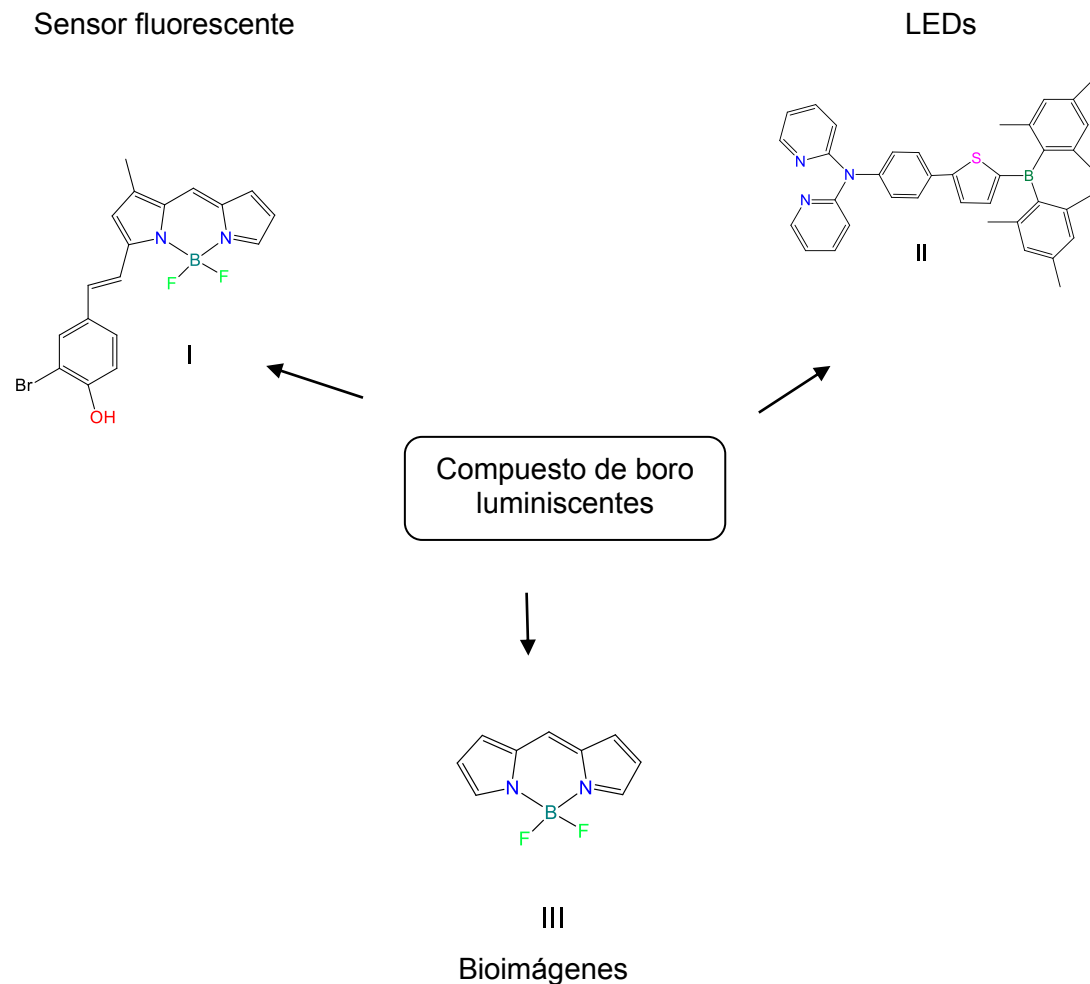


Figura 1. Posibles aplicaciones de los compuestos organoboro.

2.2. Bioimágenes luminiscentes.

La luminiscencia en bioimágenes ofrece un enfoque único para la visualización de detalles morfológicos de tejidos y se ha convertido en una herramienta poderosa para la manipulación y la investigación de microespecies de las células vivas. En bioimágenes, las sondas luminiscentes se utilizan para

etiquetar una molécula de interés, que preste señales luminiscentes, dentro de las cuales podemos encontrar proteínas luminiscentes,²¹ nanocristales semiconductores,²² colorantes orgánicos,²³ complejos metálicos²⁴ entre otros compuestos que han sido sintetizados; el diseño de los sistemas luminiscentes es crucial para la investigación en la detección de enfermedades. Otra área importante son las bioimágenes *in-vitro* ya que podemos encontrar numerosas aplicaciones tales como seguimiento celular, imágenes de tumores y dirigirlos a terapia.²⁵

Los complejos organometálicos más usados comúnmente como fluoróforos en aplicaciones para la obtención de bioimágenes son basados en complejos d^6 de iridio(III) o renio(I), muy pocos complejos de rodio, d^{10} oro(I) y d^8 platino(II), sin embargo el costo de síntesis es más alto ya que los materiales de iniciales son más costosos.²⁶

Para utilizar un material como fluoróforo para generar bioimágenes deben presentar las siguientes características: habilidad de entrar a la célula, localizarse en ciertos compartimentos, ser biocompatible, no tóxico, estable en medio biológico, debe ser excitado y emitir, debe haber diferencia entre la longitud de onda que absorbe y que emite, ser resistente a la destrucción de agentes, rendimiento cuántico luminiscente, mostrar alta selectividad, excelente sensibilidad y la respuesta rápida en detectar el analito en muestras biológicas.⁴

2.2.1. Compuestos de boro luminiscentes aplicados para la obtención de bioimágenes

Los recientes estudios de los compuestos aza-BODIPYs frente a las células HEP2 a concentraciones de 10 μM evidenciaron una rápida acumulación del compuesto en la célula mostrando fluorescencia color rojo brillante, el complejo IV (Figura 2), se observó en todos los sitios subcelulares, los complejos V y VI (Figura 2) se acumularon en la mitocondria, lisosoma y aparato de Golgi. Las bioimágenes se obtuvieron en el microscopio DMRXA y la baja toxicidad fue determinada a 100 μM .²⁷ El compuesto VII (Figura 2) frente a las células HeLa presentó fluorescencia color rojo en el citoplasma a concentraciones de 1 μM , este complejo muestra parcial solubilidad en agua y alta solubilidad en metanol con 19 - 6 % de rendimientos cuánticos luminiscentes, lo cual lo hace más permeable a las células.²⁸

Youngmi Kim y colaboradores han reportado que el compuesto VIII (BODIPY, Figura 2) a concentraciones de 2.5 μM exhibe una fluorescencia tras la reacción con la tirosinasa y mostraron que se emplea fácilmente para la evaluación de la actividad de la tirosinasa y actividad inhibidora. Utilizaron el microscopio Confocal para la visualización de la tirosinasa endógena en la actividad en células de melanoma B16F10.²⁹

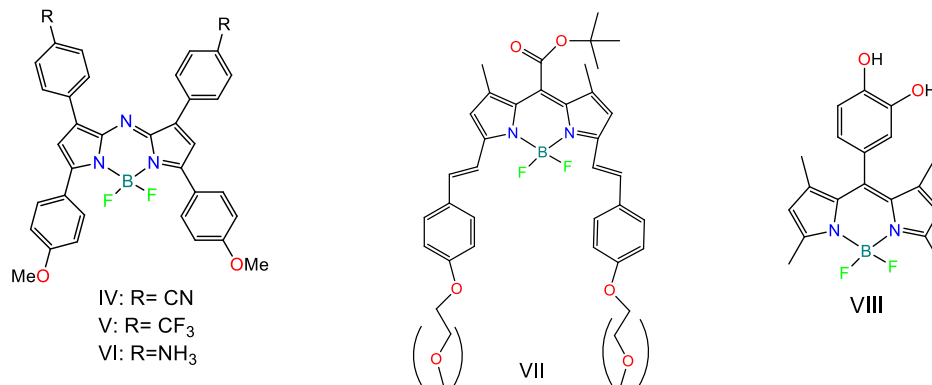


Figura 2. Compuestos tipo BODIPY con aplicaciones para la obtención de bioimágenes.

El uso de subtalocianinas como fluoróforos para pruebas de fluorescencia *in vitro* en la obtención de imágenes de células se logra mediante microscopía Confocal y bifotónica, las concentraciones utilizadas fueron de 10 μ M para formación de imágenes, estos compuestos no mostraron citotoxicidad hacia las células de melanoma B16F10, permitiendo ser aplicados en futuras investigaciones en pruebas *in vivo*. Los compuestos IX y X (Figura 3) hidrofóbicos fueron activados para lograr su permeabilidad a la célula mediante el uso de técnicas de nanoencapsulación y adición de cadenas de grupos alquil sulfonato. Estos materiales presentan la desventaja de requerir varios pasos para la para la obtención del compuesto, así como bajos rendimientos químicos.³⁰

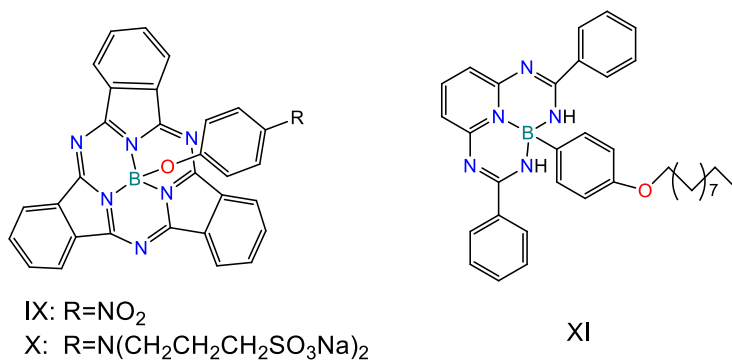


Figura 3. Compuestos organoboro que presentan fluorescencia para la obtención de bioimágenes.

Los sistemas de boro fluorescentes basados en nitrógeno (NNN) o nitrógeno y oxígeno (ONO) que contienen ligantes tridentados, se caracterizan por una alta estabilidad térmica y química, muestran desplazamientos Stokes en su mayoría por encima de 3200 cm⁻¹, fuerte fluorescencia color azul y verde, rendimientos cuánticos en solución y en estado sólido hasta de un 40%. El compuesto XI (Figura 3) actúa como un medio de contraste para imágenes de células, mediante la unión las membranas nucleares de células HeLa. Los resultados antes mencionados de los compuestos que contienen ligantes tridentados demuestran la amplia aplicabilidad en la química supramolecular y medicinal.³¹

Tabla 1. Resumen de propiedades de complejos organoboro utilizados para obtención de bioimágenes.

Complejo	Método de síntesis	Rendimiento químico (%)	λ emisión (nm)	Rendimiento cuántico (Φ)	Citotoxicidad
IV	Condiciones anhidras	37	754	0.36	100 μ M
V		46	740	0.38	100 μ M
VII		<50	684	0.19	
VIII		78	512	0.001	5 μ M
IX		78	572	0.14	10 μ M
X		12	575	0.036	10 μ M
XI		65	511	0.14	1.3 %

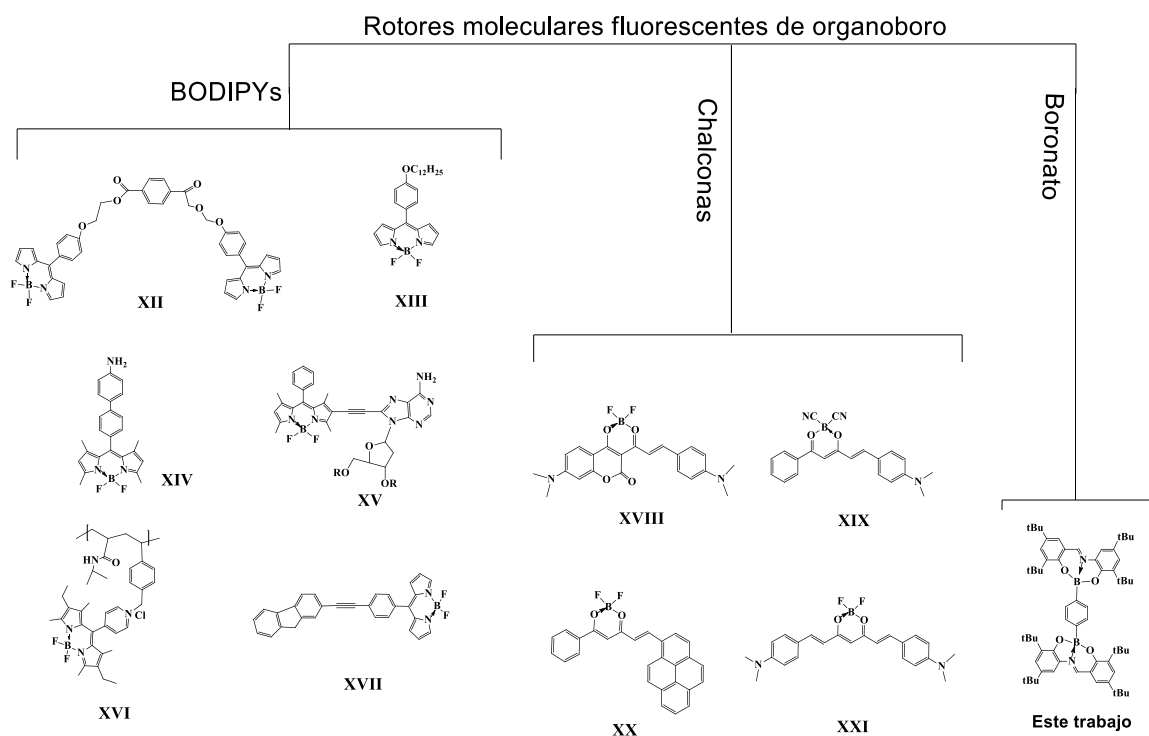
Sin embargo una de las desventajas de la mayoría de los compuestos de boro con propiedades fluorescentes es su complicado método de síntesis, ya que requieren varias etapas y condiciones específicas como el uso de atmósferas inertes y disolventes secos (Tabla 1) ya que utilizan el BF_3 como reactivo el cual al contacto con humedad forma HF, siendo complicado su manejo, además de su bajo rendimiento químico.³² Teniendo en cuenta lo anterior y las posibles propiedades fluorescentes, estabilidad y la solubilidad surge el interés de sintetizar compuestos organoboro por métodos de condensación simples y económicos, con propiedades para uso en bioimágenes *in-vitro*.

2.3. Rotores moleculares fluorescentes

Dentro de los compuestos de boro luminiscentes encontramos aquellos que presentan la propiedad de rotores moleculares fluorescentes; en los cuales la emisión es susceptible a cambios por la viscosidad del medio.³³ Recientemente este tipo de compuestos han recibido atención por la dependencia de la viscosidad del medio con el rendimiento cuántico luminiscente.³⁴ Esto es debido a que la viscosidad juega un importante área de estudio en los organismos. Las imágenes celulares fluorescentes con rotores moleculares es una técnica que ayuda a estudiar sistemas biológicos a microescalas.³⁵ También encontramos que los rotores moleculares pueden ser aplicados como sensores de viscosidad en bio-fluidos.³⁶

Recientemente compuestos organoboro han mostrado interesantes propiedades, podemos encontrar diferentes tipos de rotores luminiscentes de boro: BODIPYs, derivados de chalconas y boronatos (Esquema 1, XII-XXI).³⁷ Actualmente los tipo BODIPYs son los más estudiados; Benniston y colaboradores reportaron que el compuestos XII puede ser usado en ciertos fluidos ya que responde a cambios de presión y viscosidad del medio, el mecanismo que se ve involucrado, es el giro del grupo funcional meso-fenil.³⁸ Otro ejemplo, Shiraishi *et al.* reportó el compuesto XVI que muestra la propiedad de termómetro fluorescente en agua; el incremento de la fluorescencia en el copolimero, es debido a que se incrementa la viscosidad del medio,³⁹

comportamiento similar al compuesto XIII, el cual la intensidad de fluorescencia es observada, cuando se restringe la rotación del grupo fenilo en un medio de alta viscosidad, esta propiedad puede ayudar para desarrollar mediciones de viscosidad prácticas y versátiles.⁴⁰ Otros grupos han investigado derivados de chalconas, Klymchenko y colaboradores reportaron que el compuesto XVIII presenta la propiedad de solvacromismo y actúa como rotor molecular sensible a cambios de viscosidad.⁴¹



Esquema 1. Rotores moleculares luminiscentes de compuestos organoboro.

Actualmente ha surgido una importante área de estudio en función a sensores fluorescentes en solución y estado sólido. Con la ventaja de poder ser estudiados a nivel micro (para obtención de bioimágenes) y en estado sólido estos compuestos presentan ventajas en términos de sensibilidad, selectividad y su fácil detección a cambios de fluorescencia en diferentes sistemas.⁴² Previamente complejos con metales de transición han sido reportados que exhiben la propiedad de cambio de color al ser expuestos a diferentes temperaturas, este fenómeno es llamado termocromismo luminiscente y representa un importante área en estado sólido.⁴³ Los materiales termocromicos ofrecen una potencial aplicación tecnológica, por ejemplo: en termómetros, sensores de temperatura, señales de alarma y dispositivos optoelectrónicos.⁴⁴ Un interesante estudio de propiedades termocromicas complejos de cobre fue reportado por Dias y colaboradores, estos compuestos son promesa para aplicaciones como sensores.⁴⁵ Otro ejemplo es un cúmulo de ioduro de cobre, el cual muestra termocromismo luminiscente reversible con una emisión intensa color naranja.⁴⁶

Recientemente en el grupo de investigación se han sintetizado diferentes complejos de boro tetracoordinados, algunos de ellos presentan la propiedad de rotores moleculares (Figura 4), con bajas emisiones fluorescentes ($< 1\%$),⁴⁷ el bajo rendimiento cuántico (Φ) se puede deber a que el átomo de boro no se encuentra dentro del plano. Por otro lado, se ha reportado que las interacciones tipo π - π en sistemas planos y deslocalizados en compuestos de boro, también reducen el rendimiento cuántico.⁴⁸ Una estrategia para eliminar o reducir este

tipo de interacciones intermoleculares es con la adición de grupos voluminosos en los sistemas planos. Por lo tanto, para mejorar las propiedades fotofísicas de los complejos de boro se propone sintetizar mediante condensación siete nuevos compuestos organoboro derivados de bases de Schiff, con sustituyentes terbutilos, en algunos complejos se duplicará la nuclearidad y aplicarlos como materiales en la obtención de bioimágenes en células de melanoma murino.

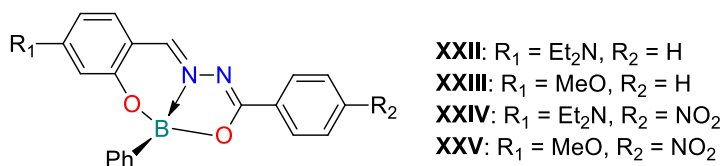


Figura 4. Compuestos organoboro tetraordinados derivados de bases de Schiff.

3.1. APORTACIÓN CIENTÍFICA

Síntesis y caracterización de nuevos materiales luminiscentes de Boro derivados de bases de Schiff con potencial aplicación en la obtención de bioimágenes en células in-vitro.

3.2. HIPÓTESIS

Los nuevos complejos organoboro mono y binucleares derivados de bases de Schiff presentan luminiscencia con potencial aplicación para la obtención de bioimágenes.

3.3. OBJETIVO GENERAL

Sintetizar y caracterizar compuestos luminiscentes organoboro mediante condensaciones de bases de Schiff, con aplicaciones en la obtención de bioimágenes *in vitro*.

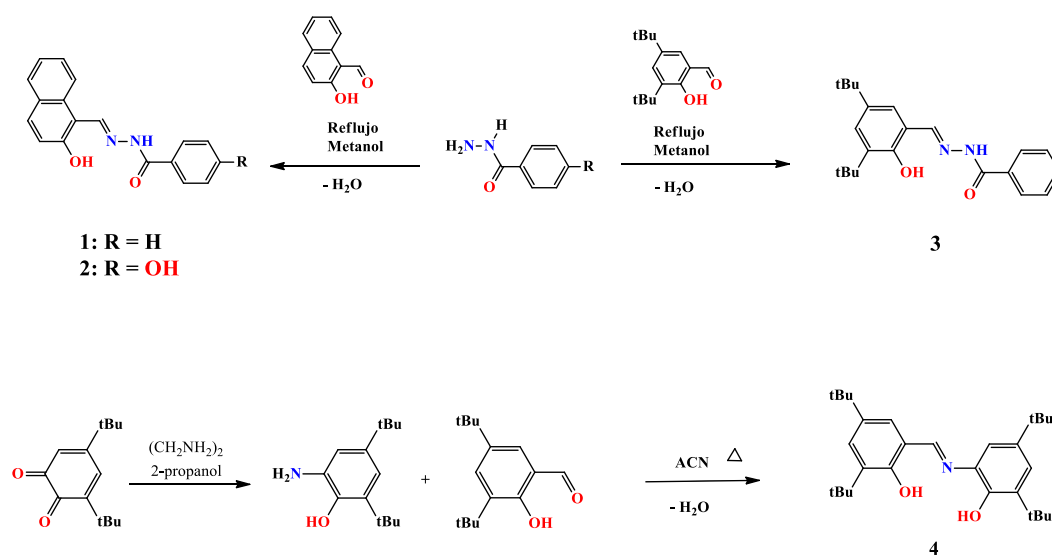
3.4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.- Realizar la síntesis química por condensación de los compuestos organoboro.
- 2.- Caracterización de los complejos organoboro por métodos espectroscópicos: RMN (^1H , ^{13}C , ^{11}B), UV-Vis, IR, fluorescencia, espectrometría de masas de alta resolución.
- 3.- Determinar la citotoxicidad de los compuestos organoboro obtenidos.
- 4.- Obtener las bioimágenes en células de melanoma murino B16F10.

4. METODOLOGÍA GENERAL

4.1.- Síntesis de los ligantes

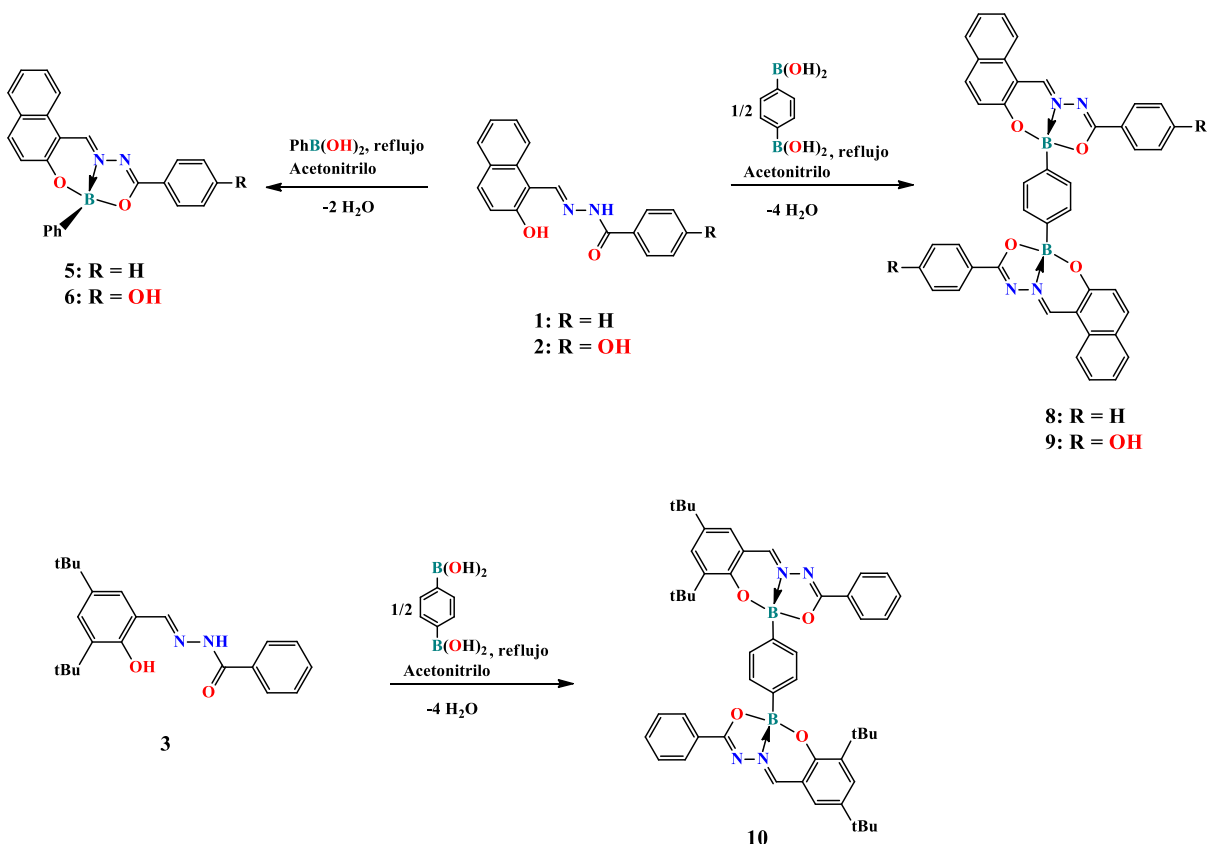
Los ligantes fueron sintetizados mediante la condensación de benzohidrazina con el correspondiente salicilaldehído **1-3** (Esquema 2). Para el ligante **4** fue necesario realizar el precursor 4,6-di-*tert*-butil-1-fenol-2-amina según la metodología reportada⁴⁹, la purificación de cada ligante se realizó por medio de re-cristalización en diferentes disolventes, para obtener una mayor pureza.



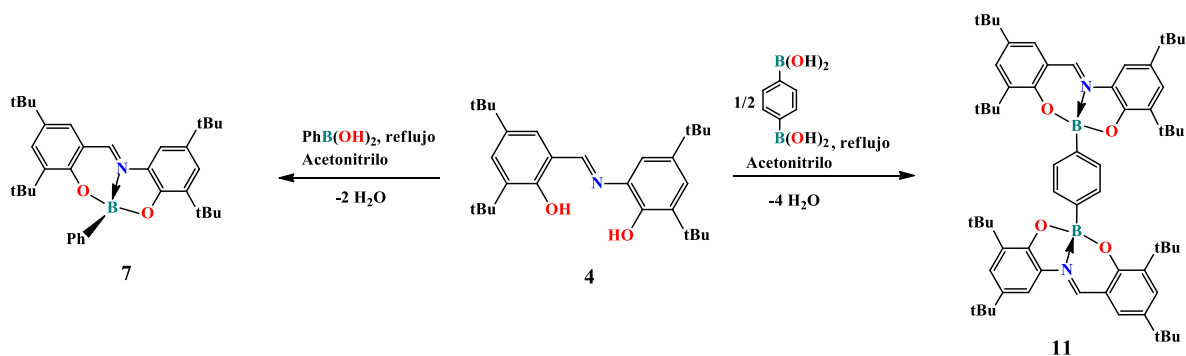
Esquema 2. Síntesis de los ligantes (1-4) bases de Schiff.

4.2. Síntesis de los complejos mononucleares y binucleares

Los complejos organoboro se sintetizaron por condensación del ácido fenilborónico con el apropiado ligante a reflujo, utilizando trampa de agua, removiendo el agua formada mediante destilación azeotrópica (acetonitrilo-agua 76.5 °C).⁵⁰ En los Esquemas 3 y 4 se muestra la ruta de síntesis de los compuestos organoboro, se obtuvieron tres compuestos organoboro mononucleares y cuatro compuestos organoboro binucleares.



Esquema 3. Síntesis de los complejos de boro.



Esquema 4. Síntesis de los complejos organoboro con cuatro grupos *ter*-butilos.

4.3. Determinación de propiedades fotofísicas

En un matraz volumétrico de 50 mL se colocó 1 mg de muestra y se disolvió en THF o cloroformo grado HPLC y se procedió a realizar las absorciones UV-Vis, utilizando el disolvente como blanco, como estándar fue necesario preparar una solución de sulfato de quinina en ácido sulfúrico 0.1M a 0.04 de absorbancia determinada a 310 nm.

4.3.1. Determinación de espectros de emisión

Los espectros de emisión fueron determinados en tres soluciones de las muestras (0.04, 0.06, 0.09 de absorbancia al máximo de absorción en UV-Vis), fijando la longitud de onda de máxima absorción en UV-Vis a tres Slit (2.5, 5, 10).

4.4. Determinación de citotoxicidad y obtención de bioimágenes

La citotoxicidad de los compuestos organoboro se determinaron mediante el ensayo de viabilidad azul Alamar, el cual consiste en un reactivo (resazurina) compuesto no tóxico, permeable a las células y de color azul. Al entrar en las células, resazurina se reduce a resorufina, que produce fluorescencia roja muy brillante o rosa. Las células viables realizan esta reacción, generando así una medida cuantitativa de la viabilidad o citotoxicidad.⁵¹

Para la obtención de bioimágenes, se realiza un cultivo celular, posteriormente se prepara una suspensión de 100,000 células por mililitro, en una placa se coloca 1 mL de células en cada pocillo y se añade el compuesto a evaluar a una concentración de 10µg/mL, se incuban durante 2 horas a 37 °C en un ambiente al 5% de CO₂, posterior se realiza un lavado con buffer fosfato salino y se procede a evaluar en el microscopio Confocal.

4.5. Material y equipo

El lugar de trabajo para el proyecto fue en la división de Estudios de Posgrado de Ciencias Químicas en el Laboratorio de Materiales III. Todos los materiales de partida son del proveedor Aldrich y los disolventes se utilizaron sin realizar purificación.

Tabla 2. Equipo utilizado.

Material /Equipo
Material de laboratorio
Difractómetro de rayos-X: Bruker SMART APEX
IR 1600 Perkin Elmer.
Resonancia Magnética Multinuclear, Bruker advance DPX 400.
Espectrometría de Masas: AB Sciex API 2000 LC/MS/MS System.
Fluorómetro Perkin Elmer LS 50B
UV-VIS Espectrofotómetro Shimadzu 2401 PC
Microscopio Confocal TCS SP5 Leica

4.6.- Disposición de Residuos

Tabla 3. Disposición de los residuos generados durante las síntesis de compuestos organoboro.

Residuo	Tipo	Disposición
THF	Grupo 14 Éteres	Contenedor E
Acetonitrilo	Grupo 26 Nitrilos	
Benceno	Grupo 16 Hidrocarburos aromáticos	
Tolueno		
Benzohidracinas	Grupo 8 Azo compuestos etc.	
Diclorometano	Grupo 17 Organohalogenados	
Aminas	Grupo7 Aminas	Contenedor C
Ácidos y Bases inorgánicos	Grupo 1 y 10 Ácidos y bases inorgánicos	Contenedor B

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1. Caracterización de los ligantes bases de Schiff

5.1.1. Datos de RMN de los ligantes 1- 4

El espectro de RMN de ^1H del ligante **1** mostró un grupo de nueve señales correspondientes a los protones aromáticos, a 9.49 ppm se observa el protón imino H-11 característico de una base de Schiff,⁵² el protón del NH y del grupo hidroxilo aparecen a frecuencias altas de 12-12.6 ppm como se esperaba, Figura 5, el espectro del ligante **2** presenta desplazamientos semejantes al ligante **1**, con la diferencia de una señal simple correspondiente al protón del grupo sustituyente hidroxilo a 10.26 ppm.

En el espectro de RMN de ^{13}C para el ligante **1** mostró 19 señales diferentes, a 158.15 ppm se observó el desplazamiento del carbón imino (Figura 6), para el ligante **2** el carbón imino aparece a frecuencias más bajas de 146.35 ppm.

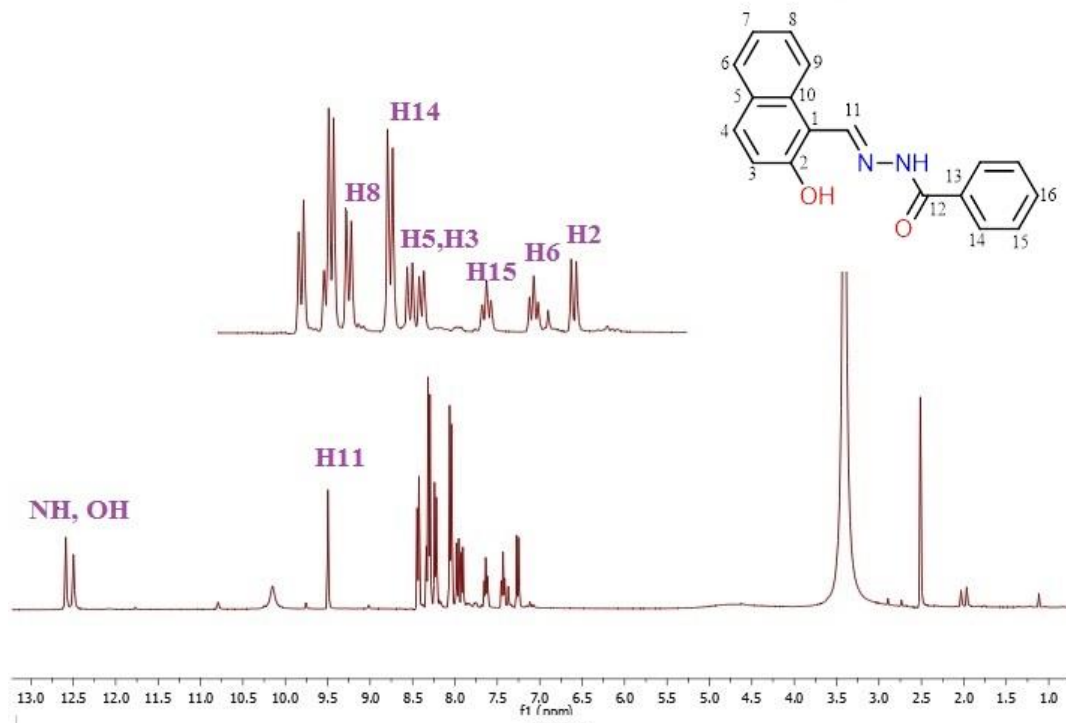


Figura 5. Espectro [δ,ppm] de RMN de ¹H en DMSO-*d*₆ para el ligante 1.

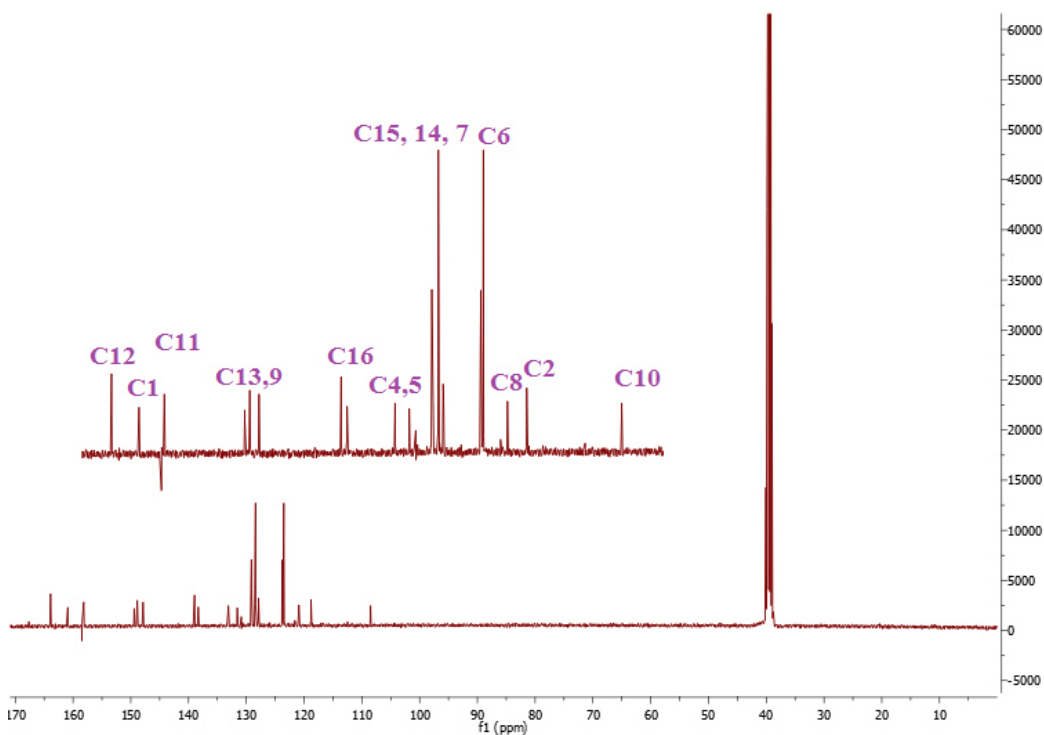


Figura 6. Espectro [δ,ppm] de RMN de ¹³C en DMSO-*d*₆ para el ligante 1.

El espectro de RMN de protón para el ligante **3** muestra cinco señales de protones aromáticos a 8.53 ppm, aparece el desplazamiento del protón imino, en la zona alifática a 1.45, 1.30 ppm, además se observan dos señales simples que integran para 18 protones correspondientes a los protones de los grupos sustituyentes *ter*-butilos. Para el ligante **4** muestra cuatro señales dobles en el área aromática correspondientes a los protones 4, 6, 9 y 11 los cuales presentan este desdoblamiento debido a la interacción de un protón vecino a cuatro enlaces (formando una W), el protón del grupo OH se aprecia a frecuencias altas de 12.92 ppm y el protón imino a 8.13 ppm similar al ligante **3**, los protones de los grupos sustituyentes *ter*-butilos aparecen a frecuencias bajas observándose cuatro señales simples que integran para 36 protones (Figura 7).

En la Tabla 4 se muestra los principales desplazamientos de ^{13}C para los ligantes **1- 4**, donde podemos observar el carbón imino aparece a frecuencias altas de 150-165 ppm, debido al entorno electrónico provocado por la desprotección.

Tabla 4. Señales de ^{13}C RMN (ppm) para los ligantes **1-4**.

Ligante	C11/C7	C2	C12/C8
1	158.15	160.90	163.89
2	146.35	161.50	162.64
3	151.07	155.64	162.56
4	165.45	146.71	137.46

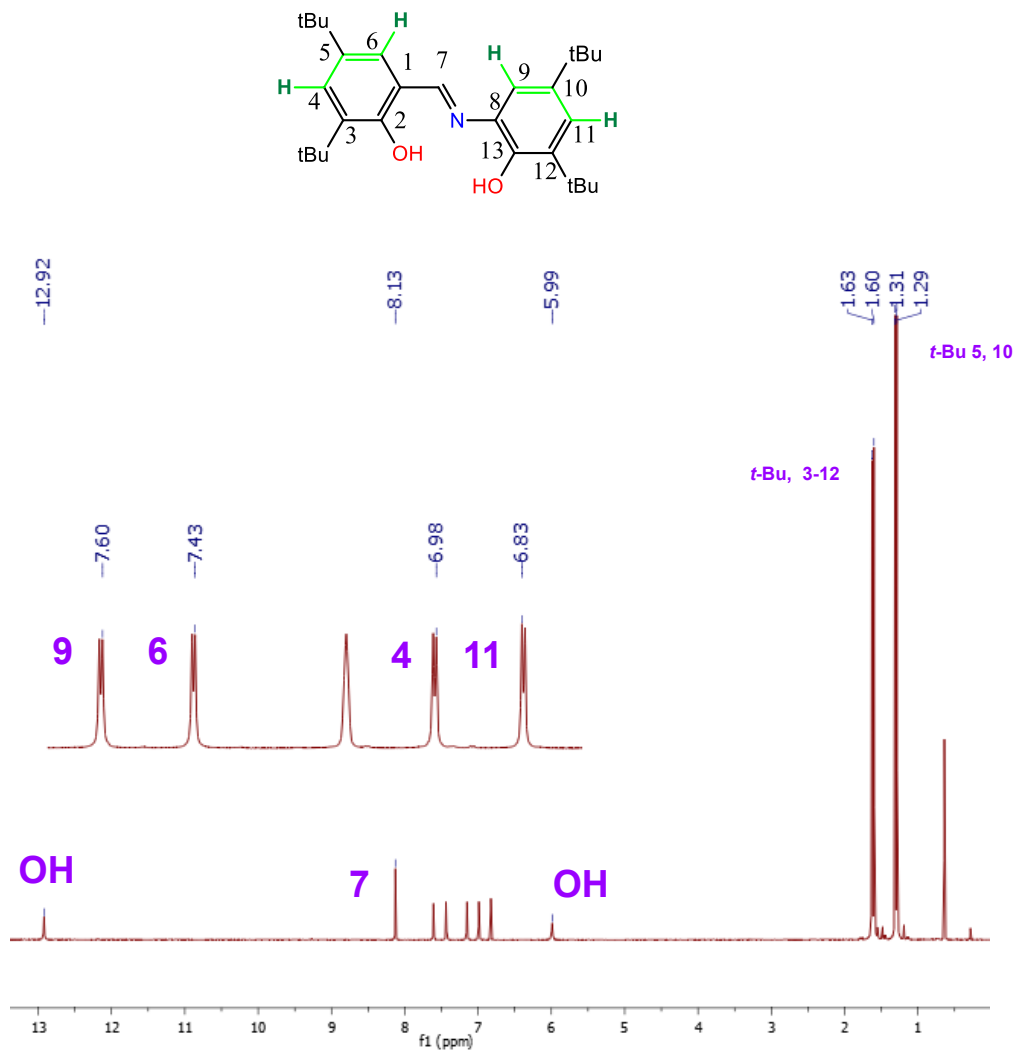


Figura 7. Espectro [δ ,ppm] de RMN de ^1H en C_6D_6 para el ligante 4.

5.1.2. Ion molecular y fragmentación de los ligantes 1-4

Los espectros de masas de las moléculas 1-4 se obtuvieron por el método de TOF (time of flight), en la tabla 5 muestran los iones moleculares para dichas

moléculas donde podemos observar baja diferencia entre el valor calculado y el encontrado, confirmando la obtención de las bases de Schiff.

Tabla 5. Datos de masas de alta resolución para los ligantes **1- 4**.

Ligante	Calculado m/z	Encontrado m/z	Diferencia (ppm)
1	291.1128	291.1128	0.5004
2	307.1079	307.108	0.4332
3	353.2223	353.2225	0.4222
4	438.3367	438.3368	0.3639

En el espectro de masas del ligante **2** se observa el pico base a 307.107852 m/z (100%) correspondiente al ion molecular, también observamos un fragmento a 613.208389 m/z (3.6%) el cual se propone la formación de un dímero del ligante, esto debido a interacciones por puentes de hidrógeno entre el grupo OH con el par de electrones del oxígeno de dos moléculas del ligante (Figura 8).

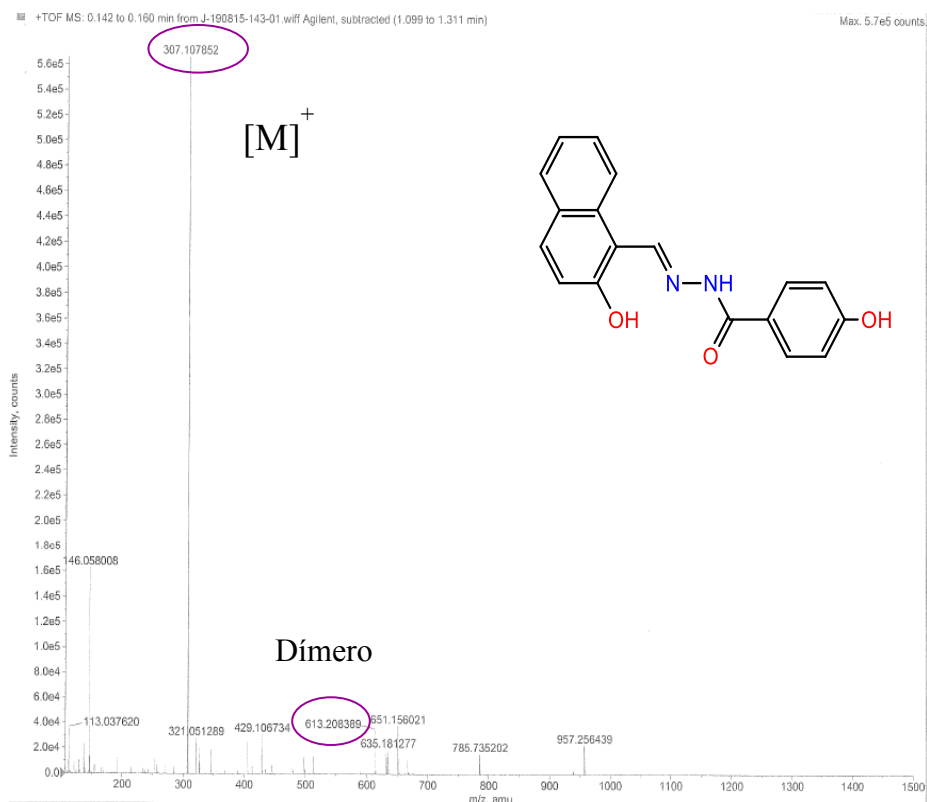
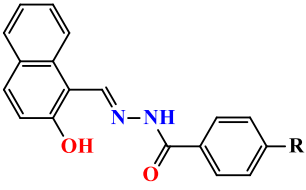
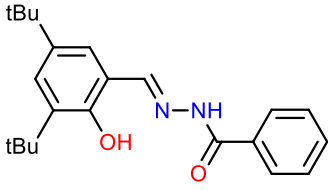
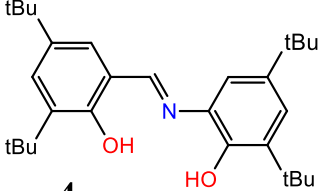


Figura 8. Espectro de masas de alta resolución para el ligante 2.

5.1.3. Análisis de los datos de IR de los ligantes 1- 4

Los espectros de IR para los ligantes muestran la banda de estiramiento C=N alrededor de $1580-1630\text{ cm}^{-1}$, característica de una base de Schiff, la absorción de OH aparecen a $3200 - 3000\text{ cm}^{-1}$, (Esquema 5) la vibración del C=O es mayor que la banda de C=N debido a la electronegatividad del oxígeno, provocando una señal de mayor intensidad.

	1	2	
C=N	1640 cm ⁻¹	1635 cm ⁻¹	
O-H	3167 cm ⁻¹	3250 cm ⁻¹	
C=O	1590 cm ⁻¹	1590 cm ⁻¹	
C-H aromático	3022 cm ⁻¹	3022 cm ⁻¹	
			1: R = H 2: R = OH
	3	4	
			

	3	4
C=N	1586 cm ⁻¹	1629 cm ⁻¹
O-H	3066 cm ⁻¹	3063 cm ⁻¹
C=O	1594 cm ⁻¹	1584 cm ⁻¹
C-H aromático	3052 cm ⁻¹	2960 cm ⁻¹

Esquema 5. Bandas de absorción en IR para los ligantes **1-4**.

5.2. Caracterización de los complejos de boro

Una vez sintetizados y caracterizados los ligantes se procedió a sintetizar los complejos mononucleares por el método tradicional,⁴¹ inicialmente se propuso utilizar benceno como medio de reacción, después de analizar y realizar varias pruebas se cambió el disolvente por acetonitrilo, debido a que presenta menor toxicidad.

5.2.1. Datos de RMN de los complejos mononucleares de boro 5-7

Los espectros RMN de ^1H para los complejos mononucleares **5** al **7** muestran los desplazamientos del protón imino con un ligero corrimiento hacia frecuencias bajas comparado con el ligante (**5**: a 8.71, **6**: a 9.10 y **7**: a 8.78 ppm), también desaparecen las señales simples de los protones del grupo hidroxilo y N-H lo cual confirma la coordinación del ligante con el átomo de boro, así mismo aparecen tres desplazamientos traslapados correspondientes a los protones aromáticos del fenilo enlazado al átomo de boro, lo anterior lo podemos observar en la Figura 9 para el complejo **5**.

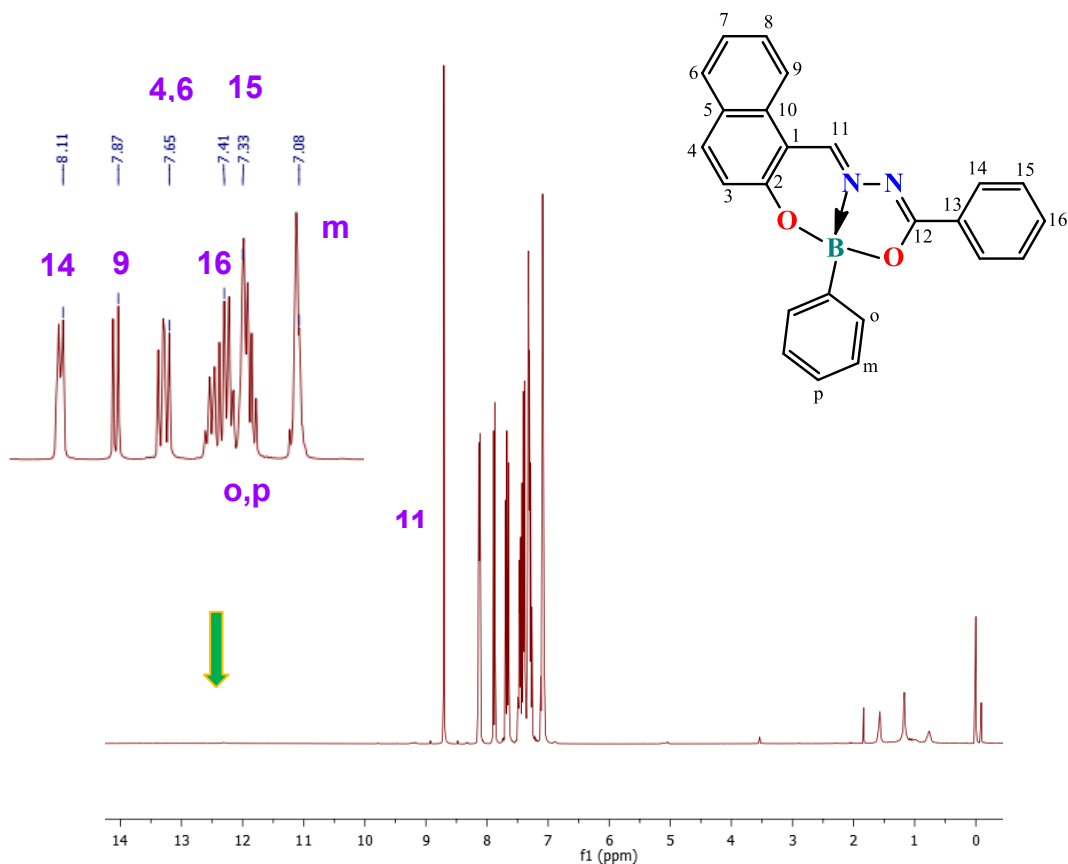


Figura 9. Espectro $[\delta, \text{ppm}]$ de RMN de ^1H en CDCl_3 para el complejo **5**.

Los espectros de ^{13}C RMN para los complejos **5** al **7** mostraron el desplazamiento del carbón imino a frecuencias bajas debido a la coordinación del átomo de boro con el ligante, ya que el carbón imino se encuentra protegido por la deslocalización electrónica (ver Tabla 6), para realizar una asignación inequívoca de los desplazamiento de los átomos de protón y carbón fue necesario realizar experimentos en dos dimensiones donde se muestra los espectros de Correlación Homonuclear $^1\text{H}/^1\text{H}$ (COSY) y Heteronuclear $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ (HETCOR). Debido al traslape de señales del complejo **6**, en el experimento COSY muestra las correlaciones entre los protones a un enlace de distancia H8/H9, H6/H7, H16/H15, H3/H4 (Figura 10), una vez asignadas las señales de protón, son correlacionas con los desplazamientos de carbono en el espectro de HETCOR (Figura 11).

En la Figura 12 se muestra la correlación de protón - carbono para el complejo **7**, en este espectro se aprecia el traslape de dos señales siguletes de los protones alifáticos de los grupos terbutilos (3,12 y 5, 10) con sus correspondientes valores de ppm de ^{13}C .

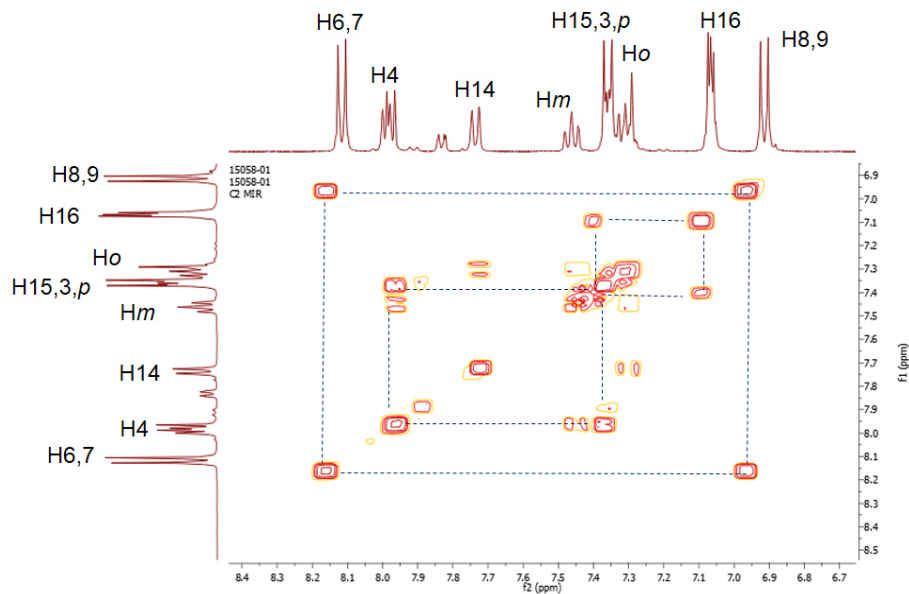


Figura 10. Espectro $[\delta, \text{ppm}]$ de RMN (COSY) en $\text{THF-}d_8$ para el complejo

6.

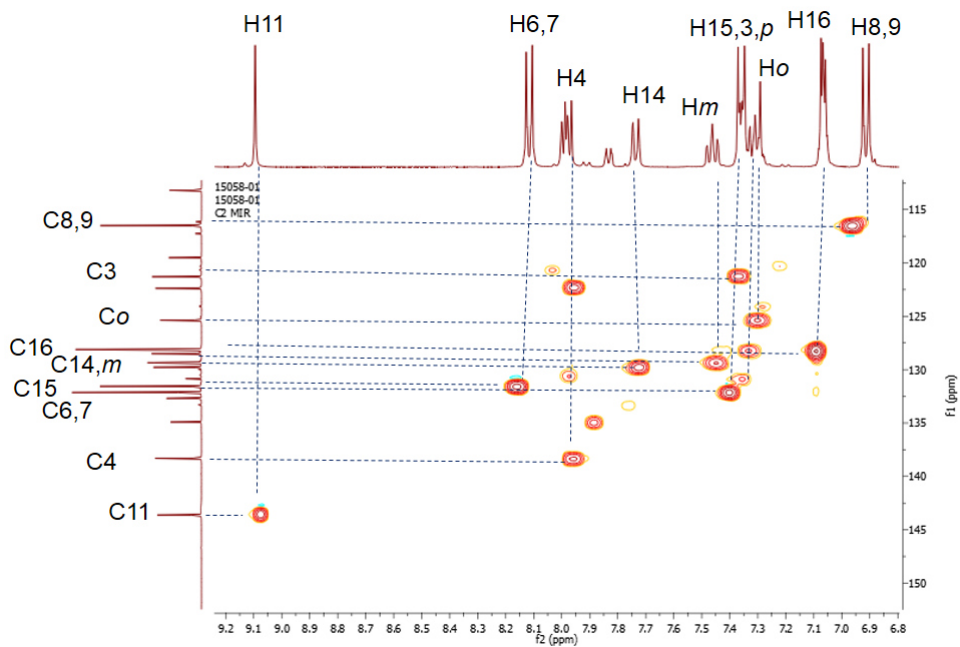


Figura 11. Espectro $[\delta, \text{ppm}]$ de RMN (HETCOR) en $\text{THF-}d_8$ para el complejo 6.

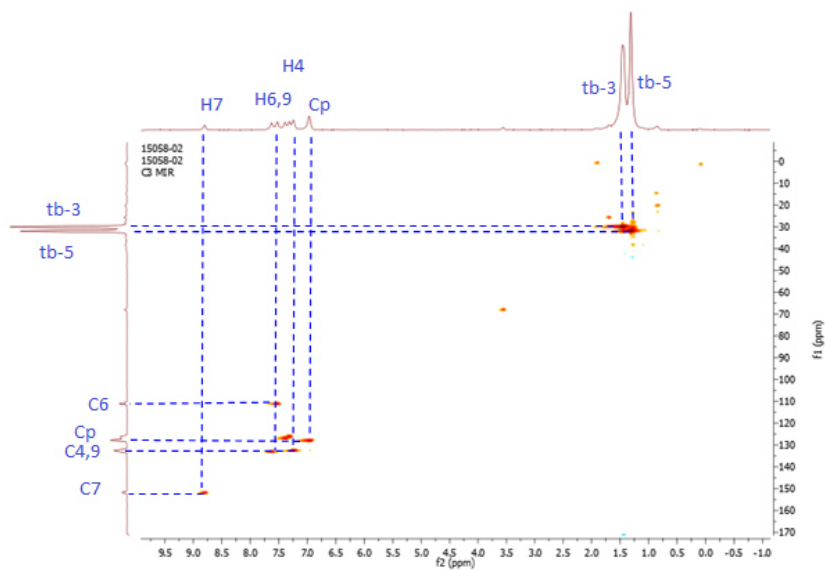


Figura 12. Espectro [δ ,ppm] de RMN (HETCOR) en THF- d_8 para el complejo **7**.

Los espectros de RMN de ^{11}B (THF- d_8) para los complejos **5** al **7** mostraron señales anchas como se puede observar en la Figura 13, esto es debido a que el isótopo ^{11}B tiene un spin 3/2 y presenta un bajo momento cuadrupolar con lenta relajación,⁵³ los desplazamientos de ^{11}B para los complejos mononucleares se muestran en la Tabla 6, observando valores de 7-8 ppm característicos de un boro tetracoordinado, comparándolo con moléculas ya reportadas.⁵⁴

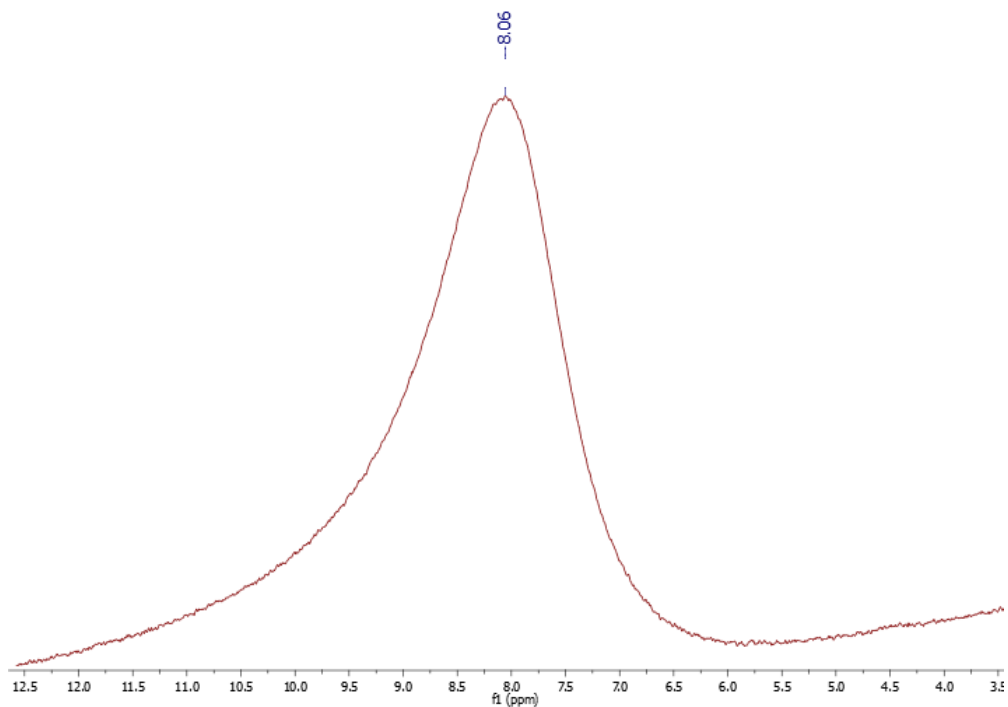


Figura 13. Espectro [δ ,ppm] de RMN de ^{11}B para el complejo **5**.

Tabla 6. Desplazamientos de ^1H , ^{13}C y ^{11}B para los complejos mononucleares, comparando con los ligantes.

Molécula	^1H imino	^{13}C imino	^{11}B (ppm)
Ligante 1	9.50	158.15	--
5	8.71	142.71	8.06
Ligante 2	9.48	146.35	--
6	9.10	143.62	7.32
Ligante 4	8.13	165.45	--
7	8.78	151.73	7.88

5.2.2. Datos de los espectros de masas de alta resolución para los complejos 5 al 7.

Los espectros de masas de alta resolución de los compuestos **5** a **7** muestran el pico base el cual corresponde al ion molecular protonado (Tabla 7), seguido se observa la fragmentación cuando pierde el átomo boro con el fenilo, quedando el fragmento del ligante; para los complejos **5** y **6** se aprecia la formación de un dímero debido a las interacciones intermoleculares por puentes de hidrógeno (Figura 14, Esquema 6).

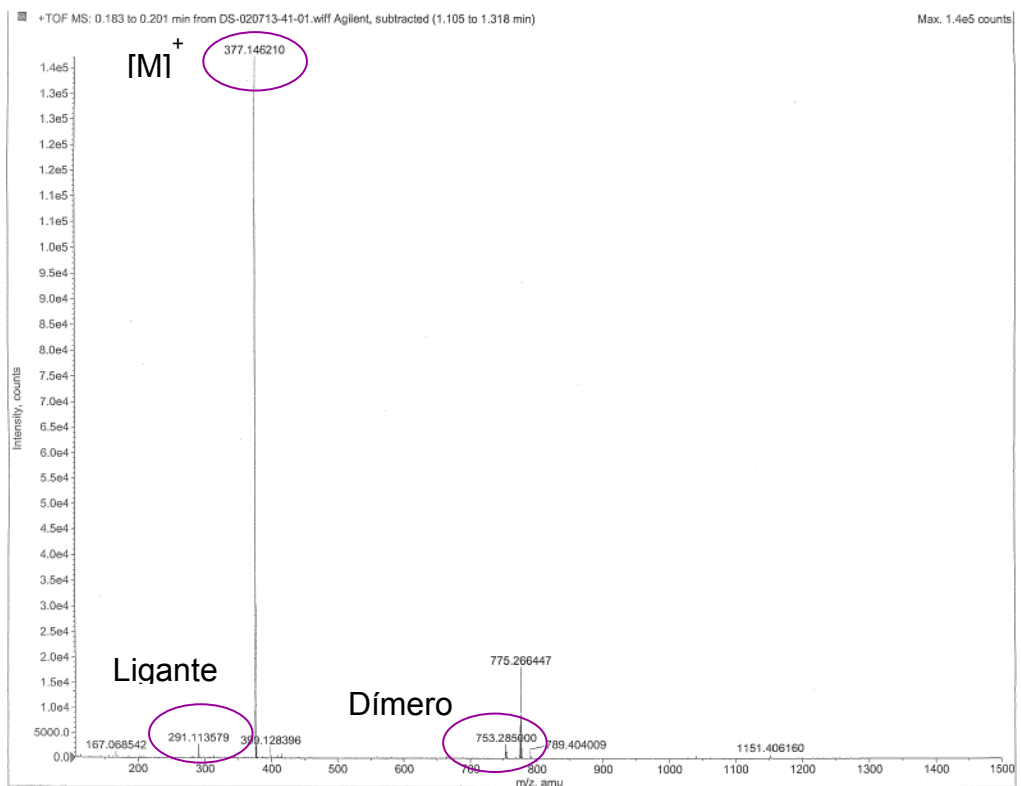
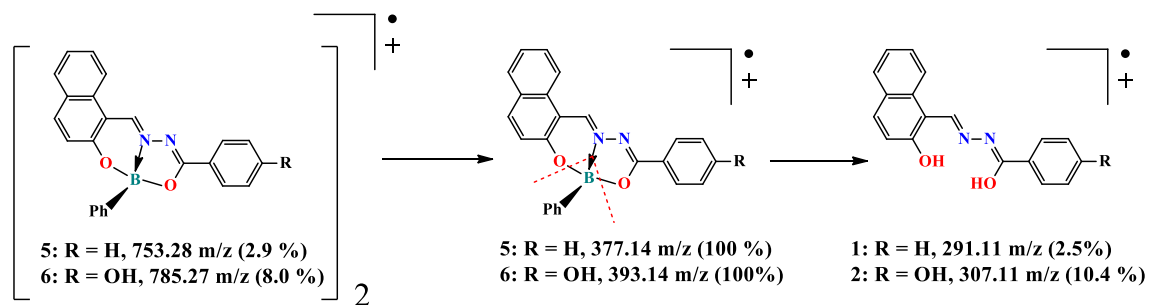


Figura 14. Espectro de masas de alta resolución para el complejo 5.



Esquema 6. Fragmentos moleculares para los compuestos **5** y **6**.

Masas de alta resolución para los complejos (**5-7**) asevera la obtención de los mononucleares ya que presenta bajos valores de desviación entre los iones moleculares encontrados y los calculados.

Tabla 7. Ion molecular de los complejos **5 - 7**

Complejo [M] ⁺	Calculado m/z	Encontrado m/z	Diferencia ppm
5	377.1467	377.1462	1.2512
6	393.1405	393.1403	0.5300
7	524.3694	524.3696	0.2500

5.2.3. Análisis de los datos de IR de los complejos de boro **5-7**

Los espectros de IR de los complejos de boro **5-7** muestran un corrimiento de la banda de estiramiento del enlace C=N (Tabla 8) hacia frecuencias menores comparando con el ligante, ya que el enlace C=N tiende a ser más grande por la coordinación del átomo de nitrógeno con el átomo de

boro, similar a lo reportado.⁵⁵ En el espectro también se alcanza a apreciar las absorciones para sistemas aromáticos, las vibraciones de los enlaces C-H a (2950 aprox.) cm^{-1}

Tabla 8. Principales bandas (cm^{-1}) de IR para los complejos **5-7**.

Banda	Complejo 5	Complejo 6	Complejo 7
C=N	1558	1603	1627
C-H aromático	2957	2945	2957
B-O	--	962, 1359	956, 1353

5.2.4. Análisis de las estructuras en estado sólido por difracción de rayos X de los complejos mononucleares.

El complejo **5** y **7** cristalizaron en disolvente acetonitrilo, los cristales del complejo **6** se obtuvieron de THF- d_8 , la caracterización por difracción de rayos X de los complejos mononucleares confirma que las estructuras propuestas en solución son similares en estado sólido. Estas moléculas muestran la coordinación tetraédrica del átomo de boro formando dos heterociclos de cinco y seis miembros, los cuales provocan la distorsión de la geometría tetrahedral y que el átomo de boro se encuentre fuera del plano del ligante Figuras 15-17.

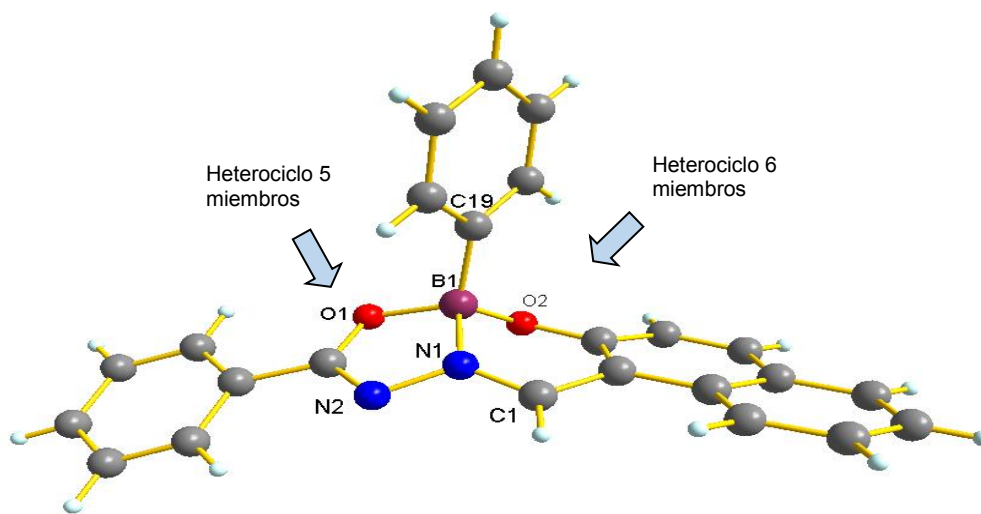


Figura 15. Estructura de rayos X monocristal para el complejo 5.

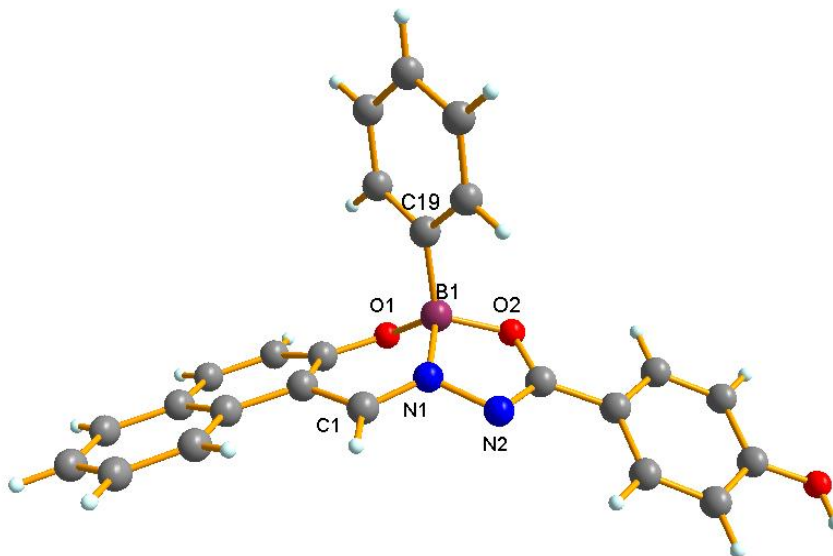


Figura 16. Estructura de rayos X monocristal para el complejo 6.

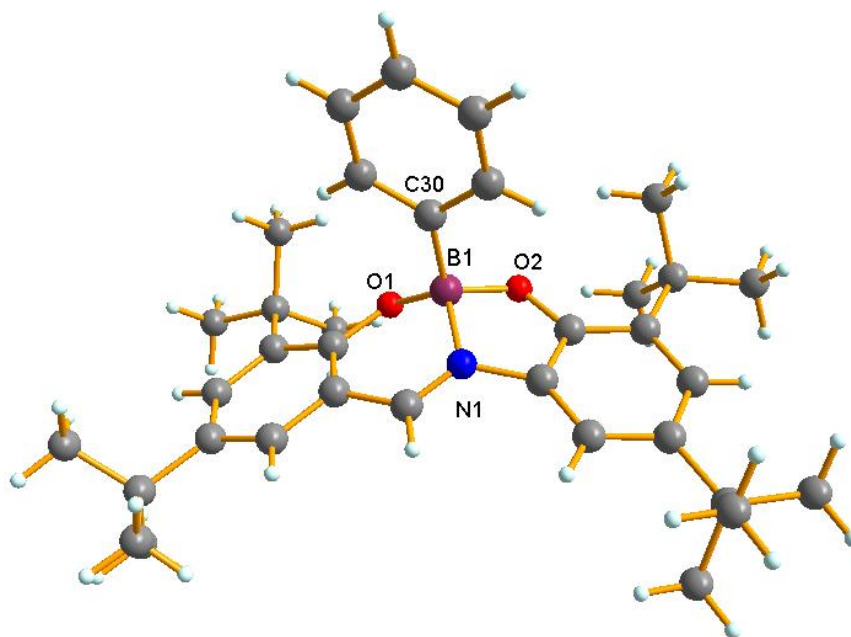


Figura 17. Estructura de rayos X monocristal para el complejo **7**.

Tabla 9. Comparación de longitudes de enlace y ángulos para los complejos **5-7** y la molécula **XXIII**.

Enlaces / Ángulos	5	6	7	XXIII
B1-O1	1.500 (2)	1.469 (2)	1.457 (3)	1.505 (1)
B1-O2	1.468 (2)	1.499 (2)	1.474 (3)	1.457 (2)
B1-N1	1.564 (1)	1.562 (1)	1.599 (4)	1.571 (4)
B1-C19,15	1.604 (2)	1.601 (2)	1.610 (3)	1.610 (1)
O1-B1-N1	97.00 (8)	105.8 (1)	110.8 (2)	107.2 (2)
O2-B1-N1	105.57 (9)	96.7 (1)	95.7 (2)	96.3 (2)

Las longitudes de enlace B-O (1.5-1.45 Å) de los complejo **5-7** son característicos para complejos de boro tetracoordinado, comparándolo con la molécula **XXIII** (1.5-1.46 Å) reportada por Jiménez-Pérez,⁴⁷ la longitud de enlace B1-N1 (1.56-1.59 Å) muestra una coordinación fuerte del átomo de nitrógeno el cual cede electronegatividad al átomo de boro (Tabla 9), esto se confirma al calcular el porcentaje del carácter tetrahedral de 88-89% para cada molécula (Tabla 10).⁵⁶

Tabla 10. Carácter tetrahedral para las moléculas **5 – 7**.

Complejo	Carácter tetrahedral %
5	88.58
6	88.66
7	89.70

Las estructuras de las moléculas **5 - 7** presentan interacciones intramoleculares por puentes de hidrógeno de los átomos de oxígeno y nitrógeno con átomos de hidrógeno de los anillos aromáticos, como se observa en la molécula **5**, interacciones de H18-O1 (2.5118 Å), H14-N2 (2.5349 Å), H24-O2 (2.5818 Å) Figura 18.

La estructura de rayos X para el complejo **6** muestra dos moléculas del mononuclear coordinadas con cuatro moléculas de THF-*d*₈ en la celda unidad (Figura 19), las moléculas de THF-*d*₈ presentan interacciones intermoleculares

con el complejo, podemos observar la estructura **2** (color verde Figura 19) presenta interacción del átomo de boro (B2) con un oxígeno (O4) y protón (H17), el protón H41 con el átomo de boro y oxígeno (B1 y O1) de la estructura **1** (color amarillo), así mismo coordinación con un protón de una molécula de THF-*d*₈, la estructura **1** (amarillo) del complejo muestra interacción intermolecular con protones de dos moléculas de THF-*d*₈, C18-H56B, C12-H54A, C23-H49B, C1 y H1–O9 dichas interacciones intra-intermoleculares permiten una estabilización de los complejos.

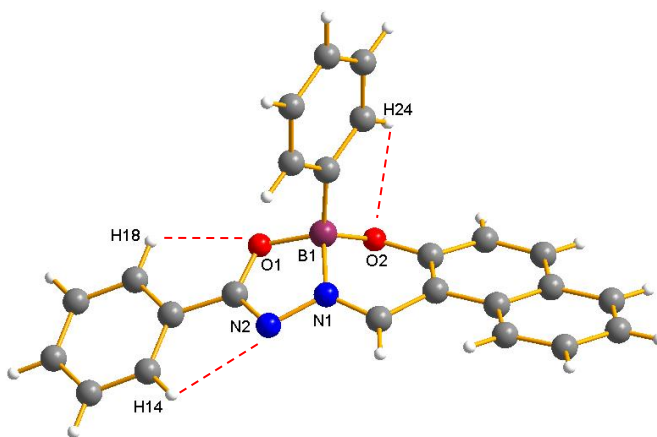


Figura 18. Interacciones intramoleculares para el complejo **5**.

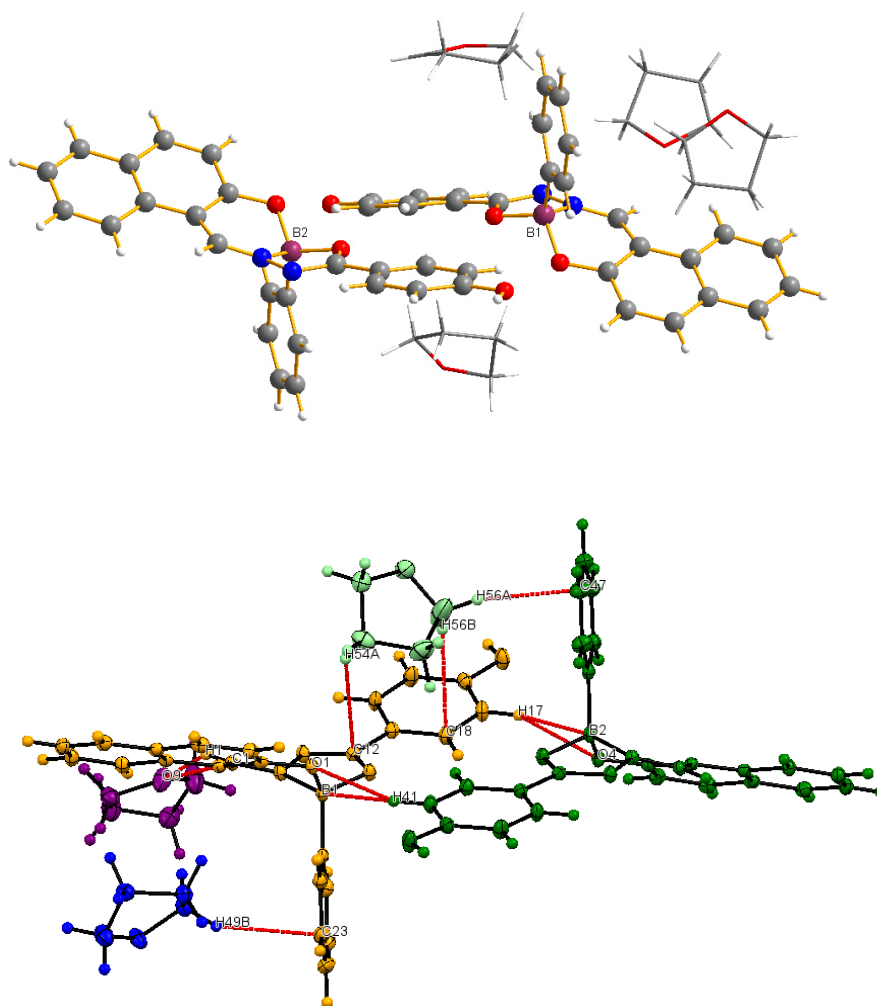


Figura 19. Estructura de rayos X e Interacciones intermolecular del complejo **6**.

En la Figura 20 se aprecia como el átomo de boro del complejo **6** se encuentra 0.316 Å fuera del plano del ligante, presentado una deslocalización de electrones ineficiente, este comportamiento se observa para los tres complejos mononucleares, esto quizá nos da un indicio de bajas propiedades fotofísicas, sin embargo, para la aplicación de bioimágenes no es necesario tener altos rendimientos cuánticos luminiscentes.

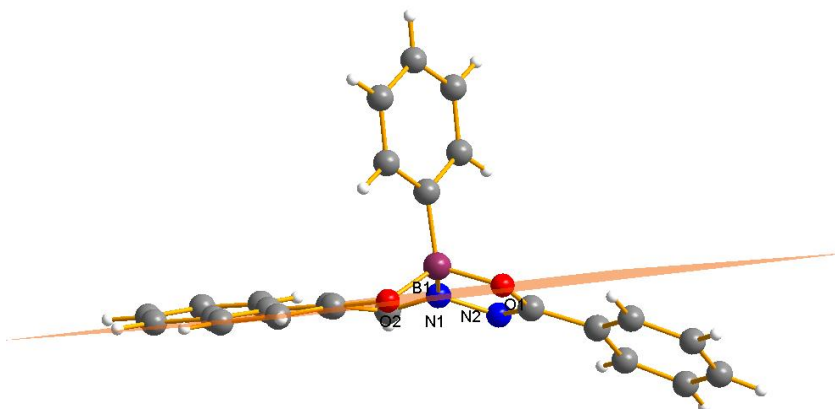


Figura 20. Plano del ligante en la estructura de rayos X para el complejo **6**.

5.3. Caracterización de RMN de los complejos binucleares 8-11.

Los complejos **8 - 10** presentan baja solubilidad en disolventes orgánicos, lo cual complicó su caracterización en solución, el complejo **10** es sensible a la humedad ya que descompone al contacto con agua, debido a esto se almacenó bajo atmosfera de nitrógeno.

5.3.1. Caracterización de RMN de los complejos binucleares 8-11.

En los espectros de RMN de protón para los complejos **8-11** desaparecen los desplazamientos de los protones OH, NH del ligante debido a la coordinación con el átomo de boro, también podemos observar para los complejos **8** y **11** una

señal doble correspondiente al protón imino (Figura 23), probablemente debido a que se está alcanzando a observar los dos iminos del complejo.

Para el complejo binuclear **8** el espectro de protón muestra nueve señales en la zona aromática, de las cuales cinco se traslapan, el desplazamiento del protón imino (H11) aparece a 9.03 ppm (Figura 21), para realizar una asignación inequívoca de estas señales fue necesario realizar los experimentos en dos dimensiones (HETCOR) los cuales se presentan en la Figura 22.

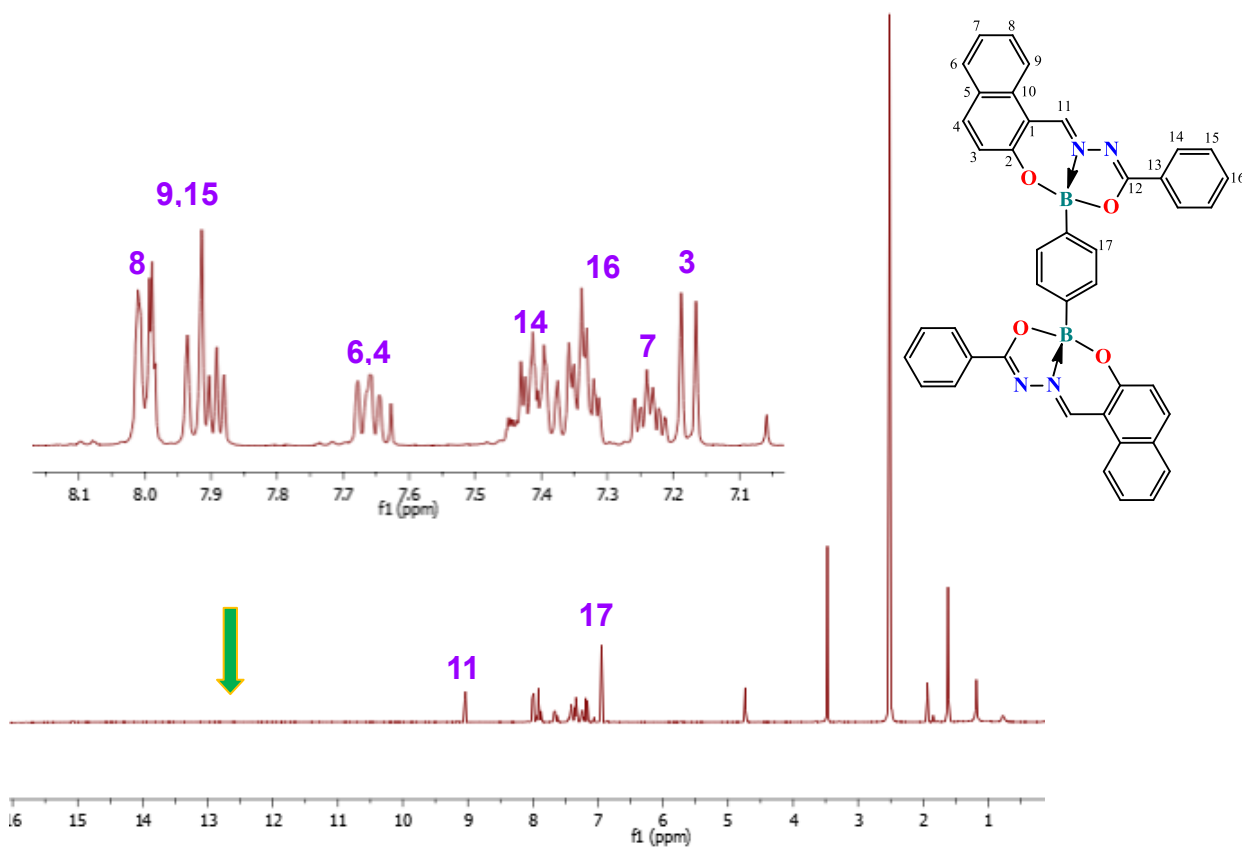


Figura 21. Espectro de RMN de ^1H en $\text{THF-}d_8$ para el complejo **8**.

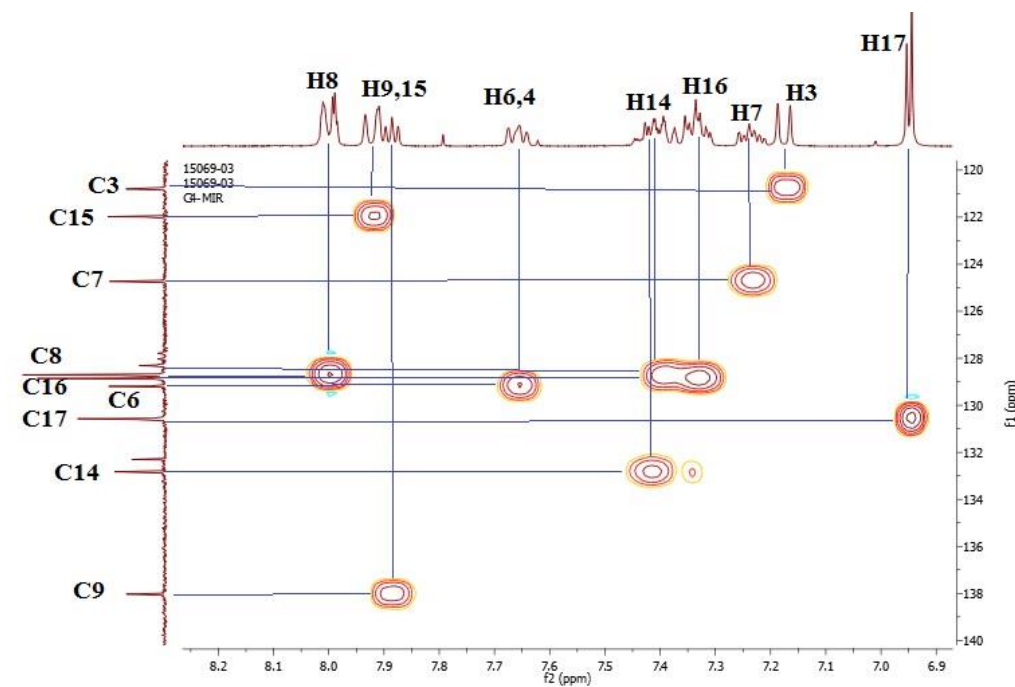


Figura 22. Espectro de correlación heteronuclear $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ (HETCOR) en $\text{THF-}d_8$ para el complejo **8**.

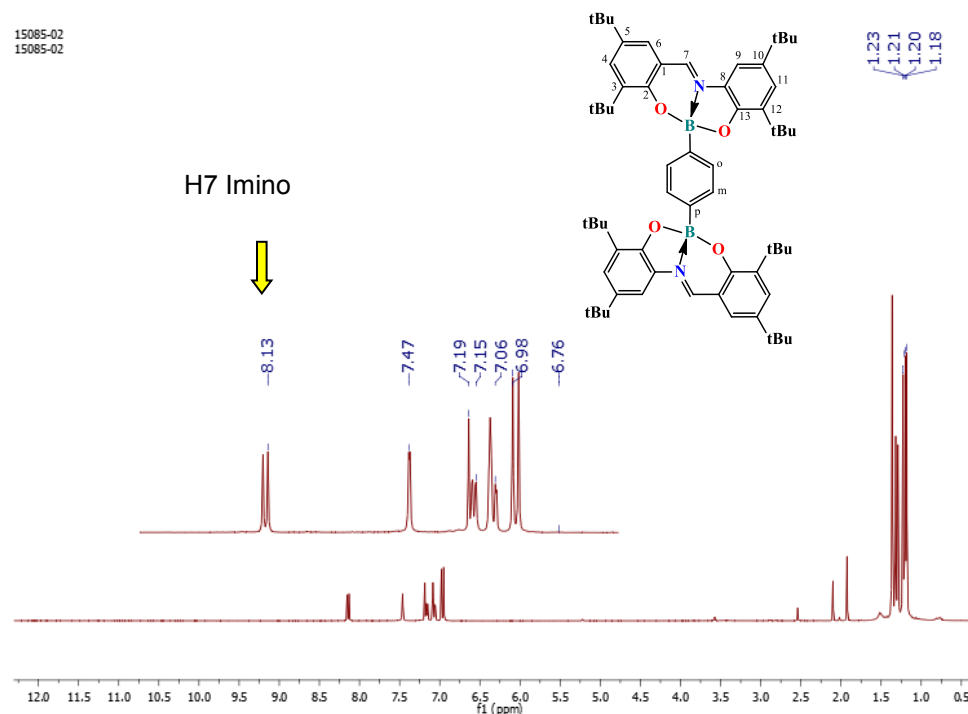


Figura 23. Espectro $[\delta, \text{ppm}]$ de RMN de ^1H en $\text{THF-}d_8$ para el complejo **11**.

De los complejos binucleares se obtuvo el espectro de resonancia ^{11}B , para el binuclear **10**, el cual muestra una señal ancha a 7.69 ppm característica de boro tetracoordinado,⁵⁷ evidenciando que los dos núcleos de átomos de boro presentan similar comportamiento ya que solo se aprecia esta señal.

5.3.2. Análisis de masas de alta resolución de los complejos binucleares 8-11.

Los espectros de masas para las moléculas binucleares **8-11** se obtuvieron por el método TOF (time of flight), los fragmentos que se presentan y discuten a continuación en los esquemas pertenecen a los picos de mayor abundancia.

El espectro de masas del complejo **8** muestra el pico base 675.236 m/z, el cual corresponde al ion molecular protonado, también se observa una señal a 1349.46 m/z (38%) el cual proponemos sea un dímero del complejo ver figura 24, en el Esquema 7 se presenta la fragmentación para el complejo, donde se aprecia un fragmento del ligante coordinado con un átomo de boro a 299.09 m/z (26.7%).

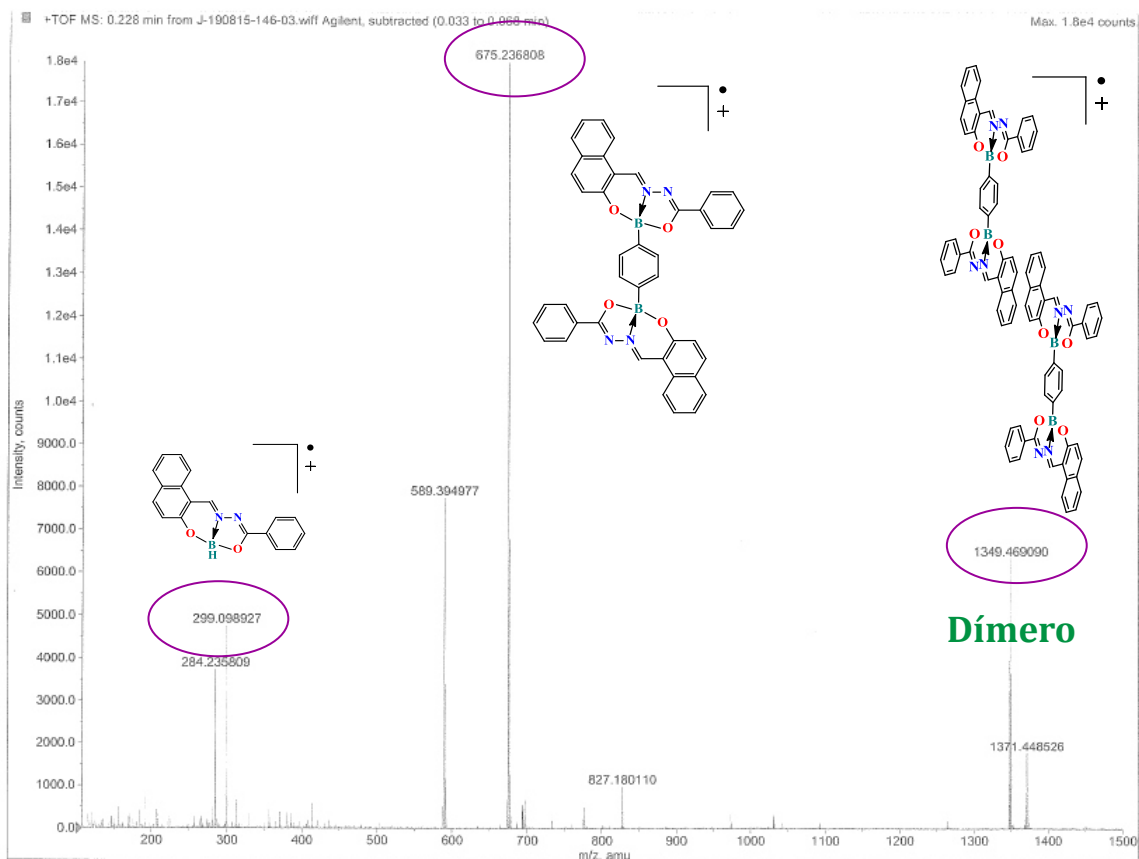
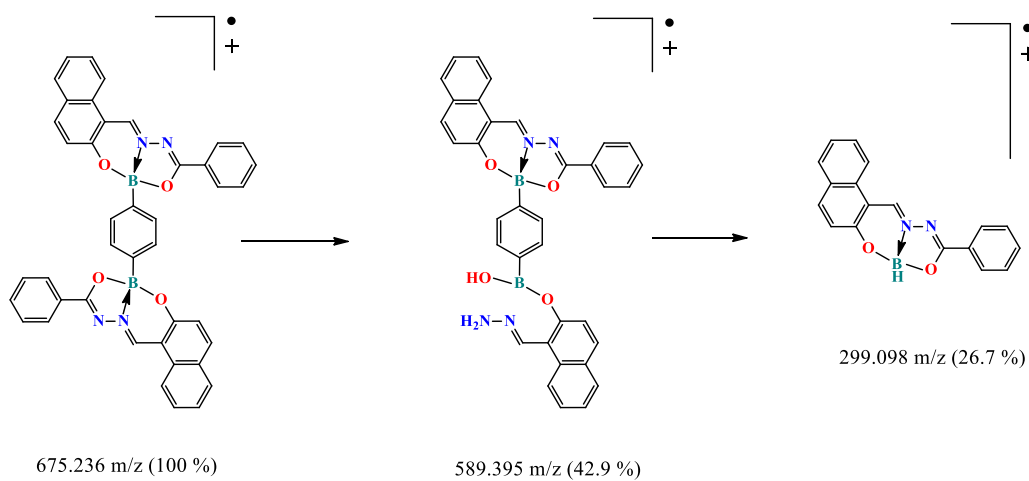


Figura 24. Espectro de masas de alta resolución para el complejo **8**.



Esquema 7. Fragmentación para el complejo **8**.

Para confirmar que se obtuvo el complejo binuclear, el patrón isotópico obtenido por masas de alta resolución para el complejo se compara con uno calculado,⁵⁸ en la Figura 25 podemos visualizar que presenta igual patrón isotópico de seis señales con el mismo valor de masa/carga, con esto aseveramos la obtención de los complejos de boro binucleares.

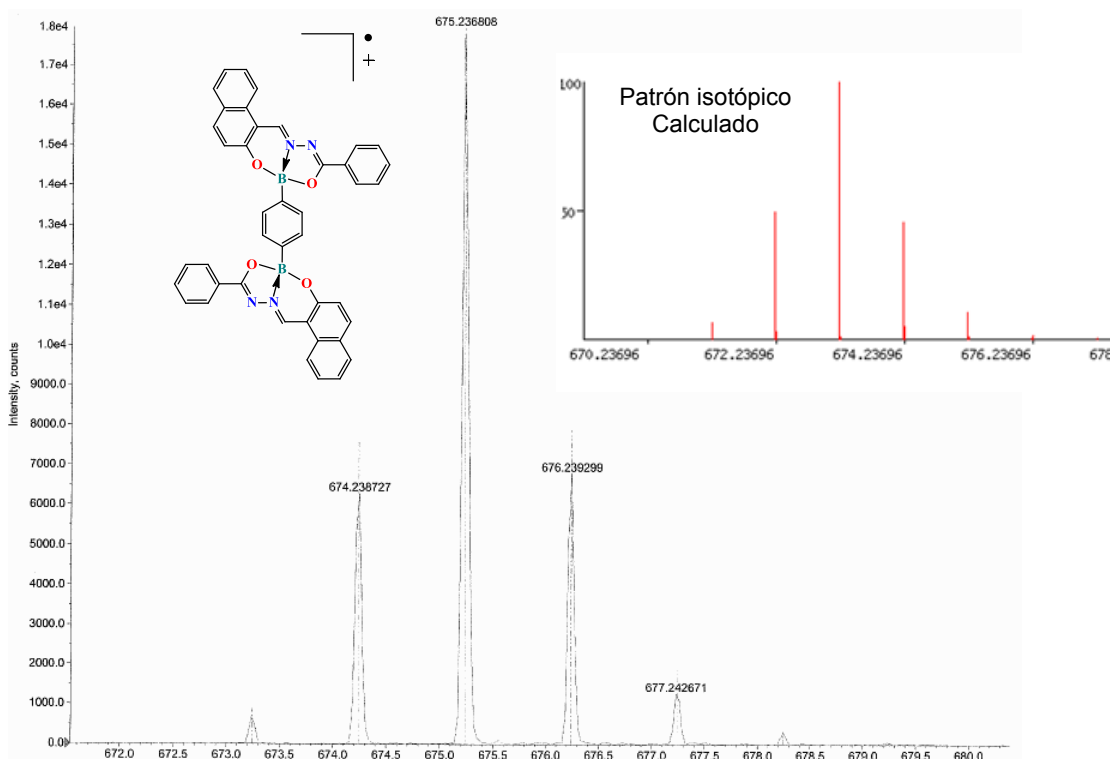
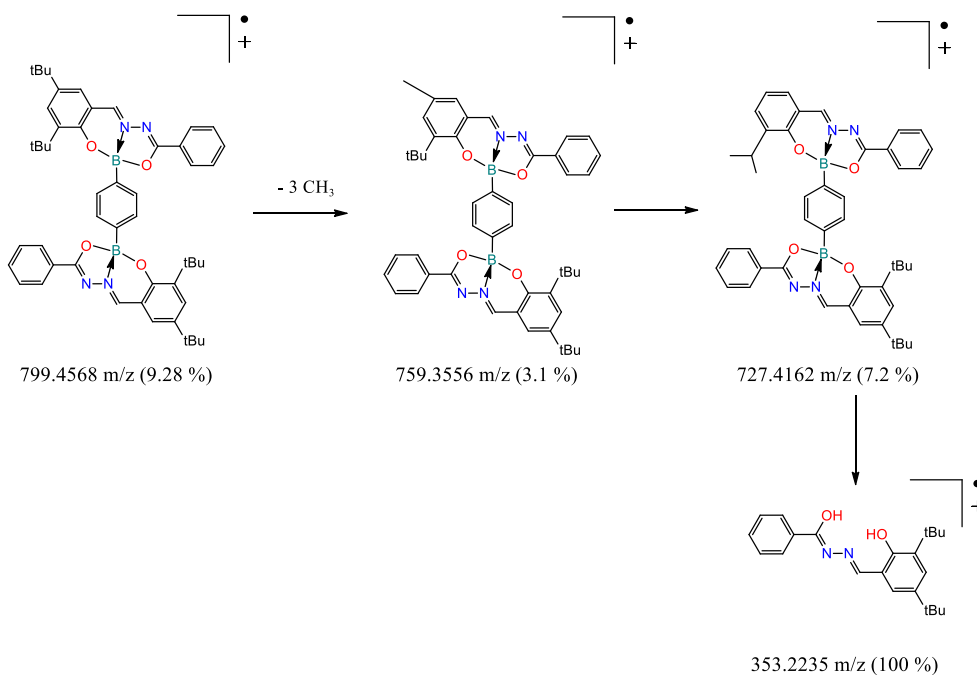


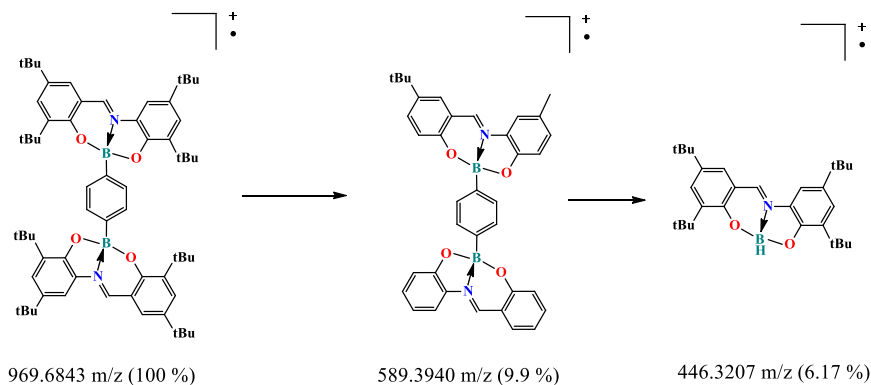
Figura 25. Comparación de patrón isotópico obtenido y el calculado para el complejo **8**.

Los espectros de masas para los complejos binucleares **10,11** muestran el ion molecular **10**: 799.457 m/z (9.28%) y **11**: 969.685 m/z (100%), seguido la fragmentación del complejo eliminando primero los metilos de los grupos sustituyentes *ter*-butilos, el complejo **10** presenta bajo porcentaje de ion

molecular debido a que es inestable y descompone con la humedad, por lo cual el fragmento del ligante 353.22 m/z presenta 100%, contrario al complejo **11** que es estable alcanzándose a observar el fragmento del ligante coordinado con un átomo de boro a 446.32 m/z (6.17%) (Esquema 8 y 9).



Esquema 8. Fragmentación para el complejo **10**.



Esquema 9. Fragmentación para el complejo **11**.

Los espectros de masas de alta resolución nos evidencian la obtención de los tres complejos binucleares **8**, **10** y **11** esto lo confirmamos al obtener valores bajos de desviación entre los iones moleculares obtenidos con los calculados, ejemplo: en la Tabla 11 observamos que el complejo **10** presenta 0.0207 ppm de diferencia.

Tabla 11. Iones moleculares de los complejos **8**, **10-11**.

Complejo [M] ⁺	Calculado m/z	Encontrado m/z	Diferencia ppm
8	675.2369	675.2368	0.1646
10	799.4568	799.4568	0.0207
11	969.6846	969.6844	0.3074

5.3.3. Datos de IR para los complejos binucleares **8,10** y **11**.

Los espectros de IR para los binucleares muestran comportamiento similar a los mononucleares el corrimiento de la banda C-N a números de onda menores a los ligantes, debido a la disminución de la longitud de enlace por la coordinación del átomo de nitrógeno con el átomo de boro.

Tabla 12. Principales bandas (cm^{-1}) de IR para los complejos **8 - 11**.

Banda	Complejo 8	9	10	11
C=N	1558	1629	1557	--
C-H arom.	2957	3053	3058	--
B-O	944, 1368	943, 1325	935, 1483	--

5.3.4. Análisis de la estructura en estado sólido por difracción de rayos X para el complejo binuclear **11**.

El complejo **11** tiene grupos *ter*-butilos como sustituyentes a diferencia del complejo **8** y **9**, debido a esto presenta mejor solubilidad en disolventes orgánicos, permitiendo obtener dos estructuras de rayos X en diferentes disolventes: THF y acetona (grado reactivo).

En la Figura 26 se muestran las estructuras de rayos X del complejo **11**, donde se observan que cristalizan con una molécula de disolvente (A-THF y B-acetona); en ellas confirmamos la obtención de un complejo binuclear, con geometría tetrahedral distorsionada, provocada por la formación de dos heterociclos de cinco y seis miembros alrededor del átomo de boro, característica semejante con los complejos mononucleares.

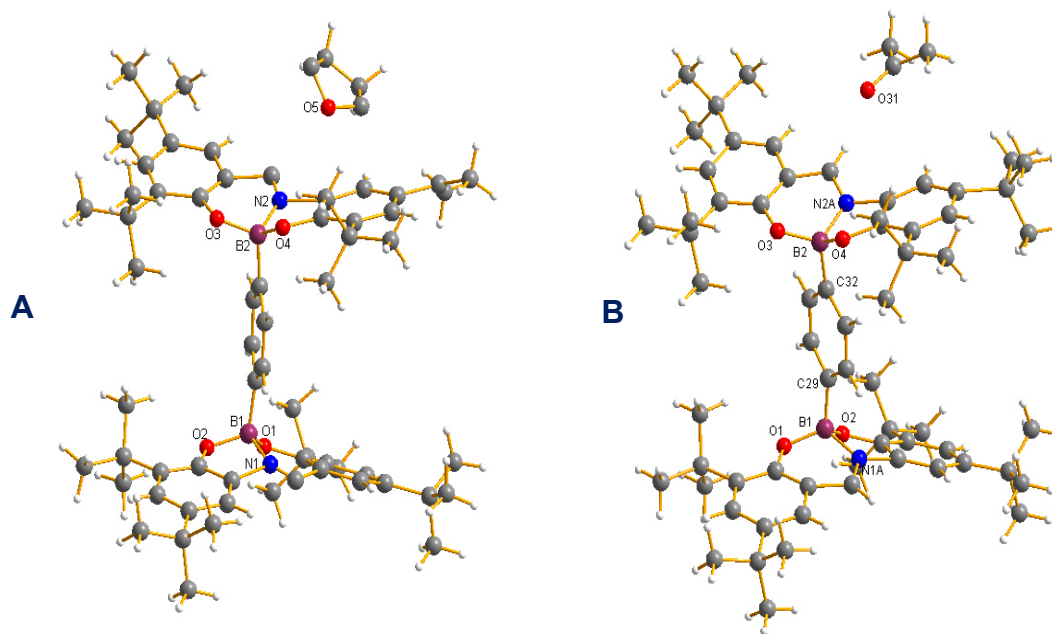


Figura 26. Estructuras de rayos X para el complejo **11**, con una molécula de disolvente, A) THF, B) acetona.

Las estructuras de rayos X (**11A**, **11B**) muestran longitudes de enlace B-N alrededor de 1.53-1.58 Å, (Tabla 13) valores similares a complejos de boro mononucleares⁵⁹ (**5-7**) esto evidencia una coordinación fuerte entre el átomo de nitrógeno y átomo de boro y se confirma al calcular el porcentaje de carácter tetrahedral obteniendo valores de (90.0 – 93.7% Tabla 14), adquiriendo una coordinación más covalente, porcentajes mayores comparado con lo mononucleares y moléculas reportadas⁶⁰, las longitudes de enlace B-O (1.44-1.48 Å) son menores a B-N debido a la alta electronegatividad del átomo de oxígeno. Para ambas estructuras los ángulos (O2-B1-N1 y O4-B2-N2) son

menores a (O1-B1-N1 y O3-B2-N2) esto debido a la formación del anillo de cinco miembros.

Tabla 13. Principales enlaces y ángulos para el binuclear **11**.

Enlaces Å / Ángulos	11A	11B
B1-O1	1.4594	1.451 (3)
B1-O2	1.4450	1.455 (3)
B1-N1A	1.5305	1.587 (6)
B1-C29/30	1.6129	1.591 (3)
O1-B1-N1	106.093	90.8 (2)
O2-B1-N1	102.367	91.4 (2)
B2-O3	1.4558	1.460 (3)
B2-O4	1.4787	1.471 (3)
B2-N2A	1.5477	1.563 (6)
B2-C32/33	1.6047	1.593 (3)
O3-B2-N2	109.337	90.8 (3)
O4-B2-N2	98.733	91.9 (2)

Tabla 14. Carácter tetrahedral para las estructuras de rayos X del complejo **11(A y B)**.

Complejo	Carácter tetrahedral %
11A Boro1	90.00
11A Boro 2	93.65
11B Boro 1	90.01
11B Boro 2	91.66

Las moléculas de rayos X del complejo **11B**, muestra interacciones intermoleculares del protones iminos H66A con los átomos de oxígeno y boro (O4, O3, B2) de otra molécula, H67A con el átomo de oxígeno O31 del disolvente acetona.

Las interacciones intramoleculares de la estructura de rayos X del binuclear **11**, muestra interacción a cuatro enlaces entre el protón imino con un protón del anillo aromático H67A-H37 (2.104 Å), H66A-H3 (2.163Å) (ver Figura 27), también presenta interacciones entre los protones de los *ter*-butilos con átomos de oxígeno O3-H46 (2.431 Å), O3-H47A (2.359 Å), O4-H62A (2.531 Å), O4-H31(2.510 Å), O2-H28C (2.366 Å), O2-H27A (2.307 Å), O1-H14A (2.352 Å), O1-H12 (2.303 Å), entre otros.

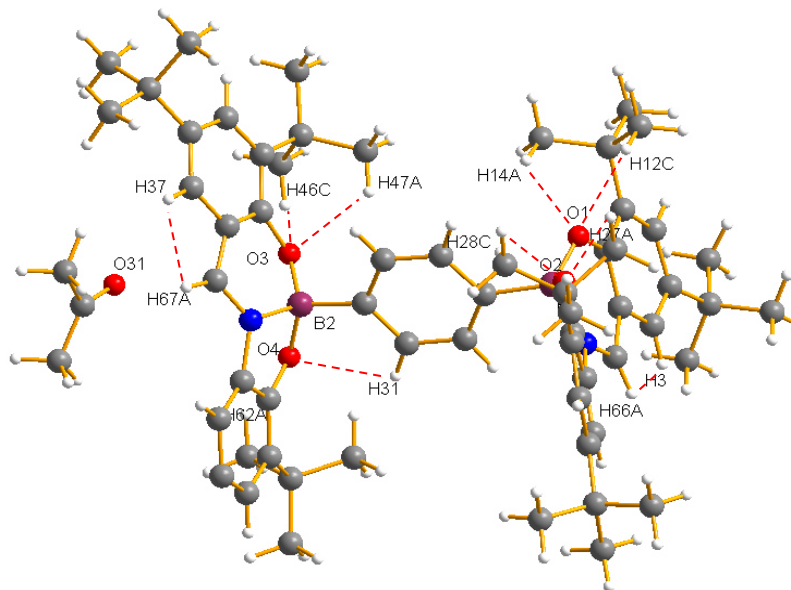


Figura 27. Interacciones intramoleculares del complejo **11B**.

En la estructura de rayos X para la molécula 11B, se aprecia como los dos átomos de boro se encuentran fuera del plano de los ligantes, cortando perpendicularmente al anillo aromático central (Figura 28).

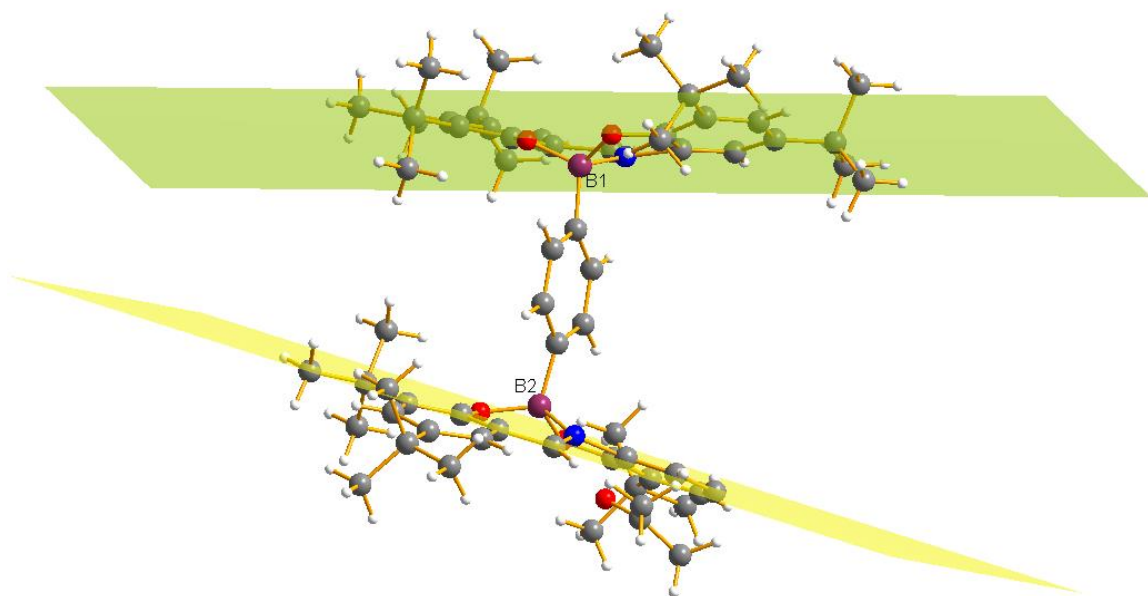


Figura 28. Planos de la estructura de rayos X del complejo **11B**.

5.4. Caracterización óptica de ligantes y complejos de boro

5.4.1. Análisis de espectros de UV-Vis y emisión

Las propiedades ópticas de los compuestos fueron obtenidas en THF y cloroformo, ya que son los disolventes que disuelve completamente a los complejos. En las Figuras 29 y 30, se muestran los espectros de absorción de los ligantes y complejos, observamos que el principal pico de absorción de los ligantes aparece en la región de UV (320-380 nm) debido a las transiciones electrónicas HOMO-LUMO a través de la molécula, después de coordinarse los

ligantes con el átomo de boro presentan un desplazamiento batocrómico (región visible 400-455 nm). Los espectros de absorción de los complejos binucleares presentan picos máximos similares e incluso iguales a los complejos mononucleares ejemplo mononuclear **5** (423 nm) y binuclear **8** (423 nm).

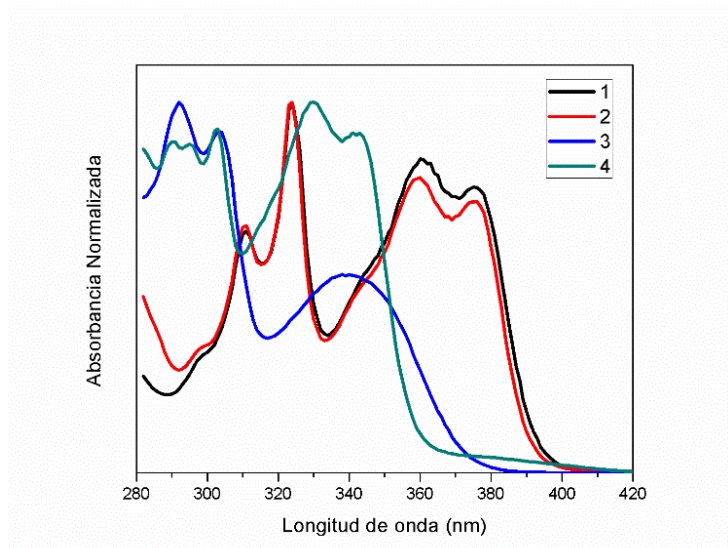


Figura 29. Espectro de absorción de los ligandos **1-4** en THF.

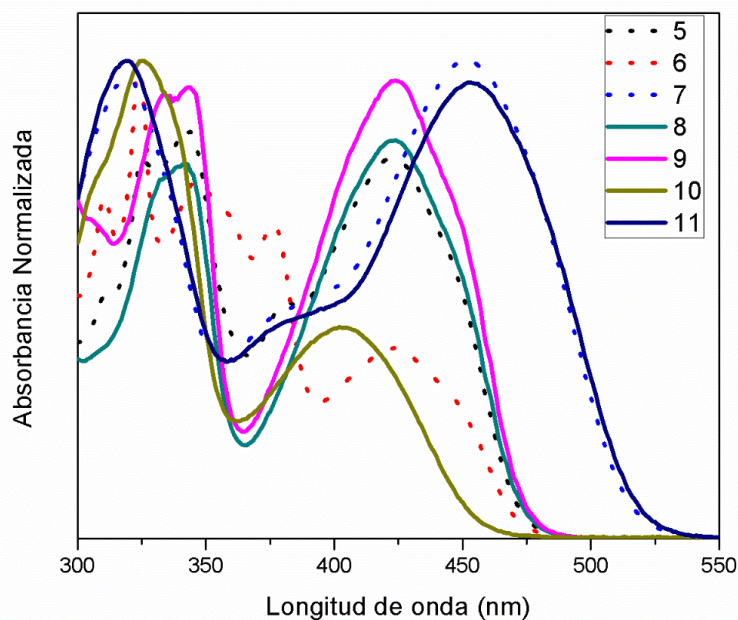


Figura 30. Espectro de absorción de los complejos **5-11** en THF.

Los ligantes (**1**, **2**) muestran luminiscencia en solución y estado sólido (**1**- color verde, **2**- color amarilla), el pico máximo de emisión es localizado a 492-507 nm (Figura 31).

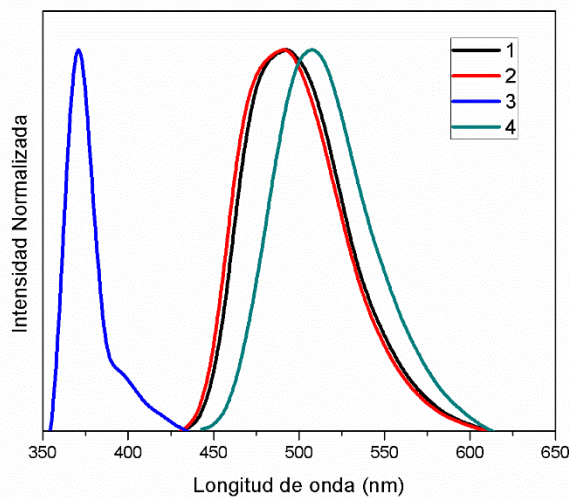


Figura 31. Espectro de emisión de los ligantes **1-4** en THF.

Los complejos mononucleares y binucleares exhibe un máximo de emisión en THF a longitudes de onda localizadas en (477-514 nm) y (411-512 nm) respectivamente (tabla 15, Figura 32). Las emisiones de los complejos **7**, **10** y **11** muestran un efecto batocrómico comparando con las emisiones de los ligantes **3** y **4**, esto debido nivel de relajación de S_1-S_0 , comparando emisiones de complejos mononucleares con binucleares observamos valores similares de luminiscencia en la región visible.

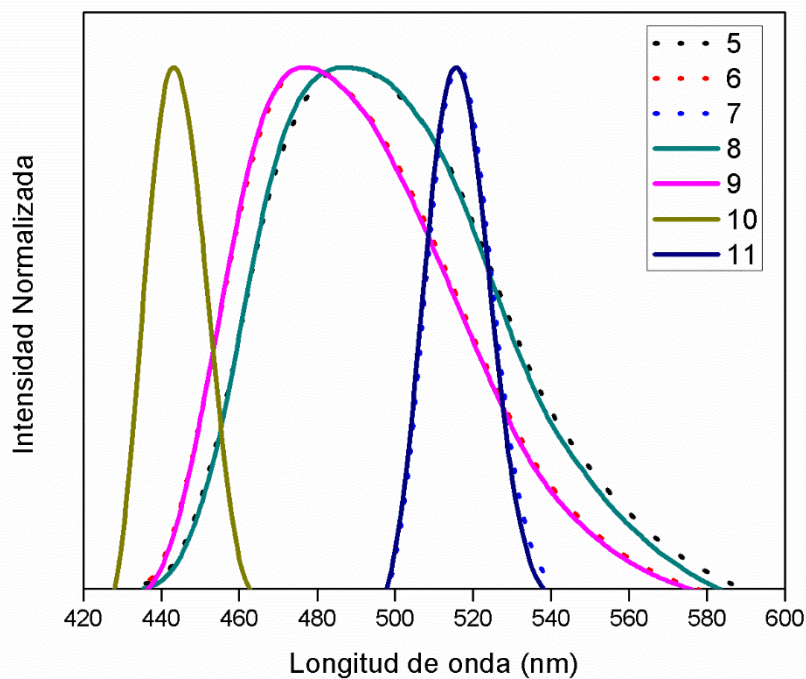


Figura 32. Espectro de emisión de los complejos **5-11** en THF.

En la Tabla 15 se muestra el resumen de las propiedades fotofísicas de los ligantes y complejos determinadas en THF, donde cabe resaltar los bajos porcentajes de rendimiento cuántico luminiscente, con la finalidad de comparar estos resultados se determinó el rendimiento cuántico luminiscente en otro disolvente, en la Tabla 16 se muestran los resultados con cloroformo, observando para los complejos **9** y **11** un ligero aumento hasta de 6%; sin embargo aún sigue siendo valores bajos comparados con otras moléculas.

Tabla 15. Absorción y emisión de los compuestos en THF.

Compuesto	$\lambda_{\text{abs}}[\text{nm}]$	$\epsilon \cdot 10^4 [\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}]$	$E_g [\text{eV}]$	$\lambda_{\text{em}} [\text{nm}]$	$\Delta\nu[\text{cm}^{-1}]$	$\Phi [\%]$
1	376	1.80	3.16	493	6312	0.46
2	375	1.50	3.18	492	6341	0.71
3	339	1.10	3.33	370	2471	0.04
4	342	2.50	3.46	507	9516	0.04
5	423	1.80	2.63	490	3232	0.21
6	424	7.20	2.63	477	2621	0.79
7	455	1.40	2.41	514	2523	0.01
8	423	4.70	2.62	488	3149	0.17
9	423	4.00	2.61	475	2588	0.98
10	403	1.80	2.71	440	2087	0.01
11	455	2.10	2.41	512	2447	0.10

Tabla 16. Absorción y emisión de los compuestos en cloroformo.

Compuesto	$\lambda_{\text{abs}}[\text{nm}]$	$\epsilon \cdot 10^4 [\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}]$	$E_g [\text{eV}]$	$\lambda_{\text{em}} [\text{nm}]$	$\Delta\nu[\text{cm}^{-1}]$	$\Phi [\%]$
5	426	0.20	2.64	484	2813	0.09
6	423	0.20	2.64	484	2980	0.06
7	460	1.90	2.35	529	2836	0.09
8	425	0.40	2.63	485	2911	0.10
9	425	0.40	2.64	517	4187	6.47
10	425	0.50	2.63	495	3327	0.40
11	461	1.20	2.33	523	2572	1.69

Con la finalidad de estudiar las propiedades de los complejos se decidió ver el efecto de fluorescencia al mover ciertos parámetros: en solución (viscosidad del medio, flujo de oxígeno, CO₂, pH) en estado sólido (temperatura, acidez y alcalinidad de las moléculas, acción mecánica-fricción, presión) esperando ver sensibilidad con algún parámetro. La viscosidad, pH, oxígeno y CO₂ juegan un papel importante en los procesos celulares, permitiendo encontrar nuevos materiales capaces de responder a estos estímulos a nivel micro (celular) con la finalidad de monitorear dichos efectos en los procesos celulares.

5.4.2. Efecto de viscosidad del medio

Según reportes recientes, las moléculas que tienen un anillo aromático con libre de giro, presentan las propiedades de rotores moleculares.⁶¹ Analizando nuestras moléculas, las mononucleares y binucleares tiene el fenilo unido al átomo de boro, el cual puede tener un movimiento (giro), provocando que las propiedades de emisión disminuyan, ya que al estar en movimiento el fenilo, induce a la disipación de energía y una menor deslocalización electrónica por lo que el rendimiento cuántico luminiscente tiende ser bajo.⁶² Para corroborar lo anterior se procedió a realizar estudios de emisión en mezclas de metanol-glicerol a diferentes proporciones 0-90% [viscosidades de 0.01, 0.6, 1.5, 5.8, 33.9, 202 cps]; ya que las moléculas al estar en contacto con un disolvente de

mayor viscosidad, su giro (movimiento de fenilo) disminuirá y su emisión o rendimiento cuántico luminiscente debería aumentar.

En la Figura 33 y 34 se muestran las gráficas de intensidad de emisión Vs longitud de onda en diferentes mezclas de disolvente (metanol/glicerol) para los complejos (**6**, **9** y **7**, **11**), donde efectivamente se observa un aumento en la intensidad de emisión del complejo cuando el porcentaje de glicerol es mayor (mayor viscosidad), calculando el rendimiento cuántico luminiscente, se grafica contra la viscosidad de disolvente apreciando un aumento en el valor de rendimiento cuántico luminiscente al aumentar la viscosidad del medio, lo cual aseveramos el comportamiento de rotores moleculares para este tipo de estructuras, siendo los complejos binucleares los que presentan mayor efecto ver Figuras 34, 36. El compuesto **6** aumenta tres veces su rendimiento cuántico luminiscente en 95% de glicerol, mientras que el compuesto **9** incrementa hasta 18 veces su valor inicial de rendimiento cuántico. Al comparar estos complejos con algún rotor molecular en literatura, presenta un comportamiento similar. Ejemplo de Dioxaborina reportada por Klymchenko y sus colaboradores,⁶³ mostró un aumento de 22 veces el valor de Φ en una mezcla de glicerol y metanol; otra investigación reportada por Kuimova de dos compuestos de BODIPY, uno de ellos muestra un incremento de 20 veces su valor inicial de Φ en 95% de glicerol;⁶⁴ Sin embargo, estos compuestos presentan la desventaja de necesitar varios pasos para la síntesis.

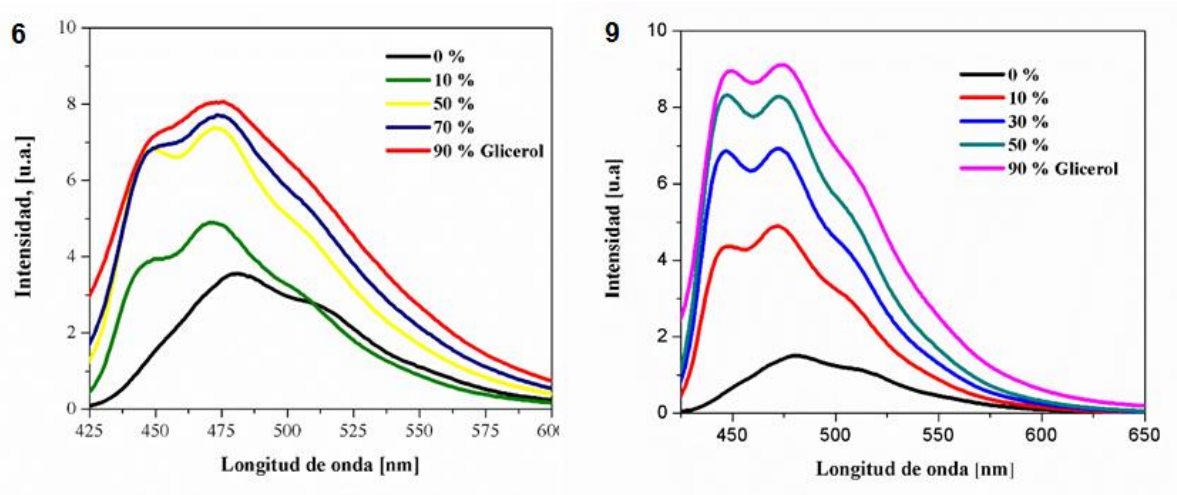


Figura 33. Espectro de fluorescencia de los complejos **6** y **9** en mezclas de metanol y glicerol.

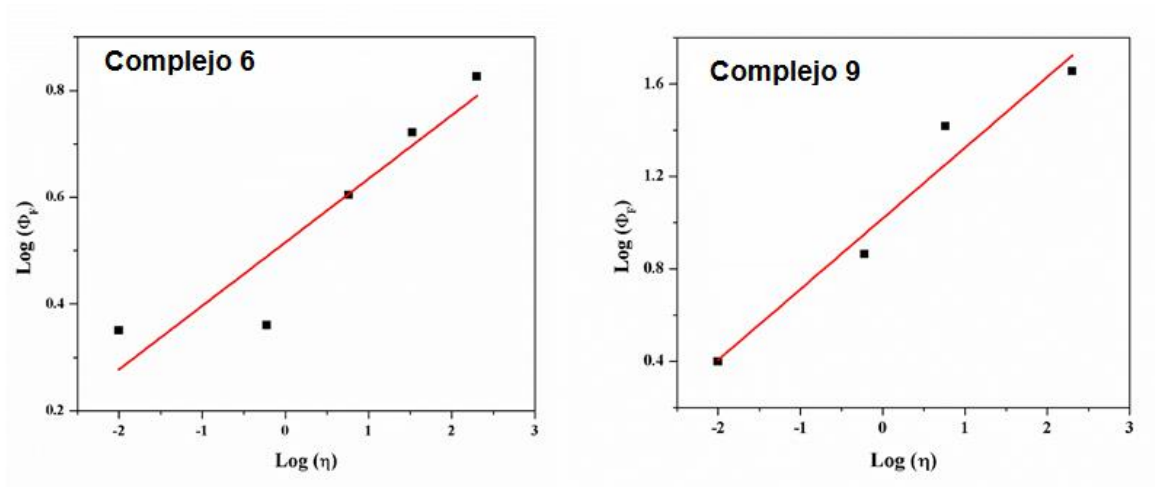


Figura 34. Correlación del rendimiento cuántico luminiscente de los complejos **6** y **9** con la viscosidad del medio.

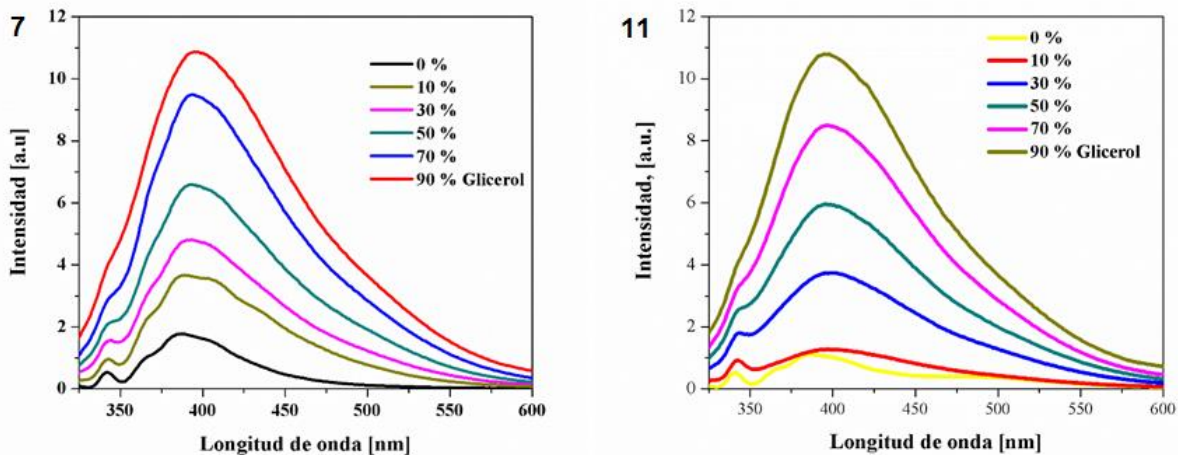


Figura 35. Espectro de fluorescencia de los complejos **7** y **11** en mezclas de metanol y glicerol.

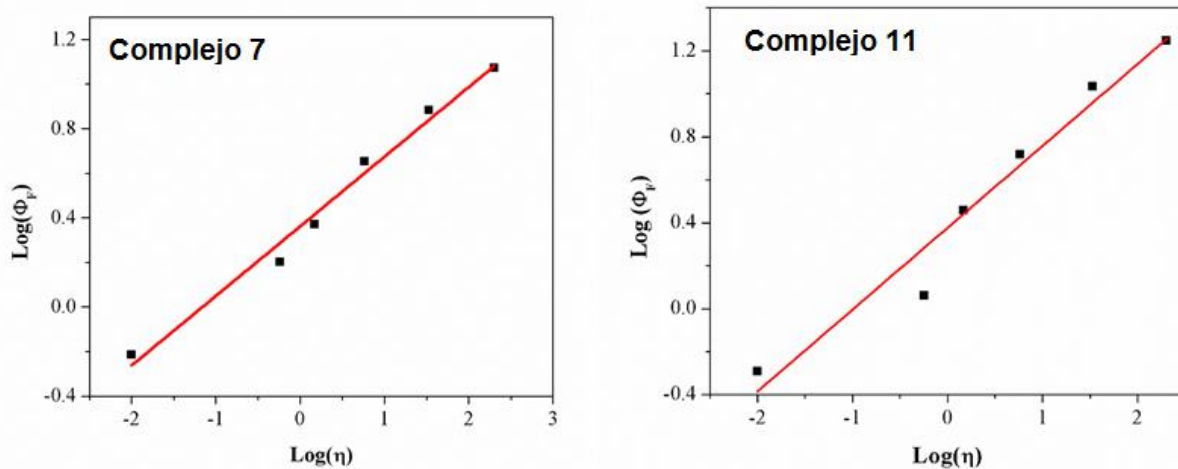


Figura 36. Correlación del rendimiento cuántico luminiscente de los complejos **7** y **11** con la viscosidad del medio.

5.4.3. Efecto de flujo de oxígeno y CO₂

Es importante estudiar la capacidad de sensor oxígeno en células debido a que el déficit y exceso de oxígeno es asociado con problemas de salud o enfermedades.⁶⁵ Recientemente se ha reportado un compuesto de boro con la capacidad de sensor oxígeno a nivel celular.⁶⁶ Debido a esto los compuestos **5**, **6** y **9** en acetonitrilo (0.5mg/50mL) fueron expuestos a un flujo de oxígeno 0.25 kg/cm² durante 2 minutos, observando el compuesto mononuclear **5** y binuclear **9** un incremento en la emisión de fluorescencia, corroborando esto al observar un incremento en el espectro de emisión (Figura 37), mientras el mononuclear **6** mostro disminución en la emisión, debido a que las moléculas de oxígeno tienen electrones no apareados, también tienen un efecto de apagar la luminiscencia al aceptar energía de los fluoróforos de estado excitado.⁶⁷ Sin embargo cuando el organoboro **6** y **9** son colocados en un flujo de CO₂, muestran ligero aumento en el espectro de emisión, Figura 38.

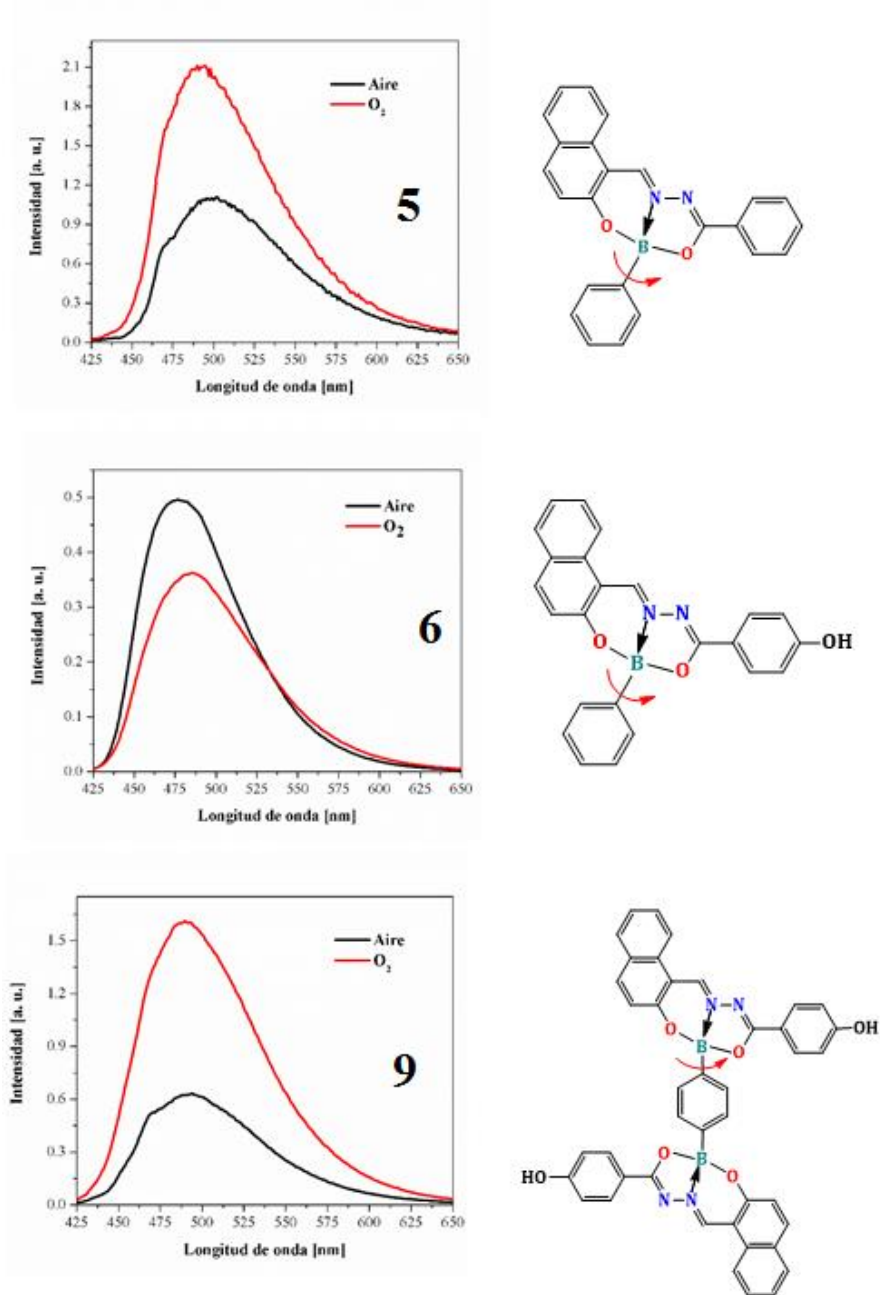


Figura 37. Espectro de emisión de los compuestos **5**, **6** y **9** en acetonitrilo bajo flujo de aire y oxígeno.

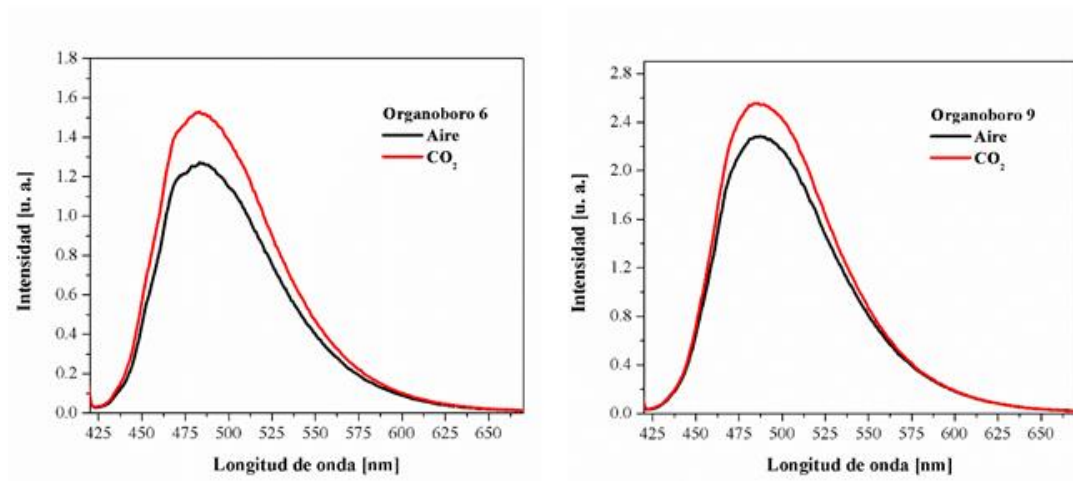


Figura 38. Espectro de emisión de los compuestos **6** y **9** en acetonitrilo bajo flujo de aire y CO₂.

5.4.4. Efecto de pH

Los marcadores fluorescentes están fuertemente influenciados por el pH del microambiente celular. La influencia del valor del pH sobre la absorción celular y la distribución de marcadores fluorescentes a través de la membrana celular es extremadamente importante,⁶⁸ con la finalidad de estudiar este comportamiento en solución, se colocó el compuesto **6** en metanol (0.5 mg/50 mL) mostrando un pH neutro, posteriormente fue ajustado el valor de pH a: 1, 3, 5, 7, 9, 11 y se determinó el espectro de Uv-Vis y emisión.

Al ser colocado a pH 1 se observa la descomposición a ligante ya que el espectro de absorción concuerda con el ligante **2**, al aumentar el pH a 3, 5 y 9 se aprecia la formación del espectro de absorción del complejo, sin embargo cuando está a un pH 11 el espectro de UV es diferente al complejo. Mientras los

espectros de emisión muestran un aumento al ir ajustando alcalinamente el pH de la solución ver Figura 39, esto pudiera ser debido a las interacciones que puede estar teniendo el grupo funcional OH del complejo con los protones o hidroxilos presente en el medio.

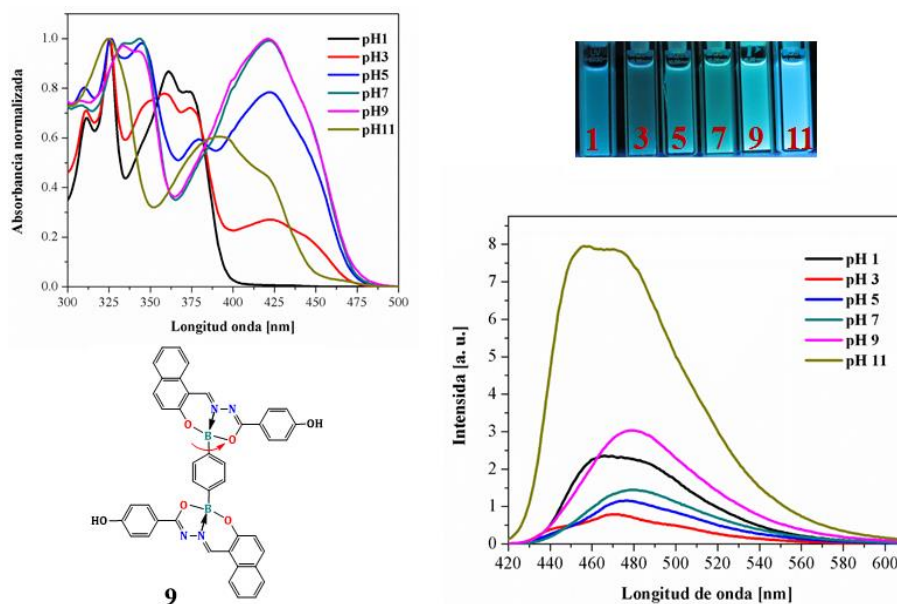


Figura 39. Espectros de Uv-Vis y emisión del compuesto **9** a pH 1-11.

5.4.5. Efecto de acidez y alcalinidad

Otra propiedad interesante a resaltar de los complejos **5** y **6** es el vapocromismo (un cambio de color del material en respuesta al contacto con un vapor orgánico o gas).⁶⁹ Los mononucleares **5** y **6** al ser colocados en vapor ácido (HCl) y alcalino (NH₃) responden al cambiar su color bajo la lámpara de UV-Vis, el compuesto **6** al contacto de vapor ácido presentan una coloración amarilla intensa mientras al vapor alcalino muestra una coloración naranja, esto

se aprecia en la Figura 40. El espectro de emisión muestra una disminución en la intensidad de luminiscencia para el complejo **6** cuando se coloca en contacto con vapor ácido y alcalino siendo el vapor alcalino el que provoca mayor cambio; debido a que puede estar desprotonando el grupo hidroxilo del complejo causando este cambio en la emisión ver Figura 41 y Esquema 10.

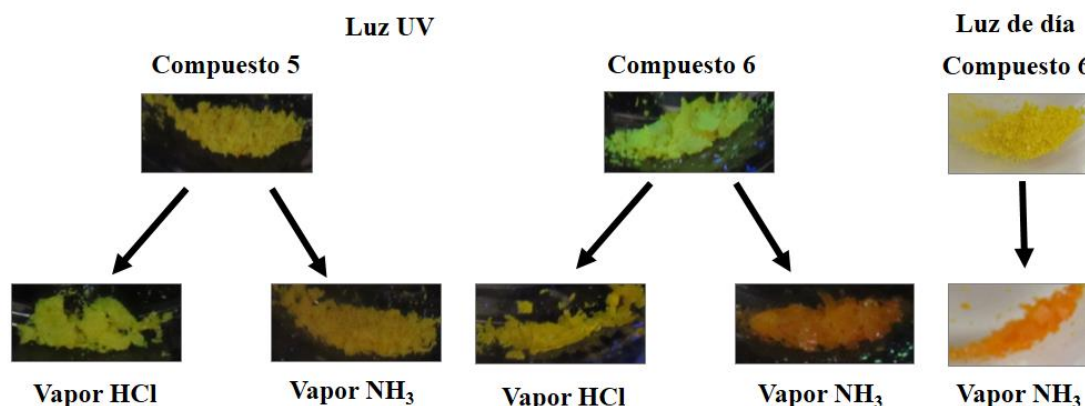


Figura 40. Imagen de fluorescencia de los compuestos **5-6** bajo vapor de HCl y NH₃ a 25 °C.

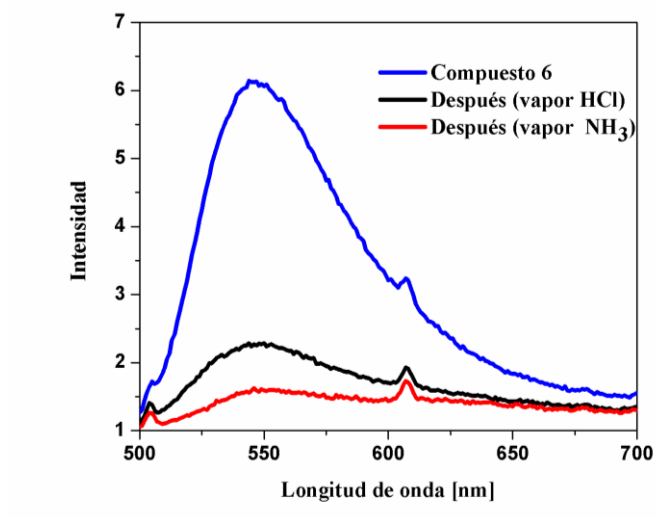
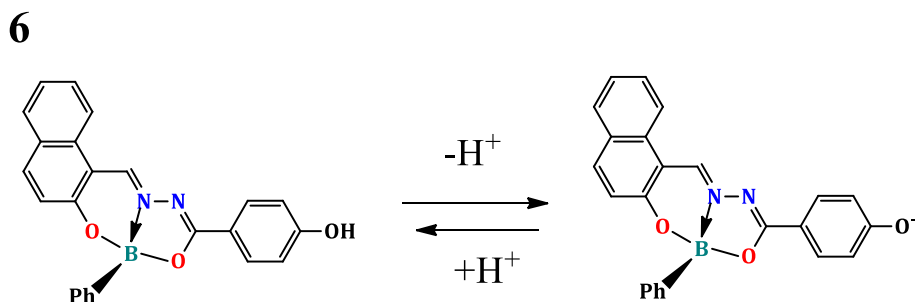


Figura 41. Espectro de emisión del compuesto **6** antes y después de ser sometido a vapor de HCl y NH₃ a 25 °C.



Esquema 10. Protonación del complejo **6** al contacto con vapor ácido.

5.4.6. Termocromismo y Mecanocromismo

Con la finalidad de observar la aplicabilidad de los compuestos como sensores de temperatura en estado sólido,⁷⁰ los organoboro mononucleares se sometieron a calentamiento hasta 130°C y los binucleares hasta 210 °C. Es claro ver la pérdida de luminiscencia de los compuestos **5**, **6**, **10** y **11** cuando se calientan sin embargo se recupera al ser enfriados a 25 °C, comportamiento semejante a lo reportado por Chen y colaboradores, esta propiedad es llamada termocromismo reversible⁷¹ y se muestra en las Figuras 42-43. Mientras los complejos **8** y **9** muestran un cambio de coloración al ser calentados. Otra característica a mencionar es que el compuesto **11** cuando es friccionado, pierde la luminiscencia completamente, propiedad similar a lo reportado por Seki⁷² esto se aprecia en las Figuras 44-45.

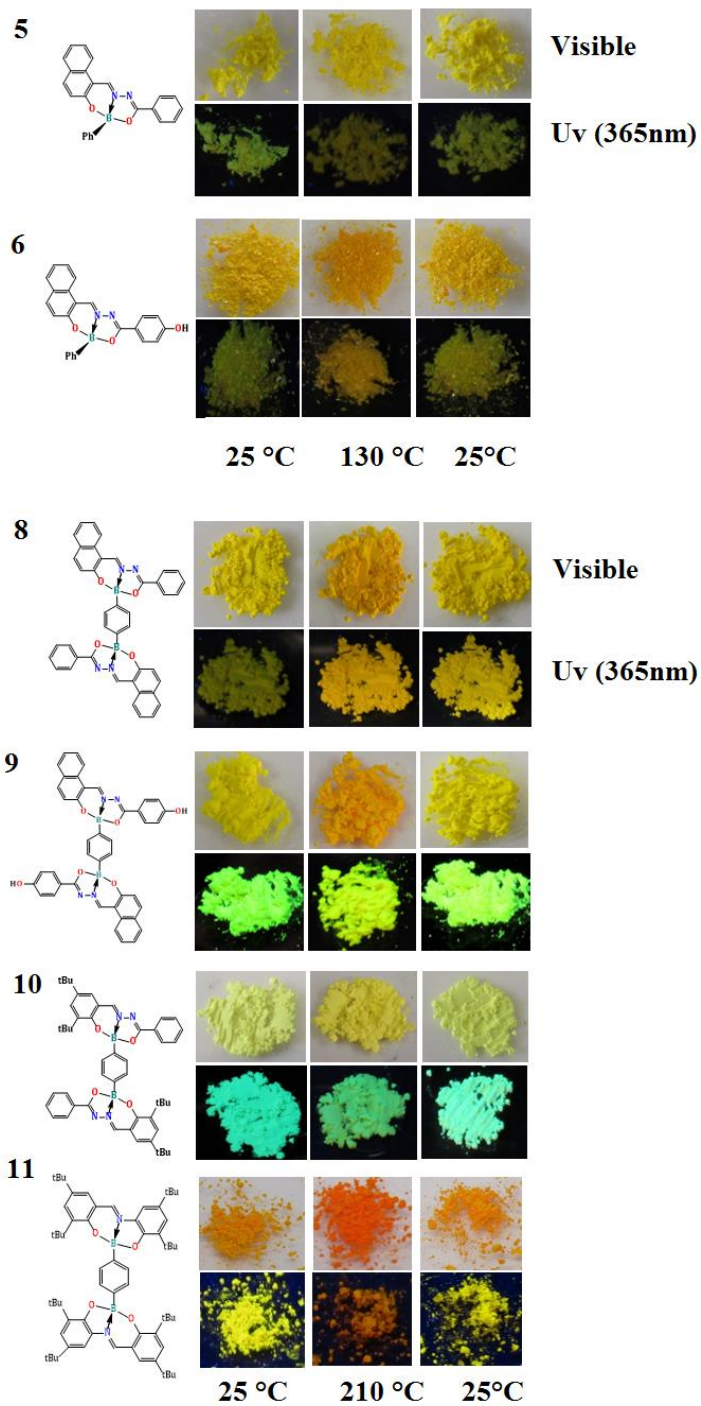


Figura 42. Imagen de fluorescencia de los complejos **5-11**. Bajo luz Uv-Vis a 25 °C, bajo luz Uv-Vis (compuestos **5-6** a 130 °C, compuestos **8-11** a 210°C) y después de enfriar bajo luz Uv-Vis a 25°C.

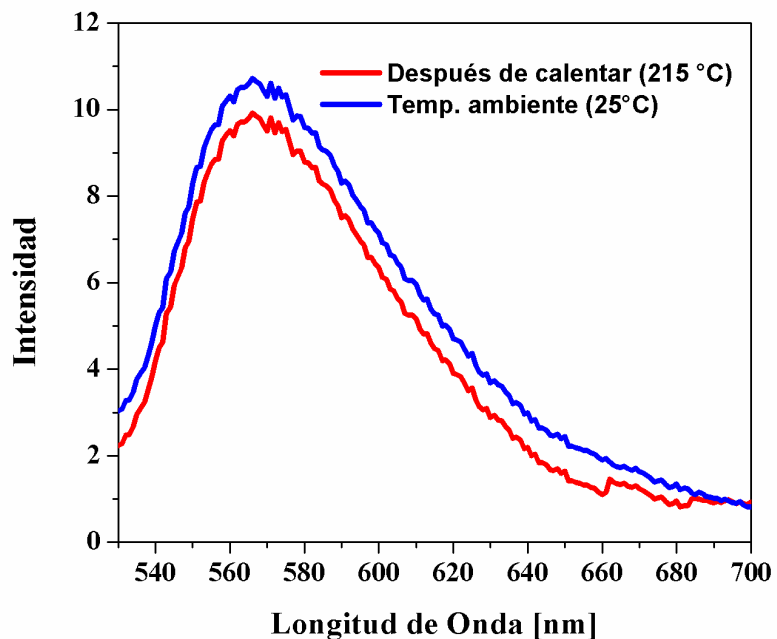


Figura 43. Espectro de fluorescencia del complejos **11** antes y después de calentar a 210°C.

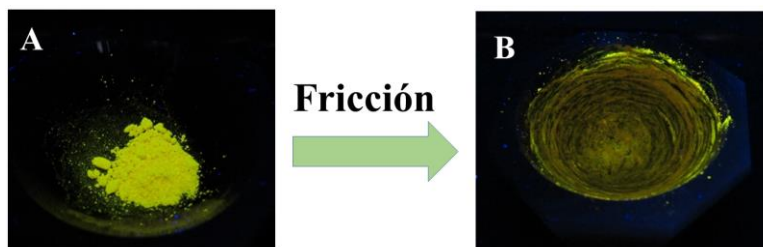


Figura 44. Imagen de fluorescencia del compuesto **11** a 25 °C y después de ser expuesto a fricción.

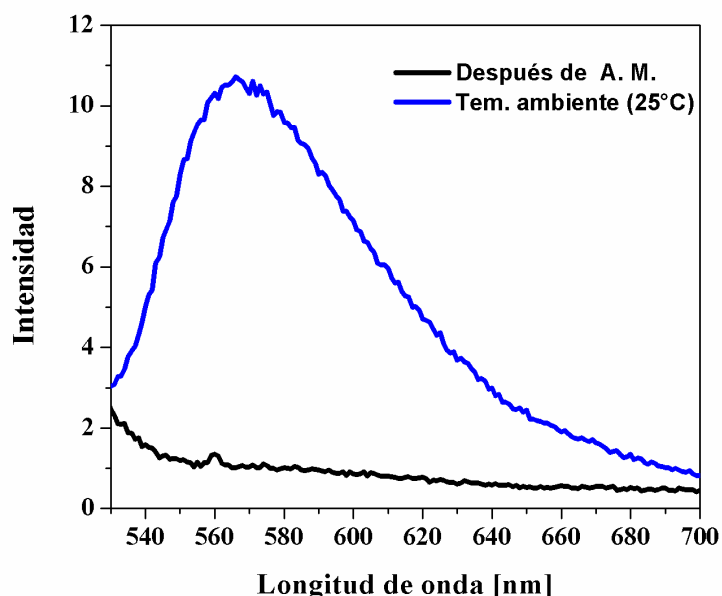


Figura 45. Espectro de fluorescencia del compuesto **11** a 25 °C y después de ser expuesto a fricción.

Otra interesante propiedad mecánica en estado sólido es piezocromismo (estimulación de presión). Los complejos **9** y **10** fueron expuestos a presión de 2, 4 y 8 t (toneladas métricas) observando cambio en la coloración. El complejo **9** cambio de color amarillo a amarillo oscuro y perdiendo la propiedad de luminiscencia esto se comprobó al obtener el espectro de emisión (ver Figuras 47-48). Sin embargo el complejo **10** no pierde la propiedad de luminiscencia al aplicar 8 t esto se aprecia en la Figura 46, esto es debido a que el complejo debe contener una estructura rígida para mantener su estructura molecular durante el proceso de compresión, así como un modo de ordenamiento relativamente suelto para proporcionar suficiente espacio para reordenamientos moleculares.⁷³

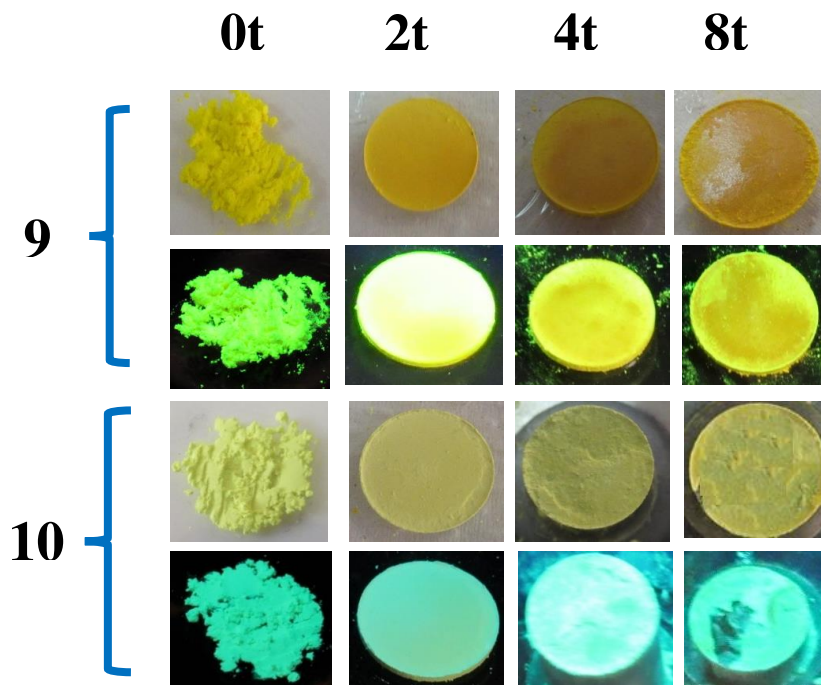


Figura 46. Imagen de luz de día y Uv de los complejos **9** y **10** antes y después de aplicar presión de 2, 4 y 8 t.

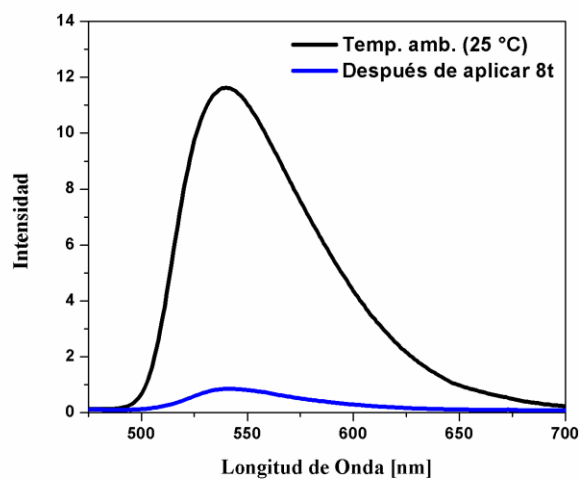


Figura 47. Espectro de fluorescencia del complejo **9** antes y después de aplicar presión de 8 t.

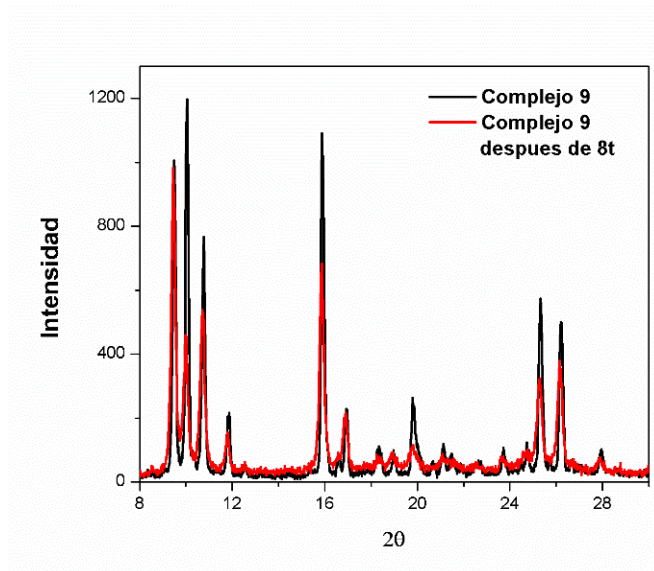


Figura 48. Rayos X en polvos del complejo **9** antes y después de aplicar presión de 8 t.

5.5. Modelado molecular

Los complejos de boro sintetizados en este proyecto presenta bajos rendimientos cuánticos luminiscentes, debido a esto se realizó un estudio de modelado molecular usando la teoría de DFT (B3LYP) en combinación con la base 6-31G(d,p), con la finalidad de corroborar el comportamiento de rotores moleculares. Las estructuras de los complejos **5-11** se optimizaron (Figuras 49, 50) y caracterizaron mediante la obtención de las frecuencias. Posteriormente se calcularon los espectros de absorción y se construyeron los orbitales moleculares involucrados.

Podemos observar las estructuras optimizadas mediante el método (B3LYP/6-31G(d,p)).

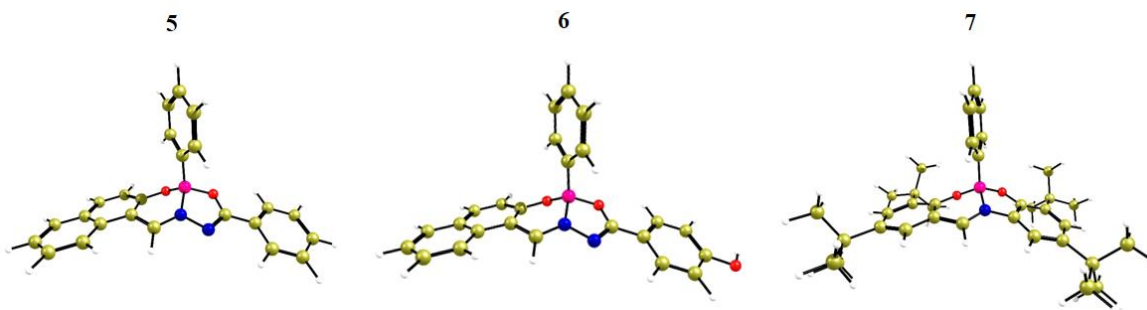


Figura 49. Estructuras optimizadas de los complejos de boro **5-7**.

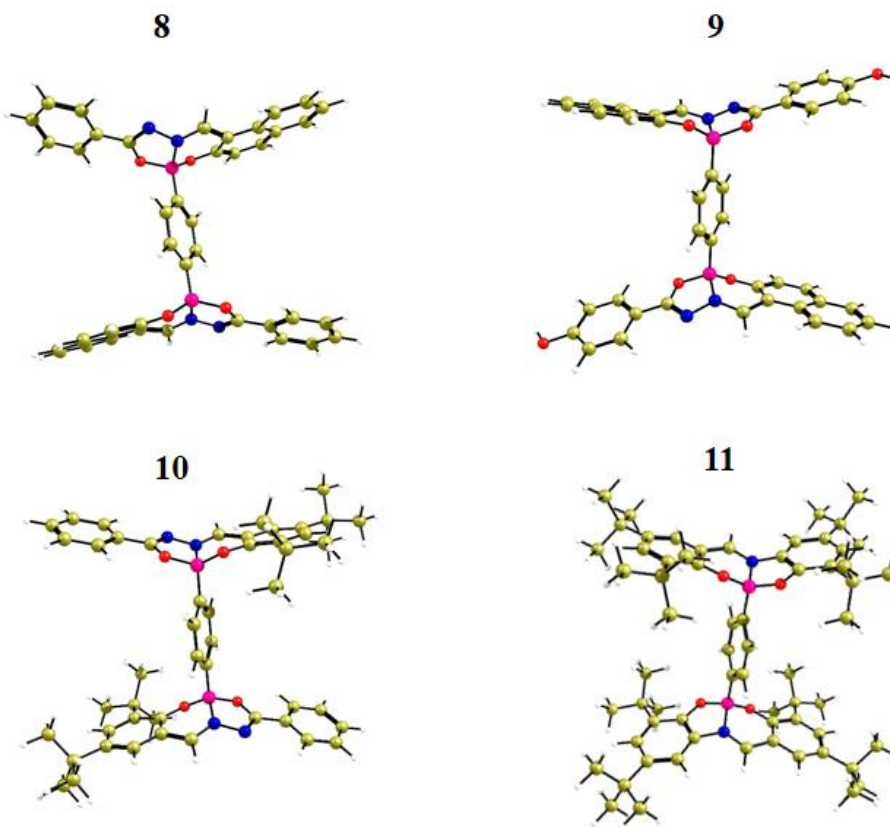


Figura 50. Estructuras optimizadas de los complejos de boro **8-11**.

En las Figuras 51 y 52 se observan los orbitales moleculares de los complejos de boro (**5-11**), en los cuales se muestran deslocalizaciones incompletas, más pronunciadas hacia la estructura del ligante, con lo cual se aprecia que la deslocalización electrónica no es en toda la estructura.

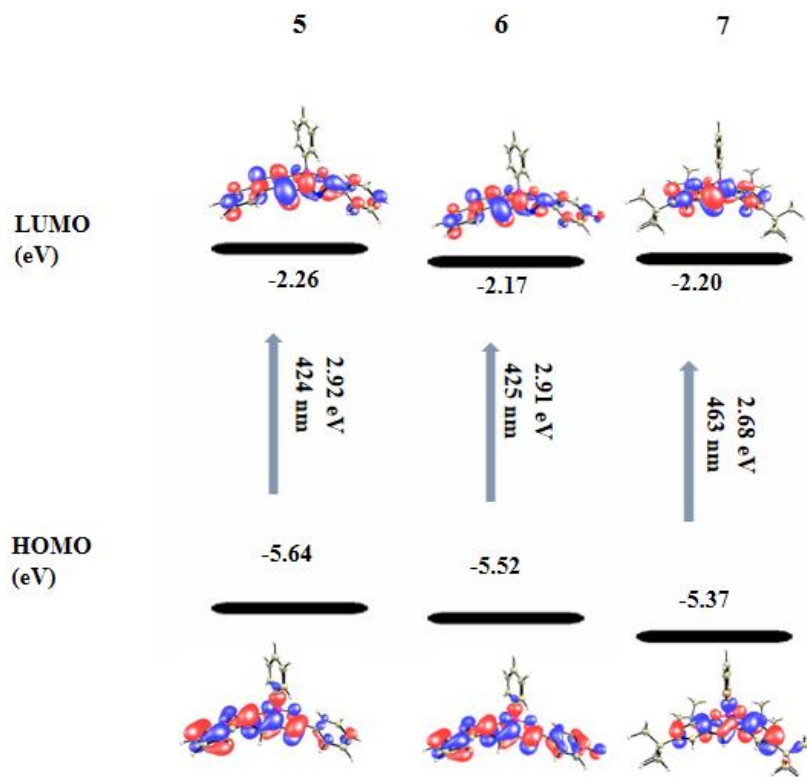


Figura 51. Orbitales moleculares HOMO y LUMO de los complejos de boro **5-7**.

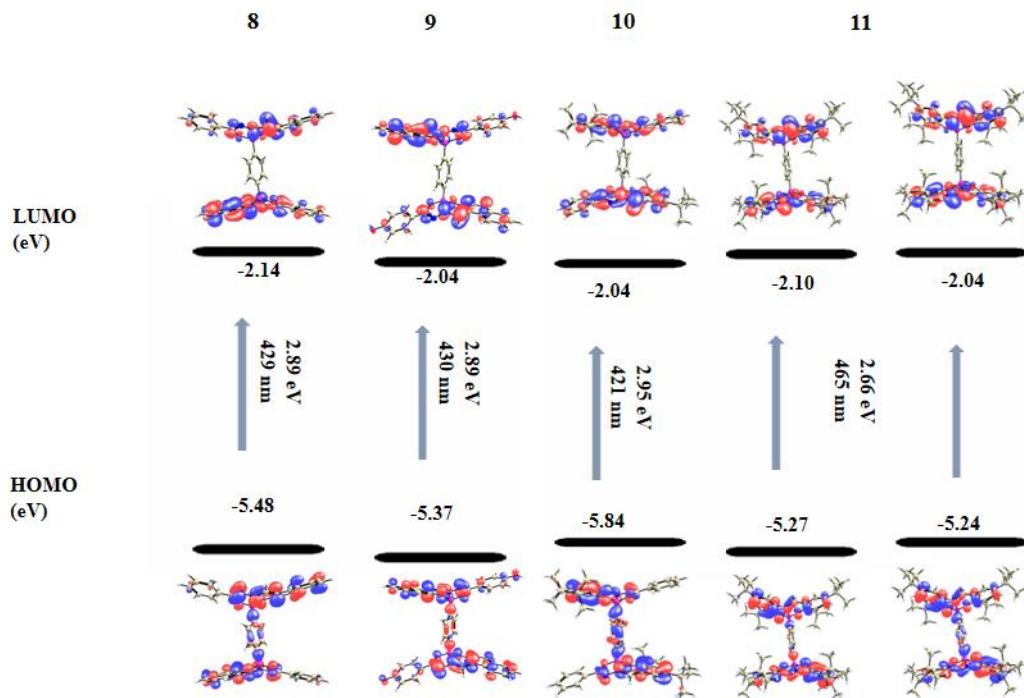


Figura 52. Orbitales moleculares HOMO y LUMO de los complejos de boro **8-11**.

Las longitudes de onda de absorción calculadas para las estructuras más estables correspondientes a los complejos (**5-11**) se muestran en la Tabla 17 y se comparan con los experimentales determinados en cloroformo, valores ligeramente más bajos. La densidad de electrones está más localizada hacia el fragmento de ligando, las estructuras electrónicas y los niveles HOMO, LUMO son similares entre los mononucleares y binucleares, ambos muestran transiciones electrónicas S_0-S_1 , por ejemplo para el binuclear **11** involucran principalmente los orbitales frontera HOMO-1 \rightarrow LUMO y HOMO \rightarrow LUMO +1 que corresponden a las transiciones $\pi-\pi^*$.

Tabla 17. Comparación de longitudes de onda (Absorción) experimental y calculada.

	Absorción calculada [nm]	Absorción experimental [nm]
5	424	426
6	425	423
7	463	460
8	429	425
9	429	425
10	421	425
11	465	461

Para evaluar la propiedad de rotor molecular se utilizaron dos estrategias:
a) se calcularon las energías totales para cada estructura rotando el enlace CPH-B1 cada 30 ° y b) rotando el anillo aromático cada 30° ver ejemplo para estructura **7** y **11**, Figura 53.

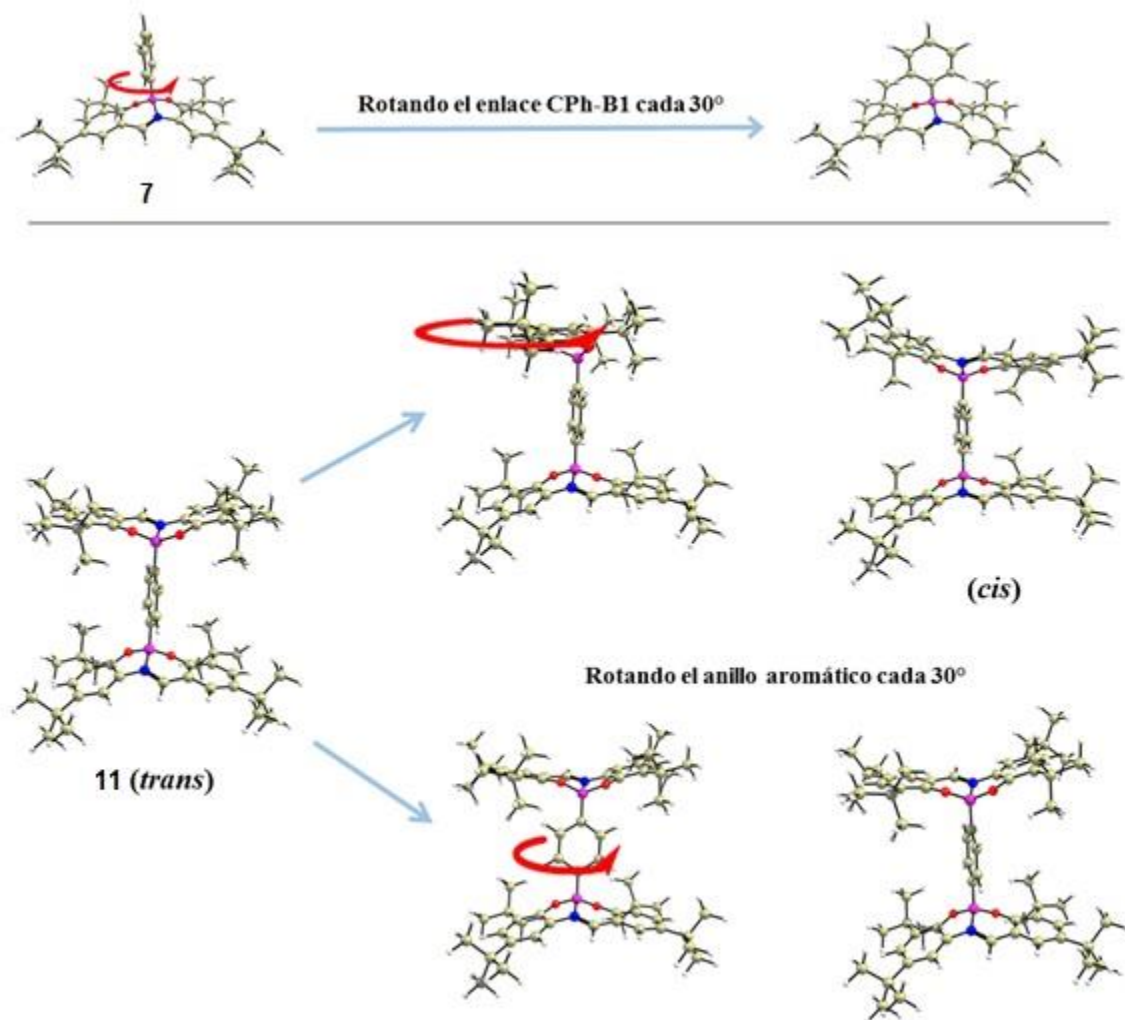


Figura 53. Estructuras de los complejos 7-11, rotándolas cada 30°.

En la siguiente grafica se resume las energías relativas obtenidas de los complejos binucleares, cuando se rotan el enlace CPh-B1 y el anillo aromático (Figura 54), de ello podemos apreciar una mayor barrera energética para el binuclear **11** debido a la presencia de los grupos sustituyentes *ter*-butilo, ya que provocan un efecto estérico. Sin embargo es mayor la barrera energética para ambos binucleares cuando se rota el anillo aromático. Los valores obtenidos nos dan un indicio de que estas estructuras presentan libre giro característica de

rotadores moleculares, comportamiento similar a lo reportado por Zhang y colaboradores.⁷⁴

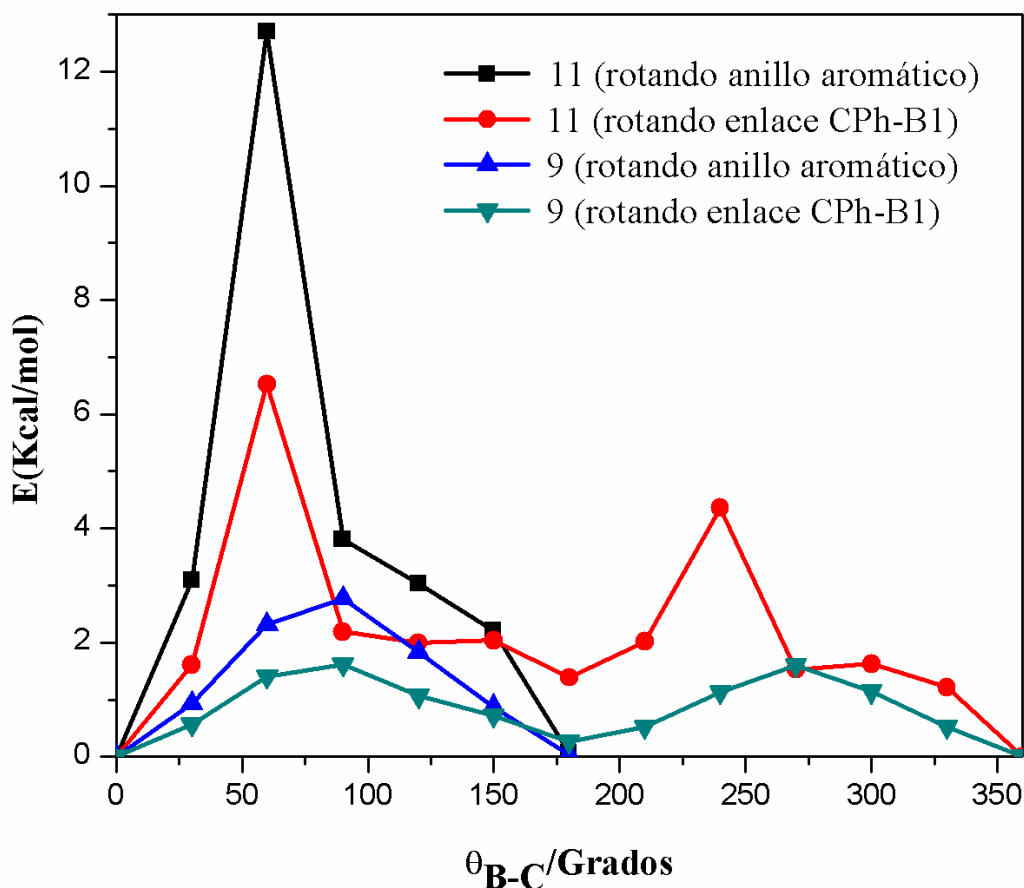


Figura 54. Energía interna rotacional de los complejos de boro **9** y **11**.

Los complejos organoboro presentan bajo rendimiento cuántico luminiscente, una de las causas podrían ser que el átomo de boro no se encuentra dentro del plano del ligante esto fue observado en las estructuras de rayos X obtenidas; por lo cual se construyó la molécula **11** con los átomos de boro dentro del plano de ligante y en la Figura 55 se observan los orbitales moleculares involucrados, donde se muestra una transferencia electrónica más eficiente entre los dos bloques (ligantes) y el anillo aromático, característica

semejante a un compuesto tipo Bodipy, con estructura plana donde presenta una mayor deslocalización electrónica en toda la molécula.⁷⁵

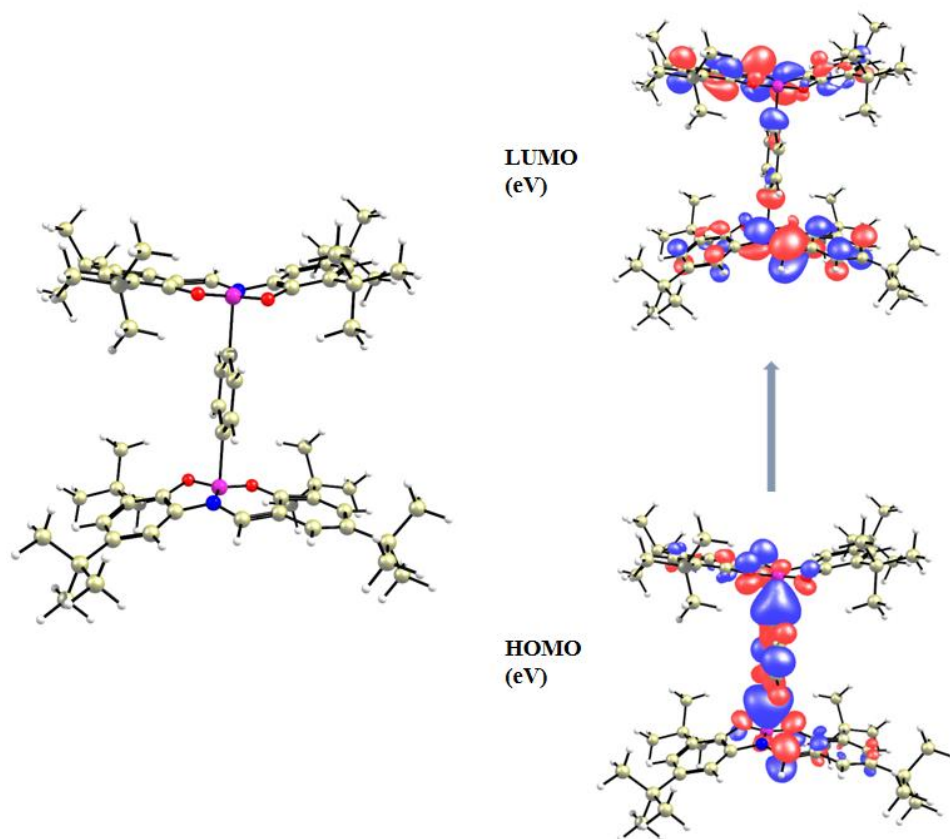


Figura 55. Estructura de complejo de boro **11** con los átomos de boro dentro del plano del ligante.

5.6. Determinación de citotoxicidad de complejos y obtención de bioimágenes.

La citotoxicidad *in vitro* de los complejos **5-11** fue evaluada en la línea celular A-431 (Epidermoid carcinoma) a diferentes concentraciones (20-1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) durante 24 horas. Se utilizó DMSO como disolvente para los complejos, su

citotoxicidad fue analizada. La viabilidad de las células a concentraciones de 1-2µg/mL mostró resultados arriba del 80 % para todos los complejos, cuando se aumenta la concentración a 5-20 µg/mL el complejo **6** muestra una viabilidad superior a 70% y la viabilidad para los complejos restantes supera el 80% (Tabla 18, Figura 56) con estos datos podemos mencionar, que este tipo de complejos muestran baja citotoxicidad semejante a los reportado para complejos de boro.⁷⁶

Tabla 18. Viabilidad de los complejos **5-11** a diferentes concentraciones, en la línea celular A-431.

Compuesto	20 µg/mL		10 µg/mL		5 µg/mL		2 µg/mL		1 µg/mL	
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Media	SD
Control	100.0		100.0		100.0		100.0		100.0	
5	86.2	4.4	89.2	0.0	89.2	30.5	106.2	45.7	95.4	39.2
6	72.3	6.5	73.8	13.1	75.4	2.2	90.8	6.5	84.6	6.5
7	89.2	0.0	84.6	6.5	81.5	10.9	98.5	13.1	93.8	2.2
8	80.0	4.4	93.8	2.2	93.8	10.9	96.9	15.2	106.2	6.5
9	86.2	26.1	84.6	28.3	96.9	28.3	132.3	21.8	100.0	10.9
10	83.1	4.4	84.6	19.6	80.0	0.0	106.2	6.5	83.1	0.0
11	87.7	2.2	93.8	15.2	96.9	2.2	98.5	13.1	110.8	8.7

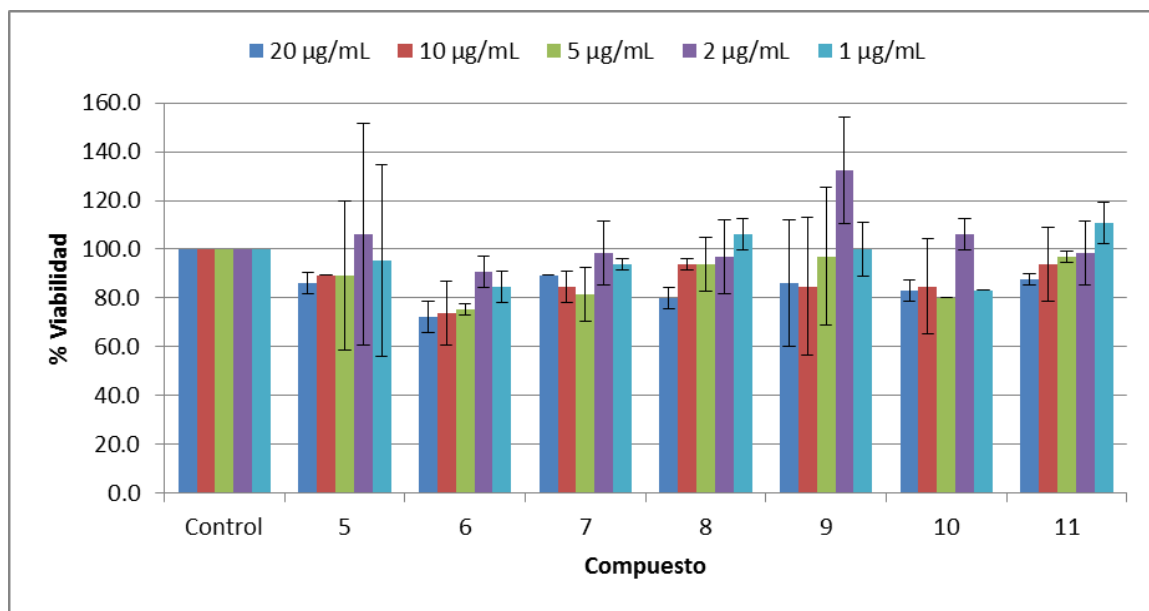


Figura 56. Viabilidad de los complejos **5-11** en la línea celular A-431.

Para determinar la capacidad de los complejos de boro como marcadores celulares; las células A-431 (cáncer de piel-humano), CaCo (cáncer de colon-humano) y B16F10 (cáncer de piel-roedor) fueron tratadas con 10 µg/mL de cada compuesto durante 2 horas, posteriormente se analizaron mediante un microscopio Confocal. Los complejos **8** y **10** no se lograron integrar completamente en la solución de las células debido a su baja solubilidad en disolventes polares. Las células A-431 y CaCo tratadas con el complejo **5** (Figura 57-A y C) mostraron una tinción fuerte, apreciándose el citoplasma y el núcleo de las células, sin embargo los compuestos **6**, **7** y **11** presentaron baja tinción observando las imágenes B, D E y F.

Las células B16F10 tratadas con los compuestos **7** y **11** mostraron baja tinción del citoplasma, encontrando material precipitado del complejo **7** en

algunas de las células, debido a su baja solubilidad en disolventes polares (Figura 58-B).

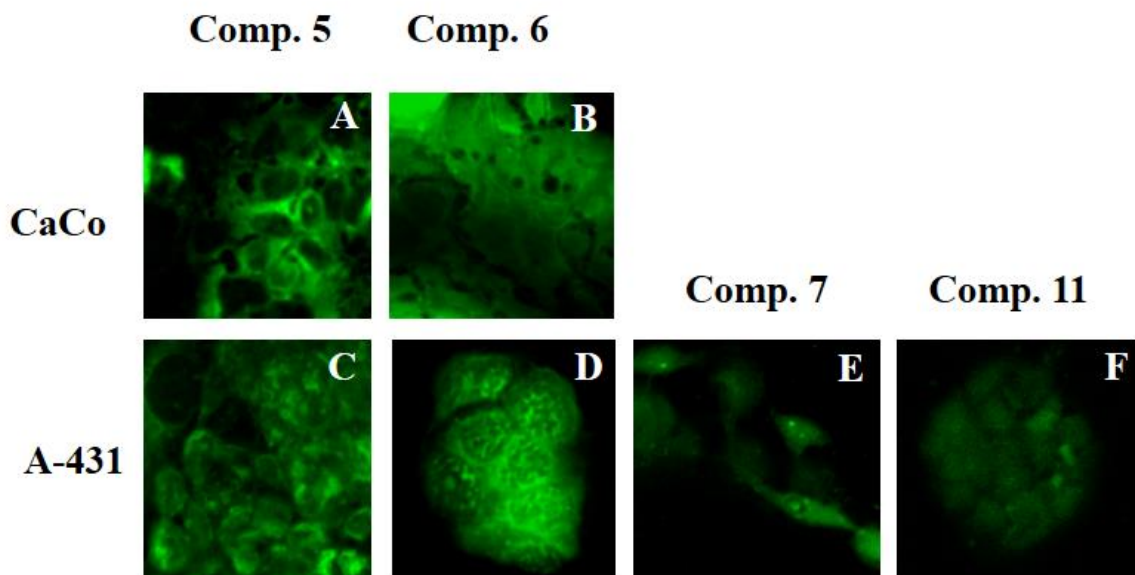


Figura 57. Bioimágenes obtenidas para los complejos 5-7 y 11 en las líneas celulares CaCo y A-431.

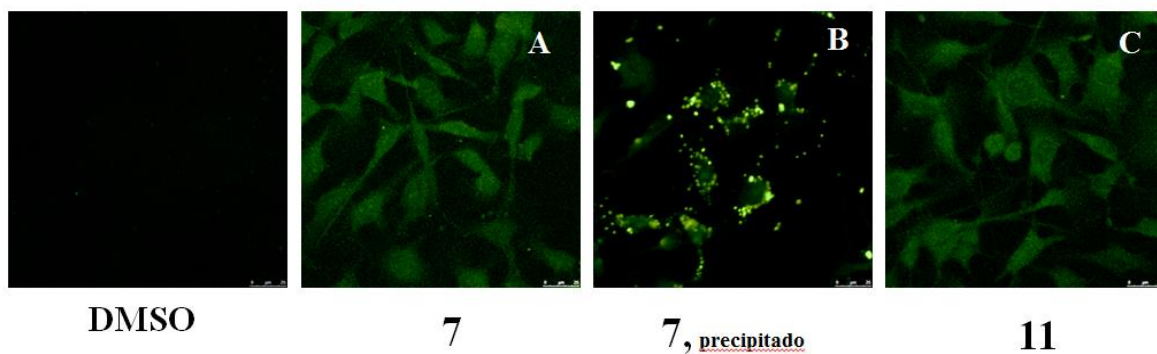


Figura 58. Bioimágenes obtenidas de los complejos 7 y 11 en la línea celular B16F10.

Los complejos **5**, **6** y **9** lograron una mejor tinción en las células B16F10 a la concentración 10 $\mu\text{g/mL}$, (Figura 59 A-C, blanco DMSO). Las imágenes D (Bright light), E y F corresponden al complejo **5**; G-I al complejo **6** y J-L para el binuclear **9**. Estos compuestos fueron excitados a 405 nm, los tres emiten fluorescencia color azul, sin embargo **5** y **6** muestran mayor tinción en el citoplasma. La excitación a 488 nm resulta en fluorescencia color verde, estas bioimágenes muestran rápida penetración a la membrana celular y se distribuye en el citoplasma sin aparente degradación. Sin embargo la fluorescencia es observada en toda la célula, el mononuclear **6** muestra mejor propiedad como marcador celular esto debido a la presencia del grupo sustituyente OH, el cual le confiere mayor solubilidad en disolventes polares para tener una mejor bio-distribución dentro de las células.

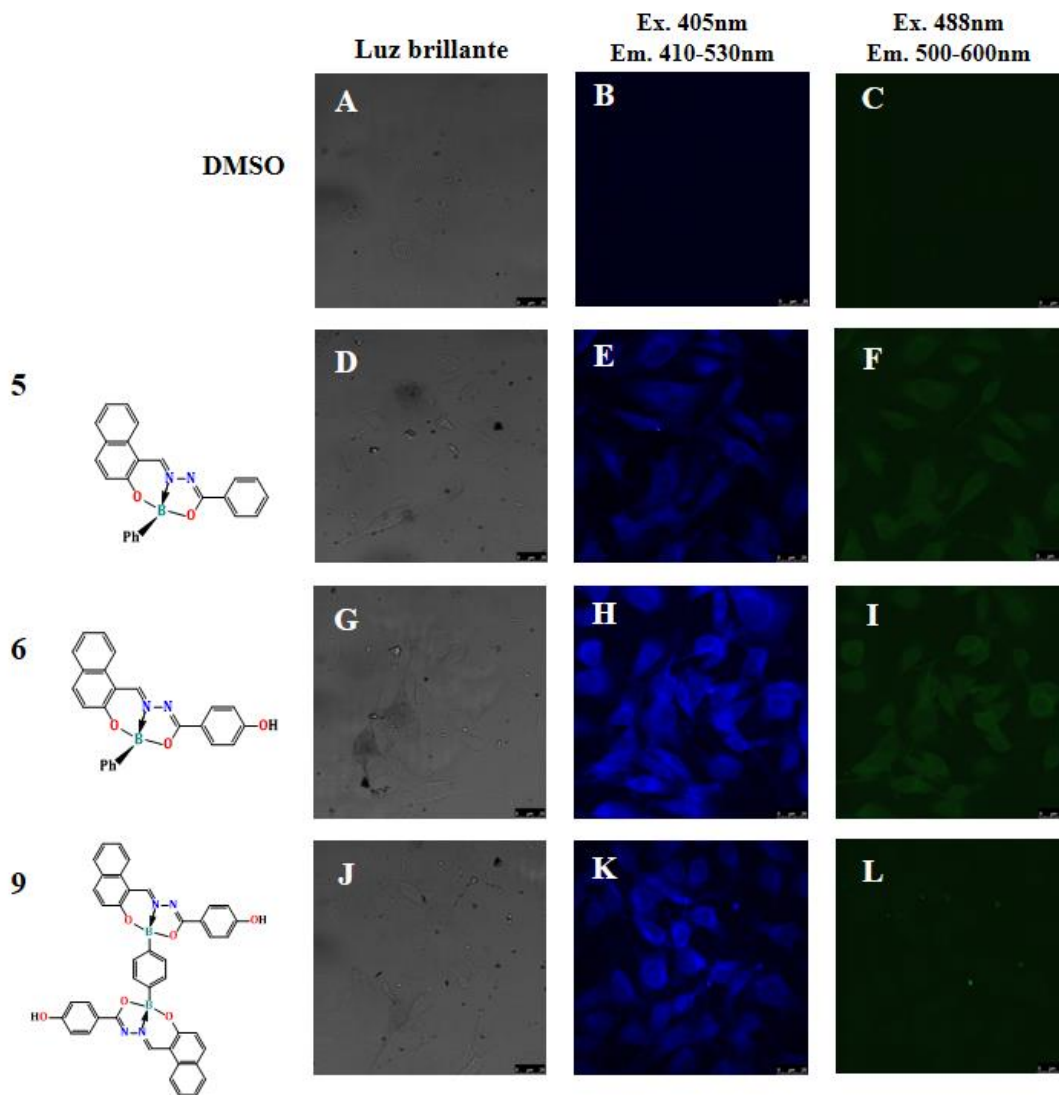


Figura 59. Bioimágenes obtenidas de los complejos **5**, **7** y **9** en la línea celular B16F10 a una concentración de 10 $\mu\text{g/mL}$.

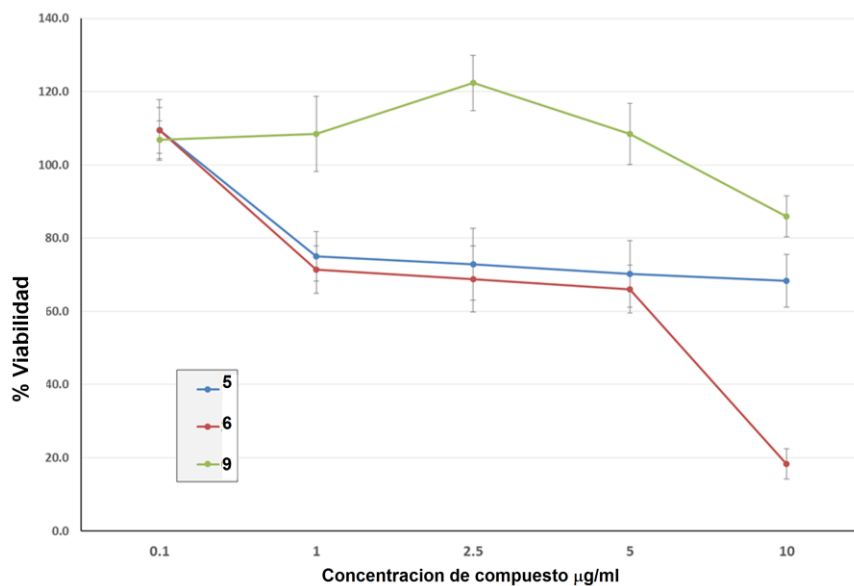


Figura 60. Viabilidad de los complejos **5**, **6** y **9** en la línea celular B16F10 a 48 h.

La viabilidad complejos organoboro **5**, **6** y **9** en células B16F10, mostraron ser inocuos a la concentración (0.1 µg/mL). El complejo **5** fue ligeramente tóxico (no mayor a 30%) a altas concentraciones (Figura 60, línea azul), comportamiento similar para el complejo **6**, sin embargo a concentración de (10 µg/mL) resulta ser más tóxico. El complejo **9** resulto ser el menos tóxico observando una toxicidad de 15% cuando fue usado a (10 µg/mL), sin embargo estas pruebas fueron realizadas a 48 horas un esquema extremo, ya que las bioimágenes son obtenidas a 2 horas de incubación.

Estos resultados obtenidos nos muestran que los complejos **5**, **6** y **9** son buenos prospectos para ser aplicados como marcadores celulares, sin embargo dan una pauta para seguir diseño moléculas con mejores propiedades.

5.7. Estudio de fotoestabilidad de los complejos de boro

Para ver aplicabilidad de los complejos en bioimágenes, es deseable que las moléculas demuestren que al ser expuestas a la luz no cambia sus propiedades químicas-ópticas, por lo cual se realizó el estudio de fotoestabilidad a dos longitudes de onda (365 y 312 nm). Los complejos organoboro **5** y **6** mostraron mejores características como marcadores celulares debido a esto, fueron expuestos a una fuente de luz a 365 nm cada 10 minutos durante 40 minutos a temperatura ambiente y fue monitoreado el espectro de absorción; para ambos complejos se aprecia mínima degradación (ver Figura 61, 62), presentando una aceptable fotoestabilidad. Sin embargo cuando estos complejos **5** y **6** son expuestos a 312 nm durante 10 minutos a temperatura ambiente, son degradados observando el espectro de absorción del ligante ver Figura 63, con lo cual pueden ser considerados como compuestos orgánicos no persistentes, ya que pueden ser degradados cuando se exponen a 312 nm ver Figura 62.

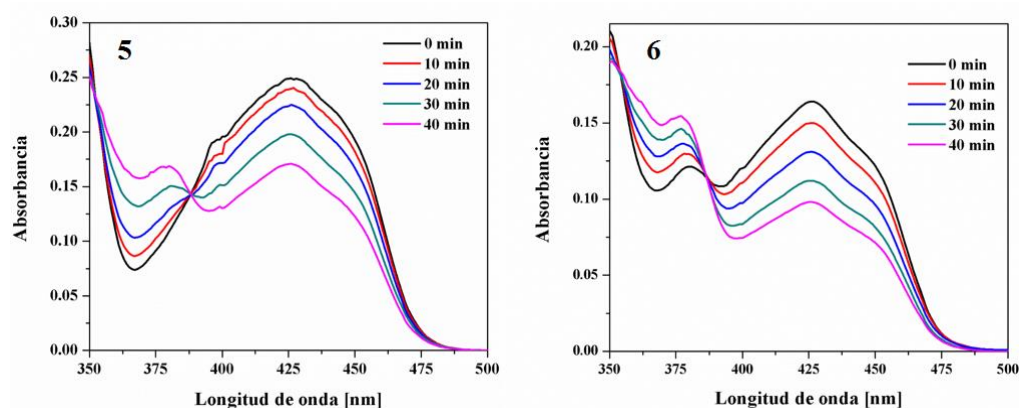


Figura 60. Fotoestabilidad de los complejos **5** y **6** (1mg/50mL) en cloroformo.

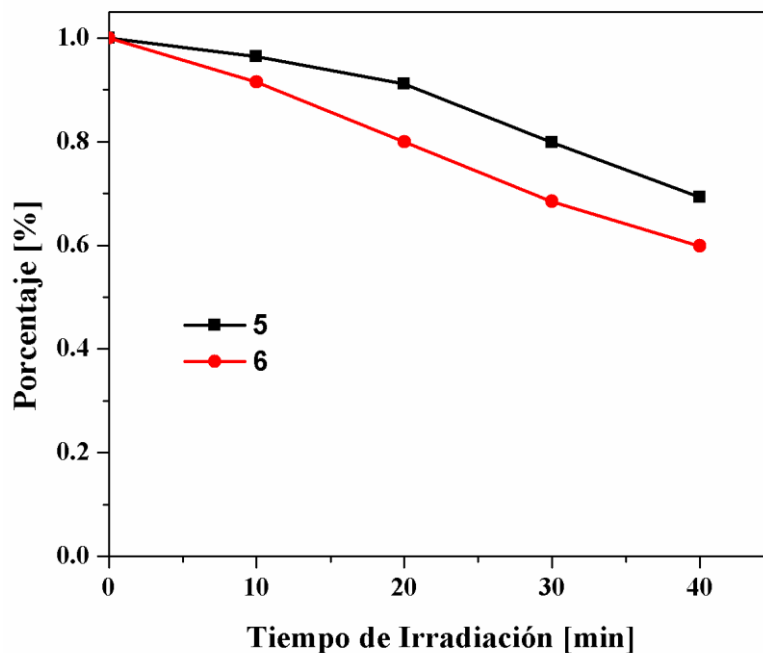


Figura 61. Degradación de los complejos **5** y **6** cuando son irradiados a UV 365 nm.

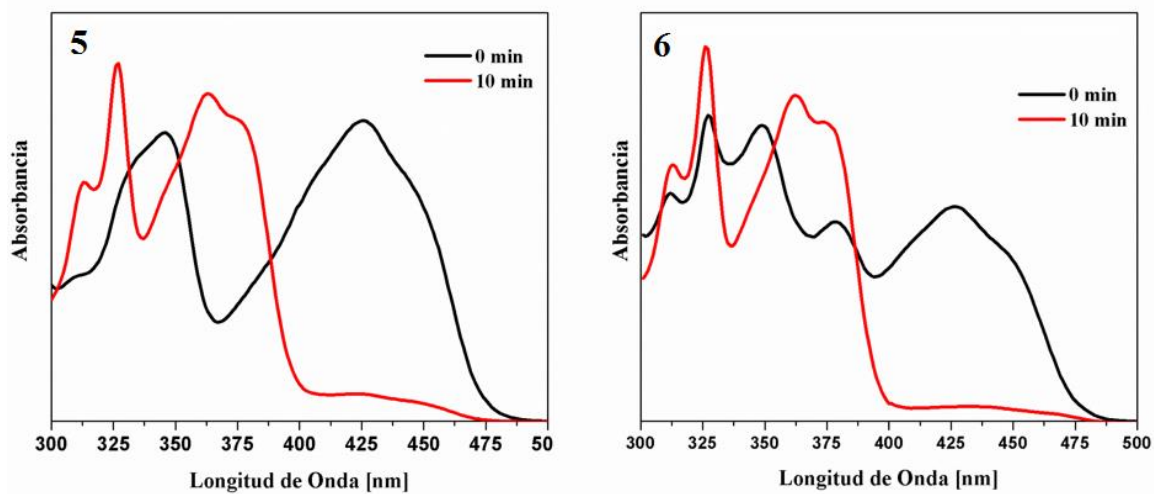


Figura 62. Degradación de los complejos **5** y **6** cuando son irradiados bajo Uv a 312 nm.

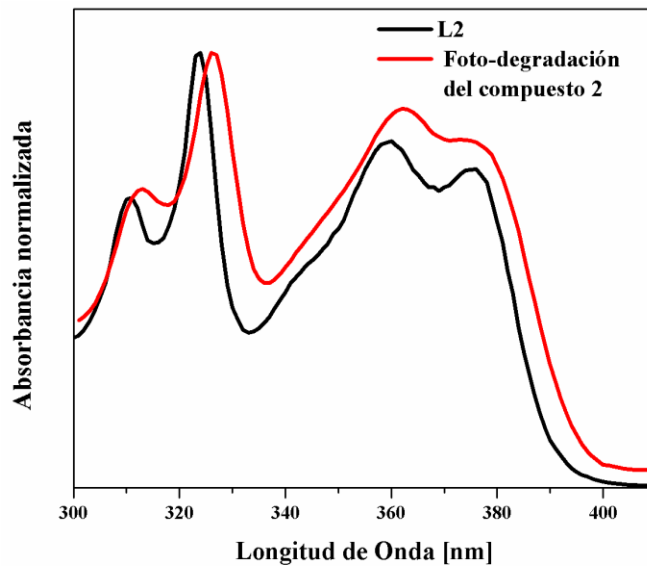


Figura 63. Comparación de la foto-degradación del compuesto **2** cuando es irradiado bajo UV a 312 nm y el espectro del ligante **2**.

6. CONCLUSIONES

Se sintetizaron y caracterizaron mediante métodos espectroscópicos cuatro ligantes bases de Schiff (**1-4**) y siete complejos de boro (**5 - 11**). Los grupos sustituyentes *ter*-butilos en el ligante **4**, permiten mayor solubilidad en disolventes orgánicos, favoreciendo obtener cristales de los organoboro mono (**7**) y binuclear (**11**). Se logró caracterizar los ligantes y complejos por RMN (^1H , ^{13}C , ^{11}B) y masas de alta resolución, obteniendo diferencias bajas de los iones moleculares obtenidos con los calculados, los espectros nos muestran el patrón isotópico de las moléculas, el cual se compara con el calculado y permite confirmar la obtención de ellas.

Por difracción de rayos X se logró elucidar cinco estructuras de rayos X (**5**, **6**, **7**, **11A** y **11B**) de los complejos de boro, las cuales confirman lo propuesto en solución es similar en estado sólido, el compuesto **6** cristaliza con cuatro moléculas de THF- d_8 , las cuales lo estabilizan mediante interacciones intermoleculares. Para el binuclear **11** se logró obtener dos estructuras de rayos X en diferente disolvente: THF y acetona.

Las estructuras de rayos X confirman la obtención de complejos de boro tetracoordinados, los cuales forman dos heterociclos de cinco y seis miembros alrededor del átomo de boro, provocando distorsión en la geometría tetrahedral y que el átomo de boro se encuentre fuera del plano del ligante.

Se determinó el espectro de absorción y emisión de los ligantes y complejos, observando picos máximos de absorción para **1-4** a (340-376 nm)

mientras que los complejos sufren un desplazamiento batocromico debido a las transiciones electrónicas a través de las moléculas, los espectros de emisión de los complejos muestran picos máximos a 411 - 514 nm. Los complejos mostraron bajos rendimientos cuánticos luminiscentes, debido al comportamiento de rotores moleculares. Corroborando esta propiedad mediante modelado molecular.

Los complejos mostraron respuesta en la propiedad de fluorescencia a multi-estímulos en solución: viscosidad del medio, pH del medio, flujo de oxígeno; en estado sólido: vapor (ácido y alcalino), presión y temperatura, lo cual los hace interesantes para posterior estudios como sensores en estado sólido y solución.

Un aspecto importante a resaltar de estos complejos es su baja citotoxicidad cuando son aplicados en la línea celular (A-431) además de que los complejos **5**, **6** y **9** mostraron buenas propiedades como marcadores celulares a pesar de tener bajos rendimientos cuánticos luminiscentes, ya que logran teñir células B16F10. Otra propiedad a mencionar de los organoboro **5** y **6**, presentaron hasta 60% de estabilidad después de ser expuesto a 365 nm durante 40 minutos, siendo fotoestables para la aplicación de marcadores celulares.

7. SECCIÓN EXPERIMENTAL DETALLADA

Los reactivos para los compuestos de boro son comerciales y fueron usados sin ninguna purificación. Los puntos de fusión se determinaron en un Mel-Temp. Los espectros de RMN se obtuvieron en el espectrofotómetro Bruker advanced DPX 400: ^1H , ^{13}C y ^{11}B ; los espectros IR en Espectrofotómetro FT-IR 1600 Perkin Elmer, para los espectros de masas de alta resolución se utilizó AB Sciex API 2000TM (LC/MSD TOF). Los espectros de UV y emisión fueron obtenidos con el espectrofotómetro Shimadzu 240 IPC UV/VIS y Perkin-Elmer LS-50B, para las mediciones fotofísicas se utilizaron disolventes grado espectrofotométrico (THF).

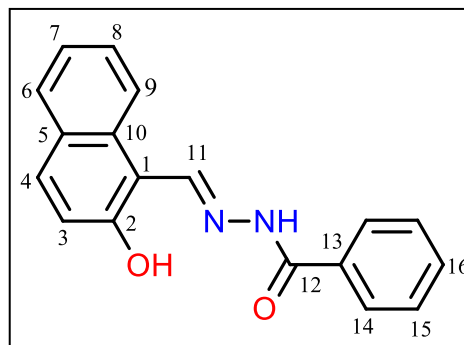
El estudio de rayos-X se realizó en el difractor de rayos-X Bruker SMART APEX CCD área detector system equipped with a Oxford Cryosystems 700 Series Cryostream cooler, a graphite monochromator, y Mo K α fine-focus sealed tube ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$).

7.1. Síntesis de ligantes

7.1.1. (E)-N'-((2-hidroxinaftalen-1-yl)metileno)benzohidrazida (1)

Se coloca (0.82 g, 6 mmol) de benzohidrazina, (1.03 g, 6 mmol) de 2-hidroxinaftaldehído en un matraz bola de 100 mL, acondicionado con trampa de agua y condensador, se adiciona 40 ml de metanol y posteriormente se lleva a reflujo con agitación durante 24 horas, al finalizar se deja enfriar, se filtra el sólido precipitado y lava con metanol.

El sólido obtenido se recristaliza en una mezcla de acetato de etilo, hexano y THF (4/2/4), obteniendo cristales color amarillo-verde (luminiscente en UV). El ligante es soluble en acetato de etilo y THF.



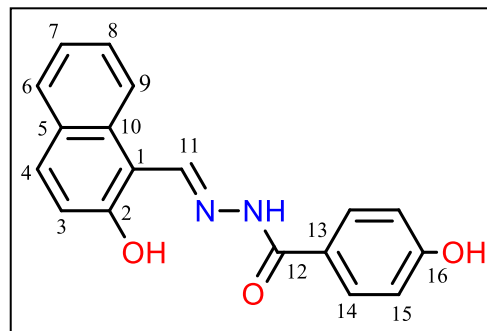
Rendimiento de 1.45 g (84%). P.f. 218-220 °C. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO-*d*₆, 298K) δ = 7.24 (d, 1H, H2), 7.42 (d, 1H, H6), 7.63 [m, 4H, (H8, H15 y H16)], 7.90 (d, 1H, H5), 7.96 (d, 1H, H3), 8.04 (d, 2H, H14), 8.22 (d, 1H, H8), 9.49 (s, 1H, H11), 12.50 (s, 1H, NH), 12.59 (s, 1H, OH). **¹³C RMN** (100 MHz, DMSO-*d*₆, 298K) δ = 108.45 (C10), 118.86 (C2), 120.47 (C8), 123.29 (C6), 127.52 (C14), 127.74 (C7), 128.61 (C15), 128.94 (C5), 130.82 (C4), 131.55 (C16), 132.06 (C9), 132.59 (C13), 146.78 (C11), 157.96 (C1), 162.47 (C12). **EM** (TOF) [M⁺] 291.112804, Encontrado: 291.11295 (error 0.500437 ppm). **IR** ν (cm⁻¹) 3167

(OH), 1640 (C=N). **UV-Vis** (THF): $\lambda_{\text{abs/max}}$: 376 nm. **Fluorescencia** (THF): $\lambda_{\text{Fluo/max}}$: 493 nm.

7.1.2. (E)-4-hidroxi-N'-((2-hidroxi-naftalen-1-yl)metileno)benzohidrazida (2)

El procedimiento es similar al ligante 1. Se coloca (0.91 g, 6 mmol) de 4-hidroxybenzohidrazina, (1.03 g, 6 mmol) de 2-hidroxi-naftaldehido en un matraz bola de 100 mL, acondicionado con trampa de agua y condensador, se adiciona 40 mL de metanol y posteriormente se lleva a reflujo con agitación durante 24 horas, al finalizar se deja enfriar, se filtra el sólido precipitado y lava con metanol.

El sólido obtenido se recristaliza en una mezcla de acetato de etilo, acetona y THF (2/4/4), obteniendo cristales color amarillo (luminiscente en UV). El ligante es soluble en DMSO y THF. Rendimiento de



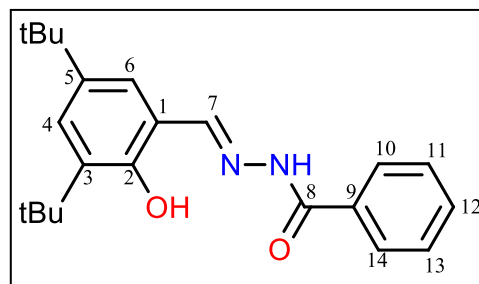
1.70 g (92.7%). P.f. 294-296 °C. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO-*d*₆, 298K) δ = 6.93 (d, 1H, H15), 7.23 (d, 1H, H3), 7.39 (t, 1H, H7), 7.59 (t, 1H, H8), 7.88 (m, 1H, H4), 7.88 (m, 1H, H14), 8.18 (d, 1H, H6), 9.48 (s, 1H, H11), 10.26 (s, 1H, OH), 12.03 (s, 1H, NH), 12.92 (s, 1H, OH). **¹³C RMN** (100 MHz, DMSO-*d*₆, 298K) δ = 109.05 (C1), 115.72 (C3), 119.41 (C9), 120.92 (C7), 123.5 (C14 y C18), 123.96 (C15 y C17), 128.16 (C6), 128.26 (C5), 129.45 (C10), 130.15 (C8), 132.06 (C13), 132.93 (C4), 146.35 (C11), 158.34 (C16), 161.50 (C2), 162.64 (C12). **EM** (TOF) [M⁺] 307.1079, Encontrado: 307.108 (error 0.4332 ppm). **IR** ν (cm⁻¹) 3250 (OH),

1635 (C=N). **UV-Vis** (THF): $\lambda_{\text{abs/max}}$: 375 nm. **Fluorescencia** (THF): $\lambda_{\text{Fluo/max}}$: 492 nm.

7.1.3. (E)-N'-(3,5-di-tert-butil-2-hidroxibenzilideno)benzohidrazida (3)

El procedimiento es similar al ligante 1. se coloca (0.82 g, 6 mmol) de benzohidrazina, (1.04 g, 6 mmol) de 3,5-di-tertbutil-2-hidroxibenzaldehido en un matraz bola de 100 mL, acondicionado con trampa de agua y condensador, se adiciona 40 mL de metanol y posteriormente se lleva a reflujo con agitación durante 24 horas, al finalizar se deja enfriar, se filtra el sólido precipitado y lava con metanol.

El sólido obtenido se recrystaliza en una mezcla de acetato de etilo, hexano (7/3), obteniendo cristales incoloros (no luminiscente en UV). El ligante es soluble en acetona y THF. Rendimiento de 1.56 g

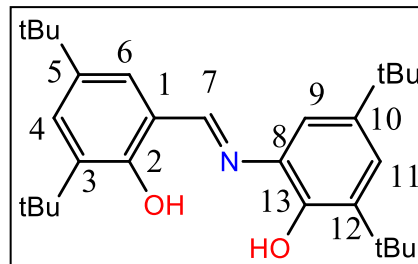


(73.7%). P.f. 276 °C. **¹H RMN** (400 MHz, Acetona-d, 298K) δ = 1.29 (s, 9H, *t* Bu-5), 1.45 (s, 9H, *t* Bu-3), 7.10 (d, 1H, H4), 7.36 (d, 1H, H6), 7.45 (t, 1H, H11), 7.52 (d, 1H, H12), 7.92 (d, 1H, H10), 8.53 (s, 1H, H7), 11.28 (s, 1H, NH), 12.10 (s, 1H, OH). **¹³C RMN** (100 MHz, Acetona-d, 298K) δ = 28.94 (CH₃, *t* Bu-3), 30.87 (CH₃, *t* Bu-5), 33.79 (C_{cuater}, *t* Bu-3), 34.81 (C_{cuater}, *t* Bu-5), 120.20 (C11), 125.33 (C6), 125.66 (C4), 128.20 (C1), 131.40 (C12), 133.60 (C9), 136.22 (C3), 140.20 (C5), 151.07 (C7), 155.64 (C2), 162.56 (C8). **HETCOR** [$\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$]: 1.33/30.75 (CH₃, *t* Bu-5

/ C, *t* Bu-5), 1.48/28.79 (CH₃, *t* Bu-3 / C, *t* Bu-3), 7.40/125.61 (H₆/C₆), 7.12/126.15 (H₄/C₄), 7.54/131.37 (H₁₂/C₁₂), 7.97/127.40 (H₁₀/C₁₀), 8.57/151.01 (H₇/C₇). **COSY** [δ_H/δ_H]: 1.48/1.33 (CH₃, *t* Bu-3 / CH₃, *t* Bu-5), 7.39/7.16 (H₆/H₄), 7.48/7.97 (H₁₁/H₁₀). **EM** (TOF) [M⁺] 353.2223, Encontrado: 353.2225 (error 0.4222 ppm). **IR** ν (cm⁻¹) 3066 (OH), 1586 (C=N). **UV-Vis** (THF): $\lambda_{\text{abs/max}}$: 339 nm. **Fluorescencia** (THF): $\lambda_{\text{Fluo/max}}$: 370 nm.

7.1.4. (E)-2,4-di-tert-butil-6-((3,5-di-tert-butil-2-hidroxibenzilideno)amino) Fenol (4)

Se coloca (0.66 g, 3 mmol) de 3,5-ditertbutil-6-hidroxianilina, (0.70 g, 3 mmol) de 3,5-di-tertbutil-2-hidroxibenzaldehído en un matraz bola de 100 mL, acondicionado con trampa de agua y destilador, se adiciona 40 mL de acetonitrilo y



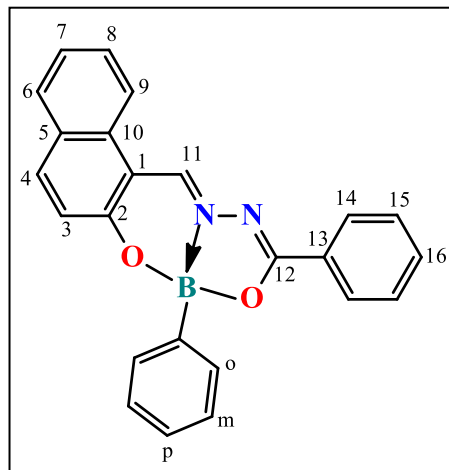
posteriormente se lleva a reflujo con agitación durante 48 horas, al finalizar se deja enfriar, el disolvente se evapora y adiciona hexano, el sólido precipitado se filtra y desecha, el licor de filtrado se concentra y añade acetonitrilo se deja evaporar lentamente, después de 5 días se obtiene cristales amarillos (no luminiscente en UV) los cristales pierden el brillo al paso de los días es posible que cristalice con disolvente. El ligante es soluble en hexano. Rendimiento de 0.72 g (54.9%). P.f. 104 °C. **¹H RMN** (400 MHz, C₆D₆, 298K) δ = 1.29 (s, 9H, *t* Bu-5), 1.31 (s, 9H, *t* Bu-10), 1.60 (s, 9H, *t* Bu-3), 1.63 (s, 9H, *t* Bu-12), 6.83

(d, 1H, H4), 6.98 (d, 1H, H11), 7.43 (d, 1H, H6), 7.60 (d, 1H, H9), 8.13 (s, 1H, H7), 12.92 (s, 1H, OH). **¹³C RMN** (100 MHz, C₆D₆, 298K) δ = 29.84 (CH₃, *t* Bu-3), 29.94 (CH₃, *t* Bu-12), 31.77 (CH₃, *t* Bu-5), 31.93 (CH₃, *t* Bu-10), 113.5 (C4), 122.98 (C6), 127.90 (C11), 128.14 (C9), 165.45 (C7). **HETCOR** [δ_H/δ_C]: 1.29/31.25 (CH₃, *t* Bu-5), 1.59/29.34 (CH₃, *t* Bu-3), 6.89/113.93 (H4/C4), 6.98/127.4 (H11/C11), 7.42/122.46 (H6/C6), 7.60/127.99 (H9/C9), 8.12/165.94 (H7/C7). **COSY** [δ_H/δ_H]: 7.43/6.82 (H6/H4), 7.60/6.98 (H9/H11). **EM** (TOF) [M⁺] 438.3367, Encontrado: 438.3368 (error 0.3639 ppm). **IR** ν (cm⁻¹) 3063 (OH), 1629 (C=N). **UV-Vis** (THF): $\lambda_{abs/max}$: 342 nm. **Fluorescencia** (THF): $\lambda_{Fluo/max}$: 507 nm.

7.2. Síntesis de complejos de boro mononucleares y binucleares

7.2.1. 4,6-difenilnafto[1,2-h][1,3,5,6,2]dioxadiazaboronina (5)

Se coloca (0.29 g, 1 mmol) del ligante (1), (0.122 g, 1 mmol) de ácido fenilborónico en un matraz bola de 100 mL, acondicionado con trampa de agua y destilador, se adiciona 40 mL de acetonitrilo y posteriormente se lleva a reflujo con agitación durante 48 horas, al finalizar se deja enfriar, el disolvente se evapora y adiciona acetato de etilo para evaporación lenta, después de 10 días se obtienen cristales amarillos. El complejo es soluble en cloroformo.



Rendimiento de 0.28 g (73.7%). P.f. 152 °C. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO-*d*₆, 298K) δ = 7.20 (m, 1H, H3), 7.21 (m, 1H, H15), 7.41 (m, 1H, H7), 7.43 (m, 1H, H-*m*), 7.45 (m, 2H, H-*o* y *p*), 7.52 (t, 1H, H14), 7.57 (m, 1H, H8), 7.59 (m, 1H, H16), 7.80 (m, 2H, H4 y 6), 8.03 (d, 1H, H9), 8.85 (s, 1H, H11). **¹³C RMN** (100 MHz, DMSO-*d*₆, 298K) δ = 112.04 (C1), 120.62 (C_p), 121.03 (C4), 124.91 (C7), 127.40 (C5), 127.68 (C15), 128.32 (C3), 128.42 (C10), 128.76 (C14), 128.97 (C8), 129.27 (C6), 131.45 (C_m), 131.53 (C13), 132.98 (C16), 138.33 (C9), 142.71 (C11), 156.79 (C2), 171.85 (C12). **HETCOR** [δ_H/δ_C]: 7.20/7.80 (H3/C3), 7.21/127.68 (H15/C15), 7.41/124.91 (H7/C7), 7.43/131.45 (H-*m*/C-*m*), 7.45/120.64 (H-*p*/C-*p*), 7.52/128.76 (H14/C14), 7.57/128.97 (H8/C8), 7.59/132.98 (H16/C16), 7.8/129.27 (H6/C6), 7.84/121.03 (H4/C4), 8.03/138.33 (H9/C9), 8.85/142.11 (H11/C11). **COSY** [δ_H/δ_H]: 7.20/7.84 (H3/H4), 7.80/7.41 (H6/H7), 7.57/8.03 (H8/H9), 7.52/7.21 (H14/H15), 7.21/7.59 (H15/H16). **¹¹B RMN** (128 MHz, CDCl₃, 298K) δ = 8.06 ppm. **EM** (TOF) [M^+] 377.1467, Encontrado: 377.1462 (error 0.1.2512 ppm). **UV-Vis** (THF): $\lambda_{abs/max}$: 423 nm. **Fluorescencia** (THF): $\lambda_{Fluo/max}$: 490 nm.

7.2.2. 4-(6-Fenilnafto[1,2-*h*][1,3,5,6,2]dioxadiazaboronin-4-yl) fenol (6)

Se coloca (0.343 g, 1.1 mmol) del ligante (2), (0.12 g, 1.3 mmol) de ácido fenilborónico en un matraz bola de 100 mL, acondicionado con trampa de agua y destilador, se adiciona 40 mL de acetonitrilo y posteriormente se lleva a reflujo con agitación durante 48 horas, al finalizar se deja enfriar, el disolvente se

evapora y adiciona 2 ml de THF y se coloca a -10°C , después de 24 horas se obtiene cristales amarillos. El complejo es soluble en cloroformo. Rendimiento de

0.35 g (80.5%). P.f. 170°C . $^1\text{H RMN}$ (400

MHz, $\text{THF-}d_8$, 298K) $\delta = 6.93$ (d, 2H, H8 y

9), 7.10 (t, 1H, H16), 7.35 (m, 3H, H-*o*, *p* y

H15), 7.46 (t, 1H, H-*m*), 7.7 (d, 1H, H14),

7.99 (m, H, H4), 8.11 (d, 2H, H6 y H7),

9.10 (s, 1H, H11), 9.29 (s, 1H, OH). ^{13}C

RMN (100 MHz, $\text{THF-}d_8$, 298K) $\delta = 116.50$

(C8 y C9), 121.29 (C-*p*), 122.37 (C7), 125.37 (C-*o*), 129.78 (C15 y C16), 131.60

(C14), 132.14 (C-*m*), 138.31 (C6), 143.62 (C11), 157.44 (C2), 163.22 (C12).

HETCOR [$\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$]: 6.95/116.54 (H8 y 9/C8 y 9), 7.30/125.38 (H-*o*/C-*o*),

7.37/121.21 (H-*p*/C-*p*), 7.40/132.15 (H15/C15), 7.45/129.38 (H*m*/C*m*),

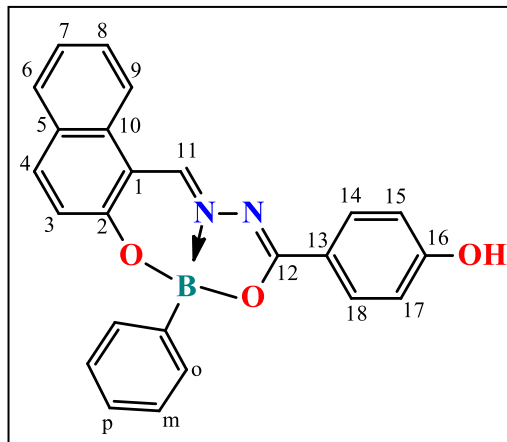
7.72/129.78 (H14/C14), 7.96/138.36 (H4/C4), 7.96/122.31 (H7/C7), 8.16/131.6

(H6/C9), 9.08/143.57 (H11/C11). $^{11}\text{B RMN}$ (128 MHz, $\text{THF-}d_8$, 298K) $\delta = 7.32$

ppm. **EM** (TOF) [M^+] 393.1405, Encontrado: 393.1403 (error 0.5300 ppm). **IR** ν

(cm^{-1}) 2945 (C- $\text{H}_{\text{aromático}}$), 1603 (C=N). **UV-Vis** (THF): $\lambda_{\text{abs/max}}$: 424 nm.

Fluorescencia (THF): $\lambda_{\text{Fluo/max}}$: 477 nm.



7.2.3 2,4,8,10-tetra-*tert*-butil-6-fenildibenzo[d,h][1,3,6,2]dioxazaboronine (7)

Se coloca (0.219 g, 0.5 mmol) del ligante (4), (0.064 g, 0.52 mmol) de ácido fenilborónico en un matraz bola de 100 mL, acondicionado con trampa de agua y destilador, se adiciona 40 mL de acetonitrilo y posteriormente se lleva a reflujo

con agitación durante 48 horas, al finalizar se deja enfriar, el disolvente se concentra y se deja evaporar lentamente, a las

12 horas se obtiene cristales color naranja. El complejo es soluble en THF. Rendimiento de

0.26 g (82.5%). P.f. 258 °C. **¹H RMN** (400 MHz,

THF-*d*₈, 298K) δ = 1.32 (s, 9H, *t* Bu-5), 1.33 (s,

9H, *t* Bu-10), 1.45 (s, 9H, *t* Bu-3), 1.48 (s, 9H, *t*

Bu-12), 6.98 (t, 1H, H-*p*), 7.26 (m, 2H, H-*o* y *m*),

7.32 (d, 1H, H11), 7.58 (d, 1H, H4), 7.51 (d, 1H, H6), 7.64 (d, 1H, H9), 8.78 (s,

1H, H7). **¹³C RMN** (100 MHz, THF-*d*₈, 298K) δ = 29.92 (CH₃, *t* Bu-12), 30.22

(CH₃, *t* Bu-3), 31.86 (CH₃, *t* Bu-10), 32.19 (CH₃, *t* Bu-5), 35.12 (C_{cuater}, *t* Bu-5),

35.58 (C_{cuater}, *t* Bu-10), 35.68 (C_{cuater}, *t* Bu-3), 36.30 (C_{cuater}, *t* Bu-12), 110.93

(C6), 120.66 (C10), 126.08 (C11), 126.81 (C4), 127.78 (C-*p*), 132.34 (C-*o* y *m*),

132.96 (C9), 136.67 (C5), 140.11 (C12), 142.77 (C3), 142.59 (C1), 151.73 (C7),

155.11(C2), 155.82 (C13). **HETCOR** [δ_H/δ_C]: 1.46/30 (CH₃, *t* Bu-3/C-*t* Bu-3),

1.32/31.91 (CH₃, *t* Bu-5/C-*t* Bu-5), 6.96/127.8 (H-*p*/C-*p*), 7.25/132.33 (H-*o* y *m*/C-

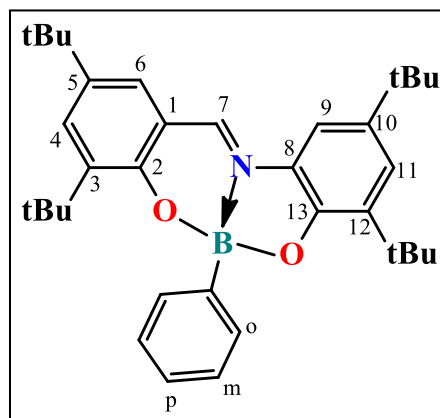
o y *m*), 7.32/126.11 (H11/C11), 7.39/126.81 (H4/C4), 7.52/110.98 (H6/C6),

7.63/132.95 (H9/C9), 8.80/151.66 (H7/C7). **COSY** [δ_H/δ_H]: 7.26/6.97 (H-*o* y *m*/H-

p). **¹¹B RMN** (128 MHz, THF-*d*₈, 298K) δ = 7.88 ppm. **EM** (TOF) [M⁺] 524.3694,

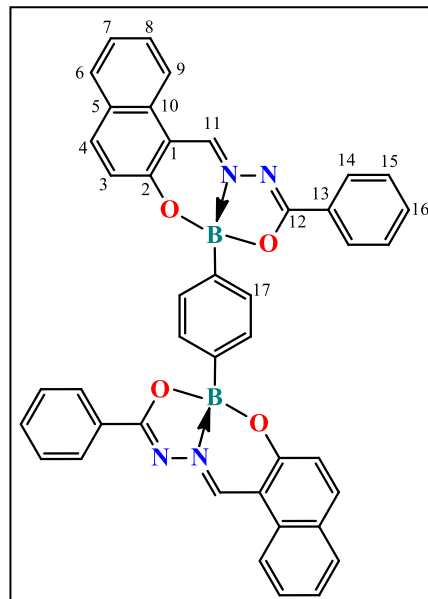
Encontrado: 524.3696 (error 0.2500 ppm). **IR** ν (cm⁻¹) 2957 (C-H_{aromatico}), 1627

(C=N). **UV-Vis** (THF): $\lambda_{abs/max}$: 455 nm. **Fluorescencia** (THF): $\lambda_{Fluo/max}$: 514 nm.



7.2.4. 1,4-bis(4-fenilnafto[1,2-h][1,3,5,6,2]dioxadiazaboronin-6-yl) benceno (8)

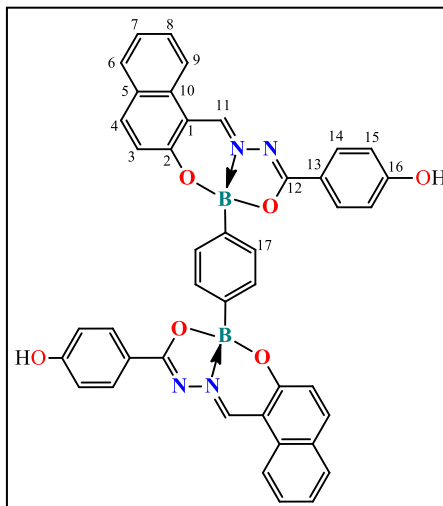
Se coloca (0.29 g, 1 mmol) del ligante (1), (0.083 g, 0.5 mmol) de ácido benceno 1,4-diboronico en un matraz bola de 100 mL, acondicionado con trampa de agua y destilador, se adiciona 40 mL de acetonitrilo, 1 mL de ácido acético como catalizador y posteriormente se lleva a reflujo con agitación durante 48 horas, al finalizar se deja enfriar, el sólido amarillo precipitado es filtrado y lavado con hexano. El



complejo es DMSO y parcial en THF. Rendimiento de 0.28 g (81.6%). P.f. 358 °C. **¹H RMN** (400 MHz, THF-*d*₈, 298K) δ = 6.99 (d, 4H, H17), 7.19 (d, 2H, H3), 7.24 (m, 7H, H7), 7.33, 7.41 (m, 4H, H14 y H16), 7.66 (m, 4H, H4 y H6), 7.91 (m, 4H, H15 y H9), 7.99 (m, 2H, H8), 9.03 (d, 2H, H11). **¹³C RMN** (100 MHz, THF-*d*₈, 298K) δ = 120.81 (C3), 121.98 (C9), 128.70 (C8), 128.86 (C14,C16), 129.19 (C6), 130.59 (C17), 132.83 (C4), 138.03 (C15), 144.32 (C11), 157.27 (C2), 171.58 (C12). **HETCOR** [δ_H/δ_C]: 6.94/130.52 (H17/C17), 7.23/124.68 (H3/C13), 7.17/120.73 (H7/C7), 7.33/128.83 (H16/C16), 7.39/128.74 (H14/C14), 7.41/132.80 (H4/C4), 7.65/129.14 (H6/C6), 7.89/138.01 (H15/C15), 7.92/121.14 (H9/C9), 8.00/128.68 (H8/C8), 9.03/144.30 (H11/C11). **EM** (TOF) [M⁺] 675.2369, Encontrado: 675.2368 (error 0.1646 ppm). **IR** ν (cm⁻¹) 2957 (C-H_{aromatico}), 1558 (C=N). **UV-Vis** (THF): $\lambda_{abs/max}$: 423 nm. **Fluorescencia** (THF): $\lambda_{Fluo/max}$: 488 nm.

7.2.5. 1,4-bis(4-fenilnafto[1,2-h][1,3,5,6,2]dioxadiazaboronin-6-yl) benceno (9)

Se coloca (0.306 g, 1 mmol) del ligante (2), (0.083 g, 0.5 mmol) de ácido benceno 1,4-diboronico en un matraz bola de 100 mL, acondicionado con trampa de agua y condensador, se adiciona 40 mL de acetonitrilo, 0.5 mL de ácido acético y posteriormente se lleva a reflujo con agitación durante 48 horas, al finalizar se deja enfriar, el

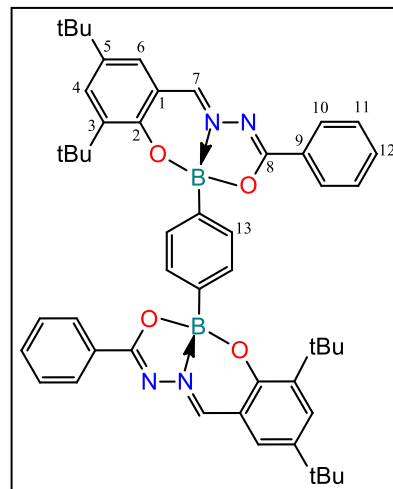


sólido amarillo precipitado es filtrado y lavado con hexano. El complejo es soluble en DMSO y parcial en THF. Rendimiento de 0.26 g (72.18%). P.f. 284 - 286 °C. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO-*d*₆, 298K) δ = 6.95 (d, 4H, H17), 7.06 (s, 2H, OH), 7.37 (d, 2H, H3), 7.50 (t, 2H, H7), 7.62 (t, 2H, H14), 7.94 [m, 4H, (H6 y H4)], 8.18 [m, 6H, (H8, H9 y H15)], 9.45 (s, 2H, H11). **¹³C RMN** (100 MHz, DMSO-*d*₆, 298K) δ = 143.89 (C11), 156.44 (C16), 162.63 (C2), 171.39 (C12). **EM** (TOF) [M⁺]-OH 675.2368 Encontrado: 675.2368. **UV-Vis** (THF): $\lambda_{\text{abs/max}}$: 423 nm. **Fluorescencia** (THF): $\lambda_{\text{Fluo/max}}$: 475 nm.

7.2.6. 1,4-bis(9,11-di-tert-butil-4-fenilbenzo[h][1,3,5,6,2]dioxadiazaboro nin-2-yl) benceno (10)

Se coloca (0.35 g, 1 mmol) del ligante (3), (0.083 g, 0.5 mmol) de ácido benceno 1,4-diboronico en un matraz bola de 100

mL, acondicionado con trampa de agua y condensador, se adiciona 40 mL de acetonitrilo, 0.5 ml de ácido acético como catalizador, posteriormente se lleva a reflujo con agitación durante 48 horas, al finalizar se deja enfriar, el sólido amarillo-verde precipitado es filtrado y lavado con hexano (luminiscente en UV). El

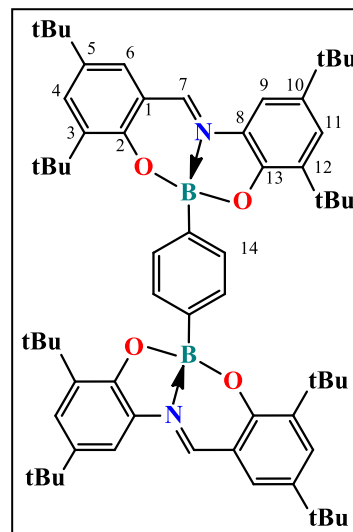


complejo es parcialmente soluble en THF, DMSO y acetona. Rendimiento de 0.28 g (70.73%). P.f. 336-338 °C. **¹H RMN** (400 MHz, THF-*d*₈, 298K) δ = 1.18 (s, 9H, *t* Bu-5), 1.33 (s, 9H, *t* Bu-3), 6.90 (s, 4H, H13), 7.23 (d, 2H, H4), 7.34 (t, 2H, H11), 7.43 (t, 2H, H12), 7.47 (d, 2H, H6), 8.04 (d, 2H, H10), 8.39 (s, 2H, H7). **¹³C RMN** (100 MHz, THF-*d*₈, 298K) δ = 29.16 [(CH₃), *t*-Bu-5], 30.62 [(CH₃), *t*-Bu-3], 33.92 [(C_{cuater}), *t*-Bu-5], 35.13 [(C_{cuater}), *t*-Bu-3], 125.62 (C4), 128.40 (C10), 130.05 (C13), 132.38 (C12), 132.74 (C6), 147.24 (C7), 152.62 (C2), 171.71 (C8). **HETCOR** [δ _H/ δ _C]: 8.38/147.24 (H7/C7), 8.02/128.26 (H10/C10), 7.62/132.67 (H6/C6), 7.41/132.3 (H12/C12), 7.33/128.27 (H11/C11), 7.22/125.60 (H4/C4), 6.89/130.02 (H13/C13), 1.32/29.01 (CH₃ *t*-Bu-3), 1.17/30.49 (CH₃ *t*-Bu-5). **COSY** [δ _H/ δ _H]: 7.40/7.32 (H12/H11), 7.46/7.23 (H6/H4), 8.03/7.33 (H10/H11). **¹¹B RMN** (128 MHz, THF-*d*₈, 298K) δ = 7.69 ppm. **EM** (TOF) [M⁺] 799.4568,

Encontrado: 799.4568 (error 0.0207 ppm). IR ν (cm^{-1}) 3058 ($\text{C-H}_{\text{aromático}}$), 1557 (C=N). UV-Vis (THF): $\lambda_{\text{abs/max}}$: 403 nm. Fluorescencia (THF): $\lambda_{\text{Fluo/max}}$: 411 nm.

7.2.7. 1,4-bis(2,4,8,10-tetra-tert-butildibenzo[d,h][1,3,6,2]dioxazaboronin-6-yl)benzeno (11)

Se coloca (0.44 g, 1 mmol) del ligante (4), (0.083 g, 0.5 mmol) de ácido benceno 1,4-diborónico en un matraz bola de 100 mL, acondicionado con trampa de agua y condensador, se adiciona 40 mL de acetonitrilo, 0.5 mL de ácido acético como catalizador, posteriormente se lleva a reflujo con agitación durante 48 horas, al finalizar se deja



enfriar, el sólido naranja precipitado es filtrado y lavado con hexano (luminiscente en UV). El complejo es soluble en acetona y parcial en THF. Se cristaliza por separado en acetona grado reactivo y una mezcla de THF/acetonitrilo/acetona, obteniendo cristales amarillos-naranja. Rendimiento de 0.38 g (80.31%). P.f. 350-352 °C. $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, $\text{THF-}d_8$, 298K) δ = 1.1 (s, 18H, *t*-Bu-5), 1.20 (s, 18H, *t*-Bu-10), 1.21 (s, 18H, *t*-Bu-3), 1.23 (s, 18H, *t*-Bu-12), 6.98 (d, 4H, H-14), 7.06 (d, 2H, H11), 7.15 (d, 2H, H4), 7.18 (d, 2, H6), 7.46 (d, 2H, H9), 8.13 (d, 2H, H7). $^{13}\text{C RMN}$ (100 MHz, $\text{THF-}d_6$, 298K) δ = 28.17 [(CH₃) *t*-Bu-12], 28.49 [(CH₃) *t*-Bu-3], 30.26 [(CH₃) *t*-Bu-10], 30.56 [(CH₃) *t*-Bu-5], 33.14 [(C_{cuater}) *t*-Bu-5], 33.54 [(C_{cuater}) *t*-Bu-10], 33.71 [(C_{cuater}) *t*-Bu-3], 34.30 [(C_{cuater}) *t*-Bu-12], 108.11 (C4), 124.14 (C11), 124.31 (C6), 129.34 (C14), 131.16 (C9),

147.14 (C7), 15313 (C2), 153.77 (C13), 153.83 (C8). **HETCOR** [δ_H/δ_C]: 6.95/129.33 (H14/C14), 7.07/124.18 (H11/C11), 7.09/107.98 (H4/C4), 7.16/124.27 (H6/C6), 7.47/131.16 (H9/C9), 8.15/147.03 (H7/C7). **COSY** [δ_H/δ_H]: 7.46/7.06 (H9/H11). **EM** (TOF) [M^+] 969.6846, Encontrado: 969.6844 (error 0.3074 ppm). **UV-Vis** (THF): $\lambda_{abs/max}$: 455 nm. **Fluorescencia** (THF): $\lambda_{Fluo/max}$: 512 nm.

7.3. Determinación de absorbancia, emisión y rendimiento cuántico luminiscente

El espectro de absorción UV-Vis fue determinado en un espectrofotómetro 365. Band gap (E_g) fue determinado del espectro de absorción, el espectro de emisión se obtuvo en el fluorómetro al excitar 10nm abajo de la longitud de onda de absorción. El rendimiento cuántico luminiscente en solución fue determinado de acuerdo al procedimiento reportado en literatura⁷⁷ y usando sulfato de quinina en H_2SO_4 0.1 M como estándar. Tres soluciones a una absorbancia menor a 0.1 de absorbancia fueron analizadas y para cada muestra determinado el rendimiento cuántico y obtenido un promedio de los tres resultados. La viscosidad de la mezcla de disolventes (metanol/glicerol) fue determinada en un viscosímetro ViscoLab 3000.

7.4. Estudio de citotoxicidad en células y bioimágenes.

La línea celular A431 fue usada para observar el efecto de citotoxicidad de los complejos 5-11. Células de A431 fueron mantenidas en (DMEM) con 4 mM L-glutamina y suplementado con 10% de suero fetal de bovino, 100 IU/mL penicilina y 100 g/mL estreptomina, posteriormente se incubaron a 37 °C con 95% de aire y 5% de CO₂ de atmosfera. La citotoxicidad de los compuestos 5-11 fue analizada a 1, 2, 5, 10 and 20 µg/mL, durante 24 horas por triplicado. Las células que sobrevivieron fueron determinadas por el método MTS [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium] y cuantificadas al medir la absorbancia a 590 nm para determinar la viabilidad mediante una microscopio al observar los cambios morfológicos de las células.

Células de melanoma murino B16F10, fueron selladas en pocillos de 12 cavidades con polilisina a una densidad de 1x10⁵ células por pocillo con 1 mL de medio DMEM/F12 como suplemento con 10% de suero fetal de bovino y mantenido a 37 °C con una atmósfera de 5% CO₂ y 95% aire. Después de 24 horas fue removido el medio y las células expuestas a los complejos a concentración de 10 µg/ mL (6.5 ppm) durante dos horas. Un pocillo con células se trataron con DMSO para ser usadas como control. El supernadante de los pocillos fueron removidos y lavados con 1 mL de PBS, posteriormente las

células se fijaron con Vectashield y se llevaron a observar usando un microscopio confocal laser.

7.5. Detalles computacionales

Los cálculos para modelado molecular fueron realizados usando el software GAUSSIAN 09.⁷⁸ La geometría de las estructuras **5-11** se optimizaron con el método B3LYP /6-31G(d,p).⁷⁹ Los mínimos fueron caracterizados al calcular los modos vibracionales con el mismo nivel de teoría. Para conocer la energía de rotación del grupo fenilo y la parte del ligante en las estructuras de los complejos, los enlaces involucrados fueron rotados 30 ° a 180 °, o 360 °, dependiendo del caso. Los resultados se visualizaron usando el programa Chemcraft v1.7.

8. REFERENCIAS

- ¹ a) Z. Sun, Ng. KH, N. Ramli, Biomedical imaging research: a fast-emerging area for interdisciplinary collaboration, *Biomed Imaging Interv J.* **2011**, 7, 3, 1-4.
b) G. Lucignani, L. Ottobriani, C. Martelli, Molecular imaging of cell-mediated cancer immunotherapy, *Trends Biotechnol.* **2006**, 24, 9, 410–418. c) RL. Ehman, WR. Hendee, MJ. Welch, Blueprint for imaging in biomedical research, *Radiology.* **2007**, 244, 12-27.
- ² J. B. Pawlet (Ed.), Handbook of Biological Confocal Microscopy, Springer, New York, **2006**.
- ³ Y. L. Rao, S. Wang, Four-coordinate organoboron compounds with a π -conjugated chelate ligand for optoelectronic applications, *Inorg. Chem.* **2011**, 50, 12263-12274.
- ⁴ a) T. Takuya, N. Tetsuo, Small-molecule fluorophores and fluorescent probes for bioimaging, *Pflugers Arch - Eur J Physiol.* **2013**, 465, 347–359. b) T. Takuya, N. Tetsuo, Fluorescent probes for bioimaging applications, *Curr. Opin in Chem. Biol.* **2008**, 12, 515–521. c) Y. Yang, Q. Zhao, W. Feng, L. Fuyou, Luminescent Chemodosimeters for Bioimaging, *Chem. Rev.* **2013**, 113, 192–270. d) D. Frath, J. Massue, G. Ulrich, R. Ziessel, Luminescent Materials: Locking p-Conjugated and Heterocyclic Ligands with Boron(III), *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 2290 – 2310.
- ⁵ S. Bakirdere, S. Orenay, M. Korkmaz, Effect of Boron on Human Health, *Open Miner. Process, J.*, **2010**, 3, 54-59.

⁶ Y. Bernhard, P. Winckler, R. Chassagnon, P. Richard, E. Gigot, J. Perrier-Cornet, R. A. Decreau, Subphthalocyanines: addressing water-solubility, nano-encapsulation, and activation for optical imaging of B16 melanoma cells, *Chem. Commun.* **2014**, 50, 13975-13978.

⁷ a) E. Hadjoudis, Photochromic and thermochromic anils, *Mol. Engng.* **1995**, 5, 301-337. b) T. Dziembowska, Resonance assisted intramolecular hydrogen bond in Schiff bases, *Polish. J. Chem.* **1998**, 72, 193-209.

⁸ S. Koizumi, M. Nihei, M. Nakano and H. Oshio, Anti-ferromagnetic Fe^{III}6 Ring and Single-Molecule Magnet Mn^{II}3Mn^{III}4 Wheel, *Inorg. Chem.* **2005**, 44, 1208-1210.

⁹ V. T. Dao, C. Gaspard, M. Mayer, G. H. Werner, S. N. Nguyen and R. J. Michelot, Synthesis and Cytotoxicity of Gossypol Related Compounds, *Eur. J. Med. Chem.*, **2000**, 35, 805-813.

¹⁰ D. Sriram, P. Yogeeswari, N. S. Myneedu, V. Saraswati, Abacavir Prodrugs: Microwave-Assisted Synthesis and Their Evaluation of Anti-HIV Activities, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, 2127-2129.

¹¹ a) A. Jiménez-Sánchez, B. Ortiz, V. Ortiz Navarrete, N. Farfán, R. Santillan, Two fluorescent Schiff base sensors for Zn(2+): the Zn(2+)/Cu(2+) ion interference, *Analyst.* **2015**, 140, 6031-6039. b) E. Vanli, MN. Misir, H. Alp, T. Ak, N. Ozbek, U. Ocak, M. Ocak, Ion Sensor Properties of Fluorescent Schiff Bases Carrying Dipicolylamine Groups. A Simple Spectrofluorimetric Method to Determine Cu (II) in Water Samples, *J Fluoresc.* **2017**, 27, 1759–1766.

¹² a) C. W. Tang, VanSlyke SA, CH. Chen, Electroluminescence of doped organic thin films, *J. Appl. Phys.* **1989**, 65, 3610-3616. b) Z. Guoqing, Lu. Jiwei, L. Cassandra, Mechanochromic Luminescence Quenching: Force-Enhanced Singlet-to-Triplet Intersystem Crossing for Iodide-Substituted Difluoroboron-Dibenzoylmethane-Dodecane in the Solid State, *Inorg. Chem.* **2010**, 49, 10747–10749. c) Z. Guoqing, Lu. Jiwei, S. Michal, L. Cassandra, Polymorphism and Reversible Mechanochromic Luminescence for Solid-State Difluoroboron Avobenzene, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 2160–2162.

¹³ a) S. Wang, Luminescence and electroluminescence of Al(III), B(III), Be(II) and Zn(II) complexes with nitrogen donors, *Coord. Chem. Rev.* **2001**, 215, 79-98. b) S. Anderson, M. S. Weaver, A. J. Hudson, Materials for organic electroluminescence: aluminium vs. boron, *Synth. Met.* **2000**, 111, 459-463. c) Y. Li, W. Bu, J. Guo, Y. Wang, A mixed pyridinephenol boron complex as an organic electroluminescent material. *Chem. Commun.* **2000**, 1551-1552. d) J. Zyss, *Molecular nonlinear optics: materials, physics and devices*. 1st ed. New York: Academic Press; **1994**. e) RW. Boyd. *Nonlinear optics*. 1st ed. San Diego, CA: Academic Press; **1992**. f) G. Beer, J. Daub, K. Rurack, Chiral discrimination with a fluorescent boron dipyrromethene, *Chem. Commun.* **2001**, 12, 1138-1139. g) K. Rurack, M. Kollmannsberger, U. Resch-Genger, A selective and sensitive fluoroionophore for Hg (II), Ag (I), and Cu (II) with virtually decoupled fluorophore and receptor units, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 968-969.

¹⁴ a) H. Chen, Y. Chi, CS. Liu, JK. Yu, YM. Cheng, KS. Chen, Rational color tuning and luminescent properties of functionalized boron containing 2-pyridyl

pyrrolide complexes. *Adv. Funct. Mater.* **2005**, 15, 567-574. b) Y. Cui, Q. Liu, DR. Bai, J. Wen-Li, Y. Tao, S. Wang, Organoboron compounds with an 8-hydroxyquinolato chelate and its derivatives: substituent effects on structures and luminescence, *Inorg. Chem.* **2005**, 44, 601-609. c) H. Zhang, H. Cheng, Y. Kaigi, Z. Peng, T. Wenjing, Y. Wang, Synthesis, structures, and luminescent properties of phenolepyridyl boron complexes, *Inorg. Chem.* **2006**, 45, 2788-2794.

¹⁵ M. Rodríguez, G. Ramos, M. L. Alcalá, K. A. Maldonado, Y. López, O. Domínguez, One-pot synthesis and characterization of novel boronates for the growth of single crystals with nonlinear optical properties, *Dyes Pigm.* **2010**, 87, 76-83.

¹⁶ CW. Tang, VanSlyke SA, CH. Chen, Electroluminescence of doped organic thin films. *J. Appl. Phys.* **1989**, 65, 3610-3616.

¹⁷ Jia. Wen-Li, Bai. Dong-Ren, T. McCormick, Liu. Qin-De, M. Michael, Wang. Rui-Yao, Corey Seward, Ye Tao, W. Suning Wang, Three-Coordinate Organoboron Compounds BAr_2R (Ar = Mesityl, R = 7-Azaindoly- or 2,2'-Dipyridylamino-Functionalized Aryl or Thienyl) for Electroluminescent Devices and Supramolecular Assembly, *Chem. Eur. J.* **2004**, 10, 994-1006.

¹⁸ Z. Duanting, E. Yong Qiao, X. Wang, C. Young-Tan, Development of a fluorescent sensor for illicit date rape drug GHB, *Chem. Comm.* **2014**, 50, 2904-2906.

¹⁹ G. Ulrich, R. Ziessel and A. Harriman, The Chemistry of Fluorescent Bodipy Dyes: Versatility Unsurpassed, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 1184-1201.

²⁰ a) N. Yong, Z. Lintao, K. Nam-Young, H. Kuo-Wei, W. Liang, Z. Zebing, C. Young-Tae, W. Jishan, Meso-Ester- and Carboxylic-Acid Substituted BODIPYs with Far-Red and Near-Infrared Emission for Bioimaging Applications, *Chem. Eur. J.* **2014**, 20, 1 – 11. b) A. Descalzo, Hai-Jun Xu, X. Zhao-Li, K. Hoffmann, S. Zhen, M. G. Weller, X. Zeng You, K. Rurack, Phenanthrene-Fused Boron-Dipyrromethenes as Bright Long-Wavelength Fluorophores, *Org. Lett.* **2008**, 10, 8, 1581-1584. c) A. Hayek, F. Bolze, C. Bourgogne, L. Patrice, P. Baldeck, Y. Arntz, Y. Mely, J. Nicoud, Boron Containing Two-Photon Absorbing Chromophores. 2. Fine Tuning of the One- and Two-Photon Photophysical Properties of Pyrazabole Based Fluorescent Bioprobes, *Inorg. Chem.* **2009**, 48, 9112–9119.

²¹ a) M. Chalfie, Y. Tu, G. Euskirchen, W. Ward, D. Prasher, Green fluorescent protein as a marker for gene expression, *Science*. **1994**, 263, 802-805. b) Tsien, R. Y., The green fluorescent protein, *Annu. Rev. Biochem.* **1998**, 67, 509-544.

²² X. Michalet, F. Pinaud, L. Bentolila, J. Tsay, S. Doose, J. Li, G. Sundaresan, A. Wu, S. Gambhir, Weiss, Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics, *Science*. **2005**, 307, 538-544.

²³ H. Kobayashi, M. Ogawa, R. Alford, P. Choyke, Y. Urano, New strategies for fluorescent probe design in medical diagnostic imaging, *Chem. Rev.* **2010**, 110, 2620-2640.

²⁴ a) E. New, D. Parker, D. Smith, J. Walton, Development of responsive lanthanide probes for cellular applications, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2010**, 14, 238-246. b) V. Fernandez, F. Thorp, M. Coogan, Application of d6 Transition

Metal Complexes in Fluorescence Cell Imaging, *Chem. Commun.* **2010**, 46, 186-202.

²⁵ W. Yucheng, H. Rui, L. Guimiao, R. Indrajit, Y. Ken-Tye, Functionalized Quantum Dots for Biosensing and Bioimaging and Concerns on Toxicity, *Appl. Mater. Interfaces*, **2013**, 5, 8, 2786–2799.

²⁶ a) V.W.-W. Yam, E.C.-G. Cheng, in: Vincenzo Balzani, Sebastiano Campagna (Eds.), *Photochemistry and Photophysics of Coordination Compounds*, vol.2, Springer, **2007**, ISBN 978-3-540-73348-5, 269. b) L. Flamigni, A. Barbieri, C. Sabatini, B. Ventura, F. Barigelletti, in: Vincenzo Balzani, Sebastiano Campagna (Eds.), *Photochemistry and Photophysics of Coordination Compounds*, vol. 2, Springer, **2007**, ISBN 978-3-540-73348-5, p. 143; c) R.A. Kirgan, B.P. Sullivan, D.P. Rillema, in: Vincenzo Balzani, Sebastiano Campagna (Eds.), *Photochemistry and Photophysics of Coordination Compounds*, vol. 2, Springer, **2007**, ISBN 978-3-540-73348-5, p. 45; d) J.A.G. Williams, in: Vincenzo Balzani, Sebastiano Campagna (Eds.), *Photochemistry and Photophysics of Coordination Compounds*, vol. 2, Springer, **2007**, ISBN 978-3-540-73348-5, p. 205.

²⁷ J. Lijuan, W. Yayang, W. Sufan, H. Xiaoke, Z. Ping, Y. Changjiang, C. Kebing, M. Qianli, H. Erhong, V. Graça H, Accessing Near-Infrared-Absorbing BF₂ Azadipyrromethenes via a Push–Pull Effect, *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 4, 1830-1835.

²⁸ Ni. Yong, Z. Lintao, K. Nam-Young, H. Kuo-Wei, W. Liang, Z. Zebing, C. Young-Tae, W. Jishan, Meso-Ester- and Carboxylic-Acid-Substituted BODIPYs with Far-

Red and Near-Infrared Emission for Bioimaging Applications, *Chem. Eur. J.* **2014**, 20, 1 – 11.

²⁹ K. Tae-II, P. Jihye, P. Seonhwa, C. Yongdoo, K. Youngmi, Visualization of tyrosinase activity in melanoma cells by a BODIPY-based fluorescent probe, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 12640-12642.

³⁰ Y. Bernhard, P. Winckler, R. Chassagnon, P. Richard, E. Gigot, J. Perrier-Cornet, R. A. Decreau, Subphthalocyanines: addressing water-solubility, nano-encapsulation, and activation for optical imaging of B16 melanoma cells, *Chem. Commun.* **2014**, 50, 13975-13978.

³¹ C. Glotzbach, U. Kauscher, J. Voskuhl, N. Seda Kehr, M. C. A. Stuart, R. Fröhlich, H. J. Galla, B. J. Ravoo, K. Nagura, S. Saito, S. Yamaguchi, E. Würthwein, Fluorescent Modular Boron Systems Based on NNN- and ONO Tridentate Ligands: Self-Assembly and Cell Imaging, *J. Org. Chem.* **2013**, 78, 4410–4418.

³² a) D. Frath, J. Massue, G. Ulrich, R. Ziessel, Luminescent Materials: Locking p-Conjugated and Heterocyclic Ligands with Boron(III), *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 2290 – 2310. b) G. Ulrich, R. Ziessel, A. Harriman, The Chemistry of Fluorescent Bodipy Dyes: Versatility Unsurpassed. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 1184-1201.

³³ M. K. Kuimova, Mapping viscosity in cells using molecular rotors, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, 14, 12671-12686.

³⁴ a) M. A. Haidekker, E. A. Theodorakis, Environment-sensitive behavior of fluorescent molecular rotors, *J. Biol. Eng.* **2010**, 4, 11-25.

³⁵ a) M. A. Haidekker, E. A. Theodorakis, Molecular rotors--fluorescent biosensors for viscosity and flow, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, 5, 1669-1678. b) M. K. Kuimova, S. W. Botchway, A. W. Parker, M. Balaz, H. A. Collins, H. L. Anderson, K. Suhling, P. R. Ogilby, Imaging intracellular viscosity of a single cell during photoinduced cell death, *Nat. Chem.* **2009**, 1, 69-73. c) M. K. Kuimova, G. Yahioğlu, J. A. Levitt, K. Suhling, Molecular rotor measures viscosity of live cells via fluorescence lifetime imaging, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 6672-6673. d) J. A. Levitt, M. K. Kuimova, G. Yahioğlu, P.-H. Chung, K. Suhling, D. Phillips, ESR Study on the Reversible Electron Transfer from O^{22-} to Ti^{4+} on TiO_2 Nanoparticles Induced by Visible-Light Illumination, *J. Phys. Chem. C.* **2009**, 113, 1160-1163. e) X. Peng, Z. Yang, J. Wang, J. Fan, Y. He, F. Song, B. Wang, S. Sun, J. Qu, J. Qi, M. Yang, Fluorescence Ratiometry and Fluorescence Lifetime Imaging: Using a Single Molecular Sensor for Dual Mode Imaging of Cellular Viscosity, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 6626-6635.

³⁶ a) A. G. Tsai, B. Friesenecker, M. McCarthy, H. Sakai, M. Intaglietta, Chronic circadian desynchronization decreases the survival of animals with cardiomyopathic heart disease, *Am. J. Physiol.* **1998**, 275, 6-8. b) A. G. Tsai, M. Intaglietta. High viscosity plasma expanders: Volume restitution fluids for lowering the transfusion trigger, *Biorheology.* **2001**, 38, 229-237.

³⁷ a) A. H. Alamiry, A. C. Benniston, G. Copley, K. J. Elliott, A. Harriman, B. Stewart, Yong-Gang Zhi, A Molecular Rotor Based on an Unhindered Boron

Dipyrrromethene (Bodipy) Dye, *Chem. Mater.* **2008**, 20, 4024-4032. b) J. Li, Y. Zhang, H. Zhang, X. Xuan, M. Xie, S. Xia, G. Qu, H. Guo, Nucleoside-Based Ultrasensitive Fluorescent Probe for the Dual-Mode Imaging of Microviscosity in Living Cells, *Anal. Chem.* **2016**, 88, 5554-5560. c) S. Palb, H. Chakrabortya, S. Bandaria, G. Yahioğlu, K. Suhlingf, A. Chattopad, Molecular rheology of neuronal membranes explored using a molecular rotor: Implications for receptor function, *Chem. Phys. Lipids.* **2016**, 196, 69-75. d) E. Xochitiotzi-Flores, A. Jiménez-Sánchez, H. García-Ortega, N. Sánchez-Puig, M. Romero-Ávila, R. Santillan, N. Farfán, Optical properties of two fluorene derived BODIPY molecular rotors as fluorescent ratiometric viscosity probes, *New J. Chem.* **2016**, 40, 4500-4512. e) C. Ran, X. Xu, S. B. Raymond, B. J. Ferrara, K. Neal, B. J. Bacskai, Q. Z. Yang, L. Z. Wu, C. H. Tung, D. Y. Wu, Dicyanoboron diketonate dyes: Synthesis, photophysical properties and bioimaging, *Dyes Pigm.* **2015**, 112, 162-169. f) E. Kim, A. Felouat, E. Zaborova, J. Ribierre, J. Weon Wu, S. Senatore, C. Matthews, P. F. Lenne, C. Baffert, A. Karapetyan, M. Giorgi, D. Jacquemin, M. P. Vargas, B. L. Guennic, F. Fages, A. D'Aléo, Borondifluoride complexes of hemicurcuminoids as bio-inspired push-pull dyes for bioimaging, *Org. Biomol. Chem.*, **2016**, 14, 1311-1324.

³⁸ A. H. Alamiry, A. C. Benniston, G. Copley, K. J. Elliott, A. Harriman, B. Stewart, Yong-Gang Zhi, A Molecular Rotor Based on an Unhindered Boron Dipyrrromethene (Bodipy) Dye, *Chem. Mater.* **2008**, 20, 4024-4032.

³⁹ D. Wang, R. Miyamoto, Y. Shiraishi, T. Hirai, BODIPY-Conjugated Thermoresponsive Copolymer as a Fluorescent Thermometer Based on Polymer Microviscosity, *Langmuir*. **2009**, 25, 13176-13182.

⁴⁰ M. K. Kuimova, G. Yahioglu, J. A. Levitt, K. Suhling, Molecular Rotor Measures Viscosity of Live Cells via Fluorescence Lifetime Imaging, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 6672-6673.

⁴¹ I. A. Karpenko, Y. Niko, P. Yakubovskiy, A. O. Gerasov, D. Bonnet, Y. P. Kovtunc, A. S. Klymchenko, Push-pull dioxaborine as fluorescent molecular rotor: far-red fluorogenic probe for ligand-receptor interactions, *J. Mater. Chem. C*. **2016**, 4, 3002-3009.

⁴² a) W. Xu-dong, S. Xin-hong, H. Chun-yan, J. Y. Chaoyong, C. Guonan, C. Xi, Preparation of Reversible Colorimetric Temperature Nanosensors and Their Application in Quantitative Two-Dimensional Thermo-Imaging, *Anal. Chem.* **2011**, 83, 2434-2437. b) J. Huang, A. Peng, H. Fu, Y. Ma, T. Zhai, J. Yao, Stability and Phase Behavior of Acrylamide-Based Emulsions before and after Polymerization, *J. Phys. Chem. A*. **2006**, 110, 9079-9084.

⁴³ a) J. H. Day, Thermochromism, *Chem. Rev.* **1963**, 63, 65-80. b) J. H. Day, Thermochromism of inorganic compounds, *Chem. Rev.* **1968**, 68, 649-657.

⁴⁴ a) J. Pang, E. J. P. Marcottw, C. Seward, R. S. Brown, S. Wang, X-ray Crystal Structure of a Bisubstrate Inhibitor Bound to the Enzyme Catechol-O-methyltransferase: A Dramatic Effect of Inhibitor Preorganization on Binding Affinity, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, 40, 4040-4042. b) V. Fernandez-Moreira, F. L. Thorp-Greenwood, M. P. Coogan, Application of d6 transition metal

- complexes in fluorescence cell imaging, *Chem. Commun.* **2010**, 46, 186-202. c) E. J. McLaurin, V. A. Vlaskin, D. R. Gamelin, Water-Soluble Dual-Emitting Nanocrystals for Ratiometric Optical Thermometry, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 14978-14980. d) Y. Cui, H. Xu, Y. Yue, Z. Guo, J. Yu, Z. Chen, J. Gao, Y. Yang, G. Qian, B. Chen, A Luminescent Mixed-Lanthanide Metal–Organic Framework Thermometer, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 3979-3982. e) S. Uchiyama, N. Kawai, A. P. de Silva, K. Iwai, Fluorescent Polymeric AND Logic Gate with Temperature and pH as Inputs, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 3032-3033.
- ⁴⁵ R. Dias, V. K. Himashinie, Diyabalanage, M. G. Eldabaja, O. Elbjeirami, A. Rawashdeh-Omary, Mohammad A. Omary, Brightly Phosphorescent Trinuclear Copper(I) Complexes of Pyrazolates: Substituent Effects on the Supramolecular Structure and Photophysics, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 7489-7501.
- ⁴⁶ B. Quentin, F. Le Goff, G. Nocton, A. Fargues, A. Garcia, A. Berhault, S. Kahlal, J. Y. Saillard, C. Martineau, J. Trebosc, T. Gacoin, J. Pierre Boilot, S. Perruchas, Geometry Flexibility of Copper Iodide Clusters: Variability in Luminescence Thermochromism, *Inorg. Chem.* **2015**, 54, 4483-4494.
- ⁴⁷ R. Chan-Navarro, V. M. Jiménez-Pérez, B. M. Muñoz-Flores, H.V. Rasika-Dias, I. Moggio, E. Arias, G. Ramos-Ortíz, R. Santillan, C. García, M. E. Ochoa, M. Yousufuddin, N. Waksman, Luminescent organoboron compounds derived from salicylidenebenzohydrazine: Synthesis, characterization, structure, and photophysical properties, *Dyes Pigm.* **2013**, 99, 1036-1043.

- ⁴⁸ D. Li, H. Zhang, W. Chenguang, S. Huang, J. Guo, Y. Wang, Construction of full-color-tunable and strongly emissive materials by functionalizing a boron-chelate four-ring-fused π conjugated core Show Affiliations, *J. Mater. Chem.* **2012**, 22, 4319-4328.
- ⁴⁹ V. Jimenez-Perez, C. Camacho Camacho, M. R. Guizado, H. Noth, R. Contreras, New hexacyclic binuclear tin complexes derived from bis-(3,5-di-*tert*-butyl-2-phenol)oxamide, *J. Organomet. Chem.* **2000**, 283–293.
- ⁵⁰ a) J. Gmehling, J. Menke, J. Krafczyk, K. Fischer, Azeotropic Data, VCH Editor, Weinheim, 1994. b) V. Jiménez-Pérez , B. Muñoz-Flores, HW. Roesky, T. Schulz, A. Pal, T. Beck, Boron and Tin(II) monomeric heterocyclic derivatives of 1,8- diaminonaphthalenes: synthesis, characterization and X-ray structures, *Eur. J. Inorg Chem.* **2008**, 2238-2243.
- ⁵¹ O.Brien, I. Wilson, T. Orton, F. Pognan, Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity, *Eur. J. Biochem.* **2000**, 267, 17, 5421-5426.
- ⁵² B. Muñoz, R. Santillan, M. Rodriguez, J. Méndez, M. Romero, N- Farfán, P. Lacroix, K. Nakatani, G. Ramos, J. Maldonado, Synthesis, cristal structure and non.linear optical properties of boronates derivatives of salicylideniminophenols, *J. Organomet. Chem.* **2008**, 690, 2351- 2357.
- ⁵³ A. Graham. Modern magnetic resonance, Springer, 2006 (ISBN 978-1-4020-3894-5)

⁵⁴ V. Barba, J. Vazquez, F. López, R. Santillan, N. Farfán, Mono- and diboronates derived from tridentate ONO ligands and arylboronic acids, *J. Organomet. Chem.* **2005**, 690, 2351-2353.

⁵⁵ V. Barba, D. Cuahutle, R. Santillan, Farfán, Stereoselective addition of acetone to C¹/N bond of [4.3.0] boron heterobicycles, *Can J Chem.* **2001**, 79, 1229-1237.

⁵⁶ Herbert Hopfl, The tetrahedral character of the boron atom newly defined—a useful tool to evaluate the N.B bond, *J. Organomet. Chem.* **1999**, 581, 129–149.

⁵⁷H. Nöth, B. Wrackmeyer, Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Boron Compounds, Springer-Verlag, New York, 1978.

⁵⁸ <http://www.sisweb.com/mstools/isotope.htm>

⁵⁹ J. Rivera, E. Mendez, R. Colorado-Peralta, S. Rincon, N. Farfan, R. Santillan, Synthesis, characterization and X-ray studies of new six–seven membered rings [4.5.0] heterobicyclic system of monomeric boronates, *Inorg. Chim. Acta.* **2012**, 390, 26–32.

⁶⁰ J. Rivera, R. Colorado-Peralta, J. Ramírez, M. Sanchez, E. Sanchez-Castro, Synthesis, characterization, X-ray studies and DFT calculations of fused five–six and seven–six membered ring of new heterobicyclic system of boron compounds, *J. Mol. Struct.* **2013**, 1052, 24–31.

⁶¹ M. K. Kuimova, G. Yahioglu, J. A. Levitt, K. Suhling, Molecular Rotor Measures Viscosity of Live Cells via Fluorescence Lifetime Imaging, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 6672-6673.

⁶² H. L. Kee, C. Kirmaier, L. H. Yu, P. Thamyongkit, W. J. Youngblood, M. E. Calder, L. Ramos, B. C. Noll, D. F. Bocian, W. R. Scheidt, R. R. Birge, J. S.

Lindsey, D. Holten, Structural Control of the Photodynamics of Boron–Dipyrin Complexes. *J. Phys. Chem. B.* **2005**, 109, 20433–20443.

⁶³ I. A. Karpenki, Y. Niko, V. P. Yakubovskiy, A. O. Gerasov, D. Bonnet, Y. P. Kovtunc, A. S. Klymchenko, Push–pull dioxaborine as fluorescent molecular rotor: far-red fluorogenic probe for ligand–receptor interactions, *J. Mater. Chem. C*, **2016**, 4, 3002-3009.

⁶⁴ Levitt, J. A.; Kuimova, M. K.; Yahioglu, G.; Chung, P. H.; Suhling, K.; Phillips, D., Membrane-Bound Molecular Rotors Measure Viscosity in Live Cells via Fluorescence Lifetime Imaging, *J. Phys. Chem. C*, **2009**, 113,11634–11642.

⁶⁵ a) E. Roussakis, Z. Li, A. J. Nichols, C. L. Evans, Oxygen-Sensing Methods in Biomedicine from the Macroscale to the Microscale, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2015**, 54, 8340–8362. b) S. Schreml, R. M. Szeimies, L. Prantl, S. Karrer, M. Landthaler, P. Babilas, Oxygen in Acute and Chronic Wound Healing. *Br. J. Dermatol.* **2010**, 163, 257–268.

⁶⁶ C. A. De Rosa, S. A. Seaman, A. S. Mathew, C. M. Gorick, Z. Fan, J. N. Demas, S. M. Peirce, C. L. Fraser, Oxygen Sensing Difluoroboron β -Diketonate Polylactide Materials with Tunable Dynamic Ranges for Wound Imaging, *ACS Sens.* **2016**, 1, 1366–1373.

⁶⁷ C. Schweitzer, R. Schmidt, Physical Mechanisms of Generation and Deactivation of Singlet Oxygen. *Chem. Rev.* **2003**, 103, 1685-1758.

⁶⁸ X. Wang, J. A. Stolwijk, T. Lang, M. Sperber, R. J. Meier, J. Wegener, O. S. Wolfbeis, Ultra-Small, Highly Stable, and Sensitive Dual Nanosensors for

Imaging Intracellular Oxygen and pH in Cytosol, *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, 134 (41), 17011–17014.

⁶⁹ P. Bamfield, M. G. Hutchings, In *Chromic Phenomena: Technological Applications of Colour Chemistry*, RSC Publishing, Cambridge UK, 2nd edn, **2010**.

⁷⁰ X. Liu, S. Li, J. Feng, Y. Li, G. A. Yang, triarylboron-based fluorescent temperature indicator: sensitive both in solid polymers and in liquid solvents. *Chem. Commun.*, **2014**, 50, 2778-2780.

⁷¹ Z. Chen, J. Liang, Y. Nie, X. Xu, Y. Guang-Ao, J. Yin, H. Liu, A novel carbazole-based gold(I) complex with interesting solid-state, multistimuli-responsive characteristics, *Dalton Trans.* **2015**, 44, 17473-17477.

⁷² T. Seki, Y. Takamatsu, H. Ito, A Screening Approach for the Discovery of Mechanochromic Gold(I) Isocyanide Complexes with Crystal-to-Crystal Phase Transitions, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, 138, 6252-6260.

⁷³ a) C. Feng, K. Wang, Y. Xu, L. Liu, B. Zou, P. Lu, Unique piezochromic fluorescence behavior of organic crystal of carbazole-substituted CNDSB. *Chem. Commun.*, **2016**, 52, 3836-3839. b) C. Wen-Bin, C. Yan-Cong, L. Jun-Liang, J. Jian-Hua, W. Long-Fei, L. Quan-Wen, T. A. Ming-Liang, Piezochromic Dysprosium(III) Single-Molecule Magnet Based on an Aggregation-Induced-Emission-Active Tetraphenylethene Derivative Ligand. *Inorg. Chem.* **2017**, 56, 8730–8734.

⁷⁴ F. Zhou, J. Shao, Y. Yang, J. Zhao, H. Guo, X. Li, S. Ji, Z. Zhang, Molecular Rotors as Fluorescent Viscosity Sensors: Molecular Design, Polarity Sensitivity,

Dipole Moments Changes, Screening Solvents, and Deactivation Channel of the Excited States. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 4773–4787

⁷⁵ L. Yang, Y. Liu, X. Zhou, Y. Wu, C. Ma, W. Liu, C. Zhang, Asymmetric anthracene-fused BODIPY dye with large Stokes shift: Synthesis, photophysical properties and bioimaging, *Dyes Pigm.* **2016**, 126, 232-238.

⁷⁶ a) M. F. Santos, J. N. Rosa, N. R. Candeias, C. P. Carvalho, I. Matos, E. Ventura, F. Florindo, C. Silva, U. Pischel, M. P. Goi, A Three-Component Assembly Promoted by Boronic Acids Delivers a Modular Fluorophore Platform (BASHY Dyes), *Chem. Eur. J.* **2016**, 22, 1631-1637. b) Y. Zhou, Yu-Zhe Chen, J. Hua Cao, Q. Zheng Yang, L. Zhu Wu, C. Ho Tung, D. Yong Wu, Dicyanoboron diketonate dyes: Synthesis, photophysical properties and bioimaging, *Dyes Pigm.* **2015**, 112, 162-169. c) M. Courtis, A. Santos, Y. Guan, J. A. Hendricks, B. Ghosh, D. M. Szantai-Kis, A. Reis, V. Shah, R. Mazitschek, Monoalkoxy BODIPYs—A Fluorophore Class for Bioimaging, *Bioconjugate Chem.* **2014**, 25, 1043-1051.

⁷⁷ A. T. R. Williams, S. A. Winfield, J. N. Miller, Relative fluorescence quantum yields using a computer-controlled luminescence spectrometer, *Analyst.* **1983**, 108, 1067-1071.

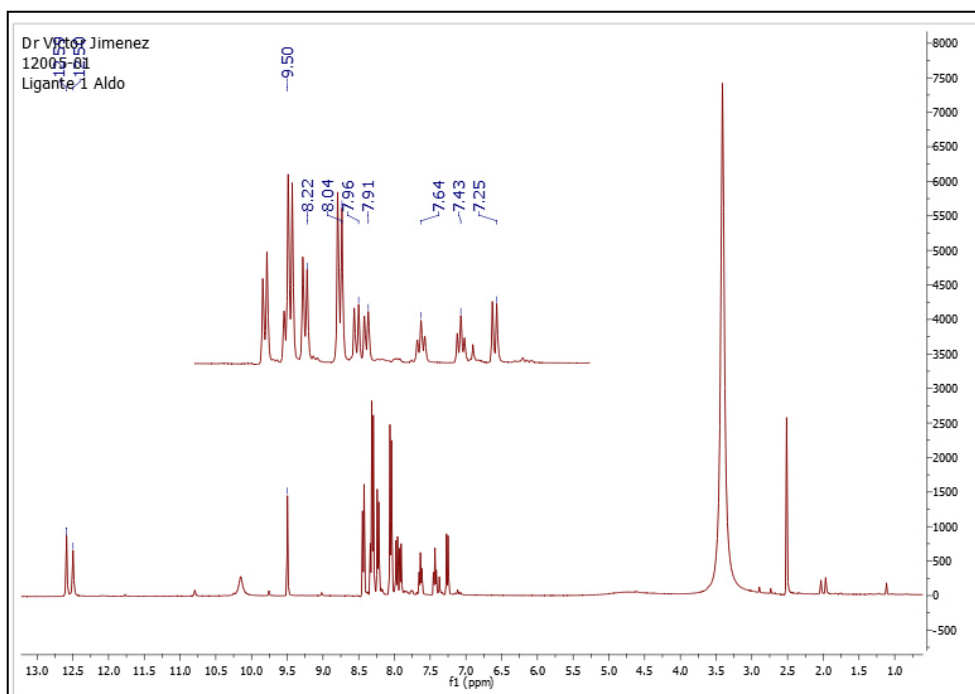
⁷⁸ M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Jr.

Montgomery, J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, M. J. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ö Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox, Gaussian 09, Revision B.01, Gaussian, Inc.: Wallingford CT, **2009**.

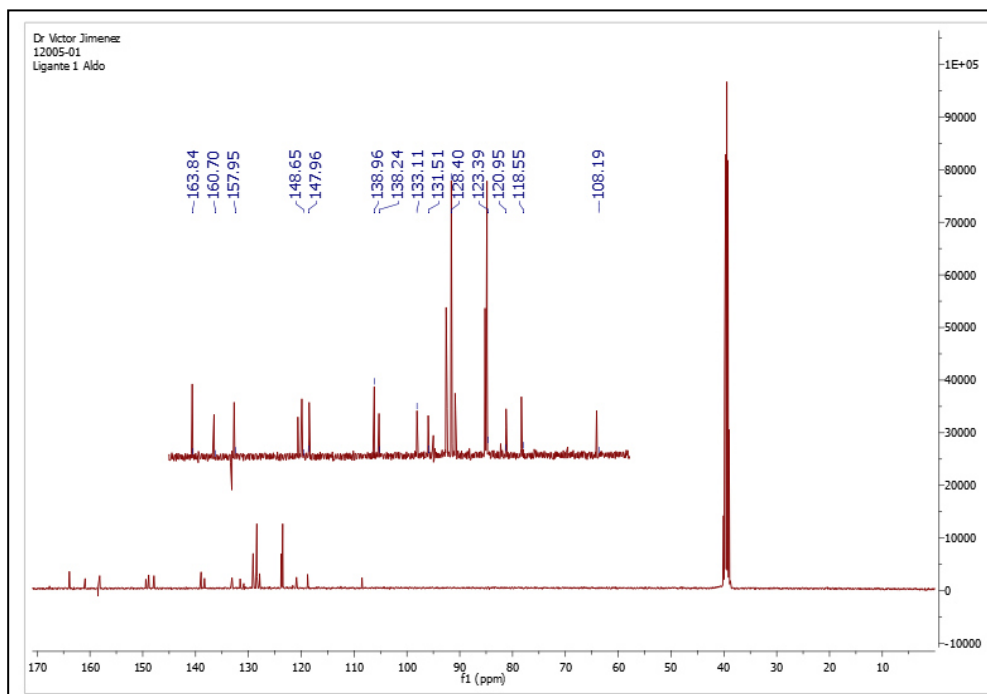
⁷⁹ a) A. D. Becke, Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange, *J. Chem. Phys.* 98, **1993**, 5648-5652. b) G. A. Petersson, M. A. Al-Laham, Open-shell systems and the total energies of the first-row atoms, *J. Chem. Phys.* 94, **1991**, 6081-6090.

ANEXOS

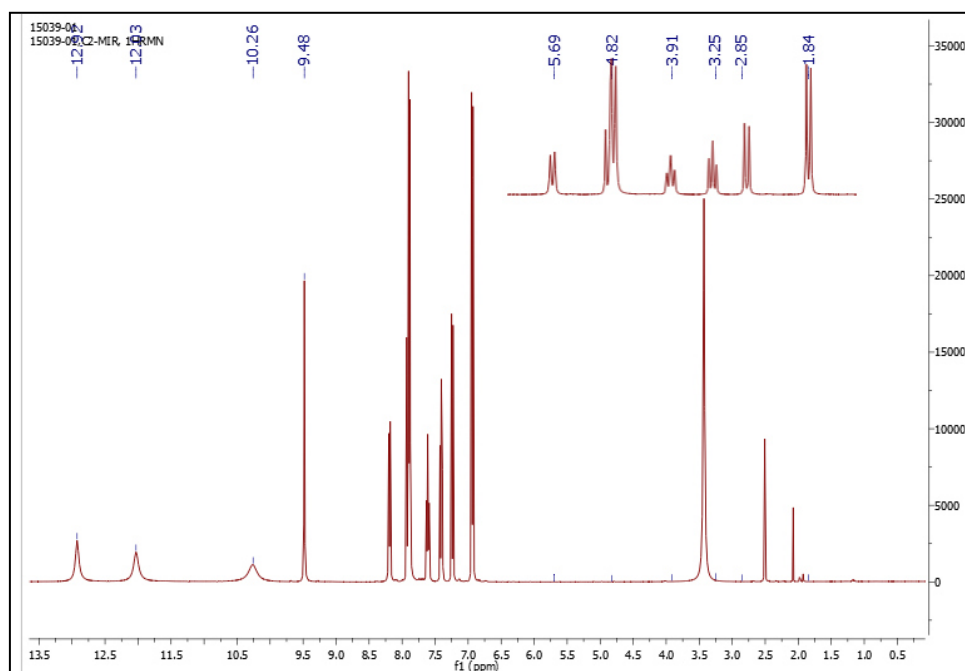
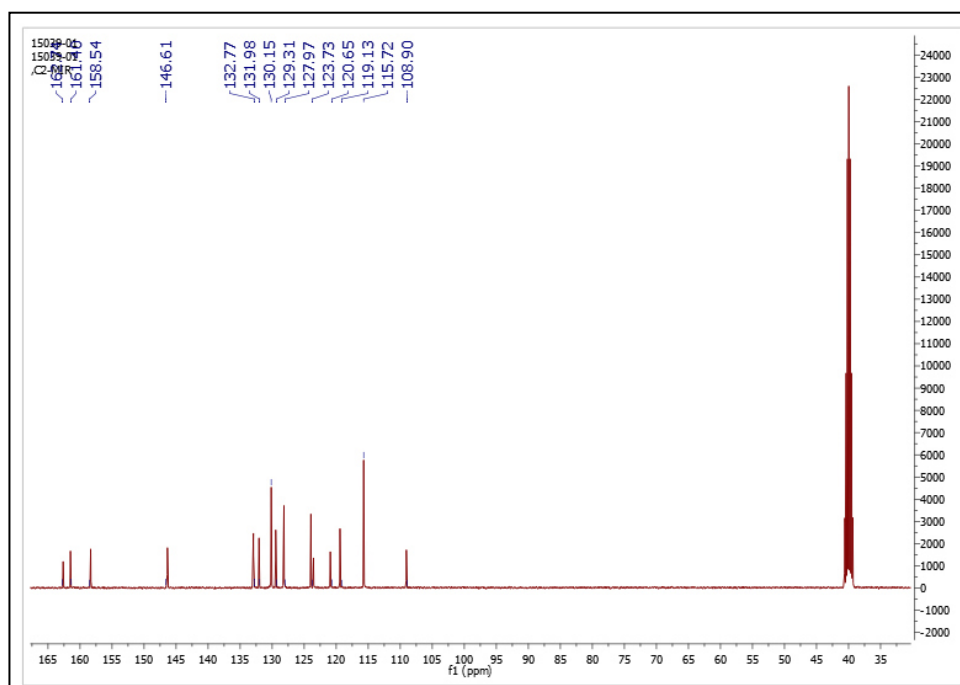
ESPECTROS DE RMN, MASAS, TABLAS DE RAYOS X

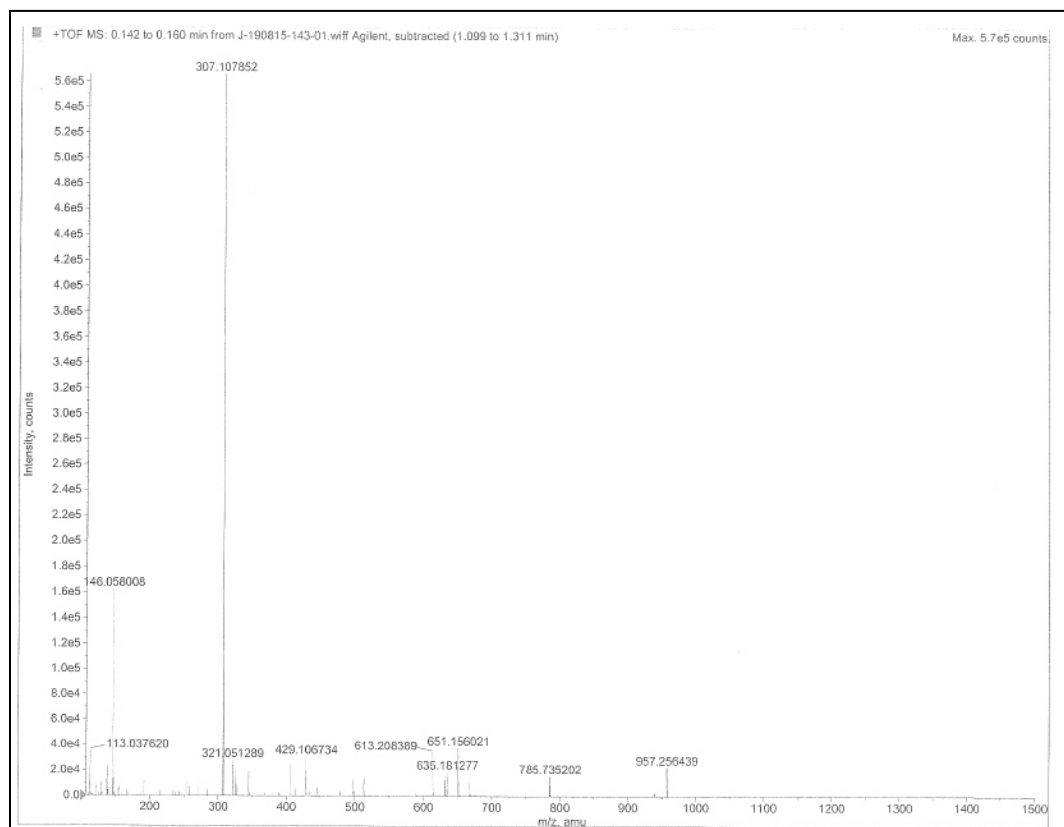


Espectro de ^1H RMN (DMSO-d_6) para el ligante (1).

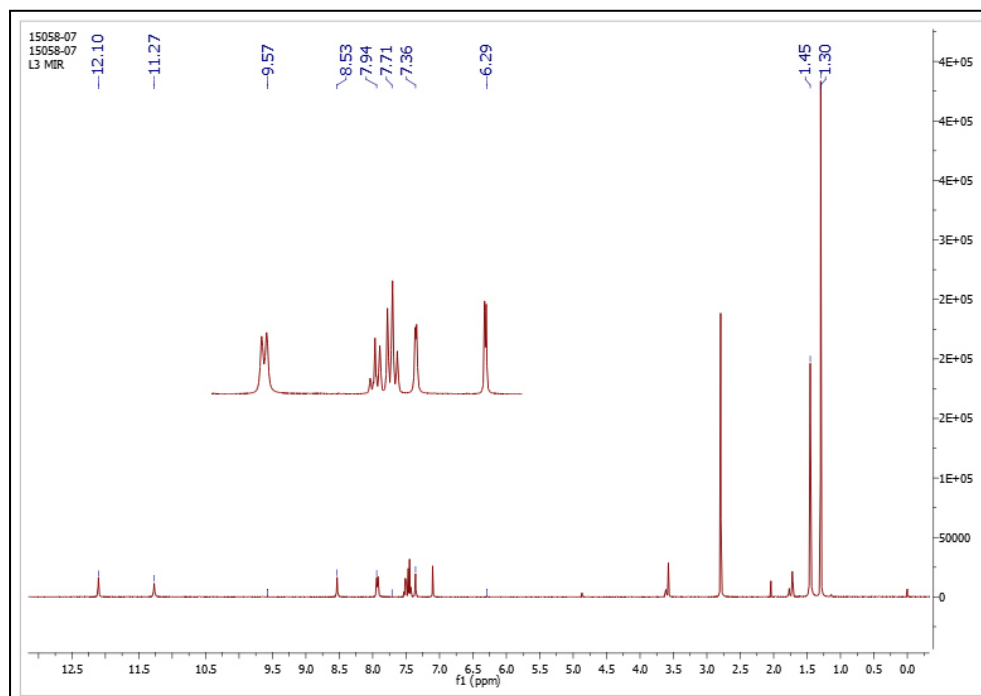
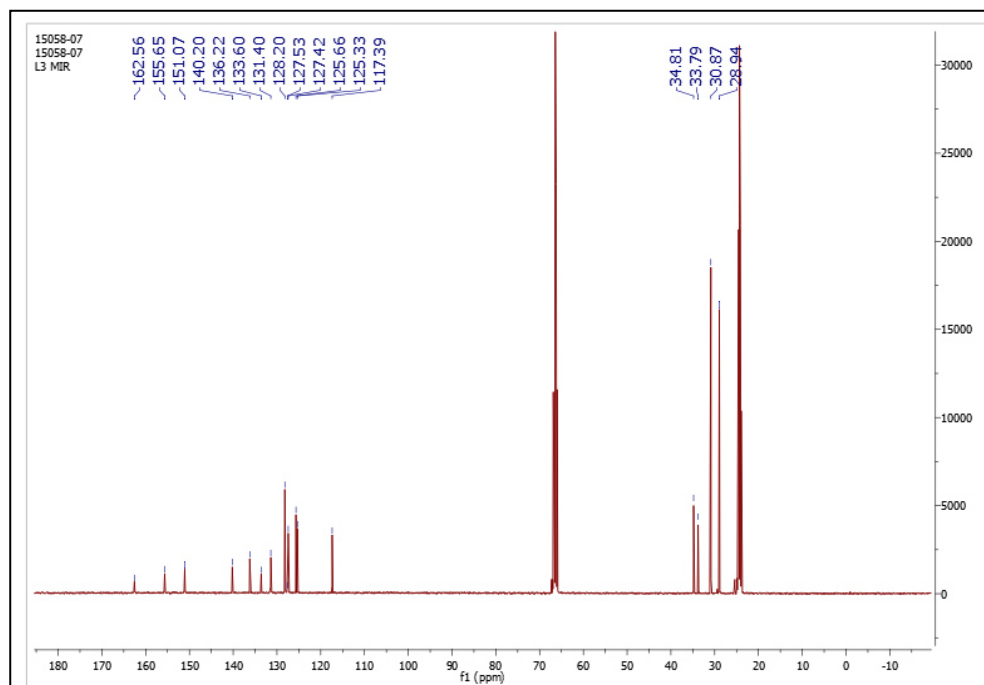


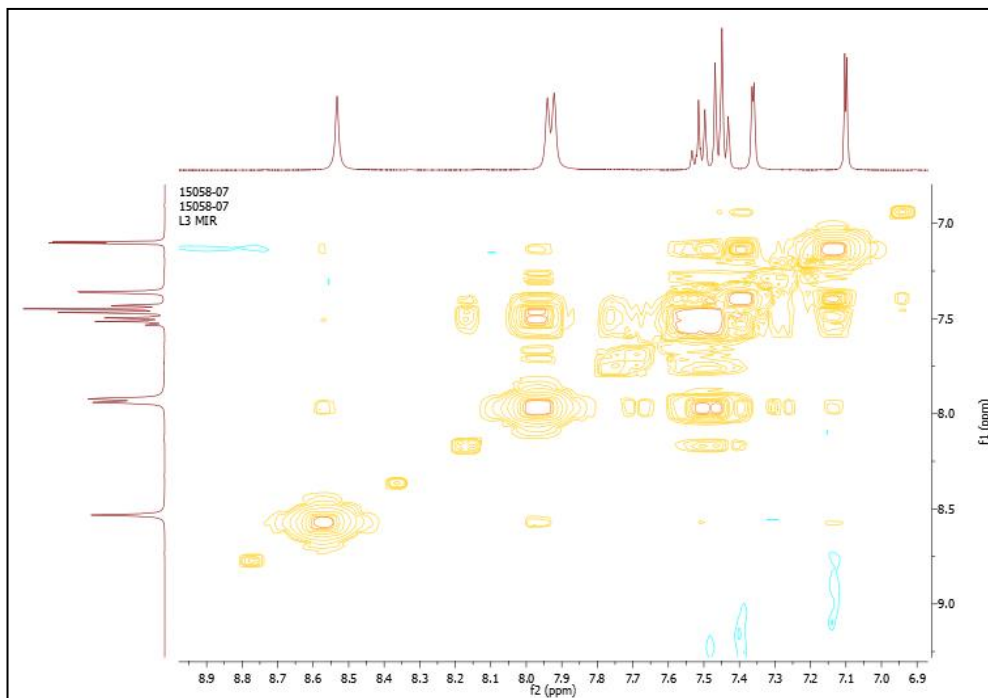
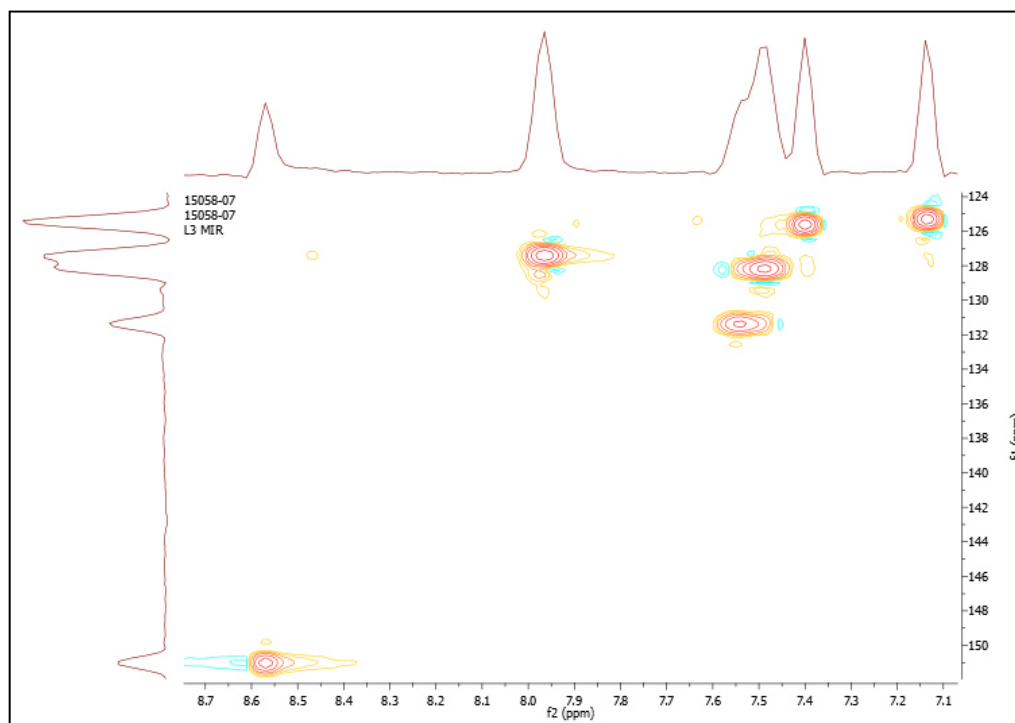
Espectro de ^{13}C RMN (DMSO-d_6) para el ligante (1).

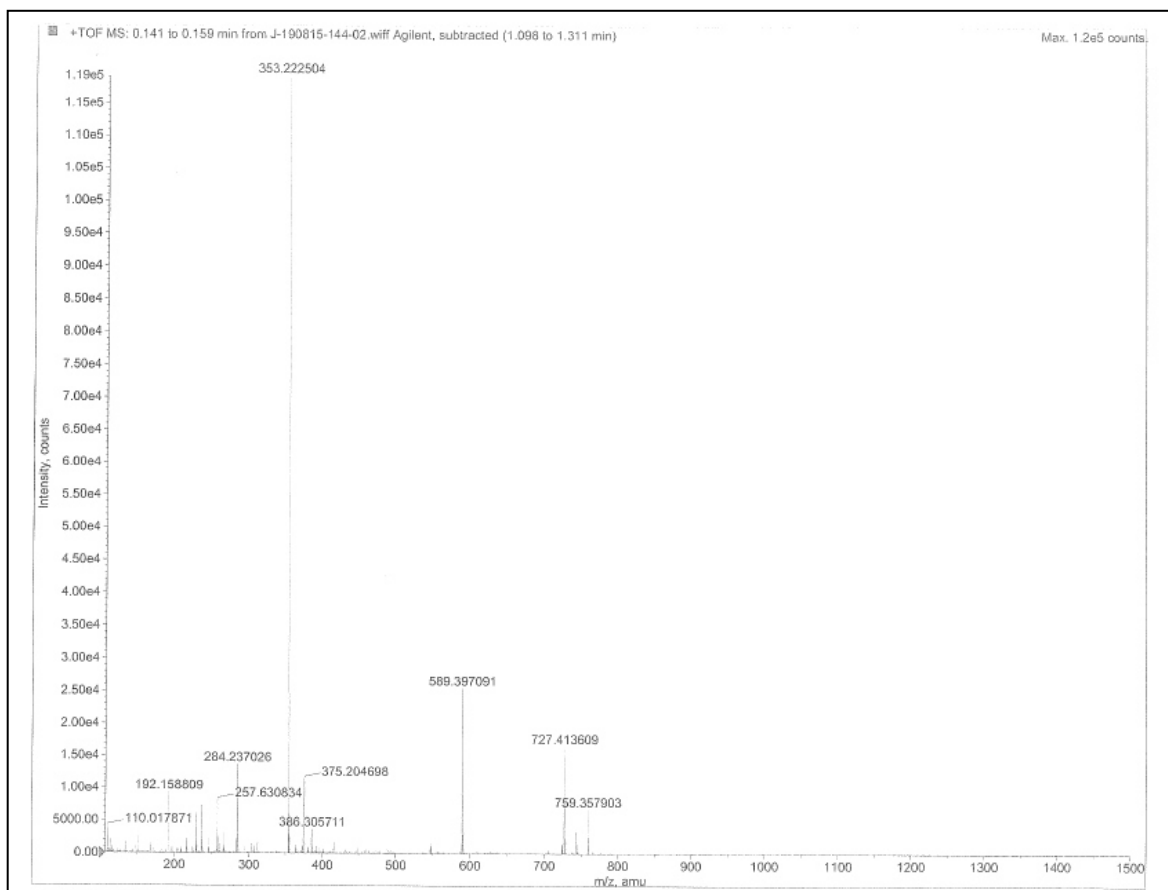
Espectro de ^1H RMN ($\text{DMSO-}d_6$) para el ligante (2)Espectro de ^{13}C RMN ($\text{DMSO-}d_6$) para el ligante (2)



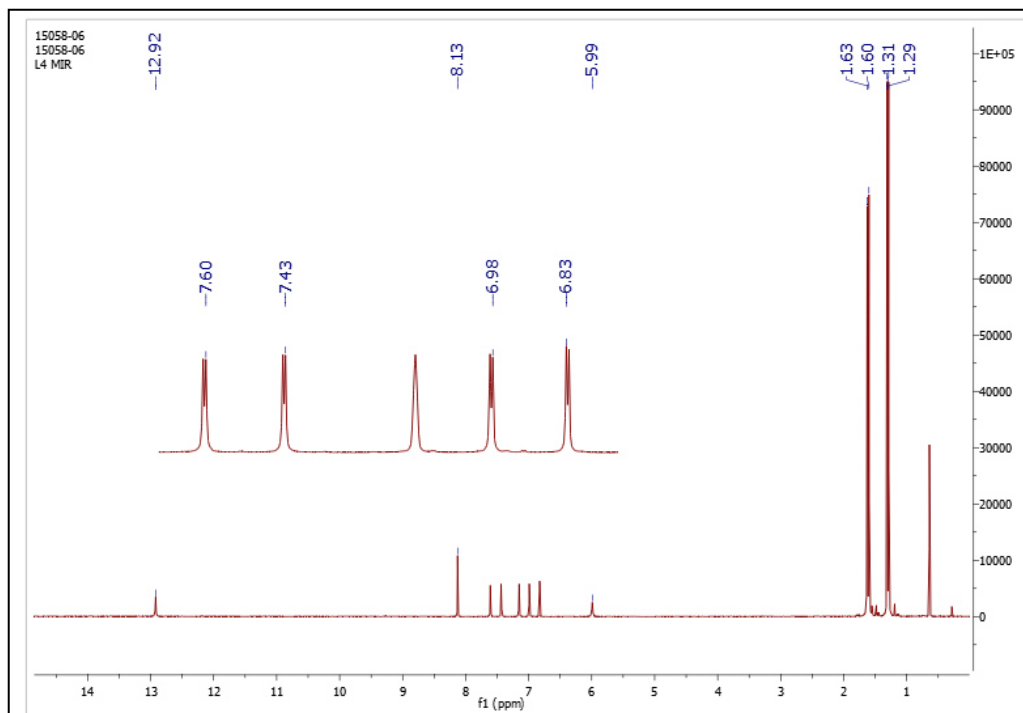
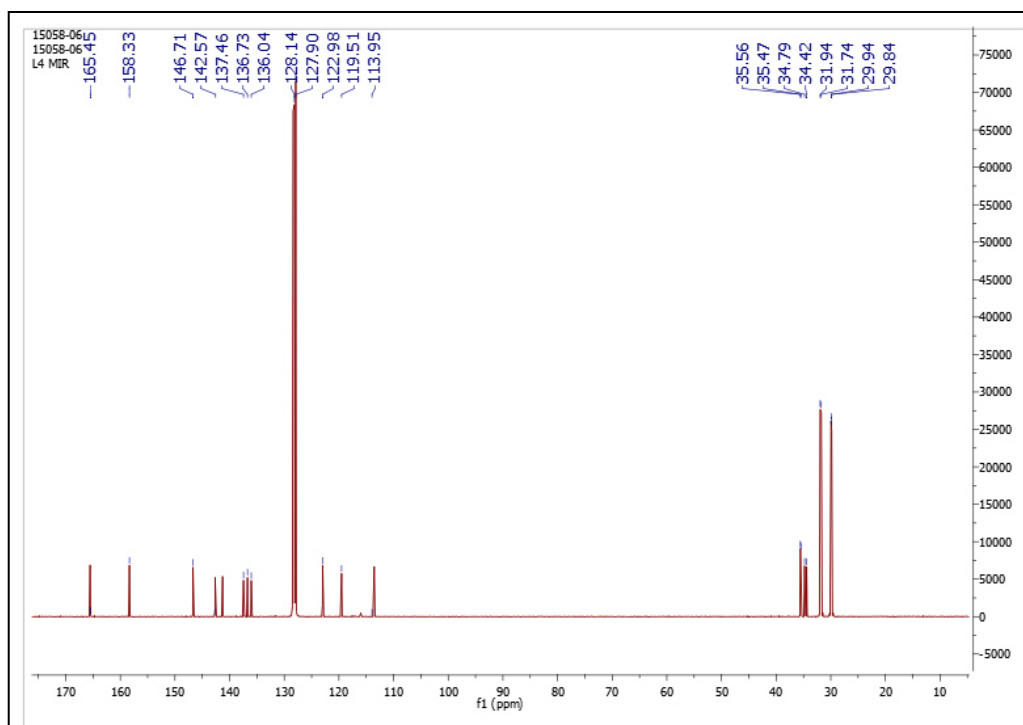
Espectro de masas para el ligante (2)

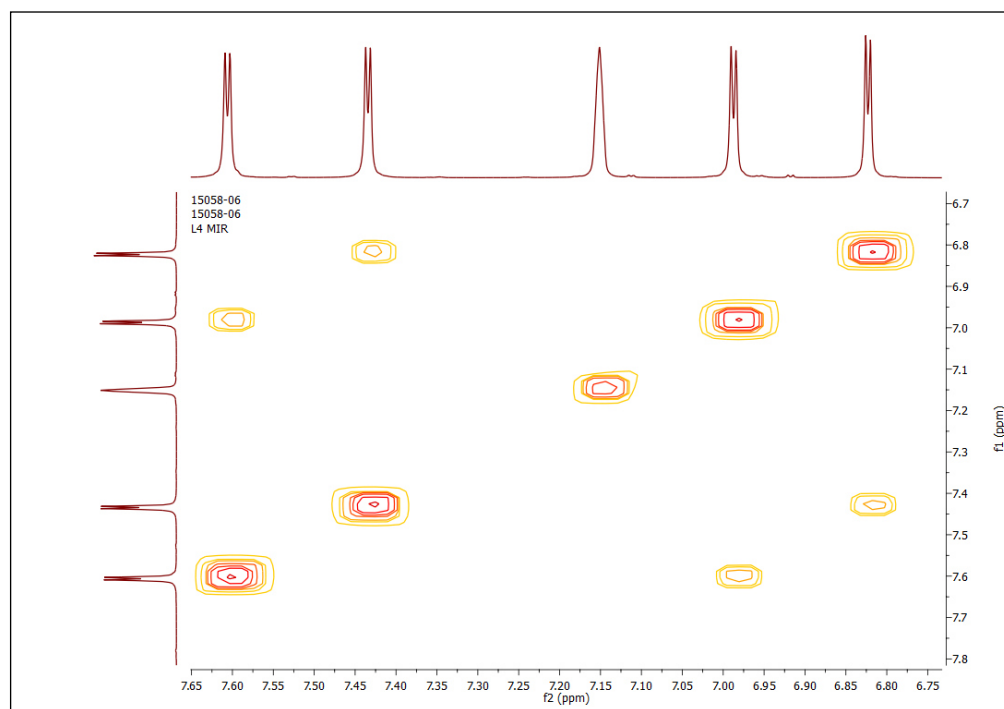
Espectro de ^1H RMN (Acetona- d_6) para el ligante (3)Espectro de ^{13}C RMN (Acetona- d_6) para el ligante (3)

Espectro de COSY, RMN (Acetona-*d*6) para el ligante (3)Espectro de HETCOR, RMN (Acetona-*d*6) para el ligante (3)

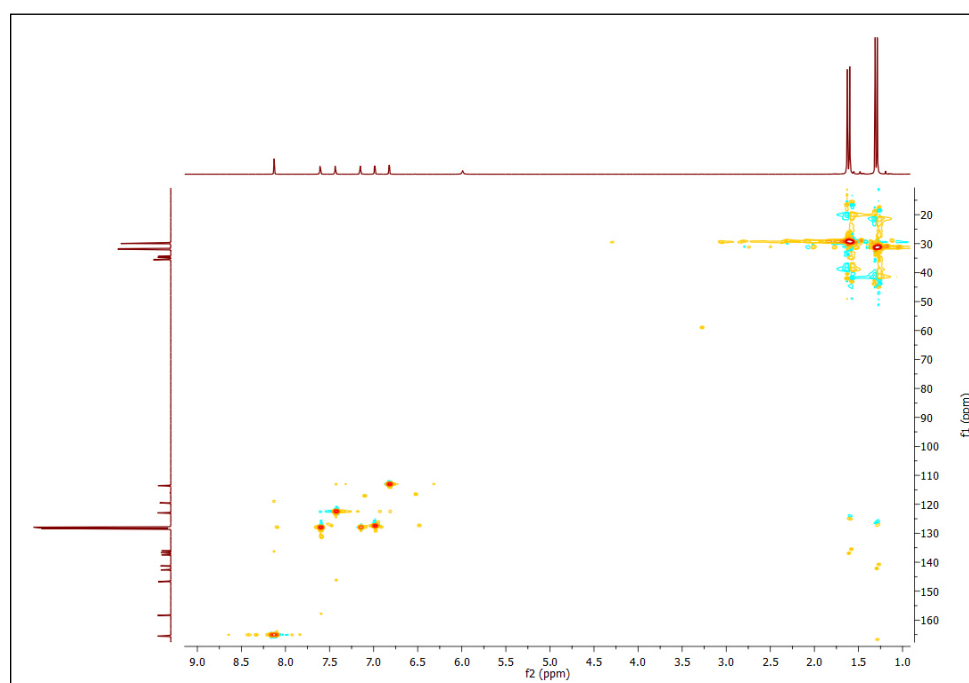


Espectro de masas para el ligante (3)

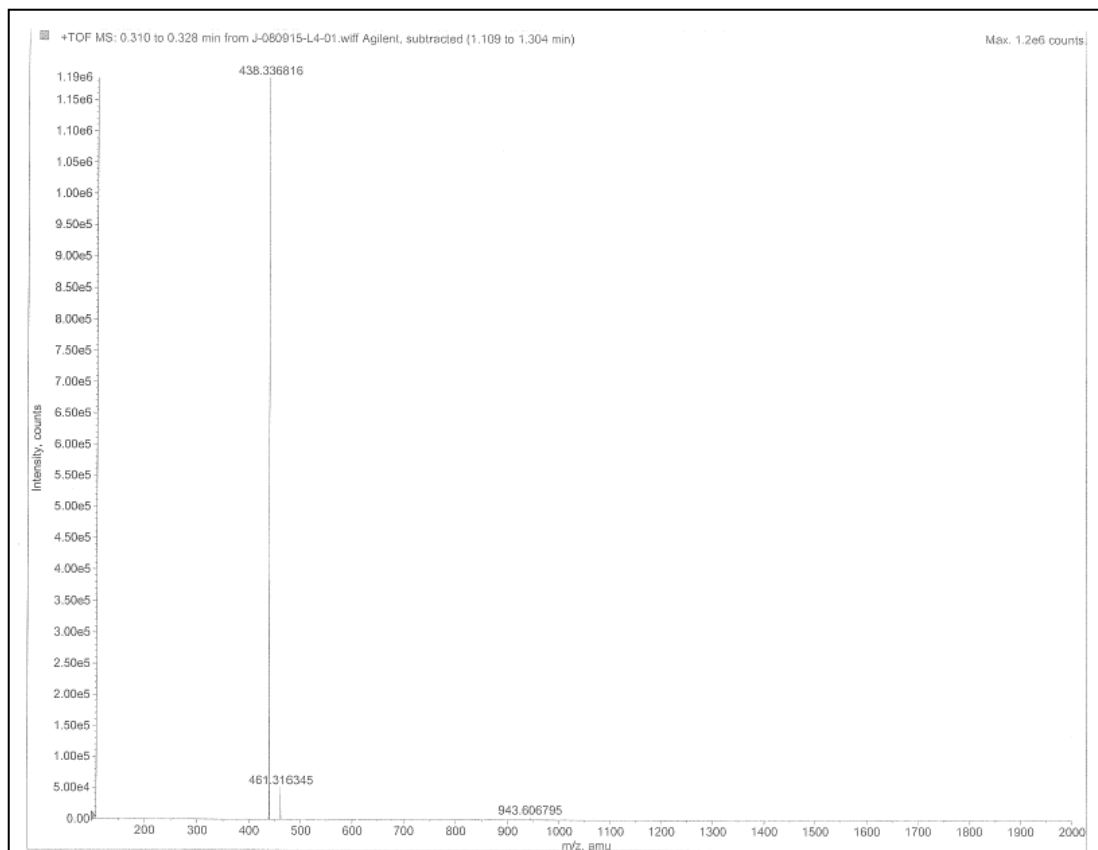
Espectro de ^1H RMN (Benceno- d_6) para el ligante (4)Espectro de ^{13}C RMN (Benceno- d_6) para el ligante (4)



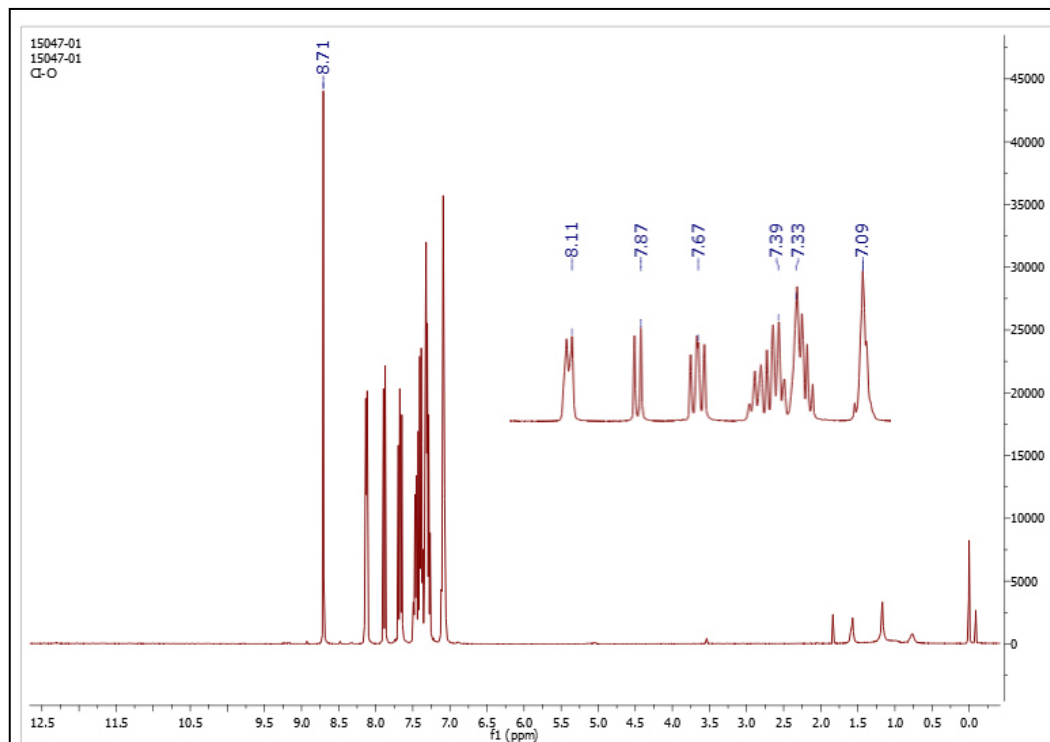
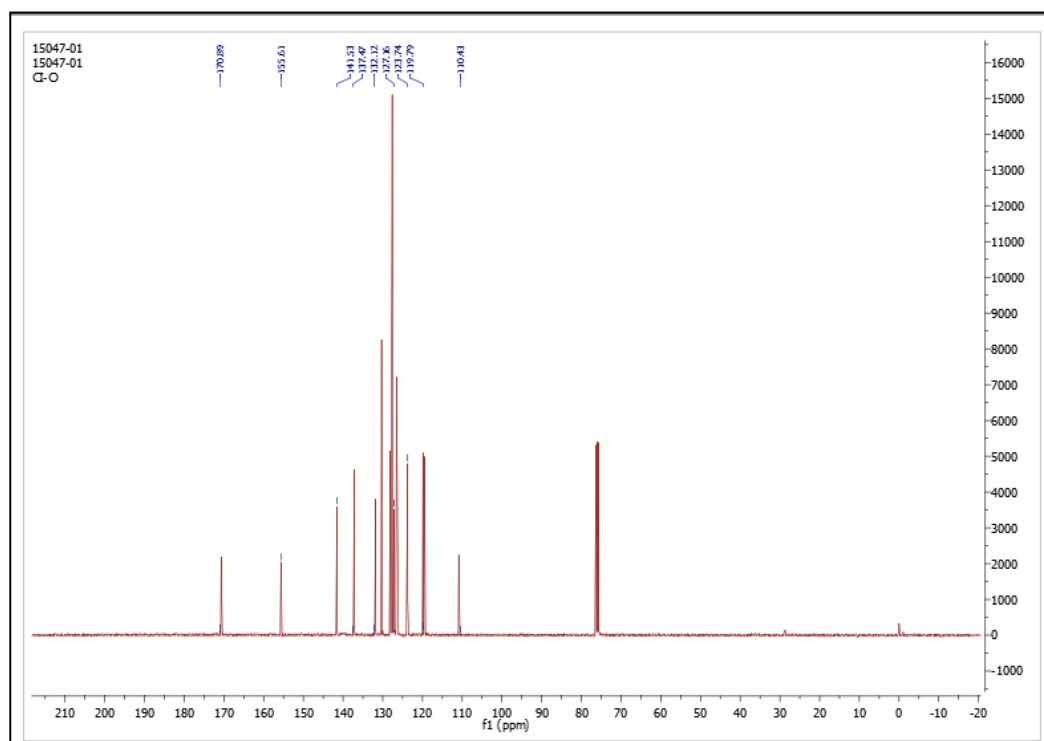
Espectro de (COSY) RMN para el ligante (4)

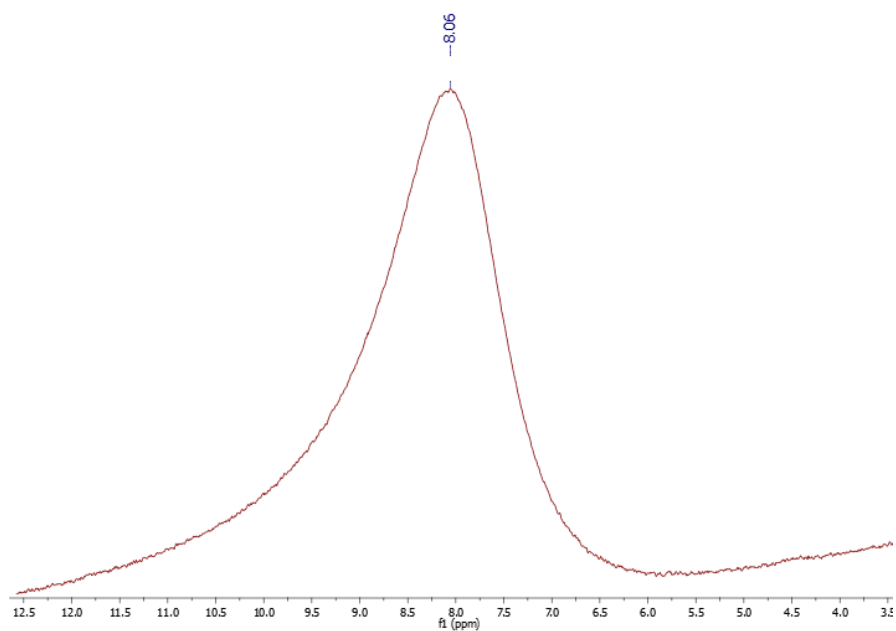
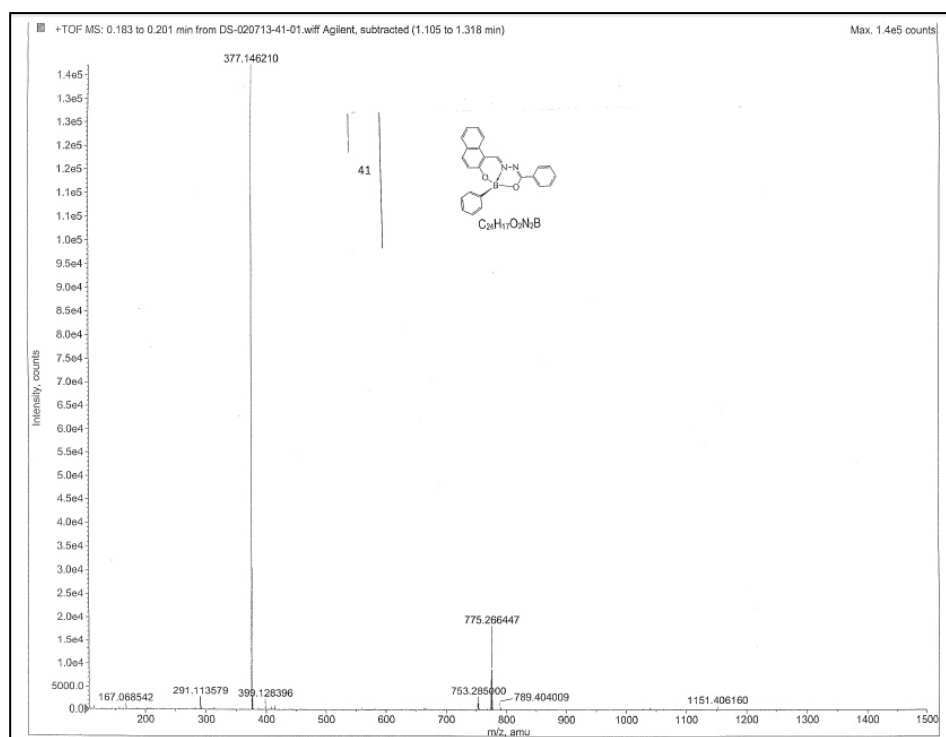


Espectro de (HETCOR) RMN para el ligante (4)

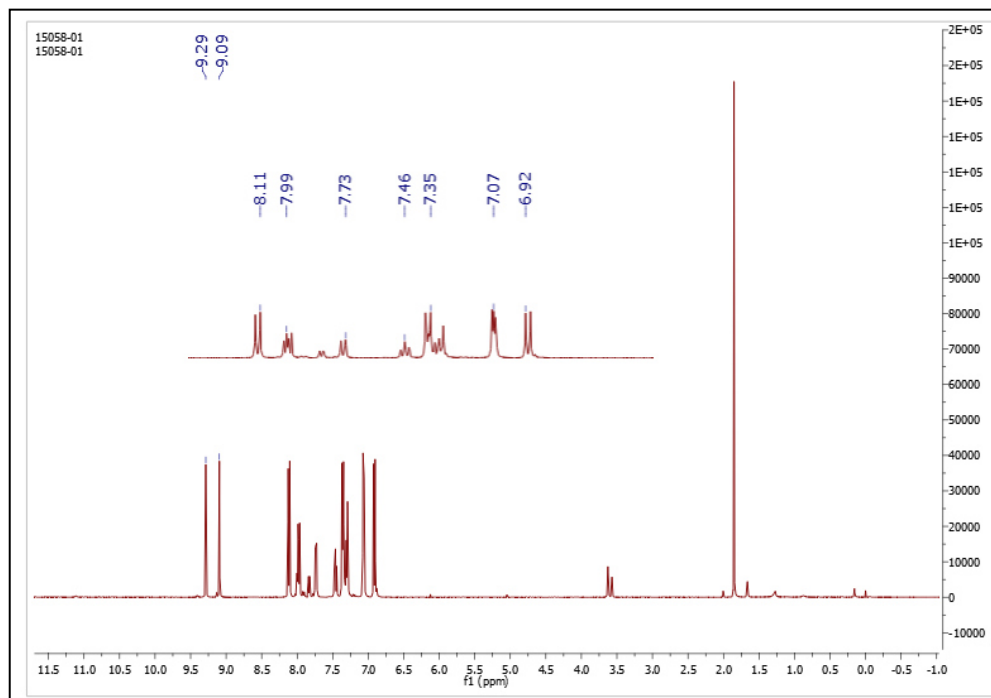
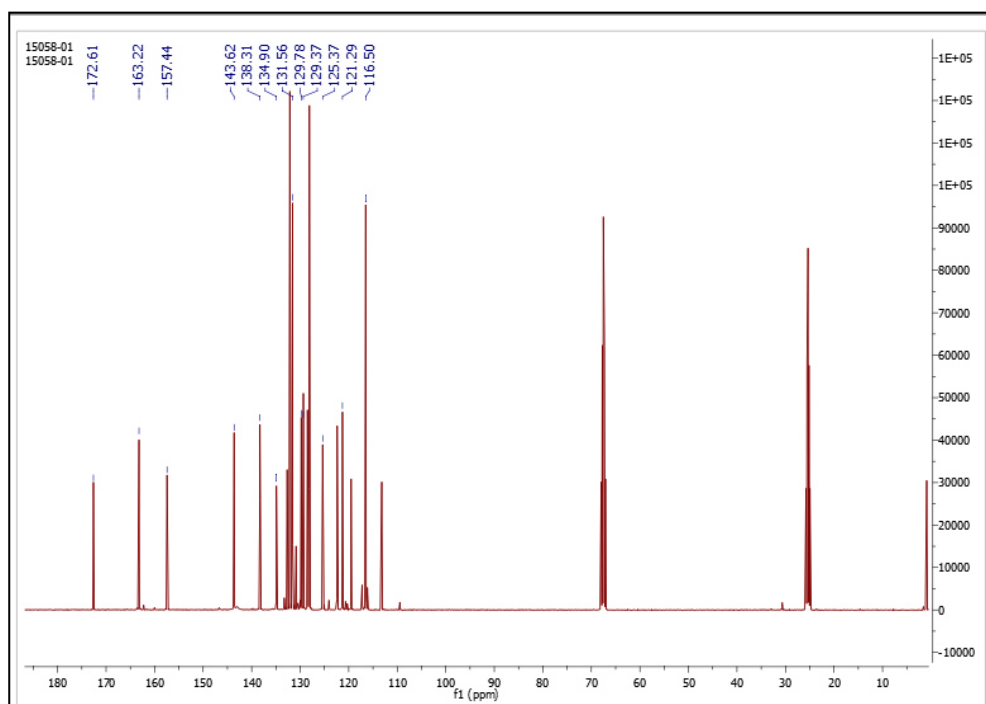


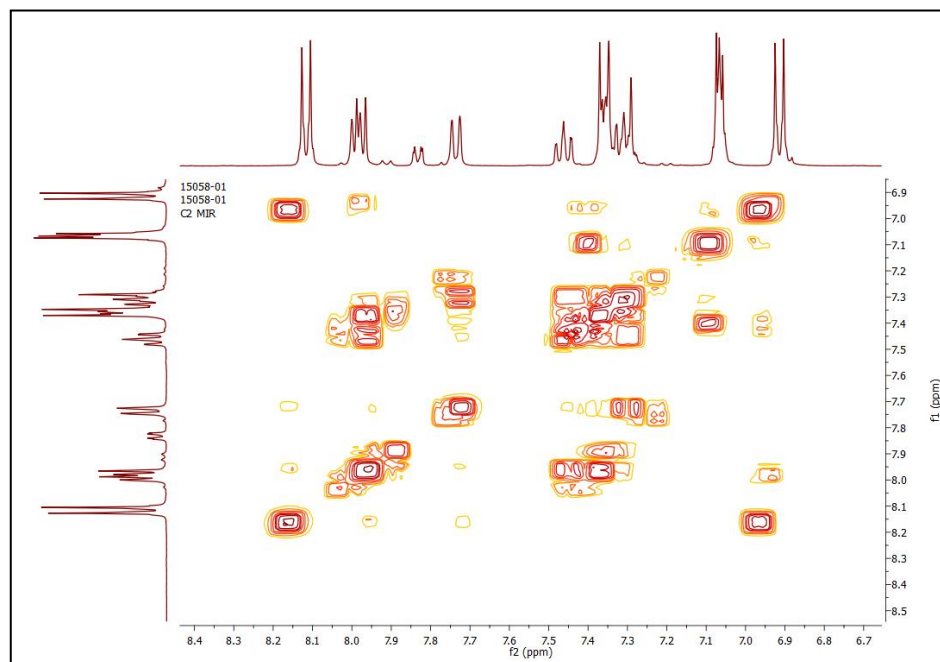
Espectro de masas para el ligante (4)

Espectro de ^1H RMN ($\text{THF-}d_8$) para el complejo (5)Espectro de ^{13}C RMN ($\text{THF-}d_8$) para el complejo (5)

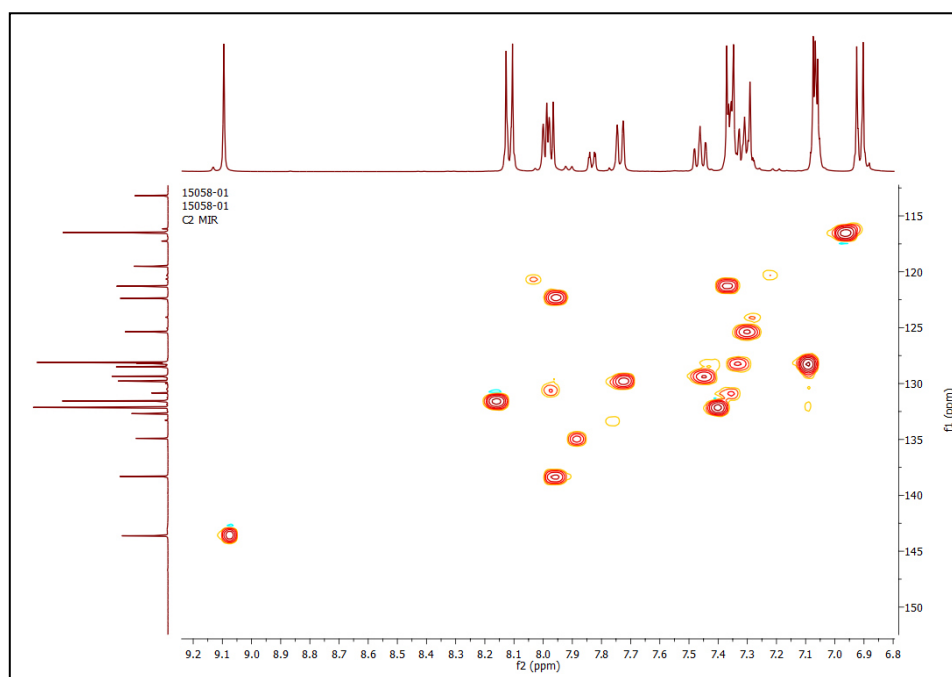
Espectro de ^{11}B RMN (THF- d_8) para el complejo (5)

Espectro de masas para el complejo (5)

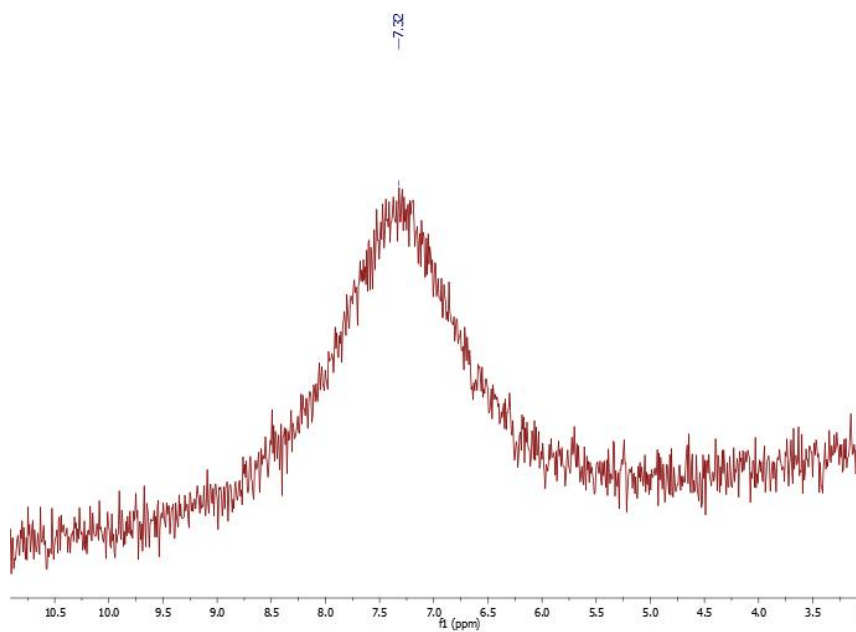
Espectro de ^1H RMN ($\text{THF-}d_8$) para el complejo (6)Espectro de ^{13}C RMN ($\text{THF-}d_8$) para el complejo (6)



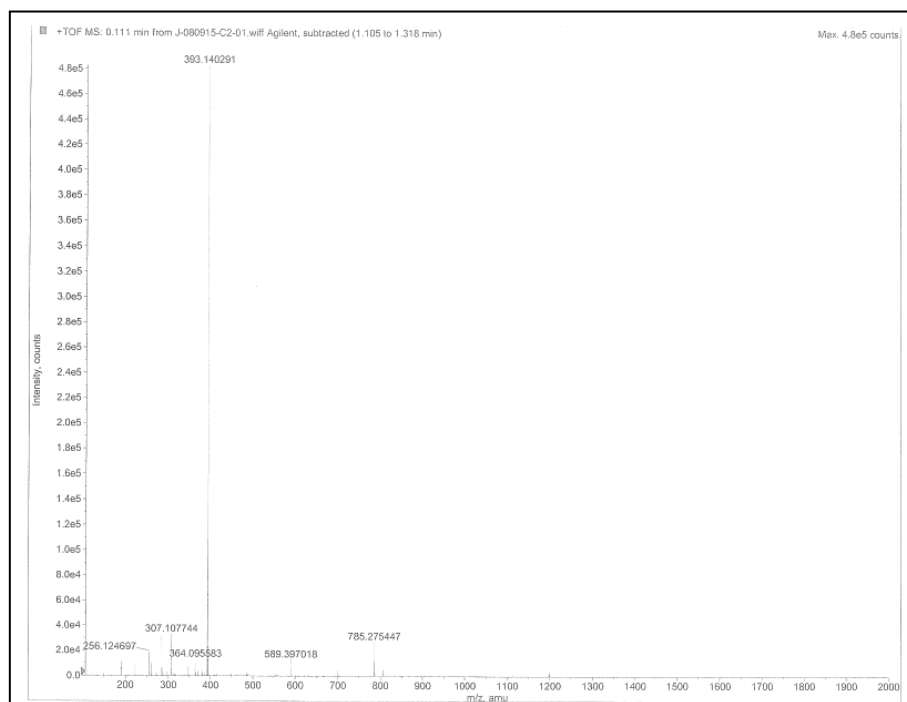
Espectro de COSY RMN (THF-*d*₈) para el complejo (6)



Espectro de HETCOR RMN (THF-*d*₈) para el complejo (6)



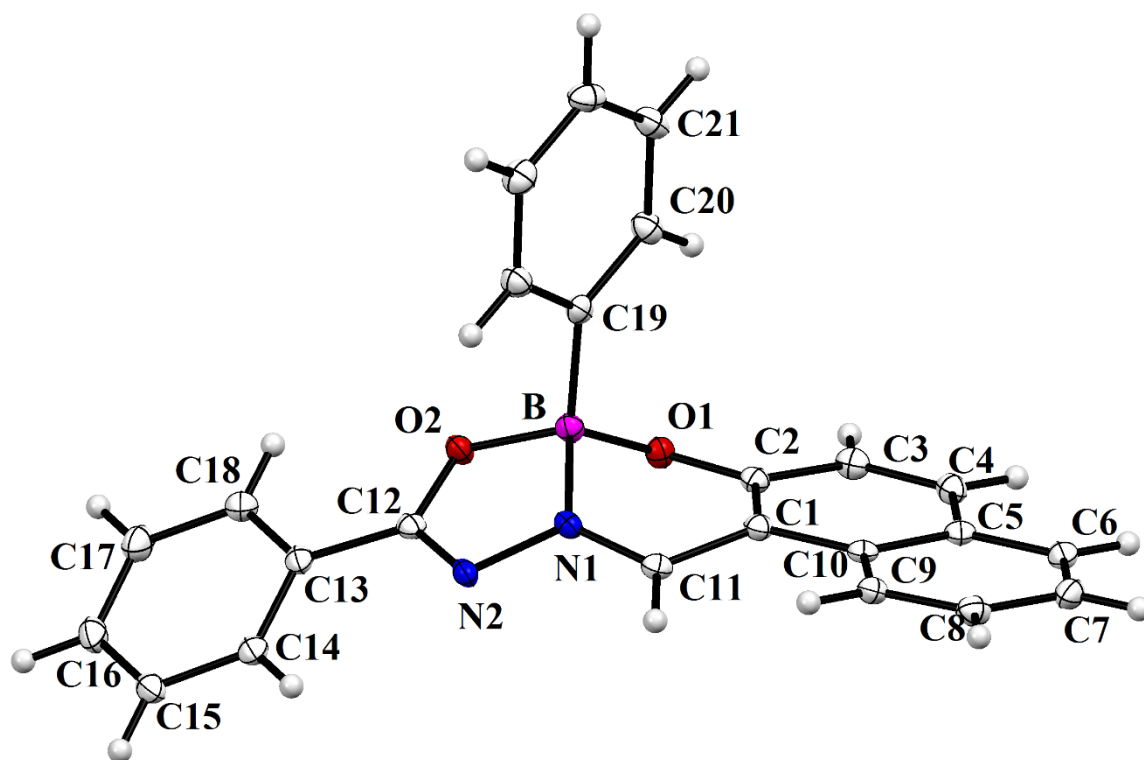
Espectro de ^{11}B RMN ($\text{THF-}d_8$) para el complejo (6)



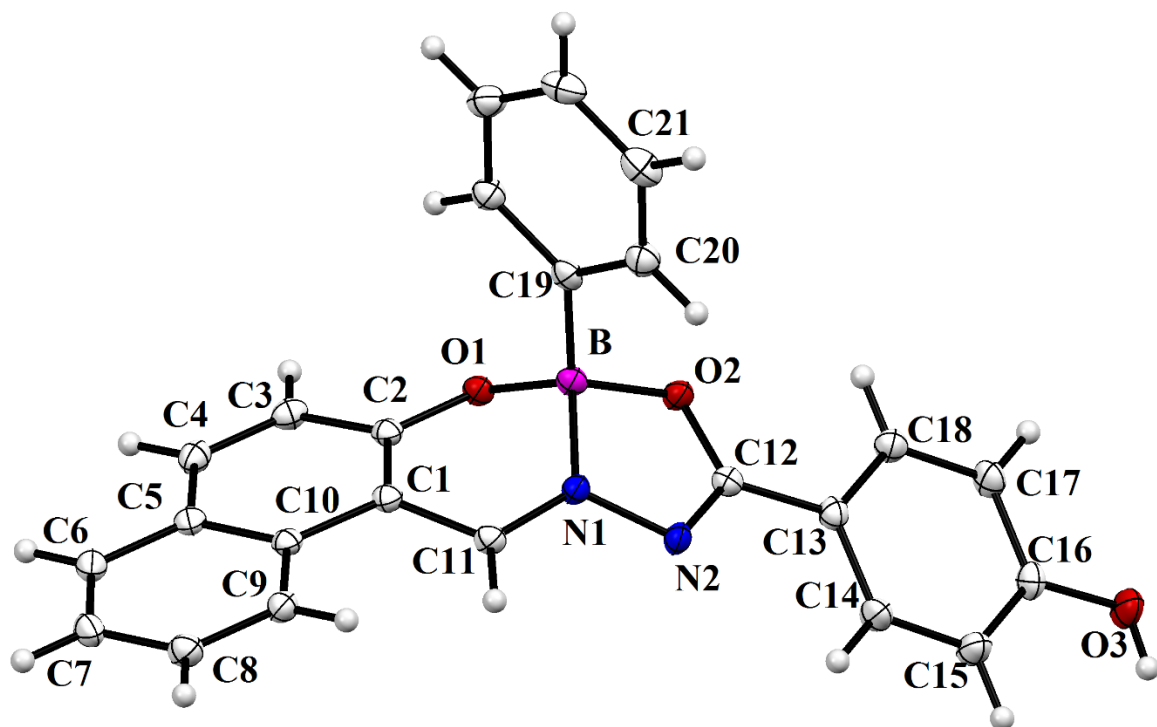
Espectro de masas para el complejo (6)

Tabla 1. Datos cristalinos y parámetros de colección del (**Complejo 5**) y (**6**).

Compuesto	5	6
Formula química	C ₂₄ H ₁₇ BN ₂ O ₂	C ₆₄ H ₆₅ B ₂ N ₄ O ₁₀
Peso Molecular	375.20	1071.82
Tamaño del cristal [mm]	0.44x0.41x0.23	0.47x0.40x0.24
Sistema cristalino	Triclinica	Monoclínico
Grupo espacial	P-1	P2(1)/n
a, [Å]	9.4370(6)	16.6839(12)
b, [Å]	9.4682(6)	11.1619(8)
c, [Å]	11.5742(8)	30.099(2)
α, [°]	110.6635(10)	90
β, [°]	101.7422(10)	94.6244(13)
γ, [°]	100.2423(11)	90
V, [Å ³]	911.53(10)	5586.9(7)
Z	2	4
ρ(calcd.)[Mg/m ³]	1.367 gcm ³	1.274
μ [mm ⁻¹]	0.087	0.085
F000	390	2268
Intervalos indexados	-11≤h≤11, -11≤k≤11, -14≤l≤14	-20≤h≤20, -14≤k≤14, -37≤l≤37
2 θ [°]	2.82 – 37.83	3.06 – 37.52
Temperatura, [K]	100 (2)	100 (1)
Refl. Colectadas	8980	56151
Refl. Únicas	3703	114542
Refl. Observadas (4sigma)	3526	10256
R(int.)	0.0366	0.0429
Goof	1.047	1.020
R1, wR2 (I>2 σ (I))	0.038/0.0963	0.0499/0.1175
R1, wR2 (all data)	0.0366/0.0950	0.0447/0.1132



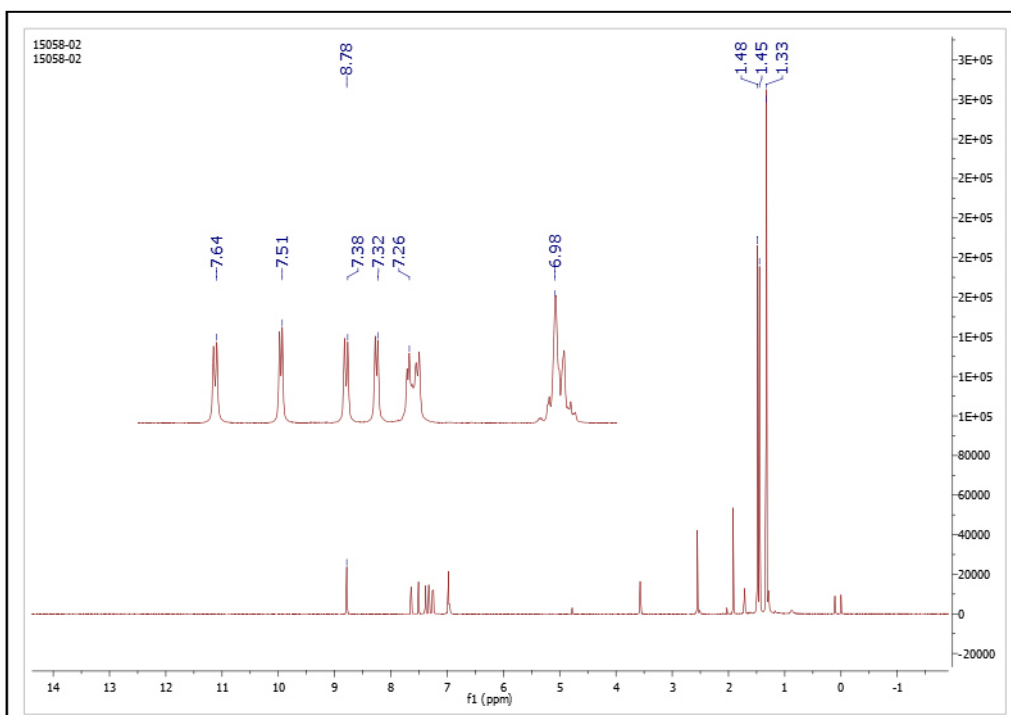
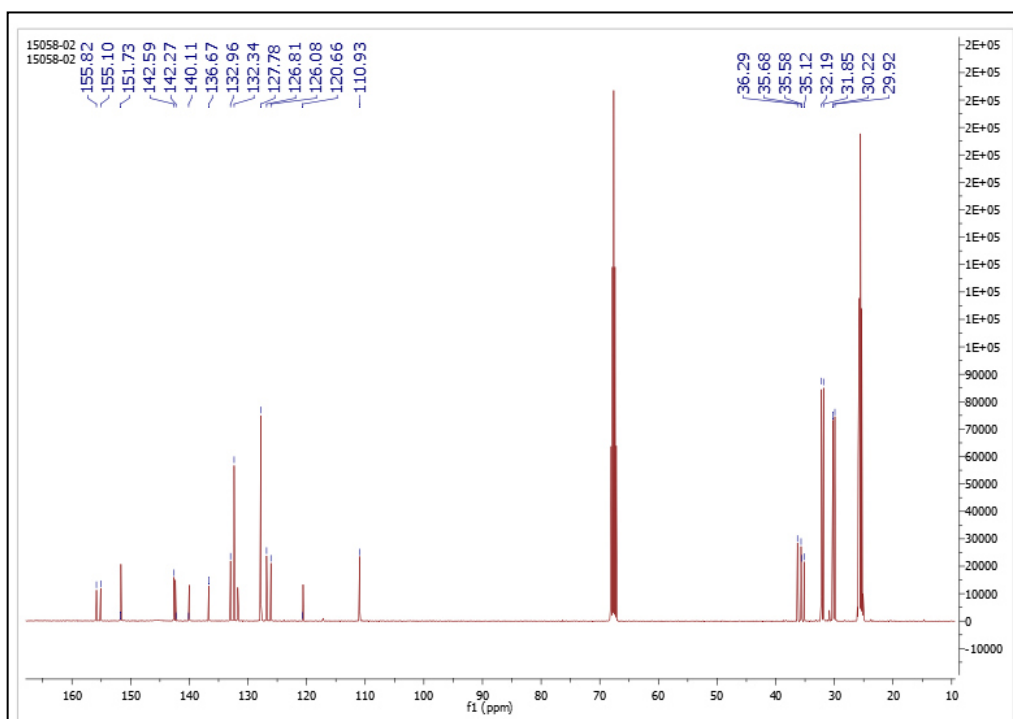
Estructura de rayos-X para el complejo (5)

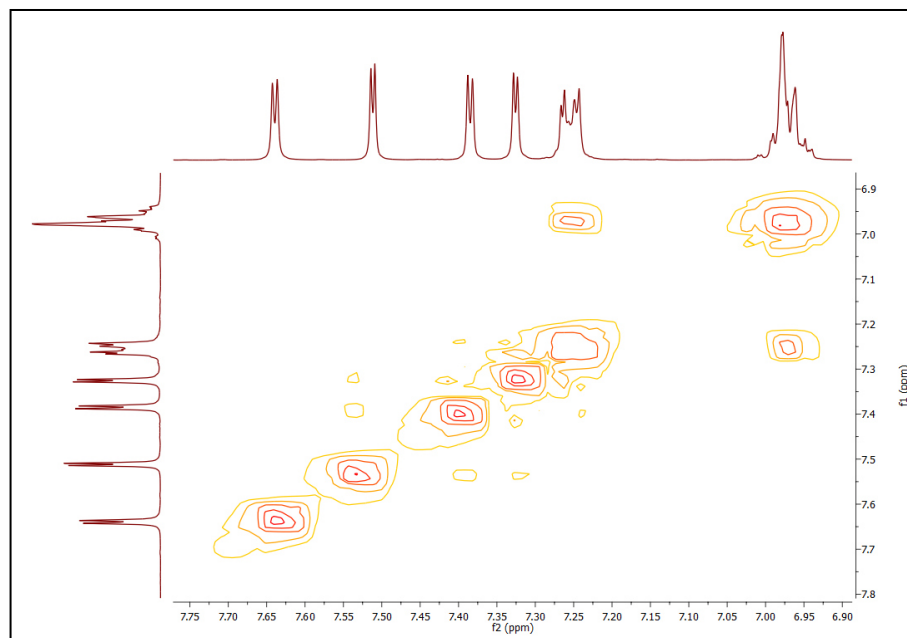


Estructura de rayos-X para el complejo (6)

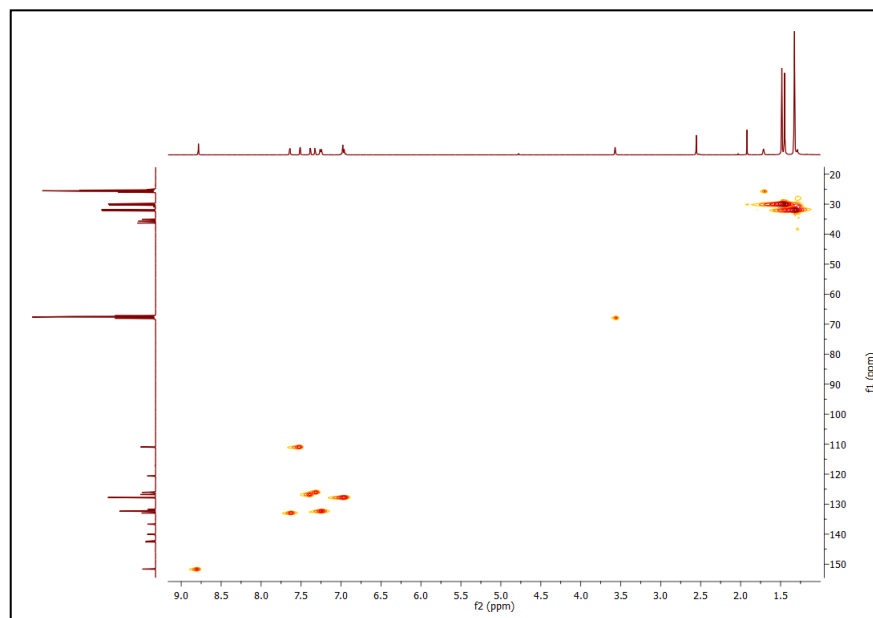
Tabla 2. Selección de longitudes (Å) y ángulos de enlace (°) para el complejo
(5 y 6)

	5	6
B(1)-O(1)	1.468 (2)	1.469 (2)
B(1)-O(2)	1.500 (2)	1.499 (2)
B(1)-N(1)	1.564 (1)	1.562 (2)
B(1)-C(19)	1.604 (2)	1.601 (2)
C(2)-O(1)	1.345 (1)	1.343 (2)
C(12)-O(2)	1.331 (1)	1.332 (2)
C(11)-N(1)	1.293 (1)	1.293 (2)
N(1)-N(2)	1.392 (2)	1.395 (2)
N(2)-C(12)	1.309 (1)	1.311 (2)
C(12)-C(13)	1.469 (2)	1.460 (2)
C(11)-C(1)	1.441 (2)	1.436 (2)
C(16)-O(3),N3		1.354 (2)
O(1)-B(1)-C(19)	113.19 (9)	112.90 (1)
C(19)-B(1)-O(2)	113.21 (9)	113.50 (1)
O(2)-B(1)-O(1)	112.69 (9)	112.80 (1)
N(2)-C(12)-O(2)	119.80 (1)	119.20 (1)

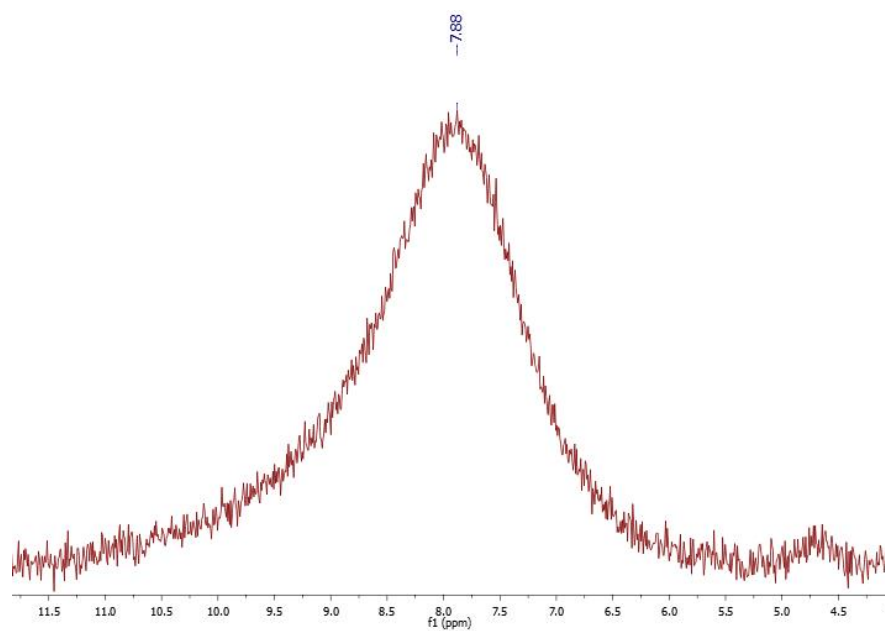
Espectro de ^1H RMN ($\text{THF}-d_8$) para el complejo (7)Espectro de ^{13}C RMN ($\text{THF}-d_8$) para el complejo (7)



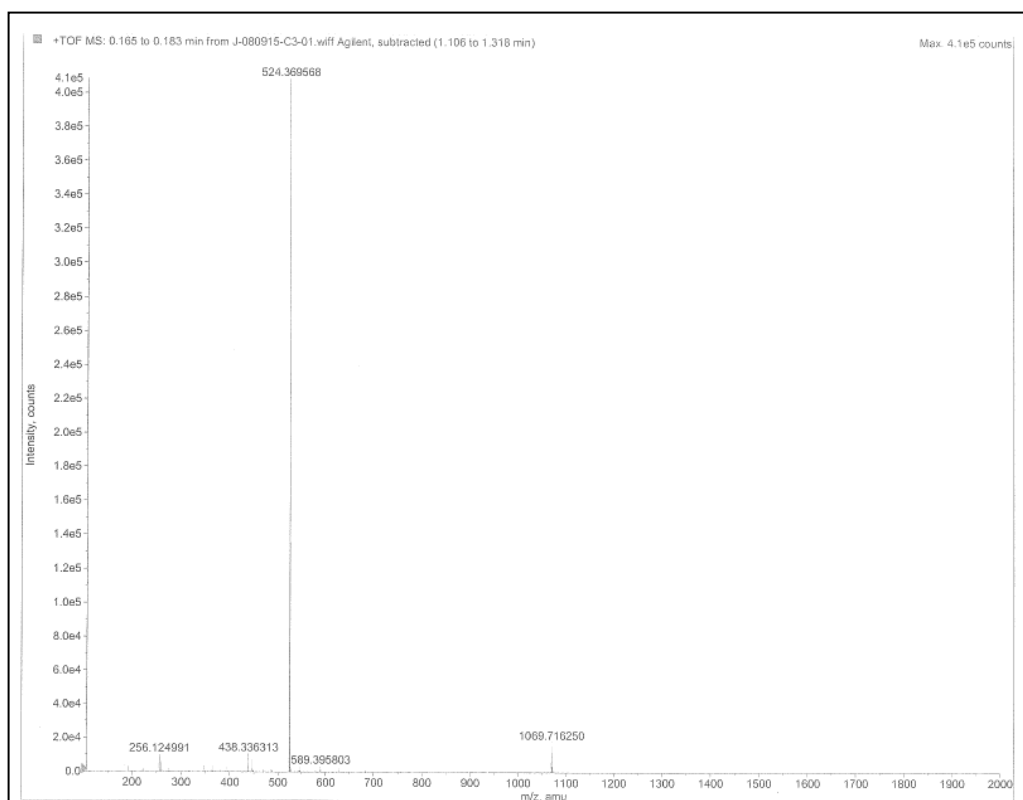
Espectro de COSY RMN (THF-*d*₈) para el complejo (7)



Espectro de HETCOR RMN (THF-*d*₈) para el complejo (7)



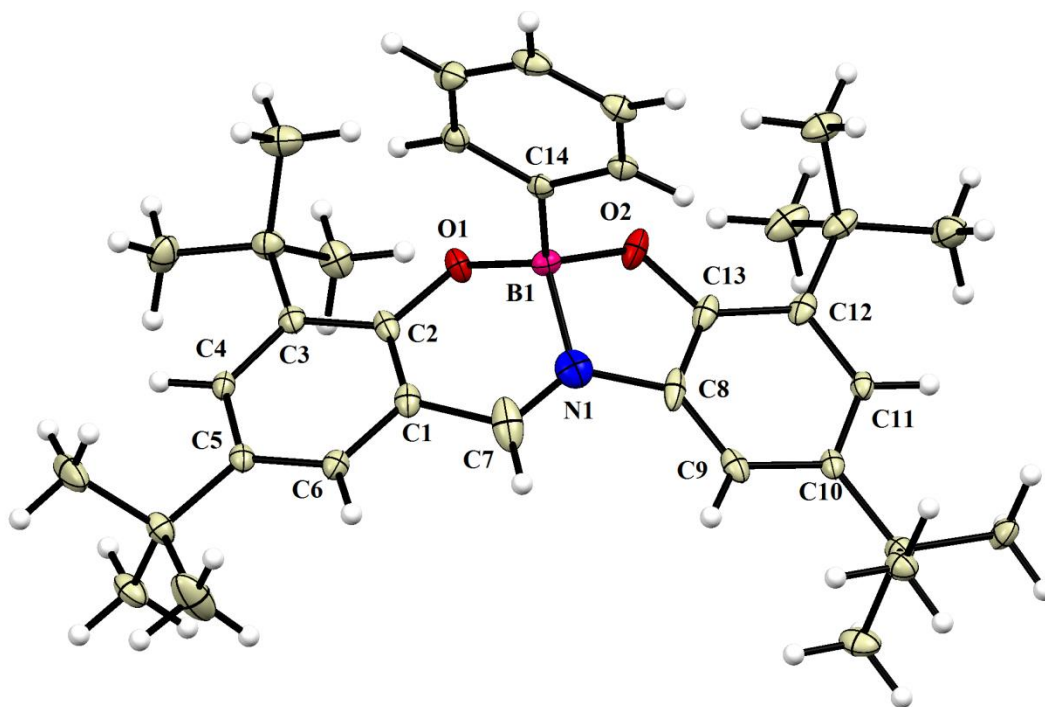
Espectro de ^{11}B RMN ($\text{THF-}d_3$) para el complejo (7)



Espectro de masas para el complejo (7)

Tabla 4. Datos cristalinos y parámetros de colección del **(Complejo 7)**.

<i>Compuesto</i>	<i>7</i>
Formula química	C ₃₅ H ₄₆ BNO ₂
Peso Molecular	523.54
Tamaño del cristal [mm]	0.43 x 0.41 x 0.28
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P2(1)/n
a, [Å]	12.6934(11)
b, [Å]	18.5229(16)
c, [Å]	14.3034(12)
α, [°]	90
β, [°]	112.1797(12)
γ, [°]	90
V, [Å ³]	3114(5)
Z	4
ρ(calcd.)[Mg/m ³]	1.117 gcm ³
μ [mm ⁻¹]	0.067
F000	1136
Intervalos indexados	-15≤h≤5, -22≤k≤22, -17≤l≤17
2 θ [°]	2.93 – 27.58
Temperatura, [K]	100 (2)
Refl. Colectadas	29497
Refl. Únicas	6096
Refl. Observadas (4sigma)	5426
R(int.)	0.0283
GooF	1.033
R1, wR2 (I>2 σ (I))	0.0529/0.1298
R1, wR2 (all data)	0.0596/0.1355

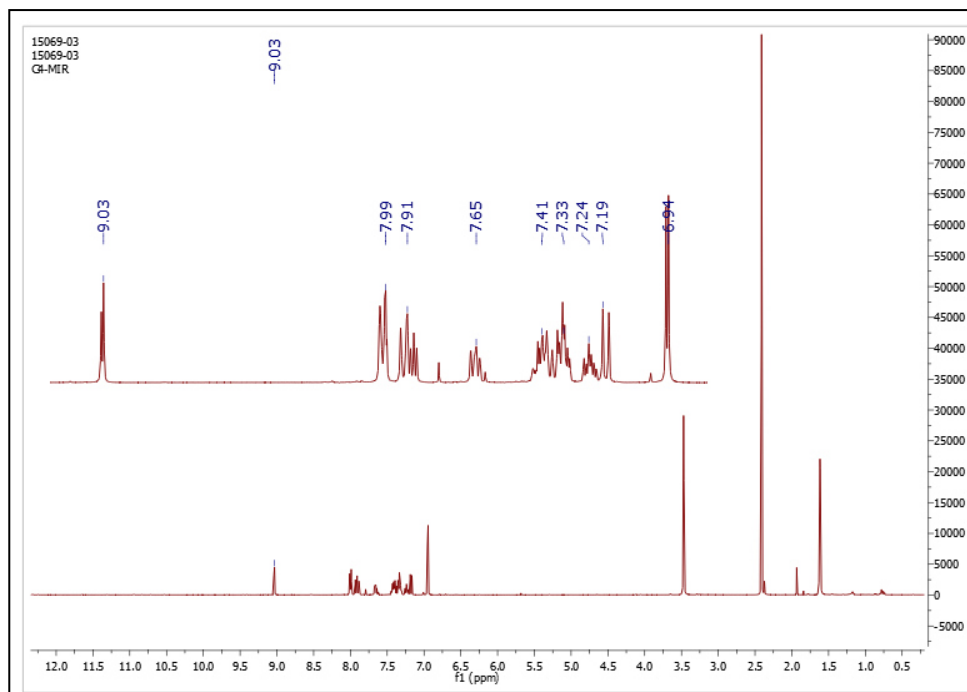


Estructura de rayos-X para el complejo (7)

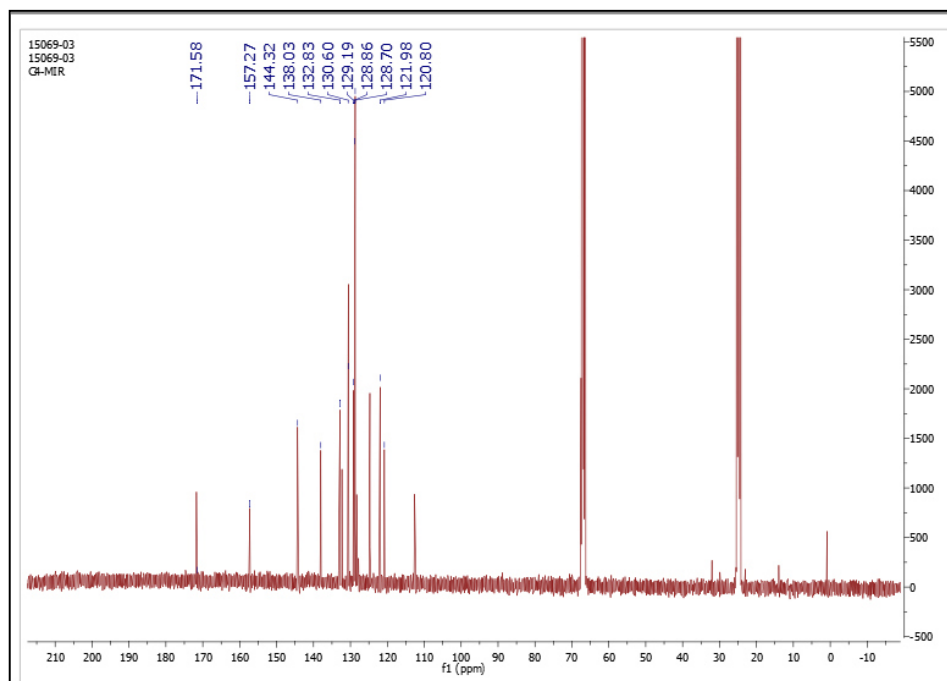
Tabla 5. Selección de longitudes (Å) y ángulos de enlace (°) para el complejo

(7)

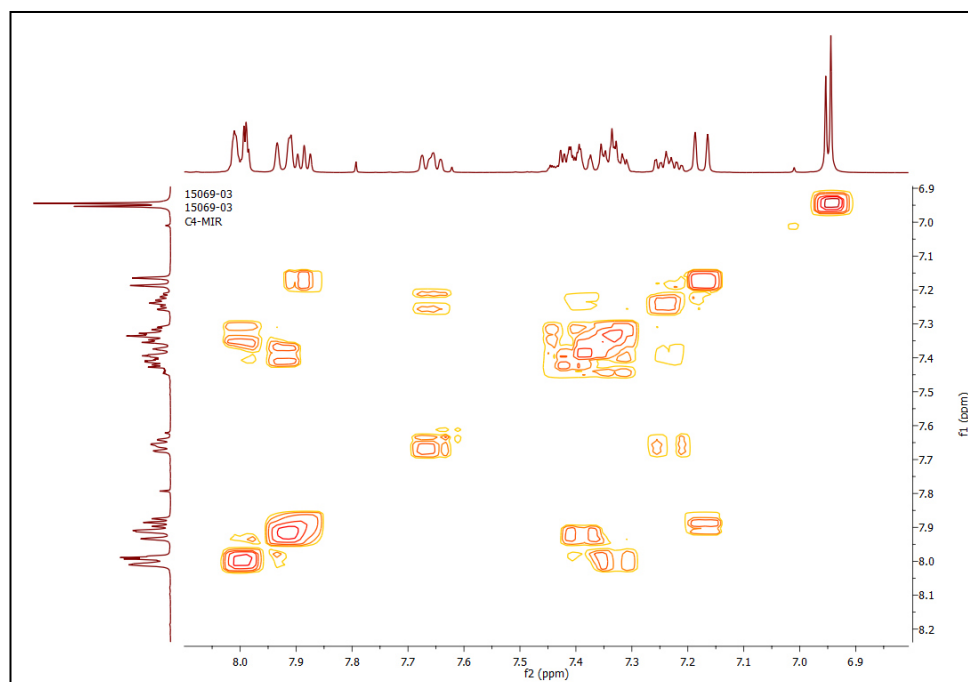
Enlaces / ángulos	7
B(1)-O(1)	1.4536(18)
B(1)-O(2)	1.4774(19)
B(1)-N(1)	1.596(2)
B(1)-C(14)	1.609(2)
O(1)-C(2)	1.3506(17)
C(2),(7)-C(1)	1.480(2)
C(2)-C(1)	1.401(2)
C(7)-N(1)	1.280(2)
N(1)-C(8)	1.4149(19)
C(8)-C(13)	1.397(3)
C(13)-O(2)	1.3554(18)
O(2)-B(1)-C(14)	111.61(11)
O(1)-B(1)-C(14)	113.77(11)
O(2)-B(1)-N(1)	95.13(11)
O(2)-B(1)-O(1)	112.75(11)
N(1)-B(1)-C(14)	110.81(11)
O(1)-B(1)-N(1)	111.33(12)



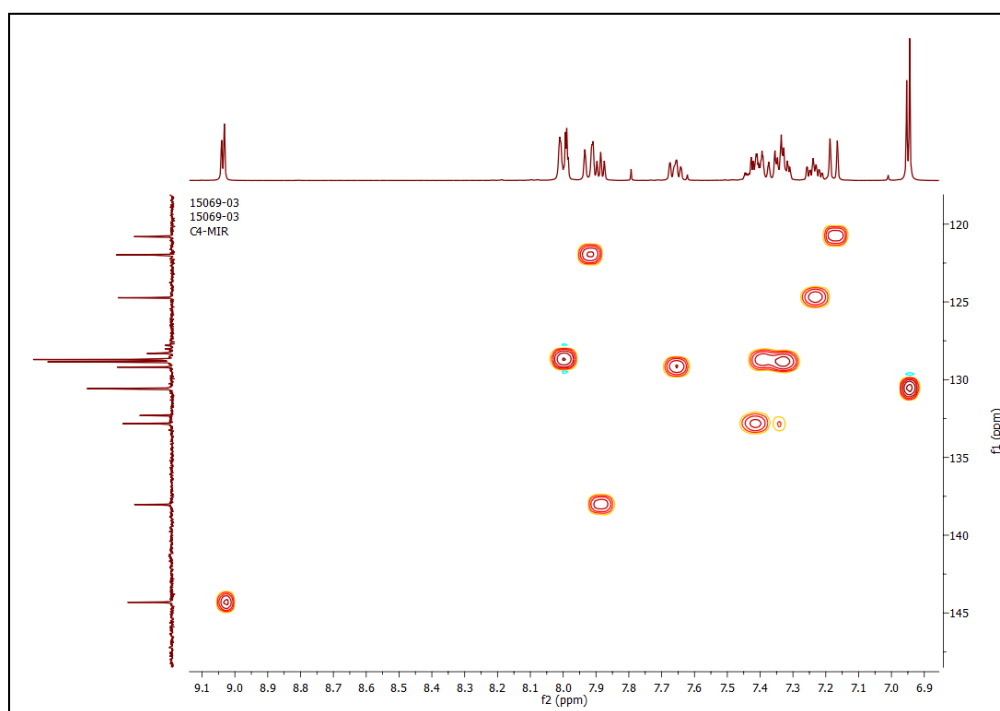
Espectro de ^1H RMN ($\text{THF-}d_8$) para el complejo (**8**)



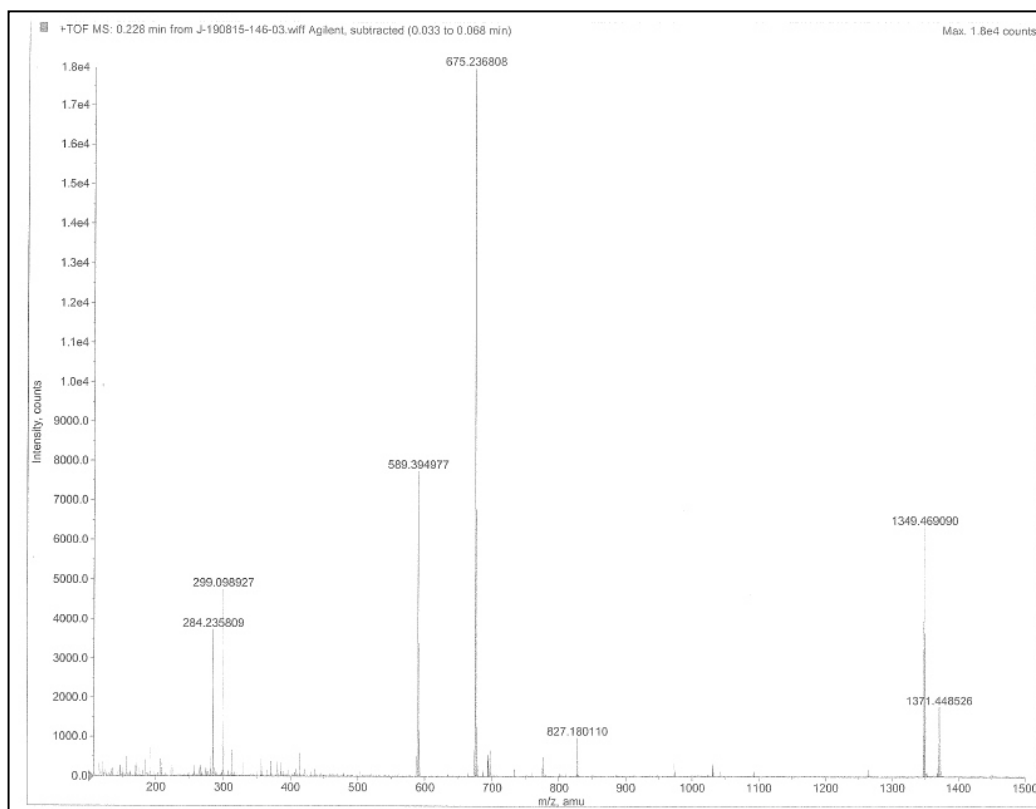
Espectro de ^{13}C RMN ($\text{THF-}d_8$) para el complejo (**8**)



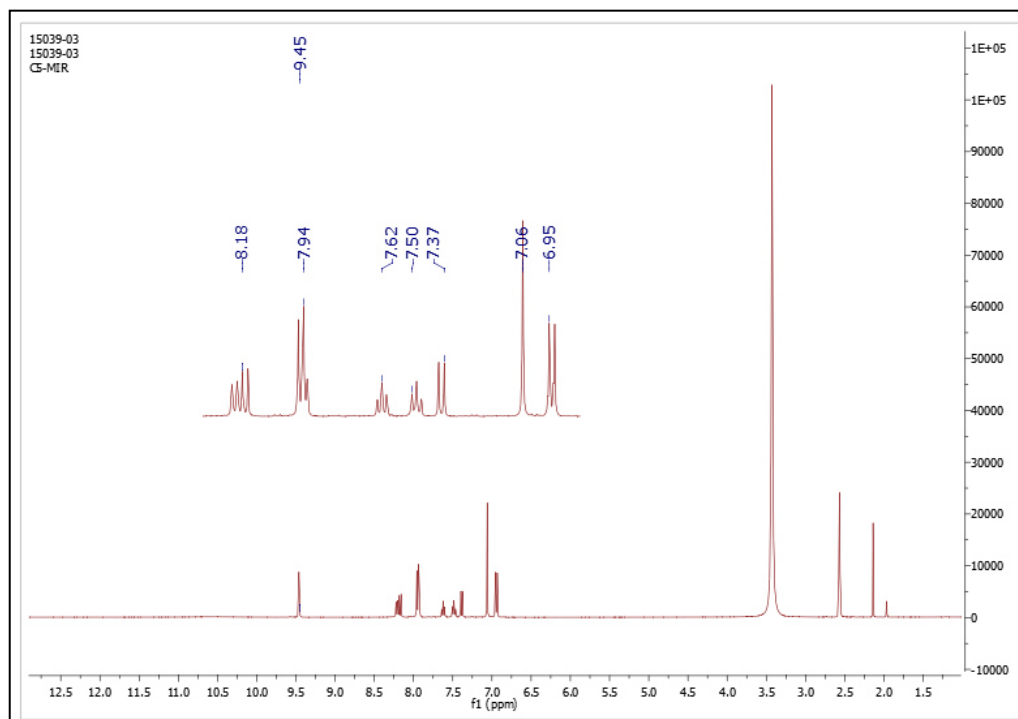
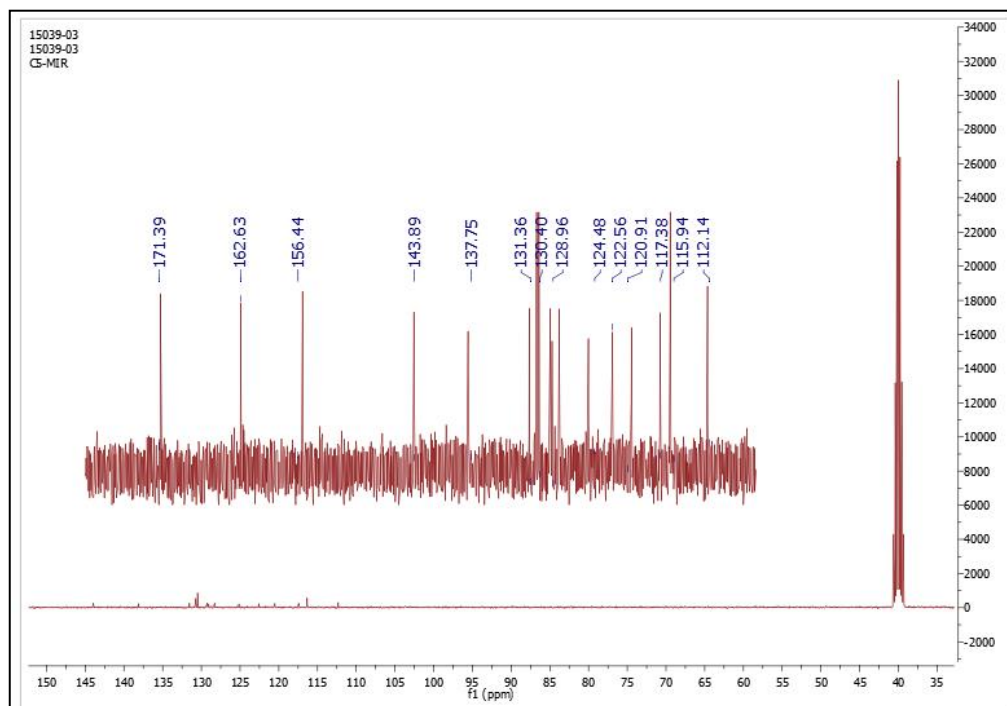
Espectro de COSY RMN (THF-*d*₈) para el complejo (8)

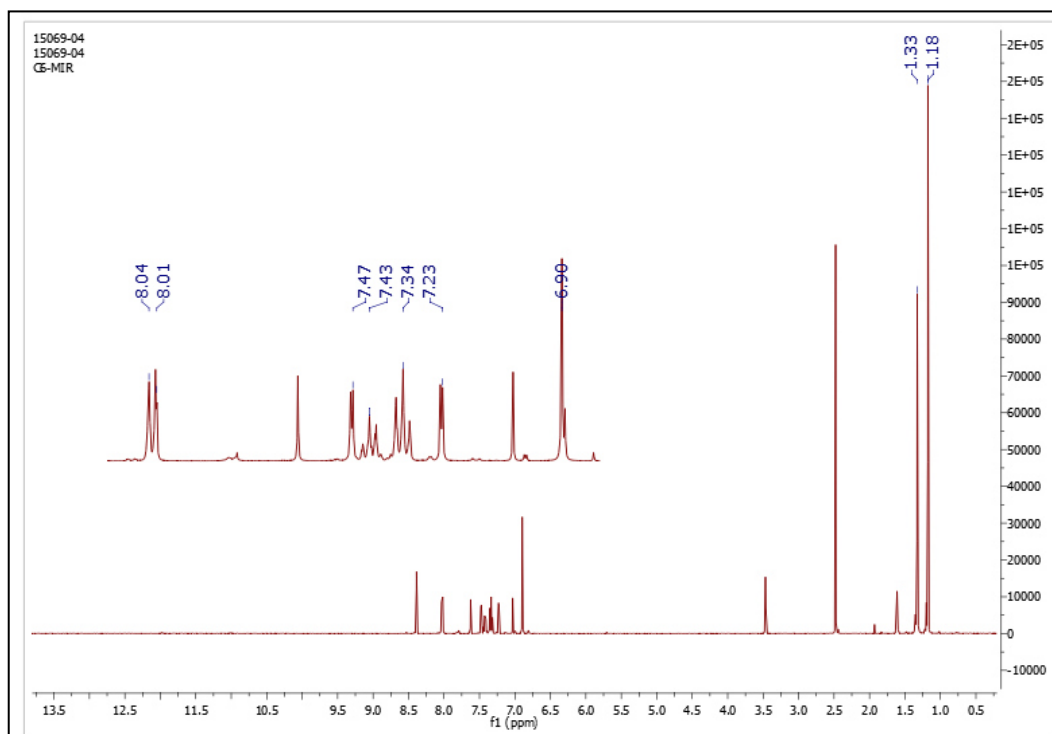
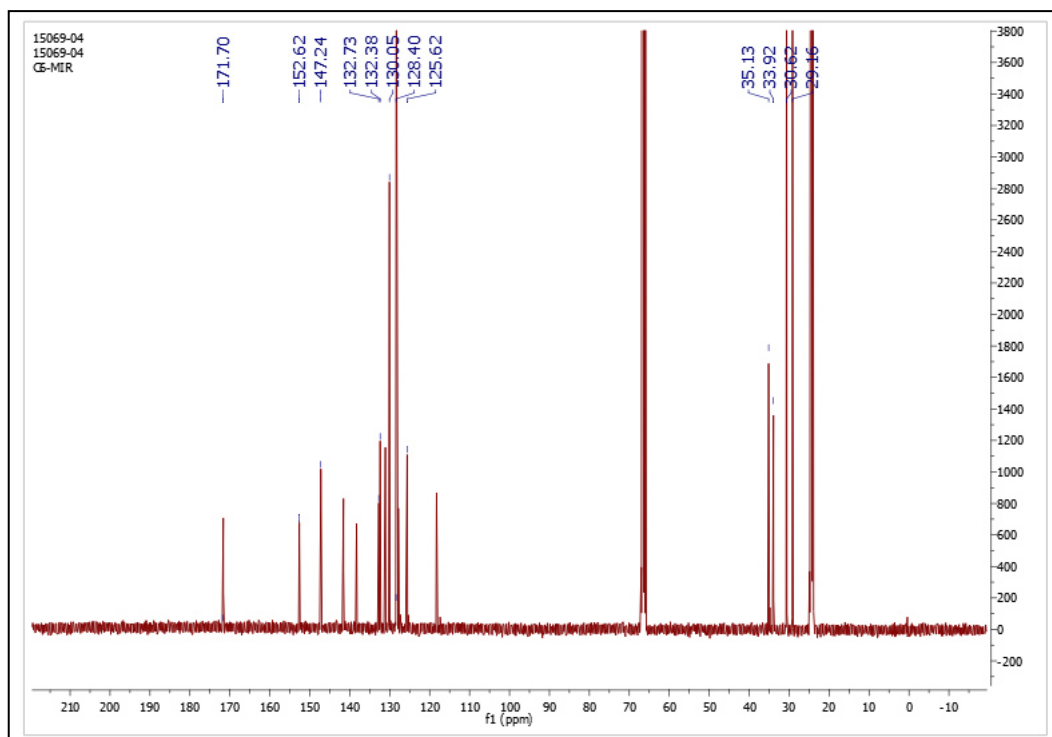


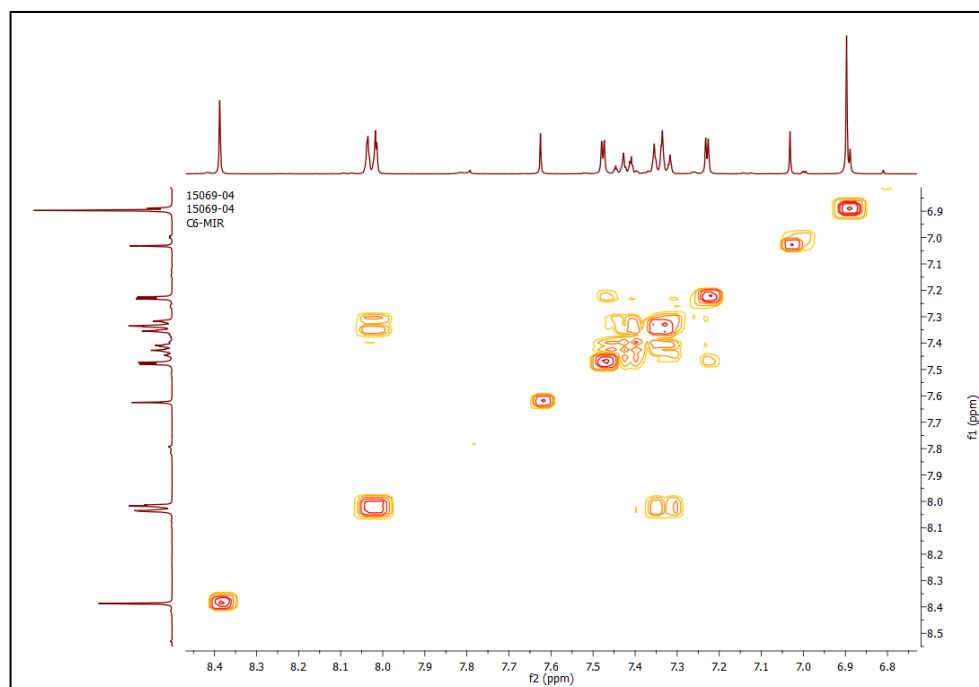
Espectro de HETCOR RMN (THF-*d*₈) para el complejo (8)



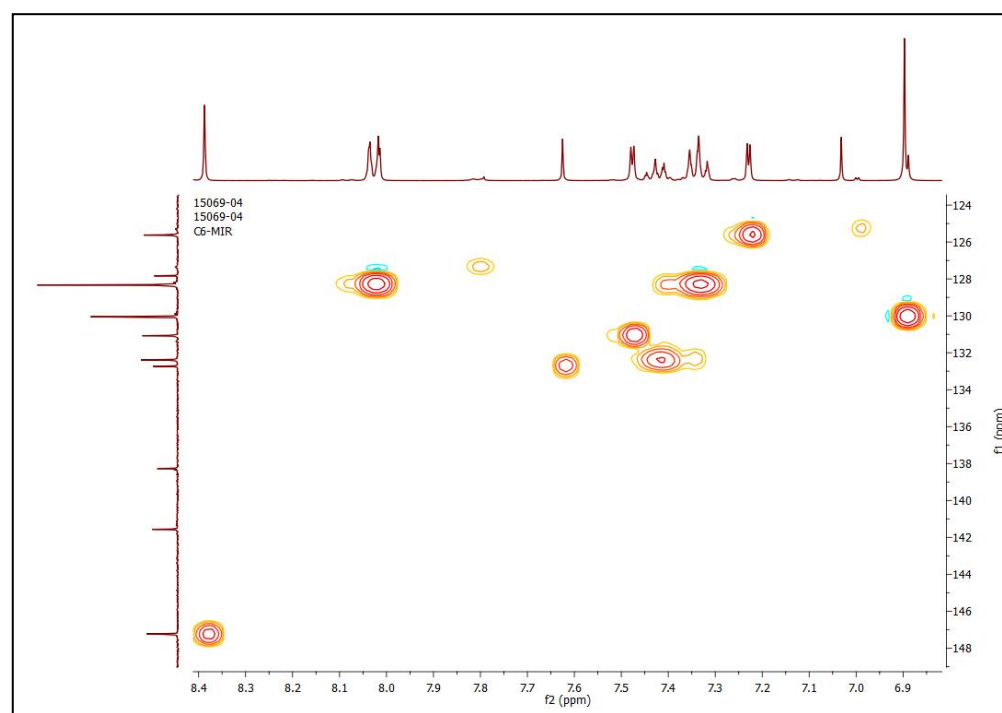
Espectro de masas para el complejo (8)

Espectro de ^1H RMN ($\text{DMSO-}d_6$) para el complejo (9)Espectro de ^{13}C RMN ($\text{DMSO-}d_6$) para el complejo (9)

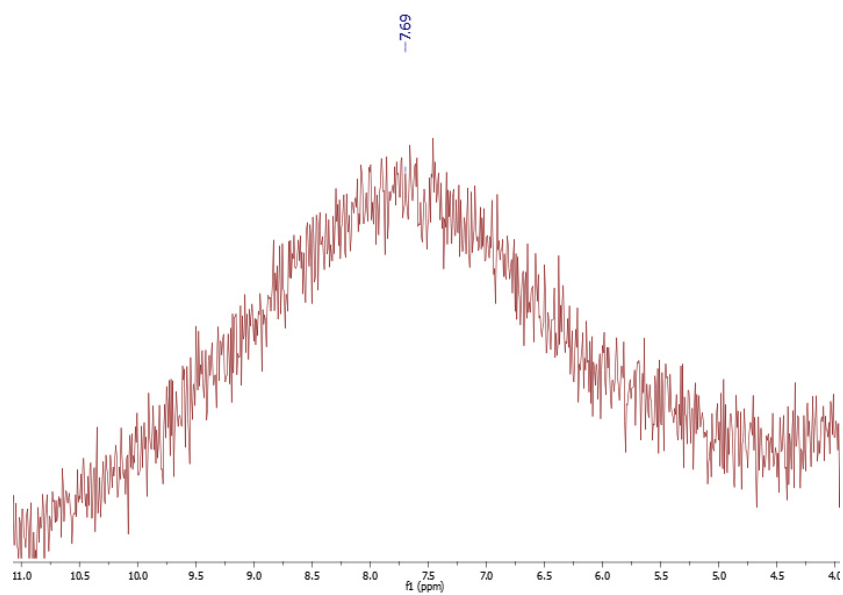
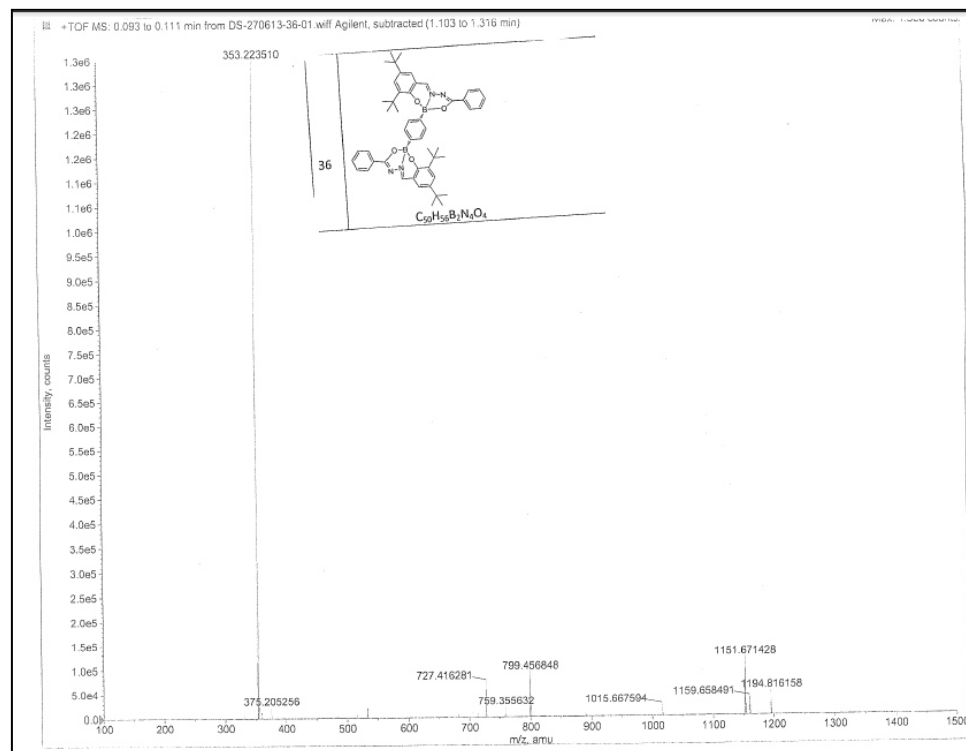
Espectro de ^1H RMN ($\text{THF-}d_8$) para el complejo (10)Espectro de ^{13}C RMN ($\text{THF-}d_8$) para el complejo (10)



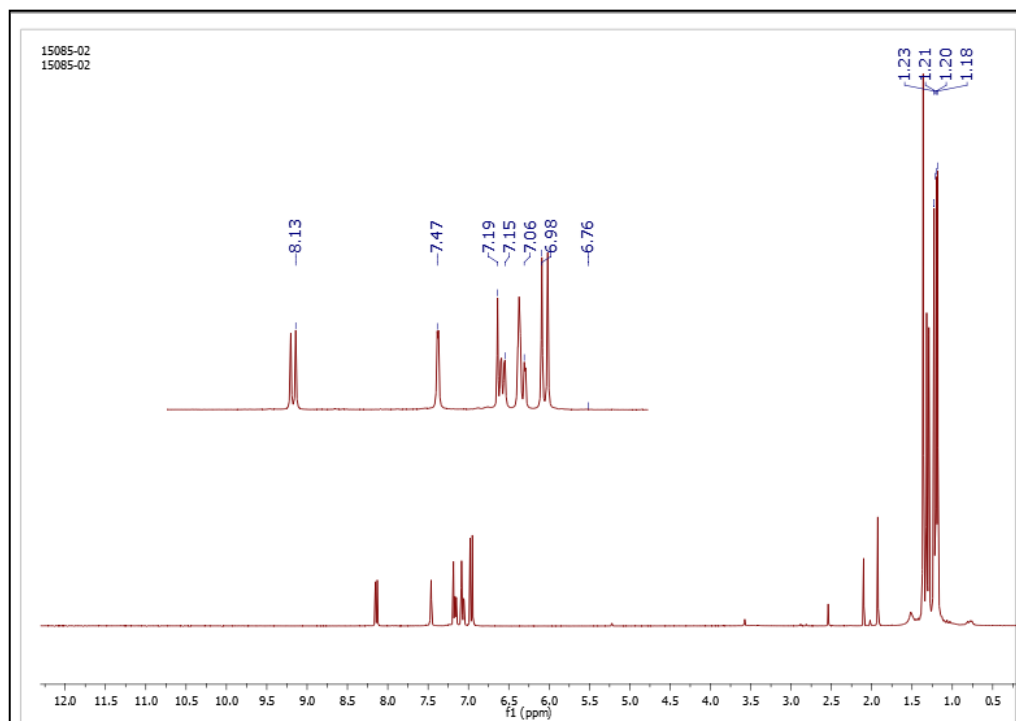
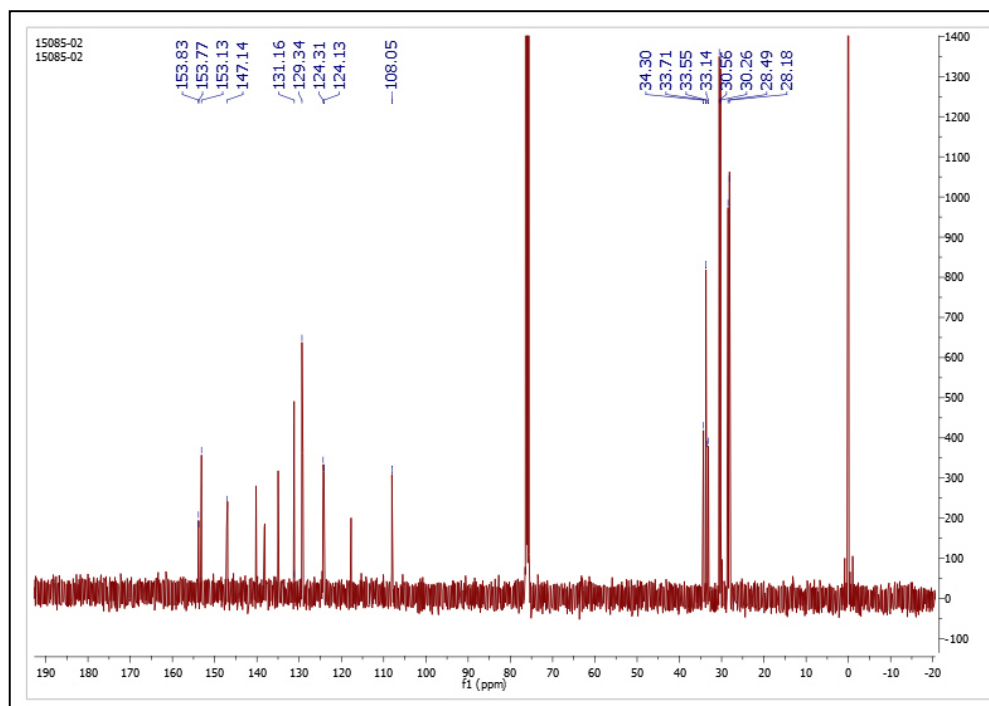
Espectro de COSY RMN (THF-*d*₈) para el complejo (10)

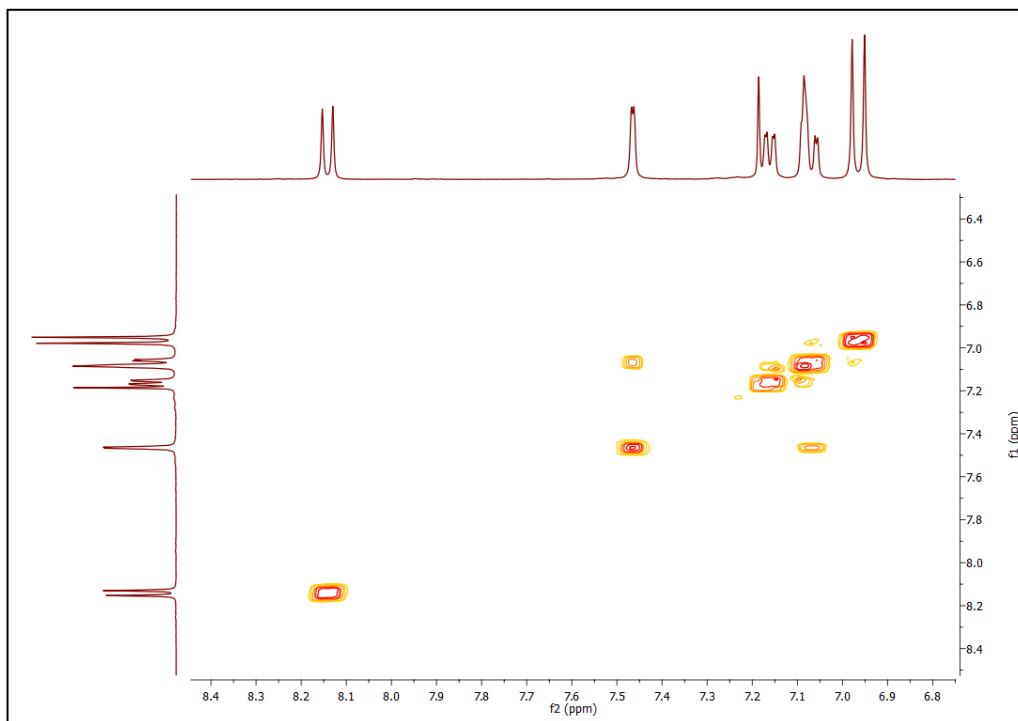


Espectro de HETCOR RMN (THF-*d*₈) para el complejo (10)

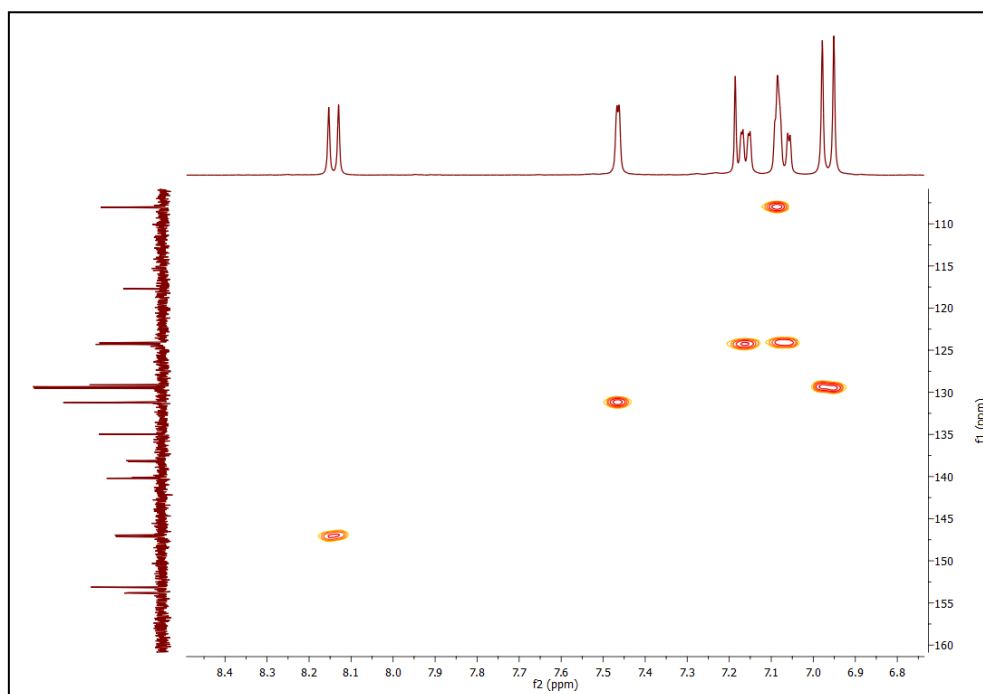
Espectro de ^{11}B RMN (THF- d_8) para el complejo (10)

Espectro de masas para el complejo (10)

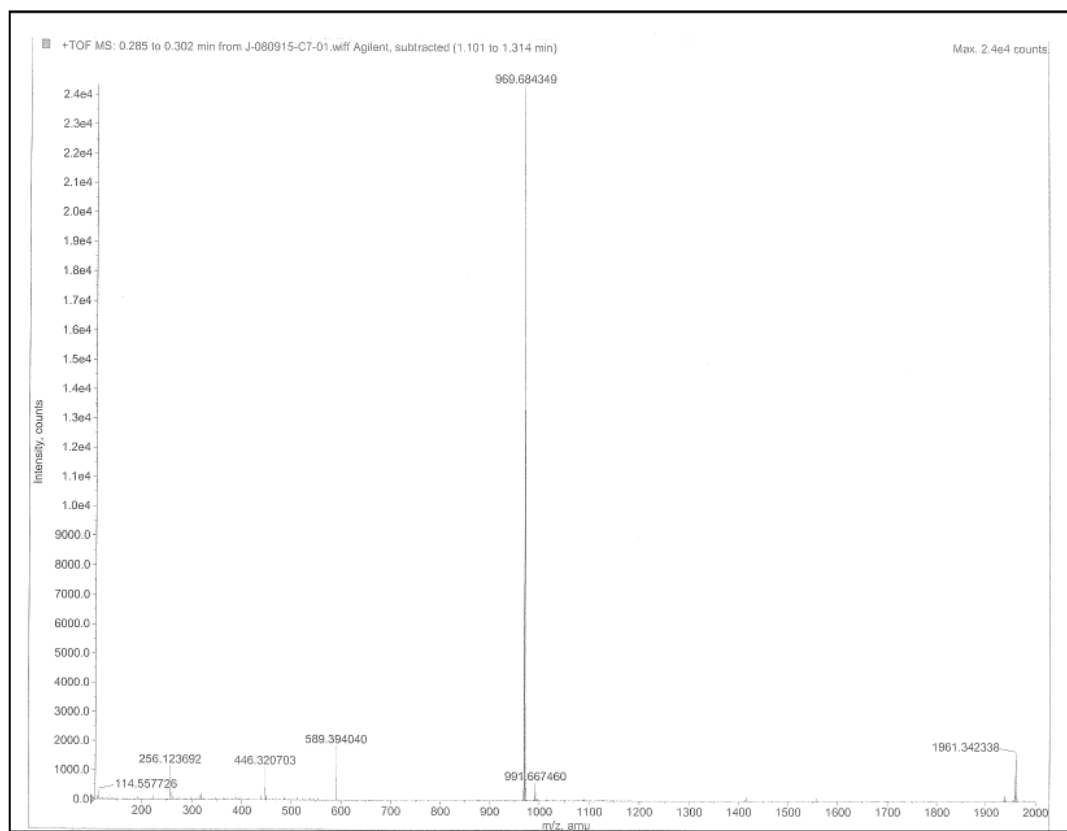
Espectro de ^1H RMN ($\text{THF-}d_8$) para el complejo (11)Espectro de ^{13}C RMN ($\text{THF-}d_8$) para el complejo (11)



Espectro de COSY RMN (THF- d_8) para el complejo (11)



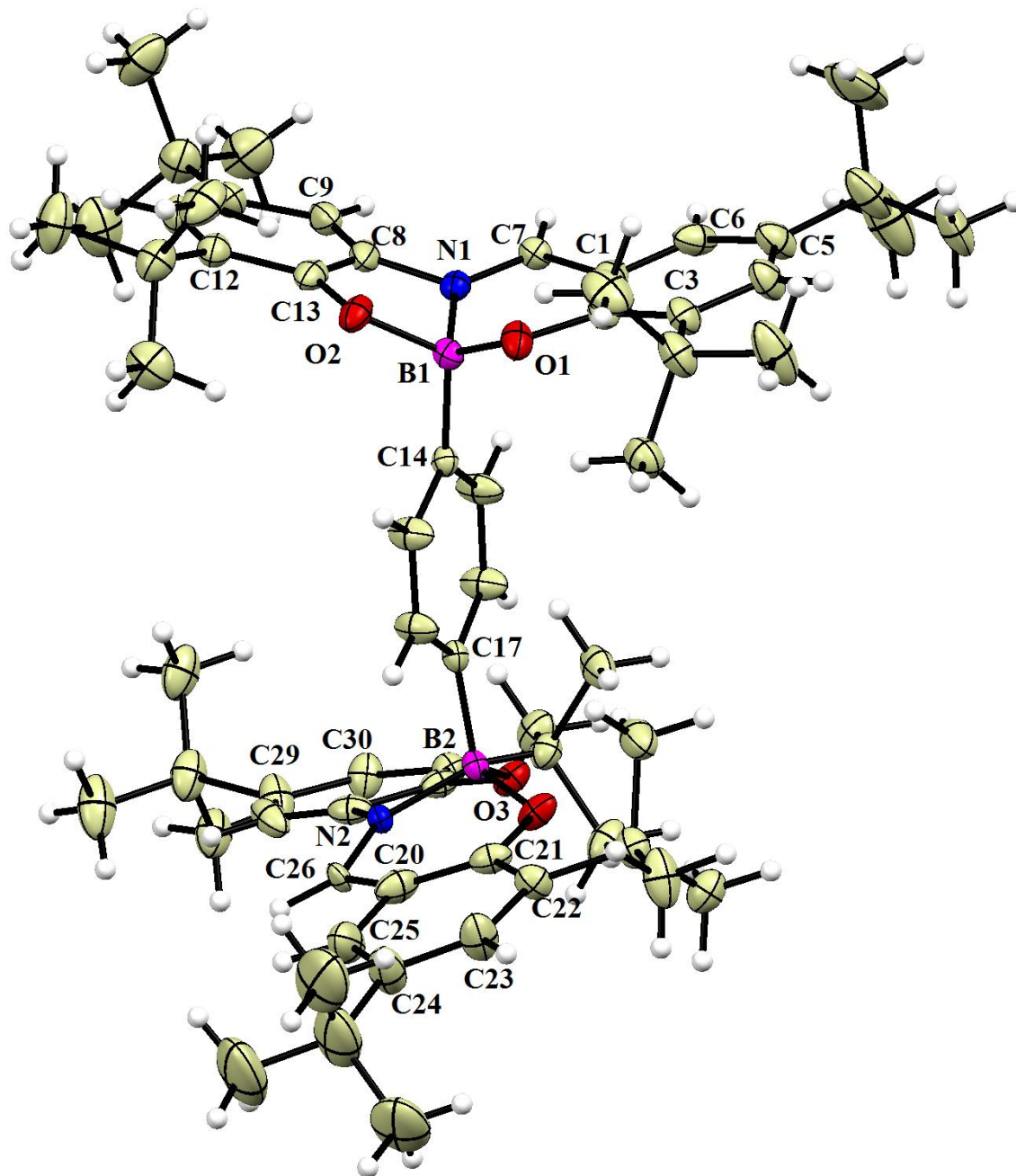
Espectro de HETCOR RMN (THF- d_8) para el complejo (11)



Espectro de masas para el complejo (11)

Tabla 6. Datos cristalinos y parámetros de colección del (**Complejo 11B**)

Compuesto	11B
Formula química	C ₆₇ H ₉₂ B ₂ N ₂ O ₅
Peso Molecular	1027.04
Tamaño del cristal [mm]	0.25x0.24x0.17
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P2(1)/n
a, [Å]	18.851(6)
b, [Å]	17.727(6)
c, [Å]	18.924(6)
α, [°]	90
β, [°]	96.903(5)
γ, [°]	90
V, [Å ³]	6278(4)
Z	4
ρ(calcd.)[Mg/m ³]	1.087
μ [mm ⁻¹]	0.066
Intervalos indexados	-23≤h≤23, -21≤k≤21, -23≤l≤23
2 θ [°]	5.58-51.996
Temperatura, [K]	100(2)
Refl. Colectadas	60444
Refl. Observadas	12238
(4sigma)	
R(int.)	0.0499
GooF	1.014
R1, wR2 (I>2 σ (I))	0.0719/0.1758
R1, wR2 (all data)	0.1061/0.1971



Estructura de rayos-X para el complejo (11)

Tabla 7. Selección de longitudes (Å) y ángulos de enlace (°) para el complejo (**11B**)

Enlaces / ángulos	11B
B(1)-O(1)	1.451(3)
B(1)-O(2)	1.455(3)
B(1)-N(1)	1.587(6)
B(1)-C(14)	1.591(3)
O(1)-C(2)	1.343(3)
C(2),(7)-C(1)	1.482(7)
C(2)-C(1)	1.396(4)
C(7)-N(1)	1.266(7)
N(1)-C(8)	1.454(7)
C(8)-C(13)	1.388(4)
C(13)-O(2)	1.346(3)
O(2)-B(1)-C(14)	114.83(19)
O(1)-B(1)-C(14)	112.56(19)
O(2)-B(1)-N(1)	91.4(2)
O(2)-B(1)-O(1)	110.57(18)
N(1)-B(1)-C(14)	110.0(2)
O(1)-B(1)-N(1)	90.8(2)
B(2)-C(17)	1.593(3)
B(2)-O(4)	1.471(3)
B(2)-N(2)	1.563(6)
B(2)-O(3)	1.460(3)
O(4)-C(32)	1.352(3)
C(32)-C(27)	1.391(4)
C(27)-N(2)	1.462(6)
N(2)-C(26)	1.327(7)
C(21)-O(3)	1.346(3)
O(4)-B(2)-C(17)	113.03(18)
O(3)-B(2)-C(17)	111.89(18)
O(3)-B(2)-N(2)	90.8(3)
O(4)-B(2)-N(2)	91.9(2)
O(4)-B(2)-O(3)	111.45(18)
C(17)-B(2)-N(2)	114.5(2)

Química Marisol Ibarra Rodríguez



Hortencia 200, Villas de Santa Rosa, Apodaca N.L., C.P. 66610

Cel: 044 8115871396

Correo electrónico: mibarod_22@hotmail.com.

Fecha de Nacimiento: 23 de diciembre de 1983

Edad: 33 años

Estado civil: Casada

CURP: IARM-831223MSPBDR18

OBJETIVOS

Desarrollarme profesional y laboralmente dentro de las áreas de investigación, calidad y/o docencia, mediante la aplicación de mis conocimientos y habilidades, para de esta manera contribuir a los objetivos de la organización.

FORMACIÓN ACADÉMICA

2015-2017 **Doctorado en Ciencias con Orientación en Química de los Materiales.**

2009- 2010 **Maestría en Ciencias con Orientación en Química de los Materiales.**

Facultad de Ciencias Químicas UANL.

2000-2005 **Licenciatura en Química Industrial.**

Facultad de Ciencias Químicas UANL. **Cedula 4846584**

Junio 07 **Auditor Interno ISO 9001:2000 y Formación de Auditores Lideres.**

Marzo 08 **Diplomado en Manufactura Esbelta.**

Abril 08 1.- **Análisis y Evaluación de los Plásticos.** Cromatografía, Infrarrojo, Técnicas Mecánicas. 2.- **Propiedades de los plásticos.** **CIQA**

Enero 09 **Diplomado en Calidad y Productividad.** **ITESM**

Septiembre 10 **Estancia en el Laboratorio de Química.** **Cinvestav-DF**

Febrero 14 **Buenas prácticas de fabricación para principios activos (Fármacos) y excipientes.** **Terra Farma S.A de C.V.**

Mayo 14 **NOM-019 STPS Comisión de Seguridad e Higiene.** **SIGMA.**

Septiembre 16 **Estancia en el laboratorio de simulación de Física y Química teórica.** **CIMAV**

EXPERIENCIA

Reactimex- Enero 2011- Junio 2014

Puesto: Encargada del departamento de Investigación y Desarrollo.

Funciones:

- Desarrollo de nuevos productos y procesos
- Realización y presentaciones de reportes de desarrollo.

- Optimización de procesos actuales
- Seguimiento en pruebas de planta piloto (durante escalamiento de nuevos procesos y productos).
- Manejo de equipo y material de laboratorio
- Síntesis y análisis de materiales
- Compras de materia prima para el departamento
- Apoyo al área de aseguramiento de calidad y producción
- Inventario y mantenimiento de reactivos del área.

Laboratorio de Química y Bioquímica de UTA (University of Texas at Arlington) Enero –Mayo 2010 (Estancia)

Funciones:

- Proyecto síntesis de materiales organometálicos.
- Investigación de nuevos compuestos de síntesis.
- Medición de muestras de RMN.
- Manejo de equipo de laboratorio líneas Schlenk.

Poloplast Componentes, SA de CV. Abril 2006 – Enero 2009

Puesto: Jefe de Laboratorio y SGC ISO 9001:2000

Funciones:

- Control de calidad de materia prima, producto en proceso y producto terminado.
- Auditorías externas e internas.
- Seguimiento al sistema ISO 9001:2000
- Desarrollo de nuevos proveedores
- Atención quejas de cliente
- Seguimiento proyectos de mejora
- Realización de acciones preventivas y correctivas
- Apoyo a procesos internos de planta (Inyección de fibra de vidrio y termoformado).

Fragancias y Contratipos SA de CV. Mayo 2005 – Marzo 2006

Puesto: Químico

Funciones:

- Control de calidad de materia prima y producto terminado.
- Desarrollo de nuevos productos.
- Atención a clientes.

Cervecería Cuauhtémoc Moctezuma. Diciembre 2004 – Marzo 2005

Puesto: Químico Analista

Funciones:

- Análisis de producto terminado y de plantas piloto.
- Realización de reportes
- Manejo de material y equipo de laboratorio.

PROYECTOS REALIZADOS

- 1.- Especiación de metales pesados en los ríos Santa Catarina, San Juan y la Presa El Cuchillo.
- 2.- Síntesis de cúmulos de galio estabilizados con análogos al carbeno de Sn y Ge con potenciales propiedades de semiconductores.
- 3.- Síntesis y caracterización de compuestos organoboro luminiscentes con potencial aplicación para la obtención de bio-imágenes in-vitro.

ARTICULOS PUBLICADOS

Marisol Ibarra-Rodríguez, H. V. Rasika Dias, Víctor M. Jiménez-Pérez, B. Muñoz-Flores, Angelina Flores-Parra, Sonia Sánchez, Tin(II) Complex of a Bulky *cis*-Oxamide: Synthesis, Characterization, Crystal Structure, and DFT Studies, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, (2012), 638, 1486-1490.

Víctor M. Jiménez-Pérez, **Marisol Ibarra**, Blanca M. Muñoz-Flores, Alberto Gómez, Rosa Santillán, Eugenio Hernández, Sylvain Bernès, Noemi Waksman, Rosalba Ramírez, Synthesis, Characterization, Molecular Structures, Cytotoxic and Anti-bacterial Activities of *N,N'*-diaryl-*o*-phenylenediamines *J. Mol. Struct.* (2013) 1031, 168-174.

M. Ibarra-Rodríguez, Víctor M. Jiménez-Pérez, B. M. Muñoz-Flores, N. Waksman, Rosalba Ramírez, M. Sánchez, and I. F. Hernández-Ahuactzi, Unexpected reactivity of "Gal" towards *N, N'*-diaryl- β -diketiminato tin(II) chloride: Synthesis, X-ray diffraction analysis and DFT studies. *Arabian J. Chem.* (2015) On line 2 sept 2015. DOI: [10.1016/j.arabjc.2015.08.030](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.08.030).

Marisol Ibarra-Rodríguez, Blanca M. Muñoz-Flores, H. V. Rasika Dias, Irán F. Hernández-Ahuactzi, Mario Sánchez, and Víctor M. Jiménez-Pérez. Amine adduct with tin(II) chloride: Synthesis and Molecular Structure Characterization and DFT Computational Study. *Arabian J. Chem.* (2016) On line 18 December 2016. DOI: [10.1016/j.arabjc.2016.12.006](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.12.006)

M. Ibarra-Rodríguez, B. M. Muñoz-Flores, H. V. Rasika Dias, M. Sánchez, A. Gómez-Treviño, R. Santillan, N. Farfan, V. M. Jiménez-Pérez. Fluorescent Molecular Rotors of Organoboron Compounds from Schiff Bases: Synthesis, Viscosity, Reversible Thermochromism, Cytotoxicity, and Bioimaging Cells. *J. Org. Chem.* (2017), 82, 2375-2385.

María M. Corona-López, Víctor M. Jiménez Pérez, Rodrigo Chan-Navarro, **Marisol Ibarra-Rodríguez**, H.V. Rasika Dias, Arturo Chávez-Reyes, Blanca M. Muñoz-Flores. Synthesis, characterization, photophysical properties of new fluorescent boron Schiff bases (BOSCHIBAs) and their application as cytoplasmic biomarkers in vitro. *J. Organomet. Chem.* (2017), On-line <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2017.10.003>

Marisol Ibarra-Rodríguez, Rodrigo Chan-Navarro, Blanca M. Muñoz-Flores, H. V. Rasika Dias, Mario Sánchez, and Víctor M. Jiménez-Pérez. Multi-stimuli responsive fluorescent behaviors of Boron Schiff bases (BOSCHIBAs) and their bioimaging applications. *Inorg. Chem.* Enviado 15 de noviembre 2017, IC-2017-02907.

Marisol Ibarra-Rodríguez, Blanca M. Muñoz-Flores, and Víctor M. Jiménez-Pérez. Multi-stimuli fluorescent behaviour of Boron Schiff bases (BOSCHIBAs) in the solid state (Thermochromism, vapochromism, and piezochromism): Synthesis, characterization and photophysical studies. *J. Lumin.* Enviado 17 de noviembre 2017, LUMIN_2017_1791.

Patente en proceso: MX/a/2016/011319, titulada "PROCESO DE TRANSHALOGENACIÓN DE UN HALURO METÁLICO MEDIANTE EL EMPLEO DE `Gal`".

PARTICIPACIÓN EN CONGRESO

45° Congreso Mexicano de Química (18-22 sep 2010). Compuestos de Sn(II) análogos al carbeno: Síntesis, caracterización y elucidación estructural. Autores: Marisol Ibarra, H.V. Rasika Dias, Sylvain Bernes, Víctor Jiménez.

I. Rodríguez Marisol, V. Jiménez-Pérez, R. Dias, B. Muñoz-Flores. Mono- and dinuclear organoboron compounds bearing to Schiff bases ligand. 252nd American Chemical Society National Meeting & Exposition. Philadelphia, EUA, August 21-25 2016.

Marisol Ibarra-Rodríguez, Blanca M. Muñoz-Flores, H. V. Rasika-Dias, Víctor Jiménez-Pérez. Rotor molecular foto-degradable con potencial aplicación de biomarcador celular. IV Congreso Internacional de Química e Ingeniería Verde. Monterrey N. L. 6-8 septiembre 2017.

Fluorescent Molecular Rotors of Organoboron Compounds from Schiff Bases: Synthesis, Viscosity, Reversible Thermochromism, Cytotoxicity, and Bioimaging Cells

Marisol Ibarra-Rodríguez,[†] Blanca M. Muñoz-Flores,[†] H. V. Rasika Dias,[‡] Mario Sánchez,[§] Alberto Gomez-Treviño,[†] Rosa Santillan,^{||} Norberto Farfán,[⊥] and Víctor M. Jiménez-Pérez^{*,†,||}

[†]Facultad de Ciencias Químicas, Ciudad Universitaria, Universidad Autónoma de Nuevo León, 66451 San Nicolás de los Garza, Nuevo León Mexico

[‡]Department of Chemistry and Biochemistry, The University of Texas at Arlington, Arlington, Texas 76019-0065, United States

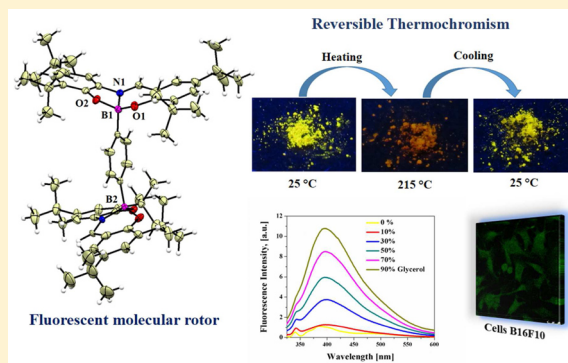
[§]Centro de Investigación en Materiales Avanzados, S.C., Alianza Norte 202, PIIT, Carretera Monterrey-Aeropuerto Km 10, CP 66628, Apodaca, Nuevo León Mexico

^{||}Departamento de Química, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, A.P. 14-740, CP 07000 San Pedro Zacatenco, DF, Mexico

[⊥]Facultad de Química, Departamento de Química Orgánica, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, 04510 Mexico City, Mexico

Supporting Information

ABSTRACT: We report the design, synthesis, and characterization of two new fluorescent molecular rotors of boron derived from Schiff bases: (2,4,8,10-tetra-*tert*-butyl-6-phenyldibenzo[*d,h*][1,3,6,2]-dioxazaboronine (3) and 1,4-bis(2,4,8,10-tetra-*tert*-butyldibenzo[*d,h*]-[1,3,6,2]dioxazaboronin-6-yl)benzene (4), as well as the free ligand 2-[[[(3,5-di-*tert*-butyl-2-hydroxyphenyl)imino]methyl]-4,6-di-*tert*-butylphenol 1. All compounds were fully characterized by NMR (¹H, ¹¹B, and ¹³C), IR, UV/vis, fluorescence spectroscopy, and high-resolution mass spectrometry. The crystal structures of 3 and 4 showed tetracoordinated boron atoms with semiplanar skeleton ligands. The free rotation of the fluorescent molecular rotor, only observed in the binuclear compound, was decreased with increasing viscosity, while the quantum yield was increased. Interestingly, the property of reversible thermochromism was found in organoboron 4 in the solid state. DFT calculations to determine the both complexes have free rotation around the CPh–B1 bond. The boron compounds 3 and 4 have shown low cytotoxicity activity in cell line A-431 and low green staining in cells.



1. INTRODUCTION

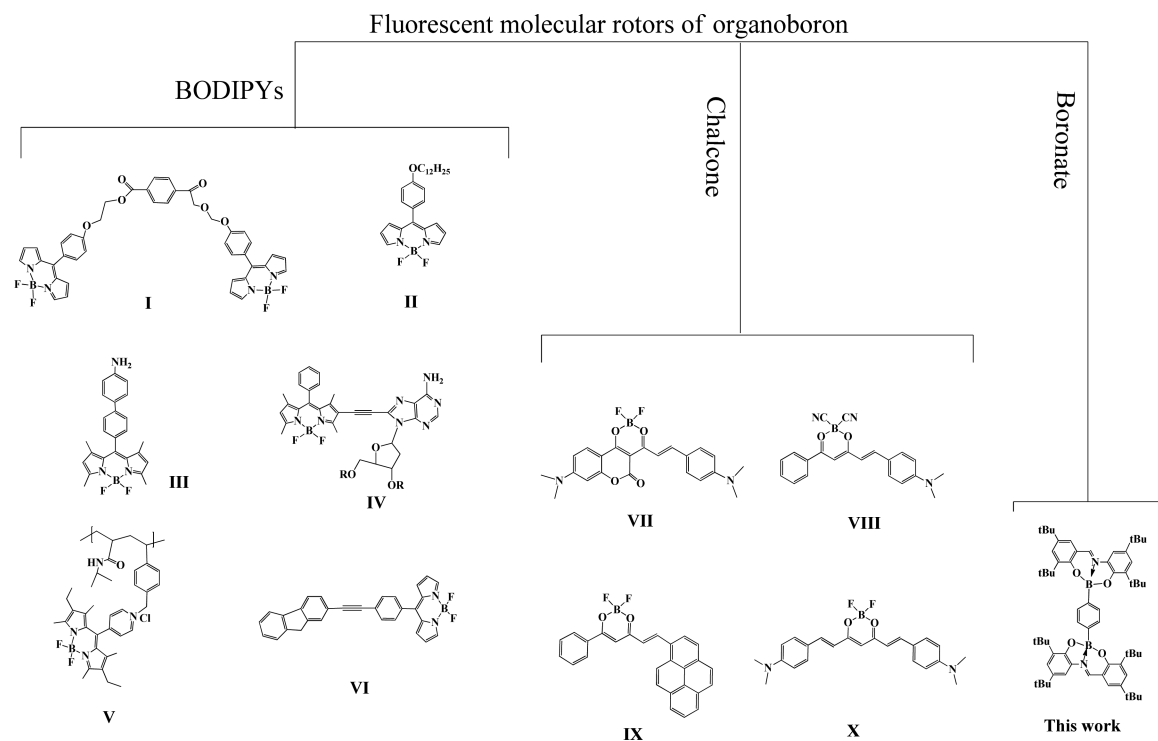
Fluorescent molecular rotors (FMRs) with viscosity-sensitive quantum yields¹ have received tremendous attention due to their potential application in the detection of biomolecular interactions,² polymerization processes,³ and microviscosity.⁴ Viscosity plays an important role in living organisms, and fluorescence imaging with molecular rotors is a technique that helps viscosity studies on a cellular scale.⁵ Other potential applications of rotors involve their use as sensors to measure viscosity in biofluid.⁶ Organoboron compounds are interesting in this regard. Different types of luminescent rotors of boron are known, such as BODIPYs, chalcone derivatives, and boronates (Chart 1, I–X).⁷ The BODIPYs are the most widely studied group. Benniston and co-workers reported that the compound I can be used to record how certain fluids respond to applied pressures and changes of viscosity in the medium. The mechanism involves the gyration of the mesophenylene ring

and accompanying distortion of the dipyrromethene framework.⁸ In another example, Shiraiishi et al. reported that the compound V serves as a fluorescent thermometer in water and the fluorescence increases in the copolymer due to increase in viscosity,⁹ with behavior similar to that reported in compound II in which the fluorescence intensity increases with the restricted rotation of the phenyl group in a medium of high viscosity. This property can be exploited as a practical and versatile tool to measure microviscosity.¹⁰ Other groups have investigated chalcone derivatives. Klymchenko and co-workers reported that compound VII shows solvatochromic property and acts as a viscosity-sensitive molecular rotor.¹¹ The organoboron compounds show low cytotoxicity.¹² The synthetic methods, however, involve several steps and require specific conditions

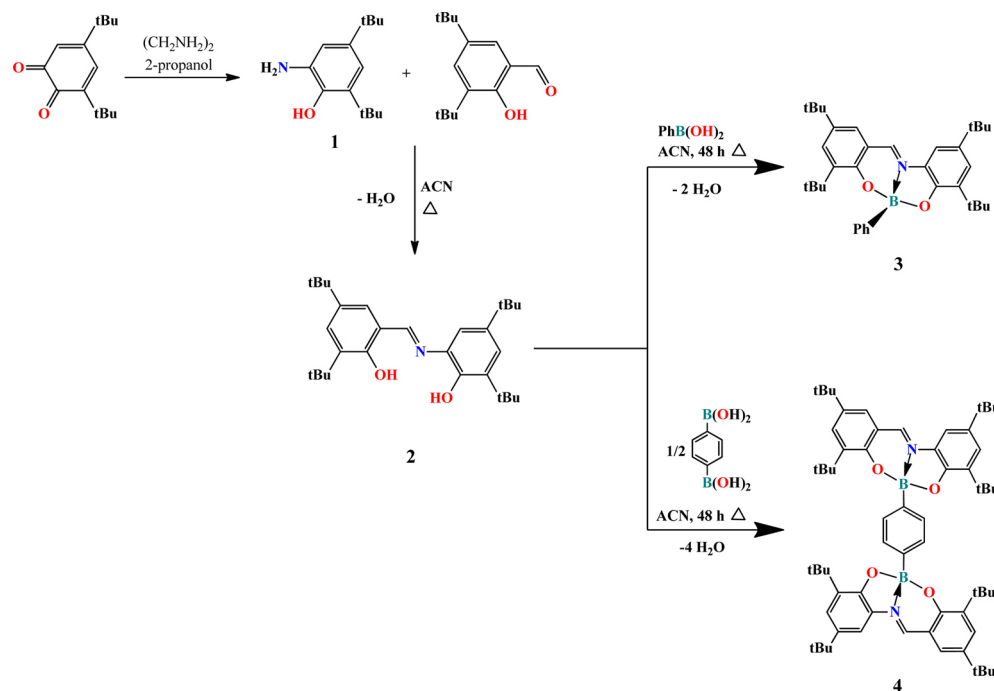
Received: November 23, 2016

Published: January 30, 2017

Chart 1. Luminescent Molecular Rotors of Organoboron Compounds



Scheme 1. Synthesis of Ligand 2 and Organoboron Compounds 3 and 4



as anhydrous atmospheres as evident in the BODIPY chemistry.¹³

Fluorescent sensors have received attention because they have advantages in terms of sensitivity, selectivity, and the easy detection of the fluorescence changes of the systems.¹⁴ Previously, transition-metal complexes have been reported that exhibit the property of change in color at different temperatures. This phenomenon is called luminescent thermochromism and represents an important area of solid-state chemistry.¹⁵ The

thermochromic materials are potentially useful in thermometers, as temperature sensors, and in the development of warning signals and optoelectronic display devices.¹⁶ An interesting study of the thermochromism properties of copper pyrazolates, promising compounds for sensor applications, was reported by Dias and co-workers.¹⁷ Other examples involve copper iodine clusters that show reversible luminescence thermochromism with intense orange emissions¹⁸ and $\text{Au}^1\text{-Cu}^1$ phosphine complexes that exhibit reversible emission change from yellow

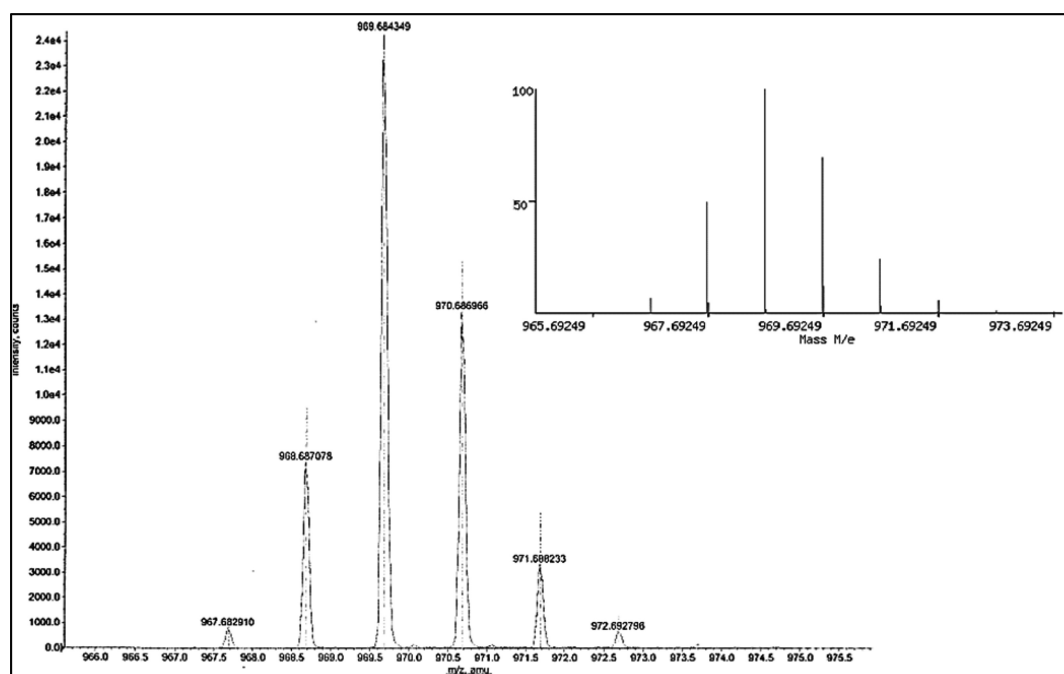


Figure 1. Comparison of theoretical and experimental isotopic distributions of spectra of the $[M + H]^+$ of compound **4**; the spectrum clearly indicates the presence of two boron atoms.

to green.¹⁹ Another group has investigated triarylboron compounds and their utility as excellent real-time and reversible temperature indicators with a concentration-independent feature.²⁰

Recently, our research group reported the synthesis of a series of novel luminescent boron derivatives of tridentate ligands with good solubility in polar solvents.²¹ In this work, we describe the synthesis of luminescent boron derivatives of Schiff bases that act as molecular rotors and their use as cell markers.

2. RESULTS AND DISCUSSION

2.1. Synthesis. Previously, similar binuclear organoboron compounds derived from tridentate ligands have been synthesized and characterized by common spectroscopic and spectrometric methods. However, due to the low solubility in some organic solvents, it was not possible to isolate the crystal structures or complete the solution characterization.²² In order to improve the solubility, we have designed a new Schiff base ligand **2** which was prepared by condensation reaction of 3,5-di-*tert*-butyl-2-hydroxybenzaldehyde with 3,5-di-*tert*-butyl-6-hydroxyaniline (**1**), and the boron compounds **3** and **4** were obtained by condensation of phenylboronic acid and diacid with the ligand under reflux in acetonitrile (Scheme 1), respectively. The resulting organoboron complexes are soluble in several organic solvents; both complexes were stable in the solid state. The compounds were fully characterized by NMR (^1H , ^{11}B , and ^{13}C) and IR spectroscopy, and mass spectrometry. The complexes **3** and **4** were characterized by single-crystal X-ray diffraction (vide infra).

2.2. Solution and Solid Structures. The existence of the $\text{N} \rightarrow \text{B}$ coordination bond was evidenced by ^{11}B NMR spectra for compound **3** with one broad signal of 7.88 ppm indicative of a tetracoordinated boron atom.²³ In the ^{13}C spectra of boron for complexes, the signals for **C7** were shifted to low frequencies (151.73, 147.14 ppm) with respect to the ligand (165.45 ppm) owing to coordination to boron, and the imine proton was

observed at (3) 8.78 ppm, (4) 8.13 ppm.²⁴ IR spectral analysis showed that the $\text{C}=\text{N}$ stretching vibration bands for **3** and **4** were shifted to lower wavenumbers in comparison with the ligand.²⁵ The mass spectra of boron derivatives showed the base peak corresponding to the molecular ion peak and, for complex **4**, the first fragmentation of the complex by removing the methyl substituent groups *tert*-butyl and the fragment of ligand coordinated to a boron atom 446.32 m/z (6.17%); the isotopic distribution of parent ions in the spectra demonstrated the presence of two atoms of boron in the organoboron **4**. The comparison of predicted theoretical and experimental isotopic distributions of spectra for compound **4** is given in Figure 1.

2.3. X-ray Structure. Complexes **3** and **4** crystallized from slow evaporation of ACN and THF/acetone. Suitable single

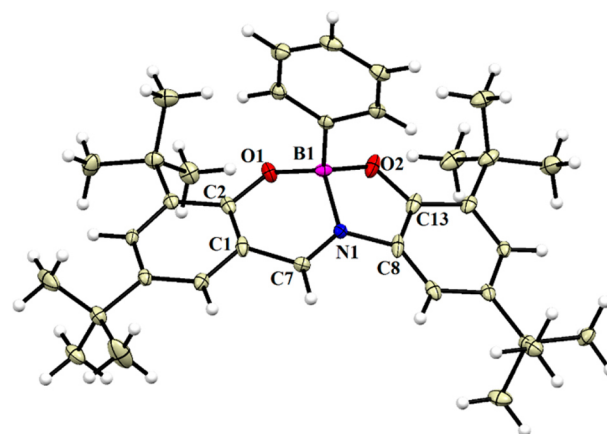


Figure 2. View of the structure of the **3**. Ellipsoids are drawn at the 30% probability level. Distances: $\text{B}(1)\text{--O}(1)$ 1.4536 (18), $\text{B}(1)\text{--O}(2)$ 1.4774(19), $\text{B}(1)\text{--N}(1)$ 1.596(2), $\text{B}(1)\text{--C}(14)$ 1.609(2) Å. Bond angles: $\text{O}(2)\text{--B}(1)\text{--C}(14)$ 111.61 (11), $\text{O}(1)\text{--B}(1)\text{--C}(14)$ 113.77 (11), $\text{O}(2)\text{--B}(1)\text{--N}(1)$ 95.13(11), $\text{O}(2)\text{--B}(1)\text{--O}(1)$ 112.75(11), $\text{N}(1)\text{--B}(1)\text{--C}(14)$ 110.81(11), $\text{O}(1)\text{--B}(1)\text{--N}(1)$ 111.33(12)°.

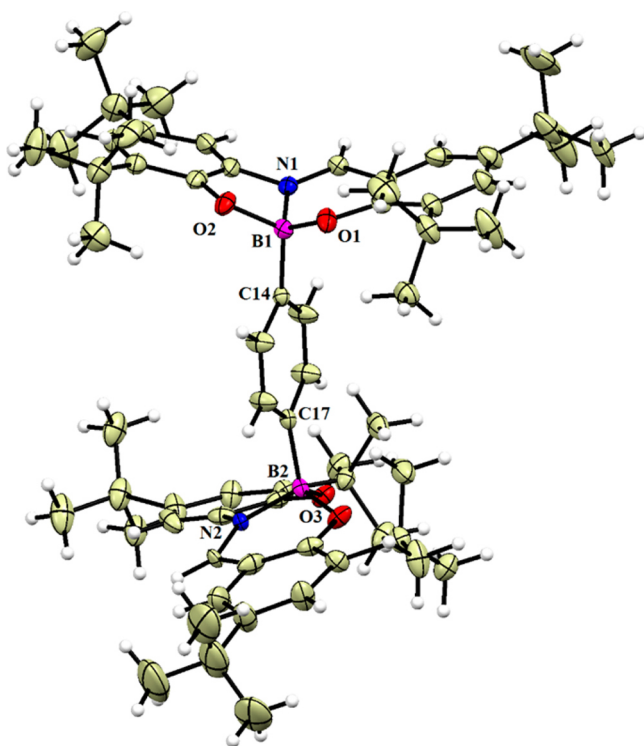


Figure 3. View of the structure of the **4**. Ellipsoids are drawn at the 30% probability level. Distances: B(1)–C(14) 1.591(3), B(1)–O(1) 1.451(3), B(1)–O(2) 1.455(3), B(1)–N(1) 1.587(6), B(2)–C(17) 1.593(3), B(2)–O(4) 1.471(3), B(2)–N(2) 1.563(6), B(2)–O(3) 1.460(3) Å. Bond angles: O(2)–B(1)–C(14) 114.83(19), O(1)–B(1)–C(14) 112.56(19), O(2)–B(1)–N(1) 91.4(2), O(1)–B(1)–N(1) 90.8(2), O(2)–B(1)–O(1) 110.57(18), N(1)–B(1)–C(14) 110.0(2), O(4)–B(2)–C(17) 113.03(18), O(3)–B(2)–C(17) 111.89(18), O(3)–B(2)–N(2) 90.8(3), N(2)–B(2)–O(4) 91.9(2), O(4)–B(2)–O(3) 111.45(18), C(17)–B(2)–N(2) 114.5(2)°.

crystals for X-ray analysis were obtained for **3** and **4**, and their molecular structures are shown in Figures 2 and 3, while data

collection and refinement parameters and bond lengths and angles are available in Tables S1 and S2. Both complexes crystallized in $P2_1/n$ space group and are monoclinic. Complex **3** crystallized as an orange block, and **4** crystallized as an orange diamond with molecules of solvent acetone.

The crystal structures of **3** and **4** display tetracoordinated boron atoms with distorted tetrahedral geometry and the formation of two fused heterocycles of five and six members. The B–O bond distances [**3** (1.454–1.477 Å), **4** (1.451–1.471 Å)] are characteristic for tetracoordinated boron complexes and are comparable to the previously reported values.²⁶ The B–N bond lengths [**3** (1.596 Å), **4** (1.560–1.587 Å)] suggest strong coordination of the nitrogen atoms with boron atoms because they are less than the estimated covalent N–B distance; this is confirmed by the tetrahedral character of 89.8 and 90.0–91.7% for each molecule.²⁷ The distortion of the tetrahedral geometry causes the boron atom to lie outside the plane of the salicylidene ring (**3**: plane: N1–C1–C2–C3–O1, $\theta = 0.519$ Å, **4**: plane: N1–C1–C2–C3–O1, $\theta = 0.407$ Å). Crystal structures of **3** and **4** show various close intermolecular [**3** (H7–C15, 2.80 Å), **4** (imine H–O other molecule, 2.291, 2.514 Å); (imine H–acetone oxygen, 2.222 Å); (H of acetone with ring (centroids 1 and 2, see Figure S18), 2.921 and 2.771 Å)] and intramolecular interactions [**3** (H19–O1, 2.603 Å), (H15–O2, 2.758 Å); **4** (H15–N1, 2.515), (H19–O1, 2.975), (H16–O3, 2.510), see Figure 4].

2.4. Photophysical Characterization. The optical properties of compounds were obtained in THF, chloroform, and methanol (Table 1). The absorption and emission spectra for **3** and **4** are shown in Figure 5. For compounds **3** and **4**, the absorption bands show two λ_{\max} in 319 and 460 nm, which can be ascribed to the HOMO–LUMO electronic transition; the molar extinction coefficients (ϵ) of **3** and **4** were in the range of 4000–21000 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ in different solvents. The optical band gaps (eV) are characteristic of semiconductor materials. The fluorescence spectrum of complexes **3** and **4** show emissions around 520 nm in THF and CHCl_3 . However, it is interesting to observe that both compounds showed one emission at 386 nm in

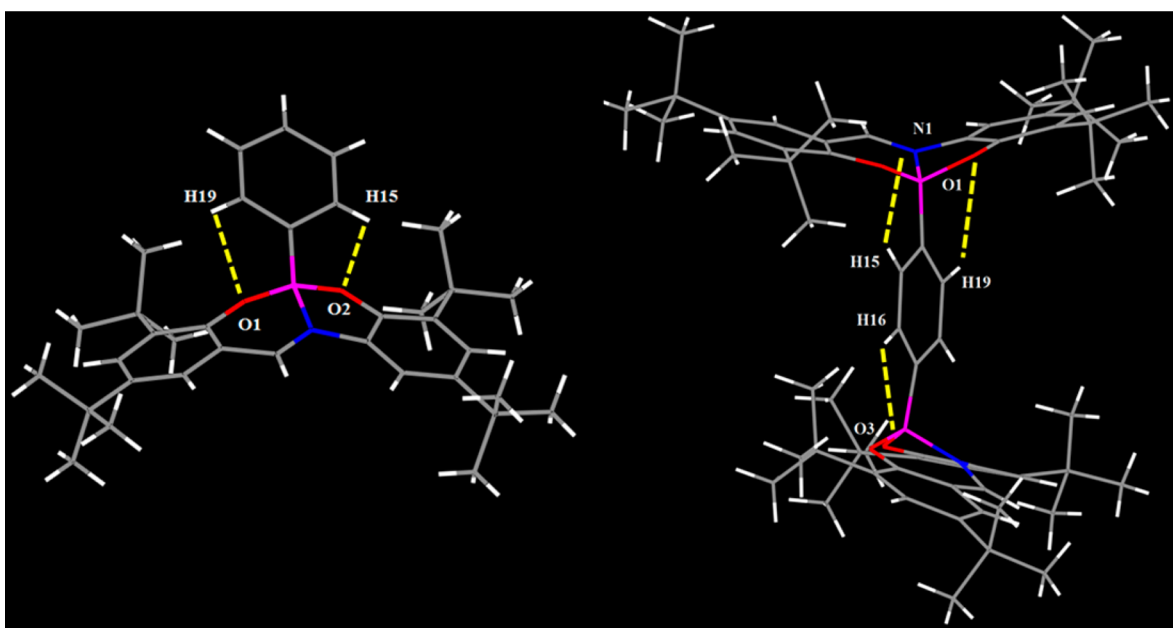


Figure 4. Intramolecular interactions of **3** and **4** [**3** (H19–O1, 2.603), (H15–O2, 2.758); **4** (H15–N1, 2.515), (H19–O1, 2.975), (H16–O3, 2.510)].

Table 1. Photophysical Data of Compounds 3 and 4

compd	solvent	λ_{abs} (nm)	$\epsilon \times 10^4$ ($\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)	E_g (eV)	λ_{em} (nm)	dyn viscosity (mPa·s)	Φ_F (%)
3	THF	319, 455	1.4	2.41	514	0.55	0.002
	chloroform	324, 460	1.9	2.35	529	0.55	0.09
	methanol	320, 447	0.5	2.41	387	0.60	0.68
4	THF	319, 455	2.1	2.41	512	0.55	0.10
	chloroform	322, 461	1.2	2.33	523	0.55	1.69
	methanol	319, 450	0.4	2.41	385	0.60	0.56

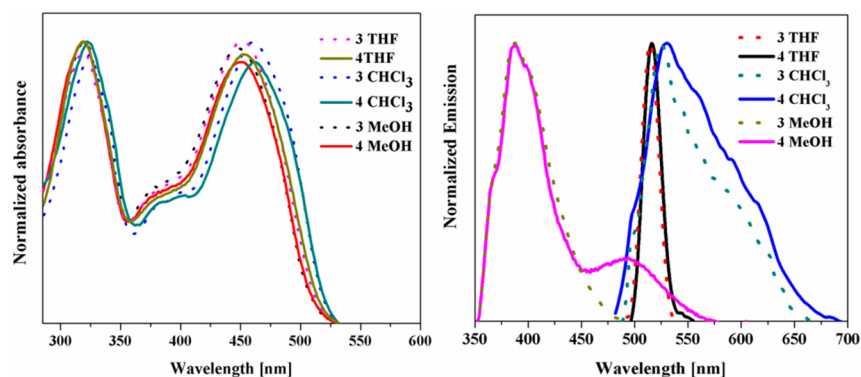
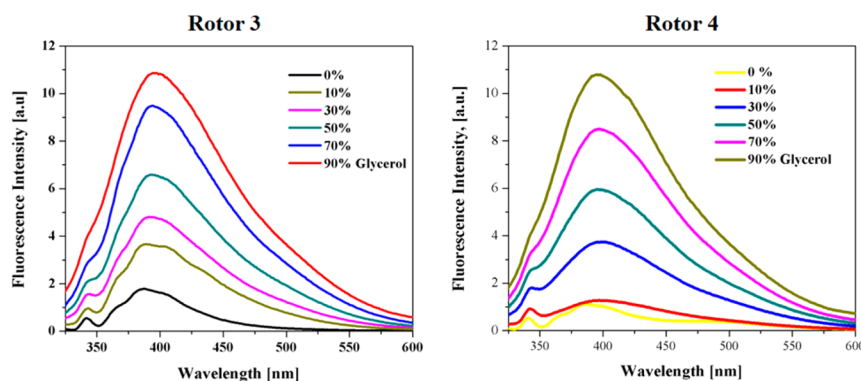
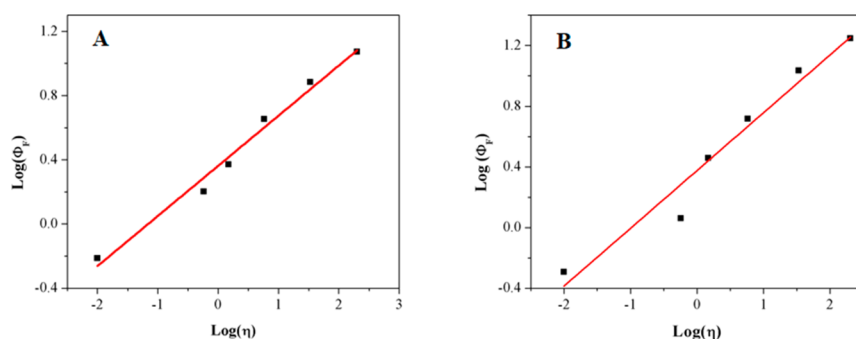
Figure 5. Absorption and emission spectrum of compounds 3 and 4 in THF, CHCl_3 , and MeOH.

Figure 6. Fluorescence spectra of compounds 3 and 4 in binary mixtures of methanol and glycerol in different ratios.

Figure 7. Correlation of the fluorescence quantum yield (Φ_F) of organoboron 3 (A) and 4 (B) with values for the viscosity of the medium η^2 (goodness of fit) of 0.98–0.95.

methanol. This behavior is due to the difference of solvent dynamic viscosities (Table 1) as has been reported by molecular rotors.²⁸

Fluorescence measurements of mononuclear 3 and dinuclear 4 in methanol/glycerol mixtures of different viscosities (% of glycerol) show that the fluorescence quantum yield increases with increasing solvent viscosity (Figure 7) according to the

Föster–Hoffman equation.²⁹ The observed increase in fluorescence intensity is consistent with the restricted rotation of the phenyl (bonded to the boron atom see Figure 6) in the medium of high viscosity and dissipated energy by intramolecular rotation, and the photoactivated molecule may relax by a nonradiative decay processes. The emission intensity increased more for compound 4 with medium viscosity (see Table 2)

because it has two points of rotation in the structure of the molecule; in the literature, we find this behavior for ligands and complexes.³⁰

Table 2. Spectroscopic Properties of Compounds 3 and 4 in Binary Mixtures of Methanol and Glycerol^a

glycerol fraction (v/v)	compd 3			compd 4		
	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	Φ_{F} (%)	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	Φ_{F} (%)
0	447	387	0.61	448	387	0.51
10	449	388	1.59	446	398	1.15
30	449	391	2.35	453	397	2.87
50	450	392	4.50	455	397	5.21
70	451	394	7.64	454	397	10.81
90	463	395	11.82	460	395	17.63

^aMethanol/glycerol mixture; λ_{abs} and λ_{em} are absorption and emission maxima; Φ_{F} is the fluorescence quantum yield.

2.5. Reversible Thermochromism. The organoboron 4 shows the ability to behave as a thermochromic material; the luminescence property was modified when the complex was exposed to different temperatures. During heating at 215 °C, the color changed from yellow to orange and the luminescence intensity decreased under UV radiation to the naked eye, but after cooling at room temperature the property returned (Figure 8A–C).³¹ The thermochromic property of 4 was determined by

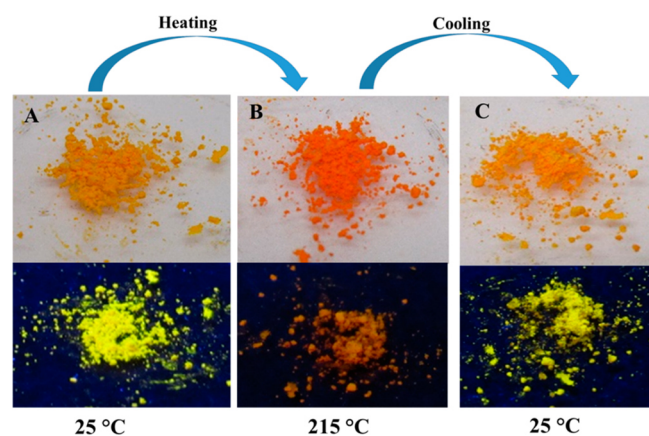


Figure 8. Fluorescence image of compound 4: (A) under vis and UV light at 25 °C; (B) under vis and UV light at 215 °C; (C) after cooling under vis and UV light at 25 °C.

luminescence spectroscopy in the solid state (Figure 9). However, when compound 4 was ground for 2 min on a mortar the luminescence property was lost (see Figure S19), similar to that reported by Seki et al.³²

2.6. DFT Calculations. In order to explain the molecular behavior for complexes 3 and 4, we performed a theoretical study using the density functional theory (DFT, B3LYP) in combination with the 6-31G(d,p) basis set. All of the structures were characterized by calculating their frequencies. Our results suggest that structure 4 with a *trans* conformation is more stable than the *cis* configuration by only 1.38 kcal/mol; the explanation for this is that the structure with the *cis* conformation has more steric hindrance (Figure 10). Interestingly, the structure that has crystallized and characterized by X-ray has no symmetry because one of the two ligands is displaced by 60°. This behavior could be

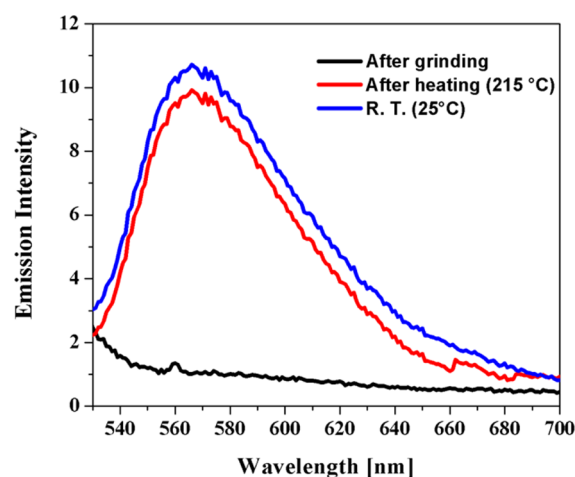


Figure 9. Luminescence spectra of compound 4 at room temperature after heating and after grinding.

attributed to acetone trapped into the crystal lattice (see Figure S18).

To better understand the process of rotation of the aromatic ring for complex 4, we have followed two strategies; the first was to rotate only one ligand, and the second was to rotate only the aromatic ring, keeping the two ligands fixed, and both rotating processes were performed every 30° along the potential energy surface (Figure 10). The results of these calculations can be observed in Figure 11. The energy barrier value for complex 4 to rotate the aromatic ring is higher because of steric effects generated by the *tert*-butyl groups. However, when only one ligand is rotated the relative energy value (energy barrier) is smaller.

On the other hand, the rotation of the phenyl group in the complex 3 was also studied. Complex 3 shows an energy barrier value of 6.26 kcal/mol by rotating the CPh–B1 bond every 30°; with these results, we can mention that both complexes present free rotation.

In addition, we have also calculated the UV–vis spectra in both complexes 3 and 4. The experimental (460 and 461 nm, respectively) absorption values are very similar to those calculated (463 and 465 nm, respectively). When we explored the rotational energy barrier of the rotational ligand and phenyl groups, we found that for the complex 4 up to 120° the degree of absorption (482 nm) is slightly higher than that found in the global minimum (465 nm). This difference is because the structure 4 (120°) involves π – π transitions (see Figure S1). It is important to mention that the B3LYP method tends to slightly modify the energies of the rotation barriers,³³ compared to other functional ones. We have used B3LYP because of its wide use in organic molecules.

Molecular orbitals and their energies for the complexes 3 and 4 are shown in Figure 12. The electron density is mostly located on the ligands of both complexes and the electronic transitions, which mainly involve the HOMO–1 \rightarrow LUMO and HOMO \rightarrow LUMO+1 frontier orbitals for the binuclear compound that corresponds to the π – π^* transitions (Tables S4–6).

2.7. Cytotoxicity Activity and Cell Images. In vitro cytotoxicity activity of organoboron 3 and 4 were evaluated on epidermoid carcinoma cell line A-431 in different concentrations (from 20 to 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) for 24 h. As DMSO was the solvent used for the compounds, its toxicity was analyzed. The viability of the cells shows lower toxicity for organoboron 3 and 4 in all tested

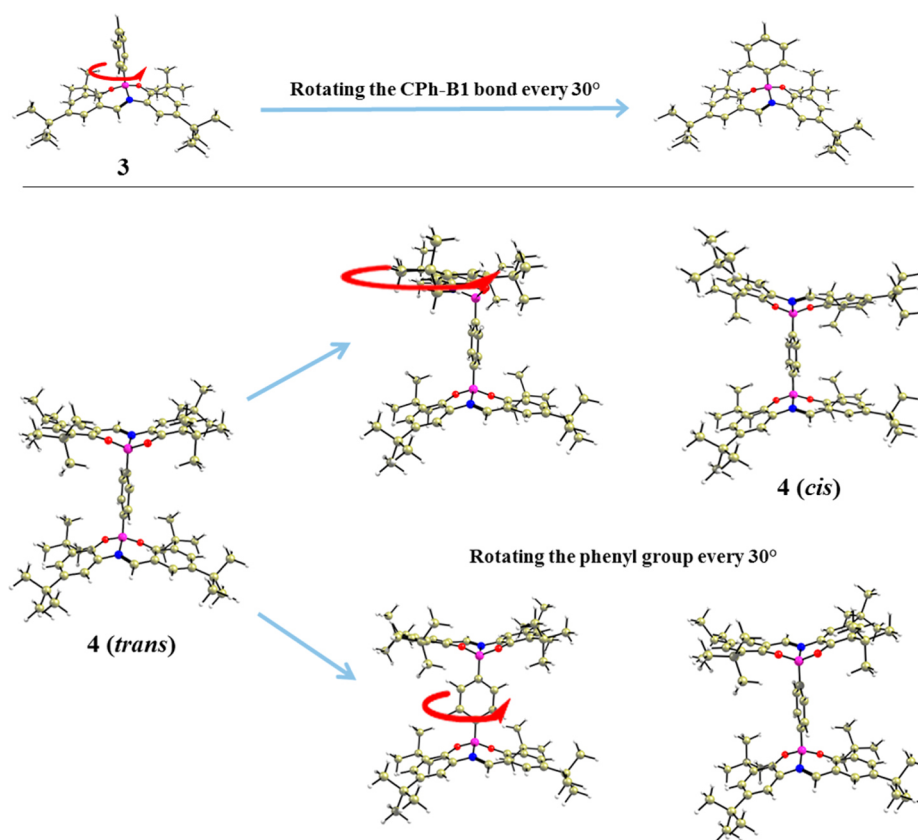


Figure 10. Rotation of ligand and phenyl groups in complexes 3 and 4.

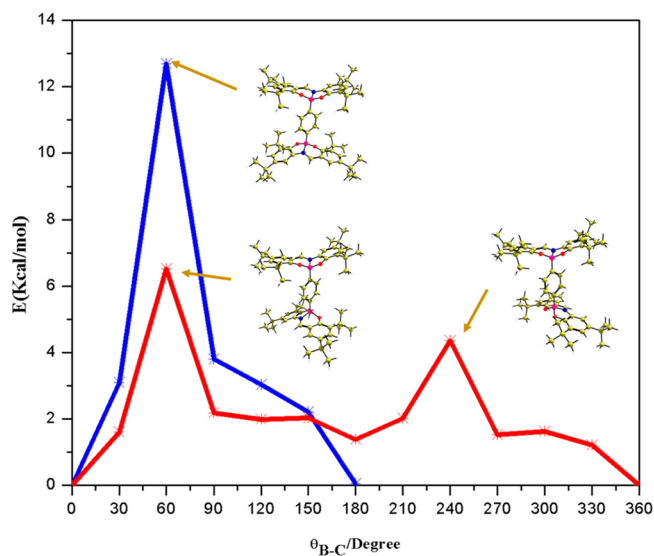


Figure 11. Rotation barrier energies for complex 4. Blue line belongs to the rotation of the phenyl group, while the red line belongs to the rotation of the CPh-B1 bond.

concentrations (20–38 μM , 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ highest concentration); see Figure 13. This behavior has already been reported for molecules having low cytotoxicity to 10 μM .³⁴ The dinuclear compound shows lower cytotoxicity and tends to be less soluble and less penetrating for the compound in the cell.

To determine the capacity of the organoboron compounds to produce fluorescent stain on cells, A431 and B16F10 cells were

treated with 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for 2 h and then analyzed by confocal laser microscopy; cells treated with the organoboron compounds 3 and 4 presented a low green staining, due to poor solubility of the compounds in the polar solvents, and fluorescence was observed from the cytoplasm in both cases (Figure 14).

3. CONCLUSIONS

In summary, we describe the synthesis, characterization in solution and solid state, and X-ray structure of two new fluorescent organoboron compounds. The binuclear compound shows that the fluorescence quantum yield increases strongly with increasing solvent viscosity, and due to the rotor molecular property, it was corroborated through B3LYP that organoboron has the property of reversible thermochromism. Both fluorescent organoboron compounds have shown low cytotoxicity, which is good for potential medical applications but has a poor capacity for staining cells. We are working to improve the hydrophilicity of fluorescent molecular rotors of organoboron compounds. The binuclear molecular rotor showed reversible thermochromism as well as visco- and solvoluminescence. To the best of our knowledge, this is the first example which showed this multiresponse.

4. EXPERIMENTAL SECTION

4.1. Material and Equipment. All starting materials and solvents were used without further purification. Compound 1 was synthesized as previously reported.³⁵ Melting points were performed on an Mel-Temp apparatus and are uncorrected. High-resolution mass spectra were obtained by LC/MSD TOF with APCI as ionization source. Infrared spectra were recorded using a 27 FT-IR spectrophotometer equipped

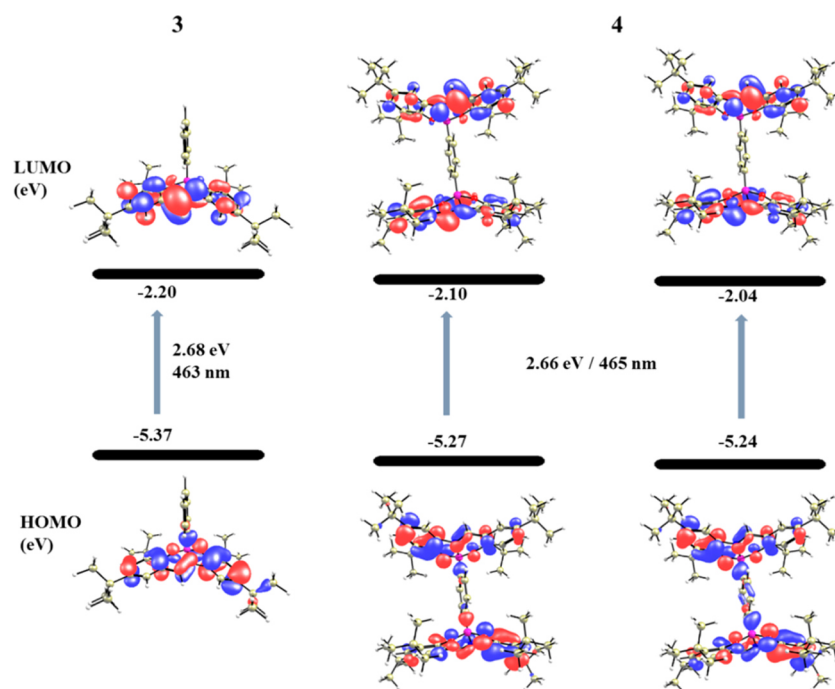


Figure 12. HOMO and LUMO molecular orbitals and their energies involved in the electronic transitions for complexes 3 and 4.

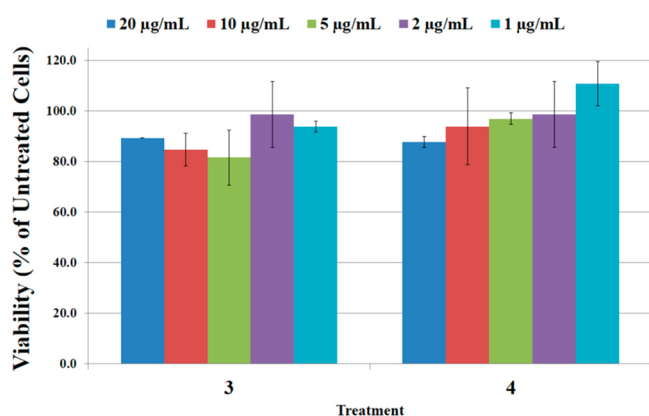


Figure 13. Effects of organoboron 3 and 4 on viability of A431 cells. Cell proliferation was determined by MTS after treatment with different concentrations of compounds 3 and 4 (20, 10, 5, 2, and 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) over 24 h.

with an ATR accessory with a single-reflection ZnSe ATR crystal. UV spectra were obtained with a UV/vis spectrophotometer, and emission measurements were performed on a spectrofluorometer. ^1H , ^{13}C , and ^{11}B NMR spectra were recorded on a DPX 400. Chemical shifts (ppm) are relative to $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$ for ^1H and ^{13}C . ^{11}B NMR spectra were referenced externally to $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$. Mass spectra were recorded on an API 2000 LC/MS/MS system.

4.2. Crystal Structure Determination. The crystals of 3 and 4 were covered with a layer of hydrocarbon oil that was selected and mounted with paratone-N oil on a cryo-loop and immediately placed in a low-temperature nitrogen stream at 100(2) K. The data for 3 and 4 were recorded on a diffractometer equipped with a graphite monochromator and a Mo $K\alpha$ fine-focus sealed tube ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). The structure was solved by direct methods using SHELXS-97³⁶ and refined against F^2 on all data by full-matrix least-squares with SHELXL-97.³⁷ All of the software manipulations were done under the WIN-GX environment program set.³⁸ All heavier atoms were found by Fourier map difference and refined anisotropically. Some hydrogen atoms were found by Fourier map differences and refined isotropically. The remaining hydrogen atoms were geometrically modeled and are not

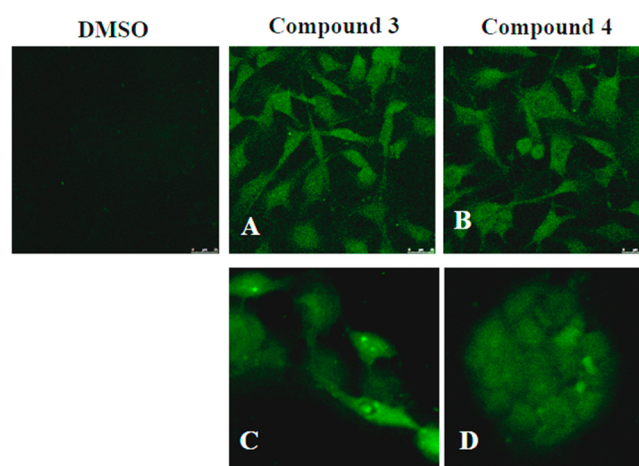


Figure 14. Staining of cells with organoboron compounds. Confocal microscopy of melanoma cells B16F10 (A, B) and A-431 (C, D) treated with 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ of each compound for 2 h.

refined. Crystallographic data for the structure reported in this paper have been deposited in the Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC 1518382 and 1518383).

4.3. Synthesis of (*E*)-2,4-Di-*tert*-butyl-6-((3,5-di-*tert*-butyl-2-hydroxybenzylidene)amino)phenol (2). A solution of 3,5-di-*tert*-butyl-6-hydroxyaniline (1) (0.66 g, 3 mmol) and 3,5-di-*tert*-butyl-2-hydroxybenzaldehyde (0.70 g, 3 mmol) in acetonitrile were heated under reflux for 48 h using a Dean–Stark apparatus for removal of water by azeotropic distillation. The reaction mixture was slowly cooled to room temperature, the solvent was evaporated, hexane was added, the precipitated solid was filtered and discarded, the liquor filtrate was concentrated, and acetonitrile was added. Solvent was allowed to evaporate slowly, and after 5 days yellow crystals were obtained that lost brightness over time, possibly due to crystallization with solvent. The compound was soluble in hexane to give 0.72 g. Yield: 54.9%. Mp: 104–105 $^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (400 MHz, C_6D_6 , 298 K): $\delta = 1.29$ (s, 9H, *t* Bu-5), 1.31 (s, 9H, *t* Bu-10), 1.60 (s, 9H, *t* Bu-3), 1.63 (s, 9H, *t* Bu-12), 6.83 (d, 1H, H4), 6.98 (d, 1H, H11), 7.43 (d, 1H, H9), 7.60 (d, 1H, H6), 8.13 (s, 1H, H7), 12.92 (s, 1H, OH). ^{13}C NMR (100 MHz, C_6D_6 , 298 K): $\delta =$

29.8 (CH₃, *t*-Bu-3), 29.9 (CH₃, *t*-Bu-12), 31.8 (CH₃, *t*-Bu-5), 31.9 (CH₃, *t*-Bu-10), 113.5 (C4), 122.9 (C6), 127.9 (C11), 128.1 (C9), 165.5 (C7). HETCOR [$\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$]: 1.29/31.25 (CH₃, *t*-Bu-5), 1.59/29.34 (CH₃, *t*-Bu-3), 6.89/113.93 (H4/C4), 6.98/127.4 (H11/C11), 7.42/122.46 (H6/C6), 7.60/127.99 (H9/C9), 8.12/165.94 (H7/C7). COSY [$\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{H}}$]: 7.43/6.82 (H6/H4), 7.60/6.98 (H9/H11). HRMS (APCI/TOF-Q) *m/z*: [M + 1]⁺ calcd for C₂₉H₄₃NO₂ 438.3367, found 438.3368. IR ν (cm⁻¹): 3063 (OH), 1629 (C=N). UV-vis (THF): $\lambda_{\text{abs/max}}$ $\epsilon_{\text{max}} \times 10^4$: 342 nm, 2.5 M⁻¹ cm⁻¹. Fluorescence (THF): $\lambda_{\text{Fluor/max}}$ 507 nm.

4.4. Synthesis of 2,4,8,10-Tetra-*tert*-butyl-6-phenyldibenzo-*[d,h]*[1,3,6,2]dioxazaboronine (3). A solution of 2 (0.219 g, 0.5 mmol) and phenylboronic acid (0.064 g, 0.52 mmol) in acetonitrile were heated under reflux for 48 h using a Dean–Stark apparatus for the removal of water by azeotropic distillation. The reaction mixture was slowly warmed to room temperature, and the solvent was concentrated and allowed to evaporate slowly at 12 h. Orange crystals were obtained. The compound was soluble in THF. Yield: 0.26 g (82.5%). Mp: 258–259 °C. ¹H NMR (400 MHz, THF-*d*₆, 298 K): δ = 1.32 (s, 9H, *t*-Bu-5), 1.33 (s, 9H, *t*-Bu-10), 1.45 (s, 9H, *t*-Bu-3), 1.48 (s, 9H, *t*-Bu-12), 6.98 (t, 1H, H-*p*), 7.26 (m, 2H, H-*o* and *m*), 7.32 (d, 1H, H11), 7.58 (d, 1H, H4), 7.51 (d, 1H, H6), 7.64 (d, 1H, H9), 8.78 (s, 1H, H7). ¹³C NMR (100 MHz, THF-*d*₆, 298 K): δ = 29.9 (CH₃, *t*-Bu-12), 30.2 (CH₃, *t*-Bu-3), 31.9 (CH₃, *t*-Bu-10), 32.2 (CH₃, *t*-Bu-5), 35.1 (C_{quater}, *t*-Bu-5), 35.6 (C_{quater}, *t*-Bu-10), 35.7 (C_{quater}, *t*-Bu-3), 36.3 (C_{quater}, *t*-Bu-12), 110.9 (C6), 120.7 (C10), 126.1 (C11), 126.8 (C4), 127.8 (C-*p*), 132.3 (C-*o* and *m*), 133.0 (C9), 136.7 (C5), 140.1 (C12), 142.8 (C3), 142.6 (C1), 151.7 (C7), 155.1 (C2), 155.8 (C13). HETCOR [$\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$]: 1.46/30 (CH₃, *t*-Bu-3/C-*t*-Bu-3), 1.32/31.91 (CH₃, *t*-Bu-5/C-*t*-Bu-5), 6.96/127.8 (H-*p*/C-*p*), 7.25/132.33 (H-*o* and *m*/C-*o* and *m*), 7.32/126.11 (H11/C11), 7.39/126.81 (H4/C4), 7.52/110.98 (H6/C6), 7.63/132.95 (H9/C9), 8.80/151.66 (H7/C7). COSY [$\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{H}}$]: 7.26/6.97 (H-*o* and *m*/H-*p*). ¹¹B NMR (128 MHz, THF-*d*₆, 298 K): δ = 7.88 ppm. HRMS (APCI/TOF-Q) *m/z*: [M + 1]⁺ calcd for C₃₅H₄₆BNO₂ 524.3694, found 524.3696. IR ν (cm⁻¹): 2957 (C–H_{aromatic}), 1627 (C=N). UV-vis (THF): $\lambda_{\text{abs/max}}$ $\epsilon_{\text{max}} \times 10^4$ 455 nm, 1.4 M⁻¹ cm⁻¹. Fluorescence (THF): $\lambda_{\text{Fluor/max}}$ 514 nm.

4.5. Synthesis of 1,4-Bis(2,4,8,10-tetra-*tert*-butyldibenzo-*[d,h]*[1,3,6,2]dioxazaboronin-6-yl)benzene (4). A solution of 2 (0.44 g, 1 mmol), benzene-1,4-diboric acid (0.083 g, 0.5 mmol), and acetic acid (0.5 mL) in acetonitrile was heated under reflux for 48 h using a Dean–Stark apparatus for the removal of water by azeotropic distillation. The reaction mixture was slowly warmed to room temperature; the precipitated solid was filtered and washed with hexane. The compound was partially soluble in acetone and THF, and it crystallized separately in acetone and a mixture of (THF/acetonitrile/acetone), obtaining yellow-orange crystals. Yield: 0.38 g (80.31%). Mp: 350–352 °C. ¹H NMR (400 MHz, THF-*d*₆, 298 K): δ = 1.20 (s, 18H, *t*-Bu-5), 1.23 (s, 18H, *t*-Bu-10), 1.32 (s, 18H, *t*-Bu-3), 1.36 (s, 18H, *t*-Bu-12), 6.98 (d, 4H, H-15), 7.06 (d, 2H, H11), 7.15 (d, 2H, H4), 7.18 (d, 2, H6), 7.46 (d, 2H, H9), 8.13 (d, 2H, H7). ¹³C NMR (100 MHz, THF-*d*₆, 298 K): δ = 28.2 [(CH₃) *t*-Bu-12], 28.5 [(CH₃) *t*-Bu-3], 30.3 [(CH₃) *t*-Bu-10], 30.6 [(CH₃) *t*-Bu-5], 33.1 [(C_{quater}) *t*-Bu-5], 33.5 [(C_{quater}) *t*-Bu-10], 33.7 [(C_{quater}) *t*-Bu-3], 34.3 [(C_{quater}) *t*-Bu-12], 108.1 (C4), 124.1 (C11), 124.3 (C6), 129.3 (C15), 131.2 (C9), 147.1 (C7), 153.1 (C2), 153.8 (C13), 153.8 (C8). HETCOR [$\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$]: 6.95/129.33 (H15/C15), 7.07/124.18 (H11/C11), 7.09/107.98 (H4/C4), 7.16/124.27 (H6/C6), 7.47/131.16 (H9/C9), 8.15/147.03 (H7/C7). COSY [$\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{H}}$]: 7.46/7.06 (H9/H11). ¹¹B NMR (128 MHz, THF-*d*₆, 298 K): δ = 8.42 ppm. HRMS (APCI/TOF-Q) *m/z*: [M + 1]⁺ calcd for C₆₄H₈₆B₂N₂O₄ 969.6846, found 969.6844. IR ν (cm⁻¹): 2955 (C–H_{aromatic}), 1617 (C=N). UV-vis (THF): $\lambda_{\text{abs/max}}$ $\epsilon_{\text{max}} \times 10^4$ 455 nm, 2.1 M⁻¹ cm⁻¹. Fluorescence (THF): $\lambda_{\text{Fluor/max}}$ 512 nm.

4.6. Absorbance, Emission, and Luminescence Quantum Yields. UV-vis absorption spectra were measured on a 365 spectrophotometer. Optical band gap (E_g) was determined from the intercept with the *X* axis of the tangent of the absorption spectrum drawn at absorbance of 0.1. The emission spectra have been recorded with a spectrofluorometer, by exciting 10 nm below the longer wavelength absorption band. Fluorescence quantum yields in solution were determined according to the procedure reported in literature³⁹ and

using quinine sulfate in H₂SO₄ 0.1 M as the standard. Three solutions with absorbance at the excitation wavelength lower than 0.1 were analyzed for each sample, and the quantum yield was averaged. The viscosity of the solvent mixture (methanol/glycerol) was determined using a Viscometer-ViscoLab 3000.

4.7. Cytotoxicity Assays in Cells and Cell Image. Human epidermoid carcinoma ATCC cell line A431 was employed to test the cytotoxic effects of compound 3 and 4. A431 cells was maintained in Dulbecco's Modified Eagle Media (DMEM) with 4 mM L-glutamine and supplemented with 10% fetal bovine serum, 100 IU/mL of penicillin, and 100 g/mL of streptomycin. Culture of cell line was carried out at 37 °C in an incubator with 95% air and 5% CO₂ atmosphere. Cytotoxicity of compounds 3 and 4 was tested against this cell line at 1, 2, 5, 10, and 20 $\mu\text{g/mL}$. Tumor cells were seeded in 24-well tissue culture plates with 5×10^4 cells/well, and 24 h after plating they were supplemented by triplicate with compound 3 and 4. All dilutions were prepared with fresh culture media, and plates were incubated for 5 days. Cells in plates were washed with PBS pH = 7.4 to remove death cells. Surviving cells were measured by the MTS method [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium] and related to the mock cell population by measuring absorbance at 590 nm to establish cell viability with previous microscopic analysis for morphological changes exploration in cells.

B16F10 murine melanoma cells were seeded in 12-well plates on polylysine-coated sterile coverslips at a density of 1×10^5 cells per well in 1 mL of DMEM/F12 media supplemented with 10% fetal bovine serum and maintained at 37 °C in a controlled humid atmosphere of 5% CO₂ and 95% air. Twenty-four hours later, the medium was renewed and cells were exposed to the compounds at a concentration of 10 $\mu\text{g/mL}$ (6.5 ppm) for 2 h. Untreated cells or treated with DMSO were used as controls. Supernatants were removed, and coverslips were washed once with 1 mL of PBS, mounted on microscope slips using Vectashield, and imaged using confocal laser microscopy. Samples were excited at 458 nm, and the fluorescence emission was measured at 478–612 nm for compounds 3 and 4.

4.8. Computational Details. All calculations were performed using the GAUSSIAN 09 software package.⁴⁰ The geometry of structures 3 and 4 was fully optimized with the B3LYP/6-31G(d,p) method.⁴¹ The minima were characterized by calculating their vibrational modes at the same level of theory. In order to know the rotation energy of the phenyl group and one of the ligands, the bonds involved for that rotation were rotated by 30–180° or 360°, depending on the case. Results were visualized using the Chemcraft program v1.7.

■ ASSOCIATED CONTENT

📄 Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge on the ACS Publications website at DOI: 10.1021/acs.joc.6b02802.

X-ray crystallographic data for 3 and 4 (CIF)

Tables of crystallographic refinement parameters and geometric features for 3 and 4 (PDF)

Spectra for compounds 2–4 and crystal data for compounds 3 and 4 (PDF)

■ AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

*E-mail: victor.jimenezpr@uanl.edu.mx.

ORCID

H. V. Rasika Dias: 0000-0002-2362-1331

Víctor M. Jiménez-Pérez: 0000-0003-4306-2482

Notes

The authors declare no competing financial interest.

■ ACKNOWLEDGMENTS

This research was financially supported by CONACYT (Grant No. 240011). M.I.-R. thanks CONACYT for a scholarship (No.

227695). We thank the Laboratory of Immunology and Virology of FCB-UANL for the bioimaging cells. H.V.R.D acknowledges financial support received by the Robert A. Welch Foundation (Grant Y-1289).

DEDICATION

This work is dedicated to Prof. Cassandra L. Fraser as recognition of her scientific contribution on fluorescent materials.

REFERENCES

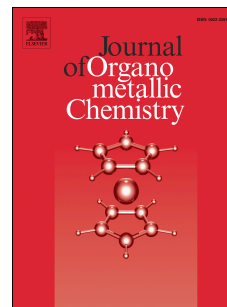
- (1) Kuimova, M. K. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, *14*, 12671–12686.
- (2) Goh, W. L.; Lee, M. Y.; Joseph, T. L.; Quah, S. T.; Brown, C. J.; Verma, C.; Brenner, S.; Ghadessy, F. J.; Teo, Y. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 6159–6162.
- (3) (a) Loutfy, R. O.; Arnold, B. A. *J. Phys. Chem.* **1982**, *86*, 4205–4211. (b) Benjelloun, A.; Brembilla, A.; Lochon, P.; Adibnejad, M.; Viriot, M. L.; Carré, M. C. *Polymer* **1996**, *37*, 879–883.
- (4) (a) Luka, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 4386–4392. (b) Haidekker, M.; Brady, T.; Wen, K.; Okada, C.; Stevens, H.; Snell, J.; Frangos, J.; Theodorakis, E. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 3627–4154. (c) Levitt, J. A.; Kuimova, M. K.; Yahiolglu, G.; Chung, P. H.; Suhling, K.; Phillips, D. *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 11634–11642.
- (5) (a) Haidekker, M. A.; Theodorakis, E. A. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 1669–1678. (b) Kuimova, M. K.; Botchway, S. W.; Parker, A. W.; Balaz, M.; Collins, H. A.; Anderson, H. L.; Suhling, K.; Ogilby, P. R. *Nat. Chem.* **2009**, *1*, 69–73. (c) Kuimova, M. K.; Yahiolglu, G.; Levitt, J. A.; Suhling, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 6672–6673. (d) Hungerford, G.; Allison, A.; McLoskey, D.; Kuimova, M. K.; Yahiolglu, G.; Suhling, K. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 12067–12074. (e) Peng, X.; Yang, Z.; Wang, J.; Fan, J.; He, Y.; Song, F.; Wang, B.; Sun, S.; Qu, J.; Qi, J.; Yan, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 6626–6635.
- (6) Tsai, A. G.; Friesenecker, B.; McCarthy, M.; Sakai, H.; Intaglietta, M. *Am. J. Physiol.* **1998**, *275*, H2170–H2180.
- (7) (a) Alamiry, A. H.; Benniston, A. C.; Copley, G.; Elliott, K. J.; Harriman, A.; Stewart, B.; Zhi, Y.-G. *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 4024–4032. (b) Li, J.; Zhang, Y.; Zhang, H.; Xuan, X.; Xie, M.; Xia, S.; Qu, G.; Guo, H. *Anal. Chem.* **2016**, *88*, 5554–5560. (c) Pal, S.; Chakraborty, H.; Bandari, S.; Yahiolglue, G.; Suhling, K.; Chattopadhyay, A. *Chem. Phys. Lipids* **2016**, *196*, 69–75. (d) Xochitiotzi-Flores, E.; Jiménez Sánchez, A.; García Ortega, H.; Sánchez Puig, N.; Romero Ávila, M.; Santillán, R.; Farfán, N. *New J. Chem.* **2016**, *40*, 4500–4512. (e) Zhou, Y.; Chen, Y.-Z.; Cao, J.-H.; Yang, Q. Z.; Wu, L. Z.; Tung, C. H.; Wu, D. Y. *Dyes Pigm.* **2015**, *112*, 162–169. (f) Kim, E.; Felouat, A.; Zaborova, E.; Ribierre, J.; Wu, W.; Senatore, S.; Matthews, C.; Lenne, P. F.; Baffert, C.; Karapetyan, A.; Giorgi, M.; Jacquemin, D.; Vargas, M. P.; Guennic, B. L.; Fages, F.; D'Aléo, A. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 1311–1324.
- (8) Alamiry, A. H.; Benniston, A. C.; Copley, G.; Elliott, V.; Harriman, A.; Stewart, B.; Zhi, Y.-G. *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 4024–4032.
- (9) Wang, D.; Miyamoto, R.; Shiraiishi, Y.; Hirai, T. *Langmuir* **2009**, *25*, 13176–13182.
- (10) Kuimova, M. K.; Yahiolglu, G.; Levitt, J. A.; Suhling, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 6672–6673.
- (11) Karpenko, I. A.; Niko, Y.; Yakubovskiy, P.; Gerasov, A. O.; Bonnet, D.; Kovtun, Y. P.; Klymchenko, A. S. *J. Mater. Chem. C* **2016**, *4*, 3002–3009.
- (12) (a) Jing, X.; Yu, F.; Chen, L. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 14253–14256. (b) Jiao, L.; Wu, Y.; Wang, S.; Hu, Y.; Zhang, P.; Yu, C.; Cong, K.; Meng, Q.; Hao, E.; Vicente, M. G. H. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 1830–1835.
- (13) (a) Kim, T.; Park, J.; Park, S.; Choi, Y.; Kim, Y. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 12640–12642. (b) Bernhard, Y.; Winckler, P.; Chassagnon, R.; Richard, P.; Gigot, E.; Perrier Cornet, J.; Decreau, R. A. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 13975–13978.
- (14) (a) Wang, X.-d.; Song, X.-h.; He, C.-y.; Yang, C. J.; Chen, G.; Chen, X. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 2434–2437. (b) Huang, J.; Peng, A.; Fu, H.; Ma, Y.; Zhai, T.; Yao, J. *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 9079–9084.
- (15) (a) Day, J. H. *Chem. Rev.* **1963**, *63*, 65. (b) Day, J. H. *Chem. Rev.* **1968**, *68*, 649–657.
- (16) (a) Pang, J.; Marcotte, E. J. P.; Seward, C.; Brown, R. S.; Wang, S. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, *40*, 4042–4045. (b) Keefe, M.; Benkstein, K. D.; Hupp, J. T. *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *205*, 201–228. (c) Fernandez-Moreira, V.; Thorp-Greenwood, F. L.; Coogan, M. P. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 186–202. (d) McLaurin, E. J.; Vlaskin, V. A.; Gamelin, D. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 14978–14980. (e) Cui, Y.; Xu, H.; Yue, Y.; Guo, Z.; Yu, J.; Chen, Z.; Gao, J.; Yang, Y.; Qian, G.; Chen, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 3979–3982. (f) Uchiyama, S.; Kawai, N.; de Silva, A. P.; Iwai, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3032–3033.
- (17) Dias, H. V. R.; Diyabalanage, H. V. K.; Eldabaja, M. G.; Elbjairami, O.; Rawashdeh-Omary, M. A.; Omary, M. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7489–7501.
- (18) Benito, Q.; Le Goff, F.; Nocton, G.; Fargues, A.; Garcia, A.; Berhault, A.; Kahlal, S.; Saillard, J. Y.; Martineau, C.; Trebosc, J.; Gacoin, T.; Boilot, J.-P.; Perruchas, S. *Inorg. Chem.* **2015**, *54*, 4483–4494.
- (19) Chen, K.; Catalano, V. J. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2015**, *2015*, 5254–5261.
- (20) Liu, X.; Li, S.; Feng, J.; Li, Y.; Yang, G. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 2778–2780.
- (21) Chan-Navarro, R.; Jiménez-Pérez, V.; Muñoz Flores, B. M.; Dias, R.; Moggio, I.; Arias, E.; Ramos Ortíz, G.; Santillán, R.; García, C.; Ochoa, M. E.; Yousufuddin, M.; Waksman, N. *Dyes Pigm.* **2013**, *99*, 1036–1043.
- (22) (a) Farfán, N.; Mancilla, T.; Uribe, G.; Carrillo, L.; Joseph-Nathan, P.; Contreras, R. *J. Organomet. Chem.* **1990**, *381*, 1–13. (b) Lamère, J. F.; Lacroix, P. G.; Farfán, N.; Rivera, J. M.; Santillan, R.; Nakatani, K. *J. Mater. Chem.* **2006**, *16*, 2913–2920.
- (23) (a) Barba, V.; Vazquez, J.; López, F.; Santillán, R.; Farfán, N. *J. Organomet. Chem.* **2005**, *690*, 2351–2357. (b) Noeth, H.; Wrackmeyer, B. *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Boron Compounds*; Springer-Verlag: New York, 1978.
- (24) Muñoz, B.; Santillán, R.; Rodríguez, M.; Méndez, J.; Romero, M.; Farfán, N.; Lacroix, P.; Nakatani, K.; Ramos, G.; Maldonado, J. *J. Organomet. Chem.* **2008**, *693*, 1321–1334.
- (25) Barba, V.; Cuahutle, D.; Santillan, R.; Farfán, N. *Can. J. Chem.* **2001**, *79*, 1229–1237.
- (26) Kaiser, F.; White, M.; Hutton, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 16450–16451.
- (27) Hopfl, H. *J. Organomet. Chem.* **1999**, *581*, 129–137.
- (28) Kottas, G. S.; Clarke, L. L.; Horinek, D.; Michl, J. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1281–1376.
- (29) Haidekker, M.; Brady, T.; Lichlyter, D.; Theodorakis, E. *Bioorg. Chem.* **2005**, *33*, 415–489.
- (30) (a) Yusop, M.; Unciti Broceta, A.; Bradley, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 5780–5783. (b) Kuimova, K.; Yahiolglu, G.; Levitt, J. A.; Suhling, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 6672–6673. (c) Karpenko, A.; Niko, Y.; Yakubovskiy, P.; Gerasov, A. O.; Bonnet, D.; Kovtun, Y. P.; Klymchenko, A. S. *J. Mater. Chem. C* **2016**, *4*, 3002–3009.
- (31) Chen, Z.; Liang, J.; Nie, Y.; Xu, X.; Yu, G.-A.; Yin, J.; Liu, H. *Dalton Trans.* **2015**, *44*, 17473–17477.
- (32) Seki, T.; Takamatsu, Y.; Ito, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 6252–6260.
- (33) (a) Sancho-García, J. C.; Cornil, J. *J. Chem. Phys.* **2004**, *121*, 3096–3101. (b) Wong, B. M.; Raman, S. J. *J. Comput. Chem.* **2007**, *28*, 759–766.
- (34) (a) Santos, M. F.; Rosa, J. N.; Candeias, N. R.; Carvalho, C. P.; Matos, I.; Ventura, E.; Florindo, F.; Silva, C.; Pischel, U.; Gois, M. P. *Chem. - Eur. J.* **2016**, *22*, 1631–1637. (b) Zhou, Y.; Chen, Y.-Z.; Cao, J.-H.; Yang, Q.-Z.; Wu, L.-Z.; Tung, C.-H.; Wu, D.-Y. *Dyes Pigm.* **2015**, *112*, 162–169.
- (35) Jiménez Pérez, V. M.; Camacho Camacho, C.; Güizado Rodríguez, M.; Noeth, H.; Contreras, R. *J. Organomet. Chem.* **2000**, *614–615*, 283–293.
- (36) Sheldrick, G. M. *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr.* **1990**, *46*, 467–473.

- (37) Sheldrick, G. M. *SHELX-97*; Universität Göttingen: Göttingen, 1997.
- (38) Farrugia, L. J. *J. Appl. Crystallogr.* **1999**, *32*, 837–838.
- (39) Williams, A. T. R.; Winfield, S. A.; Miller, J. N. *Analyst* **1983**, *108*, 1067–1071.
- (40) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J. A., Jr.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, M. J.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. *Gaussian 09*, revision B.01; Gaussian, Inc.: Wallingford CT, 2009.
- (41) (a) Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648–5652.
(b) Petersson, G. A.; Al-Laham, M. A. *J. Chem. Phys.* **1991**, *94*, 6081–6090.

Accepted Manuscript

Synthesis, characterization, photophysical properties of new fluorescent boron Schiff bases (BOSCHIBAs) and their application as cytoplasm staining dyes *in vitro*

María M. Corona-López, Víctor M. Jiménez Pérez, Rodrigo Chan-Navarro, Marisol Ibarra-Rodríguez, H.V. Rasika Dias, Arturo Chávez-Reyes, Blanca M. Muñoz-Flores



PII: S0022-328X(17)30579-X

DOI: [10.1016/j.jorganchem.2017.10.003](https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2017.10.003)

Reference: JOM 20123

To appear in: *Journal of Organometallic Chemistry*

Received Date: 26 June 2017

Revised Date: 2 October 2017

Accepted Date: 5 October 2017

Please cite this article as: Marí.M. Corona-López, Ví.M. Jiménez Pérez, R. Chan-Navarro, M. Ibarra-Rodríguez, H.V. Rasika Dias, A. Chávez-Reyes, B.M. Muñoz-Flores, Synthesis, characterization, photophysical properties of new fluorescent boron Schiff bases (BOSCHIBAs) and their application as cytoplasm staining dyes *in vitro*, *Journal of Organometallic Chemistry* (2017), doi: 10.1016/j.jorganchem.2017.10.003.

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

Synthesis, characterization, photophysical properties of new fluorescent boron Schiff bases (BOSCHIBAs) and their application as cytoplasm staining dyes *in vitro*.

María M. Corona-López^a, Víctor M. Jiménez Pérez^a, Rodrigo Chan-Navarro^a, Marisol Ibarra-Rodríguez^a, H. V. Rasika Dias^b, Arturo Chávez-Reyes,^c and Blanca M. Muñoz-Flores^{a,*}

^a*Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Químicas, Ciudad Universitaria, Av. Universidad s/n. C. P. 66451, Nuevo León, México.*

^b*Department of Chemistry and Biochemistry, The University of Texas at Arlington, Arlington, Texas 76019-0065, United States.*

^c*Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Unidad Monterrey, PIIT, C.P. 66600. Apodaca, Nuevo León, México.*

*Corresponding author: Tel +52(81)83294000, ext. 3401; Fax: 52 (81)83760570.

E-mail: blanca.munozfl@uanl.edu.mx (B. M. Muñoz-Flores)

Abstract

In this paper, we report a series of Schiff bases synthesized by the condensation reaction between 2-hydroxy-1-naphthaldehyde with aniline derivatives as well as their further coordination with diphenylborinic acid for giving the corresponding boron Schiff bases (BOSCHIBAs) (*E*)-N-((2-((di-phenylboryl)oxy)naphthalen-1-yl)methylene)pyridin-3-amine (**1a**), (*E*)-N-((2-((di-phenylboryl)oxy)naphthalen-1-yl)methylene)-2,6-dimethylaniline (**2a**), and (*E*)-N-((2-((di-phenylboryl)oxy)naphthalen-1-yl)methylene)-2,6-diisopropylaniline (**3a**). The resulting BOSCHIBAs were characterized by NMR (^1H , ^{13}C , and ^{11}B), FT-IR, and atmospheric pressure ionization time-of-flight mass spectrometry. BOSCHIBA**1a** was structurally characterized by single-crystal. Structure analysis indicates that the boron atom adopts a tetrahedral molecular geometry into a six-membered ring with a half-chair conformation. BOSCHIBAs **1a-3a** and their ligands **1-3** exhibit relatively low quantum yields in a range from 1 to 3 %. In a bioimaging study by using the BOSCHIBAs **2a**, and **3a** as fluorescent staining dyes, those materials showed enhanced features in terms of low cytotoxicity, simple synthesis, photostability, hydrolytic stability and specific staining for cytoplasm structures.

Keywords: BOSCHIBAs, cytoplasm staining, low cytotoxicity, high photostability, fluorescent bioimaging.

Introduction

Nowadays fluorescence bioimaging (FBI) based on small organic molecules have gained tremendous attention as an indispensable tool in cellular biology and biomedical research because it provides a unique approach for the visualization of cell internal structures with morphological details in tissue at a subcellular resolution level. Hence, FBI might advance knowledge of cellular biology and disease at the molecular level: both *in vitro* and *in vivo* [1]. Nevertheless, this technique is not invasive, and it is revolutionizing the biomedical research and clinical practice [2].

On the flip side, the cytoplasm is a fluid thicker than water which contains all the cell organelles and it provides mechanical support to the internal cell structures. Moreover, the most important activities into the cell occur in the cytoplasm which include metabolic process, breakdown of waste, glycolysis, and cell division. In this sense, recently fluorescent cytoplasm markers have gained much interest since they can associated with the diseases and abnormal cellular functions [3]. As examples of fluorescence cytoplasm markers in the literature, there are reported antibodies, nanoparticles [4], quantum dots [5,6], lanthanide complexes [7], and small organic molecules such as organoboron compounds [8]. All these fluorophores must cover some important features for practical analyses which include solubility, low cytotoxicity, photostability, and degradability. In particular, the cytotoxicity, and photostability are two important parameters to be measurement before thinking about the practical purpose or application. It is remarkable that in recent years there has been considerable curiosity in the synthesis of organoboron compounds in areas such as supramolecular chemistry [9], medicinal chemistry [10], materials chemistry [11], imaging materials [12], organic light-emitting diodes [13],

organic field effect transistors [14], and photo-responsive materials [15,16]. Specially, the responsiveness has increased to those boron Schiff bases (BOSCHIBAs) due to they provide an interesting variety of molecular structural conformations and while electron withdrawing imine group (C=N) interacts with metal ions giving rise to materials with different optoelectronic properties [17] and several new applications [18]. Furthermore, bidentate Schiff bases could act as fluorescent molecular sensors for detection of toxic heavy metals in living cells by confocal microscopy [19,20]. In the literature there are many reports of the synthesis of BODIPY type boron compounds which have shown to be useful in FBI. These compounds display adequate permeability through cell membrane and it diffuses within the cytoplasm [21,22]. Likewise, to get FBIs *in vitro* or *in vivo* for practical situations, the photostability under UV-Vis light irradiation plays an important role. With the purpose to avoid the photobleaching, some strategies have been reported by the addition of antifading compounds, organic antioxidants, triplet state quenchers [23], and micrometer-sized polydimethylsiloxane wells [24]. However, it has scarcely been studied to use the bulky groups in organic dyes to reduce the photobleaching effect [25]. We have recently reported that mononuclear and binuclear BOSCHIBAs (Figure 1) [26] exhibit a low cytotoxicity level which is good for potential biomedical application but they have also a poor capacity for staining cells with a low quantum yield ($\Phi_F \sim 1\%$) attributed to the boron atom is outside the ligand-plane.

Keeping this in mind, we designed new fluorescent BOSCHIBAs where the π -system delocalization was increased by the addition of the naphthyl group [27] and the photo-stability was also increased by the use of bulky groups (Scheme 1). All BOSCHIBAs **1a-3a** and their free ligand **1-3** were fully characterized by NMR (^1H , ^{11}B , and ^{13}C), ATR-

IR spectroscopy, and atmospheric pressure ionization time-of-flight mass spectrometry. In the case of BOSCHIBA **1a**, it was characterized by X-ray diffraction.

Figure 1. Here

Experimental Section

General marks

All starting materials were procured from Aldrich Chemical Company. Solvents were used without further purification. The diphenylborinic acid (Ph₂BOH) was prepared *in situ* as previously reported in the literature [28]. Melting points were confirmed by using an Electrothermal Mel-Temp apparatus. Infrared spectra were recorded using a Bruker Tensor 27 FT-IR spectrophotometer equipped with a Pike MiracleTM ATR accessory with single reflection ZnSe ATR crystal. ¹H, ¹³C, and ¹¹B NMR spectra were recorded in CDCl₃ on a Bruker advance DPX 400. Chemical shifts (ppm) are relative to (CH₃)₄Si for ¹H and ¹³C. ¹¹B NMR spectra were referenced externally to BF₃·OEt₂. Atmospheric pressure ionization time-of-flight mass spectrometry (APCI-TOF-MS) in positive ion mode was acquired on an Agilent Technologies instrument.

X-ray crystallography

The X-ray crystallography data for **1a** (CCDC: 1520512) were measured at 100(2) K on a Bruker D8 Quest with a Photon 100 CMOS detector equipped with an Oxford Cryosystems 700 series cooler, a Triumph monochromator, and a Mo K α fine-focus sealed tube ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). Intensity data were processed using the Bruker Apex II program

suite. All the calculations for the structure determination were carried out using the SHELXTL package (version 6.14). Initial atomic positions were located by direct methods using XS, and the structures of the compounds were refined by the least-squares method using SHELXL. Absorption corrections were applied by using SADABS. All the non-hydrogen atoms were refined anisotropically. Hydrogen atoms were placed in idealized positions and refined as riding atoms with relative isotropic displacement parameters.

Optical measurements

UV-Vis absorption spectra were measured on a UV spectra were obtained with a Perkin Elmer Lambda 365 UV/Vis spectrophotometer. The emission spectra have been recorded with a Fluorolog-3 research spectrometer, by exciting 10 nm below the longer wavelength absorption band. Fluorescence quantum yields (Φ_F) in solution were determined according to the procedure reported in the literature [29] and using quinine sulfate in H_2SO_4 0.1M ($\Phi= 0.54$ at 310 nm) as the standard. Temperature was regulated at 25.0 ± 0.5 °C with a water circulating bath. Three solutions with absorbance at the excitation wavelength lower than 0.1 were analyzed for each sample and the Φ_F was averaged. Φ_F measurements were measured by the relative method and the quantum yield of the unknown, Φ_x , is calculated according to the following equation:

$$\Phi_x = \Phi_R \cdot \frac{A_R}{A_x} \cdot \frac{E_x}{E_R} \cdot \frac{I_R}{I_x} \cdot \frac{n_x^2}{n_R^2} \quad (1)$$

where Φ_R is the quantum yield of the standard, A is the absorbance of the solution, E is the corrected emission intensity, I is the relative intensity of the exciting light and n is the average refractive index of the solution. Subscripts R and X refer to the reference and unknown compound, respectively.

Photostability testing and stability in aqueous DMSO solutions

With the purpose to perform stability assay, BOSCHIBAs **1a-3a** were adjusted to give absorption of 0.5 u.a at the short wavelength absorption band. The samples were illuminated with 1.2 mW/cm² (365 nm) for 60 min with interval of 10 min at room temperature with air atmosphere. Each absorption spectrum was measured by using a Perkin Elmer Lambda 365 UV/Vis spectrophotometer in the region of 190-700 nm. Likewise, the stability in aqueous solutions at 1% v/v of DMSO was evaluated under the same experimental condition without photoirradiation. Both analyses are critical to assess how stable the dye is during imaging applications discussed later.

Cytotoxicity Assays

B16F10 murine melanoma cells (ATCC CRL-6475, Manassas, VA) were used to determine the cytotoxic effects of **1a-3a** complexes. Cells were maintained in GIBCO-DMEM/F12 culture media supplemented with 10% FBS and 1X antibiotic-antimitotic (all from ThermoFisher Scientific, Waltham, MA), at 37°C in an atmosphere of 5% CO₂. For the experiments cells were plated in 96-wells plates at a cell density of 2000 cells per well in 100 µL of media and let them undisturbed overnight before the treatments were added. Compounds were added at concentrations of 0.1, 1, 2.5, 5, and 10 µg/mL. Forty-eight hours later 10 µl of alamarBlue (Biosource Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA) were added to each well to determine cell viability following manufacturer's instructions.

Bioimaging Assays

To assess the BOSCHIBAs capabilities to stain cells *in vitro*, B16F10 cells were plated at densities of 5×10^4 cells per well in 500 μL of media on coverslips in 12 wells plates. After overnight incubation 10 $\mu\text{g/mL}$ of each complex were added to each well and 2 hours later coverslips were mounted with Vectashield (Vector Laboratories, Inc. Burlingame, CA) and analyzed by confocal microscopy in a Leica TCS SP5 Confocal System at excitation wavelength of 405 nm and emission of 420-550 nm, or excitation of 488 nm and emission of 500-600 nm. DMSO treated cells were used as a control to determine endogenous fluorescence.

General procedure of synthesis of BOSCHIBAs 1a-3a and Schiff bases 1-3.

(E)-1-((pyridin-3-ylimino)methyl)naphthalen-2-ol (1)

A homogeneous mixture of 2-hydroxy-1-naphthaldehyde (0.50 g, 2.91 mmol) with 3-aminopyridine (0.27 g, 2.91 mmol) in acetonitrile was heated under reflux for 48 h. The reaction mixture was slowly cooled at room temperature and the precipitated product was filtrated and washed with hexane to give 0.57 g (2.30 mmol, 79 % yield) of **1** as a yellow solid. M.P.: 182° C; FT-IR $_{\nu_{\text{max}}}$ (cm^{-1}): 3048, 1624 (C=N), 1562, 1484; UV/Vis (THF): $\lambda_{\text{abs/max}}$ (nm), [$\epsilon_{\text{max}} * 10^4$ ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)]: 377 [0.10], 322; Fluorescence (CHCl_3): λ_{fluor} (nm): 490; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.16 (1H, d, $^3J = 8.0$ Hz, H-3), 7.37 (2H, m, H-7, H-14), 7.54 (1H t, $^3J = 16$ Hz, H-8), 7.65 (1H, d, $^3J = 8.0$ Hz, H-13), 7.75 (1H, d, $^3J = 8.0$ Hz, H-6), 7.84 (1H, d, $^3J = 12$ Hz, H-4), 8.13 (1H, d, $^3J = 8.0$ Hz, H-9), 8.54 (1H, d, $^3J = 8.0$ Hz, H-15), 8.63 (1H, d, $^3J = 4.0$ Hz, H-17), 9.42 (1H, s, H-11), 14.93 (1H, s, OH); ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 109.42 (C-1), 119.22 (C-9), 120.68 (C-3), 123.96

(C-14), 124.09 (C-7), 127.80 (C-13), 128.35 (C-8), 129.53 (C-6), 132.94 (C-10), 136.52 (C-4), 142.99 (C-17), 143.75 (C-12), 147.76 (C-15), 158.70 (C-11), 166.20 (C-2); $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HETCOR NMR δ (ppm): 7.16/120.54 (H-3/C-3), 7.36/123.84 (H-14/C-14), 7.54/128.21 (H-8/C-8), 7.64/127.66 (H-13/C-13), 7.75/129.41 (H-6/C-6), 7.84/136.39 (H-4/C-4), 8.12/119.09 (H-9/C-9), 8.54/147.64 (H-15/C-15), 8.64/142.89 (H-17/C-17), 9.42/158.57 (H-11/C-11); $^1\text{H}/^1\text{H}$ COSY NMR δ (ppm): 7.89/7.15 (H-4/H-3), 7.55/7.38 (H-8/H-7), 7.64/7.38 (H-13/H-14), 7.73/7.38 (H-6/H-7), 8.12/7.54 (H-9/H-8), 8.54/7.38 (H-15/H-14).

(E)-1-(((2,6-dimethylphenyl)imino)methyl)naphthalen-2-ol (2)

Preparation of **2** was accomplished like that of **1** from 2-hydroxy-1-naphthaldehyde (0.50 g, 2.91 mmol) with 2,6-dimethylaniline (0.35 g, 2.91 mmol). The product was obtained as a yellow solid with yield of 75 % (0.60 g, 2.18 mmol). M.P.: 118° C. ATR-IR_{max}: 3074, 2990, 2948, 1613 (C=N), 1573, 1161 cm^{-1} ; UV/Vis (THF): $\lambda_{\text{abs/max}}$ (nm), [$\epsilon_{\text{max}} * 10^4$ ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)]: 364 [0.58], 315; Fluorescence (CHCl_3): λ_{fluor} (nm): 473; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7.13 (1H, d, $^3J = 8.0$ Hz, H-3), 7.20 (3H, m, H-14, H-15, H-16), 7.36 (1H, t, $^3J = 16.0$ Hz, H-7), 7.51 (1H, t, $^3J = 16.0$ Hz, H-8), 7.77 (1H, d, $^3J = 8$ Hz, H-6), 7.86 (1H, d, $^3J = 8.0$ Hz, H-4), 8.00 (1H, d, $^3J = 8.0$ Hz, H-9), 2.34 (6H, s, H-18, H-19), 9.14 (1H, s, H-11), 15.24 (1H s, OH); ^{13}C NMR { ^1H } (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 18.77 (C-18,C-19), 108.49 (C-1), 118.85 (C-9), 121.61 (C-15), 123.50 (C-7), 125.70 (C-3), 127.41 (C-5), 128.14 (C-8), 128.70 (C-14, C-16), 129.39 (C-6), 129.70 (C-13, C-17), 133.27 (C-10), 136.06 (C-4), 145.86 (C-12), 161.32 (C-11), 168.02 (C-2); $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HETCOR NMR δ (ppm): 2.31/18.60 (H-18,19/C-18,19), 7.14/125.66 (H-3,/C-3), 7.20/128.69 (H-14, 16/C-14, 16), 7.23/121.56 (H-15/C-15), 7.37/123.46 (H-7/C-7), 7.52/128.10 (H-8/C-8),

7.79/129.36 (H-6/C-6), 7.87/136.04 (H-4/C-4), 8.01/118.79 (H-9/C-9), 9.16/161.27 (H-11/C-11); $^1\text{H}/^1\text{H}$ COSY NMR δ (ppm): 7.86/7.13 (H-4/H-3), 7.77/7.38 (H-6/H-7), 7.51/7.38 (H-8/H-7), 7.99/7.51 (H-9/H-8).

(E)-1-(((2,6-diisopropylphenyl)imino)methyl)naphthalen-2-ol (3)

Preparation of **3** was accomplished like that of **1** from 2-hydroxy-1-naphthaldehyde (0.5 g, 2.91 mmol) with 2,6-diisopropylaniline (0.51 g, 2.91 mmol). The product was obtained as a yellow solid with yield of 73 % (0.70 g, 2.12 mmol). M.P.: 192° C. AT-IR_{νmax} cm⁻¹: 2980, 2964, 2943, 1620 (C=N), 1575, 1172, UV/Vis (THF): λ_{abs/max} (nm), [ε_{max}*10⁴ (M⁻¹cm⁻¹): 362 [0.71], 315; Fluorescence (CHCl₃): λ_{fluor} (nm): 477; ^1H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 1.13 (12H, d, $^3J = 8.0$ Hz, H-19, H-20, H-22, H-23), 3.02 (2H, septet, $^3J = 28.0$ Hz, H-18, H-21), 7.10 (1H, d, $^3J = 8.0$ Hz, H-3), 7.15 (3H, m, H-14, H-15, H-16), 7.24 (t, 1H, $^3J = 16$ Hz, H-8), 7.39 (1H, t, $^3J = 16$ Hz, H-7), 7.66 (1H, d, $^3J = 8.0$ Hz, H-6), 7.76 (1H, d, $^3J = 8.0$ Hz, H-4), 7.89 (1H, d, $^3J = 8.0$ Hz, H-9), 8.98 (1H, s, H-11), 15.13 (1H, s, OH); ^{13}C NMR { ^1H } (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 22.66 (C-19, C-20, C-22, C-23), 27.27 (C-18, C-21), 107.30 (C-1), 117.70 (C-9), 120.34 (C-3), 122.39 (C-8), 122.49 (C-14, C-16), 125.21 (C-15), 126.38 (C-5), 127.07 (C-7), 128.30 (C-6), 132.15 (C-10), 134.87 (C-4), 139.22 (C-13, C-17), 142.94 (C-12), 160.61 (C-11), 166.35 (C-2); $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ HETCOR NMR δ (ppm): 1.09/22.54 (H-19, 20, 22, 23/C-19, 20, 22, 23), 3.01/27.14 (H-18, 21/C-18, 21), 7.10/120.31 (H-3/C-3), 7.14/122.43 (H-14, 16/C-14, 16), 7.15/125.17 (H-15/C-15), 7.23/122.34 (H-8/C-8), 7.38/127.05 (H-7/C-7), 7.65/128.26 (H-6/C-6), 7.74/134.83 (H-4/C-4), 7.88/117.65 (H-9/C-9) 8.98/160 (H-11/C-11); $^1\text{H}/^1\text{H}$ COSY NMR δ (ppm): 7.75/7.09 (H-4/H-3), 7.38/7.25 (H-7/H-8), 7.38/7.65 (H-7/H-6), 7.88/7.25 (H-9/H-8);

(E)-N-((2-((diphenylboryl)oxy)naphthalen-1-yl)methylene)pyridin-3-amine (1a)

A solution of *(E)*-1-((pyridin-3-ylimino)methyl)naphthalen-2-ol **1** (0.1 g, 0.40 mmol) with diphenylborinic acid (0.18 g, 1.0 mmol) in acetonitrile was heated under reflux for 48 h. The reaction mixture was slowly cooled to room temperature, and the precipitated product was filtrated and washed with hexane followed by recrystallization in a chloroform/hexane mixture to give 0.16 g (0.39 mmol, 95%) of BOSCHIBA **3a** as a yellow crystalline solid. M.P.: 222° C; FT-IR ν_{max} (cm⁻¹): 2962, 1624, 1608(C=N), 1550, 1458, 1312, 1204, 1140, 892, 878, 825, 795, 745, 702 (O-B), 623, 597; UV/Vis (THF): $\lambda_{\text{abs/max}}$ (nm), [$\epsilon_{\text{max}} \cdot 10^4$ (M⁻¹cm⁻¹)]: 425 [0.51], 337; Fluorescence (CHCl₃): λ_{fluor} (nm): 530; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.98 (1H, d, ³J = 4 Hz, H-3), 7.09 (7H, m, H-13, 4H-*m*, 2H-*p*), 7.27 (2H, m, H-7, H-8), 7.36 (4H, d, ³J = 8.0 Hz, H-8, 4H-*o*), 7.43 (1H, t, ³J = 16 Hz, H-14), 7.59 (1H, d, ³J = 8.0 Hz, H-6), 7.77 (1H, d, ³J = 8.0 Hz, H-4), 7.81 (1H, d, ³J = 12 Hz, H-9), 8.33 (1H, d, ³J = 4.0 Hz, H-15), 8.37 (1H, s, H-17), 8.86 (1H, s, H-11); ¹³C NMR {¹H}(100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 111.56 (C-1), 119.27 (C-9), 121.52 (C-3), 123.04 (C-7), 124.70 (C-13), 126.79 (C-14), 127.27 (C-*m*, C-*p*), 127.75 (C-5), 129.42 (C-8), 129.72 (C-6), 132.31 (C-10), 132.60 (C-4), 133.73 (C-*o*), 141.29 (C-*i*), 142.56 (C-17), 144.99 (C-12), 148.82 (C-15), 157.75 (C-11), 165.96 (C-2); ¹¹B NMR (128 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.38; APCI-TOF-MS in positive ion mode calc. for [(C₂₈H₂₁N₂O₄B+H)⁺]: 413.1700 u.m.a; Exp.: 413.1822 u.m.a

(E)-N-((2-((diphenylboryl)oxy)naphthalen-1-yl)methylene)-2,6-dimethylaniline (2a)

Preparation of BOSCHIBA **2a** was accomplished like that of **1a** from Schiff base **2** (0.1 g, 0.36 mmol) with diphenylborinic acid (0.17 g, 0.93 mmol). The product was

obtained as a yellow solid with a yield of 92 % (0.14 g, 0.32 mmol); M.P.: 212° C; FT-IR_{νmax} (cm⁻¹): 2964, 1624, 1605(C=N), 1549, 1458, 1312, 1205, 1140, 1000, 892, 879, 825, 796, 745, 702 (O-B), 635; UV/Vis (THF): λ_{abs/max} (nm), [ε_{max}*10⁴ (M⁻¹cm⁻¹): 400 [0.39], 327; Fluorescence (CHCl₃): λ_{fluor} (nm): 480; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 6.82 (1H, d, ³J = 8.0 Hz, H-3), 6.97 (7H, m, H-15, 4H-*m*, 2H-*p*), 7.16 (2H, d, ³J = 12 Hz, H-14, H-16), 7.27 (1H, t, ³J = 12 Hz, H-7), 7.32 (1H, d, ³J = 8.0 Hz, 4H-*o*), 7.45 (1H, t, ³J = 20 Hz, H-8), 7.67 (1H, d, ³J = 8.0 Hz, H-6), 7.77 (1H, d, ³J = 8.0 Hz, H-4), 7.86 (1H, d, ³J = 8 Hz, H-9), 1.79 (2H, s, H-18, H-19), 8.64 (1H, s, H-11); ¹³C NMR {¹H}(100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 18.12 (C-18, C-19), 110.45 (C-1), 118.22 (C-9), 120.72 (C-15), 123.20 (C-7), 125.16 (C-13), 125.47 (C-*m*, C-*p*), 126.59 (C-5), 126.70 (C-8), 127.47 (C-14, C-16), 128.00 (C-13, C-17), 128.53 (C-6), 132.10 (C-*o*), 132.67 (C-*i*), 133.67 (C-10), 138.88 (C-4), 144.01 (C-12), 159.89 (C-11), 163.70 (C-2); ¹¹B NMR (128 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 4.76; APCI-TOF-MS in positive ion mode calc. for [(C₃₁H₂₆NO₄B+H)⁺]: 440.2100 u.m.a; Exp.: 440.2182 u.m.a

(E)-N-((2-((diphenylboryl)oxy)naphthalen-1-yl)methylene)-2,6-diisopropylaniline (3a)

Preparation of BOSCHIBA **3a** was accomplished like that of **1a** from Schiff base **3** (0.1 g, 0.30 mmol) with diphenylborinic acid (0.13 g, 0.71 mmol). The product was obtained as a green solid with a yield of 30 % (0.044 g, .091 mmol); M.P.: 200° C; FT-IR_{νmax} (cm⁻¹): 2967, 1623, 1607(C=N), 1547, 1456, 1343, 1312, 1206, 1141, 999, 894, 878, 825, 796, 745, 702 (O-B), 634; UV/Vis (THF): λ_{abs/max} (nm), [ε_{max}*10⁴ (M⁻¹cm⁻¹): 398 [0.81], 329; Fluorescence (CHCl₃): λ_{fluor} (nm): 480; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.13 (6H, d, ³J = 8.0 Hz, H-22, H-23), 1.16 (6H, d, ³J = 8.0 Hz, H-19, H-20), 3.57 (2H,

septeto, $^3J = 28$ Hz, H-18, H-21), 7.20 (1H, d, $^3J = 8.0$ Hz, H-3), 7.29 (3H, m, , H-14, H-15, H-16), 7.35 (6H, m, 4H-*m*, 2H-*p*), 7.49 (1H, t, $^3J = 16$ Hz, H-7), 7.54 (5H, m, H-8, 4H-*o*), 8.00 (1H, d, $^3J = 12$ Hz, H-6), 8.14 (1H, d, $^3J = 12$ Hz, H-4), 8.28 (1H, d, $^3J = 8.0$ Hz, H-9), 8.90 (1H, s, H-11); ^{13}C NMR $\{^1\text{H}\}$ (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 23.40 (C-19, C-20, C-22, C-23), 28.28 (C-18, C-21), 108.82 (C-1), 119.12 (C-9), 121.42 (C-3), 124.13 (C-14, C-16), 124.80 (C-7), 127.31 (C-15), 128.04 (C-*m*, C-*p*), 129.05 (C-5), 129.37 (C-8), 129.79 (C-6), 130.87 (C-10), 132.74 (C-4), 135.16 (C-13, C-17), 135.69 (C-*o*), 140.2234 (C-*i*), 144.33 (C-12), 161.06 (C-11), 163.21 (C-2); ^{11}B NMR (128 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 4.42; APCI-TOF-MS in positive ion mode calc. for $[(\text{C}_{35}\text{H}_{34}\text{NO}_4\text{B}+\text{H})^+]$: 496.2700 u.m.a; Exp.: 496.2807 u.m.a

1-naphthylmethylidenebenzoilhydrazone-phenyl-boron(4a).

A solution of (E)-N'-((2-hydroxynaphthalen-1-yl)methylene)benzohydrazide (0.29 g, 1 mmol) and phenylboronic acid (0.122 g, 1 mmol) in acetonitrile were heated under reflux for 48 hours. The reaction mixture was slowly warmed to room temperature, the solvent is evaporated and adding ethyl acetate, it was allowed to evaporate slowly at 10 days, giving a yellow solid. Yield of 0.28 g (74%). M. P.: 152 °C. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 7.09 (1H m, H-3), 7.33 (1H, m, H-15), 7.39 (1H, m, H-7), 7.43 (1H, m, H-*m*), 7.45 (2H, m, H-*o*, *p*), 7.52 (1H, t, H-14), 7.57 (1H, m, H-8), 7.67 (1H, m, H-16), 7.87 (2H, m, H-4, H-6), 8.11 (1H, d, H-9), 8.71 (1H, s, H-11); ^{13}C NMR $\{^1\text{H}\}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 110.43 (C1), 119.79 (C*p*), 121.03 (C4), 123.74 (C7), 127.16 (C5), 127.68 (C15), 128.32 (C3), 128.42 (C10), 128.76 (C14), 128.97 (C8), 129.27 (C6), 131.45 (C*m*), 131.53 (C13), 132.12 (C16), 137.47 (C9), 141.53 (C11), 155.61 (C2), 170.89 (C12).

Results and Discussion

Synthesis

The BOSCHIBAs **1a-3a** were obtained by condensation of diphenylborinic acid (synthesized *in situ*) with the corresponding free ligand under reflux in acetonitrile (Scheme 1). In order to carry out a comparative study of the photophysical properties, the corresponding Schiff bases **1-3** were also prepared by a condensation reaction between 2-hydroxy-1-naphthaldehyde with the corresponding aniline. All the BOSCHIBAs and their ligands were obtained in nearly quantitative yield (73 to 95%) with high atom economy (**1a**: 92; **2a**: 91, and **3a**: 93%) and low environmental E factor (**1a**: 0.05; **2a**: 0.09), except **3a**, that showed a poor chemical yield (30%) after the final purification step as well as a high E value (2.30) (See electronic supporting information). In general, the condensation reactions demonstrated to be a cheap, simple, faster, and reproducible synthetic route with a high atomic economy and low E values.

Scheme 1. Here

Spectroscopic and spectrometric characterization

The formation of the N→B coordinate bond for BOSCHIBAs **1a-3a** was evidenced in the first instance by Boron NMR spectroscopy (See electronic supporting information Figures S1-S3). For example, one broad signal can be observed in a range from 7.38 to 4.42 ppm, corresponding to tetracoordinated boron atoms respectively (See Table 1). In the ¹³C NMR spectra of BOSCHIBAs **1a-3a**, the signals for C-11 are shifted to low frequencies (157.7-161.0 ppm) with respect to the Schiff bases **1-3** (158.7-161.3 ppm) owing to the

coordination to boron [30]. ^1H NMR spectra confirmed the formation of the Schiff bases **1-3** with simple signals in the range from 8.64 to 9.42 ppm which are typical for imine groups (See electronic supporting information figures S4-S21) [31]. In the solid state, the FT-IR spectral analysis showed the stretching vibration bands attributed to imine group (C=N) for BOSCHIBAs **1a-3a** which were shifted to lower wavenumbers in comparison with the free ligands **1-3**, demonstrating a decrease in strength when the new coordination bond is formed (See electronic supplementary information Fig. S22-S27) [32]. Atmospheric pressure ionization time-of-flight mass spectrometry (APCI-TOF-MS) analysis in positive ion mode for BOSCHIBA **1a-3a** confirm the molecular ion peak (**1a**: 413.1822, **2a**: 440.2183, and **3a**: 496.2807) which correspond to the expected molecular ion mass (See electronic supplementary information Fig. S28-S30). As a characteristic for BOSCHIBAs **2a**, and **3a**, both molecules show a fragment due to the loss of one ring of benzene bonded to boron atom as well as the formation of boratropylium ion is attributed to loss of a fragment from 86 Da to 33 Da. In addition **3a** shows a fragment at m/z 157 that is related to loss of 2,6-diisopropylaniline fragment from 175 Da (Scheme 2).

Table 1. Here

Scheme 2. Here

X-ray analyses.

The crystal structure for BOSCHIBA **1a** is represented in Figure 2. BOSCHIBA **1a** belongs to the monoclinic space group $P2_1/c$, and its crystal structure analysis reveals that contains a tetra-coordinated boron atom and a three-ring-fused skeleton with a $\text{N}\rightarrow\text{B}$

coordination bond length of 1.632(1) Å where boron atom adopt typical tetrahedral geometry. According to Höpfl formula, the boron atom has a strong dative bond from nitrogen atom corroborated by a tetrahedral character equal to 94.35 % [34]. The bond length of B-O is 1.505(1) Å, which is similar to those of the organoboron complexes reported previously [35,36]. The imine bond length for **1a** is 1.310 (2) Å, a value closer to that single bonds due to the formation of new N-B coordination bond. Moreover, the imine bond shows a configuration *E* with regard to the naphthalene group due to the quelate ring formation. Figure 3 exhibits the formation of a dimer through [C-H(13)⋯π-system(N-2) 2.5912 Å] as well as the formation of a 1D chain through [C-H(21)⋯π-system(O-2) intermolecular interactions. BOSCHIBA **1a** has a non-planar structure which is deduced from the dihedral angle (41.08°) calculated between naphthalene and pyridine rings. An aspect of relevance of the structure **1a** is the deviation (θ) of the boron atom from the naphthalenimino-plane that has a value equal to 0.336 Å, which is less than those previously reported by our group research. In this study, we found that boron compounds derivatives from salicylidenebenzohydrazide have great θ from the salicylidenimino-plane with values in a range from 0.488 to 0.749 Å [37]. Most likely this parameter could increase the luminescence properties as it has been reported for fluorescent borinates derived from benzoxazoles and benzothiazoles [38]. In those structures, the authors found two phenyl groups attached to the boron atom affectively keep luminescent rigid-fused π -conjugated skeletons apart, making these molecules highly emissive.

Figure 2. Here

Figure 3. Here

Table 2. Here

Photophysical properties.

The optical properties of BOSCHIBAs **1a-3a** and their free ligands **1-3** were obtained in spectroscopic grade tetrahydrofuran (Table 3), as it is a common solvent that dissolves all molecules reported here. Figure. 4 shows the electronic absorption spectra of BOSCHIBAs **1a-3a**, and (Inset) those corresponding ligands. The BOSCHIBAs **1a-3a** show a main absorption band in a range from 328 to 341 nm attributed to the π - π^* electronic transition through the molecule. Moreover by making comparison with their corresponding free ligands, this π - π^* intraligand electronic transition is observed in the BOSCHIBAs at longer wavelengths relative likely because a less distortion of the naphthyl imine system after complexation (torsion angle of C12-N1-C11-C1 is 171.91° (9)). When the BOSCHIBAs are formed (Figure 4), the bands are red-shifted due to the larger electronic delocalization because of the formation of the imine system, in according to the displacement observed for H-11 protons in ^1H NMR analysis (Table 1).

Figure. 4 Here

The fluorescence spectra of the BOSCHIBAs **1a-3a** and their free ligands are shown in the figure. 5. BOSCHIBAs **2a** and **3a** show a broad blue emission bands at 492, and 493 nm without an apparent change in the fluorescence emission maximum with respect to their

free ligands. In fact, both emission wavelengths are practically identical which indicates that the addition of bulky substituents can not tune the emission wavelength in the visible spectrum (See table 3). Conversely, BOSCHIBA **1a** presents a broad band centered at 528 nm with a moderated red shift of 92 nm with respect to its free ligand. This change implies that the complexation with boron affects the geometry in the excited state of the naphthalene fluorophore when it is substituted with a heterocyclic compound. An interesting aspect is that the emission can be tuned from the blue (**1**) to the green (**3a**) regions by changing from free ligand to complex. As a general remark, the fluorescence quantum yield (Φ_F) is very weak for all molecules, except **3a**, that exhibits a moderate increase of 3%. It is important to mention that **1a** showed the highest Φ_F might be due to the coplanarity of the heterocyclic system. In all cases, large Stokes shift ($\Delta\nu$) indicates that the geometry of the molecule changes dramatically after excitation and non-radiative losses are probably due to an internal conversion process, according to the previously reported studies by our research group [36] and could also be related to the low Φ_F measured for all molecules under our experimental conditions.

Figure 5. Here

Table 3. Here

Photostability testing and stability in aqueous DMSO solutions

For bioimaging applications, it is desirable that the molecules demonstrate that the light exposure does not change their chemical-optical properties. The photostability curves

for the BOSCHIBAS **1a-3a** are given in the electronic supplementary information (Fig. S31-S33). Figure 6 shows the degradation plots of BOSCHIBAs at different exposure time under UV light irradiation at 365 nm. Based on our strategy of bulky groups, the molecules were irradiated at 365 nm under ambient temperature with air atmosphere by time intervals from 10 to 60 min, and they were monitored by UV spectroscopy. BOSCHIBA **1a**, without bulky organic groups, shows a degradation of less than 15% at 20 min, affording the free ligand **1** after the light exposure. In the case of BOSCHIBAs **2a** and **3a**, with bulky groups, an insignificant degradation is observed after being exposed for 40 min at the same wavelength. The spectral analysis revealed that there are not remarkable changes in the main absorption bands for **2a** and **3a** which suggests that chemical modification using bulky groups increase the photostability. In order to compare the effect of bulky groups on the photostability of BOSCHIBAs **1a-3a**, a BOSCHIBA identified as **4a** with an unsubstituted phenyl group was synthesized (Scheme 1). Photo-stability studies, performed at 365 nm, revealed that **4a** shows a slightly lower resistance to degradation (~10% at 40 min) in comparison with BOSCHIBAs **2a** and **3a** (~5% at 40 min) when they are exposed at this long wavelength. Therefore according with the behavior of experimental data measured, the inclusion of a benzene ring and its substitution with bulky groups increase the resistance to degradation compared with pyridyl group which is less stable and more reactive than benzene (Figure 6). Likewise, the stability in aqueous solutions at 1% v/v of DMSO for BOSCHIBAs were evaluated under the same experimental condition without photoirradiation. All the BOSCHIBAs **1a-3a** demonstrated to be highly stable in aqueous DMSO solution after 60 min because there were not any important changes in the absorption peaks (See electronic supporting information Fig. S35 and S36).

Figure 6. Here

Cytotoxicity assay

The cytotoxicity of BOSCHIBAs **1a-3a** were assessed by reassuring assay, using DMSO as solvent at different concentrations (0.1 to 10 $\mu\text{g/mL}$) for 24 hours (Figure 7). Following incubation of 0.1 $\mu\text{g/mL}$ for 24 hours, it is observed that less than 9% of B16F10 cells died. The same happened when the concentration is increased to 2.5 $\mu\text{g/mL}$. When the concentration of **1a** was increased to 10 $\mu\text{g/mL}$, cell viability remained above 60 %, while for **2a** and **3a** it is above 50%. Therefore, BOSCHIBAs **1a-3a** showed relatively low cytotoxicity in the concentration range and incubation times examined in this study. In general, the cytotoxicity, cell-permeable characteristics of fluorescent materials are critical to the bio-imaging application, since the analysis of the viability of cytotoxicity showed BOSCHIBAs are not toxic to the corresponding cells.

Figure 7. Here.

Bioimaging cells.

The capacity of BOSCHIBAs **1a-3a** to produce fluorescent staining in cells was tested on B16F10 cells. Figure 8 shows on the top row that DMSO treated cells do not fluoresce at either wavelength (Figure 8-B and 8-C). When cells were treated with **1a** a very weak blue cytoplasm fluorescent stain was observed (Figure 8-E), but a strong green stain was observed throughout the whole cell including nucleus (Figure 8-F). **2a**, and **3a** produced a strong cytoplasm blue stain with a few brighter spots in each cell (Figure 9 a

and b), which could suggest an endocytic internalization pathway. On the other hand, **2a** and **3a** also produced a weak green stain in the cells; however, this stain is generalized to the whole cell (Figure 8-I). Cells treated with **3a** show a similar fluorescent stain pattern as described for **2a**, only the blue staining is significantly stronger when **2a** is used (Figure 8-K and 8-L). The fact that blue and green stains compartmentalize differently could mean that once the original BOSCHIBAs reach the cell interior are being metabolized to at least two different molecules, one with capacity to get all the way into the nucleus, staining the whole cell; while the other can only reach the cytoplasm. By comparison, the BOSCHIBAs **2a** and **3a** with bulky aryl groups showed better fluorescent staining while **1a** exhibits a poor staining.

Figure 8. Here

Figure 9. Here

Conclusions

In summary, we have reported the design, synthesis and chemo-optical characterization of three BOSCHIBAs with good chemical yields based on easy and cheap condensation reactions. BOSCHIBAs **2a** and **3a** showed a low fluorescence emission ($\Phi_F \sim 1\%$) while that inclusion of bulky groups induces a higher resistance to degradation compared with unsubstituted cyclic and heterocyclic analogs. All the BOSCHIBAs **1a-3a** demonstrated to be high stability in aqueous solution. Bioimaging studies for **2a** and **3a** revealed their potential application as enhanced cytoplasmic staining dyes with a low

cytotoxicity, a better staining (from 0.1 to 2.5 $\mu\text{g/mL}$), a high stability against UV radiation and hydrolytic stability.

Acknowledgments

Authors thank to CONACYT (grant: 240011) and PAICYT-UANL (CE336-15) for financial support. M. M. C.-L. and M. I.-R. thank the Ph. D. scholarship.

Supplementary Information

Appendix A Supplementary Data

The CCDC 1520512 contains the supplementary crystallographic data. These data can be obtained free of charge via www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif or from the Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC), 12 Union Road, CB2 1EZ, UK).

Appendix B Supplementary Data

Supplementary figures and calculation of green chemistry metrics of the BOSCHIBAs **1a-3a**.

References

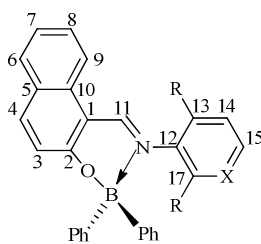
-
- [1] F. Hu, B. Liu, *Org. Biomol. Chem.* 2016, 14, 9931.
- [2] R. Vadivambal, D.S. Jayas, *Bio-imaging: Principles, Techniques, and Applications*, CRC Press, 2017, 381 pages.
- [3] B. Wang, C. Zhu, L. Liu, F. Lv, Q. Yang, S. Wang, *Polym. Chem.* 2013, 4, 5212.
- [4] O.S. Wolfbeis, *Chem. Soc. Rev.* 2015, 44, 4743.

-
- [5] K.D. Wegner, N. Hildebrandt, *Chem. Soc. Rev.* 2015, 44, 4792.
- [6] P. Zrazhevskiy, M. Sena, X. Gao, *Chem. Soc. Rev.* 2010, 39, 4326.
- [7] M. Rajendran, E. Yapici, L.W. Miller, *Inorg. Chem.* 2014, 53, 1839.
- [8] T. Terai, T. Nagano, *Curr. Opin. Chem. Bio.* 2008, 112, 515.
- [9] M.S. Taylor, *Acc. Chem. Res.* 2015, 48, 295.
- [10] J. Killoran, L. Allen, J.F. Gallagher, J. Gallagher, and M. O'Shea, *Chem. Commun.* 2002, 17, 1862.
- [11] Y. Kubo, M. Yamamoto, M. Ikeda, M. Takeuchi, S. Shinkai, S. Yamaguchi, and K. Tamao, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2003, 42, 2036.
- [12] L. Zeng, E.W. Miller, A. Pralle, E. Isacoff, and C.J. Chang, *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 10.
- [13] D. Suresh, P.S. Lopes, B. Ferreira, C.A. Figueira, C.S.B. Gomes, P.T. Gomes, R.E. Di Paolo, A.L. Maçanita, M.T. Duarte, A. Charas, J. Morgado, M.J. Calhorda, *Chem. Eur. J.* 2014, 20, 4126
- [14] Y. Sun, D. Rohde, Y. Liu, L. Wan, Y. Wang, W. Wu, C. Di, G. Yu, and D.J. Zhu, *J. Mater. Chem.* 2006, 16, 4499.
- [15] Y.L. Rao, H. Amarne, L.C. Chen, N. Mosey, and S. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* 2013, 135, 3407
- [16] Z.M. Hudson, S.B. Ko, S. Yamaguchi, and S. Wang, *Org. Lett.* 2012, 14, 5610.
- [17] B.B. Tushar, S.M. Cheerfulman, W. Willem, and B. Monique, *J. Organomet. Chem.* 2005, 690, 3080.
- [18] M. Nath and K.S. Pramendra, *Dalton. Trans.* 2011, 40, 7077.

- [19] D. Maity D. and T. Govindaraju, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2011, 36, 5479.
- [20] Z.M. Hudson, S.B. Ko, S. Yamaguchi, and S. Wang, *Org. Lett.* 2012, 14, 5610.
- [21] X. Junchao, Z. Leiming, W. Qiusheng, Z. Lintao, H. Xichao, F. Boqiao, and S. Zhe, *Tetrahedron.* 2014, 70, 5800.
- [22] C. Hui, L. Hsing-An, S. Mo-Yuan, L. Ching-Yuan, Z. Haichao, and Y. Hsiao-Hua, *Org. Lett.* 2015, 17, 3198.
- [23] J. Widengren, A. Chmyrov, C. Eggeling, P.-Å. Löfdahl, C.A.M. Siedel, *J. Phys. Chem. A.* 2007, 111, 429.
- [24] Gou, L. and Gai, F. *J. Phys. Chem. A.* 2013, 117, 6164.
- [25] K. Kazlauskas, J. Mikulenait, R. Karpicz, V. Gulbinas, J. Simokaitiene, A. Michaleviciute, J. Keruckas, J.V. Grazulevicius, *Dyes Pigm.* 2009, 83, 168.
- [26] M. Ibarra-Rodríguez, B.M. Muñoz-Flores, H.V. Rasika-Dias, M. Sánchez, A. Gómez-Treviño, R. Santillán, N. Farfán, and V.M. Jiménez-Pérez, *J. Org. Chem.* 2017, 82, 2375.
- [27] V.M. Jiménez-Pérez, M.C. García-López, B.M. Muñoz-Flores, R. Chan-Navarro, J. Berrones, I. Moggio, E. Arias, H.V. Rasika Dias, J.A. Serrano, and A. Chávez-Reyes, *J. Mat. Chem. B.* 2015, 3, 5731.
- [28] G.N. Chremos, H. Weidmann, and H.K. Zimmerman, *H.K. J. Org. Chem.* 1961, 26, 1683.
- [29] A.T. Williams, S.A. Winfield, and J.M. Miller, *Analyst.* 1983, 108, 1067.
- [30] C.C. Jiménez, N. Farfán, M. Romero-Ávila, M. Rodríguez, L. Aparicio-Ixta, G. Ramos-Ortíz, J.L. Maldonado, R. Santillán, N.E. Magaña-Vergara, M.E. Ochoa, J. *Organomet. Chem.* 2014, 755, 33.

-
- [31] O. Masoumeh, Z. Peyman, S. Mohammad, A. Saeid, *Inorg. Chim. Acta.* 2017, 467, 227.
- [32] V. Barba, D. Cuahutle, R. Santillán, and N. Farfán, *Can. J. Chem.* 2001, 79, 1229.
- [33] R.H. Cragg, J.F.J. Todd, R.B. Turner, A.F. Weston, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1972, 0, 206.
- [34] H. Höpfl, *J. Organomet. Chem.* 1999, 581, 129.
- [35] D. Li, Z. Zhang, S. Zhao, Y. Wang, and H. Zhang, *Dalton Trans.* 2011, 40, 1279.
- [36] D. Li, K. Wang, S. Huang, S.N. Qu, X.Y. Liu, and Q.X. Zhu, *J. Mater. Chem.* 2011, 21, 15298.
- [37] R. Chan-Navarro, V.M. Jiménez-Pérez, B.M. Muñoz-Flores, H.V. Rasika Dias, I. Moggio, E. Arias, G. Ramos-Ortíz, R. Santillán, C. García, M.E. Ochoa, M. Yousufuddin, N. Waskman, *Dyes Pig.* 2013, 99, 1036.
- [38] D. Li, H. Zhang, C. Wang, S. Huang, J. Guo, and Y. Wang, *J. Mater. Chem.* 2012, 22, 4319.

Table 1. Selected ^1H , ^{13}C , and ^{11}B NMR (ppm), and IR (cm^{-1}) spectroscopic data for BOSCHIBAs **1a-3a**, and their ligands **1-3**.



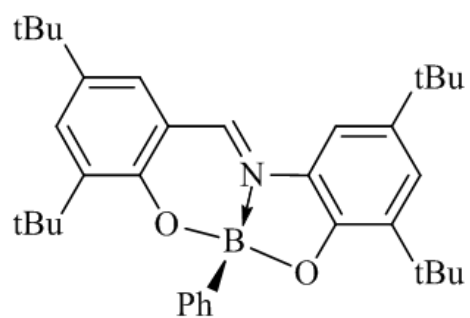
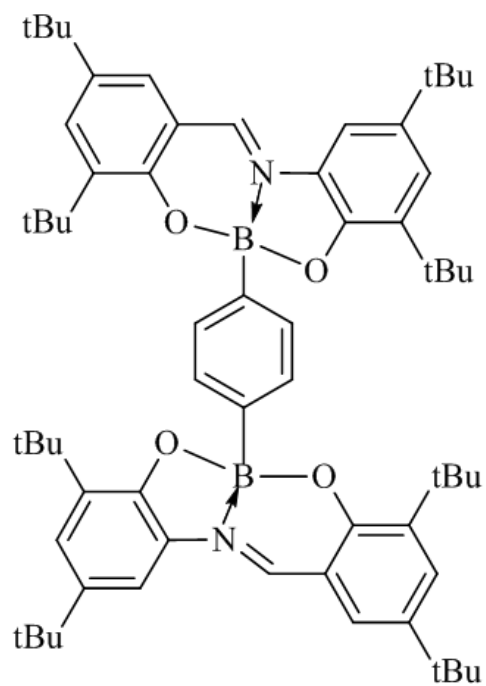
Comp.	^1H		^{13}C			^{11}B	FT-IR C=N
	H-11	C-2	C-13/C-17	C-11	C-12		
1	9.42	166.20	127.80/143.00	158.70	143.70	-	1624
2	9.14	168.00	129.70	161.30	145.80	-	1613
3	8.98	166.30	139.22	160.60	142.90	-	1620
1a	8.86	165.90	124.70/142.56	157.70	144.90	7.38	1608
2a	8.64	163.70	128.00	159.80	144.00	4.76	1605
3a	8.90	163.20	135.16	161.00	144.30	4.42	1607

Table 2. Crystal data for BOSCHIBA **1a**.

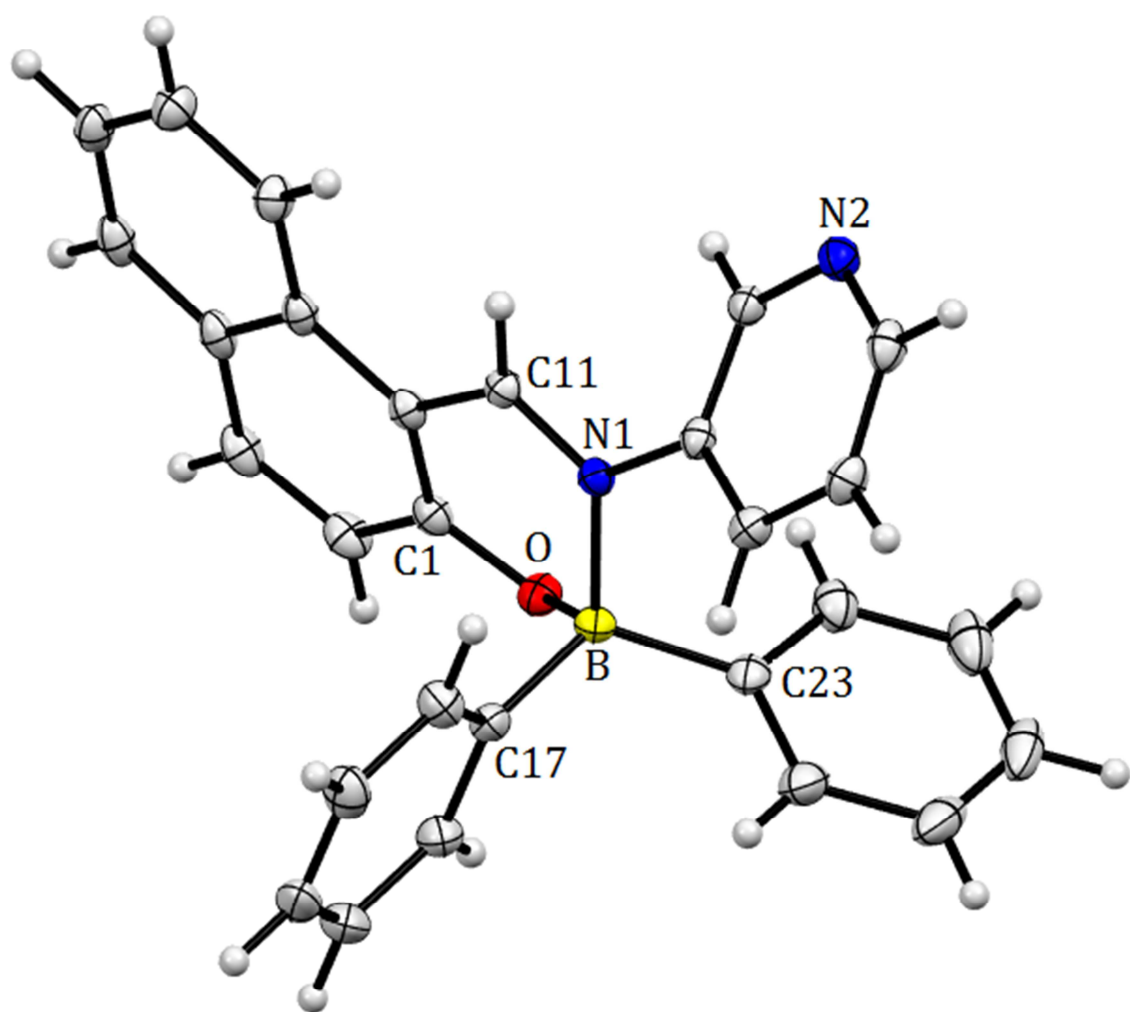
Empirical formula	C ₂₈ H ₂₁ BN ₂ O
Formula weight	412.29
Temperature, K	100(2)
Wavelength	1.54056
Crystal system	Monoclinic
Space group	<i>P2(1)/c</i>
a, [Å]	17.2063(14)
b, [Å]	8.1494(7)
c, [Å]	16.6279(13)
α, [°]	90.00
β, [°]	114.3280(10)
γ, [°]	90.00
V [Å ³]	1367.5(8)
Z	4
ρ _{calc} , mg.cm ⁻³	1.289
μ, mm ⁻¹	0.078
2θ range for data collection	1.27 – 27.00°
No. of reflns collected	20996
No. of indep reflns	4322
[R _{int}]	[R _{int}]
Goodness of fit	1.048
R1, wR2 (I>2σ(I))	0.0366; 0.0993
R1, wR2 (all data)	0.0388; 0.1019

Table 3. Photophysical properties of BOSCHIBAs **1a-3a** and their ligands **1-3** in THF.

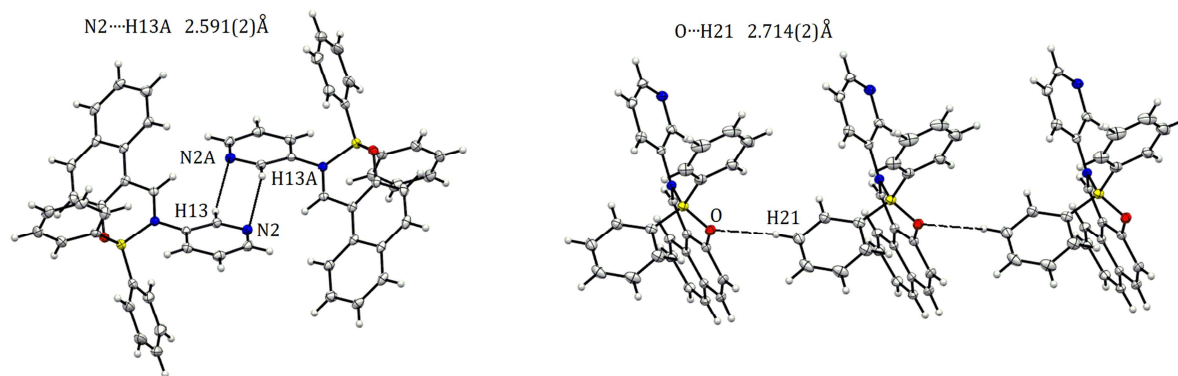
Compound	λ_{abs} [nm]	$\epsilon * 10^4$ [M ⁻¹ cm ⁻¹]	λ_{em} [nm]	$\Delta\nu$ [cm ⁻¹]	Φ_{F} [%]
1	324 (378)	0.10 (0.12)	490	6047	0.05
2	316 (366)	0.58 (0.52)	461	5630	0.03
3	316 (364)	0.71 (0.60)	475	6420	0.01
1a	341 (426)	0.51 (0.38)	528	4535	3.80
2a	328 (402)	0.39 (0.21)	492	4550	1.07
3a	328 (402)	0.81 (0.44)	493	4592	1.01

**I****II**

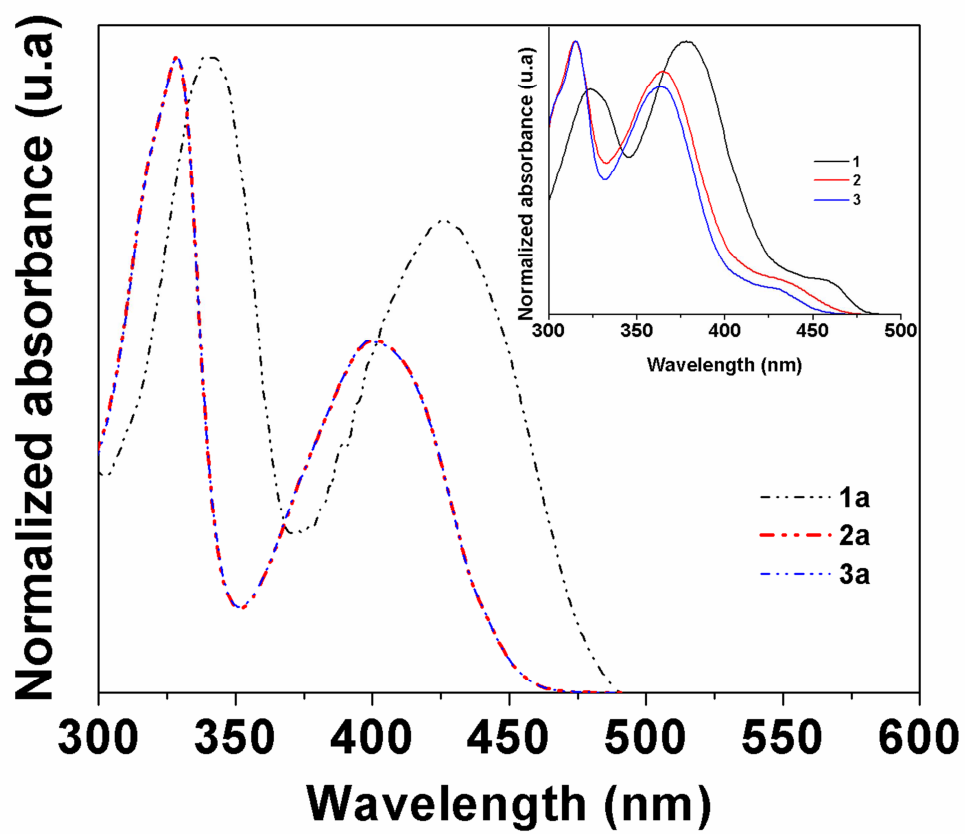
ACCEPTED MANUSCRIPT



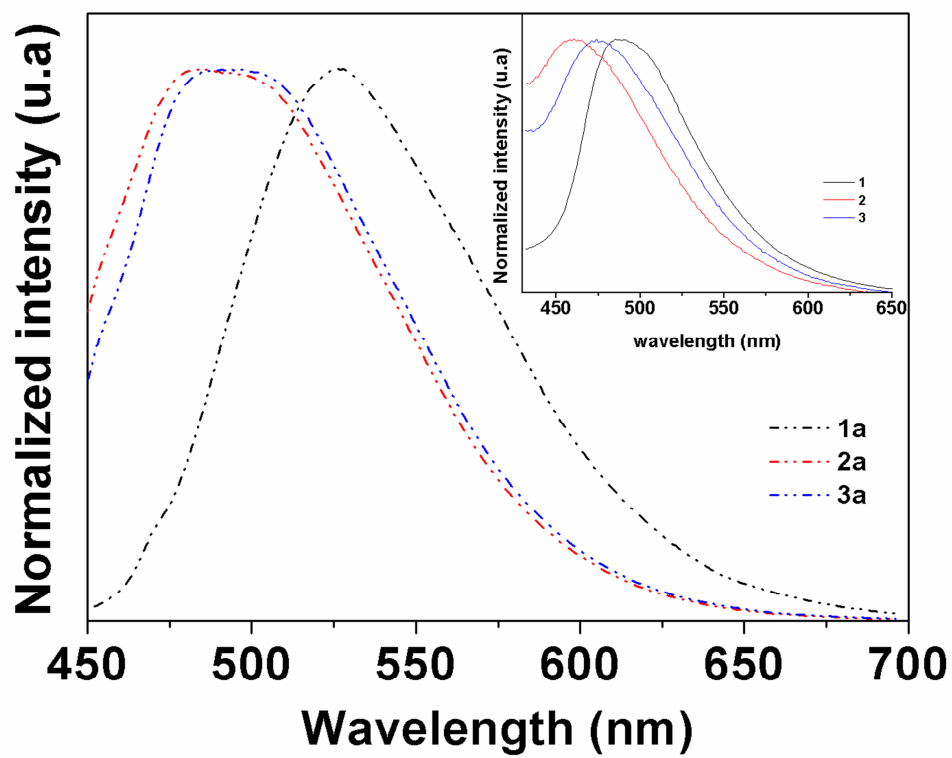
ACCEPTED

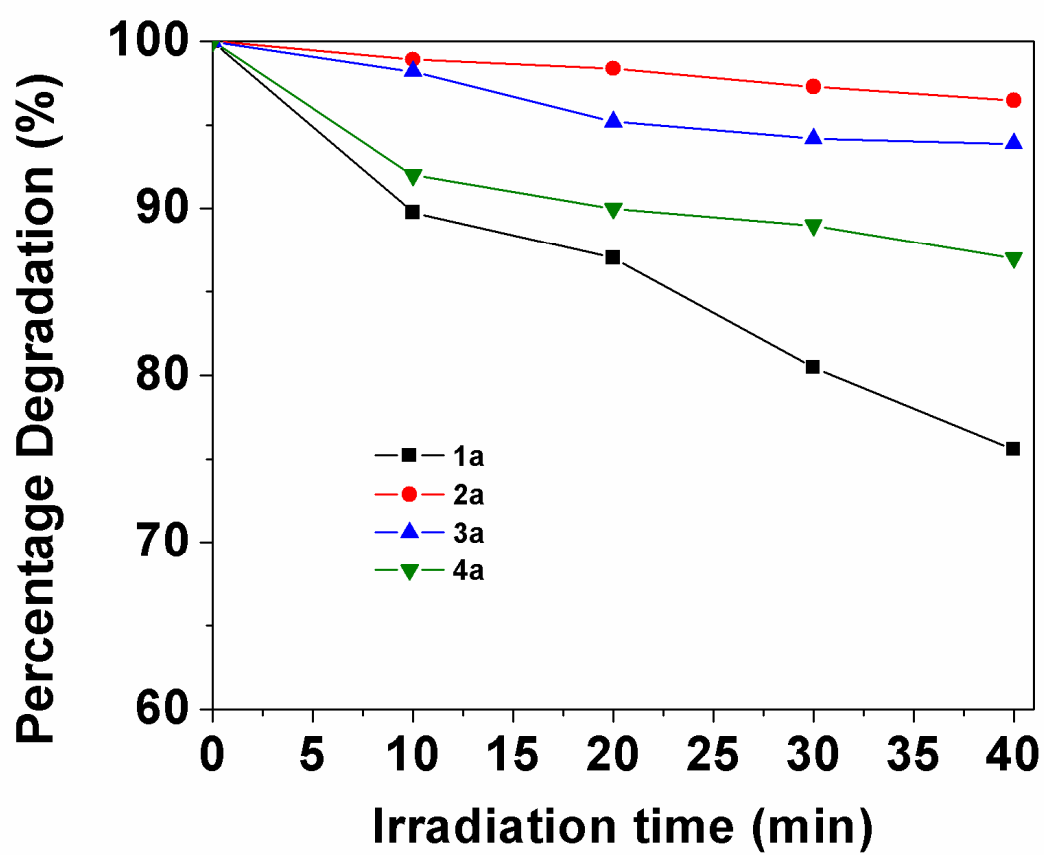


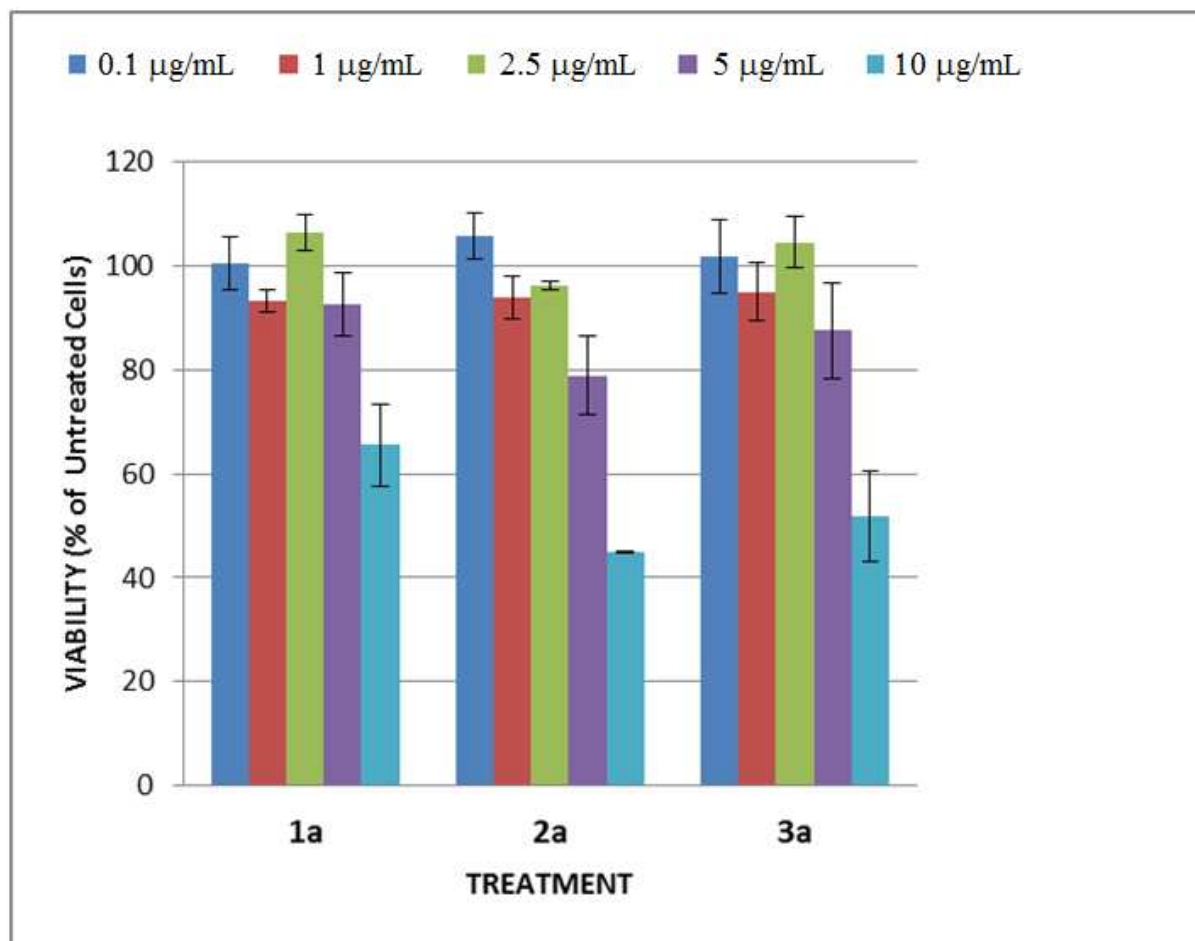
ACCEPTED MANUSCRIPT

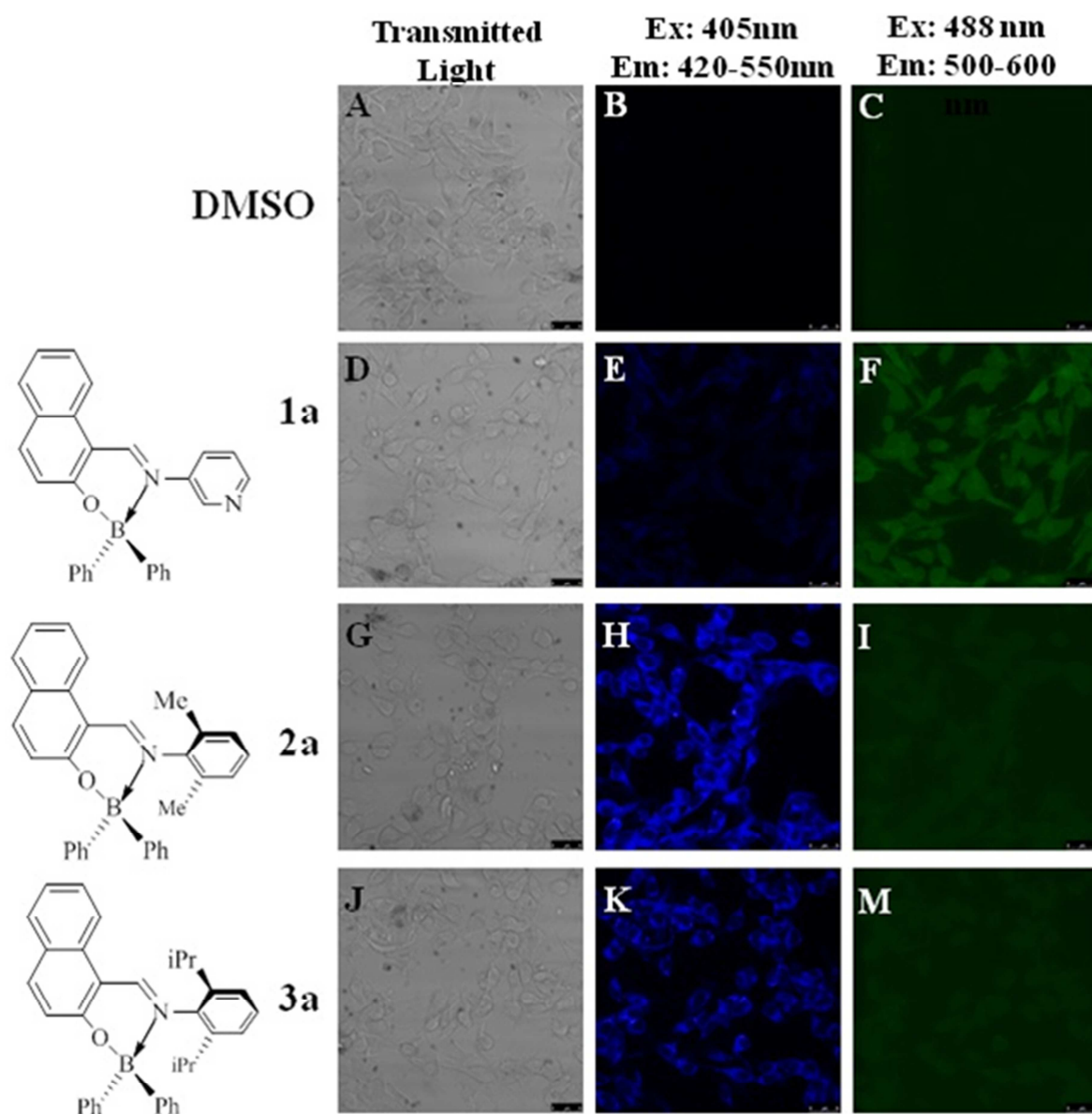






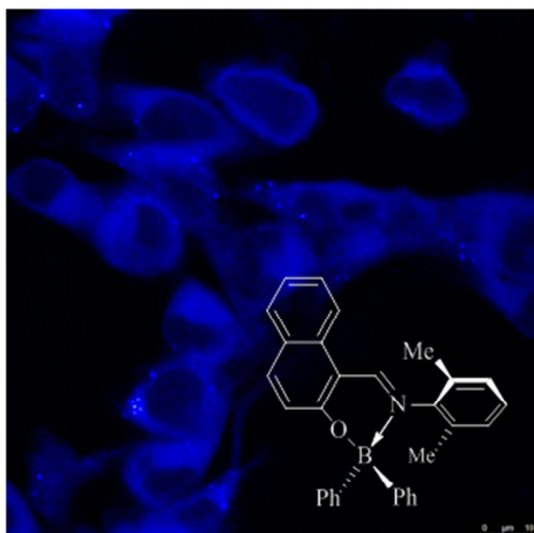




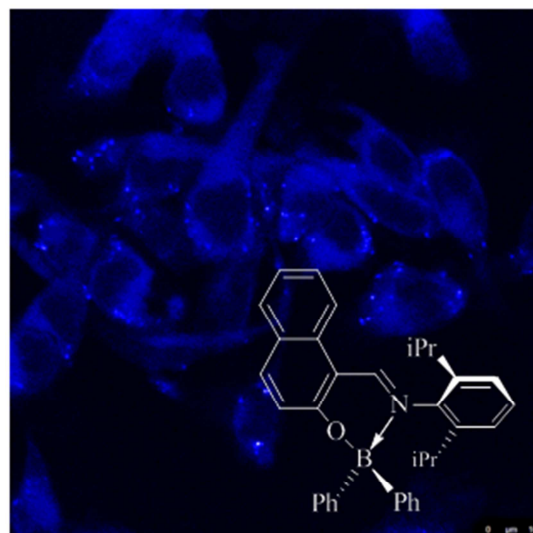


ACCEPTED

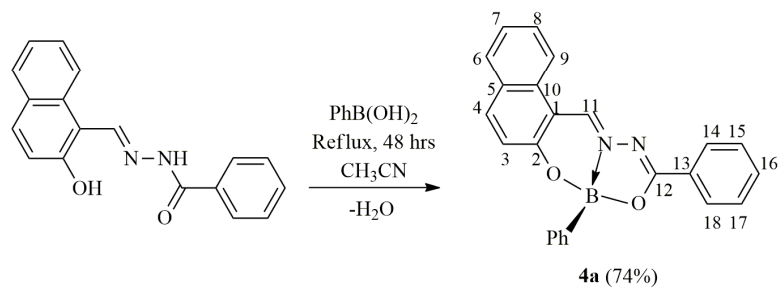
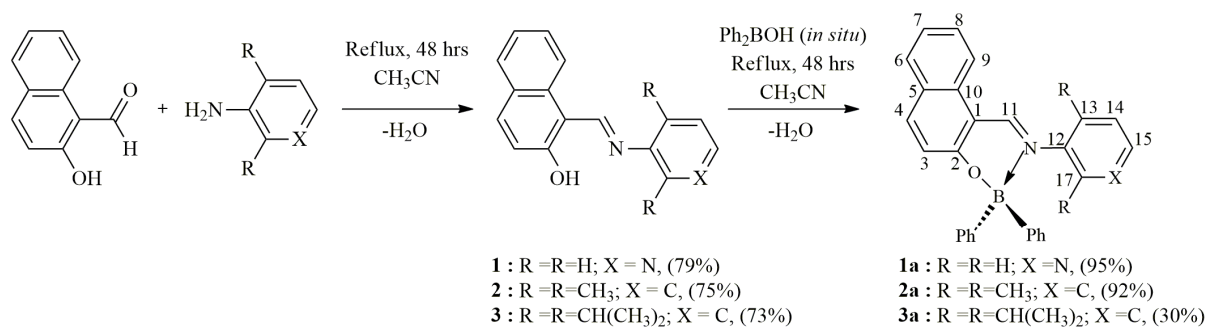
a)

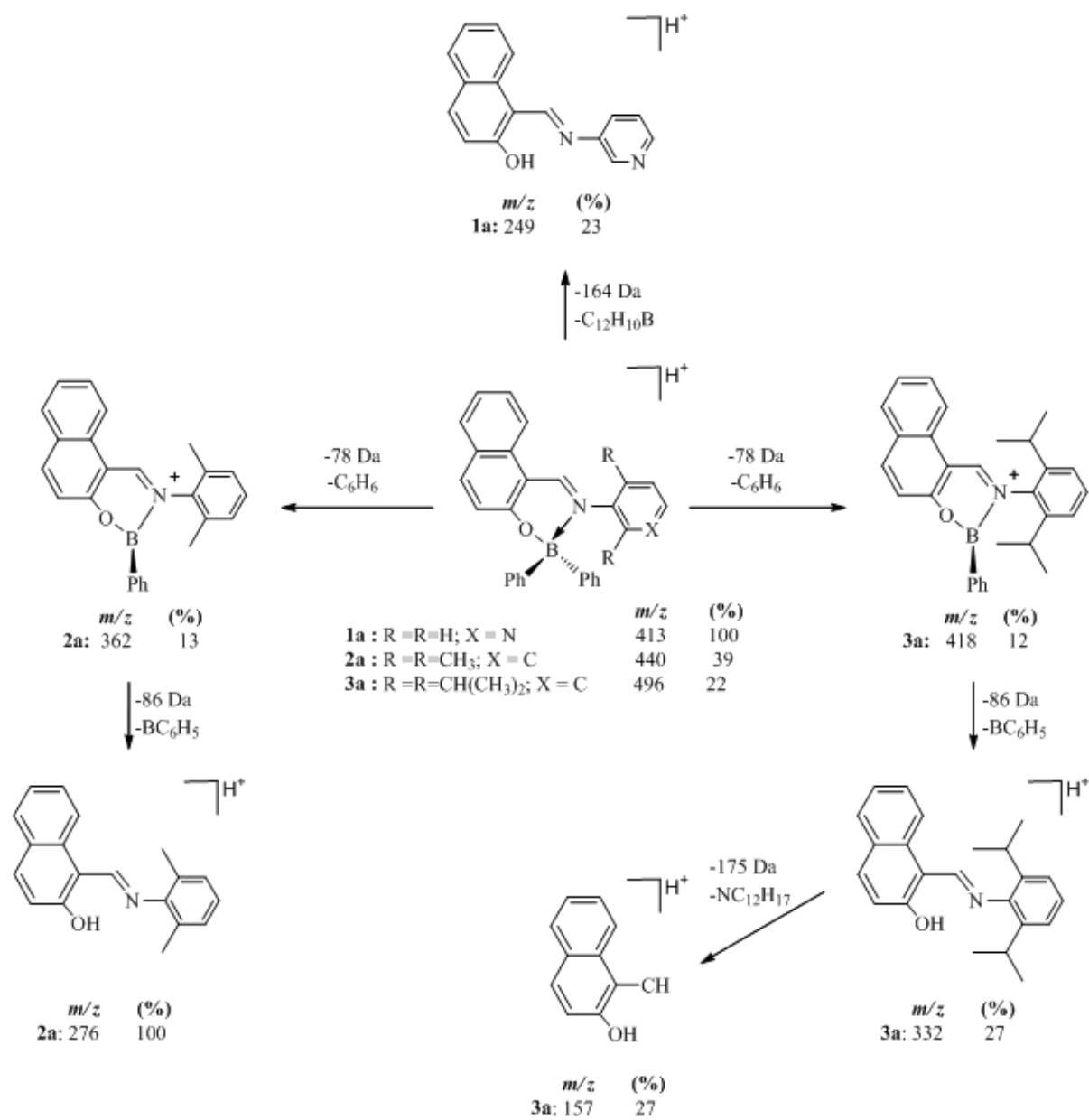


b)



ACCEPTED MANUSCRIPT





ACCE

Highlights

- New fluorescent boron Schiff bases (BOSCHIBAs) showed their application as cytoplasm staining dyes *in vitro*.
- The BOSCHIBAs **2a**, and **3a** as cytoplasm staining dyes *in vitro* showed very low cytotoxicity, simple synthesis, high photo-stability, and specific staining for cytoplasm structure.
- The BOSCHIBAs syntheses are cheap, simple, fast, and reproducible with a high atomic economy and low E-factor values.