



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

TESIS

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UN DERIVADO DE
BODIPY-CUMARINA COMO SONDA FLUORESCENTE DE
VISCOSIDAD**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA

PRESENTA

EUGENIA MARÍA HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

Ciudad Universitaria, CDMX, 2023





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: M. en C. José Manuel Méndez Stivalet
VOCAL: M. en C. Margarita Romero Ávila
SECRETARIO: Dr. Javier Ordóñez Hernández
SUPLENTE 1: Dra. Cristina del Carmen Jiménez Curiel
SUPLENTE 2: Dr. Óscar González Antonio

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: POSGRADO EDIFICIO B, FACULTAD DE QUÍMICA, DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA, LABORATORIO 225.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Javier Ordóñez Hernández

SUPERVISOR TÉCNICO:

Dr. Héctor García Ortega

SUSTENTANTE:

Eugenia María Hernández Hernández

Agradecimientos

A mi madre Larisa Hernández, y mi padre Tzilacatzin Hernández, por su amor y apoyo incondicional a lo largo de toda mi vida. Gracias por darme siempre lo mejor.

A mi tía Citlalin Hernández, mi mayor ejemplo a seguir, por sus valiosas enseñanzas y por haberme acompañado en mi trayectoria académica desde el kínder.

A la UNAM, por brindar una excelente educación y todos los recursos necesarios para mi formación.

Al Dr. Javier Ordóñez por confiar en mí y ayudarme durante la realización de este proyecto.

A los miembros del H. Jurado por sus revisiones y aportaciones a este trabajo.

A René Campos, por su amor, ayuda y motivación tanto en la licenciatura como en el día a día; a la familia Campos González, por tratarme como un miembro más de la familia.

A Ricardo García, por ser uno de mis más grandes amigos. Fue un honor cursar la carrera contigo.

A Sofía M., Gustavo S., Rafael F., Itzel O., Paulina L., y Sabsil L. por su amistad.

A Bastet, que estuvo a mi lado durante 8 años, y siempre ronroneará en mi corazón; a Mulder por acompañarme a todas horas y ser una enorme fuente de felicidad.

INDICE

INTRODUCCIÓN	1
1. Antecedentes	3
1.1. Luminiscencia	3
1.2. Fluorescencia y fosforescencia	3
1.2.1. Fluorescencia de cumarinas	5
1.2.2. Fluorescencia de BODIPY	5
2. Sondas fluorescentes	6
2.1. Sondas fluorescentes ratiométricas	7
2.1.1. Sondas fluorescentes ratiométricas con una señal de referencia	7
2.1.2. Sondas fluorescentes ratiométricas con dos señales variables	8
3. Rotores moleculares	9
3.1.1. Viscosidad	9
3.1.2. Efecto de la viscosidad sobre la fluorescencia	9
3.1.3. Aplicaciones	10
4. Sensores fluorescentes de microviscosidad derivados de cumarina-BODIPY	10
4.1. Fluorescencia en las células	11
4.2. Sensores de viscosidad	11
4.2.1. Sensores de viscosidad mitocondrial	11
4.2.2. Sensores de viscosidad lisosomal	12
4.2.3. Sensores de viscosidad selectivos a gotas lipídicas	13
4.2.4. Sensores de viscosidad selectivos a la membrana del retículo endoplásmico	14
4.2.5. Sensores de viscosidad selectivos al núcleo	15
4.2.6. Sensores de viscosidad en el citosol	15
4.2.7. Sensores de viscosidad en la membrana celular	16
5. Síntesis y reacciones de cumarinas	17
5.1. Propiedades generales de las cumarinas	17
5.2. Síntesis de cumarinas	18
5.2.1. Síntesis de Pechmann	18
5.2.2. Síntesis de Knoevenagel	19
5.2.3. Síntesis de Perkin	20
5.2.4. Síntesis de cumarinas catalizadas por metales	21
5.3. Reacciones de cumarinas	24

6. Síntesis y reacciones de BODIPY	26
6.1. Propiedades generales de BODIPY	26
6.2. Síntesis de BODIPY	27
6.2.1. Síntesis de BODIPY simétricos	27
6.2.2. Síntesis de BODIPY asimétricos	28
6.3. Reacciones de BODIPY	28
6.3.1. Sustitución electrofílica aromática	28
6.3.2. Sustitución nucleofílica aromática	30
6.3.3. Reacciones de acoplamiento catalizadas por Pd	31
OBJETIVOS	34
Objetivo general	34
Objetivos particulares	34
HIPÓTESIS	34
SECCIÓN EXPERIMENTAL	34
Reactivos e instrumentación	34
Síntesis y caracterización	35
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
Esquema general de síntesis	40
Espectroscopía de RMN para los compuestos 6–1	41
Análisis solvatocrómico de absorción y emisión fluorescente	52
Análisis de emisión fluorescente a diferentes valores de viscosidad	53
CONCLUSIONES	54
ANEXO	55
Espectros de IR para los compuestos 6–1	55
Espectros de masas para los compuestos 4–1	58
BIBLIOGRAFÍA	60

INTRODUCCIÓN

Los rotores moleculares son moléculas fluorescentes que se caracterizan por la capacidad de formar estados torcidos, o no planos, mediante la rotación de un segmento de la estructura con respecto al resto de la molécula. Por lo general, un rotor molecular consta de tres subunidades: una unidad donadora de electrones, una unidad aceptora de electrones y una unidad espaciadora rica en electrones, estableciendo así un sistema *push-pull*. En esta configuración, la molécula responde a la fotoexcitación con una transferencia de carga intramolecular (ICT, por sus siglas en inglés) desde la unidad donadora a la aceptora.^{1,2} Esta es una razón por la cual los rotores moleculares fluorescentes pueden actuar como sondas de viscosidad en distintos medios.³

La viscosidad se define como la medida de la resistencia de un fluido contra gradientes en flujo.⁴ Esta es una propiedad sumamente importante cuando se consideran objetos microscópicos como las células vivas.⁵ Además, la viscosidad juega un papel crucial en el microambiente biológico, pues esta varía considerablemente en las diferentes regiones de las células, por lo que también afecta la difusión de cada región, como la transmisión de señales y la interacción entre sustancias bioquímicas. Adicionalmente, se ha demostrado que cambios anormales en la viscosidad intracelular conducen a una serie de enfermedades, como la resistencia a la insulina, la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Huntington.⁶ Por ende, es necesario desarrollar nuevas herramientas efectivas para el monitoreo de los cambios de viscosidad en microambientes celulares, lo que eventualmente ayudará en la prevención de enfermedades y el adecuado diagnóstico clínico.⁷

La microscopía confocal fluorescente, ha atraído cada vez más la atención debido a su carácter no invasivo, su alta sensibilidad analítica y su excelente resolución espacial y temporal.⁸ Actualmente los rotores moleculares son empleados para la determinación de la viscosidad celular, al aprovechar su intensidad de emisión de fluorescencia, desarrollando así nuevos sensores de microviscosidad.⁹

Los organelos, son estructuras complejas alojadas dentro de una célula, y generalmente se encuentran rodeadas por sus propias bicapas lipídicas. Sin embargo, los microambientes intracelulares de cada uno de ellos exhiben una heterogeneidad considerable. Por ejemplo, en las células típicas de los mamíferos, el pH es de 4.5 en los lisosomas, mientras que el pH mitocondrial es de 8.0. Además, la viscosidad oscila

entre 1 y 2 cP en la fase acuosa del citoplasma celular y hasta más de 100 cP en la mitocondria.¹⁰ Es imprescindible el desarrollo de nuevas moléculas sensibles a estos parámetros, pues se requieren sondas con fluorescencia modulada por el pH o la viscosidad para un monitoreo celular más ágil y específico a los distintos organelos.

Los compuestos derivados de cumarina-BODIPY han sido utilizados como sensores de fluorescencia y viscosidad debido a sus altos coeficientes de extinción molar y estabilidad fotoquímica.¹¹ También, se ha demostrado que las propiedades espectroscópicas de estos compuestos están más regidas por la unidad de BODIPY que la de cumarina.¹² Experimentalmente, se ha demostrado que un medio altamente viscoso limita la rotación de los rotores moleculares, dando como resultado un largo tiempo de residencia de la molécula en el estado fluorescente, favoreciendo una mayor intensidad de fluorescencia y una mayor duración de esta.³ Las propiedades de sensibilidad a viscosidad y pH de este tipo de moléculas ofrecen distintos campos de aplicación, entre los cuales resalta la bioimagenología.¹³

En este trabajo se presenta la síntesis, caracterización y propiedades fluorescentes de una molécula *push-pull* derivada de Cumarina-BODIPY con la finalidad de poder utilizarla como una sonda fluorescente en células.

Esta molécula posee un sistema *push-pull*, donde el núcleo de cumarina funge como grupo electrodonador, por otro lado, el núcleo de BODIPY sirve como grupo electroatractor; como se ha mencionado anteriormente, estos dos grupos son cromóforos que poseen propiedades fluorescentes. Ambos cromóforos están conectados mediante un grupo fenileno, lo cual le confiere propiedades de rotor molecular y, por ende, convierte esta molécula en una sonda fluorescente sensible a la viscosidad.

1. Antecedentes

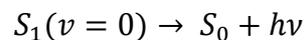
1.1. Luminiscencia

La palabra luminiscencia proviene del latín *lumen*, que significa luz, y está definida por el diccionario de la lengua española de la Real Academia Española como “propiedad que tienen algunos cuerpos de emitir luz sin elevación de temperatura.”¹⁴

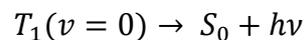
Por otro lado, dentro del ámbito científico, la luminiscencia es definida como la emisión de luz de una sustancia que se produce después de la absorción de energía radiativa, ya sea directamente o mediante procesos de sensibilización que implican procesos de transferencia de energía o de electrones,¹⁵ o bien, como la emisión espontánea de radiación de especies excitadas electrónica o vibracionalmente que no se encuentra en equilibrio térmico con su ambiente.¹⁶

1.2. Fluorescencia y fosforescencia

La fluorescencia involucra una transición radiativa entre estados de la misma multiplicidad, usualmente desde el estado vibracional más bajo del singlete excitado, S_1 . El tiempo de vida de la fluorescencia es corta (de 10^{-12} a 10^{-6} s).



En cambio, la fosforescencia es una transición radiativa de espín prohibido entre estados de diferente multiplicidad, generalmente desde el estado vibracional más bajo del triplete excitado, T_1 . Los tiempos de vida de la fosforescencia son más largos que los observados para los procesos de fluorescencia, con valores típicos que varían entre 10^{-6} y 10^2 s.¹⁷



El diagrama de Jablonski (Figura 1)¹⁸ es comúnmente utilizado para visualizar los estados excitados de una molécula y sus procesos de relajación. En él se pueden observar los estados electrónicos de la molécula, denotando los singletes como S_0 , S_1 , S_2 . y los tripletes como T_1 , T_2 . Las transiciones radiativas (absorción, fluorescencia y fosforescencia) son representadas con flechas rectas, mientras que las transiciones no radiativas (relajación vibracional, conversión interna y cruce intersistema) con flechas punteadas.¹⁹

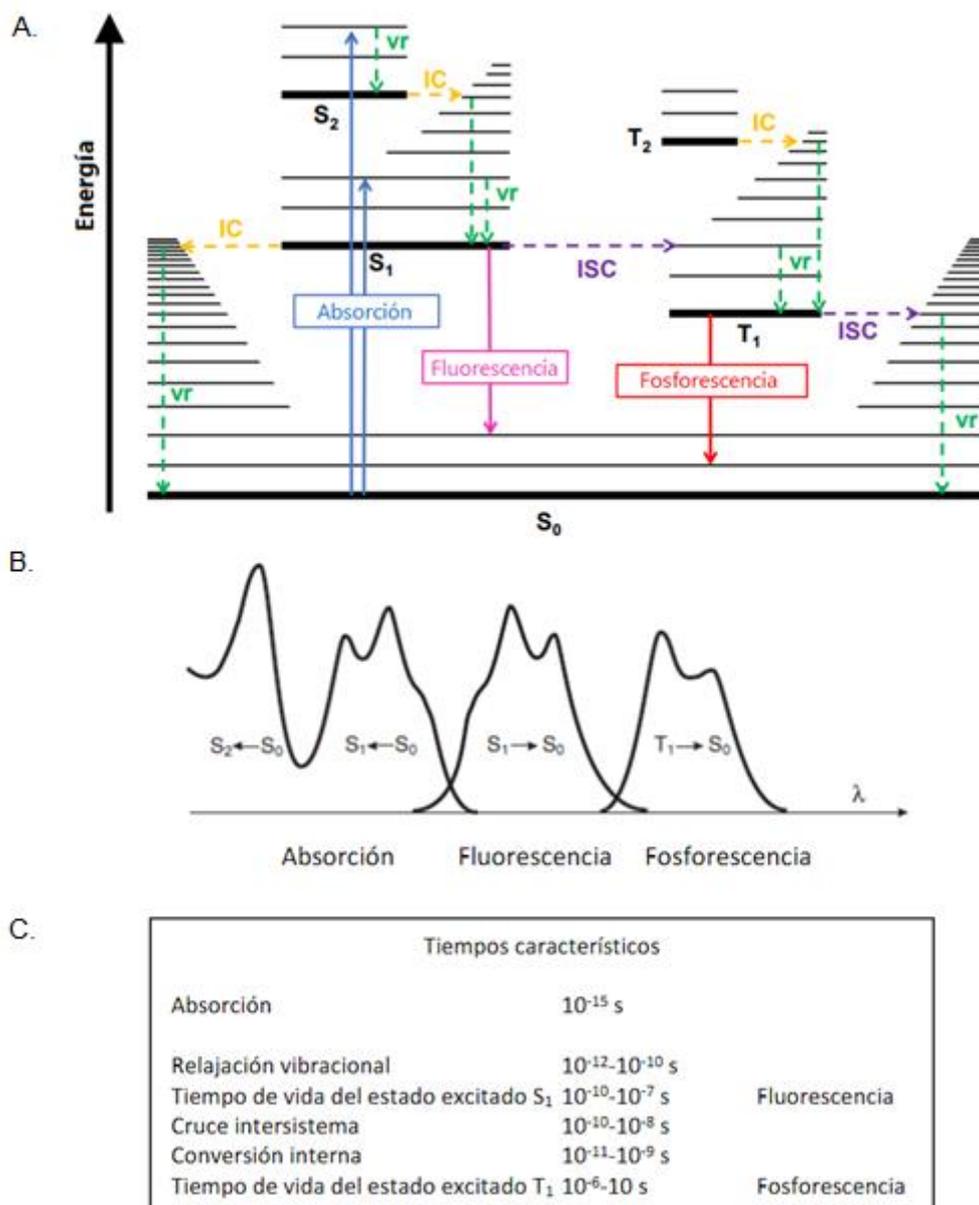


Figura 1. A. Diagrama de Jablonski, B. Esquematización de las posiciones relativas de los espectros de absorción, C. Tiempos característicos de los procesos representados en A.

La estructura molecular y el entorno químico de un compuesto tienen una gran influencia en el comportamiento de la fluorescencia. En principio, para que exista la fluorescencia en una molécula, esta tiene que poseer enlaces dobles C-C conjugados, tales como los anillos aromáticos.²⁰ La rigidez molecular favorece la emisión fluorescente^{17,21} y esta puede ser modificada en la estructura de la molécula o aumentando la rigidez o viscosidad del medio. Los grupos funcionales y su posición también tienen un efecto importante sobre la fluorescencia: los sustituyentes electrodonadores favorecen la

fluorescencia, mientras que los grupos electroattractores la disminuyen²², y experimentalmente se ha encontrado que ciertos sustituyentes pueden modificar la longitud de onda en el espectro de emisión.²³ Los átomos pesados (Cl, Br, I) como sustituyentes en moléculas aromáticas disminuyen la fluorescencia, pues incrementan las probabilidades de que ocurra un cruce intersistema.²¹

Una de las propiedades más importantes de la fluorescencia es el desplazamiento de Stokes, el cual está definido como la diferencia en número de onda entre la absorción máxima y la emisión fluorescente máxima.²⁴

1.2.1 Fluorescencia de cumarinas

La 2*H*-cromen-2-ona, conocida como cumarina, por sí sola tiene una fluorescencia muy débil; sin embargo, sus propiedades fotofísicas pueden ser moduladas y modificadas con la naturaleza y posición de sustituyentes en el núcleo de cumarina.²⁵ Por ejemplo, al sustituir el núcleo de cumarina en la posición 6 o 7 con grupos electrodonadores, se pueden obtener cumarinas con emisión fluorescente azul-verde; si también se sustituyen en la posición 3 o 4 con grupos electroattractores se genera un fuerte sistema de transferencia de carga intramolecular.²⁶ Una gran variedad de derivados de cumarina altamente fluorescentes son utilizados como sensores de pH^{27,28}, viscosidad²⁹, y también como sondas de iones, moléculas, o proteínas.³⁰

1.2.2. Fluorescencia de BODIPY

El acrónimo BODIPY, derivado de borodipirrometeno, es el nombre común por el cual se le conocen a los compuestos derivados del 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno. Estos compuestos exhiben alta fluorescencia y estabilidad química.^{31,32} Las propiedades químicas y fotofísicas de los BODIPYs pueden ser alteradas realizando modificaciones en su estructura, convirtiéndolos en algunos de los tintes fluorescentes más versátiles con una amplia gama de aplicaciones,³³ tales como sensores de CO₂³⁴, especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, pH,³⁵ y en bioimagenología.³⁶

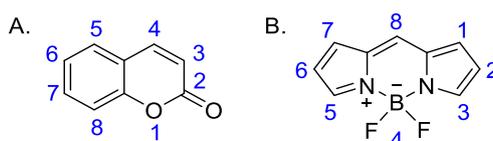


Figura 2. A. Estructura de la 2*H*-cromen-2-ona, B. Estructura del núcleo de BODIPY.

2. Sondas fluorescentes

Las propiedades fluorescentes de una molécula pueden verse afectadas por varios parámetros físicos y químicos, tales como: temperatura³⁷, pH³⁸, viscosidad, polaridad³⁹, entre otros. Asimismo, estos parámetros también tienen un papel importante en diversos procesos físicos, químicos, bioquímicos e incluso biológicos. Gracias a la influencia de estos parámetros, las moléculas fluorescentes – comúnmente llamadas fluoróforos – pueden ser utilizadas para obtener información sobre el microambiente en el que se encuentre la molécula.

Por otra parte, los fluoróforos también pueden unirse de manera covalente a alguna especie química (polímeros, surfactantes, etc.) o biológica (organelos, proteínas, etc.) de interés. La selectividad de un fluoróforo depende de los grupos funcionales del mismo, así como de su carácter hidrofóbico, hidrofílico o anfifílico.

El término general para este tipo de moléculas es sonda o sensor fluorescente, pero también existen términos particulares dependiendo de la aplicación específica. Por ejemplo, para parámetros físicos o químicos (pH, polaridad, viscosidad) se utiliza el término indicador fluorescente, mientras que para la visualización o localización de especies en microscopía se utilizan los términos etiqueta fluorescente y/o trazador fluorescente⁴⁰.

El análisis realizado con sensores fluorescentes con sólo un fluoróforo (ver Figura 3) puede verse afectado por varios factores e interferencias, tales como: parámetros instrumentales, dispersión de la luz en el medio, variaciones en la fuente de luz, la concentración local de los sensores y fotoblanqueo (alteración fotoquímica de un fluoróforo).^{41,42} Además, para construir una curva de calibración de este tipo de sensores, es necesario medir tiempos de vida fluorescente.

Una manera sencilla y efectiva de resolver estos problemas consiste en agregar otro fluoróforo en el sensor, obteniendo un sensor fluorescente ratiométrico.

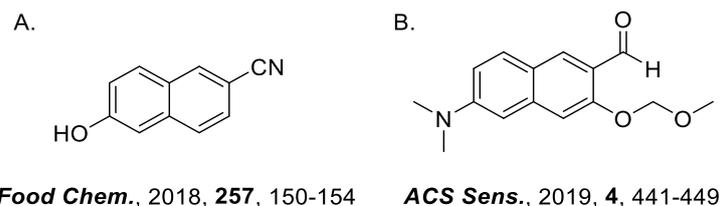


Figura 3. Sensores fluorescentes con un solo fluoróforo: A. Sensor fluorescente para detectar H₂S en vino,⁴³ B. Sensor fluorescente para detectar hidrazina.⁴⁴

2.1. Sondas fluorescentes ratiométricas

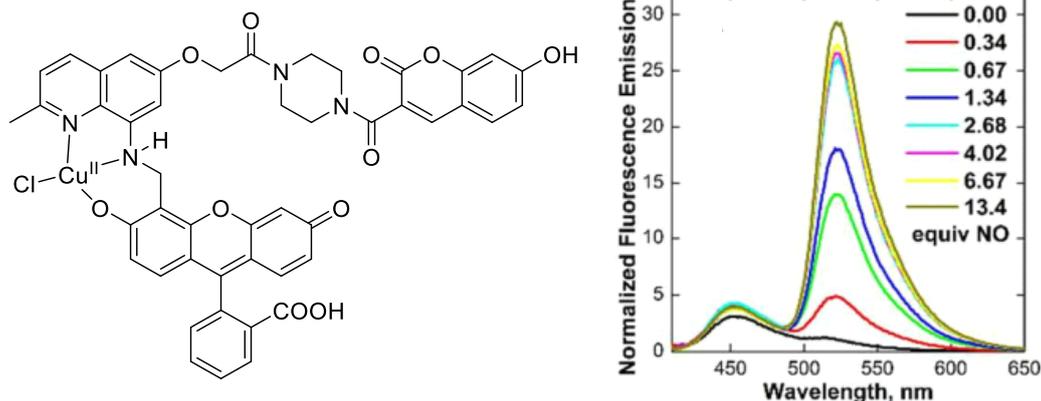
En una sonda fluorescente ratiométrica se pueden observar cambios en la intensidad fluorescente de dos o más bandas de emisión con distintas longitudes de onda. La relación de intensidades se puede correlacionar directamente con la propiedad o analito que se desea estudiar, dando como resultado una referencia interna – similar a lo utilizado en otras técnicas analíticas – que ayuda a minimizar el ruido generado por interferencias y aumentar la sensibilidad del sensor.^{42,45} Las sondas fluorescentes ratiométricas se consideran autocalibrables, ya que la construcción de su curva de calibración no depende de factores externos a ellas.

En general, existen dos tipos de sondas fluorescentes ratiométricas: en uno de ellos, uno de los fluoróforos no es sensible al analito o propiedad que se busca estudiar; mientras que, en el otro, ambos fluoróforos son sensibles.⁴⁶

2.1.1. Sondas fluorescentes ratiométricas con una señal de referencia

En este tipo de sondas fluorescentes ratiométricas, una de las señales emitida por los fluoróforos responde al analito o propiedad que desea estudiarse; en cambio, la otra señal no responde o su variación de intensidad es casi nula, por lo que actúa como una referencia y corrección interna. Gracias a esto, las interferencias del medio son básicamente eliminadas y la sensibilidad y precisión de la sonda son ampliamente mejoradas. Para medir analitos o propiedades, se utiliza la relación entre las intensidades de fluorescencia de la señal con respuesta y la señal de referencia.

En 2017, Loas y Lippard desarrollaron y reportaron una sonda fluorescente ratiométrica con una señal de referencia para la detección de NO (Figura 4). En esta sonda basada en Cu^{II}, cumarina y fluoresceína, la señal de referencia corresponde al núcleo de cumarina, mientras que la señal de respuesta corresponde al núcleo de fluoresceína.⁴⁷



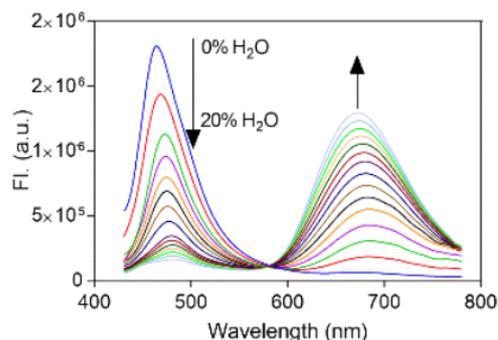
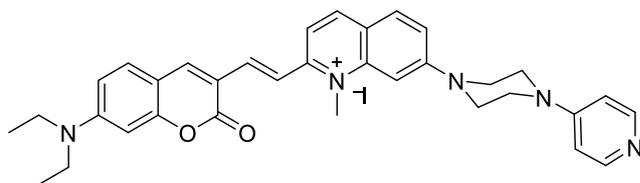
J. Mater. Chem. B, 2017,5, 8929-8933

Figura 4. Estructura de la sonda y su espectro de emisión fluorescente a distintas concentraciones de NO.

2.1.2. Sondas fluorescentes ratiométricas con dos señales variables

En este tipo de sondas fluorescentes ratiométricas, las dos señales emitidas por los fluoróforos responden al analito o propiedad que desea estudiarse. En este caso, ambas señales sufren cambios en su intensidad fluorescente al modificar las condiciones del microambiente alrededor de la sonda (concentración de algún analito, cambios en viscosidad, polaridad, pH, etc.). Al igual que con las sondas fluorescentes ratiométricas con una señal de referencia, se utiliza la relación entre las intensidades de fluorescencia de ambas señales como criterio de medida. Estas sondas presentan una muy alta sensibilidad de respuesta y eliminan las interferencias del medio.

En 2021, Wang et al. desarrollaron y reportaron una sonda fluorescente ratiométrica con dos señales variables para detectar cambios de polaridad (Figura 5). En esta sonda basada en cumarina y N-metilquinolinio se puede observar que, al aumentar la polaridad, la señal fluorescente correspondiente al núcleo de cumarina disminuye, mientras que la señal fluorescente correspondiente al núcleo de N-metilquinolinio aumenta.⁴⁸



Angew. Chem. Int. Ed. 2021, **60**, 15095

Figura 5. Estructura de la sonda y su espectro de emisión fluorescente en mezclas de distintas proporciones de 1,4-dioxano y H₂O.

3. Rotores moleculares

Los rotores moleculares son moléculas que, gracias a su estructura, presentan rotación intramolecular. Los rotores moleculares fluorescentes generalmente están conformados por una unidad electrodonadora y una unidad electroattractora conectadas mediante un enlace sencillo, aunque recientemente también existen rotores moleculares en donde estas unidades se encuentran enlazadas mediante un grupo espaciador rotacional rico en electrones, el cual crea una conjugación electrónica, facilitando el movimiento de los electrones entre las unidades principales.²

3.1.1. Viscosidad

En un nivel macroscópico, la viscosidad se define como la resistencia de un líquido a la fluidez. Por otro lado, en el nivel microscópico puede describirse – en términos simples – como el volumen libre entre las moléculas de un disolvente y alrededor del sensor fluorescente.⁴⁹ Esta viscosidad microscópica suele ser llamada microviscosidad.

Los rotores moleculares son moléculas pequeñas que pueden tener tamaños similares a las moléculas de un disolvente, por lo que son capaces de detectar microviscosidades.⁵⁰

3.1.2. Efecto de la viscosidad sobre la fluorescencia

Cuando se excita un rotor molecular, este puede liberar energía rotando libremente. Esta rotación, al ser un método de des-excitación no radiativo, extingue la fluorescencia de la molécula. En un medio altamente viscoso, la rotación intramolecular se ve impedida y

ocurre de manera muy lenta, permitiendo que la energía de excitación sea liberada como emisión fluorescente, aumentando la intensidad y el tiempo de vida fluorescente.^{3,50,51}

3.1.3. Aplicaciones

Los rotores moleculares fluorescentes son altamente versátiles y poseen un amplio rango de aplicaciones en diversas disciplinas, desde los polímeros y macromoléculas,⁵²⁻⁵⁴ hasta la biología celular y la medicina⁵⁵.

Las aplicaciones más comunes de los rotores moleculares en biología y medicina incluyen su uso como etiquetas fluorescentes selectivas en microscopía, las cuales son capaces de monitorear en tiempo real procesos como la endocitosis y brindar información del tamaño y ubicación de tumores cancerígenos,⁵⁶ así como su uso como sensores de microviscosidad en células y organelos específicos.

Monitorear y determinar la microviscosidad es de especial importancia, ya que puede proporcionar información importante sobre los procesos controlados por difusión en los biosistemas⁵⁷. Cambios en el microambiente celular suelen ser señales de envejecimiento celular y el desarrollo de enfermedades como la aterosclerosis, diabetes mellitus y enfermedad de Alzheimer,⁵⁸⁻⁶⁰ por lo que poder obtener información *in vitro* e *in vivo* de dichos procesos en tiempo real puede ser de gran ayuda en el diagnóstico temprano de estas enfermedades.

4. Sensores fluorescentes de microviscosidad derivados de cumarina-BODIPY

Las propiedades previamente mencionadas de los núcleos de cumarina y BODIPY los convierten en dos de los fluoróforos más ampliamente utilizados como sensores fluorescentes.^{61,62} Además, el comportamiento electrodonador de la cumarina se complementa con el comportamiento electroatractor del BODIPY, creando un sistema de transferencia de carga intramolecular del tipo *push-pull*. Ambos cromóforos son complementarios desde un punto de vista espectral y, por lo tanto, son bloques de construcción adecuados para combinarse en una sola estructura molecular con propiedades de fluorescencia ratiométrica.^{11,12,29} Este tipo de fluorescencia en un sensor fluorescente ayuda a mejorar sus propiedades fotofísicas y también puede aumentar la sensibilidad y precisión de respuesta del mismo.⁶³ Este aumento de sensibilidad permite que se pueda determinar de forma cuantitativa la microviscosidad y sus variaciones dentro de una célula y sus organelos.

4.1. Fluorescencia en las células

El ambiente dentro de las células es altamente heterogéneo, con distintas condiciones de pH, polaridad, viscosidad y temperatura dentro de cada organelo y en el citoplasma celular.¹⁰

Cada parámetro del microambiente celular contribuye a diversas funciones biológicas. La polaridad participa en procesos como la catálisis enzimática, síntesis y activación de proteínas.⁶⁴ La mayoría de las enzimas son extremadamente sensibles al pH, por lo que el pH de cada organelo determina las reacciones bioquímicas que se llevan a cabo en ellos.⁶⁵ La viscosidad, en particular, es muy importante en los procesos biológicos y bioquímicos controlados por difusión, tales como el transporte de nutrientes, transducción de señales e interacciones de biomacromoléculas dentro de la célula.^{10,66,67}

4.2. Sensores de viscosidad

Gracias a que cada organelo posee su propio microambiente distintivo, es posible sintetizar rotores moleculares fluorescentes selectivos a cada organelo y el parámetro de su microambiente que se desee estudiar. Para que los rotores sean selectivos, requieren de una funcionalización adecuada de acuerdo con las características del organelo objetivo.⁶⁸

Las mitocondrias poseen un potencial de membrana negativo, por lo que se requiere un grupo funcional catiónico; los lisosomas son ácidos y se requieren grupos funcionales básicos; en el caso del núcleo, es conveniente optar por grupos funcionales que puedan conjugarse al ADN, etc.⁶⁹

4.2.1. Sensores de viscosidad mitocondrial

Uno de los organelos más importantes en el metabolismo celular y la homeostasis es la mitocondria, ya que lleva a cabo la producción de energía, a la vez que participa en el metabolismo de sustancias y apoptosis (muerte celular).^{70,71} Los cambios en la viscosidad mitocondrial afectan directamente el proceso metabólico, lo cual afecta la estructura de la mitocondria y finalmente también afecta diversos ciclos bioquímicos cruciales que se desarrollan en la célula.⁷² Tomando en cuenta la gravedad de las consecuencias de los cambios de viscosidad en la mitocondria, se han desarrollado varios sensores fluorescentes capaces de detectar y cuantificar estos cambios, como el sensor basado en un fluoróforo de cumarina-julolidina y un derivado de benzo[e]indolio

como grupo rotor desarrollado y reportado por Liang et al. en 2021⁷³, y el sensor basado en BODIPY con CF₃ en la posición meso y un derivado de estireno en la posición 3 como grupos rotores desarrollado y reportado por Shi et al. a inicios de 2022⁷⁴ (Figura 6).

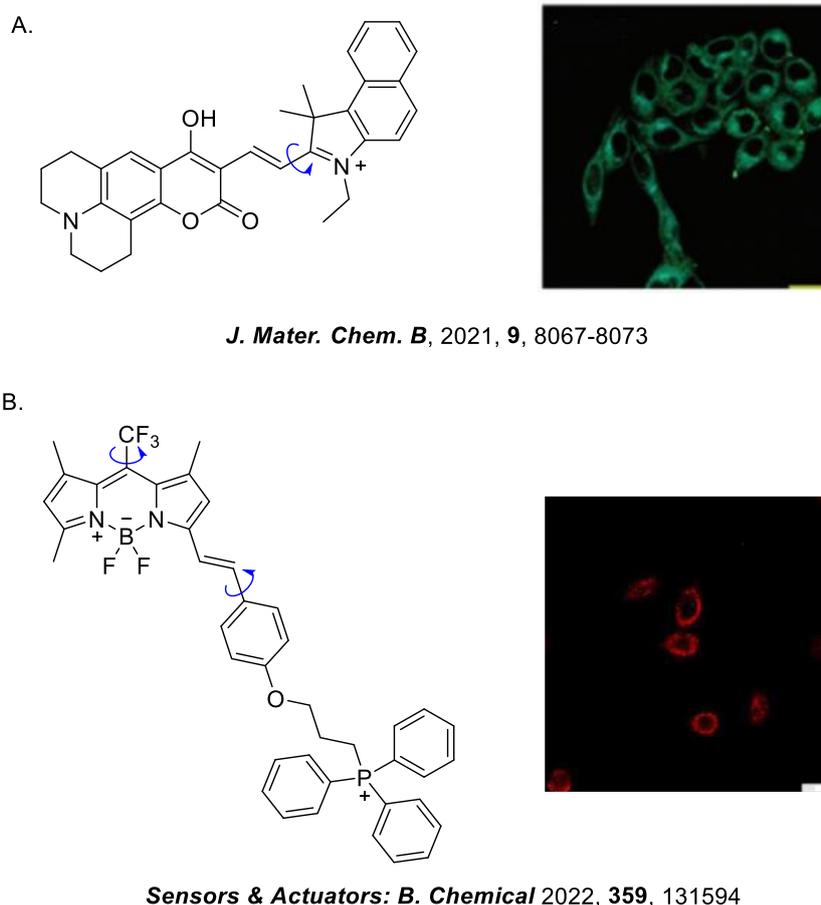
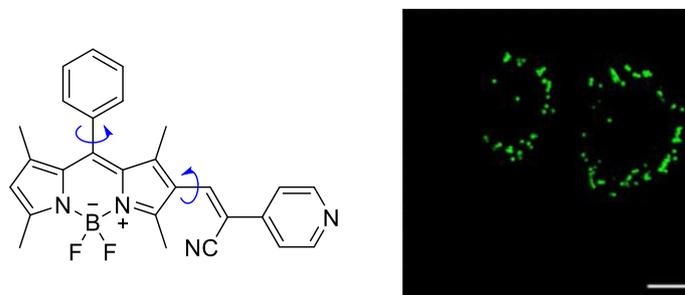


Figura 6. A. Rotor molecular selectivo a mitocondria basado en cumarina e imagen de fluorescencia de células HeLa vivas marcadas con el sensor, B. Rotor molecular selectivo a mitocondria basado en BODIPY e imagen de fluorescencia de células SH-SY5Y marcadas con el sensor.

4.2.2. Sensores de viscosidad lisosomal

El lisosoma es otro de los organelos más importantes, ya que funge como el sistema digestivo de la célula y además puede exterminar virus dentro de ella. El lisosoma también contribuye a la degradación y secreción de proteínas, y a la reparación de la membrana celular. Las anomalías lisosomales generan enfermedades por depósito lisosomal (desórdenes metabólicos genéticos) y otros problemas de salud.^{75,76} La viscosidad del lisosoma está estrechamente relacionada con su funcionamiento, por ello es de gran interés desarrollar sensores de viscosidad selectivos a lisosoma. En 2021,

Cui et al. desarrollaron y reportaron un sensor fluorescente basado en BODIPY con un fenilo en posición meso como grupo rotor y un derivado de piridina en la posición 6 para el monitoreo cuantitativo de viscosidad lisosomal (Figura 7).⁷⁷

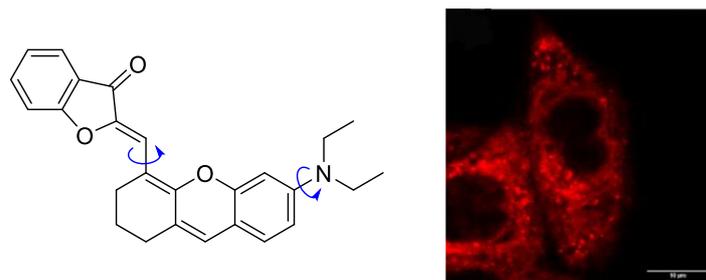


Sensors & Actuators: B. Chemical 2021, 331, 129432

Figura 7. Rotor molecular basado en BODIPY selectivo a lisosoma e imagen de fluorescencia de células HepG2 marcadas con el sensor.

4.2.3. Sensores de viscosidad selectivos a gotas lipídicas

Las gotas lipídicas (LD por sus siglas en inglés) almacenan lípidos neutros dentro de las células. Están formadas por un núcleo de lípidos neutros rodeado por una capa de fosfolípidos y proteínas, con un diámetro entre 40 nm y 100 μm .⁷⁸ Debido a su estructura, presentan una viscosidad y carácter hidrofóbico muy altos respecto a los demás organelos.⁷⁹ Las LD participan en diversos procesos fisiológicos y están asociadas con el desarrollo de cáncer, ya que las células cancerígenas tienen más LD que una célula sana. Gracias a esto, son potenciales marcadores de tumores en el diagnóstico de cáncer.⁸⁰ A inicios de 2022, Wu et al. desarrollaron y reportaron un sensor fluorescente de viscosidad selectivo a LD, basado en un derivado de xanteno reducido con un núcleo de 3-cumaranona como grupo rotor, con el cual pudieron distinguir células cancerígenas de células sanas (Figura 8).⁸⁰

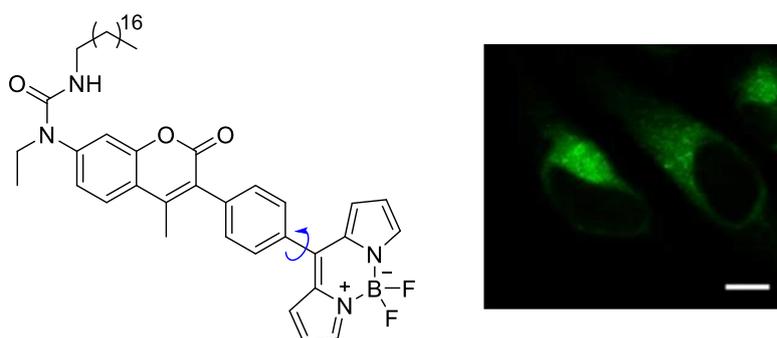


Anal. Chem. 2022, 94(11), 4881–4888

Figura 8. Rotor molecular selectivo a LD e imagen de fluorescencia de células HepG2 incubadas con ácido oleico y marcadas con el sensor.

4.2.4. Sensores de viscosidad selectivos a la membrana del retículo endoplásmico

El retículo endoplásmico es un organelo con una estructura compleja de túbulos interconectados entre sí. La membrana del retículo endoplásmico está formada por, aproximadamente, 60% de fosfolípidos y 20% de proteínas. El retículo endoplásmico tiene un rol importante en procesos como la síntesis de proteínas, metabolismo de lípidos y metabolismo de toxinas.⁸¹ Un exceso de ácidos grasos saturados causa estrés en el retículo endoplásmico y modifica la viscosidad de su membrana, lo cual es un factor de riesgo de varios síndromes metabólicos. En 2015, Lee et al. desarrollaron y reportaron un sensor fluorescente ratiométrico basado en BODIPY-cumarina específico a la membrana del retículo endoplásmico para monitorear la viscosidad de esta en condiciones de estrés (Figura 9).⁸²

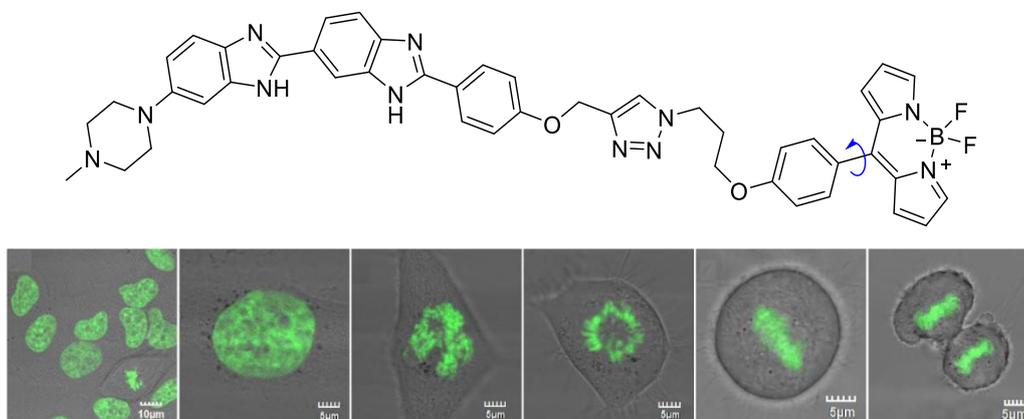


Bioconjugate Chem. 2015, 26(12), 2474-2480

Figura 9. Rotor molecular ratiométrico basado en cumarina-BODIPY selectivo a la membrana del retículo endoplásmico e imagen de fluorescencia de células HeLa con inducción de condiciones de estrés y marcadas con el sensor.

4.2.5. Sensores de viscosidad selectivos al núcleo

El núcleo es el organelo más grande de las células eucariontes. El núcleo cuenta con una membrana externa, cromatina (la forma en la que el ADN se encuentra en el núcleo), nucleolo y nucleoplasma. Dentro del núcleo se encuentra toda la información genética de la célula – con excepción del ADN mitocondrial – y se controla la expresión de los genes, además de regular otros procesos como crecimiento, reproducción, y diferenciación celular.⁸³ La cromatina puede presentar diferentes grados de condensación, los cuales cambian durante la vida de una célula además de ser cruciales en la regulación genética.⁸⁴ Algunos grados de condensación incompleta de la cromatina se han correlacionado con enfermedades como las adicciones⁸⁵, diabetes tipo 2⁸⁶, y enfermedades cardíacas, entre otras. La microviscosidad local del núcleo es un indicador del grado de condensación en el que se encuentra la cromatina, por lo que monitorearla puede brindar información importante sobre el estado de salud o la edad de una célula.⁸⁷ En 2021, Zhang et al. desarrollaron y reportaron un sensor fluorescente ratiométrico basado en BODIPY y el ligante de Hoechst 33342 sensible a viscosidad selectivo a ADN, con el cual pudieron cuantificar los cambios de estado de condensación de la cromatina dentro del núcleo. (Figura 10)⁸⁷



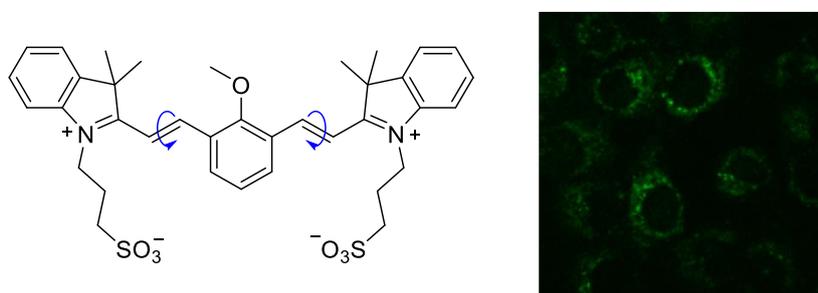
Chinese Chemical Letters. 2021, **32**(8), 2395-2399

Figura 10. Rotor molecular ratiométrico basado en BODIPY selectivo al ADN e imágenes fluorescentes de células HeLa en distintas etapas del ciclo celular marcadas con el sensor.

4.2.6. Sensores de viscosidad en el citosol

El citosol es un líquido homogéneo coloidal que se encuentra en el citoplasma celular, el cual está compuesto por agua, iones, lípidos, azúcares, aminoácidos, polisacáridos,

proteínas, ARN, etc. La principal función del citosol es crear un microambiente apropiado para que los organelos funcionen correctamente.⁸⁸ Las reacciones metabólicas son controladas por la difusión de moléculas en el citoplasma, por lo que la viscosidad del citosol tiene un papel muy importante en el metabolismo celular⁸⁹. Cualquier anomalía en la viscosidad del citosol puede llevar al desarrollo de enfermedades, por lo que poder monitorearla es de gran ayuda para detectarlas incluso antes de que aparezcan síntomas. En 2019, Li et al. desarrollaron y reportaron un sensor fluorescente sensible a la viscosidad conformado por dos unidades de indolio como grupos rotores y una unidad de anisol, con el cual lograron detectar cambios en la viscosidad del citosol durante el proceso de ferroptosis (Figura 11)⁹⁰.

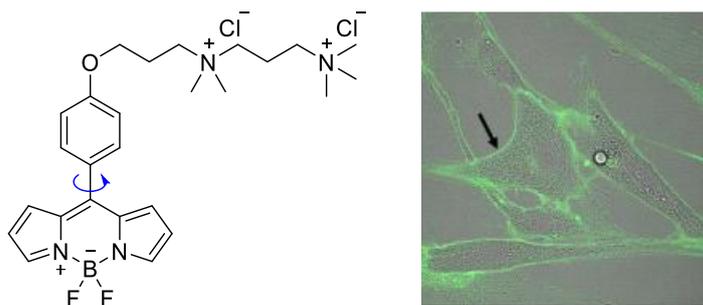


J. Am. Chem. Soc., 2019, **141**, 18301-18307

Figura 11. Rotor molecular selectivo a citosol e imagen de fluorescencia de células HT-1080 marcadas con el sensor.

4.2.7. Sensores de viscosidad en la membrana celular

La membrana celular es una estructura semipermeable que delimita la célula y evita que especies ajenas a ella se introduzcan, además controla varios procesos intercelulares como difusión, transporte, transducción de señales y reconocimiento de otras células.⁹¹ La membrana está conformada por una bicapa de fosfolípidos, proteínas, y algunos azúcares. La viscosidad de la membrana varía con la composición de la bicapa y es diferente para cada tipo de célula. Las fluctuaciones anormales en la viscosidad de la membrana afectan la difusión controlada y, por ende, las condiciones fisiológicas de la célula.⁹² En 2020, Kuimova et al. desarrollaron y reportaron un sensor fluorescente basado en BODIPY con una unidad derivada de anisol como grupo rotor para monitorear la viscosidad de la membrana durante procesos de diferenciación celular (Figura 12)⁹³.



Sci Rep, 2020, 10, 14063

Figura 12. Rotor molecular basado en BODIPY selectivo a membrana celular e imagen de fluorescencia de una célula madre mesenquimatosa marcada con el sensor. La flecha señala la membrana celular.

5. Síntesis y reacciones de cumarinas

5.1. Propiedades generales de las cumarinas

La 2*H*-cromen-2-ona, comúnmente conocida como cumarina (Figura 13), es una molécula heterocíclica constituida por un anillo de α -pirona fusionado con un anillo de benceno. Fue aislada por primera vez en 1820, por N.J.B.G. Guibourt, del cumarú (*Dipteryx odorata*) y recibió su nombre de esta misma planta.⁹⁴ La cumarina fue químicamente sintetizada por primera vez en 1868 mediante el calentamiento de la sal de sodio de salicilaldehído con ácido acético por W.H. Perkin.⁹⁵

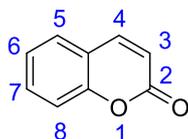


Figura 13. Estructura de la cumarina.

La cumarina y sus derivados se encuentran en una extensa variedad de plantas y son un núcleo importante de diversos compuestos naturales y sintéticos con actividades biológicas y farmacológicas, entre las cuales destacan las anticancerígenas,⁹⁶ antimicóticas,⁹⁷ anticoagulantes,⁹⁸ antiinflamatorias,⁹⁹ antivirales,¹⁰⁰ y antibacteriales,¹⁰¹ entre otras.

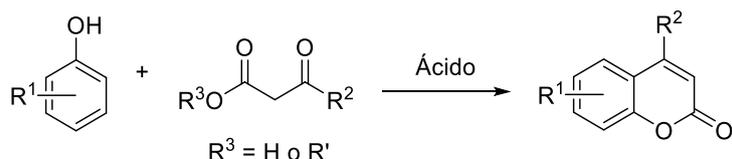
Los derivados de cumarina tienen propiedades fotofísicas – tales como altos rendimientos cuánticos fluorescentes, amplios desplazamientos de Stokes, y la posibilidad de modificar sus longitudes de onda de absorción y emisión²⁵ – que permiten que sean utilizados como sensores fluorescentes, catalizadores fotoredox,¹⁰² tintes

láser,¹⁰³ brillantadores ópticos¹⁰⁴ e incluso como componentes de celdas solares y materiales optoelectrónicos¹³.

5.2. Síntesis de cumarinas

5.2.1. Síntesis de Pechmann

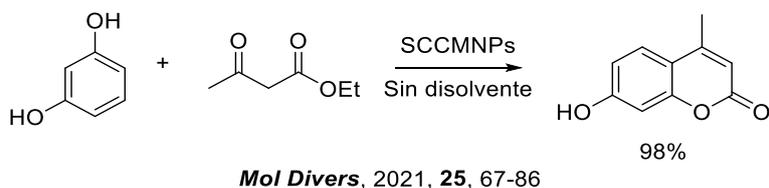
Una de las metodologías más utilizadas para la síntesis de cumarinas sustituidas en la posición 4 es la reacción de condensación de Pechmann (Esquema 1).¹⁰⁵



Esquema 1. Síntesis de Pechmann.

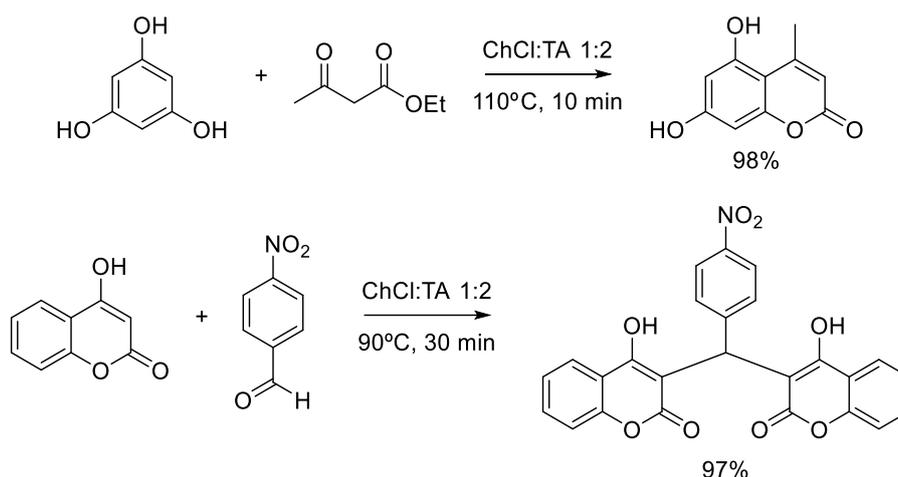
La reacción generalmente se realiza en condiciones ácidas, usando ácidos de Brønsted o de Lewis. La reacción procede a través de una S_EAr entre el fenol y el grupo carbonilo previamente protonado del β -cetoéster. Posteriormente ocurre una lactonización que tras la eliminación de agua conduce a la formación de la cumarina.¹⁰³

Con el creciente interés por utilizar metodologías basadas en los principios de química verde, se ha buscado realizar modificaciones a la síntesis de Pechmann sin comprometer el rendimiento de la reacción. En 2020, Samiei et al.¹⁰⁶ desarrollaron nanopartículas de hierro con recubrimiento de carbono sulfonado (SCCMNPs) y reportaron su actividad como catalizador heterogéneo en la condensación de Pechmann con altos rendimientos sin uso de disolventes (Esquema 2).



Esquema 2. Nueva metodología para la síntesis de Pechmann.

A inicios de 2022, Rather y Ali¹⁰⁷ llevaron a cabo la síntesis de varios derivados de cumarina y biscumarina utilizando un disolvente eutéctico profundo (mezcla de ácidos y bases de Lewis o Brønsted¹⁰⁸) de cloruro de colina (ChCl) y ácido L-tartárico (TA) en una relación 1:2 con rendimientos de buenos a excelentes. Este disolvente eutéctico profundo, además de ser biodegradable y reutilizable, también funciona como catalizador para la reacción (Esquema 3).

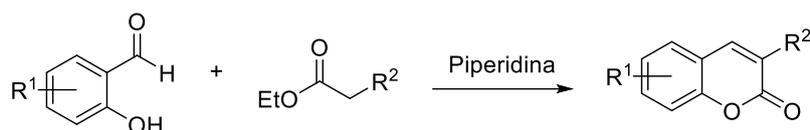


ACS Omega, 2022, 7, 10649-10659

Esquema 3. Síntesis de cumarinas utilizando la reacción de Pechmann.

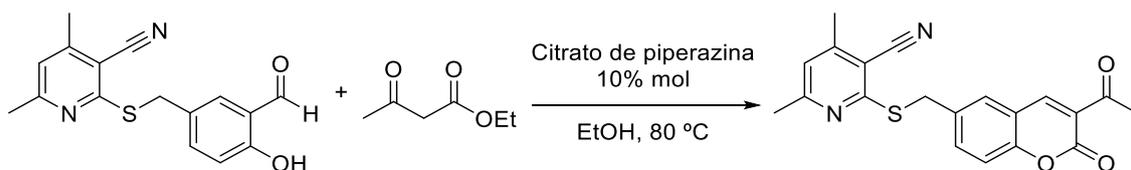
5.2.2. Síntesis de Knoevenagel

La reacción de condensación de Knoevenagel¹⁰⁹ es una reacción donde se forman enlaces dobles C=C entre un compuesto con un grupo metileno activado por grupos electroattractores y cetonas o aldehídos, dando como resultado alquenos electrofílicos sustituidos. Esta reacción se utiliza para sintetizar cumarinas sustituidas en la posición 3 partiendo de derivados de salicilaldehído y compuestos con metileno reactivo en presencia de bases nitrogenadas tales como piperidina, trietilamina, etc. en disolventes tanto próticos como apróticos.¹¹⁰ (Esquema 4)



Esquema 4. Síntesis de Knoevenagel.

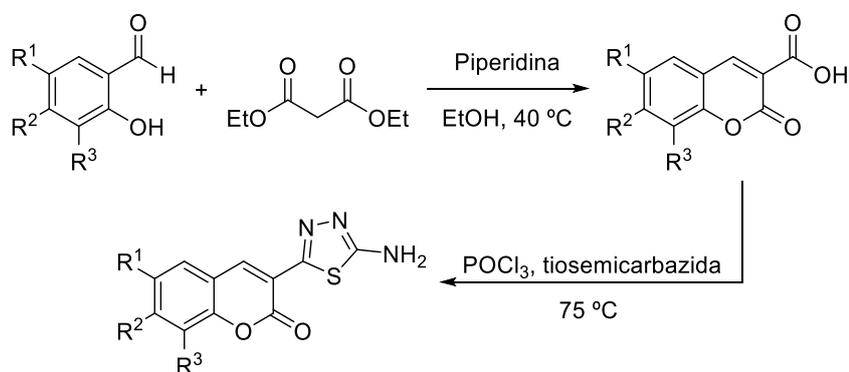
En 2020, Sanad y Mekky¹¹¹ sintetizaron híbridos de nicotinitrilo-cumarina con actividad antibacterial mediante la síntesis de Knoevenagel, utilizando citrato de piperazina como base (Esquema 5).



Synthetic Communications, 2020, **50**(10), 1468-1485

Esquema 5. Síntesis de híbridos de nicotinonitrilo-cumarina utilizando la síntesis de Knoevenagel.

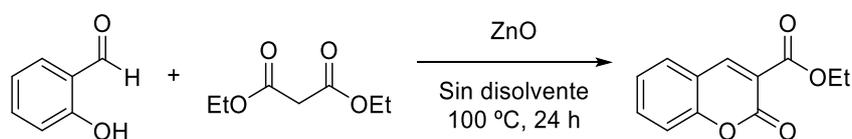
A mediados de 2022, Karcz et al.¹¹² sintetizaron híbridos de cumarina-tiadiazol con actividad antimicrobial utilizando la síntesis de Knoevenagel (Esquema 6).



J. Mol. Sci. 2022, **23**(11), 6314

Esquema 6. Síntesis de híbridos de cumarina-tiadiazol utilizando la síntesis de Knoevenagel.

En 2019, Shakil et al.¹¹³ desarrollaron nanocristales de ZnO y reportaron su actividad como catalizador heterogéneo para la síntesis de cumarinas con la reacción de condensación de Knoevenagel sin uso de disolventes (Esquema 7).

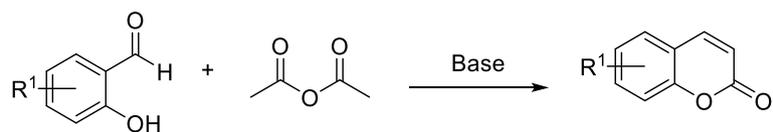


Inorg. Chem. 2019, **58**(9), 5703-5714

Esquema 7. Nueva metodología para la síntesis de Knoevenagel.

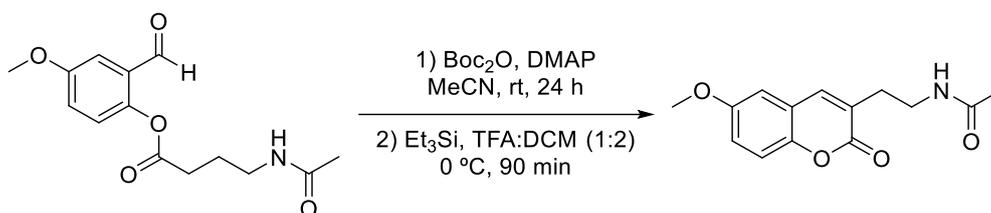
5.2.3. Síntesis de Perkin

La condensación de Perkin (Esquema 8) fue el primer método reportado para sintetizar cumarinas.⁹⁵ Esta reacción se lleva a cabo entre derivados del salicilaldehído y un anhídrido en presencia de una base, seguido de una esterificación intramolecular.¹¹⁰



Esquema 8. Síntesis de Perkin.

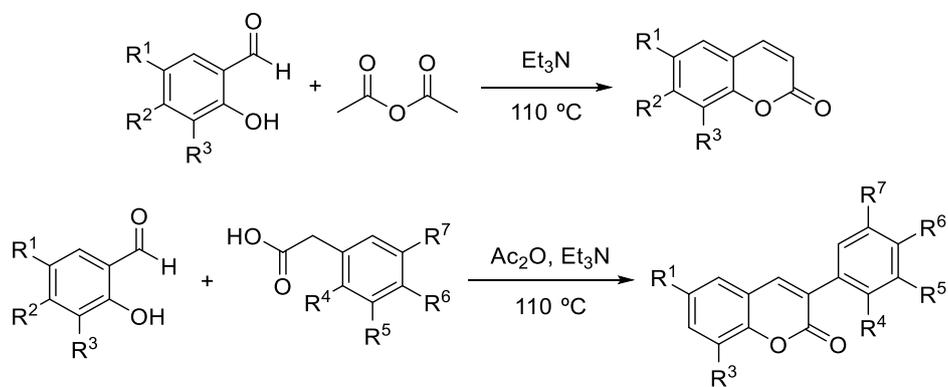
En 2015, de la Fuente Revenga et al.¹¹⁴ diseñaron y sintetizaron ligantes fluorescentes de melatonina basados en cumarina para el etiquetado de receptores melatonérgicos. Para obtener una de las moléculas que estudiaron, utilizaron una adaptación de la síntesis de Perkin (Esquema 9).



Eur. J. Med. Chem., 2015, **103**, 370-373

Esquema 9. Adaptación de la síntesis de Perkin.

En 2019, Shen et al.¹¹⁵ sintetizaron derivados de cumarina para el tratamiento de carcinoma hepatocelular utilizando la síntesis de Perkin (Esquema 10).



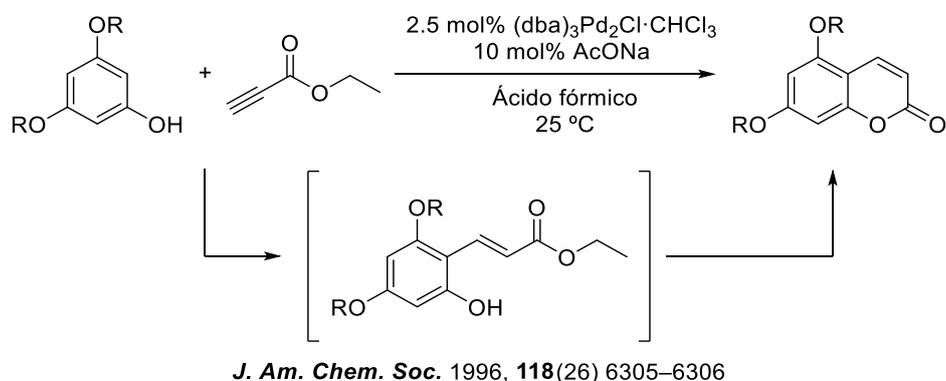
Front. Chem. 2019, **7**, 366

Esquema 10. Síntesis de derivados de cumarina utilizando la síntesis de Perkin.

5.2.4. Síntesis de cumarinas catalizadas por metales

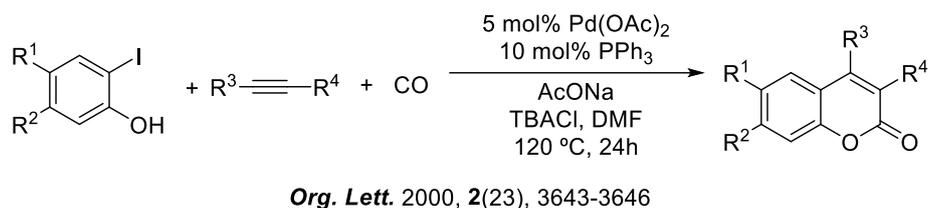
La síntesis de cumarinas basada en reacciones catalizadas por metales permite obtener una mayor variedad de cumarinas funcionalizadas, además de mejorar los rendimientos obtenidos mediante las reacciones clásicas¹¹⁶.

En 1996, Trost y Toste¹¹⁷ desarrollaron un método de síntesis de cumarinas catalizado por Pd(0) partiendo de derivados de fenol y alquinoato con rendimientos de hasta 88% (Esquema 11).



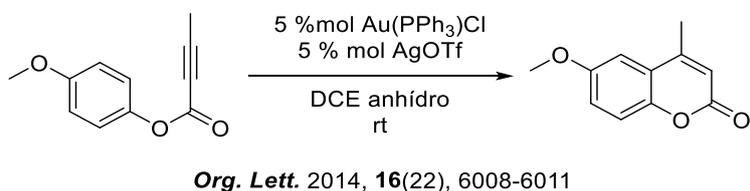
Esquema 11. Síntesis de cumarinas catalizada por Pd(0).

Cuatro años más tarde, Kadnikov y Larock¹¹⁸ desarrollaron un método de síntesis de cumarinas 3,4 disustituidas catalizado por Pd(0) partiendo de derivados de *o*-yodofenol y alquinos internos y con 1 atm de CO con rendimientos de hasta 78% (Esquema 12).



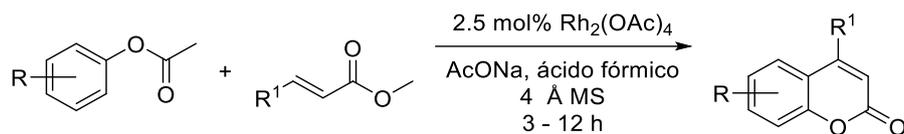
Esquema 12. Síntesis de cumarinas 3,4 disustituidas catalizada por Pd(0).

En 2014, Aparece y Vadola¹¹⁹ desarrollaron un método de síntesis de cumarinas catalizada por una especie catiónica de oro, en donde se lleva a cabo una *orto*-ciclación de alquinoatos de arilo con rendimientos de hasta 85% (Esquema 13).



Esquema 13. Síntesis de cumarinas catalizada por Au(I).

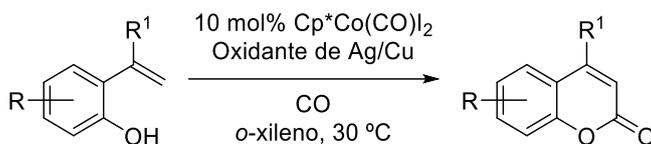
En 2015, Gadakh et al.¹²⁰ desarrollaron un método de síntesis de cumarinas catalizado por Rh(I) partiendo de fenoles acetilados y acrilatos, utilizando ácido fórmico como agente reductor y acetato de sodio como base. Esta metodología sin disolvente y sin ligantes permite obtener rendimientos de hasta 95% (Esquema 14).



J. Org. Chem. 2015, **80**(22), 11544-11550

Esquema 14. Síntesis de cumarinas catalizada por Rh(I).

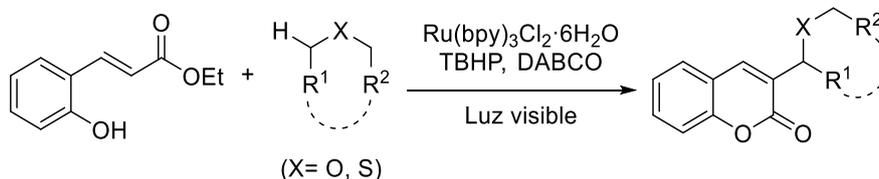
Ese mismo año, Liu et al.¹²¹ desarrollaron un método de síntesis de cumarinas catalizado por Co(III) basado en la anulación de 2-alkilfenoles con CO con rendimientos de hasta 87% (Esquema 15).



Org. Lett. 2015, **17**(21), 5404-5407

Esquema 15. Síntesis de cumarinas catalizada por Co(III).

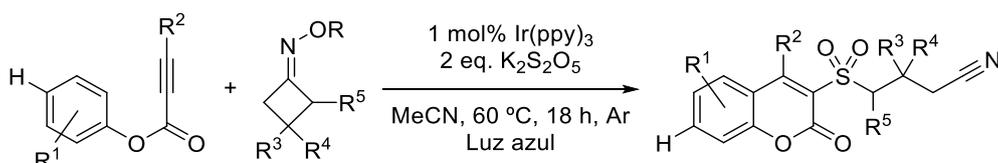
En 2021, Zhang et al.¹²² desarrollaron un método de síntesis de cumarinas sustituidas en la posición 3 fotocatalizado por Ru(bpy)₃Cl₂·6H₂O, a partir de 3-(2-hidroxifenil)acrilatos con éteres o tioéteres, con el cual obtuvieron rendimientos de hasta 74% (Esquema 16).



J. Org. Chem. 2021, **86**(14), 9552-9562

Esquema 16. Síntesis de cumarinas fotocatalizada por Ru(III).

También en 2021, Chen et al.¹²³ desarrollaron un método de síntesis de 3-cianoalquilsulfonilcumarinas fotocatalizado por Ir(ppy)₃ con rendimientos de hasta 85% (Esquema 17).

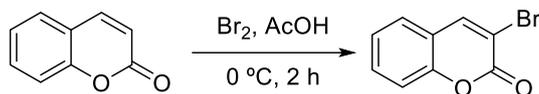


Org. Biomol. Chem., 2021, **19**, 3181

Esquema 17. Síntesis de 3-cianoalquilsulfonilcumarinas fotocatalizada por Ir(III).

5.3. Reacciones de cumarinas

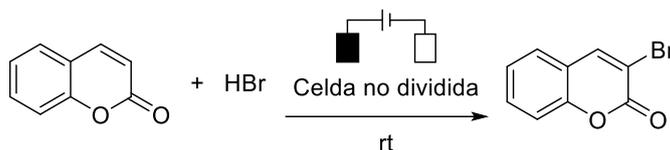
Comúnmente las cumarinas se halogenan en la posición 3 mediante reacciones de adición electrofílica. En 1986, Kelkar et al. llevaron a cabo una de las primeras metodologías para bromación selectiva de la cumarina utilizando bromo y ácido acético glacial (Esquema 18)¹²⁴.



Synthesis, 1986, **3**, 214-216

Esquema 18. Bromación de cumarina.

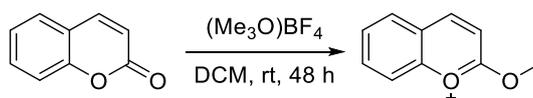
En 2021, Yu et al.¹²⁵ desarrollaron un método electroquímico para llevar a cabo esta misma reacción en condiciones suaves (Esquema 19).



Tetrahedron Lett., 2021, **86**, 153514

Esquema 19. Bromación electroquímica de cumarina.

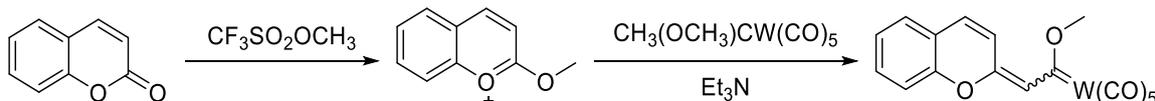
Por otro lado, también es posible realizar la O-alkilación generando un alcoxycarbenio. La primera reacción de este tipo fue reportada en 1981 por Quirk et al., utilizando metilfluorosulfato o sales de Meerwin (Esquema 20)¹²⁶.



J. Org. Chem., 1981, **46**, 3186-3189

Esquema 20. O-alkilación de cumarina.

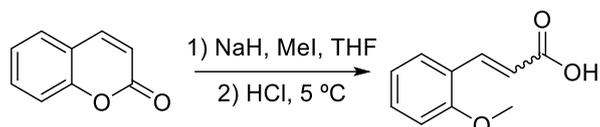
En 2007, Le Bihan et al. utilizaron esta misma reacción para llevar a cabo la síntesis de complejos heterocíclicos de carbeno (Esquema 21)¹²⁷.



J. Organomet. Chem., 2007, **692**(24), 5517-5522

Esquema 21. Aplicación de la reacción de O-alkilación de cumarina.

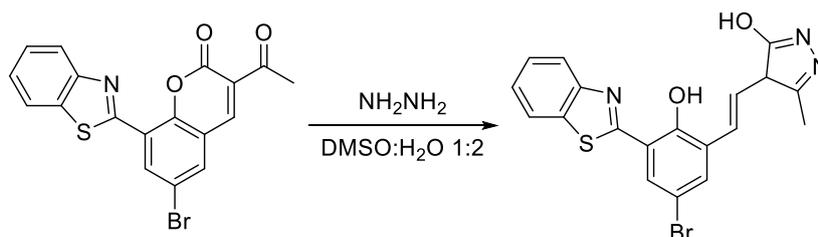
Otro tipo de reacción que experimentan las cumarinas es la apertura del anillo de lactona. Esto se puede llevar a cabo con sales de sodio en donde el anión es nucleofílico fuerte, así como lo reportaron Diyakar y Rao en 1976 utilizando NaOH¹²⁸, y Sehgal y Kachroo en 1980 utilizando NaH, para obtener el éster metílico derivado del ácido o-cumárico (Esquema 22)¹²⁹.



Synth. Comm. 1980, **10**(1), 37-42

Esquema 22. Apertura del anillo de lactona en la cumarina.

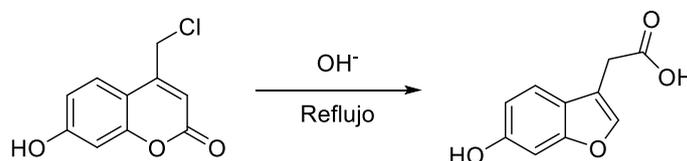
En 2020, Erdemir y Malkondu desarrollaron un sensor fluorescente basado en la apertura del anillo de lactona y su posterior ciclación con hidracina. En este caso, la molécula resultante es altamente fluorescente. (Esquema 23)¹³⁰.



Microchemical Journal, 2020, **152**, 104375

Esquema 23. Sensor fluorescente basado en la apertura del anillo de lactona de la cumarina.

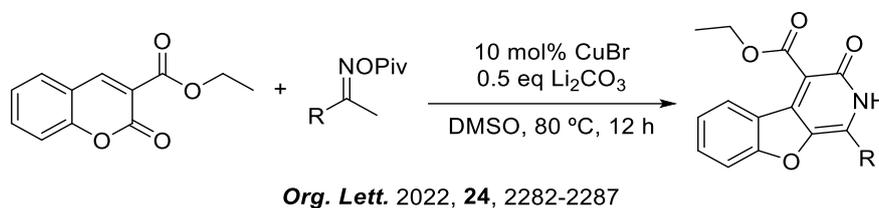
El anillo de lactona de la cumarina también puede contraerse. En 1979, Dulenko et al. reportaron la primera reacción de contracción del anillo en condiciones básicas y a altas temperaturas (Esquema 24)¹³¹.



Chem. Heterocycl. Compd., 1979, **15**, 815

Esquema 24. Contracción del anillo de lactona de la cumarina.

A inicios de 2022, Zheng et al. utilizaron la contracción del anillo de lactona de la cumarina para la síntesis catalizada por cobre de piridonas fusionadas con dihidrobenzofuranos (Esquema 25)¹³².



Esquema 25. Aplicación de la reacción de contracción del anillo de lactona de la cumarina.

6. Síntesis y reacciones de BODIPY

6.1. Propiedades generales de BODIPY

Los colorantes fluorescentes cuyas propiedades pueden ser modificadas mediante la inserción de grupos funcionales adecuados son excelentes candidatos para aplicaciones optoelectrónicas y materiales funcionales. Recientemente, los fluoróforos organoborónicos cuyo átomo de boro se encuentra tetracoordinado, como los BODIPY, han recibido especial atención.¹³³

Los compuestos derivados del 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno, abreviados como BODIPY (Figura 14), fueron descubiertos en 1968 por Treibs y Kreuzer¹³⁴. En 2009, Tram et al. sintetizaron y caracterizaron completamente y por primera vez el BODIPY sin ningún sustituyente, partiendo de la oxidación del dipirrometano seguida de la adición de éterato de dietiltrifluoruro de boro en presencia de una base¹³⁵.

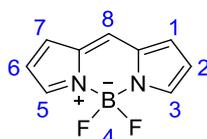


Figura 14. Estructura de BODIPY.

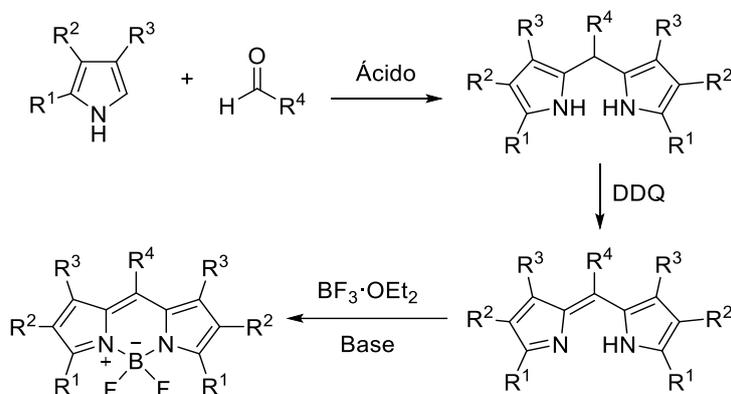
Los BODIPY son altamente fluorescentes, con bandas de absorción y de emisión agudas y definidas, sin embargo, poseen desplazamientos de Stokes muy pequeños.¹³⁶ Esta desventaja puede ser minimizada mediante la funcionalización del núcleo de BODIPY, ya que de esta manera se pueden ajustar sus propiedades fotofísicas, ópticas y electrónicas.¹³⁷

Gracias a su versatilidad, los BODIPY tienen una amplia variedad de aplicaciones, tales como sensores fluorescentes, fotocatalizadores¹³⁸, tintes láser¹³⁹, en celdas fotovoltaicas y OLEDs¹⁴⁰, e incluso en terapia fotodinámica¹⁴¹.

6.2. Síntesis de BODIPY

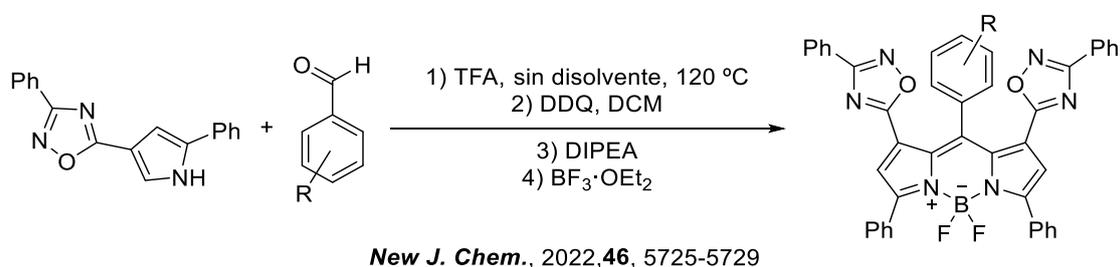
6.2.1. Síntesis de BODIPY simétricos

Para sintetizar BODIPY simétricos, la metodología más común consiste en la condensación de un pirrol con un compuesto carbonílico electrofílico en condiciones ácidas, seguida de una oxidación con DDQ, y finalmente la coordinación de los nitrógenos del núcleo de dipirrometeno con boro, utilizando dietileterato de trifluoruro de boro y una base (Esquema 26)^{134,142}.



Esquema 26. Síntesis general de BODIPY simétricos.

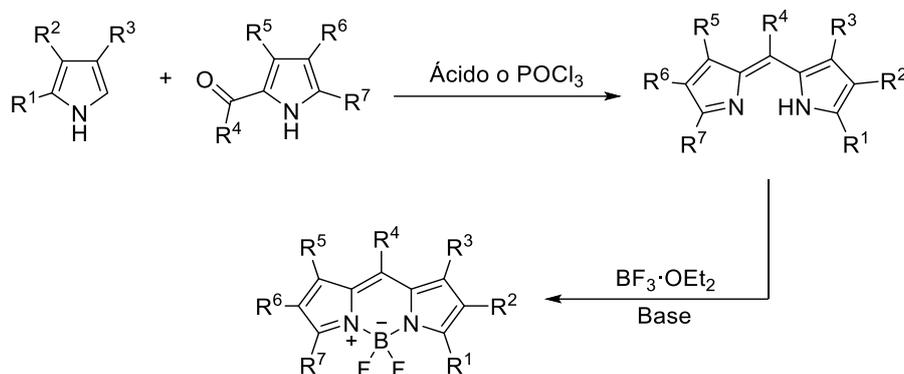
Este método de síntesis es ampliamente utilizado hoy en día con pocas modificaciones. A inicios de 2022, Matveeva et al. sintetizaron y caracterizaron una familia de fluoróforos de BODIPYs simétricos sustituidos con oxadiazol en las posiciones 1 y 7, además de un sustituyente en la posición 8, utilizando esta metodología (Esquema 27)¹⁴³.



Esquema 27. Síntesis de BODIPY simétrico utilizando la metodología clásica.

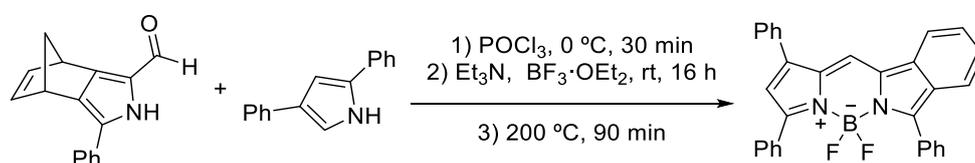
6.2.2. Síntesis de BODIPY asimétricos

Los BODIPY asimétricos se obtienen mediante la condensación de un pirrol acetilado o formilado y un pirrol que no esté sustituido en la posición 2 en condiciones ácidas o en presencia de POCl₃. En este caso, también se requiere utilizar dietileterato de trifluoruro de boro y una base en el último paso (Esquema 28)¹⁴⁴.



Esquema 28. Síntesis general de BODIPY asimétricos.

A inicios de 2022, Mori et al. utilizaron esta metodología, seguida de una reacción Retro-Diels-Alder, para sintetizar un BODIPY asimétrico (Esquema 29)¹⁴⁵.



Tetrahedron Lett., 2022, **96**, 153759

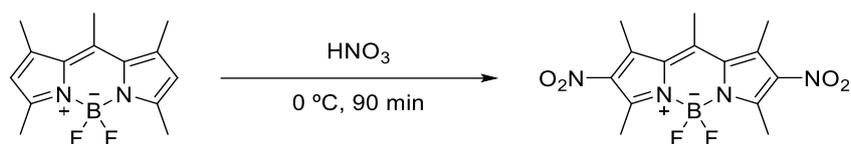
Esquema 29. Síntesis de BODIPY asimétrico utilizando la metodología clásica.

6.3. Reacciones de BODIPY

6.3.1. Sustitución electrofílica aromática

Al descubrir los BODIPYs, Treibs y Kreuzer también notaron que en las posiciones 2 y 6 se pueden llevar a cabo reacciones de sustitución electrofílica con facilidad,¹³⁴ tales como la nitración, sulfonación y halogenación. El grupo de investigación de Shah fue el primero en desarrollar y reportar todas estas reacciones en 1990 partiendo de un BODIPY pentametilado (posiciones 1, 3, 5, 7 y 8), como se muestra a continuación ¹⁴⁶.

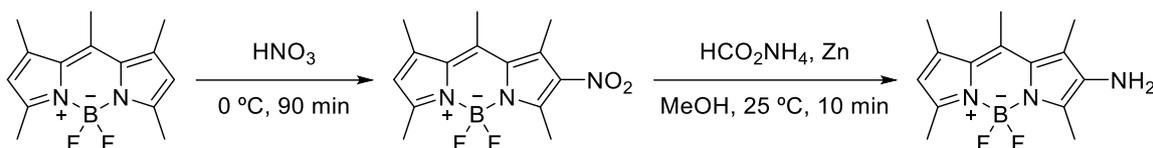
La nitración del BODIPY fue realizada con ácido nítrico a 0 °C durante 90 min (Esquema 30)¹⁴⁶.



Heteroat. Chem., 1990, 1(5), 389-399

Esquema 30. Nitración de BODIPY.

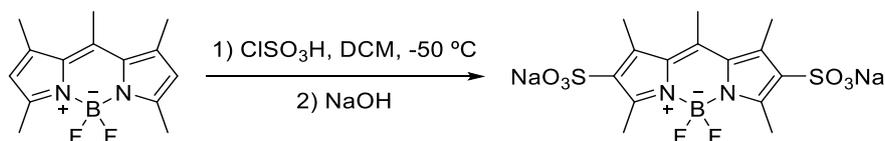
En 2017, Gupta et al. utilizaron esta reacción como parte de su metodología sintética para la obtención de un BODIPY hidrosoluble (Esquema 31)¹⁴⁷.



Photochem. Photobiol. Sci., 2017, 16, 499-506

Esquema 31. Aplicación de la nitración de BODIPY.

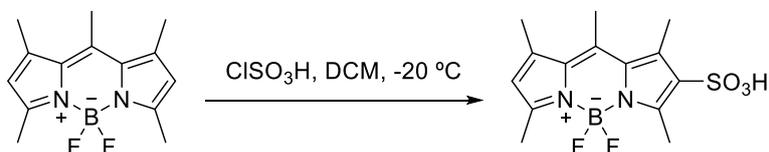
La sulfonación de BODIPY fue realizada con ácido clorosulfónico en diclorometano a -50 °C, seguida de tratamiento con NaOH (Esquema 32)¹⁴⁶.



Heteroat. Chem., 1990, 1(5), 389-399

Esquema 32. Sulfonación de BODIPY.

En 2019, Fu et al. utilizaron esta reacción para sintetizar un marcador fluorescente de BODIPY útil para detectar la presencia de nanopartículas de oro dentro de una célula (Esquema 33)¹⁴⁸.

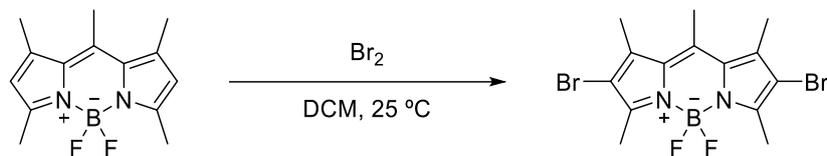


ACS Omega, 2019, 4(18), 17850-17856

Esquema 33. Aplicación de la sulfonación de BODIPY.

La halogenación del BODIPY es una de sus funcionalizaciones más importantes, ya que un BODIPY halogenado se vuelve susceptible a reacciones de acoplamiento catalizadas por Pd, permitiendo crear BODIPYs con estructuras más complejas.

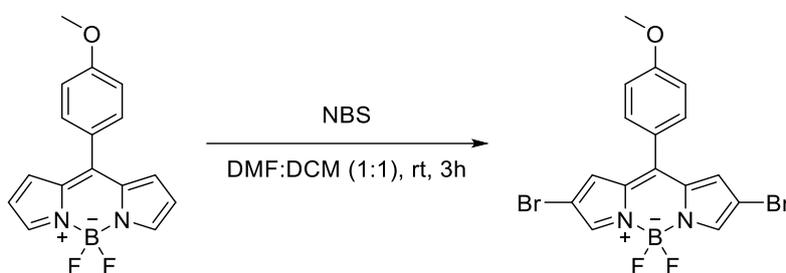
La bromación del BODIPY fue realizada con Br₂ en diclorometano a 25 °C (Esquema 34)¹⁴⁶.



Heteroat. Chem., 1990, 1(5), 389-399

Esquema 34. Bromación de BODIPY.

En 2021, García Santos et al. utilizaron esta reacción con NBS como fuente de bromo para sintetizar un BODIPY capaz de actuar como fotocatalizador en la formación de γ -alcoxilactonas, 1,4-dicarbonilos monoprottegidos y dihidrofuranos (Esquema 35)¹³⁸.

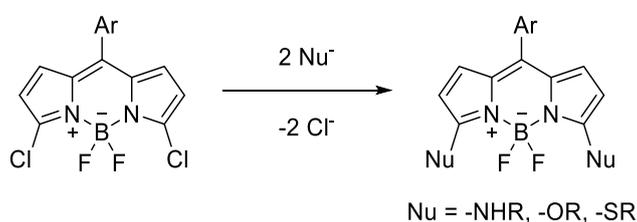


J. Org. Chem. 2021, 86(23) 16315–16326

Esquema 35. Aplicación de la bromación de BODIPY.

6.3.2. Sustitución nucleofílica aromática

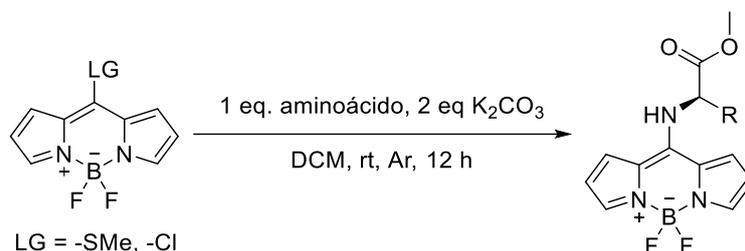
Los BODIPYs halogenados en las posiciones 3 y 5 son susceptibles a reacciones de sustitución nucleofílica aromática con aminas, alcóxidos, fenóxidos, tiolatos o enolatos (Esquema 36).^{149,150} La sustitución nucleofílica aromática también puede ocurrir en la posición 8 de BODIPY.¹⁴⁹



Angew. Chem. Int. Ed. 2008, 47, 1184 – 1201

Esquema 36. Sustitución nucleofílica aromática en las posiciones 3 y 5 de BODIPY.

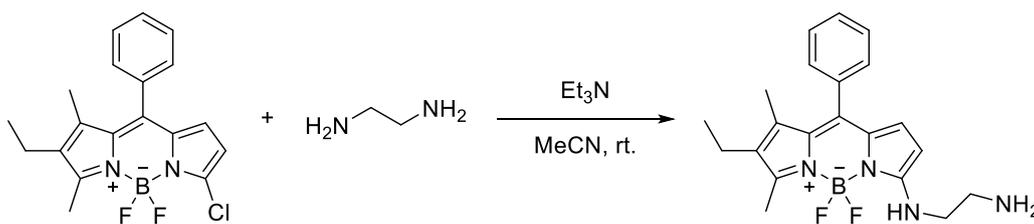
En 2020, Farinone et al. aprovecharon esta transformación para sintetizar BODIPYs sustituidos con aminoácidos en la posición 8, partiendo de un BODIPY con un buen grupo saliente (LG= -Cl, -SMe) en esta posición (Esquema 37)¹⁵¹.



Org. Chem. Front., 2020, 7, 2391-2398

Esquema 37. Aplicación de sustitución nucleofílica aromática en la posición 8 de BODIPY.

En 2021, Deng et al. realizaron una sustitución nucleofílica aromática en la posición 3 del BODIPY como parte de su estrategia de síntesis para obtener una sonda fluorescente de BODIPY basada en una sal cuaternaria de amonio (Esquema 38)¹⁵².



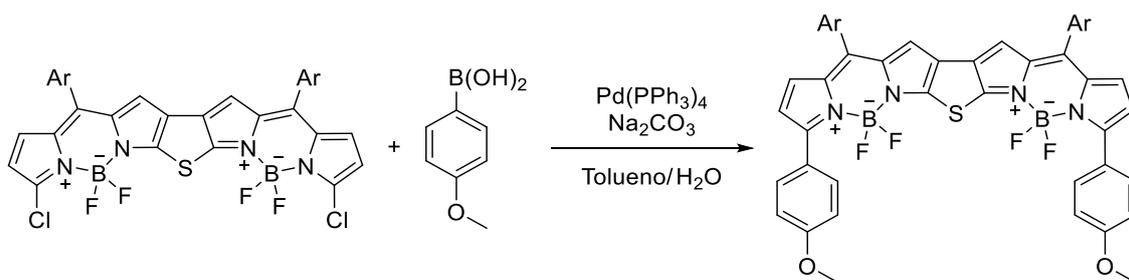
Front. Chem., 2021, 9, 650006

Esquema 38. Aplicación de sustitución nucleofílica aromática en la posición 3 de BODIPY.

6.3.3. Reacciones de acoplamiento catalizadas por Pd

Las reacciones de acoplamiento catalizadas por Pd son ampliamente utilizadas en síntesis orgánica, incluyendo la funcionalización de BODIPYs. Para hacer esto es necesario partir de BODIPYs halogenados, los cuales pueden participar en reacciones como las de Suzuki-Miyaura¹⁵³, Sonogashira¹⁵⁴, Negishi¹⁵⁵, Mizoroki-Heck^{156,157}, Migita-Kosugi-Stille^{158,159} y Buchwald-Hartwig^{160,161}.

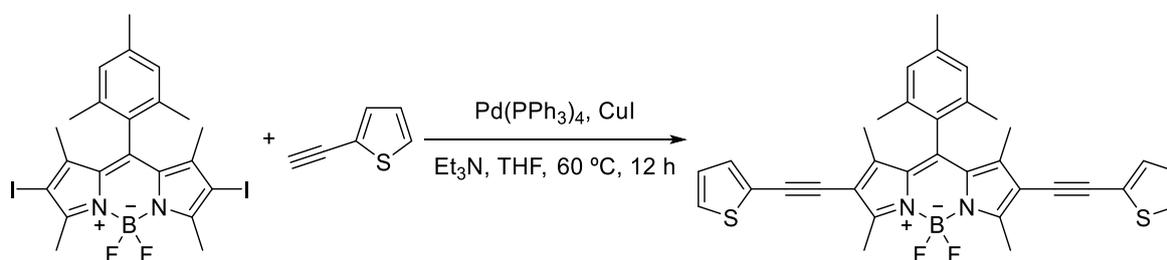
En 2021, Gong et al. utilizaron el acoplamiento de Suzuki-Miyaura para la funcionalización de dímeros de BODIPY fusionados con tiofeno (Esquema 39)¹⁶².



Org. Lett. 2021, 23(19) 7661–7665

Esquema 39. Funcionalización de BODIPY mediante acoplamiento de Suzuki-Miyaura.

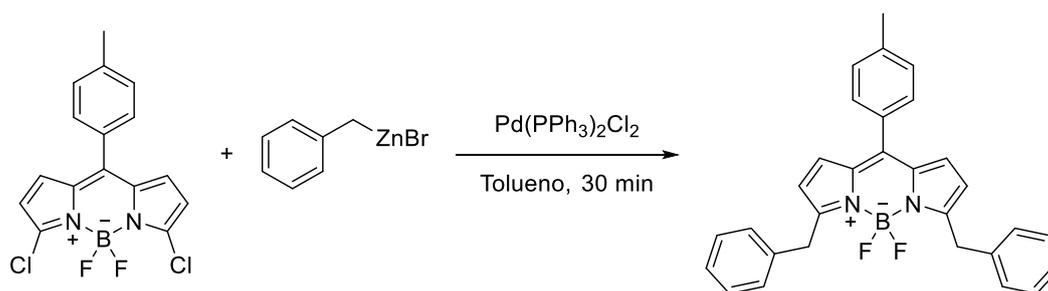
En ese mismo año, Li et al. funcionalizaron colorantes BODIPY utilizando el acoplamiento de Sonogashira (Esquema 40)¹⁶³.



Dyes Pigm., 2021, 192, 109418

Esquema 40. Funcionalización de BODIPY mediante acoplamiento de Sonogashira.

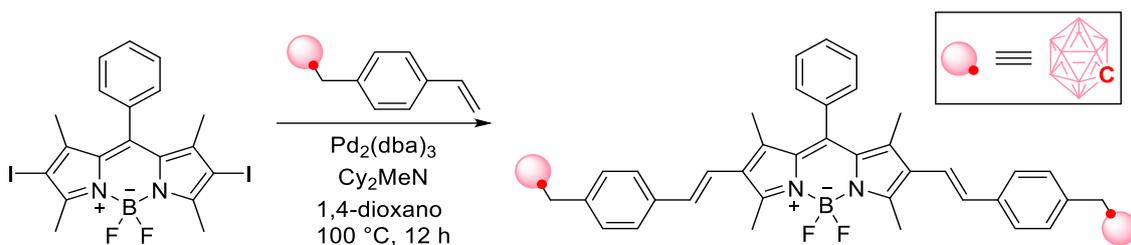
En 2014, Durán San Pedro et al. reportaron los primeros ejemplos de aplicación del acoplamiento de Negishi en BODIPYs halogenados en las posiciones 3 y 5 (Esquema 41)¹⁶⁴.



RSC Adv., 2014, 4, 19210-19213

Esquema 41. Funcionalización de BODIPY mediante acoplamiento de Negishi.

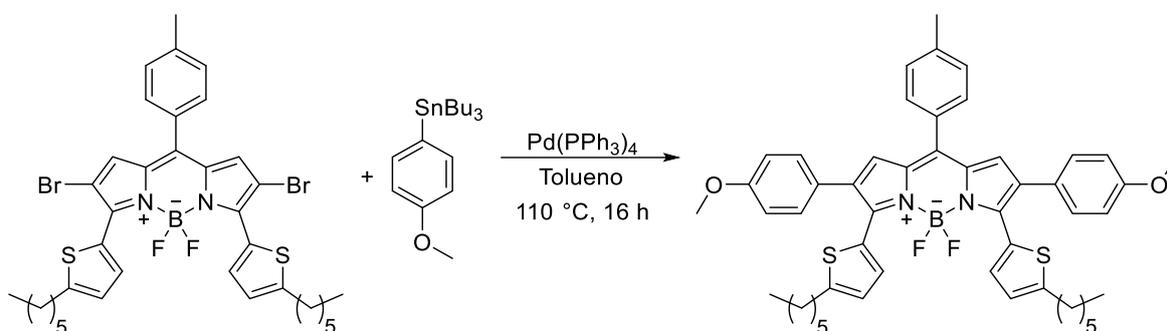
En 2021, Bellomo et al., desarrollaron una familia de BODIPYs con carboranos, los cuales se insertaron al BODIPY mediante un acoplamiento de Mizoroki-Heck (Esquema 42)¹⁶⁵.



Dyes Pigm., 2021, **194**, 109644

Esquema 42. Funcionalización de BODIPY mediante acoplamiento de Mizoroki-Heck.

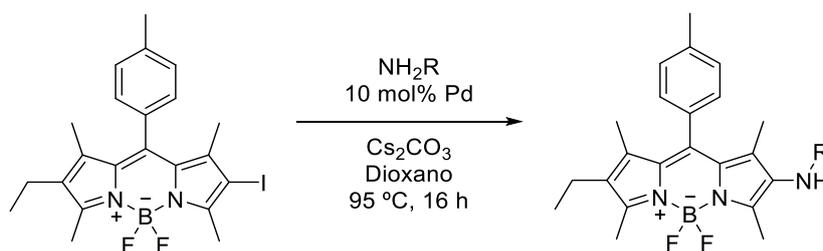
A inicios de 2022, Ceugniet et al. utilizaron el acoplamiento de Migita-Kosugi-Stille como parte de su metodología sintética para obtener BODIPYS α,β -fusionados (Esquema 43)¹⁶⁶.



Chem. Eur. J., 2022, **28**, e202200130

Esquema 43. Funcionalización de BODIPY mediante acoplamiento de Migita-Kosugi-Stille.

En 2017, Alnoman et al. reportaron el acoplamiento de Buchwald-Hartwig en derivados de 2-yodoBODIPY (Esquema 44)¹⁶⁷.



Org. Biomol. Chem., 2017, **15**, 7643-7653

Esquema 44. Funcionalización de BODIPY mediante acoplamiento de Buchwald-Hartwig.

OBJETIVOS

Objetivo general

Sintetizar y caracterizar un derivado de BODIPY-Cumarina para estudiar sus propiedades fluorescentes al variar la polaridad y la viscosidad del medio y de esta manera evaluar si el compuesto se puede utilizar para medir la microviscosidad celular mediante microscopia confocal fluorescente.

Objetivos particulares

- Sintetizar la molécula **1** y caracterizarla utilizando las siguientes técnicas espectroscópicas: RMN de ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{11}B , IR, y espectrometría de masas de alta resolución.
- Realizar un análisis solvatocrómico para estudiar y analizar el comportamiento de **1** con respecto a la polaridad del disolvente.
- Llevar a cabo un estudio de viscosidad empleando diferentes mezclas de metanol y glicerol para estudiar la sensibilidad fluorescente de **1** hacia variaciones de viscosidad del medio.

HIPÓTESIS

Se considera que el grupo fuertemente electrodonador cumarina y el grupo fuertemente electroattractor BODIPY, enlazados por medio de un espaciador arilo, constituyen una arquitectura adecuada para un sensor fluorescente ratiométrico de viscosidad de tipo *push-pull*.

SECCIÓN EXPERIMENTAL

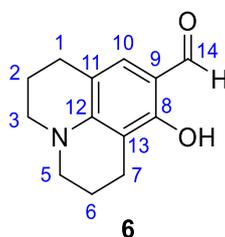
Reactivos e instrumentación

Todas las materias primas fueron obtenidas de proveedores comerciales y usadas sin una previa purificación. Los disolventes fueron secados mediante métodos estandarizados o destilados dependiendo de la finalidad de su uso. Las reacciones fueron monitoreadas por cromatografía en capa fina en placas de gel de sílica (ALUGRAM SIL G/UV₂₄₅) y reveladas bajo exposición de una lámpara de luz UV₂₄₅. Los puntos de fusión fueron determinados usando el aparato Electrothermal Mel-Temp® y no fueron corregidos. Los espectros de infrarrojo fueron obtenidos usando el espectrofotómetro Perkin-Elmer 400 FT-IR/FT-FIR (el número de onda está descrito en

cm⁻¹). Los espectros de UV-Vis fueron obtenidos utilizando los espectrofotómetros Thermo Scientific Evolution y HORIBA Scientific. Los espectros de UV-Vis y fluorescencia fueron realizados a 25 °C en una celda de cuarzo colocada en un soporte a 25±1 °C con un baño de recirculación. Los espectros de RMN ¹H, ¹³C, ¹¹B y ¹⁹F fueron obtenidos empleando los espectrofotómetros Varian Unity Inova 300 MHz, JEOL ECA 500 MHz y Bruker 500 MHz (se muestran los desplazamientos químicos relativos con respecto a TMS, CDCl₃, BF₃OEt₂ y CFC₃, respectivamente). Los espectros de masas de alta resolución fueron adquiridos con el espectrómetro JEOL AccuTOF JMS-T100LC.

Síntesis y caracterización

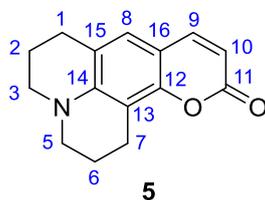
8-hidroxi-1,2,3,5,6,7-hexahidropiridin[3,2,1]quinolin-9-carbaldehído (6)



En un matraz de fondo redondo de 25 mL se adicionaron 1.47 mL (19.02 mmol) de DMF y se colocó el matraz en un baño de hielo, posteriormente se adicionaron bajo condiciones anhidras utilizando atmósfera de nitrógeno, gota a gota 1.78 mL (19.02 mmol) de POCl₃, la mezcla de reacción se dejó en agitación. Después de 30 minutos, se adicionaron 1.8 g (9.51 mmol) de 8-hidroxijulolidina que se encontraban disueltos en 11 mL de DMF. La reacción se mantuvo en agitación por 4 horas, monitoreando la reacción por cromatografía en capa fina. Posteriormente, se adicionaron 10 mL de agua y se dejó en agitación por 20 minutos. Se purificó el compuesto **6** mediante cromatografía en columna empleando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil un sistema de elución 95:5 hexano:acetato de etilo. Se obtuvieron 1.60 g de un sólido amarillo correspondiente al compuesto **6** con un rendimiento del 77%. Punto de fusión: 67-68 °C. **IR** (ATR, ν , cm⁻¹) 2937 (w), 2844 (w), 1639 (m), 1594 (m), 1527 (m), 1353 (m), 1303 (s), 1276 (s), 1180 (s), 1153 (s), 808 (s), 746 (s). **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃, δ , ppm): 11.80 (s, 1H, O-H), 9.37 (s, 1H, H-14), 6.84 (s, 1H, H-10), 3.27 (q, J = 5.82 Hz, 4H, H-3, H-5), 2.68 (t, J = 6.04 Hz, 4H, H-1, H-7), 1.96-1.60 (m, 4H, H-2, H-6). **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃, δ , ppm): 191.6 (C-14), 159.4 (C-8), 149.5 (C-12), 131.2 (C-

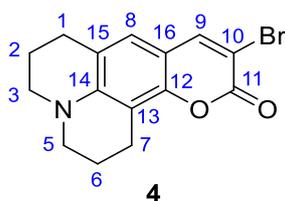
10), 113.6 (C-11), 110.7 (C-13), 105.3 (C-9), 50.3 (C-3), 50.0 (C-5), 27.3 (C-1), 21.7 (C-2), 20.6 (C-6), 19.7 (C-7).

2,3,6,7-tetrahidro-1H-pirano[2,3-f]pirido[3,2,1-ij]quinolin-11(5H)-ona (5)



El compuesto **6** (0.3 g, 1.38 mmol), malonato de dietilo (0.42 mL, 2.76 mmol) y piperidina (0.41 mL, 4.14 mmol) fueron disueltos en etanol absoluto (3 mL) y la disolución resultante fue calentada a reflujo por 15 h. El etanol fue evaporado a presión reducida, y se adicionó HCl concentrado (4.8 mL) y ácido acético glacial (2.8 mL) bajo condiciones de reflujo por 10 h. La mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y después se colocó en un baño de hielo. Se añadieron lentejas de NaOH hasta pH = 5.0, se observó la formación de un precipitado inmediatamente. El sólido se filtró, se lavó con agua, se secó y se purificó por cromatografía en columna utilizando como fase estacionaria sílica gel y diclorometano como eluyente. Se obtuvieron 0.29 g de un sólido color amarillo correspondiente al compuesto **5** con un rendimiento del 87%. Punto de fusión: 117-119 °C. **IR** (ATR, ν , cm^{-1}) 3091 (w), 2954 (w), 2929 (w), 2836 (w), 1691 (s), 1602 (m), 1521 (m), 1432 (m), 1313 (m), 1178 (m), 821 (s), 752 (s). **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 7.45 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, H-9), 6.83 (s, 1H, H-8), 5.98 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, H-10), 3.25 (q, $J = 5.8$ Hz, 4H, H-3, H-5), 2.88 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H, H-1), 2.75 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H, H-7), 2.0-1.93 (m, 4H, H-2, H-6). **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 162.6 (C-11), 151.6 (C-12), 145.9 (C-14), 144.0 (C-9), 124.9 (C-8), 118.3 (C-15), 108.1 (C-16), 108.1 (C-10), 106.5 (C-13), 49.9 (C-3), 49.5 (C-5), 27.4 (C-1), 21.4 (C-2), 20.5 (C-6), 20.2 (C-7).

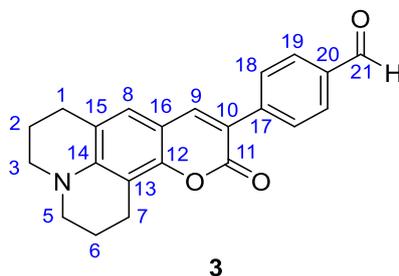
10-bromo-2,3,6,7-tetrahidro-1H-pirano[2,3-f]piridin[3,2,1-ij] quinolin-11(5H)-ona (4)



Este compuesto fue sintetizado usando el compuesto **5** (0.91 g, 3.77 mmol) disuelto en ácido acético (6.5 mL) y tras colocar el matraz de fondo redondo en un baño de

hielo/agua, se adicionó Br₂ (0.23 mL, 4.53 mmol). La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 20 minutos. El compuesto fue purificado mediante cromatografía en columna utilizando sílica gel como fase estacionaria y como eluyente una mezcla 90:10 hexano:acetato de etilo. Se obtuvieron 0.97 g de un sólido amarillo correspondiente al compuesto **4** con un rendimiento del 80%. Punto de fusión: 125-127 °C. **IR** (ATR, v, cm⁻¹) 2965 (w), 2931 (w), 2832 (w), 1706 (s), 1617 (m), 1521 (m), 1307 (m), 1270 (m), 1174 (m), 921 (m), 746 (m), 592 (m). **RMN** ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ, ppm): 7.78 (s, 1H, H-9), 6.78 (s, 1H, H-8), 3.27 (q, J = 5.6 Hz, 4H, H-3, H-5), 2.86 (t, J = 6.4 Hz, 2H, H-1), 2.75 (t, J = 6.4 Hz, 2H, H-7), 1.96 (m, 1.99-1.93, 4H, H-2, H-6). **RMN** ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ, ppm): 158.7 (C-11), 151.1 (C-12), 146.3 (C-14), 145.0 (C-9), 124.3 (C-8), 119.0 (C-15), 108.7 (C-16), 106.3 (C-10), 101.7 (C-13), 50.0 (C-3), 49.6 (C-5), 27.5 (C-1), 21.3 (C-2), 20.4 (C-6), 20.3 (C-7). **HRMS** (DART): Calculado para m/z C₁₅H₁₄BrNO₂+H⁺ 320.0286, encontrado 320.0296, error 3.13 ppm.

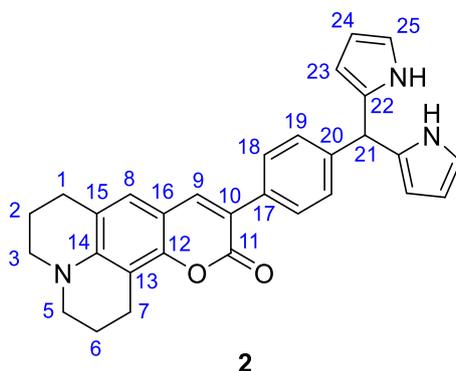
4(11-oxo-2,3,5,6,7,11-hexahidro-1H-piran[2,3-f]piridin[3,2,1-ij]quinolin-10-il)benzaldehído (3)



El compuesto **3** fue sintetizado usando el compuesto **4** (0.63 g, 1.97 mmol). En una mezcla de disolventes degasados compuesta de etanol (3 mL)/agua (6 mL)/tolueno (3 mL) se adicionaron ácido 4-formilfenilborónico (0.59 g, 3.94 mmol) y K₂CO₃ (0.82 g, 5.9 mmol). El matraz se purgó con N₂ y posteriormente se adicionó Pd(PPh₃)₄ (0.114 g, 0.098 mmol, 5% mol). La reacción procedió en agitación por 8 h a 80 °C. El crudo de reacción se filtró sobre celita, se extrajo con AcOEt (3 x 30 mL) y se secó la fase orgánica con Na₂SO₄. Se purificó mediante cromatografía en columna con elución 90:10 Hexano-AcOEt. Se obtuvieron 0.55 g de un sólido amarillo correspondiente al compuesto **3** con un rendimiento del 81%. Punto de fusión (temperatura de descomposición): 170 °C. **IR** (ATR, v, cm⁻¹) 2933 (w), 2850 (w), 2807 (w), 2724 (w), 1689 (s), 1585 (s), 1517 (m), 1299 (s), 1209 (m), 1166 (s), 829 (m). **RMN** ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ, ppm): 10.01 (s, 1H, H-21), 7.90 (s, 4H, H-18, H-19), 7.72 (s, 1H, H-9), 6.93 (s, 1H, H-8), 3.30 (q, J = 5.6 Hz,

4H, H-3, H-5), 2.93 (t, J = 6.4 Hz, 2H, H-1), 2.78 (t, J = 6.4 Hz, 2H, H-7), 2.02-1.95 (m, 4H, H-2, H-6). **RMN** ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 191.8 (C-21), 161.4 (C-11), 151.6 (C-12), 146.6 (C-14), 142.5 (C-20), 142.1 (C-9), 135.0 (C-17), 129.7 (C-19), 128.5 (C-18), 125.6 (C-8), 119.0 (C-15), 117.6 (C-10), 108.8 (C-16), 106.1 (C-13), 50.1 (C-3), 49.7 (C-5), 27.5 (C-1), 21.4 (C-2), 20.5 (C-6), 20.3 (C-7). **HRMS** (DART): Calculado para m/z $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{NO}_3+\text{H}^+$ 346.1443, encontrado 346.14379, error -1.54 ppm.

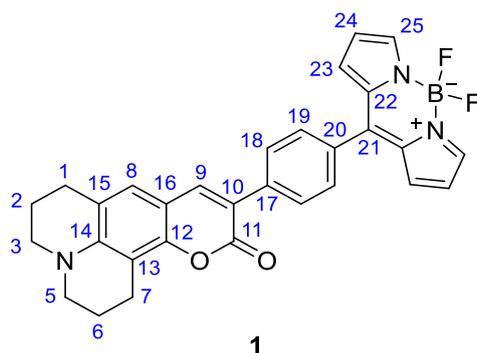
10-(4(di(1H-pirrol-2-il)metil)pentil)-2,3,6,7-tetrahidro-1H-pirano[2,3-f]pirido[3,2,1-if]quinolin-11(5H)-ona (2)



El compuesto **3** (0.51 g, 1.46 mmol) y pirrol (4.1 mL, 58.5 mmol) fueron disueltos en diclorometano anhidro (15 mL) bajo atmósfera de N_2 , seguido de la adición de ácido trifluoroacético (0.11 mL, 1.46 mmol). La mezcla de reacción fue agitada durante 10 minutos a temperatura ambiente, después se llevó a cabo una extracción utilizando una disolución de NaOH (0.1 M) y se lavó con agua. La fase orgánica se evaporó bajo presión reducida y, para eliminar el exceso de pirrol se formó una mezcla azeotrópica con etanol. El producto crudo fue soportado sobre celita y purificado mediante cromatografía en columna utilizando sílica gel como fase estacionaria y como eluyente una mezcla 85:15 hexano:acetato de etilo. Se obtuvieron 0.24 g de un sólido color café correspondiente al compuesto **2** con un rendimiento del 35%. **IR** (ATR, ν , cm^{-1}) 3423 (w), 3403 (w), 2935 (w), 2850 (w), 1685 (m), 1614 (m), 1590 (m), 1560 (m), 1519 (m), 1309 (s), 1172 (m), 738 (m), 711 (s). **RMN** ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 8.00 (s, 2H, N-H), 7.65 (d, J=8.3 Hz, 2H, H-19), 7.61 (s, 1H, H-9), 7.28 (d, J=8.3 Hz, 2H, H-18), 6.91 (s, 2H, H-8), 6.72 (td, $J_1=4.0$ Hz, $J_2=2.7$ Hz, 2H, H-25), 6.18 (q, J=2.7 Hz, 2H, H-24), 6.00-5.98 (m, 2H, H-23), 5.52 (s, 1H, H-21), 3.29 (q, J=5.2 Hz, 4H, H-3, H-5), 2.94 (t, J=6.4 Hz, 2H, H-1), 2.79 (t, J=6.4 Hz, 2H, H-7), 2.02-1.98 (m, 4H, H-2, H-6). **RMN** ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 161.8 (C-11), 151.7 (C-12), 147.4 (C-14), 146.5 (C-20), 144.0 (C-

9), 141.8 (C-25), 139.2 (C-17), 132.8 (C-22), 131.7 (C-23), 130.8 (C-19), 128.2 (C-18), 125.6 (C-8), 119.0 (C-24), 118.6 (C-15), 118.1 (C-10), 109.0 (C-16), 106.4 (C-13), 50.2 (C-3), 49.9 (C-5), 47.1 (C-21), 27.7 (C-1), 21.6 (C-2), 20.6 (C-6), 20.5 (C-7) **HRMS** (DART): Calculado para m/z $C_{30}H_{27}N_3O_2+H^+$ 462.2181, encontrado 462.2175, error - 1.40 ppm.

10-(4-(5,5-difluoro-5H-4H,5H-dipirrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinin-10-il)fenil)-2,3,6,7-tetrahidro-1H,5H,11H-pirano[2,3-f]pirido[3,2,1-ij]quinolin-11-ona (1)

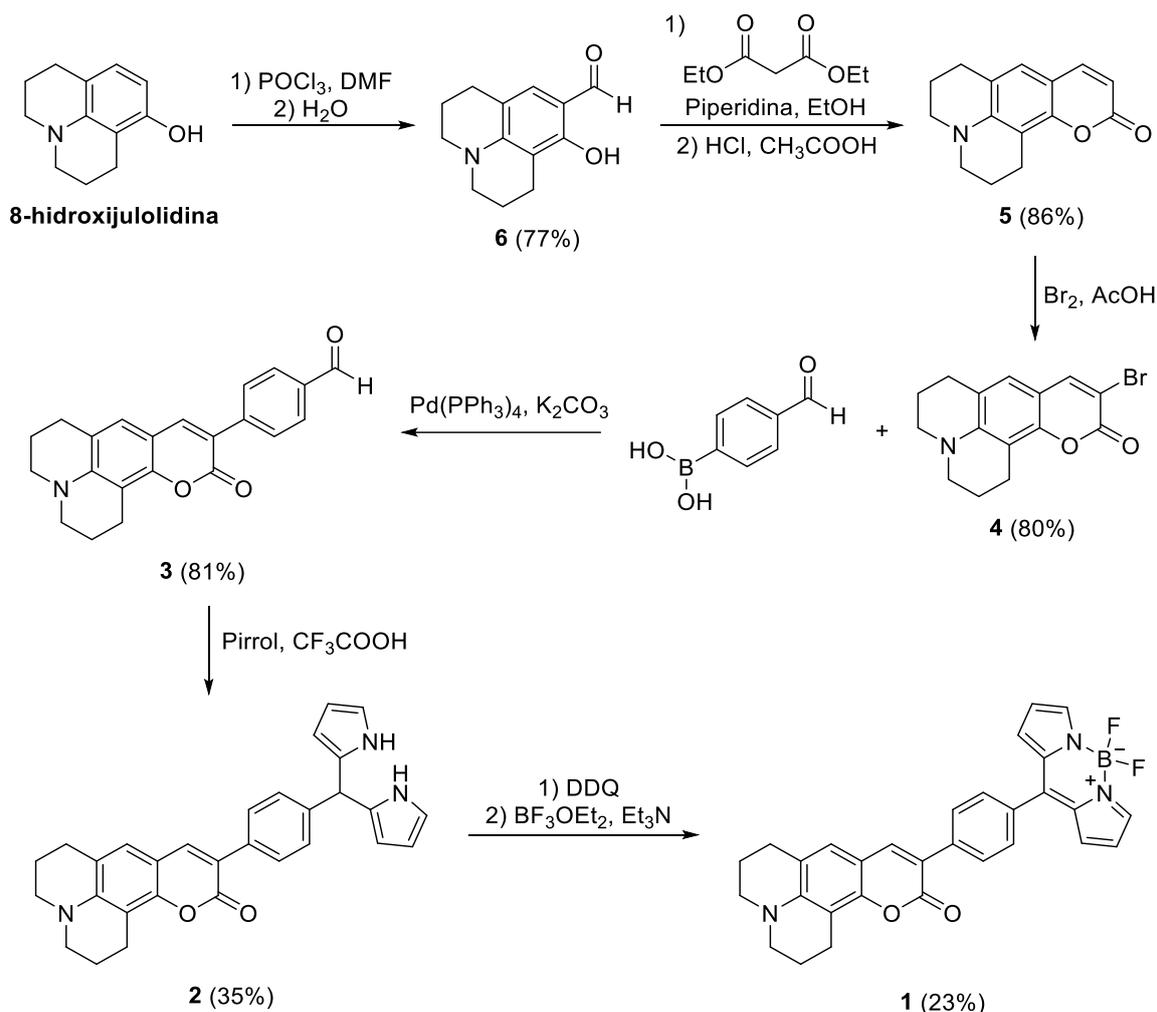


El compuesto **2** (0.24 g, 0.52 mmol) y DDQ (2,3-diciano-5,6-diclorobenzoquinona) (0.14 g, 0.62 mmol) fueron disueltos en diclorometano anhidro (25 mL). La mezcla de reacción se purgó con N_2 y se agitó durante 1.5 h. Después, se adicionó BF_3OEt_2 (1.3 mL, 10.4 mmol) gota a gota, seguido de la adición de Et_3N (1.1 mL, 7.8 mmol). La reacción se calentó a reflujo durante dos horas y se lavó con H_2O , los disolventes orgánicos se evaporaron bajo presión reducida. El producto crudo se soportó sobre celita y se purificó por medio de cromatografía en columna utilizando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil un sistema de elución 85:15 hexano:acetato de etilo. Se obtuvieron 0.06 g de un sólido color verde correspondiente al compuesto **1** con un rendimiento del 23%. Punto de fusión: 214-216 °C. **IR** (ATR, ν , cm^{-1}) 2925 (w), 2849 (w), 1696 (m), 1559 (m), 1516 (m), 1386 (m), 1259 (m), 1112 (m), 1073 (s), 980 (m), 734 (m). **RMN 1H** (300 MHz, $CDCl_3$, δ , ppm): 7.94 (s, 2H, H-25), 7.89 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, H-18), 7.75 (s, 1H, H-9), 7.62 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, H-19), 7.03-7.02 (m, 2H, H-23), 6.95 (s, 1H, H-8), 6.58-6.57 (m, 2H, H-24), 3.31 (q, $J=5.2$ Hz, 4H, H-3, H-5), 2.95 (t, $J=6.4$ Hz, 2H, H-1), 2.80 (t, $J=6.4$ Hz, 2H, H-7), 2.0-1.98 (m, 4H, H-2, H-6). **RMN ^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$, δ , ppm): 161.8 (C-11), 151.7 (C-12), 146.5 (C-14, C-20), 144.0 (C-9), 141.8 (C-25), 139.2 (C-17), 135.1 (C-21), 132.9 (C-22), 131.8 (C-23), 130.8 (C-19), 128.2 (C-18), 125.6 (C-8), 119.0 (C-24), 118.7 (C-15), 118.2 (C-10), 109.0 (C-16), 106.4 (C-13), 50.2 (C-3), 49.9 (C-5), 27.7 (C-

1), 21.6 (C-2), 20.7 (C-6), 20.5 (C-7). **RMN ¹¹B** (160.4 MHz, CDCl₃, δ, ppm): -0.66 (t, J_{B-F} = 28.9 Hz). **RMN ¹⁹F** (282.4 MHz, CDCl₃, δ, ppm): -144.87 (q, J_{B-F} = 28.9 Hz). **HRMS** (DART): Calculado para *m/z* C₃₀H₂₄BF₂N₃O₂+H⁺ 508.2008, encontrado 508.2005, error -0.55 ppm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Esquema general de síntesis



Esquema 45. Ruta de síntesis realizada para obtención de intermediarios **6–2** y la molécula objetivo **1**.

La molécula objetivo **1** fue sintetizada siguiendo la ruta de síntesis que se describe en el **Esquema 45** con las metodologías que se describieron previamente. Como primer paso, se realizó una formilación de Vilsmeier-Haack¹⁶⁸ partiendo de 8-hidroxijulolidina, empleando POCl₃ y DMF, seguida de una hidrólisis para obtener el compuesto **6**. Posteriormente, se realizó una reacción de condensación de Knoevenagel entre el

compuesto **6** y malonato de dietilo, empleando piperidina como base. El éster resultante fue hidrolizado y posteriormente se efectuó una descarboxilación en condiciones ácidas para obtener el compuesto **5**, el cual fue bromado en la posición 3 utilizando Br₂ en AcOH, obteniendo así el compuesto **4**. Este compuesto fue sometido a una reacción de acoplamiento de Suzuki-Miyaura¹⁵³ con ácido 4-formilfenilborónico con Pd(PPh₃)₄ como catalizador y K₂CO₃ como base, consiguiendo el compuesto **3**. La reacción de condensación entre el compuesto **3** y exceso de pirrol conduce a la formación del derivado de dipirrometano **2**, que por reacción de oxidación con DDQ y una reacción de complejación con BF₃OEt₂ empleando como base Et₃N conduce a la formación de la molécula objetivo **1**.

Espectroscopía de RMN para los compuestos 6–1

En esta sección se analizarán los espectros obtenidos de RMN de ¹H, ¹³C, y adicionalmente, de ¹¹B y ¹⁹F para la molécula **1**.

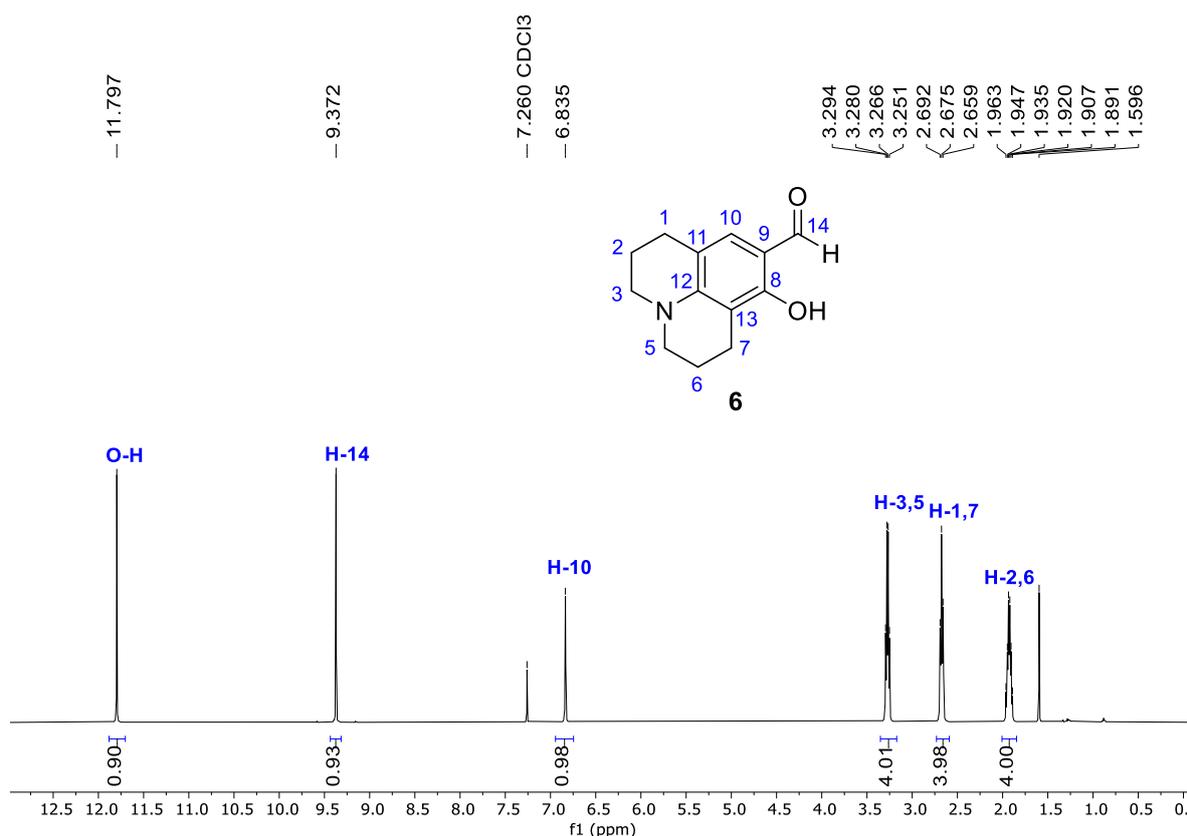


Figura 15. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz en CDCl₃ del compuesto **6**.

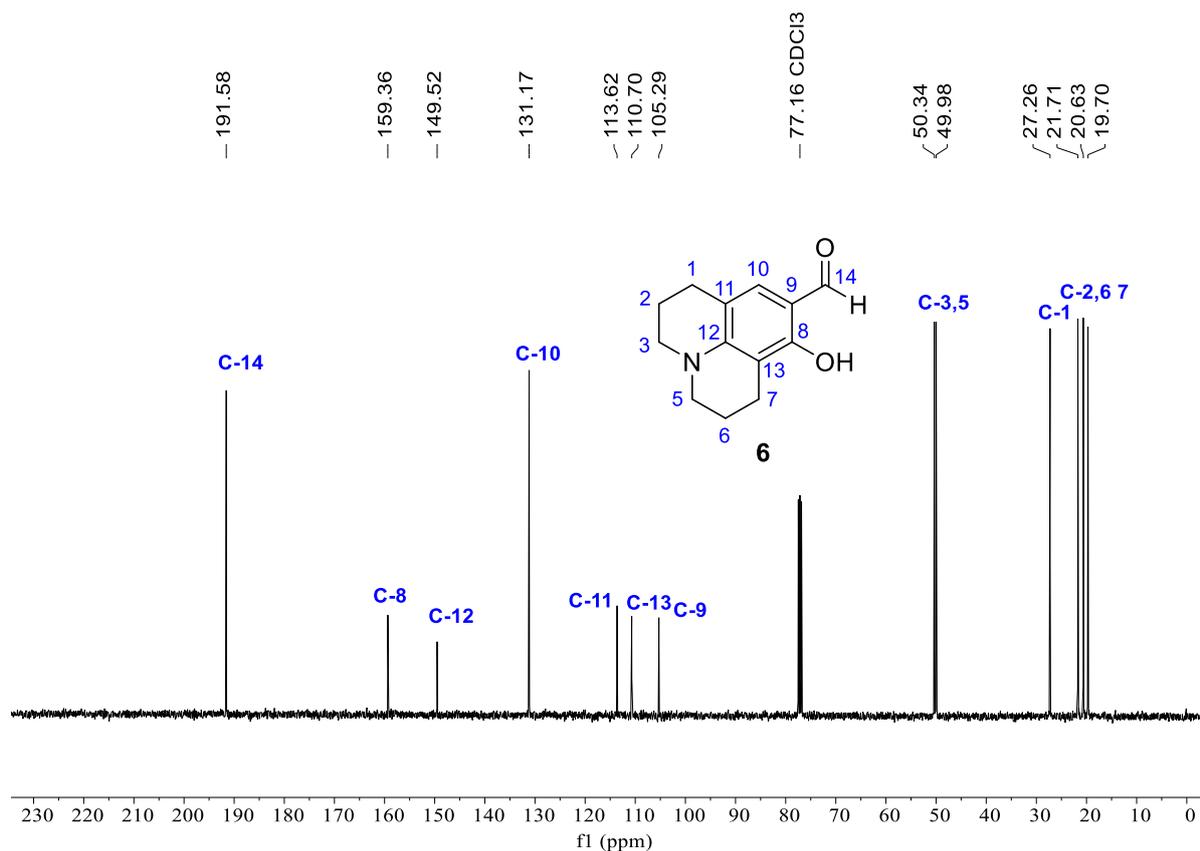


Figura 16. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 del compuesto **6**.

En la Figura 15 se muestra el espectro de RMN ^1H para el compuesto **6**, donde se puede observar una señal simple a 11.80 ppm correspondiente al átomo de H del grupo O-H de la posición 8. Asimismo, a 9.37 ppm se encuentra la señal del aldehído H-14, y a 6.84 ppm la señal aromática del hidrógeno H-10. A 3.27 ppm se observa una señal cuádruple correspondiente a los hidrógenos H-3 y H-5 (N-CH_2), los cuales se encuentran acoplados a los hidrógenos H-2 y H-6 con una constante de acoplamiento $J=5.82$ Hz. A 2.68 ppm se observa una señal triple propia a los hidrógenos bencílicos H-1 y H-7, los cuales se encuentran acoplados con los hidrógenos H-2 y H-6 con una $J=6.04$ Hz. Finalmente, entre 1.96 y 1.60 ppm se observa un multiplete correspondiente a H-2 y H-6.

En la Figura 16 se muestra el espectro de RMN ^{13}C para el compuesto **6**. En 191.6 ppm se observa la señal de C-14 correspondiente al grupo carbonilo de aldehído. En 159.4 ppm se observa la señal de C-8, enlazado al oxígeno fenólico. En 149.5 ppm se observa la señal del carbono C-12, enlazado al nitrógeno.

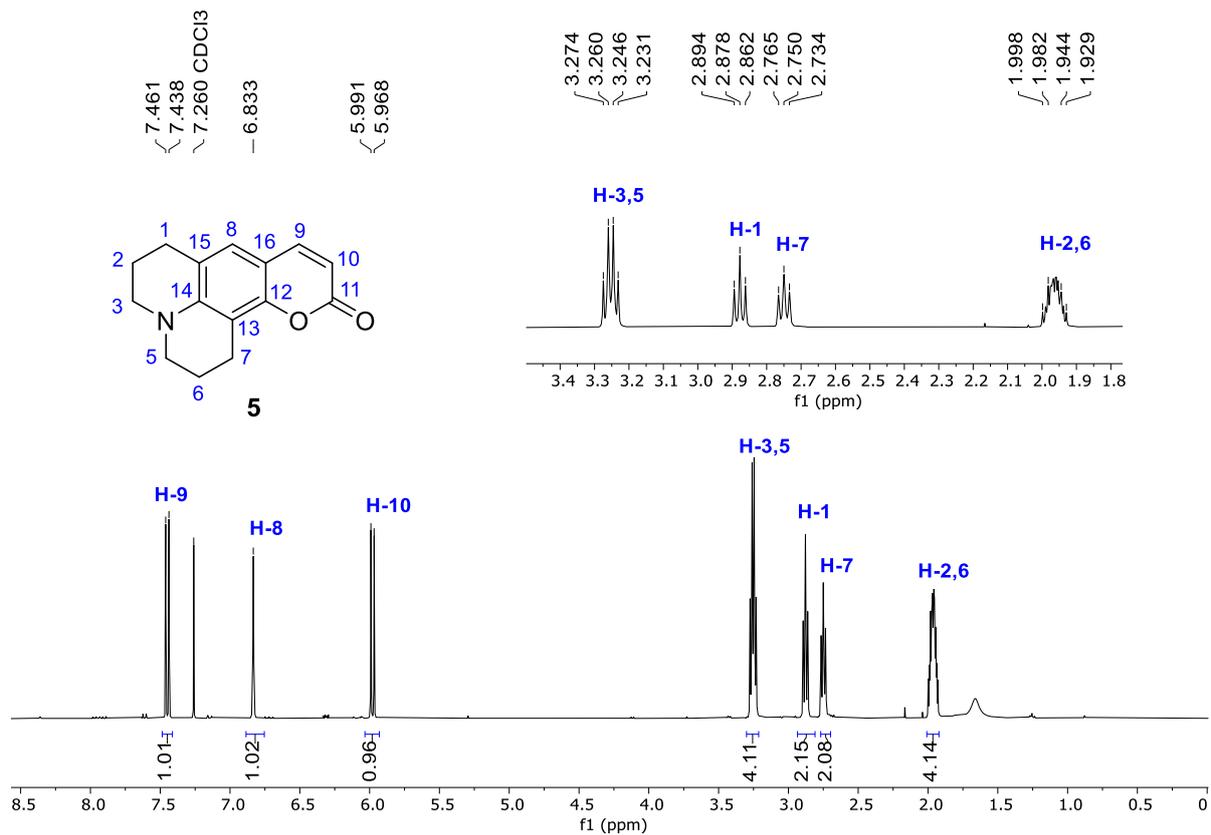


Figura 17. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 del compuesto **5**.

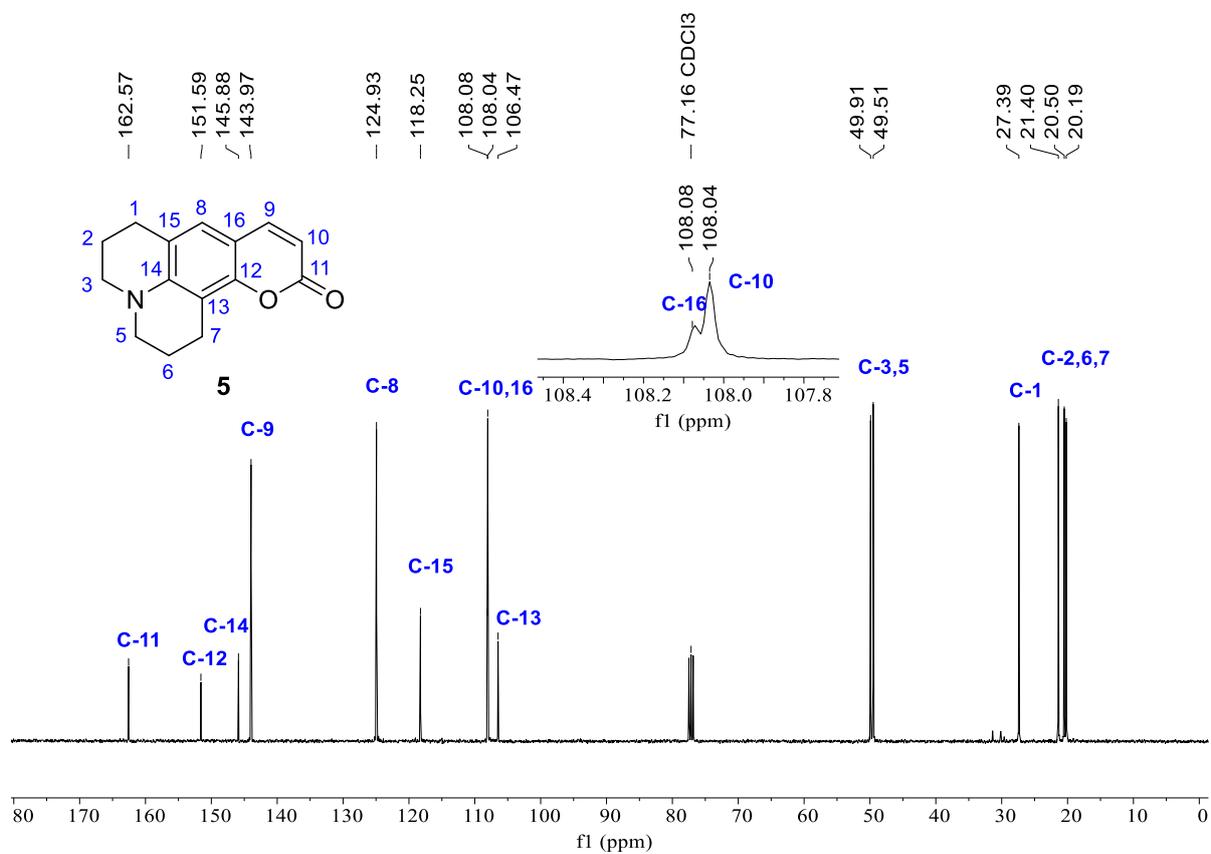


Figura 18. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 del compuesto **5**.

A 131.2, 113.6 ppm, 110.7 ppm, y 105.3 ppm se observan las señales de C-10, C-11, C-13 y C-9, respectivamente, correspondientes a los carbonos aromáticos. Los carbonos alifáticos se encuentran en campo alto; a 50.3 ppm y 49.9 ppm se observan las señales de C-3 y C-5, enlazado al nitrógeno. En 27.3 ppm se observa la señal de C-1. Finalmente, a 21.7 ppm, 20.6 ppm, y 19.7 ppm se observan las señales respectivas de C-2, C-6, y C-7.

En la Figura 17 se muestra el espectro de RMN ^1H para el compuesto **5**, donde se puede observar una señal doble correspondiente al H-9 a 7.45 ppm, el cual se encuentra acoplado con H-10, cuya señal también es doble a 5.98 ppm, con una $J=9.2$ Hz. Cabe resaltar que las señales correspondientes al aldehído y al hidroxilo de la molécula **6** etiquetadas como H-14 y O-H, Figura 15, han desaparecido una vez que la condensación de Knoevenagel se llevó a cabo. También, se encuentra la señal aromática del hidrógeno H-8 a 6.83 ppm. La presencia de cada una de estas señales confirma la formación del núcleo de cumarina. Adicionalmente, en comparación con el espectro de RMN ^1H del compuesto **6**, Figura 15, las señales de los hidrógenos H-1 y H-7 se encuentran desdobladas, a 2.88 ppm y 2.75 ppm, respectivamente; cada una da lugar a una multiplicidad triple los hidrógenos H-1 se encuentran acoplados con los hidrógenos H-2 y los hidrógenos H-7 se encuentran acoplados con los hidrógenos H-1, ambos acoplamientos tienen una $J=6.4$ Hz.

En la Figura 18, se muestra el espectro de RMN ^{13}C para el compuesto **5**. Es posible observar que para los carbonos alifáticos correspondientes al núcleo de julolidina no hay cambio alguno, comparándolo con el espectro de RMN ^{13}C del compuesto **6**, Figura 16. Sin embargo, la señal del carbonilo del aldehído desaparece y aparecen tres nuevas señales: C-11 a 162.6 ppm debida al carbono del carbonilo del éster, C-10 a 108.1 ppm y C-9 a 143.9 ppm, correspondientes a los carbonos de las posiciones α y β del carbonilo, respectivamente.

En la Figura 19, se muestra el espectro de RMN ^1H para el compuesto **4**. Se puede observar la pérdida del hidrógeno H-10 que es sustituido por un átomo de Br, quedando así únicamente las señales correspondientes a los hidrógenos H-8 a 6.78 ppm y H-9 en 7.78 ppm a campo bajo, este último cambia su multiplicidad a una señal simple con respecto a la señal doble que se observa en el espectro de RMN ^1H para el compuesto

5. Las señales correspondientes a los hidrógenos del núcleo de julolidina son casi idénticas a las observadas en el espectro de RMN ^1H del compuesto **5**, Figura 17.

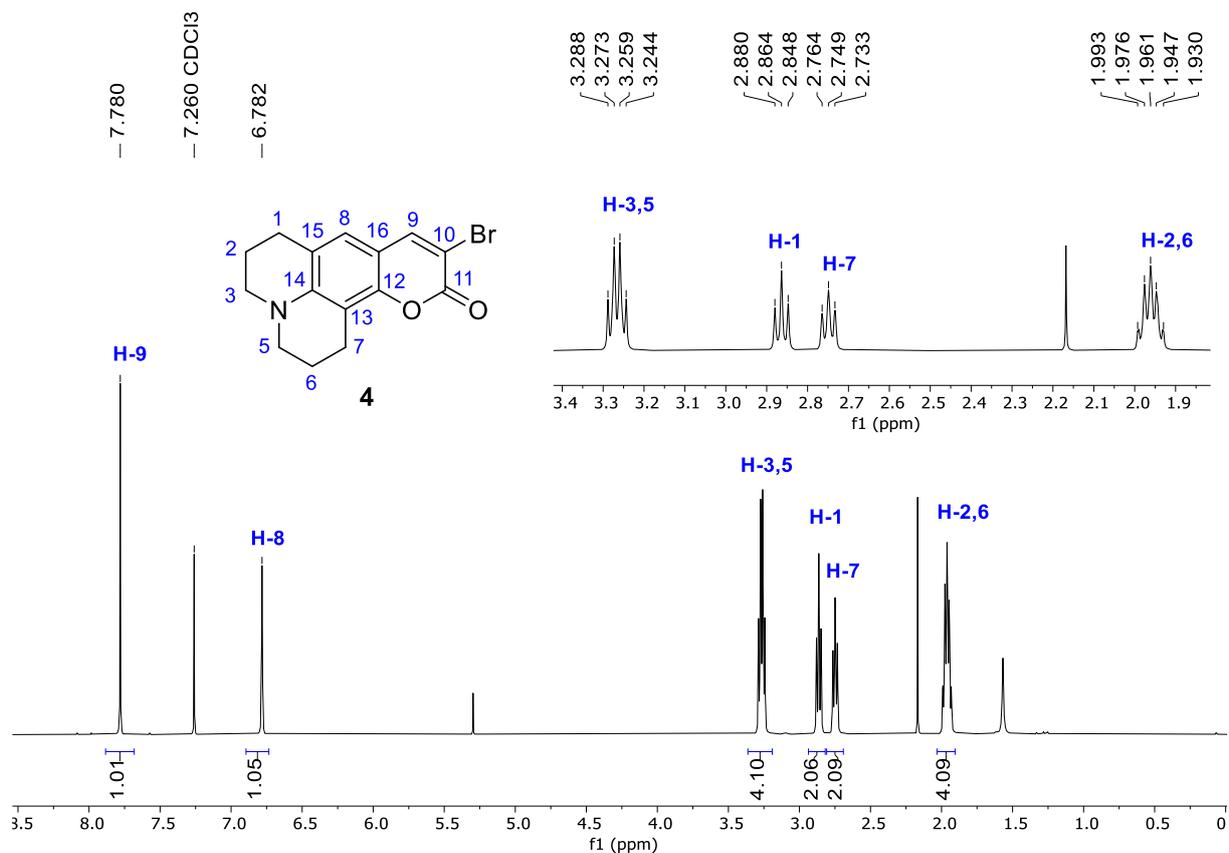


Figura 19. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 del compuesto **4**.

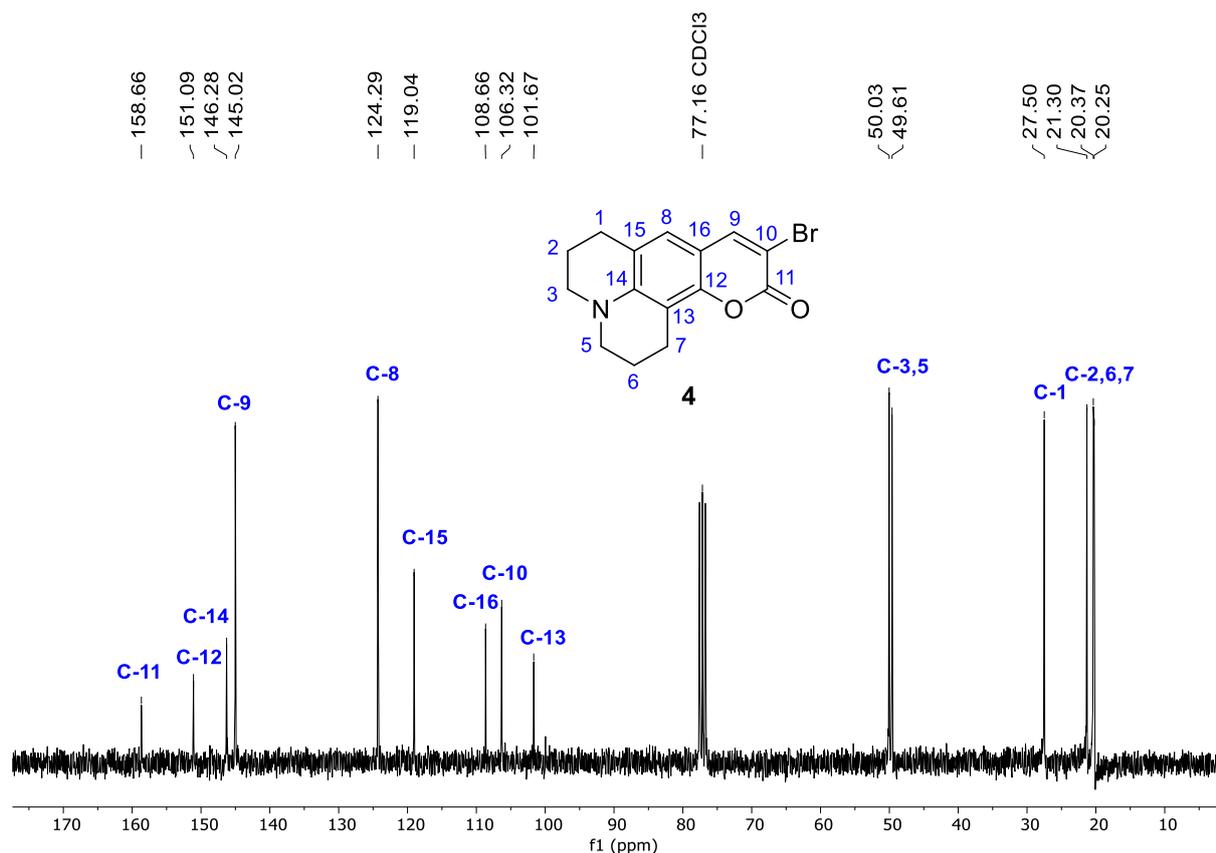


Figura 20. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 del compuesto **4**.

En la Figura 20, se muestra el espectro de RMN ^{13}C para el compuesto **4**. La señal correspondiente al C-10 se desplaza a campo alto (de 108.0 a 106.3 ppm) por la presencia del bromo, el cual actúa como grupo electrodonador por efecto de resonancia.

En la Figura 21, se muestra el espectro de RMN ^1H para el compuesto **3**. Se perciben dos nuevas señales: H-21 a 10.01 ppm y H-18,19 a 7.90 ppm. La señal del hidrógeno H-21 integra para 1H, la cual corresponde al hidrógeno del aldehído, mientras que la señal de los hidrógenos H-18,19 integra para 4H, correspondientes a los cuatro hidrógenos del anillo de arilo.

En la Figura 22, se muestra el espectro de RMN ^{13}C para el compuesto **3**. Es notable la presencia de cinco nuevas señales: C-17 a 134.9 ppm, C-18 a 128.4 ppm, C-19 a 129.7 ppm, C-20 a 142.5 ppm y C-21 a 191.8 ppm. Las señales de los carbonos C-17, C-18, C-19 y C-20 corresponden al núcleo de arilo que se encuentra como puente entre el núcleo de cumarina y el aldehído C-21. Las señales de los carbonos C-17 y C-20 son notablemente menos intensas que las de los carbonos C-18 y C-19, ya que corresponden a carbonos cuaternarios.

En la Figura 23, se muestra el espectro de RMN ^1H para el compuesto **2**. La señal correspondiente al hidrógeno H-21 se desplaza a campo alto, pasando de 10.01 a 5.52 ppm con respecto al compuesto 3. Esto se debe a que esta posición se funcionalizó generando un dipirrometano a partir de un aldehído. Adicionalmente, se perciben cuatro nuevas señales: H-23 como un multiplete entre 6.00 ppm y 5.98 ppm, H-24 a 6.18 ppm, H-25 a 6.72 ppm y N-H a 8.00 ppm, cada una integrando para 2 hidrógenos ya que corresponden al núcleo de dipirrometano. Los hidrógenos H-24 y H-25 se encuentran acoplados con una $J=2.7$ Hz. Las señales de H-18 y H-19 ahora se encuentran separadas, H-18 está a 7.28 ppm y H-19 a 7.65 ppm.

En la Figura 24 se muestra el espectro de RMN ^{13}C para el compuesto **2**, en el cual hay 4 nuevas señales, correspondientes al núcleo de dipirrometano: C-25 a 141.8 ppm, C-22 a 132.8 ppm, C-23 a 131.7 ppm, y C-24 a 119.0 ppm. Adicionalmente, la señal de C-21 es desplazada hacia campo alto debido a la conjugación del sistema.

En la Figura 25 se muestra el espectro de RMN ^1H para el compuesto **1**. Es de gran importancia notar que en este espectro desaparece la señal correspondiente a H-21 en 5.52 ppm (Figura 23), gracias a la oxidación del grupo dipirrometano a dipirrometeno por acción del DDQ. Adicionalmente, no está presente la señal atribuida al hidrógeno del enlace N-H, indicando que el núcleo de dipirrometeno se coordinó exitosamente con el boro. Debido al efecto electronegativo del grupo BF_2 , la señal de los hidrógenos vecinos a los átomos de N (H-25), sufre un desplazamiento notorio a campo bajo pasando de 6.72 ppm a 7.94 ppm.

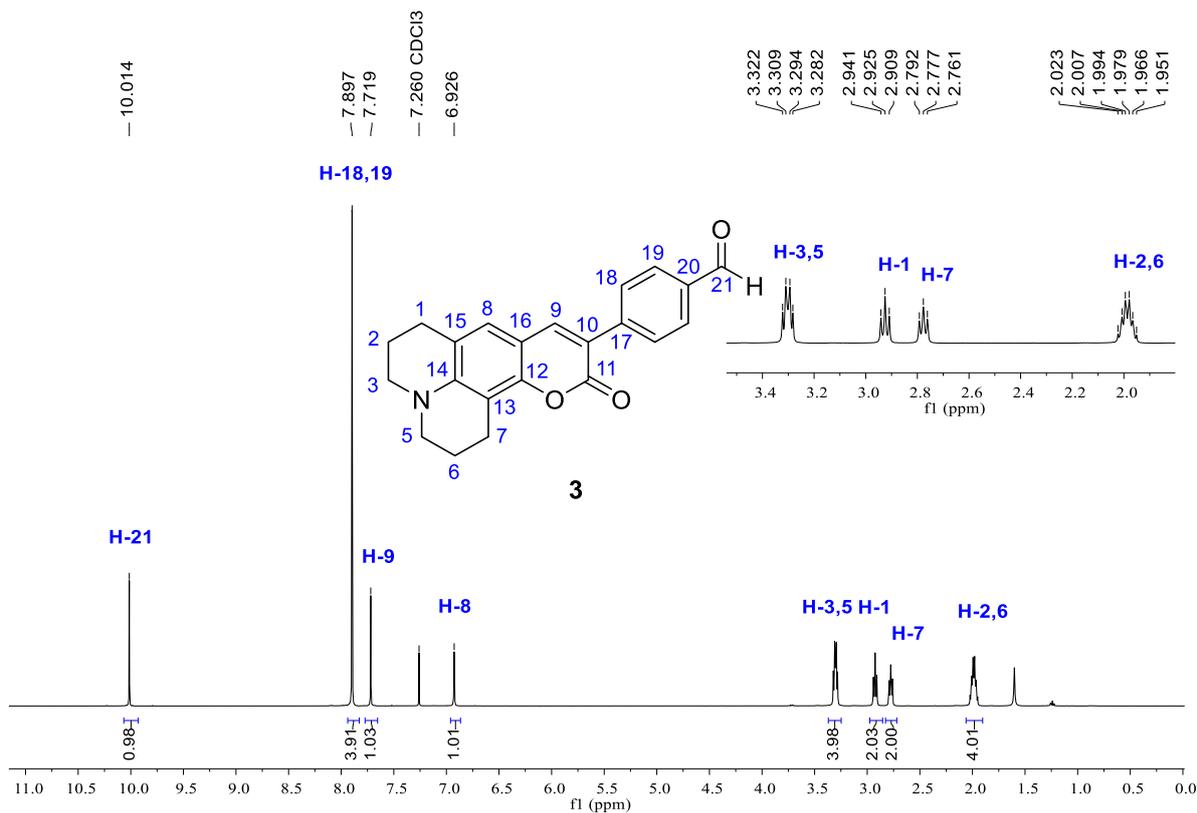


Figura 21. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 del compuesto **3**.

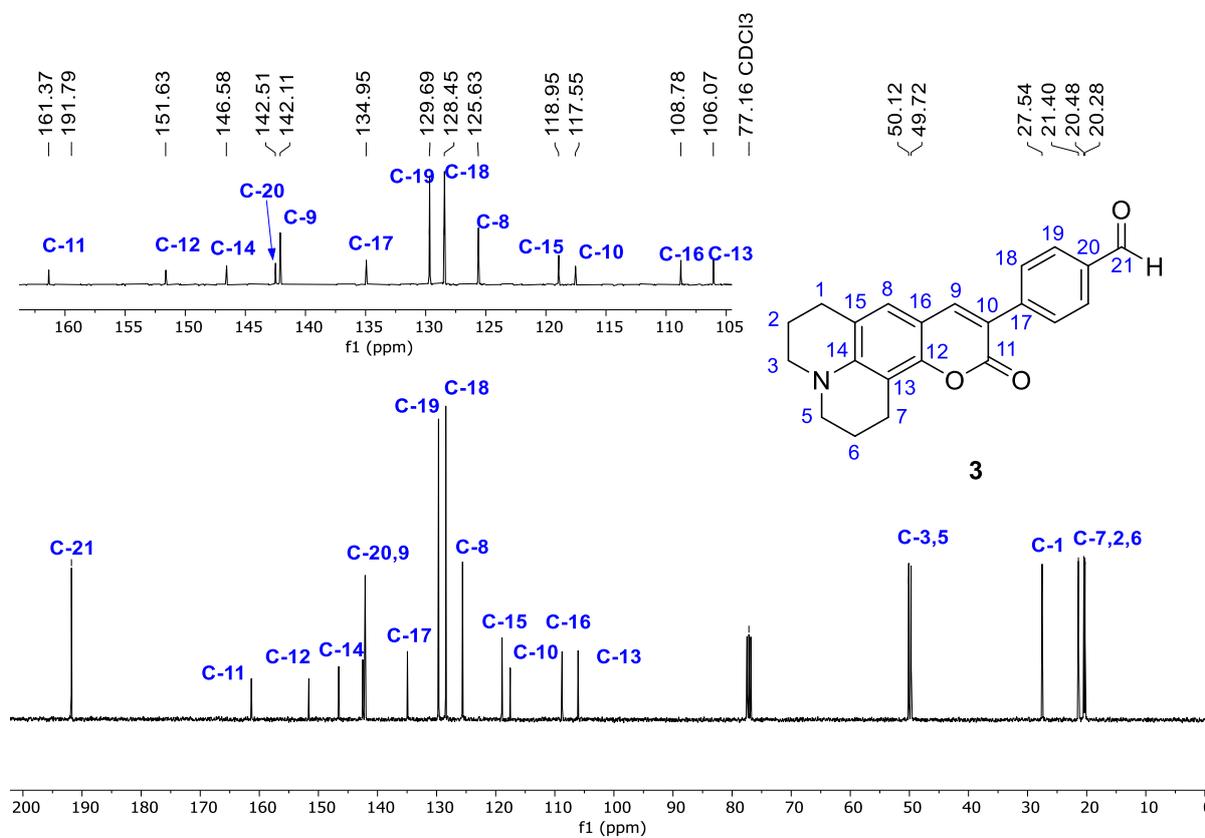


Figura 22. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 del compuesto **3**.

En la Figura 26 se muestra el espectro de RMN ^{13}C para el compuesto **1**, donde se pueden observar las señales propias del núcleo de BODIPY: C-22 a 132.8 ppm, C-23 a 131.7 ppm, C-24 a 119.0, y C-25 a 141.8 ppm. La señal de C-21 nuevamente se encuentra en campo bajo, además de ser menos intensa, ya que este carbono fue oxidado para formar el BODIPY y ahora es cuaternario.

En la Figura 27 A se muestra el espectro de ^{19}F para el compuesto **1**, en el cual se observa una señal cuádruple en -144.87 ppm con una $J_{\text{B-F}} = 28.9$ Hz. En la Figura 27 B se muestra el espectro de ^{11}B para el compuesto **1**, en el cual se observa una señal triple en -0.66 ppm con una $J_{\text{B-F}} = 28.9$ Hz. Ambos espectros confirman la presencia del grupo BF_2 en el núcleo del BODIPY.

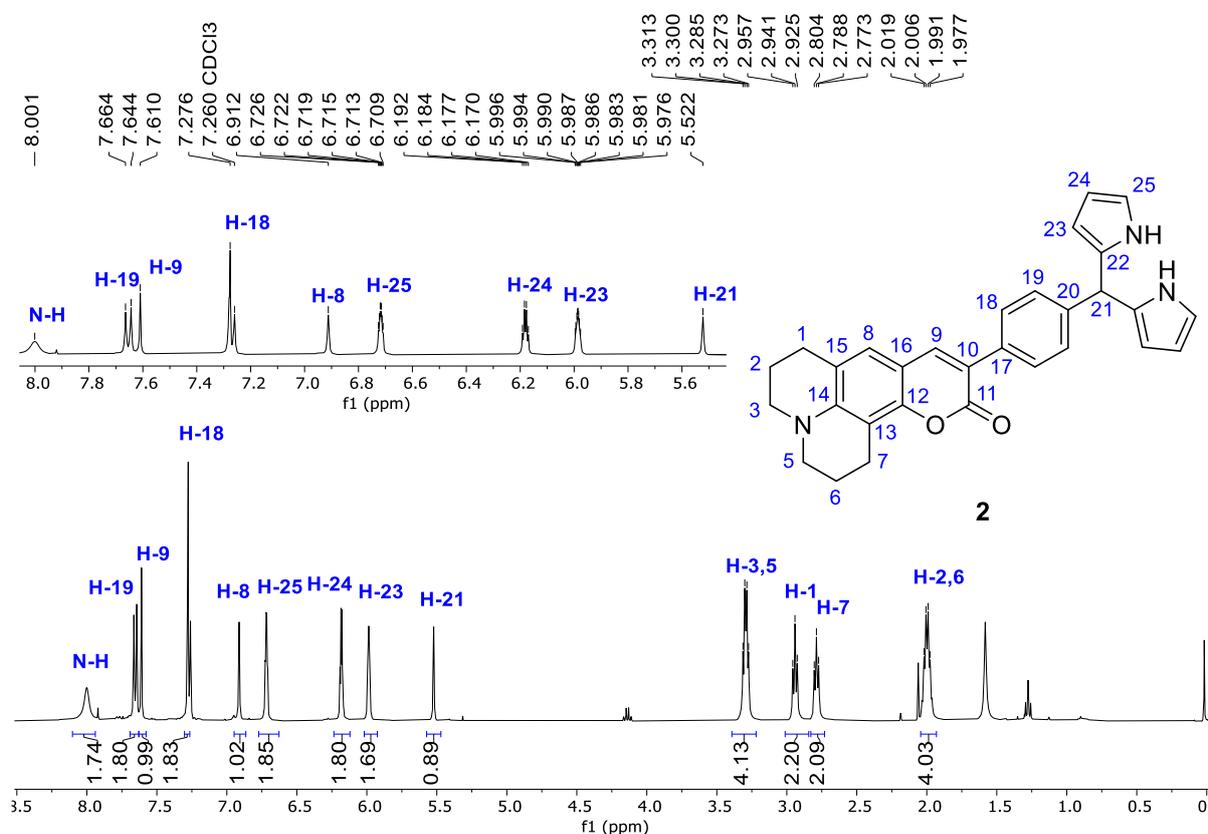


Figura 23. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 del compuesto **2**.

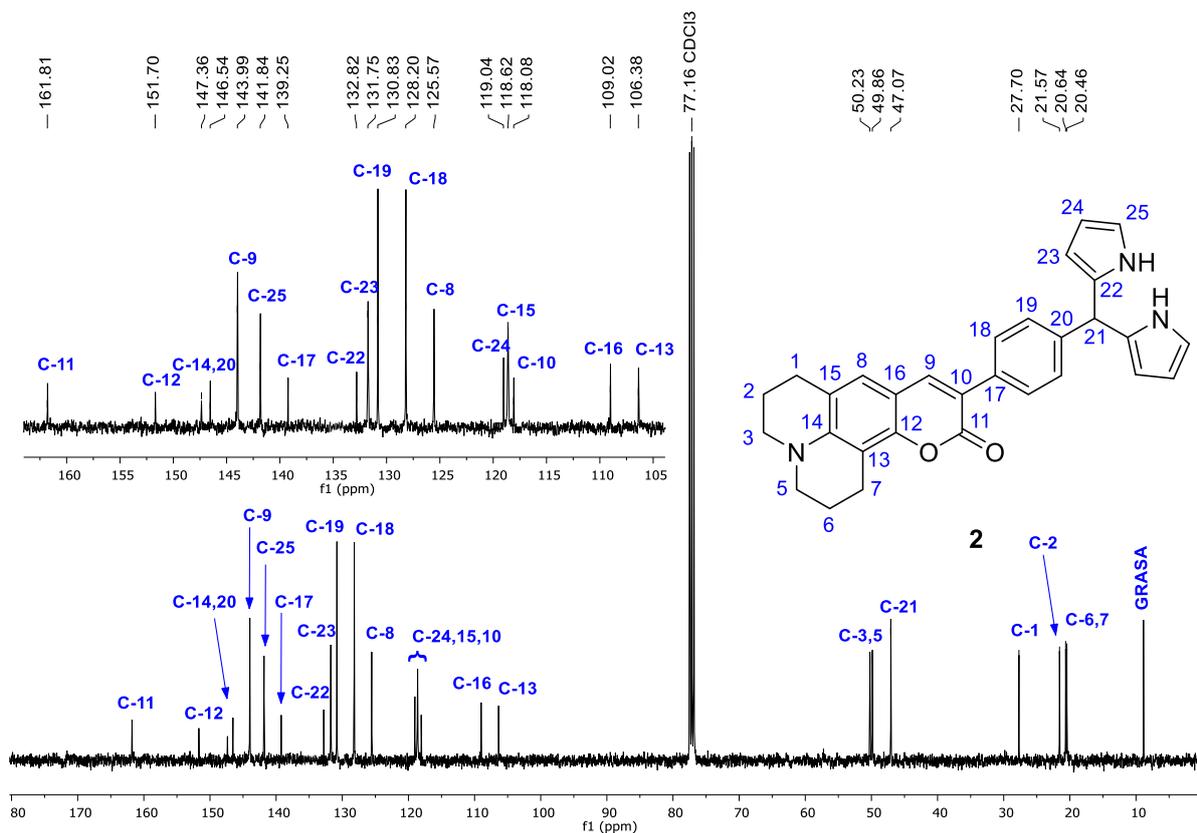


Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 del compuesto 2.

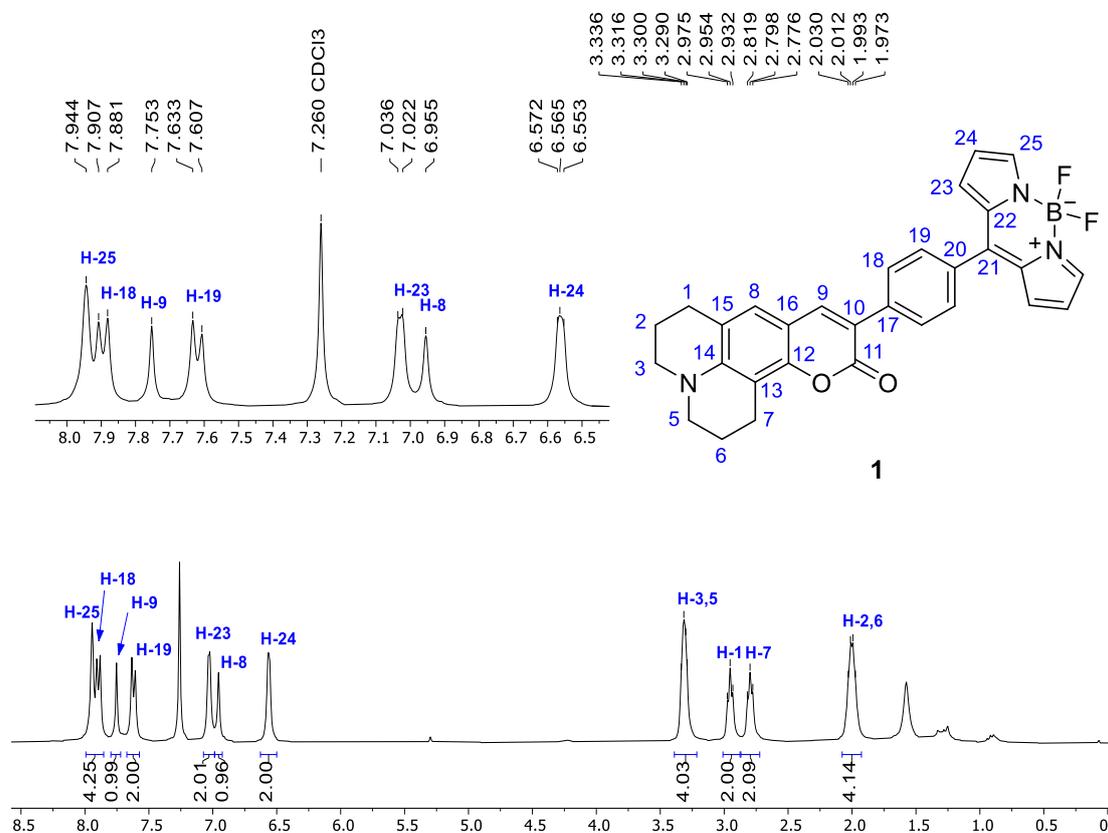


Figura 25. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 del compuesto 1.

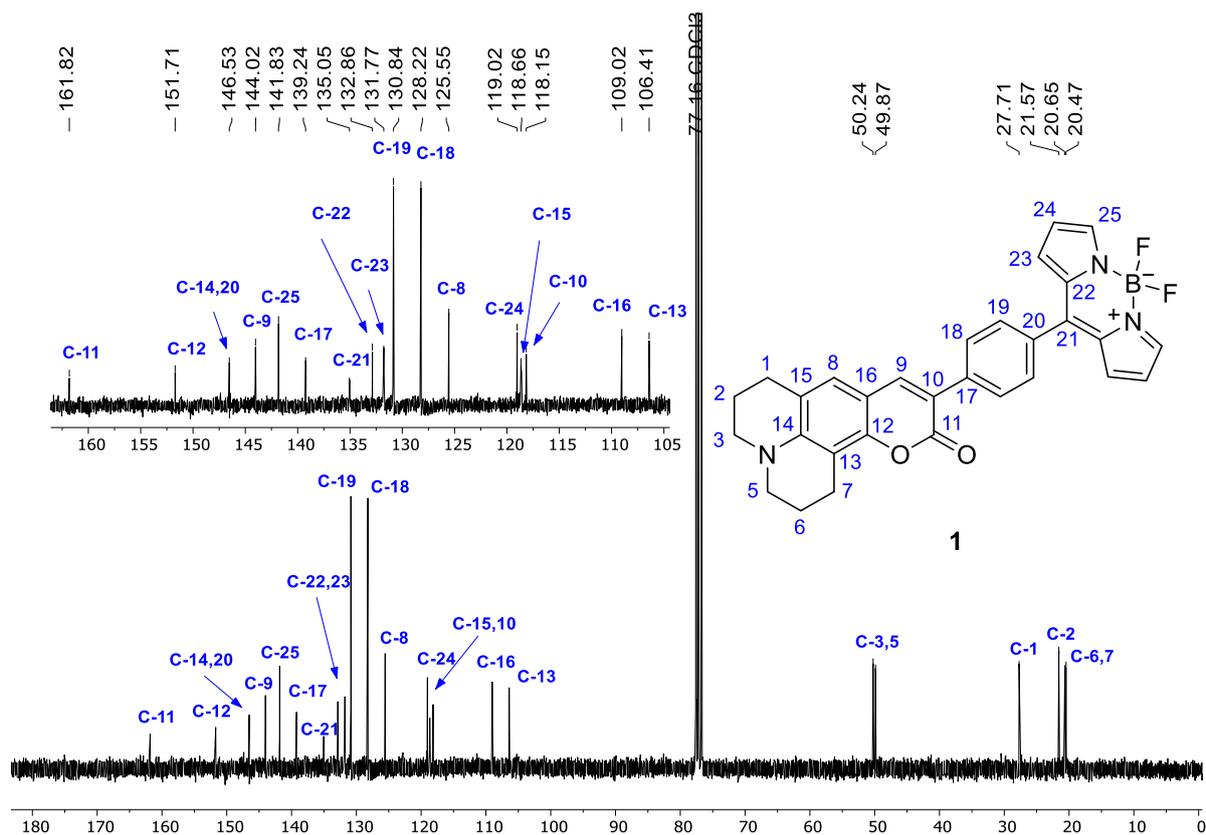


Figura 26. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 del compuesto 1.

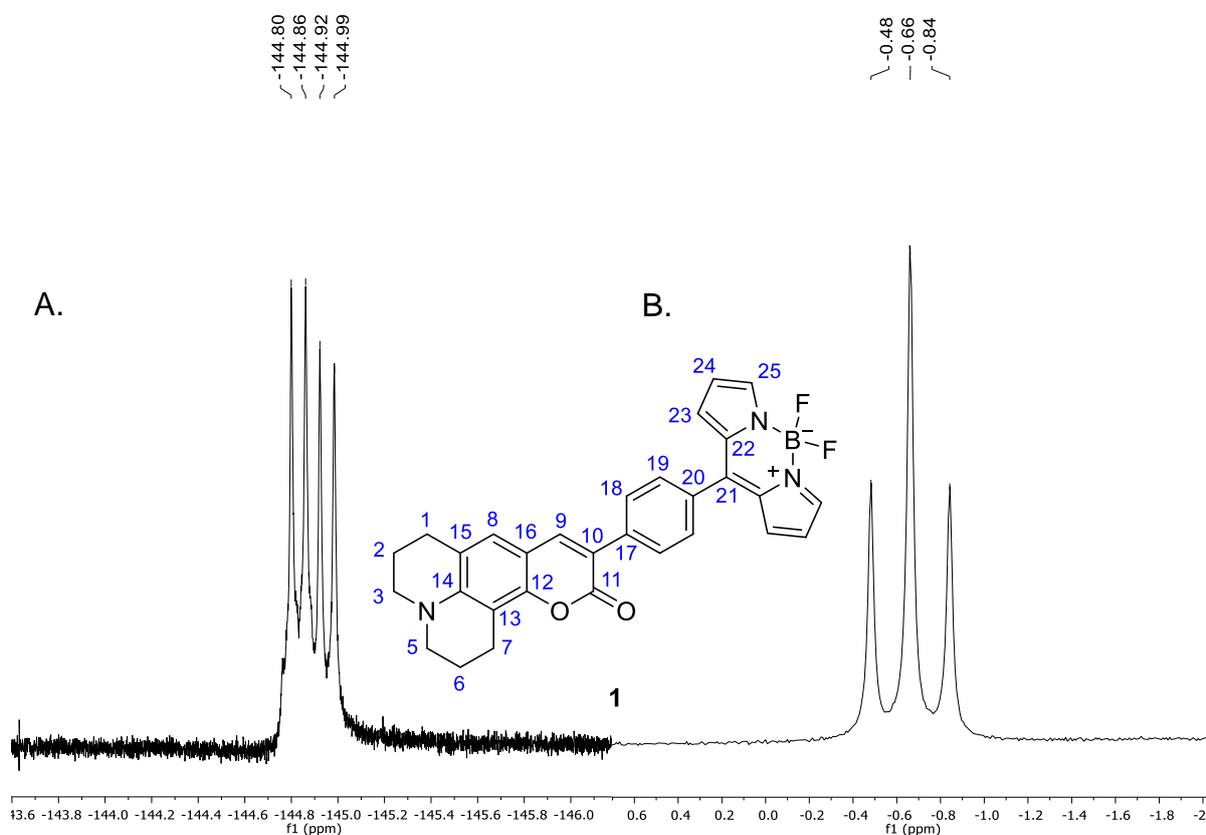


Figura 27. A. Espectro de RMN de ^{19}F a 282.4 MHz en CDCl_3 y B. Espectro de RMN de ^{11}B a 160.4 MHz en CDCl_3 del compuesto 1.

Análisis solvatocrómico de absorción y emisión fluorescente

Con el objetivo de estudiar las propiedades fotofísicas de **1**, se realizó un análisis solvatocrómico de absorción UV/Vis y emisión fluorescente empleando 9 disolventes de diferente polaridad a una concentración de 4×10^{-6} M ($4 \mu\text{M}$). Este análisis brinda información sobre la sensibilidad de **1** respecto a la polaridad del medio.

En la Figura 28 se muestran los espectros UV/Vis y de emisión fluorescente de **1**. En general, se puede observar que la absorción máxima se presenta en un intervalo de 500 a 504 nm, con la excepción del agua (511 nm). En el caso de la emisión fluorescente, se observa que en los disolventes con menor polaridad (hexano, tolueno, y xileno), la intensidad fluorescente se ve drásticamente aumentada y su longitud de onda desplazada, posiblemente debido a la formación de agregados moleculares.

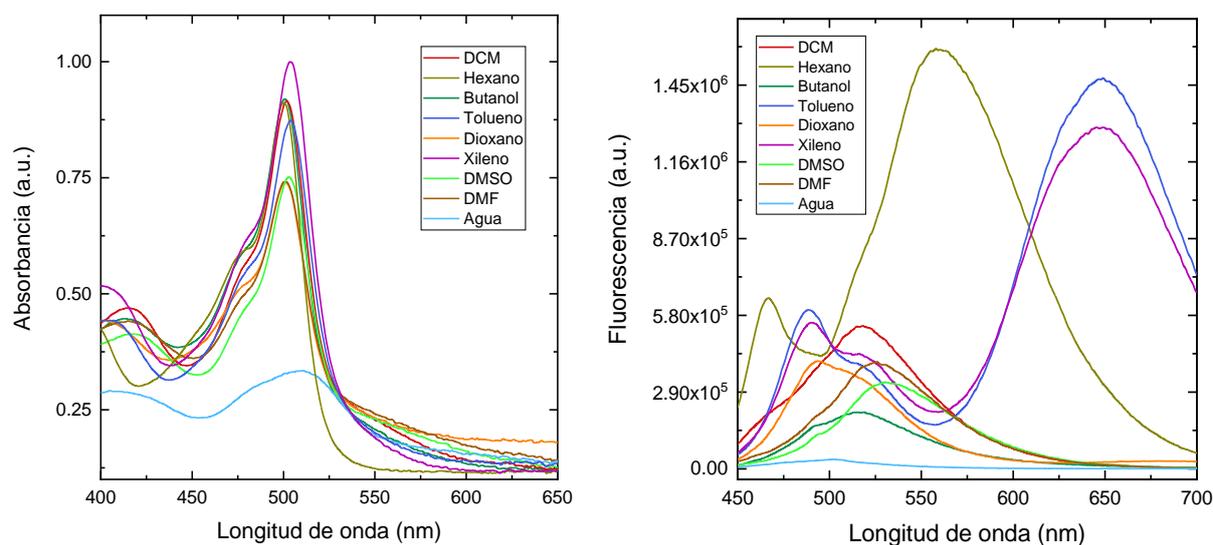


Figura 28. Espectros de UV/Vis y de emisión fluorescente para la sonda **1** en diferentes disolventes a una concentración de $4 \mu\text{M}$.

Las longitudes de onda de máxima emisión se encuentran entre 514 y 530 nm – excluyendo los disolventes de más baja polaridad – por lo que esa señal se atribuye a las transiciones $\pi\text{-}\pi^*$ correspondientes al núcleo de BODIPY. En el caso del agua, la emisión máxima se presenta a 502 nm.

Tabla 1. Longitudes de máxima absorción, máxima emisión, y desplazamientos de Stokes de **1** en diferentes disolventes a una concentración de 4 μM .

Disolvente	λ_{abs}^{max} (nm)	λ_{emi}^{max} (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)
DCM	502	518	16
Hexano	500	558	58
Butanol	500	519	19
Tolueno	504	649*	145
Dioxano	501	493*	8
Xileno	503	649*	146
DMSO	503	530	27
DMF	501	526	25
Agua	511	502	9

* Posible formación de agregados moleculares.

En la Tabla 1 se presentan los valores de longitud de onda de máxima absorción, de máxima emisión, y los desplazamientos de Stokes de **1**. En general, los desplazamientos de Stokes son pequeños, indicando que este sensor fluorescente muestra una baja sensibilidad a los cambios de polaridad del disolvente. Estos resultados son positivos ya que, sin importar la polaridad del medio, las bandas de absorción y emisión no se verán afectadas permitiendo una medición más exacta de la fluorescencia asociada a la viscosidad del medio.

Análisis de emisión fluorescente a diferentes valores de viscosidad

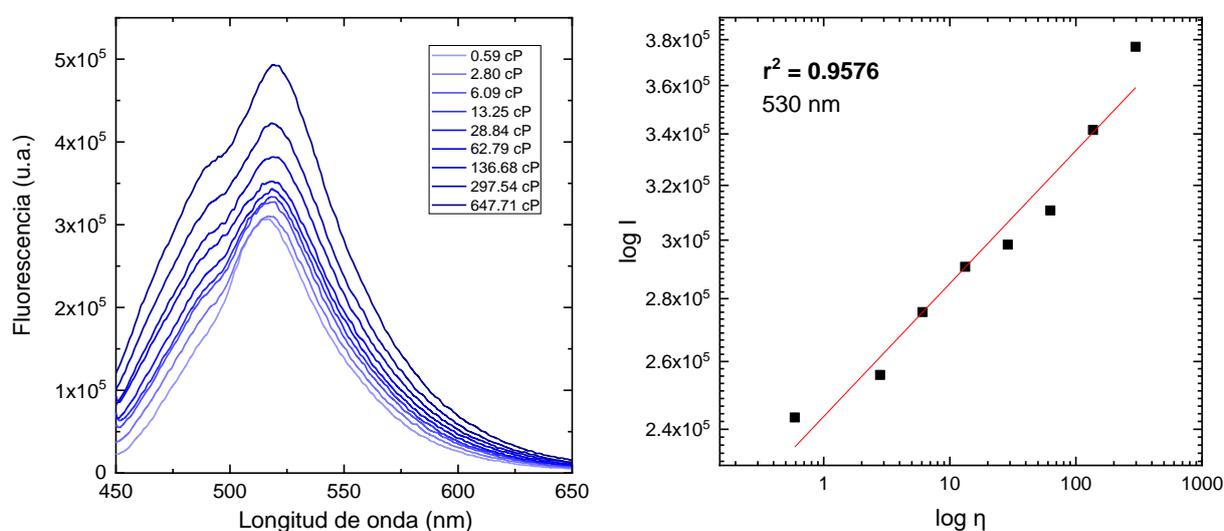


Figura 29. A. Espectros de emisión fluorescente a diferentes valores de viscosidad de

0.59 a 647.71 cP para la sonda **1** utilizando mezclas metanol-glicerol a una concentración de 4 μM , B. Curva de calibración en 530 nm (log intensidad fluorescente vs. log viscosidad).

En la Figura 29 A se muestran los espectros de emisión fluorescente de **1** a diferentes valores de viscosidad, en un intervalo de 0.59 a 647.71 cP. Es posible observar que la intensidad de emisión fluorescente aumenta al aumentar la viscosidad, ya que un medio altamente viscoso limita la rotación de la molécula, favoreciendo la transferencia de carga intramolecular en el estado excitado de la molécula. Es posible que esta transferencia de carga intramolecular sea tan fuerte que provoca que la emisión del núcleo de cumarina se desplace hasta traslaparse con la emisión del núcleo de BODIPY, resultando en una sola señal de emisión a pesar de tener dos fluoróforos, por lo que esta sonda no se puede considerar ratiométrica.

En la Figura 29 B se muestra la curva de calibración realizada en 530 nm, tomando en cuenta el logaritmo de la viscosidad (η) vs. el logaritmo de la intensidad fluorescente (I). De acuerdo con la curva de calibración, existe una buena relación lineal entre estos parámetros ($r^2 = 0.9576$) por lo que esta sonda fluorescente podría utilizarse para estimar el valor de la viscosidad dentro de una célula mediante la técnica de microscopia de imagen fluorescente.

CONCLUSIONES

Se logró la síntesis de la molécula **1**, así como su caracterización mediante técnicas espectroscópicas de RMN ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{11}B , IR, y espectrometría de masas de alta resolución. Asimismo, se realizó un análisis solvatocrómico en el cual se encontró que **1** muestra poca sensibilidad a los cambios de polaridad del disolvente, aunque en disolventes no polares tiende a formar agregados moleculares.

La sonda fluorescente **1** mostró sensibilidad a la viscosidad, ya que el logaritmo de la intensidad fluorescente incrementa de manera lineal conforme aumenta la viscosidad del medio. Por lo que esta sonda fluorescente podría utilizarse para determinar la viscosidad celular mediante la técnica de microscopia confocal fluorescente.

ANEXO

Espectros de IR para los compuestos 6-1

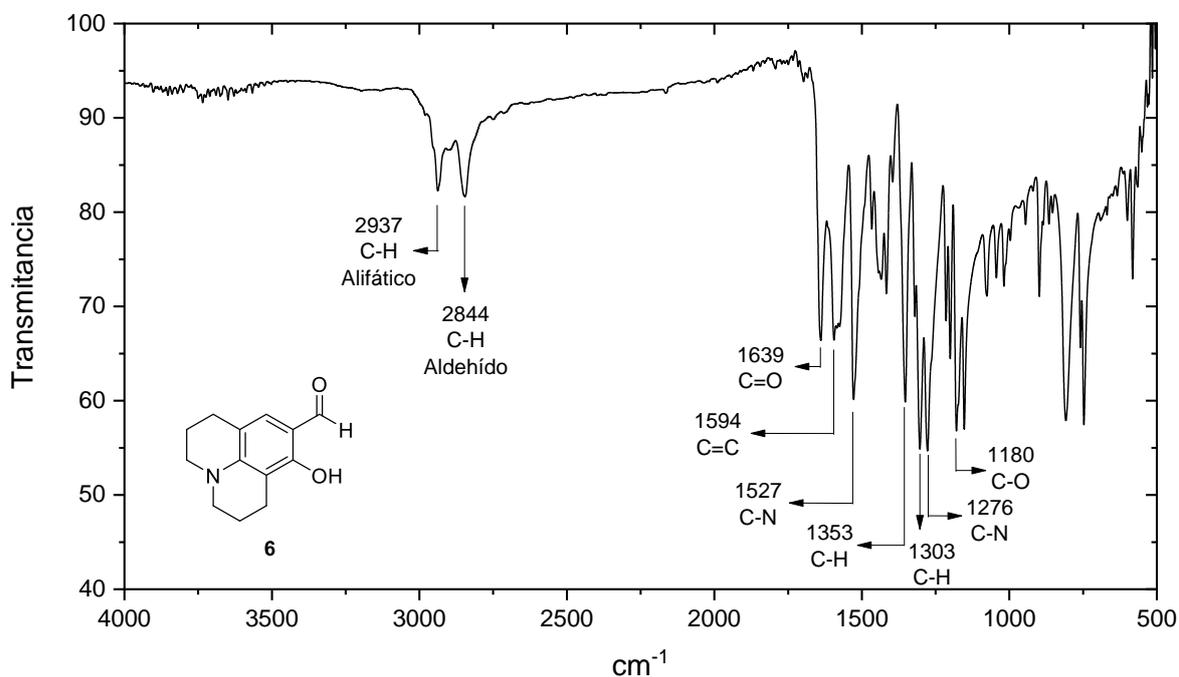


Figura A1. Espectro de IR del compuesto 6.

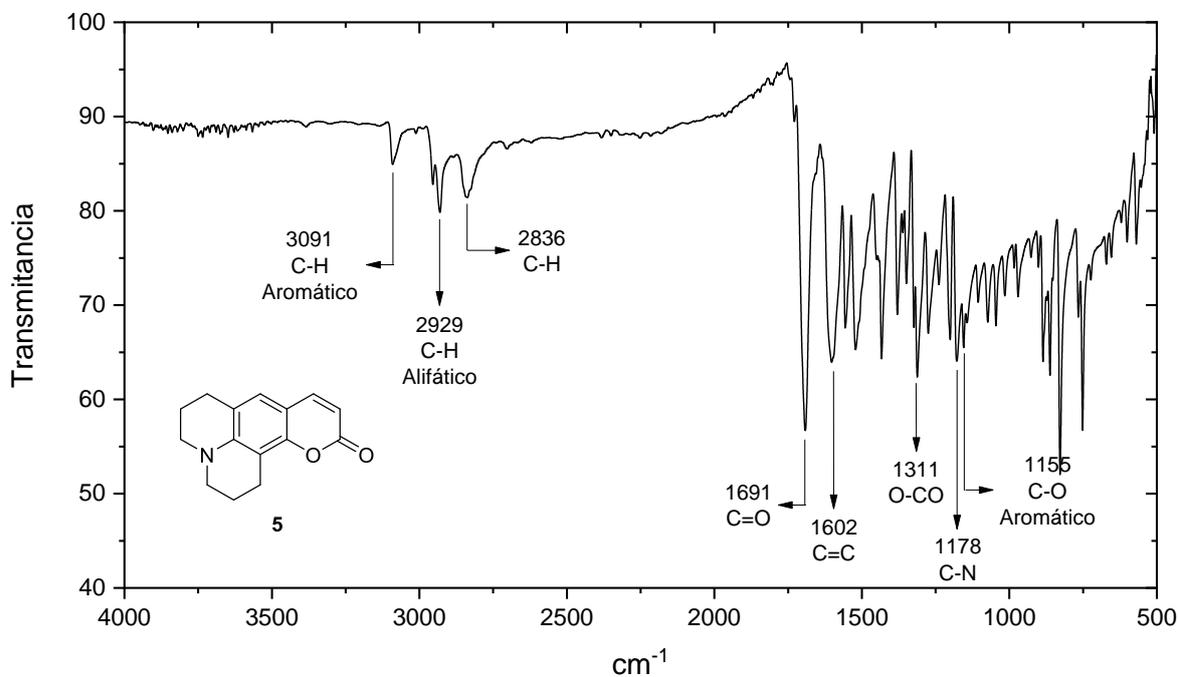


Figura A2. Espectro de IR del compuesto 5.

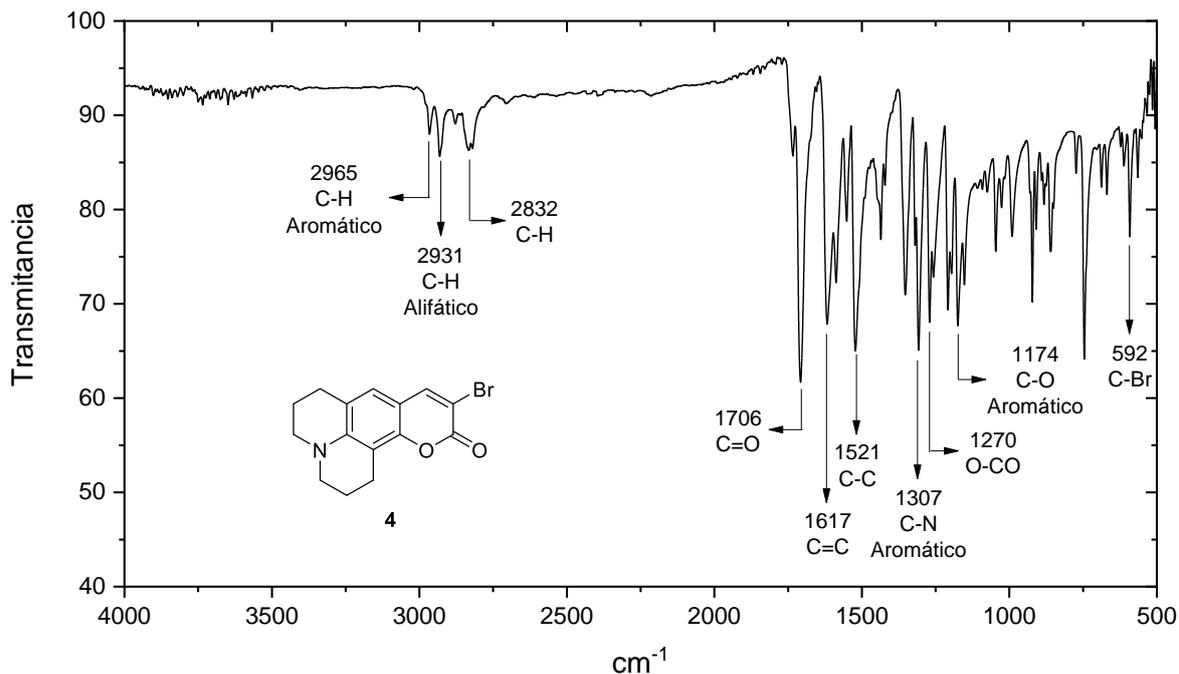


Figura A3. Espectro de IR del compuesto 4.

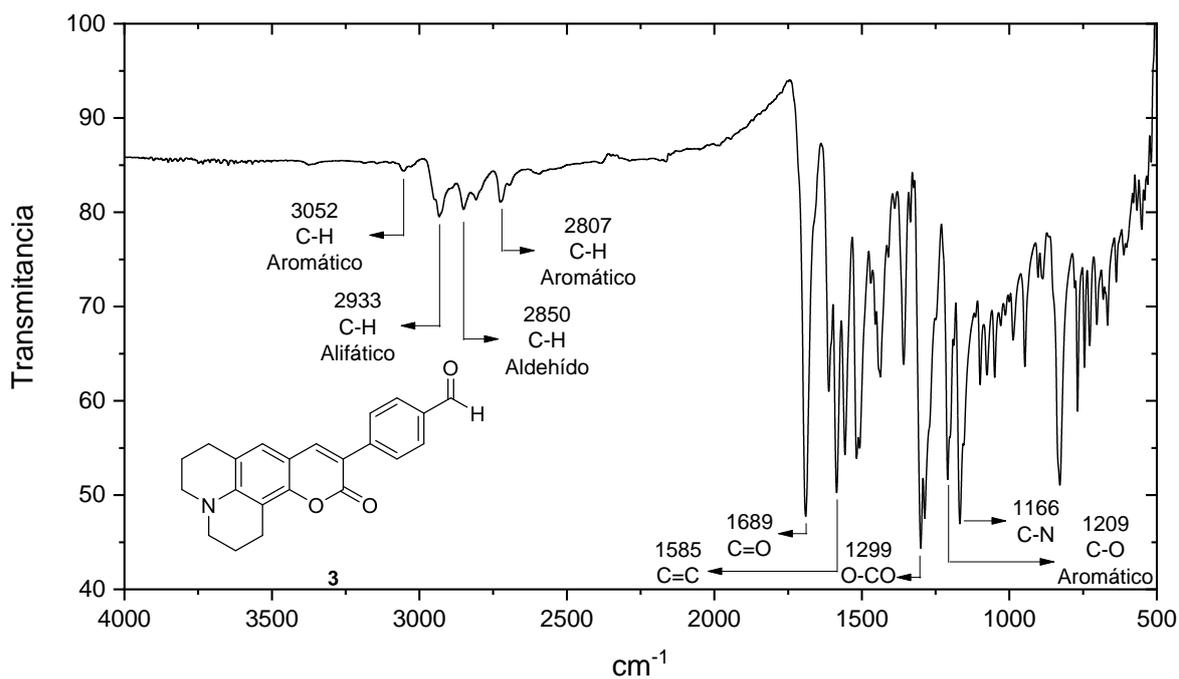


Figura A4. Espectro de IR del compuesto 3.

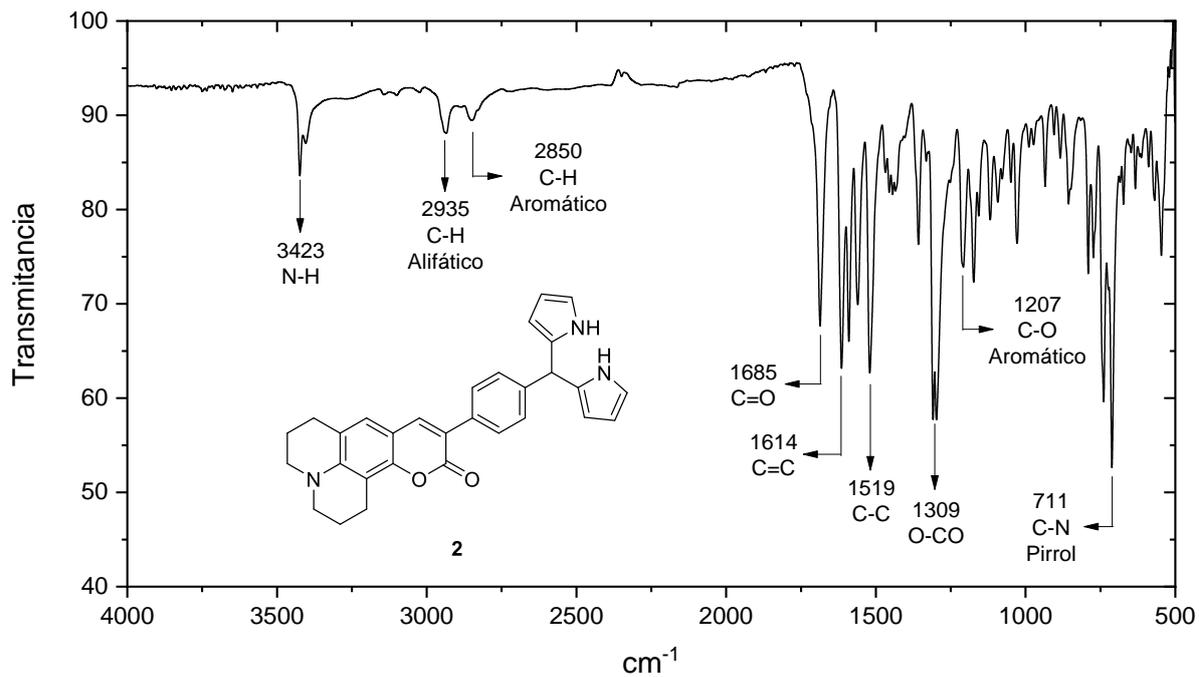


Figura A5. Espectro de IR del compuesto 2.

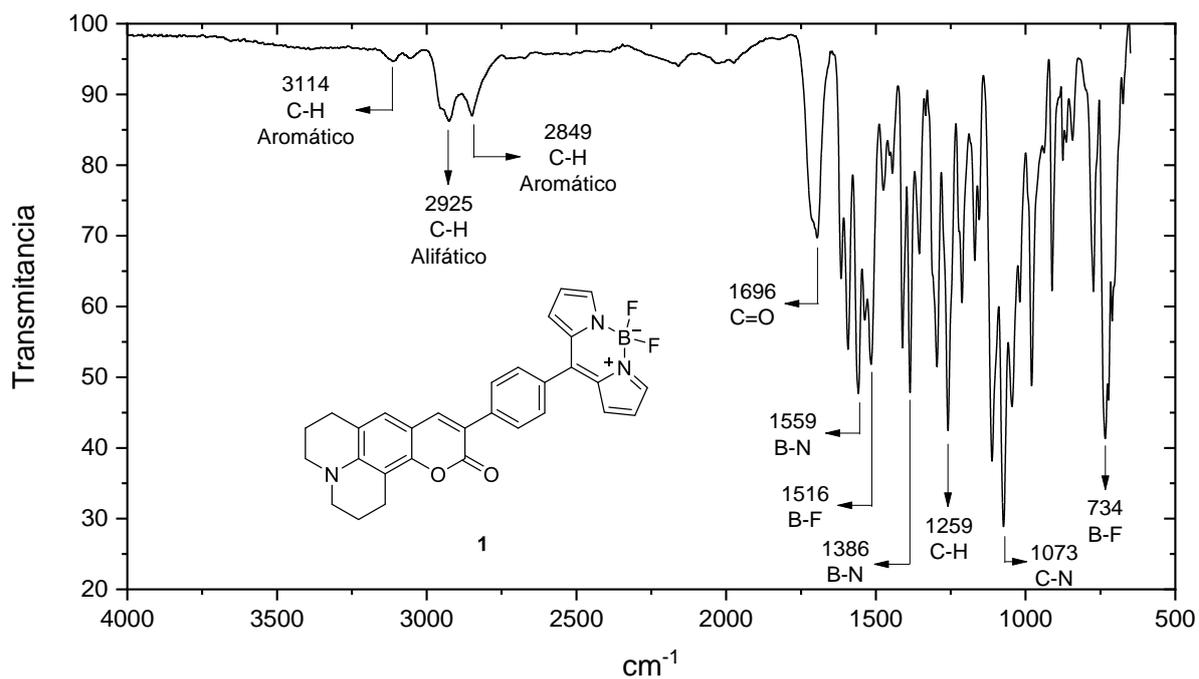
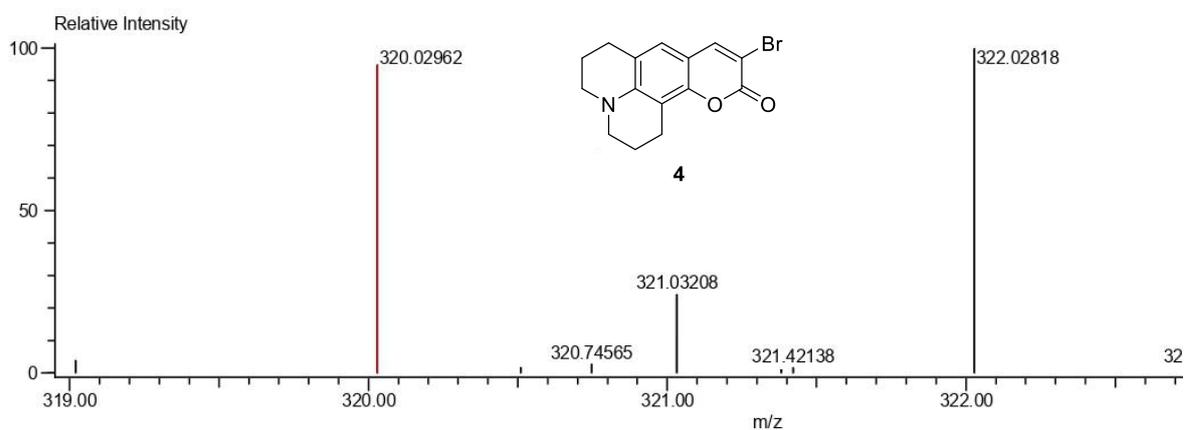


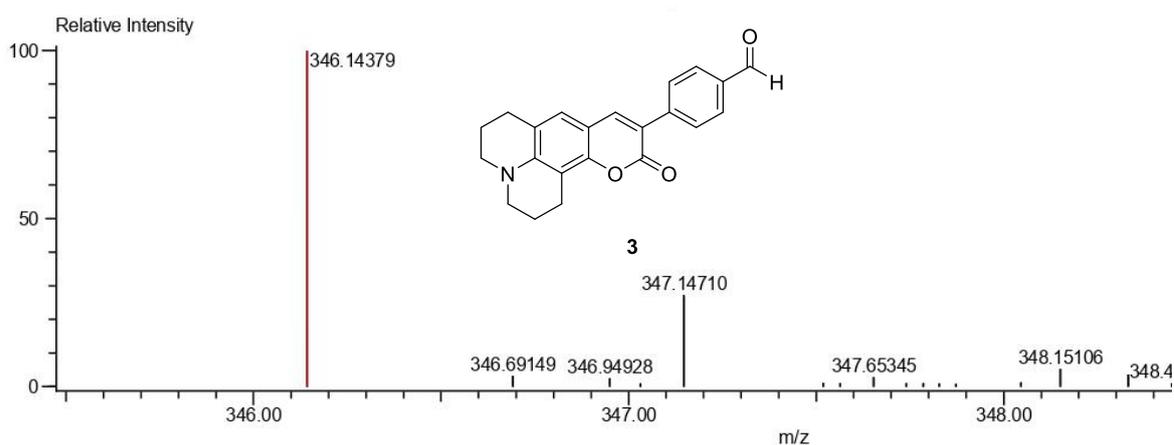
Figura A6. Espectro de IR del compuesto 1.

Espectros de masas para los compuestos 4-1



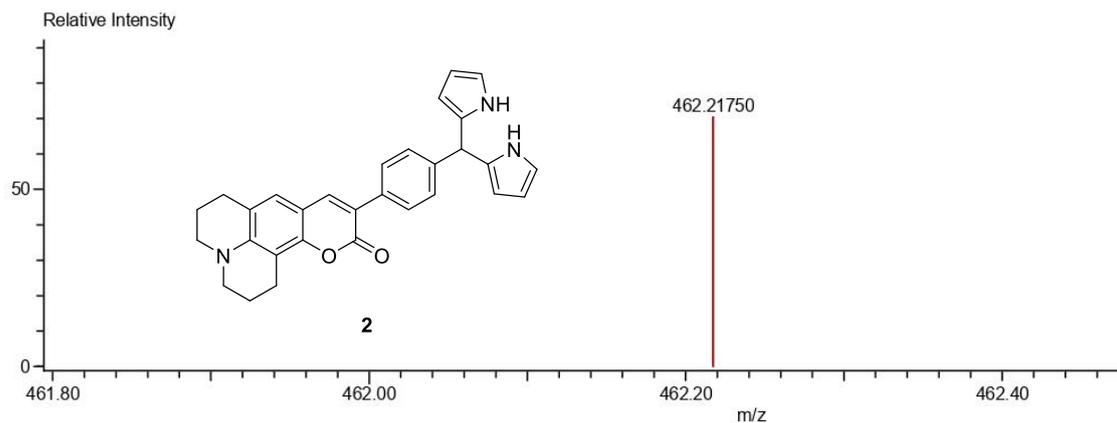
Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
320.02962	8466.39	320.02862	1.00	3.13	$^{12}\text{C}_{15}^{1}\text{H}_{15}^{79}\text{Br}_1^{14}\text{N}_1^{16}\text{O}_2$	8.5

Figura A7. Espectro de masas del compuesto 4.



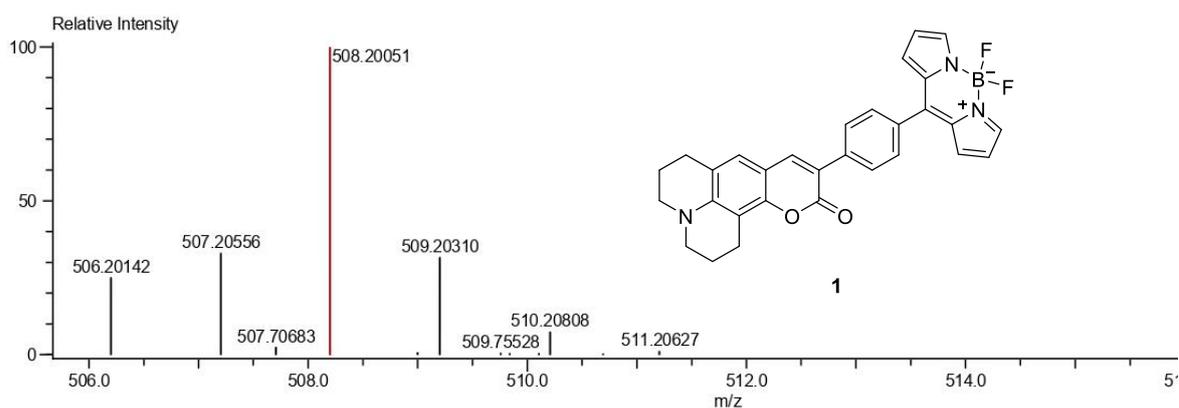
Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
346.14379	6068.39	346.14432	-0.53	-1.54	$^{12}\text{C}_{22}^{1}\text{H}_{20}^{14}\text{N}_1^{16}\text{O}_3$	13.5

Figura A8. Espectro de masas del compuesto 3.



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
462.21750	4412.22	462.21815	-0.65	-1.40	$^{12}\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_2$	18.5

Figura A9. Espectro de masas del compuesto 2.



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
508.20051	15577.77	508.20079	-0.28	-0.55	$^{12}\text{C}_{30}\text{H}_{25}\text{B}_1\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_2$	19.5

Figura A10. Espectro de masas del compuesto 1.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Haidekker, M. A., Nipper, M., Mustafic, A., Lichlyter, D., Dakanali, M., & Theodorakis, E. A. (2010). Dyes with segmental mobility: Molecular rotors. *Springer Series on Fluorescence*, 8, 267–308. https://doi.org/10.1007/978-3-642-04702-2_8
- (2) Haidekker, M. A., & Theodorakis, E. A. (2010). Environment-sensitive behavior of fluorescent molecular rotors. *Journal of Biological Engineering*, 4(1), 11. <https://doi.org/10.1186/1754-1611-4-11>
- (3) Lee, S.-C., Heo, J., Woo, H. C., Lee, J.-A., Seo, Y. H., Lee, C.-L., Kim, S., & Kwon, O.-P. (2018). Fluorescent molecular rotors for viscosity sensors. *Chemistry - A European Journal*, 24(52), 13706–13718. <https://doi.org/10.1002/chem.201801389>
- (4) Haidekker, M. A., & Theodorakis, E. A. (2007). Molecular rotors—fluorescent biosensors for viscosity and flow. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 5(11), 1669–1678. <https://doi.org/10.1039/b618415d>
- (5) Toliautas, S., Dodonova, J., Žvirblis, A., Čiplys, I., Polita, A., Devižis, A., Tumkevičius, S., Šulskus, J., & Vyšniauskas, A. (2019). Enhancing the viscosity-sensitive range of a bodipy molecular rotor by two orders of magnitude. *Chemistry – A European Journal*, 25(44), 10342–10349. <https://doi.org/10.1002/chem.201901315>
- (6) Guixens-Gallardo, P., Humpolickova, J., Miclea, S. P., Pohl, R., Kraus, T., Jurkiewicz, P., Hof, M., & Hocek, M. (2020). Thiophene-linked tetramethylbodipy-labeled nucleotide for viscosity-sensitive oligonucleotide probes of hybridization and protein–DNA interactions. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 18(5), 912–919. <https://doi.org/10.1039/c9ob02634g>
- (7) Ma, C., Sun, W., Xu, L., Qian, Y., Dai, J., Zhong, G., Hou, Y., Liu, J., & Shen, B. (2020). A minireview of viscosity-sensitive fluorescent probes: Design and biological applications. *Journal of Materials Chemistry B*, 8(42), 9642–9651. <https://doi.org/10.1039/d0tb01146k>
- (8) Li, B., Xu, L., Chen, Y., Zhu, W., Shen, X., Zhu, C., Luo, J., Li, X., Hong, J., & Zhou, X. (2017). Sensitive and label-free fluorescent detection of transcription factors based on DNA-Ag nanoclusters molecular beacons and exonuclease III-assisted signal amplification. *Analytical Chemistry*, 89(14), 7316–7323. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b00055>
- (9) Abbandonato, G., Polli, D., Viola, D., Cerullo, G., Storti, B., Cardarelli, F., Salomone, F., Nifosi, R., Signore, G., & Bizzarri, R. (2018). Simultaneous detection of local polarizability and viscosity by a single fluorescent probe in cells. *Biophysical Journal*, 114(9), 2212–2220. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2018.02.032>
- (10) Yin, J., Huang, L., Wu, L., Li, J., James, T. D., & Lin, W. (2021). Small molecule based fluorescent chemosensors for imaging the microenvironment within specific

- cellular regions. *Chemical Society Reviews*, 50(21), 12098–12150. <https://doi.org/10.1039/d1cs00645b>
- (11) Zhang, Y., Song, N., Li, Y., Yang, Z., Chen, L., Sun, T., & Xie, Z. (2019). Comparative study of two near-infrared coumarin–BODIPY dyes for bioimaging and photothermal therapy of cancer. *Journal of Materials Chemistry B*, 7(30), 4717–4724. <https://doi.org/10.1039/c9tb01165j>
- (12) Enríquez-Palacios, E., Arbeloa, T., Bañuelos, J., Bautista-Hernández, C. I., Becerra-González, J. G., López-Arbeloa, I., & Peña-Cabrera, E. (2020). Ready access to molecular rotors based on boron dipyrromethene dyes-coumarin dyads featuring broadband absorption. *Molecules*, 25(4), 781. <https://doi.org/10.3390/molecules25040781>
- (13) Ordóñez-Hernández, J., Arcos-Ramos, R., Alvarez-Venicio, V., Basiuk, V. A., González-Antonio, O., Flores-Álamo, M., García-Ortega, H., Farfán, N., & Carreón-Castro, M. del P. (2021). Engineering coumarin-BODIPY thin-films and molecular crystals: Tailoring supramolecular self-assembly for Organic Electronic Applications. *Journal of Molecular Structure*, 1239, 130437. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130437>
- (14) Luminiscencia. REAL ACADEMIA ESPAÑOLA: *Diccionario de la lengua española*, 23.^a ed., [versión 23.5 en línea]. <<https://dle.rae.es>> [Septiembre, 2022].
- (15) Lakowicz, J. R. (2006). *Principles of Fluorescence Spectroscopy* (3ra ed.). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-46312-4>
- (16) Luminescence. (2014). *The IUPAC Compendium of Chemical Terminology*. <https://doi.org/10.1351/goldbook.i03641>
- (17) Wardle, B. (2009). *Principles and Applications of Photochemistry*. Wiley.
- (18) Balzani, V., Ceroni, P., & Juris, A. (2014). *Photochemistry and photophysics: Concepts, research, applications*. Wiley.
- (19) Klán, P., & Wirz, J. (2010). *Photochemistry of organic compounds: From concepts to practice*. Wiley.
- (20) Lichtman, J. W., & Conchello, J.A. (2005). Fluorescence microscopy. *Nature Methods*, 2(12), 910–919. <https://doi.org/10.1038/nmeth817>
- (21) Nijegorodov, N., Luhanga, P. V. C., Nkoma, J. S., & Winkoun, D. P. (2006). The influence of planarity, rigidity and internal heavy atom upon fluorescence parameters and the intersystem crossing rate constant in molecules with the biphenyl basis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 64(1), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2005.06.032>
- (22) Maleckaitė, K., Narkevičius, D., Žilėnaitė, R., Dodonova-Vaitkūnienė, J., Toliautas, S., Tumkevičius, S., & Vyšniauskas, A. (2021). Give or take: Effects of electron-accepting/-withdrawing groups in red-fluorescent BODIPY molecular rotors. *Molecules*, 27(1), 23. <https://doi.org/10.3390/molecules27010023>

- (23) Yahaya, I., Chemchem, M., Aydiner, B., Seferoğlu, N., Erva Tepe, F., Açık, L., Aytuna Çerçi, N., Türk, M., & Seferoğlu, Z. (2019). Novel fluorescent coumarin-thiophene-derived Schiff bases: Synthesis, effects of substituents, photophysical properties, DFT calculations, and Biological Activities. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 368, 296–306. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2018.09.041>
- (24) Lakowicz, J. R. (1999). Introduction to fluorescence. *Principles of Fluorescence Spectroscopy* (2da ed.), pp. 1–23. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-3061-6_1
- (25) Cao, D., Liu, Z., Verwilst, P., Koo, S., Jangjili, P., Kim, J. S., & Lin, W. (2019). Coumarin-based small-molecule fluorescent chemosensors. *Chemical Reviews*, 119(18), 10403–10519. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00145>
- (26) Trinh, N., Jolliffe, K. A., & New, E. J. (2020). Dual-functionalisation of fluorophores for the preparation of targeted and selective probes. *Angewandte Chemie International Edition*, 59(46), 20290–20301. <https://doi.org/10.1002/anie.202007673>
- (27) Nguyen, T. H., Sun, T., & Grattan, K. T. V. (2020). Novel coumarin-based pH sensitive fluorescent probes for the highly alkaline pH region. *Dyes and Pigments*, 177, 108312. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2020.108312>
- (28) Joniak, J., Stankovičová, H., Filo, J., Gaplovská-Kyselá, K., Garaj, V., & Cigaň, M. (2020). Small-molecule coumarin fluorescent pH probes for extremely acidic conditions. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 307, 127646. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127646>
- (29) Ordóñez-Hernández, J., Jiménez-Sánchez, A., García-Ortega, H., Sánchez-Puig, N., Flores-Álamo, M., Santillan, R., & Farfán, N. (2018). A series of dual-responsive coumarin-BODIPY probes for local microviscosity monitoring. *Dyes and Pigments*, 157, 305–313. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2018.05.009>
- (30) Tian, G., Zhang, Z., Li, H., Li, D., Wang, X., & Qin, C. (2020). Design, synthesis and application in analytical chemistry of photo-sensitive probes based on coumarin. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 51(6), 565–581. <https://doi.org/10.1080/10408347.2020.1753163>
- (31) Tram, K., Yan, H., Jenkins, H. A., Vassiliev, S., & Bruce, D. (2009). The synthesis and crystal structure of unsubstituted 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene (BODIPY). *Dyes and Pigments*, 82(3), 392–395. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2009.03.001>
- (32) Ulrich, G., Ziesel, R., & Harriman, A. (2008). The chemistry of fluorescent BODIPY dyes: Versatility unsurpassed. *Angewandte Chemie International Edition*, 47(7), 1184–1201. <https://doi.org/10.1002/anie.200702070>
- (33) Liu, M., Ma, S., She, M., Chen, J., Wang, Z., Liu, P., Zhang, S., & Li, J. (2019). Structural modification of BODIPY: Improve its applicability. *Chinese Chemical Letters*, 30(10), 1815–1824. <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2019.08.028>

- (34) Pfeifer, D., Russegger, A., Klimant, I., & Borisov, S. M. (2020). Green to red emitting BODIPY dyes for fluorescent sensing and imaging of carbon dioxide. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 304, 127312. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127312>
- (35) Kaur, P., & Singh, K. (2019). Recent advances in the application of BODIPY in bioimaging and chemosensing. *Journal of Materials Chemistry C*, 7(37), 11361–11405. <https://doi.org/10.1039/c9tc03719e>
- (36) Pliquett, J., Dubois, A., Racœur, C., Mabrouk, N., Amor, S., Lescure, R., Bettaïeb, A., Collin, B., Bernhard, C., Denat, F., Bellaye, P. S., Paul, C., Bodio, E., & Goze, C. (2019). A promising family of fluorescent water-soluble aza-BODIPY dyes for *in vivo* molecular imaging. *Bioconjugate Chemistry*, 30(4), 1061–1066. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.8b00795>
- (37) Bowen, E. J., & Sahu, J. (1959). The Effect of Temperature on Fluorescence of Solutions. *The Journal of Physical Chemistry*, 63(1), 4–7.
- (38) Schulman, S. G., & Winefordner, J. D. (1970). Influence of pH in fluorescence and phosphorescence spectrometric analysis. *Talanta*, 17(7), 607–616. [https://doi.org/10.1016/0039-9140\(70\)80009-1](https://doi.org/10.1016/0039-9140(70)80009-1)
- (39) Haidekker, M. A., Brady, T. P., Lichlyter, D., & Theodorakis, E. A. (2005). Effects of solvent polarity and solvent viscosity on the fluorescent properties of molecular rotors and related probes. *Bioorganic Chemistry*, 33(6), 415–425. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2005.07.005>
- (40) Ordóñez-Hernández, J. (2018) *Síntesis, Caracterización y Análisis Estructural de Derivados de Cumarinas Como Sondas Fluorescentes de Microviscosidad* (tesis).
- (41) Demchenko, A. P. (2020). Photobleaching of organic fluorophores: quantitative characterization, mechanisms, protection. *Methods and Applications in Fluorescence*, 8(2), 022001. <https://doi.org/10.1088/2050-6120/ab7365>
- (42) Lee, M. H., Kim, J. S., & Sessler, J. L. (2014). Small molecule-based ratiometric fluorescence probes for cations, anions, and biomolecules. *Chemical Society Reviews*, 44(13), 4185–4191. <https://doi.org/10.1039/c4cs00280f>
- (43) Wang, H., Wang, J., Yang, S., Tian, H., Liu, Y., & Sun, B. (2018). Highly selective and rapidly responsive fluorescent probe for hydrogen sulfide detection in wine. *Food Chemistry*, 257, 150–154. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.130>
- (44) Jung, Y., Ju, I. G., Choe, Y. H., Kim, Y., Park, S., Hyun, Y.-M., Oh, M. S., & Kim, D. (2019). Hydrazine exposé: The next-generation fluorescent probe. *ACS Sensors*, 4(2), 441–449. <https://doi.org/10.1021/acssensors.8b01429>
- (45) Park, S.H., Kwon, N., Lee, J.H., Yoon, J., & Shin, I. (2019). Synthetic ratiometric fluorescent probes for detection of ions. *Chemical Society Reviews*, 49(1), 143–179. <https://doi.org/10.1039/c9cs00243j>

- (46) Huang, X., Song, J., Yung, B. C., Huang, X., Xiong, Y., & Chen, X. (2018). Ratiometric optical nanoprobe enable accurate molecular detection and imaging. *Chemical Society Reviews*, 47(8), 2873–2920. <https://doi.org/10.1039/c7cs00612h>
- (47) Loas, A., & Lippard, S. J. (2017). Direct ratiometric detection of nitric oxide with Cu(II)-based fluorescent probes. *Journal of Materials Chemistry B*, 5(45), 8929–8933. <https://doi.org/10.1039/c7tb02666h>
- (48) Wang, K. N., Liu, L. Y., Mao, D., Xu, S., Tan, C. P., Cao, Q., Mao, Z. W., & Liu, B. (2021). A polarity-sensitive ratiometric fluorescence probe for monitoring changes in lipid droplets and nucleus during ferroptosis. *Angewandte Chemie International Edition*, 60(27), 15095–15100. <https://doi.org/10.1002/anie.202104163>
- (49) Emilie Steinmark, I. E., James, A. L., Chung, P.-H., Morton, P. E., Parsons, M., Dreiss, C. A., Lorenz, C. D., Yahioğlu, G., & Suhling, K. (2019). Targeted fluorescence lifetime probes reveal responsive organelle viscosity and membrane fluidity. *PLoS ONE*, 14(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211165>
- (50) Vyšniauskas, A., & Kuimova, M. K. (2018). A twisted tale: Measuring viscosity and temperature of microenvironments using molecular rotors. *International Reviews in Physical Chemistry*, 37(2), 259–285. <https://doi.org/10.1080/0144235x.2018.1510461>
- (51) Miao, W., Yu, C., Hao, E., & Jiao, L. (2019). Functionalized BODIPYs as fluorescent molecular rotors for viscosity detection. *Frontiers in Chemistry*, 7, 825. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00825>
- (52) Schmitt, S., Renzer, G., Benrath, J., Best, A., Jiang, S., Landfester, K., Butt, H.-J., Simonutti, R., Crespy, D., & Koynov, K. (2022). Monitoring the formation of polymer nanoparticles with fluorescent molecular rotors. *Macromolecules*, 55(16), 7284–7293. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.2c01132>
- (53) Moraz, A., & Breider, F. (2021). Detection and quantification of nonlabeled polystyrene nanoparticles using a fluorescent molecular rotor. *Analytical Chemistry*, 93(45), 14976–14984. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c02055>
- (54) Bittermann, M. R., Grzelka, M., Woutersen, S., Brouwer, A. M., & Bonn, D. (2021). Disentangling nano- and macroscopic viscosities of aqueous polymer solutions using a fluorescent molecular rotor. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 12(12), 3182–3186. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcllett.1c00512>
- (55) Liu, X., Chi, W., Qiao, Q., Kokate, S. V., Peña-Cabrera, E., Xu, Z., Liu, X., & Chang, Y.-T. (2020). Molecular mechanism of viscosity sensitivity in BODIPY rotors and application to motion-based fluorescent sensors. *ACS Sensors*, 5(3), 731–739. <https://doi.org/10.1021/acssensors.9b01951>
- (56) Zhang, J., Rakhimbekova, A., Duan, X., Yin, Q., Foss, C. A., Fan, Y., Xu, Y., Li, X., Cai, X., Kutil, Z., Wang, P., Yang, Z., Zhang, N., Pomper, M. G., Wang, Y., Bařinka, C., & Yang, X. (2021). A prostate-specific membrane antigen activated molecular rotor for real-time fluorescence imaging. *Nature Communications*, 12, 5460. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25746-6>

- (57) Kuimova, M. K. (2012). Mapping viscosity in cells using molecular rotors. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 14(37), 12671–12686. <https://doi.org/10.1039/c2cp41674c>
- (58) Deliconstantinos, G., Villiotou, V., & Stavrides, J. C. (1995). Modulation of particulate nitric oxide synthase activity and peroxynitrite synthesis in cholesterol enriched endothelial cell membranes. *Biochemical Pharmacology*, 49(11), 1589–1600. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(95\)00094-g](https://doi.org/10.1016/0006-2952(95)00094-g)
- (59) Nadiv, O., Shinitzky, M., Manu, H., Hecht, D., Roberts, C. T., LeRoith, D., & Zick, Y. (1994). Elevated protein tyrosine phosphatase activity and increased membrane viscosity are associated with impaired activation of the insulin receptor kinase in old rats. *Biochemical Journal*, 298(2), 443–450. <https://doi.org/10.1042/bj2980443>
- (60) Zubenko, G. S., Kopp, U., Seto, T., & Firestone, L. L. (1999). Platelet membrane fluidity individuals at risk for Alzheimer's disease: A comparison of results from fluorescence spectroscopy and electron spin resonance spectroscopy. *Psychopharmacology*, 145, 175–180. <https://doi.org/10.1007/s002130051046>
- (61) Bañuelos, J. (2016). BODIPY dye, the most versatile fluorophore ever? *The Chemical Record*, 16(1), 335–348. <https://doi.org/10.1002/tcr.201500238>
- (62) Patil, P. O., Bari, S. B., Firke, S. D., Deshmukh, P. K., Donda, S. T., & Patil, D. A. (2013). A comprehensive review on synthesis and designing aspects of coumarin derivatives as monoamine oxidase inhibitors for depression and Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21(9), 2434–2450. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2013.02.017>
- (63) Mu, X., Liu, Y., Liu, S., Sun, Y., Lu, N., Lu, Y., Li, W., Zhou, X., Liu, B., & Li, Z. (2019). A cyanine-derived near-infrared molecular rotor for ratiometric imaging of mitochondrial viscosity in cells. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 298, 126831. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.126831>
- (64) Shi, D., Hu, L., Li, X., Liu, W., Gao, Y., Li, X., Jiang, B., Xia, C., Guo, Y., & Li, J. (2020). Lysosomal polarity increases with aging as revealed by a lysosome-targetable near-infrared fluorescent probe. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 319, 128302. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128302>
- (65) Demaurex, N. (2002). pH Homeostasis of cellular organelles. *Physiology*, 17(1), 1–5. <https://doi.org/10.1152/physiologyonline.2002.17.1.1>
- (66) Cao, D., Zhu, L., Liu, Z., & Lin, W. (2020). Through bond energy transfer (TBET)-based fluorescent chemosensors. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 44, 100371. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochemrev.2020.100371>
- (67) Wu, L., Huang, C., Emery, B. P., Sedgwick, A. C., Bull, S. D., He, X.-P., Tian, H., Yoon, J., Sessler, J. L., & James, T. D. (2020). Förster resonance energy transfer (FRET)-based small-molecule sensors and imaging agents. *Chemical Society Reviews*, 49(15), 5110–5139. <https://doi.org/10.1039/c9cs00318e>

- (68) Choi, N.E., Lee, J.Y., Park, E.C., Lee, J.H., & Lee, J. (2021). Recent advances in organelle-targeted fluorescent probes. *Molecules*, 26(1), 217. <https://doi.org/10.3390/molecules26010217>
- (69) Lin, J., Yang, K., & New, E. J. (2021). Strategies for organelle targeting of fluorescent probes. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 19(43), 9339–9357. <https://doi.org/10.1039/d1ob01447a>
- (70) Alevriadou, B. R., Shanmughapriya, S., Patel, A., Stathopoulos, P. B., & Madesh, M. (2017). Mitochondrial Ca²⁺ transport in the endothelium: Regulation by ions, redox signalling and mechanical forces. *Journal of The Royal Society Interface*, 14(137), 20170672. <https://doi.org/10.1098/rsif.2017.0672>
- (71) Anding, A. L., & Baehrecke, E. H. (2017). Cleaning House: Selective Autophagy of Organelles. *Developmental Cell*, 41(1), 10–22. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2017.02.016>
- (72) Liu, T., Liu, X., Spring, D. R., Qian, X., Cui, J., & Xu, Z. (2014). Quantitatively mapping cellular viscosity with detailed organelle information via a designed PET fluorescent probe. *Scientific Reports*, 4, 5418. <https://doi.org/10.1038/srep05418>
- (73) Liang, Y., Zhao, Y., Lai, C., Zou, X., & Lin, W. (2021). A coumarin-based TICT fluorescent probe for real-time fluorescence lifetime imaging of mitochondrial viscosity and systemic inflammation *in vivo*. *Journal of Materials Chemistry B*, 9(38), 8067–8073. <https://doi.org/10.1039/d1tb01150b>
- (74) Shi, W.J., Wei, Y.F., Yang, J., Li, H.Z., Wan, Q.H., Wang, Y., Leng, H., Chen, K., & Yan, J. (2022). Novel meso-trifluoromethyl BODIPY-based near-infrared-emitting fluorescent probes for organelle-specific imaging of cellular viscosity. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 359, 131594. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2022.131594>
- (75) Klymchenko, A. S. (2017). Solvatochromic and fluorogenic dyes as environment-sensitive probes: Design and biological applications. *Accounts of Chemical Research*, 50(2), 366–375. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.6b00517>
- (76) Devany, J., Chakraborty, K., & Krishnan, Y. (2018). Subcellular nanorheology reveals lysosomal viscosity as a reporter for lysosomal storage diseases. *Nano Letters*, 18(2), 1351–1359. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.7b05040>
- (77) Cui, J., Nie, H., Zang, S., Su, S., Gao, M., Jing, J., & Zhang, X. (2021). A conformational transition based fluorescent probe for mapping lysosomal viscosity fluctuations by fluorescence lifetime imaging. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 331, 129432. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.129432>
- (78) Tauchi-Sato, K., Ozeki, S., Houjou, T., Taguchi, R., & Fujimoto, T. (2002). The surface of lipid droplets is a phospholipid monolayer with a unique fatty acid composition. *Journal of Biological Chemistry*, 277(46), 44507–44512. <https://doi.org/10.1074/jbc.m207712200>

- (79) Song, C. W., Tamima, U., Reo, Y. J., Dai, M., Sarkar, S., & Ahn, K. H. (2019). A rationally designed polarity–viscosity sensitive probe for imaging lipid droplets. *Dyes and Pigments*, *171*, 107718. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2019.107718>
- (80) Wu, X., Wang, X., Li, Y., Kong, F., Xu, K., Li, L., & Tang, B. (2022). A near-infrared probe for specific imaging of lipid droplets in living cells. *Analytical Chemistry*, *94*(11), 4881–4888. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c00651>
- (81) Schwarz, D. S., & Blower, M. D. (2015). The endoplasmic reticulum: Structure, function and response to cellular signaling. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *73*, 79–94. <https://doi.org/10.1007/s00018-015-2052-6>
- (82) Lee, H., Yang, Z., Wi, Y., Kim, T. W., Verwilt, P., Lee, Y. H., Han, G. Kang, C., & Kim, J. S. (2015). BODIPY–coumarin conjugate as an endoplasmic reticulum membrane fluidity sensor and its application to ER stress models. *Bioconjugate Chemistry*, *26*(12), 2474–2480. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.5b00508>
- (83) Lamond, A. I., & Earnshaw, W. C. (1998). Structure and function in the nucleus. *Science*, *280*(5363), 547–553. <https://doi.org/10.1126/science.280.5363.547>
- (84) Wolffe, A. P., & Matzke, M. A. (1999). Epigenetics: Regulation through repression. *Science*, *286*(5439), 481–486. <https://doi.org/10.1126/science.286.5439.481>
- (85) Hamilton, P. J., & Nestler, E. J. (2019). Epigenetics and addiction. *Current Opinion in Neurobiology*, *59*, 128–136. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2019.05.005>
- (86) Dhawan, S., & Natarajan, R. (2019). Epigenetics and type 2 diabetes risk. *Current Diabetes Reports*, *19*, 47. <https://doi.org/10.1007/s11892-019-1168-8>
- (87) Zhang, X., Wang, L., Li, N., & Xiao, Y. (2021). Assessing chromatin condensation for epigenetics with a DNA-targeting sensor by FRET and FLIM Techniques. *Chinese Chemical Letters*, *32*(8), 2395–2399. <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2021.02.031>
- (88) Tabaka, M., Kalwarczyk, T., Szymanski, J., Hou, S., & Holyst, R. (2014). The effect of macromolecular crowding on mobility of biomolecules, association kinetics, and gene expression in living cells. *Frontiers in Physics*, *2*, 54. <https://doi.org/10.3389/fphy.2014.00054>
- (89) Kwapiszewska, K., Szczepański, K., Kalwarczyk, T., Michalska, B., Patalas-Krawczyk, P., Szymański, J., Andryszewski, T., Iwan, M., Duszyński, J., & Hołyst, R. (2020). Nanoscale viscosity of cytoplasm is conserved in human cell lines. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, *11*(16), 6914–6920. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcclett.0c01748>
- (90) Li, H., Shi, W., Li, X., Hu, Y., Fang, Y., & Ma, H. (2019). Ferroptosis accompanied by $\cdot\text{OH}$ generation and cytoplasmic viscosity increase revealed via dual-functional fluorescence probe. *Journal of the American Chemical Society*, *141*(45), 18301–18307. <https://doi.org/10.1021/jacs.9b09722>
- (91) Li, N., Huang, Z., Zhang, X., Song, X., & Xiao, Y. (2019). Reflecting size differences of exosomes by using the combination of membrane-targeting viscosity probe and

- fluorescence lifetime imaging microscopy. *Analytical Chemistry*, 91(23), 15308–15316. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b04587>
- (92) Wang, Y. N., Xu, B., Qiu, L. H., Sun, R., Xu, Y. J., & Ge, J. F. (2021). Viscosity sensitive fluorescent dyes with excellent photostability based on hemicyanine dyes for targeting cell membrane. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 337, 129787. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.129787>
- (93) Kashirina, A. S., López-Duarte, I., Kubánková, M., Gulin, A. A., Dudenkova, V. V., Rodimova, S. A., Torgomyan, H. G., Zagaynova, E. V., Meleshina, A. V., & Kuimova, M. K. (2020). Monitoring membrane viscosity in differentiating stem cells using BODIPY-based molecular rotors and FLIM. *Scientific Reports*, 10, 14063. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70972-5>
- (94) Guibourt, N. J. B. G. (1839). *Histoire abrégée des drogues simples* (Vol. 2). Société Encyclographique des Sciences Médicales.
- (95) Perkin, W. H. (1868). VI.—On the artificial production of coumarin and formation of its homologues. *Journal of the Chemical Society*, 21, 53–63. <https://doi.org/10.1039/js8682100053>
- (96) Al-Warhi, T., Sabt, A., Elkaeed, E. B., & Eldehna, W. M. (2020). Recent advancements of coumarin-based anticancer agents: An up-to-date review. *Bioorganic Chemistry*, 103, 104163. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104163>
- (97) Prusty, J. S., & Kumar, A. (2019). Coumarins: Antifungal Effectiveness and future therapeutic scope. *Molecular Diversity*, 24, 1367–1383. <https://doi.org/10.1007/s11030-019-09992-x>
- (98) Salvador, J. P., Tassies, D., Reverter, J. C., & Marco, M. P. (2018). Enzyme-linked immunosorbent assays for therapeutic drug monitoring coumarin oral anticoagulants in plasma. *Analytica Chimica Acta*, 1028, 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.04.042>
- (99) Alshibl, H. M., Al-Abdullah, E. S., Haiba, M. E., Alkahtani, H. M., Awad, G. E., Mahmoud, A. H., Ibrahim, B. M., Bari, A., & Villinger, A. (2020). Synthesis and evaluation of new coumarin derivatives as antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory agents. *Molecules*, 25(14), 3251. <https://doi.org/10.3390/molecules25143251>
- (100) Mishra, S., Pandey, A., & Manvati, S. (2020). Coumarin: An emerging antiviral agent. *Heliyon*, 6, e03217. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03217>
- (101) Qin, H.L., Zhang, Z.W., Ravindar, L., & Rakesh, K. P. (2020). Antibacterial activities with the structure-activity relationship of coumarin derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 207, 112832. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112832>
- (102) Gualandi, A., Rodeghiero, G., Della Rocca, E., Bertoni, F., Marchini, M., Perciaccante, R., Jansen, T. P., Ceroni, P., & Cozzi, P. G. (2018). Application of coumarin dyes for organic photoredox catalysis. *Chemical Communications*, 54(72), 10044–10047. <https://doi.org/10.1039/c8cc04048f>

- (103) Prasad, S., Aljaafreh, M. J., Masilamani, V., AlSalhi, M. S., & Mujamammi, W. M. (2020). Time-resolved excited state dynamics of super-exciplex in the coumarin dye laser. *Journal of Molecular Liquids*, 315, 113814. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113814>
- (104) Zhang, G., Zheng, H., Guo, M., Du, L., Liu, G., & Wang, P. (2016). Synthesis of polymeric fluorescent brightener based on coumarin and its performances on paper as light stabilizer, fluorescent brightener and surface sizing agent. *Applied Surface Science*, 367, 167–173. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.01.110>
- (105) v. Pechmann, H. (1884). Neue Bildungsweise der Cumarine. Synthese des Daphnetins. I. *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 17(1), 929–936. <https://doi.org/10.1002/cber.188401701248>
- (106) Samiei, Z., Soleimani-Amiri, S., & Azizi, Z. (2020). Fe₃O₄@C@OSO₃H as an efficient, recyclable magnetic nanocatalyst in pechmann condensation: Green synthesis, characterization, and theoretical study. *Molecular Diversity*, 25, 67–86. <https://doi.org/10.1007/s11030-019-10025-w>
- (107) Rather, I. A., & Ali, R. (2022). An efficient and versatile deep eutectic solvent-mediated green method for the synthesis of functionalized coumarins. *ACS Omega*, 7(12), 10649–10659. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c00293>
- (108) Smith, E. L., Abbott, A. P., & Ryder, K. S. (2014). Deep eutectic solvents (DESs) and their applications. *Chemical Reviews*, 114(21), 11060–11082. <https://doi.org/10.1021/cr300162p>
- (109) Knoevenagel, E. (1898). Condensation von Malonsäure mit aromatischen Aldehyden durch Ammoniak und Amine. *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 31(3), 2596–2619. <https://doi.org/10.1002/cber.18980310308>
- (110) Brahmachari, G. (2018). *Discovery and development of neuroprotective agents from natural products: Natural product drug discovery*. Elsevier.
- (111) Sanad, S. M., & Mekky, A. E. (2020). Synthesis, *in-vitro* antibacterial and anticancer screening of novel nicotinonitrile-coumarin hybrids utilizing piperazine citrate. *Synthetic Communications*, 50(10), 1468–1485. <https://doi.org/10.1080/00397911.2020.1743318>
- (112) Karcz, D., Starzak, K., Ciszkowicz, E., Lecka-Szlachta, K., Kamiński, D., Creaven, B., Miłoś, A., Jenkins, H., Ślusarczyk, L., & Matwijczuk, A. (2022). Design, spectroscopy, and assessment of cholinesterase inhibition and antimicrobial activities of novel coumarin–thiadiazole hybrids. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(11), 6314. <https://doi.org/10.3390/ijms23116314>
- (113) Shakil, M. R., Meguerdichian, A. G., Tasnim, H., Shirazi-Amin, A., Seraji, M. S., & Suib, S. L. (2019). Syntheses of ZnO with different morphologies: Catalytic activity toward coumarin synthesis via the Knoevenagel condensation reaction. *Inorganic Chemistry*, 58(9), 5703–5714. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.9b00053>
- (114) de La Fuente Revenga, M., Herrera-Arozamena, C., Fernández-Sáez, N., Barco, G., García-Orue, I., Sugden, D., Rivara, S., & Rodríguez-Franco, M. I. (2015). New

- coumarin-based fluorescent melatonin ligands. design, synthesis and pharmacological characterization. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *103*, 370–373. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.09.003>
- (115) Shen, X., Liu, X., Wan, S., Fan, X., He, H., Wei, R., Pu, W., Peng, Y., & Wang, C. (2019). Discovery of coumarin as microtubule affinity-regulating kinase 4 inhibitor that sensitize hepatocellular carcinoma to paclitaxel. *Frontiers in Chemistry*, *7*, 366. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00366>
- (116) Bhatia, R., Pathania, S., Singh, V., & Rawal, R. K. (2018). Metal-catalyzed synthetic strategies toward coumarin derivatives. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, *54*, 280–291. <https://doi.org/10.1007/s10593-018-2262-6>
- (117) Trost, B. M., & Toste, F. D. (1996). A new palladium-catalyzed addition: a mild method for the synthesis of coumarins. *Journal of the American Chemical Society*, *118*(26), 6305–6306. <https://doi.org/10.1021/ja961107i>
- (118) Kadnikov, D. V., & Larock, R. C. (2000). Synthesis of coumarins via palladium-catalyzed carbonylative annulation of internal alkynes by *o*-iodophenols. *Organic Letters*, *2*(23), 3643–3646. <https://doi.org/10.1021/ol0065569>
- (119) Aparece, M. D., & Vadola, P. A. (2014). Gold-catalyzed dearomative spirocyclization of aryl alkynoate esters. *Organic Letters*, *16*(22), 6008–6011. <https://doi.org/10.1021/ol503022h>
- (120) Gadakh, S. K., Dey, S., & Sudalai, A. (2015). Rh-catalyzed synthesis of coumarin derivatives from phenolic acetates and acrylates via C–H bond activation. *The Journal of Organic Chemistry*, *80*(22), 11544–11550. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.5b01713>
- (121) Liu, X. G., Zhang, S. S., Jiang, C. Y., Wu, J. Q., Li, Q., & Wang, H. (2015). Cp*Co(III)-catalyzed annulations of 2-alkenylphenols with CO: Mild access to coumarin derivatives. *Organic Letters*, *17*(21), 5404–5407. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.5b02728>
- (122) Zhang, K., Qiao, L., Xie, J., Lin, Z., Li, H., Lu, P., & Wang, Y. (2021). Visible-light-induced C(sp²)–C(sp³) coupling reaction for the regioselective synthesis of 3-functionalized coumarins. *The Journal of Organic Chemistry*, *86*(14), 9552–9562. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c00848>
- (123) Chen, P., Chen, Z., Xiong, B.-Q., Liang, Y., Tang, K.-W., Xie, J., & Liu, Y. (2021). Visible-light-mediated cascade cyanoalkylsulfonylation/cyclization of alkynoates leading to coumarins *via* SO₂ insertion. *Organic & Biomolecular Chemistry*, *19*(14), 3181–3190. <https://doi.org/10.1039/d1ob00142f>
- (124) Kelkar, R. M., Joshi, U. K., & Paradkar, M. V. (1986). A novel synthesis of 4-Aminomethylcoumarins. *Synthesis*, *1986*(3), 214–216. <https://doi.org/10.1055/s-1986-31620>
- (125) Yu, D., Ji, R., Sun, Z., Li, W., & Liu, Z. Q. (2021). Electrochemical chlorination and bromination of electron-deficient C-H bonds in quinones, coumarins, quinoxalines

- and 1,3-diketones. *Tetrahedron Letters*, 86, 153514. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2021.153514>
- (126) Quirk, R. P., Gambill, C. R., & Thyvelikakath, G. X. (1981). Alkoxy-carbenium ions. relative thermodynamic stabilities via pairwise equilibrations. *The Journal of Organic Chemistry*, 46(16), 3181–3186. <https://doi.org/10.1021/jo00329a006>
- (127) Le Bihan, J. Y., Faux, N., Caro, B., Robin-Le Guen, F., & Le Poul, P. (2007). Easy synthesis of heterocyclic carbene complexes by activation of chalcogenopyrones and benzopyrones to pyrylium salts and subsequent addition of carbanion of methoxy(methyl)pentacarbonyltungsten carbene complex. *Journal of Organometallic Chemistry*, 692(24), 5517–5522. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2007.08.039>
- (128) Divakar, K., & Rao, A. (1976). A Convenient Route for the Preparation of 1-Aryl-2-Propanones. *Indian Journal of Chemistry B*, 14(9), 704–705.
- (129) Sehgal, C. K., Kachroo, P. L., Taneja, S. C., Dhar, K. L., & Atal, C. K. (1980). A novel ring opening of Coumarins. *Synthetic Communications*, 10(1), 37–42. <https://doi.org/10.1080/00397918008080051>
- (130) Erdemir, S., & Malkondu, S. (2020). A colorimetric and fluorometric probe for hydrazine through subsequent ring-opening and closing reactions: Its environmental applications. *Microchemical Journal*, 152, 104375. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104375>
- (131) Dulenko, V. I., Golyak, V. M., Gubar', V. I., & Alekseev, N. N. (1979). New method for the synthesis of 3-benzofurylacetic acids. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 15, 815. <https://doi.org/10.1007/bf00473578>
- (132) Zheng, T. Y., Zhou, Y. Q., Yu, N., Li, Y. L., Wei, T., Peng, L., Ling, Y., Jiang, K., & Wei, Y. (2022). Deconstructive insertion of oximes into coumarins: Modular synthesis of dihydrobenzofuran-fused pyridones. *Organic Letters*, 24(12), 2282–2287. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.2c00384>
- (133) Campos-González, R., Vázquez-Domínguez, P., Remón, P., Nájera, F., Collado, D., Pérez-Inestrosa, E., Boscá, F., Ros, A., & Pischel, U. (2022). Bis-borylated arylisoquinoline-derived dyes with a central aromatic core: Towards efficient fluorescent singlet-oxygen photosensitizers. *Organic Chemistry Frontiers*, 9(16), 4250–4259. <https://doi.org/10.1039/d2qo00778a>
- (134) Treibs, A., & Kreuzer, F. H. (1968). Difluorboryl-Komplexe von Di- und Tripyrrylmethenen. *Justus Liebigs Annalen Der Chemie*, 718(1), 208–223. <https://doi.org/10.1002/jlac.19687180119>
- (135) Tram, K., Yan, H., Jenkins, H. A., Vassiliev, S., & Bruce, D. (2009). The synthesis and crystal structure of unsubstituted 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene (BODIPY). *Dyes and Pigments*, 82(3), 392–395. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2009.03.001>

- (136) Zhu, X. Y., Wu, H., Guo, X. F., & Wang, H. (2019). Novel BODIPY-based fluorescent probes with large Stokes shift for imaging hydrogen sulfide. *Dyes and Pigments*, 165, 400–407. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2019.02.050>
- (137) Lu, H., Mack, J., Yang, Y., & Shen, Z. (2014). Structural modification strategies for the rational design of red/NIR region BODIPYs. *Chemical Society Reviews*, 43(13), 4778–4823. <https://doi.org/10.1039/c4cs00030g>
- (138) García-Santos, W. H., Ordóñez-Hernández, J., Farfán-Paredes, M., Castro-Cruz, H. M., Macías-Ruvalcaba, N. A., Farfán, N., & Cordero-Vargas, A. (2021). Dibromo-BODIPY as an organic photocatalyst for radical–ionic sequences. *The Journal of Organic Chemistry*, 86(23), 16315–16326. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c01598>
- (139) Ray, C., Schad, C., Moreno, F., Maroto, B. L., Bañuelos, J., Arbeloa, T., García-Moreno, I., Villafuerte, C., Muller, G., & de la Moya, S. (2020). BCl₃-activated synthesis of COO-BODIPY laser dyes: General scope and high yields under mild conditions. *The Journal of Organic Chemistry*, 85(7), 4594–4601. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.9b03059>
- (140) Aguiar, A., Farinhas, J., da Silva, W., Santos, I. C., Alcácer, L., Brett, C. M. A., Morgado, J., & Sobral, A. J. F. N. (2021). New series of BODIPY dyes: Synthesis, characterization and applications in photovoltaic cells and light-emitting diodes. *Dyes and Pigments*, 193, 109517. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2021.109517>
- (141) Bassan, E., Gualandi, A., Cozzi, P. G., & Ceroni, P. (2021). Design of BODIPY dyes as triplet photosensitizers: Electronic properties tailored for solar energy conversion, photoredox catalysis and photodynamic therapy. *Chemical Science*, 12(19), 6607–6628. <https://doi.org/10.1039/d1sc00732g>
- (142) Brückner, C., Karunaratne, V., Rettig, S. J., & Dolphin, D. (1996). Synthesis of meso-phenyl-4,6-dipyrrins, preparation of their Cu(II), Ni(II), and Zn(II) chelates, and structural characterization of bis[meso-phenyl-4,6-dipyrrinato]Ni(II). *Canadian Journal of Chemistry*, 74(11), 2182–2193. <https://doi.org/10.1139/v96-245>
- (143) Matveeva, M. D., Zhilyaev, D. I., Miftyakhova, A. R., Chulkin, P., Janasik, P., Voskressensky, L. G., Talarico, G., & Efimov, I. V. (2022). Synthesis and photophysical properties of novel oxadiazole substituted BODIPY fluorophores. *New Journal of Chemistry*, 46(12), 5725–5729. <https://doi.org/10.1039/d1nj05317e>
- (144) Clarke, R. G., & Hall, M. J. (2019). Recent developments in the synthesis of the BODIPY dyes. *Advances in Heterocyclic Chemistry*, 128, 181–261. <https://doi.org/10.1016/bs.aihch.2018.12.001>
- (145) Mori, R., Asakura, M., Kobayashi, Y., Mashimo, H., Roppongi, M., & Ito, S. (2022). Synthesis of π-conjugated asymmetric aza-BODIPYs via nitrosobicyclopyrroles. *Tetrahedron Letters*, 96, 153759. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2022.153759>
- (146) Shah, M., Thangaraj, K., Soong, M. L., Wolford, L. T., Boyer, J. H., Politzer, I. R., & Pavlopoulos, T. G. (1990). Pyrromethene-BF₂ complexes as laser dyes:1. *Heteroatom Chemistry*, 1(5), 389–399. <https://doi.org/10.1002/hc.520010507>

- (147) Gupta, M., Parvathi, K., Mula, S., Maity, D. K., & Ray, A. K. (2016). Enhanced fluorescence of aqueous bodipy by interaction with cavitand cucurbit[7]uril. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 16(4), 499–506. <https://doi.org/10.1039/c6pp00325g>
- (148) Du, X. F., Zhu, B. J., Cai, Z. C., Wang, C., & Zhao, M. X. (2019). Polyamine-modified gold nanoparticles readily adsorb on cell membranes for bioimaging. *ACS Omega*, 4(18), 17850–17856. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b02579>
- (149) Boens, N., Verbelen, B., & Dehaen, W. (2015). Postfunctionalization of the BODIPY Core: Synthesis and spectroscopy. *European Journal of Organic Chemistry*, 2015(30), 6577–6595. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201500682>
- (150) Ulrich, G., Ziesel, R., & Harriman, A. (2008). The chemistry of fluorescent BODIPY dyes: Versatility unsurpassed. *Angewandte Chemie International Edition*, 47(7), 1184–1201. <https://doi.org/10.1002/anie.200702070>
- (151) Farinone, M., Cybińska, J., & Pawlicki, M. (2020). BODIPY-amino acid conjugates – tuning the optical response with a meso-heteroatom. *Organic Chemistry Frontiers*, 7(17), 2391–2398. <https://doi.org/10.1039/d0qo00481b>
- (152) Deng, P., Xiao, F., Wang, Z., & Jin, G. (2021). A novel BODIPY quaternary ammonium salt-based fluorescent probe: Synthesis, physical properties, and live-cell imaging. *Frontiers in Chemistry*, 9, 650006. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.650006>
- (153) Miyaura, N., Yamada, K., & Suzuki, A. (1979). A new stereospecific cross-coupling by the Palladium-catalyzed reaction of 1-alkenylboranes with 1-alkenyl or 1-alkynyl halides. *Tetrahedron Letters*, 20(36), 3437–3440. [https://doi.org/10.1016/s0040-4039\(01\)95429-2](https://doi.org/10.1016/s0040-4039(01)95429-2)
- (154) Sonogashira, K., Tohda, Y., & Hagihara, N. (1975). A convenient synthesis of acetylenes: Catalytic substitutions of acetylenic hydrogen with bromoalkenes, iodoarenes and bromopyridines. *Tetrahedron Letters*, 16(50), 4467–4470. [https://doi.org/10.1016/s0040-4039\(00\)91094-3](https://doi.org/10.1016/s0040-4039(00)91094-3)
- (155) Negishi, E., King, A. O., & Okukado, N. (1977). Selective carbon-carbon bond formation via transition metal catalysis. 3. A highly selective synthesis of unsymmetrical biaryls and diarylmethanes by the nickel- or palladium-catalyzed reaction of aryl- and benzylzinc derivatives with aryl halides. *The Journal of Organic Chemistry*, 42(10), 1821–1823. <https://doi.org/10.1021/jo00430a041>
- (156) Mizoroki, T., Mori, K., & Ozaki, A. (1971). Arylation of olefin with aryl iodide catalyzed by Palladium. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 44(2), 581–581. <https://doi.org/10.1246/bcsj.44.581>
- (157) Heck, R. F., & Nolley, J. P. (1972). Palladium-catalyzed vinylic hydrogen substitution reactions with aryl, benzyl, and styryl halides. *The Journal of Organic Chemistry*, 37(14), 2320–2322. <https://doi.org/10.1021/jo00979a024>
- (158) Kosugi, M., Sasazawa, K., Shimizu, Y., & Migita, T. (1977). Reactions of allyltin compounds III. Allylation of aromatic halides with allyltributyltin in the presence of

- tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0). *Chemistry Letters*, 6(3), 301–302. <https://doi.org/10.1246/cl.1977.301>
- (159) Milstein, D., & Stille, J. K. (1978). A general, selective, and facile method for ketone synthesis from acid chlorides and organotin compounds catalyzed by Palladium. *Journal of the American Chemical Society*, 100(11), 3636–3638. <https://doi.org/10.1021/ja00479a077>
- (160) Paul, F., Patt, J., & Hartwig, J. F. (1994). Palladium-catalyzed formation of carbon-nitrogen bonds. reaction intermediates and catalyst improvements in the hetero cross-coupling of aryl halides and tin amides. *Journal of the American Chemical Society*, 116(13), 5969–5970. <https://doi.org/10.1021/ja00092a058>
- (161) Guram, A. S., & Buchwald, S. L. (1994). Palladium-catalyzed aromatic aminations with in situ generated aminostannanes. *Journal of the American Chemical Society*, 116(17), 7901–7902. <https://doi.org/10.1021/ja00096a059>
- (162) Gong, Q., Wu, Q., Guo, X., Li, H., Li, W., Yu, C., Hao, E., & Jiao, L. (2021). Thiophene-fused BODIPY dimers and tetramers from oxidative aromatic couplings as near-infrared dyes. *Organic Letters*, 23(19), 7661–7665. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.1c02926>
- (163) Li, P., Sun, D., Liu, N., Fang, Y., Gros, C. P., Bolze, F., & Xu, H. J. (2021). Synthesis, spectroscopic characterization and one and two-photon absorption properties of π -expanded thiophene and truxene BODIPYs dyes. *Dyes and Pigments*, 192, 109418. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2021.109418>
- (164) Duran-Sampedro, G., Palao, E., Agarrabeitia, A. R., de la Moya, S., Boens, N., & Ortiz, M. J. (2014). Negishi reaction in BODIPY dyes. Unprecedented alkylation by palladium-catalyzed C–C coupling in boron dipyrromethene derivatives. *RSC Advances*, 4(37), 19210–19213. <https://doi.org/10.1039/c4ra00651h>
- (165) Bellomo, C., Zanetti, D., Cardano, F., Sinha, S., Chaari, M., Fin, A., Maranzana, A., Núñez, R., Blangetti, M., & Prandi, C. (2021). Red light-emitting Carborane-BODIPY dyes: Synthesis and properties of visible-light tuned fluorophores with enhanced boron content. *Dyes and Pigments*, 194, 109644. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2021.109644>
- (166) Ceugniet, F., Hualmé, Q., Sutter, A., Jacquemin, D., Leclerc, N., & Ulrich, G. (2022). Hetero-substituted $\alpha\beta$ -fused BODIPY. *Chemistry – A European Journal*, 28(25), e202200130. <https://doi.org/10.1002/chem.202200130>
- (167) Alnoman, R. B., Stachelek, P., Knight, J. G., Harriman, A., & Waddell, P. G. (2017). Synthesis of 2-aminoBODIPYs by palladium catalysed amination. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 15(36), 7643–7653. <https://doi.org/10.1039/c7ob01767g>
- (168) Vilsmeier, A., & Haack, A. (1927). Über die Einwirkung von Halogenphosphor auf Alkyl-formanilide. Eine neue Methode zur Darstellung sekundärer und tertiärer p-Alkylamino-benzaldehyde. *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft (A and B Series)*, 60(1), 119–122. <https://doi.org/10.1002/cber.19270600118>