

Síntesis Mecanoquímica de Sondas Fluorescentes por Extrusión. Prueba de Principio

Ángel Demián Granados Hernández, Rocío Rojas Durán, Ismael Javier Arroyo Córdoba*

Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, C.P. 36050, Guanajuato, Guanajuato, México.

ij.arroyo@ugto.mx

Resumen

En este proyecto se demuestra la implementación de un aparato de extrusión mecanoquímica utilizando dispositivos comunes y de fácil adquisición. Se probó que, con este sistema, diferentes nucleófilos centrados en átomos de carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre pueden llevar a cabo reacciones de sustitución nucleofílica aromática en el 8-metilborodipirrometeno (**1**), sin la necesidad de utilizar ningún tipo de solvente como medio de reacción. Los resultados aquí obtenidos son similares en tiempos y rendimientos químicos a los generados en solución. Entre los productos producidos, el BODIPY-estróna **5** destaca como un ejemplo de sonda fluorescente para posible marcaje biológico.

Palabras clave: mecanoquímica; borodipirrometenos, sustitución nucleofílica aromática.

Introducción

La mecanoquímica es una técnica de síntesis que ha sido utilizada principalmente en el área de la metalurgia y de la química inorgánica.¹ Sin embargo, en tiempos recientes se ha convertido en una poderosa metodología en todas las áreas de la química,² incluyendo la química supramolecular,³ la organometálica,⁴ la ciencia de los materiales,⁵ la bioquímica,⁶ la farmacéutica⁷ y por supuesto; la química orgánica.⁸ Debido a su gran potencial, ha sido considerada por la IUPAC como una de las diez tecnologías capaces de cambiar al mundo,⁹ al buscar hacerlo más sostenible. Esto se debe a que cumple con los objetivos fundamentales de los "12 Principios de la Química Verde",¹⁰ al promover reacciones eficientes, libres de solvente y con ahorro de energía.

Las reacciones mecanoquímicas se han definido como: *"una reacción química que es inducida por la absorción directa de energía mecánica"*.¹¹ Esta energía puede impartirse al sistema por diferentes modos de acción mecánica como impacto, compresión, corte, estiramiento, trituración o molienda, etcétera. Dicha acción mecánica puede resultar en una reducción del tamaño de las partículas, la creación de sitios activos para la reactividad química o la generación de nuevas superficies para que las partículas entren en contacto y reaccionen.¹² Las primeras reacciones mecanoquímicas se llevaron a cabo usando un mortero de laboratorio con su pistilo (Figura 1a) como instrumentos de molienda manual.¹³ Sin embargo, el uso de estos elementos generan que las reacciones dependan completamente de la persona que este realizando el procedimiento, trayendo consigo limitaciones en los parámetros de control de la reacción. Para tener una mejor reproducibilidad de la reacción, la mecanoquímica ha tomado prestados ciertos aparatos que suelen usarse en la industria, como lo son los molinos de agitación (Figura 1b), los molinos planetarios (Figura 1c) y los extrusores de molienda continua (Figura 1d).

En los molinos agitadores, un recipiente o reactor especial que contiene a los reactivos y de una a varias bolas de molienda, se agita siguiendo un movimiento oscilante que puede ser vertical u horizontal. Mientras que, en el molino planetario, el reactor es colocado sobre una rueda horizontal que hace girar al recipiente sobre si mismo; aquí se pueden utilizar hasta 100 bolas de molienda. En ambos casos, la frecuencia de oscilaciones o giro pueden ser establecidas en el aparato, asegurándose así que las condiciones sean constantes a lo largo del tiempo de reacción.



Figura 1. a) Mortero y pistilo manuales (izq.) y un mortero mecanizado (der.), b) Molino agitador (izq.) con ejemplos de las bolas de molienda y sus reactores (der.), c) Molino planetario (izq.) con ejemplo de su reactores (der.), d) Extrusor continuo. Tomado de Frišić y Tan.¹⁴

En el extrusor continuo y, a diferencia de los molinos mencionados, no se requieren de recipientes o bolas de molienda; ya que los reactivos se mezclan y transportan a lo largo de los tornillos sin fin del aparato, previniendo así posibles atascos por la formación de los productos. Otra ventaja que presentan estos extrusores es la posibilidad de controlar la temperatura, un parámetro que puede influir en los tiempos y rendimientos de las reacciones. Hasta el momento, el número de publicaciones usando extrusión en química orgánica esta limitado a pocos ejemplos.¹⁵ Una de las razones es el alto costo que pueden llegar a tener no solo las máquinas extrusoras, sino también los molinos que se encuentran disponibles comercialmente. Sin embargo, recientemente Pereira y colaboradores¹⁶ desarrollaron y probaron un dispositivo tipo extrusor de un solo tornillo, con materiales accesibles y de fácil operación (Figura 2); abriendo así, una gran oportunidad para todos los grupos de investigación interesados en trabajar con mecanoquímica.

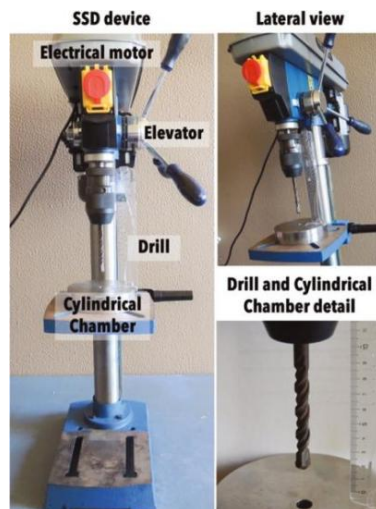
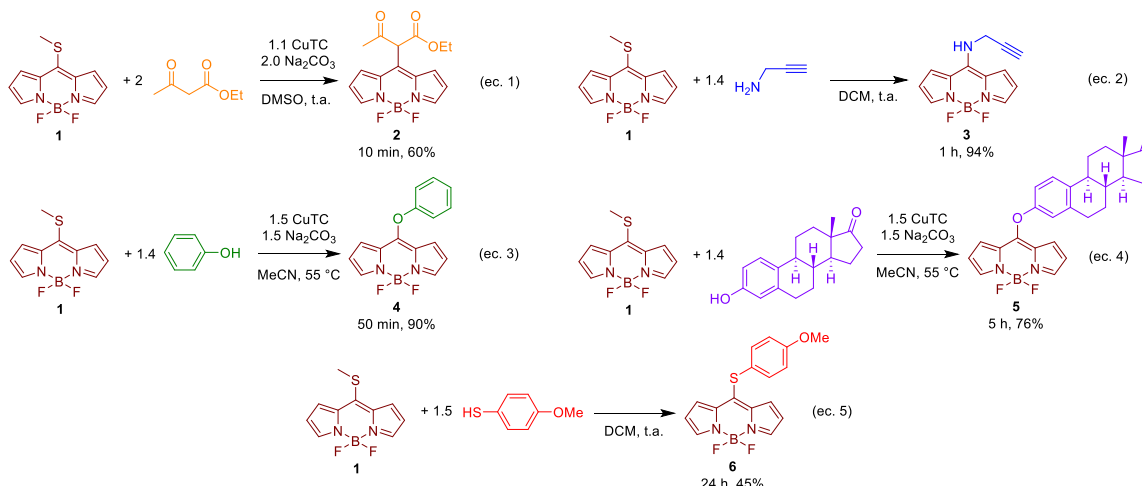


Figura 2. Dispositivo utilizado por Pereira et al.¹⁶

Por otro lado, las sondas fluorescentes son moléculas fluorescentes diseñadas para localizarse en una región específica de un espécimen biológico y responder a un estímulo específico. Así, las sondas fluorescentes son

empleadas en el área de la biología celular para detectar la presencia y activación de alguna proteína particular, identificar la formación o cambios conformacionales de las proteínas, monitorear procesos biológicos *in vivo*, entre muchas otras aplicaciones.¹⁷ Idealmente, una sonda fluorescente debe ser pequeña, brillante y químicamente estable, estas condiciones son cumplidas a cabalidad por los compuestos conocidos como borodipirrometenos o BODIPYs.

Algunos de estos borodipirrometenos pueden ser sintetizados a través de una reacción de sustitución nucleofílica entre el 8-metilBODIPY **1** y diferentes nucleófilos, según lo reportado por Peña y colaboradores. En el Esquema 1, se muestran algunos ejemplos representativos de borodipirrometenos que se sintetizaron con diferentes sustituyentes -unidos a la posición 8 del BODIPY-, como son el carbono¹⁸ (Esquema 1, ec. 1), el nitrógeno¹⁹ (Esquema 1, ec. 2), el oxígeno²⁰ (Esquema 1, ec. 3 y 4) y el azufre²¹ (Esquema 1, ec. 5).



Esquema 1. Algunos ejemplos de BODIPYs obtenidos por sustitución nucleofílica aromática, reportados por Peña et al.¹⁸⁻²¹

Cabe mencionar que, este tipo de reacciones de sustitución nucleofílica en la posición 8 del BODIPY han encontrado aplicación directa en el marcaje de proteínas,²² biotioles²³ y aminoácidos;²⁴ lo que muestra su utilidad como sondas fluorescentes en biología celular.

Considerando que, se ha reportado que a través de la mecanoquímica es posible reducir tiempos de reacción y mejorar los rendimientos químicos de las reacciones en solvente y, tomando en cuenta las posibles aplicaciones de los BODIPYs; se abre una gran oportunidad para aplicar la mecanoquímica por extrusión en la síntesis de borodipirrometenos sustituidos en la posición 8 con diferentes nucleófilos, utilizando un extrusor de fácil acceso e implementación.

Resultados y Discusión

Para realizar este proyecto se utilizó un sistema similar al probado por Pereira y colaboradores (Figura 2). En nuestro caso se usó un taladro inalámbrico de velocidad ajustable, equipado con una broca de diámetro de 27/64 de pulgada y montado en un soporte. Según el fabricante, la velocidad mínima que puede alcanzar el taladro es de 450 revoluciones por minuto (rpm) y su velocidad máxima es de 2000 rpm. El reactor consistió en un cilindro de acero inoxidable de 3 centímetros de diámetro y 4 centímetros de alto. En dicho cilindro se realizó un agujero de 7/16 de pulgada de diámetro y 3 centímetros de profundidad. Esta configuración nos permite colocar el reactor en una parrilla de calentamiento para realizar reacciones a temperatura, en caso de ser necesario (Figura 3).

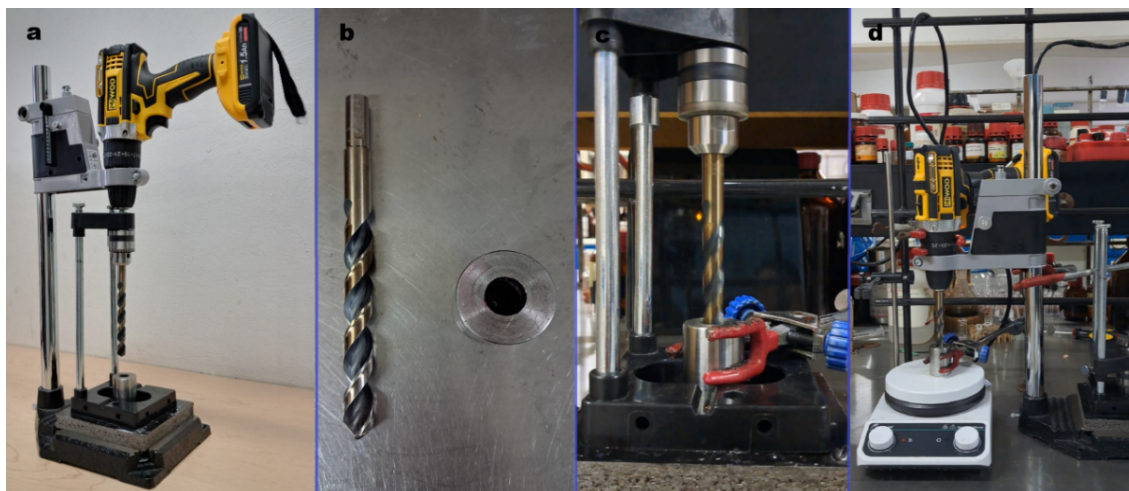


Figura 3. a) Sistema de extrusión implementado en este proyecto, b) Detalle de broca y reactor utilizados, c) Detalle del sistema en funcionamiento, d) Implementación de parrilla de calentamiento en el sistema.

Con el dispositivo montado se inició el proyecto probando la reacción de sustitución nucleofílica por parte del etil acetoacetato en el 8-metilbODIPY **1**; utilizando las condiciones mencionadas en el artículo original - pero sin el solvente-, con una velocidad de 450 rpm. Después de solo 10 minutos de extrusión, el material de partida se consumió en su totalidad y el producto esperado **2** se aisló en un 63% de rendimiento. (Tabla 1, entrada1). Este resultado es idéntico en tiempo de reacción al descrito en el artículo publicado en 2015,¹⁸ pero con un rendimiento ligeramente superior (Esquema 1, ec. 1). Alentados por este inicio, se decidió probar la reacción sin usar tiofenilcarboxilato de cobre (I) (CuTC) y reduciendo las cantidades de reactivos utilizados (Tabla 1, entradas 2 y 3, respectivamente). Sin embargo, a pesar de obtener **2**, en estos casos los rendimientos fueron inferiores al obtenido inicialmente.

Tabla 1. Síntesis Mecanoquímica del Borodipirrometeno **2**

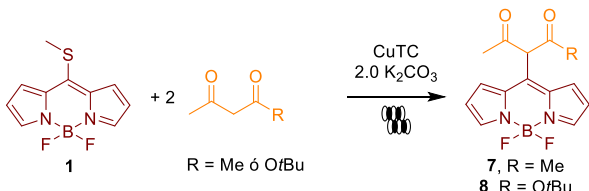
1 + CC(=O)CC(=O)OCC $\xrightarrow[\text{K}_2\text{CO}_3]{\text{CuTC}}$ **2**

= simboliza activación mecánica por extrusión

Entrada	Etil acetoacetato (equiv.)	CuTC (equiv.)	Base (equiv.)	Velocidad (rpm)	Tiempo (minutos)	Rendimiento (porcentaje)
1	2	1.1	2	450	10	63
2	2	0	2	450	10	55
3	1.1	1.1	1.1	450	20	33

En un intento por determinar los alcances y limitaciones de nuestra metodología, se decidió probar la síntesis de los compuestos **7** y **8**, generados por la sustitución nucleofílica entre la acetil acetona y el *tert*-butil acetoacetato con el bodipy **1**. En 30 minutos se obtuvieron los derivados esperados **7** y **8** con un 82% y un 58% (Tabla 2, entradas 1 y 3 respectivamente); estos rendimientos son similares a los reportados en solución (92% para **7** y 61% para **8**, referencia 18). Como se observó anteriormente, al omitir el uso de CuTC los rendimientos disminuyen significativamente (Tabla 2, entrada 2 y 4).

Tabla 2. Síntesis Mecanoquímica de los Borodipirrometenos 7 y 8



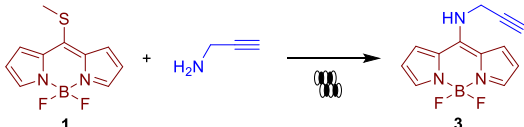
1 + 2 $\xrightarrow[\text{2.0 K}_2\text{CO}_3]{\text{CuTC}}$ 7, R = Me
8, R = OtBu

Entrada	CuTC (equiv.)	Velocidad (rpm)	Tiempo (minutos)	Rendimiento (porcentaje)
1	1.1	450	30	82
2	0	450	30	38
3	1.1	450	30	58
4	0	450	30	44 ^a

a: Con las condiciones descritas en esta entrada, pero en solución con DMSO a temperatura ambiente, después de 30 minutos se obtiene el producto **7** con un rendimiento del 41%.

A continuación, para la síntesis del borodipirrometeno **3** se utilizaron 1.4 equivalentes de la propargilamina con una velocidad de 450 rpm; después de 60 minutos de extrusión no se observó que el material de partida **1** se consumiera en su totalidad (Tabla 3, entrada 1). En este caso se intentó favorecer la reacción aumentando la cantidad de propargilamina a 3.5 equivalentes, manteniendo la velocidad de extrusión en 450 rpm. Así, se genera a **3** con un 91% de rendimiento (Tabla 3, entrada 2), lo cual es casi idéntico a lo reportado en solución para este compuesto (Esquema 1, ec. 2). También se probó aumentar la velocidad a 725 rpm, manteniendo los 1.4 equivalentes originales de la amina, obteniendo un 85% del producto **3** (Tabla 3, entrada 3).

Tabla 3. Síntesis Mecanoquímica del Borodipirrometeno 3



1 + H₂N-CH₂-C≡CH $\rightarrow$ 3

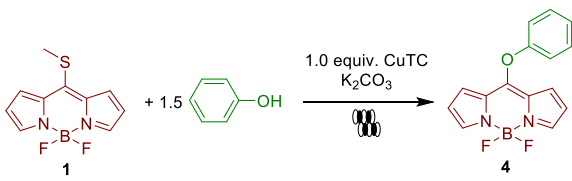
Entrada	Propargilamina (equiv.)	Velocidad (rpm)	Tiempo (minutos)	Rendimiento (porcentaje)
1	1.4	450	60	--- ^a
2	3.5	450	30	91
3	1.4	725	30	85

a: El material de partida **1** no se consumió en su totalidad, la reacción no se purificó.

Por otro lado, se procedió a la síntesis del compuesto **4**. Para este producto, se intentó usar 1.5 equivalentes del fenol a 450 rpm, por 60 minutos a temperatura ambiente y cambiando la cantidad de base usada. Desafortunadamente, en estos intentos el material de partida **1** no se consumió por completo (Tabla 4, entradas 1 y 2). De esta manera, se decidió aumentar la velocidad de extrusión hasta 2000 rpm y, en 50 minutos, se completó la reacción obteniéndose el derivado **4** con un 75% de rendimiento (Tabla 4, entrada 3). Cabe mencionar que en solución, esta reacción se lleva a cabo a 55 °C; por lo tanto, se decidió probar esta síntesis calentando el reactor en una parrilla de laboratorio al mismo tiempo que se realizaba la extrusión.

A 75 °C y con 450 rpm, el rendimiento de **4** disminuye hasta un 40% (Tabla 4, entrada 4); mientras que a 2000 rpm el material de partida termina descomponiéndose (Tabla 4, entrada 5).

Tabla 4. Síntesis Mecanoquímica del Borodipirrometeno **4**

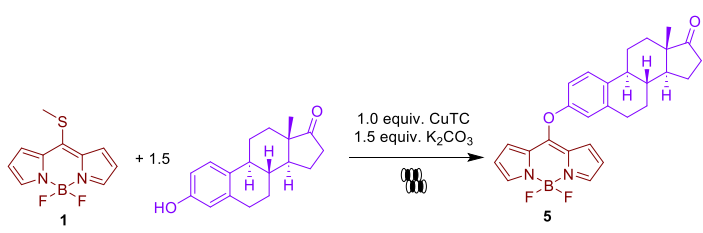


Entrada	Na ₂ CO ₃ (equiv.)	Temperatura	Velocidad (rpm)	Tiempo (minutos)	Rendimiento (porcentaje)
1	1.5	t.a.	450	60	--- ^a
2	3	t.a.	450	60	--- ^a
3	1.5	t.a.	2000	50	75
4	1.5	75 °C	450	30	40
5	1.5	75 °C	2000	30	--- ^b

a: El material de partida **1** no se consumió en su totalidad, la reacción no se purificó. b: El material de partida **1** se descompuso.

De manera similar, se sintetizó el producto **5** proveniente de la sustitución nucleofílica entre la estrona y el bopy **1**. En esta reacción, fué necesario llevar la velocidad de extrusión hasta 2000 rpm para determinar la formación parcial de **5**, ya que a velocidades inferiores la formación del producto era mínima (usando cromatografía de capa fina). Sin embargo, también se observó la descomposición parcial del material de partida **1**, que se encontraba remanente en el reactor (Tabla 5, entrada 1). Por consiguiente, se probó calentar el reactor hasta 100 °C con 450 rpm, siendo necesarias 5 horas de extrusión para consumir el material de partida **1**, generándose el borodipirrometeno **5** en un 54% (Tabla 5, entrada 3). Para este ejemplo, el tiempo de reacción es idéntico al reportado en solución, pero el rendimiento es inferior (Esquema 1, ec. 4).

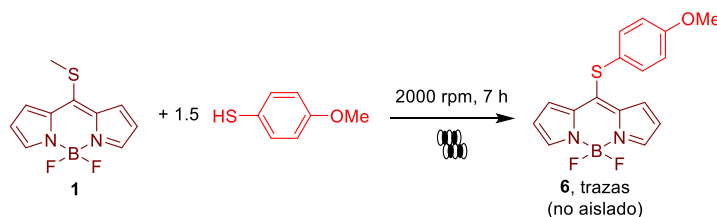
Tabla 5. Síntesis Mecanoquímica del Borodipirrometeno **5**



Entrada	Temperatura	Velocidad (rpm)	Tiempo (minutos)	Rendimiento (porcentaje)
1	t.a.	2000	1	--- ^a
2	100 °C	450	2	--- ^b
3	100 °C	450	5	54

a: El material de partida **1** no se consumió en su totalidad, se observó también la descomposición parcial de **1**, la reacción no se purificó. b: El material de partida **1** no se consumió en su totalidad, la reacción no se purificó.

Por último, se intentó sintetizar el compuesto **6**. Lamentablemente en los intentos llevados a cabo, incluso a 2000 rpm por 7 horas, se observó la formación parcial del producto esperado **6**, siendo apenas observable por cromatografía de capa fina (Esquema 2). Es importante señalar que la síntesis en solución de este producto toma 24 horas (Esquema 1, ec.5) por lo que, observando el comportamiento de las reacciones anteriores, es probable que se requiera el mismo periodo de extrusión para obtener el producto; esto supera la capacidad de trabajo de nuestra metodología.



Esquema 2. Intento de síntesis mecanoquímica del compuesto **6**.

Conviene mencionar que las identidades de los productos **2 a 8** fueron constatadas al comparar los espectros de resonancia magnética nuclear de protón de los compuestos generados, con los espectros reportados en la literatura.¹⁸⁻²¹

Conclusiones

De esta manera, se ha logrado demostrar la prueba de principio de este sistema de extrusión, al ponerlo en práctica con materiales comunes y llevar a cabo reacciones con mecanoquímica en el laboratorio de síntesis orgánica.

Al probar sustituciones nucleofílicas aromáticas sobre el cuerpo del 8-metilborodipirrometeno **1**, se obtuvieron excelentes resultados con los nucleófilos centrados en átomos de carbono; extendiéndolos incluso del objetivo inicial al sintetizar los 3 derivados **2, 7 y 8**. De forma similar, con la propargilamina se llevó a cabo la síntesis de **3** con un tiempo similar a la reacción realizada en solución; pero con un rendimiento químico ligeramente inferior. Además, los nucleófilos centrados en átomos de oxígeno entregaron rendimientos moderados para **4 y 5**, en tiempos de reacción similares a los reportados. Por otro lado, la síntesis mecanoquímica por extrusión del producto **6** fué incompleta después de 7 horas. En este caso es probable que sea necesario realizar la extrusión por más tiempo, sin embargo, esto no es del todo viable ya que se podrían dañar los componentes electrónicos del taladro usado en el sistema. Algunas modificaciones a las condiciones de reacción podrían mejorar este resultado, pero queda pendiente el implementarlas.

Este sistema podría ponerse en funcionamiento de forma sencilla en diferentes laboratorios de síntesis como una herramienta adicional, con la que el químico sintético podría apoyarse para realizar reacciones sin solvente. Esto es particularmente práctico si el solvente por usar es difícil de conseguir o no se cuenta con el, también; cuando el solvente es concretamente tóxico (benceno, solventes halogenados) ó difícil de evaporar (DMF) ó para su eliminación del medio de reacción requiere realizarse algún tratamiento posterior.

El desarrollo de trabajos adicionales con este sistema en nuestro laboratorio se realizarán en fechas próximas, con otros tipos de reacciones que permitan demostrar la fiabilidad y posible universalidad de esta metodología.

Agradecimientos

Ángel Demián Granados Hernández y Rocío Rojas Durán agradecen a la Dirección de Apoyo a la Investigación y al Posgrado por el apoyo financiero otorgado para la realización de este proyecto. Agradecemos también a Cuántico de México por la donación de **1** y por el uso de sus materiales e instalaciones.

Referencias

- ¹ a) C. Suryanarayana, *Prog. Mater. Sci.* **2001**, 46, 1–184; b) E. Avvakumov, M. Senna, N. Kosova, *Soft Mechanochemistry: A Basis for New Chemical Technologies*, **2001**, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- ² a) S. L. James, C. J. Adams, C. Bolm, D. Braga, P. Collier, T. Friščić, F. Grepioni, K. D. M. Harris, G. Hyett, W. Jones, A. Krebs, J. Mack, L. Maini, A. G. Orpen, I. P. Parkin, W. C. Shearouse, J. W. Steed, D. C. Waddell, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 413–447. b) G. A. Bowmaker, *Chem. Commun.* **2013**, 49, 334–348.
- ³ a) T. Friščić, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 3493–3510. b) D. Braga, L. Maini, F. Grepioni, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 7638–7648.
- ⁴ N. R. Rightmire, T. P. Hanusa, *Dalton Trans.* **2016**, 45, 2352–2362.
- ⁵ a) T. Friščić, W. Jones, *Faraday Discuss.* **2007**, 136, 167–178. b) P. Baláž, M. Achimovičová, M. Baláž, P. Billik, Z. Cherkezova-Zheleva, J. M. Criado, F. Delogu, E. Dutková, E. Gaffet, F. J. Gotor, R. Kumar, I. Mitov, T. Rojac, M. Senna, A. Streletsii, K. Wieczorek-Ciurowa, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 7571–7637. c) C. Mottillo, T. Friščić, *Molecules* **2017**, 22, 144.
- ⁶ C. Bolm, J. G. Hernández, *ChemSusChem*, **2018**, 11, 1410–1420.
- ⁷ a) I. Halasz, A. Puskarić, S. A. J. Kimber, P. J. Beldon, A. M. Belenguer, F. Adams, V. Honkimaki, R. E. Dinnebier, B. Patel, W. Jones, V. Strukil, T. Friščić *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2013**, 52, 11538–11541. b) A. Porcheddu, F. Delogu, L. de Luca, E. Colacino, *ACS Sustainable Chem. Eng.*, **2019**, 12044–12051. c) E. Colacino, A. Porcheddu, C. Charnay, F. Delogu, *React. Chem. Eng.*, **2019**, 4, 1179–1188.
- ⁸ a) G.-W. Wang, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 7668–7700. b) J. G. Hernández, T. Friščić, *Tetrahedron Lett.* **2015**, 56, 4253–4265. c) J. G. Hernández, C. Bolm, *J. Org. Chem.* **2017**, 82, 4007–4019. d) J.-L. Do, T. Friščić, *ACS Cent. Sci.* **2017**, 3, 13–19.
- ⁹ F. Gomollón-Bell, *Chem. Int.* **2019**, 41, 12–17.
- ¹⁰ P. T. Anastas, J. C. Warner, *Green Chemistry: Theory Practice*, Oxford University Press, Oxford, **1998**.
- ¹¹ IUPAC. *Compendium of Chemical Terminology*, 2nd ed. (“Gold Book”). Compilado por A. D. McNaught, A. Wilkinson. Blackwell, **1997** Scientific Publications, Oxford.
- ¹² D. Tan, F. García, *Chem. Soc. Rev.*, **2019**, 48, 2274–2292.
- ¹³ L. Takacs, *J. Therm. Anal. Calorim.*, **2007**, 90, 81–84.
- ¹⁴ D. Tan, T. Friščić, *Eur. J. Org. Chem.*, **2018**, 18–33.
- ¹⁵ O. Bento, F. Luttringer, T.-M. El Dine, N. Petry, X. Bantreil, F. Lamaty, *Eur. J. Org. Chem.* **2022**, e202101516.
- ¹⁶ C. Gomes, C. S. Vinagreiro, L. Damas, G. Aquino, J. Quaresma, C. Chaves, J. Pimenta, J. Campos, M. Pereira, M. Pineiro, *ACS Omega*, **2020**, 5, 10868–10877.
- ¹⁷ C. P. Toseland, *J. Chem. Biol.* **2013**, 6, 85–95.
- ¹⁸ B. D. Gutiérrez-Ramos, J. Bañuelos, T. Arbeloa, I. López-Arbeloa, P. E. González-Navarro, K. Wrobel, L. Cerdán, I. García-Moreno, A. Costela, E. Peña-Cabrera, *Chem. Eur. J.*, **2015**, 21, 1755–1764.
- ¹⁹ C. F. A. Gómez-Durán, I. García-Moreno, A. Costela, V. Martín, R. Sastre, J. Bañuelos, F. López-Arbeloa, I. López-Arbeloa, E. Peña-Cabrera, *Chem. Commun.*, **2010**, 46, 5103–5105.
- ²⁰ J. O. Flores-Rizo, I. Esnal, C. A. Osorio-Martínez, C. F. A. Gómez-Durán, J. Bañuelos, I. López-Arbeloa, K. H. Pannell, A. J. Metta-Magaña, E. Peña-Cabrera, *J. Org. Chem.*, **2013**, 78, 5867–5877.
- ²¹ R. I. Roacho, A. Metta-Magaña, J. L. Belmonte-Vázquez, E. Peña-Cabrera, K. H. Pannell, *Can. J. Chem.*, **2016**, 94, 234–239.
- ²² D. Kim, D. Ma, M. Kim, Y. Jung, N. H. Kim, C. Lee, S. W. Cho, S. Park, Y. Huh, J. Jung, K. H. Ahn, *J. Fluoresc.*, **2017**, 27, 2231–2238.
- ²³ J. Zhang, N. Wang, X. Ji, Y. Tao, J. Wang, W. Zhao, *Chem. Eur. J.*, **2020**, 26, 4172 – 4192.
- ²⁴ M. Farinone, J. Cybinska, M. Pawlicki, *Org. Chem. Front.*, **2020**, 7, 2391–2398.