



## **Rotores Moleculares Fluorescentes como Sensores de Viscosidad en Sistemas Biológicos**

Brenda L. *División de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Química, Universidad de Guanajuato, Col. Noria Alta S/N. Guanajuato, Gto. 36050. México.*

*e-mail: mdrj.diazrivera@ugto.mx*

Zenón Bueno, Arturo R. Jaramillo Rodríguez, Clarisa Villegas Gómez, Eduardo Peña Cabrera, María R. J. Díaz Rivera\*

### **RESUMEN**

Existe una gran variedad de motores y máquinas moleculares diseñados para diferentes aplicaciones, una de las cuales es el desarrollo de rotores moleculares, cuyo objetivo es el análisis desde escalas microscópicas hasta sistémicas. De acuerdo con esto, en el presente artículo se describirán conceptos mecanoquímicos, así como el comportamiento de los rotores moleculares y su aplicación en el campo de la bioquímica.

**Palabras clave:** motores y máquinas moleculares, rotor molecular, viscosidad, fluorescencia.

### **ABSTRACT**

There exists a great diversity of molecular motors and machines designed for different applications, one of which is the development of molecular rotors for analysis from the microscopical to the systemic scales. According to this, in the present contribution mechanochemical concepts will be described as well as the behavior of molecular rotors and their applications to the biochemical field.

**Key words:** molecular motors and machines, molecular rotor, viscosity, fluorescence.

### **Introducción**

Los organismos llevan a cabo muchos procesos para su correcto funcionamiento, esto implica que varios sistemas trabajen entre sí para lograrlo. Por ejemplo, la respiración celular no se llevaría a cabo sin una máquina molecular llamada ATP sintasa, de igual forma las bacterias llevan a cabo el mecanismo de Quimiotaxis, gracias a que los flagelos actúan como máquinas moleculares. Es por ello por lo que estas máquinas se han vuelto de sumo interés en los últimos años.

Una máquina es una estructura diseñada para cumplir funciones específicas mediante

movimientos mecánicos; una parte de ella, llamada motor, se encarga de transformar la energía en trabajo mecánico, permitiendo así que puedan ejecutar diversos movimientos de una manera autónoma.

Hoy en día los químicos han encontrado la manera de sintetizar máquinas que cumplan con las características anteriormente mencionadas, pero a una escala molecular. Las máquinas moleculares son un arreglo estructural de moléculas que son responsables de ciertas funciones en un sistema, cumpliéndolas a través de los movimientos dentro de ellas. (Balzani, 2005)



Los movimientos dentro de una máquina molecular son estimulados por agentes externos, es decir, algún tipo de energía, que será convertida en trabajo mecánico. Esta parte de la máquina molecular es a la que llamamos “motores moleculares”. (Balzani, 2005).

Dado al gran interés por estas máquinas moleculares, varios científicos empezaron a hacer investigaciones sobre ellas, teniendo como objetivo crear máquinas moleculares que pudieran controlar para una determinada función. Algunas aportaciones importantes en el descubrimiento y entendimiento de las máquinas moleculares son por Richard Feynman, ganador del premio Nobel de Física en 1965 por explicar estos sistemas y la idea de construir máquinas moleculares. Por otro lado, los investigadores franceses, Jean Pierre Sauvage, James Fraser Stoddart y Bernanard Feringa, (Halford, 2016) en 1994 descubrieron que, al incidir cierta energía, podían hacer rotar un anillo alrededor del otro. Finalmente, en 1999 Ross Kelly y Ben Feringa, (Feringa, 2020) desarrollaron moléculas que podían girar de manera continua y unidireccional por un aporte de energía. (Delden, 2005) Feringa ganó el premio Nobel en Química en 2016 por preparar “un motor que, al recibir luz ultravioleta, podía llegar a dar un giro completo de 360 grados debido a la isomerización, impulsada por luz y calor, de un doble enlace”. Esto lleva a entender que dentro de un motor molecular se pueden generar movimientos rotatorios, dado a la conversión de energía de luz o química. Por esta razón, ahora se habla de “rotores moleculares” que son un sistema de moléculas que giran una parte de ellas contra otra parte o molécula. (Feringa, 2020)

Gracias a estas aportaciones, en la actualidad hay una gran diversidad de trabajos relacionados con rotores moleculares. De ahí

parte el interés en investigar más acerca de estos rotores y saber qué aplicaciones pueden tener, principalmente en el área biológica, pero en especial este artículo se enfocará en aquellos que presentan fluorescencia.

La principal aplicación en la que se quiere hacer énfasis en este trabajo será en el uso que se le ha dado a estos rotores como sensores de viscosidad, debido a la proporcionalidad inversa que presenta la torsión del rotor hacia el grado de viscosidad del ambiente. Así mismo, se considera que la viscosidad es uno de los parámetros importantes en el citoplasma, para la correcta difusión de las moléculas y proteínas, debido a que un cambio en la viscosidad altera la estabilidad de las células, teniendo como consecuencia mal funcionamiento celular o incluso la enfermedad. (Kuimova, 2008)

### **1. Fundamento de las sondas fluorescentes como sensores de viscosidad en sistemas biológicos**

La conformación estructural de los organismos microscópicos posee muchas propiedades fundamentales que les permiten realizar actividades básicas para su funcionamiento y con ello continuar con su existencia. Una de estas propiedades es la viscosidad (propiedad que caracteriza la resistencia de un fluido a fluir), (Levine, 2004) con la cual, al relacionarse con el proceso de difusión (movimiento macroscópico de los componentes de un sistema originado por diferencias de concentración), (Levine, 2004) una célula, por ejemplo, es capaz de llevar a cabo procesos fisiológicos importantes.

Desafortunadamente, existen ocasiones en las que una unidad celular, al sufrir alguna enfermedad, presenta alteraciones en alguno de



sus sistemas internos y/o externos que provocan actividades anormales en sus funciones.

Aproximadamente a mediados de los años 80, el Comité Internacional de Estandarización en Hematología proporcionó una recomendación (ICSH, 1984) para ensayos mecánicos en los que es posible medir la viscosidad de algunos fluidos de sistemas biológicos para el aseguramiento de un buen desempeño sistémico, por ejemplo, en el flujo del plasma sanguíneo a través del endotelio (capa interna de los vasos sanguíneos). (Carvajal, 2017)

Siendo estos avances de gran importancia, es preciso también considerar que la manera más sencilla de realizar el diagnóstico de alguna irregularidad es el eficiente reconocimiento de los cambios que presente un objeto de estudio cuando el ambiente en el que se encuentre, in vivo o in vitro, sea sometido a variaciones en sus diferentes parámetros. (Hanidekker, 2007) Una alternativa para lograr este objetivo puede ser mediante eficientes pruebas de viscosidad a escala microscópica, es decir, que generen resultados precisos en cortos periodos de tiempo. Todo esto debido al gran reto que propone la actividad celular, la cual es posible también gracias a la gran diversidad de reacciones llevadas a cabo entre las moléculas que la conforman, en tiempos muy cortos y en diferentes sitios dentro de esta unidad fundamental.

Con este antecedente, se promueve entonces la necesidad de idear la forma más factible en la que pueda ser evaluado el cambio de la microviscosidad de acuerdo con las reacciones metabólicas que ocurren tanto en el citoplasma de una célula, como en sus organelos, al estar esta unidad dañada o no.

Por lo tanto, es propuesto el empleo de colorantes fluorescentes en pruebas de identificación de irregularidades causadas por alguna enfermedad considerando, en determinadas condiciones, el cambio que podría tener la microviscosidad “normal” de la región de estudio de una célula frente al colorante utilizado para su análisis, contra el cambio que tendría otra célula “anormal” bajo el mismo ambiente de estudio.

Dichas pruebas son llevadas a cabo con el empleo de rotores moleculares fluorescentes, conocidos mejor en su aplicación como biosensores fluorescentes. Su función se logra bajo condiciones específicas, ya sea en cuanto a microconcentraciones, temperatura, y/o selección de disolventes. El trabajo de este tipo de moléculas en el estudio de la viscosidad se basa en la intensidad de energía emitida en forma de luz por el grado de interacción ligando-receptor que presenten las moléculas del colorante respecto a las moléculas proteínicas que conformen la diana de estudio. Dicho grado de interacción, determinará la precisión y exactitud con que sea medida la viscosidad del sitio de análisis y, por ende, que pueda encontrarse la presencia de una anomalía, debido a la posible irregularidad en el grado de viscosidad generado por cierta proteína a la cual sea afín el biosensor en el interior de la célula.

Así mismo, el potencial activo del biosensor será determinado por la facilidad de rotación del componente rotatorio de la molécula frente a las propiedades físicas del medio en el que se encuentre. Esto será definido entonces cuando el rotor sea sometido a un ambiente proteínico viscoso al que sea fácilmente “asociable”, e irradiado con energía lumínica de determinada longitud de onda.



Siguiendo las posibles líneas de aplicación de estos fluoróforos, a continuación, se describen tres tipos de rotores moleculares fluorescentes presentes en áreas de investigación referentes a pruebas sensibles a viscosidad.

## 2. Tipos de rotores moleculares fluorescentes y su aplicación

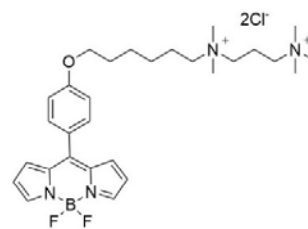
### 2.1. BODIPYs

#### 2.1.1. Medición de la viscosidad de la membrana plasmática neural

Los derivados de BODIPY sustituidos por fenilos en la posición meso han sido utilizados para el desarrollo de rotores moleculares fluorescentes (FMR por sus siglas en inglés) debido a la alta capacidad de rotación de los sustituyentes meso fenilos. (Lee, 2018)

En 2019 Kubánková y colaboradores emplearon una sonda fluorescente de BODIPY (Figura 1) con el objetivo de medir la microviscosidad de la membrana plasmática neuronal. (Kubánková, 2019) La sonda se localizó en la región de la cola de la bicapa lipídica donde se observó un decaimiento en la emisión de fluorescencia dependiente de la viscosidad. Este BODIPY demostró ser ideal para monitorear los cambios de viscosidad a diferentes temperaturas sin ser afectado. (Kubánková, 2019)

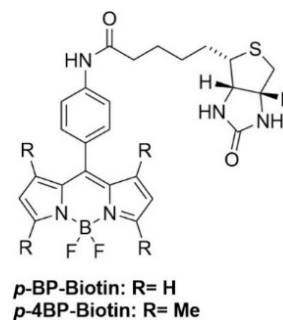
Al utilizar estos rotores se encontró que la microviscosidad está determinada por el ácido graso de los grupos fosfolípidos de la membrana y el contenido de colesterol presente el cual también puede regular la interacción de la membrana con el citoesqueleto. Esto demostró que las células del neuroblastoma (cáncer en células nerviosas) tienen una mayor viscosidad que las neuronas, habiendo una diferencia en la composición de la membrana.



**Figura 1.** Estructura química de la sonda fluorescente para medir la microviscosidad.

#### 2.1.2. Identificación de proteínas de biotina

Por otro lado, en febrero de 2020 Xiao Liu y colaboradores reportaron la interacción de un rotor en biomoléculas. El rotor sintetizado se une a la biotina formando p-BP-biotina (Figura 2), con el objetivo de probar posibles efectos del solvente y respuestas de viscosidad utilizando una mezcla de etilenglicol-glicerol. (Liu, 2018)



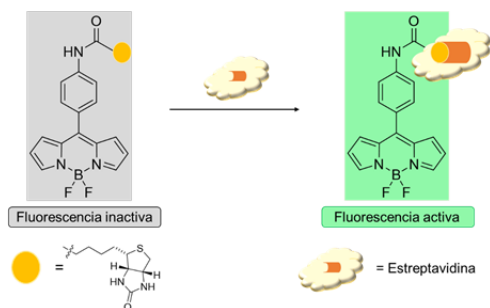
**Figura 2.** Estructura química de la la p-BP-Biotin y p-4BP-Biotin

Los resultados arrojaron que la p-BP-biotina evidenciaba una alta sensibilidad a la viscosidad sin efectos relevantes del solvente, por otro lado, la p-4BP-biotina no mostró sensibilidad a la viscosidad como se esperaba.

Posteriormente la p-BP-biotina se estudió en presencia de estreptavidina (Figura 3), dando como resultado una considerable mejora en la



emisión de fluorescencia, revelando una reducción de sensibilidad en la viscosidad. (Liu, 2018) La estreptavidina ayudó en el bloqueo de los movimientos mejorando la emisión de fluorescencia demostrando la capacidad del rotor para detectar proteínas.



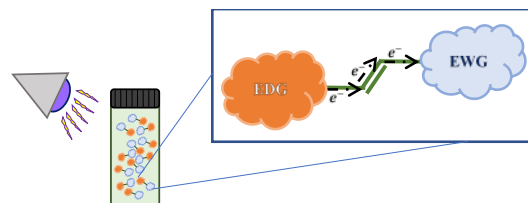
**Figura 3.** Fluorescencia de la *p*-BP-Biotina al interactuar con estreptavidina.

Finalmente, a partir de los resultados obtenidos el rotor molecular también fue estudiado para aplicarlo en el reconocimiento de anticuerpos mPEG, abriendo la posibilidad de crear nuevos rotores con diversas aplicaciones.

## 2.2. Push-pull

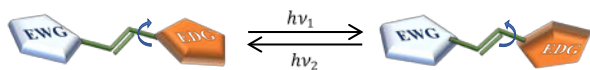
Introduciendo al lector en otro tipo de rotores moleculares, localizados en segundo término en el presente texto, será importante tener en cuenta que, en el transcurso de esta sección, cualquier término encontrado como efecto push-pull o donador-aceptor serán conceptos referidos a la misma idea. Sea entonces la conceptualización de ambos términos una molécula constituida por dos grupos principales unidos mediante un enlace  $\pi$ -conjugado que actúa como un puente electrónico que facilita la transferencia de carga. Tras la fotoexcitación de dicha molécula (i.e., la promoción de energía a partir de una fuente fotoeléctrica), el sustituyente electrodonador (Electron-Donating Group, EDG) es capaz de transferir energía electrónica hacia el sustituyente

electroatractor (Electron- Withdrawing Group, EWG), a través del enlace-puente (Figura 4).

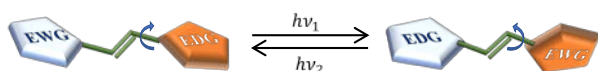


**Figura 4.** Fenómeno de transferencia de carga desde un grupo *electrodonador* hacia un grupo *electroatractor*, por un enlace  $\pi$ -conjugado, tras la promoción de energía a partir de una fuente

La transferencia electrónica puede facilitarse cuando estos tres componentes estructurales de la molécula poseen determinadas características que podrían considerarse predecibles a “simple vista”, aun sin haber apreciado el análisis de las propiedades fotofísicas, de intensidad y de sensibilidad a la microviscosidad (Lee, 2018) que existen detrás de ellas. Tales características se refieren a que, tanto la fuerza electrodonadora y electroaceptora respectiva a cada unidad, como el incremento en la longitud de la conjugación del enlace-puente, promueven la capacidad de que una transferencia electrónica unidireccional genere un comportamiento rotatorio en el grupo electrodonador respecto a la unidad electroatractora (Figura 5, Twisted Intramolecular Charge Transfer-TICT). Además, en ocasiones puede ocurrir el retorno de carga (Figura 6) provocado por el intercambio de roles entre los grupos involucrados en la transferencia de carga (Twisted Intramolecular Charge Shuttle-TICS). (Chi, 2019)



**Figura 5.** Fenómeno de transferencia de carga unidireccional por giro intramolecular (TICT), sucedido en un periodo de tiempo equivalente a la ocurrencia de los fenómenos de excitación y relajación molecular (aproximadamente de  $10^{-6}$  a  $10^{-9}$  s). La energía de fluorescencia emitida por la molécula excitada será menor a la



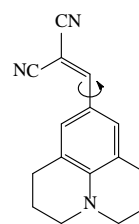
**Figura 6.** Fenómeno de Giro Intramolecular por Transporte de Carga (TICS), sucedido en un periodo de tiempo equivalente a los fenómenos de excitación y relajación molecular (aproximadamente de  $10^{-6}$  a  $10^{-9}$  s). La energía de fluorescencia emitida por la molécula excitada

Como se ha descrito en el fundamento de acción de las sondas fluorescentes, las propiedades físicas que caractericen al ambiente en el que se encuentren los rotores moleculares fluorescentes, pueden tener un rol importante en la actuación de estos compuestos. Por ejemplo, la variación de la polaridad del medio proporcionará una mayor o menor facilidad en la rotación del componente rotatorio del motor molecular, es decir, la capacidad de giro de la unidad molecular fotoquímicamente activa será directamente proporcional a las diferencias que existan entre los momentos dipolares tanto del rotor molecular, como del medio en el que se encuentre dicho sensor.

Así mismo, otra particularidad clara que se involucra en la intensidad de fluorescencia del rotor molecular fluorescente es la viscosidad del entorno. (Lee, 2018) El tiempo de permanencia de la molécula fotoeléctricamente

excitada en el estado TICT, i.e. de giro intramolecular por transferencia electrónica, será función directa del grado de viscosidad del medio en el que se encuentre el colorante. Es decir, si el tiempo de retorno de la unidad, del estado localmente excitado a su estado basal es incrementado, la energía remanente del estado localmente excitado llevará rápidamente a la molécula a un cambio en la conformación por transferencia de carga, generándose de esta manera el giro intramolecular y disminuyendo a su vez la intensidad de fluorescencia. (Hanidekker, 2010)

Un ejemplo de molécula de tipo push-pull aplicada al análisis de la microviscosidad en sistemas biológicos es la 9-(dicianovinil) julolidina (DCVJ, figura 7).<sup>9</sup> (Hanidekker, 2010) Las posibles aplicaciones de este fluoróforo ya sea como sensor de microviscosidad, o bien para el monitoreo de reacciones de síntesis poliméricas, ha sido reportada en varias investigaciones llevadas a cabo desde antes de los años 80. (Kung, 1989)



**Figura 7.** Rotor molecular fluorescente 9-(dicianovinil) julolidina (DCVJ), como sensor de viscosidad en microsistemas poliméricos naturales y artificiales.

Como ya se ha mencionado anteriormente, dentro de la unidad fundamental de los organismos vivos, se llevan a cabo innumerables reacciones bioquímicas que promueven sus correctas actividades fisiológicas, tales como el transporte o la difusión proteínica. Bajo estos fundamentos, se



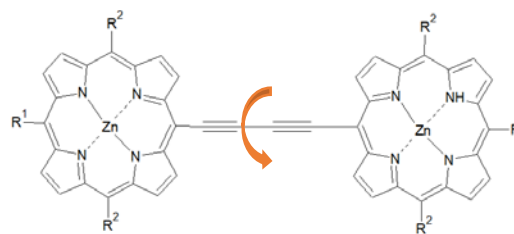
propuso el estudio de la producción polimérica de microestructuras celulares, en donde el principal objeto de estudio fue la polimerización como uno de los factores clave en la variación de la viscosidad. (Kung, 1986) De esta manera, Kung y Reed (1989) utilizaron el colorante fluorescente DCVJ para monitorear la polimerización de la tubulina, una proteína microtubular cilíndrica que define la estructura móvil del citoesqueleto celular eucariote.

### 2.3. Porfirinas

Las porfirinas al tener una estructura conformada por 4 anillos pirrólicos, puede formar complejos con iones metálicos mediante la interacción con el nitrógeno de cada pirrol. De esta manera tienen una gran versatilidad al poder emplear sustituciones químicas para introducir grupos funcionales con un cierto interés. Además, los derivados de porfirina muestran una variación en su absorción y fluorescencia dependiendo del ion metálico presente en el complejo. (Lee, 2018) Dada a esta última descripción de los compuestos de porfirina es que se consideran los dímeros de porfirina como fluoróforos que pueden ser empleados como sensores viscosidad en la aplicación biológica o de materiales. Vyšniauskas y colaboradores, en 2017 realizaron una investigación con ciertos dímeros de porfirina para comprender mejor el funcionamiento que tienen como rotores moleculares, además de analizar la capacidad que tienen para detectar simultáneamente la viscosidad y la temperatura.

En dicho trabajo describen que la sensibilidad a la viscosidad en los dímeros de porfirina se da por una interacción entre los conformeros “giratorios” y “planos”, dada a la rotación en el puente de butadiino (Figura 8), es por ello por lo que se forman las dos bandas de absorción

características de las porfirinas en el espectro visible, las bandas de absorción B y Q que se dan por transiciones entre orbitales moleculares  $\pi$  a  $\pi^*$ . En otras palabras, la sensibilidad de los dímeros de porfirina se le atribuye a que en el estado excitado la interacción entre la conformación plana y giratoria se ve limitada o dependiente de la viscosidad en el medio. (Vyšniauskas, 2017)



**Figura 8.** Estructura de los dímeros de porfirina. En el puente de butadiino ocurre la rotación, teniendo así la interacción de los conformeros planos y giratorios.

Además, pudieron estudiar la sensibilidad a la viscosidad y a la temperatura en cuatro dímeros de porfirina, donde dos de ellos resultaron ser prometedores como sensores de viscosidad y temperatura de manera simultánea, al ser dependientes de ambas propiedades.

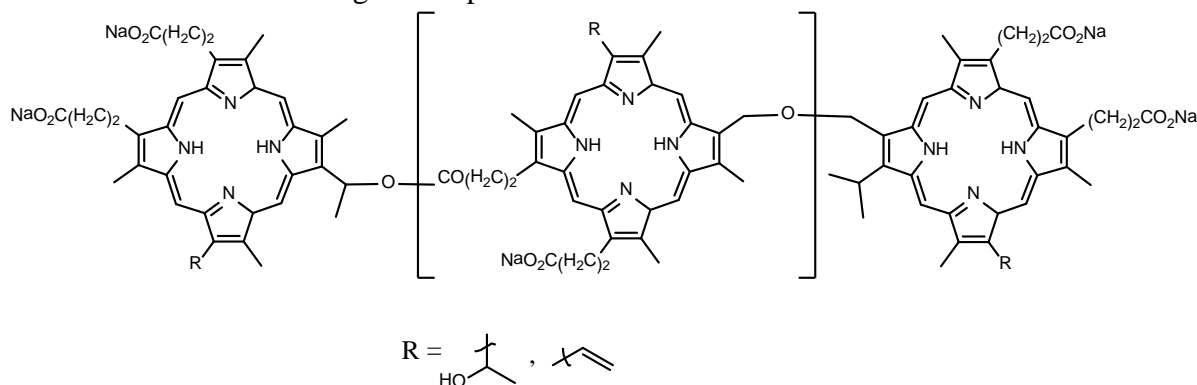
Como ya se ha mencionado anteriormente, en la matriz intracelular es de suma importancia la viscosidad, ya que en ella se llevan a cabo procesos biológicos importantes tales como la señalización, metabolismo, etc. La viscosidad puede afectar la difusión de las células, proteínas u otras moléculas a través del medio. Cambios en la viscosidad, también están relacionados a enfermedades o mal funcionamiento celular. (Kuimova, 2008)



Dicho lo anterior, podemos comprender el interés que se tiene el usar fluoróforos a base de porfirinas, como sensores de viscosidad en el medio intracelular y es que justo este tipo de moléculas, se usan en la terapia fotodinámica que es uno de los tratamientos novedosos para el cáncer. Este tratamiento consiste en usar medicamentos llamados agentes fotosensibilizadores que se incorporan vía intravenosa o en la piel para que las células los absorban. Estos medicamentos no permanecen tanto tiempo en las células normales como en las células cancerosas; al cabo de este tiempo se activa los agentes fotosensibilizadores al incidir un tipo de luz, que depende del tipo de cáncer que se esté tratando, el fármaco reacciona formando una molécula de oxígeno “especial”

que elimina las células cancerosas (oxígeno singulete).

La terapia fotodinámica se usa para tratar el cáncer en los pulmones, esófago y piel. Uno de los medicamentos que se encuentran en el mercado a base de porfirina, es Photofrin (Figura 9), el cual es uno de los más empleados para el cáncer de esófago, pulmón, vejiga y de cuello uterino. Para ello se debe usar luz roja de un láser, para activar este agente fotosensibilizador.

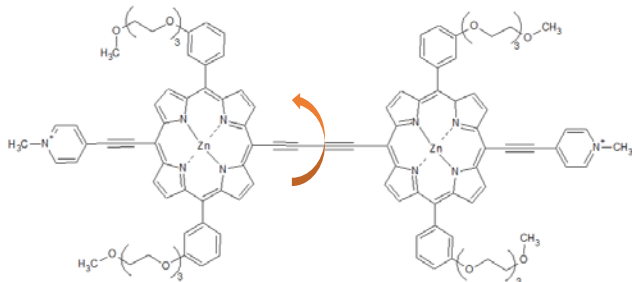


**Figura 9.** Estructura del fotosensibilizador Photofrin, empleado en la terapia fotodinámica a base de porfirina.

Dado a que la eficacia del fármaco depende de la viscosidad del medio para su difusión, se han realizado investigaciones para mejorar su eficacia y precisión. Kuimova y colaboradores en 2009 mediante rotores moleculares a base de dímeros de porfirina (Figura 10), analizaron el cambio de viscosidad que ocurre durante la fotosensibilidad en la terapia fotodinámica y con dicha información poder crear mejores estrategias de administración. Cabe destacar que dicho dímero de porfirina actúa como un fotosensibilizador produciendo oxígeno

singulete y a su vez cumple con su función de sensor de viscosidad, donde hay un cambio de ésta debido a la luz incidente. (Kuimova, 2009) Resulta interesante conocer qué factores influyen para que actúen como buenos fotosensibilizadores, para generar mejoras en las estrategias de administración de los posibles medicamentos para la terapia fotodinámica.





**Figura 10.** Estructura de dímeros de porfirina que se emplea como sensor de viscosidad en la terapia fotodinámica y a su vez como un fotosensibilizador.

### 3. Conclusiones

Una máquina molecular es un sistema que realiza ciertos movimientos mecánicos con la ayuda de un motor, el cual transforma la energía en trabajo. Debido a estas propiedades, estos tipos de moléculas han sido muy importantes en el área de la química, permitiendo controlar ciertas funciones específicas. Los rotores moleculares son un tipo de máquina molecular cuyos movimientos rotatorios permiten su aplicación como sensores de viscosidad en un sistema biológico.

Finalmente, en este artículo se dieron a conocer diversos tipos de rotores moleculares donde su principal característica es la emisión de fluorescencia, el cual es un indicador que permite detectar cambios de viscosidad en diversos sistemas biológicos, gracias a la torsión que pueda presentar el enlace.

### 4. Referencias

1. **Balzani, V.;** Credi, A.; Ferrer, B.; Silvi, S.; Venturi, M. (2005). Artificial molecular motors and machines: design principles and prototype systems. *Topics in Current Chemistry*, 262, 1-27.
2. **Carvajal, C. C.** (2017). El endotelio: estructura, función y disfunción endotelial. *Medicina Legal de Costa Rica*, 34, 1-11.
3. **Chi, W.;** Qiao, Q.; Lee, R.; Liu, W.; Teo, Y. S.; Gu, D.; Lang, M. J.; Chang, Y.-T.; Xu, Z.; Liu, X. (2019). A photoexcitation-induced twisted intramolecular charge shuttle. *Angewandte*, 58, 7073-7077.
4. **Delden, R.;** Wiel, M.; Pollard, M.; Vicario, J.; Koumura, N.; Feringa, B. (2005). Unidirectional molecular motor on a gold Surface. *Nature*, 437, 1337-1340.
5. **Feringa B. L.** (2020). Hechos. NobelPrize.org. Nobel Media AB 2020. <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2016/feringa/facts/>
6. **Halford Bethany,** 2016 "Las máquinas moleculares ganan el premio noble de química 2016" *Chemical & engineering news* <https://cen.acs.org/articles/94/web/2016/10/Las-maquinas-moleculares-ganan-el-Premio-Nobel-de-Quimica-2016.html>
7. **Hanidekker, M. A.;** Theodorakis, E. A. (2010). Environment-sensitive behavior of fluorescent molecular rotors. *Journal of Biological Engineering*, 4, 1-14.
8. **Hanidekker, M. A.;** Theodorakis, E. A. (2007). Molecular rotors-fluorescent biosensors for viscosity and flow. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 5, 1669-1678.
9. **ICSH:** International Committee for Standardization in Haematology. (1984). Recommendation for a selected method for the measurement of plasma viscosity. *Journal of Clinical Pathology*, 37, 1147-1152.
10. **Kubánková, M.;** Summers, P. A.; López-Duarte, I.; Kiryushko, D.; Kuimova, M. K. (2019). Microscopic Viscosity of Neuronal Plasma Membranes Measured Using Fluorescent Molecular Rotors: Effects of Oxidative Stress and Neuroprotection. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 11, 36307-36315.
11. **Kuimova, M. K.;** Botchway, S. W.; Parker, A. W.; Balaz, M.; Collins, H. A.; Anderson, H. L.; Suhling, K.; Ogilby, P.



- R. (2009). Imaging intracellular viscosity of a single cell during photoinduced cell death. *Nature*, 1, 69-73.
12. **Kuimova**, M. K.; Yahioglu, G.; Levitt, J. A.; Suhling, K. (2008). Molecular Rotor Measures Viscosity of Live Cells via Fluorescence Lifetime Imaging. *Journal of the American Chemical Society*, 130, 6672-6673.
13. **Kung**, C. E.; Reed, J. K. (1986). Microviscosity measurements of phospholipid bilayers using fluorescent dyes that undergo torsional relaxation. *Biochemistry*, 25, 6114-6121.
14. **Kung**, C. E.; Reed, J. K. (1989). Fluorescent molecular rotors: a new class of probes for tubulin structure and assembly. *Biochemistry*, 28, 6678-6686.
15. **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, 13706-13718.
16. **Levine**, I. N. (2004). *Fisicoquímica*. Quinta edición, Volumen 2, 5a. edición, McGRAW-HILL, España; 616.
17. **Liu**, X.; Chi, W.; Qiao, Q.; Kokate, S. V.; Peña-Cabrera, E.; Liu, X.; Chang, Y. (2020). Molecular Mechanism of Viscosity Sensitivity in BODIPY Rotors and Application to Motion-Based Fluorescent Sensors. *ACS Sensors*, 5, 731-739.
18. **Vyšniauskas**, A.; Ding, D.; Qurashi, M.; Boczarow, I.; Balaz, M; Anderson, H. L. (2017). Tuning the Sensitivity of Fluorescent Porphyrin Dimers to Viscosity and Temperature. *Chemistry - A European Journal*, 23, 11001-11010