



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

**SÍNTESIS DE REDES METAL-ORGÁNICAS COMO LIBERADORES DE
MOLÉCULAS BIOLÓGICAMENTE ACTIVAS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS E INGENIERÍA DE MATERIALES

PRESENTA

ANA KARINA MUÑOZ GUTIÉRREZ

ASESORES

DR. JORGE LUIS FLORES MORENO (UAM-A)

DR. ENRIQUE JAIME LIMA MUÑOZ (IIM-UNAM)

MARZO 9, 2018

Agradecimientos

A mis asesores, el Dr. Jorge Luis Flores Moreno y el Dr. Enrique Jaime Lima Muñoz, por todo su apoyo y asesoría a lo largo de este proyecto.

Al Dr. Manuel Sánchez Sánchez por su asesoría y valiosas aportaciones en esta investigación.

A los miembros del jurado: Dra. María de Jesús Martínez Ortiz, Dra. Sandra Loera Serna, Dr. Ariel Guzmán Vargas, por la revisión y observaciones realizadas para la mejora de esta tesis.

A los diferentes Jefes en turno del Área de Química de Materiales de la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM), por las instalaciones e infraestructura brindados para realizar las pruebas experimentales de esta investigación.

A los investigadores del instituto de catálisis y petroquímica del consejo superior de investigaciones científicas (CSIC, Madrid, España), por abrirme sus puertas para para realizar una estancia de investigación y llevar a cabo parte de la experimentación presentada en esta tesis. Especialmente al Dr. Manuel Sánchez Sánchez, a la Dra. Rosa María Blanco Martín y al M. en C. Gabriel García Molina, por todo el apoyo brindado.

A los responsables del laboratorio de investigación de materiales porosos, catálisis ambiental y Química fina de la ESQIE, del Instituto Politécnico Nacional, por la caracterización de los materiales mediante FTIR y ATG. Particularmente al M. en C. Miguel Ángel de la Rosa Guzmán y al I.Q. Francisco Domínguez Salud por todas sus atenciones.

Al Dr. Jonathan Javier Magaña Aguirre y la Q.F.B. Nadia Mireya Murillo Medo, del laboratorio de Medicina Genómica, del Instituto Nacional de rehabilitación por permitirme realizar las pruebas de citotoxicidad.

Al Dr. Leonardo Gonzales Reyes por el apoyo para la caracterización por microscopia electrónica de transmisión.

Al Ing. Fernando Almanza Hernández, del servicio divisional de microscopía electrónica de barrido de la UAM por su apoyo en la caracterización por MEB.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada que me permitió realizar mis estudios de posgrado a través de la beca nacional de maestría y de la beca mixta.

A la Dra. Lídice Soto Portas, por su apoyo incondicional a lo largo de mi estancia en la UAM, por todas sus atenciones, consejos y su hermosa amistad.

Al Dr. Jorge Luis Flores Moreno, por su paciencia, tiempo, dedicación y enseñanzas a lo largo de estos años. Por sus sabios consejos que me han permitido crecer personal y profesionalmente, pero, sobre todo, gracias por su amistad.

A mis padres, Esperanza Gutiérrez Hernández y Victoriano Carlos Muñoz Sánchez, por su apoyo incondicional y su gran ejemplo para seguir adelante y nunca rendirme.

A mis hermanos, Elvira, Silvia, Rocío, Gilberto, José Alberto y Karla Alejandra por todo su cariño y motivación, los llevo en el corazón

A mi abuelita Margarita, por su apoyo y amor incondicional que me impulsó a seguir siempre adelante, a pesar de las adversidades.

A mis tías y tíos Rosario, Soledad, Gabriel y Juan Carlos por todo su apoyo, comprensión y cariño, sin ustedes esto no sería posible.

A mis primos y sobrinos, Gerardo, Jaqueline, Juan Carlos, Daniel, Luis, Bibi, Emmanuel, Diego, Víctor, Rodrigo, y Uriel, ¡los quiero!

A Antonio, por toda su paciencia, comprensión y apoyo incondicional.

A las futuras I.Q. Aylin, Fabiola y Vanesa, por su ayuda y agradable compañía.

A todos mis amigos que estuvieron siempre a mi lado, en las buenas y malas rachas, escuchándome y motivándome en todo momento.

A Kay, por ser mi ejemplo para seguir adelante.

Por hacer que valga cada día.

Resumen

En este trabajo se sintetizaron redes metal metal-orgánicas biocompatibles MIL-100(Fe) y Fe-BTC para uso como sistemas de encapsulamiento-liberación de moléculas biológicamente activas (MBA). La síntesis se realizó mediante un método sustentable, a temperatura y presión ambientes, usando como solvente únicamente agua. Las moléculas biológicamente activas elegidas fueron: rojo Congo, curcumina, epicatequina y creatina, y fueron encapsuladas en diferentes concentraciones. Según reportes, tanto el rojo Congo como la curcumina han demostrado tener propiedades anticancerígenas. Por su lado, la epicatequina y la creatina son moléculas con propiedades de prevención del estrés oxidativo.

La caracterización de los sistemas libres de MBA y con MBA encapsulada se llevó a cabo por las técnicas de difracción de rayos-X, espectroscopia de IR por transformada de Fourier, análisis termogravimétrico, microscopias electrónicas de barrido y de transmisión. Las propiedades texturales fueron evaluadas por adsorción-desorción de N₂. Se estudió de manera exploratoria la liberación de las MBA en diferentes medios. Finalmente, la citotoxicidad de los sistemas fue evaluada en líneas celulares de HeLa, para estudiar las propiedades anticancerígenas y, C2C12 para estudiar el efecto protector ante el estrés oxidativo.

Los principales resultados de las técnicas de caracterización indicaron que el método de síntesis utilizado resultó adecuado para encapsular ciertas moléculas. Durante los estudios de liberación se determinó que existe cierta descomposición de la red metal-orgánica que ocurre de manera simultánea al proceso de liberación.

Por otra parte, los estudios de citotoxicidad de los materiales en la línea celular HeLa indicaron que el sistema curcumina encapsulada en la MOF MIL-100(Fe) es un sistema eficaz en la inhibición de la reproducción de células cancerosas.

El manuscrito se divide en dos grandes partes; en la primera se recopila la información relacionada con el estado del arte y la segunda detalla la parte experimental, así como el análisis y discusión de los resultados obtenidos.

1. Introducción	1
2. Antecedentes	2
2.1 Materiales como matrices receptoras para encapsulamiento y liberación de moléculas biológicamente activas	2
2.2 Redes metal-orgánicas	3
2.2.1 Descripción	3
2.2.2 Síntesis de redes metal orgánicas	6
2.2.3 Formulación y funcionalización	9
2.2.4 Aplicaciones biomédicas (parámetros y propiedades importantes)	11
2.3 Redes metal-orgánicas como agentes portadores y liberadores de moléculas biológicamente activas	14
2.3.1 MIL-100(Fe)	17
2.3.2 Fe-BTC	22
2.4 Aplicaciones biomédicas de las moléculas biológicamente activas	24
2.4.1 Rojo Congo	24
2.4.3 Epicatequina	25
2.4.4 Curcumina	26
2.4.5 Creatina	27
3. Justificación	29
4. Objetivos	30
4.1 Objetivo general	30
4.2 Objetivos específicos	30
5. Hipótesis	31
6. Parte experimental	32
6.1 Síntesis de los sistemas de liberación	32
6.1.1 Síntesis de los sistemas de liberación basados en MIL-100(Fe)	33
6.1.2 Síntesis de los sistemas de liberación basados en la MOF Fe-BTC	35
6.2 Técnicas de Caracterización	36

6.2.1 Difracción de rayos-X (DRX)	37
6.2.2 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)	37
6.2.3 Análisis termogravimétrico (ATG) y térmico diferencial (ATD)	37
6.2.4 Microscopia electrónica de barrido (MEB)	37
6.2.5 Microscopia electrónica de transmisión (MET)	37
6.2.6 Adsorción-desorción de nitrógeno	38
6.3 Evaluación de la liberación de las moléculas biológicamente activas	38
6.4 Sólidos sintetizados	38
7. Análisis y discusión de resultados	40
7.1 Sistema MBA@MIL-100(Fe)	40
7.1.1 Sistema RC@MIL-100	40
7.1.2 Sistema CMN@MIL-100	55
7.1.3 Sistema EP@MIL-100	62
7.1.4 Sistema CR@MIL-100	67
7.2 Sistema MBA@Fe-BTC	72
7.2.1 Sistema RC@FeBTC	72
7.2.2 Sistema CMN@Fe-BTC	78
7.2.3 Sistema CR@Fe-BTC	82
8. Liberación de las moléculas biológicamente activas	85
8.1 Liberación del sistema RC@MIL-100	85
8.2 Liberación del sistema CMN@MIL-100	92
8.3 Liberación del sistema EP@MIL-100	96
8.4 Liberación del sistema CR@MIL-100	98
8.5 Liberación de los sistemas RC@Fe-BTC y CMN@Fe-BTC	98
9. Pruebas de citotoxicidad	100
9.1 Líneas celulares	100
9.1.1 Línea celular C2C12	101
9.1.2 Línea celular HeLa	101
9.2 Método MTT	101

9.3 Protocolo de citotoxicidad _____	102
9.4 Resultados de citotoxicidad _____	102
10. Conclusiones _____	108
11. Referencias _____	110
12. Apéndice _____	123
12.1 Curvas de calibración _____	123
12.2 Estabilidad de la MOF MIL-100(Fe) _____	124
12.3 Microscopia electrónica de barrido _____	125
12.4 Microscopia electrónica de transmisión _____	127



1. Introducción

Los problemas de salud a los que actualmente se enfrenta la sociedad constituyen un área de interés para muchos investigadores. A pesar de los avances que se han conseguido en cuanto al tratamiento de muchas enfermedades, la eficacia de las moléculas biológicamente activas (MBA) sigue siendo limitada, ya sea por un inadecuado transporte o por la inoportuna liberación dentro del cuerpo humano. Debido a ello, en las últimas décadas ha habido un creciente interés en el desarrollo de nuevos materiales destinados a encapsular principios activos y posteriormente estudiar la cinética de liberación de éstos en los sitios adecuados del organismo humano.

Actualmente existen muchos materiales para encapsular moléculas biológicamente activas; sin embargo, la familia de las redes metal-orgánicas, MOF (por sus siglas en inglés, Metal Organic-Frameworks) ha llamado especialmente la atención. Las propiedades más destacadas de las MOF son su gran área superficial, su elevado volumen poroso, sin dejar de mencionar que algunas de ellas poseen cavidades de tamaño importante. Todo esto las convierte en materiales ideales para la encapsulación de un principio activo. Adicionalmente, investigaciones recientes han demostrado que pueden ser preparadas por la asociación directa de una MBA y metales biocompatibles.



2. Antecedentes

Una molécula biológicamente activa está definida por la FDA (Food and Drug Administration) como cualquier sustancia destinada a utilizarse en la fabricación de un medicamento. Tales sustancias tienen como finalidad proporcionar una actividad farmacológica, tratamiento o mitigación de enfermedades.

La administración de la MBA puede llevarse a través de dos posibilidades. En la primera, la MBA en sí se asocia con un excipiente (sistemas tradicionales) y se administra. En este caso no existe prácticamente control sobre la liberación de la MBA. En el segundo caso, un material farmacológicamente inerte funge como matriz receptora de la MBA resultando en un material híbrido, éste se asocia a su vez con un excipiente y finalmente se administra. Este segundo caso tiene la finalidad de tener control sobre la cinética de liberación de la MBA para evitar picos locales de alta concentración de MBA en el organismo.

Desde hace algunos años, existe un interés creciente en el desarrollo de nuevos sistemas que consisten en la incorporación de MBA en el interior (sistema poroso) de sólidos que funcionan como matrices receptoras; este proceso es conocido comúnmente como encapsulamiento de la MBA¹. Sin embargo, otra vía de exploración, de reciente propuesta, consiste en integrar las MBA como parte del arreglo estructural de ciertos materiales.

2.1 Materiales como matrices receptoras para encapsulamiento y liberación de moléculas biológicamente activas

Como ya se mencionó brevemente, los sistemas tradicionales de administración de MBA presentan inconvenientes relacionados con la farmacocinética; por ejemplo, pueden presentarse una liberación de la MBA en sitios inadecuados (en órganos que no lo requieren); así como picos de alta concentración de corta duración provocando que el efecto de la MBA sobre el organismo no se prolongue en el tiempo. Estos inconvenientes pueden solucionarse creando un sistema de liberación controlada vía encapsulación de la MBA en una matriz receptora que, en la mayoría de los casos, puede ser un material inorgánico. En este caso,

cobran importancia la capacidad de carga de la matriz, así como el tamaño y el volumen de los poros de ésta.

Existen hasta el momento dos rutas establecidas para la obtención de sistemas de encapsulamiento, la primera de ellas es la llamada vía orgánica, en la cual se utilizan polímeros biocompatibles como matrices (quitosano, alginato)²⁻⁴. Este método ofrece la posibilidad de encapsulamiento de una gran variedad de MBA; sin embargo, al no poseer una porosidad definida, la liberación controlada es muy difícil de lograr. De esta forma, éstos se utilizan prácticamente como medio de transporte.

La segunda, es la llamada vía inorgánica; en este caso el anfitrión es un sólido poroso inorgánico (zeolitas, hidrotalcitas, materiales basados en sílice, etc.); que poseen una capacidad de carga de MBA limitada por la naturaleza y estructura porosa del sólido⁵. Cabe señalar que la principal desventaja de esta ruta es la incompatibilidad biológica de algunos sistemas inorgánicos con ciertos órganos internos del cuerpo humano, limitando su uso a aplicaciones tópicas.

El desarrollo de los materiales llamados redes metal-orgánicas, MOF, ha acaparado la atención de grupos de investigación, ya que su composición puede ser regulada para poder combinar los beneficios, tanto de la vía orgánica como de la inorgánica para el encapsulamiento de MBA⁶.

2.2 Redes metal-orgánicas

2.2.1 Descripción

Las MOF son sólidos cristalinos formados por la unión de átomos o agregados metálicos, a través de ligandos orgánicos, generando estructuras que se extienden en el espacio en varias dimensiones y, dada la naturaleza de sus componentes, se consideran materiales híbridos. Éstos han sido ampliamente estudiados debido su alta porosidad y gran área superficial específica; que, aunado con la versatilidad de formación a partir de componentes orgánicos e inorgánicos, permite controlar el tamaño de poro y entorno químico de la MOF. Estas

características las hacen realmente interesantes para aplicaciones que van desde el almacenamiento y la separación de gases⁷, la fabricación de membranas⁸, la catálisis⁹, hasta las aplicaciones biomédicas¹⁰.

Para entender de manera básica la formación de una red metal-orgánica, en la Figura 1 se representa de manera esquemática la unidad de construcción secundaria (SBU por sus siglas en inglés), la cual resulta de la unión de un centro metálico (ácido de Lewis) y centros básicos de Lewis en el ligando orgánico (grupos $-\text{NH}_2$, $-\text{COO}^-$, $-\text{CN}^-$, $-\text{PO}_4^{3-}$, etc.). A su vez, estas SBU unidas al ligando orgánico dan origen a la red porosa.

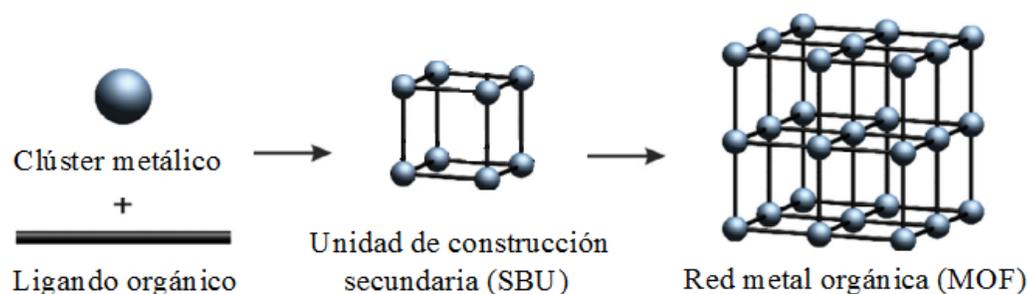


Figura 1. Representación simplificada del proceso de autoensamble en una MOF

De acuerdo con la base de datos de estructura de Cambridge (CSD por sus siglas en inglés), existen más de 800,000 estructuras tipo MOF. Los ligandos orgánicos que generalmente se usaron fueron compuestos en los que la funcionalidad de enlace es un cianuro, fosfato o carboxilato¹¹. En cuanto a las estructuras generadas, alrededor de tres mil compuestos presentan estructuras tridimensionales.

Particularmente, las estructuras en dos dimensiones fueron generadas por cationes metálicos de la primera familia de la tabla periódica con compuestos tales como cianuro¹², glutamato¹³, formiato, triazol¹⁴, por mencionar algunos. Aún con todo y los miles de estructuras que surgen cada año (Figura 2), todavía se siguen explorando nuevas rutas de síntesis y se elaboran materiales cada vez más complejos, con la finalidad de que puedan ser aplicados en la vida cotidiana.

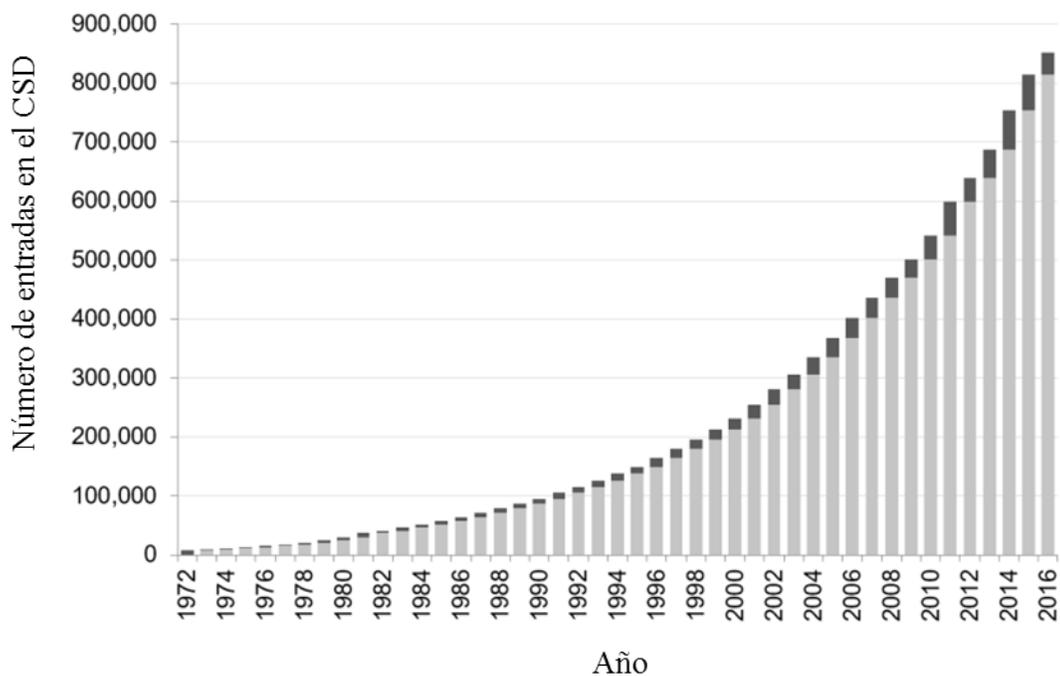


Figura 2. Estructuras reportadas por la CSD desde el año 1972 hasta 2016.

Algunos de los ligandos orgánicos más utilizados se encuentran en la Tabla 1. Nótese que, después de la desprotonación, todos ellos tienen la función de grupo carboxílico, lo cual les permite fungir como base de Lewis y coordinarse con un catión metálico (ácido de Lewis).

Tabla 1. Algunos cationes metálicos y ligandos orgánicos empleados en la síntesis de MOF.

Cationes metálicos	Ligandos orgánicos
<p>$\text{Cu}^+, \text{Ag}^+, \text{Au}^+ \dots$</p> <p>Número de coordinación 2</p> <p>$\text{Cu}^+, \text{Ag}^+, \text{Au}^+ \dots$</p>	<p>Ácido trimésico</p>
<p>Número de coordinación 3</p> <p>$\text{Zn}^{2+}, \text{Cu}^+, \text{Ag}^+, \text{Au}^+ \dots$</p>	<p>Ácido tereftálico</p>
<p>Número de coordinación 4</p> <p>$\text{Fe}^{3+}, \text{Zn}^{2+}, \text{Cu}^{2+}, \text{Ag}^+, \dots$</p>	<p>Ácido fumárico</p>
<p>Número de coordinación 5</p> <p>$\text{Fe}^{2+}, \text{Fe}^{3+}, \text{Zn}^{2+}, \text{Cu}^{2+}, \text{Cr}^{3+} \dots$</p>	<p>Ácido bifenildicarboxílico</p>
<p>Número de coordinación 6</p>	

2.2.2 Síntesis de redes metal orgánicas

Desde el descubrimiento de las MOF a la fecha han surgido diversos métodos para la síntesis de dichos materiales¹⁵. Estos métodos tienen como finalidad obtener la estructura y funcionalidad directamente desde la síntesis para la aplicación deseada. Además, actualmente muchas investigaciones se han llevado a cabo empleando métodos sustentables, los cuales evita el uso de reactivos tóxicos y a su vez son rápidos y sencillos de emplearse¹⁶⁻¹⁹.

Las MOF pueden ser sintetizadas mediante una gran variedad de metodologías, sin embargo, el principio es el mismo, la estructura tipo MOF se obtiene, en la mayoría de los casos, al poner en contacto la fuente del catión metálico (puede ser una sal o, en algunos casos, el metal) con el ligando orgánico en una misma mezcla o disolución. El medio en el que se llevará a cabo dependerá de la solubilidad del reactivo y de las propiedades deseadas. Entre los principales métodos de síntesis se encuentra el método solvotérmico²⁰, hidrotérmico²¹, síntesis asistida por ultrasonido²² o microondas²³, por mencionar algunos, o bien a temperatura ambiente²⁴.

La síntesis tradicional se puede dividir en dos categorías: solvotérmico y no solvotérmico. El término solvotérmico implica el uso de cualquier tipo de solvente y es más general que el término solvotérmico usado cuando se usa agua como solvente. Por otro lado, el método no solvotérmico se lleva a cabo por debajo de la temperatura de ebullición del solvente usado, en recipientes abiertos y a presión atmosférica. En tanto, el método solvotérmico se realiza a la temperatura de ebullición del solvente, o por encima de ésta, en recipientes cerrados a presiones autógenas o superiores a esta.

Los métodos no solvotérmico son de fácil puesta en marcha ya que no se requiere equipo especializado, si acaso un medio de calentamiento. Los parámetros importantes en este tipo de síntesis son:

- Elección de las sales (fuentes de iones), del ligando orgánico y del solvente
- pH, en el caso de que el disolvente sea agua.
- Temperatura

Para lograr la precipitación de un sólido se deben elegir concentraciones de reactivos adecuadas tal que se puedan alcanzar condiciones de nucleación. A menudo, esto puede promoverse con un incremento de la temperatura o evaporando el solvente²⁵.

Muchas MOF se han podido sintetizar por el método no solvotermal por simple mezclado de soluciones de los reactivos, incluso sin necesidad de aumentar la temperatura.

Es importante mencionar que prácticamente todos los métodos requieren de un proceso de activación postsíntesis, en el cual se elimina material residual (reactivos sin reaccionar y moléculas de solvente altamente coordinantes) que queda ocluido en la porosidad de la MOF. Debido a lo anterior, muchas investigaciones se han centrado en lograr las condiciones óptimas de síntesis, variando ciertos parámetros como son, la fuente metálica, el ligando orgánico, la relación molar ligando/metal, los disolventes, la temperatura y el pH, que son las variables que principalmente tienen influencia sobre la estructura²⁶. En la Tabla 2 se resumen los principales métodos de síntesis utilizados para algunas MOF.

**Tabla 2. Métodos de síntesis de algunas redes metal-orgánicas.
Adaptado de Butova y colaboradores²⁷.**

MOF	Método	Condiciones	Referencia
MOF-5	No solvotermal	Temperatura ambiente	27
MIL-53	No solvotermal	Temperatura ambiente	27
MOF-177	No solvotermal	Temperatura ambiente	28
ZIF-8	No solvotermal	Temperatura ambiente	29
MIL-100(Fe)	No solvotermal	Temperatura ambiente	17,21
Fe-BTC	No solvotermal	Temperatura ambiente	31,33
MOF-74	No solvotermal	Temperatura ambiente	16
Cu-BTC	No solvotermal	Temperatura ambiente	32
MIL-101	Solvotermal	220 °C, 8 h	33
ZIF-67	Solvotermal	25 °C, 6 h	34
MIL-64	Solvotermal	180 °C, 120 h	35
MIL-69	Solvotermal	210 °C, 16 h	36
MIL-74	Solvotermal	180 °C, 36 h	37
MIL-116	Solvotermal	210 °C, 24 h	38
MIL-122	Solvotermal	170 °C, 24 h	39
MIL-37	Solvotermal	170 °C, 48 h	40
MIL-38	Solvotermal	170 °C, 48 h	41
MIL-49	Solvotermal	170 °C, 48 h	42
MIL-65	Solvotermal	180 °C, 48 h	43
MIL-82	Solvotermal	200 °C, 48 h	44
MIL-100(Fe)	Solvotermal	95 °C, 12 h	45
ZIF-8	Solvotermal	120 °C, 24 h	46

Como puede verse, para una misma MOF pueden existir distintos métodos de preparación, algunos justificados por la tendencia de la síntesis verde^{18,47-49} y otros por la necesidad de obtener tamaños de partícula controlados^{50,51}.

2.2.3 Formulación y funcionalización

En los últimos años ha surgido un creciente interés en desarrollar una terapéutica eficiente para el tratamiento de ciertas enfermedades cuyo tratamiento implica serias afectaciones a la salud del individuo. Asimismo, se ha buscado solucionar los problemas relacionados con la eficacia limitada de las MBA, asociados a un inadecuado transporte dentro del cuerpo humano (que a su vez obliga a consumir altas dosis). Es por ello por lo que, vale la pena hacer hincapié en las propiedades que son deseables para que este tipo de materiales puedan ser empleados de manera eficiente en algún organismo y supere las limitaciones que tienen las matrices actuales.

El objetivo que hasta la fecha se persigue es emplear las MOF en aplicaciones biomédicas. Sin embargo, no es un proceso sencillo. En primera estancia se debe de pensar en el órgano al que se desea hacer llegar la MBA. Posteriormente, se debe seleccionar la mejor vía de administración; esto es, vía intravenosa, intramuscular, cutánea, oral, inhalatoria, entre otras. Esta elección dependerá a su vez de las propiedades del material (tamaño de partícula, volumen de poro, área superficial específica, y capacidad de carga) ya que tales propiedades pueden intervenir en la eficiencia de la matriz. Otro aspecto que puede limitar la eficacia es la formulación⁵².

Es por ello que se tiene que considerar estas variables al momento de diseñar la metodología a seguir ya que los precursores y método de síntesis influirá directamente en la estabilidad de la MOF y en las propiedades obtenidas⁵³.

Por un lado, las propiedades mencionadas anteriormente pueden ser controladas mediante la elección del método de síntesis⁵⁴ y particularmente, el tamaño de partícula puede ajustarse durante la síntesis agregando un inhibidor para retardar el proceso de nucleación o bien, a partir de síntesis asistida por ultrasonido⁵⁵ o microondas⁵⁶.

Por otro lado, para solucionar el inconveniente asociado con una entrega en un sitio no deseado, se ha propuesto modificar la superficie de las MOF de manera que se pueda

controlar el tipo de interacciones entre el material y el medio donde será liberado, al mismo tiempo que aporta estabilidad y protección a la red⁵⁷.

Lo anterior es posible gracias a que las SBU pueden conectarse con ligandos orgánicos, los cuales tienen distintos grados de conectividad y además pueden ser modificados en cuanto a su composición química. A este procedimiento comúnmente se le conoce como funcionalización (Figura 3) y puede hacerse postsíntesis, con la ventaja de que no altera la estructura de la red y, lo más importante, es que se obtiene un material con una repartición homogénea de los nuevos grupos funcionales⁵⁸.

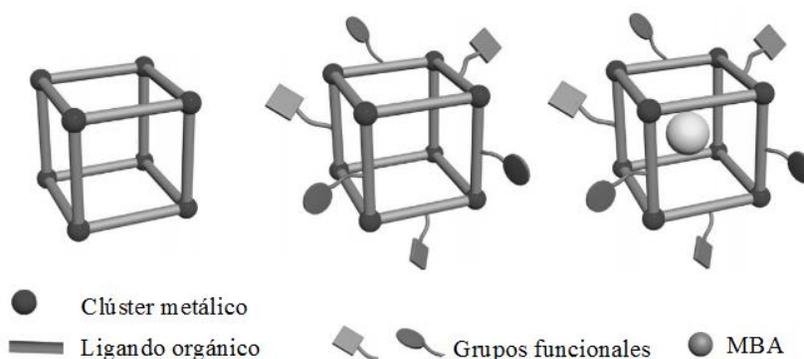


Figura 3. Representación esquemática del proceso de funcionalización en una MOF.
Adaptado de Li y colaboradores⁵⁹.

Como ya se ha mencionado, la versatilidad de formación de las MOF depende en gran medida de la elección del ligando orgánico, y es precisamente en este aspecto, donde muchas investigaciones se han enfocado, a fin de generar redes más robustas, con estructuras realmente complejas y tamaños de poro cada vez mayores¹⁵ que permitan la incorporación de moléculas de gran tamaño⁶⁰.

En cuanto a la formulación, evidentemente dependerá de la aplicación deseada. Algunos ejemplos de formulación de MOF son parches y tabletas, membranas, geles, por mencionar algunos⁶¹. Una de las primeras publicaciones que se realizó en cuanto a formulación de las MOF fue el caso de tabletas sin aglutinante, basadas en carboxilatos de hierro que contenían ibuprofeno⁶².

Otro ejemplo más es el caso de los parches transdérmicos, los cuales consisten en óxido nítrico atrapado en la porosidad de la MOF CPO-27 (Ni). Esta MOF es capaz de liberar el contenido de NO en un lapso de tiempo de hasta diez días^{63,64}.

Los geles y parches son una opción más de formulación de MOF, ya que su aplicación tópica aún no se ha explorado lo suficiente. Sin embargo, el interés en las MOF existe debido a la capacidad para mejorar la absorción de la MBA, su protección y liberación controlada. Por ejemplo en el caso de la encapsulación de cafeína en MIL-100 y MIL-101^{65,66}.

2.2.4 Aplicaciones biomédicas (parámetros y propiedades importantes)

Si bien es cierto que las MOF pueden ser buenas candidatas para uso como sistemas terapéuticos, debe de considerarse que su aplicación está sujeta a normas muy estrictas. Esto implica llevar a cabo pruebas de estabilidad en medio biológico, pruebas de citotoxicidad y a su vez garantizar una biodistribución adecuada.

Hay que destacar que las pruebas de toxicidad son de vital importancia. Sin embargo, es difícil realizar una comparación entre los sistemas que han sido empleados hasta la fecha ya que las concentraciones reportadas varían de un ensayo a otro y por ende la citotoxicidad de la MOF fluctúa de una línea celular a otra. No obstante, se han reportado algunos ensayos que ponen en evidencia el hecho de que la toxicidad de los sistemas está íntimamente ligada a la toxicidad de los precursores que lo constituyen. Tal es el caso de los ensayos in vitro probados en líneas celulares HepG2 para distintas MOF⁶⁷. En este estudio se evaluaron distintas concentraciones de varias fuentes metálicas, en un rango de concentración de 1-200 μM . Los resultados de viabilidad celular, Figura 4, mostraron que el caso del magnesio y el zinc la viabilidad celular se mantiene muy cercana al control, lo cual es de esperarse, ya que son metales biocompatibles. Lo contrario ocurre en el caso del Cu y del Mn, donde a una concentración de 200 μM la viabilidad es cero. El resto de los metales estudiados fluctúa por encima de 80% de viabilidad.

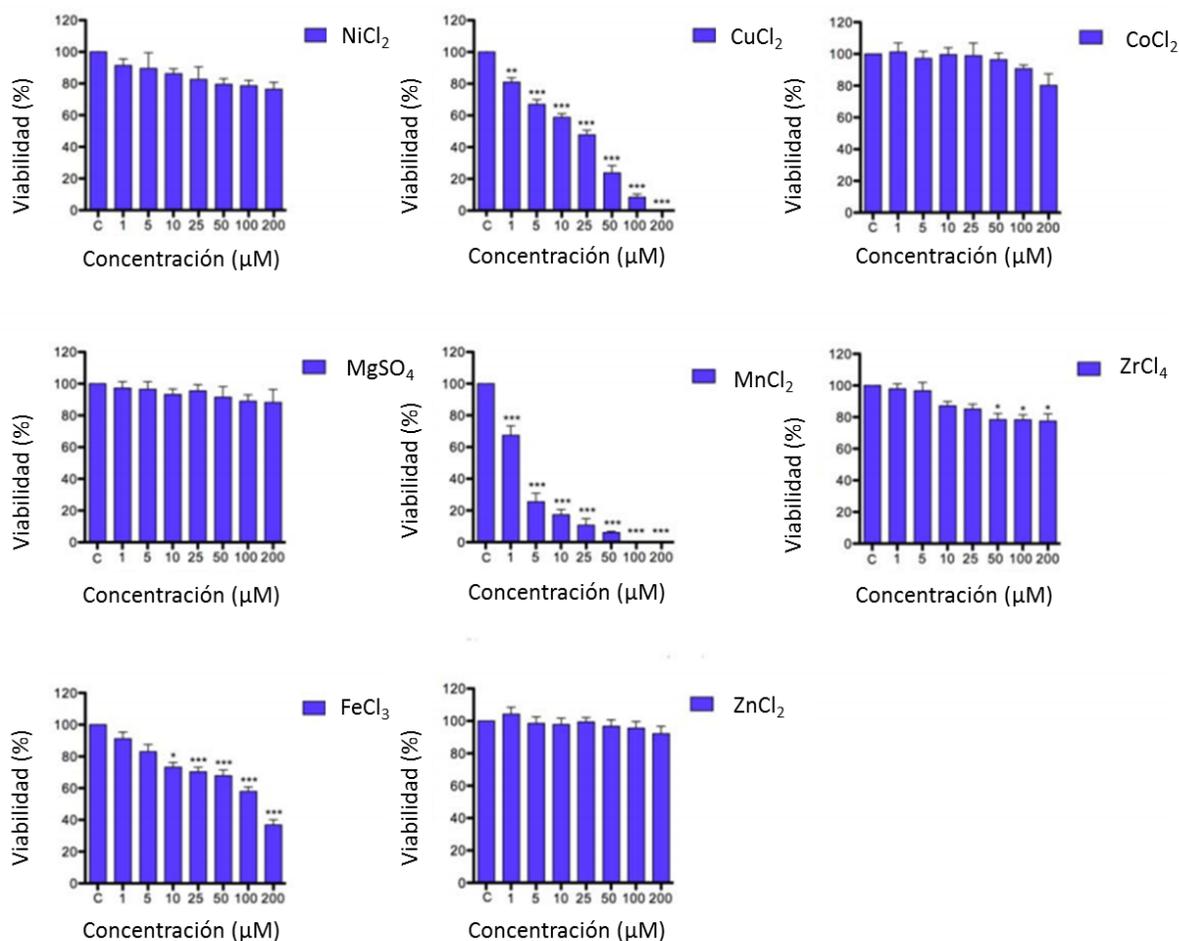


Figura 4. Viabilidad celular en la línea celular HepeG2 de sales metálicas usadas en el diseño de MOF.

Para el caso de los ligandos orgánicos, Figura 5, es notable que no existan diferencias significativas en todos los casos. Prácticamente todos mantienen una viabilidad celular por encima del 90%, incluso en la concentración máxima probada.

Asimismo, se probó viabilidad celular de algunas MOF, tal como se muestran en la Figura 6. El resultado tras 72 h de exposición demuestra que existen grandes diferencias cuando se compara con el control. El caso más notorio es el de las MOF-5, HKUST, NOTT-100 y ZIF-8.

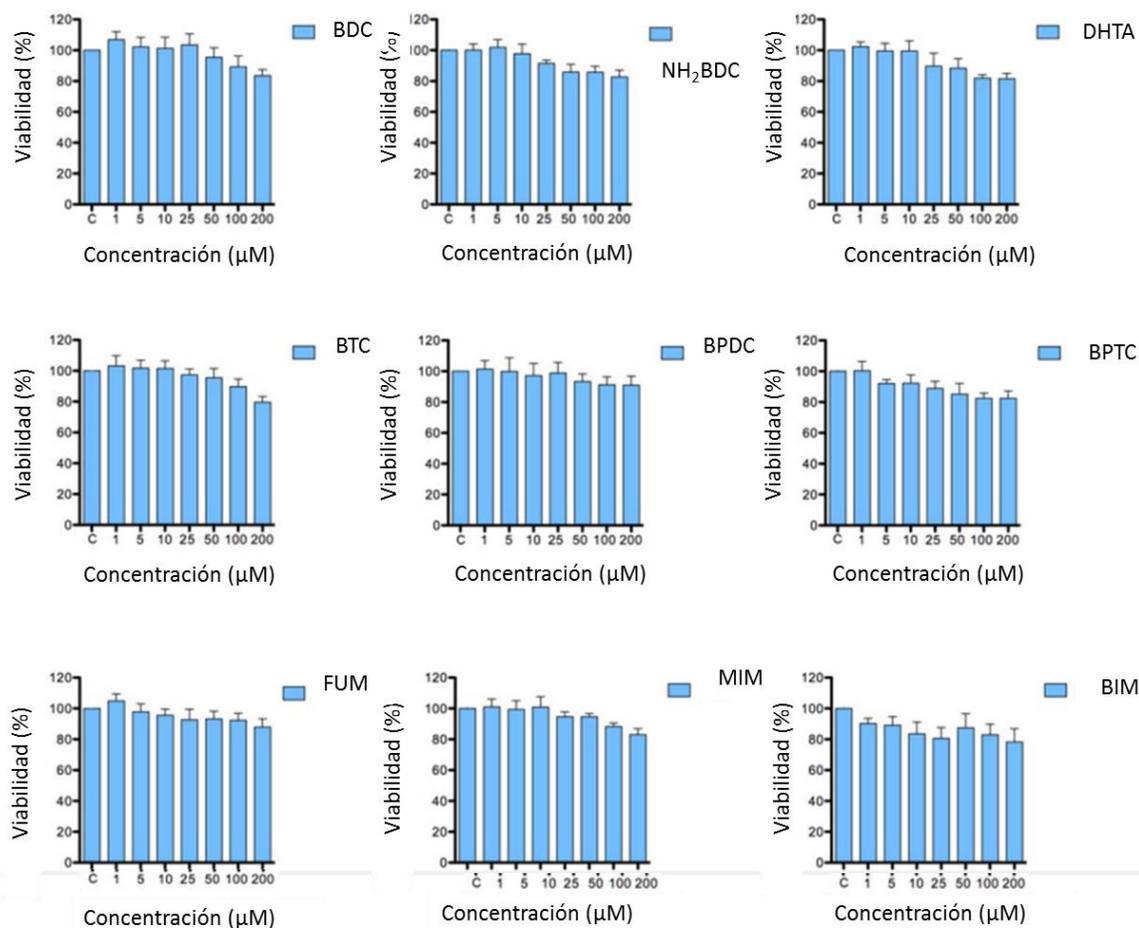


Figura 5. Viabilidad celular de ligandos orgánicos usados en la línea celular HepeG2.

Adicionalmente, estudios in vitro se han publicado para las MOF MIL-100(Fe) y MIL-88, cuyos sistemas están basados en carboxilatos de hierro. Se concluyó la usencia de toxicidad severa, tras estudiar ciertos parámetros (actividad del individuo, peso del cuerpo, órgano, consumo de agua, alimento, volumen de orina, peso de las heces, suero enzimático, etc.). En este estudio se demostró que las MOF se degradan progresivamente dentro del cuerpo en sus componentes (hierro y ligando orgánico) los cuales se eliminan mediante la orina y heces sin que exista biotransformación⁶⁸.

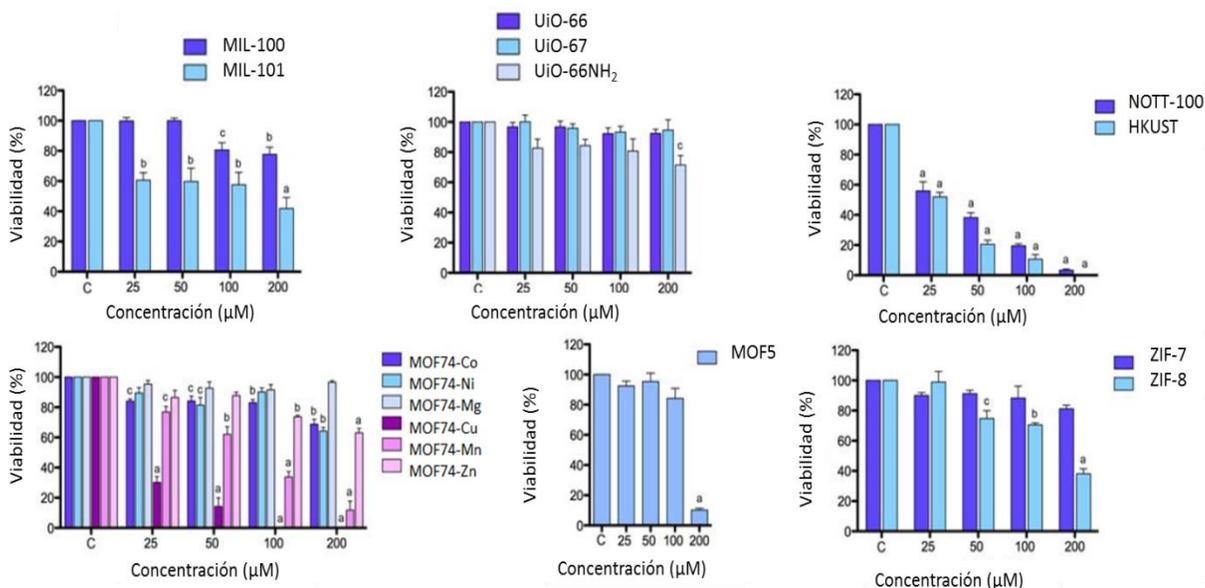


Figura 6. Viabilidad celular de MOF en línea celular HepG2.

2.3 Redes metal-orgánicas como agentes portadores y liberadores de moléculas biológicamente activas

Las MOF surgieron como otra posible ruta para la encapsulación de MBA, ya que debido a su alta porosidad poseen mayor capacidad de carga de fármaco y una liberación controlada comparada con otras matrices. En el caso de las MOF existen dos posibilidades para crear un sistema de liberación controlada; la primera consiste en introducir la MBA dentro de los poros de una MOF dada (biológicamente compatible); en este caso, los ligandos pueden ser moléculas orgánicas que contengan grupos funcionales carboxílicos, sulfonatos o fosfonatos⁶⁹. Estos grupos funcionales son necesarios para que los centros metálicos puedan coordinarse y formar la red de la MOF.

En la segunda, el ligando utilizado es en sí una MBA, por lo que al asociarse con un metal para formar la MOF, éste forma parte de la red, surgiendo así las denominadas BIO-MOF. A su vez, en estos sistemas se puede llevar a cabo la liberación mediante dos posibilidades, en un caso, la MBA se difunde desde la porosidad del sistema hasta el medio, mientras en el

otro caso, la MOF debe de degradarse (desagregarse en sus componentes: ligando + metal) para liberar el ligando, el cual es a su vez la MBA.

Una de las grandes ventajas que presenta este último enfoque es que no es necesario tener grandes tamaños y volúmenes de poro; tampoco la carga de MBA representa un problema, ya que la liberación se consigue a través de la biodegradación del material. Además, se evitan los inconvenientes relacionados con efectos secundarios debidos a la liberación de un ligando no bioactivo¹. Cabe señalar que, a pesar de lo prometedor de estos sistemas, su diseño está limitado por la naturaleza propia de los ligandos que tengan propiedades como MBA.

Los primeros investigadores en considerar a las MOF para encapsulamiento de moléculas biológicamente activas fueron Férey y colaboradores⁷⁰. Para ello, sintetizaron por primera vez y utilizaron la familia MIL (Materials of the Institut Lavoisier) a partir de centros metálicos trivalentes y puenteo mediante ligandos que contienen grupos funcionales carboxílicos. Esta familia de MOF presenta grandes tamaños de poro (25-34 Å) y áreas superficiales específicas comprendidas entre 3100 y 5900 m² g⁻¹.

En cuanto a la posibilidad de sintetizar una MOF para la liberación controlada de moléculas biológicamente activas, fueron Horcajada y colaboradores⁷¹ quienes realizaron los trabajos pioneros. Emplearon la MOF MIL-100 y MIL-101 para la liberación controlada de ibuprofeno. Inicialmente, utilizaron cromo como centro metálico, y posteriormente, hierro, en vista de la necesidad de encapsular MBA en sistemas libres de metales tóxicos como el cromo. En estos casos, el carácter biodegradable del material puede lograrse mediante la elección correcta del metal y el ligando, que determinarán la estructura final de la MOF.

A partir de los resultados anteriores, Horcajada y colaboradores probaron MOF biocompatibles basadas en hierro, proponiendo un sistema de transporte y liberación eficiente de algunos retrovirales y antitumorales. La Tabla 3 muestra algunas de las MOF sintetizadas; el ligando orgánico empleado, la molécula biológicamente activa así como las propiedades texturales⁷².

Por otra parte, Taylor-Pashow y colaboradores funcionalizaron una MOF de hierro (MIL-101) utilizando como ligando orgánico el ácido 2-aminotereftálico⁷³. El material puede emplearse como agente de contraste en estudios de imagenología. Adicionalmente, establecieron que la presencia del grupo amino facilita la incorporación del profármaco del cisplatino. De esta forma, una vez administrado el sistema al organismo, se favorece la absorción del cisplatino en el sitio adecuado. Esto sugiere que este enfoque podría ser utilizado para diseñar nanomateriales con aplicaciones terapéuticas.

Tabla 3. Propiedades y capacidad de carga de fármacos de distintas MOF.

Adaptado de M. Giménez-Marqués *et al*⁷⁴.

		MIL-89	MIL-88A	MIL-100	MIL-53	MIL-101-NH ₂
Ligando orgánico		Ácido mucónico	Ácido fumárico	Ácido trimésico	Ácido tereftálico	Ácido aminotereftálico
Tamaño de poro (Å)		11	6	25	8.6	29
Tamaño de partícula (nm)		50-100	150	200	350	120
Carga de MBA (%)	Busulfán	9.8	8	25.5	14.3	
	Trifosfato azidotimidina		0.6	210.2	0.24	42
	Cidofovir					
	Doxorrubicina	14	2.6	16.1	41.9	
	Ibuprofeno			9.1		

En otra perspectiva, Rojas y colaboradores reportaron la aplicación de una MOF altamente estudiada, la HKUST-1 (por Hong Kong University of Science and Technology), en aplicaciones biomédicas⁷⁵. Este tipo de MOF tiene la propiedad de presentar una alta concentración de sitios metálicos de cobre expuestos.

Lo anterior lo convierte en una excelente opción para la adsorción y liberación de gases bioactivos como el NO y el CO, o fármacos de dimensiones pequeñas como el busulfán y cidofovir. Adicionalmente, Lin y colaboradores estudiaron la farmacocinética de la MOF NCP-1 sintetizada a partir de terbio y de c,c,t-(diaminodiclorodisuccinato) Pt (IV), un profármaco del cisplatino². Con la finalidad de brindarle una mayor estabilidad, las partículas de esta MOF fueron recubiertas con sílice y funcionalizadas con un péptido cíclico (RGDfk),

el cual direcciona todo el sistema hacia la integrina Anb-3, una glicoproteína que está presente en células de muchos tipos de cáncer. La NCP-1 mostró una disminución en la citotoxicidad en comparación a la administración del cisplatino solo. Lo anterior sugiere que el uso de la MOF permite la administración selectiva del fármaco para el tratamiento del cáncer, reduciendo sus efectos secundarios.

Finalmente, Serré y colaboradores fueron los pioneros en sintetizar una BioMOF que, desde el punto de vista biológico, es altamente biocompatible¹. Dicha MOF es el resultado de la asociación de hierro y de una molécula biológicamente activa, el ácido nicotínico, como ligando. Anterior a esto, sólo se había reportado una MOF basada en este ácido, empleando metales tóxicos (cromo, cobalto o níquel) y sin funcionalidad biológica. La originalidad del trabajo de Serré consiste en que la estructura de la MOF es fácilmente degradable en el organismo, provocando la liberación del metal biocompatible y del ácido nicotínico que funge como ligando. Cabe resaltar que el ácido nicotínico presenta propiedades vasodilatadoras y es auxiliar en la disminución de los niveles de triglicéridos y de colesterol.

En los siguientes párrafos se profundizará en los detalles de las dos MOF estudiadas en este trabajo.

2.3.1 MIL-100(Fe)

2.3.1.1 Descripción y síntesis

La MOF MIL-100(Fe) es un material cristalino que está constituido por trímeros de octaedros de hierro coordinados a un ácido carboxílico (Figura 7) cuya fórmula es: $M_3^{III}OX(H_2O)_2 L_3 \cdot mH_2O$; donde L = ion trimesato (BTC^{3-}), $M^{III} = Fe$, X = F, cuando la reacción se lleva a cabo por el método hidrotermal en presencia de flúor (se usa HF en la síntesis) y $m = 14.5$. Cuando la síntesis es libre de ácido fluorhídrico y ésta se lleva a cabo en agua, la fórmula es $Fe_3O(H_2O)_2 OH\{C_6H_3(CO_2)_3\}_2 \cdot 14.5H_2O$ (masa molar 876 g mol^{-1})²⁰.

Desde sus orígenes, esta MOF ha sido una de las más utilizadas para el encapsulamiento de moléculas biológicamente activas. Esto se debe a sus características como: gran tamaño de poro, pues posee dos tipos de cavidades mesoporosas de 25 y 29 Å; aunque la entrada a dicha porosidad es a través de ventanas de orden microporoso de 4.7x5.6 y 8.6 Å⁶⁵, su área superficial específica (3100 - 5900 m² g⁻¹) y su estabilidad en medio acuoso, reportada por algunos autores⁷⁶, aunque este aspecto de estabilidad es sujeto aún de debate. Sin dejar de mencionar la baja toxicidad del Fe³⁺, la cual es fundamental para ser usado en aplicaciones biomédicas.

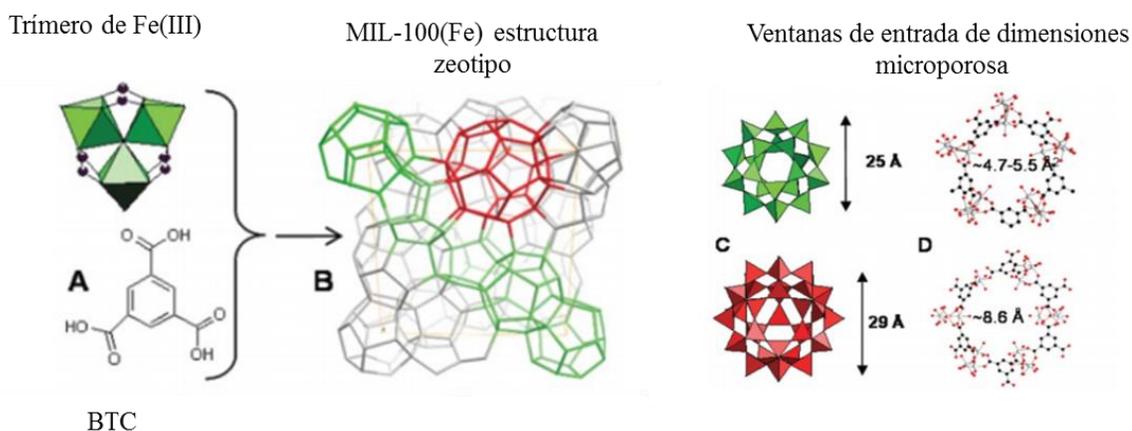


Figura 7. Reacción, formación y representación esquemática de la MOF MIL-100(Fe)
(adaptado de Horcajada y colaboradores.²⁰)

El método que generalmente es utilizado para sintetizar este tipo de material es el método solvotermal, el cual típicamente consiste en preparar una solución que contiene el precursor de hierro (Fe(NO₃)₃·9H₂O), el ácido trimésico (H₃BTC), el ácido fluorhídrico (HF), y la dimetilformamida (DMF). Esta solución se coloca en una autoclave a 150°C por 12 h^{48,49} y posteriormente es lavado con agua y etanol en condiciones de reflujo para eliminar material residual.

En esta MOF se ha encapsulado ibuprofeno (IBU) a razón de 0.347 g de IBU/g de MOF seca, para fines de liberación controlada⁶². De igual forma se pueden encontrar otros trabajos relacionados con la encapsulación de cafeína (hasta 49 %p/p)⁶⁵, docetaxel (hasta 57.2

%p/p)⁷⁹, busulfán (hasta 26 %p/p)⁸⁰. En todos estos casos, dado el tamaño pequeño de las moléculas, los autores afirman que éstas están dentro de la porosidad de la MOF.

Dada la baja toxicidad de esta MOF y los altos contenidos de moléculas que se pueden encapsular, ciertas eventuales aplicaciones han motivado o guiado el estudio de los sistemas de liberación basados en la MIL-100(Fe) hacia la obtención de partículas de tamaño nanométrico o, al menos, hacia una manera de tener control sobre el tamaño de estas. Así, se ha reportado que el tamaño se puede controlar fácilmente jugando con la naturaleza del catión metálico⁵¹, usando mezclas de Fe²⁺ y Fe³⁺ o utilizando radiación por microondas⁸¹.

2.3.1.2 Biocompatibilidad y citotoxicidad

Se ha investigado la biocompatibilidad de esta MOF mediante ensayos *in vitro* e *in vivo*. El primer reporte de ello fue para la cuantificación de ácido trimésico en orina y diferentes muestras de tejido a diferentes etapas de descomposición de la MOF⁶⁸. Los resultados mostraron que las nanopartículas son biocompatibles y después de ser inyectadas y estar en contacto con la sangre se van degradando a través del tiempo lo que provoca la disgregación en sus componentes (hierro y ácido trimésico), para ser retenidas posteriormente en el bazo e hígado. No obstante, éstas se eliminan paulatinamente. En las primeras 24 h, son desechadas en orina hasta un 28% mientras que el resto se deshecha de manera progresiva y no existe biotransformación de los componentes.

En cuanto a las MBA encapsuladas hay que mencionar que la gran mayoría son medicamentos anticancerígenos empleados para tratamientos de quimioterapia, como se muestra en la Tabla 4. Hay tres excepciones: la cafeína, que es un alcaloide empleado en la industria alimentaria y cosmética, el cidofovir que es un antiviral y la aspirina que es un analgésico. Todos estos sistemas han demostrado una liberación controlada y algunos de ellos menor toxicidad comparada con los sistemas actuales.

Tabla 4. MBA encapsuladas en MIL-100(Fe).

MBA	Pruebas realizadas	Año de publicación
Busulfán	encapsulación y liberación ⁸²	2010
Cafeína	encapsulación y liberación ⁸²	2010
Busulfán	encapsulación y liberación ⁸⁰	2011
Cafeína	encapsulación y liberación ⁶⁵	2013
Cidofovir	encapsulación y liberación toxicidad in vitro ⁸³	2013
Topotecán	encapsulación y liberación sensible a irradiación ⁸⁴	2014
Mitoxantrona	encapsulación ⁸⁵	2014
Doxorrubicina	encapsulación y liberación sensible a irradiación toxicidad in vitro ⁸⁶	2015
Aspirina	encapsulamiento y liberación ⁸⁷	2016
Busulfán	Farmacocinética y biodistribución ⁸⁸	2016
RAPTA	encapsulamiento y liberación ⁸⁹	2016
Doxorrubicina	encapsulamiento y liberación ⁵⁵	2017

En general, son pocos los estudios de toxicidad en MOF que se han hecho, ya que la mayoría de los artículos sólo se centran en publicar porcentajes de encapsulamiento y cinética de liberación de la MBA. A pesar de ello, la MIL-100(Fe) es una de las MOF que más ha sido estudiada y actualmente se continua explorando⁵².

2.3.1.3 Estabilidad en medios de liberación

Cuando se ha diseñado un sistema de liberación MBA@MOF se tiene ya claro en qué medio deberá estudiarse la estabilidad/liberación. Así, lo más común es que se utilice un medio de fluido corporal simulado (del inglés SBF), como la solución salina amortiguada por fosfatos, PBS (del inglés Phosphate Buffered Solution). Esta es una solución ampliamente usada como medio de liberación ya que su osmolaridad y concentración de iones Na⁺, K⁺, Cl⁻ son muy cercanas a la del líquido extracelular de los mamíferos. Otro medio de liberación

común es simplemente el agua. De esta forma, resulta conveniente saber las propiedades de las matrices MOF cuando éstas son sometidas a los diferentes medios biológicos simulados; quizás, la MOF puede ser altamente estable en un medio como la saliva y sólo permitir una liberación de la molécula biológicamente activa que transporta y; posteriormente, en el medio gástrico descomponerse para finalmente metabolizarse. Aunque existen otros fluidos corporales simulados, la estabilidad de las MOF generalmente se ha probado en solución PBS, o bien en agua. De esta forma, en el caso de la liberación de MBA se debe de considerar el sitio donde se desea llevar a cabo dicha liberación, pues en función de ello serán las condiciones de pH a las que se someterá la MOF; por ejemplo, pensando en una aplicación intravenosa se trabaja en condiciones de fluido corporal simulado. Para ello, lo más reportado es la solución buffer de fosfatos ya que de esta forma se simula el pH de la sangre (~7.4).

Bezverkhyy y colaboradores estudiaron la estabilidad de la MIL-100(Fe), sintetizada libre de flúor, en agua poniendo énfasis en la temperatura y el pH⁵³. Cuando la MIL-100(Fe) se suspende en agua, el pH del medio es de 2.9; al llevar el sistema a reflujo durante 48 h se constató una degradación parcial de la MOF, sin que cambios considerables por DRX pudieran ser detectados. Sin embargo, el área superficial específica muestra una pérdida del 50 %. Por otra parte, cuando el sistema se mantiene a temperatura ambiente, pero a un pH = 7, se observó una degradación casi completa de la estructura obteniéndose ferrihidrita como principal fase en DRX. Con estas observaciones se puede asegurar que la MIL-100(Fe) es más sensible al pH que a la temperatura, cuando se encuentra suspendida en agua.

Bellido y colaboradores⁷⁷ estudiaron la estabilidad en medios corporales simulados a 37 °C, el principal resultado indica que la MIL-100(Fe) se degrada en un grado poco importante (menos del 5 %) en H₂O o en una solución NaOH (pH = 7.4), después de 24 h de agitación (Figura 8A). Este resultado parecería contradecir al mencionado arriba, sin embargo, hay que señalar que los sólidos fueron preparados a partir de métodos de síntesis diferentes. De igual forma, se observó que la MOF se degrada considerablemente (en un 30 %) en presencia de una solución PBS a pH = 7.4). Esta degradación podría limitar su aplicación en sistemas de liberación, pues el medio PBS es el más estudiado. Por esta razón, a fin de dar un seguimiento

a la liberación de la MBA sin que ocurra una degradación de la red metal-orgánica, muchas pruebas se realizan en agua⁵³.

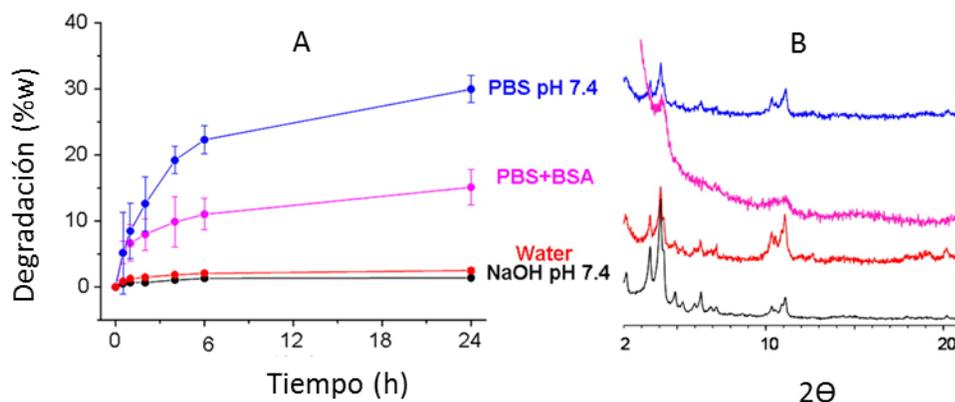


Figura 8. A) Cinética de degradación de la MIL-100(Fe) en diferentes medios fisiológicos. B) Difractogramas DRX de los sólidos expuestos a diferentes medios fisiológicos.

2.3.2 Fe-BTC

2.3.2.1 Descripción y síntesis

La MOF Fe-BTC, de nombre comercial Basolite F300 y de fórmula empírica $C_9H_3FeO_6$ (PM = 262.66 g mol⁻¹), es un material semicristalino que está compuesto por trímeros octaédricos de hierro unidos a un ácido carboxílico, que es el ácido trimésico (Figura 9). A pesar de que su estructura todavía no se ha resuelto (en la literatura se suele mencionar que este sólido no es ni cristalino ni amorfo, sino más bien desordenado⁹¹), la distribución de tamaño poros generada a partir de las isothermas de adsorción-desorción de N₂, sugieren que la MOF Fe-BTC posee sólo cavidades de 25 Å con ventana de entrada de 5.5 Å y no las cavidades de 29 Å, como es el caso de la MIL-100(Fe)³¹.

Esta MOF es de síntesis sencilla, en años recientes se ha preparado a partir de la mezcla de soluciones de Fe³⁺ y de ácido trimésico a temperatura ambiente³⁰, o incluso a partir de la sal del ácido trimésico generado por reacción de este último con 3 equivalentes de NaOH²¹.

La composición de la MOF MIL-100(Fe) y la Fe-BTC es muy semejante, sin embargo, la estructura, pureza, contracción y moléculas de solvente pueden diferir.

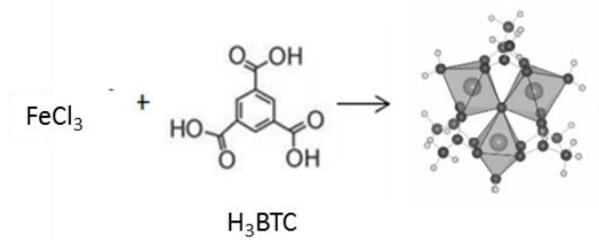


Figura 9. Reacción y formación esquemática de la MOF Fe-BTC.

2.3.2.2. Estabilidad, biocompatibilidad y citotoxicidad

Esta MOF se ha usado como catalizador sustentable para la eliminación del azul de metileno en condiciones de pH neutro, medio en el que mostró una buena estabilidad²¹. Asimismo, se demostró que es estable térmicamente hasta 290 °C.

Hasta el momento no se han publicado a la fecha estudios de toxicidad ni biocompatibilidad del Fe-BTC. Sin embargo, recientemente se ha publicado el uso de esta MOF para inmovilizar enzimas *in situ*, en un solo paso con porcentajes de encapsulación de hasta el 100%⁹², aprovechando la posibilidad de preparar esta MOF bajo condiciones sustentables y compatibles con la actividad enzimática: agua como único disolvente, temperatura ambiente y pH moderados³¹.

En este trabajo se decidió estudiar la encapsulación de moléculas biológicamente activas en los dos sistemas porosos mencionados arriba: MIL-100(Fe) y Fe-BTC, debido a su semejanza en composición, pero también de sus diferencias antes mencionadas, ya que los dos se pueden preparar bajo condiciones sustentables, y por tanto se permiten a priori la posibilidad de encapsular las MBA en un solo paso, en el propio proceso de formación de los materiales MOF.

Finalmente, a manera de resumen, en la Tabla 5 se presenta una comparación de algunas propiedades de las MOF elegidas.

Tabla 5. Comparación de propiedades de MOF basadas en Fe y H₃BTC.
(adaptado de Dhakshinamoorthy y colaboradores⁹¹)

Propiedad	Fe-BTC	MIL-100(Fe)
Ion metálico	Fe	Fe
Ligando	BTC ^a	BTC ^a
Contenido de hierro (%p/p)	25	21
Contenido de carbono (%p/p)	32	29
Estructura cristalina	No determinada	Cúbica <i>fd3m</i>
S _{BET} (m ² g ⁻¹)	840	2200
Tamaño de poros (Å)	21.7	25, 29
Tamaño de partícula en EtOH (µm)	5	15
Acidez de Lewis	fuerte	fuerte
Acidez de Brönsted	débil	ausente

^a BTC = 1,3,5-bencentricarboxilato

2.4 Aplicaciones biomédicas de las moléculas biológicamente activas

2.4.1 Rojo Congo

El rojo Congo es una molécula diazónica (Figura 10) que presenta varias propiedades, lo cual permite su uso en pruebas histológicas, además de su empleo como colorante e indicador de pH. Puede presentarse en su forma quinónica en soluciones ácidas y en su forma sulfónica en soluciones básicas, cambiando de un color azul (pH ~ 3) a una tonalidad roja (pH ~ 5)⁹³.

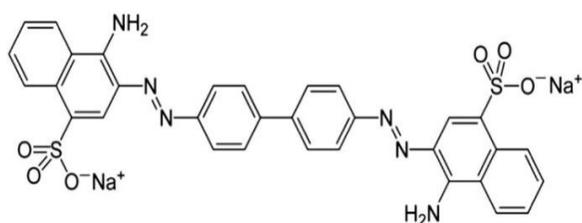


Figura 10. Estructura química del rojo Congo.

A pesar de que esta molécula es conocida por su alta toxicidad e incluso por provocar alteraciones mutagénicas bajo un manejo no adecuado, se ha demostrado que exhibe un efecto de mejora en los modelos de trastornos neurodegenerativos tales como Alzheimer, Parkinson y Huntington. Lo anterior es posible gracias a su tamaño molecular pequeño, por

lo cual logra una penetrabilidad a través de la barrera hematoencefálica, de esta manera. Esta molécula tiene un gran potencial para el control y tratamiento de dichas alteraciones⁹⁴.

Algunos modelos de degeneración neuronal reportan el uso de rojo Congo en concentraciones que van desde 1.5, 10 hasta 50 μM . Los resultados tras la administración de esta MBA mostraron que se suprime la degeneración de las neuronas. Además, este resultado logró ser mejor que el tratamiento tradicionalmente empleado, incluso en su concentración más alta. Por lo cual, algunos especialistas sugieren el uso de rojo Congo en concentraciones bajas o incluso en combinación con los compuestos tradicionales⁹⁵.

2.4.3 Epicatequina

La epicatequina (Figura 11), es un flavonoide que está presente en las semillas del cacao y algunos otros frutos y semillas. Presenta propiedades ácido-base, de forma que, es una molécula neutra en un medio ácido ($\text{pH} < 3$) y con una carga negativa a $\text{pH} = 7$. Puede unirse a polímeros biológicos como enzimas, hormonas y ADN.

Debido a lo anterior, presenta efectos terapéuticos en diversas patologías, como cardiopatía⁹⁶, distrofia muscular⁹⁶ y algunos tipos de cáncer, así como protección frente al daño oxidativo⁹⁷.

Algunos de sus beneficios también están relacionados al aumento en los niveles de óxido nítrico en la sangre, lo cual relaja los vasos sanguíneos y mejora en el flujo sanguíneo⁹⁸.

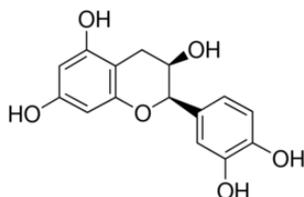


Figura 11. Estructura química de la epicatequina.

Generalmente los flavonoides como la epicatequina presentan una baja estabilidad por efectos del medio ambiente, (temperatura, luz), por lo cual el sistema de encapsulación aporta protección y control en la liberación.

Investigaciones previas reportan cantidades administradas de esta MBA en un rango de 50 a 500 μM . Una vez que la epicatequina ha sido absorbida en el organismo humano, se excreta en un lapso de 24 h el 20% de la creatina administrada, el resto, se elimina en un lapso de 48 h sin existir bioacumulación⁹⁹.

2.4.4 Curcumina

La curcumina cuya estructura se muestra en la Figura 12, es un polifenol hidrofóbico que ha sido identificado como el principio activo que se obtiene de la raíz de la cúrcuma¹⁰⁰. Esta molécula ha sido usada en innumerables aplicaciones biomédicas; por ejemplo se ha demostrado su actividad antimicrobiana¹⁰¹, antiinflamatoria¹⁰², antioxidante¹⁰³, anticancerígena¹⁰⁴, e incluso como inhibidor de la replicación genética del virus VIH-1¹⁰⁵, además de ser eficaz en el tratamiento de algunos problemas dermatológicos¹⁰⁶.

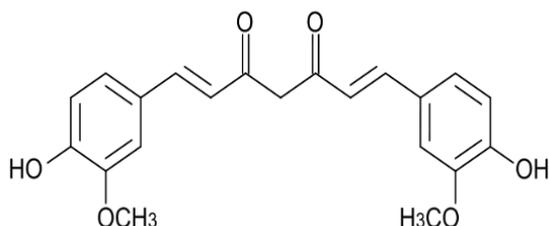


Figura 12. Estructura química de la curcumina.

La curcumina es una molécula de comportamiento lipófilo, soluble en etanol. Es inestable en pH básico, lo que provoca su degradación en ácido ferúlico y ferulometano. Por el contrario, a pH ácido es bastante estable y su degradación es muy lenta¹⁰⁷.

Las investigaciones realizadas han demostrado, a partir de ensayos in vitro, que la curcumina puede ser administrada en grandes dosis (entre 2.5 y 1000 mg kg^{-1}) sin efectos

secundarios o alteraciones al organismo. Asimismo, se elimina alrededor del 65% de la dosis suministrada en un periodo de 5 a 72 h¹⁰⁸.

Dentro de todas las aplicaciones existe un interés especial en la actividad antitumoral de la curcumina, ya que está comprobado, mediante cultivo *in vitro* que produce un 50% de inhibición de tumores con tan solo una concentración de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, lo cual sugiere que sistemas de administración de curcumina tienen un potencial como agente anticancerígeno¹⁰⁹.

2.4.5 Creatina

La creatina (Figura 13) de manera natural se encuentra presente en el cuerpo humano. Se sintetiza en el hígado, riñón y páncreas a partir de los aminoácidos arginina, metionina y glicina. Se almacena principalmente en el sistema musculo esquelético en forma de fosfocreatina y ayuda a producir adenosín trifosfato (ATP), que provee de energía al cuerpo humano¹¹⁰.

Esta MBA es altamente soluble en agua. Aunque una de sus aplicaciones más conocida quizás, sea el uso de creatina utilizada para mejorar el rendimiento físico en atletas¹¹¹, tiene la propiedad de inhibir el crecimiento de una amplia gama de tumores, de acuerdo con ensayos *in vivo*¹¹². Así mismo, se ha comprobado su efecto neuroprotector en diversas afectaciones neurológicas, como Parkinson e isquemia¹¹³.

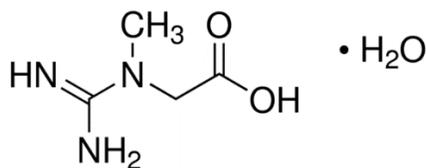


Figura 13. Estructura química de la creatina.



De manera general, la creatina en su forma monohidratada ha sido la más empleada. Se ha demostrado que no produce efectos dañinos para el ser humano, siendo posible el consumo diario de 3-5 g de creatina al día¹⁴.



3. Justificación

Actualmente, uno de los retos en la comunidad científica en el área farmacéutica es el desarrollo de una terapéutica eficiente que permita tanto el transporte, como la liberación adecuada de moléculas biológicamente activas evitando, en la medida de lo posible, efectos secundarios debidos al uso de agentes no biodegradables constituyentes del sistema de transporte-liberación. Existen investigaciones en las que se reporta la obtención de sistemas de liberación por la asociación de redes metal-orgánicas y moléculas biológicamente activas y se ha demostrado que presentan excelentes resultados en la liberación de éstas. Sin embargo, estos sistemas presentan el inconveniente de estar basados en metales tóxicos o con baja biocompatibilidad, por lo que sigue siendo un reto sintetizar nuevos sistemas a partir de materiales biocompatibles. En este contexto, la finalidad de este trabajo de investigación fue la de sintetizar redes metal-orgánicas con reputación de ser biocompatibles para la liberación adecuada de moléculas biológicamente activas. Así, se pretendió encapsular la molécula biológicamente activa en la estructura porosa de la MOF Fe-MIL-100 y Fe-BTC vía *in situ*. Con esto se espera contribuir al desarrollo de MOF con posibles aplicaciones biomédicas.



4. Objetivos

4.1 Objetivo general

Obtener MOF biocompatibles para su uso como sistemas de liberación controlada de moléculas biológicamente activas.

4.2 Objetivos específicos

1. Sintetizar las MOF MIL-100(Fe) y Fe-BTC para el encapsulamiento de rojo Congo, curcumina, epicatequina y creatina como moléculas biológicamente activas en una sola etapa (*in situ*).
2. Caracterizar los materiales sintetizados mediante diferentes técnicas físico-químicas tales como difracción de rayos-X, espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier, adsorción-desorción de N₂, microscopias electrónicas de barrido y de transmisión, así como análisis termogravimétrico.
3. Estudiar la liberación de las moléculas biológicamente activas en medios apropiados.
- 4.- Evaluar la citotoxicidad de los materiales en líneas celulares apropiadas.



5. Hipótesis

Es posible sintetizar redes metal orgánicas a partir de componentes biocompatibles y encapsular en un solo paso moléculas biológicamente activas y aplicarlas como sistemas eficientes de liberación controlada.



6. Parte experimental

En este apartado se explica la metodología seguida para la síntesis de los materiales que fungieron como matrices. Así mismo, se describen las condiciones de análisis de las técnicas de caracterización empleadas. Finalmente, se describen las condiciones de la evaluación de la liberación de las MBA.

6.1 Síntesis de los sistemas de liberación

En el diseño de la metodología para la obtención de sistemas de liberación, generalmente se contemplan dos rutas; la primera es la llamada en “un solo paso” (*in situ*); mientras que la segunda se denomina “en dos etapas” (*ex situ*). El término “un solo paso” o “dos pasos” se refiere a la encapsulación de la MBA. Cabe señalar que el método tradicional, por no decir el más empleado, para la encapsulación de MBA dentro de la porosidad de las MOF se basa en el método vía *ex situ*, en el cual una solución de la MBA se pone en contacto con la MOF previamente sintetizada.

Para la preparación de los sistemas de liberación contemplados en este trabajo, se utilizó la ruta *in situ*, en vías de proponer una forma de encapsulamiento diferente que presente la ventaja de la simplicidad en su puesta a punto y tiempos cortos de preparación.

Considerando el tamaño de las MBA usadas en este trabajo (sobre todo del rojo Congo y de la curcumina que son las más grandes) y las características del sistema poroso de ambas MOF, cualquiera pudiera preguntarse: ¿el tamaño de la porosidad es tal que pueda alojar moléculas tan grandes? El objetivo o justificación inicial de querer encapsular estas MBA no era el de retener las MBA en la porosidad intrínseca de las MOF, sino en la porosidad intercrystalina que se crea por aglomeración de partículas; es decir, en la porosidad interpartícula de tamaño del orden de los mesoporos. Esos mesoporos son más grandes y accesibles que las cavidades de ambos materiales, Fe-BTC y MIL-100(Fe), lo que hace que la liberación del fármaco no esté necesariamente ligada a la descomposición de la MOF, sino a la disgregación de las partículas/cristales aglomeradas, o simplemente, a una difusión de la MBA desde la MOF al medio.

Esta motivación surgió a partir de los resultados obtenidos por Sánchez-Sánchez y colaboradores^{17,31,115}, quienes observaron que preparando MIL-100(Fe) y Fe-BTC de manera “verde y sustentable” (ausencia de solventes orgánicos, temperatura ambiente) haciendo reaccionar la sal sódica del ácido trimésico y iones Fe^{2+} (para MIL-100(Fe), o Fe^{3+} (para Fe-BTC), se obtienen un sólido con mesoporosidad interpartícula apreciable y con potencial para retener moléculas grandes. Esta metodología se utilizó para la preparación de los sólidos descritos a continuación, luego de una estancia de investigación en el Instituto de Catálisis y Petroleoquímica del Consejo Superior de Investigaciones Científicas de Madrid, a través de una Beca Mixta CONACyT.

6.1.1 Síntesis de los sistemas de liberación basados en MIL-100(Fe)

Como ya ha sido mencionado, existen muchas MOF que han sido empleadas como matrices para la encapsulación de MBA⁷⁴. Sin embargo, se decidió utilizar la MIL-100(Fe) ya que posee un volumen de poro elevado. Además, su entrada a la porosidad permite la incorporación de moléculas orgánicas voluminosas, lo cual se traduce en una alta capacidad de carga⁶². Adicionalmente, esta MOF posee mesoporosidad intercrystalina y es preparada a temperatura ambiente^{19,92}. Es preciso mencionar que este material posee cavidades cuyo tamaño está comprendido en el rango de los mesoporos, y que su accesibilidad es a través de ventanas de dimensiones más reducidas (en el rango de los microporos), a veces insuficientes para permitir el paso, a su través, de ciertas MBA usadas en este estudio.

6.1.1.1 Síntesis del sistema MBA@MIL-100 en una sola etapa (in situ)

Si bien es cierto que la mayoría de las MOF reportadas en la literatura para encapsulación de MBA son preparadas por el método solvotermal (alta presión y temperatura)^{116,117}, hay que señalar que dicho método parte en muchas ocasiones de un ligando orgánico insoluble en disoluciones acuosas obligando a hacer uso de solventes orgánicos, generalmente tóxicos. De ahí que actualmente se busque sintetizar materiales en condiciones sustentables⁴⁹.

El procedimiento experimental se basó en lo reportado en la literatura para la preparación de la MOF MIL-100(Fe) sin MBA en su composición introduciendo algunas modificaciones. Este método presenta la ventaja de llevarse a cabo a temperatura ambiente sin el uso de solventes orgánicos^{92,115}.

La síntesis consistió en preparar dos soluciones. La solución 1 se preparó disolviendo 7.6 mmol de ácido trimésico (H_3BTC) y 22.8 mmol de hidróxido de sodio (NaOH) en 23.7 g de agua destilada. Por otro lado, en la preparación de la solución 2 se disolvieron 11.4 mmol de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ disueltos en 97.2 g de agua y la cantidad deseada de MBA. Ambas soluciones se dejaron en agitación hasta la disolución total de los reactivos. El tiempo de reacción inicia cuando la solución 2 se agrega a la solución 1 bajo agitación (Figura 14). Se observa inmediatamente la formación de una suspensión que se dejó en agitación durante 24 h y transcurrido este tiempo se centrifugó a 6,000 rpm durante 10 minutos para recuperar el sólido obtenido. Posteriormente, se realizaron dos lavados con agua destilada. El sólido húmedo se dejó secando por una noche en la estufa a 80°C . El sólido de referencia, MIL-100(Fe), se obtiene de la misma manera, sólo que no se incorpora la MBA a la solución metálica durante la síntesis.

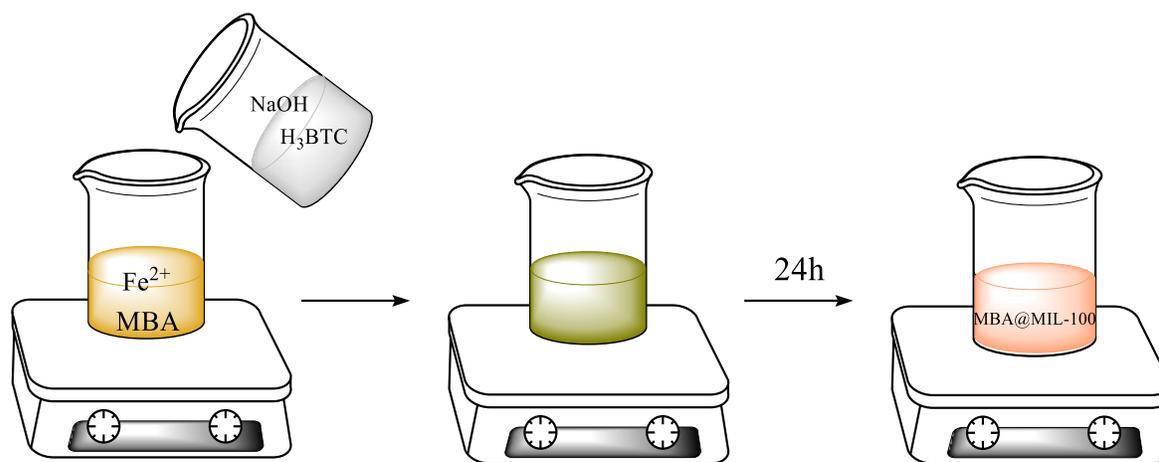


Figura 14. Metodología de preparación simplificada de los sistemas MBA@MIL-100(Fe) (*in situ*).

En el caso de los sólidos preparados con una MBA que posee color (el rojo Congo presenta una coloración roja muy intensa, y la curcumina en solución tiene un color amarillo-café intenso), el líquido sobrenadante después de síntesis fue completamente incoloro (Figura 15), indicio de que toda la MBA es retenida por el sólido.

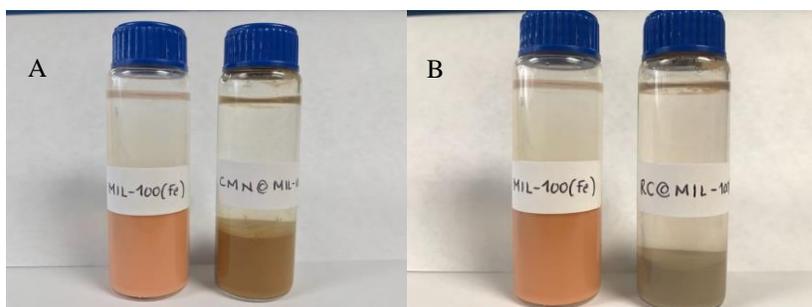


Figura 15. Imágenes de los sólidos y del sobrenadante obtenidos al final de síntesis. A) MIL-100(Fe) (izquierda) y CMN@MIL-100(Fe) (derecha), B) MIL-100(Fe) (izquierda) y RC@MIL-100 (derecha).

6.1.2 Síntesis de los sistemas de liberación basados en la MOF Fe-BTC

Esta MOF es un sistema semicristalino, que al igual que la MIL-100(Fe), tiene la ventaja de ser preparada a temperatura ambiente y poseer mesoporosidad intercrystalina. Para la preparación de esta MOF se usa ácido trimésico y, a diferencia de la MIL-100(Fe) donde el precursor de hierro es el FeCl_2 , se usa FeCl_3 .

6.1.2.1 Síntesis del sistema MBA@Fe-BTC en una sola etapa (*in situ*)

Esta preparación es semejante a la del sistema MIL-100(Fe) descrito en el apartado 6.1.1.1. El único cambio es que en esta síntesis se emplea una fuente de iones Fe^{3+} , en vez de iones Fe^{2+} . Para esto, se prepararon dos soluciones acuosas, la solución 1 se preparó disolviendo 0.263 g de H_3BTC en 10 g de una solución 1 M de NaOH. Después de la disolución total del H_3BTC , se agregó la cantidad necesaria de MBA deseada, el sistema resultante se mantuvo en agitación hasta observar la disolución total. Por otro lado, la solución 2 se preparó disolviendo 0.508 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en 10 mL de agua.

Finalmente, la solución 2 se agregó por goteo a la solución 1, que se encontraba bajo agitación continua (Figura 16). Apenas iniciada la adición, se observó inmediatamente la aparición de una suspensión que se dejó en agitación durante 4 h; transcurrido este tiempo se centrifugó a 6,000 rpm durante 10 minutos para recuperar el sólido obtenido.

Posteriormente se realizaron dos lavados con agua destilada. El sólido húmedo se dejó secando por una noche en la estufa a 80 °C.

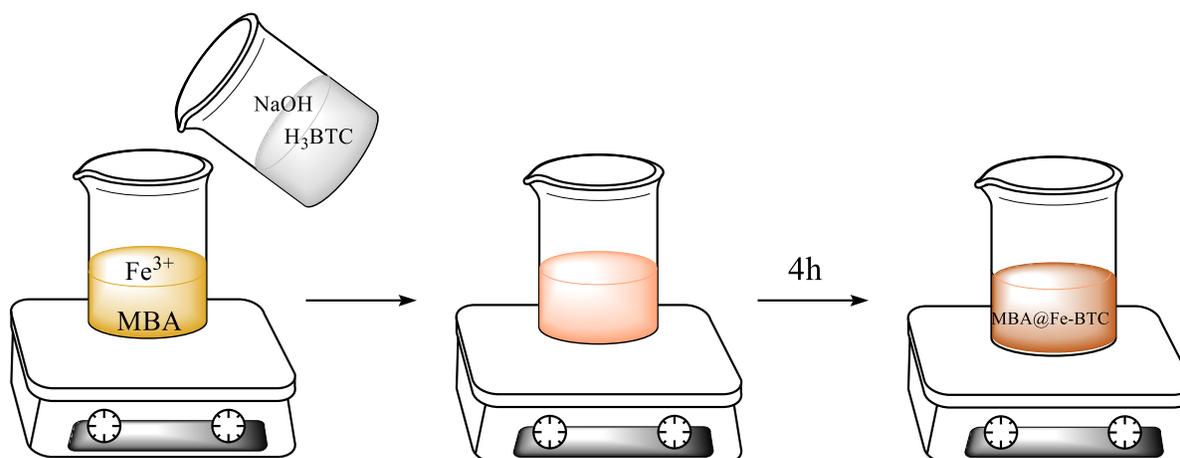


Figura 16. Metodología de preparación simplificada de los sistemas MBA@Fe-BTC (*in situ*).

Al igual que lo observado en la síntesis de los sólidos MBA@MIL-100(Fe), el líquido sobrenadante al término de la síntesis era completamente incoloro cuando la MBA de partida era un compuesto coloreado (RC y CMN).

6.2 Técnicas de Caracterización

Todos los materiales sintetizados fueron triturados en un mortero de ágata hasta que se obtuvo un polvo fino que permitió su posterior caracterización. La caracterización se realizó mediante difracción de rayos-X, espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier, adsorción-desorción de N₂, análisis termogravimétrico y microscopias electrónicas de barrido y transmisión.

6.2.1 Difracción de rayos-X (DRX)

La caracterización mediante difracción de rayos-X se realizó en un equipo Phillips X-PERT equipado de un tubo de rayos-X con ánodo de cobre ($\text{CuK}_{\alpha 1} = 1.5406 \text{ \AA}$). Las condiciones de análisis fueron de 45 kV y 40 mA. Las muestras fueron analizadas a bajo ángulo, de 0.2-6 (2θ) empleando un tamaño de paso de 0.02 y tiempo de paso de 0.02 s. Así mismo se realizó difracción a alto ángulo, en un rango de 5-50 (2θ), con un tamaño de paso de 0.04° y tiempo de paso de 4 s.

6.2.2 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

Los espectros FTIR fueron obtenidos mediante un espectrofotómetro infrarrojo Perkin Elmer RX^{-1} que cuenta con un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR) para sólidos. Dichos espectros se reportan en el intervalo de análisis de 4000 a 250 cm^{-1} .

6.2.3 Análisis termogravimétrico (ATG) y térmico diferencial (ATD)

Los análisis ATG Y ATD se realizaron en un equipo de análisis termogravimétrico Perkin Elmer STA 6000. Se utilizó una rampa de incremento de temperatura de $10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ en el intervalo de temperatura de 25 a $850 \text{ }^\circ\text{C}$, empleando nitrógeno como gas de arrastre.

6.2.4 Microscopia electrónica de barrido (MEB)

Las micrográficas que se presentan en este trabajo fueron adquiridas en un microscopio electrónico SUPRA 55 PV (Zeiss), mediante el uso de electrones secundarios, con un voltaje de 1.5 kV.

6.2.5 Microscopia electrónica de transmisión (MET)

Las micrográficas fueron obtenidas en campo claro, con un microscopio electrónico de transmisión con un corrector de aberración esférica (80-300 kV) TITAN con alta estabilidad y resolución de 0.77 \AA , marca FEI.

6.2.6 Adsorción-desorción de nitrógeno

Las propiedades texturales fueron determinadas a través de las isothermas de adsorción-desorción de N₂. Estas isothermas se obtuvieron a -196 °C en un equipo BELSORP-MAX (Bel-Japan). Se realizó un tratamiento térmico de desgasificación de muestras previo a la adsorción, el cual consistió en desgasificar durante 16 h a 150 °C en flujo de nitrógeno.

6.3 Evaluación de la liberación de las moléculas biológicamente activas

Las pruebas de liberación se llevaron a cabo colocando el sistema MOF@MBA en agua destilada con una relación de 1 mg mL⁻¹, a temperatura ambiente. Se preparó un sistema por cada tiempo de liberación de 1, 2, 4, 8 y 24 h. De cada sistema se extrajo una alícuota de 4 mL, misma que fue filtrada en acrodiscos de 13 mm de diámetro con membrana hidrofóbica de PTFE de porosidad de 0.45 μm. Finalmente, las alícuotas tomadas fueron analizadas mediante espectroscopia UV-vis. Las curvas de calibración se muestran en el apéndice.

6.4 Sólidos sintetizados

Para mayor comprensión de la presentación de resultados en la Tabla 6 y en Tabla 7. Se muestra un resumen de los sólidos sintetizados y se describe la nomenclatura empleada para el caso de los sólidos provenientes de la MOF MIL-100 y Fe-BTC.

Tabla 6. Sistemas obtenidos usando como matriz la MOF MIL-100(Fe).

Método	MBA	Nomenclatura
<i>Encapsulación in situ</i>	Rojo Congo	xRC@MIL-100
	Curcumina	xCMN@MIL-100
	Epicatequina	xEP@MIL-100
	Creatina	xCR@MIL-100

x es la cantidad de MBA utilizada (mg)

Tabla 7. Sistemas obtenidos usando como matriz la MOF Fe-BTC.

Método	MBA	Nomenclatura
<i>Encapsulación in situ</i>	Rojo Congo	x RC@ Fe-BTC
	Curcumina	x CMN@Fe-BTC
	Creatina	x CR@Fe-BTC

x es la cantidad de MBA utilizada (mg)



7. Análisis y discusión de resultados

7.1 Sistema MBA@MIL-100(Fe)

En este apartado se muestran los resultados obtenidos de la encapsulación en la MOF MIL-100(Fe). Para una mejor comprensión se analizarán todas las técnicas de caracterización por sistema, presentando en primer lugar la difracción de rayos-X, seguido de la espectroscopia de IR; posteriormente los resultados de análisis termogravimétricos y las propiedades texturales.

Al final de la presentación de resultados de caracterización se muestra la evaluación toxicológica de los sistemas que revelaron ser más prometedores.

7.1.1 Sistema RC@MIL-100

7.1.1.1 Difracción de rayos-X

El método de síntesis utilizado en la preparación de todos los sólidos fue el reportado por Sánchez-Sánchez y colaboradores¹⁷, que consiste en una manera fácil y directa de obtener MIL-100(Fe) en medio acuoso a partir de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y iones trimesato obtenidos por reacción entre el ácido trimésico (H_3BTC) y NaOH . Como fue descrito en la sección experimental, la formación de un sólido es prácticamente inmediata al terminar la adición de las soluciones. En la Figura 17 se presenta el patrón de difracción simulado²⁰ (CCDC No. 640536) de la MIL-100 y el difractograma del sólido obtenido en ausencia de MBA, en dos regiones 2θ diferentes. Se puede constatar que ambos difractogramas son similares, indicando que el sólido obtenido es un material MIL-100(Fe) altamente cristalino.

Adicionalmente se puede mencionar que no existen fases cristalinas ajenas a las reflexiones típicas de la MIL-100(Fe). Por lo tanto, el método sustentable y fácil utilizado en este trabajo conlleva a la formación de un material de buena calidad, como observado en trabajos anteriores^{17,21}. En particular, en la región de bajo ángulo, el pico correspondiente al plano (111), la de distancia interplanar mayor, se relaciona con las cavidades mesoporosas de mayor tamaño (29 Å) de la MIL-100(Fe).

La alta cristalinidad del material se corrobora con los resultados de microscopía electrónica de transmisión mostrados en el apéndice, Figura 87.

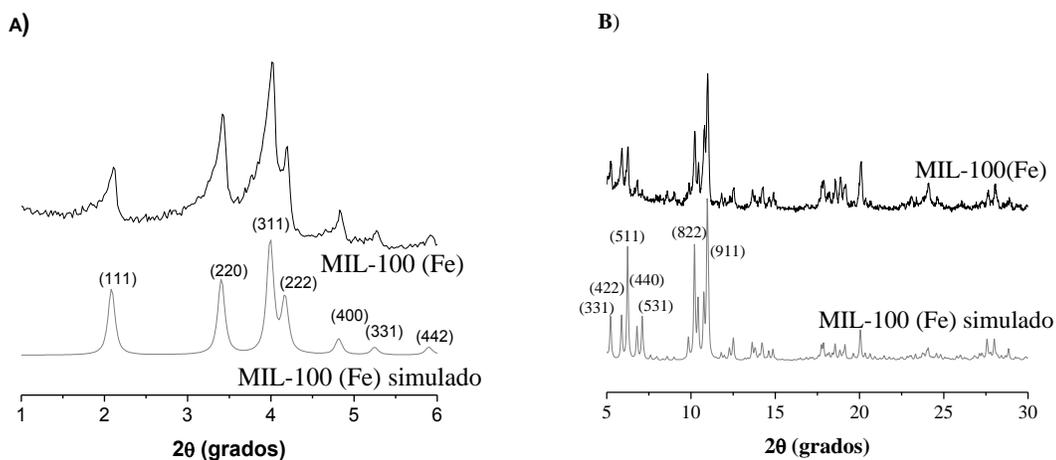


Figura 17. Difractogramas DRX del sólido sintetizado y patrón de difracción simulado MIL-100.

A) Región de bajo ángulo, B) región 5- 30° (2θ).

Por otro lado, en la Figura 18, se presentan los difractogramas de los sólidos resultantes cuando se encapsula rojo Congo en la MIL-100(Fe). Se puede observar nuevamente que la concordancia entre el difractograma del sólido MIL-100 y los sólidos RC@MIL-100 es buena; sin embargo, alrededor de $2\theta = 9-10^\circ$ se observa una reflexión ancha ajena a la fase MIL-100 y que, según reportes, no pertenece a algún tipo de sólido cristalino preparado a partir de Fe^{2+} o Fe^{3+} y ácido trimésico. Esta reflexión se ha observado en la síntesis de MIL-100 a tiempos cortos de reacción y, desaparece después de 4 h¹⁷. Los sólidos RC@MIL-100 se obtuvieron después de 24 h de reacción y, de acuerdo con lo reportado, esta impureza no debería ya estar presente desde las 4 h de reacción. A partir de este resultado se puede afirmar que la presencia de rojo Congo en la solución durante el proceso de formación-cristalización de la MIL-100 retrasa justamente esos procesos.

Por otro lado, es importante resaltar que no se observaron reflexiones atribuidas al rojo Congo (consultar los difractogramas de DRX de las MBA en el apéndice) que pudieran indicar que se encuentra simplemente soportado en la superficie externa de la MIL-100.

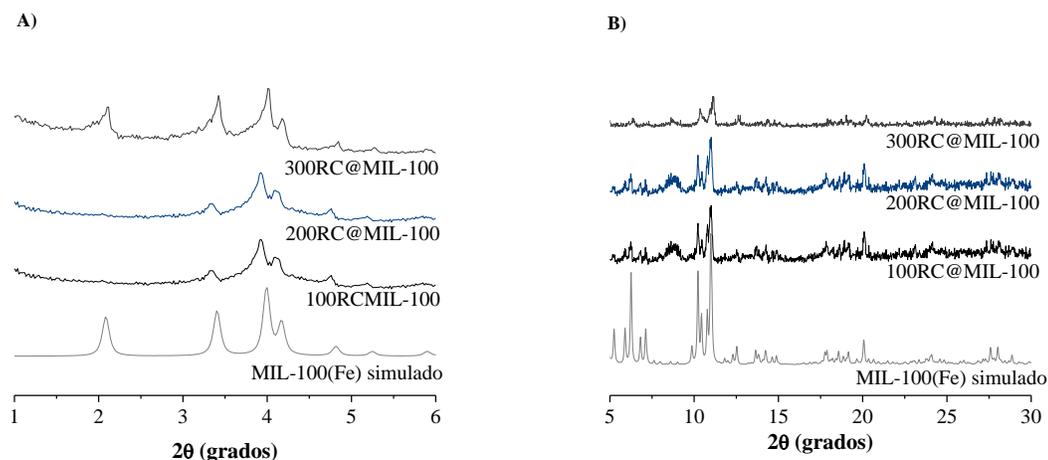


Figura 18. Difractogramas DRX de los sólidos obtenidos en la encapsulación de rojo Congo en MIL-100(Fe). A) Región de bajo ángulo, B) región 5- 30° (2θ).

Un comportamiento interesante y previamente observado se puede constatar en la región de bajo ángulo. La intensidad de las reflexiones en esta región disminuye con la encapsulación de rojo Congo. Este comportamiento puede explicarse asumiendo que la densidad electrónica dentro de las cavidades ha sido alterada, dejando suponer que las moléculas de rojo Congo están presentes. El mismo comportamiento se observó cuando se encapsulan polioxometalatos en MIL-100(Fe)¹¹⁸ o en MIL-101(Cr)³³. De manera más específica, la reflexión (*III*), situada a $2\theta = 2.11^\circ$, desaparece cuando se incorporan pequeñas cantidades de RC. Esto puede interpretarse como la ocupación de las cavidades más grandes de la MIL-100(Fe) (29 Å). Sin embargo, en el sólido con mayor contenido de RC la reflexión (*III*) si está presente; esto sugiere que alta concentración de rojo Congo influye directamente, de manera desfavorable, en la cinética del proceso de cristalización.

Para apoyar lo señalado en el párrafo anterior, en la Figura 19 se muestra la estructura molecular del rojo Congo, señalando sus dimensiones 25.5 x 6.4 x 2.6 Å. Tomando en consideración las dimensiones de las ventanas microporosas de la MIL-100(Fe) de 5.6 x 8.6 Å, que dan acceso a las cavidades mesoporosas de 25 y 29 Å, respectivamente, se puede inferir que en la síntesis *in situ*, el rojo Congo queda retenido únicamente en la cavidad de 29 Å.

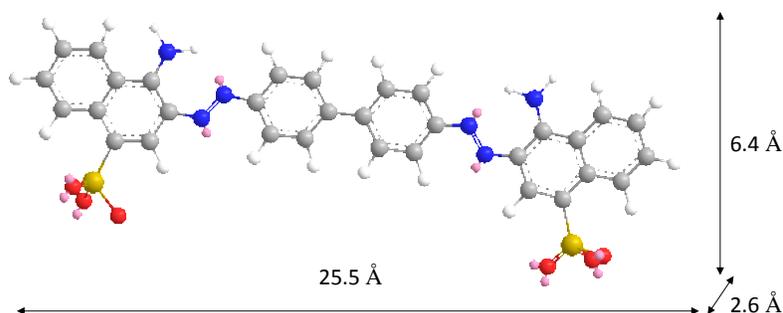


Figura 19. Estructura molecular del rojo Congo, las dimensiones fueron determinadas con el software ChemBio 3D.

7.1.1.2 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier

La Figura 20 muestra una comparación de los espectros FTIR de la MIL-100(Fe) pura, del rojo Congo y de RC@MIL-100; las principales bandas de absorción se resumen en la Tabla 8. Las bandas observadas en el sólido MIL-100(Fe) a 1627, 1570 y 1389 cm^{-1} se asignan a los modos de estiramiento de los enlaces C=O y COO^- y C-O en el trimesato, respectivamente. La banda situada a 1457 cm^{-1} corresponde al modo de vibración de flexión del enlace O-H del agua; en tanto que la banda a 719 cm^{-1} es asignada al modo de vibración del estiramiento asimétrico del enlace Fe-O en los trímeros de hierro. La pequeña banda de absorción situada a 1718 cm^{-1} se asocia a la vibración del enlace -COOH del ácido trimésico; lo que indica la presencia de dicho ácido en estado de impureza.

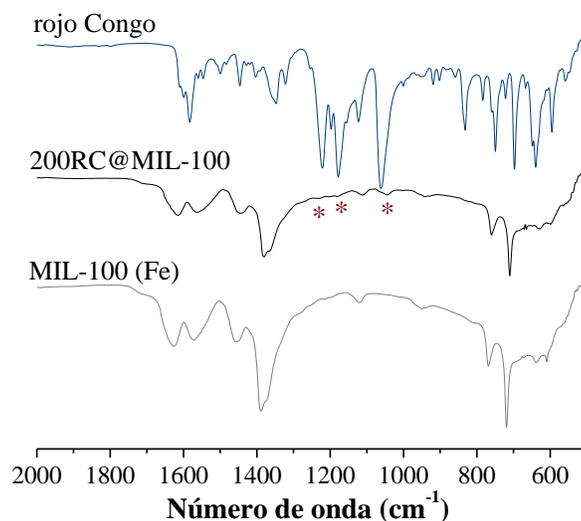


Figura 20. Espectros FTIR del sistema RC@MIL-100.

Por su parte, en el espectro FTIR del rojo Congo se observan bandas de vibración situadas a 1583 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del grupo azo $\text{N}=\text{N}$, a 1348 cm^{-1} , asigna a la flexión del enlace $\text{C}-\text{N}$ ¹¹⁹. Finalmente, las bandas localizadas a 1221 , 1179 y 1062 cm^{-1} corresponden a modos de vibración de estiramiento del enlace $\text{S}=\text{O}$ en el grupo sulfónico^{120,121}.

De manera particular, en el caso del sistema 200RC@MIL-100 , además de las bandas características de la MOF, es notoria la presencia de bandas adicionales (señaladas con *) localizadas a 1234 , 1180 y 1045 cm^{-1} que corresponden a tres de las bandas de vibración asignadas al rojo Congo, descritas anteriormente. Esta observación, junto con los resultados de difracción de rayos-X a bajo ángulo, confirma la presencia del rojo Congo en la MOF, aunque probablemente de manera altamente dispersa.

Tabla 8. Asignación de frecuencias de absorción FTIR del rojo Congo y MIL-100(Fe).

Rojo Congo	Número de onda (cm ⁻¹)	Asignación
	1583	ν N=N
	1348	flexión C-N
	1221	ν S=O
	1179	ν S=O
	1062	ν S=O
MIL-100(Fe)	1627	ν C=O
	1570	ν COO ⁻
	1457	flexión O-H
	1389	ν C-O
	719	ν_{as} (Fe ₃ -O)

7.1.1.3 Análisis termogravimétrico

En un sistema en donde una MBA se ha encapsulado en una MOF, la cantidad de MBA retenida en la red porosa, después del proceso de encapsulación, puede estimarse por diversas técnicas: análisis elemental (ya sea del sólido por fluorescencia de rayos-X o bien después de disolución de éste^{62,122}, HPLC (por disolución del sistema y posterior análisis de la cantidad de MBA liberada)⁶² o por análisis termogravimétrico^{18,55}.

Diversos autores señalan que, en el caso del ATG, la estimación de la cantidad de MBA encapsulada puede ser algo difícil por varias razones⁶². En primer lugar, es obvio que la temperatura de desorción/descomposición de la molécula encapsulada variará en la medida en que interaccione con la red metal-orgánica. A mayor interacción, mayor será la temperatura de desorción/descomposición. Por ejemplo, en la caracterización por ATG de sólidos ibuprofeno@MIL-100(Fe) se ha observado que la temperatura de descomposición del ibuprofeno aumenta de 125 °C (ibuprofeno solo) a 150 °C cuando éste se encuentra encapsulado¹²². Por otro lado, mientras que en el sistema ibuprofeno@MIL-100(Cr) el ibuprofeno comienza a perderse a 200 °C, en el sistema ibuprofeno@MIL-101(Cr) la pérdida comienza a 150 °C⁶². En segundo lugar, a menudo la pérdida inicial de solvente contenido en las MOF puede confundirse con la pérdida inicial de las moléculas encapsuladas que están interactuando débilmente con la red.

Finalmente, es difícil asegurar que mientras la red está colapsando/descomponiéndose, no se estén perdiendo simultáneamente moléculas de MBA.

Teniendo en cuenta todo esto, el ATG sigue siendo una buena herramienta para estimar la cantidad de especies encapsuladas en una red metal-orgánica. Para ello, es necesario comparar las curvas ATG de la MBA, la MOF y el sistema híbrido MBA@MOF.

En la Figura 21 se muestran la curva ATG del sólido MIL-100(Fe) comparada con la del ligando libre (H_3BTC , ácido trimésico) que constituye a esa MOF. De la curva ATG del H_3BTC se puede afirmar que la descomposición es abrupta y se lleva a cabo en dos etapas; la primera está comprendida entre los 273 °C y 450 °C (máximo en 383 °C) y representa la pérdida de masa más importante (84.58 %), mientras que la segunda comienza a 450 °C y concluye alrededor de los 573 °C (centrada en 486 °C) donde todo el ácido trimésico se ha descompuesto.

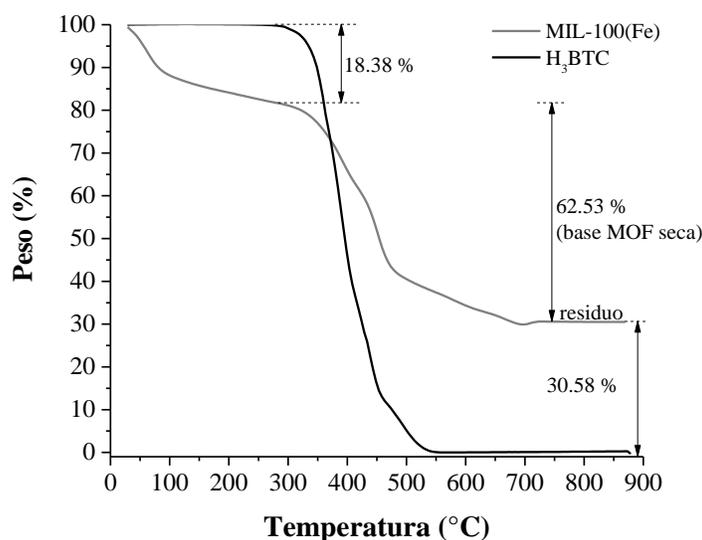


Figura 21. Curvas ATG de MIL-100(Fe) y H_3BTC .

Por su parte, en la curva ATG de la MIL-100(Fe) se observa un perfil semejante; sin embargo, los eventos de pérdida de masa ocurren a temperaturas diferentes, como es de esperarse, debido a que el ligando BTC^{3-} está en interacción con los centros metálicos de hierro.



Así, se observa un perfil que ocurre en tres etapas; la primera pérdida (18.38 %) se prolonga hasta los 304 °C y se atribuye a la pérdida de solvente retenido dentro y fuera de la MOF. Hasta este punto se considera que la MOF se encuentra completamente libre de cualquier solvente (MOF seca). Posteriormente, el perfil sigue una ruta de descomposición semejante a la del ligando libre, con eventos centrados en 388 y 453 °C.

El porcentaje de ligando contenido en la MOF seca puede estimarse a partir de los datos del ATG. Así, partiendo del porcentaje en peso correspondiente a la MOF seca [(100 % – 18.38 %) = 81.62 %] y conociendo el porcentaje correspondiente al residuo (30.58 % w), que se asume es Fe₂O₃, es posible calcular lo siguiente:

Base de cálculo = 1g de MOF de síntesis.

$$\begin{aligned} \text{masa del ligando en la MOF seca} &= 1 \text{ g} \times (w_{\text{MOF seca}} - w_{\text{residuo}}) = 1 \text{ g} (0.8162 - 0.3058) \\ &= 0.5104 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\text{moles de ligando} = \frac{0.5104 \text{ g}}{207 \text{ g mol}^{-1}} = 0.0024 \text{ moles}$$

$$\text{masa del residuo(Fe}_2\text{O}_3) = \text{base de cálculo}(w_{\text{hasta el residuo}}) = 1 \text{ g} \times (0.3058) = 0.3058 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{masa de Fe en el residuo} &= (\text{masa del residuo}) \times (w_{\text{de Fe en el residuo}}) = (0.3058) \times (0.6994) \\ &= 0.2138 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{moles de Fe en la MOF de síntesis} &= \left(\frac{\text{masa de Fe en el residuo}}{\text{masa atómica de Fe}} \right) = \frac{0.2138 \text{ g}}{55.84 \text{ g mol}^{-1}} \\ &= 0.0038 \text{ moles} \end{aligned}$$

donde *w* es la fracción peso.

A partir de estos datos se puede determinar la relación molar:

$$\frac{\text{Fe}}{\text{BTC}} = \frac{0.0038}{0.0024} = 1.58$$



Esta relación molar es típica de sólidos MIL-100(Fe) preparados por el mismo método que el utilizado en este trabajo¹⁷. Cabe señalar que la relación molar estequiométrica Fe/BTC³⁻ según la fórmula de esta MOF deber ser de 1.5, por lo que se podría inferir que el sólido obtenido es de alta pureza. Sin embargo, como ya fue señalado por FTIR, el material presenta H₃BTC libre no detectable por DRX. Según los resultados de FTIR descritos en párrafos anteriores se observa una pequeña banda de absorción a 1718 cm⁻¹ (νC=O del ácido) atribuible a la presencia de H₃BTC libre. Es necesario señalar que el H₃BTC es insoluble en agua y parcialmente soluble en EtOH, lo que dificulta la remoción total del ácido sin reaccionar si las condiciones de síntesis tienen características de pH ácidas (pH ≈ 5) como en el caso de este trabajo.

Debido a lo anterior, los cálculos arriba realizados a partir de los datos del ATG, deben ser tomados solamente a título indicativo.

Habiendo realizado esta observación se puede estimar el contenido de hierro en el material de la siguiente forma:

Base de cálculo = 1 g de MIL – 100(Fe) sintetizada.

% de cenizas obtenido del ATG (Fe₂O₃) = 30.58

$$\% \text{ Fe en el Fe}_2\text{O}_3 = \frac{(2)(\text{masa atómica Fe})}{\text{masa molar de Fe}_2\text{O}_3} = \frac{(2)(55.84)}{159.69} \times 100 = 69.93$$

Masa de de Fe en las cenizas = (0.3058g)(0.6994) = 0.2138 g

Por lo tanto, según la base de cálculo considerada de 1 g de MIL-100(Fe) sintetizada, el porcentaje de hierro en la muestra es de:

$$\frac{0.2138g \text{ de Fe}}{1g \text{ de MOF}} \times 100 = 21.38\%$$

Es importante señalar que, según los reportado en la literatura, para muestras preparadas en medio acuoso, el porcentaje peso de hierro calculado Fe^{III}₃O(OH)(H₂O)₂{C₆H₃(CO₂)₃}₂·nH₂O (n ≈ 14.5) es de 24.6 %.

En resumen, el comportamiento térmico del sólido MIL-100(Fe) concuerda con el observado por Guesh y colaboradores¹⁷ para sólidos sintetizados por el mismo método.

En la Figura 22 se muestra el diagrama ATG del rojo Congo; se observa una ligera pérdida de peso, menor al 7 %, antes de 400 °C y, a partir de esa temperatura inicia una descomposición brusca, centrada en 495 °C, hasta una pérdida de peso total de 70.75 %. Es importante remarcar que en el rango de temperatura del estudio del ATG, aún queda residuo de RC por encima de 600 °C lo que podría atribuirse a los adyuvantes contenidos en el RC comercial (el fabricante Aldrich señala un contenido mínimo de 85% de RC).

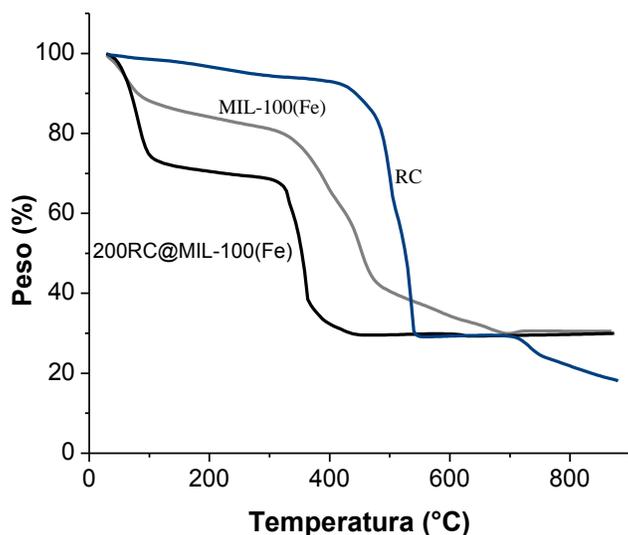


Figura 22. Curvas ATG de los sólidos del sistema RC@MIL-100.

Por su parte, la curva ATG del material híbrido 200RC@MIL-100 muestra un perfil en dos etapas. Se observa una pérdida de peso inicial de 25.37 % centrada a 83 °C que se prolonga hasta 263 °C, que puede atribuirse a la pérdida de moléculas de solvente. Posteriormente se constata un segundo evento a 358 °C. Analizando las curvas de ATG mostradas, resulta difícil poder cuantificar, o al menos estimar, la cantidad de RC presente en la muestra 200RC@MIL-100 porque el perfil de pérdida de masa es muy semejante al de la MOF sin MBA. Sin embargo, el hecho de que toda la curva 200RC@MIL-100 se encuentre desplazada hacia la región de baja temperatura



podría tomarse como un indicio de la presencia de rojo Congo en la muestra. De esto puede inferirse que el híbrido posee una estabilidad térmica inferior a la de la MOF libre de rojo Congo pues, lo que se supone es el residuo (Fe_2O_3), se obtiene de manera rápida a $458\text{ }^\circ\text{C}$ (en la MOF libre de MBA se obtiene alrededor de $650\text{ }^\circ\text{C}$). Este comportamiento de sensibilización ante la temperatura también ha sido observado luego de la encapsulación de moléculas pequeñas (ibuprofeno, cafeína) en esta MOF. Sin embargo, en esos estudios también se ha constatado que la temperatura a la cual se pierden las moléculas encapsuladas es superior a la temperatura a la cual parten o se descomponen cuando están libres. Los autores señalan que, al origen de esto se encuentran las fuertes interacciones que surgen entre las moléculas encapsuladas y la red de la MOF; o bien, por el simple hecho de estar dentro de los poros o de las cavidades las vuelve más resistentes o se ven protegidas^{62,65,122}.

Es importante señalar aquí aspectos relacionados con las fuerzas motrices que pueden dirigir o guiar una interacción entre un adsorbato o molécula encapsulada y una matriz. Esta información será útil más adelante cuando se describan las posibles interacciones entre las moléculas de este estudio y la red de la MIL-100(Fe).

Dentro de las posibles interacciones que pueden existir entre una molécula encapsulada y la red que la contiene, se pueden mencionar a la interacción ácido-base entre los sitios coordinativamente insaturados (CUS)¹²⁴, de los centros metálicos (Fe en el caso de la MIL-100(Fe), que se comportan como sitios ácidos de Lewis, y grupos funcionales básicos de las moléculas (por ejemplo, los grupos $-\text{NH}_2$, $-\text{NR}_2$). Como ya se mencionó en secciones anteriores, y como se muestra en la Figura 23, la MIL-100(Fe) está basada en trímeros μ_3 -oxo centrados de octaedros de Fe^{III} .

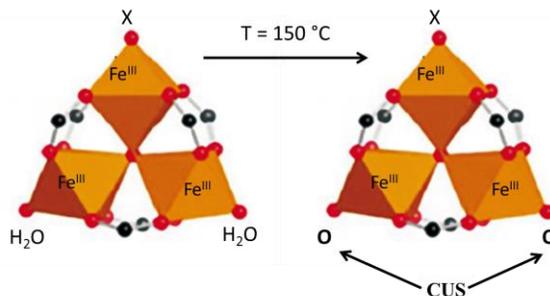


Figura 23. Formación de sitios Fe^{III} coordinadamente insaturados (CUS) por remoción de moléculas de H_2O .

Cuando se sintetiza este sólido, las moléculas terminales de dos de los tres octaedros de hierro son dos moléculas de H_2O y, dependiendo de las condiciones de síntesis, el tercer octaedro tiene un anión $\text{X} = \text{OH}^-$, F^- (en el caso de la síntesis realizada en este trabajo $\text{X} = \text{OH}^-$, dado que la reacción es llevada a cabo en medio puramente acuoso y en ausencia de iones F^-). Cuando las dos moléculas de agua se remueven por calentamiento, se genera un sitio coordinativamente insaturado en la esfera de coordinación octaédrica del Fe^{III} que actúa como sitio ácido de Lewis en la porosidad. Estos sitios son aprovechados para la adsorción selectiva de gases¹²⁴ o para la remoción de contaminantes presentes en aguas residuales^{51,125,126}.

Sin embargo, estos CUS también se puede aprovechar desde síntesis si en el medio de reacción existen moléculas de interés (fármacos, colorantes, etc.) con grupos capaces de interactuar con ellos. También es posible aprovecharlos durante los procesos de adsorción cuando se pone en contacto la MOF seca con una solución que contiene a la especie a adsorberse. Tal ha sido el caso de la remoción de azul de metileno (AM) de aguas de desecho en la MIL-100(Fe), en donde la fuerza motriz de la adsorción es la interacción entre los CUS de Fe^{III} y los grupos $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ (básicos) del AM. Los mismos argumentos se han señalado en el caso de la adsorción de verde de malaquita en la MIL-100(Fe)¹²⁷.

De igual forma, pueden existir interacciones electrostáticas entre la red y las moléculas dependiendo del pH del medio y del punto de carga cero (ZPC) de la superficie de la MOF. En el caso de la MIL-100(Fe) el punto de carga cero es muy bajo en la escala de pH (Figura 24)¹²⁸.

Esto indica que la carga superficial de la MOF es negativa para pH superiores a la unidad.

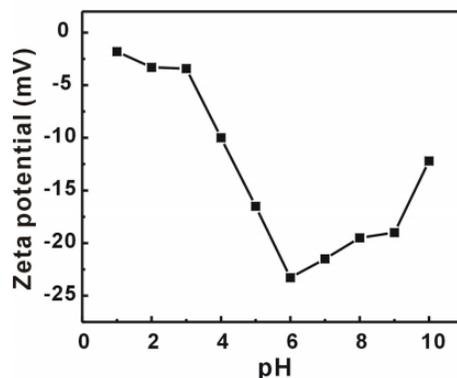


Figura 24. Potencial zeta de MIL-100(Fe) en agua ultra pura en función del pH a temperatura ambiente.

Esto indica que, en prácticamente toda la escala de pH (al menos entre 1 y 10), la superficie de la MIL-100(Fe) es apta para adsorber cationes; por ende, los colorantes catiónicos pueden ser adsorbidos mientras que los aniónicos serán repelidos.

Para explicar la adsorción de moléculas neutras no se pueden utilizar los argumentos electrostáticos; sin embargo, es importante mencionar que, otra fuerza motriz para la adsorción es la interacción π - π entre los anillos bencénicos de la red de la MIL-100(Fe) y los anillos bencénicos (si aplica) de las moléculas adsorbidas. De esta forma, en el estudio de Jia y colaboradores¹²⁸, la adsorción de la isatina, un derivado del indol, que en solución acuosa no genera iones, se explica usando los argumentos de esta interacción.

Finalmente, regresando a los resultados de este trabajo, es necesario mencionar que los análisis de DRX y FTIR presentados en párrafos anteriores muestran indicios de una encapsulación del RC en la MIL-100 y una ocupación de la gran cavidad; sin embargo, dado el tamaño de la molécula de RC de 25.5 Å y de la cavidad de 29 Å, se puede inferir que la encapsulación *in situ* es posible sólo a costa de la estabilidad térmica del sistema.

El rojo Congo es una molécula que una vez disuelta presenta un cromóforo con dos cargas negativas en dos regiones diferentes de la molécula. Así, la interacción electrostática con la

superficie de la MIL-100(Fe) cargada negativamente en las condiciones de la síntesis de este trabajo ($\text{pH} \approx 5$), y la carga negativa del rojo Congo parece inhibir el encapsulamiento. Sin embargo, según la estructura molecular del rojo Congo (Tabla 8 y Figura 19), éste posee 6 anillos aromáticos susceptibles de interactuar favorablemente a través de interacciones π - π con los de la red de la MIL-100(Fe). Además, esta molécula contiene dos grupos $-\text{NH}_2$ (base de Lewis) que pueden reemplazar a las moléculas de agua coordinadas vía interacciones ácido-base de Lewis a los Fe^{III} de los octaedros que forman el trímero fundamental (Figura 23). Hay que señalar que, el hecho de que haya un impedimento electrostáticamente hablando, para la encapsulación, no impide que las otras interacciones (π - π o ácido-base de Lewis) sean las dominantes y la adsorción pueda llevarse a cabo. De hecho, en estudios de adsorción de azul de metileno (colorante catiónico), azul de metilo (colorante aniónico) e isatina (compuesto neutro) en MIL-100(Fe) se ha puesto de manifiesto la importancia de cada una de las interacciones arriba mencionadas¹²⁸.

7.1.1.4 Adsorción-desorción de nitrógeno

Los resultados de los análisis de adsorción-desorción de N_2 a $-196\text{ }^\circ\text{C}$ de las muestras que contienen rojo Congo se muestran en la Figura 25 y en la Tabla 9. La muestra MIL-100(Fe) presenta una isoterma de tipo I, típica de este tipo de materiales microporosos. Debido a la presencia de dos tipos de ventanas microporosas y cavidades mesoporosas de diferente tamaño, se observan dos cambios de pendiente a $p/p_0 = 0.06$ y 0.12 en la isoterma. Se usó el método Horvath-Kawazoe (HK) para determinar la distribución de tamaño de poros, dando como resultado valores de 11 y 15 \AA . De acuerdo con lo reportado en la literatura, estos valores son generalmente subestimados²⁰ puesto que los diámetros de las supercavidades en la MIL-100(Fe) tienen dimensiones de 25 y 29 \AA . En este sentido, es significativo que la diferencia en el diámetro de poro se mantiene en 4 \AA , que es la diferencia esperada. La distribución de tamaño de poros se suele usar como indicio de la presencia de las cavidades y, por ende, de la calidad del material sintetizado. El área superficial específica es de $1366\text{ m}^2\text{ g}^{-1}$ y el volumen de poro de $0.58\text{ cm}^3\text{ g}^{-1}$.

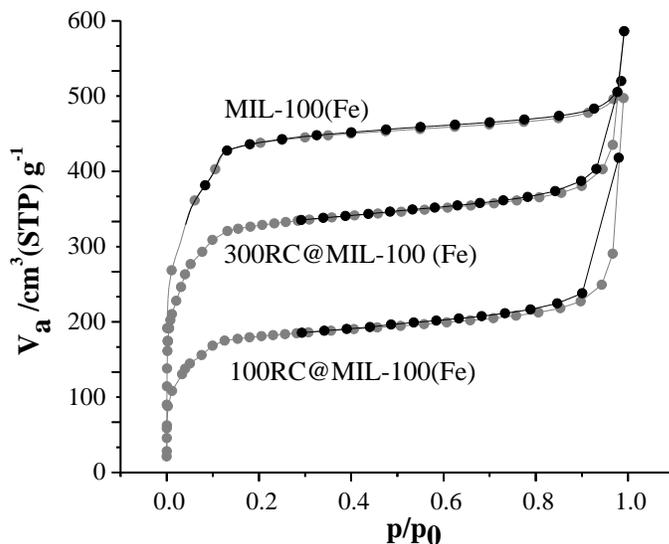


Figura 25. Isothermas de Adsorción-desorción de nitrógeno del sistema RC@MIL-100(Fe).

Por otra parte, cuando se incorpora rojo Congo en la MIL-100(Fe) se observa una disminución del área superficial específica (Tabla 9) permitiendo suponer una ocupación de la porosidad de esta MOF. Este comportamiento es congruente con las observaciones realizadas en los análisis de DRX, FTIR y ATG, reportadas en párrafos anteriores.

Tabla 9. Propiedades texturales del sistema RC@MIL-100.

Sistema	S_{BET} ($m^2 g^{-1}$)	V_p ($cm^3 g^{-1}$) ^a
MIL-100(Fe)	1366	0.58
100RC@MIL-100	635	0.76
300RC@MIL-100	916	0.66

^a Estimado a $p/p_0 = 0.98$ para MIL-100(Fe) y a $p/p_0 = 0.99$ para RC@MIL-100.

7.1.1.5 Resumen del sistema RC@MIL-100(Fe)

A la vista del conjunto de resultados obtenidos a partir de las diferentes técnicas de caracterización del sistema RC@MIL-100, se puede afirmar que la encapsulación del rojo Congo en la MOF se realizó de manera exitosa, basándose principalmente en los siguientes hechos:

- La ausencia del color característico del rojo Congo (rojo intenso) en el licor madre.

- b) La disminución de la intensidad, o la desaparición, de la reflexión de DRX (*111*) asociada con la ocupación de la cavidad de 29 Å.
- c) La presencia de bandas características en el espectro de FTIR asociadas al rojo Congo en el sistema RC@MIL-100.
- d) La disminución del área superficial específica respecto al sólido de referencia (1366 m² g⁻¹) cuando se incorpora RC.
- e) La disminución de la estabilidad térmica de los materiales híbridos RC@MIL-100 respecto a la MIL-100(Fe).

7.1.2 Sistema CMN@MIL-100

7.1.2.1 Difracción de rayos-X

Los difractogramas de los sólidos CMN@MIL-100 se muestran en la Figura 26. De manera general se muestra que la estructura de la MOF no se ve alterada con la incorporación de curcumina en la muestra. Sin embargo, se observa una disminución generalizada de la intensidad de las reflexiones sugiriendo una incorporación de la curcumina.

Particularmente, en la región de bajo ángulo se observa una disminución en la intensidad de la reflexión (*111*) para bajos contenidos de curcumina. Esto concuerda con lo observado en el caso de la encapsulación del rojo Congo, cuya disminución de intensidad se asoció con la ocupación de la cavidad de 29 Å. Adicionalmente, se observa que la relación de intensidades de las reflexiones (*220*) y (*311*) se invierte para altos contenidos de curcumina.

Esto puede asociarse al hecho de que la curcumina ocupa igualmente la cavidad más pequeña de 25 Å. Así mismo concuerda con lo observado por Mayoral y colaboradores, quienes, tras incorporar partículas de Ag en la MIL-100(Fe), reportaron cambios en las intensidades relativas de las reflexiones asociadas con las cavidades mesoporosas de esta MOF, atribuyendo esto a la ocupación de ambas cavidades¹²⁹.

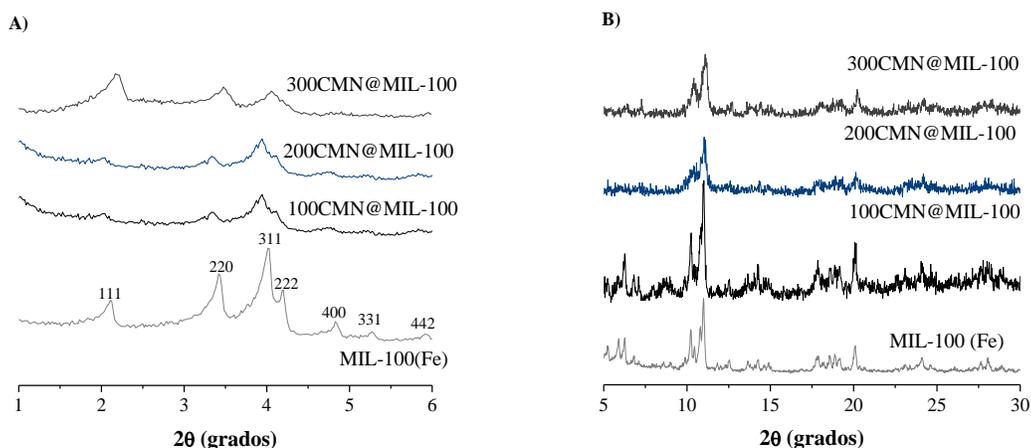


Figura 26. Difractogramas DRX de los sólidos obtenidos en la encapsulación de curcumina en MIL-100(Fe). A) Región de bajo ángulo, B) región 5- 30° (2θ).

La buena cristalinidad de estos materiales observada por DRX se confirmó por microscopía electrónica de transmisión cuya micrografía se presenta en el apéndice, Figura 88.

La simulación de la estructura molecular de la curcumina, Figura 27, muestra las dimensiones de esta MBA. Los valores encontrados corroboran que esta molécula puede ser retenida durante la síntesis *in situ* en ambos tipos de cavidades de la MIL-100(Fe).

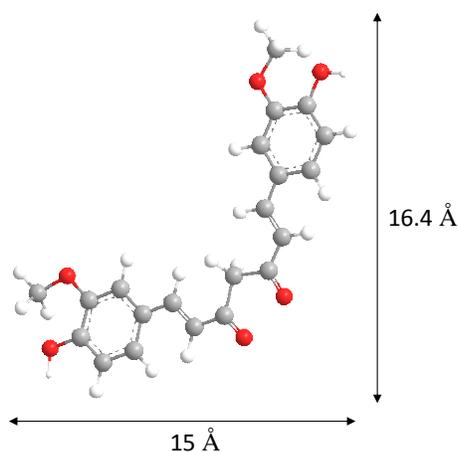


Figura 27. Estructura molecular de la curcumina, las dimensiones fueron determinadas con el software ChemBio 3D.

7.1.2.2 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier

De acuerdo con los espectros FTIR mostrados en la Figura 28, la curcumina libre presenta dos bandas de vibración a 1627 y 1602 cm^{-1} atribuidas a los modos de vibración de estiramiento del enlace C=O. Por otro lado, la banda situada a 1274 cm^{-1} corresponde al modo de estiramiento del enlace C-O en grupo $-\text{OCH}_3$ unido al anillo bencénico^{100,120}. Finalmente, las bandas asociadas al modo de vibración de flexión de los enlaces C=C se localizan a 962 y 808 cm^{-1} .

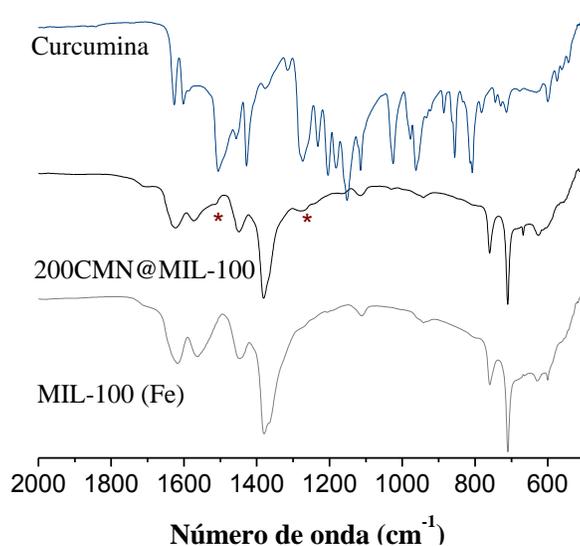


Figura 28. Espectros FTIR del sistema 200CMN@MIL-100.

En el material 200CMN@MIL-100, además de las bandas de vibración típicas de la estructura de la MOF, se observan bandas situadas en 1518 y 1280 cm^{-1} que se asocian a la presencia de curcumina en el sólido (Tabla 10). Este resultado concuerda con lo observado en la caracterización de difracción de rayos-X.

Tabla 10. Asignación de frecuencias de absorción FTIR de la curcumina.

Curcumina	Número de onda (cm ⁻¹)	Asignación
	1627, 1602	νC=O
	1274	νC-O
	962, 808	flexión -C=C-

7.1.2.3 Análisis termogravimétrico

Hasta aquí, los resultados de los análisis previos de DRX y FTIR indicaron una encapsulación de la CMN en la MIL-100(Fe) exitosa. Las curvas de análisis termogravimétrico del sistema CMN@MIL-100 se presentan en la Figura 29.

Los perfiles de las curvas ATG de la MIL-100(Fe) y de CMN@MIL-100 son prácticamente idénticos; sin embargo, en términos de estabilidad térmica son muy diferentes.

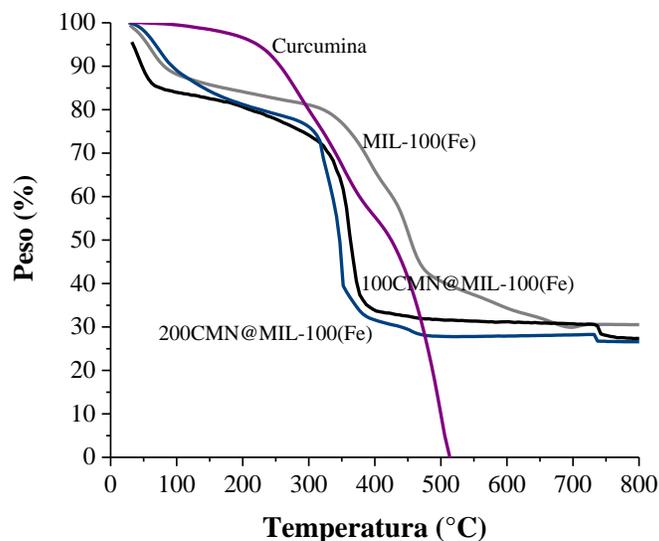


Figura 29. Curvas ATG de los sólidos del sistema CMN@MIL-100.

Los materiales híbridos son mucho más sensibles a la temperatura que la MOF libre de CMN, puesto que los primeros se descomponen a 454 °C obteniéndose 26.92 % de residuo, siendo presumiblemente Fe₂O₃. Tal y como se discutió en el caso del sistema RC@MIL-100, este comportamiento puede ser tomado como un indicio más de la posible encapsulación de curcumina en la MIL-100(Fe). A partir de los perfiles de los materiales híbridos es muy complicado realizar una estimación de la cantidad de CMN encapsulada ya que la pérdida de porcentaje de masa que comienza alrededor de 300 °C se asigna a la pérdida de ligando orgánico estructural, pero también la pérdida de la CMN se puede producir alrededor de esa temperatura.

Por otro lado, en el caso de la curcumina, la estructura molecular mostrada en la Tabla 10 y en la Figura 27 indican la presencia de dos anillos aromáticos que pueden favorecer la interacción dentro de los poros vía interacción π - π con los anillos de la red de la MOF. De igual forma, la presencia de los dos grupos cetónicos puede dar origen a una interacción con los Fe^{III}, tal y como sucede en la encapsulación de curcumina en una red de imidazolato zeolítico (ZIF-8), como se muestra en la Figura 30¹³⁰.

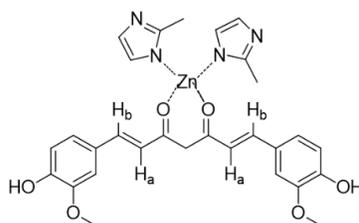


Figura 30. Representación de la interacción de los grupos cetónicos de la curcumina con el Zn^{II} de la red de la ZIF-8 (se explicitan ciertos átomos de hidrógeno).

Esta interacción sólo sería posible en ciertas condiciones de pH, dado que la curcumina presenta diferentes especies en función de éste (Figura 31). La forma enólica (en rojo) está en equilibrio con la forma dicetónica (no mostrada) en el pH del proceso de encapsulación usado en este trabajo (pH \approx 5)¹³¹. De esta forma, es posible proponer una interacción semejante al mostrado en la Figura 30, entre el Fe^{III} y la forma dicetona de la curcumina.

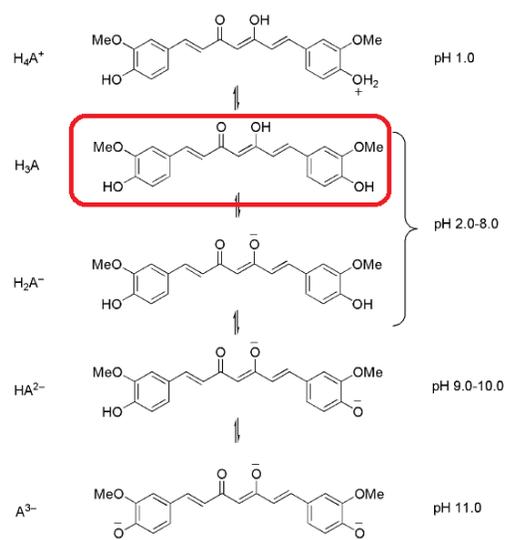


Figura 31. Equilibrio ácido-base de la curcumina.

En resumen, los análisis de ATG de las muestras del sistema CMN@MIL-100 permiten suponer que existe una interacción entre la curcumina y la MIL-100(Fe).

7.1.2.4 Adsorción-desorción de nitrógeno

En la Figura 32 y Tabla 11 se muestran los resultados de adsorción-desorción de N_2 a $-196\text{ }^\circ\text{C}$, así como las propiedades texturales del sistema CMN@MIL-100. Es evidente el decaimiento del área superficial específica como consecuencia de la incorporación de la curcumina en la MOF, de manera que, en base a estos resultados y las observaciones anteriormente descritas de DRX, FTIR y ATG, se infiere que la curcumina está ocupando las cavidades de la MOF.

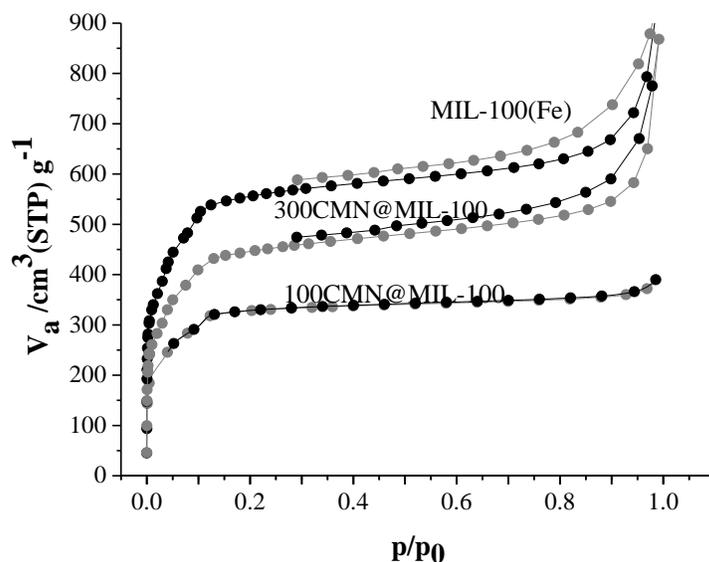


Figura 32. Isothermas de Adsorción-desorción de nitrógeno del sistema CMN@MIL-100(Fe).

Tabla 11. Propiedades texturales del sistema CMN@MIL-100.

Sistema	S_{BET} ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$)	V_p ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$) ^a
MIL-100(Fe)	1366	0.58
100CMN@MIL-100	787	0.65
300CMN@MIL-100	779	0.73

^a Estimado a $p/p_0 = 0.98$ para MIL-100(Fe) y a $p/p_0 = 0.99$ para CMN@MIL-100.

7.1.2.5 Resumen del sistema CMN@MIL-100(Fe)

Los resultados obtenidos del sistema CMN@MIL-100 permiten afirmar la incorporación de curcumina en la MOF tomando en cuenta los siguientes indicios:

- La ausencia del color característico de la curcumina (amarillo a café) en el licor madre.
- La alteración de la intensidad de la reflexión de DRX (*III*) asociada con la ocupación de la cavidad de 29 Å.

- c) La presencia de bandas características en el espectro FTIR asociadas a la curcumina en el sistema CMN@MIL-100.
- d) La disminución del área superficial específica respecto al sólido de referencia ($1366 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) cuando se incorpora curcumina.
- e) La disminución de la estabilidad térmica de los materiales híbridos CMN@MIL-100 respecto a la MIL-100(Fe).

7.1.3 Sistema EP@MIL-100

7.1.3.1 Difracción de rayos-X

Los difractogramas obtenidos para el sistema que contiene epicatequina (EP@MIL-100), Figura 33, indican que la estructura y cristalinidad de los materiales es preservada con la incorporación de la epicatequina. En la región de bajo ángulo, la disminución observada de la reflexión (*111*) sugiere la ocupación de la cavidad de 29 \AA , como fue observado en el caso de los sistemas RC@MIL-100 y CMN@MIL-100.

Al igual que en los sistemas anteriores, la buena cristalinidad constatada mediante DRX fue observada en los resultados de microscopía electrónica de transmisión (apéndice, Figura 89).

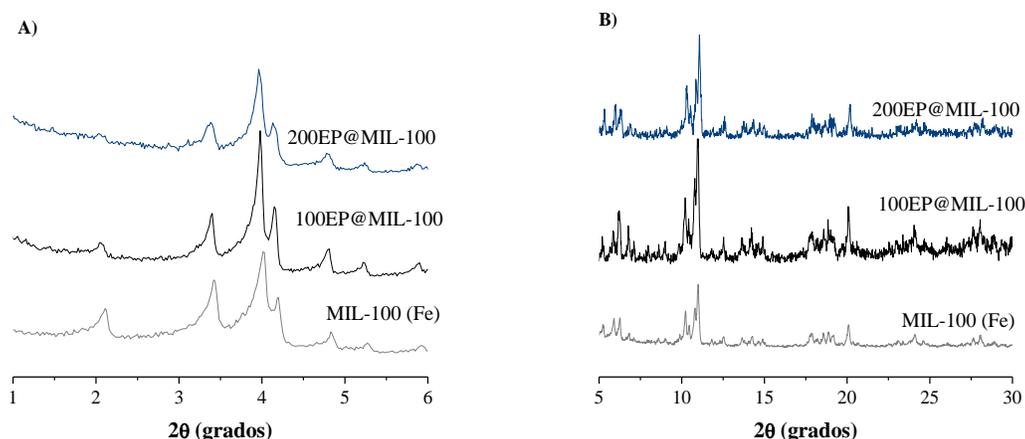


Figura 33. Difractogramas DRX de los sólidos obtenidos en la encapsulación de epicatequina en MIL-100(Fe). A) región de bajo ángulo, B) región 5- 30° (2θ).

Las dimensiones determinadas, luego de la simulación molecular de la epicatequina (Figura 34), indican que esta molécula podría ocupar ambas cavidades en el MIL-100(Fe). Sin embargo, los resultados de difracción indican que, posiblemente, las grandes cavidades se están ocupando de manera preferencial.

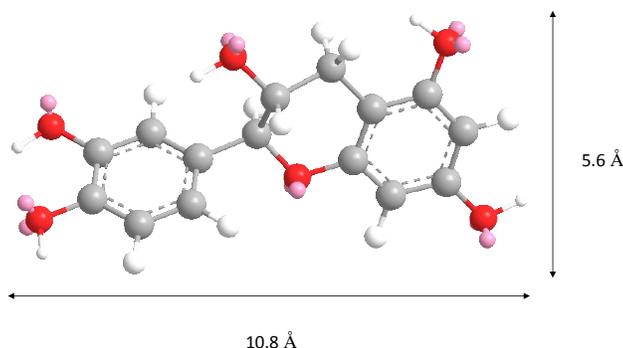


Figura 34. Estructura molecular de la epicatequina, las dimensiones fueron determinadas con el software ChemBio 3D.

7.1.3.2 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier

En la Figura 35 se presentan los espectros FTIR del sistema EP@MIL-100. Es evidente que las bandas correspondientes a los grupos funcionales presentes en la epicatequina^{132,133} (Tabla 12) están ausentes en el material híbrido. Se puede asumir que éstas se ven enmascaradas con las bandas de la MOF, o que esta MBA se encuentra en baja proporción y por lo tanto no es posible obtener más información de esta técnica. Sin embargo, es importante señalar que la difracción de rayos-X indicó que la reflexión (*111*), asociada a la ocupación de la cavidad mesoporosa de 29 Å, se vio disminuida, indicando una posible incorporación de epicatequina en el material.

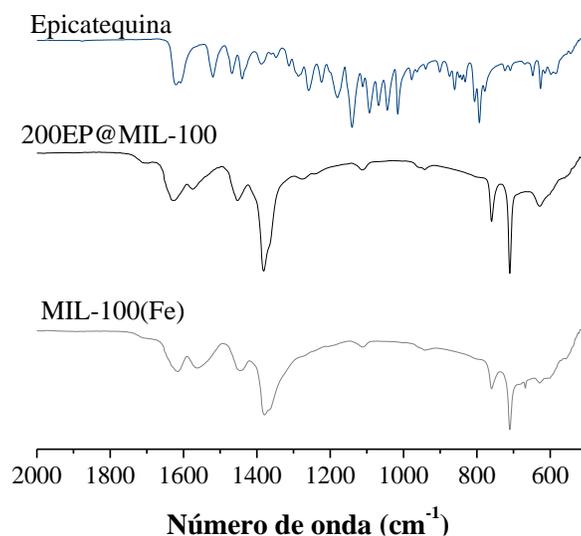


Figura 35. Espectro FTIR del sistema 200EP@MIL-100.

Tabla 12 Asignación de frecuencias del espectro de infrarrojo de la epicatequina.

Epicatequina	Número de onda (cm^{-1})	Asignación
	1620	$\nu\text{C}=\text{C}$, $\nu\text{C}-\text{C}$ aromáticos y alifáticos
	1092, 806	$\nu\text{C}-\text{O}-\text{C}$ (éter)
	908, 881	Deformación C-H (aromático)

7.1.3.3 Análisis termogravimétrico

En la Figura 36 se presentan las curvas ATG de los sólidos del sistema EP@MIL-100. El comportamiento es análogo al observado en los dos sistemas descritos anteriormente en el sentido que:

- No es posible realizar una estimación de la cantidad de epicatequina encapsulada porque las pérdidas debidas al ligando y a la MBA son simultáneas.

- b) Los materiales híbridos son menos estables en temperatura, lo que se ha tomado como un indicio de encapsulación y de interacción entre la red de la MIL-100(Fe) y la MBA presente. Aunque la naturaleza de la posible interacción no es tan evidente como en el caso de los dos sistemas anteriormente descritos.

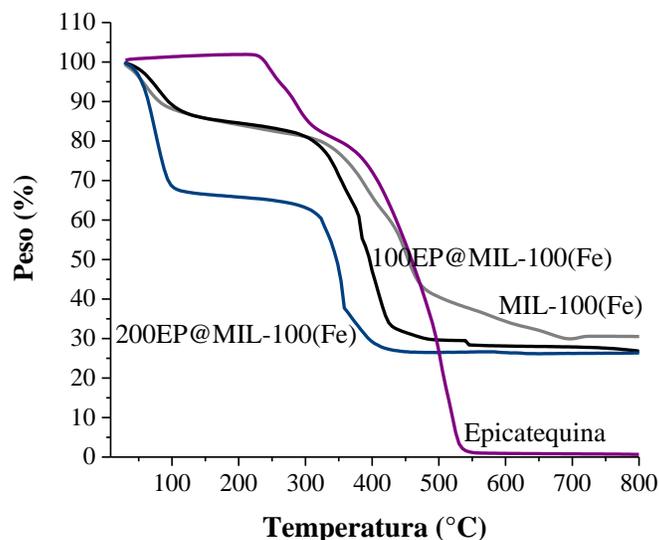


Figura 36. Curvas ATG de los sólidos del sistema EP@MIL-100.

Según la estructura molecular mostrada en la Tabla 12 y en la Figura 34, la epicatequina en disolución no genera una especie iónica, por lo que se pueden descartar las interacciones electrostáticas con la red de la MOF. De igual manera no posee anillos aromáticos que puedan establecer interacciones π - π con los anillos aromáticos de la MOF. La única interacción posible es vía los pares de electrones libres de los tres oxígenos éteres con los centros ácidos de Lewis, Fe^{III} .

De esta forma, los resultados de los análisis de ATG constituyen un argumento en favor de la encapsulación exitosa de la epicatequina en la MOF estudiada.

7.1.3.4 Adsorción-desorción de nitrógeno

En el caso del sistema EP@MIL-100 las propiedades texturales (Figura 37 y Tabla 13) se ven alteradas y al igual que en los sistemas anteriores, se observa una disminución en el área superficial

específica cuando se agrega la MBA. Este nuevo indicio, concuerda con las observaciones hechas en DRX y ATG, en los apartados anteriores y podría sugerir la presencia de la epicatequina en la porosidad de la MOF, aunque en menor proporción que el RC o la CMN, lo que está en buen acuerdo con la imposibilidad de detectar las bandas características de la molécula EP en la muestra EP@MIL-100.

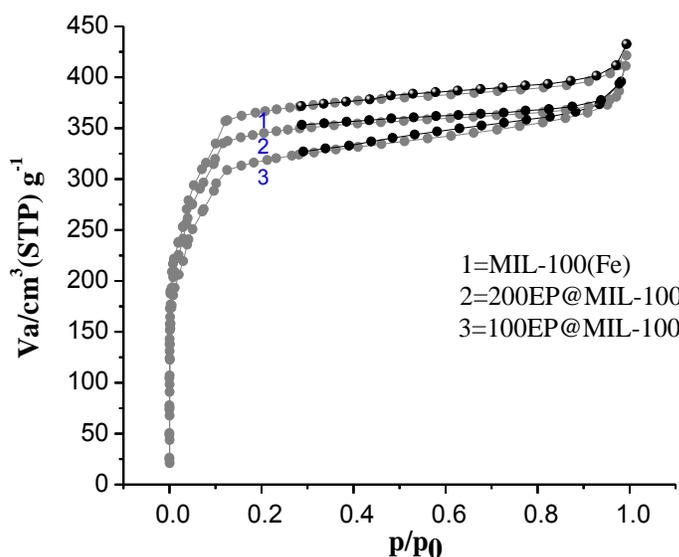


Figura 37. Isothermas de Adsorción-desorción de nitrógeno del sistema EP@MIL-100(Fe).

Tabla 13 Propiedades texturales del sistema EP@MIL-100.

Sistema	S_{BET} ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$)	V_p ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$) ^a
MIL-100(Fe)	1366	1.01
100EP@MIL-100	1163	0.63
200EP@MIL-100	1276	0.64

^a Estimado a $p/p_0 = 0.98$ para MIL-100(Fe) y a $p/p_0 = 0.99$ para EP@MIL-100.

7.1.3.5 Resumen del sistema EP@MIL-100(Fe)

A pesar de que los resultados de FTIR no fueron contundentes para asegurar que la MBA esta retenida en la porosidad de la MOF, como lo fueron para el sistema RC@MIL-100 y CMN@MIL-

100, se pueden mencionar los siguientes aspectos que sugieren que la epicatequina realmente podría estar encapsulada en el material:

Existe una alteración de la intensidad de la reflexión de DRX (*111*) asociada con la ocupación de la cavidad de 29 Å.

- Se observó una disminución del área superficial específica respecto al sólido de referencia ($1366 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) cuando se incorpora epicatequina.
- La estabilidad térmica de los materiales híbridos EP@MIL-100 respecto a la MIL-100(Fe) es desfavorecida.

7.1.4 Sistema CR@MIL-100

7.1.4.1 Difracción de rayos-X

Los resultados de difracción obtenidos para el sistema que contiene creatina (CR@MIL-100), Figura 38, muestran que, al igual que los sistemas anteriores, la estructura y cristalinidad del material permanece tras la incorporación de la creatina. En la región de bajo ángulo la reflexión (*111*) que en algunos de los sistemas anteriores fue observada, está ausente para todos los contenidos de MBA, lo cual sugiere la ocupación de la cavidad mesoporosa de 29 Å.

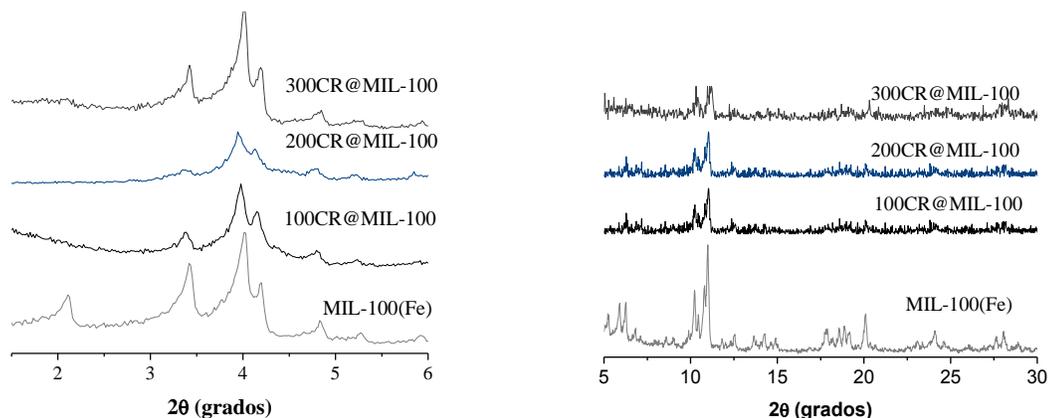


Figura 38. Difractogramas DRX de los sólidos obtenidos en la encapsulación de creatina en MIL-100(Fe).

a) región de bajo ángulo, b) región 5- 30° (2θ).

De acuerdo con las dimensiones de la molécula de creatina (Figura 39), puede asumirse que es susceptible de alojarse en ambos tipos de cavidades de la MIL-100. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, las moléculas de creatina parecieran ocupar preferencialmente las cavidades más grandes.

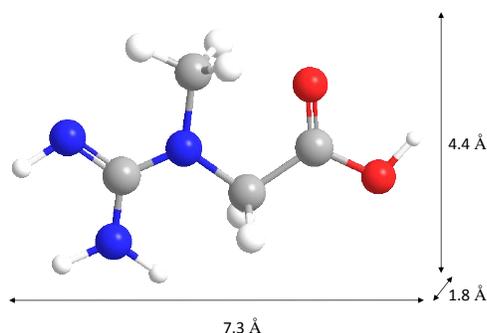


Figura 39. Estructura molecular de la creatina, las dimensiones fueron determinadas con el software ChemBio 3D.

7.1.4.2 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier

La Figura 40 muestra los espectros FTIR del sistema CR@MIL-100. La creatina presenta bandas características descritas en la Tabla 14¹³⁴.

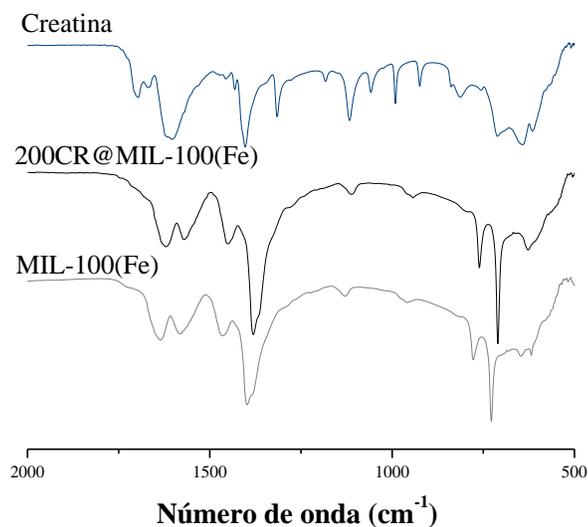


Figura 40. Espectro FTIR del sistema 200CR@MIL-100.

Tabla 14. Asignación de frecuencias del espectro de infrarrojo de la creatina.

Creatina	Numero de onda (cm^{-1})	Asignación
	3408	$\nu_{\text{a}}\text{NH}_2$
	3340	$\nu_{\text{s}}\text{NH}_2$
	3089	$\nu_{\text{N-H}}$
	2795	$\nu_{\text{C-H}} (\text{CH}_3)$
	1697	$\nu_{\text{C=O}} (-\text{COOH})$
	1616	flexión NH_2
	1403	ν y flexión C-N

Al igual que en el caso de la epicatequina, las bandas correspondientes a los grupos funcionales presentes en la creatina se ven enmascaradas con las bandas de la MOF y por lo tanto no es posible obtener más información de esta técnica. Sin embargo, tal y como fue señalado en el sistema EP@MIL-100, la difracción de rayos-X indicó que la reflexión (111), asociada a la ocupación de la cavidad mesoporosa de 29 Å está ausente, indicativo de una posible incorporación de creatina en el sistema poroso de la MOF.

7.1.4.3 Análisis termogravimétrico

El comportamiento térmico de los sólidos del sistema CR@MIL-100 se presenta en las curvas ATG de la Figura 41.

En este sistema no se aprecia cambio alguno en la estabilidad térmica de los sólidos con diferente contenido de creatina; sin embargo, éstos son menos estables que el sólido libre de creatina. Este comportamiento es similar al descrito para los sistemas anteriores. Los sólidos con creatina encapsulada son menos estables térmicamente debido a las interacciones existentes entre la red de la MOF y la creatina.

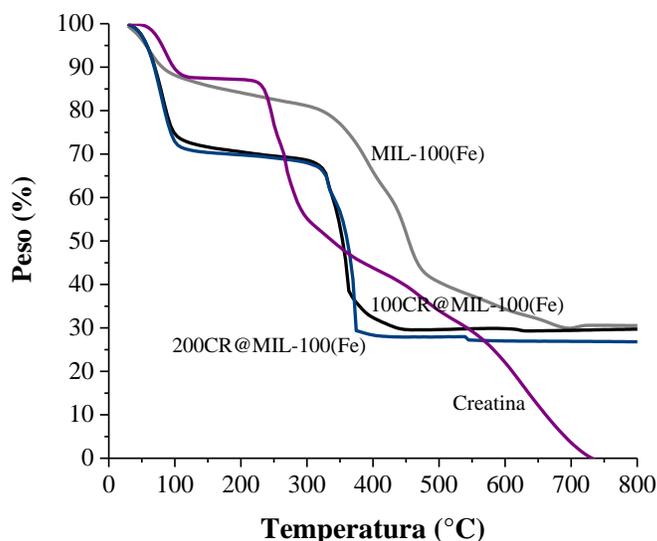


Figura 41. Curvas ATG de los sólidos del sistema CR@MIL-100.

La estructura molecular de la creatina se puede observar en la Tabla 14 y en la Figura 41. Las interacciones más plausibles entre la MOF y esta molécula son de tipo ácido-base de Lewis, a través de los centros ácidos Fe^{III} y los nitrógenos de los grupos amino de la molécula de la creatina. Al disolverse se genera el anión correspondiente que, desde el punto de vista electrostático, sería repelido por la carga negativa de la superficie de la MOF.

En conclusión, al igual que en los otros sistemas, resultó imposible estimar la cantidad de MBA encapsulada; sin embargo, los resultados de los análisis de ATG permiten suponer que la encapsulación se llevó a cabo gracias a los cambios en el comportamiento térmico de los materiales híbridos.

7.1.4.4 Adsorción-desorción de nitrógeno

En la Figura 42 se presentan las isotermas obtenidas a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Así mismo en la Tabla 15, se pueden observar las propiedades texturales del sistema CR@MIL-100. Nuevamente es notorio el hecho de que el área superficial decae cuando se incorpora las MBA en el material, sugiriendo que la creatina podría estar ocupando las cavidades de la MOF, tal y como sugieren los resultados de difracción de rayos-X.

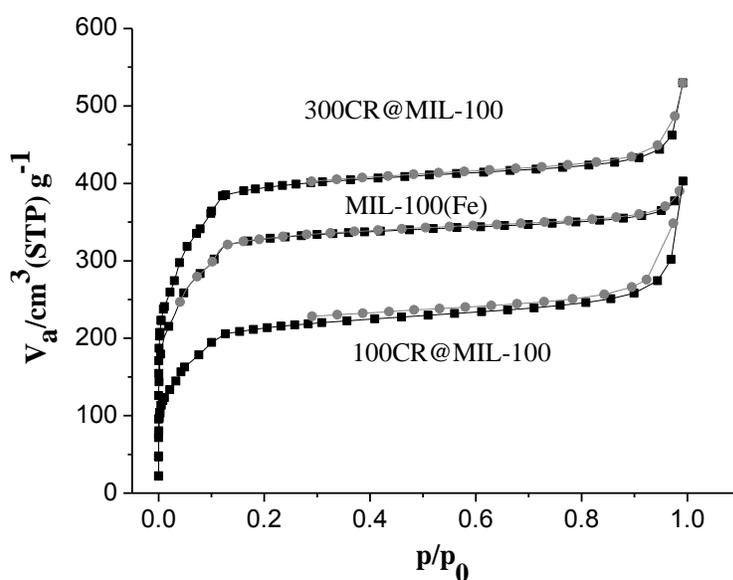


Figura 42. Isotermas de Adsorción-desorción de nitrógeno del sistema CR@MIL-100(Fe).

Tabla 15. Propiedades texturales del sistema CR@MIL-100.

Sistema	S_{BET} ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$)	V_p ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$) ^a
MIL-100(Fe)	1366	0.58
100CR@MIL-100	752	0.60
300CR@MIL-100	1126	0.81

^a Estimado a $p/p_0 = 0.98$ para MIL-100(Fe) y a $p/p_0 = 0.99$ para CR@MIL-100.

7.1.4.5 Resumen del sistema CR@MIL-100(Fe)

Tal como sucedió en el caso del sistema EP@MIL-100, los indicios que dejarían suponer una incorporación de la MBA en la porosidad de la MOF nos son tan evidentes. De esta forma, sólo se pueden mencionar los siguientes aspectos en favor de la incorporación de la MBA:

- Disminución de la intensidad o, más bien completa desaparición, de la reflexión de DRX (*III*) asociada con la ocupación de la cavidad de 29 Å.
- Disminución del área superficial específica respecto al sólido de referencia ($1366 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) cuando se incorpora creatina.
- Sensibilización de la estabilidad térmica de los materiales híbridos CR@MIL-100 respecto a la MIL-100(Fe).

7.2 Sistema MBA@Fe-BTC

En este apartado se muestran los resultados obtenidos de la encapsulación de MBA en la MOF semicristalina Fe-BTC. Igual que en el apartado anterior, se presentan todas las técnicas de caracterización, comenzando por la DRX, la FTIR, seguido de ATG y las propiedades texturales.

7.2.1 Sistema RC@FeBTC

7.2.1.1 Difracción de rayos-X

Al igual que el método de preparación para la MIL-100(Fe), el método de síntesis para los sólidos Fe-BTC consistió en un procedimiento sustentable y de fácil puesta en marcha, reportado en la literatura¹¹⁵. La única diferencia entre los dos métodos radica en la sal de hierro utilizada;

para la preparación de Fe-BTC se usó $\text{FeCl}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. La formación de un sólido es prácticamente inmediata y los tiempos de reacción son menores (4 h).

En la Figura 43 se presenta la comparación de los difractogramas de la MOF Fe-BTC y de los sólidos resultantes después de la incorporación de rojo Congo. El difractograma del Fe-BTC concuerda con el reportado previamente en el literatura para el sólido comercial Basolite F-300³¹ correspondiente a un sólido de naturaleza semicristalina, lo que explica la baja resolución del difractograma. Cabe señalar que, a diferencia de la MIL-100(Fe) que posee dos cavidades de 25 y 29 Å, la Fe-BTC sólo presenta la cavidad de 25 Å.

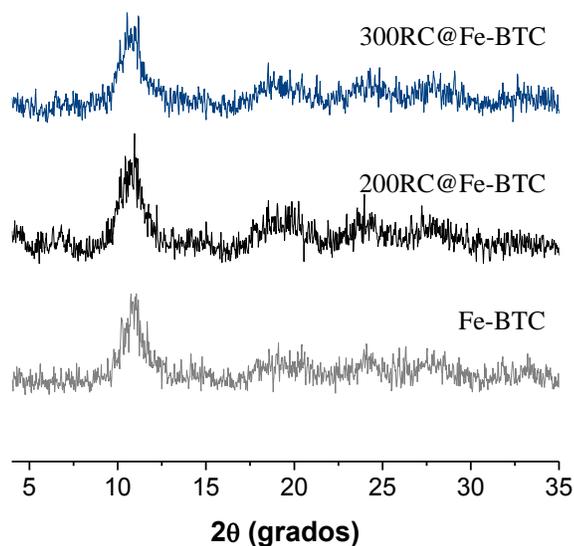


Figura 43. Difractogramas DRX de los sólidos obtenidos en la encapsulación de rojo Congo en Fe-BTC.

Se puede constatar que la naturaleza semicristalina de la MOF Fe-BTC no se vio alterada luego de la incorporación del rojo Congo. Sin embargo, no se observaron cambios en las intensidades de las reflexiones que pudieran indicar una encapsulación de la MBA. A pesar de este resultado, es importante señalar que el licor madre de la síntesis era completamente incolora, dejando suponer que el rojo Congo, que tiene la capacidad de dar una tonalidad intensa a bajas concentraciones en disolución acuosa, fue retenido por el material.

7.2.1.2 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier

La MOF Fe-BTC, al estar compuesta de los mismos precursores que la MIL-100(Fe), presenta los mismos enlaces característicos³¹, Figura 44. Así, las bandas de vibración características que definen al sistema RC@Fe-BTC son las descritas en la Tabla 8 donde se describió al sistema RC@MIL-100.

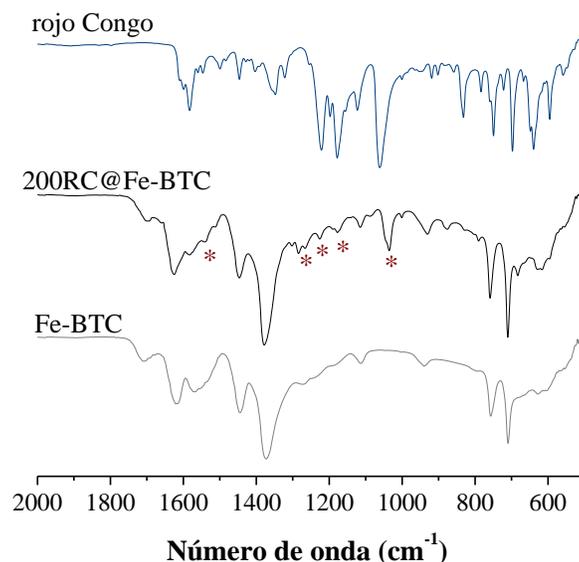


Figura 44. Espectro FTIR del sistema 200RC@Fe-BTC.

Al comparar el espectro de la Fe-BTC y el espectro del sistema 200RC@Fe-BTC es evidente que aparecen nuevas bandas que están relacionadas con las bandas características del rojo Congo (Tabla 8)¹²⁰. La Fe-BTC sólo posee las cavidades pequeñas (25 Å) y las dimensiones del RC son de 25.5 x 6.4 x 2.6 Å, por lo que se infiere que la encapsulación del RC “dentro” de dichas cavidades está impedida estéricamente.

7.2.1.3 Análisis termogravimétricos

La Figura 45 muestra los resultados de los análisis ATG de los sólidos del sistema RC@Fe-BTC. Según las curvas DTG (no mostrada) y ATG para el sólido pristino Fe-BTC, muestra una

pérdida inicial de 20.78 %p/p centrada en 78 °C, atribuida a la desorción de moléculas de agua coordinadas y no coordinadas. La descomposición del ligando orgánico se presenta a 358 °C, 25 °C por debajo del máximo de descomposición del ligando libre protonado (H₃BTC), poniendo de manifiesto las interacciones del ligando en la red porosa. El perfil observado es análogo al obtenido para materiales Fe-BTC en condiciones sustentables, las mismas que se usaron en este trabajo³¹. De forma similar a los resultados presentados para el sistema MIL-100(Fe), para el sistema Fe-BTC, el ATG permite calcular la relación molar BTC/Fe = 0.58. Hay que recordar que el valor estequiométrico BTC/Fe para esta MOF es de 0.67. El valor más elevado encontrado en la muestra Fe-BTC indicaría la presencia de alguna impureza³⁰, en específico de ligando sin reaccionar (H₃BTC). En necesario mencionar que el pH de la suspensión resultante de síntesis de la Fe-BCT está comprendido entre 2 y 3. Esto favorece que el ion BTC³⁻ que no hubiera reaccionado sea fácilmente convertido en su forma ácida (H₃BTC), la cual, al ser prácticamente insoluble en agua, permanece como impureza en el sólido final.

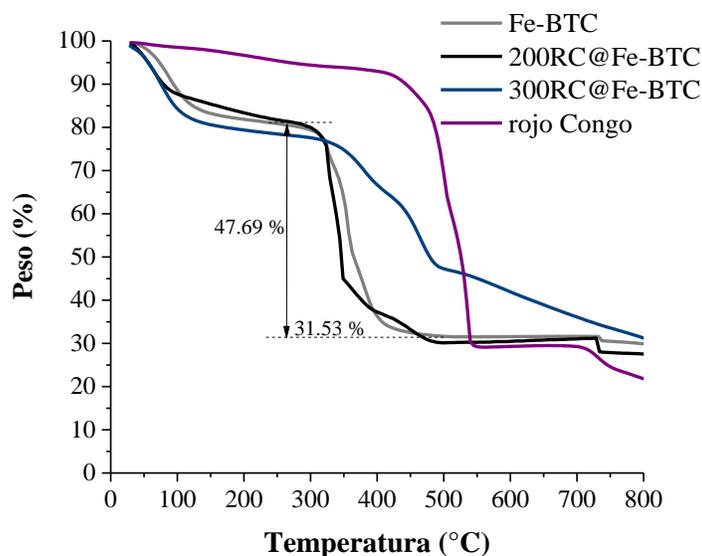


Figura 45. Curvas ATG de los sólidos del sistema RC@Fe-BTC.

La curva ATG del sólido 200RC@Fe-BTC muestra una pérdida de peso inicial a 78 °C que es análoga a la del sólido de referencia y, a partir de 283 °C comienza una pérdida de masa en



varias etapas, centradas en 333, 363, 448 °C y que podrían atribuirse a la pérdida o descomposición casi simultánea de ligado orgánico, rojo Congo y, probablemente H₃BTC. La estabilidad térmica de ambos sólidos es muy parecida. Sin embargo, cuando se analiza el sólido 300RC@Fe-BTC, se puede constatar que su estabilidad se mejora notablemente, pues la descomposición comienza desde 272 °C y se prolonga hasta temperaturas más elevadas que 600 °C. Este comportamiento no fue observado en ningún sólido del sistema MIL-100(Fe), sugiriendo que, a pesar de que el Fe-BTC es muy semejante en composición al MIL-100(Fe), las interacciones con las MBA son diferentes.

7.2.1.4 Adsorción-desorción de nitrógeno

El área superficial específica y el tamaño de poro del material semicristalino Fe-BTC es menor que en el caso de la MIL-100(Fe), de acuerdo con la Tabla 16. Esta diferencia puede explicarse con el hecho de que la MOF Fe-BTC solamente posee la cavidad más pequeña (25 Å).

Es preciso señalar que tiene una distribución de tamaño de poro de 1.8 nm, la cual se encuentra en el límite entre un material microporoso y uno mesoporoso (2 nm), de acuerdo con la clasificación de la IUPAC. Sin embargo, se debe considerar, igual que en el caso de la MOF MIL-100(Fe), que el método Horvath-Kawazoe (HK) empleado para determinar dicha distribución subestima estos valores, y de hecho, ese valor de 1.8 nm debería corresponder en realidad a un poro de 2.5 nm (25 Å), que es el poro esperado para este material³¹.

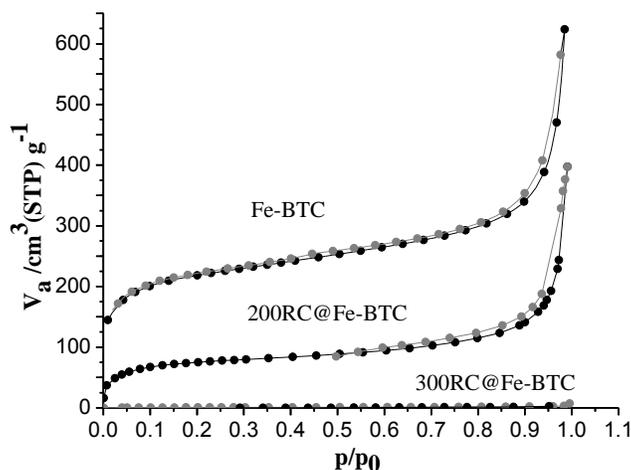


Figura 46. Isothermas de Adsorción-desorción de nitrógeno del sistema RC@Fe-BTC.

Por otro lado, se observa en el caso del sistema RC@Fe-BTC, que el área superficial específica disminuye considerablemente y prácticamente desaparece al incorporar el mayor contenido de MBA. Este hecho, junto con el resultado obtenido por FTIR permite inferir la retención del rojo Congo en el material.

Tabla 16. Propiedades texturales del sistema RC@Fe-BTC.

Sistema	S_{BET} ($m^2 g^{-1}$)	V_p ($cm^3 g^{-1}$) ^a
Fe-BTC	809	0.85
200RC@ Fe-BTC	269	0.60
300RC@ Fe-BTC	2.1	0.008

^a Estimado a $p/p_0 = 0.98$ para MIL-100(Fe) y a $p/p_0 = 0.99$ para RC@Fe-BTC.

Según lo señalado en la difracción de rayos-X, el RC no puede ser encapsulado en las cavidades de la Fe-BCT; no obstante, la ausencia de color en el líquido sobrenadante deja suponer una retención total del RC. Estas dos observaciones, y los resultados de adsorción-desorción de N_2 sugieren que el RC bloquea en realidad la entrada a las cavidades, lo cual explica la ausencia prácticamente total, de área superficial específica en el caso del sólido 300RC@Fe-BTC.

7.2.1.5 Resumen del sistema RC@Fe-BTC

Hasta aquí, los únicos indicios de encapsulación de rojo Congo en la MOF Fe-BTC son:

- La presencia de las bandas características en el espectro FTIR del rojo Congo en el material híbrido.
- Pérdida, prácticamente total, del área superficial específica con la incorporación del rojo Congo.
- Cambios importantes en el comportamiento térmico en los materiales híbridos.

7.2.2 Sistema CMN@Fe-BTC

7.2.2.1 Difracción de rayos-X

Al igual que en el sistema RC@Fe-BTC, la estructura semicristalina del material se conserva. Así mismo, no existe una disminución en las intensidades, por lo tanto, para verificar que la encapsulación se ha llevado a cabo se necesitan analizar los resultados de técnicas complementarias. Es preciso mencionar que la curcumina en solución presenta una coloración amarilla, la cual no se observó tras la recuperación del licor madre, dejando suponer una retención total de la curcumina en el material.

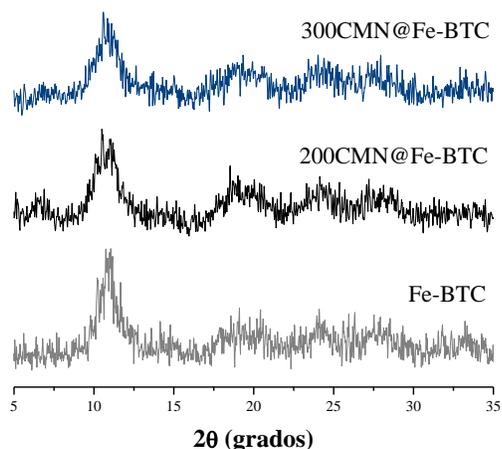


Figura 47. Difractogramas DRX de los sólidos obtenidos en la encapsulación de curcumina en Fe-BTC.

7.2.2.2 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier

En la Figura 48 se presenta el espectro de absorción FTIR del sistema CMN@Fe-BTC. Se pueden notar la presencia de dos bandas adicionales, atribuidas a la curcumina (Tabla 10). Lo cual sugiere la presencia de la curcumina en la muestra CMN@Fe-BTC.

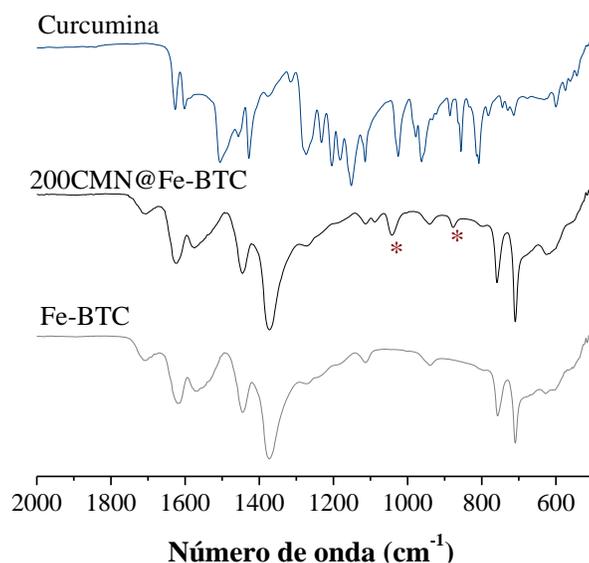


Figura 48. Espectro FTIR del sistema 200CMN@Fe-BTC.

7.2.2.3 Análisis termogravimétrico

Los resultados de los análisis de ATG de los sólidos del sistema MBA@Fe-BTC se presentan en la Figura 49.

Se puede observar que los perfiles de los sólidos que contienen curcumina son muy similares entre sí; sin embargo, existen diferencias en su estabilidad térmica. Mientras que el sólido con menor cantidad de curcumina es menos estable que el sólido de referencia, el sólido con alto contenido de MBA se vuelve algo más inestable.

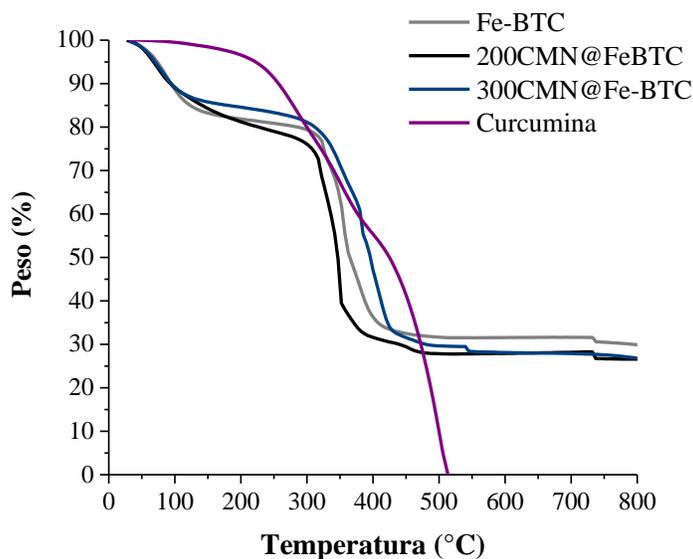


Figura 49. Curvas ATG de los sólidos del sistema CMN@Fe-BTC.

Cabe notar que la curva DTG (no mostrada) indica que la pérdida de peso se lleva a cabo en varios eventos; a diferencia del sólido con poco contenido de CMN. Este comportamiento también fue observado en el sistema RC@Fe-BTC y podría deberse simplemente al hecho de que las interacciones más energéticas se ven favorecidas cuando hay mayor cantidad de CMN.

7.2.2.4 Adsorción-desorción de nitrógeno

En la Figura 50 se muestran las isotermas de adsorción-desorción de N_2 obtenidas a -196 °C. Adicionalmente, en la Tabla 17, se muestran las propiedades texturales. De acuerdo con estos resultados, se puede concluir que la curcumina está ocupando las cavidades de 25 Å de la Fe-BTC, lo cual trae como resultado la pérdida prácticamente total del área superficial específica. Este resultado concuerda con lo observado en FTIR y ATG.

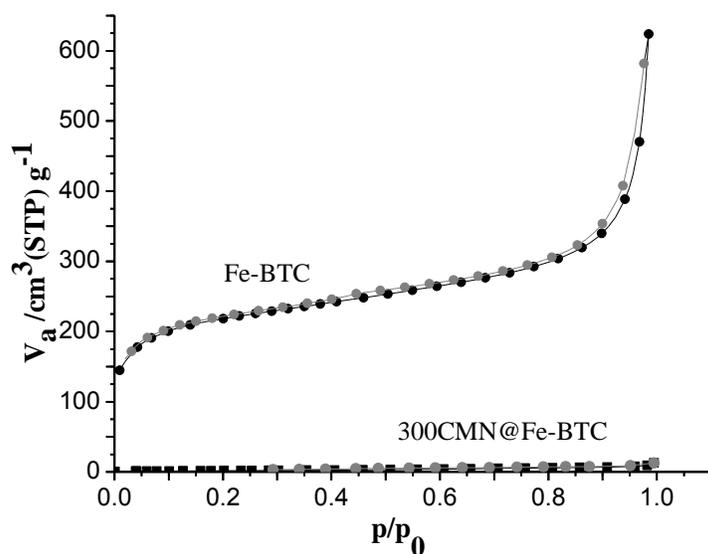


Figura 50. Isothermas de Adsorción-desorción de nitrógeno del sistema CMN@ Fe-BTC.

Tabla 17. Propiedades texturales del sistema CMN@Fe-BTC.

Sistema	S_{BET} ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$)	V_p ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$) ^a
Fe-BTC	809	0.85
300CMN@ Fe-BTC	5	0.01

^a Estimado a $p/p_0 = 0.98$ para MIL-100(Fe) y a $p/p_0 = 0.99$ para CMN@Fe-BTC.

7.2.2.5 Resumen del sistema CMN@MIL-100(Fe)

Tal como se describió para el sistema RC@Fe-BTC, los indicios que permiten suponer una incorporación de la curcumina en la porosidad de la MOF son los que a continuación se enlistan:

- Presencia de bandas características en el espectro FTIR de la curcumina en el material CMN@Fe-BTC.
- Pérdida total del área superficial específica tras la incorporación de la curcumina.
- Cambios apreciables en el comportamiento térmico de los materiales híbridos.

7.2.3 Sistema CR@Fe-BTC

7.2.4.1 Difracción de rayos-X

Según los resultados mostrados en la Figura 51, se confirma que el sistema CR@Fe-BTC se comporta de manera similar a los dos sistemas previamente presentados.

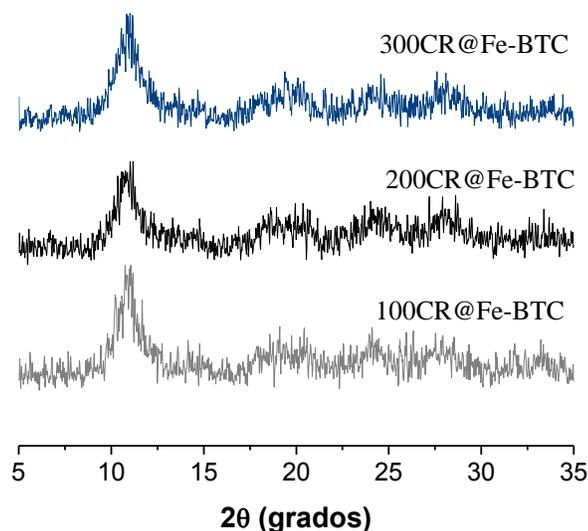


Figura 51. Difractogramas DRX de los sólidos obtenidos en la encapsulación de creatina en Fe-BTC.

7.2.4.2 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier

El espectro de absorción FTIR del sistema 200CR@MIL-100 se muestra en la **Figura 52**. Cabe señalar que no hay bandas adicionales que evidencien una encapsulación de la creatina en Fe-BTC. Las bandas características de la creatina (Tabla 14)¹³⁴ podrían estar siendo enmascaradas por las de la MOF. Por ello, es necesario complementar con alguna técnica adicional que permita descartar o bien, confirmar que la creatina se encuentra presente en las muestras CR@Fe-BTC.

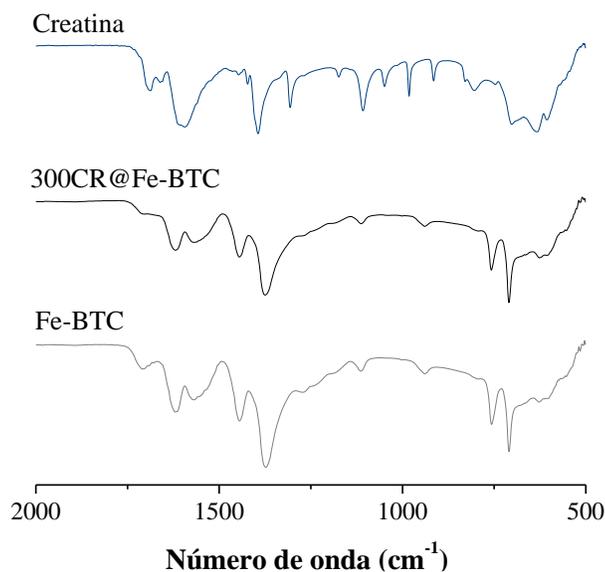


Figura 52. Espectro FTIR del sistema 300CR@Fe-BTC.

7.2.4.3 Análisis termogravimétricos

En los sólidos del sistema CR@Fe-BTC (Figura 53) se observa un comportamiento similar al de los dos sistemas descritos anteriormente. Los perfiles de los sólidos de referencia y con bajo contenido de creatina son muy similares, y la pérdida más importante de peso en cada caso se sitúa a 358 °C y 347 °C. Por su parte, el sólido 300CR@Fe-BTC presenta una pérdida de peso multietapa, con eventos situados a 367, 467 y 752 °C. Claramente, se puede atribuir este comportamiento a la presencia de interacciones cada vez más fuertes con el incremento de MBA en el sólido.

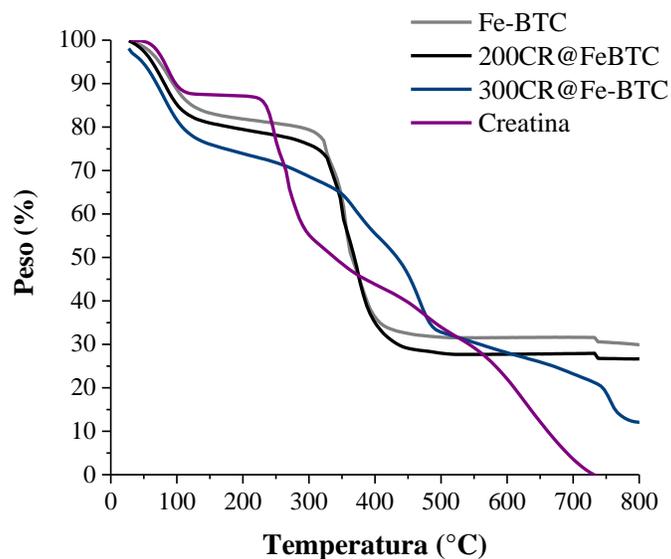


Figura 53. Curvas ATG de los sólidos del sistema CR@Fe-BTC.

7.2.4.5 Resumen del sistema CR@MIL-100(Fe)

En el caso del material CR@Fe-BTC, existe muy poca información que permita suponer una incorporación de creatina en la MOF. Los únicos hechos que podrían sugerir tal encapsulación es la disminución en el área superficial específica, la cual es prácticamente nula tras la incorporación de creatina, y la modificación del perfil ATG del sólido con alto contenido de creatina.

8. Liberación de las moléculas biológicamente activas

8.1 Liberación del sistema RC@MIL-100

En este apartado se presentan los resultados de liberación para el sistema 200RC@MIL-100. Cabe mencionar que dichos resultados son únicamente cualitativos y se presentan sólo para evidenciar que se llevó a cabo la encapsulación de la MBA. Por los hechos que a continuación se describen la cuantificación de la cantidad de RC liberado fue imposible de ser realizada por espectroscopia UV-Vis.

El primer resultado importante es que la MOF MIL-100(Fe) preparada en este trabajo a temperatura ambiente resultó ser menos estable en agua (simple agitación a temperatura ambiente en función del tiempo), en comparación con la MOF tradicional preparada por el método solvotermal. En la Figura 54A se muestran los espectros de absorción de referencia de los componentes de la MOF (ion Fe^{3+} y H_3BTC) en solución acuosa.

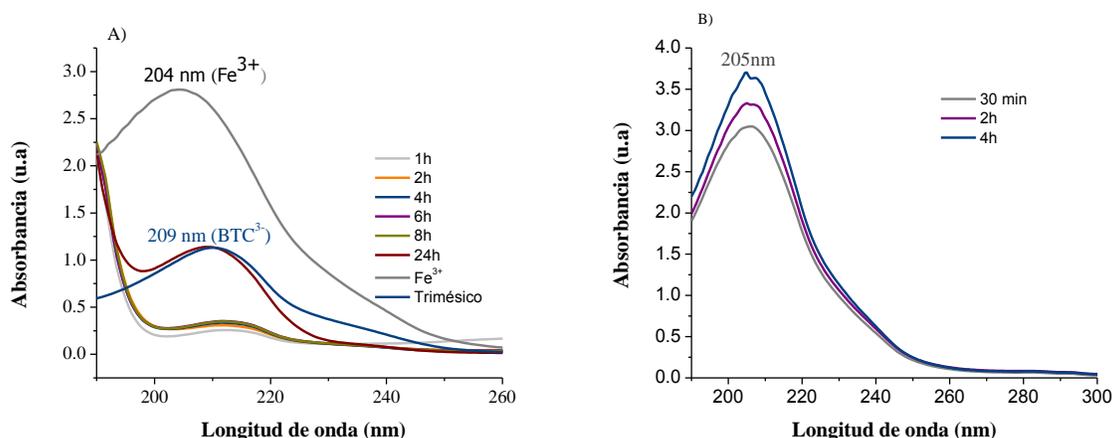


Figura 54. Estabilidad de la MOF MIL-100 (Fe) en agua a temperatura ambiente. A) Método solvotermal, B) Método sustentable a temperatura ambiente.

Los máximos de absorción para los iones Fe^{3+} y BTC^{3-} se sitúan 204 nm y 209 nm, respectivamente. Después de agitar el sólido MIL-100(Fe) en agua a temperatura ambiente durante los tiempos indicados, se observa una banda de absorción muy ancha centrada en 210 nm cuya

absorbancia incrementa con el tiempo, esto es indicativo de la presencia de los iones Fe^{3+} y BTC^{3-} en el medio acuoso que sólo se puede explicar por la descomposición parcial de la MOF. El mismo análisis realizado a la muestra MIL-100(Fe) obtenida por el método sustentable, Figura 54B, indica que la descomposición de ésta es mucho más importante que la observada en el sólido obtenido por el método hidrotermal.

A juzgar por los valores de las absorbancias, el sólido del método a temperatura ambiente se descompone en mucho mayor grado al cabo de sólo 4 h, que el sólido obtenido hidrotermalmente al cabo de 24 h. En resumen, sin importar el método de preparación, después de cierto tiempo de agitación en agua el sólido MIL-100(Fe) presenta una destrucción parcial de su estructura que provoca la presencia de iones Fe^{3+} y BTC^{3-} en el medio.

Por otro lado, en los experimentos de liberación de RC se observó un hecho poco normal. Visualmente, antes de filtrar la alícuota extraída se observó siempre una coloración roja (aparentemente debida a la liberación progresiva del RC) cuya intensidad crecía con el tiempo (Figura 55); sin embargo, al filtrar cada alícuota, la tonalidad de la coloración mostraba una tendencia atípica: una disminución del color rojo en la solución.

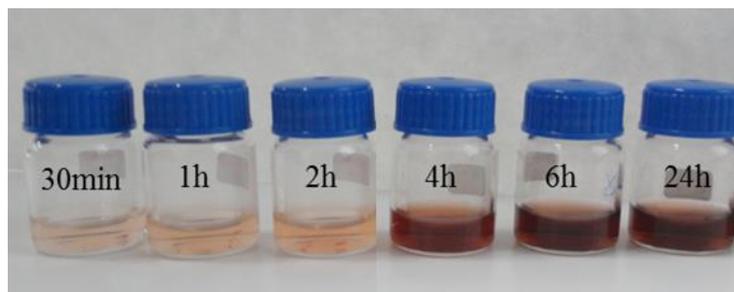


Figura 55. Evolución visual de la liberación del rojo Congo del sistema 200RC@MIL-100.

Después de filtración de las alícuotas, el RC se cuantificó espectrofotométricamente obteniéndose los resultados mostrados en la Figura 56; como se puede observar, la concentración de RC en la solución disminuyó con el tiempo, hecho que contradice el principio fundamental de la liberación.

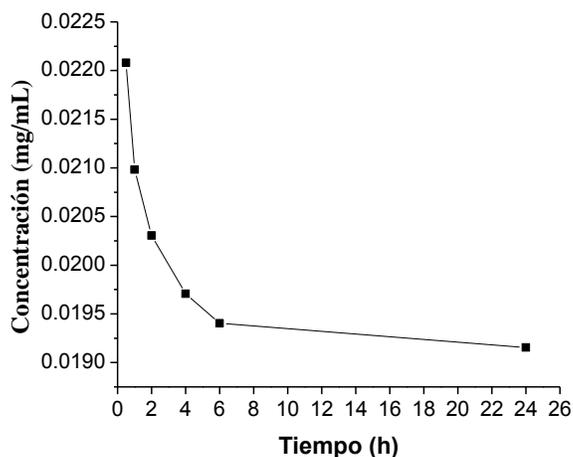


Figura 56. Curva de seguimiento espectrofotométrico de la liberación de RC ($\lambda = 485 \text{ nm}$) en el sólido 200RC@MIL-100.

Para explicar estos resultados se diseñó un experimento en el que se hizo reaccionar una solución de RC con otra que contenía Fe^{3+} , al adicionar una solución en la otra se observó de manera instantánea la aparición de una suspensión de color café cobriza intensa. Después de unos instantes se observa la precipitación de un sólido color púrpura-azul, y un líquido sobrenadante prácticamente incoloro. Esto se muestra visualmente en la Figura 57.



Figura 57. Formación del complejo Fe^{3+} -rojo Congo (derecha) al combinar una solución de Fe^{3+} y RC (izquierda).

Este resultado indica que existe una reacción entre el Fe^{3+} y el RC que da como resultado un complejo insoluble en agua.

Este hecho constituye la explicación a los resultados, aparentemente contradictorios, obtenidos en la liberación de RC. De esta forma, después de cierto tiempo de iniciado el experimento de liberación, el RC liberado del sistema RC@MIL-100(Fe) reaccionaría con el Fe^{3+} , proveniente de la descomposición parcial de la MOF, formando un complejo insoluble. Así, tan pronto se libera RC, éste reacciona con el Fe^{3+} y en el líquido filtrado habría cada vez menos RC en función del tiempo (Figura 56).

Para reafirmar el hecho anterior, se diseñó otro experimento en el cual la MOF MIL-100(Fe) se dejó en agitación en agua por un periodo de 24 h. En teoría, según lo señalado párrafos arriba, debería haber una descomposición parcial de la MOF, resultando en la presencia de Fe^{3+} en solución. Transcurrido este tiempo se tomó una alícuota, la cual fue filtrada para eliminar los sólidos suspendidos, posteriormente este líquido se agregó una solución acuosa de rojo Congo y el resultado obtenido, al menos de manera visual, se muestra en la Figura 58.

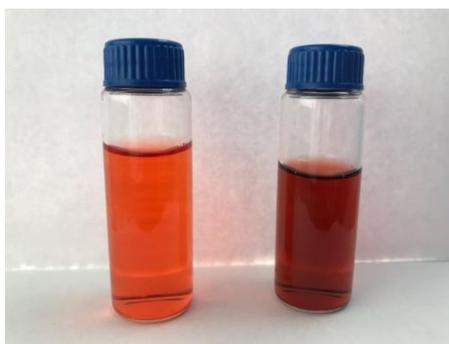


Figura 58. Solución de rojo Congo en agua (izquierda). Reacción rojo Congo con el licor resultante de la MOF agitada por 24 h en agua (derecha).

El resultado indica que se formó nuevamente el complejo Fe^{3+} -rojo Congo descrito en el experimento de la Figura 57.

En conclusión, en durante los experimentos de liberación del sistema RC@MIL-100(Fe) ocurre simultáneamente una descomposición parcial de la MOF y una liberación del rojo Congo.

Después de un tiempo corto, tras alcanzar ciertas concentraciones, el Fe^{3+} y el RC reaccionan entre sí formando un precipitado insoluble. Este hecho hace que, analíticamente, sea imposible cuantificar el rojo Congo liberado.

Estos resultados están en acuerdo con lo reportado por Debnath y colaboradores¹³⁵ quienes estudiaron la interacción entre soluciones de rojo Congo y de Fe^{3+} como alternativa para el tratamiento de aguas residuales contaminadas con rojo Congo. Los resultados indican que ambas especies reaccionan formando un complejo, según el proceso mostrado en la Figura 59. De esta forma, mediante este proceso se puede remover hasta $2670 \text{ mg}_{RC} \text{ g}_{FeCl_3}^{-1}$, a partir de una solución de concentración inicial de rojo Congo de 100 mg L^{-1} .

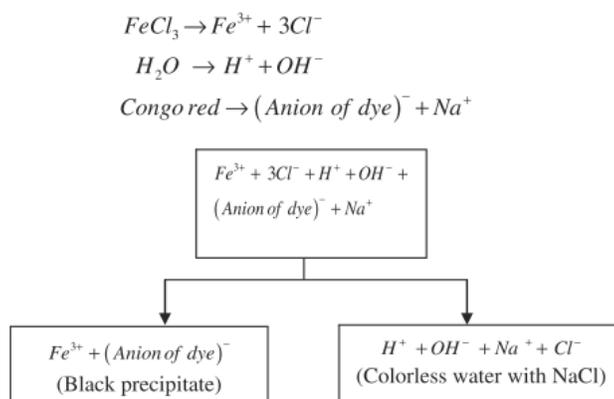


Figura 59. Reacción entre soluciones de rojo Congo y Fe^{3+} para el tratamiento de aguas residuales contaminadas con rojo Congo. Tomado de Debnath y colaboradores.

A pesar de que no fue posible seguir la liberación del RC mediante la técnica UV-vis, se procedió a caracterizar el sólido obtenido después de la liberación, por difracción de rayos-X a bajo y alto ángulo y adsorción-desorción de N_2 .

En la Figura 60 se muestran los difractogramas de rayos-X obtenidos antes y después de la liberación, a bajo y alto ángulo. Se puede observar en los difractogramas obtenidos a alto ángulo, que las reflexiones características del material se conservan, sin embargo, existe una disminución notable en la intensidad tras 24 h de liberación lo que es concordante con una descomposición parcial de la MOF, como ya fue señalado.

Por otro lado, en el difractograma a bajo ángulo es evidente la reaparición de la reflexión característica del plano (*111*) después de la liberación de rojo Congo, indicando que dicha cavidad que contenía la MBA ha sido desocupada.

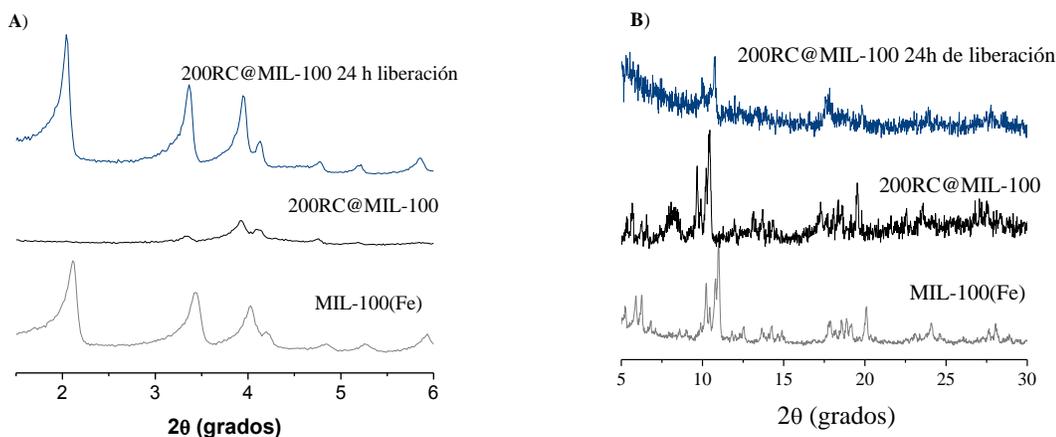


Figura 60. Sistema 200RC@MIL-100 después de la liberación. A) Difractogramas DRX a bajo ángulo B) Difractogramas DRX a alto ángulo.

Cabe señalar que, no se observaron reflexiones adicionales que pudieran atribuirse al complejo Fe^{3+} -rojo Congo, lo que puede indicar que está presente en un muy bajo contenido o que es muy poco cristalino y está altamente disperso en la MOF.

Por otra parte, los resultados de adsorción-desorción de N_2 , Tabla 18, muestran un cambio significativo en el área superficial específica después de 6 h de liberación, la cual pasa de 549 a $1017 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$, evidencia de que el rojo Congo efectivamente se encontraba en las cavidades del material y fue liberado. El área superficial específica de $1017 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ es inferior a la del sólido inicial que no contiene RC, de $1366 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$, el hecho de no recobrar el área inicial es concordante con una descomposición parcial de la MOF al cabo de 6 h de liberación. Sin embargo, tras 24 h de liberación se observa nuevamente una disminución de dicha área.

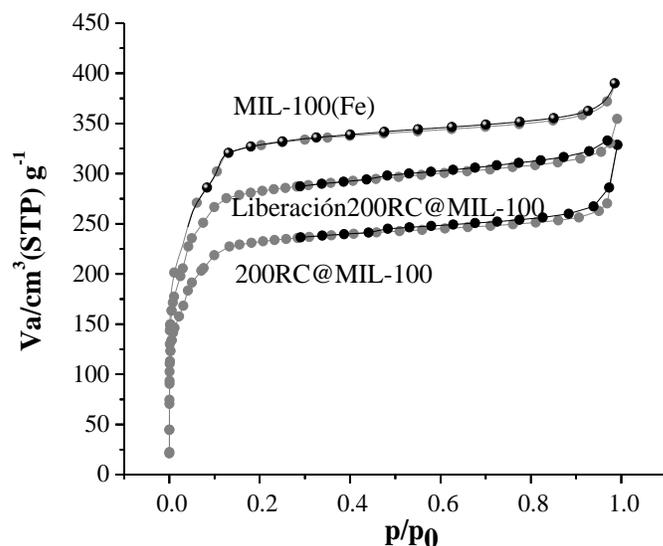


Figura 61. Isothermas de Adsorción-desorción de nitrógeno del sistema RC@ MIL-100.

Esto podría explicarse por la formación de una cantidad mayor de complejo Fe^{3+} -rojo Congo que podría estar obstruyendo la entrada a la porosidad; esto es, a mayor tiempo de liberación, mayor liberación de rojo Congo, mayor descomposición parcial de la MOF y, por ende, mayor formación de complejo Fe^{3+} -rojo Congo.

Tabla 18. Propiedades texturales del sistema RC@MIL-100 antes y después de la liberación.

Sistema	S_{BET} ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$)	V_p ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$) ^a
MIL-100(Fe)	1366	0.58
200RC@MIL-100	549	0.33
6 h Liberación 200RC@MIL-100	1017	0.54
24 h Liberación 200RC@MIL-100	869	0.50

^a Estimado a $p/p_0 = 0.98$ para MIL-100(Fe) y a $p/p_0 = 0.99$ para RC@MIL-100.

8.2 Liberación del sistema CMN@MIL-100

Así como en el sistema RC@MIL-100(Fe), en el caso del sistema 200CMN@MIL-100, también ocurrió la formación de un complejo entre el Fe^{3+} que se va liberando como consecuencia de la descomposición de la MOF y la curcumina liberada. En la Figura 62 se puede observar de izquierda a derecha la solución Fe^{3+} , curcumina y la formación del complejo, respectivamente.

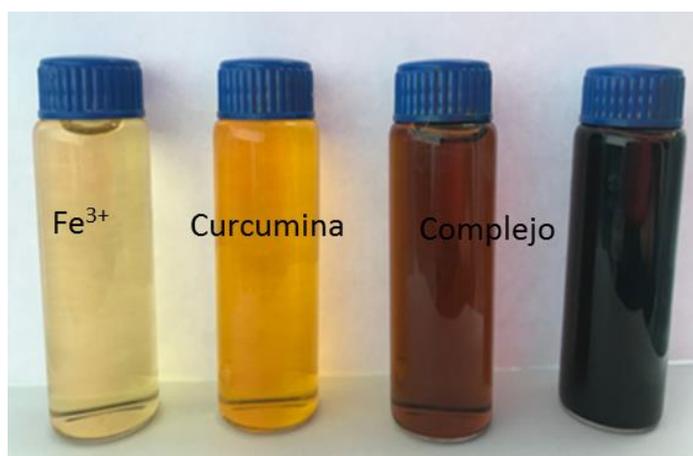


Figura 62. Formación del complejo hierro-curcumina.

A diferencia del complejo formado entre el Fe^{3+} y el rojo Congo este complejo no precipita, incluso tras hacer reaccionar soluciones más concentradas de curcumina y hierro. Un hecho importante en los experimentos es que los filtrados si presentan la coloración típica de la curcumina en solución como se muestra más adelante en la Figura 64. Quizás este comportamiento pueda explicarse por el hecho de que la cinética de liberación y de descomposición de la MOF es muy diferente haciendo que, en todo momento, la concentración de CMN en la solución sea mayoritaria.

De la misma forma que el caso del sistema 200RC@MIL-100, se tomó la solución filtrada de la MIL-100(Fe) agitada en agua durante 24 h y se le agregó una solución de curcumina disuelta en etanol, con la finalidad de evidenciar la formación de dicho complejo. En la Figura 63 se puede observar que la coloración que muestras la solución de la derecha corresponde claramente al complejo hierro-curcumina.



Figura 63. Solución de curcumina en etanol (izquierda). Reacción entre una solución de CMN y el licor resultante de la MOF agitada por 24 h en agua (derecha).

La formación de este complejo Fe^{3+} -curcumina ha sido ya reportada en la literatura¹³⁶. Se ha estudiado el complejo formado por reacción de una solución metanólica curcumina con una solución acuosa de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ bajo reflujo. El sólido rojo-café obtenido se caracterizó por varias técnicas y se determinó que tiene una estequiometría $\text{Fe}(\text{CMN})_3$ correspondiendo a un complejo de coordinación donde la curcumina actúa como un ligando bidentado. El sólido fue incluso evaluado como compuesto antitumoral en líneas celulares de HeLa observándose que éste presenta mucho menor actividad que la curcumina libre. Los autores atribuyeron este comportamiento al hecho de que, en el complejo formado el átomo de carbono central que contiene hidrógeno lábil fue bloqueado e inhabilitado para producir oxirradicales, argumentando que es más probable que la función ceto-enol sea la responsable de la actividad antitumoral, más que la presencia de los grupos fenólicos en la curcumina.

Por otro lado, como ya se mencionó más arriba, la tonalidad de la coloración amarilla proporcionada por la CMN en solución siguió una tendencia creciente como es de esperarse en un experimento típico de liberación (Figura 64).

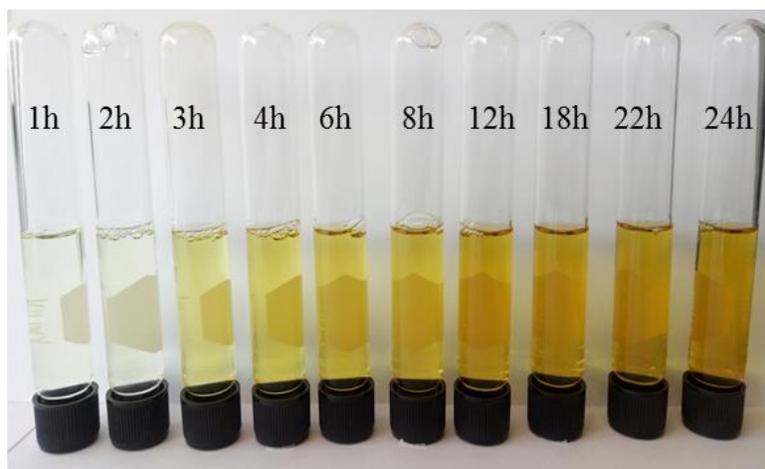


Figura 64. Evolución visual de la liberación de la curcumina en función del tiempo en el sistema 200CMN@MIL-100.

De esta forma, a pesar de la descomposición parcial de la MOF, se pudo cuantificar la CMN liberada por espectrofotometría UV-vis a $\lambda = 420$ nm. Los resultados se muestran en la Figura 65.

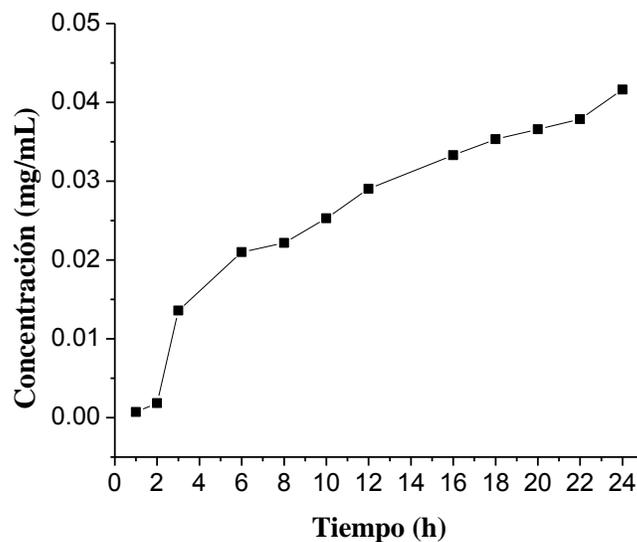


Figura 65. Perfil de liberación de la curcumina en sistema 200CMN@MIL-100.

Cabe señalar que lo mostrado en esta Figura no refleja la cantidad real y total de CMN liberada porque una parte reacciona con el Fe^{3+} para formar el complejo Fe^{3+} -CMN.

Así, según los resultados de la Figura 64, la liberación de CMN es modulada y sostenida en un rango de tiempo de 0 a 24 h.

Una vez concluidos los experimentos de liberación, se recuperó el sólido y se caracterizó por DRX a bajo y alto ángulo y adsorción-desorción de nitrógeno.

Los resultados de difracción de rayos-X a bajo y alto ángulo se presentan en la Figura 66. La estructura del material se mantiene después de la liberación, de acuerdo con lo observado en los difractogramas a alto ángulo

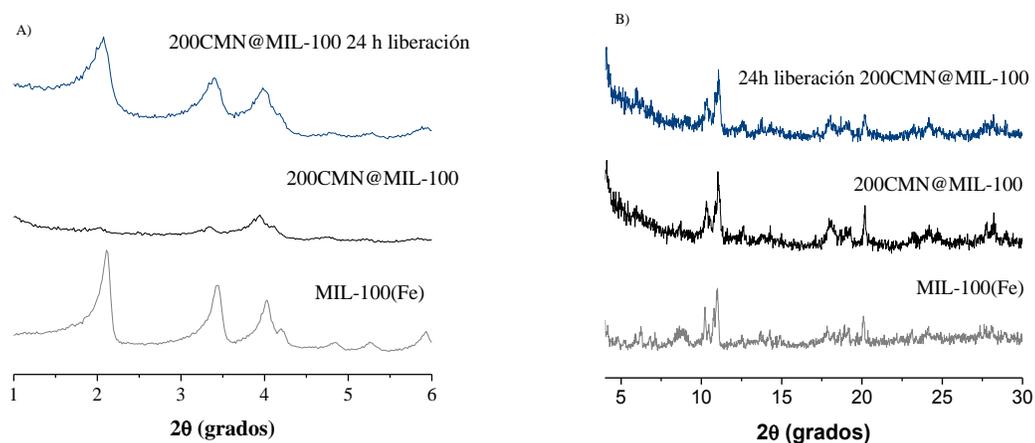


Figura 66. Sistema 200CMN@MIL-100 después de la liberación, A) Difractogramas DRX a bajo ángulo B) Difractogramas DRX alto ángulo.

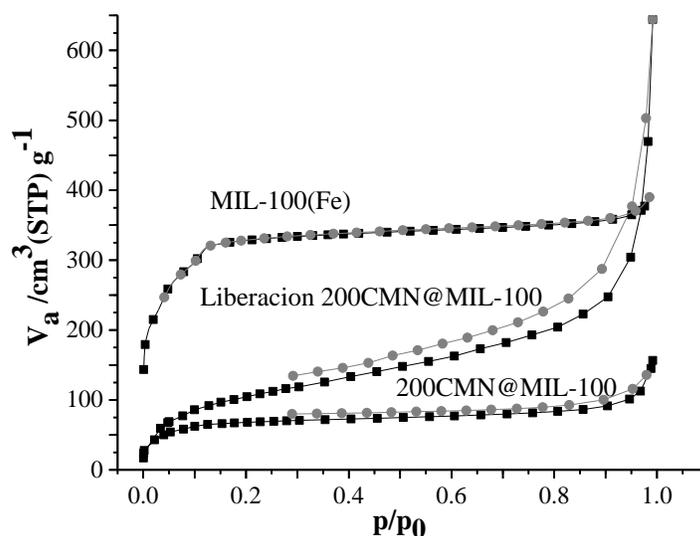


Figura 67. Isothermas de Adsorción-desorción de nitrógeno del sistema CMN@ MIL-100.

Tabla 19 Propiedades texturales del sistema CMN@MIL-100 antes y después de la liberación.

Sistema	S_{BET} ($m^2 g^{-1}$)	V_p ($cm^3 g^{-1}$) ^a
MIL-100(Fe)	1366	0.58
200CMN@MIL-100	240	0.23
200CMN@MIL-100 Liberación 24h	397	0.47

^a Estimado a $p/p_0 = 0.98$ para MIL-100(Fe) y a $p/p_0 = 0.99$ para CMN@MIL-100.

8.3 Liberación del sistema EP@MIL-100

En el caso del sistema 200EP@MIL-100 se tuvieron dificultades analíticas para seguir la liberación de la epicatequina por la técnica UV-vis. El espectro de absorción de la epicatequina en el rango UV muestra una banda de absorción principal localizada a 202 nm y una muy poco intensa situada a 280 nm, Figura 68. La banda a 202 nm se traslapa con la banda de absorción principal del ion trimesato (proveniente de la descomposición parcial de la red) localizada a 209 nm lo que impidió la correcta cuantificación de la epicatequina por esta técnica.

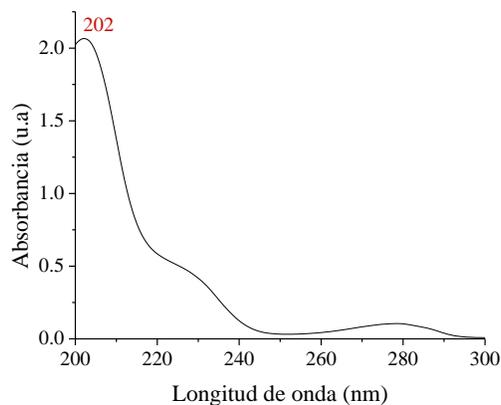


Figura 68. Espectro de absorción de la epicatequina.

Debido a este impedimento analítico, la caracterización de los sólidos después de liberación no se realizó de manera más detallada, sólo se presentan los resultados de difracción de rayos X, Figura 69.

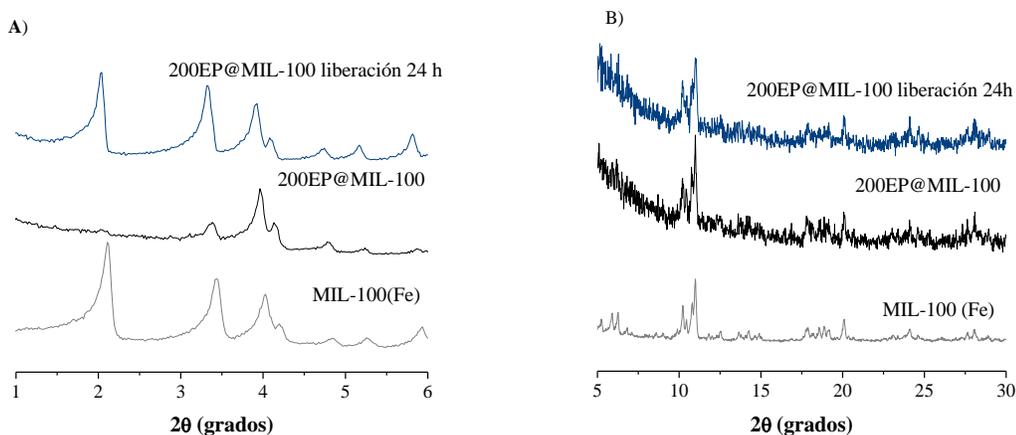


Figura 69. Sistema 200EP@MIL-100 después de la liberación, A) Difractogramas DRX a bajo ángulo, B) Difractogramas DRX a alto ángulo.

Así, a partir de la poca evidencia obtenida, de manera general se puede constatar lo siguiente:

- Al cabo de 24 de horas de liberación, la reflexión (*III*) está de nuevo presente, indicando que las cavidades fueron liberadas.

- En la región de altos ángulos, se observa una aparente conservación de la estructura, pero con disminución de la cristalinidad.

8.4 Liberación del sistema CR@MIL-100

De manera análoga a la epicatequina, el análisis de liberación de la creatina también presentó dificultades analíticas para su seguimiento. Los resultados mostrados en la Figura 70, indican que la creatina tiene una banda de absorción situada a 220 nm que se desplaza en función de la concentración en la solución. Esto, aunado a las bandas de absorción del Fe^{3+} (204 nm) y del ion trimesato (209 nm) presentes durante la liberación (provenientes de la destrucción parcial de la MOF) dificultaron en gran medida el análisis y, por ende, la cuantificación.

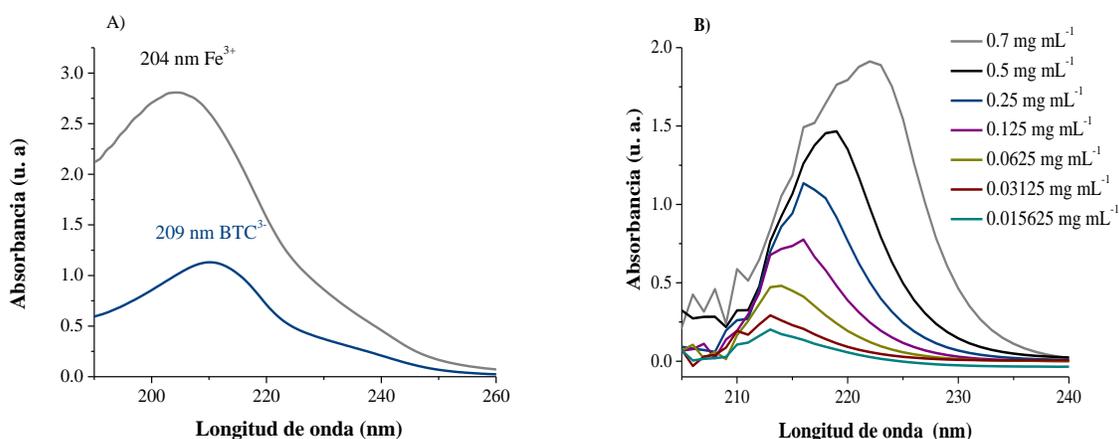


Figura 70. Espectro de absorción de A) ácido trimésico y Fe^{3+} , B) Creatina.

Debido a lo anterior, al no constituir un sistema cuantificable en términos de liberación, los sólidos obtenidos después de liberación no fueron analizados de manera más detallada por otras técnicas.

8.5 Liberación de los sistemas RC@Fe-BTC y CMN@Fe-BTC

En el caso de estos sistemas, desde los 30 minutos y hasta las 24 h de liberación la solución del filtrado fue completamente incolora y no se observó el comportamiento reportado para los sistemas análogos RC@MIL-100 y CMN@MIL-100 en donde se demostró la formación de un



complejo Fe^{3+} -RC y Fe^{3+} -CMN respectivamente. De acuerdo con estos resultados y observaciones se puede concluir que en los sistemas Fe-BTC no ocurre liberación alguna de las MBA encapsuladas. Esto puede soportarse por el hecho de que, en el caso de la Fe-BTC, la encapsulación sólo puede ocurrir en las cavidades más pequeñas de 25 Å (accesibles a través de ventanas microporosas de 4.7-5.5 Å), pues está desprovista de las cavidades de 29 Å (accesibles a través de ventanas microporosas de 8.6 Å). Hay que recordar que la MIL-100(Fe) posee ambos tipos de cavidades y la encapsulación ocurrió principalmente en las cavidades de 29 Å.

Si se compara el tamaño de la molécula de rojo Congo (25.4 x 6.4 Å) con el de la ventana de la cavidad de 25 Å (4.7-5.5 Å) es evidente que no puede ocurrir una liberación y posterior difusión hacia el medio.

El mismo razonamiento es aplicable al caso de la CMN@MIL-100(Fe). Las dimensiones de la curcumina son 15 x 16.4 Å, por lo que su liberación estaría aún más restringida que en el caso del rojo Congo.



9. Pruebas de citotoxicidad

En este apartado se muestran las pruebas de citotoxicidad que se realizaron para evaluar la toxicidad de los materiales, así como los efectos de la MBA. En primer lugar, se describe brevemente las líneas celulares que se usaron, posteriormente, el ensayo biológico empleado y finalmente se presentan los resultados del ensayo de citotoxicidad in vitro.

9.1 Líneas celulares

Una línea celular son células de origen animal, vegetal o humano que se han adaptado a vivir en cultivo y poseen la capacidad de proliferación ilimitada. Dichas líneas celulares pueden ser clasificadas como células en monocapa o en suspensión. Las primeras se fijan al material de la placa donde son cultivadas, y, por tanto, se requiere desprenderlas de la superficie antes de ser usadas, mientras las segundas permanecen en suspensión, sin fijarse al recipiente de cultivo.

Para el crecimiento de las líneas celulares se deben controlar los factores que pueden afectar la proliferación, para lo cual se suele trabajar en las siguientes condiciones: baja densidad celular, medio de cultivo nutritivo, así como pH, temperatura y ambiente controlados. Usando el medio de cultivo adecuado podemos regular varios de los factores que afectan a la proliferación celular ya que este contiene aminoácidos esenciales, oligoelementos, un sistema regulador de pH, iones y factores de crecimiento que a su vez son aportados por el suero fetal bovino (SFB) que se añade como suplemento al medio. Así mismo, contiene antibiótico para disminuir el riesgo de contaminación por microorganismos y nutrientes importantes para las células. Algunos de los medios de cultivo más empleados el BME, MEM y DMEM¹³⁷. El medio basal Eagle (BME), es un medio que contiene únicamente aminoácidos esenciales, mientras que el medio Mínimo Esencial de Eagle (MEM) es un medio que contiene aminoácidos esenciales, piruvato de sodio, vitamina B12, biotina y ácido ascórbico, ambos requieren de la suplementación de suero fetal bovino al 10%. Estos medios generalmente se emplean para crecimiento de fibroblastos de ratón y células HeLa.

Por otra parte, el medio MEM modificado por Dulbeco (DMEM), contiene cuatro veces la concentración de aminoácidos y vitaminas que el medio basal Eagle, y al igual que los medios anteriores necesita de una adición al 10% de suero fetal bovino¹³⁷.

9.1.1 Línea celular C2C12

La línea celular C2C12 es un subclón producido a partir de mioblastos cultivados obtenidos del músculo esquelético de ratones C3H. Proliferan fácilmente en condiciones de suero alto y fusionan en condiciones de suero bajo, formando miotubos contráctiles y produciendo proteínas musculares características. Los mioblastos de ratón además de emplearse para pruebas de viabilidad celular se utilizan para realizar ensayos in vitro relacionados con el músculo esquelético¹³⁸.

9.1.2 Línea celular HeLa

Esta línea celular es la más antigua clasificada como inmortal, ya que puede dividirse un número ilimitados de veces en un cultivo de laboratorio. Deriva de células de cáncer cervical y ha demostrado ser de gran durabilidad comparada con otras líneas celulares, las cuales mueren después de cierto número de divisiones celulares. Dicha línea celular fue usada para probar la primera vacuna contra la poliomielitis¹³⁹ y desde entonces su uso ha sido bastante amplio, desde efectos de la radiación y sustancias tóxicas, hasta investigaciones in vitro de cáncer, por mencionar algunos¹⁴⁰.

9.2 Método MTT

El método MTT es uno de los más utilizados para medir la supervivencia y proliferación celular, ya que es rápido, versátil y cuantitativo. Este método permite medir espectrofotométricamente las células vivientes, leyendo absorbancias entre 540 y 570 nm. Esto es posible gracias a que el Bromuro de 3-(4,5dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT) que es una sal de tetrazolio color amarillo sufre una reducción metabólica (aceptación de un H⁺) del anillo bencénico de la sal de tetrazolio, por acción de las enzimas deshidrogenasas presentes en las células, obteniendo como producto unos cristales azules de formazán insolubles en agua, pero solubles en dimetilsulfóxido



(DMSO). La viabilidad celular es proporcional a la absorbancia que presentan los cristales de formazán en solución¹⁴¹.

9.3 Protocolo de citotoxicidad

Las pruebas de viabilidad celular se realizaron mediante el ensayo MTT, de acuerdo al procedimiento realizado por Mosmann y colaboradores¹⁴². Para ello se empleando diferentes concentraciones tanto la MOF sin MBA, como de los sistemas 200EP@MIL-100 y 200CMN@MIL-100. Las pruebas se hicieron en placas de fondo plano de 96 pozos y se realizaron por triplicado.

Como primer paso se procedió a cultivar las células, para ello se mantuvieron a 37°C en una incubadora con atmosfera humidificada de CO₂ al 5% y se cultivaron en medio (DMEM para el caso de fibroblastos y MEM para HeLa) con 15% de SFB y 1% de antibiótico. La solución FBS fue reemplazada hasta alcanzar una confluencia del 80%.

Una vez listas las células, se sembraron en la en la placa de 96 pozos a una concentración de 10, 000 células por pozo y se agregó la suspensión que contenía el material en concentraciones 0.1, 10,50, 100µM. Las células se dejaron en incubación por periodo de 24 h y trascurrido este tiempo fueron lavadas con solución PBS, una vez lavadas se añadieron 10µL de MTT a cada pozo. La placa se incubo por 4h a temperatura ambiente y posteriormente se retiró el medio de manera cuidadosa, adicionando simultáneamente 200 µL de solución 4 µM de HCl en isopropanol. Finalmente se leyeron las absorbancias a diferentes longitudes de onda (570, 590, 610 y 630 nm).

9.4 Resultados de citotoxicidad

La toxicidad celular de la MOF MIL-100(Fe) se probó en la línea celular C2C12, mediante un ensayo MTT, las concentraciones utilizadas de la MOF se muestran en la Tabla 20. Para tener un estándar con el cual se pudiera comparar, se dejó un control (células no tratadas con MOF). Los resultados, Figura 71, revelaron que después de exponer por 24 h las células a diferentes concentraciones de la MOF, la viabilidad celular se ve poco alterada ya que puede apreciar que para la máxima concentración (100 µM) se obtiene un porcentaje de células vivas del 92%.

Con estos resultados se puede afirmar que esta MOF no muestra efecto citotóxico en las células en las concentraciones probadas, lo cual sugiere que puede ser una buena matriz para el encapsulamiento y liberación controlada de MBA, como bien se ha demostrado en investigaciones previas^{79,80,84}.

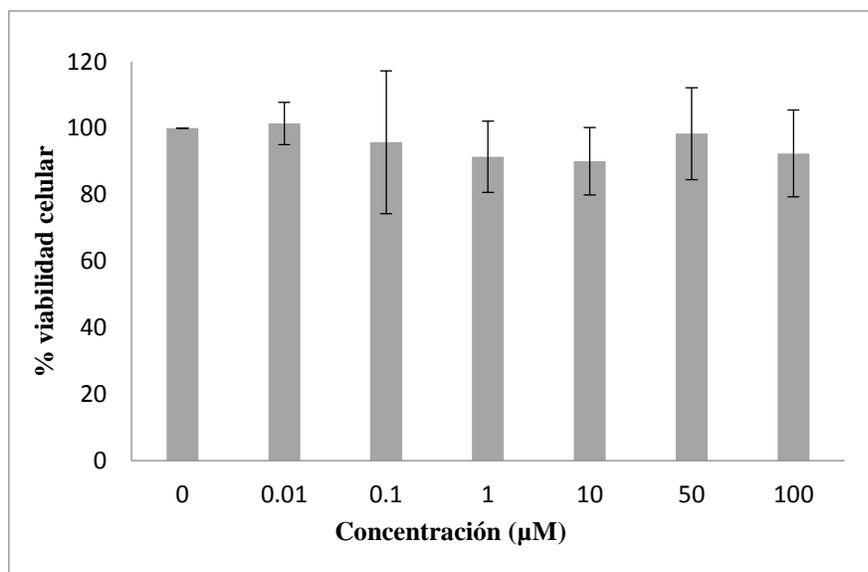


Figura 71. Ensayo de citotoxicidad de la MOF MIL-100(Fe).

Una vez probada la citotoxicidad de la MOF se analizó el material cargado con curcumina (200CMN@MIL-00) en la línea celular HeLa, con la finalidad de probar su efecto inhibitor de células cancerígenas. Las concentraciones empleadas fueron 0.01, 0.1, 1, 10, 50, 100 µM de curcumina en la MOF.

La viabilidad celular después del tratamiento con el sistema 200CMN@MIL-100 se presenta en la Figura 72. Se puede observar una tendencia decreciente en la viabilidad celular, conforme aumenta la concentración de curcumina, de forma tal que para la máxima concentración probada se obtiene un 67% de viabilidad celular. Este resultado es relevante, considerando la cantidad de MOF empleada para evitar en un 33% la proliferación de las células cancerígenas, de acuerdo con la Tabla 20.

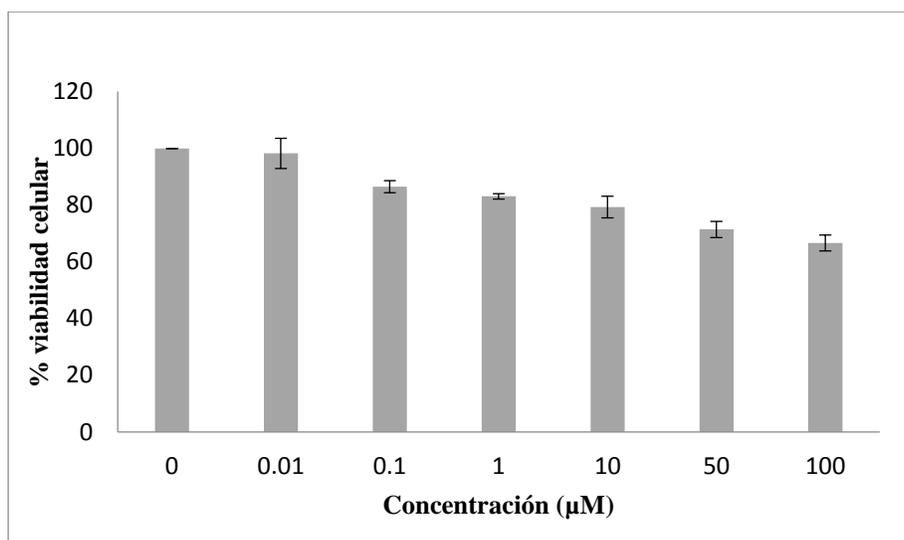


Figura 72. Ensayo de citotoxicidad del sistema 200CMN@MIL-100 (Fe).

Tabla 20. Viabilidad celular de los sistemas 200CMN@MIL-100, 200EP@MIL-100 y MIL-100(Fe).

Concentración (μM de MBA)	0	0.01	0.1	1	10	50	100
Viabilidad 200CMN@MIL-100	100	98	86	83	79	71	67
Viabilidad 200EP@MIL-100	100	100	93	101	97	100	117
Concentración (μM de MOF)	0	3.30E-06	3.305E-05	3.30E-04	0.003	0.03	0.16
Viabilidad MOF MIL-100(Fe)	100	101	96	91	90	98	92

De igual forma, se realizó el mismo ensayo, considerando que se liberan las mismas cantidades 0.01, 0.1, 1, 10, 50, 100 y 200 μM, pero en esta ocasión agregando la curcumina libre, es decir sin estar encapsulada en la MOF.

En la Figura 73 se muestra la viabilidad obtenida tras exponer durante 24 h las células cancerígenas a la curcumina. La viabilidad celular, como se puede ver en la Tabla 21, es del 64% para una concentración 100 μM de curcumina, este resultado concuerda con la citotoxicidad observada anteriormente en el sistema 200CMN@MIL-100, donde se reportó una viabilidad celular del 65.7% para la misma concentración.

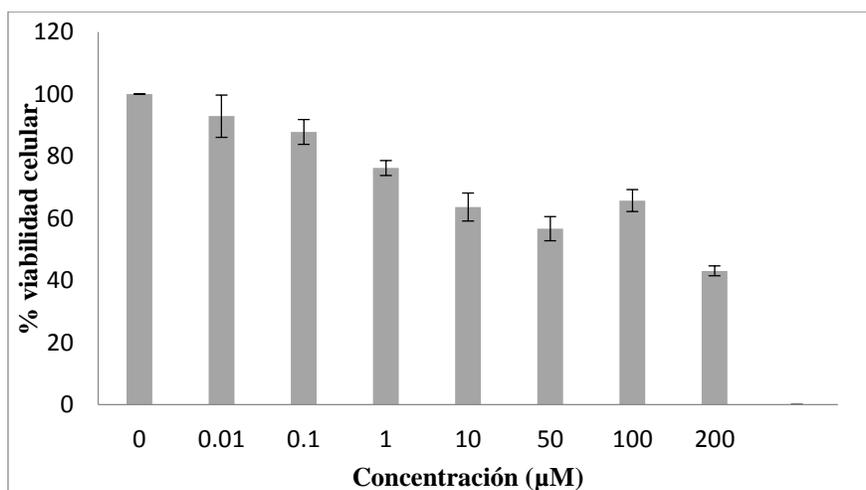


Figura 73. Ensayo de citotoxicidad de la curcumina.

Tabla 21. Viabilidad celular después del 24 h de tratamiento con el sistema 200CMN@MIL-100 y curcumina.

Concentración (µM de MBA)	0	0.01	0.1	1	10	50	100
200CMN@MIL-100	100	98	86	83	79	71	67
Curcumina	100	93	87	77	64	55	64

Por otro lado, el efecto de regeneración celular de la epicatequina fue probado en la línea celular C2C12. Los resultados obtenidos tras exponer a las células ante diferentes concentraciones de epicatequina durante 24 h se presentan en la Figura 74 y en la Tabla 22. Se puede notar que la viabilidad celular oscila entre un 88 y 98% hasta una concentración 50 µM de epicatequina y posteriormente se mantiene en 100% para contenidos del 50 y 100 µM.

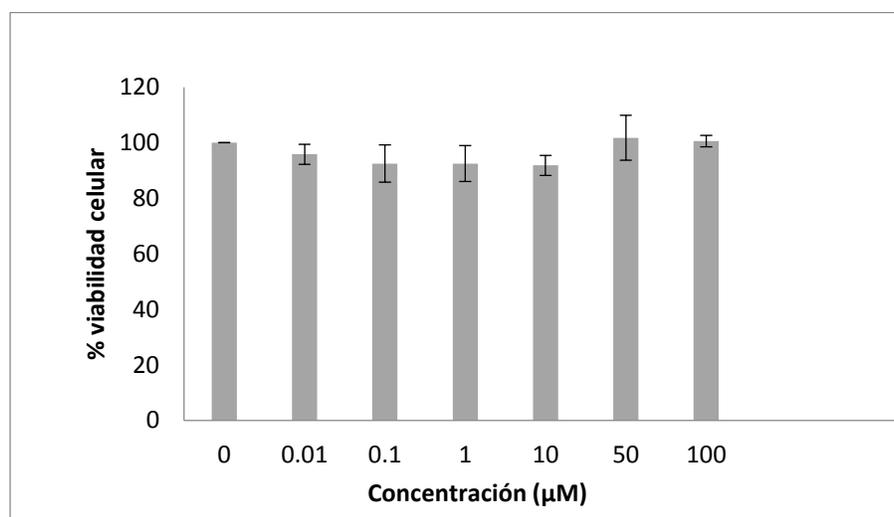


Figura 74. Ensayo de citotoxicidad de la epicatequina.

Tabla 22. Viabilidad celular después del 24 h de tratamiento con el sistema 200EP@MIL-100 y epicatequina

Concentración (μM de MBA)	0	0.01	0.1	1	10	50	100
200EP@MIL-100	100	100	93	101	97	100	117
Epicatequina	100	95	92	92	92	101	100

Finalmente, se evaluó la capacidad de regeneración celular de la epicatequina contenida en el sistema 200EP@MIL-100. Los resultados observados en la Figura 75 muestran una viabilidad celular del 117%, este resultado indica que las células no solo mantiene una viabilidad celular del 100%, sino que también se hay un crecimiento celular gracias a la epicatequina que está siendo liberada por la MOF, lo cual sugiere que este sistema podría ser un material prometedor para ser aplicado en casos donde se requiera acelerar la regeneración celular, particularmente en aplicaciones tópicas.

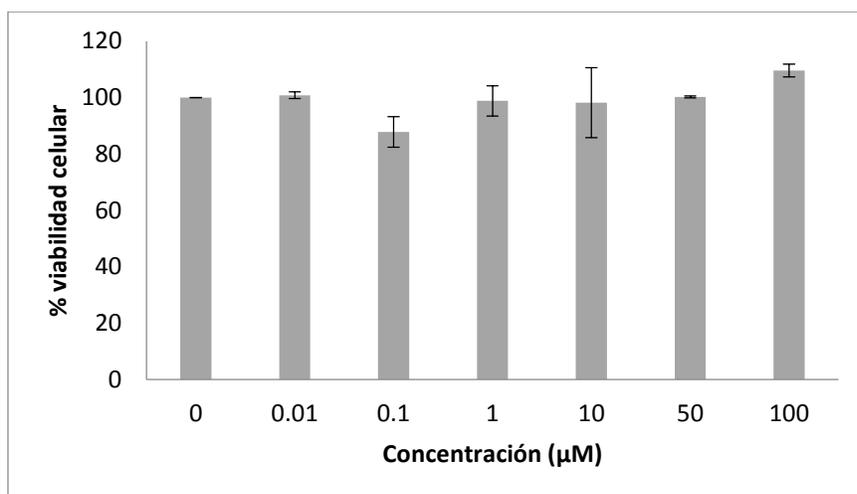


Figura 75. Ensayo de citotoxicidad del sistema 200EP@MIL-100.

Así mismo, este efecto se puede ver en las imágenes de las células vistas al microscopio, Figura 76, donde claramente se distingue que las células que no fueron expuestas a la epicatequina presentan menor confluencia, a diferencia de las células que se trataron con el sistema 200EP@MIL-100.

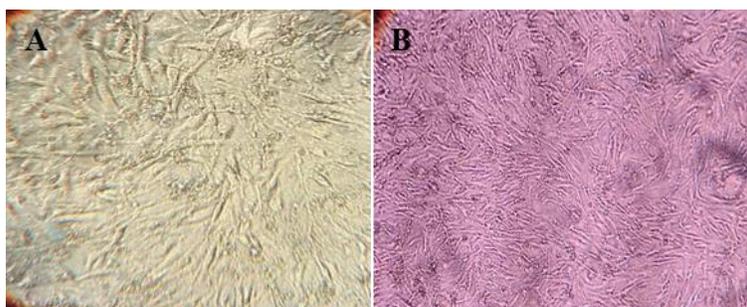


Figura 76. Imágenes de células C2C12 vistas al microscopio. a) Células sin epicatequina, b) células después del periodo de incubación con epicatequina.



10. Conclusiones

Se sintetizaron materiales híbridos mediante la encapsulación de moléculas biológicamente activas en el sistema poroso de dos MOF, una cristalina, la MIL-100(Fe) y una denominada semicristalina, la Fe-BTC. Ambos materiales fueron preparados por un método sustentable evitando el uso de ácidos corrosivos, altas temperaturas y empleando agua como único solvente.

Los sólidos obtenidos son de calidad, en cuanto a cristalinidad y pureza se refiere, comparable a la de los materiales preparados por métodos solvotermales tradicionales.

A juzgar por los resultados obtenidos, la encapsulación de rojo Congo, curcumina y epicatequina en MIL-100(Fe) y Fe-BTC fue exitosa.

La estabilidad térmica de los sistemas encapsulados se vio significativamente afectada debido a las interacciones existentes entre la MBA y la red de la MOF. Asimismo, dado que la descomposición del ligando orgánico y la MBA ocurrió de manera simultánea durante los análisis de ATG, resultó imposible estimar la cantidad de MBA encapsulada por esta técnica.

Durante el estudio de la liberación de la MBA, la descomposición natural de ambas MOF no permitió la cuantificación de la cantidad de MBA liberada, debido a las interferencias entre el ligando orgánico y la MBA en la técnica de UV-vis. Se sugiere el uso de la técnica de HPLC para la cuantificación de ambas especies, particularmente en los casos de la epicatequina y de la creatina.

Los sistemas RC@MIL-100 y CMN@MIL-100 presentaron una liberación prolongada hasta 24 h; sin llegar a la liberación total. En contraposición, los sistemas RC@Fe-BTC y CMN@Fe-BTC no mostraron liberación.

La citotoxicidad del material de referencia MIL-100(Fe) se estudió en la línea celular C2C12 mostrando una viabilidad celular de superior al 90 %, lo que indica el material es altamente biocompatible.



El sistema EP@MIL-100 estudiado en la línea C2C12 mostró una viabilidad celular de 117% indicando que el sistema podría ser utilizado para regeneración acelerar la regeneración celular.

El sistema CMN@MIL-100 fue estudiado en la línea celular HeLa observándose una inhibición de las células cancerígenas de hasta 33%, lo que indica que el sistema posee características prometedoras como sistema de liberación de moléculas anticancerígenas.



11. Referencias

- (1) Miller, S. R.; Heurtaux, D.; Baati, T.; Horcajada, P.; Grenèche, J.-M.; Serre, C. Biodegradable Therapeutic MOFs for the Delivery of Bioactive Molecules. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 4526.
- (2) Rieter, W. J.; Pott, K. M.; Taylor, K. M.; Lin, W. Nanoscale Coordination Polymers for Platinum-Based Anticancer Drug Delivery. TL - 130. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130* VN-, 11584–11585.
- (3) Geisberger, G.; Gyenge, E. B.; Maake, C.; Patzke, G. R. Trimethyl and Carboxymethyl Chitosan Carriers for Bio-Active Polymer-Inorganic Nanocomposites. *Carbohydr. Polym.* **2013**, *91*, 58–67.
- (4) Imaz, I.; Rubio-Martínez, M.; García-Fernández, L.; García, F.; Ruiz-Molina, D.; Hernando, J.; Puentes, V.; Maspocho, D. Coordination Polymer Particles as Potential Drug Delivery Systems. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 4737.
- (5) Taj, S. F.; Singer, R.; Nazir, T.; Williams, G. R. The First Hydroxy Double Salt Tablet Formulation. *RSC Adv.* **2013**, *3*, 358.
- (6) Lin, Q. A New (4,8)-Connected Topological MOF as Potential Drug Delivery. *Inorg. Chem. Commun.* **2015**, *55*, 8–10.
- (7) Adatoz, E.; Avci, A. K.; Keskin, S. Opportunities and Challenges of MOF-Based Membranes in Gas Separations. *Sep. Purif. Technol.* **2015**, *152*, 207–237.
- (8) Shahid, S.; Nijmeijer, K.; Nehache, S.; Vankelecom, I.; Deratani, A.; Quemener, D. MOF-Mixed Matrix Membranes: Precise Dispersion of MOF Particles with Better Compatibility via a Particle Fusion Approach for Enhanced Gas Separation Properties. *J. Memb. Sci.* **2015**, *492*, 21–31.
- (9) Zamaro, J. M.; Pérez, N. C.; Miró, E. E.; Casado, C.; Seoane, B.; Téllez, C.; Coronas, J. HKUST-1 MOF: A Matrix to Synthesize CuO and CuO-CeO₂ Nanoparticle Catalysts for CO Oxidation. *Chem. Eng. J.* **2012**, *195–196*, 180–187.
- (10) Zhou, C. Introduction to Metal–Organic Frameworks. *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 673–674.
- (11) Yaghi, O. M.; O’Keeffe, M.; Ockwig, N. W.; Chae, H. K.; Eddaoudi, M.; Kim, J. Reticular Synthesis and the Design of New Materials. *Nature* **2003**, *423*, 705–714.
- (12) Dunbar, K. R.; Heintz, R. A. Chemistry of Transition Metal Cyanide Compounds: Modern Perspectives. In *Progress in Inorganic Chemistry*; John Wiley & Sons, 1997; Vol. 45, pp. 283–391.

- (13) Gramaccioli, C. M.; Marsh, R. E. The Crystal Structure of Copper Glutamate Dihydrate. *Acta Crystallogr.* **1966**, *21*, 594–600.
- (14) Jarvis, J. A. J. The Crystal Structure of a Complex of Cupric Chloride and 1:2:4-Triazole. *Acta Crystallogr.* **1962**, *15*, 964–966.
- (15) Yaghi, O. M.; Li, H. Hydrothermal Synthesis of a Metal-Organic Framework Containing Large Rectangular Channels. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 10401–10402.
- (16) Díaz-García, M.; Mayoral, Á.; Díaz, I.; Sánchez-Sánchez, M. Nanoscaled M-MOF-74 Materials Prepared at Room Temperature. *Cryst. Growth Des.* **2014**, *14*, 2479–2487.
- (17) Guesh, K.; Caiuby, C. A. D.; Mayoral, Á.; Díaz-García, M.; Díaz, I.; Sanchez-Sanchez, M. Sustainable Preparation of MIL-100(Fe) and Its Photocatalytic Behavior in the Degradation of Methyl Orange in Water. *Cryst. Growth Des.* **2017**, *17*, 1806–1813.
- (18) Reinsch, H.; Homburg, T.; Heidenreich, N.; Fröhlich, D.; Henninger, S.; Wark, M.; Stock, N. Green Synthesis of a New Al-MOF Based on the Aliphatic Linker Mesaconic Acid: Structure, Properties and In Situ Crystallisation Studies of Al-MIL-68-Mes. *Chem. - A Eur. J.* **2018**, *24*.
- (19) Sánchez-Sánchez, M.; Getachew, N.; Díaz, K.; Díaz-García, M.; Chebude, Y.; Díaz, I. Synthesis of Metal-organic Frameworks in Water at Room Temperature: Salts as Linker Sources. *Green Chem.* **2015**, *17*, 1500–1509.
- (20) Horcajada, P.; Surblé, S.; Serre, C.; Hong, D.-Y.; Seo, Y.-K.; Chang, J.-S.; Grenèche, J.-M.; Margiolaki, I.; Férey, G. Synthesis and Catalytic Properties of MIL-100(Fe), an Iron(iii) Carboxylate with Large Pores. *Chem. Commun.* **2007**, *100*, 2820–2822.
- (21) Martínez, F.; Leo, P.; Orcajo, G.; Díaz-García, M.; Sanchez-Sanchez, M.; Calleja, G. Sustainable Fe-BTC Catalyst for Efficient Removal of Methylene Blue by Advanced Fenton Oxidation. *Catalysis Today*, 2017, in press.
- (22) Jiang, Z. W.; Dai, F. Q.; Huang, C. Z.; Li, Y. F. Facile Synthesis of a Fe₃O₄/MIL-101(Fe) Composite with Enhanced Catalytic Performance. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 86443–86446.
- (23) Timofeeva, M. N.; Panchenko, V. N.; Khan, N. A.; Hasan, Z.; Prosvirin, I. P.; Tsybulya, S. V.; Jhung, S. H. Isostructural Metal-Carboxylates MIL-100(M) and MIL-53(M) (M: V, Al, Fe and Cr) as Catalysts for Condensation of Glycerol with Acetone. *Appl. Catal. A Gen.* **2017**, *529*, 167–174.
- (24) Zheng, M.; Liu, S.; Guan, X.; Xie, Z. One-Step Synthesis of Nanoscale Zeolitic Imidazolate Frameworks with High Curcumin Loading for Treatment of Cervical Cancer. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2015**, *7*, 22181–22187.
- (25) Yaghi, O. M.; O’Keeffe, M.; Ockwig, N. W.; Chae, H. K.; Eddaoudi, M.; Kim, J.; Rowsell,



- J. L. C.; Yaghi, O. M. Metal-Organic Frameworks: A New Class of Porous Materials. *Nature* **2004**, *73*, 705–714.
- (26) Seo, Y. K.; Yoon, J. W.; Lee, J. S.; Lee, U. H.; Hwang, Y. K.; Jun, C. H.; Horcajada, P.; Serre, C.; Chang, J. S. Large Scale Fluorine-Free Synthesis of Hierarchically Porous iron(III) Trimesate MIL-100(Fe) with a Zeolite MTN Topology. *Microporous Mesoporous Mater.* **2012**, *157*, 137–145.
- (27) Butova, V. V.; Soldatov, M. A.; Guda, A. A.; Lomachenko, K. A.; Lamberti, C. Metal-Organic Frameworks: Structure, Properties, Methods of Synthesis and Characterization. *Russ. Chem. Rev.* **2016**, *85*, 280–307.
- (28) Tranchemontagne, D. J.; Hunt, J. R.; Yaghi, O. M. Room Temperature Synthesis of Metal-Organic Frameworks: MOF-5, MOF-74, MOF-177, MOF-199, and IRMOF-0. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 8553–8557.
- (29) Cravillon, J.; Münzer, S.; Lohmeier, S. J.; Feldhoff, A.; Huber, K.; Wiebcke, M. Rapid Room-Temperature Synthesis and Characterization of Nanocrystals of a Prototypical Zeolitic Imidazolate Framework. *Chem. Mater.* **2009**, *21*, 1410–1412.
- (30) Hu, X.; Lou, X.; Li, C.; Ning, Y.; Liao, Y.; Chen, Q.; Mananga, E. S.; Shen, M.; Hu, B. Facile Synthesis of the Basolite F300-like Nanoscale Fe-BTC Framework and Its Lithium Storage Properties. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 114483–114490.
- (31) Sanchez-Sanchez, M.; De Asua, I.; Ruano, D.; Diaz, K. Direct Synthesis, Structural Features, and Enhanced Catalytic Activity of the Basolite F300-like Semiamorphous Fe-BTC Framework. *Cryst. Growth Des.* **2015**, *15*, 4498–4506.
- (32) Loera-Serna, S.; Núñez, L. L.; Flores, J.; López-Simeon, R.; Beltrán, H. I. An Alkaline One-Pot Metathesis Reaction to Give a [Cu₃(BTC)₂] MOF at R.t., with Free Cu Coordination Sites and Enhanced Hydrogen Uptake Properties. *RSC Adv.* **2013**, *3*, 10962.
- (33) Férey, G.; Mellot-Draznieks, C.; Serre, C.; Millange, F.; Dutour, J.; Surblé, S.; Margiolaki, I. A Chromium Terephthalate-Based Solid with Unusually Large Pore Volumes and Surface Area. *Science* **2005**, *309*, 2040–2042.
- (34) Qian, J.; Sun, F.; Qin, L. Hydrothermal Synthesis of Zeolitic Imidazolate Framework-67 (ZIF-67) Nanocrystals. *Mater. Lett.* **2012**, *82*, 220–223.
- (35) Simon, N.; Marrot, J.; Loiseau, T.; Férey, G. Hydrothermal Synthesis and Crystal Structures of Two Open-Framework Fluorinated Aluminum Phosphates Templated by 1,3-Diaminopropane (ULM-4 & MIL-64). *Solid State Sci.* **2006**, *8*, 1361–1367.
- (36) Loiseau, T.; Mellot-Draznieks, C.; Muguerra, H.; Férey, G.; Haouas, M.; Taulelle, F. Hydrothermal Synthesis and Crystal Structure of a New Three-Dimensional Aluminum-Organic Framework MIL-69 with 2,6-Naphthalenedicarboxylate(ndc), Al(OH)(ndc)·H₂O.

- Comptes Rendus Chim.* **2005**, *8*, 765–772.
- (37) Loiseau, T.; Beitone, L.; Taulelle, F.; Férey, G. Divalent Metal Incorporation in MIL-74, the Super-Sodalite Aluminum Phosphates $M_3Al_6(PO_4)_{12} \cdot 4\text{tren} \cdot 17H_2O$ (M=Mg, Mn, Co) and Its Gallium Phosphate Analogs $M'_3Ga_6(PO_4)_{12} \cdot 4\text{tren} \cdot 17H_2O$ (M'=Mg, Mn, Co, Fe, Zn). *Solid State Sci.* **2006**, *8*, 346–352.
- (38) Volkringer, C.; Loiseau, T.; Guillou, N.; Férey, G.; Popov, D.; Burghammer, M.; Riekkel, C. Synthesis and Structural Characterization of Metal–organic Frameworks with the Mellitate Linker $M_2(OH)_2[C_{12}O_{12}H_2] \cdot 2H_2O$ (M = Al, Ga, In) MIL-116. *Solid State Sci.* **2013**, *26*, 38–44.
- (39) Volkringer, C.; Loiseau, T.; Guillou, N.; Férey, G.; Elkaïm, E. Syntheses and Structures of the MOF-Type Series of Metal 1,4,5,8,-Naphthalenetetracarboxylates $M_2(OH)_2[C_{14}O_8H_4]$ (Al, Ga, In) with Infinite Trans-Connected M-OH-M Chains (MIL-122). *Solid State Sci.* **2009**, *11*, 1507–1512.
- (40) Riou-Cavellec, M.; Sanselme, M.; Grenèche, J.-M.; Férey, G. Hydrothermal Synthesis, Structural Approach, Magnetic and Mössbauer Study of the Layered Fe(III) Carboxyethylphosphonate $[Fe(OH)(H_2O)(O_3P-(CH_2)_2-CO_2H)]$ or MIL-37. *Solid State Sci.* **2000**, *2*, 717–724.
- (41) Riou-Cavellec, M.; Sanselme, M.; Nogueès, M.; Grenèche, J. M.; Férey, G. Synthesis, Structure and Metamagnetic Behaviour of a Three-Dimensional Fe(II) Carboxyethylphosphonate: $[Fe_3(OH)_2(H_2O)_4(O_3P-(CH_2)_2-CO_2H)_2]$ or MIL-38. *Solid State Sci.* **2002**, *4*, 619–625.
- (42) Sanselme, M.; Riou-Cavellec, M.; Grenèche, J.-M.; Férey, G. Hydrothermal Synthesis, Structure, and Magnetic Properties of a Layered Fe(III) Carboxymethylphosphonate: $[Fe(H_2O)(O_3P-CH_2-CO_2)]$ or MIL-49. *J. Solid State Chem.* **2002**, *164*, 354–360.
- (43) Riou-Cavellec, M.; Férey, G. A New Three-Dimensional Iron Trimesate: $[Fe_3(H_2O)_5(C_9O_6H_3)_2 \cdot 3H_2O]$ or MIL-65. *Solid State Sci.* **2002**, *4*, 1221–1225.
- (44) Sanselme, M.; Grenèche, J. M.; Riou-Cavellec, M.; Férey, G. The First Ferric Carboxylate with a Three-Dimensional Hydrid Open-Framework (MIL-82): Its Synthesis, Structure, Magnetic Behavior and Study of Its Dehydration by Mössbauer Spectroscopy. *Solid State Sci.* **2004**, *6*, 853–858.
- (45) Zhang, F.; Shi, J.; Jin, Y.; Fu, Y.; Zhong, Y.; Zhu, W. Facile Synthesis of MIL-100(Fe) under HF-Free Conditions and Its Application in the Acetalization of Aldehydes with Diols. *Chem. Eng. J.* **2015**, *259*, 183–190.
- (46) Butova, V. V.; Budnyk, A. P.; Bulanova, E. A.; Lamberti, C.; Soldatov, A. V. Hydrothermal Synthesis of High Surface Area ZIF-8 with Minimal Use of TEA. *Solid State Sci.* **2017**, *69*,



- 13–21.
- (47) Ren, J.; Dyosiba, X.; Musyoka, N. M.; Langmi, H. W.; North, B. C.; Mathe, M.; Onyango, M. S. Green Synthesis of Chromium-Based Metal-Organic Framework (Cr-MOF) from Waste Polyethylene Terephthalate (PET) Bottles for Hydrogen Storage Applications. *Int. J. Hydrogen Energy* **2016**, *41*, 18141–18146.
- (48) Lestari, W. W.; Arvinawati, M.; Martien, R.; Kusumaningsih, T. Green and Facile Synthesis of MOF and Nano MOF Containing zinc(II) and Benzen 1,3,5-Tri Carboxylate and Its Study in Ibuprofen Slow-Release. *Mater. Chem. Phys.* **2017**.
- (49) Reinsch, H. “Green” Synthesis of Metal-Organic Frameworks. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2016**, *2016*, 4290–4299.
- (50) Pham, M.-H.; Vuong, G.-T.; Vu, A.-T.; Do, T.-O. Novel Route to Size-Controlled Fe–MIL-88B–NH₂ Metal–Organic Framework Nanocrystals. *Langmuir* **2011**, *27*, 15261–15267.
- (51) Tan, F.; Liu, M.; Li, K.; Wang, Y.; Wang, J.; Guo, X.; Zhang, G.; Song, C. Facile Synthesis of Size-Controlled MIL-100(Fe) with Excellent Adsorption Capacity for Methylene Blue. *Chem. Eng. J.* **2015**, *281*, 360–367.
- (52) Sanna, V.; Pala, N.; Sechi, M. Targeted Therapy Using Nanotechnology: Focus on Cancer. *Int. J. Nanomedicine* **2014**, *9*, 467–483.
- (53) Bezverkhyy, I.; Weber, G.; Bellat, J.-P. Degradation of Fluoride-Free MIL-100(Fe) and MIL-53(Fe) in Water: Effect of Temperature and pH. *Microporous Mesoporous Mater.* **2016**, *219*, 117–124.
- (54) Taherzade, S.; Soleimannejad, J.; Tarlani, A. Application of Metal-Organic Framework Nano-MIL-100(Fe) for Sustainable Release of Doxycycline and Tetracycline. *Nanomaterials* **2017**, *7*, 215.
- (55) Bhattacharjee, A.; Gumma, S.; Purkait, M. K. Fe₃O₄ Promoted Metal Organic Framework MIL-100(Fe) for the Controlled Release of Doxorubicin Hydrochloride. *Microporous Mesoporous Mater.* **2017**, *259*, 203–210.
- (56) Buragohain, A.; Van Der Voort, P.; Biswas, S. Facile Synthesis and Gas Adsorption Behavior of New Functionalized Al-MIL-101-X (X = –CH₃, –NO₂, –OCH₃, –C₆H₄, –F₂, –(CH₃)₂, –(OCH₃)₂) Materials. *Microporous Mesoporous Mater.* **2015**, *215*, 91–97.
- (57) Lin, W.; Hu, Q.; Jiang, K.; Cui, Y.; Yang, Y.; Qian, G. A Porous Zn-Based Metal-Organic Framework for pH and Temperature Dual-Responsive Controlled Drug Release. *Microporous Mesoporous Mater.* **2017**, *249*, 55–60.
- (58) Wang, Z.; Tanabe, K. K.; Cohen, S. M. Accessing Postsynthetic Modification in a Series of Metal-Organic Frameworks and the Influence of Framework Topology on Reactivity.

- Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 296–306.
- (59) Li, B.; Chrzanowski, M.; Zhang, Y.; Ma, S. Applications of Metal-Organic Frameworks Featuring Multi-Functional Sites. *Coord. Chem. Rev.* **2016**, *307*, 106–129.
- (60) Huxford, R. C.; Della Rocca, J.; Lin, W. Metal-Organic Frameworks as Potential Drug Carriers. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2010**, *14*, 262–268.
- (61) Mitragotri, S.; Burke, P. A.; Langer, R. Overcoming the Challenges in Administering Biopharmaceuticals: Formulation and Delivery Strategies. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2014**, *13*, 655–672.
- (62) Horcajada, P.; Serre, C.; Vallet-Regí, M.; Sebban, M.; Taulelle, F.; Férey, G. Metal-Organic Frameworks as Efficient Materials for Drug Delivery. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2006**, *45*, 5974–5978.
- (63) Morris, R. E.; Wheatley, P. S. Gas Storage in Nanoporous Materials. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2008**, *47*, 4966–4981.
- (64) Gregg, S. T.; Yuan, Q.; Morris, R. E.; Xiao, B. Functionalised Solids Delivering Bioactive Nitric Oxide Gas for Therapeutic Applications. *Mater. Today Commun.* **2017**, *12*, 95–105.
- (65) Cunha, D.; Ben Yahia, M.; Hall, S.; Miller, S. R.; Chevreau, H.; Elkaïm, E.; Maurin, G.; Horcajada, P.; Serre, C. Rationale of Drug Encapsulation and Release from Biocompatible Porous Metal-Organic Frameworks. *Chem. Mater.* **2013**, *25*, 2767–2776.
- (66) Simon-Yarza, T.; Rojas, S.; Horcajada, P.; Serre, C. The Situation of Metal-Organic Frameworks in Biomedicine. In *Comprehensive Biomaterials II*; Elsevier, 2017; Vol. 4, pp. 719–749.
- (67) Ruyra, A.; Yazdi, A.; Espín, J.; Carné-Sánchez, A.; Roher, N.; Lorenzo, J.; Imaz, I.; Maspoch, D. Synthesis, Culture Medium Stability, and in Vitro and in Vivo Zebrafish Embryo Toxicity of Metal-Organic Framework Nanoparticles. *Chem. - A Eur. J.* **2015**, *21*, 2508–2518.
- (68) Simon-Yarza, T.; Baati, T.; Neffati, F.; Njim, L.; Couvreur, P.; Serre, C.; Gref, R.; Najjar, M. F.; Zakhama, A.; Horcajada, P. In Vivo Behavior of MIL-100 Nanoparticles at Early Times after Intravenous Administration. *Int. J. Pharm.* **2016**.
- (69) Zhou, H.-C.; Long, J. R.; Yaghi, O. M. Introduction to Metal-Organic Frameworks. *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 673–674.
- (70) Férey, G. Metal-Organic Frameworks as Efficient Materials for Drug Delivery. *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 6120–6124.
- (71) Horcajada, P. Porous Metallic Framework Nanoscale Carriers as a Potential Platform for



- Drug Delivery and Imaging. *Nat. Mater.* **2010**, *9*, 172.
- (72) Keskin, S.; Kizilel, S. Biomedical Applications of Metal Organic Frameworks. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2011**, *50*, 1799–1812.
- (73) Taylor-Pashow. Postsynthetic Modifications of Iron -Carboxylate Nanoscale Metaorganic Frameworks for Imaging and Drug Delivery. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 14261.
- (74) Giménez-Marqués, M.; Hidalgo, T.; Serre, C.; Horcajada, P. Nanostructured Metal-Organic Frameworks and Their Bio-Related Applications. *Coord. Chem. Rev.* **2015**, *307*, 342–360.
- (75) Taylor-Pashow, K. M. L.; Della Rocca, J.; Xie, Z.; Tran, S.; Lin, W. Postsynthetic Modifications of Iron-Carboxylate Nanoscale Metal-Organic Frameworks for Imaging and Drug Delivery. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 14261–14263.
- (76) Liu, R.; Yu, T.; Shi, Z.; Wang, Z. The Preparation of Metal Organic Frameworks and Their Biomedical Application. *Int. J. Nanomedicine* **2016**, *11*, 1187.
- (77) Bellido, E.; Guillevic, M.; Hidalgo, T.; Santander-Ortega, M. J.; Serre, C.; Horcajada, P. Understanding the Colloidal Stability of the Mesoporous MIL-100(Fe) Nanoparticles in Physiological Media. *Langmuir* **2014**, *30*, 5911–5920.
- (78) Campagnol, N.; Van Assche, T.; Boudewijns, T.; Denayer, J.; Binnemans, K.; De Vos, D.; Fransaeer, J. High Pressure, High Temperature Electrochemical Synthesis of Metal-organic Frameworks: Films of MIL-100 (Fe) and HKUST-1 in Different Morphologies. *J. Mater. Chem. A* **2013**, *1*, 5827–5830.
- (79) Rezaei, M.; Abbasi, A.; Varshochian, R.; Dinarvand, R.; Jeddi-Tehrani, M. NanoMIL-100(Fe) Containing Docetaxel for Breast Cancer Therapy. *Artif. Cells, Nanomedicine Biotechnol.* **2017**, *1401*, 1–12.
- (80) Chalati, T.; Horcajada, P.; Couvreur, P.; Serre, C.; Ben Yahia, M.; Maurin, G.; Gref, R. Porous Metal Organic Framework Nanoparticles to Address the Challenges Related to Busulfan Encapsulation. *Nanomedicine* **2011**, *6*, 1683–1695.
- (81) García Márquez, A.; Demessence, A.; Platero-Prats, A. E.; Heurtaux, D.; Horcajada, P.; Serre, C.; Chang, J.-S.; Férey, G.; de la Peña-O’Shea, V. A.; Boissière, C.; *et al.* Green Microwave Synthesis of MIL-100(Al, Cr, Fe) Nanoparticles for Thin-Film Elaboration. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, *2012*, 5165–5174.
- (82) Horcajada, P.; Chalati, T.; Serre, C.; Gillet, B.; Sebrie, C.; Baati, T.; Eubank, J. F.; Heurtaux, D.; Clayette, P.; Kreuz, C.; *et al.* Porous Metal-organic-Framework Nanoscale Carriers as a Potential Platform for Drug Delivery and Imaging. *Nat. Mater.* **2010**, *9*, 172–178.
- (83) Agostoni, V.; Chalati, T.; Horcajada, P.; Willaime, H.; Anand, R.; Semiramoth, N.; Baati, T.; Hall, S.; Maurin, G.; Chacun, H.; *et al.* Towards an Improved Anti-HIV Activity of

- NRTI via Metal-Organic Frameworks Nanoparticles. *Adv. Healthc. Mater.* **2013**, *2*, 1630–1637.
- (84) Di Nunzio, M. R.; Agostoni, V.; Cohen, B.; Gref, R.; Douhal, A. A “ship in a Bottle” strategy to Load a Hydrophilic Anticancer Drug in Porous Metal Organic Framework Nanoparticles: Efficient Encapsulation, Matrix Stabilization, and Photodelivery. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 411–420.
- (85) Rojas, S.; Quartapelle-Procopio, E.; Carmona, F. J.; Romero, M. A.; Navarro, J. A. R.; Barea, E. Biophysical Characterisation, Antitumor Activity and MOF Encapsulation of a Half-Sandwich Ruthenium (II) Mitoxantrone System. *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2*, 2473–2477.
- (86) Cooper, L.; Hidalgo, T.; Gorman, M.; Lozano-Fernández, T.; Simón-Vázquez, R.; Olivier, C.; Guillou, N.; Serre, C.; Martineau, C.; Taulelle, F.; *et al.* A Biocompatible Porous Mg-Gallate Metal-organic Framework as an Antioxidant Carrier. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 5848–5851.
- (87) Singco, B.; Liu, L. H.; Chen, Y. T.; Shih, Y. H.; Huang, H. Y.; Lin, C. H. Approaches to Drug Delivery: Confinement of Aspirin in MIL-100(Fe) and Aspirin in the de Novo Synthesis of Metal-Organic Frameworks. *Microporous Mesoporous Mater.* **2016**, *223*, 254–260.
- (88) Simon-Yarza, M. T.; Baati, T.; Paci, A.; Lesueur, L. L.; Seck, A.; Chiper, M.; Gref, R.; Serre, C.; Couvreur, P.; Horcajada, P. Antineoplastic Busulfan Encapsulated in a Metal Organic Framework Nanocarrier: First in Vivo Results. *J. Mater. Chem. B* **2016**, *4*, 585–588.
- (89) Rojas, S.; Carmona, F. J.; Maldonado, C. R.; Barea, E.; Navarro, J. A. R. RAPTA-C Incorporation and Controlled Delivery from MIL-100(Fe) Nanoparticles. *New J. Chem.* **2016**, *40*, 5690–5694.
- (90) Bellido, E.; Hidalgo, T.; Lozano, M. V.; GuilleVIC, M.; Simón-Vázquez, R.; Santander-Ortega, M. J.; González-Fernández, Á.; Serre, C.; Alonso, M. J.; Horcajada, P. Heparin-Engineered Mesoporous Iron Metal-Organic Framework Nanoparticles: Toward Stealth Drug Nanocarriers. *Adv. Healthc. Mater.* **2015**, *4*, 1246–1257.
- (91) Dhakshinamoorthy, A.; Alvaro, M.; Horcajada, P.; Gibson, E.; Vishnuvarthan, M.; Vimont, A.; Grenèche, J. M.; Serre, C.; Daturi, M.; Garcia, H. Comparison of Porous Iron Trimesates Basolite F300 and MIL-100(Fe) as Heterogeneous Catalysts for Lewis Acid and Oxidation Reactions: Roles of Structural Defects and Stability. *ACS Catal.* **2012**, *2*, 2060–2065.
- (92) Gascón, V.; Castro-Miguel, E.; Díaz-García, M.; Blanco, R. M.; Sanchez-Sanchez, M. In Situ and Post-Synthesis Immobilization of Enzymes on Nanocrystalline MOF Platforms to Yield Active Biocatalysts. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2017**, *92*, 2583–2593.



- (93) Alver, E.; Bulut, M.; Metin, A. Ü.; Çiftçi, H. One Step Effective Removal of Congo Red in Chitosan Nanoparticles by Encapsulation. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2017**, *171*, 132–138.
- (94) Frid, P.; Anisimov, S. V.; Popovic, N. Congo Red and Protein Aggregation in Neurodegenerative Diseases. *Brain Res. Rev.* **2007**, *53*, 135–160.
- (95) Agrawal, N.; Pallos, J.; Slepko, N.; Apostol, B. L.; Bodai, L.; Chang, L.-W.; Chiang, A.-S.; Thompson, L. M.; Marsh, J. L. Identification of Combinatorial Drug Regimens for Treatment of Huntington's Disease Using *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2005**, *102*, 3777–3781.
- (96) Ortiz-Vilchis, P.; Ortiz-Flores, M.; Pacheco, M.; Ramirez-Sanchez, I.; Moreno-Ulloa, A.; Vega, L.; Ortiz, A.; Villarreal, F.; Rubio-Gayosso, I.; Najera, N.; *et al.* The Cardioprotective Effects of (-)-Epicatechin Are Mediated through Arginase Activity Inhibition in a Murine Model of Ischemia/reperfusion. *Eur. J. Pharmacol.* **2018**, *818*, 335–342.
- (97) Kim, A. R.; Kim, K. M.; Byun, M. R.; Hwang, J. H.; Park, J. Il; Oh, H. T.; Kim, H. K.; Jeong, M. G.; Hwang, E. S.; Hong, J. H. Catechins Activate Muscle Stem Cells by Myf5 Induction and Stimulate Muscle Regeneration. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2017**, *489*, 142–148.
- (98) Chetia, M.; Das, R. Effect of (-)-Epicatechin, a Flavonoid on the NO and NOS Activity of *Raillietina Echinobothrida*. *Acta Trop.* **2018**, *178*, 311–317.
- (99) Borges, G.; Ottaviani, J. I.; van der Hoof, J. J. J.; Schroeter, H.; Crozier, A. Absorption, Metabolism, Distribution and Excretion of (-)-Epicatechin: A Review of Recent Findings. *Mol. Aspects Med.* **2017**, *In press*, 1–13.
- (100) Ayan, A. K.; Yenilmez, A.; Eroglu, H. Evaluation of Radiolabeled Curcumin-Loaded Solid Lipid Nanoparticles Usage as an Imaging Agent in Liver-Spleen Scintigraphy. *Mater. Sci. Eng. C* **2017**, *75*, 663–670.
- (101) Li, L. M.; Li, J.; Zhang, X. Y. Antimicrobial and Molecular Interaction Studies on Derivatives of Curcumin against *Streptococcus Pneumoniae* Which Caused Pneumonia. *Electron. J. Biotechnol.* **2016**, *19*, 8–14.
- (102) Tueller, D. J.; Harley, J. S.; Hancock, C. R. Effects of Curcumin and Ursolic Acid on the Mitochondrial Coupling Efficiency and Hydrogen Peroxide Emission of Intact Skeletal Myoblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2017**, *492*, 368–372.
- (103) Fan, Y.; Yi, J.; Zhang, Y.; Yokoyama, W. Fabrication of Curcumin-Loaded Bovine Serum Albumin (BSA)-Dextran Nanoparticles and the Cellular Antioxidant Activity. *Food Chem.* **2018**, *239*, 1210–1218.
- (104) Pröhl, M.; S. Schubert, U.; Weigand, W.; Gottschaldt, M. Metal Complexes of Curcumin

- and Curcumin Derivatives for Molecular Imaging and Anticancer Therapy. *Coord. Chem. Rev.* **2016**, *307*, 32–41.
- (105) Barthelemy, S.; Vergnes, L.; Moynier, M.; Guyot, D.; Labidalle, S.; Bahraoui, E. Curcumin and Curcumin Derivatives Inhibit Tat-Mediated Transactivation of Type 1 Human Immunodeficiency Virus Long Terminal Repeat. *Res. Virol.* **1998**, *149*, 43–52.
- (106) Yamazaki, K. G.; Andreyev, A. Y.; Ortiz-Vilchis, P.; Petrosyan, S.; Divakaruni, A. S.; Wiley, S. E.; De La Fuente, C.; Perkins, G.; Ceballos, G.; Villarreal, F.; *et al.* Intravenous (-)-Epicatechin Reduces Myocardial Ischemic Injury by Protecting Mitochondrial Function. *Int. J. Cardiol.* **2014**, *175*, 297–306.
- (107) Oetari, S.; Sudibyo, M.; Commandeur, J. N. M.; Samhoedi, R.; Vermeulen, N. P. E. Effects of Curcumin on Cytochrome P450 and Glutathione S-Transferase Activities in Rat Liver. *Biochem. Pharmacol.* **1996**, *51*, 39–45.
- (108) Anand, P.; Kunnumakkara, A. B.; Newman, R. A.; Aggarwal, B. B. Bioavailability of Curcumin: Problems and Promises. *Mol. Pharm.* **2007**, *4*, 807–818.
- (109) Li, M.; Cui, J.; Ngadi, M. O.; Ma, Y. Absorption Mechanism of Whey-Protein-Delivered Curcumin Using Caco-2 Cell Monolayers. *Food Chem.* **2015**, *180*, 48–54.
- (110) Riesberg, L. A.; Weed, S. A.; McDonald, T. L.; Eckerson, J. M.; Drescher, K. M. Beyond Muscles: The Untapped Potential of Creatine. *Int. Immunopharmacol.* **2016**, *37*, 31–42.
- (111) Ramírez-Campillo, R.; González-Jurado, J. A.; Martínez, C.; Nakamura, F. Y.; Peñailillo, L.; Meylan, C. M. P.; Caniuqueo, A.; Cañas-Jamet, R.; Moran, J.; Alonso-Martínez, A. M.; *et al.* Effects of Plyometric Training and Creatine Supplementation on Maximal-Intensity Exercise and Endurance in Female Soccer Players. *J. Sci. Med. Sport* **2016**, *19*, 682–687.
- (112) Yanokura, M.; Sawai, Y.; Tsukada, K. S-adenosyl-L-[Methyl-αH]methionine. *Biochim. Biophys. Acta* **1984**, *797*, 94–98.
- (113) Rae, C. D.; Bröer, S. Creatine as a Booster for Human Brain Function. How Might It Work? *Neurochem. Int.* **2015**, *89*, 249–259.
- (114) Miny, K.; Burrowes, J.; Jidovtseff, B. Interest of Creatine Supplementation in Soccer. *Sci. Sports* **2017**, *32*, 61–72.
- (115) Gascón, V.; Carucci, C.; Jiménez, M. B.; Blanco, R. M.; Sánchez-Sánchez, M.; Magner, E. Rapid In Situ Immobilization of Enzymes in Metal–Organic Framework Supports under Mild Conditions. *ChemCatChem.* **2017**, *9*, 1182–1186.
- (116) Yu, S.; Wan, J.; Chen, K. A Facile Synthesis of Superparamagnetic Fe₃O₄ supraparticles@MIL-100(Fe) Core-Shell Nanostructures: Preparation, Characterization and Biocompatibility. *J. Colloid Interface Sci.* **2016**, *461*, 173–178.



- (117) Simon-Yarza, T.; Baati, T.; Neffati, F.; Njim, L.; Couvreur, P.; Serre, C.; Gref, R.; Najjar, M. F.; Zakhama, A.; Horcajada, P. In Vivo Behavior of MIL-100 Nanoparticles at Early Times after Intravenous Administration. *Int. J. Pharm.* **2016**, *511*, 1042–1047.
- (118) Canioni, R.; Roch-Marchal, C.; Sécheresse, F.; Horcajada, P.; Serre, C.; Hardi-Dan, M.; Férey, G.; Grenèche, J.-M.; Lefebvre, F.; Chang, J.-S.; *et al.* Stable Polyoxometalate Insertion within the Mesoporous Metal Organic Framework MIL-100(Fe). *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 1226–1233.
- (119) Asfaram, A.; Ghaedi, M.; Ghezelbash, G. R.; Pepe, F. Application of Experimental Design and Derivative Spectrophotometry Methods in Optimization and Analysis of Biosorption of Binary Mixtures of Basic Dyes from Aqueous Solutions. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2017**, *139*, 219–227.
- (120) Umamaheswari, C.; Lakshmanan, A.; Nagarajan, N. S. Green Synthesis, Characterization and Catalytic Degradation Studies of Gold Nanoparticles against Congo Red and Methyl Orange. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **2018**, *178*, 33–39.
- (121) Wang, L.; Wang, A. Adsorption Properties of Congo Red from Aqueous Solution onto Surfactant-Modified Montmorillonite. *J. Hazard. Mater.* **2008**, *160*, 173–180.
- (122) Matsuyama, K.; Hayashi, N.; Yokomizo, M.; Kato, T.; Ohara, K.; Okuyama, T. Supercritical Carbon Dioxide-Assisted Drug Loading and Release from Biocompatible Porous Metal–organic Frameworks. *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2*, 7551–7558.
- (123) Acevedo-Chávez, R.; Costas, M. E.; Escudero, R. Allopurinol - and Hypoxanthine-Copper(II) Compounds. Spectral and Magnetic Studies of Novel Dinuclear Coordination Compounds with Bridging Hypoxanthine. *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 7430–7439.
- (124) Yoon, J. W.; Seo, Y. K.; Hwang, Y. K.; Chang, J. S.; Leclerc, H.; Wuttke, S.; Bazin, P.; Vimont, A.; Daturi, M.; Bloch, E.; *et al.* Controlled Reducibility of a Metal-Organic Framework with Coordinatively Unsaturated Sites for Preferential Gas Sorption. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2010**, *49*, 5949–5952.
- (125) Zhang, C.-F.; Qiu, L.-G.; Ke, F.; Zhu, Y.-J.; Yuan, Y.-P.; Xu, G.-S.; Jiang, X. A Novel Magnetic Recyclable Photocatalyst Based on a Core–shell Metal–organic Framework Fe₃O₄@MIL-100(Fe) for the Decolorization of Methylene Blue Dye. *J. Mater. Chem. A* **2013**, *1*, 14329.
- (126) Haque, E.; Jun, J. W.; Jhung, S. H. Adsorptive Removal of Methyl Orange and Methylene Blue from Aqueous Solution with a Metal-Organic Framework Material, Iron Terephthalate (MOF-235). *J. Hazard. Mater.* **2011**, *185*, 507–511.
- (127) Huo, S.-H.; Yan, X.-P. Metal–organic Framework MIL-100(Fe) for the Adsorption of Malachite Green from Aqueous Solution. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 7449.

- (128) Jia, Y.; Jin, Q.; Li, Y.; Sun, Y.; Huo, J.; Zhao, X. Investigation of the Adsorption Behaviour of Different Types of Dyes on MIL-100(Fe) and Their Removal from Natural Water. *Anal. Methods* **2015**, *7*, 1463–1470.
- (129) Mayoral, A.; Mahugo, R.; Sánchez-Sánchez, M.; Díaz, I. Cs-Corrected STEM Imaging of Both Pure and Silver-Supported Metal-Organic Framework MIL-100(Fe). *ChemCatChem* **2017**, *9*, 3497–3502.
- (130) Tiwari, A.; Singh, A.; Garg, N.; Randhawa, J. K. Curcumin Encapsulated Zeolitic Imidazolate Frameworks as Stimuli Responsive Drug Delivery System and Their Interaction with Biomimetic Environment. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 12598.
- (131) González-Albadalejo, J.; Sanz, D.; Claramunt, R.; Lavandera, J.-L.; Alkorta, I.; Elguero, J. Curcumin and Curcuminoids: Chemistry, Structural Studies and Biological Properties. *An Real Acad. Farm.* **2015**, *81*, 278–310.
- (132) Abbas, O.; Compère, G.; Larondelle, Y.; Pompeu, D.; Rogez, H.; Baeten, V. Phenolic Compound Explorer: A Mid-Infrared Spectroscopy Database. *Vib. Spectrosc.* **2017**, *92*, 111–118.
- (133) Ikram, F.; Qayoom, A.; Shah, M. R. Synthesis of Epicatechin Coated Silver Nanoparticles for Selective Recognition of Gentamicin. *Sensors Actuators, B Chem.* **2018**, *257*, 897–905.
- (134) Junior, M. B. Espectros Infravermelhos Da Creatina Infrared. *Rev. Univap.* **2011**, *17*, 145–156.
- (135) Debnath, A.; Thapa, R.; Chattopadhyay, K. K.; Saha, B. Spectroscopic Studies on Interaction of Congo Red with Ferric Chloride in Aqueous Medium for Wastewater Treatment. *Sep. Sci. Technol.* **2015**, *50*, 1684–1688.
- (136) Khalil, M. I.; Al-Zahem, A. M.; Al-Qunaibit, M. H. Synthesis, Characterization, Mössbauer Parameters, and Antitumor Activity of Fe(III) Curcumin Complex. *Bioinorg. Chem. Appl.* **2013**, *2013*, 982423.
- (137) Freshney, R. I. Defined Media and Supplements. In *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications*; John Wiley & Sons, I., Ed.; 2005; p. 579.
- (138) Alwan, R.; Bruel, A.-L.; Da Silva, A.; Blanquet, V.; Bouhouche, K. An siRNA-Based Screen in C2C12 Myoblasts Identifies Novel Genes Involved in Myogenic Differentiation. *Exp. Cell Res.* **2017**, *359*, 145–153.
- (139) Scherer, W. F.; Syverton, J. T.; Gey, G. O. Studies on the Propagation in Vitro of Poliomyelitis Viruses. IV. Viral Multiplication in a Stable Strain of Human Malignant Epithelial Cells (Strain HeLa) Derived from an Epidermoid Carcinoma of the Cervix. *J. Exp. Med.* **1953**, *97*, 695–710.



-
- (140) Condes, R. M. C. Las. *Revista Médica Clínica Las Condes. Rev. Médica Clínica Las Condes* **2013**, *24*, 726–729.
- (141) Stockert, J. C.; Blázquez-Castro, A.; Cañete, M.; Horobin, R. W.; Villanueva, Á. MTT Assay for Cell Viability: Intracellular Localization of the Formazan Product Is in Lipid Droplets. *Acta Histochem.* **2012**, *114*, 785–796.
- (142) Mosmann, T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *J. Immunol. Methods* **1983**, *65*, 55–63.

12. Apéndice

12.1 Curvas de calibración

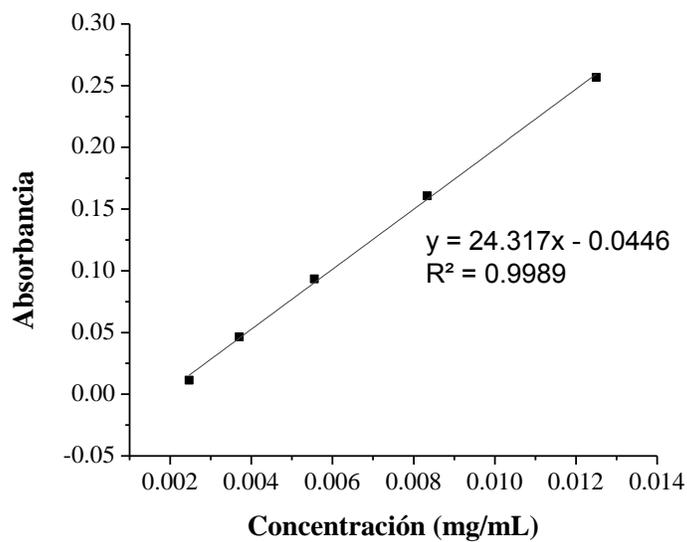


Figura 77. Curva de calibración rojo Congo.

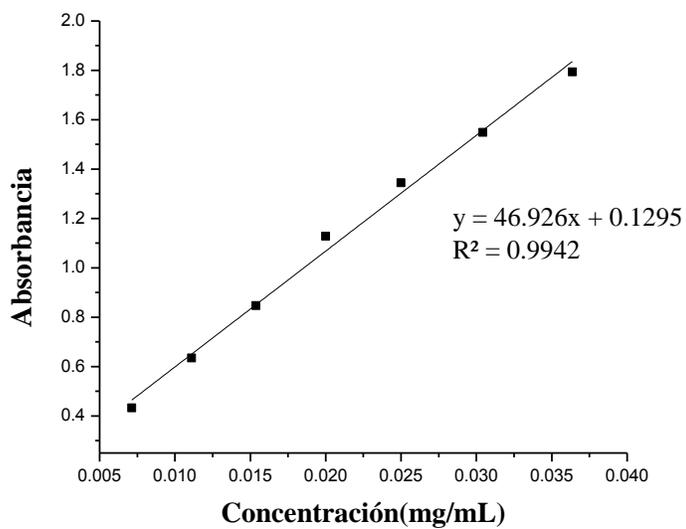


Figura 78. Curva de calibración curcumina.

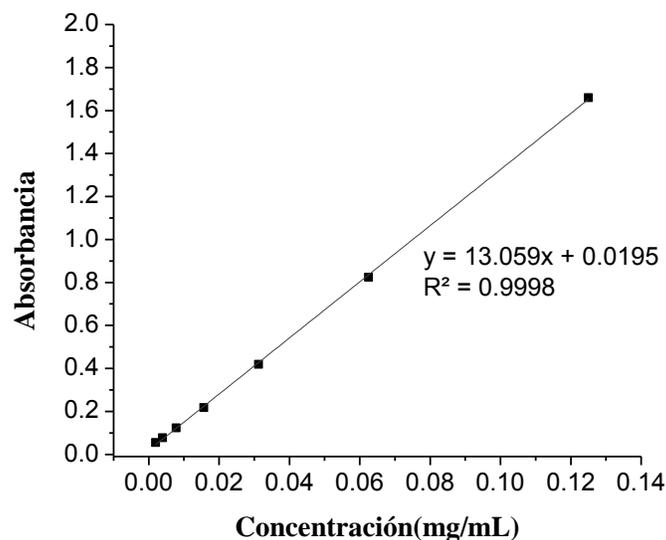


Figura 79. Curva de calibración Epicatequina.

12.2 Estabilidad de la MOF MIL-100(Fe)

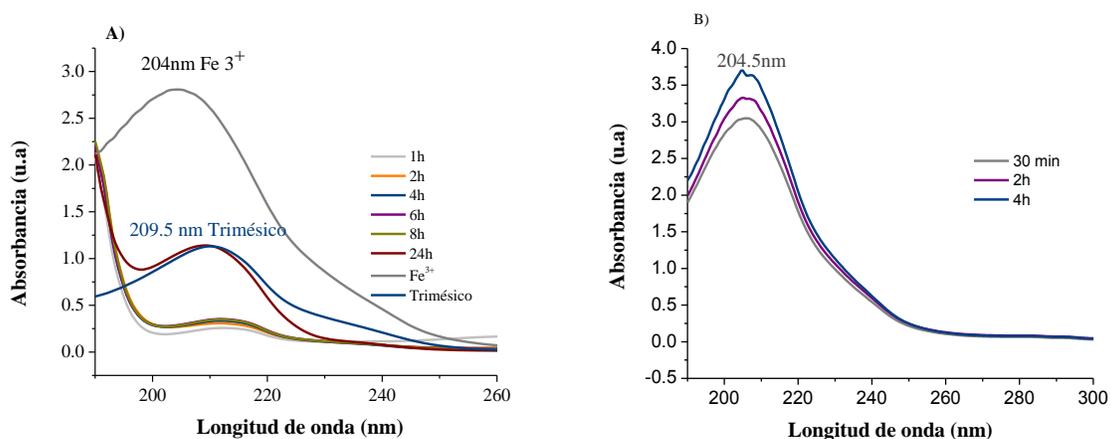


Figura 80. Estabilidad de la MOF MIL-100 (Fe) en agua a temperatura ambiente- A) Método solvotermal, B) Método sustentable a temperatura ambiente. La estabilidad fue seguida a través de la absorción del ion BTC^{3-} en la solución que indicaría destrucción parcial de la estructura.

12.3 Microscopia electrónica de barrido

De manera general la MOF MIL-100(Fe) preparada por el método hidrotérmal presenta un hábito de partículas octaédricas. El material de referencia MIL-100(Fe) preparado por el método sustentable a temperatura ambiente en este trabajo también presenta tal morfología con tamaños superiores a $1\ \mu\text{m}$ (Figura 81).

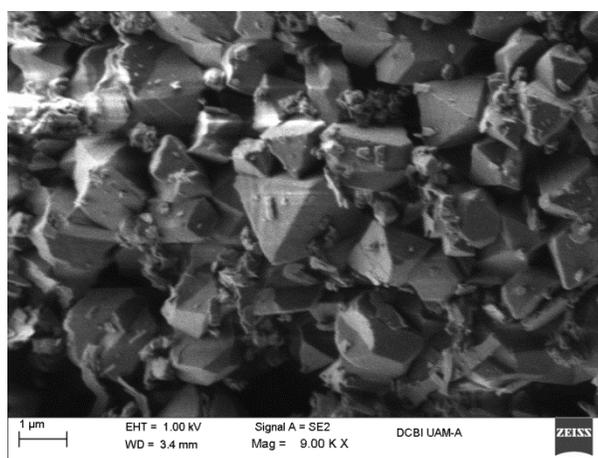


Figura 81. Micrografía MEB de la MOF MIL-100(Fe).

En el caso del sistema de encapsulación de rojo Congo, aun se puede observar la morfología típica octaédrica de esta MOF (Figura 82).

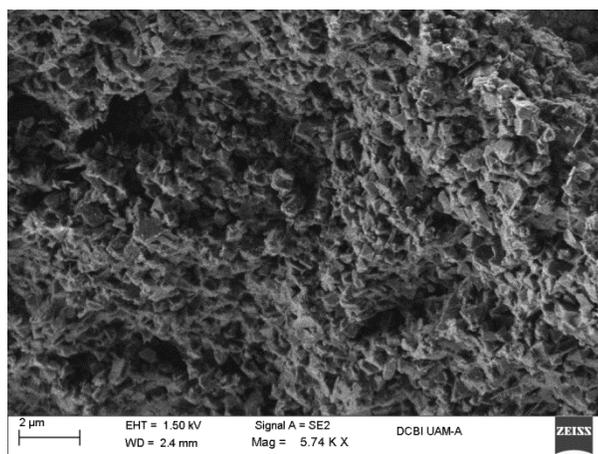


Figura 82. Micrografía MEB del sistema 200RC@MIL-100.

Sin embargo, en el caso de la encapsulación de la curcumina, la morfología octaédrica ya no fue observada (Figura 83), sólo se observan grandes aglomerados de partículas sin forma definida.

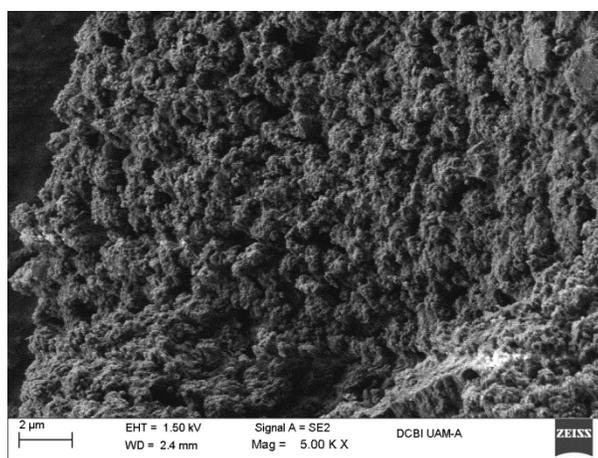


Figura 83. Micrografía MEB del sistema 200CMN@MIL-100.

Para el caso de la encapsulación de la epicatequina, el hábito octaédrico típico de la MIL-100(Fe) fue retenido y el tamaño de las partículas es superior a 2 µm.

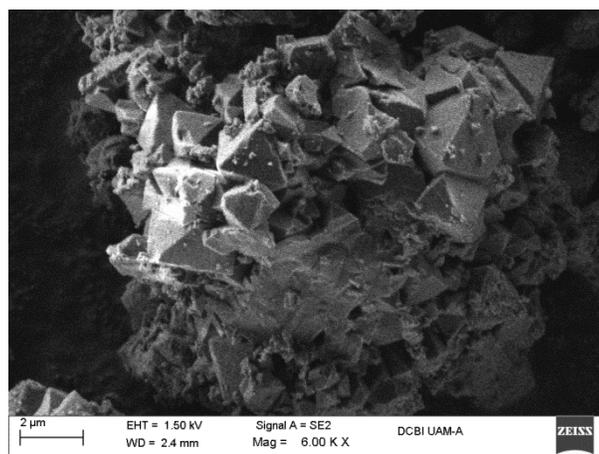


Figura 84. Micrografía MEB del sistema 200EP@MIL-100.

En resumen, la microestructura de los materiales híbridos preparados en este trabajo no se ve afectada por la encapsulación, observándose aglomerados de partículas octaédricas.

12.4 Microscopía electrónica de transmisión

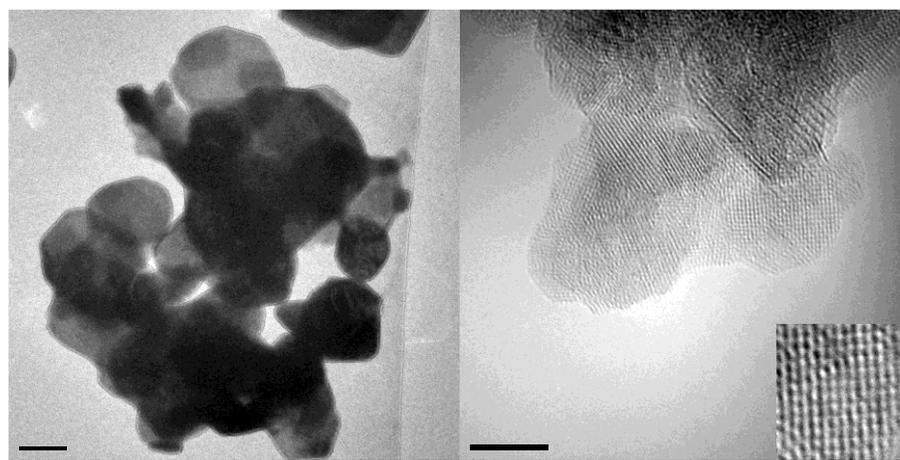


Figura 85. Micrografías MET del sistema MIL-100(Fe) 24h de síntesis.

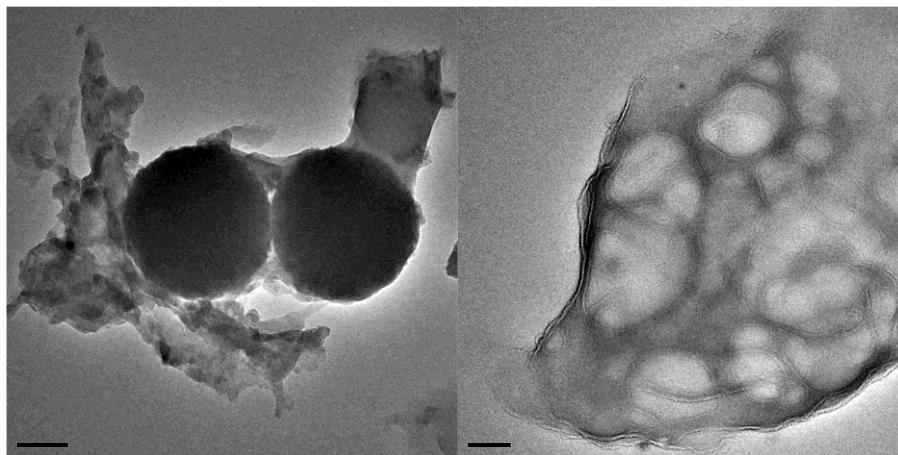


Figura 86. Micrografías MET del sistema MIL-100(Fe) 1h de síntesis.

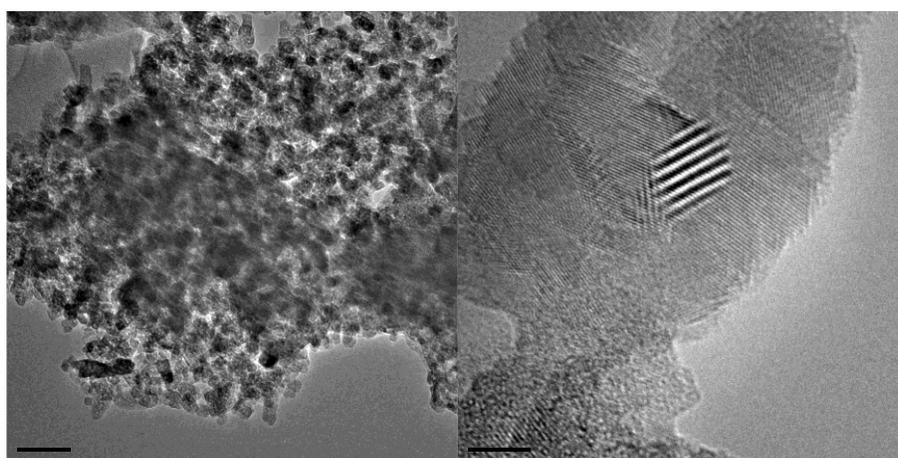


Figura 87. Micrografías MET del sistema 200RC@MIL-100

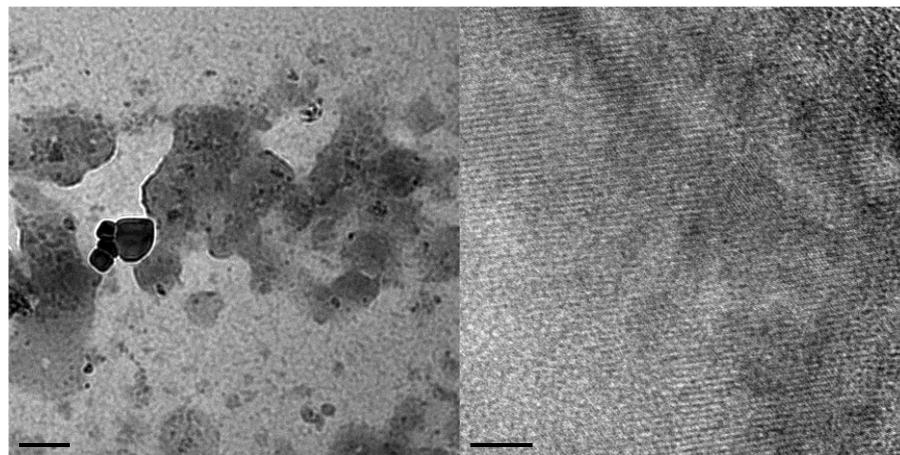


Figura 88. Micrografías MET del sistema 200CMN@MIL-100.

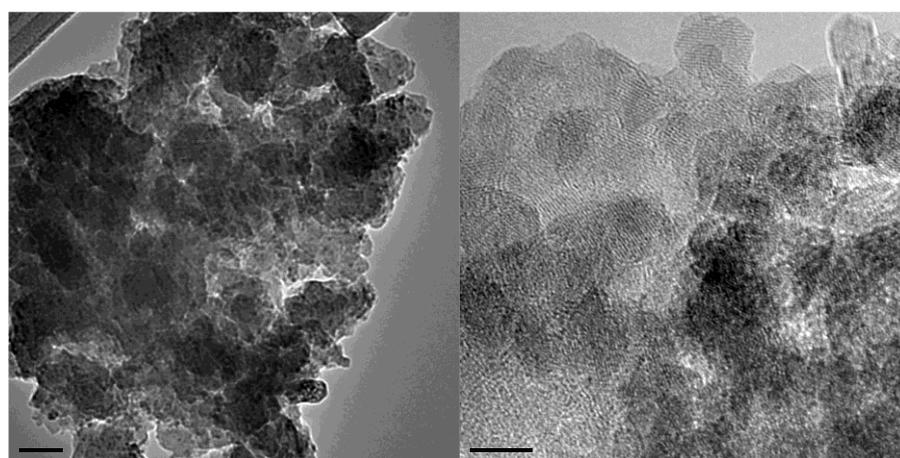


Figura 89. Micrografías MET del sistema 200EP@MIL-100.