

Síntesis y estudio de la red metal-orgánica *MOF* *ZIF-8* para el transporte de fármacos.

RAMÍREZ ORTEGA, DAVID; JIMÉNEZ CAMUS, MARIANO; URBINA GONZÁLEZ, HÉCTOR MANUEL; CHÁVEZ MIYAUCHI, TOMÁS EDUARDO; BENITEZ RICO, ADRIANA

Resumen— Las redes metal-orgánicas (MOF's por sus siglas en inglés) son compuestos que poseen gran área superficial que se aprovecha para adsorber o absorber otras moléculas. Estudios recientes muestran que el MOF llamado ZIF-8 tiene potencial aplicación en transporte de fármacos [6]. El ZIF-8 (zeolitic imidazolate framework-8) presenta una estructura conformada por nano-esferas que actúan como encapsulante de moléculas pequeñas que se absorben individualmente. Mostrando una absorción para moléculas con actividad biológica. La propuesta de este proyecto experimental es realizar la síntesis por la técnica en un recipiente (one-pot synthesis) de ZIF-8 y probar su eficiencia para acarrear moléculas con actividad biológica como fluoresceína, PZQ y una modificación estructural PZQ-Aceto. Mostrando una efectiva absorción de estas moléculas demostrando la versatilidad de estas nano-esferas de ZIF-8 mediante la introducción de diferentes moléculas con grupos funcionales distintos a su estructura. Esta investigación aporta resultados sobre encapsulamiento de moléculas bioactivas y sugiere que se puede probar en liberación y metabolización de fármacos.

I. INTRODUCCIÓN

Las redes metal-orgánicas (Metal-Organic Frameworks MOF) son compuestos que consisten en iones metálicos o cúmulos coordinados a ligandos orgánicos que forman estructuras de una, dos o tres dimensiones. Los MOF se consideran una subclase de grupos de polímeros con estructuras reticulares. Hay más de 20,000 diferentes MOF reportados en la última década, y sus propiedades varían debido a la naturaleza de los iones metálicos o estructura y ligandos utilizados [4].

Los ligandos más usados o unidades orgánicas son carboxilatos orgánicos ditópicos o politópicos (y otras moléculas cargadas negativamente similares), que, cuando se unen a unidades que contienen metales con capacidad de coordinación, producen estructuras cristalinas MOF robustas arquitectónicamente, con una porosidad típica de más del 50% del volumen de cristal MOF. Los valores del área superficial de dichos MOF típicamente varían de 1000 a 10,000 m² / g, excediendo así los de materiales porosos tradicionales tales como zeolitas y carbón activado [4]. Hasta la fecha, los MOF con porosidad permanente son más extensos en su variedad y

multiplicidad que cualquier otra clase de materiales porosos. Generalmente, la aplicación de estas redes metal-orgánicas es para absorción o adsorción de diferentes gases, como metano, dióxido de carbono e hidrógeno entre otros más. Aprovechando su gran área de contacto son también utilizados para catálisis, y como sensores o indicadores de gases y componentes dispersos en solución y otros medios disueltos [4].

Estudios recientes identifican el uso de MOF para aplicaciones médicas como el transporte de fármacos. Las moléculas objetivo se pueden almacenar, transportar y administrar de una manera específica y controlada en ubicaciones precisas sin modificar o interrumpir el propósito o la función de las moléculas bioactivas. Los informes muestran que el uso de MOF puede superar los obstáculos que presenta una administración directa del fármaco; estabilizar el fármaco mediante encapsulación o fijación superficial, facilita la absorción a través de la pared celular, poder dirigir la administración a una población celular específica y proporcionar la liberación controlada del fármaco objetivo a la zona designada específica [3]. Los sistemas de administración de fármacos basados en sustancias orgánicas (drug delivery systems "DDS"), incluidos los sistemas compuestos de lípidos y polímeros, están aprobados para uso clínico [1]. El uso de nanomateriales inorgánicos como MOF en la investigación biológica representa una de las áreas de mayor crecimiento en investigación. Algunos ejemplos del uso efectivo de los MOF en los DDS con viabilidad informada son ZIF-6 en la administración y el transporte de fármacos contra el cáncer, como también los MOF MIL-100 y MIL-101 logrando la absorción de ibuprofeno y los MOF ZJU-101, MOF-74-FE (III) y Bio-MOF-1 probados para cargar diclofenaco y administrarlo a áreas inflamadas del cuerpo en específicas [2], [3].

II. OBJETIVO

- Evaluar la eficiencia y viabilidad de encapsulamiento de fármacos en la red metal-orgánica ZIF-8 a partir de métodos gravimétricos y espectrofotometría UV-Vis.
- Evaluar el efecto de los grupos funcionales y el medio en la eficiencia de producción de material.

RAMÍREZ ORTEGA, DAVID; JIMÉNEZ CAMUS, MARIANO; URBINA GONZÁLEZ, HÉCTOR MANUEL; pertenecen a la carrera INGENIERÍA QUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD LA SALLE CIUDAD DE MÉXICO, UNIDAD CONDESA (Email: davram95@gmail.com).

El proyecto fue asesorado por DR. TOMÁS EDUARDO CHAVEZ MIYAUCHI (tomas.chaves@ulsa.mx) y la Dra. Adriana Benítez Rico (adriana.benitez@lasallistas.org.mx) del GIDI de Ingeniería de Proyectos y Nuevos Materiales.

III. METODOLOGÍA

Se sintetizó un marco molecular de zinc-2-metilimidazol (ZIF-8) para encapsular moléculas bioactivas [6].; el ZIF-8 es una molécula no tóxica construida a partir de una sal de zinc y 2-metilimidazol como ligando orgánico. Este MOF tiene poros de 3.4 Å de diámetro y una cavidad de 11.6 Å de diámetro, tal y como se aprecia en la Figura 1. El material es estable bajo condiciones fisiológicas que le da el potencial de ser un almacenamiento efectivo para moléculas bioactivas [3] y poca estabilidad en medios ácidos.

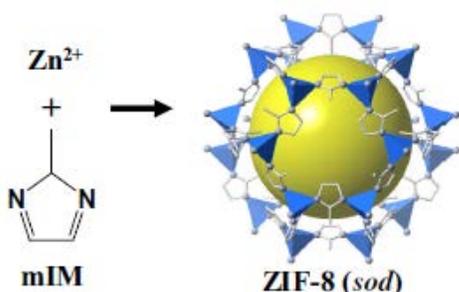


Figura (1) Estructura documentada del ZIF-8 y la cavidad que se genera de la nano-esfera [15]

Las moléculas Bioactivas fueron proporcionadas por el "Grupo de Investigación de Síntesis de Moléculas Bioactivas" de la Universidad La Salle México. Las moléculas comprenden una familia de derivados de Pirazino[2,3-b]quinolin-10(5H)-ona (PZQ) con diferentes grupos funcionales, los cuales se utilizaron la base principal PZQ y una variación estructural de la misma con el grupo funcional Acetato (Tabla 1). Se usó fluoresceína como referencia y como comparación para los demás medicamentos ya que se usa generalmente como un imitador de moléculas bioactivas que se probaron.

Fármaco	Molécula
PZQ	
Aceto	
Fluoresceína	

Tabla (1) Estructura molecular de los fármacos utilizados en los estudios de encapsulación de ZIF-8.

Se utilizó nitrato de zinc hexahidratado ($Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$) como precursor del centro metálico y 2-metilimidazol como ligante. Para el proceso de encapsulación se realiza la síntesis de un solo recipiente (one-pot síntesis) [4]. Este método de síntesis consiste en mezclar en disoluciones metanólicas la molécula bioactiva (concentración de 160 ppm) con 2-metilimidazol (98 ppm) y la disolución de $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ con una relación metal-ligante 1:30 respectivamente. La mezcla de reacción se agita durante 30 minutos, posteriormente se deja reposar durante 30 minutos para finalmente centrifugar a 2000 RPM durante 10 minutos para decantar los sobrenadantes y separar los sólidos generados por la reacción. El material se lava con agua destilada en tres ciclos consecutivos y se seca en el horno a 50 ° C para obtener y recuperar el sólido seco.

La eficiencia de la encapsulación se determinó midiendo la concentración de moléculas bioactivas en el sobrenadante de las mezclas de reacción usando espectrofotometría UV-Vis.

Para dicho fin se realizaron curvas de calibración utilizando los componentes a encapsular puros (fluoresceína, PZQ y PZQ-Aceto) tomando como referencia las diluciones originales utilizadas para llevar a cabo la síntesis de los agregados.

La eficiencia de encapsulamiento se conoce realizando una regresión de la absorbancia del sobrenadante para obtener la concentración del componente remanente y comparándolo con la concentración inicial del compuesto de acuerdo con la Ecuación 1.

$$\% \text{eff} = \frac{C_0 - C_{res}}{C_0} \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

Donde C_0 corresponde a la concentración inicial de componente y C_{res} la concentración remanente en el sobrenadante.

IV. RESULTADOS

Las curvas de calibración se obtuvieron en el rango visible. Al comparar con los sobrenadantes de las soluciones de reacción, se encontró que existía un aumento en la absorbancia en lugar de una disminución, asimismo, el color de las soluciones presentaba un color diferente al del reactivo sólo.

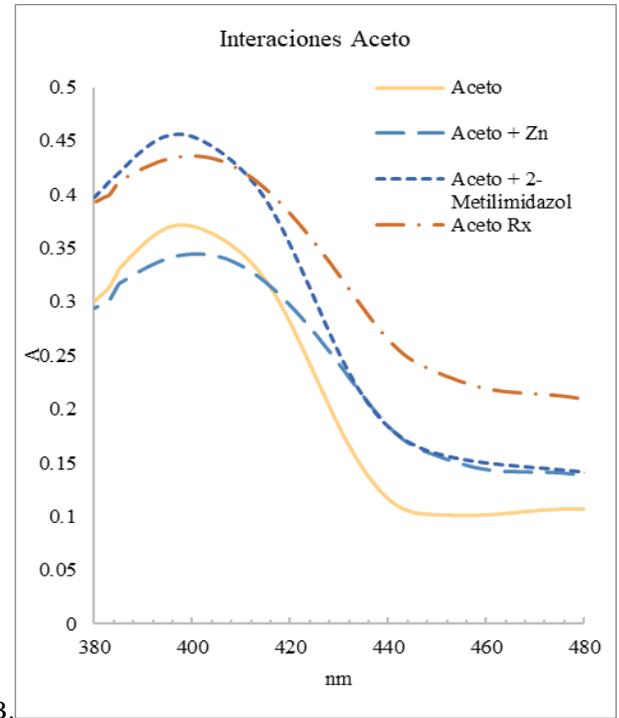
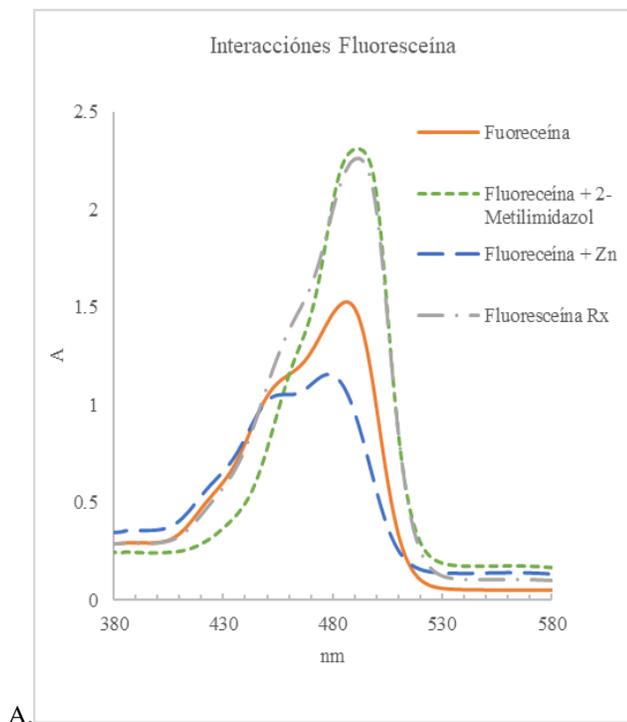
Se obtuvieron los espectros de absorción en el rango visible de las materias primas, así como de la mezcla de las mismas, con cada componente de la reacción (2-metilimidazol y nitrato de zinc hexahidratado) y se realizó una comparación con los espectros de los sobrenadantes de la reacción. La comparación de espectros puede observarse en las Figuras 3-A, 3-B y 3-C

Al realizar las síntesis en los tres diferentes solventes, que fueron metanol, agua y mezcla metanol agua se identifica una diferencia de rendimiento al obtener el MOF ZIF-8 dependiente del solvente, la cual aumenta la formación de sólido en la solución de agua y se reduce en solución de metanol, formándose en la solución de alcohol solo un 22% del que se forma en la solución acuosa, mientras que la solución 3:2 metanol agua se forma un 80% del que se forma en solución acuosa, eso indica que el equilibrio de disolución en los 3 solventes afecta la formación y precipitación del MOF ZIF-8, reduciendo el rendimiento en soluciones alcohólicas y aumentando en soluciones acuosas.

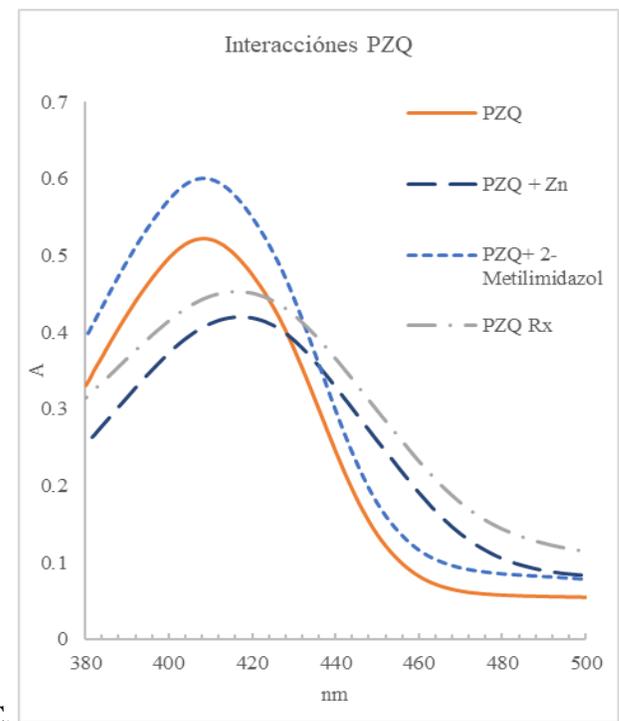
Solvente	Sólido producido total (mg)
Metanol	8.15
Agua	37.85
Metanol Agua 3:2	30.65

Tabla 2. Pesos obtenidos de los sólidos sintetizados en la reacción con 1.48 g de $(\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O})$ y 0.05 g de 2-metilimidazol como mezcla de reacción.

Figura (2) A: Estructura del Zinc, B:2-metilimidazol, C: fluoresceína; D:MOF ZIF-8 con fluoresceína encapsulada [4].



B.



C.

Figura 3. Espectros en rango visible de moléculas bio-activas y sus interacciones con los reactivos de la reacción

Como se puede observar, existen interacciones entre las moléculas bioactivas y los reactivos de la reacción, esto en términos de la forma de las señales, así como de la intensidad de estas. Los corrimientos en frecuencia se encuentran hasta en rangos de 10 nm y la intensidad hasta 15 y 20% con respecto a la original.

De acuerdo con reportes previos, la molécula bioactiva no entra en contacto con el MOF ni con los componentes reactivos. Éstas pruebas indican que sí existe tal interacción y es muy probable que dichas moléculas se encuentran adsorbidas a las estructuras no solamente por dentro de las nano-cápsulas, sino también por el exterior lo cual brinda diferentes grados de biodisponibilidad de los medicamentos.

La síntesis del MOF se lleva a cabo por 5 minutos, al inicio hay una disolución total que cambia a una estructura coloidal, indicando la formación de un sólido fino en suspensión, esta mezcla se somete a centrifugación obteniendo un polvo blanco muy fino y que fácilmente se dispersa, no se presentan cúmulos grandes ni monocristales mediante una observación al microscopio. El polvo adquiere la tonalidad del fármaco que se desea encapsular, indicando ya hay procesos de absorción o adsorción de la molécula, esta coloración se reduce en intensidad, pero se mantiene después de los ciclos de lavado

La cuantificación y evaluación de la eficiencia de encapsulamiento se llevó a cabo generando una curva de calibración con el sistema de interacción observado en el sobrenadante de la síntesis del MOF correspondiente, tomando como prioridad la longitud de onda máxima, y en segundo lugar la mayor absorción. En la Figura 4, se pueden apreciar las curvas de calibración utilizadas para la cuantificación.

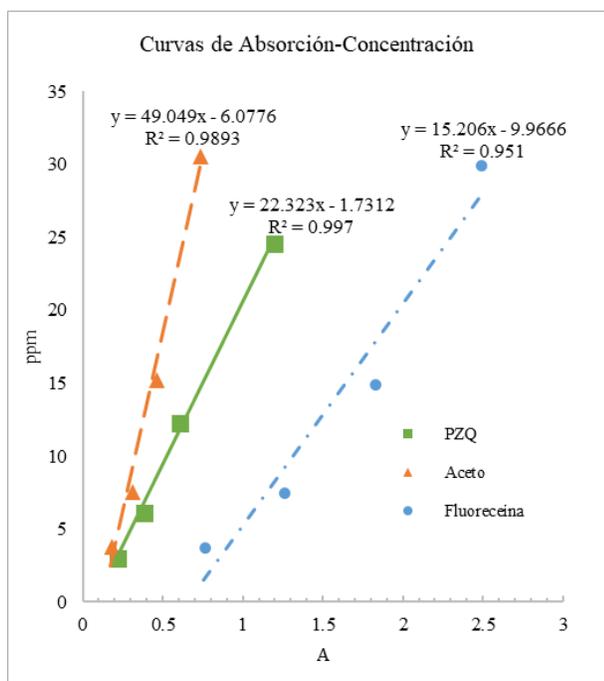


Figura 4. Curvas de calibración de la absorción UV-Vis contra la concentración fluoresceína, PZQ y Aceto.

Considerando las curvas de calibración, se calcularon las eficiencias de encapsulamiento, los resultados se muestran en la Tabla 2.

Muestra	% de Eficiencia de Encapsulamiento
Fluoresceína	79.85-74.09
PZQ	57.01
Aceto	39.96

Tabla 3. Porcentaje de eficiencia de encapsulamiento en MOF para cada molécula bioactiva

VI. RESULTADOS

Se observa que las moléculas bioactivas son atrapadas por redes de ZIF-8 y se determinó cuantitativamente el porcentaje de encapsulamiento siendo fluoresceína > PZQ > PZQ-aceto.

El rendimiento de la reacción de síntesis del MOF ZIF-8 es afectada por la solubilidad en el solvente, por lo que es importante tomar en cuenta el solvente que se usara en cada una de las materias primas para hacer más efectiva la reacción.

El arrastre de las moléculas (registrado aquí como % de eficiencia de encapsulamiento) registra valores prometedores para lograr dicho transporte.

Los resultados prueban que el mecanismo de incorporación de fármacos en ZIF-8 se lleva a cabo *in-situ*, en moléculas con diferencias estructurales.

Los resultados de UV-Vis muestran que aparecen interacciones entre las moléculas bioactivas y los reactivos de la síntesis, actualmente se determina si las moléculas se encuentran dentro de las cavidades o bien por fuera de las estructuras.

Los resultados de este trabajo abren la posibilidad de probar ZIF- 8 con PZQ y PZQ-Aceto en ensayos de liberación de fármacos, farmacocinética y pruebas citotóxicas.

La citotoxicidad de ZIF-8 reportada es moderada y comparable a otras moléculas orgánicas y portadores de fármacos inorgánicos que existen y se usan en la industria farmacéutica. Nuestra hipótesis es que las partículas son fagocitadas por las células y el pH ácido desencadena la desintegración de ZIF-8 y dando como resultado la liberación del fármaco.

REFERENCIAS

- [1] Emmanuel N. Koukaras, Tamsyn Montagnon, Pantelis Trikalitis, Dimitrios Bikiaris, Aristides D. Zdetsis, and George E. Froudakis. «Toward Efficient Drug Delivery through Suitably Prepared Metal–Organic Frameworks: A First-Principles Study.» *The Journal of Physical Chemistry*, 2014: 8885–8990.
- [2] Jia Zhuang, Chun-Hong Kuo, Lien-Yang Chou, De-Yu Liu, Eranthie Weerapana, and Chia-Kuang Tsung. «Optimized Metal–Organic–Framework Nanospheres for Drug Delivery: Evaluation of Small-Molecule Encapsulation.» *ACS NANO*, 2014: 2812–2819.
- [3] Kyo Sung Park, Zheng Ni, Adrien P. Côté, Jae Yong Choi, Rudan Huang, Fernando J. Uribe-Romo, Hee K. Chae. «Exceptional chemical and thermal stability of zeolitic imidazolate frameworks.» *PNAS*, 2006: 10186–10191.
- [4] Paolo Falcaro, Raffaele Ricco, Cara M. Doherty, Kang Liang, Anita J. Hillb and. «MOF positioning technology and device fabrication.» *Royal Society of Chemistry*, 2014: 49.
- [5] Patricia Horcajada, Christian Serre, Guillaume Maurin, Naseem A. Ramsahye, Francisco Balas, Mari'a Vallet-Regí, Muriel Sebban, Francis Taulelle, and Gérard Férey. «Flexible Porous Metal–Organic Frameworks for a Controlled Drug Delivery.» *JACS articles*, 2008: 6774–6780.
- [6] Yanyu Yang, Quan Hu, Qi Zhang, Ke Jiang, Wenxin Lin, Yu Yang, Yuanjing Cui, and Guodong Qian. «A Large Capacity Cationic Metal–Organic.
- [7] Pan, Y.; Heryadi, D.; Zhou, F.; Zhao, L.; Lestari, G.; Su, H.; Lai, Z. Tuning the Crystal Morphology and Size of Zeolitic Imidazolate Framework-8 in Aqueous Solution by Surfactants. *CrystEngComm* 2011, 13, 6937–6940.
- [8] Lu, G.; Li, S.; Guo, Z.; Farha, O. K.; Hauser, B. G.; Qi, X.; Wang, Y.; Wang, X.; Han, S.; Liu, X.; et al. Imparting Functionality to a Metal Organic Framework Material by Controlled Nanoparticle Encapsulation. *Nat. Chem.* 2012, 4, 310–316.
- [9] Ke, F.; Yuan, Y.-P.; Qiu, L.-G.; Shen, Y.-H.; Xie, A.-J.; Zhu, J.-F.; Tian, X.-Y.; Zhang, L.-D. Facile Fabrication of Magnetic Metal–Organic Framework Nanocomposites for Potential Targeted Drug Delivery. *J. Mater. Chem.* 2011, 21, 3843–3848.
- [10] Xie, J.; Lee, S.; Chen, X. Nanoparticle-Based Theranostic agents. *Adv. Drug Delivery Rev.* 2010, 62, 1064–1079.
- [11] Vallet-Regí, M.; Balas, F.; Arcos, D. Mesoporous Materials for Drug Delivery. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2007, 46, 7548–7558.
- [12] Della Rocca, J.; Liu, D.; Lin, W. Nanoscale Metal–Organic Frameworks for Biomedical Imaging and Drug Delivery. *Acc. Chem. Res.* 2011, 44, 957–968.
- [13] Rowsell, J. L.; Yaghi, O. M. Strategies for Hydrogen Storage in Metal–Organic Frameworks. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2005, 44, 4670–4679.
- [14] Dincă, M.; Long, J. R. Hydrogen Storage in Microporous Metal–Organic Frameworks with Exposed Metal Sites. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2008, 47, 6766–6779.
- [15] Yongyong Zhang, Ying Jia, Ming Li & Li'an Hou. Influence of the 2-methylimidazole/zinc nitrate hexahydrate molar ratio on the synthesis of zeolitic imidazolate framework-8 crystals at room temperature Scientific reports 8, 2018 Article 9597
- [16] Park, K. S. et al. Exceptional chemical and thermal stability of zeolitic imidazolate frameworks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103, 10186–10191 (2006)