



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Azcapotzalco

División de Ciencias Básicas e Ingeniería

Maestría en Ciencias e Ingeniería de Materiales

*Estudio del efecto de flavonoides encapsulados
en una red metal orgánica de magnesio sobre el
estrés oxidativo celular*

*Tesis para obtener el grado de Maestra en
Ciencias e Ingeniería*

Presenta

I.Q. Etnia Valeria Mora Vargas

Directora

Dra. Sandra Loera Serna

UAM Azcapotzalco

Codirector

Dr. José Efraín Garrido Guerrero

Cinvestav

Resumen

La presente idónea comunicación de resultados de la Maestría en Ciencias e Ingeniería de Materiales se centra en el estudio del efecto de flavonoides encapsulados en una red metal orgánica de magnesio (MOF-Mg) sobre el estrés oxidativo celular. El estrés oxidativo surge del aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que conduce a daños en biomoléculas y contribuye al desarrollo de diversas enfermedades, como las cardiovasculares, el cáncer y las neurodegenerativas. Los flavonoides (Flv), específicamente la quercetina (Quer) y la catequina (Cat), son compuestos polifenólicos conocidos por su capacidad antioxidante, pero su eficacia terapéutica por vía oral está limitada por su baja estabilidad y biodisponibilidad. Para superar estos desafíos, se propuso el uso de una MOF a base de magnesio como excipiente, bajo la hipótesis de que esta red metal orgánica aumentaría la estabilidad de los flavonoides y permitiría una liberación gradual, mejorando así su absorción en el organismo y su efecto protector. El magnesio (Mg) es un metal alcalinotérreo biodisponible esencial en más de 300 procesos enzimáticos y funciones vitales. La metodología incluyó la síntesis de la MOF-Mg (MOF-74) y la preparación de los complejos Flv-Mg, además de la adsorción de Quer y Cat en la red. La caracterización estructural y funcional se realizó mediante DRX, FTIR, DLS, MET y RMN. La capacidad máxima de adsorción obtenida fue de 9.60 mg de Quer y 20.5 mg de Cat por cada 100 mg de MOF. Los ensayos de liberación de Flv se llevaron a cabo en PBS (pH 7.4) a 37 °C. La cinética de liberación se ajustó mejor al modelo de Korsmeyer-Peppas ($R^2 = 0.9225$ para Quer), con un exponente de liberación ($n \leq 0.5$) que indica un mecanismo controlado por difusión gradual a través de los poros de la MOF. Finalmente, la evaluación citotóxica en la línea celular HeLa demostró una alta biocompatibilidad de la MOF-Mg. Después de 72 h de incubación, los materiales MOF-Mg/Quer y MOF-Mg/Cat mostraron porcentajes de proliferación ligeramente mayores al 100% (107.90 % y 117.84 % respectivamente). Estos resultados sugieren que la formulación basada en MOF-Mg logra una liberación prolongada de los flavonoides, lo que puede aumentar su efecto protector antioxidante y su viabilidad celular.

Abstract

This communication of results from the Master's Program in Materials Science and Engineering focuses on the study of the effect of flavonoids encapsulated in a magnesium metal-organic framework (MOF-Mg) on cellular oxidative stress. Oxidative stress arises from an increase in reactive oxygen species (ROS), leading to damage to biomolecules and contributing to the development of various diseases, such as cardiovascular diseases, cancer, and neurodegenerative diseases. Flavonoids (Flv), specifically quercetin (Quer) and catechin (Cat), are polyphenolic compounds known for their antioxidant capacity, but their therapeutic efficacy via oral administration is limited by their low stability and bioavailability. To overcome these challenges, the use of a magnesium-based MOF as an excipient was

proposed, under the hypothesis that this metal-organic framework would increase the stability of the flavonoids and allow for gradual release, thus improving their absorption in the body and their protective effect. Magnesium (Mg) is a bioavailable alkaline earth metal essential in more than 300 enzymatic processes and vital functions. The methodology included the synthesis of the Mg-MOF (MOF-74) and the preparation of the Flv-Mg complexes, as well as the adsorption of Quer and Cat onto the network. Structural and functional characterization was performed using XRD, FTIR, DLS, TEM, and NMR. The maximum adsorption capacity obtained was 9.60 mg of Quer and 20.5 mg of Cat per 100 mg of MOF. Flv release assays were carried out in PBS (pH 7.4) at 37 °C. The release kinetics best fit the Korsmeyer-Peppas model ($R^2 = 0.9225$ for Quer), with a release exponent ($n \leq 0.5$) indicating a mechanism controlled by gradual diffusion through the MOF pores. Finally, cytotoxicity testing in the HeLa cell line demonstrated high biocompatibility of the MOF-Mg. After 72 h of incubation, the MOF-Mg/Quer and MOF-Mg/Cat materials showed slightly higher proliferation rates than 100% (107.90% and 117.84%, respectively). These results suggest that the MOF-Mg-based formulation achieves prolonged release of the flavonoids, which may enhance their antioxidant protective effect and cell viability.

Agradecimientos

- SECIHTI por la beca otorgada para realizar mis estudios de posgrado durante el periodo 2023-2025.
- A la UAM por permitirme realizar mis estudios de maestría en la Unidad Azcapotzalco, por las becas de idioma otorgadas y la beca de movilidad internacional para realizar una estancia de estudios en Valladolid, España.
- A la Universidad de Valladolid, España por darme la oportunidad de realizar una estancia en el campus Miguel Delibes, Edificio Lucia en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Fisiología.
- A mi directora de tesis, la Dra. Sandra Loera Serna por su apoyo, paciencia y confianza que me ha brindado durante todo el tiempo de conocernos y por permitirme trabajar con ella en la realización de este proyecto.
- A mi codirector, el Dr. José Efraín Garrido Guerrero por su apoyo y paciencia en enseñarme a trabajar en el área biológica, así como su apoyo en la realización de este proyecto.
- A los doctores Humberto Cervantes, Andrés Tavizón y Gerardo Chávez por abrirme las puertas de su laboratorio G-209 para ocupar su rotavapor; por hacerme sentir parte de su equipo y convertir este espacio en un lugar seguro para mí.
- A los Químicos Alejandro Sáez Pérez y Adrián del Blanco Coya, dos personas increíbles que conocí del otro lado del mundo durante mi estancia en España. Muchas gracias por su amistad, paciencia y apoyo durante este tiempo. Estoy muy agradecida con la vida por permitirme conocer a personas tan increíbles como ustedes.
- A mi familia: mi mamá, mi hermano, mis abuelitos, mi cuñada y Abraham por todo su amor, ánimo y apoyo que me han brindado toda la vida para que pueda cumplir mis sueños. Son el motor que me impulsa siempre a soñar en grande y su amor el combustible que necesito para atreverme a hacer las cosas.
- Al Dr. Gerardo Jimenez Trejo por su apoyo y compañía brindada durante esta etapa de la maestría. Gracias por enseñarme tanto de ti y ayudarme a luchar contra mis miedos para atreverme a hacer cosas increíbles en la vida y la ciencia.

- A Dani, Esme y Germán quienes me brindaron su amistad y fueron una válvula de escape cuando había mucho estrés. Muchas gracias por los buenos momentos y apoyo durante esta aventura que compartimos juntos.

Dedicatoria

A mi familia:

Por siempre creer en mí y apoyarme en todo momento para cumplir cada uno de mis sueños. Gracias a su amor, apoyo incondicional y motivación he podido cumplir cada una de mis metas y sueños. Gracias a ustedes me he atrevido a luchar contra mis miedos para convertirme en la persona que soy ahora. Los amo.

Al Dr. Gerardo Jimenez Trejo:

Fuiste un pilar importante durante mi travesía por la maestría. Te agradezco profundamente por tu apoyo y por enseñarme lo que es el amor. Gracias por enseñarme a crecer personal y académicamente. Fuiste inspiración y motivación para atreverme a cumplir muchos sueños y compartir contigo fue de las mejores experiencias y la más bonita. Gracias por acompañarme un ratito de la vida. Te amo, siempre.

Índice

Capítulo I	10
Marco teórico	10
1. Estrés oxidativo	11
2. Flavonoides (Flv)	11
2.1. Complejos con iones metálicos	14
3. Magnesio (Mg)	15
4. Excipientes para el transporte de fármacos	17
5. Redes metal orgánicas (MOF)	18
5.1. Biocompatibilidad y toxicidad	19
6. Células HeLa	20
7. Evaluación citotóxica de MOF en células HeLa	21
8. Ingrediente farmacéutico activo (IFA)	21
9. Farmacodinámica	21
10. Farmacocinética	22
11. Modelos cinéticos para la liberación de fármacos	23
12. Técnicas de caracterización	25
12.1. Difracción de rayos X (DRX)	25
12.2. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)	27
12.3. Espectroscopía Ultravioleta visible (UV-vis)	29
12.4. Microscopía electrónica de transmisión (TEM)	30
12.5. Adsorción de nitrógeno	30
12.6. Resonancia magnética nuclear (RMN)	31
12.7. Dispersión de luz dinámica (DLS)	31
12.8. Dispersión de luz electroforética (ELS)	32
Objetivos	33
General	33
Específicos	33
Hipótesis	34
Justificación	34
Capítulo II	35
Procedimiento experimental	35
1. Materiales	36
2. Síntesis de MOF-Mg	36

3. <i>Síntesis de complejos Flv-Mg</i>	37
4. <i>Adsorción de Flv en MOF-Mg</i>	37
5. <i>Liberación de Flv</i>	37
6. <i>Proliferación celular</i>	38
7. <i>Especies reactivas de oxígeno</i>	38
8. <i>Procedimiento de caracterización</i>	38
Capítulo III	41
Propiedades fisicoquímicas de MOF-Mg	41
1. <i>Análisis estructural</i>	42
3. <i>Área superficial y tamaño de poro</i>	45
4. <i>Tamaño de partícula y potencial ζ</i>	45
5. <i>Morfología</i>	46
Capítulo IV	48
Propiedades de los flavonoides	48
1. <i>Análisis estructural</i>	49
2. <i>Grupos funcionales</i>	49
3. <i>Tamaños de partícula y potencial ζ</i>	50
4. <i>Entorno químico</i>	51
1. <i>Curvas de calibración</i>	52
Capítulo V	54
Adsorción de Flv en MOF-Mg	54
1. <i>Adsorción de Flv en MOF-Mg</i>	55
2. <i>Cambio estructural</i>	56
4. <i>Liberación de flavonoides</i>	59
5. <i>Cambios en área superficial y tamaño de poro</i>	61
6. <i>Tamaño de partícula y potencial ζ</i>	62
7. <i>Morfología post adsorción</i>	62
Capítulo VI	64
Complejos Flv-Mg	64
1. <i>Análisis estructural Flv-Mg</i>	65
2. <i>Grupos funcionales Flv-Mg</i>	66
3. <i>Entorno químico Flv-Mg</i>	67
4. <i>Tamaño de partícula y potencial ζ</i>	68
Capítulo VII	70

<i>Evaluación en la línea celular HeLa</i>	70
<i>1. Ensayos de proliferación celular</i>	71
<i>2. Especies reactivas de oxígeno (ROS)</i>	74
<i>Conclusiones</i>	76
<i>Trabajo a futuro</i>	77
<i>Referencias</i>	78
<i>ANEXO I</i>	84

Capítulo I
Marco teórico

1. Estrés oxidativo

El oxígeno es fundamental en procesos vitales como la respiración celular, pero puede generar especies reactivas de oxígeno (ROS) que presentan efectos benéficos o patológicos en el organismo. Son moléculas que contienen oxígeno y son altamente reactivas, debido a la presencia de un electrón desapareado. Estas especies pueden ser el anión superóxido, peróxido, hidroxilo, radical óxido nítrico, oxígeno singlete, peróxido de hidrógeno, entre otros (Flores, 2021). Se generan principalmente por células del sistema inmune como neutrófilos y macrófagos, células endoteliales, monocitos cardíacos y tejido tiroideo, mediante diferentes mecanismos, pero el más importante es el de la ruta de fosforilación oxidativa dentro de la mitocondria, ya que aquí se lleva a cabo la respiración celular y generación de ATP (trifosfato de adenosina). También pueden actuar como mensajeros redox y señales celulares para la regulación de procesos fisiológicos como la respuesta inmune, la proliferación celular y la apoptosis. Fuentes exógenas como la exposición a metales pesados, infecciones, exposición a radiación, herbicidas, drogas, químicos o contaminación ambiental también son responsables de su producción (Ortiz Escarza & Medina López, 2020).

En los últimos años, se han asociado las ROS con el estrés oxidativo, el cual consiste en un aumento de la producción de estas especies dando lugar a diferentes enfermedades o padecimientos, por ejemplo, pueden provocar daños a biomoléculas de importancia como el ADN, proteínas, lípidos y carbohidratos, causando un desequilibrio que conduce a daños celulares y contribuye al desarrollo de enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas, cáncer, envejecimiento, asma, artritis, diabetes, párkinson, la enfermedad inflamatoria intestinal y alteraciones a nivel genético. Para contrarrestar estos efectos, el cuerpo humano posee antioxidantes endógenos, como enzimas antioxidantes, las cuales actúan por diferentes mecanismos para bloquear la producción de radicales libres o convertirlos en productos menos tóxicos. Entre estas, la catalasa tiene un papel importante para descomponer al hidroperóxido de hidrógeno y tiene resistencia a la toxicidad y al daño oxidativo, encontrándose en mayor abundancia en el hígado (Flores, 2021). Otros antioxidantes endógenos también son el glutatión y la vitamina C. Además, se pueden obtener antioxidantes exógenos, a través de la dieta, como las vitaminas A, C y E, zinc, selenio y los flavonoides, los cuales se pueden encontrar en una gran variedad de alimentos y actualmente hay medicamentos que los emplean como sustancia activa para el tratamiento de diferentes enfermedades (Ortiz Escarza & Medina López, 2020). Diversos estudios han demostrado que los antioxidantes juegan un papel importante en la prevención y/o disminución de daños de enfermedades. Por ejemplo, en enfermedades cardiovasculares ayudan a prevenir el progreso de las ROS y en el cáncer ayudan a la eliminación de estas especies.

2. Flavonoides (Flv)

Los flavonoides (Flv) son compuestos naturales polifenólicos que se pueden encontrar de forma natural en una gran variedad de alimentos. Se componen de 15 átomos de carbono en

la forma C₆-C₃-C₆, los cuales se pueden encontrar en dos anillos de benceno (A y B) unidos por un anillo de pirano C, como se muestra en la Figura 1. En la naturaleza se pueden obtener diversos patrones de sustitución de sus anillos aromáticos y estos dan lugar a más de 4000 flavonoides que se clasifican en catequinas, flavanonas, isoflavonas, flavonoles, flavonas y antocianinas (Ghosh, *et al.*, 2015). Estos compuestos se pueden consumir a través de la dieta diaria, ya que el ser humano no puede sintetizarlos de forma natural y la ingesta de estos en los humanos es de unos cuantos miligramos por día. Al ser consumidos, se absorben a través del estómago y el intestino delgado y son metabolizados en el hígado y la mucosa intestinal, para finalmente ser excretados a través de la orina y heces (Ghosh, *et al.*, 2015).

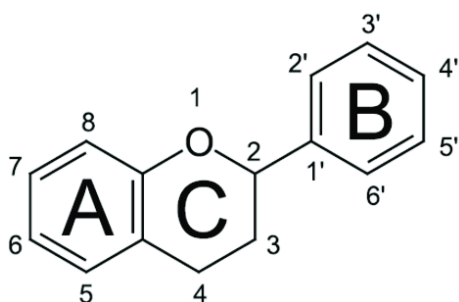


Figura 1. Estructura básica de los flavonoides.

Los flavonoides tienen efectos terapéuticos, por ejemplo, ayudan a la prevención de enfermedades, ya que actúan como anticancerígenos, antiinflamatorios, antialérgicos, antivirales, neuroprotectores, cardioprotectores, antimutagénicos, entre otras. En la Figura 2 se muestra la clasificación de los flavonoides, sus fuentes de obtención y algunos beneficios en la salud.

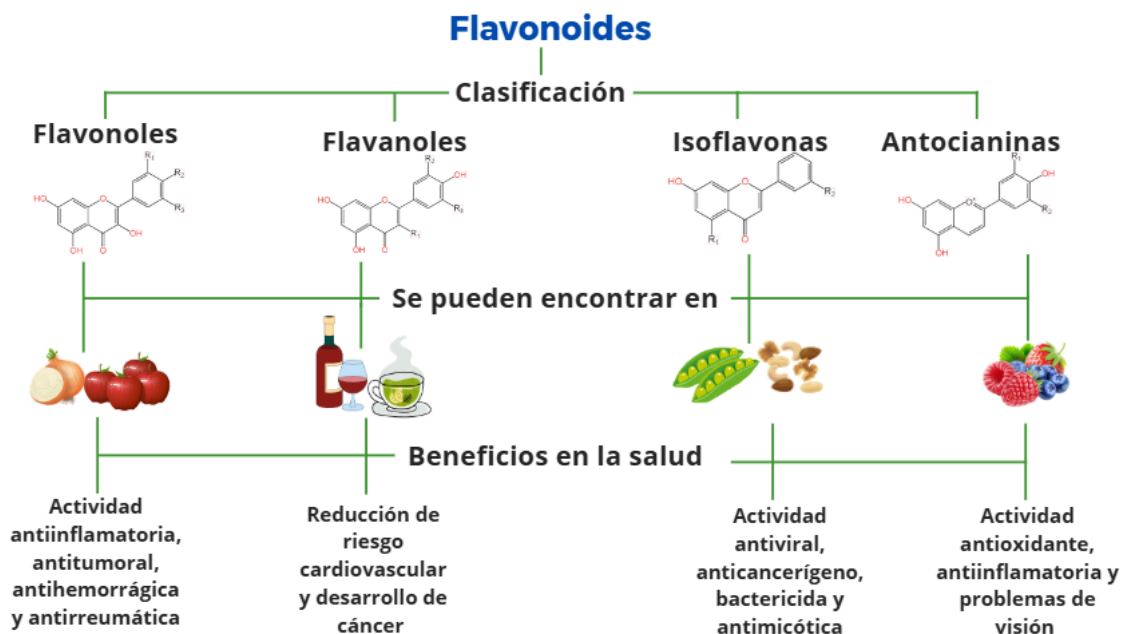


Figura 2. Clasificación de flavonoides, donde los sustituyentes R_1 , R_2 y R_3 pueden ser hidrógeno, grupo hidroxilo, metoxi, glicósido, alquilo o arilo. (Gutiérrez-Venegas, 2018).

Quercetina

La quercetina (3,3,4,5,7-pentahidroxi-flavona) es un sólido de color amarillo con alta solubilidad en lípidos, éter y metanol, solubilidad media en etanol, acetona, piridina y ácido acético e insoluble en agua. Su fórmula química es $C_{15}H_{10}O_7$ y tiene un peso molecular de 302.23 g/mol. Está formada por la estructura básica de los flavonoides más cinco grupos hidroxilo (-OH) ubicados en las posiciones 3, 3', 4, 5 y 7. Forma parte del grupo flavonol y es considerado el flavonoide más abundante en la naturaleza. Se puede encontrar de forma natural en frutas, verduras, algunas semillas, plantas medicinales como saúco americano y ginkgo, y también da coloración a varias flores (PubChem, S.F.). Con el software Avogadro se dibujó la molécula que se muestra en la Figura 3a y se determinó el tamaño molecular obteniendo una longitud de 12.1 Å y ancho de 9.3 Å.

Catequina

La (+)-catequina (flavan-3-ol) es el (+)-enantiómero de la catequina y es un antioxidante natural. Es un sólido de color naranja pálido y, al igual que la quercetina, tiene baja solubilidad en agua y solubilidad media en metanol y etanol. Su fórmula química es $C_{15}H_{14}O_6$ y tiene un peso molecular de 290.27 g/mol. En las posiciones 3, 5, 7, 4' y 5' de la estructura básica se encuentran los -OH. Forma parte de los flavanoles y se encuentra de forma natural en frutas como uvas, arándanos, fresas, manzanas, cerezas, grosellas e infusiones. Este flavonoide posee beneficios para el tratamiento de cáncer, trastornos neurológicos y enfermedades cardiovasculares (Galán, 2025). En la Figura 3b se muestra la estructura química dibujada en el programa de Avogadro, con una longitud máxima de 11.9 Å y ancho de 8.0 Å.

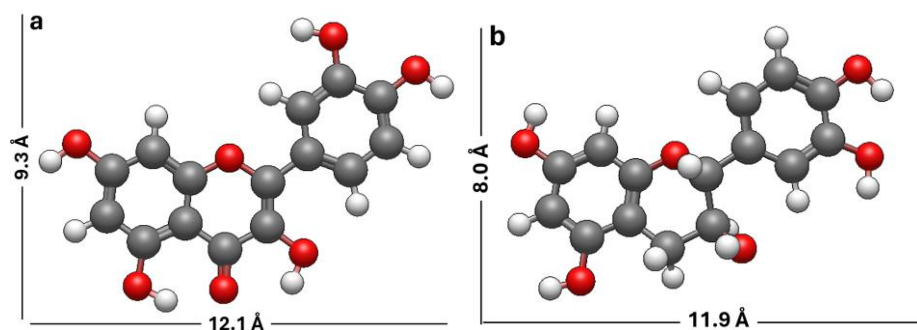


Figura 3. Moléculas de a) quercetina y b) catequina.

Los beneficios que ofrecen estos compuestos los ha hecho importantes en el tratamiento de una lista larga de enfermedades, ayudan a mejorar los niveles de azúcar en la sangre, disminuyen la presión arterial al disminuir los niveles de ROS y así también se disminuye el

estrés oxidativo, lo que provoca estrés en las células dando lugar a diferentes enfermedades. Actualmente, estos compuestos han sido foco de atención en investigaciones relacionadas con el tratamiento de enfermedades, ya que son muy abundantes en la dieta diaria y como se ha mencionado, presentan efectos beneficiosos, lo que ha incentivado el consumo frecuente de alimentos ricos en Flv. Sin embargo, es necesario saber cuál es la ingesta diaria recomendada. De acuerdo con Ortiz, *et al.*, (2024), estudios realizados a nivel mundial mencionan que la ingesta promedio de flavonoides debe de ser de 626 mg/día. De acuerdo con datos obtenidos de la encuesta nacional de salud y nutrición (ENSANUT) en México, se obtuvo que la población mexicana, específicamente en Puebla (lugar en el que se realizó este estudio), carece de una dieta rica en frutas, verduras, cereales y leguminosas ricos en estos compuestos y la alimentación se basa más en botanas, comida rápida, postres y dulces. Debido a estos resultados obtenidos es más lógico entender por qué en este país existen enfermedades como la diabetes, hipertensión, problemas cardiovasculares, asma y principalmente obesidad (Ortiz, *et al.*, 2024). Otros datos reportados mencionan que la ingesta diaria de estos compuestos por medio de la dieta es de 50 a 800 mg/ día. A continuación, se mencionan la cantidad de flavonoides totales en algunos alimentos: por ejemplo, en la cebolla se pueden encontrar 40 mg/100 g, el té verde contiene aproximadamente 200 mg/100g, la manzana de 6 a 10 mg y una naranja 10 mg (Carlsen, *et al.*, 2010). La biodisponibilidad es un factor importante que ayuda a determinar sus efectos biológicos, sin embargo, factores como su estructura química, absorción y pH en el tracto gastrointestinal, metabolismo hepático, distribución, eliminación en el organismo, edad, estado de salud e interacción con otros medicamentos, pueden afectar su estabilidad y actividad biológica.

El importante interés en estos compuestos radica en su capacidad de eliminar radicales libres, sin embargo, es importante mencionar que este poder antioxidante depende de la posición y el número de grupos hidroxilo presentes en su estructura (Eleftherios, *et al.*, 2021). Como se mencionó en la sección de *estrés oxidativo*, las ROS en el organismo surgen a partir de diversos procesos fisiológicos y su aumento da lugar a diferentes patologías. La capacidad de los Flv de formar complejos con iones metálicos ha generado un interés en el ámbito científico e industrial, debido a su mejoramiento en bioactividad y efectos farmacológicos (Iulian, *et al.*, 2023). La quelación con distintos metales es una de sus muchas características y de las más importantes por su impacto en el aumento de acción farmacológica.

2.1. Complejos con iones metálicos

La quercetina es uno de los flavonoides más comunes que se puede encontrar de forma natural en distintos alimentos y gracias a sus tres posibles sitios de quelación 3-hidroxi-4-carbonilo, 5-hidroxi-4 carbonilo y catecol, es muy eficaz para la formación de quelantes con metales como el Cu (II), Fe (II), Zn (II), Al (III), Co (II), entre otros.

Como se mencionó, las catequinas pertenecen a la categoría de flavonoles y se encuentran en concentraciones abundantes en una variedad de frutas, verduras, semillas y bebidas vegetales.

Se puede encontrar en mayor abundancia en hojas de té verde, hojas de jara, habas, vino, fresas y uvas (Iulian, *et al.*, 2023).

De acuerdo con estudios reportados como el de Ghosh, *et al.*, (2015) e Iulian, *et al.*, (2023), la quelación de los flavonoides con metales puede cambiar su actividad antioxidante y efectos biológicos de forma positiva, debido a que al usarse como ligandos orgánicos su actividad biológica aumenta cuando se coordinan o unen a iones metálicos gracias a su capacidad de aceptar radicales libres. Debido a la presencia de los grupos funcionales carbonilo e hidroxilo, estos compuestos pueden ser quelados por los iones metálicos, principalmente empleando sales de metales de transición, los cuales tienen un papel importante de forma natural en el organismo.

3. *Magnesio (Mg)*

El magnesio (Mg) es un metal alcalinotérreo y el segundo mineral más abundante dentro del organismo. Tiene gran importancia en funciones vitales como la regulación de las contracciones musculares, la síntesis de ácido ribonucleico (ARN) y ácido desoxirribonucleico (ADN), la regulación de la presión arterial, el metabolismo de la insulina, proteínas, lípidos y carbohidratos, el correcto funcionamiento del sistema nervioso e inmunitario y, además, participa en más de 300 procesos enzimáticos (Aparna & Rajitha, 2023). Dentro del organismo existe una distribución de este metal, aproximadamente el 65% forma parte del sistema óseo, el 34 % intracelular y solo el 1 % es extracelular que corresponde a suero y glóbulos rojos. La importancia fisiológica que tiene este metal se debe a la capacidad de quelarse con ligandos aniónicos como es el trifosfato de adenosina (ATP) y por su competencia con el calcio (Ca) para unirse a proteínas y membranas. Debido a esta competencia con el Ca ayuda a que haya una concentración baja de iones de Ca dentro del organismo, importante para la función adecuada de procesos celulares (Aparna & Rajitha, 2023).

La deficiencia del Mg o la hipomagnesemia está estrechamente relacionada con efectos negativos en la salud. Por ejemplo, las personas con una deficiencia de este metal en el organismo pueden experimentar calambres musculares, fatiga, debilidad, problemas cardiovasculares, cambios en el estado de ánimo como irritabilidad, ansiedad o depresión, dolores de cabeza o migrañas, sensación de hormigueo en extremidades, y osteoporosis (Pelczyńska, *et al.*, 2022). En procesos celulares su deficiencia afecta de forma directa a la producción de ATP, importante para actividad neuronal, estabilidad y viscosidad de la membrana celular (Aparna & Rajitha, 2023). La deficiencia se relaciona con el bajo consumo de Mg por medio de la dieta. También, la exposición a problemas ambientales y agronómicos disminuyen su disponibilidad en la cadena alimentaria. En el artículo de Pelczyńska, *et al.*, (2022) se menciona que, de acuerdo con la encuesta Nacional de Salud y Nutrición, las concentraciones de Mg en el suero (concentraciones séricas) son bajas en más del 30% de la población adulta en México. La recomendación de ingesta va a depender de la edad. Para

niños se estima una ingesta de 80-130 mg/día, para adolescentes de 240-410 mg/día y para adultos de 320 a 410 mg/día.

Este ion tiene otras funciones como propiedades antioxidantes, vasodilatadoras y antiinflamatorias. El Mg es un ion biodisponible de gran importancia dentro del organismo ya que ayuda al correcto funcionamiento de procesos fisiológicos y celulares, y, además, al ser administrado de forma exógena muestra beneficios para disminuir el riesgo de padecer enfermedades neurológicas y psiquiátricas como ansiedad, depresión, ataques de pánico, migrañas, epilepsia, Alzheimer y deterioro cognitivo. También, Rojas Pérez, *et al.*, (2019) reporta que se emplea sulfato de magnesio como agente neuroprotector para la prevención de convulsiones maternas durante la preeclampsia. Es indispensable en el metabolismo energético, función cardiorrespiratoria y trabajo muscular, por lo que es empleado en suplementos alimenticios para mejorar los parámetros de rendimiento en ejercicios aeróbicos y anaeróbicos (Gil de Antuñano, *et al.*, 2019). También, se emplea como fármaco en obstetricia, cardiología, tratamiento de dolor, anestesia y neumología. Este metal desempeña un papel importante en el organismo y sus propiedades farmacológicas siguen siendo un objeto de estudio en el ámbito médico y farmacológico.

3.1. Formación de complejos con Flv

Los Flv han despertado gran interés en los últimos años debido a su actividad farmacológica, efectos antioxidantes, eliminación de radicales libres y formación de quelatos con iones metálicos como el Mg. Estas propiedades los hacen útiles como protectores y son de interés en la industria farmacéutica para la fabricación de medicamentos eficaces para el tratamiento de enfermedades.

En un artículo publicado por Chen, *et al.*, (2016), utilizaron (+)-catequina (Cat) para la fabricación de nanoestructuras transportadoras de ácido ribonucleico de interferencia (ARNi), esto debido a que este flavonoide genera menos efectos secundarios en la quimioterapia en comparación con otros medicamentos empleados en este tratamiento. El ARNi ayuda a la inhibición de la expresión de genes que desempeñan papeles importantes en la supervivencia y progresión de células cancerosas, sin embargo, si entra solo al torrente sanguíneo es destruido por las nucleasas y además no puede atravesar las membranas plasmáticas de las células para una inactivación génica eficaz. Debido a esto, es necesario el uso de un vehículo portador para que esta molécula no sufra daños al entrar al organismo. Según informes, la combinación de fármacos con genes es una tecnología emergente en el tratamiento contra el cáncer. Actualmente se han empleado vehículos como Au/Co o Au/Ni y sílice, pero no son biodegradables. Otros vehículos empleados son los polímeros biodegradables como el ácido poliláctico-co-glicólico (PLGA), pero producen un pH bajo perjudicial para las células y también se necesitan dosis altas de portadores de fármacos/genes para tener un tratamiento eficaz, lo que puede causar una toxicidad en tejidos normales y células (Chen, *et al.*, 2016).

Para evitar el uso de portadores de genes o fármacos que dañen a las células y disminuir los efectos secundarios, Chen, *et al.*, (2016) empleó catequina para la fabricación de nanopartículas con iones de magnesio (Mg). El magnesio es biocompatible, ya que es necesario para el ser humano y muchos procesos celulares. Además, este metal actúa como protector en la terapia contra el cáncer. La catequina tiene la capacidad de formar quelantes con iones metálicos, inhibe el crecimiento celular e induce a la apoptosis de algunas células cancerosas. Debido a que este flavonoide exhibe propiedades preventivas contra el cáncer y el Mg tiene efectos beneficiosos en la salud, en este artículo se planteó la hipótesis de que nanopartículas de Mg(II)-Cat se pueden emplear como portadores de ARNi dirigidos a oncogenes y Mg(II)-Cat/ARNi puede presentar efectos beneficiosos en terapia contra el cáncer. Los autores concluyen que las nanopartículas de Mg(II)-Cat son estables y buenos portadores de ARNi para la terapia contra el cáncer.

Ghosh, *et al.*, (2015), realizó el estudio de la actividad antioxidante del complejo quercetina-magnesio. Como se mencionó anteriormente, este flavonoide cuenta tres posibles sitios de unión para formar quelantes con iones metálicos. La unión de estos compuestos fenólicos puede aumentar su actividad antioxidante y efectos biológicos, sin embargo, su actividad antioxidante depende mucho de su estructura molecular. El estudio de la actividad antioxidante se hizo mediante el método de eliminación de radicales 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). De acuerdo con los resultados obtenidos, la actividad antioxidante del flavonoide depende de las posiciones y el número de -OH presentes en su estructura. El complejo con el ion metálico presentó una mejor actividad en comparación con el flavonoide puro. Esto indica que, al formar quelantes con iones metálicos, las propiedades antioxidantes del flavonoide cambian significativamente.

Los complejos de Flv-Mg no solo ofrecen efectos terapéuticos para el tratamiento de enfermedades, sino también se pueden emplear como excipientes activos en fórmulas farmacéuticas, por ejemplo, las nanopartículas de Mg(II)-Cat se emplearon como transporte del ARNi en el tratamiento de cáncer. Sin embargo, existen diferentes factores como la vía de administración, pH, metabolismo, edad, peso, factores genéticos, entre otros que pueden afectar su biodisponibilidad y eficacia terapéutica.

4. Excipientes para el transporte de fármacos

Un excipiente se define como una sustancia aparte del principio activo, que se encuentra en forma de dosificación, y el cual se ha evaluado de forma apropiada en cuanto seguridad y se incluye en el suministro de fármacos para ayudar a su procesamiento o manufactura con el fin de mejorar su estabilidad, biodisponibilidad durante el almacenamiento y aceptabilidad por el paciente (Villafuerte, 2011). Las diferentes vías de administración de fármacos incluyen las vías sublingual, rectal, parenteral (intravenosa, intramuscular, subcutáneo e intradérmica), tópica, inhalatoria, intranasal, intravaginal, intracervical y oral. La vía oral es la más popular gracias a su facilidad de ingestión, alta adherencia al tratamiento y amplia

variedad de fármacos disponibles (Patel, *et al.*,2020). La mayoría de los medicamentos contienen excipientes y pueden ser de origen biológico, mineral o sintético, y se emplean para mejorar diversas características del medicamento, como la compresión, la estabilidad, la desintegración, la apariencia y la biodisponibilidad (Elder, *et al.*, 2016). La Tabla 1 proporciona una revisión bibliográfica de los diferentes excipientes utilizados en la industria farmacéutica para la preparación de medicamentos de vía oral.

Tabla 1. Excipientes empleados para transportar medicamentos.

Excipiente	Resumen	Referencia
Celulosa microcristalina (CMC)	La CMC es un polímero natural que se emplea en la industria farmacéutica como aglutinante para la fabricación de tabletas orales y se caracteriza por su buena compresibilidad y compactibilidad.	Zhao Haiyue, <i>et al.</i> ,2022
Lactosa	La lactosa es el carbohidrato más importante de la leche de mamíferos y es empleada en la fabricación de comprimidos mediante compresión directa, granulación húmeda y granulación seca. Es un excipiente seguro, natural, soluble en agua lo que ayuda a la humectabilidad y liberación del fármaco. Aproximadamente entre el 60 y 70 % de preparaciones farmacéuticas contienen lactosa (Chuting, <i>et al.</i> , 2023).	Chuting Shi, <i>et al.</i> , 2023
MOF MIL-100 (Fe)	Se empleo la MOF MIL-100 (Fe) para el almacenamiento del medicamento anticancerígeno metotrexato. Esta MOF presentó un alto potencial en el encapsulamiento del fármaco, haciéndola un candidato para terapias antitumorales multimodales.	Abuçafy, <i>et al.</i> , 2023

5. Redes metal orgánicas (MOF)

Las redes metal orgánicas (MOF), son cúmulos formados por iones metálicos unidos con moléculas orgánicas por enlaces de coordinación, forman estructuras cristalinas altamente porosas con elevada versatilidad estructural, diferentes tamaños de poro, estabilidad térmica

y flexibilidad estructural, dando lugar a estructuras uni, bi y tridimensionales (Sorribas & Téllez, 2016). Se pueden generar modificaciones en su estructura introduciendo distintos grupos funcionales y junto con su estabilidad térmica y flexibilidad estructural son una opción viable en aplicaciones biomédicas como la administración de fármacos o en resonancia magnética (Sorribas & Téllez, 2016). La variabilidad en el tamaño de poro y las áreas superficiales de las MOF favorece la encapsulación de fármacos, mientras que su flexibilidad estructural da lugar a una adaptación de forma, tamaño y funcionalidad de las moléculas del fármaco (Dimitrios, *et al.*, 2020). Entre este tipo de materiales se encuentra las MOF-74, que incluye una variación de centros metálicos como Zn, Cu, Ni, Co, Mn, Fe y Mg. Dependiendo del centro, exhibe diferentes propiedades. Los centros metálicos en esta MOF se encuentran disponibles en la dieta diaria, por lo tanto, son biocompatibles para el organismo. Esto hace que la MOF-74 sea un candidato prometedor como posible portador de fármacos. Existen estudios sobre el uso de este material para la liberación de fármacos, por ejemplo, Lawson, *et al.*, (2021) emplearon la MOF-74 para cargar el medicamento ketoprofeno, el cual se emplea en el tratamiento del dolor osteoporótico, inflamación y pérdida ósea. Los autores reportan una liberación controlada de este medicamento y el Mg. Además, los estudios *in vitro* realizados muestran que el fármaco reduce de forma significativa la expresión de los genes relacionados con el dolor osteoporótico (Ge, *et al.*, 2021).

5.1. Biocompatibilidad y toxicidad

La síntesis de las MOF se puede realizar empleando componentes biocompatibles con un perfil farmacocinético adecuado; además, su área superficial y el tamaño de poro garantizan una capacidad de carga alta de fármacos para una administración óptima en el tratamiento de enfermedades. De acuerdo con Singh, *et al.*, (2021), estos materiales ofrecen liberación controlada en condiciones ácidas, haciéndolos ideales para la administración de fármacos. Las MOF deben ser lo suficientemente estables para poder administrar la molécula de interés y también deben de degradarse y eliminarse con facilidad del organismo sin generar bioacumulación. La toxicidad de las MOF dependerá de factores como la cinética, degradación, acumulación en los tejidos, eliminación del organismo y biodistribución. Las MOF que se emplean en aplicaciones biomédicas, generalmente tienen centros metálicos biocompatibles con el organismo como el hierro, magnesio y zinc. Estos metales son seleccionados en función al nivel de toxicidad a la dosis letal y dosis diaria de metales. De acuerdo con estudios realizados la dosis letal media es la cantidad del compuesto que mata a la mitad de la población dada después de un tiempo específico. Singh, *et al.*, (2021), reporta que, de acuerdo con resultados experimentales en ratas, metales como Ca, Mg, Fe, Zr son centros metálicos apropiados para la síntesis de MOF biocompatibles. Otro factor que influye en el uso de estos metales es su dosis diaria, ya que el ser humano necesita ciertos metales en mg/día.

Para los ligandos orgánicos, existe una variedad de ellos para la obtención de MOF y se clasifican en exógenos y endógenos. Los exógenos no se encuentran de forma natural dentro del organismo y debido a esto es importante que se puedan excretar o metabolizar después de cumplir su función de liberación de fármacos para que no haya una bioacumulación. Entre estos ligandos se pueden encontrar sulfonatos, policarboxilatos como el ácido tereftálico, trimésico, 2,5-dihidroxibenzeno, y fosfonatos; sin embargo, estos compuestos tienen una baja toxicidad gracias a su polaridad y fácil eliminación. Los ligandos endógenos son aquellos que se encuentran naturalmente en el cuerpo, por ejemplo, aminoácidos, péptidos, proteínas, carbohidratos y porfirinas. Su uso en la obtención de MOF ayuda a disminuir el riesgo de efectos negativos ya que se absorben de forma segura dentro del organismo (Singh, *et al.*, 2021).

Considerando la importancia de la biocompatibilidad y toxicidad de los componentes en la síntesis de MOF con aplicaciones biomédicas, es esencial evaluar su comportamiento *in vitro* en líneas celulares modelo. Uno de los modelos más empleados para este propósito son las células HeLa, las cuales permiten determinar la respuesta celular inicial de estos materiales.

6. Células HeLa

La línea celular *HeLa* es una línea celular inmortalizada ampliamente utilizada en la investigación biomédica. Su nombre proviene de las iniciales de Henrietta Lacks, una mujer afroamericana que falleció en 1951 a causa de cáncer de cuello de útero. Son células adherentes con un diámetro entre 10-20 μm y una morfología epitelial, es decir, se asemejan a las células que recubren superficies y cavidades del organismo (Cytion, 2025). En la Figura 4 se muestra una imagen de células HeLa observadas mediante microscopía óptica.

Se usan en una amplia variedad de estudios, entre ellos, los de función génica, producción de proteínas y para el estudio de diferentes tipos de cáncer. También, tienen un papel fundamental en la investigación de enfermedades virales, como la hepatitis B y el desarrollo de diagnósticos y vacunas para la prevención del virus de papiloma humano (VPH), el virus de la poliomielitis y el SARS-CoV-2 (COVID-19) (Lyanpun, *et al.*, 2020).

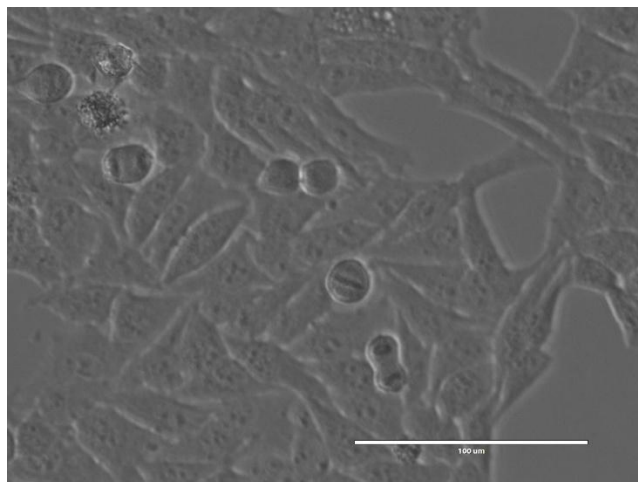


Figura 4. Células HeLa observadas mediante microscopía óptica.

7. Evaluación citotóxica de MOF en células HeLa

En la bibliografía hay estudios realizados donde reportan la evaluación *in vitro* de la MOF sintetizada para este proyecto en la línea celular HeLa, por ejemplo Zhu, *et al.*, (2020), realizaron pruebas de toxicidad de la MOF-74 de magnesio con diferente tamaño de partícula a escala micrométrica y nanométrica en células HeLa, de acuerdo con los resultados reportados por el autor y colaboradores, estos materiales no mostraron toxicidad significativa en las células con dosis menores a 200 µg/mL, sin embargo, la citotoxicidad de la MOF en micrómetros aumentó en dosis superiores a 500 µg/mL y en nanómetros aumentó en dosis de 1000 µg/mL. Cuando las células se pusieron en dosis de 50 a 500 µg/mL no se observó aumento en la apoptosis. También realizaron evaluación de especies reactivas de oxígeno y solo se obtuvo un daño oxidativo leve con las concentraciones más altas. Los autores han reportado que la MOF-74 de magnesio tiene una buena bioseguridad, en comparación con otros estudios donde usan ZIF-8, MOF-Fe(III), MOF-MIL-88 los cuales mostraron citotoxicidad en dosis inferiores a las empleadas en este estudio para la MOF de magnesio. A pesar de los buenos resultados obtenidos, es importante señalar que el magnesio es un metal biodisponible e importante en diferentes procesos celulares y dosis elevadas de Mg⁺² en el organismo pueden generar *envenenamiento por magnesio*, causando daños a la adhesión celular, proliferación, apoptosis y respiración celular, esto debido al exceso del metal en el fluido extracelular, dañando así la supervivencia celular (Zhu, *et al.*, 2020).

8. Ingrediente farmacéutico activo (IFA)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a los IFA como aquella sustancia empleada en un producto farmacéutico terminado, destinado a una actividad farmacológica y que tenga un efecto directo sobre la restauración, corrección y/o modificación de funciones fisiológicas en los seres humanos. Los medicamentos son productos obtenidos a partir de IFA con o sin sustancias auxiliares, conocidas como excipientes, los cuales se han descrito en la *sección 4* de este capítulo y son empleados para el tratamiento, rehabilitación o cura de alguna enfermedad. Su presentación puede ser como producto líquido, sólido, liofilizado, entre otros. Los IFA se dividen en dos grupos de acuerdo con su origen: químicos y biológicos. Los IFA químicos se obtienen a partir de procesos de síntesis o semisíntesis química y los biológicos se obtienen por medio de fermentación, extracción o procesos biotecnológicos. También, según su complejidad estructural se pueden dividir en moléculas pequeñas hasta los 1.000 Dalton (Da) de masa y en macromoléculas, donde entran las proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos (Goldstein, *et al.*, 2022).

9. Farmacodinámica

La farmacodinámica es la rama encargada del estudio de los efectos y mecanismos de acción de los fármacos sobre tejidos, órganos y sistemas, utilizando métodos experimentales. Esto permite cuantificar la acción farmacológica, comparar distintos fármacos y predecir sus

posibles efectos. Dicho de otro modo, la farmacodinámica analiza la acción de los fármacos en el organismo una vez administrados. Para que un fármaco ejerza su efecto, debe interactuar con proteínas específicas, conocidas como *receptores*, presentes en la superficie de las células. Estos receptores varían según el tipo de célula; por ejemplo, las células musculares tienen receptores distintos a los de las células glandulares. Cuando un receptor se une a una sustancia o proteína externa, se desencadena un cambio en el funcionamiento celular. Los fármacos actúan al unirse a estos receptores, generando uno de dos tipos de respuestas: se produce un cambio en la actividad celular, o bien bloquean la respuesta normal de la célula. Así, cuando el fármaco de interés se une a uno de los receptores, cumple su función terapéutica (Betés de Toro, 2008).

10. Farmacocinética

La farmacocinética se encarga de estudiar el recorrido del fármaco dentro del organismo, desde su administración, duración y efecto terapéutico. Este estudio comprende cuatro etapas: absorción, distribución, metabolismo y eliminación (ADME).

La primera etapa es la absorción, en la cual el fármaco pasa desde el sitio de administración al torrente sanguíneo. La segunda etapa es la distribución, donde se reparte en los tejidos y órganos del cuerpo. La tercera etapa corresponde al metabolismo o descomposición del fármaco. Finalmente, ocurre la eliminación, cuando el fármaco es excretado del organismo.

Los datos farmacocinéticos son fundamentales para decidir cuál será la vía de administración más adecuada para la molécula farmacéutica. Su biodisponibilidad se describe como la fracción del fármaco que llega a la circulación sistémica (Verstuyft, *et al.*, 2022); es decir, está determinada por la farmacocinética. Existen medicamentos que se absorben de forma eficaz a través de las membranas celulares, mientras que otros no logran hacerlo con la misma rapidez. Esto provoca que su concentración en la circulación sistémica sea menor y, por lo tanto, su efecto terapéutico se vea afectado. Esta concentración presente en la circulación se conoce como *concentración plasmática*, la cual, después de un tiempo t alcanzará su pico máximo. A medida que el fármaco se va metabolizando, dicha concentración comienza a disminuir hasta ser excretado del organismo (Reinaldo Vallejo, 2024).

Entender la diferencia entre farmacodinámica y farmacocinética es importante para llevar a cabo la evaluación y diseño de sistemas de liberación de fármacos. En este contexto, existen modelos matemáticos que permiten describir y analizar cuantitativamente la liberación del principio activo desde una formulación farmacéutica y cómo se comporta en el organismo. Algunos modelos que se emplean son los de orden cero, primer orden, Korsmeyer-Peppas y Higuchi, los cuales ayudan a simular y predecir la liberación y perfil de concentración del fármaco en función del tiempo.

11. Modelos cinéticos para la liberación de fármacos

Los modelos matemáticos de liberación de fármacos ayudan a comprender los factores que afectan la liberación de la sustancia activa, algunos de estos pueden ser el estado físico del fármaco, la concentración, tamaño o distribución de partícula y propiedades del sistema. El uso de estos modelos es de gran importancia ya que ayudan al desarrollo y mejora de nuevos productos y a entender mejor su comportamiento de liberación en el organismo (Paarakh, *et al.*, 2023). Los modelos matemáticos que se emplean para el estudio de los perfiles de liberación generalmente son el modelo cinético de orden cero, primer orden, el modelo de Korsmeyer-Peppas, modelo de Higuchi, el modelo de Baker Lonsdale, modelo de Hopfenberg, modelo de Weibull y el modelo de Hixson Crowell (Mohamed & Damodharan, 2020).

Cinética de orden cero

Este modelo describe el proceso de liberación de la sustancia activa de una forma farmacéutica en la que la velocidad de liberación es constante con el tiempo, es decir, no depende de la concentración del fármaco en el sistema. Se puede aplicar en sistemas que liberan el fármaco de forma controlada y no se desintegran, por ejemplo, matrices poliméricas con fármacos de solubilidad baja, sistemas osmóticos, implantes o parches transdérmicos (Mohamed & Damodharan, 2020). Se describe como

$$Q = Q_0 + K_0t \quad [\text{Ec. 1}],$$

donde Q es la cantidad de fármaco liberado o disuelto, Q_0 es la cantidad inicial del fármaco en solución, K_0 la constante de liberación de orden cero y t es el tiempo transcurrido desde el inicio de la liberación o disolución y se expresa en minutos (min), horas (h) o segundos (s).

Cinética de primer orden

Este modelo describe que la velocidad del fármaco depende linealmente de su concentración en el sistema. A mayor concentración de la sustancia activa, mayor será la velocidad con la que se libera y esta disminuirá a medida que la concentración dentro de la matriz se reduce. Es empleado para describir la liberación de fármacos solubles incorporados en matrices porosas (Paarakh, *et al.*, 2023). A diferencia del modelo de orden cero, en este modelo la velocidad de liberación no es constante, sino que disminuye con el tiempo y se obtiene una curva logarítmica. Se describe como:

$$\log Q_t = \log Q_0 + \frac{K_1 t}{2.303} \quad [\text{Ec. 2}],$$

donde Q_t es la cantidad del fármaco liberado en un tiempo t , Q_0 es la cantidad inicial del fármaco en la solución, K_1 la constante de liberación de primer orden y t el tiempo en el que transcurre la liberación.

Higuchi

Este fue el primer modelo matemático propuesto por Higuchi en 1963 para describir la liberación de un fármaco en un sistema matricial. Es útil para el estudio de la liberación de fármacos con alta y baja solubilidad en agua, incorporados en matrices sólidas o semisólidas. La ecuación empleada para este modelo es:

$$Q = K_H \cdot \sqrt{t} \quad [\text{Ec. 3}],$$

donde Q es el fármaco liberado, K_H es la constante de Higuchi y \sqrt{t} es la raíz cuadrada del tiempo transcurrido desde el inicio de liberación.

Esta ecuación permite la cuantificación de la liberación de fármacos desde películas delgadas como cremas o ungüentos que contienen la sustancia activa finamente dispersa. Es empleada en el estudio de fármacos presentes en parches transdérmicos, de liberación controlada o películas para administración oral controlada (T. Higuchi, 1963).

Korsmeyer-Peppas

Otro modelo empleado para el estudio de la liberación de fármacos es el de Korsmeyer-Peppas. Este modelo describe la liberación desde un sistema polimérico. Korsmeyes y Peppas desarrollaron una ecuación empírica que analiza la liberación Fickiana y no Fickiana en sistemas poliméricos hinchables y no hinchables (R.W. Korsmeyer, *et al.*, 1983). La ecuación que describe este modelo es la siguiente:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K \cdot t^n \quad [\text{Ec. 4}],$$

donde M_t/M_∞ es la fracción del fármaco que se libera en el tiempo t entre la liberación máxima, K es la constante de velocidad, t es el tiempo y n es el exponente de liberación el cual indica el mecanismo de transporte a través del polímero. En la Tabla 2 se detallan los valores que puede tomar n para describir el mecanismo de liberación.

Tabla 2. Valores para n en la ecuación de Korsmeyer-Peppas para describir el mecanismo de liberación de fármacos (Información obtenida de Paarakh, *et al.*, 2023).

Valor de n	Mecanismo de transporte	Mecanismo de liberación
$n < 0.5$	Difusión cuasi-Fickiana	Matriz no hinchable
$n = 0.5$	Difusión Fickiana	Difusión pura
$0.5 < n < 1.0$	Transporte no Fickiano (anómalo)	Difusión + erosión de la matriz
$n = 1.0$	Transporte caso II	Liberación orden cero. Independiente del tiempo
$n > 1.0$	Transporte de super caso II	Relajación + erosión

Hixson Crowell

El modelo de la raíz cúbica de Hixson describe la liberación desde sistemas donde hay cambios en el área superficial y en el diámetro de las partículas o tabletas. El fundamento de este modelo es que, durante el proceso de disolución, las partículas mantienen su forma geométrica, pero su tamaño disminuye uniformemente conforme pasa el tiempo. Es decir, el sólido se disuelve, su masa y superficie se reducen tendiendo un efecto directo en la velocidad de liberación (A.W. Hixson & J.H. Crowell, 1931). La ecuación para este modelo es:

$$Q_t^{\frac{1}{3}} - Q_0^{\frac{1}{3}} = K_{HC} \cdot t \quad [\text{Ec. 5}],$$

donde la raíz cúbica establece que la cantidad del fármaco liberado es directamente proporcional a la diferencia entre la raíz cubica de la masa inicial y la raíz cubica de la masa remanente en el tiempo. Q_t es la cantidad restante del sólido en el tiempo t , Q_0 es la cantidad inicial y K_{HC} la constante de velocidad.

12. Técnicas de caracterización

En este apartado se describen las técnicas de caracterización empleadas para el análisis y estudio de las propiedades fisicoquímicas de los materiales sintetizados en este proyecto. Cada una de las técnicas fueron seleccionadas con base a su capacidad para proporcionar información detallada sobre las propiedades estructurales, funcionales, composición, estabilidad y comportamiento en diferentes condiciones experimentales.

12.1. Difracción de rayos X (DRX)

Esta técnica de caracterización es empleada para el análisis de materiales y obtener información sobre su estructura cristalina y composición química. Permite el estudio de propiedades estructurales, defectos cristalinos, tamaños de grano, composición de fases y orientación de los planos cristalográficos. Una de las ventajas más importantes de esta técnica es que revela que cada material analizado muestra un patrón único de difracción, como si fuera su *huella dactilar*, lo cual facilita su análisis e identificación. El fundamento de la técnica de DRX se basa en la interacción de un haz de rayos X con un material cristalino. Cuando estos rayos inciden sobre el material, una parte de ellos son dispersados en diferentes direcciones debido a la interacción con los electrones de los átomos presentes en el espécimen, esto produce un fenómeno de interferencia que genera un patrón de difracción característico. Las bases de esta técnica están fundamentadas por la *Ley de Bragg*, la cual describe el fenómeno de difracción de los rayos X al interactuar con una muestra cristalina. Esta ley establece que al emplear una longitud de onda constante (λ) para los rayos X que bombardean a la muestra, estos difractan de manera coherente al incidir sobre el espécimen analizado siempre que se cumpla una condición específica de ángulo (θ). Este ángulo está relacionado con las familias de planos cristalográficos presentes en la muestra y tienen una distancia interplanar específica (d) dentro de la estructura cristalina. Esta distancia depende

del tipo de átomos y disposición espacial en la celda unitaria (Bosch Giral & Lara Corona, 2014). Dicho de otra forma, esta ley ayuda a describir como los rayos X son dispersados en fase cuando son reflejados por los planos paralelos de los átomos dentro del cristal. La expresión matemática de la ley de Bragg es la siguiente:

$$n\lambda = 2d\text{sen}\theta \text{ [Ec. 6],}$$

donde n es el orden de difracción (para difracción de polvos $n = 1$), λ la longitud de onda de los rayos X, d es la distancia interplanar y θ el ángulo de difracción.

La ecuación de Debye Scherrer se emplea para determinar el tamaño de cristal a partir de los picos obtenidos en el difractograma.

$$D = \frac{K\lambda}{\beta\cos\theta} \text{ [Ec. 7],}$$

donde D corresponde al tamaño de cristal, K es la constante de Scherrer ($K=1$), λ es la longitud de onda del cátodo emisor, en este caso es cobre con un valor de 1.5406 \AA , β es el ancho del pico a media altura en radianes y θ el ángulo máximo del pico de difracción.

En la Figura 5 se ilustra el comportamiento de los rayos X cuando entran y salen del espécimen con estructura cristalina y la parte medular del difractómetro. En esta figura se puede observar un ángulo 2θ , definido entre la dirección inicial del haz incidente y la posición del detector. El detector sigue una trayectoria circular alrededor de la muestra para capturar las difracciones producidas por los diferentes planos cristalográficos presentes. Cada familia de planos genera un patrón de difracción caracterizado por un ángulo específico de 2θ (Aragón Antonio, 2021).

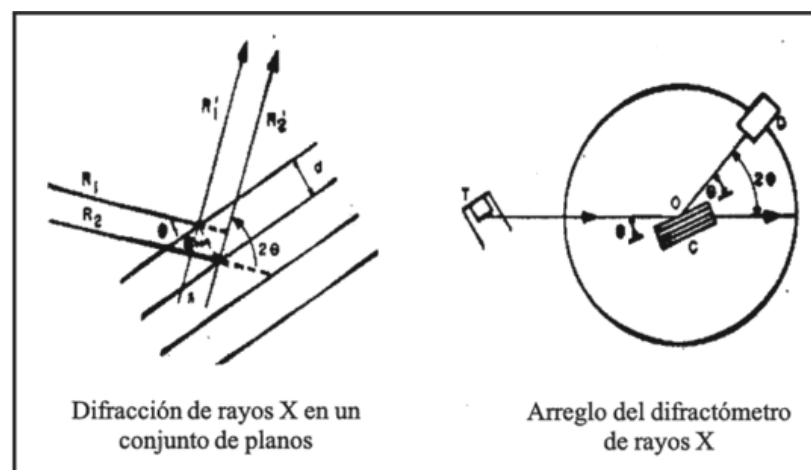


Figura 5. Fenómeno de difracción de rayos X y parte de un difractómetro con un ángulo de 2θ (imagen recuperada de Aragón Antonio, 2021).

12.2. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) es una de las más utilizadas para obtener espectros de absorción o emisión en el infrarrojo de materiales en estado sólido, líquido o gas. El espectro infrarrojo se divide en tres regiones, las cuales se denominan infrarrojo cercano, medio y lejano. Sin embargo, la región más empleada para el análisis de materiales es el infrarrojo medio que tiene un intervalo de números de onda de 4000 a 400 cm^{-1} .

Esta técnica es ampliamente utilizada en análisis cualitativo y cuantitativo, ya que permite identificar la presencia de compuestos orgánicos e inorgánicos en una muestra. Su fundamento se basa en la absorción de radiación infrarroja por moléculas, dependiendo de sus enlaces químicos y estructura. Para que esto ocurra, la vibración o rotación molecular deben generar un cambio en el momento dipolar. Cuando la frecuencia de la radiación coincide con la frecuencia de vibración natural de un enlace, se produce la transferencia de energía que genera un cambio en la amplitud de la vibración molecular, resultando en la absorción de la radiación infrarroja. Cuando hay presencia de moléculas homo nucleares como el O_2 , N_2 o Cl_2 no hay un cambio en el momento dipolar por lo que no absorben este tipo de radiación y no se pueden identificar o son difíciles.

No hay una posición específica de los átomos en una molécula, sino que éstos fluctúan entre sí debido a los diferentes tipos de vibración. Se pueden distinguir dos tipos de *vibración tensión y flexión*. En la vibración de tensión los átomos que se encuentran unidos por enlaces sencillos, dobles o triples se acercan y/o alejan con una sola dirección de enlace. Este tipo de vibración se divide en simétrica y asimétrica. La vibración de flexión se distingue por el cambio en el ángulo entre dos enlaces y hay cuatro tipos: tijeleteo, balanceo, aleteo y torsión. En la Figura 6 se representan esquemáticamente los diferentes tipos de vibración.

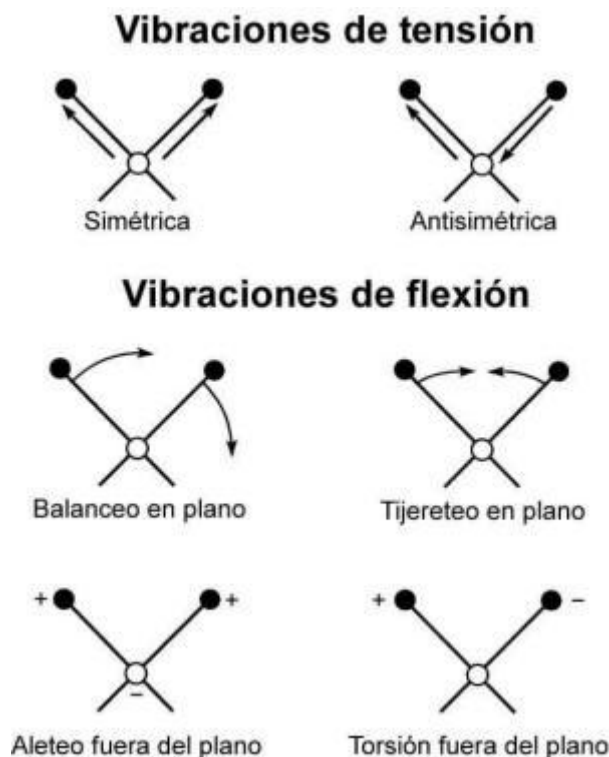


Figura 6. Modelos de vibración de tensión en IR (imagen obtenida de Skoog & Leary, 1994).

Como resultado de esta técnica se obtiene un espectro infrarrojo, como se muestra en la Figura 7, donde el eje x indica los números de onda en unidades de cm^{-1} y el eje y corresponde a la transmitancia.

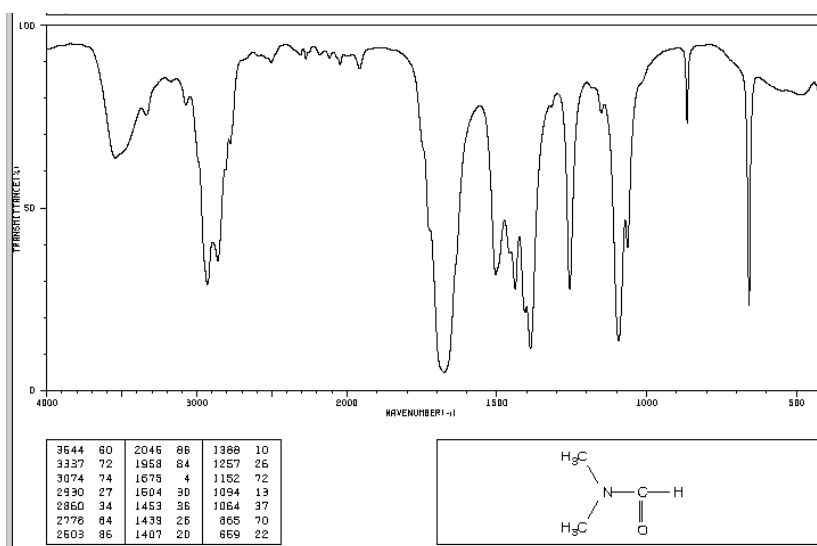


Figura 7. Espectro IR para DMF (imagen obtenida de SDBS, 2017).

12.3. Espectroscopía Ultravioleta visible (UV-vis)

La técnica de espectroscopia ultravioleta-visible (UV-vis) es una técnica analítica empleada para la caracterización de una solución, permitiendo obtener información sobre la concentración de un analito, identificación de grupos funcionales y análisis de muestras problema. Su fundamento radica en la interacción de radiación electromagnética dentro con la muestra, donde los compuestos absorben radiación dentro del rango ultravioleta (UV) y visible (vis), la sustancia presente en la muestra absorbe parte de esta luz y el restante, conocida como *luz transmitida*, se va a registrar en un detector en función de la longitud de onda, generando un espectro UV-vis único de la muestra analizada.

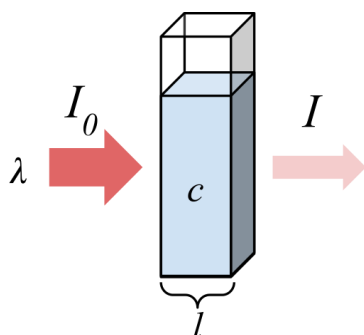


Figura 8. Atenuación de un haz de radiación al atravesar una solución.

En la Figura 8 se ilustra el esquema de la atenuación de un haz de radiación antes y después de atravesar una solución de concentración c y con un grosor l en cm. La interacción de la luz con las partículas presente en la muestra hace que haya una atenuación de la luz, donde I_0 es la luz incidente y I la luz transmitida, por lo tanto, la transmitancia (T) se describe como la fracción de luz incidente que se transmite

$$T = \frac{I}{I_0} \quad [\text{Ec. 8}].$$

También se puede expresar en porcentaje:

$$\%T = \frac{I}{I_0} \times 100 \quad [\text{Ec. 9}].$$

La absorbancia (A) es la cantidad de luz absorbida por la solución y se expresa como:

$$A = -\text{Log}_{10}T = \log \frac{I_0}{I} \quad [\text{Ec. 10}].$$

La concentración de la muestra analizada se puede determinar a partir de su absorbancia empleando la *Ley de Beer-Lambert*, la cual se define como:

$$A = \epsilon * c * l \quad [\text{Ec. 11}],$$

donde A es la absorbancia, ε el coeficiente de absorción molar [$\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$], c es la concentración de analito presente en la muestra [mol/L] y l la longitud del paso óptico de la celda [cm]. Esta Ley describe que A es proporcional a la concentración del analito en la muestra y esto permite la cuantificación de sustancias presentes en una solución.

12.4. Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

La microscopía electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés), es una técnica de caracterización empleada para obtener imágenes de alta resolución con escala nanométrica. Esta técnica emplea un haz de electrones que se transmite a través del espécimen. La interacción entre los electrones y el espécimen genera contrastes que permite obtener imagen sobre la morfología, detalles estructurales y también atómicos (Calderón, 2020).

12.5. Adsorción de nitrógeno

La fisisorción de nitrógeno es una técnica empleada para caracterizar la textura de un espécimen. Se obtiene información sobre el área superficial y porosidad de materiales nanoporosos (Chem, 2023). La información sobre el área superficial se obtiene por medidas de fisisorción de nitrógeno, por el método BET. Este método se basa en la medida sucesiva del volumen de un gas no polar, generalmente nitrógeno, el cual se adsorbe sobre la superficie interna de los poros de un sólido. De forma paralela, se mide la presión de las moléculas que se adsorben. Esto se hace hasta que se alcanza la saturación de la superficie del espécimen. La distribución del tamaño de poro ayuda a predecir la difusividad y facilidad de acceso que tendrán otras moléculas al interactuar con el espécimen (Caballero Suárez, 2002). Dependiendo de la porosidad y tipo de superficie se obtendrá como resultado algún tipo de isoterma como se muestra en la Figura 9.

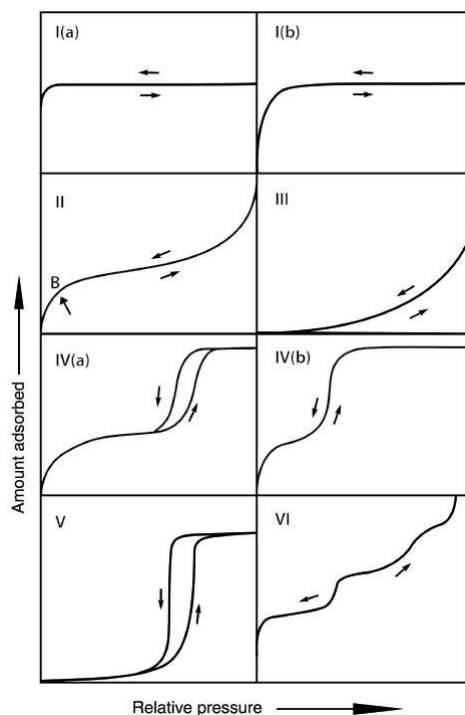


Figura 9. Isotermas obtenidas en fisorción de nitrógeno.

La IUPAC clasifica a los poros de la siguiente forma: microporos aquellos que tienen un ancho menor a 2 nm, mesoporos con un ancho entre 2 y 50 nm, y los macroporos con ancho mayor a 50 nm.

12.6. Resonancia magnética nuclear (RMN)

La resonancia magnética nuclear (RMN) es una técnica analítica empleada para obtener información sobre la estructura molecular y la composición química y dinámica molecular de una muestra. Se basa en el principio de que los núcleos atómicos con spin distinto de cero como ^1H y ^{13}C interactúan con un campo magnético externo, absorbiendo radiación electromagnética dentro de la región de radiofrecuencia, la cual induce a una transición de los espines nucleares, los cuales se pueden observar en un espectro de RMN (Sergio, 2017). Para el análisis de los resultados, existe una amplia base de datos con desplazamientos químicos reportados que ayudan a asignar las señales obtenidas en los espectros de RMN.

En este trabajo se empleó la RMN de hidrógeno, donde únicamente se midieron los núcleos del isótopo ^1H .

12.7. Dispersión de luz dinámica (DLS)

La técnica de dispersión de luz dinámica (DLS) es una técnica espectroscópica no destructiva y no invasiva, ampliamente utilizada en áreas como bioquímica, química y física para obtener información sobre el tamaño y la distribución de moléculas o partículas en solución o suspensión. Durante el análisis, la muestra se irradia con un haz láser, frecuentemente de

helio-neón con una longitud de onda de 632.8 nm, que atraviesa un polarizador para seleccionar la polarización del haz incidente. Si las partículas presentes en la muestra son más pequeñas que la longitud de onda de la luz utilizada, esta se dispersa en todas direcciones, fenómeno conocido como *dispersión de Rayleigh*. La luz dispersa es captada por un analizador de polarización y dirigida a un detector, donde se registra la intensidad de la señal en función del ángulo de dispersión (θ), durante intervalos entre 30 y 120 segundos (Microtrac, S.F).

Las partículas en movimiento dentro del medio generan fluctuaciones de intensidad en la luz dispersa y a partir de la correlación temporal de estas fluctuaciones se puede obtener el coeficiente de dispersión correspondiente a su movimiento Browniano. La media Z indica el tamaño medio de las partículas, es decir, es el tamaño medio ponderado por intensidad, mientras que el índice de polidispersidad (PDI) indica que tan dispersa u homogénea es la muestra en términos de tamaño de partícula. Un valor de $PDI < 0.30$ indica que el sistema puede considerarse monodisperso, un $PDI > 0.30$ es polidisperso y $PDI > 0.5$ es muy heterogéneo y poco estable. En la Figura 10 se muestran los resultados obtenidos mediante esta técnica que consisten en una tabla de datos estadísticos, distribución del tamaño de partículas, correlograma y distribución de tamaño por número.

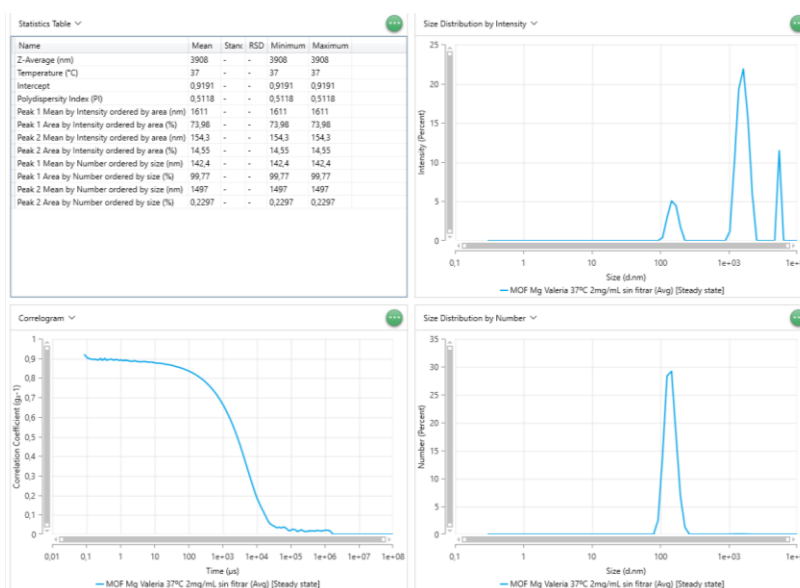


Figura 10. Resultados obtenidos en la técnica de DLS.

12.8. Dispersión de luz electroforética (ELS)

La técnica de ELS es empleada para medir el movimiento electroforético y potencial ζ de las partículas de una muestra en solución o dispersión. Para realizar esta técnica se introduce la muestra en una celda con dos electrodos y se le aplica un campo eléctrico, las partículas

cargadas se moverán al electrodo con carga opuesta y la velocidad es proporcional a la carga. La velocidad se mide mediante el análisis de luz láser dispersada, la cual debido al movimiento va a experimentar el *efecto Doppler* que es un desplazamiento de frecuencia. Esta movilidad electroforética se pasa a potencial zeta empleando la ecuación de Henry, que se expresa como:

$$\mu_e = \frac{2\epsilon\zeta}{3\eta} f(\kappa\alpha) \text{ [Ec. 12]},$$

donde μ_e es la movilidad electroforética [$\text{m}^2/\text{V}\cdot\text{s}$], ϵ es la constante dieléctrica del medio [F/m], η la viscosidad absoluta del medio, ζ corresponde al potencial eléctrico en el plano de corte [mV o V] y $f(\kappa\alpha)$ es el factor de corrección y es dependiente de la relación del radio de la partícula y el grosor de la doble capa eléctrica (Microtrac, S.F).

El potencial ζ es la medida de la magnitud de la repulsión o atracción electrostática de las partículas. Este dato ayuda a saber de forma más precisa las causas de agregación o dispersión. Se dice que el material es estable cuando el potencial ζ [$(-\infty \rightarrow -30)$ y $(30 \rightarrow \infty)$] y es inestable $(-30 \rightarrow 30)$ (Zsófia, *et al.*, 2022).

Objetivos

General

Evaluar el efecto de protección de los flavonoides quercetina y catequina, como antioxidantes en una línea celular, usando una red metal orgánica de magnesio.

Específicos

- Implementar la síntesis por metátesis de una red metal orgánica de magnesio con el ligante orgánico ácido 2,5-dihidroxi benceno dicarboxílico.
- Diseñar nuevas redes metal orgánicas usando los flavonoides quercetina y catequina como ligantes orgánicos y el magnesio como centro metálico.
- Adsorber los flavonoides quercetina y catequina, en la MOF de magnesio.
- Determinar las propiedades fisicoquímicas de los materiales obtenidos mediante: difracción de rayos X, espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier, adsorción de N_2 , resonancia magnética nuclear, dispersión de luz dinámica y microscopía electrónica de transmisión.
- Evaluar la desorción de los flavonoides mediante diferentes modelos cinéticos.
- Evaluar el estrés oxidativo celular de los flavonoides y los materiales generados en la línea celular HeLa.
- Correlacionar los resultados obtenidos para determinar el efecto de protección de las redes metal orgánicas de magnesio en la actividad oxidativa de los flavonoides.

Hipótesis

El uso de una red metal orgánica de magnesio como excipiente permite la adsorción y liberación de los flavonoides quercetina y catequina en medio fisiológico. El efecto en el estrés oxidativo celular dependerá del tipo de flavonoide encapsulado o que forme parte de la MOF, lo que impacta en el tratamiento de enfermedades relacionadas con la generación de especies reactivas de oxígeno. La MOF permite una liberación gradual de las sustancias activas protegiéndolas de la degradación y mejorando su absorción en el organismo.

Justificación

Los flavonoides son compuestos naturales presentes en una variedad de alimentos, como las frutas, verduras, semillas, vino, té y chocolate negro. Aunque presentan beneficios para la salud, su concentración dentro de estos alimentos se ve afectada por factores como el procesamiento de alimentos y condiciones de almacenamiento.

En el ámbito médico, los flavonoides han suscitado un gran interés debido a sus propiedades farmacológicas y antioxidantes. Su capacidad para unirse a polímeros biológicos, formar quelatos con iones metálicos y reducir los radicales libres en el organismo, los hace prometedores para el tratamiento de diversas enfermedades, incluyendo el cáncer, cardiopatías, infecciones virales, inflamaciones y úlceras. A pesar de su utilidad, su eficacia terapéutica puede estar limitada por la forma en que se administran. La vía oral es la forma más común de administración, pero factores como las enzimas, alimentos y pH presentes en el tracto gastrointestinal afectan su biodisponibilidad al degradar rápidamente al excipiente empleado.

Las redes metal orgánicas (MOF) ofrecen un potencial prometedor para mejorar la administración de fármacos, gracias a su flexibilidad estructural y propiedades únicas. Investigaciones previas han demostrado que las MOF MIL-101 (Fe) y ZIF-8 tienen un potencial en la administración de fármacos.

En este estudio se propone utilizar una MOF a base de magnesio como excipiente para el almacenamiento de los flavonoides, quercetina y catequina como sustancias activas. El magnesio es un metal que se puede encontrar de forma natural en el organismo y se emplea para el tratamiento de enfermedades o trastornos en el área médica.

Capítulo II

Procedimiento experimental

1. Materiales

Todos los reactivos que se utilizaron en el desarrollo de este proyecto son de grado analítico y sin purificación previa. Para la síntesis de la MOF-Mg se empleó la sal metálica de nitrato de magnesio hexahidratado ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 95%), los ligantes orgánicos empleados fueron ácido 2,5-dihidroxitereftálico (DOBDC, 98%), ácido tereftálico (BDC, 99%) y ácido trimésico (BTC, 99%) y como solventes se emplearon agua desionizada (H_2O), etanol (EtOH) y N,N-dimetilformamida (DMF, 99.8%). Para los complejos de flavonoides-magnesio se emplearon los flavonoides catequina hidratada (98%), quercetina (>95%) y como disolventes H_2O y EtOH. Todos suministrados por Sigma-Aldrich.

2. Síntesis de MOF-Mg

La MOF-Mg se sintetizó por agitación a temperatura ambiente, empleando como disolvente único N,N-dimetilformamida (DMF), como ligante se empleó ácido 2,5-dihidroxitereftálico (DOBDC) y como sal metálica $\text{Mg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$. La relación estequiométrica fue [2:1] como se observa en la Figura 11. La primera solución se preparó con 1.0 mmol de DOBDC en DMF y la segunda solución contenía 2.0 mmol de la sal metálica en 3 mL de DMF, ambas soluciones se mantuvieron en agitación hasta obtener una mezcla homogénea. La segunda solución se agregó a la primera gota a gota en agitación constante en un periodo de 10 minutos. Se observó la formación de un precipitado de color amarillo claro y se mantuvo en agitación durante 24 h. El sólido obtenido se recuperó por centrifugación a 4000 RPM y se realizaron lavados con DMF y metanol (MeOH). Finalmente, el sólido se dejó secar en un horno a 60°C hasta la eliminación total del MeOH residual. Esta metodología se realizó 3 veces, para confirmar que esta síntesis es reproducible.

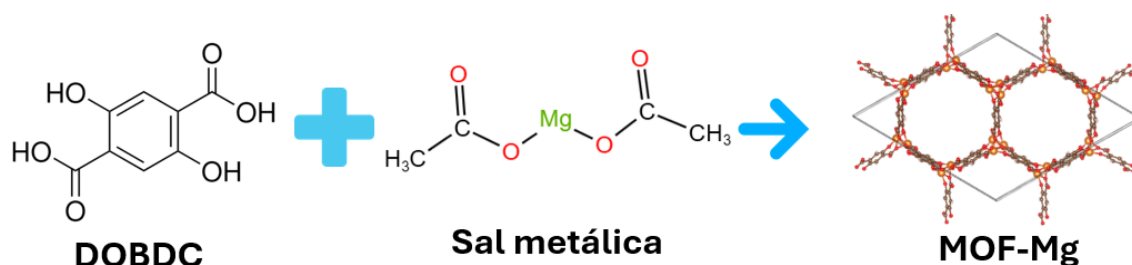


Figura 11. Reacción para la formación de MOF-Mg.

3. Síntesis de complejos Flv-Mg

La síntesis del complejo catequina-magnesio (Cat-Mg) se realizó siguiendo la metodología reportada por Ghosh, *et al.* (2015), mediante agitación a temperatura ambiente. En un matraz se colocaron 0.2 g de catequina (Cat) en 40 mL de EtOH y se hizo ajuste de pH a 9 con solución de NaOH 0.1 M; esta mezcla se mantuvo en agitación hasta su completa disolución. En otro matraz se disolvieron 0.1765 g de $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ en 20 mL de agua Milli-Q, también bajo agitación hasta lograr la disolución completa. Con un rotavapor se eliminaron los disolventes, y el sólido obtenido se secó a 42°C durante 2 días, con el fin de eliminar la humedad residual. Finalmente, el sólido se pulverizó, obteniéndose un polvo color naranja.

Para la síntesis del complejo quercetina-magnesio (Quer-Mg) se siguió la misma metodología. Se disolvieron 0.2 g de quercetina (Quer) en 100 mL de EtOH manteniendo la mezcla en agitación hasta su disolución. En otro matraz, se disolvieron 0.1720 g de $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ en 20 mL de agua Milli-Q y se agitó hasta disolución completa. Una vez disuelta la sal de magnesio, se añadió a la solución de Quer y se dejó en agitación durante 24 h. Con un rotavapor se eliminaron los disolventes y se secó a 42°C durante 3 días. El sólido obtenido se pulverizó, obteniéndose un polvo color marrón.

4. Adsorción de Flv en MOF-Mg

La adsorción de Flv se llevó a cabo mediante encapsulamiento. Inicialmente se realizó una curva de calibración para Quer y Cat con una concentración inicial de 45 mg/L y 200 mg/L. A partir de estas soluciones se prepararon disoluciones de 40, 35, 30, 25, 20 y 10 mg/L para Quer y 150, 130, 110, 90, 70, 50, 30 y 10 mg/L para Cat. La capacidad de adsorción se evaluó colocando 0.2 g de MOF en 10 mL de solución madre de cada Flv. Esta solución se agitó durante 24 h y posteriormente, el sólido se separó mediante centrifugación para su caracterización. La cantidad de Flv adsorbida en la MOF se determinó por la diferencia de la concentración inicial y final en el líquido remanente. Finalmente, los materiales se etiquetaron como MOF-Mg/Quer y MOF-Mg/Cat.

5. Liberación de Flv

La liberación de Flv se realizó en PBS a un pH de 7.4. para ello, se tomaron 3 mg de MOF-Mg/Quer y MOF-Mg/Cat y se colocaron en membranas de diálisis semipermeable de celulosa de acetato (MWCO 12 kDa) con 1.5 mL de PBS, las cuales se sellaron y sumergieron en viales con 20 mL de PBS. Los sistemas se mantuvieron en una incubadora a 37°C y 80 RPM. Se tomaron alícuotas del medio externo en intervalos de 15 min para su análisis por UV-vis, con el fin de cuantificar la cantidad de flavonoide liberado en función del tiempo. Finalmente, se construyó la curva de liberación de cada Flv para su análisis.

6. Proliferación celular

Este ensayo se realizó en el departamento de Genética y Biología Molecular del Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, CDMX. Se sembraron tres cultivos celulares de la línea celular HeLa en placas de 48 pocillos y se cultivaron durante 24 h a 37°C y 5% CO₂. Los materiales que se estudiaron fueron MOF-Mg, MOF-Mg/Quer, MOF-Mg/Cat, Quer y Cat, para lo cual se realizaron suspensiones de 1mg/ml de cada material en DMSO. Las muestras se agitaron con vortex para garantizar que se mantuvieran en suspensión. Posteriormente se trató la línea celular por 24 y 72 h con una concentración final de 20 µg/mL para MOF-Mg, MOF-Mg/Quer y Quer, para MOF-Mg/Cat y Cat libre se usaron dos concentraciones: 10 y 40 µg/mL. Para el análisis de proliferación se empleó el ensayo de Azul Alamar. Para esto, después de cada uno de los tiempos antes mencionados, se sacaron las placas de la incubadora, se retiró el medio de cultivo de los pocillos y se lavaron las monocapas con 500 µL de PBS, posteriormente se agregaron 225 µL de OPTIMEM y 25 µL del reactivo Azul Alamar por pozo, para incubarse nuevamente durante 3 h. Finalmente, se tomaron 125 µL de cada pocillo a una placa de fondo plano y opaca para llevarlas al fluorómetro Fluoroskan Ascent FL (Labsystems).

7. Especies reactivas de oxígeno

Este ensayo se realizó en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Fisiología de la Universidad de Valladolid, España. Se sembró la línea celular HeLa en una placa de 96 pocillos y se cultivaron durante 24 h a 37°C y 5% CO₂. Para determinar si los materiales causaban estrés oxidativo se utilizó la sonda molecular H₂DCFDA, la cual se preparó a una concentración de 20 µM en DMSO anhidro. Los materiales por analizar fueron los sintetizados en este proyecto, para eso se prepararon suspensiones con dos concentraciones: 25 y 100 µL/ mL en 1 mL de PBS. Las muestras se agitaron con vortex para mantenerlas en suspensión. Después de la incubación celular, se eliminó el medio y los pocillos se lavaron con 100 µL de PBS, posteriormente se añadieron 100 µL/pocillo de H₂DCFDA y se incubaron durante 45 min. Transcurrido este tiempo, se aspiró la sonda molecular y se añadieron 100 µL de las suspensiones de los materiales y para el control positivo se empleó H₂O₂. La placa se incubó durante 1 h y finalmente con un fluorómetro se hizo la lectura para el análisis cuantitativo.

8. Procedimiento de caracterización

Las propiedades fisicoquímicas de los materiales sintetizados se determinaron mediante difracción de rayos X (DRX), espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), microscopía electrónica de transmisión (MET), adsorción de nitrógeno, dispersión de luz dinámica (DLS), espectroscopía ultravioleta visible (UV-vis) y para los complejos Flv-Mg también se empleó resonancia magnética nuclear (RMN).

La técnica de DRX se empleó para obtener información sobre la estructura cristalina de los materiales y determinar la obtención de estos. También, se utilizó para determinar si la estructura de la MOF se mantenía después de la adsorción de los Flv. Con la ecuación de Debye-Sherrer se determinó el tamaño de cristal. El análisis se realizó con un equipo de difracción de polvos marca Philips, modelo X'PERT PRO, en UAM Azcapotzalco, Edificio W, primer piso. El intervalo 2θ empleado fue de $5-50^\circ$, con un tamaño de paso de 0.02 y tiempo de barrido de 0.4 s.

Para el análisis de grupos funcionales y la presencia de los Flv en la MOF se utilizó la técnica de FTIR. Para el análisis se empleó un espectrómetro Bruker Tensor-27, en UAM Azcapotzalco, edificio W, primer piso. Con un intervalo de $4000-500\text{ cm}^{-1}$, a temperatura ambiente, mediante la técnica de reflexión total atenuada (ATR) con una solución de 2 cm^{-1} y 24 scans.

La determinación del área superficial y tamaño de poro se realizó mediante la técnica de adsorción de N_2 , utilizando un equipo Microtrac modelo BS0008 de la marca BEIJapan. Las muestras fueron sometidas a un pretratamiento en condiciones de vacío (0.5 kPa) a 90°C durante 24 h. El análisis se llevó a cabo a 77 K , empleando N_2 líquido. A partir de los datos obtenidos se generaron las isotermas de adsorción, el área superficial mediante el modelo BET, así como el tamaño de poro.

Las curvas de calibración y los espectros de absorción de los Flv se obtuvieron con un espectrofotómetro Shimadzu, modelo UV-1280 UV-VIS Spectrophotometer. Las longitudes de onda fueron de 258 nm para Quer y 278 para Cat.

La morfología se obtuvo mediante TEM, utilizando un equipo JEOL JEM-1011 HR equipado con cámara CCD ES1000W en el Laboratorio de Técnicas Instrumentales, de la Universidad de Valladolid (L.T.I-Uva) en España. Las muestras fueron preparadas con una concentración de 1 mg/mL de H_2O Milli-Q, se colocó 0.1 mg/mL de la muestra en una rejilla de cobre de 300 mesh recubierta con carbono y se dejó en reposo por 3 min. El exceso del líquido se retiró por blotting y posteriormente se dejó en acetato de uranilo al 1% por 1 min y con blotting se retiró el exceso. Las rejillas se dejaron secar a temperatura ambiente.

El tamaño de partícula se midió con un equipo Zetasizer Pro con retrodispersión no invasiva de la marca Malvern Panalytical, en el L.T.I-Uva con un ángulo posterior de 173° y ángulo frontal 13° , con rango de medición de 0.3 nm a $10\text{ }\mu\text{m}$ y volumen mínimo de 0.2 mg/mL . Se prepararon muestras con 2 mg/mL en agua MilliQ/EtOH y se filtraron con un filtro de $0.2\text{ }\mu\text{m}$. El potencial ζ se determinó con el mismo equipo, pero cambiando los parámetros a un diámetro de 3.8 nm y $100\text{ }\mu\text{m}$ con un volumen de muestra de $800\text{ }\mu\text{L}$. Todo el análisis se llevó a cabo a una temperatura de 37°C simulando la temperatura corporal, ya que estos materiales tienen como objetivo ser empleados como excipientes de fármacos. Para todas las muestras, las mediciones se hicieron por triplicado.

El estudio de los complejos de Flv-Mg se realizó con RMN con un espectrómetro Agilent MR 400 equipado con sonda fría y VRMNS 500 en el Parque Científico de la Universidad de Valladolid, España. Los tubos de precisión para RMN fueron de 5 mm de sección y vidrio. El disolvente empleado fue dimetil sulfóxido- d_6 (DMSO- d_6).

Capítulo III

Propiedades fisicoquímicas de MOF-Mg

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos mediante las técnicas de caracterización descritos anteriormente para la MOF-Mg.

1. Análisis estructural

En la Figura 12 se muestra el patrón de difracción obtenido por DRX para la MOF-Mg el cual se comparó con el teórico reportado por Pato-Doldán, *et al.*, (2017), se observó que el difractograma de la MOF-Mg presentó picos característicos en diferentes ángulos de Bragg, que coinciden con el teórico. Sin embargo, se puede observar un ligero ruido de fondo, esto se puede atribuir a una pérdida de cristalinidad debido a los lavados realizados para eliminar los residuos de DMF o ligante orgánico sin reaccionar. También, es importante mencionar que en la síntesis reportada emplean una mezcla de disolventes y un reactor con cubierta de teflón, el cual se coloca en una autoclave a 130°C durante 24 h y para este proyecto la síntesis fue realizada a temperatura ambiente empleando la menor cantidad posible de DMF (10 mL) y disminuir el gasto energético.

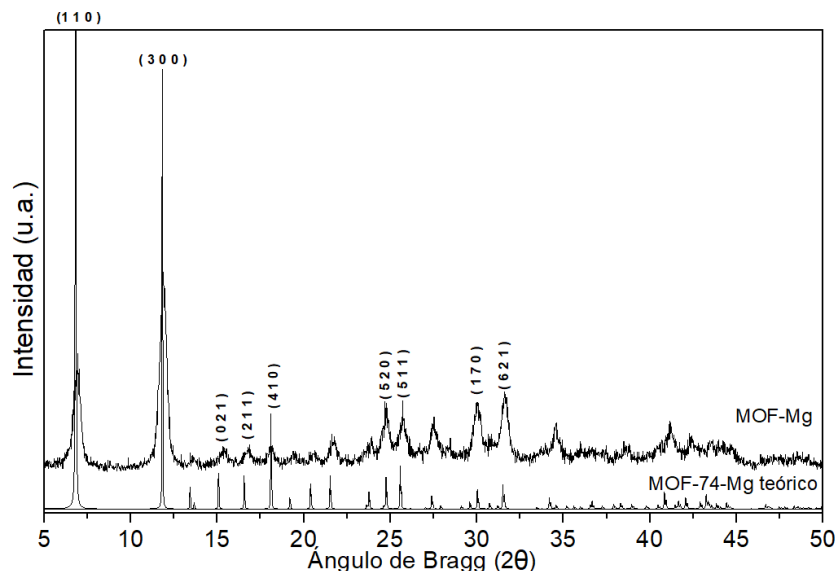


Figura 12. Patrón de difracción de MOF-Mg comparado con el teórico reportado.

Para la estructura cristalina teórica se reportó un sistema cristalino trigonal con ejes hexagonales. En la Tabla 3 se reportan los parámetros de red teóricos para esta estructura y en la Figura 13 se esquematiza la coordinación entre los oxígenos del ligante con los centros metálicos donde se puede observar la formación de hexágonos similares a un panal de abeja, estructura característica de la familia de MOF-74.

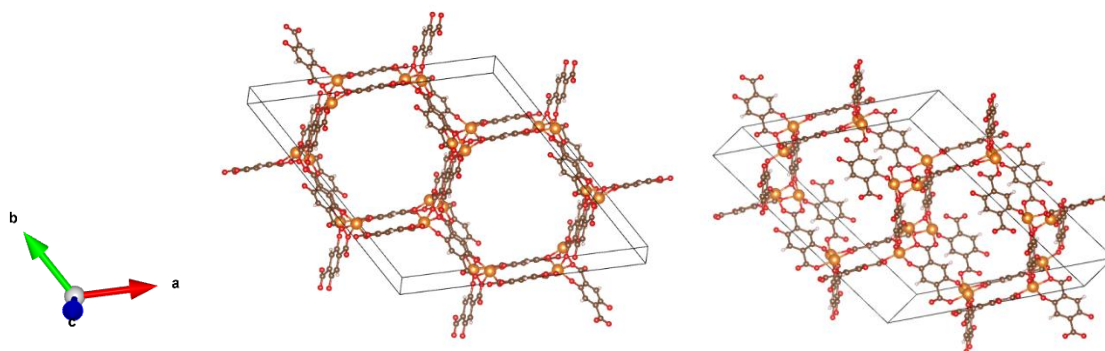


Figura 13. Representación de MOF-Mg.

A partir del difractograma experimental, se realizó la indexación de los picos característicos empleando los planos reportados para la estructura cristalina hexagonal de la MOF-74 de magnesio. Como se mencionó anteriormente, la estructura cristaliza en un sistema hexagonal donde: $a = b \neq c$, $\alpha = \beta = 90^\circ$, $\gamma = 120^\circ$. Por lo tanto, únicamente se calcularon los parámetros a y c obtenidos a partir de la ecuación 6 y la ecuación correspondiente para una celda unitaria hexagonal (Ec. 13).

$$\frac{1}{d_{hkl}^2} = \left[\frac{4}{3} (h^2 + k^2 + hk) + l^2 \left(\frac{a}{c} \right)^2 \right] \frac{1}{a^2} \quad [\text{Ec. 13}].$$

En la Tabla 3 se reportan los valores teóricos y experimentales. En comparación, se observó una buena concordancia entre ambos valores, esto confirmó la formación de la fase cristalina característica para esta red metal orgánica.

La ligera variación de datos se puede atribuir a una expansión en a de solamente 0.23 % y una contracción de 0.30 % en c , lo que se atribuye a dos posibles efectos: 1) por un lado una mayor cantidad de moléculas de solvente o de ligante sin reaccionar que se quedan ocluidos en la estructura porosa del material y 2) posibles defectos estructurales. Debido a que el material fue lavado con metanol para remplazar las moléculas de DMF es posible que la cantidad de solvente disminuye, sin embargo, es necesario corroborar estas hipótesis mediante otras técnicas de caracterización.

Tabla 3. Parámetros de red teóricos y experimentales para MOF-Mg.

	<i>Teórico</i>	<i>Experimental</i>
$a=b$ (Å)	25.91	25.97 ± 0.17
c (Å)	6.91	6.90 ± 0.02

Con la ecuación 7 de Debye Scherrer se calculó el tamaño de cristal para los dos picos característicos de la MOF-Mg. Para el pico en $2\theta = 6.95^\circ$ (110) se obtuvo un tamaño de (343 ± 34) nm y (329 ± 8) nm para el pico en $2\theta = 11.85^\circ$ (300). Este resultado indica que los cristales formados mediante la metodología empleada se encuentran en el orden de

nanomateriales y que tienen un crecimiento similar en las direcciones a y b. No se usaron otros picos debido a la baja cristalinidad del material, lo que aumenta el ruido del difractograma en ángulos de Bragg mayores.

2. Grupos funcionales

En la Figura 14 se muestra el espectro FTIR obtenido para la MOF-Mg. Para su análisis, se comparó con los espectros reportados para DMF y MeOH en la base de datos SDBS. En la región de $3500-3200\text{ cm}^{-1}$, se observa una banda atribuida al enlace O-H, la cual puede corresponder al ligante DOBDC, restos de MeOH o humedad. No se observaron bandas atribuidas al DMF, lo que confirma que fue desplazada por el metanol en los lavados realizados a la MOF. La banda ubicada en 1574 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento asimétrico del carboxilato ($-\text{COO}^-$). De acuerdo con la comparación del espectro reportado por Realista, *et al.*, (2024) para el DOBDC libre, esta banda en la MOF-Mg aparece ligeramente desplazada, lo que sugiere una coordinación del grupo carboxilato con el ion Mg^{+2} . En 1492 cm^{-1} se observa otra banda intensa que corresponde a la tensión de $\text{C}=\text{C}$, característico de la estructura aromática del DOBDC. La banda en 1208 cm^{-1} también se asocia al grupo carboxilato ($-\text{COO}^-$), mientras que en 819 cm^{-1} se observa una banda atribuida a la vibración del enlace $\text{C}=\text{C}-\text{H}$ aromático, característico de bencenos *para*-sustituidos, como el ligante empleado. Finalmente, en 587 cm^{-1} se detecta una banda correspondiente al estiramiento metal-oxígeno, confirmando la interacción entre el ion Mg^{+2} y ligante.

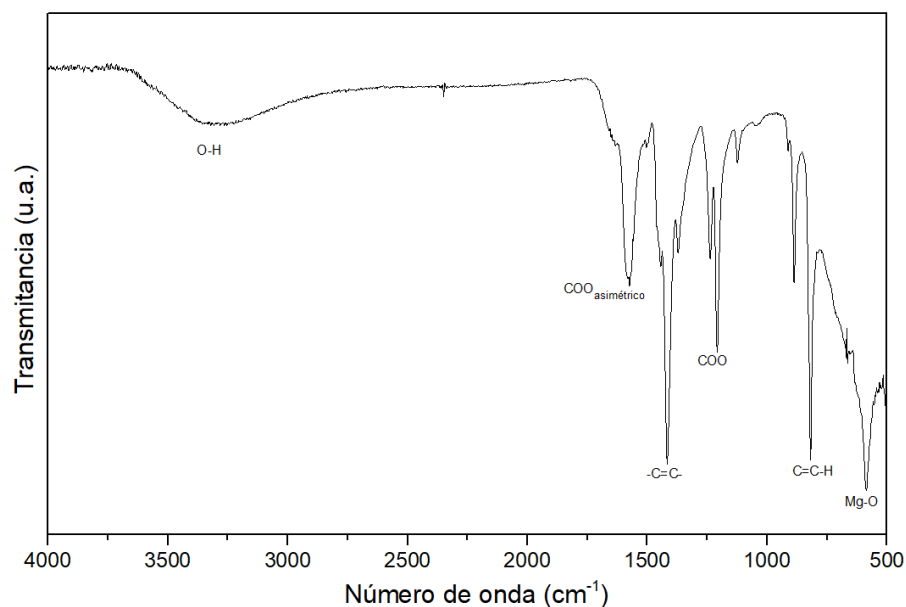


Figura 14. Espectro FTIR de la MOF-Mg.

3. Área superficial y tamaño de poro

En la Figura 15 se visualiza la isoterma de adsorción de N₂ para la MOF-Mg. De acuerdo con la IUPAC la isoterma obtenida es de tipo IV, característica de materiales mesoporosos con poros dentro del rango de 2-50 nm. De acuerdo con el análisis BET se obtuvo un área específica de 457.12 m²/g, un volumen de poro de 0.385 cm³/g y un diámetro promedio de poro de 3.37 nm. Estos resultados corroboran la naturaleza mesoporosa de la MOF y evidencian su porosidad y capacidad de adsorción para el encapsulamiento de moléculas como los flavonoides.

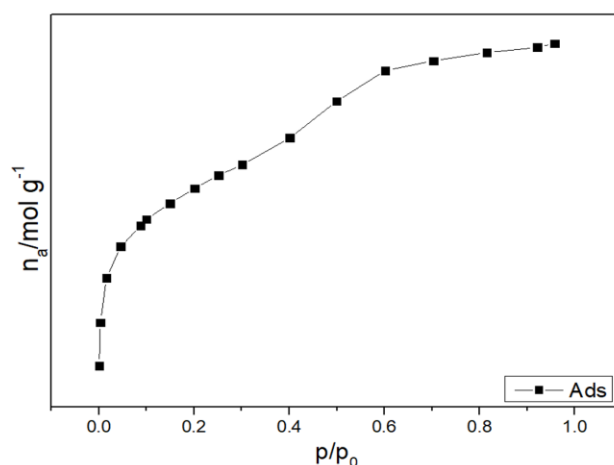


Figura 15. Isotherma de adsorción de N₂ MOF-Mg.

4. Tamaño de partícula y potencial ζ

En la Tabla 4 se reportan los resultados obtenidos mediante las técnicas de DLS y ELS para el tamaño de partícula y el potencial ζ de la MOF-Mg, la cual se almacenó en hielo para mantenerla a 4°C y el equipo se programó para mantener esta misma temperatura. Posteriormente se mantuvo a temperatura ambiente y el equipo se programó a la temperatura de 37°C para obtener la segunda lectura.

Tabla 4. Datos obtenidos por las técnicas de DLS y ELS para MOF-Mg a 4 y 37 °C.

Temperatura (°C)	Tamaño promedio (nm)	PDI	Potencial ζ (mV)
4	80.24	0.2246	-
37	71.05	0.3488	-23.32

De acuerdo con los valores obtenidos, y considerando los criterios reportados en la teoría para el potencial ζ y el índice de polidispersidad (PDI) se considera que la MOF-Mg es un

material monodisperso ($PDI < 0.30$) a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, es decir, que los tamaños de partícula son iguales o no varían mucho. A $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ el $PDI > 0.30$, esto indica una polidispersidad del material en el medio. El potencial ζ a esta última temperatura es $\leq -30\text{ mV}$, este valor indica que es un material con una estabilidad electrostática media, lo cual disminuye ligeramente la formación de agregados o aglomeraciones. Finalmente, se obtuvo un tamaño de partícula promedio de 80.24 y 71.05 nm , a 4 y $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ respectivamente, se observa que, a mayor temperatura menor tamaño, esto es debido a que la disociación es un proceso endotérmico que se favorece al aumentar la temperatura. (Shao, *et al.*, 2024).

La técnica de DLS se realiza dispersando la MOF en una mezcla de agua con etanol, como se indicó en el *capítulo II*, lo que cambia el tamaño de los cristales determinados mediante DRX. Cabe resaltar que en la técnica de difracción los rayos incidentes penetran todo el material y el análisis se realiza con el material sin ningún tratamiento previo. Debido a que el objetivo de este trabajo fue emplear la MOF en medio acuoso para la liberación de flavonoides, es imperante determinar el tamaño de partícula en dichas condiciones.

En artículos previos se ha observado que la MOF-74 tiene una estabilidad de moderada a baja en medio acuoso, llegando a perder hasta 62.9% de su cristalinidad en DMEM + 10% de suero fetal bobino, a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 h (Ángels Ruyra, *et al.*, 2015). Para esta tesis se comparó el tamaño de cristal obtenido mediante DRX (100% de cristalinidad), con el tamaño de partícula cuando la MOF se somete a medio acuoso y $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 3 minutos, obteniendo una reducción de 79% . Cabe destacar que “hasta el momento” se están comparando dos propiedades distintas de los materiales que son: tamaño de cristal y de partícula. Este resultado sugiere que los cristales de gran tamaño se disociaron, lo que podría ocurrir de dos maneras: 1) formando monocristales uniformes de tamaño pequeño y 2) formando policristales que a su vez constituyen agregados de 71.05 nm . Sin embargo, el potencial ζ indica que el material es estable electrostáticamente lo que elimina esta segunda hipótesis.

Este resultado es prometedor en aplicaciones biológicas que buscan que el material tenga una persistencia baja en el organismo para que se aprovechen mejor las propiedades de los precursores y no exista una bioacumulación (Namita, *et al.*, 2021).

5. Morfología

En la Figura 16 se muestran las micrografías TEM para la MOF-Mg con escalas de 50 , 100 y 200 nm . Se observan partículas oscuras bien definidas con morfología casi esférica. Para el histograma de diámetro de partículas se empleó el software imageJ, midiendo el diámetro para cada una de forma manual, posteriormente se realizó el análisis de datos en MatLab donde se generó el histograma haciendo un ajuste Gaussiano. Se realizaron 160 mediciones en total y se obtuvo un diámetro promedio de $(7.5 \pm 0.2)\text{ nm}$. Este resultado indica que el material obtenido exhibe un tamaño nanométrico. Existe una diferencia importante entre el tamaño de cristal obtenido mediante DRX (*sección I*, de este capítulo), esto debido a que para el análisis mediante TEM la muestra se dispersó previamente en agua y como se verá

más adelante la MOF-74, compromete la estabilidad estructural en determinados medios. En el caso de la técnica de DRX, en análisis se realiza en el sólido obtenido sin ningún tratamiento previo.

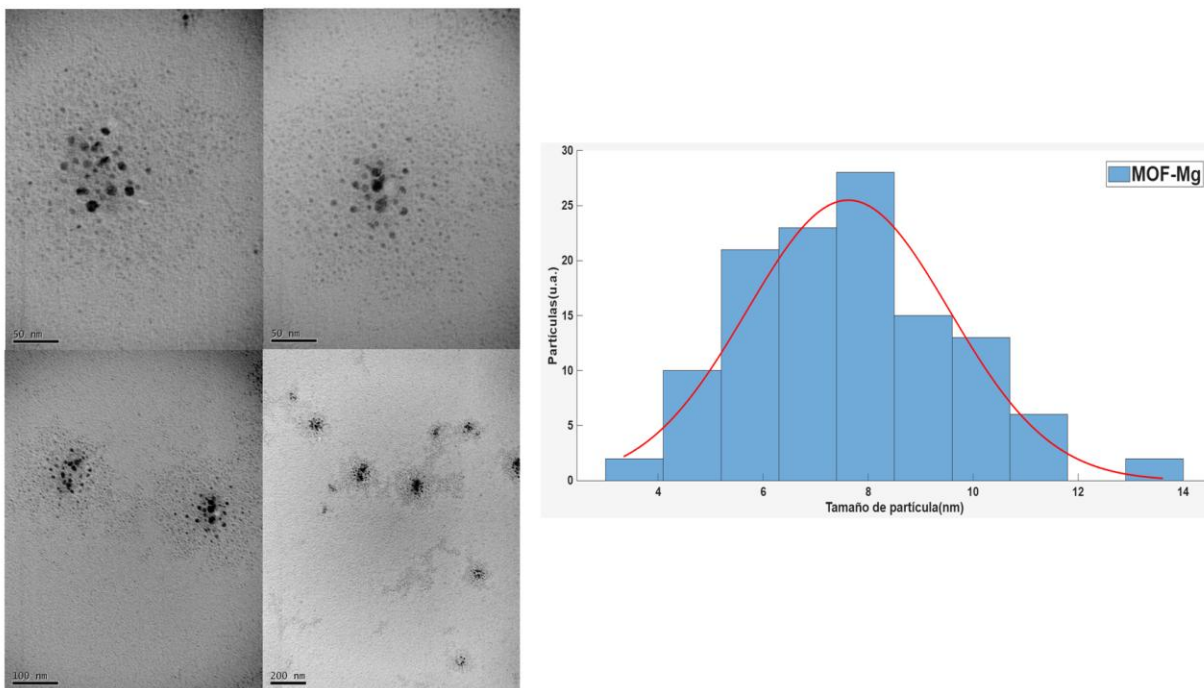


Figura 16. Micrografías TEM e histograma de MOF-Mg.

Capítulo IV
Propiedades de los flavonoides

1. Análisis estructural

En la Figura 17 se presentan los patrones de difracción obtenidos para quercetina y catequina. Para la quercetina se observan picos bien definidos en diferentes ángulos de Bragg específicamente en: 10.8, 12.3, 16.4, 24.7 y 28.4° (2θ), de los cuales la mayoría coincide con el patrón reportado por Abd & Suhailah, (2014), estos resultados indican que el material tiene estructura cristalina. En cambio, para la catequina se observa un patrón amorfo, esto debido a la ausencia de picos de difracción bien definidos y la presencia de una señal ancha entre 15 y 30° (2θ).

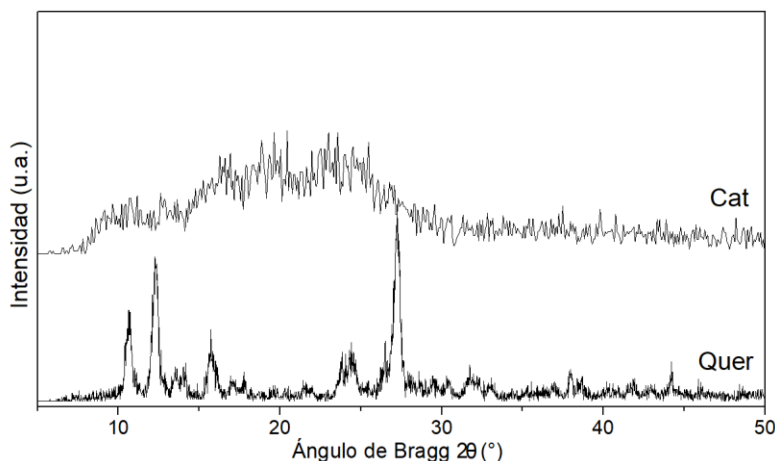


Figura 17. Diffractogramas experimentales de flavonoides.

2. Grupos funcionales

Se realizó un análisis mediante la técnica de FTIR para determinar los grupos funcionales presentes en ambos flavonoides. En la Figura 18 se muestran los espectros FTIR obtenidos y en la Tabla 5 las bandas características de estos polifenoles y el número de onda donde se encontraron. Ambos flavonoides exhiben una banda ancha en la región de $3500-3000\text{ cm}^{-1}$, la cual se atribuye a las vibraciones de estiramiento del grupo hidroxilo (-OH). La quercetina (a) tiene una banda en 1665.95 cm^{-1} atribuida al grupo carbonilo (C=O) presente en su estructura, mientras que la catequina no manifiesta esta banda (b), ya que no tiene este grupo funcional. Ambos flavonoides presentan bandas de estiramiento de enlaces conjugados dobles como C=C en 1607 y 1520 cm^{-1} , y del enlace C-O-H en 1317 cm^{-1} , para ambos compuestos polifenólicos. Finalmente, se observan vibraciones del enlace C-O-C en 824 y 1168 cm^{-1} para Quer y en 1003 y 1144 cm^{-1} para Cat. Estos grupos funcionales son característicos de compuestos polifenólicos y su identificación mediante FTIR confirma la estructura de los flavonoides empleados en este proyecto.

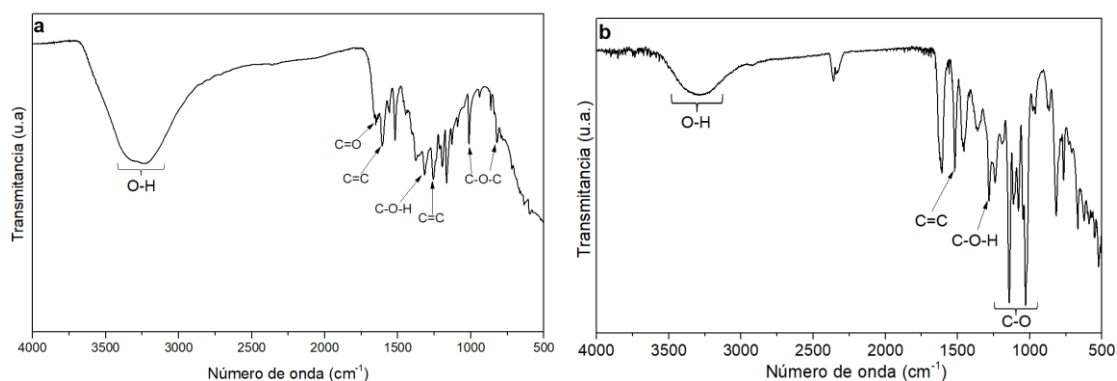


Figura 18. Espectros FTIR para a) Quer y b) Cat.

Tabla 5. Bandas características en FTIR para los flavonoides.

Flavonoide	Numero de onda (cm ⁻¹)				
	O-H	C=O	C=C	C-O-H	C-O-C
Quer	3500-3200	1665.95	1607	1317	824 y 1168
Cat	3400-3100	ausente	1520	1317	1003 y 1144

3. Tamaños de partícula y potencial ζ

En la Tabla 6 se reportan los valores obtenidos para el tamaño de partícula y potencial ζ mediante las técnicas de DLS y ELS. Para la Quer, se obtuvo un tamaño promedio de 5263 nm con un PDI de 0.95, lo cual indica una muestra con un alto grado de polidispersidad, al igual que ocurrió con la MOF-Mg a 37 °C. Este resultado sugiere la formación de agregados o aglomeración en medio acuoso. Para la Cat se obtuvo un tamaño promedio de 124.7 nm y un PDI de 0.281 el cual es < 0.30 , indicando que el material es monodisperso, como se explicó en la *sección 12.7 del capítulo I*. El valor obtenido por distribución de intensidad es cercano al valor promedio, lo cual respalda la homogeneidad del flavonoide.

Para el potencial ζ se obtuvieron valores de -14.78 mV para Quer y -13.8 mV para Cat, indicando una baja estabilidad coloidal, ya que de acuerdo con la literatura se considera que valores ± 30 mV son necesarios para evitar la agregación por repulsión electrostática. Estos resultados coinciden con el reportado por Pool, *et al.*, (2017), quienes obtuvieron un valor de -13.9 mV para la catequina a un pH de 2.5. El menor valor cuantificado para la Quer en el potencial refuerza el resultado obtenido en el tamaño promedio, ya que debido a la baja repulsión electrostática se favorece la formación de agregados (Zsófia, *et al.*, 2022).

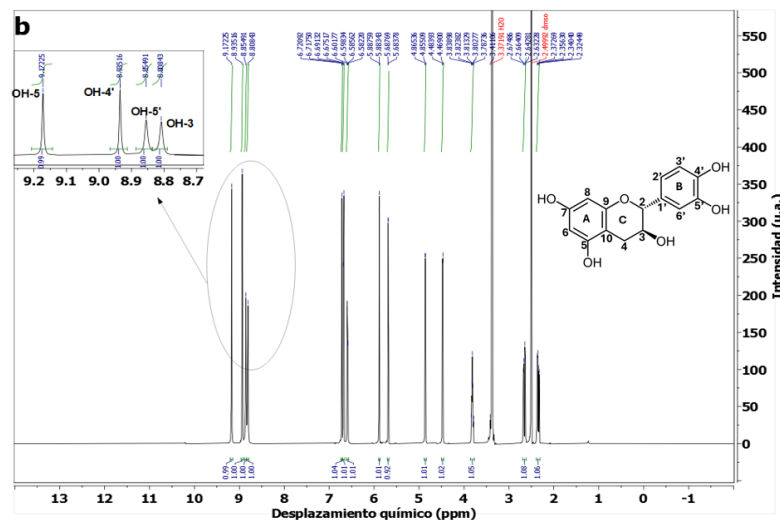


Figura 20. Espectros de ^1H -RMN para a) Quer y b) Cat.

1. Curvas de calibración

Para determinar la concentración de cada flavonoide adsorbido y desorbido de la red metal orgánica, se realizaron los espectros de UV-vis, los cuales se observan en la Figura 20. Las bandas de absorción en espectroscopia UV-vis para los flavonoides están relacionadas con su estructura y ayudan a proporcionar información sobre su interacción con iones metálicos. En particular, los flavonoides, tienen dos bandas características: la banda I, llamada cinamoilo se genera por la unión del anillo B y C presentes en la estructura principal de los flavonoides. La banda II, llamada anillo benzoilo se genera por la interacción del anillo A y C (Özlem Erol & Sandra Irmisch, 2025). Para la Quer, la banda I se encuentra en un intervalo de 300-400 nm y la banda II entre 240-300 nm. En el caso de la Cat la banda I se encuentra entre 270 y 290 nm y la banda II en 240-275 nm (Ghosh, *et al.*, 2015).

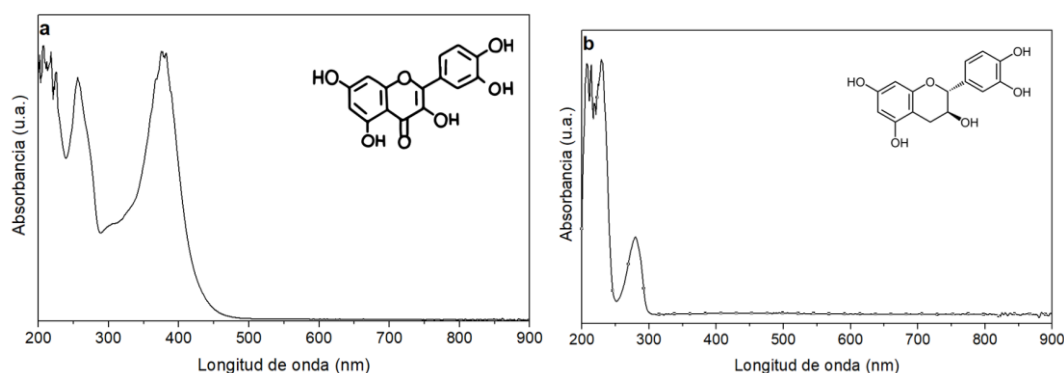


Figura 20. Espectros UV-vis para los flavonoides: a) Quer y b) Cat.

Se realizaron las curvas de calibración para ambos flavonoides (Figura 21), las cuales se construyeron seleccionando una longitud de onda de 258 nm para Quer y 282 nm para Cat,

y graficando la absorbancia máxima contra la concentración. Se observa que existe un factor de correlación superior a 0.99 en el ajuste de ambos flavonoides, lo que corrobora el cumplimiento de la Ley de Beer-Lambert (Skoog & Leary, 1994).

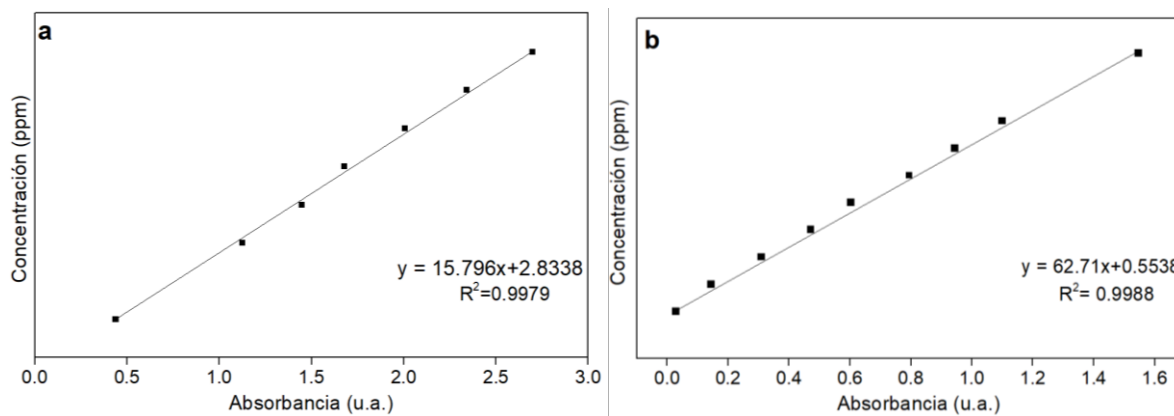


Figura 21. Curvas de calibración para a) Quer y b) Cat.

Capítulo V

Adsorción de Flv en MOF-Mg

1. Adsorción de Flv en MOF-Mg

Utilizando las curvas de calibración correspondientes para cada flavonoide (Figura 21) se determinó la capacidad máxima de adsorción de los compuestos polifenólicos en la MOF-Mg. La capacidad de retención máxima para Quer fue de 9.60 mg por cada 100 mg de MOF y para Cat fue de 20.5 mg por cada 100 mg de MOF.

En un artículo reportado por Zhenjiong, *et al.*, (2021), emplearon una red metal orgánica de γ -ciclodextrina (γ -CD-MOF) para evaluar su viabilidad como encapsulante de quercetina. Para el proceso de encapsulación disolvieron 0.3 g de Quer y la MOF en 20 mL de agua y se mantuvo en agitación a 60 °C durante 30 min. La carga de flavonoide se determinó como la cantidad de Quer (mg) en 100 mg de MOF, obteniendo una eficiencia de encapsulación (EE) de 33.8 %. En el presente proyecto la EE determinada a partir de la ecuación 14 es: 42.44 % para Quer y 20.53 % de Cat.

$$EE = \frac{\text{Cantidad de flavonoide adsorbida}}{\text{Cantidad total de flavonoide}} \times 100 \quad [\text{Ec. 14}].$$

Los resultados obtenidos son similares a pesar de que la γ -CD-MOF reportada cuenta con un centro metálico de potasio y tamaños de cavidades de 70 x 70 Å y un espacio interlaminar de 0.4 Å. La MOF-Mg tiene una estructura con cavidades de 11.6 x 11.6 Å, que no es comparable, sin embargo, si es suficiente para que los flavonoides penetren la estructura. En la Figura 3 se incluyó el detalle del tamaño de la Quer que tiene una longitud de 12.1 Å y un ancho de 9.3 Å, mientras que la Cat tiene una longitud de 11.8 Å y un ancho de 8.0 Å. Existe evidencia de que la MOF-74 con centros metálicos de magnesio, puede presentar flexibilidad estructural (Yildirim, *et al.*, 2025), dependiente del entorno químico, dicho efecto es altamente probable en este trabajo debido al tamaño de los compuestos y a los grupos funcionales presentes en los flavonoides. Es decir, el ambiente químico favorece la adsorción superando el impedimento estérico que se pudiera generar. En la Figura 22 se propone un modelo de adsorción de los flavonoides.

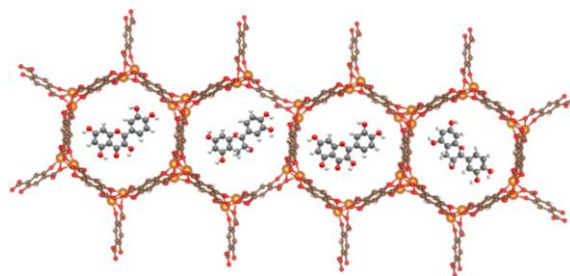


Figura 22. Modelo de adsorción de Flv en MOF-Mg.

2. Cambio estructural

Después de la adsorción de los flavonoides Quer y Cat en la MOF, se realizó nuevamente el análisis por DRX para la evaluar si hay cambios estructurales en el material. En la Figura 23 se reportan los difractogramas obtenidos tras la adsorción. Al comparar el patrón de difracción de la MOF-Mg (Figura 12) con el de los materiales tras la adsorción de MOF-Mg/Quer y MOF-Mg/Cat, se observó que se conservan picos característicos de la estructura pristina, aunque, con una disminución notable en la intensidad de algunos de ellos. Esta disminución puede atribuirse a una pérdida parcial de cristalinidad, lo cual sugiere una interacción entre la quercetina y la red metal orgánica. Sin embargo, para MOF-Mg/Cat se aprecia la presencia del pico característico de la red en 11.69° y disminución o pérdida de la intensidad de los demás picos. Esto indica que la catequina provoca una perturbación estructural al entrar dentro de la red metal orgánica, lo cual podría generar una pérdida de la estructura cristalina. Cabe mencionar, que los experimentos de adsorción se realizaron usando como solvente etanol, ya que se ha reportado que la MOF-74 no es estable en agua o en algunos medios de cultivo (Ángels Ruyra, *et al.*, 2015).

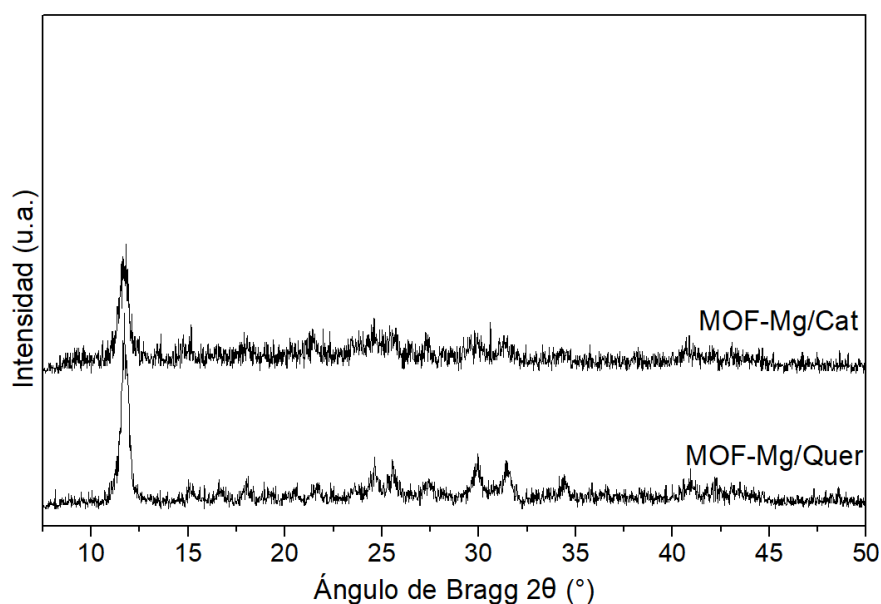


Figura 23. Patrones de difracción después de la adsorción de Flv en MOF-Mg.

Al igual que en el capítulo III, sección I, con la ecuación 7 se calculó el tamaño de cristal para el pico en $2\theta \approx 11.85^\circ$ (2θ) y con las ecuaciones 6 y 12, se calcularon los parámetros de red post adsorción empleando los picos correspondientes a los planos (3 0 0) y (2 1 1). Estos resultados se reportan en la Tabla 7.

Tabla 7. Parámetros de red y tamaño de cristal post adsorción.

	a=b (Å)	c (Å)	Tamaño de cristal (nm)
MOF-Mg/Quer	26.2	7.9	369.1±5.0
MOF-Mg/Cat	26.0	5.1	309.1±3.9

Después de la adsorción se observó un ligero desplazamiento de las reflexiones a ángulos menores, esto se atribuye a un incremento en la distancia interplanar (d) debido a la incorporación de los flavonoides en los poros de la MOF-Mg. Para los parámetros de red se observó un incremento de 0.208 y 0.0312 Å, para Quer y Cat, respectivamente. Esto se atribuye a una expansión por el alojamiento de las moléculas de flavonoides en la red. Para la dirección axial de c se observó una expansión al ser cargada con Quer de 1.0448 Å, mientras que con Cat se observó una contracción de 0.927 Å y pérdida de la cristalinidad. Este resultado se puede deber a la fuerte interacción de la catequina desprotonada en pH básico con los centros metálicos insaturados en la MOF, generando un rompimiento del enlace Mg-O. Este resultado coincide con el reportado por Hongming, *et al.*, (2018), quien realizó pruebas de estabilidad de esta misma red en pH ácido y básico, reportando que se genera un colapso de la estructura tras ser expuesta a una solución acuosa con pH=12.

Otro aspecto por considerar es el valor de pKa de cada flavonoide, ya que estéricamente, como se explicó en la *sección 1* de este capítulo, no existe una diferencia notable que pudiera atribuirse a la contracción o expansión de la estructura de la MOF. En la Tabla 8 se muestran los valores reportados de pKa de cada uno de los flavonoides. El pH determinado en la adsorción de Quer fue de 7.0 y el de Cat fue de 9.0, esto implica que la Quer se encontraba por debajo del primer valor de pKa, mientras que la Cat se encontraba superando el primer valor. Esto indica que la desprotonación en el caso de la Cat fue mayor comparada con la Quer, lo que cambió la eficiencia de adsorción durante la experimentación. Este resultado podría estudiarse de forma más detallada en estudios posteriores para aumentar la capacidad de adsorción y poder cargar la MOF con una mayor cantidad de cada flavonoide.

Tabla 8. Valores de pKa reportados en Pub Chem.

Flavonoide	Primer valor de pKa
Quercetina	7.17
Catequina	7.53

3. Grupos funcionales post-adsorción

En la Figura 24a se muestran los espectros FTIR obtenidos tras la adsorción de los flavonoides Quer y Cat en la MOF-Mg. Después de la adsorción, para el espectro de MOF-

Mg/Cat se encontró una banda en 1497 cm^{-1} que coincide con la banda de enlace C=C presente en la estructura del flavonoide. Para ambos espectros, entre $1200\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ hay bandas vibracionales del enlace C-O de los compuestos polifenólicos adsorbidos.

Para obtener información más precisa sobre el cambio de intensidades de las bandas vibracionales antes y después de la adsorción, se llevó a cabo una normalización de intensidades, los resultados se muestran en la Tabla 9. Este procedimiento consistió en dividir el espectro por la banda de referencia ya que esta no se altera tras la adsorción como se observa en la Figura 24b. Esta banda corresponde a la vibración C=C en 1492 cm^{-1} , que como ya se mencionó es característica de la estructura principal de la MOF. Para la banda del enlace -OH, se observó que tras la adsorción hay una disminución en la intensidad, siendo más pronunciada para MOF-Mg/Cat, esto puede ser por la desprotonación de la catequina lo que genera mayor interacción con el Mg. Para la intensidad de la banda $\text{COO}^-_{\text{asim}}$ se observó una disminución para MOF-Mg/Quer y un aumento para MOF-Mg/Cat, mientras que la banda presente en 1208 cm^{-1} mostró una reducción notable. Esto puede sugerir cambios en la densidad electrónica de los carboxilatos debido a la interacción entre los flavonoides con los centros metálicos de la MOF. La banda en 819 y 587 cm^{-1} correspondiente al enlace C=C-H y Mg-O, respectivamente, mostraron un comportamiento diferente para cada flavonoide, esto se puede atribuir al cambio del ambiente químico que propio cada molécula, si bien estos compuestos son similares, presentan grupos funcionales ligeramente diferentes, lo que genera cambios químicos, como el pKa, y físicos como los modos de vibración.

Tabla 9. Cambios de intensidad para bandas de grupos vibracionales post adsorción.

Enlace	Número de onda (cm^{-1})	Intensidad(u.a.)		
		MOF-Mg	MOF-Mg/Quer	MOF-Mg/Cat
C=C	1492	1	1	1
O-H	3500-3200	0.140	0.109	0.068
$\text{COO}^-_{\text{asim}}$	1574	0.549	0.501	0.591
COO^-	1208	0.716	0.686	0.500
C=C-H	819	0.981	0.959	1.118
Mg-O	587	1.066	1.099	0.812

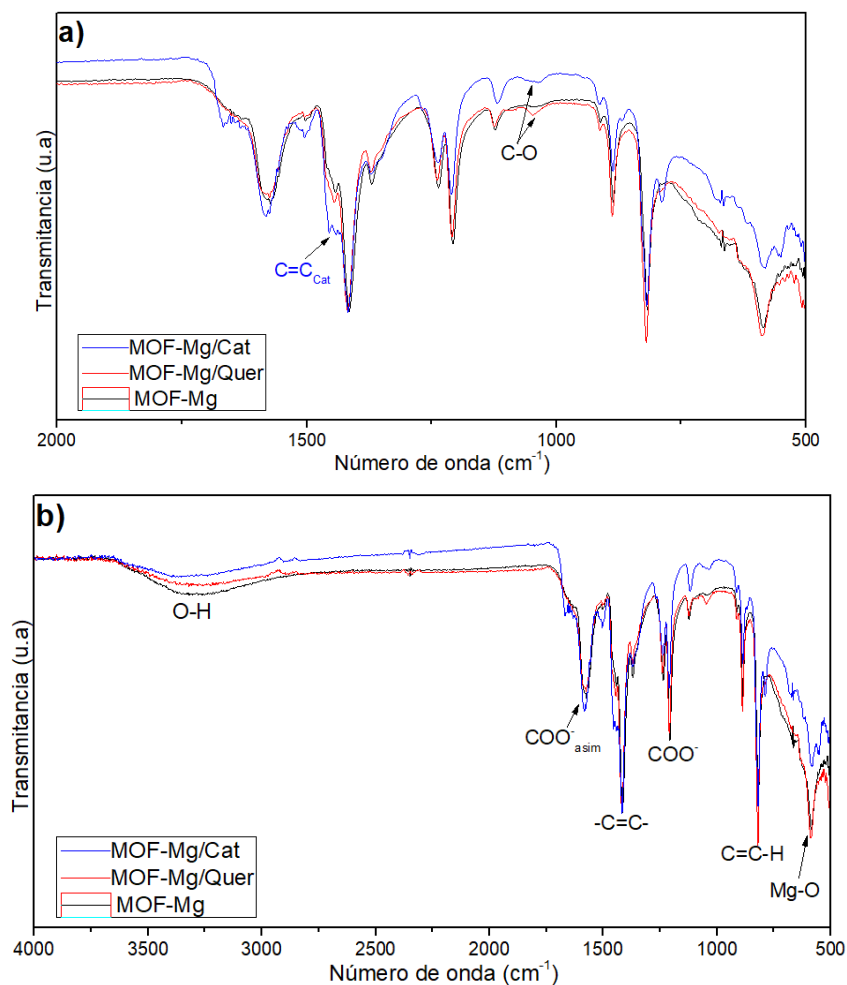


Figura 24. a) Identificación de bandas nuevas generadas por los flavonoides y b) cambio de las intensidades relativas de MOF-Mg post adsorción en los FTIR.

4. Liberación de flavonoides

La desorción de los flavonoides retenidos en la MOF-Mg se realizó siguiendo la metodología descrita en el *capítulo II*, con el propósito de identificar el posible mecanismo de liberación. Los datos experimentales se ajustaron a diferentes modelos cinéticos de liberación, ampliamente utilizados en farmacología para el estudio de sistemas de liberación (Mohamed & Damodharan, 2020). Los modelos empleados fueron el de orden cero, primer orden, el de Higuchi, y el de Korsmeyer -Peppas. En la Figura 25 se presentan las curvas de liberación obtenidas para ambos flavonoides. Se observó que la concentración de liberación aumentó respecto al tiempo. Después de 32.5 h se alcanzó la liberación máxima de los flavonoides encapsulados en la MOF-Mg, obteniendo un porcentaje de liberación de 99.2 % para quercetina y 24.7 % para catequina. Se emplearon las ecuaciones 1-5 reportadas en el *capítulo I*, para los diferentes modelos cinéticos. En la Tabla 10 se reportan los resultados

obtenidos para las constantes cinéticas k y coeficientes de correlación R^2 . Asimismo, en el *Anexo I* se muestran las gráficas correspondientes a cada modelo cinético.

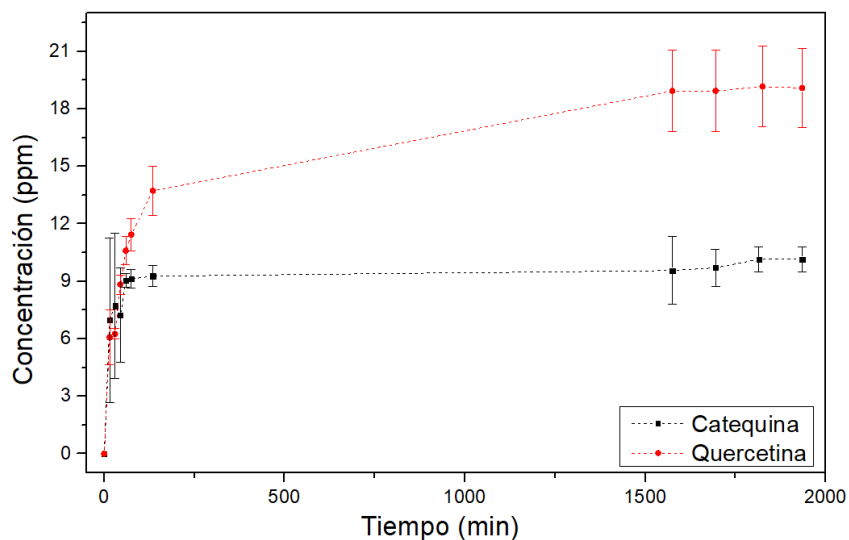


Figura 25. Curvas de liberación para Flv.

Tabla 10. Valores de constantes cinéticas K y coeficientes de correlación R^2 para la liberación de Flv.

Modelo	Quercetina		Catequina	
	K	R^2	K	R^2
Orden cero	0.0065	0.7379	0.0017	0.271
Primer orden	0.0002	0.7287	0.00005	0.5486
Higuchi	0.3280	0.8384	0.0974	0.373
Korsmeyer-Peppas	0.1944	0.9225	0.817	0.7376
	$n = 0.224$		$n = 0.0612$	
Hixson	-0.0005	0.3483	-0.0003	0.1275

Para la liberación de ambos flavonoides, el modelo que mostró un mejor ajuste fue el de Korsmeyer-Peppas, obteniendo un valor $R^2 = 0.9225$ para Quer y $R^2 = 0.7377$ para Cat, lo que indica un buen ajuste de los datos cinéticos a este modelo. El exponente de liberación $n \leq 0.5$ indica que el mecanismo de liberación es controlado por difusión y/o la degradación de la MOF, lo que sugiere que los flavonoides se liberan a través de su paso gradual de los poros de la MOF. Adicionalmente, se puede inferir que la estructura cristalina y porosa de la MOF controla la velocidad a la que el flavonoide se difunde al medio externo. El medio en el que se realizó la liberación fue PBS a 37 °C y un pH de 7.4, en el trabajo reportado por Ángels Ruyra *et al.*, (2015) se utilizó DMEM y se observó que la MOF conserva solamente

37.1 % de la estructura cristalina una vez transcurridas 24 h de contacto a esa misma temperatura, lo que indica que el material tiene una persistencia baja comparada con otras MOF y esto puede aprovecharse en las aplicaciones biológicas, más aún cuando se busca la liberación de algún componente de la estructura.

5. Cambios en área superficial y tamaño de poro

Se realizó adsorción de N₂ para observar cambios en el área superficial y tamaño de poro tras la incorporación de los flavonoides dentro de la MOF. En La Figura 26 se pueden observar las isotermas para MOF-Mg/Quer (a) y MOF-Mg/Cat (b). de acuerdo con la IUPAC, para MOF-Mg/Quer se obtuvo una isoterma de tipo IV, característica de materiales mesoporosos y para MOF-Mg/Cat una isoterma de tipo II correspondiente a materiales adsorbentes no porosos o macroporosos. En la Tabla 11 se reportan los valores obtenidos para área superficial, volumen de poro y diámetro medio de poro. El área BET específica reportada para la MOF-74(Mg) puede variar en una síntesis solvotérmica de 625 m²/g (Hu, *et al.*, 2021) hasta 1525 m²/g y esta depende de la metodología de síntesis, cuando se usa ultrasonido se ha reportado un área de 1640 m²/g (Yang, *et al.*, 2012), en este trabajo el de la MOF fue de 457.12 m²/g. Sin embargo, no existen reportes de la síntesis de este material a temperatura ambiente como se realizó en este trabajo.

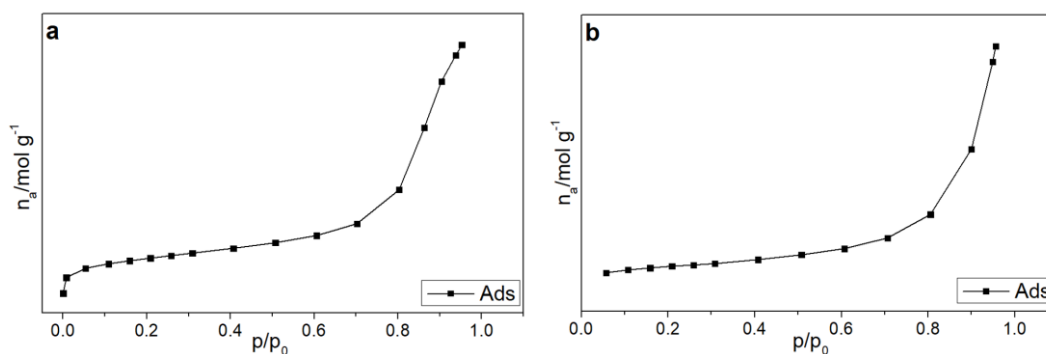


Figura 26. Isotermas de adsorción de N₂ para a) MOF-Mg/Quer y b) MOF-Mg/Cat.

Tabla 11. Datos obtenidos de adsorción de N₂.

Material	a _{s,BET} (m ² /g)	Volumen total de poro (cm ³ /g)	Diámetro medio de poro (nm)
MOF-Mg/Quer	196.84	0.43	8.84
MOF-Mg/Cat	29.86	0.12	16.50

6. Tamaño de partícula y potencial ζ

Después de la adsorción de los flavonoides, se analizaron los materiales mediante las técnicas DLS y ELS. Para ambos casos se observó un aumento en el tamaño hidrodinámico de las partículas, esto confirma la interacción entre la red metal orgánica y los compuestos polifenólicos. Para la MOF-Mg/Quer se obtuvo un tamaño de partícula de 372.8 nm con un PDI de 0.44, sugiriendo una muestra heterogénea en tamaños en comparación con la MOF-Mg. De manera similar, para la MOF-Mg/Cat el tamaño fue de 230.5 nm y un PDI de 0.6672, indicando la presencia de un material con alta polidispersidad y con mayor tendencia a la formación de aglomerados.

Para el potencial ζ se obtuvo un valor de -19.97 mV para MOF-Mg/Quer y -20.63 mV para MOF-Mg/Cat, estos valores son ligeramente menores al valor anteriormente reportado para la MOF prístina, indicando reducción en la repulsión electrostática y debido a esto una disminución en la estabilidad coloidal (Clogston & Patri, 2011).

7. Morfología post adsorción

En la Figura 27a se visualizan las micrografías TEM correspondientes a la MOF-Mg/Quer. Se puede observar en la micrografía del lado izquierdo, una nanoestructura con morfología irregular, bordes bien definidos y con superficie porosa. En la micrografía del lado izquierdo se observan pequeñas nanopartículas esféricas bien dispersas con alto contraste indicando una mayor densidad electrónica, también se observa la formación de conglomerados. El análisis de datos se realizó con los softwares ImageJ y MatLab para obtener el histograma y el ajuste bimodal. Esto indica la existencia de dos poblaciones de partículas con tamaños promedio diferentes. Para la primera familia se obtuvo un tamaño promedio de (220 ± 51) nm, mientras que para la segunda población fue de (590 ± 78) nm. Estos resultados confirman que este material no evidencia un tamaño homogéneo.

Para la MOF-Mg/Cat, Figura 27b, se observó en las micrografías dos tipos de microestructuras con morfología bien definida similar a una varilla y agregados de forma irregular, con apariencia de flor. El análisis para obtener el histograma fue el mismo para MOF-Mg/Quer. En este gráfico se puede observar una distribución de tamaño bimodal, esto coincide con las micrografías donde se observan diferentes tamaños de partícula. Para la primera población se obtuvo un tamaño promedio de 0.14 ± 0.03 μm y para la segunda de 0.33 ± 0.03 μm .

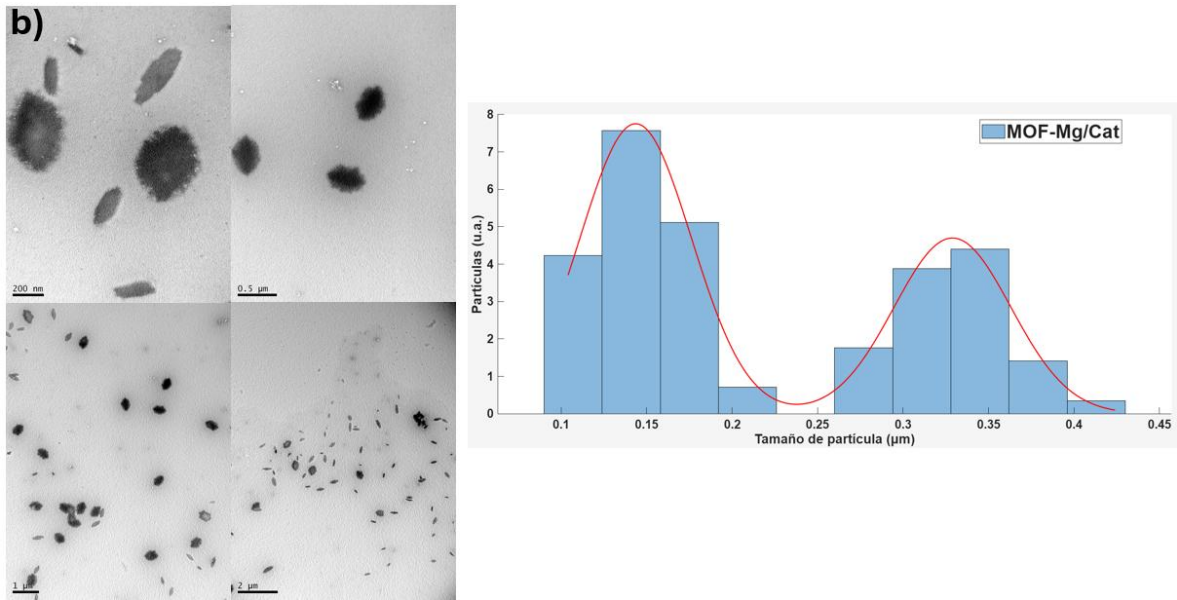
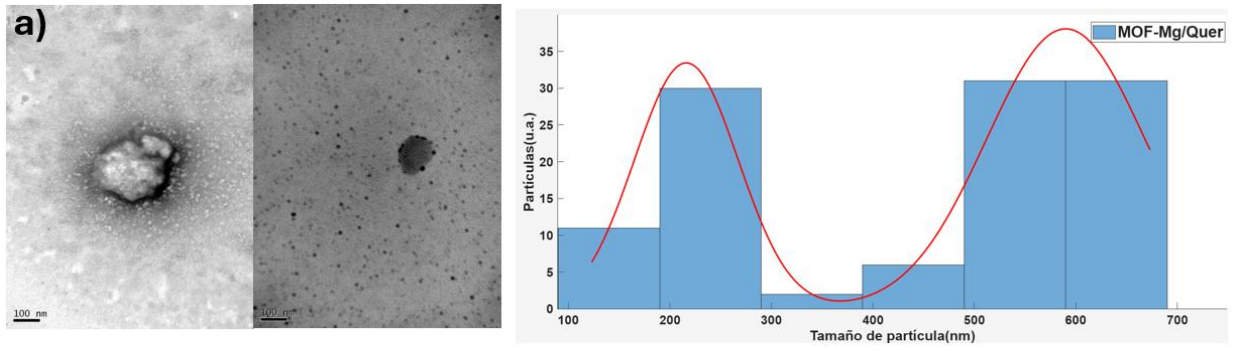


Figura 27. Micrografías TEM e histogramas para a) MOF-Mg/Quer y b) MOF-Mg/Cat.

Capítulo VI
Complejos Flv-Mg

1. Análisis estructural Flv-Mg

En la Figura 28 se muestran los difractogramas experimentales obtenidos para los complejos Quer-Mg y Cat-Mg. Se pudo observar que el complejo Quer-Mg presentó picos agudos en diferentes ángulos de Bragg como 19.89, 20.00, 20.02 y 27.18° (2θ), los cuales coinciden con el patrón de difracción reportado por Ghosh, *et al.*, (2015) para este mismo complejo, concluyendo la formación de la estructura cristalina del material deseado.

Por otro lado, el patrón DRX del complejo Cat-Mg, dada la similitud estructural con la quercetina, se comparó con el mismo patrón de difracción reportado en la literatura para el complejo de quercetina. Se observaron picos en 19.98, 20.46, 21.30, 26.84 y 30.34°(2θ), los cuales coinciden con el reportado por Ghosh, *et al.*, (2015), sin embargo, se observa un ligero desplazamiento el cual se puede atribuir a la diferencia de coordinación con el ion Mg^{+2} en comparación con la quercetina, esto debido a la distribución de los grupos funcionales dentro de la estructura y a una ligera torsión estructural que esta presenta.

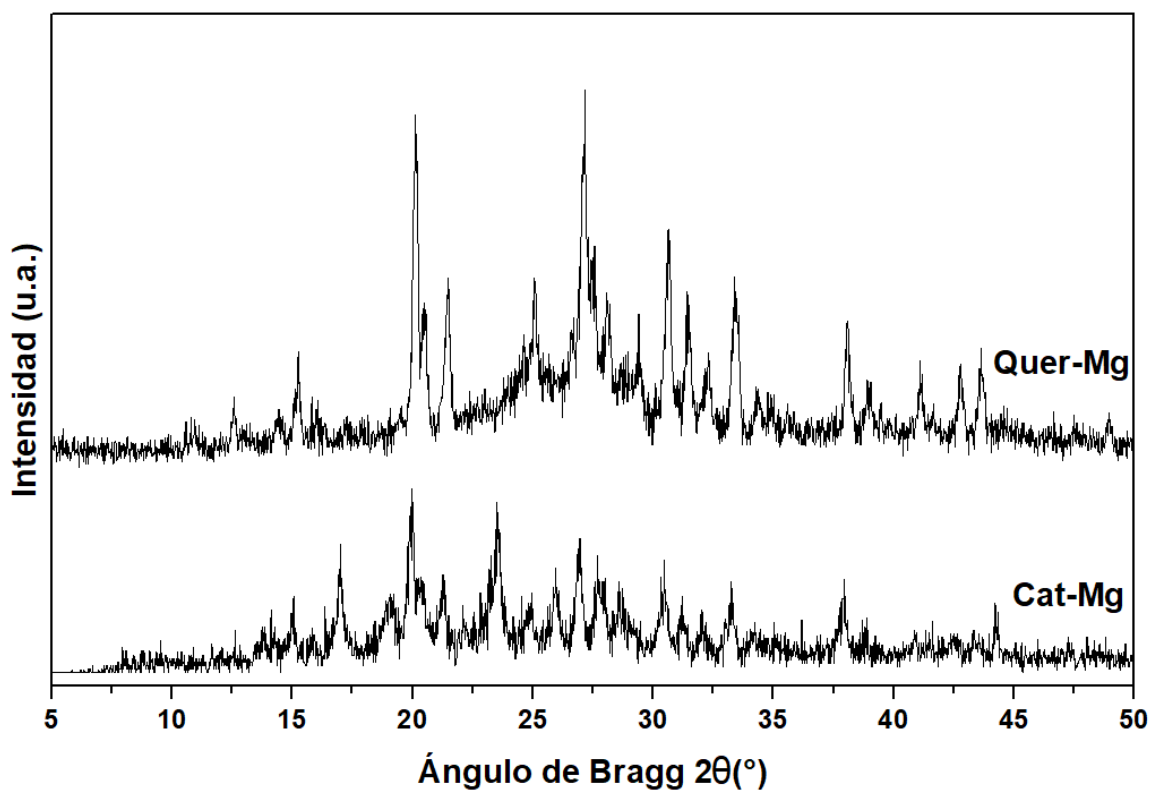


Figura 28. Patrones de difracción experimentales obtenidos para complejos Flv-Mg.

Con la ecuación de Debye Scherrer (Ec. 7) se obtuvo el tamaño de cristal para ambos complejos, tomando para Cat-Mg el pico que se encuentra en 20.08°, obteniendo un tamaño de 606.68 nm y para el complejo Quer-Mg se seleccionó el pico en 20.30° teniendo un tamaño de cristal de 428.80 nm. Nuevamente los materiales tienen tamaños nanométricos que pueden sugerir un crecimiento en planos específicos.

2. Grupos funcionales Flv-Mg

En la Figura 29 se reportan los espectros FTIR obtenidos para ambos complejos. En la Tabla 12 se reporta el número de onda donde se encuentran las bandas características para los grupos funcionales presentes en los flavonoides y las bandas encontradas en los complejos.

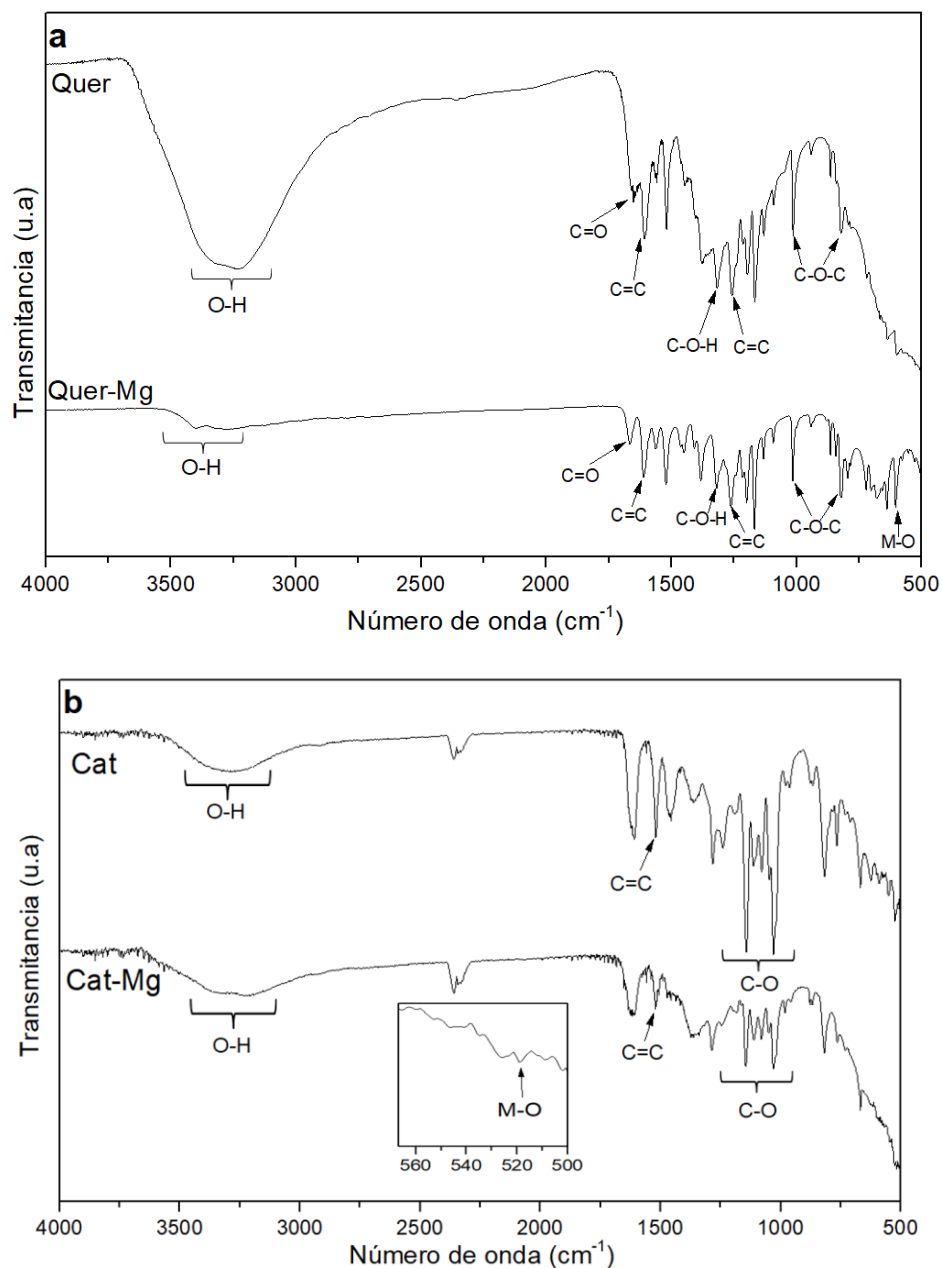


Figura 29. Comparación de bandas en FTIR de a) Quer y Quer-Mg, b) Cat y Cat-Mg.

Tabla 12. Bandas características en FTIR de flavonoides y complejos.

Compuesto	Número de onda (cm ⁻¹)					
	O-H	C=O	C=C	C-O-H	C-O-C	M-O
Quer	3500-3200	1665	1607	1317	824 y 1168	ausente
Quer-Mg	3500-3200	1665.95	1611	1318	824 y 1168	573.85
Cat	3291	ausente	1520	1317	1003-1144	Ausente
Cat-Mg	3278	ausente	1520	1318	1003-1144	519

De acuerdo con el análisis realizado para los espectros FTIR mostrados en la Figura 30 y con los datos reportados en la Tabla 10, se puede observar que en algunas bandas características de la quercetina experimentan un ligero desplazamiento al unirse con el ion magnesio, esto puede ser debido al enlace de coordinación que se forma con el metal, lo que modifica el ambiente químico y por lo tanto la vibración de los enlaces. También se observó una nueva banda en una longitud de onda de 573.85 y 519 cm⁻¹ para Quer-Mg y Cat-Mg. Es importante recalcar que la banda M-O se puede encontrar en un intervalo de 400-600 cm⁻¹ y la presencia de esta nueva banda confirma la presencia del enlace Mg-O.

3. Entorno químico Flv-Mg

La técnica de ¹H-RMN se realizó para analizar cambios del entorno químico de los flavonoides después de la coordinación con el ion metálico. En el espectro de ¹H-RMN del complejo Quer-Mg, Figura 30a, la zona que se analizó fue de 5.5 a 13 ppm, ya que en campos menores se presentan las resonancias pertenecientes al disolvente empleado para el análisis. En comparación con el espectro de Quer, reportado en el *capítulo IV*, se observó un cambio significativo en las resonancias como reducciones, ensanchamiento, desplazamiento y aparición de nuevas señales, esto se puede atribuir a la coordinación del flavonoide con el ion metálico. Se puede observar que la señal correspondiente al protón H en el C-3, desaparece, esto se debe a la desprotonación del grupo -OH tras la complejación con el magnesio y el C-4. También, en este complejo se observa un desplazamiento de la señal del OH en C-5 de 12.50 ppm a 2.05 ppm, este resultado reafirma que los sitios C-3 y C-4 son sitios de coordinación para el metal con el flavonoide. Al analizar el espectro obtenido para el complejo Cat-Mg, Figura 30b, se observaron desplazamientos químicos, así como la disminución en la intensidad de las señales, esto sugiere una alteración en el entorno químico de los protones H por la coordinación con el ion Mg⁺². Lo que corrobora lo que se observó en las técnicas de caracterización previamente descritas.

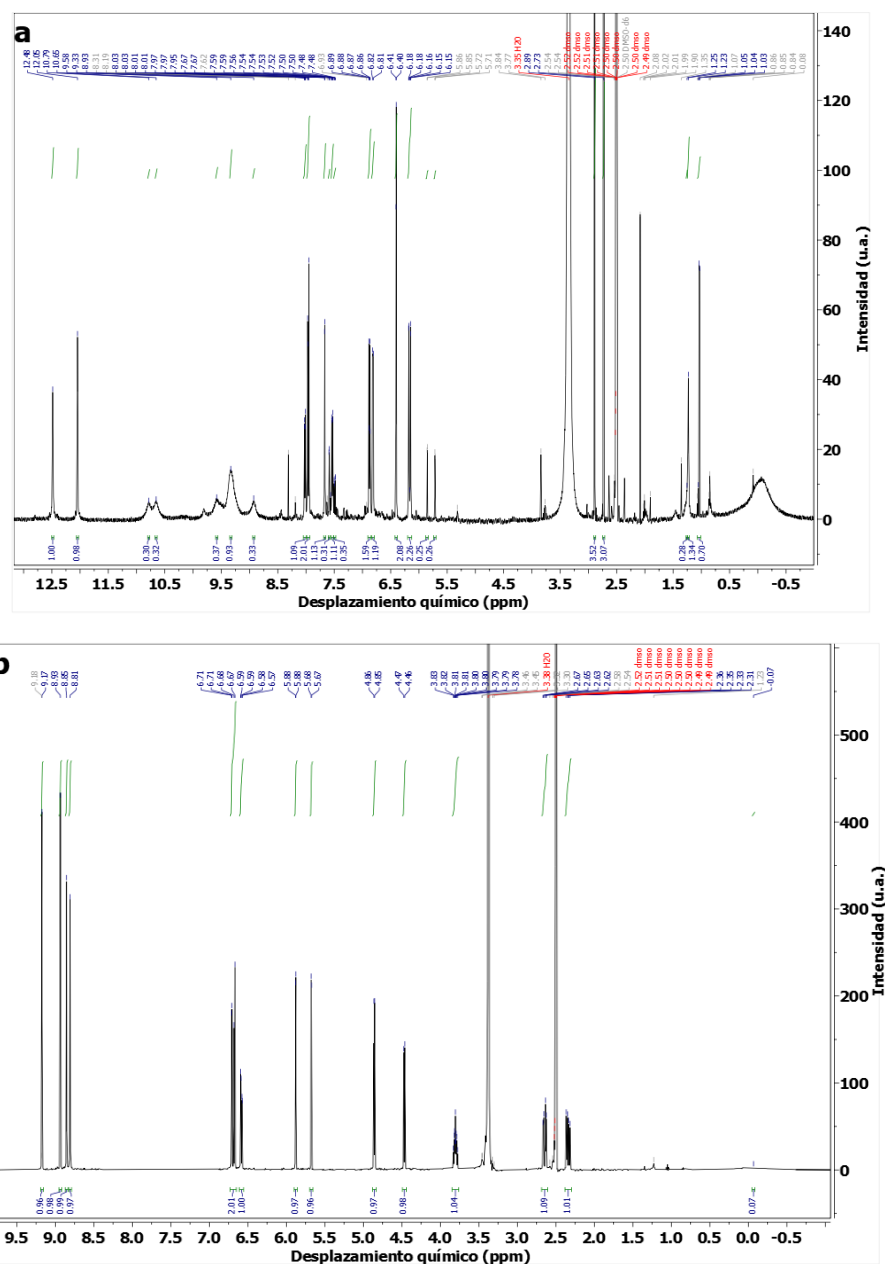


Figura 30. Espectros ^1H -RMN para a) Quer-Mg y b) Cat-Mg.

4. Tamaño de partícula y potencial ζ

Tras la formación de los complejos con los flavonoides y el magnesio, se utilizaron nuevamente las técnicas de DLS y ELS para observar cambios en el tamaño de partícula y potencial ζ . El complejo Quer-Mg presentó un tamaño de partícula de 277.3 nm, mostrando una reducción en el tamaño en comparación con la Quer libre, esto sugiere que la coordinación con el ion metálico ayuda a disminuir la formación de agregados. El PDI del complejo fue de 0.98, esto indica una distribución heterogénea de tamaño de partícula. Finalmente, el potencial ζ fue de -18.21 mV, este resultado indica una repulsión electrostática

ligeramente mayor respecto al flavonoide solo lo cual evita la formación de agregados o aglomerados (Clogston & Patri, 2011).

Por otro lado, para el complejo Cat-Mg, el tamaño de partícula obtenido fue de 110.7 nm menor al de la catequina libre. El valor de PDI fue de 0.3667, valor superior al flavonoide solo, esto indica que la heterogeneidad de las partículas se pierde al coordinarse con el ion metálico. El potencial ζ obtenido fue de -4.605 mV, en comparación con catequina libre, hubo una disminución drástica, lo que sugiere una pérdida de la estabilidad coloidal en el complejo. Esto se podría deber a la coordinación del ion Mg^{+2} que neutraliza la carga de la catequina, ayudando a reducir la repulsión electrostática entre las partículas. Los resultados muestran que la presencia del metal afecta de forma diferenciada a cada flavonoide.

Capítulo VII

Evaluación en la línea celular HeLa

1. Ensayos de proliferación celular

Con el objetivo de evaluar el efecto de la MOF-Mg, MOF-Mg/Quer, MOF-Mg/Cat, Quer y Cat, sobre la viabilidad y proliferación de la línea celular HeLa, se realizó una prueba cualitativa mediante el ensayo Azul Alamar, también conocido como resazurina. En la Figura 31 se observa cómo se asignó cada tratamiento en la placa de cultivo de 24 pocillos, empleada para este ensayo. El Azul Alamar es un indicador redox que es muy utilizado en estudios de viabilidad y citotoxicidad celular gracias a sus propiedades ópticas. La resazurina es un tinte de color azul débilmente fluorescente y permeable capaz de entrar a las células vivas, en su forma reducida se conoce como resorufina con coloración rosa muy fluorescente. En condiciones de reducción más fuertes la resorufina pasa de forma reversible a dihidroresorufina, una molécula incolora que no emite fluorescencia (Metrohm, 2024). Este mecanismo redox se presenta en la Figura 32.

Para este ensayo se siguió la metodología reportada en la *sección 6, capítulo II*. En la Figura 33 se presentan los ensayos de 24 y 72 h antes y después de la adición de Azul Alamar. Como se explicó anteriormente, la resazurina al entrar en contacto con las células vivas y mediante procesos enzimáticos de estas, es reducida a resorufina, dando una coloración rosa, esto indica una alta actividad metabólica celular, como se muestra en la Figura 33b. En la Figura 33a, la coloración roja corresponde al medio de crecimiento con los materiales a analizar antes de la adición del Azul Alamar. En esta fase, el color rojo corresponde al rojo fenol el cual es un indicador de pH y su función es mostrar de forma visual si hay cambios de acidez en el medio a través de los cambios de coloración y así monitorear la salud celular. Cuando se obtiene una coloración roja-naranja, el pH~7.4 es ideal para el crecimiento celular, en la coloración amarilla, el $\text{pH} \leq 6.8$ esto indica un medio ácido y puede darse debido a un mayor crecimiento celular, por lo tanto, hay mayor actividad metabólica generando desechos ácidos (Freshney, 2015). Esta coloración se puede observar en la Figura 33c después de tratar al cultivo celular con los materiales durante 72 h, indicando un mayor crecimiento celular y consumo de nutrientes en el medio. Finalmente, en la Figura 33d se muestra la misma placa después de incubar con Azul Alamar. Se observan tonalidades moradas/azules en los pocillos 4-6 de la fila 2, esto indica una baja viabilidad celular, que podría deberse a un efecto citotóxico del tratamiento. La coloración rosa/magenta indica una alta viabilidad celular, sugiriendo que los tratamientos no afectaron el crecimiento celular, mientras que los tonos intermedios, indican buena viabilidad celular, es decir el tratamiento tuvo un efecto parcial en una parte de la población celular. A continuación, se detalla el análisis cuantitativo.

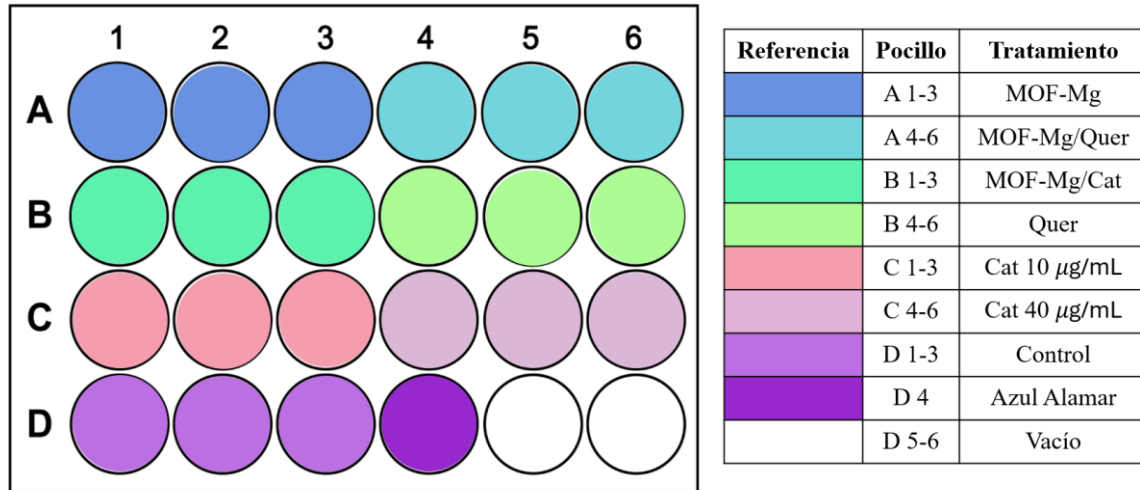


Figura 31. Esquema de distribución de los tratamientos en placa de cultivo.



Figura 32. Mecanismo redox de Azul Alamar a Dihidroresorufina.

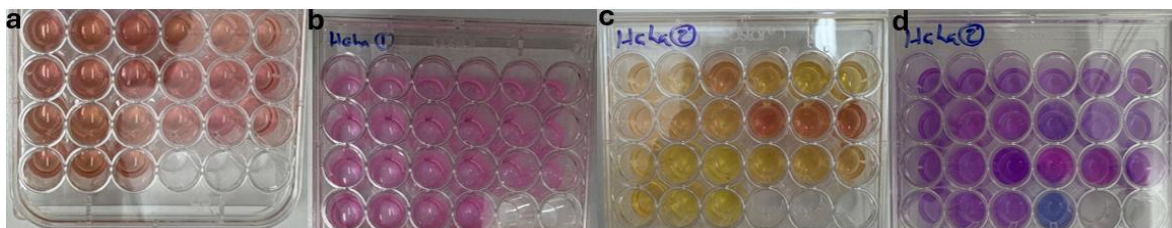


Figura 33. Cultivos celulares de línea celular HeLa para ensayo de proliferación a) células tratadas durante 24 h, b) mismas células tras la adición de Azul Alamar, c) células tratadas durante 72 h y d) mismas células tras la adición de Azul Alamar.

En la Figura 34 se muestra el porcentaje de proliferación obtenido mediante el ensayo Azul Alamar para las células HeLa después de 24 y 72 h de exposición a los diferentes tratamientos, comparadas con el control positivo el cual consistió en células en medio de crecimiento sin exposición a ningún tratamiento, por lo que representa el 100% de proliferación celular en cada tiempo.

A las 24 h de exposición, se observó que las células tratadas con MOF-Mg, MOF-Mg/Cat y catequina libre a baja concentración (10 $\mu\text{g/mL}$) presentaron una ligera disminución en el

porcentaje de proliferación (96.30, 92.09 y 99.40%, respectivamente). Estos resultados indican que, a este tiempo existe una compatibilidad adecuada de estos materiales con las células. En contraste, los tratamientos de MOF-Mg/Quer, quercetina y catequina libre a alta concentración (40 $\mu\text{g/mL}$), mostraron porcentajes de proliferación de 86.73, 63.60 y 85.30%, lo que sugiere un efecto citotóxico moderado sobre la línea celular.

Tras 72 h de tratamiento con los materiales, los cultivos celulares mostraron porcentajes de proliferación que superaron lo observado en el cultivo control con células sin tratamiento, siendo los valores obtenidos de 102.43 % para MOF-Mg, de 107.90 % para MOF-Mg/Quer, de 117.84 % para MOF-Mg/Cat, y de 104.90% (10 $\mu\text{g/mL}$) y 131.00% (40 $\mu\text{g/mL}$) % para la catequina libre, a las dos diferentes concentraciones analizadas. Esto sugiere una buena viabilidad de los materiales al entrar en contacto con la línea celular y posiblemente la liberación gradual de los flavonoides encapsulados en la MOF, lo que podría dar una mayor protección antioxidante, protegiendo a las células de sufrir menor daño oxidativo y aumentando ligeramente su proliferación. En cambio, la quercetina afectó importantemente la proliferación, observándose un porcentaje de solamente 86.13 %, lo que indica una inhibición de alrededor del 14% en el crecimiento celular

En conjunto, estos resultados indican que la MOF-Mg, por sí sola no tiene un efecto citotóxico importante sobre la línea celular HeLa y que el encapsulamiento de los flavonoides mejora su efecto sobre la viabilidad celular y proliferación, posiblemente porque la liberación gradual del flavonoide puede ayudar a favorecer efectos antioxidantes sobre el estrés oxidativo. Wang, et al., (2015), utilizó quercetina para estudiar su efecto en la proliferación de la línea celular HeLa y reportó que, con el aumento de concentración del flavonoide, la tasa de inhibición de la proliferación aumenta. En este proyecto se utilizó una sola concentración, sin embargo, el resultado es consistente con el reportado teóricamente, donde se ha encontrado que este flavonoide a concentraciones bajas tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de células cancerígenas. Estos resultados abren la posibilidad de emplear a los flavonoides en el tratamiento contra el cáncer, ya que también se ha reportado que pueden inducir apoptosis celular.

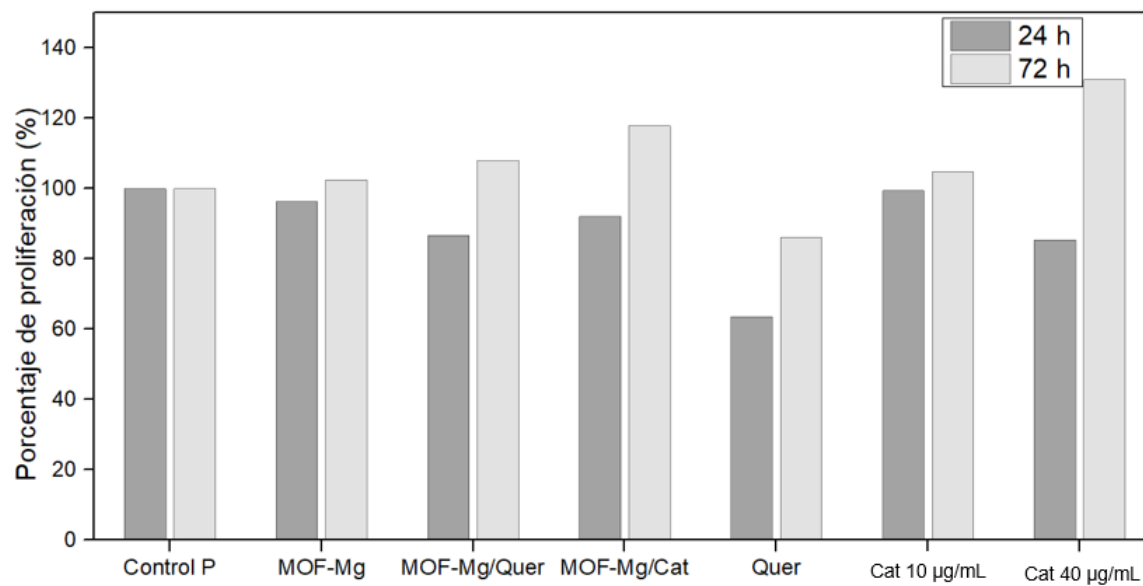


Figura 34. Porcentaje de proliferación de la línea celular HeLa después de 24 y 72 h de tratamiento.

2. Especies reactivas de oxígeno (ROS)

La metodología para este ensayo se reporta en la *sección 7, capítulo II*. En la Figura 35 se muestran los resultados cuantitativos para determinar si los tratamientos generan ROS en la línea celular HeLa. El control basal consistió en células sin tratamiento y el control positivo células tratadas con H₂O₂. Se observa que a 25 µg/mL todos los materiales generan menos ROS que el peróxido de hidrógeno, lo mismo ocurre a 100 µg/mL, excepto para la MOF prístina y la MOF-Mg/Cat.

Como se mencionó en los antecedentes de este trabajo, tanto la Quer como la Cat son compuestos polifenólicos conocidos por su capacidad para actuar como antioxidantes exógenos. Su poder antioxidante radica en su capacidad para eliminar radicales libres y prevenir la disminución de daños causados por el estrés oxidativo en enfermedades cardiovasculares y cáncer. El encapsulamiento de estos flavonoides en la MOF-Mg está diseñado para aumentar su estabilidad y permitir una liberación gradual, lo cual se confirmó en la cinética de liberación (*sección 4, capítulo V*). Esta liberación gradual evita la inhibición celular que mostró la Quer libre. Por lo tanto, el efecto de protección antioxidante de los compuestos MOF-Mg/Flv se potencia al mejorar la viabilidad celular (con porcentajes superiores al 100 % de proliferación a 72 h), lo cual lógicamente se correlaciona con una disminución del daño oxidativo. Los flavonoides por sí mismos tienen dicha propiedad y es por esto por lo que en la Figura 35 generan una baja concentración de ROS.

En el ensayo de ROS se utilizaron dos concentraciones: 25 y 100 µg/mL. Reportes bibliográficos indican que, aunque la MOF-74 de magnesio tiene una buena bioseguridad, su

citotoxicidad aumenta en dosis superiores, por ejemplo, con 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en estudios previos con células HeLa, se ha observado que después de 6 h de incubación, la viabilidad se reduce 95 % (Hu, et al., 2021). Además, dosis elevadas del ion Mg^{+2} en el organismo pueden generar envenenamiento por magnesio, causando daños a la proliferación y respiración celular (Zhu, et al., 2020). Dado que la ruta más importante para la generación de ROS es la fosforilación oxidativa dentro de la mitocondria, el daño celular causado por el exceso de Mg^{+2} liberado a concentraciones muy altas podría alterar los procesos metabólicos mitocondriales y, consecuentemente, incrementar la producción de ROS, esto se observa en las muestras que contienen MOF a altas concentraciones. La alta biocompatibilidad y el efecto protector se demuestran en los materiales MOF-Mg/Flv a concentraciones bajas/moderadas, donde los flavonoides encapsulados ejercen su función antioxidante, logrando una disminución significativa de las ROS, en comparación con el H_2O_2 .

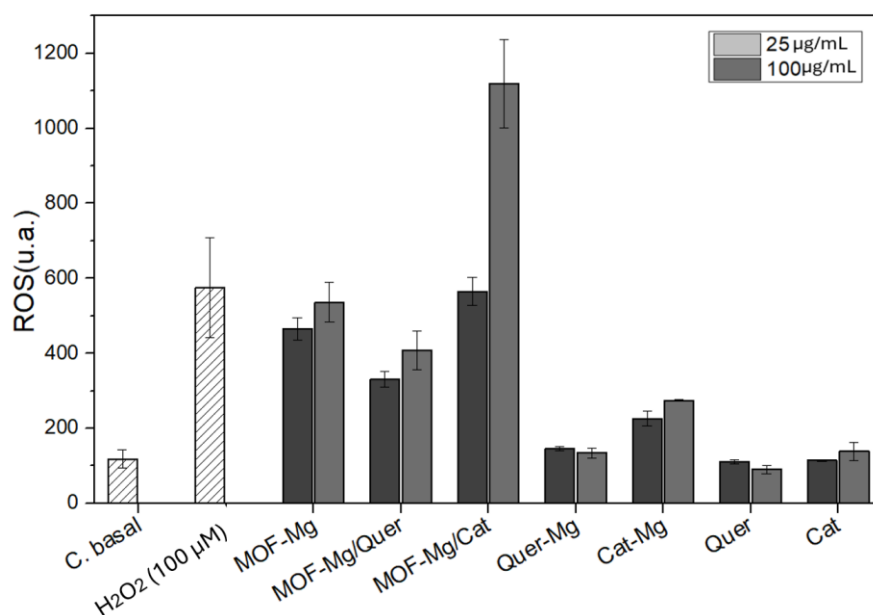


Figura 35. Niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) generadas por cada material.

Conclusiones

El presente estudio evaluó con éxito el efecto protector de los flavonoides (quercetina y catequina) encapsulados en una red metal orgánica de magnesio (MOF-Mg) y el efecto de complejos de dichos flavonoides con el mismo metal, sobre el estrés oxidativo en la línea celular HeLa.

El diseño de redes metal orgánicas que emplean magnesio como centro metálico, como la MOF-74, es viable y demuestra un alto potencial como excipiente activo para mejorar las propiedades farmacológicas de los flavonoides. La MOF-Mg (MOF-74) fue sintetizada a temperatura ambiente, obteniendo una estructura cristalina nanométrica con un tamaño de partícula de 7.5 nm. Los estudios fisicoquímicos confirmaron la estructura cristalina de la MOF-Mg después de la síntesis, así como los cambios estructurales generados por la adsorción de los flavonoides. La adsorción se ve favorecida por la capacidad de la MOF-74 de magnesio para presentar flexibilidad estructural y por el entorno químico, superando el impedimento estérico que podría generar el tamaño de los flavonoides. El mecanismo de liberación, controlado por difusión gradual, demuestra que la estructura cristalina y porosa de la MOF controla la velocidad de liberación, cumpliendo con la expectativa de aumentar la estabilidad y biodisponibilidad de los flavonoides. Se demostró que la capacidad de la MOF-Mg para adsorber flavonoides, alcanza una carga máxima de 9.60 mg de Quer y 20.5 mg de Cat por cada 100 mg de MOF. Esta capacidad resultó en eficiencias de encapsulamiento del 42.44 % para Quer y 20.53 % para Cat. La adsorción de los flavonoides provocó cambios estructurales en la MOF, observándose una expansión de la red con la Quer y una contracción con la Cat, lo que sugiere una fuerte interacción dependiente de las propiedades químicas de cada flavonoide. La Cat experimentó una desprotonación mayor debido a su valor de pKa y el pH de la adsorción lo que resultó en la contracción estructural, antes mencionada. Además, se notó una liberación máxima de Cat significativamente menor (24.72 %) en comparación con la Quer (99.17 %) después de 32.5 h, lo que indica que el tipo de flavonoide impacta directamente en la eficiencia de liberación.

La cinética de liberación de los flavonoides en la MOF en condiciones fisiológicas (PBS, pH 7.4, 37 °C) se ajustó consistentemente al modelo de Korsmeyer-Peppas ($R^2 = 0.9225$ para Quer), con un exponente de liberación ($n=0.224$) que confirma un mecanismo controlado por difusión gradual a través de los poros de la red. Esto respalda la hipótesis de que la MOF-Mg permite una liberación gradual de las sustancias activas, protegiéndolas de la degradación.

Adicionalmente, se confirmó la formación exitosa de complejos individuales Quer-Mg y Cat-Mg. La coordinación de los flavonoides con el ion Mg^{+2} se demostró por FTIR (con la aparición de banda M-O) y RMN (con el desplazamiento químico y desaparición de señales de protones hidroxilo), lo que indicó que la complejación con el metal afecta positivamente la estabilidad de los flavonoides al reducir la tendencia a la agregación (por ejemplo, el complejo Quer-Mg redujo drásticamente el tamaño de partícula respecto a la Quer libre).

La MOF-Mg prístina y los flavonoides encapsulados mostraron una baja citotoxicidad en la línea celular HeLa, con porcentajes de proliferación superiores al 100 % a las 72 h. Esto valida el uso del magnesio como centro metálico biocompatible para la síntesis de MOF destinadas a aplicaciones biomédicas. Estos resultados indican que la formulación basada en MOF-Mg mejora la viabilidad celular y potencialmente el efecto antioxidante de los flavonoides. La alta biocompatibilidad y el mecanismo de liberación por difusión gradual de la MOF-Mg validan su aplicación en terapias antioxidantes. Sin embargo, la marcada diferencia en la capacidad de carga y en el porcentaje de liberación entre Quer y Cat, determinada por las condiciones de pH y el consecuente nivel de desprotonación de los grupos hidroxilo de cada flavonoide, sugiere que los estudios futuros deben enfocarse en optimizar el ambiente químico durante la adsorción para maximizar la eficiencia de encapsulamiento y el perfil de liberación.

La síntesis de MOF-Mg con flavonoides y los complejos de Mg-Flv abre un campo de posibilidades para el desarrollo de tratamientos que disminuyan el estrés oxidativo y potencialmente sirvan como agentes coadyuvantes en el tratamiento de enfermedades asociadas a la generación de especies reactivas de oxígeno.

Trabajo a futuro

- Un estudio de optimización del encapsulamiento de flavonoides; dado que la eficiencia de adsorción y liberación de los flavonoides fue significativamente diferente entre la quercetina y la catequina, y esta diferencia se correlacionó con el ambiente químico durante la adsorción se propone realizar estudios detallados sobre la influencia del pH en la adsorción y la liberación *in-vivo*.
- Realizar estudios de apoptosis y cáncer: Dado que los flavonoides tienen la capacidad de inducir la apoptosis celular y se utilizaron células HeLa (una línea celular de cáncer de cuello de útero), una dirección prometedora es investigar el mecanismo molecular mediante el cual la formulación MOF-Mg/Flv podría inducir selectivamente la muerte celular programada (apoptosis) en líneas celulares cancerosas, abriendo un campo de posibilidades para el tratamiento contra el cáncer.
- Se podrían realizar estudios para específicos de curvas dosis-respuesta, para determinar el efecto de los materiales a diferentes concentraciones y determinar condiciones biológicas óptimas.

Referencias

A.W. Hixson, J.H. Crowell (1931). "Dependence of reaction velocity upon surface and agitation (I) theoretical consideration", *Ind. Eng. Chem.* 23, 923-931.

Abd El-Rahmanand, S. N., & Suhailah, S. (2014). Quercetin nanoparticles: Preparation and characterization. *Indian J Drugs*, 2(3), 96-103.

Abuçafy, M.P.; Frem, R.C.G.; Polinario, G.; Pavan, F.R.; Zhao, H.; Mielcarek, A.; Boissiere, C.; Serre, C. (2022). Chiavacci, L.A. MIL-100(Fe) Sub-Micrometric Capsules as a Dual Drug Delivery System. *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23, 7670. <https://doi.org/10.3390/ijms23147670>

Ángels Ruyra, Amirali Yazdi, Jordi Espín, Carné-Sánchez, Nerea Roher, Julia Lorenzo, Inhar Imaz, Daniel MasPOCH (2015). Synthesis, Culture Medium Stability and In Vitro and In Vivo Zebrafish Embryo Toxicity of Metal-Organic Framework Nanoparticles. *ChemPubSoc Europe, J.* 2015, 21, 2508-2518.

Aparna Ann Mathew & Rajita Panonnummal. (2023). A Mini Review on the Various Facets Effecting Brain Delivery og Magnesium and Its Role in Neurological Disorders. *Biological Trace Element Research* (2023) 201:4238-4253.

Aragón Antonio (2021). Técnicas de caracterización y procedimientos empleados en la mineralogía aplicada al beneficio de minerales. (2021). (n.p.): ibukku, LLC. https://www.google.com.mx/books/edition/T%C3%A9cnicas_de_caracterizaci%C3%B3n_y_procedim/FBNDEAAAQBAJ?hl=es-419&gbpv=0

Basist Parakh, Parveen Bushra, Zahiruddin Sultan, Gautam Gaurav, Parveen Rabea, Ahmed Khan Mohammad, Krishnan Anuja, Shahid Mohd, Ahmad Sayyed (2022). Potential nephroprotective phytochemicals: Mechanism and future prospects. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol 283, 114743.

Betés de Toro Mariano (2008). *Farmacología para fisioterapeutas*. Ed. Médica Panamericana.

Bosch Giral Pedro & Lara Corona Victor Hugo 82014). *Difracción y fluorescencia de rayos X*. Editorial: Terracota.

Bosch Giral Pedro & Lara Corona Victor Hugo. (S.F). *Difracción y Fluorescencia de rayos X para químicos. Materiales policristalinos*.

Caballero Suárez Luis M. (2002). *Introducción a la catálisis heterogénea*. (n.d.). (n.p.): Univ. Nacional de Colombia.

Calderón Hector A. (2020) *Transmission electron microscopy to look atoms: principles and development*. *Mundo nano* vol 13, no 25, ciudad de México, 2020.

Carlsen, M.H., Halvorsen, B.L., Holte, K, Bohn Siv, Dragland S., Sampson S., Willey C., Senoo H., Umezono Y., Sanada C., Barikmo I., Berhe N., Willett W.C., Phillipis K.M., Jacobs

D.R., Blomhoff R. (2010). The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. *Nutr J* 9, 3 (2010). <https://doi.org/10.1186/1475-2891-9-3>

Chem J. (2023) Systematic Analysis of the Nitrogen Adsorption-Desorption Isotherms Recorded for a Series of Materials Based on Microporous-Mesoporous Amorphous Aluminosilicates Using Classical Methods. *Journal of Chemical & Engineering Data*, vol 68, Issue 9, 2512-2528.

Chen Z., Yu T., Zhou B., Wei J., Fang Y., Lu J., Guo L., Chen W., Liu Z., Luo J., (2016). Mg (II)-Catechin nanoparticles delivering siRNA targeting EIF5A2 inhibit bladder cancer cell growth *in vitro* and *in vivo*. *Biomaterials* 81 (2016) 125-134.

Chuting Shi, Haiyue Zhao, Ying Fang, Lan Shen, Lijie Zhao (2023). Lactose in tablets: Functionality, critical material attributes, applications, modifications and co-processed excipients, *Drug Discovery Today*, Volume 28, Issue 9, 2023, 103696, ISSN 1359-6446, <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2023.103696>.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S135964462300212X?via%3Dihub>

Clogston JD, Patri Ak (2011). Zeta potential measurement. *Methods Mol Biol.* 2011;697:63-70.

Cytion (2025). Líneas celulares de cáncer del aparato reproductor: Células HeLa. Recuperado de: <https://www.cytion.com/es/Celulas-HeLa/300194>

Cytion (S.F.) Células HaCaT - Exploración de la biología y las enfermedades de la piel. Recuperado de: https://www.cytion.com/es/Centro-de-conocimiento/Linea-celular/Linea-celular-HaCaT-Exploracion-de-la-biologia-y-las-enfermedades-de-la-piel/#_Toc129177414.

Dimitrios Giliopoulos, Alexandra Zamboulis, Dimitrios Giannakoudakis, Dimitrios Bikiaris, Konstantinos Triantafyllidis (2020). Polymer/Metal Organic Framework (MOF) Nanocomposites for Biomedical Applications. *Molecules*. 2020 Jan 1;25(1):185. DOI: 10.3390/molecules25010185. PMID: 31906398; PMCID: PMC6983263. <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/1/185>

Elder DP, Kuentz M, Holm R. (2016). Pharmaceutical excipients - quality, regulatory and biopharmaceutical considerations. *Eur J Pharm Sci.* 2016 May 25; 87:88-99. doi: 10.1016/j.ejps.2015.12.018. Epub 2015 Dec 14. PMID: 26699228.

Eleftherios Halevas, Barbara Mavroidi, Maria Pelecanou, Antonios G. Hatzidimitriou (2021). Structurally characterized zinc complexes of flavonoids chrysin and quercetin with antioxidant potential, *Inorganica Chimica Acta*, Volume 523, 2021, 120407, ISSN 0020-169.

Flores, E. M. R. (2021). Especies reactivas de oxígeno, importancia e implicación patológica. *Revista científica ciencia médica*, 24(2), 125-132.

Freshney R.I. (2015). *Culture of animal cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications*. Seventh Edition. Alemania: Wiley.

Galán Martínez Loipa (2025). Flavonoides catequina, hesperidina y rutina: sus efectos sobre la salud cardiovascular. *Rev Cuba Cardiol Cir Cardiovasc*. 2025;31:e2316.

Ge Y., Wang K., Li H., Tian., Wu., Lin Z., Lin Y., Wang Y., Zhang J., Tang B., (2021). An Mg-MOFs based multifunctional medicine for the treatment of osteoporotic pain. *Material Science and Engineering*, Volume 29, 112386.

Ghosh N., Chakraborty T., Mallick S., Mana S., Singha D., Ghosh B., Roy S. (2015). Synthesis, characterization and study of antioxidant activity of quercetin-magnesium complex. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. Pages 807-813.

Gil de Antuñano N.P., Manonelles Marqueta P., Blasco Redondo r., Contreras Fernández c., Franco Bonafonte L., Gaztañaga T., Aurrekoetxea T., Manuz González B., Galván Carlos de Teresa, Mdel Valle Soto M. (2019). Suplementos nutricionales para el deportista. Ayudas ergogénicas en el deporte – 2019. Documento de consenso de la Sociedad Española de Medicina del Deporte.

Goldstein Eveli, Monzón Jesica y Barcos Nicolás (2022). Ingredientes farmacéuticos activos. Oportunidades para su desarrollo y exportación. *Agrgentina productiva 2030*. Documento N. 29.

Gutiérrez-Venegas, Gloria (2018). Flavonoides en el tratamiento de la hipertensión en pacientes geriátricos. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro social*. ISSN: 0443-5117.

Hong Shan, Wua Shanshan, Cai él, Wang Yimin, Lu Songbai. (2017). Instant structure profiling of substituted catechins by chemical shift fingerprint of hydrogens of phenolic hydroxyl groups. *Jornal of Functional Foods*, Volume 37, Pages 58-65.

Hongming He, Qi Sun, Wenyang Gao, Jason A. Perman, Fuxing Sun, Guangshan Zhu, Biana Aguila, Katherine Forrest, Brian Space, Shengqian Ma (2018). A Stable Metal-Organic Framework Featurinf a Local Buffer Environment for Carbon Dioxide Fixation. *Angewandte Chemie, International Edition*.

Hu Jiaqi, Chen yi, Zhang Hui, Chen Zhenxia (2021). Controlled syntheses of Mg-MOF-74 nanorods for drug delivery. *Journal of Solid State Chemistry* 274 (2021) 121853.

Iulian L.L., Panainte A., Batir M.D., Mircea C. (2023). Catechin-Zinc-Complex: Sunthesis, Characterization and Biological Activity Assessment. *Farmacia*, 2023, Vol. 71, 4.

Lawson S, Rownaghi AA, Rezaei F (2021). Combined Ibuprofen and Curcumin Delivery Using Mg-MOF-74 as a Single Nanocarrier. ACS Appl Bio Mater. 2022 Jan 17;5(1):265-271. doi: 10.1021/acsabm.1c01067. Epub 2021 Dec 27. PMID: 35014812.

Lyapun I.N., Andryukov B.G., Bynina M.P. (2020) HeLa Cell Culture: Immortal Heritage of Henrietta Lacks. Molecular Genetics Microbiology and Virology, Volume 34, Pages 195-200.

Lyapun I.N., Andryukov B.G., Bynina M.P. (2020) HeLa Cell Culture: Immortal Heritage of Henrietta Lacks. Molecular Genetics Microbiology and Virology, Volume 34, Pages 195-200.

Metrohm (2024). Comprender el mecanismo de un indicador de bioensayo por fluorescencia. Análisis del Azul Alamar durante sus procesos electroquímicos con espectroelectroquímica de fluorescencia.

Microtrac (S.F.). Análisis del tamaño de las partículas y del potencial zeta. Microtrac Particle characterization. <https://www.microtrac.es/es/productos/dispersion-de-luz-dinamica/#:~:text=%C2%BFQ%C3%BAe%20es%20la%20dispersi%C3%B3n%20de,de%20dispersi%C3%B3n%20de%20luz%20din%C3%A1mica.>

Mohamed Rizwan & Damodharan N. (2020). Mathematical Modelling of Dissolution Kinetics in Dosage forms. Research Journal of Pharmacy and Technology, 2020, Vol 13, Issue 3, 1339-1345. DOI: 10.5958/0974-360X.2020.00247.4

Namita Singh, Somayah Qutub Niveen M. Khashab (2021). Biocompatibility and biodegradability of metal organic frameworks for biomedical applicatios. J. Mater. Chem. B, 2021, 9, 5925-5934.

Ortiz Escarza, J.M., Medina Lopez, M.E. (2020). Estrés oxidativo ¿un asesino silencioso? Educ. quím (online). 2020, Vol. 31, n.1, pp. 1-11.

Ortiz Melo, G., Mora-Ramírez M.A., Pérez Avilés R. (2024) Los Flavonoides en nuestra alimentación para la prevención y tratamiento de enfermedades. ¿Tú los comes? RD-ICUAP, 10(30), 116-124. <https://doi.org/10.32399/icuap.rdic.2448-5829.2024.30.1440>

Özlem Erol & Sandra Irmisch (2025). Identification of Flavonoids Using UV-Vis and MS Spectra. Natural Product Isolation and Identification. Methods and Protocols. Pp 111-135.

Paarakh, M.P., Jose, P. A., Setty, C., Peterchristoper, G. (2023). Release kinetics- concepts and applications. International Journal of Pharmacy Research & Technology (IJPRT), 8(1), 12-20.

Patel R, Barker J, ElShaer A. (2020). Pharmaceutical Excipients and Drug Metabolism: A Mini-Review. Int J Mol Sci. 2020 nov 3;21(21):8224. doi: 10.3390/ijms21218224. PMID: 33153099; PMCID: PMC7662502

Pato-Doldán Breogán, Rosnes Mali H., Pascal D.C. Dietzel (2017). An In-Depth Structural Study of the Carbon Dioxide Adsorption Process in the Porous Metal-Organic Frameworks CPO-27-M. *ChemSusChem*. Volume 10, Issue 8, Pages 1710-1719.

Pelczyńska Marta, Moszak Malgorzata, Bogdański Pawel (2022). The Role of Magnesium in the Pathogenesis of Metabolic Disorders. *Nutrients* 22, 14(9), 1714.

Pool Hector, Luna-Barcenas Gabriel, McClements David Julian, Mendoza Sandra. (2017). Development of polymethacrylate nanospheres as targeted delivery systems for catechin within the gastrointestinal tract. *J Nanopart Res* (2017) 19: 324.

PubChem (S.F). Quercetin. National Library of Medicine.

R.W. Korsmeyer, R. Gurny, E. Doelker, P. Buri, N.A. Peppas (1983). “Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers”, *Int J Pharm*, 15: 25-35.

Realista, Sara, Reis, Ana R., Borralho, Duarte, Corregidor, Victoria, Alves, Luís C., Magalhães, Sérgio, Nunes, Telmo, Viana, Ana S., Pires, João, Ferraria, Ana M., Botelho do Rego, Ana M., Martinho, Paulo N. (2024) Electrosynthesis of Iron-Based Metal–Organic Materials with Bis (salicylic acid) Derivatives. *The Journal of Physical Chemistry C* 2024, 128, 28, 11904-11914

Reinaldo Vallejo, Daniela Quinteros, Javier Gutiérrez, Sofía Martínez, Soraya Rodríguez Rojo, Luis Ignacio Tártara, Santiago Palma, Francisco Javier Arias (2024). Acetazolamide encapsulation in elastin like recombinamers using a supercritical antisolvent (SAS) process for glaucoma treatment, *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 657, 2024, 124098, ISSN 0378-5173, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.124098>.

Rojas Pérez Lino Arturo, Rojas Cruz Lino Arturo, Villagómez Vega María Daniela, Rojas Cruz Augusto Ernesto, Rojas Cruz Andrés Eduardo (2019). Preeclampsia – eclampsia diagnosis and treatment. *Revista Eugenio Espejo*, vol 13, num 2, pp. 79-91, 2019.

SDBS (S.F). National Institute of Advanced Industrial Science and Technology. Recuperado de: <https://sdfs.db.aist.go.jp/>

Sergio Luis Laurella (2017). Resonancia magnética nuclear. Una herramienta para la elucidación de estructuras moleculares. *Libros de Cátedra*, Editorial de la Universidad de Plata.

Shao Zuliang, Liu Él, Lin Qibin, Wuc Mingyang, Sun Lei (2024). Heat and mass transfer análisis during the process of methane hydrate dissociation by termal stimulation. *Fuel*, volumen 352, 130790.

Singh Namita, Qutub Somayah, Khashab Niveen M. (2021). Biocompatibility and biodegradability of metal organic frameworks of biomedical applications. *J. Mater. Chem. B*, 2021, 9, 5925-5934. <https://doi.org/10.1039/D1TB01044A>.

Skoog Douglas A., Leary James J. (1994). *Análisis Instrumental*. Cuarta edición. McGraw-Hill.

Sorribas, S., & Téllez, C. (2016). MOFs: propiedades y aplicación en separaciones más eficientes. Departamento de Ingeniería Química y Tecnologías del Medio ambiente e Instituto de Nanociencia de Aragón (INA). Universidad de Zaragoza, 20018, Zaragoza, España.

T. Higuchi (1963). "Mechanism of sustained action medication: Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices", *J. Pharm. Sci.* 52, 1145-1149.

Verstuyft Céline & Becquemont Laurent (2022). *Farmacocinética de los medicamentos*. EMC-Tratado de Medicina 26(1): 1-9.

Villafuerte Robles Leopoldo (2011). Los excipientes y su funcionalidad en productos farmacéuticos sólidos. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*. Vol.42 No. 1 Ciudad de México. ISSN 1870-0195.

Wang Yijun, Zhang Wei, Lv Qiongying, Zhang Jua, Zhu Dingjun (2015). The critical role of quercetin in autophagy and apoptosis in HeLa cells. *Tumor Biology*, Volumen 37, 925-929.

Yang Da-Ae, Cho Young, Kim, Yang Seung-Tae, Ahn Wha-Seung (2012). CO₂ capture and conversión using Mg-MOF-74 prepared by a sonochemical method. *Energy & enviromental Science*. Issue 4, 2012.

Yildirim, A., Haug, T. C., Fröba, M., Huber, P., & Schönhals, A. (2025). Molecular fluctuations in mixed-metal MOF-74: influence of the metal composition. *RSC advances*, 15(35), 29109-29118

Zhao Haiyue, Zhao Lijie, Lin Xiao, Shen Lan. (2022). An update on microcrystalline cellulose in direct compression: Functionality, critical material attributes and co-processed excipients. *Carbohydrate Polymers*, Volume 278, 2022, 118968, ISSN 0144-8617,

Zhenjiong Wang, Yiding Ma, Ying Jiang, Feng Zhou, Yulong Wu, Haitao Jiang, Renlei Wang, Qing Xu, Chun Hua (2021). Encapsulating quercetin in cyclodextrin metal-organic frameworks improved its solubility and bioavailability. *Society of Chemical Industry*.

Zhu Zhou, Jiang Shaokang, Yanhua Liu, Gao Xiaomeng, Hu Shanshan, Zhang Xin, Huang Chao, Wan Qianbing, Wang Jian, Pei Xibo (2020). Micro or nano: Evaluation of biosafety and biopotency of magnesium metal organic framewokr-74 with different particle sizes. *Nano Research*, 2020, 13(29): 511-526. <https://doi.org/10.1007/s12274-020-2642-y>

Zsófia Németh, Ildikó Csóka, Reza Semnani Jazani, Bence Sipos, Henrik Haspel, Gábor Kozma, Zoltán Kónya, Dorina Gabriella Dobó (2022). Quality by Desing-Driven Zeta Potential Optimisation Study of Liposomes with Charge Imparting Membrane Additives. *Pharmaceutic* 2022, 14(9), 1798.

ANEXO I

En este apartado, se muestran las gráficas correspondientes a los modelos cinéticos aplicados para el análisis de la liberación de los flavonoides Quer y Cat en capsulados en la MOF-Mg. En la Figura A1 corresponde a la liberación de quercetina en el sistema MOF-Mg/Quer y la Figura A2 a la liberación de catequina de MOF-Mg/Cat.

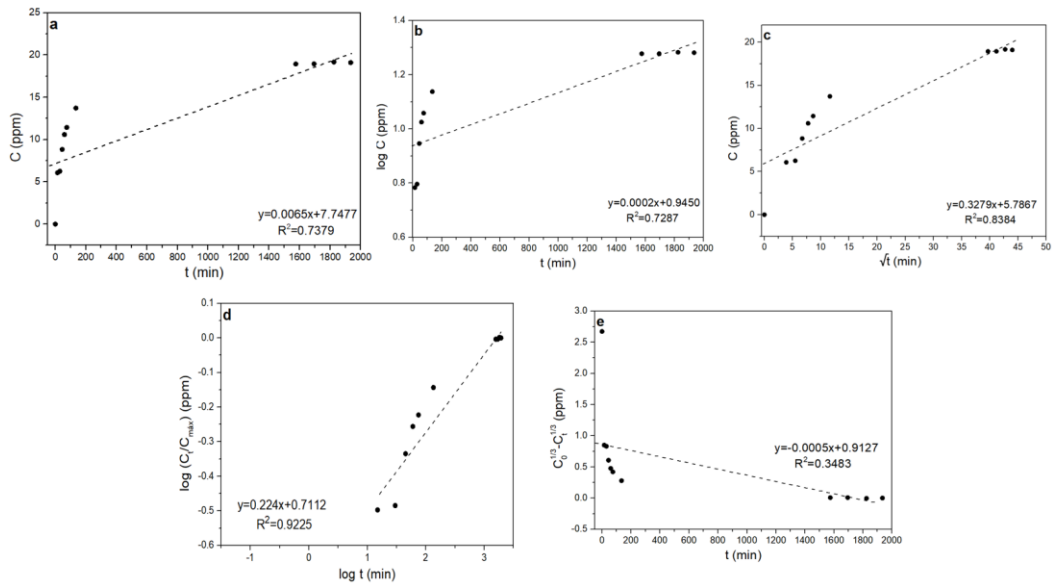


Figura A1. Modelos cinéticos de liberación de Quer: a) orden cero, b) primer orden, c) Higuchi, d) Korsmeyer-Peppas y e) Hixson.

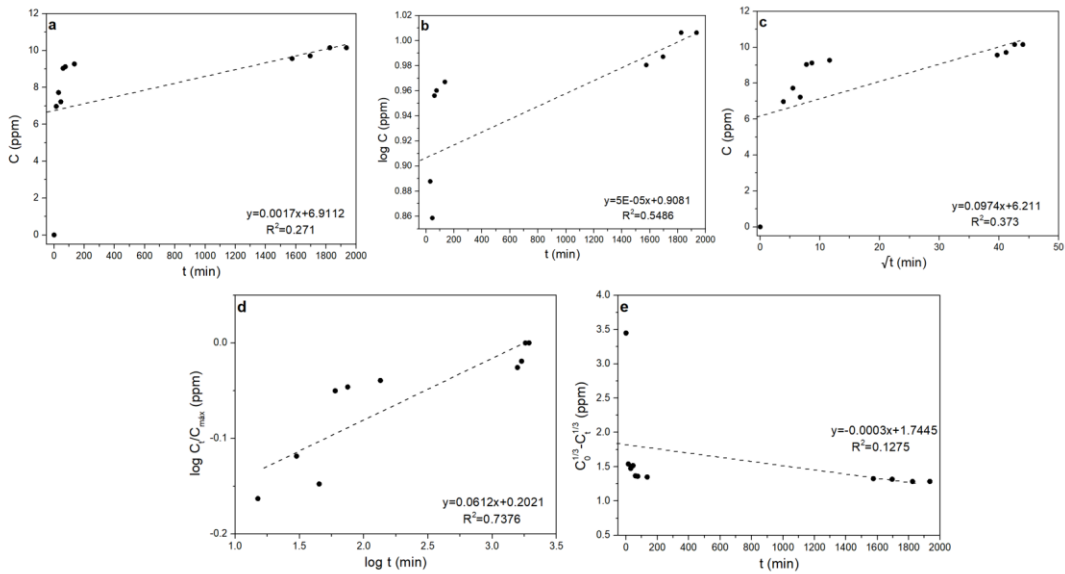


Figura A2. Modelos cinéticos de liberación de Cat: a) orden cero, b) primer orden, c) Higuchi, d) Korsmeyer-Peppas y e) Hixson.