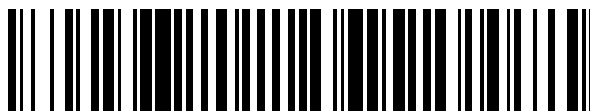


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 502 520**

51 Int. Cl.:

C07F 15/02 (2006.01)
C07F 19/00 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)
A61K 47/08 (2006.01)
A61K 49/18 (2006.01)
G01N 33/58 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61K 8/30 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.10.2008** **E 08861269 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.07.2014** **EP 2193136**

54 Título: **Sólido híbrido orgánico-inorgánico de superficie modificada**

30 Prioridad:

01.10.2007 FR 0706875

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

03.10.2014

73 Titular/es:

**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (CNRS) (50.0%)
3, rue Michel-Ange
75794 Paris Cedex 16, FR y
UNIVERSITÉ DE VERSAILLES SAINT-QUENTIN-
EN-YVELINES (50.0%)**

72 Inventor/es:

**HORCAJADA CORTES, PATRICIA;
FEREY, GÉRARD;
SERRE, CHRISTIAN;
GREF, RUXANDRA y
COUVREUR, PATRICK**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 502 520 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Sólido híbrido orgánico-inorgánico de superficie modificada

Campo técnico

La presente invención se refiere a un sólido de red metal-orgánica o «Metal-Organic Framework» (MOF), cristalino poroso, así como, principalmente a su procedimiento de preparación.

El sólido MOF de la presente invención se utiliza, por ejemplo, como agente de contraste y/o para el transporte de compuestos farmacéuticos. El sólido de la presente invención también se puede utilizar para aplicaciones en el campo cosmético. También se puede utilizar para la vectorización y/o el seguimiento de compuestos farmacéuticos en un organismo. Se puede presentar, por ejemplo, en forma de cristales, de polvo, de partículas o de nanopartículas.

Las referencias entre corchetes [X] remiten a la lista de referencias al final de los ejemplos.

Estado de la técnica

Las redes metal-orgánicas o «Metal-Organic Framework» (MOF) son polímeros de coordinación de armazón híbrido inorgánico-orgánico que comprenden iones metálicos y ligandos orgánicos coordinados a los iones metálicos. Estos materiales están organizados en redes mono-, bi- o tri-dimensionales en los que los clústeres metálicos están unidos entre sí por ligandos espaciadores de forma periódica. Estos materiales tienen una estructura cristalina, a menudo son porosos y se utilizan en numerosas aplicaciones industriales tales como el almacenamiento de gas, la adsorción de líquidos, la separación de líquidos o de gases, catálisis, etc.

Se puede citar, por ejemplo, la solicitud de patente estadounidense US 10/039.733 [1] que describe un procedimiento de reacción en el que interviene un sistema de catálisis que comprende un material MOF a base de zinc. Este mismo material se utiliza también para el almacenamiento de gas en la solicitud de patente estadounidense US 10/061.147[2].

Además, los materiales MOF basados en redes de la misma topología se denominan «isorreticulares». Estas redes organizadas en el espacio han permitido obtener una porosidad más homogénea. Así, la solicitud de patente estadounidense US 10/137.043 [3] describe varios materiales IRMOF (*IsoReticular Metal-Organic Framework*) a base de zinc utilizados para el almacenamiento de gas.

Sin embargo, las nanopartículas son difíciles de sintetizar, y especialmente las nanopartículas de tamaño inferior a 1.000 nm, teniendo en cuenta su tendencia a agregarse fácilmente y teniendo en cuenta la tendencia de estos materiales a organizarse en redes cristalinas de gran tamaño (micrones). Esto también da lugar a problemas de falta de homogeneidad en el tamaño de las partículas que son desfavorables para algunas aplicaciones.

Además, la estructura de estos materiales y la topología de los elementos que los constituyen no han sido realmente estudiados en la técnica anterior. Además, las estructuras no siempre están controladas de forma que se obtengan propiedades específicas tales como un tamaño de poros «a medida», adaptado a las moléculas que se van a adsorber, una estructura flexible o rígida, una superficie específica y/o una capacidad de adsorción mejoradas, etc. En efecto, es difícil controlar la organización estructural y la porosidad de estos materiales.

Una de las razones de la dificultad de control de la organización estructural está ligada a los riesgos de interpenetración de las redes. En efecto, en el transcurso de la formación o polimerización de los materiales, las redes pueden ensamblarse unas en otras. El aumento del número de redes interpenetradas conduce a un material más denso con poros reducidos, y por lo tanto a una estructura no homogénea con una porosidad no adaptada y heterogénea.

Así pues, se han utilizado agentes «de modelado» para la obtención de estructuras «controladas» tal como se describe en la patente estadounidense US 5.648.508 [4]. Los ligandos se organizan alrededor del metal encapsulando estos agentes «de modelado» en cavidades o poros. No obstante, estos agentes interactúan de forma importante con el material MOF, haciendo que sea difícil, casi imposible, su eliminación sin dañar la red, lo que da lugar a un sólido cuyos poros ya están ocupados por estos agentes.

Pero la utilización de estos agentes añade material químico durante la síntesis de las partículas lo que hace que el procedimiento sea más complejo y más costoso. Además, para aplicaciones médicas, este modelado parece difícilmente adaptable.

Quedan por lo tanto muchas mejoras que hacer en cuanto al control de la estructura y del tamaño de las partículas con el fin de obtener materiales apropiados para cada aplicación, con porosidades, tamaños de partícula y capacidades de carga homogéneos y adaptados.

Por otra parte, la utilización de transportadores y vectores de moléculas de interés, principalmente moléculas de efecto terapéutico o marcadores, se ha convertido en un importante desafío para el desarrollo de nuevos métodos

de diagnóstico o de nuevos medicamentos. En efecto, las moléculas de interés presentan características que tienen influencia en la farmacocinética y en la biodistribución de estas moléculas y que no son siempre favorables o adaptables con respecto al medio en el que se introducen. Se trata, por ejemplo, de características físico-químicas tales como la inestabilidad, la elevada tendencia a la cristalización, la baja hidrosolubilidad y/o características biológicas tales como la toxicidad, la biodegradabilidad, etc.

Como ejemplo, numerosos agentes anticancerígenos tienen un índice terapéutico limitado por su gran actividad citotóxica.

El índice terapéutico también puede estar limitado por una baja solubilidad y una fuerte tendencia a la cristalización de los principios activos. Esto no solamente puede llevar a una ralentización de la disolución y de la adsorción de los principios activos sino también a un riesgo de obstrucción vascular parcial o total por la formación de partículas cristalinas *in situ* después de su administración. Es el caso principalmente de agentes anticancerígenos alquilantes tales como el busulfán que tienen grupos químicos con una elevada tendencia a autoasociarse, mediante interacciones hidrófobas o polares que conducen a la cristalización espontánea de estas moléculas. Por lo tanto, es importante evitar este fenómeno de cristalización, por ejemplo durante la vectorización de dichos principios activos.

La inestabilidad de los principios activos plantea también un problema de eficacia terapéutica. Efectivamente, algunos principios son eliminados rápidamente por el sistema inmunitario o captados por los órganos del sistema reticuloendotelial (principalmente, el hígado y el bazo). Es el caso particularmente del busulfán, que es captado mayoritariamente por el hígado en los 10 a 30 minutos posteriores a la administración oral o intravenosa y que puede ser responsable de la aparición de la enfermedad venooclusiva del hígado para la que no existe tratamiento.

Así, se han desarrollado diversos materiales, como por ejemplo liposomas o diversos polímeros, para el transporte de compuestos activos. Principalmente, se han desarrollado vectores «furtivos», débilmente reconocidos por el sistema inmunitario y/o capaces de evitar la captura por estos órganos, con el objetivo de encapsular y/o vectorizar principios activos inestables y/o tóxicos.

El documento *Bone Marrow Transplant*. 2002, 30 (12), 833-841 [6] describe por ejemplo vectores coloidales, principalmente cargados de busulfán. Desgraciadamente, la tasa de encapsulación del busulfán es baja, alcanzando tan sólo el 0,5% en peso del peso total de liposomas. Además, dichos vectores coloidales a base de liposomas presentan un bajo periodo de vida en el medio plasmático debido a la disociación espontánea y a la degradación metabólica rápida de estas estructuras lipídicas. Esto implica una baja eficacia terapéutica y grandes volúmenes de dispersiones liposomales a veces incompatibles con las dosis necesarias para el tratamiento.

Para mitigar este problema de estabilidad intraplasmática, se han desarrollado vectores coloidales sólidos a base de polímeros no hidrosolubles. Se presentan en forma de nanopartículas poliméricas biodegradables y los principios activos que pueden transportar se liberan progresivamente, por difusión y/o a medida que las nanopartículas se degradan metabólicamente. Es el caso de los polímeros de la familia de los poli(cianoacrilato de alquilo), tal como se describe en la patente estadounidense 4.329.332 [7], utilizados para el transporte de productos tóxicos y/o inestables.

Sin embargo, estas nanopartículas presentan una baja tasa de encapsulación. Además, la tasa de encapsulación depende de la naturaleza del principio activo que se va a encapsular en las nanopartículas de poli(cianoacrilato de alquilo). Efectivamente, en el caso de principios activos cristalinos poco solubles en agua y/o hidrófobos, tienen tendencia a precipitar y cristalizar en la fase acuosa dispersante del procedimiento de polimerización *in situ* utilizado para obtener estas nanopartículas. Ésto hace que la encapsulación de dichos principios activos sea difícil con bajas tasas de encapsulación en las nanopartículas de poli(cianoacrilato de alquilo), del orden de 0,1 a 1% en peso de la masa de polímero empleada.

Además, dichos vectores están poco adaptados a la encapsulación de principios activos muy reactivos como el busulfán por ejemplo. En efecto, en la medida en que estos vectores se fabrican por polimerización *in situ* en presencia del principio activo, éste corre el riesgo de reaccionar con las unidades monoméricas, impidiendo una polimerización adecuada necesaria para la elaboración de las nanopartículas.

Así, numerosas moléculas siguen siendo difíciles de encapsular, incluso imposibles, debido a su tendencia a la cristalización, su baja solubilidad en los disolventes y/o su inestabilidad.

Además, el busulfán plantea un verdadero desafío en cuanto a su encapsulación. Unos vectores furtivos que evitan el hígado no han permitido alcanzar objetivos de encapsulación satisfactorios debido a las bajas cargas posibles de busulfán. Las cargas máximas obtenidas con liposomas no sobrepasan el 0,5% en peso.

Más recientemente, la utilización de nanopartículas de polímeros biodegradables a base de poli(cianoacrilato de alquilo) ha permitido mejorar la tasa de encapsulación de Busulfán hasta aproximadamente un 5% en peso, tal como se describe en J. Bouligand, et al., *Int. J. Pharm.*, 2004 [8]. Sin embargo, cuando se hacen administraciones repetidas de nanopartículas, una acumulación grande de polímeros en el organismo puede ser terrible, por ejemplo en quimioterapia de dosis altas.

En el documento Shehu et al., Abstracts, 56th Southeast Regional Meeting of the American Chemical Society, November 10-13 (2004), GEN-771, se describen sólidos MOF cristalinos porosos de carboxilatos metálicos, en los que el metal puede ser Ni(II), Tb(III) o Eu(III).

- 5 En el documento Horcajada et al., Angew. Chem. Int. Ed., 45(36), 5974-5978, 2006 se describen MOFs cristalinos porosos isorreticulares de carboxilatos de cromo de fórmula $MIII_3OX(H_2O)_2(C_6H_3(CO_2)_3)$ y de estructura MIL-100 y MIL-101.

Por lo tanto existe una necesidad real de disponer de compuestos mejorados capaces de escapar del sistema inmunitario y/o de su captura por ciertos órganos, por ejemplo el hígado, evitando así su acumulación en estos órganos.

- 10 Existe también una necesidad real de disponer de compuestos capaces de vectorizar principios activos hacia dianas específicas.

Existe además una necesidad real de disponer de nuevos compuestos capaces de transportar principios activos, por ejemplo, principios activos que presentan dificultades particulares de encapsulación ligadas a su inestabilidad, su elevada tendencia a cristalizar, su baja solubilidad, su carácter hidrófilo, etc. Además, existe la necesidad de

- 15 disponer de nuevos compuestos con capacidades de carga suficientes sobre todo si se van a considerar administraciones repetidas de nanopartículas.

Además, existe una necesidad real de disponer de compuestos que permitan liberar principios activos de forma controlada.

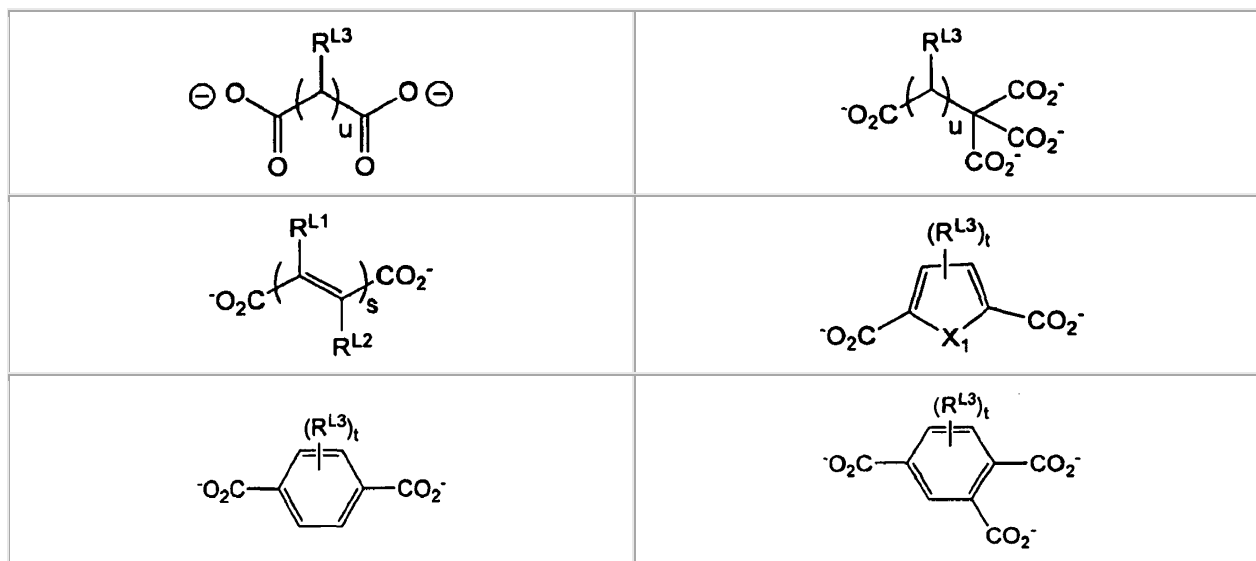
Exposición de la invención

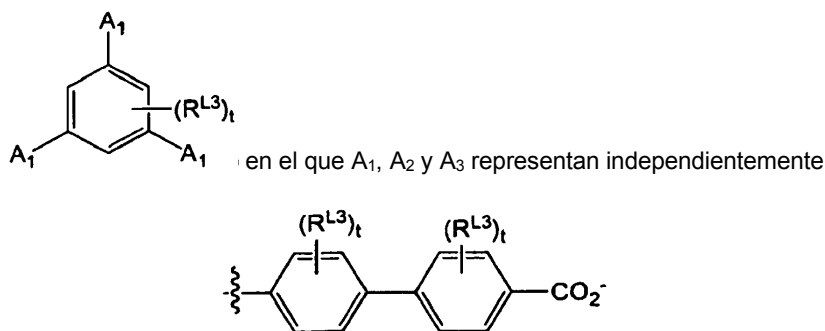
- 20 La presente invención tiene precisamente como objetivo responder a estas necesidades e inconvenientes de la técnica anterior proporcionando un sólido MOF cristalino poroso que comprende una sucesión tridimensional de restos que responden a la siguiente fórmula (I):



en la que:

- 25 - M es un ión metálico Fe^{2+} o Fe^{3+} ,
 - m, k, l y p son números - 0 elegidos de forma que se respete la neutralidad de las cargas del resto; preferentemente, m, k, l y p son independientemente de 0 a 4, por ejemplo m y p son independientemente 1, 2 ó 3 y/o k y l son independientemente 0 ó 1;
 - X es un ligando elegido entre el grupo que comprende OH^- , Cl^- , F^- , I^- , Br^- , SO_4^{2-} , NO_3^- , ClO_4^- , $R^1-(COO)_n^-$, $R^1-(SO_3)_n^-$, $R^1-(PO_3)_n^-$, en el que R^1 es un hidrógeno, un alquilo de C_1 a C_8 , lineal o ramificado, n = 1 a 6;
 30 - L es un ligando espaciador di-, tri-, tetra- o hexa-carboxilato elegido entre el grupo formado por:





en los que:

X₁ representa O o S,

s representa un número entero de 1 a 4,

en cada caso, t representa independientemente un número entero de 1 a 4,

5 u representa un número entero de 1 a 7,

R^{L1} y R^{L2} representan independientemente H, un halógeno o un alquilo de C₁ a C₆, y

en cada caso, R^{L3} representa independientemente H, un halógeno, OH, NH₂, NO₂ o un alquilo de C₁ a C₆;

10 en el que la superficie está modificada en que comprende al menos un agente de superficie orgánica elegido entre el grupo que comprende un oligosacárido, un polisacárido, un glicosaminoglicano, un polímero, un tensioactivo, una vitamina, una coenzima, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo, un aminoácido o un péptido.

Se describen diversos casos de M en los restos de fórmula (I) que pueden ser idénticas o diferentes. Así, la expresión «M es un ión metálico elegido entre el grupo que comprende Fe²⁺, Fe³⁺, Zn²⁺, Ti³⁺, Ti⁴⁺, Zr²⁺, Zr⁴⁺, Ca²⁺, Cu²⁺, Gd³⁺, Mg²⁺, Mn²⁺, Mn³⁺, Mn⁴⁺, Si⁴⁺» que figura anteriormente y en el presente documento es equivalente a la expresión: «en cada caso, M representa independientemente un ión metálico elegido entre el grupo que comprende

15 Fe²⁺, Fe³⁺, Zn²⁺, Ti³⁺, Ti⁴⁺, Zr²⁺, Zr⁴⁺, Ca²⁺, Cu²⁺, Gd³⁺, Mg²⁺, Mn²⁺, Mn³⁺, Mn⁴⁺, Si⁴⁺».

En algunos modos de realización, M representa Fe²⁺, Fe³⁺, Ti³⁺, Ti⁴⁺, Zr²⁺ o Zr⁴⁺.

Se entiende por «sólido» en la presente invención todo tipo de material cristalino. Dicho sólido se puede presentar, por ejemplo, en forma de cristales, de polvo, de partículas de formas variadas, por ejemplo, de forma esférica, laminar, etc. Las partículas pueden estar en forma de nanopartículas.

20 Por «nanopartícula», se entiende una partícula de tamaño inferior a 1 µm. En particular, las nanopartículas de sólido MOF según la invención pueden tener un diámetro inferior a 1.000 nanómetros, preferentemente inferior a 500 nm, de forma más preferida inferior a 250 nm, más particularmente inferior a 100 nm.

El término «sustituido» designa por ejemplo el reemplazamiento de un radical hidrógeno de una estructura dada por un radical R² tal como se ha definido anteriormente. Cuando se puede sustituir más de una posición, los

25 sustituyentes pueden ser los mismos o diferentes en cada posición.

Se entiende por «ligando espaciador», un ligando (incluyendo por ejemplo las especies neutras y los iones) coordinado al menos con dos metales, que participa en el alejamiento entre estos metales y en la formación de espacios vacíos o poros. El ligando espaciador puede comprender de 1 a 6 grupos funcionales A, tal como se han

30 definido anteriormente, que pueden ser monodentatos o bidentatos, es decir comprender 1 ó 2 puntos de unión al metal. Los puntos de adhesión al metal se representan en las fórmulas por el símbolo #. Cuando la estructura de una función A comprende 2 #, esto significa que la coordinación al metal se puede hacer por uno, el otro o los dos puntos de unión.

Se entiende por «alquilo» en el sentido de la presente invención, un radical carbonado lineal, ramificado o cíclico, saturado o insaturado, eventualmente sustituido, que comprende 1 a 12 átomos de carbono, por ejemplo 1 a 10

35 átomos de carbono, por ejemplo 1 a 8 átomos de carbono, por ejemplo 1 a 6 átomos de carbono.

Se entiende por «alqueno» en el sentido de la presente invención, un radical alquilo, tal como se ha definido anteriormente, que presenta al menos un doble enlace carbono-carbono.

Se entiende por «alquino» en el sentido de la presente invención, un radical alquilo, tal como se ha definido anteriormente, que presenta al menos un triple enlace carbono-carbono.

Se entiende por «arilo» en el sentido de la presente invención, un sistema aromático que comprende al menos un ciclo que satisface la regla de aromaticidad de Hückel. Dicho arilo está sustituido eventualmente y puede comprender de 6 a 50 átomos de carbono, por ejemplo de 6 a 20 átomos de carbono, por ejemplo de 6 a 10 átomos de carbono.

5 Se entiende por «heteroarilo» en el sentido de la presente invención, un sistema que comprende al menos un ciclo aromático de 5 a 50 eslabones entre los que al menos un eslabón del ciclo aromático es un heteroátomo, principalmente elegido entre el grupo que comprende azufre, oxígeno, nitrógeno y boro. Dicho heteroarilo está eventualmente sustituido y puede comprender de 1 a 50 átomos de carbono, preferentemente de 1 a 20 átomos de carbono, preferentemente de 3 a 10 átomos de carbono.

10 Se entiende por «cicloalquilo» en el sentido de la presente invención, un radical carbonado cíclico, saturado o insaturado, eventualmente sustituido, que puede comprender de 3 a 20 átomos de carbono, preferentemente de 3 a 10 átomos de carbono.

Se entiende por «haloalquilo» en el sentido de la presente invención, un radical alquilo tal como se ha definido anteriormente, comprendiendo dicho sistema alquilo al menos un halógeno.

15 Se entiende por «heteroalquilo» en el sentido de la presente invención, un radical alquilo tal como se ha definido anteriormente, comprendiendo dicho sistema alquilo al menos un heteroátomo, principalmente elegido entre el grupo que comprende azufre, oxígeno, nitrógeno y boro.

20 Se entiende por «heterociclo» en el sentido de la presente invención, un radical carbonado cíclico que comprende al menos un heteroátomo, saturado o insaturado, eventualmente sustituido, y que puede comprender de 2 a 20 átomos de carbono, preferentemente de 5 a 20 átomos de carbono, preferentemente de 5 a 10 átomos de carbono. El heteroátomo se puede elegir, por ejemplo, en el grupo que comprende azufre, oxígeno, nitrógeno y boro.

Se entiende por «alcoxi», «ariloxi», «heteroalcoxi» y «heteroariloxi» en el sentido de la presente invención, respectivamente un radical alquilo, arilo, heteroalquilo y heteroarilo unidos a un átomo de oxígeno.

25 Se entiende por «alquiltio», «ariltio», «heteroalquiltio» y «heteroariltio» en el sentido de la presente invención, respectivamente un radical alquilo, arilo, heteroalquilo y heteroarilo unidos a un átomo de azufre.

Se entiende por «base de schiff», un grupo funcional que contiene un enlace doble C=N de fórmula general $R^{X1}R^{X2}-C=N-R^{X3}$, en la que R^{X1} , R^{X2} y R^{X3} son tal como se han definido anteriormente.

30 Por «estructura tridimensional», se entiende una sucesión o repetición tridimensional de restos de fórmula (I) tal como se entiende de forma convencional en el campo de los materiales MOF, que se caracterizan igualmente como «polímeros metalo-orgánicos».

Salvo indicación contraria, los diversos modos de realización siguientes en relación a los materiales MOF se aplican tanto a la utilización como al procedimiento de la invención anteriormente citados.

Se entiende por «agente de superficie» según la invención una molécula que recubre en parte o en su totalidad la superficie del sólido permitiendo modular las propiedades de superficie del material, por ejemplo:

- 35
- modificar su biodistribución, por ejemplo para evitar su reconocimiento por el sistema reticuloendotelial («furtividad»), y/o
 - conferirle propiedades de bioadhesión interesantes en administraciones por vías oral, ocular o nasal, y/o
 - permitirle una selección específica de ciertos órganos/tejidos enfermos, etc.

40 Según la invención, varios agentes de superficie se pueden utilizar para combinar las propiedades anteriormente citadas.

Según la invención, un agente de superficie que combina al menos dos de las propiedades anteriormente citadas.

Según la invención, el agente de superficie orgánico se puede elegir por ejemplo entre el grupo que comprende:

- 45
- un oligosacárido como las ciclodextrinas,
 - un polisacárido como el quitosano, el dextrano, el fucoidano, el alginato, la pectina, la amilosa, el almidón, la celulosa y el xilano,
 - un glicosaminoglicano como el ácido hialurónico y la heparina,
 - un polímero como el polietilenglicol (PEG), el alcohol polivinílico y la polietilenimina,

- un tensioactivo como el plurónico y la lecitina.
 - las vitaminas como la biotina
 - las coenzimas como el ácido lipoico
 - los anticuerpos o fragmento de anticuerpos
- 5 • los aminoácidos o péptidos.

Además, el injerto de un agente de superficie en la superficie del sólido MOF según la invención permite responder a las necesidades ligadas a la vectorización del compuesto hacia dianas biológicas específicas y/o a la furtividad del material. Esto permite modular la biodistribución del material.

10 Según la invención, el agente de superficie se puede injertar o depositar en la superficie del sólido según la invención, por ejemplo, adsorbido en la superficie o unido por enlace covalente, por enlace de hidrógeno, por enlace de Van der Waals o por interacción electrostática. El agente de superficie también puede ser incorporado por entrecruzamiento durante la fabricación del sólido.

El agente de superficie puede ser, por ejemplo, un agente de superficie fosfatado incorporado durante o después de la síntesis del sólido.

15 El agente de superficie también puede ser una molécula de direccionamiento, es decir una molécula que reconoce o que es reconocida específicamente por una diana biológica. De esta forma, la asociación de los sólidos MOF de la invención con una molécula de direccionamiento permite dirigir las nanopartículas según la invención, y por lo tanto vectorizar los principios activos, hacia esta diana biológica, célula, tejidos, órganos.

20 Preferentemente, el sólido de la invención puede comprender al menos una molécula objetivo, como agente de superficie orgánico, que se puede elegir entre el grupo que comprende: la biotina, la avidina, el ácido fólico, el ácido lipoico, el ácido ascórbico, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo, un péptido, una proteína.

Así, el agente de superficie orgánico puede ser una molécula de direccionamiento elegida en el grupo que comprende la biotina, el quitosano, el ácido lipoico, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo, un péptido.

25 Por ejemplo, la presencia de la biotina en superficie se puede aprovechar para acoplar ligandos de forma fácil, por ejemplo por simple incubación. Para ello, es posible utilizar protocolos descritos en las publicaciones S. Balthasar et al., *Biomaterials*, Volume 26, Issue 15, May 2005, 2723-2732 [17] y R. Gref et al., *Biomaterials*, Volume 24, Issue 24, November 2003, 4529-4537 [18].

Se puede utilizar otro ligando en lugar de la biotina, por ejemplo el ácido fólico. Este ligando presenta un interés especial en el campo del cáncer tal como lo muestran las publicaciones [17] y [18] anteriormente citadas.

30 Este método de modificación de superficie presenta la ventaja de no perturbar el núcleo de los sólidos MOF, en particular cuando contienen gas, y de poder realizarse durante o después de la síntesis de los sólidos MOF, y por lo tanto de ofrecer una variedad de recubrimientos posibles.

35 También es posible utilizar una mezcla de polímeros que llevan funciones susceptibles de interaccionar con la partícula (MOF) como agente de superficie para responder a un pliego de especificaciones de carga preciso, por ejemplo, la bioadhesión, el reconocimiento específico, etc.

Entre los agentes de superficie que permiten un direccionamiento específico de algunos órganos/tejidos enfermos, se pueden citar por ejemplo, las vitaminas (biotina, ácido fólico, ácido lipoico, ácido ascórbico), los anticuerpos o fragmento de anticuerpos, los péptidos, las proteínas.

40 Según la invención, el agente de superficie se puede elegir por ejemplo entre el grupo que comprende un oligosacárido, un polisacárido, el quitosano, el dextrano, el ácido hialurónico, la heparina, el fucoidano, el alginato, la pectina, la amilosa, las ciclodextrinas, el almidón, la celulosa, el xilano, un polímero o un copolímero, por ejemplo el polietilenglicol (PEG), el plurónico, el alcohol polivinílico, la polietilenimina, etc.

45 Por otra parte, el sólido MOF según la invención tiene la ventaja de poder tener una estructura cristalina controlada, con una topología y una distribución particular, que proporciona a este material unas propiedades específicas. Estas propiedades específicas se encuentran en las diferentes formas del sólido MOF de la presente invención mencionadas anteriormente.

En la presente memoria, un sólido MOF descrito puede comprender átomos de metales di-, tri- o tetravalentes. Los átomos metálicos pueden tener una geometría octaédrica, pentaédrica, tetraédrica, incluso presentar una coordinación superior en la estructura del material.

Por «coordinación» o «número de coordinación», se entiende el número de enlaces para el que los dos electrones compartidos en el enlace proceden del mismo átomo. El átomo dador de electrones adquiere una carga positiva mientras que el átomo aceptor de electrones adquiere una carga negativa.

Además, los átomos metálicos pueden estar aislados o reagrupados en «clústeres» metálicos. El sólido MOF según la invención se puede construir, por ejemplo, a partir de cadenas de poliedros, de dímeros, trímeros o tetrámeros de poliedros. Por ejemplo, el sólido MOF según la invención se puede construir a partir de cadenas de octaedros, dímeros, trímeros o tetrámeros de octaedros. Por ejemplo, los materiales MOF carboxilato de hierro según la invención se pueden construir a partir de cadenas de octaedros unidos por los vértices o las aristas o de trímeros de octaedros conectados por un átomo de oxígeno central.

Se entiende por «cluster metálico» en el sentido de la presente invención un conjunto de átomos que contienen al menos dos metales unidos por enlaces iónico-covalentes, bien por aniones, por ejemplo O, OH, Cl, etc., o por el ligando orgánico.

Además, el sólido MOF según la invención se puede presentar en diferentes formas o «fases» teniendo en cuenta las diferentes posibilidades de organización y de conexión de los ligandos al metal o al grupo metálico.

Se entiende por «fase» en la presente invención una composición híbrida que comprende al menos un metal y al menos un ligando orgánico que posee una estructura cristalina definida.

La organización espacial cristalina del sólido de la presente invención es la base de las características y propiedades particulares de este material, y determina principalmente el tamaño de los poros, que influye en la superficie específica del material y en las características de adsorción, pero también en la densidad del material, que es relativamente baja, en la proporción de metal en este material, en la estabilidad del material, en la rigidez del material y en la flexibilidad de su estructura, etc.

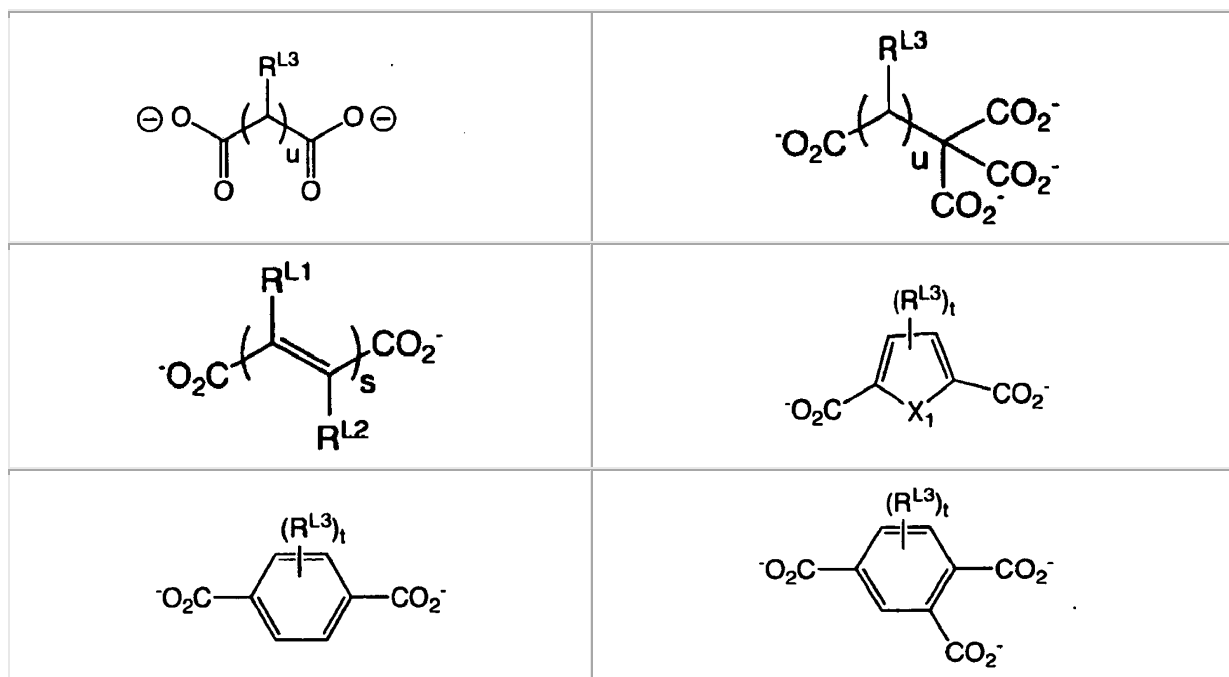
El sólido MOF según la invención puede ser isorreticular, es decir comprender redes de la misma topología.

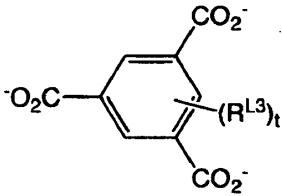
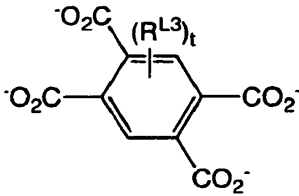
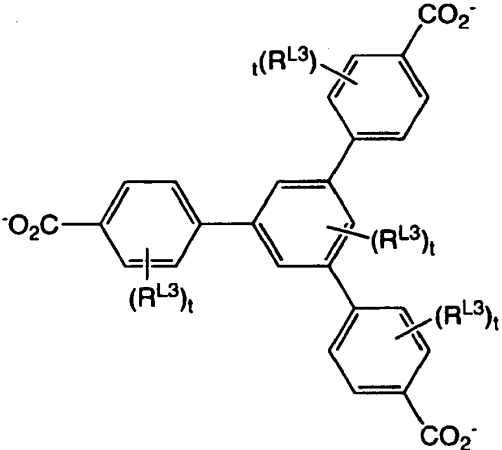
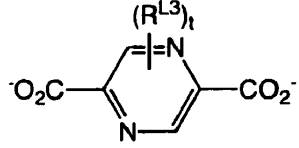
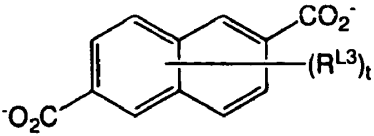
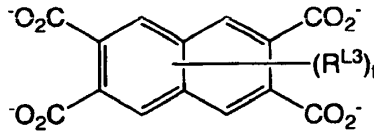
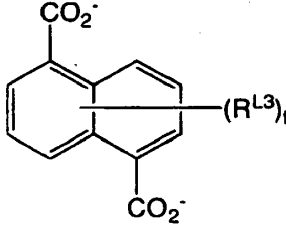
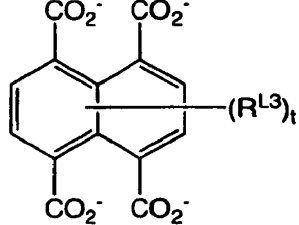
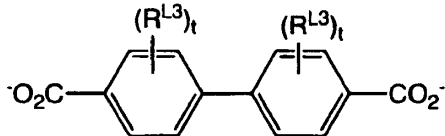
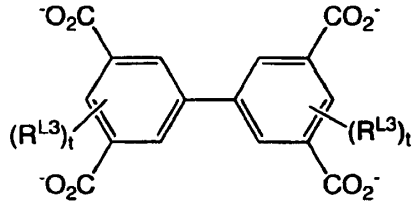
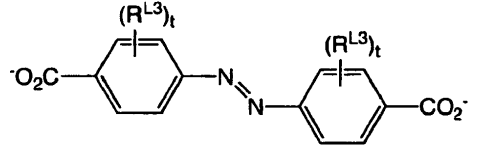
Además, el sólido de la presente invención puede comprender restos que contienen bien un único tipo de ión metálico, o varios tipos de iones metálicos.

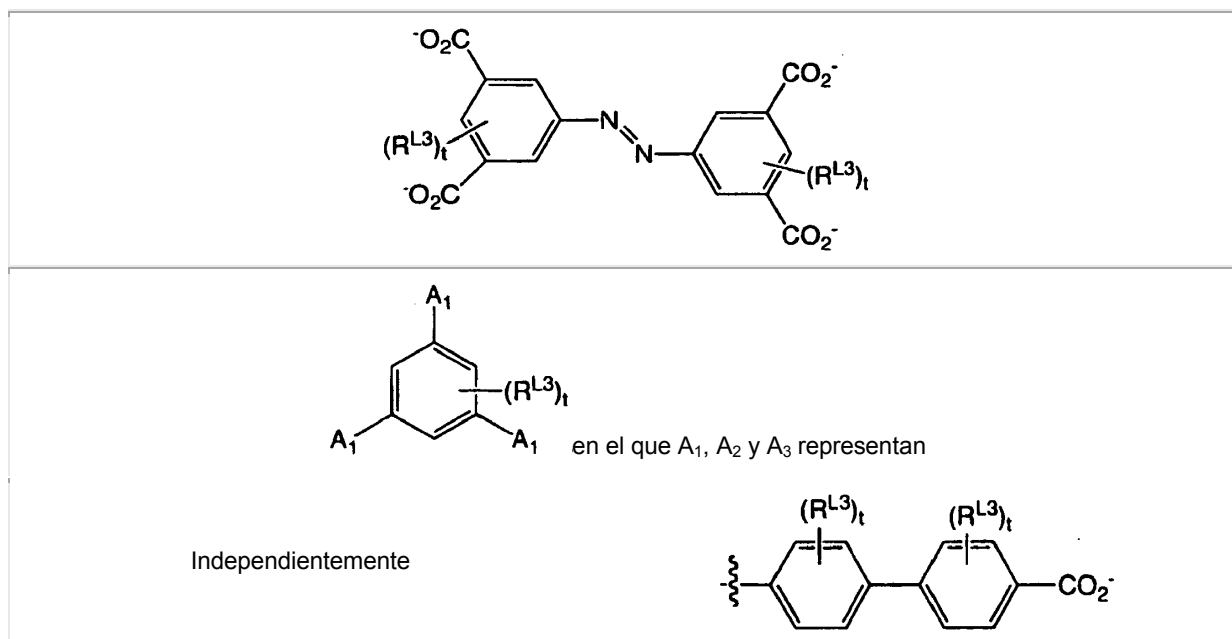
Por ejemplo, el sólido de la presente invención puede comprender una sucesión tridimensional de tres restos diferentes. También, por ejemplo, el sólido de la presente invención puede comprender una sucesión tridimensional de dos restos diferentes.

Además, el tamaño de los poros se puede ajustar mediante la elección de ligandos espaciadores apropiados.

El ligando L del resto de fórmula (I) de los sólidos MOF de la presente invención es un ligando di-, tri-, tetra- o hexa-carboxilato elegido entre el grupo que comprende:





en los que:

X₁ representa O o S,

s representa un número entero de 1 a 4,

en cada caso, t representa independientemente un número entero de 1 a 4,

5 u representa un número entero de 1 a 7,

R^{L1} y R^{L2} representan independientemente H, un halógeno o un alquilo de C₁ a C₆ (preferentemente metilo o etilo), y

en cada caso, R^{L3} representa independientemente H, un halógeno (preferentemente F, Cl o Br), OH, NH₂, NO₂ o un alquilo de C₁ a C₆ (preferentemente metilo o etilo).

En particular, el ligando L del resto de fórmula (I) de la presente invención puede ser un ligando di-, tri- o tetra-carboxilato elegido entre el grupo que comprende: C₂H₂(CO₂⁻)₂ (fumarato), C₂H₄(CO₂⁻)₂ (succinato), C₃H₆(CO₂⁻)₂ (glutarato), C₄H₄(CO₂⁻)₂ (muconato), C₄H₈(CO₂⁻)₂ (adipato), C₇H₁₄(CO₂⁻)₂ (azelato), C₅H₃S(CO₂⁻)₂ (2,5-tiofenodicarboxilato), C₆H₄(CO₂⁻)₂ (tereftalato), C₆H₂N₂(CO₂⁻)₂ (2,5-pirazinodicarboxilato), C₁₀H₆(CO₂⁻)₂ (naftaleno-2,6-dicarboxilato), C₁₂H₈(CO₂⁻)₂ (bifenilo-4,4'-dicarboxilato), C₁₂H₈N₂(CO₂⁻)₂ (azobencenodicarboxilato), C₆H₃(CO₂⁻)₃ (benceno-1,2,4-tricarboxilato), C₆H₃(CO₂⁻)₃ (benceno-1,3,5-tricarboxilato), C₂₄H₁₅(CO₂⁻)₃ (benceno-1,3,5-tribenzoato), C₆H₂(CO₂⁻)₄ (benceno-1,2,4,5-tetracarboxilato), C₁₀H₄(CO₂⁻)₄ (naftaleno-2,3,6,7-tetracarboxilato), C₁₀H₄(CO₂⁻)₄ (naftaleno-1,4,5,8-tetracarboxilato), C₁₂H₆(CO₂⁻)₄ (bifenil-3,5,3',5'-tetracarboxilato), y los análogos modificados elegidos entre el grupo que comprende el 2-aminotereftalato, el 2-nitrotereftalato, el 2-metiltereftalato, el 2-clorotereftalato, el 2-bromotereftalato, el 2,5-dihidroxotereftalato, el tetrafluorotereftalato, el tetrametiltereftalato, el dimetil-4,4'-bifenildicarboxilato, el tetrametil-4,4'-bifenildicarboxilato, el dicarboxi-4,4'-bifenildicarboxilato, el 2,5-pirazino dicarboxilato. El ligando L del resto de fórmula (I) de la presente invención también puede representar al 2,5-diperfluorotereftalato, azobenceno 4,4'-dicarboxilato, 3,3'-dicloro azobenceno 4,4'-dicarboxilato, 3,3'-dihidroazobenceno 4,4'-dicarboxilato, 3,3'-diperfluoroazobenceno-4,4'-dicarboxilato, 3,5,3',5'-azobenceno tetracarboxilato, 2,5-dimetiltereftalato, perfluorosuccinato, perfluoromuconato, perfluoro glutarato, 3,5,3',5'-perfluoro-4,4'-azobencenodicarboxilato, 3,3'-diperfluoroazobenceno-4,4'-dicarboxilato.

La mayoría de los ligandos de la lista anterior son comerciales. El lector podrá remitirse a la parte Ejemplos para la preparación de los ligandos no comerciales.

En un modo de realización, el ligando L presenta una actividad biológica. Los sólidos híbridos nanoporosos según la invención poseen una parte mineral, el metal (hierro), y una parte orgánica, un ligando con dos o varias funciones complejantes (carboxilato, fosfato, amida, etc). La incorporación de ligandos orgánicos que poseen una actividad biológica tiene la ventaja de permitir una liberación controlada de moléculas activas en función de la velocidad de degradación del material (se trata de los ligandos biológicamente activos anteriormente citados que se liberan durante la degradación del material MOF). Así, el material MOF, él mismo, es «bioactivo», es decir es susceptible de liberar componentes que tienen una actividad biológica.

Además, la liberación de estas moléculas activas que forman parte de la red MOF se puede combinar con la liberación de otros principios activos encapsulados en los sólidos MOF según la invención. Este aspecto de encapsulación de principios activos se describe más adelante en el presente documento.

Así, la presente invención se refiere igualmente a sólidos MOF que comprenden ligandos biológicamente activos y que encapsulan uno o varios principios activos, con una actividad que puede ser complementaria o diferente, y su utilización para terapias combinadas. La terapia combinada se realiza por liberación (i) del principio activo encapsulado en los poros del material MOF y (ii) de ligandos biológicamente activos incorporados a la red (el armazón) del material MOF cristalino.

Existen numerosas moléculas orgánicas biológicamente activas que comprenden funciones complejantes, susceptibles de formar sólidos híbridos porosos según la presente invención.

Por ejemplo, se puede tratar del ácido azelaico ($\text{HO}_2\text{C}(\text{CH}_2)_7\text{CO}_2\text{H}$, agente dermatológico con una actividad antineoplásica), el meprobamato (anticonvulsivo, sedante, relajante muscular, anti-ansiedad), el ácido aminosalicílico (antituberculoso), el clodronato, pamidrontato, alendronato y etidronato (antineoplásico óseo, profiláctico de Osteoporosis), azobencenos (actividad antimicrobiana, inhibidores de la COX), porfirinas o aminoácidos (Lys, Arg, Asp, Cys, Glu, Gln, etc.), del ácido dibenzofuran-4,6-dicarboxílico (inhibidor de transtretina), ácido dipicolínico (inhibidor de la dihidrodipicolinato reductasa), ácido glutámico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido subérico, ácido adipico, ácido nicotínico, nicotinamida, purinas, pirimidinas....

Se puede citar por ejemplo, la actividad antimicrobiana o anti-inflamatoria (NSAIDs, inhibidores COX) de los azobencenos. A este respecto, el lector podrá remitirse a las siguientes referencias: G. Oros, T. Cserhati, E. Forgacs, *Chemosphere* 52, 2003, 185 [ref 35], A.M. Badawi, E.M.S. Azzam, S.M.I. Morsy, *Bioorg. Med. Chem.*, 14, 2006, 8661 [ref 36] y W.-J. Tsai, Y.-J. Shiao, S.-J. Lin, W.-F. Chiou, L.-C. Lin, T.-H. Yang, C.-M. teng, T.-S. Wu, L.-M. Yang, *Bioorg. Med. Chem. Letters* 16, 2006, 4440 [ref 37].

Así, el ligando L puede ser un ligando biológicamente activo elegido entre el grupo que comprende $\text{C}_7\text{H}_{14}(\text{CO}_2^-)_2$ (azelato); aminosalicilato (grupos carboxílico, amino e hidroxilo); clodronato, pamidrontato, alendronato y etidronato (que comprende grupos fosfonato); meprobamato (que constan de grupos carbamato); porfirinas que comprenden grupos carboxilatos, fosfonatos y/o amino; aminoácidos (Lys, Arg, Asp, Cys, Glu, Gln, etc.) que constan de grupos amino, carboxilato, amida y/o imina; azobencenos que comprenden grupos carboxilatos, fosfonatos y/o amino; dibenzofuran-4,6-dicarboxilato, dipicolinato (ligando mixto de tipo piridina con grupos carboxílicos); el glutamato, fumarato, succinato, suberato, adipato, nicotinato, nicotinamida, purinas, pirimidinas...

En la parte «Ejemplos» se describen sólidos híbridos porosos a base de hierro y ligandos azobenceno, así como la demostración de su actividad antimicrobiana, el estudio de su degradación en medios fisiológicos y su actividad en las células.

El anión X del resto de fórmula (I) de la presente invención se puede elegir entre el grupo que comprende OH^- , Cl^- , Br^- , F^- , $\text{R}-(\text{COO})_n^-$, PF_6^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , ClO_4^- , con R y n tal como se han definido anteriormente.

En particular, el anión X del resto de fórmula (I) de la presente invención se puede elegir entre el grupo que comprende OH^- , Cl^- , F^- , CH_3-COO^- , PF_6^- , ClO_4^- , o también un ligando carboxilato elegido en la lista anterior.

En un modo de realización particular, el anión X se puede elegir entre el grupo que comprende OH^- , Cl^- , F^- y $\text{R}-(\text{COO})_n^-$ en el que R representa $-\text{CH}_3$, $-\text{C}_6\text{H}_3$, $-\text{C}_6\text{H}_4$, $-\text{C}_{10}\text{H}_4$ o $-\text{C}_6(\text{CH}_3)_4$.

En un modo de realización, el anión X puede estar en forma isotópica adaptada a las tecnologías de imágenes tal como la tomografía por emisión de positrones (TEP).

La tomografía por emisión de positrones (TEP) es un método de tecnologías de imágenes médico nuclear que permite medir en tres dimensiones la actividad metabólica de un órgano mediante las emisiones producidas por los positrones de la desintegración de un productor radiactivo inyectado previamente. La TEP se basa en el principio general de la escintigrafía que consiste en inyectar un trazador del que se conoce el comportamiento y las propiedades biológicas para obtener una imagen del funcionamiento del órgano. Este trazador está marcado por un átomo radiactivo (carbono, flúor, nitrógeno, oxígeno...) que emite positrones cuya aniquilación produce dos fotones. La detección de la trayectoria de estos fotones por el colimador de la cámara de TEP permite localizar el lugar de su emisión y por lo tanto la concentración del trazador en cada punto del órgano. Esta información cuantitativa se representa en forma de una imagen en la que se hacen aparecer en colores a las zonas de gran concentración del trazador.

De esta forma la TEP permite visualizar las actividades del metabolismo de las células: se habla de tecnologías de imágenes funcionales por oposición a las tecnologías de imágenes llamadas estructurales como las basadas en los rayos X (radiología o CT-scan) que se limitan a las imágenes de la anatomía. Por consiguiente, la tomografía por emisión de positrones es una herramienta de diagnóstico que permite desvelar algunas patologías que se traducen en una alteración de la fisiología normal como los cánceres. La TEP se utiliza también en la investigación biomédica, por ejemplo en tecnologías de imágenes del cerebro en las que permite revelar las regiones activas del cerebro en el

momento de una u otra actividad cognitiva de forma análoga a como se hace con las tecnologías de imágenes por resonancia magnética funcional.

Por ejemplo, X puede representar $^{18}\text{F}^-$, que es un emisor de positrones y por lo tanto permite la utilización de los sólidos MOF de la invención para aplicaciones que implican tecnologías de imágenes por TEP.

- 5 Por lo tanto, en un modo de realización, en el resto de fórmula (I), al menos en un caso el ligando X es $^{18}\text{F}^-$.

En un modo de realización, el ligando L es un ligando fluorado; es decir que comprende al menos un sustituyente F. Por ejemplo, se puede tratar de un ligando tetrafluorotereftalato, perfluorosuccinato, perfluoromuconato, perfluoro glutarato, 2,5 diperfluorotereftalato, 3,6 perfluoro 1,2,4,5 bencenotetracarboxilato, 3,5,3',5' perfluoro-4,4'-azobencenodicarboxilato, 3,3'-diperfluoroazobenceno-4,4'-dicarboxilato.

- 10 Los ligandos fluorados anteriormente citados se pueden enriquecer en isótopo ^{18}F mediante técnicas clásicas de radiosíntesis bien conocidas por los expertos de la técnica.

La técnica de TEP permite obtener imágenes muy detalladas de los tejidos vivos. El radio-isótopo flúor-18 (^{18}F) (t_{1/2} = 110 minutos) es un emisor de positrones; los positrones emitidos son aniquilados instantáneamente por los electrones de la materia circundante y los rayos gamma resultantes son los que se detectan.

- 15 Así, la invención se refiere igualmente a la utilización de sólidos MOF según la invención como marcadores utilizables en tecnologías de imágenes médicas, tal como la tecnología de imágenes por TEP.

De esta forma, se proporciona un procedimiento para visualizar tejidos vivos por TEP que comprende la administración de un sólido MOF según la invención a un sujeto, y la visualización de los tejidos mediante tecnologías de imágenes por TEP. En particular, el sólido MOF contiene al menos un ligando fluorado ^{18}F y/o ^{18}F como contra-ión (es decir, al menos en un caso X en el resto de fórmula (I) representa ^{18}F), tal como los anteriormente citados.

- 20

Por otra parte, la presencia de átomos de flúor en los sólidos MOF (en el armazón mismo de los sólidos MOF (anión X = F), por medio de ligandos L fluorados o por la presencia de moléculas fluoradas en los poros o en la superficie de los sólidos MOF de la invención, permite considerar la utilización de estos sólidos MOF para aplicaciones en tecnologías de imágenes médicas tal como la ecografía.

- 25

Así, la invención se refiere también a la utilización de los sólidos MOF según la invención para la fabricación de un agente de contraste utilizable en tecnologías de imágenes médicas, principalmente en ecografía, ecosonografía o tecnologías de imágenes por resonancia magnética.

El desarrollo de un agente de contraste para la ecografía supone la introducción de reflectores de ultrasonidos eficaces en los tejidos que se van a examinar. Como el reflector ideal son unas microburbujas gaseosas, se trataría de inyectar un gas en las venas del paciente. Formuladas en microburbujas de algunos micrones de diámetro, la administración del gas se vuelve inofensiva. Sin embargo, una vez en circulación, unas microburbujas de aire, bajo la acción combinada de la presión arterial y de la presión de Laplace, se disuelven en la sangre en el tiempo de algunos segundos.

- 30

Hasta el momento, el empleo de compuestos perfluorados, cuya solubilidad en agua es extremadamente baja, ha permitido formular microburbujas inyectables que tienen una persistencia intravascular suficiente para permitir un examen radiológico eficaz. Se acaban de comercializar varios agentes de contraste; principalmente a base de C_3F_8 , SF_6 o C_6F_{14} . Estos permiten, en particular, visualizar el borde endocárdico y diagnosticar anomalías cardíacas estructurales o funcionales. También facilitan la visualización de los vasos y la detección de defectos de perfusión, tumores y otras lesiones.

- 40

Los FC combinan una inercia química y biológica excepcional con una gran capacidad de disolución de gases, una extrema hidrofobicidad, así como una pronunciada lipofobicidad. Su muy baja solubilidad en agua permite estabilizar las microburbujas inyectables que sirven de agente de contraste en ecografía.

Así, los sólidos MOF según la presente invención, y que contienen moléculas perfluoradas pueden servir para el diagnóstico por ecosonografía o por tecnologías de imágenes por resonancia magnética.

- 45

Así, se proporciona un procedimiento de diagnóstico por ecografía, ecosonografía o por tecnologías de imágenes por resonancia magnética que comprende la administración a un sujeto de un sólido MOF según la invención, y la visualización de los tejidos por ecografía, ecosonografía o por tecnologías de imágenes por resonancia magnética. En particular, el sólido MOF contiene al menos una molécula perfluorada, tal como se ha citado anteriormente.

Además, tal como se discute más adelante, las características estructurales particulares de los sólidos MOF de la presente invención, principalmente en términos de flexibilidad o de tamaño de los poros, hacen que sean absorbentes de gran capacidad de carga, de gran selectividad y de gran pureza. Por lo tanto, hacen posible la adsorción de moléculas fluoradas, como por ejemplo los FCs, con un coste energético favorable y un tiempo de liberación más elevado.

- 50

Además, la presencia de átomos de flúor en los sólidos MOF (en el armazón mismo de los sólidos MOF (anión $X = F$), por medio de ligandos L fluorados o por la presencia de moléculas fluoradas en los poros o en la superficie de las nanopartículas de la invención), permite considerar la utilización de estos sólidos MOF para el transporte del oxígeno para fines médicos (p.ej., sustitutos sanguíneos).

- 5 En la presente memoria, se entiende por «sustituto sanguíneo» un material que permite encapsular el oxígeno, transportarlo y liberarlo en los tejidos y órganos que necesitan ser oxigenados (por ejemplo, durante una intervención quirúrgica, o durante una hemorragia).

10 Actualmente existen emulsiones de fluorocarbonos (FC) submicrónicos, estables e inyectables, estériles y listas para su empleo, que permiten proporcionar oxígeno a los tejidos y, por ejemplo, reducir el recurso a la transfusión sanguínea en cirugía.

La naturaleza formula oxígeno en un complejo de Fe hidrosoluble, la hemoglobina, ella misma encapsulada en el glóbulo rojo.

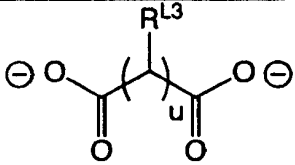
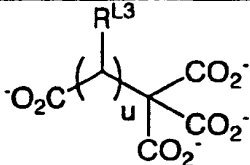
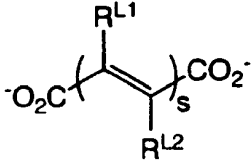
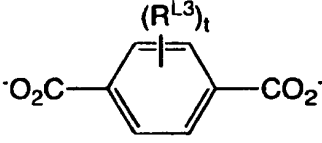
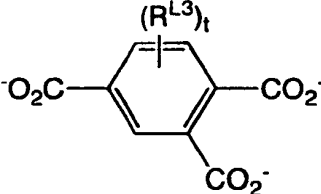
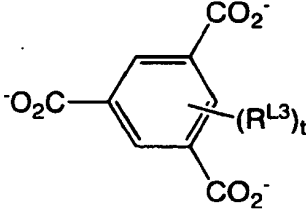
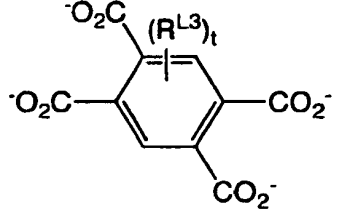
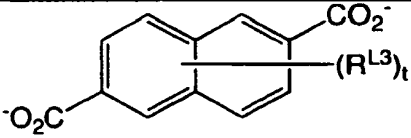
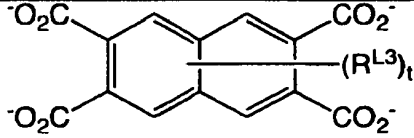
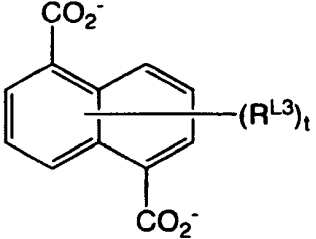
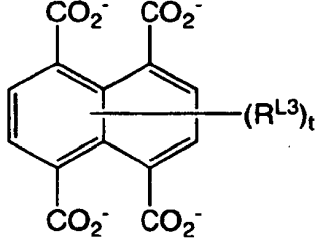
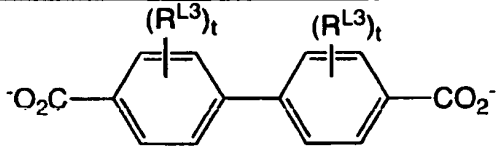
Las ventajas de los sustitutos sanguíneos con respecto a las transfusiones comprenden:

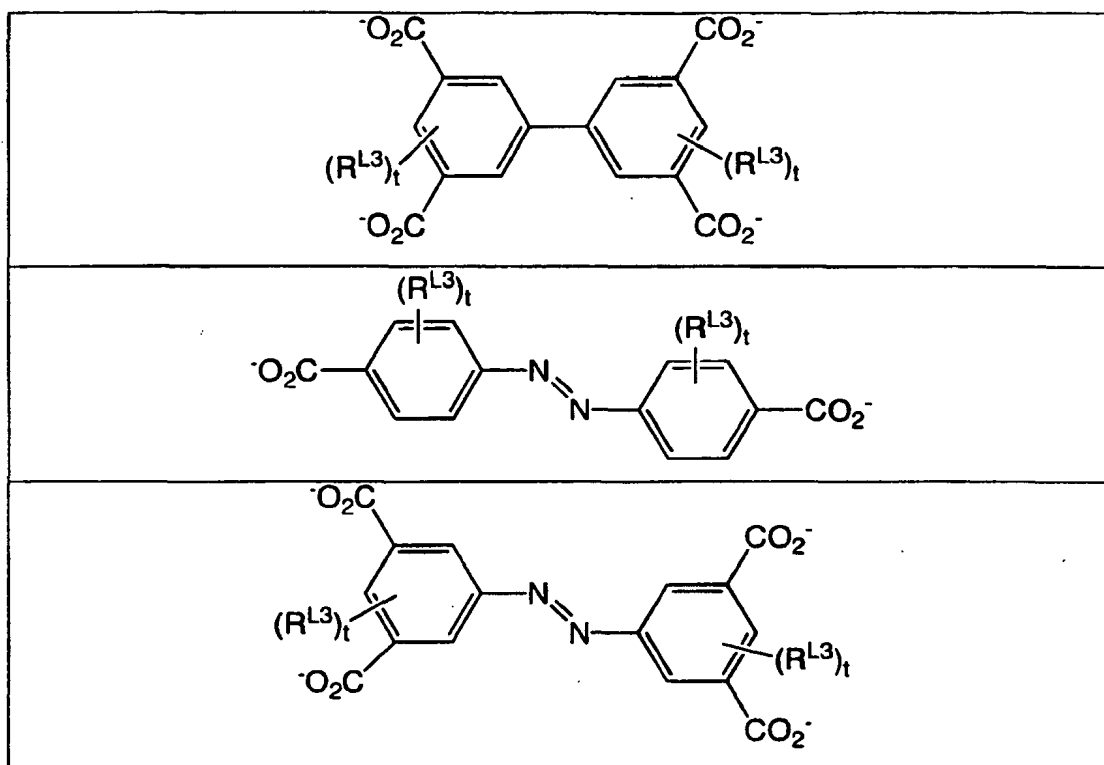
- evitar contaminaciones,
- 15 • ser utilizables para cualquier tipo de grupo sanguíneo,
- ser aceptados por todos los pacientes (incluso los testigos de Jehovah),
- poder ser fácilmente transportados y almacenados y por lo tanto muy útiles en caso de urgencia.

20 Sustitutos sanguíneos a base de fluorocarburos, materiales biológicamente muy inertes, son capaces de disolver grandes cantidades de gas para proporcionar oxígeno a los tejidos. Como los fluorocarburos son insolubles en agua, se administran en forma de emulsión que debe 1) ser estable y 2) rápidamente excretable.

25 Oxygent® es una de las emulsiones desarrolladas hasta el momento en este campo. Se trata de una composición que comprende un 60% en peso por volumen de bromuro de perfluorooctilo ($C_8F_{17}Br$), estabilizado contra la difusión molecular con un pequeño porcentaje % de $C_{10}F_{21}Br$, emulsionado mediante fosfolípidos en gotitas del orden de 200 nm de diámetro. Este producto presenta efectos secundarios en los pacientes, y por otra parte se ha visto rechazada su comercialización en el mercado americano por el FDA en febrero de 2005 debido a problemas de seguridad.

Así, según la invención, el ligando L del resto de fórmula (I) de los sólidos MOF de la presente invención es un ligando di-, tri-, tetra- o hexa-carboxilato elegido entre el grupo que comprende:



en los que:

s representa un número entero de 1 a 4,

en cada caso, t representa independientemente un número entero de 1 a 4,

5 u representa un número entero de 1 a 7,

R^{L1} y R^{L2} representan independientemente H, un halógeno o un alquilo de C_1 a C_6 (preferentemente metilo o etilo), y al menos en un caso R^{L1} o R^{L2} representa F, y

en cada caso, R^{L3} representa independientemente H, un halógeno (preferentemente F, Cl o Br), OH, NH_2 , NO_2 o un alquilo de C_1 a C_6 (preferentemente metilo o etilo), y al menos en un caso R^{L3} representa F.

10 Preferentemente, en cada caso R^{L1} y R^{L2} representa F.

Preferentemente, en cada caso R^{L3} representa F.

Por ejemplo, L puede representar $HOOC-C_8F_{16}-COOH$.

Tal como se describe más adelante, la superficie de estos MOF se puede modificar con un agente de superficie tal como el polietilenglicol (PEG) para proporcionarle furtividad.

15 La superficie de los sólidos MOF se puede estabilizar mediante anfífilos fluorados con el objetivo de controlar la liberación de oxígeno (difusión retardada del oxígeno de los poros de los sólidos MOF). El lector podrá remitirse a la sección que trata sobre la modificación de superficies de los sólidos MOF de la presente invención, y adaptar las conclusiones anteriormente citadas al injerto de ligandos anfífilos fluorados.

20 Así, se proporciona un procedimiento de liberación de oxígeno *in vivo* que comprende la administración de un sólido MOF según la invención a un sujeto, comprendiendo dicho sólido MOF en sus poros o en su superficie al menos un fluorocarbono o una molécula fluorada tal como las anteriormente citadas, y oxígeno encapsulado.

En particular, el sólido MOF según la invención, puede comprender un porcentaje de metal en fase seca del 5 al 40%, preferentemente del 18 al 31%.

25 El porcentaje en masa (%m) es una unidad de medida utilizada en química y en metalurgia para designar a la composición de una mezcla o de una aleación, es decir las proporciones de cada componente en la mezcla.

1% m de un componente = 1 g del componente para 100 g de mezcla o también 1 kg de dicho componente para 100 kg de mezcla.

Los sólidos MOF de la presente invención presentan principalmente la ventaja de tener una estabilidad térmica hasta una temperatura de 350°C.

En particular, el sólido MOF de la presente invención presenta principalmente la ventaja de tener una estabilidad térmica de 120°C a 350°C.

- 5 En particular, el sólido MOF según la invención, puede estar en forma de partículas con un diámetro de partícula inferior a 4 µm, preferentemente inferior a 1.000 nanómetros.

En particular, el sólido MOF según la invención, puede estar en forma de nanopartículas. En particular, el sólido MOF según la invención puede tener un diámetro de partícula inferior a 1.000 nanómetros, preferentemente inferior a 500 nm, de forma más preferida inferior a 250 nm, más particularmente inferior a 100 nm.

- 10 En particular, el sólido MOF según la invención puede tener un tamaño de poros de 0,4 a 6 nm, preferentemente de 0,5 a 5,2 nm, y de forma más preferida de 0,5 a 3,4 nm.

En particular, el sólido MOF según la invención también puede tener una superficie específica (BET) de 5 a 6.000 m²/g, preferentemente de 5 a 4.500 m²/g.

- 15 En particular, el sólido MOF según la invención puede tener un volumen poroso de 0,05 a 4 cm³/g, preferentemente de 0,05 a 2 cm³/g.

En el marco de la invención, el volumen poroso significa el volumen accesible para las moléculas de gas y/o líquido.

Los inventores han demostrado que los materiales MOF que comprenden una estructura tridimensional de restos de fórmula (I) se pueden presentar en forma de una estructura rígida o flexible.

- 20 El sólido MOF de la presente invención se puede presentar en forma de una estructura robusta, que tiene un armazón rígido y sólo se contrae muy poco cuando los poros se vacían, o en forma de una estructura flexible, que se puede hinchar y deshinchar haciendo variar la abertura de los poros en función de la naturaleza de las moléculas adsorbidas.

Estas moléculas adsorbidas pueden ser, por ejemplo, disolventes y/o gases.

- 25 Se entiende por «estructura rígida», en el sentido de la presente invención unas estructuras que se hinchan o se contraen sólo muy poco, es decir con una amplitud hasta el 10%.

Así, un material MOF de estructura rígida se puede hinchar o contraer con una amplitud de 0 a 10%.

En particular, el sólido MOF según la invención, puede tener una estructura rígida que se hincha o se contrae con una amplitud de 0 a 10%.

Las estructuras rígidas se pueden construir, por ejemplo, a base de cadenas o de trímeros de octaedros.

- 30 Por ejemplo, el sólido MOF de estructura rígida según la invención, puede tener un porcentaje de metal en fase seca de 5 a 40%, por ejemplo de 18 a 31%.

Por ejemplo, el sólido MOF de estructura rígida según la invención puede tener un tamaño de poros de 0,4 a 6 nm, por ejemplo de 0,5 a 5,2 nm, por ejemplo de 0,5 a 3,4 nm.

- 35 Por ejemplo, el sólido MOF de estructura rígida según la invención puede tener un volumen poroso de 0 a 4 cm³/g, por ejemplo de 0,05 a 2 cm³/g.

Se entiende por «estructura flexible», en el sentido de la presente invención unas estructuras que se hinchan o se contraen con una gran amplitud, principalmente con una amplitud superior al 10%, por ejemplo superior al 50%.

En particular, un material MOF de estructura flexible se puede hinchar o contraer con una amplitud del 10% al 300%, preferentemente del 50 al 300%.

- 40 Las estructuras flexibles se pueden construir, por ejemplo, a base de cadenas o de trímeros de octaedros.

En particular, el sólido MOF según la invención, puede tener una estructura flexible que se hincha o se contrae con una amplitud superior al 10%, por ejemplo de 50 a 300%.

Por ejemplo, el sólido MOF de estructura flexible según la invención, puede tener un porcentaje de metal en fase seca del 5 al 40%, por ejemplo del 18 al 31%.

- 45 Por ejemplo, el sólido de estructura flexible según la invención puede tener un tamaño de poros de 0,4 a 6 nm, por ejemplo de 0,5 a 5,2 nm, por ejemplo de 0,5 a 1,6 nm.

Por ejemplo, el sólido de estructura flexible según la invención puede tener un volumen poroso de 0 a 3 cm³/g, por ejemplo de 0 a 2 cm³/g. El volumen poroso representa el volumen accesible equivalente (formas abiertas) para las moléculas de disolvente.

La presente invención se puede realizar con materiales MOF de estructura rígida o flexible.

- 5 Además, los inventores han demostrado experimentalmente que la amplitud de la flexibilidad depende de la naturaleza del ligando y del disolvente utilizado, tal como se describe en la parte «Ejemplos» más adelante (principalmente en el Ejemplo 10).

Los inventores del Institut Lavoisier de Versailles han elaborado diferentes materiales MOF con fases variadas, denominadas «MIL» (por «Matériau Institut Lavoisier»). La denominación «MIL» de estas estructuras va seguida de un número arbitrario n dado por los inventores para identificar a las diferentes fases.

Los inventores también han demostrado que ciertos sólidos según la invención pueden presentar un número más elevado de fases posibles con respecto a los materiales MOF clásicamente encontrados en la bibliografía. Por ejemplo, se han obtenido diferentes fases para los sólidos según la invención carboxilatos de hierro (III), por ejemplo MIL-53, MIL-69, MIL-88A, MIL-88B, MIL-88Bt, MIL-88C, MIL-88D, MIL-89, MIL-100, MIL-101, MIL-102. Estas diferentes fases se presentan en la parte «Ejemplos».

Las características cristalográficas de estas estructuras son conocidas y han sido objeto de numerosos informes. Por otra parte, las denominaciones «MIL» anteriormente citadas son bien conocidas por los expertos de la técnica. Se citará por ejemplo:

MIL-53: Whitfield, T. R.; Wang, X.; Liu, L.; Jacobson, A. J. *Solid State Sci.* 2005, 7, 1096.

20 MIL-69: T. Loiseau et al, C. R. *Chimie*, 8 765 (2005).

MIL-88A: (a) Serre et al., « Role of solvent-host interactions that lead to very large swelling of hybrid frameworks », *Science*, 2007, Vol. 315, 1828-1831; (b) Surblé et al., «A new isorecticular class of metal-organic frameworks with the MIL-88 topology», *Chem. Comm.*, 2006, 284-286; (c) Mellot-Draznieks et al., «Very large swelling in hybrid frameworks: a combined computational and power diffraction study», *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, Vol. 127, 16273-16278. La estructura de un sólido MIL-88A hidratado se representa en la figura 40.

MIL-88B, MIL-88C y MIL-88D: Para estos tipos estructurales, el lector podrá remitirse a las publicaciones referentes al tipo MIL-88A anterior, es decir (a) Serre et al., « Role of solvent-host interactions that lead to very large swelling of hybrid frameworks », *Science*, 2007, Vol. 315, 1828-1831; (b) Surblé et al., «A new isorecticular class of metal-organic frameworks with the MIL-88 topology», *Chem. Comm.*, 2006, 284-286;

30 MIL-89: C. Serre, F. Millange, S. Surblé, G. Férey *Angew. Chem. Int. Ed.* 2004, 43, 6286: A new route to the synthesis of trivalent transition metals porous carboxylates with trimeric SBU. La estructura de un sólido MIL-89 se representa en la figura 41.

MIL-100: Horcajada et al., «Synthesis and catalytic properties of MIL-100(Fe), an iron(III) carboxylate with large pores», *Chem. Comm.*, 2007, 2820-2822. La estructura de un sólido MIL-100 se representa en las figuras 35 y 36.

35 MIL-101: Férey et al., «A chromium terephthalate-based solid with unusually large pore volumes and surface area», *Science*, 2005, Vol. 309, 2040-2042. La estructura de un sólido MIL-101 se representa en la figura 37.

MIL-102: S. Surblé, F. Millange, C. Serre, T. Düren, M. Latroche, S. Bourrelly, P.L. Llewellyn and G. Férey «MIL-102: A Chromium Carboxylate Metal Organic Framework with Gas Sorption Analysis» *J. Am. Chem. Soc.* 128 (2006), 46, 14890. La estructura de un sólido MIL-102 se representa en la figura 38.

40 MIL-88B_4CH₃, MIL-88B_CH₃, MIL-88B_2CF₃, MIL-88B_20H, MIL-88B_NO₂, MIL-88B_NH₂, MIL-88B_Cl, MIL-88B_Br, MIL-88B_4F: Para este tipo estructural, el lector podrá remitirse a las publicaciones referentes al tipo MIL-88 anterior, es decir (a) Serre et al., «Role of solvent-host interactions that lead to very large swelling of hybrid frameworks», *Science*, 2007, Vol. 315, 1828-1831; (b) Surblé et al., «A new isorecticular class of metal-organic frameworks with the MIL-88 topology», *Chem. Comm.*, 2006, 284-286; (c) Mellot-Draznieks et al., «Very large swelling in hybrid frameworks: a combined computational and power diffraction study», *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, Vol. 127, 16273-16278. La estructura de un sólido MIL-88B_4CH₃ se representa en la figura 39.

En particular, el sólido MOF según la invención, puede tener un resto de fórmula elegida en el grupo que comprende:

- Fe(OH)[C₆H₄(CO₂)₂] de estructura flexible, por ejemplo MIL-53
- 50 • Fe₃OX[C₂H₂(CO₂)₂]₃ de estructura flexible, por ejemplo MIL-88A
- Fe₃OX[C₄H₄(CO₂)₂]₃ de estructura flexible, por ejemplo MIL-89

- $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_6\text{H}_4(\text{CO}_2)_2]_3$ de estructura flexible, por ejemplo MIL-88B
 - $\text{Fe}_3\text{O}[\text{O}_2\text{C}-\text{C}_6(\text{CH}_3)_4-\text{CO}_2]_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ de estructura flexible, por ejemplo MIL-88Bt
 - $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_6\text{H}_4(\text{CO}_2)_2]_3$ de estructura rígida, por ejemplo MIL-101
 - $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_6\text{H}_3(\text{CO}_2)_3]_3$ de estructura rígida, por ejemplo MIL-100
- 5
- $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_{10}\text{H}_6(\text{CO}_2)_2]_3$ de estructura flexible, por ejemplo MIL-88C
 - $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_{12}\text{H}_8(\text{CO}_2)_2]_3$ de estructura flexible, por ejemplo MIL-88D

en la que X es tal como se ha definido anteriormente.

Muy particularmente, el sólido MOF según la invención, puede tener un resto de fórmula elegida en el grupo que comprende:

- 10
- MIL-101 (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_6\text{H}_4-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura rígida
 - MIL-101 -Cl (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{Cl}-\text{C}_6\text{H}_3-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura rígida
 - MIL-101 -NH₂ (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{NH}_2-\text{C}_6\text{H}_3-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura rígida
 - MIL-101-2CF₃ (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[(\text{CF}_3)_2-\text{C}_6\text{H}_2-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura rígida
 - MIL-88B-NO₂ (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_6\text{H}_3\text{NO}_2-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible
- 15
- MIL-88B-2OH (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_2-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible
 - MIL-88B-NH₂ (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_6\text{H}_3\text{NH}_2-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible
 - MIL-88B-CH₃ (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_6\text{H}_3\text{CH}_3-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible
 - MIL-88B -Cl (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_6\text{H}_3\text{Cl}-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible
 - MIL-88B-4CH₃ (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_6(\text{CH}_3)_4-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible
- 20
- MIL-88B-4F (Fe)) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_6\text{F}_4-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible
 - MIL-88B -Br (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_6\text{H}_3\text{Br}-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible
 - MIL-88B-2CF₃ (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[(\text{CF}_3)_2-\text{C}_6\text{H}_2-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura rígida
 - MIL-88D 4CH₃ (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_{12}\text{H}_4(\text{CH}_3)_4-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible
 - MIL-88D 2CH₃ (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_{12}\text{H}_6(\text{CH}_3)_2-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible
- 25
- MIL-88E (Pyr) (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_4\text{H}_3\text{N}_2-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible
 - MIL-88F (Thio) (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_4\text{H}_2\text{S}-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible
 - MIL-53-2OH (Fe) o $\text{FeO}(\text{OH})[\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_2-(\text{CO}_2)_2] \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible
 - MIL-53-NH₂ (Fe) o $\text{FeO}(\text{OH})[\text{C}_6\text{H}_2-\text{NH}_2-(\text{CO}_2)_2] \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible
 - MIL-53-Cl (Fe) o $\text{FeO}(\text{OH})[\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}-(\text{CO}_2)_2] \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible
- 30
- MIL-53-Br (Fe) o $\text{FeO}(\text{OH})[\text{C}_6\text{H}_2\text{Br}-(\text{CO}_2)_2] \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible
 - MIL-53-2CF₃ (Fe) o $\text{FeO}(\text{OH})[\text{C}_6\text{H}_2(\text{CF}_3)_2-(\text{CO}_2)_2] \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible
 - MIL-53-CH₃ (Fe) o $\text{FeO}(\text{OH})[\text{C}_6\text{H}_3\text{CH}_3-(\text{CO}_2)_2] \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible
 - MIL-53-2COOH (Fe) o $\text{FeO}(\text{OH})[\text{C}_6\text{H}_3-(\text{CO}_2)_4] \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible
 - MIL-88G (AzBz) (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible

- MIL-88G 2Cl(AzBz-2Cl) (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_{12}\text{H}_6\text{N}_2\text{Cl}_2-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot \text{X} \cdot \text{nH}_2\text{O}$ (X = F, Cl, OH) de estructura flexible

Además, a partir de un mismo ligando ácido carboxílico L y de las mismas bases de hierro (cadenas o trímeros), los inventores han podido obtener materiales MOF de la misma fórmula general (I) pero de estructuras diferentes. Es el caso, por ejemplo, de los sólidos MIL-88B y MIL-101. En efecto, la diferencia de los sólidos MIL-88B y MIL-101 está en el modo de conexión de los ligandos a los trímeros de octaedro: en el sólido MIL-101, los ligandos L se ensamblan en forma de tetraedros rígidos, mientras que en el sólido MIL-88B, forman bipirámides trigonales, haciendo posible la separación entre los trímeros.

Estos diferentes materiales se presentan en la parte «Ejemplos» más adelante. El modo de ensamblaje de estos de estos ligandos se puede controlar durante la síntesis por ejemplo ajustando el pH. Por ejemplo, el sólido MIL-88 se obtiene en medio menos ácido que el sólido MIL-101 tal como se describe en la parte «Ejemplos» más adelante.

En particular, el sólido MOF de la presente invención, puede tener una fase elegida entre el grupo que comprende: MIL-53, MIL-88, MIL-100, MIL-101, MIL-102 descritas en la parte «Ejemplos».

En particular, el sólido MOF según la invención, puede comprender al menos un metal que posee propiedades paramagnéticas o diamagnética. Preferentemente, el sólido MOF según la invención puede comprender uno o varios materiales paramagnéticos, idénticos o diferentes, que se pueden elegir entre el grupo que comprende el hierro, el gadolinio, el manganeso, etc. En particular, el sólido MOF según la invención puede comprender uno o varios iones metálicos paramagnéticos, idénticos o diferentes, que pueden ser elegidos entre el grupo que comprende Fe^{2+} , Fe^{3+} , Gd^{3+} , Mn^{2+} , Mn^{3+} .

Por otra parte, los inventores han demostrado, por ejemplo para los sólidos MOF carboxilato de hierro, propiedades inesperadas en tecnologías de imágenes. Así, el sólido MOF según la invención se puede utilizar en tecnologías de imágenes. Además, la invención se refiere igualmente a la utilización del sólido MOF según la invención como agente de contraste.

En efecto, los agentes de contraste se caracterizan por su relajamiento. Cuanto mayor sea, mayor será el efecto de los agentes de contraste. El relajamiento corresponde a la capacidad de los agentes de contraste de modificar los tiempos de relajación de los protones del agua del medio después de la aplicación de un campo magnético. Depende de las propiedades paramagnéticas de los metales utilizados pero también de la cantidad y de la movilidad de las moléculas de agua que se coordinan al metal en la primera esfera interna, aportando la contribución más importante, así como en la esfera externa. Estas «esferas de coordinación» representan los átomos que están inmediatamente unidos al centro metálico en el caso de la primera esfera; para la esfera externa, esto representa los átomos inmediatamente situados más allá de la primera esfera.

En el caso del sólido de la invención, además de la susceptibilidad magnética del metal, en este ejemplo el hierro (III), las características estructurales del sólido de la presente invención permiten al agua coordinarse alrededor de la primera esfera de coordinación y circular en los poros, lo que induce un efecto sobre el tiempo de relajación longitudinal T1 y transversal T2 de los protones del agua. En particular, el relajamiento R^2 del sólido es suficiente para una utilización *in vivo* durante los experimentos de eco de gradiente.

Por ejemplo, el sólido MOF según la invención puede tener un relajamiento transversal R^2 de al menos 18 mMs^{-1} , por ejemplo de al menos $8,6 \text{ mMs}^{-1}$.

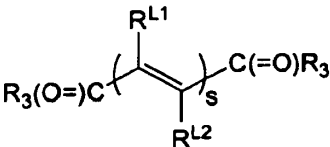
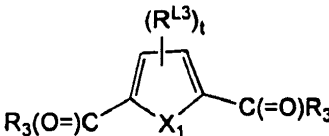
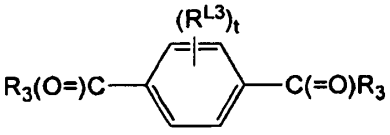
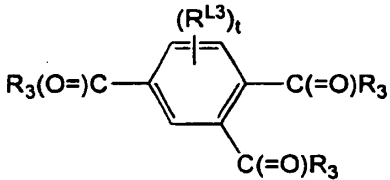
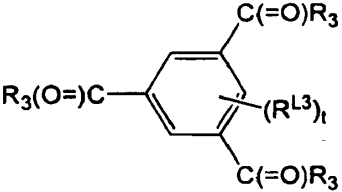
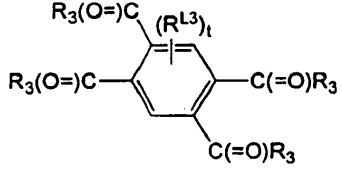
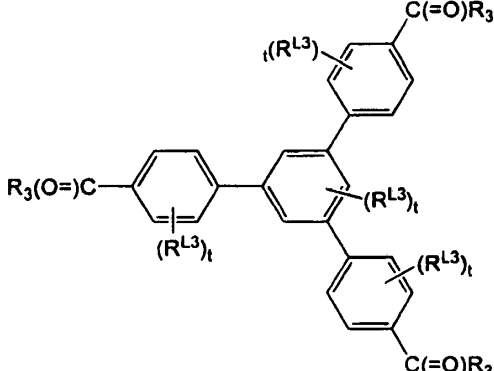
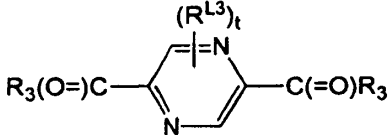
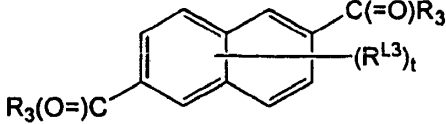
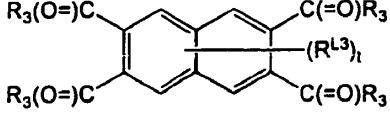
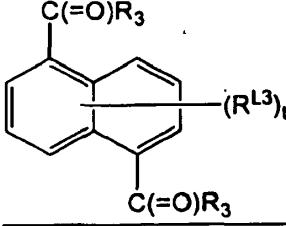
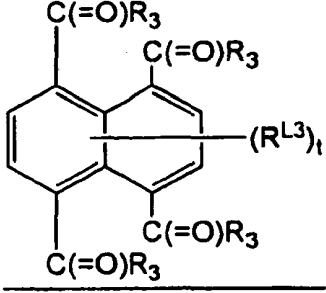
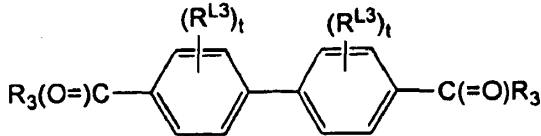
Por otra parte, los trabajos de investigación llevados a cabo por los inventores les han permitido elaborar un método de síntesis flexible y modulable que permite obtener los sólidos MOF según la invención que tienen una organización estructural isorreticular particular con buenos rendimientos. Además, el procedimiento permite obtener nanopartículas de dimensiones deseadas y tamaños de partícula y poros homogéneos.

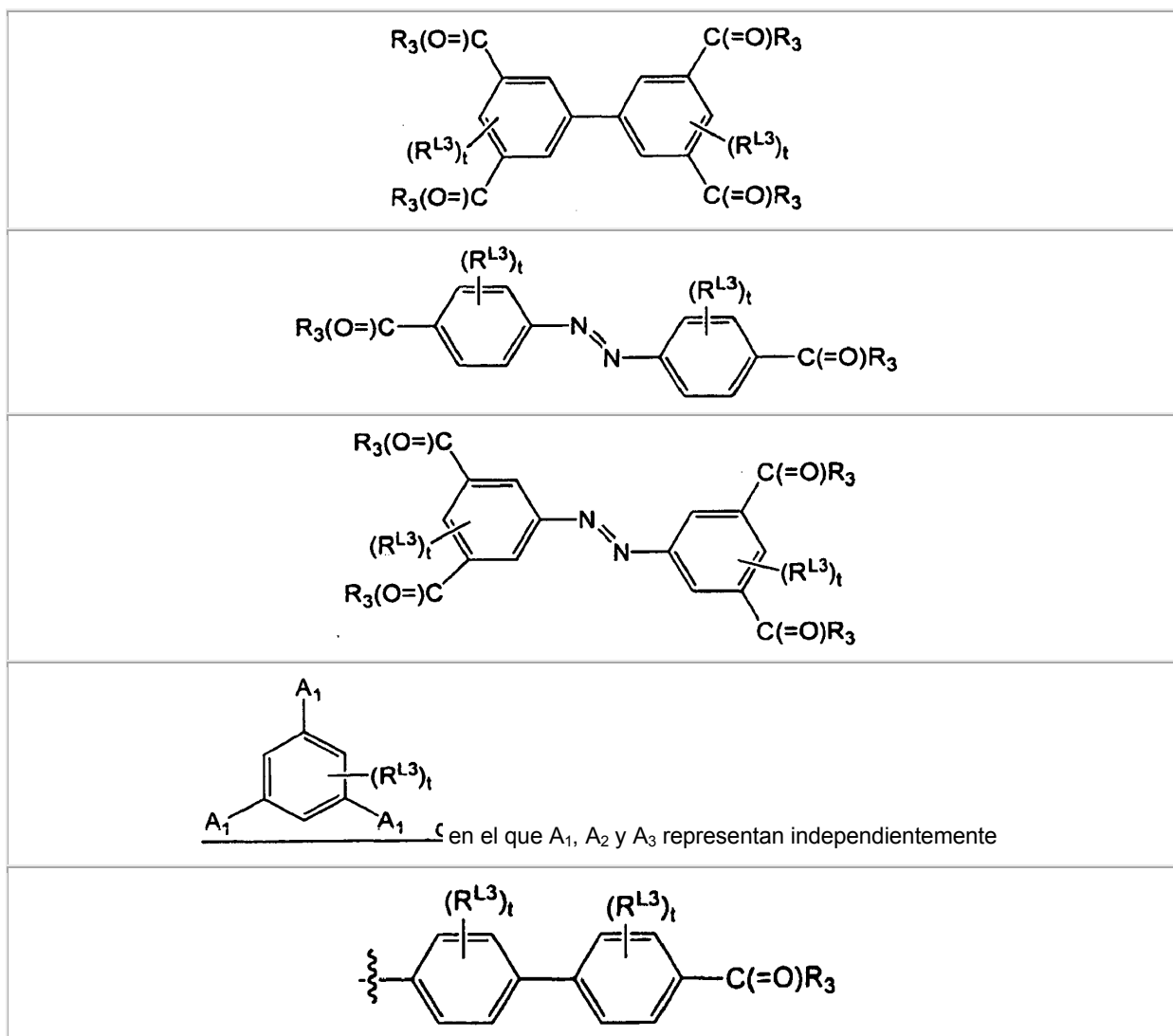
Así, la invención se refiere también a un procedimiento de preparación de un sólido tal como se ha definido en la presente invención, que comprende al menos una etapa de reacción (i) que consiste en mezclar en un disolvente polar:

- al menos una disolución que comprende al menos un precursor inorgánico metálico que se presenta en forma de metal M, de una sal de metal M o de un complejo de coordinación que comprende el ión metálico M en el que M es tal como se ha definido anteriormente.

- al menos un ligando L' di-, tri-, tetra- o hexadentado elegido entre el grupo que comprende:





en los que:

R_3 se elige entre el grupo que comprende un radical $-OH$, un radical $-OY$ en el que Y represente un catión alcalino, un halógeno, o un radical $-OR^4$, $-O-C(=O)R^4$ o $-NR^4R^{4'}$, en el que R^4 y $R^{4'}$ son radicales alquilo de C_{1-12} ,

X_1 representa O o S,

5 s representa un número entero de 1 a 4,

en cada caso, t representa independientemente un número entero de 1 a 4,

u representa un número entero de 1 a 7,

R^{L1} y R^{L2} representan independientemente H, un halógeno o un alquilo de C_1 a C_6 , y

en cada caso, R^{L3} representa independientemente H, un halógeno, OH, NH_2 , NO_2 o un alquilo de C_1 a C_6 ;

10 b) una etapa (iii) de fijación sobre dicho sólido de al menos un agente de superficie orgánico elegido entre el grupo que comprende un oligosacárido, un polisacárido, un glicosaminoglucano, un polímero, un tensioactivo, las vitaminas, las coenzimas, los anticuerpos o fragmento de anticuerpos, los aminoácidos o péptidos;

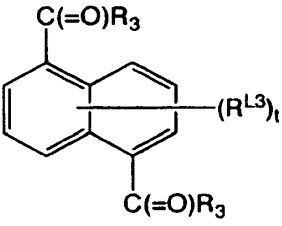
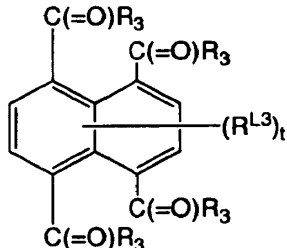
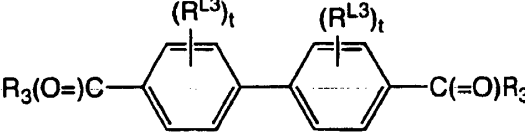
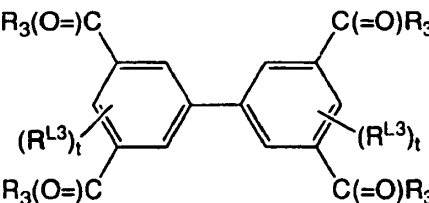
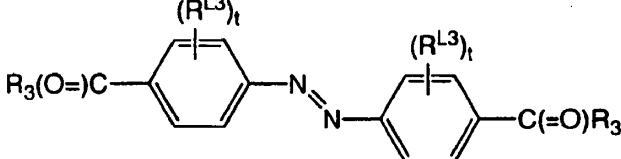
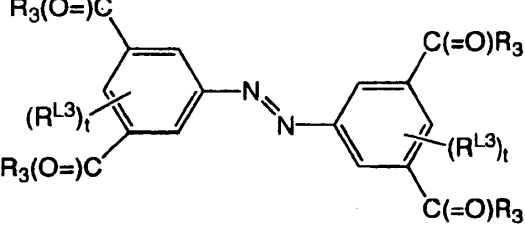
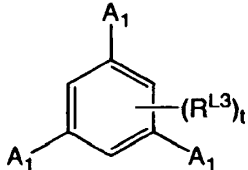
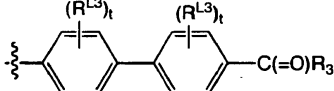
de forma que se obtenga dicho sólido.

15 Según la invención, el procedimiento de preparación del sólido de la invención comprende una etapa (iii) de fijación sobre dicho sólido de al menos un agente de superficie orgánico.

Esta etapa de fijación (iii) se puede realizar durante o después de la etapa de reacción (i) o también después de una etapa de introducción (ii) de una molécula de interés. Se proporcionan ejemplos más adelante (Ejemplo 22, Ejemplo 23, Ejemplo 24).

- 5 Un número de sólidos MOF de superficie modificada se ilustran en la parte «Ejemplos». Se entiende que estos ejemplos se dan a modo ilustrativo, y no limitante. Los métodos de modificación de superficie de los sólidos MOF ilustrados en los Ejemplos son aplicables y/o adaptables al conjunto de los sólidos MOF según la presente invención (p.ej., sólidos MOF a base de metal M diferente del Fe, con ligandos L diferentes, y/o que encapsulan o no al menos un principio activo, un compuesto de interés cosmético y/o un marcador). Por ejemplo, estos métodos se pueden aplicar sin dificultad para la modificación de superficies en el conjunto de los sólidos MOF descritos en la presente solicitud.

El ligando L' es un ligando di-, tri-, tetra- o hexadentado elegido entre el grupo que comprende:

	
	
	
	
	
 en el que A₁, A₂ y A₃ representan Independientemente 	

en los que:

R³ se elige entre el grupo que comprende un radical -OH, un radical -OY en el que Y representa un catión alcalino, un halógeno, o un radical -OR⁴, -O-C(=O)R⁴ o -NR⁴R^{4'}, en el que R⁴ y R^{4'} son radicales alquilo de C₁₋₁₂,

X₁ representa O o S,

5 s representa un número entero de 1 a 4,

en cada caso, t representa independientemente un número entero de 1 a 4,

u representa un número entero de 1 a 7,

R^{L1} y R^{L2} representan independientemente H, un halógeno o un alquilo de C_1 a C_6 (preferentemente metilo o etilo), y en cada caso, R^{L3} representa independientemente H, un halógeno (preferentemente F, Cl o Br), OH, NH_2 , NO_2 o un alquilo de C_1 a C_6 (preferentemente metilo o etilo).

En un modo de realización, en cada caso R^3 representa un átomo de hidrógeno.

- 5 En un modo de realización, en cada caso los radicales R^{L1} , R^{L2} y R^{L3} representa un átomo de hidrógeno.

Preferentemente, en la etapa de reacción (i), el ligando L' utilizado puede ser un ácido di-, tri- o tetra- carboxílico elegido entre el grupo que comprende: $C_2H_2(CO_2H)_2$ (ácido fumárico), $C_2H_4(CO_2H)_2$ (ácido succínico), $C_3H_6(CO_2H)_2$ (ácido glutárico), $C_4H_4(CO_2H)_2$ (ácido mucónico), $C_4H_8(CO_2H)_2$ (ácido adípico), $C_7H_{14}(CO_2H)_2$ (ácido azelaico), $C_6H_3S(CO_2H)_2$ (ácido 2,5-tiofenodicarboxílico), $C_6H_4(CO_2H)_2$ (ácido tereftálico), $C_6H_2N_2(CO_2H)_2$ (ácido 2,5-pirazino dicarboxílico), $C_{10}H_6(CO_2H)_2$ (ácido naftaleno-2,6-dicarboxílico), $C_{12}H_8(CO_2H)_2$ (ácido bifenilo-4,4'-dicarboxílico), $C_{12}H_8N_2(CO_2H)_2$ (ácido azobencenodicarboxílico), $C_6H_3(CO_2H)_3$ (ácido benceno-1,2,4-tricarboxílico), $C_6H_3(CO_2H)_3$ (ácido benceno-1,3,5-tricarboxilato), $C_{24}H_{15}(CO_2H)_3$ (ácido benceno-1,3,5-tribenzoico), $C_6H_2(CO_2H)_4$ (ácido benceno-1,2,4,5-tetracarboxílico), $C_{10}H_4(CO_2H)_4$ (ácido naftaleno-2,3,6,7-tetracarboxílico), $C_{10}H_4(CO_2H)_4$ (ácido naftaleno-1,4,5,8-tetracarboxílico), $C_{12}H_6(CO_2H)_4$ (ácido bifenil-3,5,3',5'-tetracarboxílico), y los análogos modificados elegidos entre el grupo que comprende el ácido 2-aminotereftálico, el ácido 2-nitrotereftálico, el ácido 2-metiltereftálico, el ácido 2-clorotereftálico, el ácido 2-bromotereftálico, el ácido 2,5-dihidroxotereftálico, el ácido tetrafluorotereftálico, el ácido tetrametiltereftálico, el ácido dimetil-4,4'-bifenidicarboxílico, el ácido tetrametil-4,4'-bifenidicarboxílico, el ácido dicarboxi-4,4'-bifenidicarboxílico, el ácido 2,5-pirazino dicarboxílico. El ligando L' utilizado también se puede elegir entre el grupo que comprende: el ácido 2,5 diperfluorotereftálico, el ácido azobenceno-4,4'-dicarboxílico, el ácido 3,3'-dicloro azobenceno-4,4'-dicarboxílico, el ácido 3,3'-dihidroazobenceno-4,4'-dicarboxílico, el ácido 3,3'-diperfluoroazobenceno-4,4'-dicarboxílico, el ácido 3,5,3',5'-azobencenotetracarboxílico, el ácido 2,5-dimetiltereftálico, el ácido perfluoroglutárico.

Se entiende que, en la realización del procedimiento, cuando el ligando L' es de tipo carboxilato, éste no está necesariamente en forma de un ácido carboxílico. Tal como se ha indicado anteriormente, éste se puede presentar en una forma derivada en la que una o varias funciones carboxílica está/están en la forma $-C(=O)-R^3$ en la que R^3 puede representar un radical $-OY$ en el que Y representa un catión alcalino, un halógeno, o un radical $-OR^4$, $-O-C(=O)R^4$ o $-NR^4R^4$, en el que R^4 y R^4 son independientemente radicales alquilo de C_{1-12} .

La síntesis de materiales MOF se puede realizar preferentemente en presencia de energía que se puede aportar por ejemplo por calentamiento, como por ejemplo unas condiciones hidrotermales o solvotérmicas, pero también por microondas, con ultrasonidos, por trituración, por un procedimiento que haga intervenir una fluido supercrítico, etc. Los protocolos correspondientes son los conocidos por los expertos de la técnica. Ejemplos no limitativos de protocolos utilizables para las condiciones hidrotermales o solvotérmicas se describen por ejemplo en K. Byrappa, et al. « Handbook of hydrothermal technology », Noyes Publications, Parkridge, New Jersey USA, William Andrew Publishing, LLC, Norwich NY USA, 2001 [9]. Para la síntesis por microondas, se describen ejemplos no limitativos de protocolos utilizables, por ejemplo en G. Tompsett, et al. *ChemPhysChem*. 2006, 7, 296 [10]; en S.-E. Park, et al. *Catal. Survey Asia* 2004, 8, 91 [11]; en C. S. Cundy, Collect. Czech. *Chem. Commun.* 1998, 63, 1699 [12]; o en S. H. Jung, et al. *Bull. Kor. Chem. Soc.* 2005, 26, 880 [13]. Las condiciones en presencia de un triturador de cilindros se puede remitir a las publicaciones A. Pichon et al., *Cryst. Eng. Comm.* 8, 2006, 211-214 [14]; D. Braga et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 45, 2006, 142-246 [15]; D. Braga et al., *Dalton Trans.* 2006, 1249-1263 [16].

Para las condiciones hidrotermales o solvotérmicas, en que las temperaturas de reacción pueden variar entre 0 y 220°C, se efectúan generalmente en recipientes de vidrio (o de plástico) cuando la temperatura es inferior a la temperatura de ebullición del disolvente. Cuando la temperatura es superior o cuando la reacción se efectúa en presencia de flúor, se emplean recipientes de teflón insertados en las bombas metálicas [9].

Los disolventes utilizados generalmente son polares. Principalmente se pueden utilizar los siguientes disolventes: agua, alcoholes, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, acetonitrilo, tetrahidrofurano, dietilformamida, cloroformo, ciclohexano, acetona, cianobenceno, diclorometano, nitrobenzono, etilenglicol, dimetilacetamida o mezclas de estos disolventes.

Uno o varios co-disolventes se pueden añadir en cualquier etapa de la síntesis para una mejor solubilización de los compuestos de la mezcla. Se puede tratar principalmente de ácidos monocarboxílicos, tales como el ácido acético, el ácido fórmico, el ácido benzoico, etc.

Cuando el co-disolvente es un ácido monocarboxílico, éste, además del efecto solubilizador, permite también detener el crecimiento cristalino del sólido MOF. En efecto, la función carboxílica se coordina con el hierro, que no podrá unirse a otro átomo de hierro por no haber una segunda función $-COOH$ en la molécula del co-disolvente. De esta forma, el crecimiento de la red cristalina se ve ralentizada y después parada. La adición de un co-disolvente monocarboxílico, tal como el ácido acético, el ácido fórmico, el ácido benzoico, etc., permite de esta manera reducir el tamaño de las partículas de sólido MOF obtenidas. La utilización de un co-disolvente monocarboxílico puede favorecer, por lo tanto, la obtención de nanopartículas (partículas de tamaño $< 1 \mu m$).

En general, el control del tamaño de las nanopartículas se puede realizar mediante la adición de una molécula monocarboxilada. Se puede tratar de uno de los co-disolventes anteriormente citados. También se puede tratar de un agente de superficie orgánico monocarboxilado. La noción de agentes de superficie orgánicos, y su utilización en el marco de la presente invención, se describen en detalle más adelante. Por ejemplo, un agente de superficie orgánico monocarboxilado, tal como PEG-COOH, se puede añadir durante el transcurso de la síntesis. Éste tiene la doble función de:

- detener el crecimiento cristalino de la red MOF (y por lo tanto de permitir la obtención de nanopartículas de tamaño más pequeño)
- modificar la superficie de las nanopartículas por injerto de grupos PEG (función de agente de superficie orgánica).

Se pueden añadir también uno o varios aditivos en el transcurso de la síntesis con el fin de modular el pH de la mezcla. Estos aditivos se eligen entre los ácidos minerales u orgánicos o las bases minerales u orgánicas. En particular, el aditivo se puede elegir entre el grupo que comprende: HF, HCl, HNO₃, H₂SO₄, NaOH, KOH, la lutidina, la etilamina, la metilamina, el amoníaco, la urea, el EDTA, la tripropilamina, piridina, etc.

Preferentemente, la etapa de reacción (i) se puede realizar siguiendo al menos una de las siguientes condiciones de reacción:

- a una temperatura de reacción de 0°C a 220°C, preferentemente de 50 a 150°C;
- a una velocidad de agitación de 0 a 1.000 rpm (o rotación por minuto), preferentemente de 0 a 500;
- con un tiempo de reacción de 1 minuto a 96 horas, preferentemente de 1 minuto a 15 horas;
- a un pH de 0 a 7, preferentemente de 1 a 5;
- con adición de al menos un co-disolvente al disolvente, al precursor, al ligando o a la mezcla de éstos, siendo elegido dicho co-disolvente en el grupo que comprende el ácido acético, el ácido fórmico, el ácido benzoico;
- en presencia de un disolvente elegido entre el grupo que comprende el agua, los alcoholes R^S-OH en los que R^S es un radical alquilo de C₁ a C₆ lineal o ramificado, la dimetilformamida, el dimetilsulfóxido, el acetonitrilo, el tetrahidrofurano, la dietilformamida, el cloroformo, el ciclohexano, la acetona, el cianobenceno, el diclorometano, el nitrobenzono, el etilenglicol, el dimetilacetamida o mezclas de estos disolventes, miscibles o no;
- en un medio supercrítico, por ejemplo en CO₂ supercrítico;
- por microondas y/o con ultrasonidos;
- en condiciones de electrólisis electroquímica;
- en condiciones de utilización de un triturador de cilindros;
- en un flujo gaseoso.

La síntesis de materiales MOF se puede realizar preferentemente en condiciones experimentales propicias para la formación de nanopartículas. Por ejemplo, un control de los siguientes parámetros puede ser importante para la realización de nanopartículas de los sólidos MOF según la invención:

- temperatura de reacción,
- tiempo de reacción,
- concentraciones de ligando L' y de precursor inorgánico metálico y/o
- adición de uno o varios aditivos tales como modificadores de pH (ácidos, bases), mineralizadores, o agentes que favorecen la parada del crecimiento cristalino (monoácido carboxílico).

Los intervalos de valores preferidos de cada uno de estos parámetros pueden variar según si la síntesis de nanopartículas se realice por la vía hidro/solvotermal, con ultrasonidos o por microondas. Por ejemplo, una temperatura de reacción más elevada se utilizará generalmente para la vía hidro/solvotermal (aproximadamente 20-150°C) más que con ultrasonidos (aproximadamente 0°C).

Tal como se describe en el ejemplo 6B, los inventores han demostrado que los 4 parámetros citados anteriormente tienen un impacto no solamente en la obtención de nanopartículas (p.ej., partículas de diámetro inferior a 1 µm), sino

también en la obtención de una buena cristalización, un rendimiento satisfactorio (p.ej., >25% en peso) y ausencia de óxidos de hierro.

Se han determinado condiciones óptimas de forma empírica por los inventores para cada una de las fases de sólido MOF preparados. A modo ilustrativo, y no limitante, se detallan ejemplos de condiciones de operación en la parte «Ejemplos». Se entiende que las condiciones de operación detalladas en los «Ejemplos» no son limitativos en ningún caso, pudiéndose obtener nanopartículas de sólido MOF según la invención en gamas de temperatura, tiempo de reacción y concentraciones, y con cantidades de aditivos, que varían en torno a las condiciones de operación ilustradas en los Ejemplos, según el tamaño de nanopartículas y la polidispersidad deseada.

En general, según el procedimiento de preparación de los sólidos MOF de la invención en forma de nanopartículas, la fase MIL-88A se obtiene en forma de nanopartículas utilizando los siguientes parámetros:

Vía solvotermal

- la temperatura de reacción preferentemente está entre 20 y 200°C, más particularmente entre 50 y 100°C, muy particularmente entre 60 y 70°C
- el tiempo de reacción se sitúa entre 30 minutos y 72 horas, más particularmente entre 30 minutos y 12 horas, muy particularmente entre 1 y 4 horas
- la concentración de ligando L' y de precursor inorgánico metálico se sitúa entre 1 y 200 mmoles/L, más particularmente entre 30 y 100 mmoles/L, muy particularmente entre 60 y 70 mmoles/L
- se añade un monoácido carboxílico, preferentemente el ácido acético. Se entiende que otros aditivos tales como modificadores de pH (ácidos, bases), mineralizadores también se pueden añadir.

Vía con ultrasonidos

- la temperatura de reacción preferentemente está entre -5 y 20°C, más particularmente entre -5°C y 10°C, muy particularmente entre -5 y 5°C
- el tiempo de reacción se sitúa entre 15 minutos y 2 horas, más particularmente entre 15 minutos y 1 hora, muy particularmente entre 15 y 45 minutos
- la concentración de ligando L' y de precursor inorgánico metálico se sitúa entre 10 mol/l y 10⁻² mol/l, más particularmente entre 1 y 10⁻² mol/l, muy particularmente entre 50 y 200 mmoles/l
- se añade un monoácido carboxílico, preferentemente el ácido acético. Se entiende que otros aditivos tales como modificadores de pH (ácidos, bases), mineralizadores también se pueden añadir.

Vía por microondas

- la temperatura de reacción preferentemente está entre 30°C y 300°C, más particularmente entre 30°C y 150°C, muy particularmente entre 50°C y 120°C
- el tiempo de reacción se sitúa entre 1 minuto y 3 horas, más particularmente entre 10 y 50 minutos, muy particularmente entre 1 y 30 minutos
- la concentración de ligando L' y de precursor inorgánico metálico se sitúa entre 200 mol/l y 10⁻² mol/l, más particularmente entre 100 y 10⁻² mol/l, muy particularmente entre 10 y 10⁻² mol/l
- se añade un modificador de pH, preferentemente ácido clorhídrico. Se entiende que otros aditivos tales como modificadores de pH (ácidos, bases), mineralizadores o agentes que favorecen la parada del crecimiento cristalino (monoácido carboxílico) también se pueden añadir.

Las otras fases «MIL» se pueden obtener en forma de nanopartículas en condiciones de operación similares, utilizando las gamas de temperatura, tiempo de reacción y concentración anteriormente mencionadas, y con la adición eventual de aditivos tales como los anteriormente mencionados.

El procedimiento de preparación de la invención tiene la ventaja de permitir la obtención de materiales de estructura deseada, de gran pureza y homogéneos, en un número de etapas reducido y con rendimientos elevados. Esto reduce la duración de la síntesis y los costes de fabricación.

Además, este procedimiento permite acceder a materiales de estructura determinada y controlar el tamaño de partículas modulando uno o varios de los siguientes parámetros: el tiempo de síntesis, el pH, la adición de aditivos, la agitación, la naturaleza del disolvente, la utilización de la vía por microondas, etc.

Por otra parte, los inventores también han demostrado que las características estructurales particulares del sólido de la presente invención, principalmente en términos de flexibilidad o de tamaño de los poros, les confieren propiedades particularmente interesantes, principalmente en términos de capacidad de adsorción, de adsorción selectiva y de pureza. Por lo tanto, estos materiales hacen posible la adsorción selectiva de moléculas, como por ejemplo moléculas farmacéuticas, con un coste energético favorable y un tiempo de liberación más elevado. De esta forma, los trabajos de investigación llevados a cabo por los inventores les han permitido poner de manifiesto el interés de los materiales MOF para la adsorción y el transporte de principios activos.

Así, la invención se refiere también a la utilización del sólido MOF según la invención, que comprende en sus poros o en su superficie al menos una molécula elegida en el grupo que comprende un principio farmacéuticamente activo, una sustancia activa que entra en la formulación de una preparación cosmética o un marcador.

En particular, la invención se refiere también a la utilización del sólido MOF según la invención cargado de principio farmacéuticamente activo como medicamento. El principio farmacéuticamente activo puede estar contenido bien en los poros, o bien en la superficie del sólido según la invención. Es lo que se entiende en lo que sigue de este documento por «sólido MOF cargado de principio farmacéuticamente activo».

Más generalmente, se entiende por «sólido MOF cargado de componente X» un sólido MOF según la invención que contiene en sus poros o en su superficie el componente X. El componente X puede ser adsorbido o unido por unión covalente, por enlace de hidrógeno, por enlace de Van der Waals, por interacción electrostática en la superficie o en los poros del sólido MOF. Este componente X puede ser, tal como se ha indicado anteriormente, un principio farmacéuticamente activo. O el componente X puede ser cualquier molécula que tenga una actividad biológica, una sustancia activa que entra en la formulación de una preparación cosmética o un marcador.

En efecto, el sólido MOF según la invención tiene la ventaja de presentar grandes capacidades de adsorción. Además, permite adsorber eficazmente moléculas farmacéuticas que presentan dificultades particulares de encapsulación, por ejemplo debido a su inestabilidad, su alta reactividad, su baja solubilidad, su elevada tendencia a cristalizar, su carácter hidrófilo, anfífilo, etc.

Por ejemplo, el sólido según la invención puede estar cargado con al menos un principio farmacéuticamente activo que presenta una o varias de las siguientes características: hidrófilo, anfífilo, lipófilo inestable, tóxico, con elevada tendencia a cristalizar o sensiblemente insoluble.

Se entiende por «tóxico» un principio farmacéuticamente activo que tiene efectos tóxicos susceptibles de obstaculizar su utilización en aplicaciones médicas o veterinarias. Se puede tratar, por ejemplo, de agentes alquilantes tales como el busulfán, el cisplatino, las nitrosoureas como la lomustina. Los agentes alquilantes forman después de la metabolización, enlaces covalentes con los ácidos nucleicos. La formación de estos enlaces puede dar lugar a:

- Trastornos de la transcripción y de la replicación del ADN
- Sustituciones de bases en el ADN
- Excisiones de bases y rupturas catenarias del ADN.

Su actividad farmacológica principal se manifiesta durante la fase de síntesis del ADN. Sus efectos tóxicos incluyen: la mielosupresión, la esterilidad y la leucemia no linfocítica.

El Cisplatino provoca puentes ADN intra-catenarios, tiene una baja mielotoxicidad, pero es severamente emetizante y puede ser nefrotóxico.

Se entiende por «de elevada tendencia a cristalizar» un principio farmacéuticamente activo que tiene una tendencia a asociarse a sí mismo en una red cristalina en lugar de incluirse en otras estructuras. Así, dicho compuesto tiende a formar cristales durante el procedimiento de encapsulación utilizado, en lugar de incluirse en las partículas. Resulta por lo tanto al final del procedimiento una mezcla de partículas poco cargadas en principio farmacéuticamente activo y cristales de éste. Se puede tratar por ejemplo del Busulfán. A dosis altas, presenta un efecto secundario grave que es la enfermedad venooclusiva del hígado. Ésta resulta probablemente de la elevada tendencia de esta molécula a cristalizar. El apilamiento cristalino se rige por fuertes interacciones dipolo-dipolo entre los grupos metilsulfonato de este principio activo.

Se entiende por «sensiblemente insoluble» un principio farmacéuticamente activo cuya solubilidad es inferior a 0.1 mg/mL en agua. Se puede tratar por ejemplo del Busulfán.

Se entiende por «inestable» un principio farmacéuticamente activo que se puede descomponer, cristalizar y/o reaccionar perdiendo su estructura y su actividad. Se puede tratar por ejemplo del Busulfán.

Además, el principio farmacéuticamente activo puede ser cualquier molécula que tenga una actividad biológica, como por ejemplo, un medicamento, principalmente un anticancerígeno, un agente antiviral, un análogo nucleósido, modificado o no, un ácido nucleico, un anticuerpo, una proteína, una vitamina, etc.

5 Entre los principios activos hidrófilos, se puede citar por ejemplo, la AZT TP, CDV (cidofovir), el 5-fluoroacilo, la citarabina.

Entre los principios activos anfífilos, se puede citar por ejemplo, el busulfán, el cloruro de doxorubicina, el cloruro de imipramina.

10 Entre los principios activos lipófilos, se puede citar por ejemplo, el tamoxifeno, el docetaxel, el paclitaxel, el ibuprofeno, la lidocaína, las vitaminas liposolubles tales como las vitaminas A (retinol), D (calciferol), E (tocoferol), K1 (filoquinona), K2 (menaquinona).

En particular, el sólido según la invención puede estar cargado con al menos un principio farmacéuticamente activo elegido por ejemplo entre el grupo que comprende el taxotere, el busulfán, la azidotimidina (AZT), la azidotimidina fosfatada (AZTP), el cidofovir, la gemcitabina, el tamoxifeno.

15 En un modo de realización, el principio activo puede ser una molécula fluorescente. Por ejemplo, se puede tratar de las rodaminas, de la fluoresceína, la luciferasa, pireno y sus derivados y el aminopirrolidino-7-nitrobenzofurazano.

En un modo de realización, el principio activo puede ser una molécula fluorada; es decir que comprende al menos un sustituyente F. Se puede tratar por ejemplo de una de las moléculas fluoradas anteriormente citadas. Estas moléculas fluoradas se adaptan a las utilizaciones en técnicas de análisis por imágenes, particularmente las tecnologías de imágenes fluorescentes tales como la técnica de TEP mencionada anteriormente.

20 De esta forma, la invención se refiere también a la utilización de nanopartículas de MOF que encapsulan una o varias moléculas fluoradas según la invención como marcadores utilizables en tecnologías de imágenes médicas, tales como las tecnologías de imágenes por TEP.

Además, el sólido según la invención puede estar cargado con al menos un compuesto de interés en cosmética, es decir una sustancia activa que entra en la formulación de una preparación cosmética.

25 Se entiende por «compuesto de interés cosmético» cualquier sustancia activa que entra en la formulación de una preparación cosmética, es decir una preparación destinada a su puesta en contacto con diferentes partes superficiales del cuerpo humano, principalmente la epidermis, los sistemas pilosos y capilares, los órganos externos, los dientes y las mucosas, con el fin, exclusivamente o principalmente, de limpiarlos, protegerlos, perfumarlos, mantener en buen estado el cuerpo humano, modificar su aspecto o corregir su olor. Por «sustancia activa», se
30 entiende una sustancia que asegura la eficacia de la preparación cosmética.

El compuesto de interés cosmético es una sustancia activa que entra en la preparación de cualquier preparación cosmética conocida por los expertos de la técnica, por ejemplo, los productos de higiene (p.ej., desmaquillante, dentífrico, desodorante, gel de ducha, jabón, champú), los productos para el cuidado (p.ej., crema antiarrugas, crema de día, crema de noche, crema hidratante, agua floral, exfoliante, leche, máscara de belleza, bálsamo para
35 los labios, tónico), productos capilares (p.ej., acondicionadores, alisadores, gel, aceite, laca, máscara, tinte), productos de maquillaje (p.ej., corrector de ojeras, autobronceador, perfilador, sombras, base de maquillaje, khôl, máscara, polvo, producto para blanquear la piel, barra de labios, laca de uñas), perfumes (p.ej., agua de Colonia, agua de tocador, perfume), productos solares (por ejemplo, cremas, aceites o lociones para después del Sol y solares), productos para el afeitado y productos de depilación (p.ej., productos para después del afeitado, crema de depilación, espuma de afeitar), o preparaciones para baños y duchas (p.ej., baño de espuma, aceite de baño, sales
40 de baño).

Según la invención, el compuesto de interés en cosmética se puede elegir por ejemplo entre el grupo que comprende:

- 45 • un antioxidante (por ejemplo, el ácido cítrico, el beta-caroteno, la vitamina E, el ácido glicólico, el glutatión, la vitamina C, los polifenoles, el licopeno, los flavonoides, los taninos, los antocianos, la N-acetilcisteína (antiradicales libre))
- una vitamina (por ejemplo, la vitamina A, B3, B5, B6, B2, B1, B9, B8, B12, C, E, D, K, K1, K2)
- un liporregulador (por ejemplo, la cafeína, la teofilina)
- 50 • un agente fotoprotector (por ejemplo, la benzofenona 3 (2-Hidroxi-4-Metoxi Benzofenona), la benzofenona 4 (ácido 2-Hidroxi-4-metoxibenzofenona-5-sulfónica), el 2-fenilbenzimidazol-5-sulfónico))
- un agente hidratante (por ejemplo, urea, ácido hialurónico, el sorbitol).

Por ejemplo, el sólido según la invención se puede cargar con al menos una sustancia activa que entra en la formulación de una preparación cosmética elegido entre el grupo que comprende la benzofenona, la visnadina, el ácido salicílico, el ácido ascórbico, la benzofenona y sus derivados, la cafeína, la urea, el ácido hialurónico, etc.

- 5 En particular, el sólido según la invención puede estar cargado de principio farmacéuticamente activo con una capacidad de carga de 1 a 200% en peso de sólido seco, por ejemplo de 1 a 70% en peso de sólido seco, es decir alrededor de 10 a 700 mg por gramo de sólido seco.

En el marco de la presente invención, la capacidad de carga significa la capacidad de almacenamiento de moléculas o la cantidad de moléculas adsorbidas en el material. La capacidad de carga se puede expresar en capacidad en masa (gramo/gramo) o en capacidad molar (mol/mol) o en otros (mol/gramo, gramo/mol, etc.)

- 10 Así, el sólido según la invención tiene la ventaja de presentar una capacidad de carga inesperada, hasta ahora nunca alcanzada en la técnica anterior, principalmente en el caso del Busulfán. En efecto, el sólido de la invención presenta un micro-entorno interno hidrófobo/hidrófilo favorable, principalmente para la incorporación de moléculas anfífilas como el busulfán.

- 15 Además, otra problemática de la técnica anterior se refiere a la liberación rápida y no controlada de moléculas transportadas en ausencia de afinidad. El sólido MOF según la invención presenta la ventaja de permitir tiempos de liberación más largos, principalmente debido al micro-entorno interno pero también debido a la estructura de los compuestos. En efecto, las fases rígidas y flexibles de las estructuras MOF tienen una influencia en la cinética de liberación de las moléculas. Principalmente, las fases flexibles pueden permitir una liberación de los compuestos más larga en el tiempo, por ejemplo con el ibuprofeno y el compuesto MIL-53.

- 20 El sólido según la invención también puede comprender, por ejemplo en los ligandos espaciadores, grupos funcionales que pueden modificar las interacciones entre el sólido MOF según la invención y la molécula de interés. Esto puede permitir el control de la encapsulación y de la liberación de las moléculas de interés. Los materiales MOF de la invención también pueden ser adaptados y formulados («designados») en función de las moléculas que son de interés para transportar con el fin de modular la tasa de encapsulación, la liberación de las moléculas y/o la degradabilidad del sólido.

Además, el sólido MOF según la invención ha sido objeto de estudios de toxicidad muy positivos, descritos en la parte «Ejemplos» más adelante. Parece también biodegradable y los estudios de degradabilidad todavía se están desarrollando.

- 30 Así, el sólido MOF de la presente invención utilizado para el transporte de principios activos permite paliar los problemas de la técnica anterior mencionados con anterioridad, principalmente los problemas relacionados con la toxicidad, la inestabilidad, la elevada tendencia a cristalizar de los principios activos, a su liberación controlada, etc.

Además, el sólido MOF según la invención hace posible la incorporación de marcadores en este material lo que también presenta interés.

- 35 Así, según un modo particular de realización, el sólido según la invención, puede estar cargado al menos con una molécula de interés que puede ser un principio farmacéuticamente activo y/o un compuesto de interés en cosmética y/o un marcador. La molécula de interés puede estar contenida bien en los poros, o bien en la superficie del sólido según la invención.

Así, los sólidos MOF según la invención se pueden utilizar para la fabricación de medicamentos, composiciones cosméticas y/o marcadores utilizables en tecnologías de imágenes médicas.

- 40 Así, se proporciona un procedimiento de tratamiento de un sujeto afectado por una enfermedad, comprendiendo dicho procedimiento la administración a dicho sujeto de un sólido MOF según la invención que comprende en sus poros o en su superficie al menos un principio activo conocido para tratar dicha enfermedad.

- 45 En particular, el sólido MOF según la invención puede estar cargado con al menos un marcador elegido entre el grupo que comprende un marcador de tecnologías de imágenes médicas, un agente de contraste, un trazador, un marcador radiactivo, un marcador fluorescente, un marcador fosforescente.

- 50 Por ejemplo, los inventores describen en la parte «Ejemplos», más adelante, una modificación de superficie con un compuesto fluorescente, en particular, el dextrano marcado con fluoresceína. Esta modificación permite la detección de partículas mediante un microscopio confocal. El microscopio confocal de barrido láser - MCBL (por sus iniciales en inglés CLSM «confocal laser scanning microscope») es un microscopio óptico que tiene la propiedad de hacer imágenes con muy baja profundidad de campo (aproximadamente 600 nm) llamadas «secciones ópticas». Posicionando el plano focal del objetivo de diferentes niveles de profundidad en la muestra, es posible realizar series de imágenes a partir de las que se puede obtener una representación tridimensional del objeto. Algunas posibles aplicaciones son:

i) el estudio de interacciones con líneas de células;

ii) si las partículas de sólido presentan relajamientos compatibles con su observación con tecnologías de imágenes médicas, se pueden utilizar en tecnologías de imágenes multimodal tal como se sugiere en la publicación Mulder WJ, et al. *Nanomed.* 2007 Jun, 2(3), 307-324 [21].

5 En particular, el sólido según la invención puede estar cargado al menos con un marcador elegido entre el grupo que comprende: un compuesto fluorescente, un óxido de hierro, un complejo de gadolinio, iones de gadolinio directamente presentes en la estructura, por ejemplo en forma de complejo con el ligando orgánico, etc. Los protocolos de carga con marcador son los conocidos por los expertos de la técnica. Ejemplos no limitativos se describen por ejemplo en A.K. Gupta, et al., *Nanomed.* 2007 2(1), 23-39 [22]; en P Caravan, *Chem. Soc. Rev.*, 2006, 35, 512-523 [23]; o en Yan-Ping Ren, et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 2003, 42, No. 5, 532 [24].

10 Así, el sólido MOF según la invención se puede utilizar para la fabricación, el transporte y/o la vectorización de marcadores.

Además, el sólido de la invención se puede utilizar para la vectorización de medicamentos cuando está cargado de un principio farmacéuticamente activo y/o para la detección y el seguimiento de enfermedades que hacen intervenir dianas biológicas (tales como el cáncer) cuando se utiliza como marcador.

15 Además, acumulando estas dos utilizaciones, el sólido de la presente invención permite ventajosamente visualizar la biodistribución de un medicamento. Ésto presenta un gran interés, principalmente para el seguimiento de un tratamiento terapéutico y el estudio de la biodistribución de un medicamento.

20 Según un modo particular de realización de la invención, el procedimiento de preparación del sólido según la invención, puede comprender además una etapa (ii) de introducción en los poros o en la superficie del sólido MOF, de al menos una molécula de interés, que puede ser un principio farmacéuticamente activo y/o un compuesto de interés en cosmética y/o marcador.

Dicha etapa de introducción se puede realizar en el transcurso de la etapa de reacción (i) o después de ésta de forma que se obtenga un sólido cargado con la molécula de interés.

25 Cualquier método conocido por los expertos de la técnica se puede utilizar en el transcurso de la etapa de introducción (ii). La molécula de interés se puede introducir por ejemplo en el material MOF de la presente invención:

- por impregnación, impregnando el material en una disolución de la molécula de interés;
- por sublimación de la molécula de interés, y después el gas es adsorbido por el material; o
- por trituration con cilindro rotativo que consiste en mezclar mecánicamente el material y la molécula de interés.

30 Podrán aparecer todavía otras ventajas a los expertos de la técnica con la lectura de los ejemplos que siguen más adelante, con referencia a las figuras anexadas, dadas a modo ilustrativo y no limitante.

Breve descripción de las figuras

- La figura 1 representa los clichés de MEB (Microscopía Electrónica de Barrido) del material MIL-53nano sintetizado según el Ejemplo 2.
- 35 • La figura 2 representa los clichés de MEB (Microscopía Electrónica de Barrido) del material MIL-89nano sintetizado según el Ejemplo 2.
- La figura 3 representa los clichés de MEB del material MIL-88Anano sintetizado según el Ejemplo 2.
- La figura 4 representa los clichés de MEB del material MIL-100nano sintetizado según el Ejemplo 2.
- La figura 5 representa los clichés de MEB del material MIL-88Bnano sintetizado según el Ejemplo 2.
- La figura 6 representa los clichés de MEB del material MIL-88Bnano sintetizado según el Ejemplo 2.
- 40 • La figura 7 representa, arriba, el fenómeno de respiración del compuesto MIL-53(Fe), y abajo, los difractogramas de RX del sólido MIL-53(Fe) en presencia de diferentes disolventes.
- La figura 8 representa la respiración de los sólidos MIL-88A, MIL-88B, MIL-88C, MIL-88D y MIL-89. La amplitud del hinchamiento entre formas secas (arriba) y formas abiertas (abajo) está representada en % debajo de la figura.
- 45 • La figura 9 representa, arriba, el estudio de la reversibilidad del hinchamiento del sólido MIL-88A por difracción de RX (λ -1.79Å), abajo, los difractogramas de RX del sólido MIL-88A en presencia de disolventes.

- La figura 10 representa el esquema explicativo de la flexibilidad en las fases híbridas MIL-53 (a) y MIL-88 (b y c).
- La figura 11 representa los clichés de MEB del material MIL-88A sintetizado según el Ejemplo 6, sin agitación (figura 11a) o con agitación (figura 11b).
- 5 • La figura 12 representa el cliché de microscopía electrónica del sólido MIL-101(Cr) obtenido por síntesis (10 minutos a 220°C).
- La figura 13 representa los cortes histológicos de hígado de rata puestos de manifiesto por una coloración hematoxilina-eosina y una coloración de Proust. La figura 13a se refiere al test de control, la figura 13b se obtiene 7 días después de la inyección de 200 mg/kg de material MIL-88A y la figura 13c se obtiene 7 días después de la inyección de 200 mg/kg de material MIL-88Bt.
- 10 • La figura 14 representa los difractogramas de polvo de rayos X de los sólidos MIL-53 que encapsulan diferentes especies: Dimetilformamida (DMF), H₂O, y Busulfán (adsorbido a partir de disoluciones de cloroformo o de acetonitrilo). El difractograma de RX de la forma seca está también representada («empty»).
- La figura 15 representa los diagramas de DRX del material MIL-88A no modificado antes (MIL88A) y después de la adición de una gota de agua (MIL88A + H₂O); MIL-88A modificado con el quitosano 7% antes (MIL88AQ100) y después de la adición de una gota de agua (MIL88A Q100 + H₂O); MIL-88A modificado con el quitosano 2% antes (MIL88AQ25) y después de la adición de una gota de agua (MIL88A Q125 + H₂O);
- 15 • La figura 16 representa el análisis termogravimérico del material MIL-88A no modificado (MIL88A; verde), modificado con el quitosano 2% (MIL-88A-Q25, negro) y modificado con el quitosano 7% (MIL-88A-Q100, rojo).
- 20 • La figura 17 representa las imágenes de microscopía confocal del material MIL-100(Fe) modificado superficialmente con Dextrano-Fluoresceína-Biotina.
- La figura 18 representa los difractogramas de RX de las diferentes formas de sólido MIL-53 (de abajo arriba: forma secas, hidratadas, producto de síntesis bruto, MIL-53Bu1 y MIL-53Bu2).
- La figura 19 representa el análisis termogravimérico (con aire) del compuesto MIL-53(Fe) hidratado (velocidad de calentamiento de 5°C/minuto).
- 25 • La figura 20 representa los difractogramas de RX de los sólidos MIL-88A seco (abajo) e hidratado (arriba).
- La figura 21 representa el análisis termogravimérico (con aire) del compuesto MIL-88A hidratado (velocidad de calentamiento de 5°C/minuto).
- La figura 22 representa el difractograma de RX del sólido MIL-100(Fe).
- 30 • La figura 23 representa la isoterma de adsorción de nitrógeno a 77K del sólido MIL-100 (Po = 1 atm.).
- La figura 24 representa el análisis termogravimérico (con aire) del compuesto MIL-100(Fe) producto de síntesis bruto (velocidad de calentamiento de 5°C/minuto).
- La figura 25 representa el difractograma de RX del sólido MIL-101(Fe) ($\lambda_{Cu} = 1.5406 \text{ \AA}$).
- La figura 26 representa el análisis termogravimérico (con aire) del compuesto MIL-101(Fe) hidratado (velocidad de calentamiento de 5°C/minuto).
- 35 • La figura 27 representa las fases rígidas MIL-68 (a la izquierda), MIL-100 (arriba a la derecha) y MIL-101 (abajo a la derecha).
- La figura 28 representa la evolución del tamaño de partículas (P en nm) en función del tiempo de síntesis (t en min) mediante ultrasonidos (0°C en presencia o no de ácido acético) (Ejemplo 8).
- 40 • La figura 29 representa la evolución del tamaño de partículas (P en nm) en función del tiempo (t en min) de la síntesis n°1 (0°C en presencia o no de PEG, añadido 15 min después del comienzo de la síntesis) mediante ultrasonidos (Ejemplo 25).
- La figura 30 representa la evolución del tamaño de partículas (P en nm) en función del tiempo (t en min) de la síntesis n°2 (0°C en presencia o no de PEG, añadido en el tiempo t = 0) mediante ultrasonidos (Ejemplo 25).
- 45 • La figura 31 representa el montaje experimental de encapsulación por sublimación (Ejemplo 21).

- La figura 32 representa las moléculas de rodamina 116 perclorato (A) y fluoresceína (B).
- La figura 33 representa las moléculas de ácido 8-hidroxipireno-1,3,6-trisulfónico (C) y (R)-(-)-4-(3-aminopirrolidino)-7-nitrobenzofurazano (D).
- La figura 34 representa la liberación del ácido fumárico del sólido MIL-88A en porcentaje (%) en función del tiempo t (en días).
- La figura 35 representa la estructura del sólido MIL-100(Fe). (a): trímero de octaedro y ligando trimérico; (b): supertetraedro; (c): estructura 3d esquemática; (d): los dos tipos de cajas mesoporosas.
- La figura 36 representa las ventanas pentagonales y hexagonales del sólido MIL-100(Fe) después de la activación al vacío.
- Figura 37: Arriba: construcción del sólido MIL-101 a partir de trímeros de octaedros de hierro, de ácido 1,4-bencenodicarboxílico para formar un supertetraedro híbrido y finalmente una estructura zeolítica híbrida de gran tamaño de poros. Abajo: vista esquemática del armazón poroso y representación de los dos tipos de cajas mesoporosas, con sus dimensiones libres. Los octaedros de hierro, los átomos de carbono están en verde y negro, respectivamente.
- La figura 38 representa la estructura del sólido MOF MIL-102(Fe). Izquierda: vista según el eje de los túneles (eje c); derecha: vista según el eje perpendicular a los túneles (eje b, vista similar según el eje a). Los átomos de hierro, de carbono y las moléculas de agua están en verde, negro y rojo, respectivamente.
- Figura 39: Estructura del sólido MOF MIL-88B_4CH₃(Fe). Izquierda: vista según el eje de los túneles (eje c); derecha: vista según el eje de las cajas (ejes a y b equivalente). Los octaedros de hierro y los átomos de carbono están en naranja y negro, respectivamente.
- Figura 40: Estructura del carboxilato de hierro MIL-88A (hidratado). Izquierda: vista según el eje de los túneles (eje c); derecha: vista según el eje perpendicular a los túneles (eje b, vista similar según el eje a). Los octaedros de hierro, los átomos de carbono y las moléculas de agua están en verde, negro y rojo, respectivamente.
- Figura 41: Estructura del carboxilato de hierro MIL-89(Fe). Izquierda: vista según el eje de los túneles (eje c); derecha: vista según el eje perpendicular a los túneles (eje b, vista similar según el eje a). Los átomos de hierro, de carbono y las moléculas de agua están en gris, negro y blanco, respectivamente.

Ejemplos

I. Síntesis preliminares

Ejemplo 1: Síntesis del acetato de hierro (III), precursor utilizado, y síntesis de ligandos

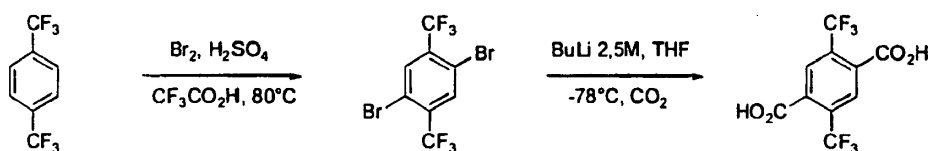
30 a) Síntesis A: acetato de hierro (III)

Para la síntesis A del acetato de hierro (III), utilizado en las síntesis de materiales MOF según la invención descritas en los ejemplos siguientes, se puede remitir a la publicación C.T. Dziobkowski, et al. *Inorg. Chem.*, 1982, 21, 671 [25].

La síntesis A es la siguiente: se mezclan 6,72 g de polvo de hierro metálico (Riedel-de Haën, 99%), 64 mL de agua desionizada y 33,6 mL de ácido perclórico al 70% en agua (Riedel-de Haën) con agitación magnética y se calientan a 50°C durante 3 horas. Después de parar el calentamiento, la disolución se agita durante 12 h (horas). El hierro metálico residual se elimina por decantación seguido de un cambio de recipiente. Se añaden gota a gota 20,6 mL de disolución de peróxido de hidrógeno en agua (Alfa Aesar, 35%) con agitación, mientras se mantiene todo en un baño de hielo a 0°C. Se añaden 19,7 g de acetato de sodio (Aldrich, 99%) a la disolución azul con agitación manteniendo la disolución a 0-5°C. Se deja que se evapore la disolución durante 3 días en la campana en un cristizador (Volumen = 0,5 l) de vidrio. Finalmente, los cristales rojos de acetato de hierro se recuperan por filtración y se lavan rápidamente con agua desionizada helada. A continuación, se secan los cristales con aire.

b) Síntesis B: ácido 2,5-diperfluoro-1,4-bencenodicarboxílico

La síntesis se realiza según el protocolo de operación descrito por Kim et al., *Chem. Commun.*, 2005, 372-374.



Síntesis del 2,5-dibromo-1,4-bis(trifluorometil) benceno:

En un matraz de balón de un litro equipado con un refrigerante y una varilla imantada, se añaden sucesivamente 1,4-bis(trifluorometil)benceno (19 g, 88,7 mmoles, ABCR), ácido trifluoroacético (250 mL, SDS) y ácido sulfúrico al 99% (60 mL, Acros). Se añade N-bromosuccinimida (47,4 g, 267 mmoles, Aldrich) en pequeñas porciones a 60°C en un periodo de 5 horas. La agitación se prolonga 48 horas a esta temperatura, y luego se vierte el medio en hielo (500 mL). El precipitado formado de esta manera se filtra y se seca a vacío (1 mmHg) durante 24 horas y luego se purifica por sublimación para proporcionar 30 g (91%) de un sólido blanco.

Pt fusión: $65 \pm 0.2^\circ\text{C}$; RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3): 8,01 (2H, s); RMN ^{19}F (188 MHz, CDCl_3): - 64,1 (2 X CF_3 , s).

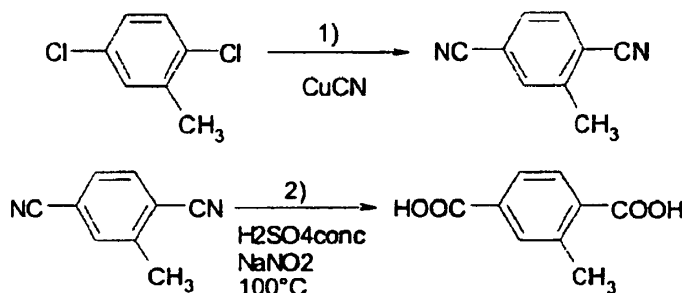
Síntesis del ácido 2,5-bis(trifluorometil) tereftálico:

En un matraz de dos bocas de un litro equipado con un embudo de adición y una varilla imantada, se añade gota a gota una disolución de, 2,5-dibromo-1,4-bis(trifluorometil)benceno (16 g, 43 mmoles) en THF (100 mL, Acros) a una disolución a -78°C , de butil litio BuLi (2,5 M en hexano, 38,4 mL, 67,2 mmoles, Aldrich) en THF (75 mL). Después de 30 min (minutos) de agitación a esta temperatura, se introduce en el medio de reacción nieve carbónica (200 g) finamente triturada. Se deja que ascienda la temperatura hasta la temperatura ambiente y se extrae el medio mediante una disolución de sosa (2M, 3 X 100). Las fases acuosas se recogen, acidificadas por una disolución de ácido clorhídrico 2M. El precipitado formado de esta manera se filtra y se seca a vacío (1 mmHg) durante 24 horas para proporcionar 11 g (84%) de un sólido blanco.

Pt fusión: descomposición a 230°C ; RMN ^1H (200 MHz, Acetona D6): 8,31 (2H, s aromático); RMN ^{19}F (188 MHz, Acetona D6): -55,9 (2 X CF_3 , s).

c) Síntesis C: ácido 2-metiltereftálico

El ácido 2-metiltereftálico se obtiene según el modo de síntesis descrito por L. Anzalone, J. A. Hirsch, *J. Org. Chem.*, 1985, 50, 2128-213:



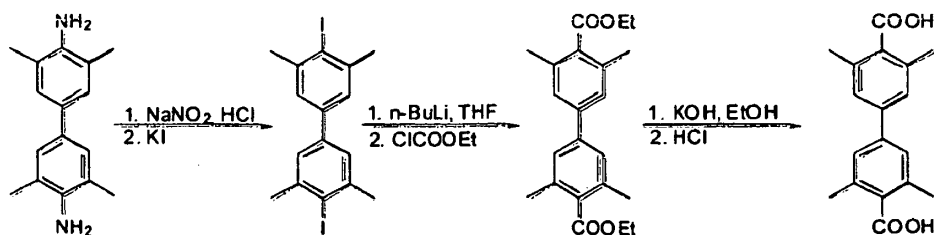
1) Se introducen en un matraz de balón 10 g de CuCN (111,6 mmoles), 4,2 mL de 2,5-diclorotolueno (30,5 mmoles) en 26 mL de N-metilpirolidinona. Se calienta todo a reflujo (200°C) durante 24 horas con el fin de sustituir los átomos de Cl por grupos nitrilo.

Después de parar el calentamiento, se añaden al medio de reacción 50mL de una disolución acuosa al 20% de NH_4OH , y 35 mL de tolueno. La mezcla se agita y luego una vez enfriada a temperatura ambiente, se le añaden 100 mL de éter y 50 mL de una disolución de NH_4OH al 20%. Las dos fases obtenidas de esta manera se separan mediante adiciones sucesivas de éter (250mL), y finalmente se centrifugan (separación difícil). La fase orgánica se lava a continuación sucesivamente con una disolución de NH_4OH al 10% (4 x 50mL, hasta que la fase acuosa, básica, ya no tenga más una coloración azul), luego con H_2O , y finalmente con una disolución de HCl al 10%, y con una disolución de NaCl saturada. Después de secado sobre MgSO_4 , filtración sobre papel, y evaporación del disolvente, se obtienen 2,9 g de producto de coloración amarilla. (Rendimiento del 67%).

2) El 2-metiltereftalonitrilo obtenido de esta manera se añade a continuación a 70 mL de H_2SO_4 al 95%, llevando la mezcla a 100°C durante una noche, y después de parar el calentamiento, se le añaden 35 mL de H_2O , y una vez a temperatura ambiente, se disuelven 6,6 g de NaNO_2 en 30 mL de H_2O . Se lleva todo a 110°C durante una noche. Finalmente, después de añadir 200 mL de H_2O con agitación, filtración con büchner, lavado con agua, y secado a 50°C durante una noche a vacío, se obtienen 2,13 g de ácido 2-metiltereftálico en forma de un polvo blanquecino. (rendimiento del 58%).

d) Síntesis D: ácido 3,5,3',5'-tetrametilbifenil-4,4'-dicarboxílico

El esquema de reacción de esta síntesis se representa a continuación:

*Primera etapa:*

Se ponen en suspensión 10,2 g de tetrametilbenzidina (98%, Alfa Aesar) en 39 mL de ácido clorhídrico concentrado (37%, comercializado por la sociedad Aldrich) a 0°C. La diazotación se ha efectuado por adición de una disolución de nitrito de sodio (6 g en 50 mL de agua). Después de 15 min de agitación a 0°C, se ha añadido lentamente una disolución de yoduro de potasio (70 g en 200 mL de agua) a la disolución violeta resultante. Una vez terminada la adición, la mezcla se agita durante 2 horas a temperatura ambiente. La suspensión negra resultante se filtra para recuperar un precipitado negro, lavado con agua. El sólido se pone en suspensión en diclorometano (DCM, 98%, comercializado por la sociedad SDS) y se añade una disolución saturada de tiosulfato de sodio, causando la decoloración. Después de 1 hora de agitación la fase orgánica se decanta y la fase acuosa se extrae con DCM. La fase orgánica se seca con sulfato de sodio, luego se evapora para dar un intermedio diyodado en forma de un sólido grisáceo. La elución con pentano puro en una columna de sílice (comercializado por la sociedad SDS) permite obtener la mezcla de los compuestos monoyodado y diyodado. La mezcla de estos últimos se ha empleado directamente en la siguiente etapa.

Segunda etapa:

Se solubilizan 7,2 g del compuesto yodado bruto en 100 mL de tetrahidrofurano (THF; destilado con sodio). Después de enfriar a -78°C, se añaden 35 mL de n-butilitio en ciclohexano (2,5 M, comercializado por la sociedad Aldrich). La disolución se deja que vuelva a la temperatura ambiente, después de 2 horas aparece una suspensión blanca. Se enfría de nuevo a -78°C y se añaden 12 mL de etilcloroformato. Se deja la mezcla a temperatura ambiente y se obtiene una disolución amarilla nítida después de 1 hora. Una división entre el agua y el diclorometano seguida de una extracción con diclorometano da el diéster bruto. Éste se purifica por cromatografía sobre gel de sílice, con una mezcla de Et2O/Pentano como eluyente: 1/9, (relación frontal: Rf = 0,3). Se obtienen 6,3 g de diéster en forma de un sólido incoloro (rendimiento del 42% a partir de la benzidina).

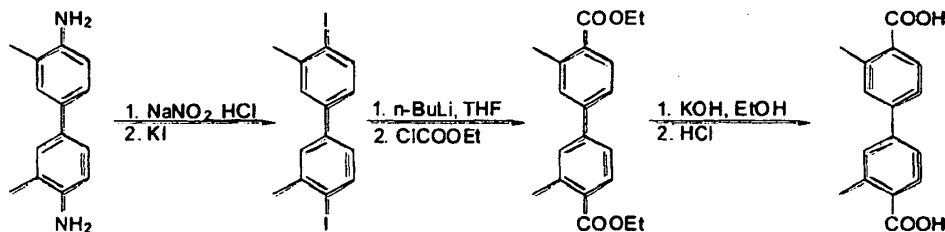
Caracterización del diéster obtenido: RMN 1H (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 1,29 (t, J = 7,2 Hz, 6H), 2,29 (s, 13H); 4,31 (q, J = 7,2 Hz, 4H); 7,12 (s, 4H). RMN 13C (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 14,3 (CH₃), 19,9 (CH₃), 61,0 (CH₂), 126,5 (CH), 133,2 (Cq), 135,5 (Cq), 141,4 (Cq), 169,8 (Cq).

Tercera etapa:

Finalmente, le diéster se saponifica con 9,7 g de hidróxido de potasio (comercializado por la sociedad VWR) en 100 mL de etanol 95% (comercializado por la sociedad SDS), con reflujo durante 5 días. La disolución se concentra a vacío y el producto se solubiliza en agua. Se añade ácido clorhídrico concentrado hasta pH 1 y se forme un precipitado blanco. Se recupera por filtración, se lava con agua y se seca. Se obtienen así 5,3 g de diácido en forma de sólido blanco (rendimiento cuantitativo).

e) Síntesis E: ácido 3,3'-dimetilbifenil 4,4'-dicarboxílico

El esquema de reacción de esta síntesis se representa a continuación:



Se ha utilizado el mismo procedimiento que el descrito para la síntesis D partiendo de 12,1 g de dimetilbenzidina. Al término de la primera etapa, se obtienen 18,4 g de 3,3'-dimetil-4,4'-diyodo-bifenilo (rendimiento: 74%).

Caracterización del compuesto diyodado obtenido: RMN 1H (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 2,54 (s, 6H), 7,10 (dd, J = 2,2 y 8,1 Hz, 2H), 7,46 (d, J = 2,2 Hz, 2H), 7,90 (d, J = 8,1 Hz, 2H). RMN 13C (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 28,3 (CH₃), 100,3 (Cq), 126,0 (CH), 128,3 (CH), 139,4 (CH), 140,4 (Cq), 141,9 (Cq).

Al término de las etapas segunda y tercera, se obtienen 6,9 g de ácido 3,3'-dimetil-bifenil-4,4'-dicarboxílico a partir de 18,4 g de compuesto diyodado.

Caracterización de los compuestos obtenidos: El diéster obtenido al término de la segunda etapa y el diácido obtenido al término de la tercera etapa tienen signaturas espectrales idénticas a las descritas en la bibliografía (Shiotani Akinori, Z. Naturforsch. 199449, 121731 -1736)

f) Síntesis F: ácido 3,3'-dicloro-4,4'-azobencenodicarboxílico

Se colocan 15 g de ácido o-clorobenzoico (Aldrich, 98%) y 50 g de sosa en 225 mL de agua destilada, y se calientan a 50°C con agitación. Se añade una disolución de 100 g de glucosa (Aldrich, 96%) disuelta en 150 mL de agua. Se agita la mezcla 15 minutos, luego se hace burbujeo con aire durante 3 horas a temperatura ambiente. La sal de disodio se recupera por filtración, se lava con etanol, y luego se disuelve de nuevo en 120 mL de agua. Se añade ácido clorhídrico (Aldrich VWR, 37%) hasta obtener un pH igual a 1. El sólido se recupera por filtración y se seca a vacío a 90°C.

g) Síntesis G: ácido 3,5,3',5'-azobencenotetracarboxílico

Se colocan 19 g de ácido 5-nitroisofáltico (Aldrich, 98%) y 50 g de sosa en 250 mL de agua destilada, y se calienta a 50°C con agitación. Se añade una disolución de 100 g de glucosa (Aldrich, 96%) disuelta en 150 mL de agua. Se agita la mezcla 15 minutos, luego se hace burbujeo con aire durante 3 horas a temperatura ambiente. La sal de disodio resultante se recupera por filtración, disuelta en 300 mL de agua a temperatura ambiente. Se añade ácido clorhídrico (VWR, 37%) hasta obtener un pH igual a 1. El sólido se recupera por filtración y secado a vacío a 90°C.

h) Síntesis H: ácido clorotereftálico

Se introducen 6 g (0,043 mol) de cloroxileno (comercializado por la sociedad Aldrich, > 99%), 16 mL de ácido nítrico (comercializado por la sociedad VWR, 70%) y 60 mL de agua destilada en un recipiente de teflón de 120 mL. Éste se coloca en una bomba metálica PAAR, y se calienta a 170°C durante 12 horas. El producto se recupera por filtración, luego se lava abundantemente con agua destilada. Se obtiene un rendimiento del 75%.

RMN 1H (300 MHz, d6 DMSO): δ (ppm): 7,86 (d, J = 7,8 Hz), 7,93 (dd, J = 7,8; 1,2 Hz), 7,96 (d, J = 1,2 Hz)

II. Nanopartículas según la invención y procedimientos de preparación de las nanopartículas según la invención

Ejemplo 2: Síntesis de nanopartículas carboxilato de hierro

a) Síntesis de nanopartículas MIL-53nano

Se ha obtenido el sólido MIL-53nano en forma de nanopartículas a partir de 270 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol; Alfa Aesar, 98%), 166 mg de ácido tereftálico (1 mmol; 1,4-BDC; Aldrich, 98%) en 5 mL de dimetilformamida (DMF; Fluka, 98%), introducido todo en un recipiente de Teflón colocado en un recipiente metálico (autoclave) de marca Paar. Se calienta todo a 150°C durante 2 ó 4 horas. Después de volver a temperatura ambiente, se recupera el sólido por centrifugación a 5.000 rpm (o rotación por minuto) durante 10 minutos.

A continuación se ponen en suspensión 200 mg del sólido en 100 mL de agua destilada con agitación durante 15 horas para eliminar el disolvente residual presente en los poros. Después, se recupera el sólido por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos. El tamaño de las partículas medido por difusión de luz es de aproximadamente 350 nm.

Las imágenes de microscopía electrónica de barrido (MEB) del material MIL-53 de la presente invención se presentan en la figura 1 y muestran la presencia de dos poblaciones de partículas, una de gran tamaño (aproximadamente 5 μm) y otras pequeñas (aproximadamente 350 nm). Las partículas grandes son más bien romboédricas, sin duda del ácido carboxílico recristalizado; por el contrario, la morfología de las partículas pequeñas es más bien esférica, y se presenta en forma de agregados.

b) Síntesis de nanopartículas MIL-89nano

La síntesis del MIL-89nano se hace a partir de 210 mg de acetato de hierro (0,33 mmoles; sintetizado en el laboratorio según la síntesis A descrita anteriormente), de 142 mg de ácido mucónico (1 mmol; Fluka, 97%) en presencia de 5 mL de etanol (Riedel-de Haën, 99,8%) con adición de 0,25mL de hidróxido de sodio 2M (Alfa Aesar, 98%) introducido todo en un recipiente de Teflón colocado en un recipiente metálico (autoclave) de marca Paar. Se calienta todo a 100°C durante 12 horas.

Después de volver a temperatura ambiente, el producto se recupera por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos. A continuación se ponen en suspensión 200 mg del sólido en 100 mL de agua destilada con agitación durante 15 horas para eliminar el disolvente residual presente en los poros. Después, se recupera el sólido por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos.

El tamaño de las partículas medido por difusión de luz es de 400 nm. Las nanopartículas muestran una morfología redondeada y ligeramente alargada, con un tamaño de partículas, medido por microscopía electrónica de barrido, muy homogéneo de 50-100 nm (figura 2). Está claro por lo tanto que los objetos de 400 nm medidos por difusión de luz corresponden a agregados de partículas de MIL-89nano

5 *c) Síntesis de nanopartículas MIL-88Anano*

Para obtener el material MIL-88Anano, se mezclan 270 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol; Alfa Aesar, 98%) y 112 mg de ácido fumárico (1 mmol; Acros, 99%) en 15 mL de etanol (Riedel-de Haën, 99,8%) y 1 mL de ácido acético (Aldrich, 99,7%). La disolución se coloca en un envase de vidrio y se calienta a 65°C durante 2 horas. Se recupera el sólido por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos.

- 10 Se ponen en suspensión 200 mg del sólido en 100 mL de agua destilada con agitación durante 15 horas para eliminar el residual presente en los poros. Después, se recupera el sólido por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos.

El tamaño de partícula medido por difusión de luz es de 250 nm.

- 15 La microscopía electrónica de barrido (figura 3) muestra partículas alargadas con aristas. Hay dos tamaños de partícula, de aproximadamente 500 nm y 150 nm. El tamaño medido por difusión de luz corresponde por lo tanto a un tamaño medio de MIL-88Anano.

d) Síntesis de nanopartículas MIL-100nano

- 20 La síntesis del MIL-100nano se realiza a partir de 270 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol; Alfa Aesar, 98%), 210 mg de ácido 1,3,5-benzenotricarboxílico (1,3,5-BTC; 1 mmol; Aldrich, 95%) en 3 mL de agua destilada. Se introduce todo en un recipiente de Teflón colocado en un recipiente metálico (autoclave) de marca Paar. Se calienta todo a 100°C durante 12 horas. Se recupera el producto por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos.

Se ponen en suspensión 200 mg de sólido en 100 mL de agua destilada con agitación y reflujo durante 3 horas para eliminar el ácido residual presente en los poros. Después, se recupera el sólido por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos.

- 25 El tamaño de partícula medido por difusión de luz es de 535 nm.

La microscopía electrónica de barrido (figura 4) muestra una gran agregación de partículas. Éstas son más bien esféricas, con un tamaño aproximado de 40 a 60 nm.

e) Síntesis de nanopartículas MIL-101nano

- 30 Para la obtención del sólido MIL-101Anano, se mezclan 270 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol; Alfa Aesar, 98%), 250 mg de ácido 1,4-benzenodicarboxílico (1,5 mmoles; 1,4-BDC Aldrich, 98%) en 10 mL de dimetilformamida (Fluka, 98%), se coloca todo en una bomba Paar y se calienta a 100°C durante 15 horas. Se recupera el sólido por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos.

- 35 Para eliminar el ácido residual presente en los poros, el producto se calienta a 200°C durante 1 día a vacío. Hay que señalar que hace falta entonces mantenerlo a vacío o en atmósfera inerte ya que el producto no es estable al aire o en presencia de agua. El tamaño de partícula medido por difusión de luz es de 310 nm.

f) Síntesis de nanopartículas MIL-88Bnano

- 40 La síntesis del sólido MIL-88Bnano se realiza a partir de 270 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol; Alfa Aesar, 98%), 222 mg de ácido 1,4-benzenotetrametildicarboxílico (1 mmol; Chem Service) y 10 mL de dimetilformamida (Fluka, 98%) en presencia de 0,4 mL de disolución acuosa de NaOH 2M. Se introduce todo en un recipiente de Teflón colocado en un recipiente metálico (autoclave) de marca Paar, luego se calienta a 100°C durante 2 horas. Después de volver a temperatura ambiente, (la bomba metálica se enfría en agua fría), el producto se recupera por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos.

- 45 A continuación se ponen en suspensión 200 mg del sólido en 100 mL de agua destilada con agitación durante 15 horas para eliminar el disolvente residual presente en los poros. Se recupera el sólido por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos.

La medida del tamaño de partícula por difusión de luz muestra dos poblaciones de nanopartículas de 50 y 140 nm.

La microscopía electrónica de barrido (figura 5) muestra que las partículas poseen una morfología esférica con un tamaño de aproximadamente 50 nm. Solamente un fracción minoritaria tiene un tamaño de aproximadamente 200 nm. Se pueden observar también aglomerados de pequeñas partículas.

- 50 *g) Síntesis de nanopartículas MIL-88Bnano*

El sólido MIL-88Bnano se sintetiza a partir de 240 mg de acetato de hierro (0,33 mmoles, sintetizado en el laboratorio según la síntesis A descrita anteriormente), 166 mg de ácido 1,4-benzenodicarboxílico (1 mmol; 1,4-BDC Aldrich, 98%) introducido en 5 mL de metanol (Alcrich, 99%). Se introduce todo en un recipiente de Teflón colocado en un recipiente metálico (autoclave) de marca Paar, y se calienta a 100°C durante 2 horas. Después de volver a temperatura ambiente, (la bomba metálica se enfría en agua fría), el producto se recupera por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos.

Se ponen en suspensión 200 mg del sólido en 100 mL de agua destilada con agitación durante 15 horas para eliminar el disolvente residual. Después, se recupera el sólido por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos.

La medida del tamaño de partícula por difusión de luz muestra una distribución bimodal de nanopartículas de 156 y 498 nm.

La morfología de las partículas observada por microscopía es muy irregular, con un tamaño medio próximo a 300 nm (figura 6).

La determinación del tamaño de partícula por difusión de luz se ha realizado con un dispositivo Malvern Zetasizer Nano serie - Nano-ZS; modelo Zen 3600; serial N° 500180; Reino Unido.

La microscopía electrónica de barrido se ha realizado utilizando un microscopio Topcon (Akashi) EM 002B ultra-alta resolución 200kV.

Las diferencias entre los valores obtenidos a partir de estas dos técnicas se explican por una parte por la coloración naranja de partículas de carboxilatos de hierro, lo que no es ideal teniendo en cuenta el color rojo del haz de láser del dispositivo de difusión de luz, y por otra parte por una tendencia más o menos pronunciada de las partículas a aglomerarse.

h) MIL-102(Fe) o $\text{Fe}_6\text{O}_2\text{X}_2[\text{C}_{10}\text{H}_2(\text{CO}_2)_4]_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($\text{X} = \text{F}, \text{Cl} \dots$)

Síntesis del sólido MIL-102(Fe) no fluorado:

Se dispersan 270 mg (1 mmol) de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Alfa Aesar, 98%) y 268 mg (1 mmol) de ácido 1,4,5,8-naftalenotetracarboxílico en 5 ml de agua destilada. Se deja la mezcla en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 15 horas a 100°C. Se recupera el sólido por filtración.

Datos característicos del sólido MIL-102(Fe)

Este compuesto presenta una superficie específica pequeña (superficie de Langmuir; 101 m²/g) con nitrógeno a 77K.

Obtención del sólido MIL-102(Fe) fluorado:

Se ponen 0,2 g de sólido MIL-102(Fe) no fluorado de fórmula $\text{Fe}_6\text{O}_2\text{Cl}_2[\text{C}_{10}\text{H}_4(\text{CO}_2)_4]_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ obtenido según el modo de operación descrito anteriormente en presencia de 1 g de fluoruro de sodio NaF en 100 ml de agua destilada. Se deja la mezcla con agitación en un recipiente de Teflón de 125 ml durante 15 horas a temperatura ambiente. El sólido se recupera por filtración y se lava cinco veces en agua destilada para eliminar las trazas de NaF. El análisis semicuantitativo por EDX indica un contenido de flúor de 0.17 flúor por hierro. El sólido tratado de esta forma tiene una fórmula aproximada de tipo $\text{Fe}_6\text{O}_2\text{F}(\text{OH})[\text{C}_{10}\text{H}_4(\text{CO}_2)_4]_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$.

i) Datos analíticos de las nanopartículas de carboxilato de hierro

El tamaño de partículas se mide con un equipo de difusión de luz Coulter N4MD, coulter Electronics, Margency, Francia) utilizando suspensiones acuosas del material de 0,5 mg/mL.

El potencial Z se mide a partir de las suspensiones acuosas de 0,5 mg/mL en un medio NaCl 0,1 M en un dispositivo Malvern Zetasizer Nano serie - Nano-ZS equipo; modelo Zen 3600.

El tamaño de partícula se mide con un dispositivo de potencial Z utilizando disoluciones acuosas de material 0,5 mg/mL.

La Tabla 1 siguiente presenta las características de los diferentes materiales MOF obtenidos, principalmente el tamaño de nanopartículas, estimadas por difusión casi elástica de luz o por microscopía electrónica, el tamaño de los poros y el potencial zeta.

Tabla 1 Estructuras «MIL» de algunos carboxilatos de hierro (III) según la invención.

Nanosólido MIL-n	Fracción orgánica	Fórmula
MIL-53	Ácido 1,4-Benzenodicarboxílico (Ácido tereftálico o Ácido 1,4-BDC)	$\text{Fe}(\text{OH})[\text{O}_2\text{C}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CO}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$

Nanosólido MIL-n	Fracción orgánica	Fórmula
MIL-88A	Ácido fumárico	$\text{Fe}_3\text{OX}[\text{O}_2\text{C}-\text{C}_2\text{H}_2-\text{CO}_2]_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$
MIL-88B	Ácido tereftálico	$\text{Fe}_3\text{OX}[\text{O}_2\text{C}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CO}_2]_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$
MIL-88BT	Ácido tetrametil tereftálico	$\text{Fe}_3\text{OX}[\text{O}_2\text{C}-\text{C}_6(\text{CH}_3)_4-\text{CO}_2]_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$
MIL-89	Ácido mucónico	$\text{Fe}_3\text{OX}[\text{O}_2\text{C}-\text{C}_4\text{H}_4-\text{CO}_2]_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$
MIL-100	Ácido 1,3,5-Benzenotricarboxílico (Ácido 1,4-BTC)	$\text{Fe}_3\text{OX}[\text{C}_6\text{H}_3-\text{CO}_2]_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$
MIL-101	Ácido tereftálico	$\text{Fe}_3\text{OX}[\text{O}_2\text{C}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CO}_2]_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$

Tabla 2. Características de las estructuras «MIL» de carboxilatos de hierro (III).

MIL-n	% de Hierro*	Diámetro de los poros (Å)**	Tamaño de partículas (difusión) (nm)	Tamaño de partículas (microscopía) (nm)	Pot. Z *** (mV)	Flex. ****	Base metálica
MIL-53	23,6%	8,6	350	350 y 5.000	6	Sí	Cadena de octaedro
MIL-88A	30,8%	6	250	150 y 500	13-34	Sí	Trímero de octaedro
MIL-88B	24,2%	9	150 y 500	300	14	Sí	Trímero de octaedro
MIL-88BT	19,4%	8	50 y 140	50 y 200	19	Sí	Trímero de octaedro
MIL-89	26,2%	11	400	50-100	7	Sí	Trímero de octaedro
MIL-100	27,3%	25-29	530	40-60	-25	No	Trímero de octaedro
MIL-101	24,2%	29-34	310	-	29	No	Trímero de octaedro
* % teórico de hierro en fase seca ** tamaño de poro calculado a partir de estructuras cristalográficas *** Potencial Z **** Flexibilidad							

Ejemplo 3: Síntesis de materiales MOF a base de ligandos funcionalizados

a) MIL-101 -Cl (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{Cl}-\text{C}_6\text{H}_3-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($X = \text{F}, \text{Cl}, \text{OH}$)

- 5 Las condiciones de síntesis son las siguientes: se dispersan 0,27 g (1 mmol) de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 210 mg de ácido cloro-1,4-benzenodicarboxílico (1,0 mmol, Cl-1,4-BDC, sintetizado según la síntesis H descrita en el ejemplo 1) en 10 ml de DMF (dimetilformamida, Fluka, 98%). Se deja todo 12 h (horas) a 100°C en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR. A continuación, se filtra el sólido y se lava con acetona.

La optimización de las condiciones de vaciado de los poros está en curso

Parámetros de malla del sólido MIL-101(Fe) a 298K: $a = 89,0 \text{ Å}$ y $V = 707.000 \text{ Å}^3$, grupo de espacio Fd-3m ($n^\circ 227$).

- 10 El tamaño de partícula monodispersa (Índice de polidispersidad, PDI = 0,225) medido por difusión de luz es de 400 nm.

b) MIL-101- NH_2 (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{NH}_2-\text{C}_6\text{H}_3-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($X = \text{F}, \text{Cl}, \text{OH}$)

2,25 g (0,92 mmoles) de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 0,75 mg de ácido amino-1,4-benzenodicarboxílico (0,41 mmoles, NH_2 -1,4-BDC, Aldrich 99%) se dispersan en 50 ml de DMF (dimetilformamida, Fluka, 98%). Se deja todo 24 horas a 110°C

en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR. A continuación, se filtra el sólido y se lava con acetona.

El sólido se calienta a 120°C durante 16 horas a vacío para eliminar el ácido que queda en los poros. Por el contrario, la optimización de estas condiciones de vaciado de los poros está todavía en curso.

- 5 Parámetros de malla del sólido MIL-101(Fe) a 298K: $a = 89,0 \text{ \AA}$ y $V = 707.000 \text{ \AA}^3$, grupo de espacio Fd-3m ($n^\circ 227$).

El tamaño de partícula monodispersa (PDI = 0,086) medido por difusión de luz es de 391 nm.

c) MIL-101-2CF₃ (Fe) o Fe₃O[(CF₃)₂-C₆H₂-(CO₂)₂]₃.X.n (X = F, Cl, OH)

- 10 135 mg (0,5 mmoles) de FeCl₃.6H₂O y 151 mg de ácido 2,5-diperfluoro-1,4 bencenodicarboxílico (0,5 mmoles, 2CF₃, -1,4-BDC, sintetizado según la síntesis B descrita en el ejemplo 1) se dispersan en 5 ml de DMF (Fluka, 98%). Se deja todo 12 horas a 90°C en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR. Después, se recupera el sólido por centrifugación a 10.000 rpm durante 10 minutos.

La optimización de las condiciones de vaciado de los poros está en curso

Parámetros de malla del sólido MIL-101(Fe) a 298K: $a = 89,0 \text{ \AA}$ y $V = 707.000 \text{ \AA}^3$, grupo de espacio Fd-3m ($n^\circ 227$).

El tamaño de partícula monodispersa (PDI = 0.145) medido por difusión de luz es de 340 nm.

- 15 d) MIL-88B- NO₂ (Fe) o Fe₃O[C₆H₃NO₂-(CO₂)₂]₃.X.nH₂O (X = F, Cl, OH)

Se dispersan 0,27 g de FeCl₃.6H₂O (1 mmol, Alfa Aesar, 98%) y 211 mg (1 mmol) de ácido 1,4-nitrotereftálico (Acros, 99%) en 5 ml de agua destilada. Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 12 horas a 100°C. Se recupera el sólido por filtración.

- 20 Se ponen en suspensión 200 mg del sólido en 10 mL de etanol absoluto en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 12 horas a 100°C para eliminar el ácido restante en los poros. Después, se recupera el sólido por filtración y se seca a 100°C a vacío.

Tabla 3. Análisis elemental (CNRS, Vernaison).

Elemento/ % en masa	% Hierro	% Carbono	% Nitrógeno
MIL-88B NO ₂	20,6	39,3	4,6

El tamaño de partícula monodispersa (PDI = 0,005) medido por difusión de luz es de 345 nm.

e) MIL-88B-20H (Fe) o Fe₃O[C₆H₂(OH)₂-(CO₂)₂]₃.X.nH₂O (X = F, Cl, OH)

- 25 354 mg de Fe(ClO₄)₃.xH₂O (1 mmol, Aldrich, 99%) y 198 mg (1 mmol) de ácido 1,4-dihidroxotereftálico (obtenido por hidrólisis del éster dietílico correspondiente, Aldrich 97%) se dispersan en 5 ml de DMF (Fluka, 98%). Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 12 horas a 85°C. Se recupera el sólido por filtración, luego se calcina a 150°C durante 15 horas a vacío para eliminar el ácido restante en los poros.

Tabla 4. Análisis elemental (CNRS, Vernaison).

elemento/ % en masa	% Hierro	% Carbono
MIL-88B 20H	15,4	36,5

- 30 El tamaño de partícula ligeramente polidispersa (PDI = 0,305) medido por difusión de luz es de 213 nm.

f) MIL-88B-NH₂ (Fe) o Fe₃O[C₆H₃NH₂-(CO₂)₂]₃.X.nH₂O (X = F, Cl, OH)

- 35 Se dispersan 0,27 g de FeCl₃.6H₂O (1 mmol, Alfa Aesar, 98%) y 180 mg (1 mmol) de ácido 1,4-aminoterftálico (Fluka, 98%) en 5 ml de etanol absoluto. Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 3 días a 100°C. Se recupera el sólido por filtración, luego se calcina a 200°C durante 2 días para eliminar el ácido restante en los poros.

El tamaño de partícula monodispersa (PDI = 0,268) medido por difusión de luz es de 102 nm.

g) MIL-88B-CH₃ (Fe) o Fe₃O[C₆H₃CH₃-(CO₂)₂]₃.X.nH₂O (X = F, Cl, OH)

354 mg de $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol, Aldrich, 99%) y 180 mg (1 mmol) de ácido 1,4-metilteftálico (preparado según la síntesis C) se dispersan en 5 ml de metanol (Fluka, 99%). Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 3 días a 100°C. Se recupera el sólido por filtración.

- 5 Se ponen en suspensión 200 mg del sólido en 10 mL de DMF con agitación a temperatura ambiente para intercambiar el ácido restante por el DMF, luego se elimina el DMF por evaporación a 150°C durante 12 horas a vacío.

El tamaño de partícula monodispersa (PDI = 0,231) medido por difusión de luz es de 430 nm.

h) MIL-88B-Cl (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_6\text{H}_3\text{Cl}(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot x \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($X = \text{F}, \text{Cl}, \text{OH}$)

- 10 354 mg de $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol, Aldrich, 99%) y 200 mg (1 mmol) de ácido 1,4-clorotereftálico (preparado según la síntesis descrita en el ejemplo 1) se dispersan en 10 ml de DMF con 0,1 mL de HF 5M (ácido fluorhídrico, SDS, 50%) y 0,1 mL de HCl 1M (ácido clorhídrico, Aldrich, 37%). Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 5 días a 100°C. El sólido se recupera por filtración y luego se calcina a 150°C a vacío.

El tamaño de partícula medido por difusión de luz es de 255 nm, con una segunda población de más de 1 micrón.

- 15 *i) MIL-88B-4CH₃ (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_6(\text{CH}_3)_4(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot x \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($X = \text{F}, \text{Cl}, \text{OH}$)*

0,27 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol, Alfa Aesar, 98%) y 222 mg (1 mmol) de ácido 1,4-tetrametilteftálico (Chem Service, 95%) se dispersan en 10 ml de DMF (Fluka, 98%) con 0,4 mL de NaOH 2M (Alfa Aesar, 98%). Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 12 horas a 100°C. El sólido se recupera por filtración.

- 20 Se ponen en suspensión 200 mg del sólido en 100 mL de agua con agitación a temperatura ambiente durante 12 horas para eliminar el ácido restante en los poros. Luego, se recupera el sólido por filtración.

El tamaño de partícula monodispersa (PDI = 0,005) medido por difusión de luz es de 549 nm.

j) MIL-88B-4F (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_6\text{F}_4(\text{CO})_2]_3 \cdot x \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($X = \text{F}, \text{Cl}, \text{OH}$)

- 25 Se dispersan 270 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol, Alfa Aesar, 98%) y 230 mg (1 mmol) de ácido 1,4-tetrafluorotereftálico (Aldrich, 98%) en 10 ml de agua destilada. Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 12 horas a 85°C. Se recupera el sólido por filtración.

Se ponen en suspensión 200 mg del sólido en 20 mL de agua con agitación a temperatura ambiente durante 2 horas para eliminar el ácido restante en los poros. Después, se recupera el sólido por filtración.

El tamaño de partícula ligeramente polidispersa (PDI = 0,289) medido por difusión de luz es de 399 nm.

- 30 *k) MIL-88B-Br (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_6\text{H}_3\text{Br}(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot x \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($X = \text{F}, \text{Cl}, \text{OH}$)*

270 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol, Alfa Aesar, 98%), 250 mg (1 mmol) de ácido 1,4bromotereftálico (Fluka, 95%) dispersados en 10 ml de DMF (Fluka, 98%) con 0,2 mL de HF 5M (SDS, 50%), se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 12 horas a 150°C. Se recupera el sólido por filtración, luego se calcina a 150°C durante 15 horas a vacío para eliminar el ácido restante en los poros.

- 35 El tamaño de partícula monodispersa (PDI = 0,005) medido por difusión de luz es de 1127 nm.

l) MIL-88B-2CF₃(Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[(\text{CF}_3)_2\text{-C}_6\text{H}_2(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot x \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($X = \text{F}, \text{Cl}, \text{OH}$)

- 40 135 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,5 mmoles, Alfa Aesar, 98%) y 151 mg (0,5 mmoles) de ácido 2,5-diperfluoro-1,4-tereftálico sintetizado según la síntesis B descrita en el ejemplo 1) se dispersan en 5 ml de DMF (Fluka, 98%) con 0,2 mL de NaOH 2M (Alfa Aesar, 98%). Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 16 horas a 100°C. Se recupera el sólido por filtración.

El tamaño de partícula medido por difusión de luz es > 1 micrón.

m) MIL-88D 4CH₃ (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_{12}\text{H}_4(\text{CH}_3)_4(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot x \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($X = \text{F}, \text{Cl}, \text{OH}$)

- 45 354 mg de $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol, Aldrich, 99%) y 298 mg (1 mmol) de ácido tetrametilbifenil 4,4'-dicarboxílico (preparado según la síntesis D) se dispersan en 5 ml de DMF (Fluka, 98%) con 0,2 mL de NaOH 2M (Alfa Aesar, 98%). Se deja la mezcla en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 12 horas a 100°C. Se recupera el sólido por filtración.

Se ponen en suspensión 200 mg del sólido en 10 mL de DMF con agitación a temperatura ambiente durante 2 horas para intercambiar el ácido restante en los poros. Luego, se recupera el sólido por filtración, después se calcina a 150°C durante 15 horas a vacío para eliminar el DMF restante en los poros.

- 5 Este compuesto no presenta superficie accesible (superior a 20 m²/g) con nitrógeno a 77K, ya que la estructura seca tiene un tamaño de poros pequeño para incorporar el nitrógeno N₂.

El tamaño de partícula medido por difusión de luz es > 1 micrón (2032, PDI = 0,005).

n) MIL-88D 2CH₃ (Fe) o Fe₃O[C₁₂H₆(CH₃)₂-(CO₂)₂]₃.X.nH₂O (X = F, Cl, OH)

- 10 270 mg de FeCl₃.6H₂O (1 mmol, Alfa Aesar, 98%) y 268 mg (1 mmol) de ácido dimetilbifenil 4,4'-dicarboxílico (preparado según la síntesis E) se dispersan en 5 ml de DMF (Fluka, 98%) con 0,25 mL de HF 5M (SDS, 50%). Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 12 horas a 150°C. Se recupera el sólido por filtración, luego se calcina a 150°C durante 15 horas a vacío para eliminar el ácido restante en los poros.

El tamaño de partícula monodispersa (PDI = 0,005) medido por difusión de luz es de 458 nm.

o) MIL-88E(Pyrr) (Fe) o Fe₃O[C₄H₃N₂-(CO₂)₂]₃.X.nH₂O (X = F, Cl, OH)

- 15 270 mg de FeCl₃.6H₂O (1 mmol, Alfa Aesar, 98%) y 204 mg (1 mmol) de ácido 2,5-pirazinodicarboxílico (Aldrich, 98%) se dispersan en 5 ml de DMF (Fluka, 98%) con 0,05 mL de HF 5M (SDS, 50%). Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 3 días a 100°C. Se recupera el sólido por filtración.

El tamaño de partícula medido por difusión de luz es > 1 micrón (2 µm).

- 20 *p) MIL-88F (Thio) (Fe) o Fe₃O[C₄H₂S-(CO₂)₂]₃.X.nH₂O (X = F, Cl, OH)*

354 mg de Fe(ClO₄)₃.xH₂O (1 mmol, Aldrich, 99%) y 258 mg (1 mmol) de ácido tiofenodicarboxílico (Aldrich, 99%) se dispersan en 2,5 ml de DMF (Fluka, 98%) con 0,1 mL de HF 5M (SDS, 50%). Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 3 días a 100°C. Se recupera el sólido por filtración.

- 25 Se ponen en suspensión 200 mg del sólido en 100 mL de agua con agitación a temperatura ambiente durante 12 horas para eliminar el ácido restante en los poros. Luego, se recupera el sólido por filtración.

El tamaño de partícula medido por difusión de luz es de 449 nm, con una segunda población minoritaria de más de 1 micrón.

q) MIL-53-20H(Fe) o FeO(OH)[C₆H₂(OH)₂-(CO₂)₂]₃.X.nH₂O (X = F, Cl, OH)

- 30 354 mg de Fe(ClO₄)₃.xH₂O (1 mmol, Aldrich, 99%) y 297 mg (1,5 mmoles) de ácido 1,4-dihidroxotereftálico (preparado según la síntesis C descrita en el ejemplo 1) se dispersan en 5 ml de DMF (Fluka, 98%) con 0,2 mL de HF 5M (SDS, 50%) y 1 mL de HClO₄ 5M (Aldrich, 70%). Se deja la mezcla en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 3 días a 150°C. Se recupera el sólido por filtración, luego se calcina a 150°C durante 15 horas para eliminar el ácido restante en los poros.

Tabla 5. Análisis elemental (CNRS, Vernaison).

elemento/ % en masa	% Hierro	% Carbono
MIL-88B 2OH	15,4	36,5

- 35 El tamaño de partícula medido por difusión de luz es > 1 micrón.

r) MIL-53-NH₂(Fe) o FeO(OH)[C₆H₂-NH₂-(CO₂)₂]₃.X.nH₂O (X = F, Cl, OH)

Se dispersan 270 mg de FeCl₃.6H₂O (1 mmol, Alfa Aesar, 98%) y 180 mg (1 mmol) de ácido 1,4-aminotereftálico (Fluka, 98%) en 10 ml de agua. Se deja la mezcla en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 3 horas a 150°C. Se recupera el sólido por filtración.

- 40 Para eliminar el ácido libre de los poros, se ponen en suspensión 200 mg del sólido en 15mL de etanol absoluto en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 2 días. El sólido se recupera por filtración lavado una segunda vez. Finalmente, el sólido se recupera por filtración y se seca a vacío a 150°C.

El tamaño de partícula medido por difusión de luz presenta dos poblaciones (PDI = 0,296), una mayoritaria a 172 nm y otra minoritaria a 728 nm.

s) MIL-53-Cl (Fe) o $\text{FeO}(\text{OH})[\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}(\text{CO}_2)_2]_X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($X = \text{F}, \text{Cl}, \text{OH}$)

354 mg de $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol, Aldrich, 99%) y 200 mg (1 mmol) de ácido 1,4-clorotereftálico (preparado según la síntesis descrita en el ejemplo 1) se dispersan en 5 ml de DMF. La mezcla se deja en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 2 días a 150°C con una rampa de calentamiento de 12 h. El sólido se recupera por filtración y luego se calcina a 150° durante 3 días.

El tamaño de partícula medido por difusión de luz es superior a 1 micrón.

t) MIL-53-Br(Fe) o $\text{FeO}(\text{OH})[\text{C}_6\text{H}_2\text{Br}(\text{CO}_2)_2]_X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($X = \text{F}, \text{Cl}, \text{OH}$)

270 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol, Alfa Aesar, 98%) y 250 mg (1 mmol) de ácido 1,4-bromotereftálico (Fluka, 95%) se dispersan en 10 ml de DMF (Fluka, 98%) con 0,4 mL de HF 5M (SDS, 50%). Se deja la mezcla en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 12 horas a 150°C. Se recupera el sólido por filtración, luego se calcina a 150°C durante 15 horas a vacío para eliminar el ácido restante en los poros.

El tamaño de partícula medido por difusión de luz es de 196 nm, con la presencia muy minoritaria de partículas > 1 micrón.

u) MIL-53-2CF₃ (Fe) o $\text{FeO}(\text{OH})[\text{C}_6\text{H}_2(\text{CF}_3)_2(\text{CO}_2)_2]_X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($X = \text{F}, \text{Cl}, \text{OH}$)

135 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,5 mmoles, Alfa Aesar, 98%), 151 mg (0,5 mmoles) de ácido 2,5-diperfluoro-1,4-tereftálico (sintetizado según la síntesis B descrita en el ejemplo 1) se dispersan en 5 ml de agua. Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 16 horas a 100°C. Se recupera el sólido por filtración.

El tamaño de partícula medido por difusión de luz es > 1 micrón.

v) MIL-53-CH₃ (Fe) o $\text{FeO}(\text{OH})[\text{C}_6\text{H}_3\text{-CH}_3\text{-CO}_2]_2]_X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($X = \text{F}, \text{Cl}, \text{OH}$)

177 mg (0,5 mmoles, Aldrich, 99%) de perclorato de hierro, 90 mg (0,5 mmoles) de ácido 2-metiltetereftálico (preparado según la síntesis C descrita en el ejemplo 1) y 0,05 mL de HF (5M) (0,25 mmoles) se introducen en 2,5 mL de DMF (Fluka, 98%). Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 16 horas a 150°C. Se recupera el sólido por filtración y se calcina a 200°C durante 72 horas para eliminar el DMF restante en los poros.

El tamaño de partícula medido por difusión de luz es > 1 micrón.

w) MIL-53-2COOH (Fe) o $\text{FeO}(\text{OH})[\text{C}_6\text{H}_3(\text{CO}_2)_4]_X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($X = \text{F}, \text{Cl}, \text{OH}$)

354 mg (1 mmol, Aldrich, 99%) de perclorato de hierro y 254 mg (1 mmol) de ácido 1,2,4,5-benzenotetracarboxílico (Aldrich, 99%) se introducen en 5 mL de agua destilada. Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 16 horas a 150°C. Se recupera el sólido por filtración.

Para eliminar el ácido restante en los poros, se ponen en suspensión 200 mg de sólido en 100 mL de agua destilada durante un noche. Se recupera el sólido por filtración.

El tamaño de partícula medido por difusión de luz es > 1 micrón.

Ejemplo 4 Síntesis de materiales MOF a base de ligandos fluorados

a) MIL-53(HF)

Se ha obtenido el sólido MIL-53(HF) en su forma de nanopartículas a partir de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol; Alfa Aesar, 98%), de ácido tereftálico (1 mmol; 1,4-BDC; Aldrich, 98%) en 5 mL de dimetilformamida (DMF; Fluka, 98%) con 0,1 mL de ácido fluorhídrico 5M (Prolabo, 50%) introducido todo en una autoclave de tipo "Paar bomb" a 150°C durante 15 horas. Se recupera el sólido por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos.

A continuación se ponen en suspensión 200 mg del sólido en 100 mL de agua destilada con agitación durante 15 horas para eliminar el disolvente residual. Después, se recupera el sólido por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos.

El tamaño de partícula se mide finalmente por difusión de luz y es de 625 nm.

b) MIL-100(HF)

Se ha obtenido el sólido MIL-100(HF) a partir de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol; Alfa Aesar, 98%) de trimesato de etilo (0,66 mmoles; 1,3,5-BTC; Aldrich, 98%) en 5 mL de agua y 0,1 mL de ácido fluorhídrico 5M (Prolabo, 50%) introducido todo en una autoclave de tipo "Paar bomb" a 130°C durante 15 horas. Se recupera el sólido por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos.

A continuación se ponen en suspensión 200 mg del sólido en 100 mL de agua destilada a reflujo con agitación durante 3 horas para eliminar el ácido residual. Después, se recupera el sólido por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos.

El tamaño de partícula se mide finalmente por difusión de luz y es de 1.260 nm.

5 c) MIL-88Bx4F

Se ha obtenido el sólido MIL-88Bx4F a partir de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol; Alfa Aesar, 98%) de ácido tetrafluorotereftálico (1 mmol; 4xF-BDC; Aldrich, 98%) en 10 mL de agua introducido todo en una autoclave de tipo "Paar bomb" a 85°C durante 15 horas. Se recupera el sólido por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos.

10 Finalmente, se ponen en suspensión 200 mg del sólido en 100 mL de agua destilada con agitación durante 2 horas para eliminar el ácido residual. Después, se recupera el sólido por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos.

El tamaño de partícula se ha medido por difusión de luz y es de 850 nm.

Se podrá remitir por ejemplo a las síntesis descritas en el Ejemplo 3 (Ejemplo 3c: MIL101-2CF₃, Ejemplo 3f=MIL88B-4F, Ejemplo 3L=MIL88B-2CF₃, Ejemplo 3u=MIL53-2CF₃) y en el Ejemplo 7 (Ejemplo 7d=MIL88B-2CF₃, Ejemplo 7f=MIL53-2CF₃).

15 Los sólidos híbridos también se pueden sintetizar mediante estos procedimientos y utilizando el radioisótopo F18 para las tecnologías de imágenes por TEP (tomografía por emisión de positrones).

Estas síntesis son a base de ligandos modificados con grupos perfluoro. Para la modificación con el 18F, se va a emplear preferentemente el método de intercambio iónico con 18F teniendo en cuenta:

- la corta duración de vida media del 18F
- la dificultad de sintetizar ligandos fluorados a base de 18F
- la tecnología de imágenes por TEP no necesita mucho flúor, por lo tanto la cantidad unida como contra-ión será suficiente.

d) Materiales MOF con Flúor 18

25 También podrían servir unos MOF que comprenden iones fluoruro como contra aniones en tecnologías de imágenes.

30 Por ejemplo, para tecnologías de imágenes por TEP (tomografía por emisión de positrones), el radio-isótopo de elección es ciertamente el flúor-18 debido a sus características radiofísicas favorables. La técnica de TEP permite obtener imágenes muy detalladas de los tejidos vivos. El radio-isótopo flúor-18 ($t_{1/2} = 110$ minutos) es un emisor de positrones; los positrones emitidos son aniquilados instantáneamente por los electrones de la materia circundante y son los rayos gamma resultantes los que se detectan.

El flúor 18 se produce en una línea sincrotrón. Así, para la síntesis de materiales híbridos porosos con el radio isótopo F18, hay que situarse cerca de una línea sincrotrón ya que su tiempo de vida media es muy corto (110 minutos).

Hay dos métodos posibles de obtención de sólidos híbridos porosos con F18:

35 *Método 1:*

Los sólidos híbridos se obtienen en presencia de HF (F18) o de ligandos fluorados F18 mediante microondas para reducir el tiempo de síntesis a algunos minutos (3-30 min). Las nanopartículas se recuperan por centrifugación a 10.000 rpm durante 5 min.

40 Para conseguir pequeños tamaños de partícula de los sólidos híbridos porosos, es preferible utilizar tiempos muy cortos de síntesis por vía hidro-solvotermal. De esta manera, algunos carboxilatos de hierro se pueden sintetizar también por vía solvotermal cuando el tiempo de síntesis no sobrepasa los 30 min.

Método 2:

45 0,1 mmoles de nanopartículas de sólidos híbridos porosos ya sintetizados por vía solvotermal o por microondas y activados se ponen en suspensión en 1 mL de una disolución 0,01 y 0,001 M de HF (F18) para proceder al intercambio del anión OH por flúor con agitación durante 15 min. Se recupera el sólido fluorado por centrifugación a 10.000 rpm durante 5 minutos.

Ejemplo 5: Síntesis de materiales MOF a base de ligandos bioactivos

La utilización de los ligandos con una actividad biológica presenta interés para:

- la liberación de un compuesto activo por degradación del material MOF
- la encapsulación de otras moléculas activas para terapias combinadas

5 Dichos ensayos de actividad antimicrobiana, así como la degradación en medios fisiológicos y la actividad en las células se realizarán en carboxilatos de hierro porosos de estructura flexible de tipo MIL-88 utilizando los ácidos 4,4'-azobencenodicarboxílico y 3,3'-dicloro 4,4'-azobenzonodicarboxílico, entre otros.

En las síntesis que siguen, se utilizan diversas moléculas bioactivas para preparar los materiales MOF de la presente invención, y principalmente: el azobenceno, el ácido azelaico y el ácido nicotínico.

10 El azobenceno (AzBz), de fórmula $C_6H_5-N=N-C_6H_5$, se puede incorporar a las matrices de polímero como estabilizador. Además, la estructura rígida de las moléculas azoicas les permite comportarse como mesógenos de cristal líquido en numerosos materiales. Por otra parte, el azobenceno puede ser fotoisomerizado (isómero cis o trans) y de allí su utilización para fotomodular la afinidad de un ligando (por ejemplo un medicamento) por una proteína. En efecto, el azobenceno puede desempeñar el papel de foto-interruptor entre un ligando y una proteína permitiendo o impidiendo la unión proteína-medicamento según el isómero cis o trans del azobenceno (un extremo del azobenceno se puede sustituir por ejemplo por un grupo uniéndose a la proteína diana mientras que el otro extremo se une a un ligando (medicamento) de la proteína).

El ácido Azelaico ($HO_2C-(CH_2)_7-CO_2H$) es un ácido dicarboxílico saturado que tiene propiedades antibacteriana, queratolítica y comedolítica. Se utiliza principalmente en el tratamiento del acné y la rosácea.

20 El ácido nicotínico ($C_5H_4N-CO_2H$) es una de las dos formas de la vitamina B3 con la nicotinamida. La vitamina B3 es necesaria principalmente para el metabolismo de los glúcidos, lípidos y proteínas.

e) MIL-88G(AzBz)(Fe) o $Fe_3O[Cl_{12}H_8N_2-(CO_2)_2]_3 \cdot X \cdot nH_2O$ ($X = F, Cl, OH$)

118 mg de $Fe(ClO_4)_3 \cdot xH_2O$ (0,33 mmoles, Aldrich, 99%) y 90 mg (0,33 mmoles) de ácido 4,4'-azobencenodicarboxílico (sintetizado según el método descrito por Ameerunisha et al., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1679, 1995) se dispersan en 15 ml de DMF (Fluka, 98%). Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 3 días a 150°C. Se recupera el sólido por filtración.

Se ponen en suspensión 200 mg del sólido en 10 mL de DMF con agitación a temperatura ambiente durante 2 horas para intercambiar el ácido restante en los poros. Luego, se recupera el sólido por filtración, después se calcina a 150°C durante 15 horas a vacío para eliminar el DMF restante en los poros.

El tamaño de partícula medido por difusión de luz es > 1 micrón.

30 f) MIL-88G -2Cl(AzBz-2Cl)(Fe) o $Fe_3O[C_{12}H_6N_2Cl_2-(CO_2)_2]_3 \cdot X \cdot nH_2O$ ($X = F, Cl, OH$)

177 mg de $Fe(ClO_4)_3 \cdot xH_2O$ (0,5 mmoles, Aldrich, 99%) y 169 mg (0,5 mmoles) de ácido dicloro-4,4'-azobencenodicarboxílico (preparado según la síntesis F descrita en el ejemplo 1) se dispersan en 15 ml de DMF (Fluka, 98%). Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 12 horas a 150°C. Se recupera el sólido por filtración.

35 Se ponen en suspensión 200 mg del sólido en 10 mL de DMF con agitación a temperatura ambiente durante 2 horas para intercambiar el ácido restante en los poros. Luego, se recupera el sólido por filtración, después se calcina a 150°C durante 15 horas a vacío para eliminar el DMF restante en los poros.

El tamaño de partícula medido por difusión de luz es > 1 micrón.

g) Azobenceno 3,3',5,5'-Tetracarboxilato de hierro 1

40 118 mg de $Fe(ClO_4)_3 \cdot xH_2O$ (0,3 mmoles, Aldrich, 99%) y 119 mg (0,3 mmoles) de ácido 3,3',5,5'-azobencenotetracarboxílico (preparado según la síntesis G descrita en el ejemplo 1) se dispersan en 15 ml de DMF (Fluka, 98%) con 0,1 mL de HF 5M (SDS, 50%). Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 3 días a 150°C. El sólido se recupera por filtración y se lava con acetona.

El sólido obtenido tiene una estructura cúbica rígida.

45 El tamaño de partícula medido por difusión de luz es > 1 micrón.

h) Azobenceno 3,3',5,5'-Tetracarboxilato de hierro 2

118 mg de $Fe(ClO_4)_3 \cdot xH_2O$ (0,3 mmoles, Aldrich, 99%) y 119 mg (0,3 mmoles) de ácido 3,3',5,5'-azobencenotetracarboxílico (preparado según la síntesis G descrita en el ejemplo 1) se dispersan en 15 ml de agua

destilada con 0,1 mL de HF 5M (SDS, 50%). Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 3 días a 150°C. El sólido se recupera por filtración y se lava con acetona.

El tamaño de partícula medido por difusión de luz es de 498 nm, con una segunda población minoritaria de 1.100 nm.

5 *i) Azelato de hierro 1*

Se dispersan 270 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol, Aldrich, 99%) y 188 mg (1 mmol) de ácido azelaico (Aldrich, 99%) en 5 ml de agua destilada. Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 3 días a 100°C. El sólido se recupera por filtración y se lava con acetona.

10 Se ponen en suspensión 200 mg de sólido en 50 mL de etanol absoluto con agitación durante 5 horas para activarlo. El sólido se recupera por filtración.

El tamaño de partícula medido por difusión de luz es > 1 micrón (1.500 nm).

j) Nicotinato de hierro 1

Las condiciones de síntesis en agua son las siguientes:

15 Se dispersan 135 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol, Aldrich, 99%) y 62 mg (1 mmol) de ácido nicotínico (Aldrich, 99%) en 5 ml de agua destilada con 0,1 mL de NaOH 2M. Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 16 horas a 100°C. El sólido se recupera por filtración y se lava con acetona.

Las condiciones de síntesis en DMF son las siguientes:

20 Se dispersan 135 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol, Aldrich, 99%) y 62 mg (1 mmol) de ácido nicotínico (Aldrich, 99%) en 5 ml de DMF (Fluka, 98%). Se deja todo en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR durante 16 horas a 100°C. El sólido se recupera por filtración y se lava con acetona.

El tamaño de partícula monodispersa ($\text{PDI} = 0,241$) medido por difusión de luz es de 662 nm.

III. Procedimiento modulable de preparación de las nanopartículas

Ejemplo 6: Control del tamaño de las partículas, influencia de los diferentes parámetros

25 En este ejemplo, el control del tamaño de las partículas se puede obtener cambiando uno o varios de los siguientes parámetros durante la síntesis

- El tiempo de síntesis
- El pH
- La adición de un aditivo (monoácido de tipo ácido acético...)
- La agitación
- 30 • La naturaleza del disolvente
- La síntesis por microondas
- La síntesis con ultrasonidos

Después de la síntesis, las nanopartículas se lavan con disolventes se recuperan por centrifugación y se secan a vacío, con aire con en atmósfera controlada eventualmente con calentamiento.

35 Las nanopartículas se analizan a continuación mediante una combinación de técnicas que permiten determinar las estructuras y la composición de las fases: Rayos X, espectroscopía IR, termodifracción de RX, análisis termogravimétrico, análisis elemental, microscopía electrónica, medida del potencial Zeta y medida del tamaño de partículas.

40 • Los diagramas de polvo de RX se recogen en un difractómetro de RX convencional de alta resolución (θ - 2θ) D5000 Siemens X Pert MDP (λ_{Cu} , $\text{K}\alpha 1$, $\text{K}\alpha 2$) típicamente entre 5 y 30° (2θ) utilizando un paso de 0,02° y 4 segundos de tiempo de recuento en modo continuo.

• La termodifractometría de RX se realiza en el horno de un difractómetro de RX Siemens D-5000 en modo θ - θ modo con aire.

- Las medidas de superficie específica se obtienen con un dispositivo de adsorción Micromeritics ASAP 2010 utilizando como gas N₂ (cálculo de porosimetría de tipo BJH).
- Los espectros IR se realizan con espectrómetro Nicolet-Magma IR550.
- Los análisis termogravimétricos se hacen con un dispositivo de marca TA 2050 entre 25 y 600°C, con una velocidad de calentamiento de 2°C.min⁻¹
- Las medidas del tamaño de partículas y de potencial Zeta se llevan a cabo con un instrumento Malvern Zetasizer Nano serie - Nano-ZS equipo; modelo Zen 3600; serial N° 500180; Reino Unido.
- La microscopía electrónica de barrido se ha llevado a cabo con un Topcon (Akashi) EM 002B ultraalta resolución 200kV.

10 *a) Influencia del tiempo de síntesis, aplicación a la síntesis de nanopartículas de MIL-53(Fe)*

La mezcla de una disolución de FeCl₃·6H₂O (1 mmol; Alfa Aesar, 98%), de ácido tereftálico (1 mmol; 1,4-BDC; Aldrich, 98%) en 5 mL de dimetilformamida (DMF; Fluka, 98%), se pone en una pieza de Teflón colocada en una autoclave a una temperatura de 150°C durante 72 horas con 12 horas de rampa de calentamiento y 24 horas de enfriamiento hasta la temperatura ambiente. Después de la reacción, el precipitado se filtra y se lava con agua desionizada. El sólido MIL-53(Fe) se obtiene en forma de cristales de varios centenares de micrones.

La disminución del tiempo de síntesis (sin rampa de calentamiento ni enfriamiento) conduce a tamaños de partícula más pequeñas (Tabla 6), con un tamaño, por ejemplo, de 335 nm para 4 horas de síntesis a 150°C. A continuación, para retirar el disolvente de los poros del sólido, típicamente se dispersan 200 mg de sólido en 100 mL de agua desionizada durante una noche con agitación seguida de una filtración o de una centrifugación (dependiendo del tamaño de las partículas).

La Tabla 6 siguiente registra los tamaños de nanopartículas obtenidas. Muestra que tiempos de síntesis cortos favorecen la presencia de pequeñas partículas.

Tabla 6. Tamaños de las partículas de MIL-53(Fe) en función del tiempo de síntesis

Tiempos de síntesis (en horas)	Diámetro de las partículas Dp (en nm)
24	6.220
12	2.460
6	720
5	800
4	335
2	380

b) Influencia del pH, aplicación a la síntesis de nanopartículas de MIL-89(Fe)

El acetato de hierro (III) (1 mmol; sintetizado según la síntesis A descrita anteriormente) se mezcla con agitación con el ácido mucónico (1 mmol; Fluka, 97%) en medio metanol (5mL; Aldrich, 99,9%) o etanol (5 mL; Riedel-de Haën, 99,8%). Se coloca todo sin agitación a 100°C durante 12 horas en presencia de 0,25 mL de disolución acuosa de hidróxido de sodio 2 Mol/l (Alfa Aesar, 98%); da pequeños tamaños de partícula.

La Tabla 7 siguiente registra los tamaños de nanopartículas obtenidos en función de la adición de base o no y muestra que la adición de base favorece la presencia de pequeñas partículas.

Tabla 7. Tamaños de las partículas de MIL-89(Fe) en función la adición de base.

Disolvente	Volumen de disolución acuosa 2M de NaOH añadido (mL)	Dp (nm)
Metanol	0	585
Metanol	0,25	471
Etanol	0	493
Etanol	0,25	398

Así, un aumento de pH provoca una desprotonación más fácil del ligando carboxílico, lo que acelera la velocidad de reacción.

c) Influencia de la adición de un aditivo, aplicación a la síntesis de nanopartículas de MIL-88A(Fe)

- 5 El fumarato de hierro MIL-88A se obtiene a partir de 270 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol; Alfa Aesar, 98%) y 112 mg de ácido fumárico (1 mmol; Acros, 99%) introducidos en 15 mL de etanol (Riedel-de Haën, 99,8%) y se añaden cantidades variables de ácido acético (Aldrich, 99,7%). La disolución se calienta a continuación durante 2 ó 4 horas a 65°C.

Tabla 8. Tamaños de las partículas de MIL-88A(Fe) obtenido en presencia de cantidades variables de ácido acético en dos tiempos de síntesis diferentes (2 ó 4 horas).

Volumen de ácido acético introducido (mL)	Dp (nm) t = 2h	Dp (nm) t = 4h
0	417	532
0,25	381	592
0,5	433	587
1	256	301

- 10 Estos resultados muestran claramente que la adición de un monoácido carboxílico ralentiza el crecimiento cristalino y permite obtener de esta forma nanopartículas de tamaño más pequeño. El ácido acético se puede añadir en cualquier momento de la reacción.

d) Influencia de la agitación

La influencia de la agitación se ha estudiado durante la síntesis del compuesto MIL-88A.

- 15 El método utilizado para preparar las nanopartículas de compuesto MIL-88A consiste en introducir 1 mmol de cloruro de hierro (III) hexahidratado (270 mg) y 1 mmol de ácido fumárico (112 mg) en 4,8 mL de DMF, y en añadir 0,4 mL de disolución NaOH 2M. Se calienta todo a 150°C durante 2 horas, con o sin agitación.

- 20 La microscopía electrónica muestra que las partículas obtenidas en ausencia de agitación poseen una morfología diferente a las obtenidas con agitación como lo muestra la figura 11. Por lo tanto, la agitación provoca una reducción del tamaño de las partículas pero también cambia la morfología lo que podría tener un efecto sobre la toxicidad de los sólidos.

e) Influencia del disolvente, aplicación a la síntesis de nanopartículas de MIL-88A(Fe)

- 25 La síntesis del sólido MIL-88A se ha efectuado por una parte en agua, y por otra parte en metanol. Una mezcla que contiene cloruro de hierro (1 mmol), ácido fumárico (1 mmol) en 15 mL de disolvente (metanol o agua desionizada) se ha puesto en presencia de cantidades variables de ácido acético, utilizado como cosolvente, sin agitación a 65°C durante 2 ó 4 horas. Los tamaños de partícula obtenidos se registran en la tabla 9.

Tabla 9. Tamaños de las partículas de MIL-88A(Fe) en función del disolvente y de la cantidad de ácido acético para dos tiempos de síntesis.

Disolvente	Volumen de ácido acético introducido (mL)	Dp (nm) t = 2h	Dp (nm) t = 4h
Metanol	0	417	532
Metanol	0,25	381	592
Metanol	0,5	433	587
Metanol	1	256	301
Agua	0	328	451
Agua	0,25	265	364
Agua	0,5	336	535
Agua	1	198	238

Las partículas de MIL-88A obtenidas en agua son más pequeñas que las obtenidas en metanol. Por lo tanto, la naturaleza del disolvente utilizado durante la síntesis tiene una gran influencia en el tamaño de las partículas.

Ejemplo 6B: Control del tamaño de partículas de MIL-88A, influencia de 4 parámetros: temperatura, tiempo de reacción, concentración de los reactivos y adición de un compuesto monocarboxilado

5 a) *Síntesis de fumarato de hierro sin aditivo monocarboxilado*

Se colocan 5 ml de una disolución acuosa de fumarato de hierro hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 1 mmol; Alfa Aesar, 98%), y ácido fumárico (1 mmol; Acros, 99%) en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una bomba metálica PAAR. Se coloca todo en una autoclave a una temperatura de 65, 100 ó 150°C, durante tiempos que van de 30 minutos a 3 días. Después, se recupera el precipitado obtenido por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos. Se seca a 100°C en estufa y se pesa para determinar el rendimiento de síntesis. El diámetro de las partículas se determina por difusión cuasi-elástica de la luz. Los difractogramas de RX se obtienen tal como se ha descrito anteriormente.

Se ha investigado para encontrar condiciones de operación (temperatura, tiempos de reacción) óptimas para obtener simultáneamente: i) una buena cristalización (+++); ii) un diámetro inferior a 1.000 nm (nanopartículas); iii) un rendimiento satisfactorio (>25% peso) y iv) ausencia de óxidos de hierro.

La tabla siguiente reagrupa los resultados obtenidos en diversas síntesis. Los rendimientos se consideran insatisfactorios cuando son inferiores al 25% en peso. La ausencia de cristalización se indica por -, una buena cristalización por +++, y la cristalización insuficiente por + o ++.

Temperatura	Tiempo (h)	Diámetro (nm)	cristalinidad	rendimiento (% en masa)
65°C	2	300-400	-	< 1%
	6	300-600	++	< 5%
	16	300-600	+++	> 25%
	72	300-600	+++	> 50%
100°C	0.5	400-500	+	< 10%
	2	500-600	+	< 10%
	6	500-800	+++	> 50%
	16	600-1.000	+++	> 75%
	72	600-2.000	+++	> 75%
150°C	0,5	500-700	-	< 10%
	2	400-500*	+	< 10%
	6	600-1.000*	+++	> 50%
	16	800-2.000*	+++	> 75%
	72	800-2.000*	+++	> 75%
* Presencia de óxidos de hierro				

A 65°C, la reacción se debe continuar durante al menos 16 horas para obtener las condiciones i-iv, mientras que a 100°C, son suficientes 6 horas de reacción, pero los diámetros son mayores (500-800 nm). A 150°C, ha resultado imposible reunir todas las condiciones necesarias i a iv, ya que desde las 2 horas de reacción, hay formación de óxidos de hierro en detrimento de la formación de una red cristalina.

Los mejores resultados se han obtenido a 65°C, con un tiempo de reacción de 16 horas, permitiendo la obtención de las partículas más finas (300-600 nm).

25 b) *Síntesis del fumarato de hierro (MIL 88A) con ultrasonidos*

Se han sintetizado nanopartículas de MIL-88A en agua, mediante ultrasonidos a 0°C modificando el tiempo de reacción (entre 30 y 120 min) a partir de ácido fumárico (C₄H₄O₄, ACROS, 99%) y de cloruro de hierro III hexahidratado (FeCl₃, 6H₂O, ACROS, 97%).

- 5 Los dos reactivos sólidos se pesan por separado en una balanza de precisión y luego se añade el disolvente (agua) para cada uno de los sólidos: 5,4g de FeCl₃ + agua destilada en un matraz de 200 ml y 2,32g de ácido fumárico + agua destilada en un matraz de 200 ml.

- 10 Se obtienen de esta forma dos disoluciones de concentraciones de 27 mg/mL y 11,6 mg/mL de Cloruro de hierro III y de Ácido Fumárico, respectivamente. La disolución de ácido fumárico se lleva a 70°C con agitación durante aproximadamente 120 min para estabilizar el producto. Se agita el cloruro de hierro mediante un agitador magnético durante 30min.

Se mezclan 5 ml de cada disolución en frascos de vidrio de 20ml (viales). Los viales se colocan al mismo tiempo en un baño de ultrasonidos a 0°C (Labo-moderne TK 52H n° de serie: 164046192 SONOCLEAN), durante tiempos de duración de 30 a 120 min.

- 15 El tamaño de las partículas obtenidas (medido por difusión de luz (Nanosizer)) sobrepasa el micrón, sea cual sea el tiempo de sonicación.

Se ha realizado un segundo ensayo, volviendo a añadir esta vez 30 µl de ácido acético 15 min antes del fin de la síntesis (correspondiente a la salida del baño de ultrasonidos). El diámetro de las partículas era de aproximadamente 500 nm después de 30 min de síntesis, 800 nm después de 60 min, y luego sobrepasaba el micrón después de 90 min de síntesis.

- 20 La adición de ácido acético (un monoácido) hace que se detenga el crecimiento cristalino ya que coordina el hierro. El hierro no podrá unirse a otro átomo de hierro (falta del segundo COOH). De esta forma, el ácido acético permite la obtención de nanopartículas de tamaño más pequeño.

- 25 Con el fin de obtener partículas de tamaño todavía más fino, se ha hecho un tercer ensayo reduciendo la concentración de las disoluciones de ácido fumárico y de Cloruro de hierro, y conservando igual las demás condiciones.

Disminuyendo las concentraciones en un factor de dos, en ausencia de aditivos (ácido acético) los diámetros seguían siendo superiores al micrón. Sin embargo, una disminución de las concentraciones en un factor de diez ha permitido obtener nanopartículas de aproximadamente 200 nm con un tiempo de síntesis de 30 min.

- 30 Hay que señalar que un aumento de la temperatura de reacción provoca un aumento del tamaño de las partículas. Por ejemplo, para una disminución de las concentraciones en un factor de diez, en ausencia de aditivos, el diámetro aumenta de 200 nm a 240 nm cuando la síntesis tiene lugar durante 30 min, a 20°C en lugar de 0°C. En todos los casos, un aumento del tiempo de síntesis conduce a un aumento del tamaño de las partículas.

- 35 Existen por lo tanto unas condiciones de operación óptimas (concentraciones, temperatura y tiempo de reacción, presencia de aditivos) que permiten reducir el tamaño de las partículas. Estas últimas pueden tener un tamaño inferior al micrón o incluso del orden de 200 nm (adaptado para una administración intravenosa).

Estas condiciones de operación se pueden determinar empíricamente para todos los sólidos MOF según la presente invención.

Estas condiciones óptimas se síntesis (0°C, a partir de disoluciones muy diluidas de reactivos) se han utilizado para injertar el PEG a la superficie de las nanopartículas.

- 40 C) Preparación de nanopartículas MIL-88A PEGiladas

Así, nanopartículas PEGiladas (de superficie modificada por el PEG) de MIL-88A han sido sintetizadas en agua, mediante ultrasonidos a 0°C a partir de ácido fumárico (C₄H₄O₄, ACROS, 99%) y de cloruro de hierro III hexahidratado (FeCl₃, 6H₂O, ACROS, 97%).

- 45 Los dos reactivos sólidos se pesan por separado en una balanza de precisión y luego se añade el disolvente (agua) para cada uno de los sólidos: 0,54 g de FeCl₃. + agua destilada en un matraz de 200 ml y 0,232 g de ácido fumárico + agua destilada en un matraz de 200 ml. Se obtienen de esta forma dos disoluciones de concentraciones 2,7 mg/mL y 1,16 mg/mL de cloruro de hierro III y en ácido fumárico, respectivamente. La disolución de ácido fumárico se lleva a 70°C con agitación durante aproximadamente 120 min para estabilizar el producto. Se agita el cloruro de hierro mediante un agitador magnético durante 30 min.

- 50 Se mezclan 5 ml de cada disolución en frascos de vidrio de 20 ml (viales). Los viales se colocan al mismo tiempo en un baño de ultrasonidos (Labo-moderne TK 52H n° de serie: 164046192 SONOCLEAN). Después de 30 min, se añaden 5 mg de monometoxi poli(etilenglicol) monoácido (MeO-PEG-COOH, Sigma, masa molar 5.000 g/mol). Se deja que continúe la reacción con ultrasonidos durante todavía 90 min.

El diámetro de las nanopartículas (medido por difusión de luz) ha sido de 230 nm y el rendimiento de fabricación del 50% (peso). En este ejemplo, la adición del monoácido MeO-PEG-COOH conduce también a la detención del crecimiento cristalino ya que coordina con el hierro; El hierro no podrá unirse a otro átomo de hierro (falta del segundo COOH). De esta forma, el MeO-PEG-COOH permite la obtención de nanopartículas de tamaño más pequeño.

Ejemplo 7: Procedimiento de síntesis de materiales MOF por vía de microondas

Otra posible vía de síntesis de nanopartículas de sólidos híbridos porosos utiliza la energía microondas. Esto permite controlar el tamaño de las nanopartículas y obtener tamaños monodispersos. De esta forma, recientemente, los inventores han elaborado en colaboración con un grupo coreano, la síntesis por microondas del carboxilato de cromo MIL-101(Cr), tal como se describe en Sung Hwa Jung, et al., *Adv. Mater* (2006), 19(1), 121-124 [32]. Esta síntesis ha permitido la obtención de nanopartículas de tamaño entre 40 y 90 nm en un tiempo de síntesis muy corto (1-60 minutos) (figura 12).

El método de síntesis utilizado es el siguiente: Se mezclan 400 mg de nitrato de cromo hidratado (Aldrich, 99%), 166 mg de ácido tereftálico (Alfa Aesar, 98%), 0,2 ml de disolución de HF 5 mol/l en agua, y 4,8 ml de agua desionizada y se introducen en una autoclave de Teflón. Se coloca todo en un horno microondas (Mars-5) y se sube a 210°C en 2 minutos y luego se mantiene a esta temperatura durante 1 a 60 minutos. La mezcla resultante se filtra a continuación una primera vez con un filtro de papel de porosidad 100 µm para retirar el ácido tereftálico recristalizado. El ácido se queda en el papel de filtro y el sólido MIL-101 pasa a través del filtro. Se recupera el filtrado y el sólido MIL-101 se recupera por filtración con un filtro de 40 µm. En un segundo tiempo, se hace un tratamiento solvotermal en etanol 95% a 100°C durante 20 horas. El sólido final se enfría, se filtra y se lava con agua desionizada y luego se seca a 150°C con aire.

a) MIL-100(Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_6\text{H}_3-(\text{CO}_2)_3]_2 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($X = \text{F}, \text{Cl}, \text{OH}$)

Las condiciones de síntesis por microondas en flúor son las siguientes:

9,7 g de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (24 mmoles, Aldrich, 98%), 3,38 mg (16 mmoles) de ácido 1,3,5 bencenotricarboxílico (1,3,5-BTC; Aldrich, 99%) se dispersan en 40 ml de agua destilada. Se deja todo en un recipiente de Teflón a 180°C durante 30 minutos (potencia 600W). Se recupera el sólido por centrifugación a 10.000 rpm durante 10 minutos.

Se ponen en suspensión 200 mg del sólido en 100 mL de agua destilada a reflujo con agitación durante 3 horas para eliminar el ácido restante en los poros. Después, se recupera el sólido por centrifugación a 10.000 rpm durante 10 minutos.

El tamaño de partícula monodispersa medido por difusión de luz es de 400 nm.

b) MIL-101(Fe)-NH₂ o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{NH}_2-\text{C}_6\text{H}_3-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($X = \text{F}, \text{Cl}, \text{OH}$)

Las condiciones de síntesis por microondas son las siguientes:

135 mg (0,5 mmoles) de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 90 mg de ácido amino-1,4 bencenodicarboxílico (0,5 mmoles, NH₂-1,4-BDC, Aldrich 99%) se dispersan en 25 ml de agua destilada con 0,25 mL de HCl 1M (Aldrich, 35%; añadidos gota a gota) Se deja todo en un recipiente de Teflón 5 min a 60°C con una rampa de calentamiento de 40 segundos (potencia 400W). Después, se recupera el sólido marrón oscuro por centrifugación a 10.000 rpm durante 10 minutos. El compuesto se lava con etanol absoluto con el fin de eliminar el ácido no consumido y luego se centrifuga de nuevo.

Con el fin de evitar la degradación, el compuesto se guarda húmedo.

El tamaño de partícula monodispersa (PDI = 0,005) medido por difusión de luz es de 271 nm.

Superficie Langmuir = 2042,7091 m²/g.

c) MIL-88B- NH₂(Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{NH}_2-\text{C}_6\text{H}_3-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($X = \text{F}, \text{Cl}, \text{OH}$)

Las condiciones de síntesis por microondas son las siguientes:

405 mg (1,5 mmoles) de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 534 mg de ácido amino-1,4 bencenodicarboxílico (3 mmoles, NH₂-1,4-BDC, Aldrich 99%) se dispersan en 25 ml de etanol absoluto (Aldrich). Se deja todo en un recipiente de Teflón 5 min a 100°C con una rampa de calentamiento de 40 segundos (potencia 800W). Después, se recupera el sólido marrón oscuro por centrifugación a 10.000 rpm durante 10 minutos. El compuesto se lava con etanol absoluto con el fin de eliminar el ácido no consumido y luego se centrifuga de nuevo.

El tamaño de partícula monodispersa (PDI = 0,069) medido por difusión de luz es de 106 nm.

d) MIL-88B-2CF₃(Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[(\text{CF}_3)_2-\text{C}_6\text{H}_2-(\text{CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($X = \text{F}, \text{Cl}, \text{OH}$)

Las condiciones de síntesis por microondas son las siguientes: 675 mg (2,5 mmoles) de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 755 mg de ácido 2,5-bis(trifluorometil)tereftálico (2,5 mmoles, síntesis B del ejemplo 1) se dispersan en 25 ml de etanol absoluto (Aldrich). La mezcla se deja en un recipiente de Teflón 5 min a 100°C con una rampa de calentamiento de 30 segundos (potencia 400W). Se recupera el sólido por centrifugación a 10.000 rpm durante 10 minutos.

- 5 El sólido se calcina a continuación a 200°C durante 15 horas a vacío.

El tamaño de partícula monodispersa (PDI = 0,209) medido por difusión de luz es de 78 nm.

e) MIL-88B- NO_2 (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{NO}_2\text{-C}_6\text{H}_3\text{-(CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($X = \text{F, Cl, OH}$)

- 10 Las condiciones de síntesis por microondas son las siguientes: Se dispersan 1,35 mg (10 mmoles) de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 1,055 mg de ácido nitrotereftálico (10 mmoles, Aldrich 98%) en 25 ml de agua destilada. Se deja todo en un recipiente de Teflón 5 min a 100°C con una rampa de calentamiento de 90 segundos (potencia 400W). El sólido se recupera por centrifugación a 10.000 rpm durante 10 minutos.

El tamaño de partícula monodispersa (PDI = 0,005) medido por difusión de luz es de 408 nm.

f) MIL-53-2 CF_3 (Fe) o $\text{FeO}(\text{OH})[\text{C}_6\text{H}_2(\text{CF}_3)_2\text{-(CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($X = \text{F, Cl, OH}$)

- 15 Las condiciones de síntesis por microondas son las siguientes: se dispersan 675 mg (2,5 mmoles) de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 755 de ácido-bis(trifluorometil)tereftálico (2,5 mmoles, síntesis B) en 25 ml de agua destilada. Se deja todo en un recipiente de Teflón 20 min a 100°C con una rampa de calentamiento de 90 segundos (potencia 400W). El sólido amarillo claro se recupera por centrifugación a 10.000 rpm durante 10 minutos. El compuesto se calcina a continuación a 250°C durante 15 horas a vacío.

El tamaño de partícula (PDI = 0,245) medido por difusión de luz es de 330 nm.

- 20 g) MIL-88A (Fe) o $\text{Fe}_3\text{O}[\text{C}_4\text{H}_2\text{-(CO}_2)_2]_3 \cdot X \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($X = \text{F, Cl, OH}$)

Las condiciones de síntesis por microondas son las siguientes: se dispersan 270 mg (1 mmol) de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 116 mg de ácido fumárico (1,0 mmol, Acros 99%) en 30 mL de agua destilada. Se deja todo en un recipiente de Teflón 2 min a 100°C con una rampa de calentamiento de 1 minuto (potencia 1600W).

Se recupera el sólido por centrifugación a 10.000 rpm durante 10 minutos.

- 25 Se ponen 200 mg del producto en suspensión en 100 mL de agua destilada para intercambiar el ácido fumárico restante. El sólido hidratado se recupera por centrifugación a 10.000 rpm durante 10 minutos.

El tamaño de partícula monodispersa medido por difusión de luz es de 120 nm.

Ejemplo 8: Procedimiento de síntesis de materiales MOF con ultrasonidos.

- 30 El sólido MIL-88A se sintetiza con ultrasonidos a 0°C con varios tiempos de reacción diferentes (30, 60, 90 y 120 minutos).

La síntesis se realiza a partir de ácido fumárico y de cloruro de hierro III hexahidratado en agua. Los dos reactivos sólidos se pesan y disuelven por separado en agua en las proporciones dadas en la tabla siguiente. La disolución de ácido fumárico se lleva a 70°C con agitación durante 120 min para solubilizar el producto. Se agita el cloruro de hierro mediante un agitador magnético durante 30min.

- 35 Tabla 10. Disoluciones de ácido fumárico y de cloruro de hierro III.

Reactivo	Fórmula	Proveedor	Cantidad
Cloruro de hierro III	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	ACROS, 97%	0,54g en 200 ml de agua (es decir 2,7mg/ml)
Ácido fumárico	$\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4$	ACROS, 99%	0,232g en 200 ml de agua (es decir 1,16mg/ml)

5 ml de cada una de las 2 disoluciones anteriores se añaden a un matraz de 20 mL. En total, se han preparado 8 matraces:

- 4 matraces en los que las reacciones se han realizado para los 4 tiempos de síntesis: 30, 60, 90 y 120 min,
 - 4 matraces a los que se ha añadido ácido acético (30 μl) 15 minutos antes de finalizar cada una de las síntesis de duración 30, 60, 90 y 120 min (el final de la síntesis corresponde a la salida del baño de ultrasonidos). La adición
- 40

del monoácido (el ácido acético) produce la parada del crecimiento cristalino ya que no permite que se unan dos átomos de hierro (contrariamente al ácido fumárico que es un ácido dicarboxílico). De esta forma, el ácido acético permite la obtención de nanopartículas de tamaño más pequeño y suspensiones de estas partículas más estables (evita la sedimentación de grandes partículas y la agregación de partículas).

- 5 Los 8 matraces se colocan al mismo tiempo en un baño de ultrasonidos a 0°C, con los tiempos *t* correspondientes (30, 60, 90 y 120 min).

- 10 Después de la síntesis, se toma un volumen 0,1 ml de disolución de cada matraz para determinar el tamaño de las partículas por difusión de luz mediante un dispositivo de Dynamic Light Scattering (DLS, Nanosizer). El resto de la disolución se pasa a continuación a la centrifugadora a 10.000 rpm a 0°C durante 15 min con el fin de separar el sobrenadante del sólido formado. El sobrenadante se elimina mediante una pipeta pasteur y el sedimento recuperado se coloca en una campana a temperatura ambiente.

Equipo utilizado:

- Baño de ultrasonidos: Labo-moderne TK 52H n° de serie: 164046192 SONOCLEAN.
- Centrifugadora: JOUAN MR 1812
- 15 • Nanosizer: Coulter N4 PLUS USA; Malvern

La evolución del tamaño de partícula (*P* en nm) en función del tiempo (*t* en min) está representada en la figura 28. Se puede observar una disminución del tamaño de partícula en presencia del ácido fumárico.

- 20 La adición de ácido acético produce una disminución de la cristalinidad, más marcada para tiempos más cortos. No obstante, es posible distinguir reflexiones características de la fase MIL-88A. Estas reflexiones están muy ensanchadas como consecuencia del tamaño nanométrico de la cristalita.

Para tiempos de síntesis más largos, no hay diferencia significativa de la cristalinidad entre la síntesis sin ácido acético y la realizada en presencia de este monoácido.

IV. Características y propiedades de las nanopartículas obtenidas

Ejemplo 9: Datos analíticos y cristalográficos de los carboxilatos de hierro

- 25 a) Fase MIL-53(Fe) o $\text{Fe}(\text{OH})[\text{O}_2\text{C}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CO}_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$

Las condiciones de síntesis son las siguientes: 0,27 g (1 mmol) de $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 166 mg (1 mmol) de ácido 1,4 bencenodicarboxílico (1,4-BDC) dispersados en 5 ml de dimetilformamida (DMF), y todo se deja durante 12 horas a 150°C en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR. A continuación, se filtra el sólido y se lava con acetona.

- 30 Los parámetros de malla de diferentes formas de la fase flexible MIL-53(Fe) en su forma seca (seco; poros vacíos), hidratada (H_2O ; el agua en los poros), producto de síntesis bruto (bruto; DMF en los poros) y que contiene Busulfán (formas Bu1 y Bu2):

Tabla 11. Parámetros de malla de diferentes formas de la fase flexible MIL-53(Fe)

Fase	a (Å)	b (Å)	c (Å)	Beta (°)	Volumen (Å ³)	Grupo de espacio
MIL-53seco	21,312	6,633	6,871	115,22	878,77	C ₂ /c
MIL-53(H ₂ O)	21,12	7,66	6,83	114,87	1.003,0	C ₂ /c
MIL-53bruto	19,07	11,29	6,87	108,92	1.398,3	C ₂ /c
MIL-53Bu1	17,61	6,75	10,25	112,97	1.122,2	C ₂ /m
MIL-53Bu2	18,10	9,46	7,17	119,70	1.202,5	C ₂ /c

- 35 La figura 18 y la figura 19 representan respectivamente los difractogramas de RX de las diferentes formas de sólido MIL-53 y el análisis termogravimétrico del compuesto MIL-53(Fe) hidratado.

El sólido MIL-53 de hierro no presenta una superficie específica superior a 20 m²/g, ya que la estructura porosa es firme en la forma seca (Adsorción de nitrógeno por vacío)

Tabla 12. Análisis elemental

Elemento/ % en masa	% Hierro	% Carbono	% Hidrógeno
MIL-53(Fe)	21,11	37,60	2,75

b) Fase MIL-88A o $Fe_3O[O_2C-C_2H_2-CO_2]_3 \cdot X \cdot nH_2O$ ($X = F, Cl, OH$)

Las condiciones de síntesis son las siguientes: se dispersan 0,27 g (1 mmol) de $FeCl_3 \cdot 5H_2O$ y 116 mg (1 mmol) de ácido fumárico en 5 ml de agua. Se deja todo 12 horas a 100°C en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR. A continuación, se filtra el sólido y se lava con acetona.

Tabla 13. Parámetro de malla del sólido MIL-88A, seco e hidratado

Fase	a (Å)	c (Å)	Volumen (Å ³)	Grupo de espacio
MIL-88Aseco	9,25	15,30	1.135	P-62c
MIL-88A hidratado	13,9	12,66	2.110	P-62c

La figura 20 representa los difractogramas de RX de los sólidos MIL-88A seco e hidratado.

La figura 21 representa el análisis termogravimétrico del compuesto MIL-88A hidratado

Este compuesto no presenta superficie accesible (superior a 20 m²/g) con nitrógeno a 77K, ya que la estructura seca no es porosa.

Tabla 14. Análisis elemental

Elemento/ % en masa	% Hierro	% Carbono
MIL-88A (bruto)	21,8	24,0

c) MIL-100(Fe) o $Fe_3O[C_6H_3-(CO_2)_3]_2 \cdot X \cdot nH_2O$ ($X = F, Cl, OH$)

Los parámetros de malla son $a = 73,1 \text{ Å}$ y $V = 393.000 \text{ Å}^3$, grupo de espacio Fd-3m (n°227).

La figura 22 representa el difractograma de RX del sólido MIL-100(Fe).

La superficie (Langmuir) específica de este sólido es próxima a 2.900 m².g⁻¹. La figura 23 representa la isoterma de adsorción de nitrógeno a 77K del sólido MIL-100 ($P_0 = 1 \text{ atm.}$).

La figura 24 representa el análisis termogravimétrico (con aire) del compuesto MIL-100(Fe) hidratado (velocidad de calentamiento de 5°C/minuto).

Tabla 15. Análisis elemental (CNRS, Vernaion) del sólido MIL-100(Fe) con $X = F$.

Elemento/ % en masa	% Hierro	% Carbono	% Flúor
MIL-100(Fe)	13,8	23,5	1,3%

d) Fase MIL-101 (Fe) o $Fe_3O[C_6H_4-(CO_2)_2]_3 \cdot X \cdot nH_2O$ ($X = F, Cl, OH$)

Las condiciones de síntesis son las siguientes: 0,27 g (1 mmol) de $FeCl_3 \cdot 5H_2O$, 249 mg (1,5 mmoles) de ácido 1,4 BDC dispersados en 10 ml de DMF, todo ello se deja durante 12 horas a 100°C en un recipiente de Teflón de 23 ml colocado en una Bomba metálica PAAR. A continuación, se filtra el sólido y se lava con acetona.

Los parámetros de malla del sólido MIL-101(Fe) a 298K son: $a = 89,0 \text{ Å}$ y $V = 707.000 \text{ Å}^3$, grupo de espacio Fd-3m (n°227).

La figura 25 representa el difractograma de RX del sólido MIL-101(Fe) ($\lambda_{Cu} = 1,5406 \text{ Å}$).

La optimización de las condiciones de vaciado de los poros está en marcha y por lo tanto no está disponible ninguna medida de superficie específica.

La figura 26 representa el análisis termogravimétrico (con aire) del compuesto MIL-101(Fe) hidratado (velocidad de calentamiento de 5°C/minuto).

La composición teórica del sólido seco ($X = F$) es la siguiente: Fe 24,2%; C 41,4%; F 2,7%; H 1,7%.

Ejemplo 10: Evidencia de la flexibilidad de los sólidos

Aquí se hace referencia a dos tipos de sólidos flexibles. En primer lugar los carboxilatos metálicos porosos llamados MIL-53 y MIL-69, de fórmula $\text{Fe}(\text{OH})[\text{O}_2\text{C}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CO}_2]$ y $\text{Fe}(\text{OH})[\text{O}_2\text{C}-\text{C}_{10}\text{H}_6-\text{CO}_2]$, respectivamente, constituidos por cadenas de octaedros unidos por funciones dicarboxilatos, que lleva a una red porosa monodimensional, tal como se describe en C. Serre et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, 124, 13519 [26] y en T. Loiseau et al. *C.R. Acad. Sci.*, 2005, 8, 765 [27]. A temperatura ambiente, los sólidos están hidratados y los poros están cerrados; cuando se impregnan estos materiales con disolventes orgánicos, los poros se abren y una porosidad grande (aproximadamente 8-12 Å) se hace accesible. La variación del volumen de malla entre las formas hidratadas y las formas hinchadas varía entre 40 y 110%.

Este fenómeno es totalmente reversible tal como se representa en la figura 7 anexa. La abertura de los poros también es función de la naturaleza del disolvente (figura 7). Esto traduce una adaptación geométrica de estructura al tamaño del adsorbato pero también una optimización de las interacciones entre las moléculas adsorbidas y el armazón.

La segunda categoría de sólidos híbridos flexibles se denomina MIL-88. Estos compuestos se construyen a partir de trímeros de octaedros de hierro, es decir, tres átomos de hierro conectados por un oxígeno central y por seis funciones carboxilato que conectan dos a dos los átomos de hierro; una molécula de agua terminal, coordinada a cada átomo de hierro completa luego la coordinación octaédrica del metal. Estos trímeros se unen a continuación entre ellos por ácidos dicarboxílicos alifáticos o aromáticos para formar los sólidos MIL-88A, B, C, D y MIL-89 a partir (-A para ácido fumárico, -B para ácido tereftálico, -C para ácido 2,6-naftalenodicarboxílico, -D para ácido 4,4'-bifenildicarboxílico y MIL-89 para el ácido trans, trans mucónico), tal como se describe en C. Serre et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 2004, 43, 6286 [28] y en C. Serre et al. *Chem. Comm.* 2006, 284-286 [29].

El estudio del comportamiento de estos sólidos por difracción de RX, ha permitido establecer que estos compuestos son flexibles con amplitudes de «respiración» considerables entre su forma seca y su forma solvatada. De ello resultan variaciones de volumen de malla entre 85 y 230% según la naturaleza del espaciador orgánico (figura 8), tal como se describe en C. Serre et al., *Science*, 2007, 315, 1828 [30]. Los inventores han observado que las formas secas no son porosas con un tamaño de poros (túneles) casi idénticos sea cual sea el ligando carboxílico utilizado. Por el contrario, el hinchamiento del sólido híbrido en fase líquida es función de la longitud del espaciador orgánico. De esta forma, la distancia entre trímeros en la forma hinchada pasa de 13.8 Å con el ácido fumárico (MIL-88A) a 20.5 Å con el ligando bifenilo (MIL-88D). El tamaño de los poros de las formas hinchadas varía por lo tanto entre 7 Å (MIL-88A) a 16 Å (MIL-88D). El hinchamiento es reversible, como lo muestra el ejemplo del sólido MIL-88A en presencia de agua en la figura 9 y depende también de la naturaleza del disolvente utilizado tal como se describe en C. Serre et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127, 16273-16278 [31]. La respiración se efectúa de forma continua, sin ruptura aparente de los enlaces durante la respiración. Por otra parte, al volver a la temperatura ambiente, el sólido se hincha de nuevo por resolvatación, confirmando el carácter reversible de la respiración.

¿Cómo explicar esta flexibilidad? En primer lugar, en el caso de los sólidos MIL-53 y MIL-69, están constituidos por cadenas de octaedros unidos por puentes de dicarboxilatos (figura 10a); el examen de los ángulos entre las funciones carboxilato conectadas a los centros metálicos y el eje de las cadenas inorgánicas es muy revelador. Si el ligando carboxilato se queda plano durante la respiración, este último gira varios grados alrededor del eje de las cadenas permitiendo a la estructura de esta forma cambiar la abertura de sus poros. Todo ocurre como si el eje O-O de las funciones carboxilato desempeñase el papel de una rótula con una rotación del enlace C-C del carboxilato alrededor del ciclo aromático para relajar las tensiones debidas a la contracción. En lo que respecta a los compuestos MIL-88 y MIL-89, la situación es diferente (figura 10 a y c). En efecto, si se mira de cerca la distribución entre los trímeros que constituyen la estructura, cada trímero está unido a otros seis trímeros, tres abajo y tres arriba, por los dicarboxilatos lo que lleva a la formación de cajas bipiramidales de trímeros. Dentro de estas cajas, la conexión entre trímeros se efectúa únicamente según el eje c y la ausencia de cualquier unión en el plano (ab) está en el origen de la flexibilidad. En efecto, cuando se inserta un disolvente en el material, la caja se deforma con un acercamiento de los trímeros según el eje c y un alejamiento en las direcciones a y b, lo que provoca un aumento global del volumen de la caja (figura 10). Finalmente, la flexibilidad de estos sólidos híbridos es destacable, sin embargo es comparable a la de algunos polímeros. La principal diferencia se refiere a la cristalinidad de los sólidos híbridos, ya que los polímeros son amorfos. Finalmente, contrariamente a los polímeros, el hinchamiento en los híbridos se produce de forma anisótropa.

Ejemplo 11: Medidas del relajamiento de un carboxilato de hierro (III) según la invención

En este ejemplo, el relajamiento se mide en el fumarato de hierro (III) FeTCF MIL-88A.

a) Preparación del fumarato de hierro (III)

Se coloca una disolución de cloruro de hierro (1 mmol) y ácido fumárico (1 mmol) en 4,8 mL de dimetilformamida (DMF) y 0,4 mL NaOH 2M en un recipiente de teflón con un recipiente metálico y se calienta a 150°C durante 2 horas. Luego, se enfría inmediatamente la bomba metálica con agua. El sólido resultante se recupera por

centrifugación a 10.000 rpm durante 10 minutos. Para eliminar el disolvente que queda en los poros, se ponen en suspensión 200 mg de sólido en 100 mL de agua con agitación durante una noche y luego se recupera por centrifugación (a 10.000 rpm durante 10 min). Se obtienen nanopartículas de 210 nm.

b) Medida del relajamiento de las nanopartículas

- 5 Las partículas de fumarato de hierro (III) FeTCF MIL-88A con un tamaño de 210 nm se dispersan en agua que contiene 5% en peso de glucosa, para obtener una concentración de nanopartículas de 59 mg/ml.

Los relajamientos R^1 y R^2 han sido evaluados a 9,4T por medio de un espectrómetro con imán vertical (Bruker) mediante la medida del tiempo de relajación T_i ($i = 1,2$) del medio sin partículas y tiempos de relajación T_{ic} en función de la concentración de hierro (en mM).

10 A20°C

- el relajamiento transversal R^2 es de 8,6 mMs⁻¹.
- el relajamiento longitudinal R^1 es de 0,12 mMs⁻¹.

c) Tecnologías de imágenes in vivo de las nanopartículas MIL-88A

- 15 Los experimentos de tecnologías de imágenes por resonancia magnética (IRM) se han realizado a 300 MHz mediante un imán horizontal de boro de 7 T (Oxford, UK) guiado por Paravision (marca registrada: Bruker, Alemania) y equipado con un sistema de gradiente (360 mT/m).

Las ratas Wistar, hembras, han sido inyectadas con dosis de 200 mg/kg de nanopartículas de MIL88A(Fe) cuya síntesis se ha descrito anteriormente.

- 20 Cada rata se ha sacrificado 30 minutos después de una inyección con una sobredosis de isoflurano, luego se introduce en una sonda, equipada con una bobina loop-gap de 60 mm de diámetro. Después de un rápido marcado espacial, se realizan una serie de imágenes ponderadas en densidad de protón en cada uno de los animales: secuencia RARE [TR/TE = 1781,21/8,8 ms; Factor Rare = 4; 4 medias; 39 rebanadas contiguas de 1 mm; FOV 70*70mm; matriz de adquisición 384*384; matriz de reconstrucción 512*512; resolución en el plano 136m*136m; tiempo del experimento 8 min 32 s] y secuencia FLASH [TR/TE = 564.4/6.7ms; 2 medias; 39 rebanadas contiguas de 1mm; 25 FOV 70*70mm; matriz de adquisición 384*384; matriz de reconstrucción 512*512; resolución en el plano 136m*136m; tiempo del experimento 7 min 13 s].

- 30 Se han analizado cuatro rebanadas en cada zona de interés (el hígado y el bazo). Además, para cada órgano, los valores medios de los RI se han calculado y normalizado con respecto a la zona correspondiente al músculo dorsal. Los resultados obtenidos en IRM muestran claramente que una inyección de nanopartículas produce grandes diferencias de contraste en los dos órganos estudiados, el hígado y el bazo. Por otra parte, las dos secuencias, FLASH y RARE muestran que los órganos de las ratas inyectadas con las nanopartículas aparecen más oscuras que las de las ratas no tratadas. La buena detección *in vivo* de las nanopartículas de carboxilato de hierro los posiciona como candidatos de interés para las tecnologías de imágenes por resonancia magnética.

d) Tecnologías de imágenes in vitro de las nanopartículas MIL-88A

- 35 Para cada tipo de nanopartículas, se preparan 6 muestras que contienen diferentes concentraciones poniéndolas en suspensión en una disolución agua-glucosa 5% (C: 1 mg/mL, 0,5 mg/mL, 0,2 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,05 mg/mL, 0 mg/mL).

- 40 Los experimentos IRM se realizan mediante un imán horizontal de boro de 9,4T (Oxford, Reino Unido) guiado por Paravision (Bruker, Alemania). Los experimentos de tecnologías de imágenes «Spin-eco» se utilizan para la determinación de los tiempos de relajación T_1 y T_2 (FOV 15x15mm; espesor de las rebanadas: 1mm; matriz de adquisición 32x32). T_1 se determina según un método de restablecimiento por saturación (secuencia Spin-eco; TE = 10 ms TR = 4.000, 2.000, 1.000, 500, 200, 100 ms) y T_2 según el método de Carr-Purcell-Meiboom-Gill (secuencia RARE; imágenes-eco de factor rare 8 y 8; TR/TE = 15.000/8 ms). Las muestras de agente de contraste se introducen en el tubo. Las medidas de T_1 y T_2 se efectúan introduciendo un tiempo de adquisición total de menos de 45 6 min. El relajamiento de cada tipo de nanopartículas de un campo magnético dado viene dada por la pendiente de la recta que representa la tasa de relajación en función de la concentración de producto.

- La buena detección de las nanopartículas de MOF hace de ellos buenos candidatos como agentes de contraste. La eficacia de los agentes de contraste está directamente ligada a su relajamiento o su capacidad de modificar los tiempos de relajación de los protones del agua en el medio circundante cuando se aplica un campo magnético. 50 Cuanto mayor es la cantidad y la movilidad de las moléculas de agua en la primera y segunda esfera de coordinación del metal, mayor es el relajamiento. Así mismo, las nanopartículas MOF no poseen solamente átomos de hierro paramagnético, sino una estructura porosa interconectada con numerosas moléculas de agua. La Tabla 16 registra los valores de los relajamientos de las nanopartículas de fumarato de hierro obtenidas con un campo

magnético de 9.4T. Los valores de los relajamientos R^1 y R^2 de las nanopartículas MIL-88A son del orden de $1 \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1}$ y de $100 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$ respectivamente, lo que es satisfactorio para una utilización *in vivo* (ref. Roch et al, J Chem Phys 110, 5403-5411, 1999). Los valores de relajamiento no solamente están ligadas al contenido de hierro sino también al tamaño de las nanopartículas. Las nanopartículas PEGiladas (cuya superficie está modificada por el PEG o polietilenglicol) tienen relajamientos R^1 inferiores, pero R^2 iguales o ligeramente superiores a los de los materiales no no-PEGilados. El revestimiento PEG puede modificar los relajamientos según dos efectos opuestos: por una parte hace crecer el tamaño de las partículas, y por otra parte, reduce su capacidad de agregarse.

Tabla 16. Relajamientos de las nanopartículas nanoMIL88A y nanoMIL100, PEGiladas o no, medidas a 9.4T.

	Fe (mmol/L)	PEG (wt%)	$R^1 (\text{s}^{-1}\text{mM}^{-1})$	$R^2 (\text{s}^{-1}\text{mM}^{-1})$
MIL88a	3,75	0	1,3	80
MIL88a+PEGPO ₄	2,91	13,6	0,86	117
MIL100	3,00	0	0,47	60
MIL100+PEGPO ₄	2,70	13,3	No medido	53

Ejemplo 12: Ensayos *in vivo* de toxicidad de los carboxilatos de hierro (III)

a) Carboxilatos de hierro ensayados

Los dos siguientes sólidos carboxilatos de hierro (sintetizados según los modos de operación del ejemplo 1) se ensayan respectivamente:

- MIL-88A(Fe) de composición $\text{Fe}_3\text{O}(\text{O}_2\text{C}-\text{C}_2\text{H}_2-\text{CO}_2)_3 \cdot \text{OH} \cdot n\text{H}_2\text{O}$
- MIL-88Bt(Fe) de composición $\text{Fe}_3\text{O}[\text{O}_2\text{C}-\text{C}_6(\text{CH}_3)_4-\text{CO}_2]_3 \cdot \text{OH} \cdot n\text{H}_2\text{O}$

b) Ensayo de toxicidad

El estudio de toxicidad aguda *in vivo* se realiza en ratas Wistar hembras de 4 semanas (-125 g) inyectando por vía intravenosa a las ratas unas dosis crecientes (50, 100 y 200 mg/kg) de nanopartículas MIL-88A (de 210 nm) y MIL-88Bt (de 100 nm) en suspensión en 0,5 mL de una disolución de glucosa 5%.

Las nanopartículas son estables en este medio.

El tiempo de estabilidad de estas suspensiones se reduce a algunos minutos cuando la concentración de partículas es máxima (200 mg/kg, -25 mg/0,5mL). Por esta razón, las extracciones se realizan agitando suavemente las suspensiones de nanopartículas. No ha sido posible administrar dosis superiores a 200 mg/kg, ya que el volumen máximo inyectable a las ratas es de 0,5 ml.

Los resultados son prometedores dado que no se ha observado ninguna señal de toxicidad importante después de 7 días de ensayos. Los valores séricos de la albúmina, colesterol y transaminasas (ASAT/ALAT) no presentan variación significativa después de 7 días de ensayo y el peso de los órganos con respecto al peso corporal no varía significativamente (Tabla 7).

Tabla 17- Parámetros séricos medidos 7 días después de la introducción intravenosa de los carboxilatos de hierro

MIL-88A (Fe) y MIL-88Bt(Fe)

Peso órganos/peso total								
		bazo	riñones	hígado				
		0,004	0,009	0,041				
		0,004	0,012	0,044				
		0,004	0,009	0,041				
		0,004	0,008	0,048				
		0,003	0,010	0,048				
		0,003	0,008	0,046				
		0,004	0,008	0,044				

	Dosificación (mg/kg)	Albumina (g/L)	CHOL (mmol/L)	ASAT/ ALAT
Control	-	44,2	2,5	2,5
MIL-88A	50	37,6	3	-
MIL-88A	100	46,0	2,2	2,5
MIL-88A	200	40,2	2,9	2,6
MIL-88Bt	50	39,5	2,5	-
MIL-88Bt	100	42,1	2,6	2,4
MIL-88Bt	200	38,5	2,6	2,5

Los cortes histológicos del hígado se observan por coloración de Proust (hierro en azul), y se presentan en la figura 13. Muestran una acumulación de hierro en el hígado. Aunque sea necesario realizar un estudio más a fondo de los efectos de estos sólidos en el organismo a largo plazo, estos resultados son muy prometedores, y permiten considerar aplicaciones biomédicas para estos materiales.

Se han realizado más a fondo estudios de toxicidad aguda y subaguda.

Los animales utilizados para la experimentación son ratas Wistar hembras de cuatro semanas con un peso de $161,36 \pm 16,1$ g.

Todos los ensayos se han realizado en el animalario de la Universidad de Farmacia en condiciones de temperatura y humedad, y después de 3 días de adaptación de los animales al animalario (3 días).

Para los ensayos de toxicidad aguda, se realiza una única inyección intrayugular de los materiales MIL-88A (150 y 500 nm), MIL-88Bt (50 y 140 nm) o de glucosa 5% (grupo testigo) en 4 grupos (respectivamente a 1 día, 1 semana, 1 mes y 3 meses) de 8 ratas elegidas al azar y anestesiadas con isoflurano.

Se ha hecho un seguimiento de la evolución del peso de los animales así como de su comportamiento.

Se han realizado también extracciones de sangre en la yugular bajo anestesia con isoflurano a tiempos diferentes. 1 y 3 días, 1 y 2 semanas, 1, 2 y 3 meses. El suero se ha aislado para medir parámetros séricos tales como la IL-6 (interleuquina 6), albúmina, Fe sérico, PAS, GGT, bilirrubina, colesterol y transaminasas.

Por otra parte, cada grupo de animales ha sido sacrificado después de 1 día, 1 semana, 1 y 3 meses respectivamente. Los animales han sido anestesiados con isoflurano, y luego se han extraído el bazo, los riñones, el hígado y el corazón y se han conservado para los estudios histológicos. Se han utilizado cuatro veces para realizar una extracción microsomal con el fin de medir la activación del citocromo P450.

Para los ensayos de toxicidad subaguda, se ha administrado una inyección intrayugular por día durante 4 días consecutivos a 26 ratas repartidas al azar en diferentes grupos en los que los animales han sido sacrificados al cabo de 5 ó 10 días.

Se ha hecho un seguimiento de la evolución del peso de los animales aislados así como de su comportamiento alimentario (medida de las cantidades de agua y de alimentos consumidos). También se han recuperado las orinas y estiércoles.

También se han realizado extracciones de sangre en la yugular en grupos de ratas a los 3 y 5 días, 8 y 10 días. La sangre tiene el mismo tratamiento que para el ensayo de toxicidad aguda y el suero obtenido se destina para los mismos análisis.

Los días de los sacrificios, a los 5 y 10 días, los animales son anestesiados con isoflurano y luego se extraen el bazo, los riñones, el hígado, el corazón y los pulmones, y se tratan de la misma forma que en los ensayos de toxicidad aguda.

c) Resultados

Evolución del peso de los animales:

Los animales han sido pesados todos los días con el fin de comparar la evolución del peso de los diferentes grupos. Se ha realizado una media para cada día y en cada uno de estos grupos.

- 5 En los ensayos de toxicidad subaguda, el aumento del peso observado en el grupo de la glucosa está ligeramente disminuido cuando se administra el material. Esta variación es más evidente cuando la dosis administrada es más elevada.

Los estudios de toxicidad aguda muestran que la administración de los materiales MIL-88A y MIL-88Bt no produce variación significativa del peso con el paso del tiempo.

10 *Evolución del consumo de agua y alimentos:*

En toxicidad subaguda, la evolución es de forma global similar para el grupo testigo y para el grupo que ha recibido una inyección de 25 mg/kg. Se observa una diferencia más marcada en el grupo que ha recibido la dosis más alta y se caracteriza por un consumo más bajo de alimentos durante el estudio. Esta observación está confirmada y está en total concordancia con los resultados obtenidos para la evolución del peso.

15 *Comparación del peso de los órganos extraídos:*

Resultados de toxicidad subaguda: no aparece una diferencia significativa entre el peso del bazo, riñones y corazón en los diferentes grupos. El peso de los pulmones parece ligeramente incrementado tanto a los 5 días como a los 10 días.

- 20 Toxicidad aguda: se observa un aumento del peso del bazo hasta una semana después de la administración, y una vuelta a la normalidad en 1 y 3 meses para el MIL-88A y MIL-88Bt, respectivamente. El peso del hígado aumenta de forma importante cuando se inyectan los materiales, lo que se debe quizás a la acumulación del hierro en el hígado. Se observa que la situación vuelve a la normalidad para el MIL-88A después de 3 meses, pero no para el MIL-88Bt en el que el peso sigue siendo elevado.

Medida del citocromo P450 en las suspensiones microsomales:

- 25 El citocromo P450 es una enzima asociada a la cara interna del retículo endoplasmático liso que está muy implicado en la degradación de las moléculas exógenas. Esta enzima tiene una especificidad de sustrato baja y es capaz de catalizar la transformación de compuestos recientemente sintetizados, tales como los medicamentos. La mayoría de los citocromos P450 pueden ser inducidos o reprimidos, a nivel transcripcional, por diferentes xenobióticos; esta es la causa a menudo de los efectos secundarios de los medicamentos. La medida de esta enzima permite determinar si el material MOF utilizado es metabolizado por el citocromo P450 en dicho caso activaría o inhibiría su actividad.

- 30 La cantidad de citocromo no se puede interpretar más que con la condición de relacionarla con la cantidad total de proteínas contenida en cada muestra. La medida de proteínas contenidas en la muestra se ha efectuado mediante la utilización de un kit BCA suministrado por PIERCE (lote #HI106096). Este método combina la reducción del Cu^{2+} a Cu^+ por las proteínas en medio alcalino con detección colorimétrica, muy sensible y selectiva, del catión Cu^+ mediante un reactivo que contiene el ácido Bicinconínico (BCA).

La relación entre la concentración de citocromo y la cantidad total de proteínas da la actividad del citocromo expresada en mol.g⁻¹. Los resultados de toxicidad aguda muestran que no hay grandes diferencias de actividad entre el grupo testigo negativo (que ha recibido la glucosa) y el grupo «MIL-88A» cuyo material no ha sido metabolizado por el Cyp450. El material MIL-88Bt tampoco parece metabolizado por el Cyp450.

40 *Medida de la interleucina 6 en el suero:*

La interleucina 6 (IL-6) es una citocina multifuncional que desempeña un papel importante en la defensa del huésped, las respuestas inmunitarias, las funciones de las células nerviosas y la hematopoyesis. Un nivel elevado de IL-6 en el suero, por ejemplo, se ha observado en infecciones virales y bacteriológicas, trauma, enfermedades auto-inmunes, hinchamiento o cáncer.

- 45 Este estudio tiene por objetivo determinar si existe una reacción inflamatoria después de la administración de las nanopartículas de carboxilato de hierro. De esta forma, es posible ver si el nivel de IL-6 ha aumentado con respecto a los grupos testigo (inyección de glucosa, por lo tanto reacción inflamatoria local por el pinchazo).

La medida se ha realizado utilizando un kit «Quantikine, Rat IL-6» suministrado por los laboratorios R&D Systems.

- 50 Resultados de toxicidad subaguda: las variaciones no son significativas. Un aumento de la tasa plasmática observada (activación de la producción de IL-6) parece ser debido al pinchazo en las inyecciones que producen una inflamación local, si se comparan de forma aislada los diferentes grupos con el grupo testigo (glucosa).

Resultados de toxicidad aguda: Las variaciones no son significativas y llevan a las mismas conclusiones que en el caso de la toxicidad subaguda.

Medida de los parámetros séricos:

- 5 Todas las medidas se han realizado utilizando dispositivos automáticos. Se han determinado algunos parámetros clave para evaluar las consecuencias de las inyecciones de nanopartículas a nivel del hígado, de las tasas de transaminasas (Alanina amino transferasa o ALAT y aspartato amino transferasa o ASAT), fosfatasas alcalinas (PAS), γ -glutamato transferasa (GGT), bilirrubina, colesterol, albúmina y hierro sérico.

Los resultados muestran que los niveles séricos de la ALAT son completamente normales, así como los niveles de bilirrubina ($< 2 \mu\text{mol/L}$) y de γ -glutámico transferasa ($< 2 \text{ UI/L}$).

- 10 Los niveles de albúmina sérica han descendido ligeramente después del primer día de inyección para los dos materiales, de acuerdo con un proceso inflamatorio local debido al pinchazo y al aumento de la IL-6 observada anteriormente. Después de 3 días, los niveles vuelven a la normalidad.

Los niveles séricos de la ASAT aumentan un día después de la inyección, lo que puede indicar un proceso de citolisis. No obstante, 3 días después de la administración de las nanopartículas, los valores vuelven a la normalidad.

- 15 De la misma manera, la fosfatasa alcalina aumenta después de 1 día, indicando un proceso de citolisis, pero la situación vuelve a la normalidad después de 3 días. La vuelta a la normalidad después de 3 días indica que se trata de un proceso de citolisis transitoria y no permanente. Por lo tanto, no hay pérdida de función celular.

Los niveles de colesterol son normales.

- 20 Los niveles de hierro séricos disminuyen en comparación con el grupo testigo, y esto es más pronunciado en el grupo MIL-88A. Esto podría explicarse por una complejación del hierro sérico por las nanopartículas. La situación vuelve a la normalidad 3 días después de la administración.

Los parámetros séricos también se han medido a 1 semana y según estos resultados, ya no hay diferencia entre los 3 grupos a nivel de hierro sérico; las ratas tratadas con MIL-88A y MIL-88Bt han recuperado una concentración de hierro sérico comparable a la del grupo testigo. Por otra parte, en relación con los niveles de los otros parámetros séricos, no hay diferencia en comparación con el grupo testigo.

- 25

Cortes histológicos:

Los cortes histológicos, de un espesor de $5 \mu\text{m}$, se llevan a cabo en un criostato, se deshidratan y colorean (coloración hematoxilina/eosina y luego coloración con azul de Proust: coloración del hierro en azul).

- 30 Para la observación de los cortes histológicos, es posible determinar la vía de eliminación de los compuestos del material o su almacenamiento en ciertos órganos: hígado, riñones, bazo y pulmones, utilizando el corazón como testigo.

Resultados de toxicidad aguda: los cortes histológicos de hígado muestran una acumulación de hierro en el hígado después de la inyección de los materiales que es mayor para el sólido MIL-88A. El material parece estar en su forma de nanopartículas no degradadas. La acumulación es menor para el material MIL-88Bt, lo que puede significar una captación menor para el hígado o la reutilización más rápida del hierro almacenado. Después de 1 y 3 meses el contenido de hierro en el bazo y en el hígado vuelve a la normalidad.

- 35

Medida del hierro en las suspensiones inyectadas y en los órganos:

La medida del hierro contenido en las suspensiones de MIL-88A y MIL-88Bt inyectadas en los animales se realiza por espectrofotometría UV-Visible a una longitud de onda de 520 nm, por colorimetría específica de los iones ferrosos con bipyridina (formación de un complejo rojo), después de solubilización del óxido de hierro en ácido sulfúrico concentrado, y reducción de los iones férricos en iones ferrosos por el ácido ascórbico.

- 40

La medida del hierro en los órganos se realiza igual que para la medida de hierro en las suspensiones explicada anteriormente, después de trituración del órgano que se va a ensayar. Esta medida permite determinar la vía de eliminación de los compuestos del material o su almacenamiento en ciertos órganos: hígado, riñones, bazo y pulmones, utilizando el corazón como testigo.

- 45

d) Conclusión

Durante los ensayos de toxicidad, la observación minuciosa de los animales no ha revelado ningún signo aparente de nocividad del material inyectado. En efecto, los animales han conservado un comportamiento completamente normal. Durante los estudios, los animales han engordado bien en comparación con el grupo testigo, aún si para el estudio de toxicidad subaguda el aumento del peso es menor que para el grupo testigo, probablemente relacionados con la administración consecutiva de dosis grandes. El consumo de agua permanece normal de forma global en el ensayo de toxicidad subaguda.

- 50

Una medida del citocromo P-450 ha permitido observar el estado de la actividad del citocromo P-450 en un periodo largo. Este citocromo es conocido por su capacidad de metabolizar ciertos xenobióticos. El estudio muestra que la tasa de actividad, aunque fluctúa, permanece por debajo de los valores observados en las ratas testigo que han recibido una inyección de fenobarbital, activador de citocromo P-450, lo que indica que los materiales no son metabolizados por vía Cyp450, en concordancia con la polaridad grande de los ligandos dicarboxílicos.

Los resultados son muy prometedores y ya indican que los materiales MIL-88A y MIL-88Bt no inducen ningún signo de toxicidad severa, aunque se deben hacer estudios de toxicidad complementarios. El futuro y los efectos de las nanopartículas en el organismo están en estudio con el fin de relacionar el beneficio aportado por estos materiales por la vectorización de medicamentos delicados para su encapsulación y que presentan un gran potencial terapéutico. Estudios similares también se están realizando con otros nanovectores de estructura y/o de composición diferentes.

Ejemplo 13: Degradación *in vitro* de las nanopartículas MIL-88A

a) Estudio N°1

Se ha estudiado la degradación de las nanopartículas de MIL 88A durante su incubación a 37°C en una disolución tampón de fosfato (PBS, por sus iniciales en inglés, phosphate buffered saline) a pH 7,4, con agitación bidimensional. La concentración de las nanopartículas era de 50 µg/mL. Después de diferentes tiempos de incubación, las suspensiones de nanopartículas se centrifugan (10.000 rpm, 15 min, 0°C). El ácido fumárico liberado por degradación de las nanopartículas ha sido cuantificado en el sobrenadante por HPLC en fase inversa, mediante detección espectrofotométrica ($\lambda = 210$ nm). Se ha utilizado una columna Symmetry (marca registrada) C18 fase inversa (5µm, 3,9X150 mm, Part. NO. WAT046980, Waters). La fase móvil era una mezcla de metanol (25% en volumen) (Aldrich, grado HPLC) y ácido fosfórico 10 mM (75% en volumen) (Aldrich, grado HPLC). El caudal de fase móvil era de 0,5 mL.min⁻¹ y la temperatura de la columna de 25°C. El volumen de inyección era de 10 µL. El sistema ha sido calibrado con disoluciones estándar de ácido fumárico. El tiempo de retención de este producto era de aproximadamente 2 min.

Se ha observado que después de dos días de incubación, aproximadamente el 88% de la cantidad total de ácido fumárico que entra en la composición de las nanopartículas había sido liberado: La figura 34 representa la liberación del ácido fumárico del sólido MIL-88A en porcentaje (%) en función del tiempo t (en días). Se ha observado una degradación total (100% de ácido fumárico liberado) al cabo tres semanas de incubación.

b) Estudio N°2

La degradación del material MIL-88Anano (150 y 500nm) se ha estudiado por medio de una suspensión de nanopartículas (50 mg/mL) en una disolución de PBS pH 7,4 a 37°C con agitación bidimensional. El sobrenadante se recupera por centrifugación (10.000 rpm/10 min a 0°C) a diferentes tiempos y la cantidad de ácido fumárico liberado se determina por HPLC (fase inversa, bomba Waters 501 HPLC, automuestreador Waters™ 717 plus, detector Waters™ 486 y espectrofotómetro UV-vis a $\lambda = 210$ nm). Se utiliza la columna de fase inversa Symmetry® C18 (5 µm, 3,9X150 mm, Part.NO. WAT046980, Waters). La fase móvil es una mezcla de metanol (25% en volumen) (Aldrich, grado HPLC) y ácido fosfórico 10 mM (75% en volumen) (Aldrich, grado HPLC). El caudal es de 0,5 mL.min⁻¹ y la temperatura de la columna es de 25°C. El volumen de inyección es de 10 µL.

La retención del ácido fumárico es de 2 min. La concentración del ácido fumárico se determina por medio de calibración con estándares.

Se libera el 88% de la cantidad total de ácido fumárico de las nanopartículas después de 2 días de incubación, y aproximadamente el 96% después de 9 días. La degradación total se produce después de 3 semanas de ensayo.

V. Nanopartículas cargadas de molécula de interés

Ejemplo 14: Formulación de nanopartículas de carboxilato de hierro (III) cargadas de principio activo: el busulfán

El Busulfán (1,4-butanodiol-dimetilsulfonato) es un agente alquilante de la clase de los alquilsulfonatos que presenta un interés terapéutico seguro para el tratamiento del cáncer. Prescrito en protocolos de quimioterapia de «dosis alta» antes de autoinjerto o aloinjerto de células madre hematopoyéticas, constituye una alternativa excelente a la irradiación corporal total y en consecuencia interesa particularmente en pediatría. Sin embargo, captado en su mayor parte por el hígado, presenta una toxicidad grande, de allí el interés en desarrollar sistemas de transporte.

Los sistemas de liberación de Busulfán ensayados hasta el momento plantean un verdadero desafío en cuanto a su encapsulación. Las cargas máximas obtenidas con liposomas no sobrepasan el 0,5% (en peso). La utilización de polímeros biodegradables ha resultado mejor adaptada pero la tasa de encapsulación de Busulfán no sobrepasa el 5% (en peso) de Busulfán en nanopartículas a base de poli(cianoacrilato de alquilo).

En este ejemplo, el busulfán se incorpora en varios carboxilatos de hierro (III) según la invención, y principalmente los materiales MIL-53, MIL-88A, MIL-89 y MIL-100.

a) *Preparación del carboxilato de hierro MIL-53.*

El sólido MIL-53 se sintetiza a partir de 270 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol; Alfa Aesar, 98%), 166 mg de ácido 1,4-dicarboxílico (1 mmol; Aldrich, 98%) y de 5 mL de dimetilformamida (Fluka, 98%). Se introduce todo en un recipiente de Teflón colocado en un recipiente metálico (autoclave) de marca Paar, luego se calienta a 150°C durante 24 horas. Después de volver a temperatura ambiente, se recupera el producto por filtración y se lava con agua y acetona.

A continuación se ponen en suspensión 200 mg del sólido en 100 mL de agua destilada con agitación durante 15 horas para eliminar el disolvente residual presente en los poros. Se recupera el sólido por filtración.

El tamaño de partícula medido por difusión de luz es de 6,2 micrones.

b) *Preparación del carboxilato de hierro MIL-88A.*

Para obtener el material MIL-88A, se mezclan 270 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol; Alfa Aesar, 98%), 112 mg de ácido fumárico (1 mmol; Acros, 99%) en 5 mL de dimetilformamida (Fluka, 98%) y se añaden 0,4 mL de NaOH 2M. Se introduce todo en un recipiente de Teflón colocado en un cuerpo metálico (autoclave) de marca Paar, y luego se calienta a 100°C durante 15 horas. Después de volver a temperatura ambiente, se recupera el producto por filtración y se lava con agua y acetona.

Se ponen en suspensión 200 mg del sólido en 100 mL de agua destilada con agitación durante 15 horas para eliminar el residual presente en los poros. Después, se recupera el sólido por filtración.

El tamaño de partícula medido por difusión de luz es de 2,6 micrones.

c) *Preparación del carboxilato de hierro MIL-89.*

240 mg de acetato de hierro (0,33 mmoles) y 140 mg de ácido mucónico (1 mmol) se añaden a 9 mL de metanol. A continuación, se añade lentamente una disolución de 0,35 mL NaOH 2M en 1 mL de metanol. Se coloca todo en un recipiente de teflón con un recipiente metálico y se calienta a 150°C durante 6h. Luego, la bomba metálica se enfría inmediatamente con agua. Se recupera el sólido resultante por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos. Para eliminar el disolvente que queda en los poros, se ponen en suspensión 200 mg de sólido en 100 mL de agua con agitación durante una noche y luego se recupera por centrifugación (a 5.000 rpm durante 10 min).

La medida del tamaño de partícula por difusión de luz muestra dos poblaciones de nanopartículas de 1,1 micrones.

d) *Preparación del carboxilato de hierro MIL-100.*

La síntesis del MIL-100 se hace a partir de 56 mg de hierro metálico (1 mmol; Aldrich, 99%) y 210 mg de ácido 1,3,5-benzenotricarboxílico (1,3,5-BTC; 1 mmol; Aldrich, 95%) en 3 mL de agua destilada al que se añaden 0,4 mL de ácido fluorhídrico (HF; 5M) y 0,6 mL de ácido nítrico 2N. Se introduce todo en un recipiente de Teflón colocado en un recipiente metálico (autoclave) de marca Paar. Se calienta todo con una rampa de calentamiento de 12 horas (25 a 150°C) durante 6 días a 150°C y con una rampa de enfriamiento de 24 horas. El producto se recupera por filtración y se lava con agua y acetona.

Se ponen en suspensión 200 mg de sólido en 100 mL de agua destilada con agitación y reflujo durante 3 horas para eliminar el ácido residual presente en los poros. Después, se recupera el sólido por filtración en caliente.

El tamaño de partícula medido por difusión de luz es de 1,7 micrones.

e) *Introducción del busulfán en los carboxilatos de hierro*

La inserción de Busulfán en los poros de los materiales se efectúa por adsorción, suspendiendo 25 mg de sólido deshidratado en 2,5 mL de una disolución que contiene el medicamento con una concentración igual al 100% o el 80% de su saturación en el disolvente, poniendo todo con agitación durante 16 horas a temperatura ambiente. A continuación, se recuperan las partículas por centrifugación (20°C, 5.000 rpm, 15 min). El sedimento se seca (evaporación con vacío primario mm de Hg, 72 horas) hasta la obtención de un peso constante. La cuantificación del Busulfán presente en el sólido poroso se efectúa por recuento radiactivo (^3H -Busulfán), análisis termogravimétrico (ATG) y análisis elemental.

Los disolventes elegidos para la impregnación son aquellos en los que el Busulfán tiene una solubilidad no despreciable (acetona, acetonitrilo, cloroformo, diclorometano, dimetilcarbonato) (Tabla 18).

Tabla 18. Solubilidad del busulfán en diferentes disolventes

Disolvente	Solubilidad Busulfán (mg/mL)
Acetonitrilo	30

Disolvente	Solubilidad Busulfán (mg/mL)
Acetona	20
Diclorometano	10
Cloroformo	8
Dimetilcarbonato	13
Etilacetato	6,6
Tetrahidrofurano	-5
Tolueno	-4
Agua	0,1
Etanol	<<<4
Metanol	<<<4
Hexano	<<<4
Éter	<<<4

Los primeros ensayos de introducción de busulfán en los materiales MIL-53, MIL-88A, MIL-89 y MIL-100 se registran en la tabla 19.

Tabla 19. Sólidos híbridos utilizados para los ensayos de encapsulación del Busulfán

MIL-n	Espaciador orgánico	Simetría	Flexibilidad	Tamaño de los poros (nm)	Dp (nm)
MIL-53	Ácido 1,4-BDC	C2/c	Sí	0,86	6200
MIL-88A	Ácido fumárico	P-62c	Sí	0,6	2600
MIL-89	Ácido mucónico	Pbnn	Sí	0,9	1100
MIL-100*	Ácido 1,3,5-BTC	Fd3m	No	2,5-2,9	1700
(*) Observación: el sólido MIL-100 comprende dos tipos de cajas (25 y 29 Å) pero éstas son accesibles por diferentes ventanas microporosas pentagonales o hexagonales de dimensiones 4,8*5,8 y 8,6 Å.					

5 Las capacidades de carga de Busulfán obtenidas son grandes, hasta 122 y 153 mg/g de sólido hidratado que contiene el medicamento en MIL-53 y MIL-100, respectivamente (Tabla 10). Los sólidos de partida contienen respectivamente 7,3 y 44,5% en peso de agua.

Considerando el contenido relativo al del sólido seco, la capacidad de almacenamiento sobrepasa el 25% en peso de principio activo, lo que supera en un factor de 60 a los obtenidos con liposomas y en un factor de 4 a los obtenidos con los mejores sistemas a base de polímero.

Tabla 20- Porcentaje en masa de Busulfán (estimado por análisis elemental) presente en sólidos híbridos MIL-53, MIL-88A, MIL-89 y MIL-100 en función de las condiciones de impregnación

	Busulfán											
	MIL-53			MIL-88A			MIL-89			MIL-100		
	2h*	14h**	16h**	2h*	16h*	14h**	2h*	16h*	14h**	2h*	16h*	14h**
divsolvente	5,0	1,8	2,4	4,4	1,2	-	3,0	2,2	1,4	4,6	2,4	
Acetona	7,6	2,3	5,8	4,7	1,9	1,9	6,0	3,9	6,2	5,3	6,8	
Aceto-nitrilo	1,2	1,3	1,6	1,3	1,0	-	2,2	0,9	3,4	4,1	3,6	
Cloroformo	12,2	1,6	7,0	1,3	1,4	2,8	2,8	1,8	13,2	9,5	15,3	
Dicloro-metano	3,6		1,9			4,8			2,3			
Dimetil-carbonato												

*Concentración de Busulfán en disolventes al 100% de saturación

**Concentración de Busulfán en disolventes al 80% de saturación

Estos resultados son muy alentadores y se está realizando una optimización de las condiciones de impregnación para aumentar aún más la tasa de encapsulación. También se puede señalar que se puede hacer un seguimiento de forma cualitativa de la cantidad adsorbida en los sólidos híbridos flexibles tipo MIL-53 o MIL-88, mediante difracción de rayos X (figura 14) ya que la abertura de los poros del sólido híbrido depende del contenido en principio activo en los poros.

La encapsulación del Busulfán se puede optimizar ensayando:

- Varios ciclos de impregnación
- Diferentes tiempos de impregnación
- Encapsulación por sublimación
- Utilización de varios sólidos con un gran volumen poroso (MIL-101 bifenilo, MIL88D modificado con diferentes grupos orgánicos) y sólidos híbridos con ligandos modificados (NH₂, Cl, NO₂, COOH, CH₃, etc) para optimizar las

interacciones medicamento-sólido. En esta fase, se utilizará la simulación numérica para predecir la mejor función para retener el Busulfán en los poros.

- En función de los resultados de encapsulación, se usarán nanopartículas de sólidos modificados en superficie con PEG para los ensayos de encapsulación.

5 Ejemplo 15: Formulación de nanopartículas de carboxilato de hierro (III) MIL-100 y MIL-101 cargadas de principios farmacéuticamente activos: la AZTP

Se han realizado ensayos de encapsulación con otros medicamentos, tales como el Cidofovir (CDV; antiviral) o la Azidotimidina trifosfatada (AZTP; retroviral). Teniendo en cuenta las dimensiones de estas moléculas, se han elegido los carboxilatos de hierro porosos de estructura rígida MIL-100 y MIL-101 ya que tienen cajas de 25-34 Å.

10 a) Encapsulación y liberación de la AZTP

Estudio preliminar de la encapsulación de la AZTP en las nanopartículas de MIL-100 y MIL-101: la encapsulación del agente retroviral Azidotimidina trifosfatada (AZTP) se ha llevado a cabo en los carboxilatos de hierro porosos de estructura rígida MIL-100 (nanopartículas 500 nm) y MIL-101 (nanopartículas 500 nm), que tienen cajas de dimensiones libres entre 25 a 34 Å.

15 La inserción del medicamento se ha realizado por inmersión de 2,5 mg de sólidos deshidratados (100°C/12h) en disoluciones acuosas que contienen respectivamente 50, 100, 250 y 500 µg AZTP en 500 µL y 50 µg/50 µL con agitación durante 1 hora. Después de la adsorción del medicamento, el sólido cargado de medicamento se recupera por centrifugación a 5.000 rpm durante 15 min y se seca al vacío durante 3 días. La cuantificación del contenido de medicamento adsorbido se ha efectuado por recuento radiactivo (³H-AZTP).

20 Se observa que la utilización de disoluciones más concentradas en medicamento lleva a un aumento de la carga de PA del material, hasta un máximo de 9% en peso (un récord !!) de medicamento en las nanopartículas de MIL-100. Considerando que el sólido MIL-101 posee un volumen poroso casi doble (2 cm³/g vs 1.2 cm³/g) se espera con este último capacidades mucho mayores. Para concentraciones iguales pero con una relación introducida inicialmente en peso AZTP/material más elevada, la carga con principio activo aumenta. Además, la eficacia de la encapsulación es excelente.

La encapsulación de la AZTP se puede optimizar de la siguiente forma:

- Aumento de la concentración de la disolución de partida en AZTP
- Varios ciclos de impregnación
- Diferentes tiempos de impregnación
- Utilización de sólidos modificados en superficie con PEG
- Utilización de diferentes sólidos con una mayor capacidad (MIL101 bifenilo, MIL88D modificado con diferentes grupos orgánicos) y sólidos híbridos con ligandos modificados (NH₂, Cl, NO₂, COOH, etc) para optimizar las interacciones medicamento-sólido.

b) Encapsulación de la AZTP en las nanopartículas de MIL-100 PEGiladas o no

35 Las nanopartículas del MIL-100 se han sintetizado por microondas (Microondas CEM) partiendo de una disolución de 9,7 g de nitrato de hierro hexahidratado (Aldrich, 97%), 3,38 g de ácido 1,3,5-benzenotricarboxílico (1,3,5-BTC, Aldrich, 99%) y 40 g de agua destilada a 180°C durante 30 min (potencia 600W). El tamaño de partícula medido por difusión de luz es de 400 nm.

40 Las nanopartículas pegiladas del MIL-100 se han obtenido por modificación de superficie de las partículas citadas en el Ejemplo 24. Se han puesto en suspensión 30 mg del MIL-100 en 3mL de una disolución acuosa de 10 mg del polietilenglicol aminoterminal (PEG-NH₂ 5.000 g/mol, Aldrich, 97%) a 30°C durante 3 horas con agitación. Estas nanopartículas se han recuperado por centrifugación (10.000 rpm/10 min) y se han lavado con agua destilada.

45 La cantidad de PEG en superficie se ha determinado por el método Baleux y Champertier, basado en la formación de un complejo coloreado por una disolución de yodo-yoduro en el PEG, que se mide selectivamente por espectrofotometría a 500 nm). La cantidad de PEG es de 19% en masa y el tamaño de partículas después de la PEGilación aumenta a 800 nm). Por el contrario, la observación de nanopartículas PEGiladas y no PEGiladas en microscopio electrónico de barrido (SEM) muestra nanopartículas de 150 nm en los dos casos. Esta diferencia se puede deber a fenómenos de agregación de partículas.

La adsorción del AZT-TP (Azidotimidinotriphosphato; 1-[(2R,4S,5S)-4-azido-5-(hidroximetil) tetrahidrofurano-2-il]-5-metilpirimidino-2,4(1H,3H)-diona, Moravek) se estudia con las nanopartículas del MIL-100 PEGiladas o no, utilizando el AZT-TP marcado con tritio (3H-AZTP; moravek; 3,8 Ci/mmol, 1 mCi/ml, 133,4 µg/ml, 250 µl)

5 Los experimentos se realizan por cuadruplicado, poniendo en suspensión 2,5 mg del sólido MIL-100 previamente deshidratado (150°C/noche) en 500 µL de una disolución acuosa de 1 mg/mL AZT-TP (50 µl de 3H AZT-TP+ 3 ml de AZT-TP) a temperatura ambiente con agitación durante 16 horas.

10 Las nanopartículas que encapsulan el AZT-TP se recuperan por centrifugación (10.000 rpm/10 min, a temperatura ambiente) y se secan durante 3 días a vacío. La radiactividad en el sobrenadante se determina por recuento de la radiactividad (Beckman Coulter LS 6500 multi purpose scintillation counter) y el AZT-TP adsorbido en los materiales se cuantifica por la diferencia con la radiactividad de la disolución madre.

Las nanopartículas se degradan en condiciones ácidas (se degradan 2,5 mg de nanopartículas en 1 mL de HCl 5M a 50°C durante la noche) y se determina la radiactividad.

La cantidad de AZT-TP adsorbido en los materiales es del 8% en MIL-100 y 5% en masa en el MIL-100 PEGilado.

c) Liberación controlada del AZTTP desde las nanopartículas del MIL-100 y MIL-100 PEGiladas

15 La liberación del AZT-TP se hace poniendo en suspensión 2,5 mg de nanopartículas (2,5 mg de nanopartículas + 8 wt% de AZT-TP para el MIL-100 y 5wt% para el MIL-100 recubierto de PEG) a 37°C en 1 mL de tampón de fosfato pH 7,4 (Aldrich). Las suspensiones se mantienen con agitación bidimensional durante los diferentes tiempos de incubación (30 min, 2,5 h, 5 h, 7,5 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h, 168 h, 240 h). A continuación, las suspensiones se centrifugan (10.000 rpm, 10 min) y se extraen 0,5 mL de sobrenadante y se reemplazan con PBS (Phosphate Buffered Saline) fresco. La cantidad de AZT-TP liberada se determina midiendo la radiactividad en los sobrenadantes (medio de liberación).

20 Las nanopartículas no recubiertas de PEG liberan su contenido de principio activo de forma progresiva durante dos días, más lentamente que las recubiertas de PEG. Esto se podría explicar por una localización diferente del AZT-TP en de las nanopartículas. Probablemente, el «cepillo» de PEG en la superficie impide de forma estérica que el principio activo penetre más profundamente en las nanopartículas. Éste, localizado en las cepas superiores del material, se libera más rápidamente.

Ejemplo 16: Formulación de nanopartículas de carboxilato de hierro (III) cargadas de principios farmacéuticamente activos: Cidofovir

a) Encapsulación y liberación del Cidofovir (CDV)

30 Se ha estudiado la adsorción de Cidofovir (L (S)-1-(3-hidroxi-2-fosfonil-metoxipropil)citosa, CDV, Moravek) en las nanopartículas del MIL-88A, MIL-89, MIL-100 y MIL-101, utilizando el CDV marcado con ¹⁴C (14C-CDV)

Los experimentos se hacen por triplicado, poniendo en suspensión 2 mg del material previamente deshidratado (150°C/noche para el MIL_100 y para el resto 100°C/noche) en 1 mL de una disolución acuosa de 400 µg/mL CDV (50 µl de 14C-CDV+ 3 mL de CDV) a temperatura ambiente con agitación durante 16 horas.

35 Las nanopartículas que encapsulan el CDV se recuperan por centrifugación (10.000 rpm/10 min, a temperatura ambiente) y se secan durante 3 días a vacío. La radiactividad en el sobrenadante se determina por recuento de la radiactividad (Beckman Coulter LS 6500 multi purpose scintillation counter) y el CDV adsorbido en los materiales se cuantifica por la diferencia con la radiactividad de la disolución madre.

40 Las nanopartículas se degradan en condiciones ácidas (se degradan 2 mg de nanopartículas en 1 mL de HCl 5M a 50°C durante la noche) y se determina la radiactividad.

La cantidad de AZT-TP adsorbida en los materiales es del 8% en el MIL100 y 5% en masa en el MIL-100 PEGilado.

Tabla 21. Encapsulación de CDV en las diferentes nanopartículas de carboxilatos de hierro.

Sólido	% CDV	% eficacia
MIL-88A	2,6	12,2
MIL-100	17,6	83,8
MIL-101	2,8	14,0
MIL-89	14,1	81,1

Las capacidades, muy grandes, varían entre 3 y 18%. También las eficacias de encapsulación son muy elevadas (más del 80% para los sólidos MIL-100 y MIL-89).

b) Liberación de CDV por las nanopartículas de MIL-88A, MIL-100, MIL-101 y MIL-89

5 La liberación del CDV se ha realizado poniendo en suspensión 2 mg de nanopartículas (2 g de nanopartículas + wt% de CDV) a 37°C en 1 mL de tampón de fosfato pH 7,4 (Aldrich). Las suspensiones se han mantenido con agitación bidimensional durante los diferentes tiempos de incubación. A continuación, las suspensiones se centrifugan (10.000 rpm, 10 min) y se extraen 0,5 mL de sobrenadante y se reemplazan con PBS fresco. La cantidad de AZT-TP liberado se determina midiendo la radiactividad en los sobrenadantes (medio de liberación).

La encapsulación del Cidofovir se puede optimizar actuando sobre los siguientes parámetros:

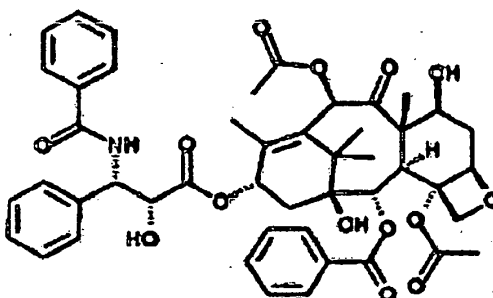
- 10
- Aumento de la concentración de la disolución de partida
 - Varios ciclos de impregnación
 - Diferentes tiempos de impregnación
 - Utilización de diferentes sólidos con una mayor capacidad (MIL101 bifenilo, MIL88D modificado con diferentes grupos orgánicos) y sólidos híbridos con ligandos modificados (NH₂, Cl, NO₂, CH₃, COOH, etc) para optimizar las

15 interacciones medicamento-sólido.

 - En función de los resultados de encapsulación, se utilizarán nanopartículas de sólidos modificados en superficie con PEG para los ensayos de encapsulación.
 - Se realizarán ensayos de liberación en un medio fisiológico (tampón de fosfato, NaCl, etc)

Ejemplo 17: Encapsulación de otros principios farmacéuticamente activos

20 *a) Formulación de carboxilatos de hierro (III) cargados de paclitaxel*



El paclitaxel, comercializado con el nombre de taxol, es soluble en etanol y en DMSO (aproximadamente 50 g/L).

25 Puede ser encapsulado por impregnación de las nanopartículas en disoluciones de DMSO de concentraciones de 20 a 50 g/L, según un protocolo similar al utilizado para encapsular el busulfán. La única diferencia es que se utilizan disoluciones de paclitaxel en DMSO o etanol.

b) Formulación de carboxilatos de hierro (III) cargados de docetaxel

30 El docetaxel es un análogo del paclitaxel, de estructura y actividad parecidas, pero difiere sobre todo por su toxicidad y su eficacia antitumoral. Comercializado con el nombre de taxotere (se trata de perfusión), este principio activo presenta efectos secundarios (riesgo de retención hídrica, ascitis, derrame pleural o pericárdico, reacciones cutáneas, alopecia...). De esta forma, su encapsulación en las nanopartículas y su liberación a nivel de un tumor sería un gran avance.

La encapsulación de docetaxel se puede realizar utilizando:

- Disoluciones acuosas o EtOH concentradas de docetaxel
 - Diferentes tiempos de impregnación
 - Varios ciclos de impregnación
- 35

- Utilización de diferentes sólidos con una mayor capacidad (MIL101 bifenilo, MIL88D modificado con diferentes grupos orgánicos) y sólidos híbridos con ligandos modificados (CH₃, COOH, etc) para optimizar las interacciones medicamento-sólido.

5 • En función de los resultados de encapsulación, se utilizarán nanopartículas de sólidos modificados en superficie con PEG para los ensayos de encapsulación.

El docetaxel también se puede encapsular por impregnación a partir de disoluciones de DMSO.

c) Formulación de carboxilatos de hierro (III) cargados de gemcitabina

10 La gemcitabina (dFdC) es un análogo de la desoxicitidina. Es un antimetabolito específico de la fase S del ciclo celular (fase de síntesis del ADN. La gemcitabina se metaboliza en las células por nucleósido quinasas en nucleósido difosfato (dFdCDP) y trifosfato (dFdCTP). Éstos son los metabolitos activos.

La gemcitabina es soluble en agua. Así, su encapsulación se puede realizar según un protocolo idéntico a la encapsulación del AZT trifosfato (impregnación en disoluciones acuosas de principio activo).

La encapsulación de la Gemcitabina se puede optimizar actuando sobre los siguientes parámetros:

- Aumento de la concentración de la disolución de partida
- 15 • Varios ciclos de impregnación
- Diferentes tiempos de impregnación
- Utilización de diferentes sólidos con una mayor capacidad (MIL101 bifenilo, MIL88D modificado con diferentes grupos orgánicos) y sólidos híbridos con ligandos modificados (NH₂, Cl, NO₂, CH₃, COOH, etc) para optimizar las interacciones medicamento-sólido.
- 20 • En función de los resultados de encapsulación, se utilizarán nanopartículas de sólidos modificados en superficie con PEG para los ensayos de encapsulación.
- Se realizarán ensayos de liberación en un medio fisiológico (tampón de fosfato, NaCl, etc)

Ejemplo 18: Formulación de carboxilasas de hierro (III) cargados de compuesto de interés en cosmética

25 La encapsulación de diferentes moléculas de interés cosmético se realiza en los carboxilatos de hierro porosos de estructura rígida MIL-100 y de estructura flexible MIL-53. Las moléculas elegidas para los ejemplos son el ácido ascórbico por sus características antirradicales libres, la cafeína por su actividad liporreguladora, la urea como agente hidratante. El procedimiento descrito para la encapsulación de la benzofenona también es aplicable a estos compuestos. Finalmente, al igual que la benzofenona 3 (filtro UV), de carácter hidrófobo, la benzofenona 4 de carácter hidrófilo también se puede encapsular.

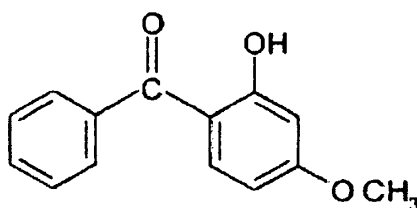
30 Para la inserción de cosméticos, los sólidos deshidratados (100 ó 150°C/12h) o no se ponen en suspensiones acuosas o en alcohol en presencia de cantidades variables de cosméticos, todo ello con agitación durante tiempos diferentes. Después de adsorción, el sólido cargado de cosméticos se recupera por centrifugación a 5.000 rpm durante 15 min y se seca con aire. La cuantificación del contenido en cosmético adsorbido se realiza por análisis elemental y ATG.

35 Las nanopartículas recubiertas de ácido hialurónico y que encapsulan principios activos son particularmente interesantes para fines cosméticos. En efecto, el ácido hialurónico es un constituyente natural de la dermis y desempeña un papel importante en la hidratación y en la elasticidad del piel. Esta sustancia al disminuir con la edad, nuestra piel se deseca y se arruga. Aproximadamente el 56% del ácido hialurónico contenido en el cuerpo se encuentra en la piel.

40 Recubrir los MOFs con este polímero podría conferirle propiedades bioadhesivas para la piel.

a) Encapsulación de la benzofenona 3

La benzofenona 3 (2-Hidroxi-4-Metoxi Benzofenona) (BZ3) es un sólido muy poco soluble en agua (0,0037 g/l (20°C)):



Se trata de un filtro solar anti-UV. La benzofenona-3 se utiliza en las cremas solares y los productos cosméticos como sustancia «antienvjecimiento». También se utiliza como agente protector de sustancias activas contenidas en los cosméticos: permite evitar la degradación por UV de estas sustancias, como los perfumes y los colorantes. Esta sustancia es un alérgeno reconocido, con fuerte poder alérgénico. Puede ser fotosensibilizante. Su encapsulación sería útil para evitar el contacto con la piel.

El protocolo experimental es el siguiente: las nanopartículas secadas (MIL 53(Fe), diámetro medio 1,1 micrones) han sido dispersadas en 10 mL de disolución que contiene 10 microgramos de BZ3 por mL, con el fin de obtener concentraciones finales de nanopartículas iguales a 1 y 0,5 mg/mL. La baja concentración en BZ3 elegida aquí se explica por su baja solubilidad en agua. El compuesto MIL-53(Fe) tiene además una afinidad muy buena por las moléculas aromáticas, lo que justifica la elección de este material para encapsular la Benzofenona.

Esta disolución de BZ3 se ha obtenido a partir de una disolución de BZ3 en DMSO (1 g/L). Se ha extraído un mL de esta disolución y luego se ha introducido en 100 mL de agua MilliQ.

Se han incubado las nanopartículas durante 12 horas a temperatura ambiente, y luego se han recuperado por ultracentrifugación (30.000 rpm, 30 min). El sobrenadante se ha extraído y luego se ha medido (espectrofotometría UV, longitud de onda 298 nm), permitiendo de esta forma determinar la cantidad no encapsulada. La cantidad encapsulada se ha determinado por diferencia con la cantidad de BZ3 introducida inicialmente. Los experimentos se han realizado por triplicado.

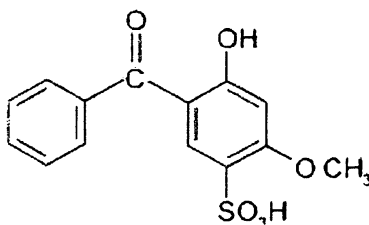
Tabla 22. Tasas de carga obtenidas

Concentración de partículas (mg/mL)	Rendimiento de encapsulación (% en masa)	Carga (% en masa)
1	76 ± 3	0,76
0,5	74 ± 3	1,49

Los rendimientos de encapsulación (% encapsulado con respecto a la cantidad de BZ3 introducida) son satisfactorios (74-76%). En cambio, las cargas bajas se explican por la pequeña cantidad de BZ3 introducida en comparación con la cantidad de partículas. Sin embargo, se observa que la carga aumenta cuando la concentración introducida de partículas (con respecto al BZ3) disminuye. En consecuencia, sabiendo que la disolución acuosa con BZ3 utilizada estaba poco concentrada, es muy posible mejorar considerablemente la carga de las partículas en BZ3 impregnando éstas con un disolvente orgánico apropiado en el que la solubilidad del BZ3 sea claramente superior.

b) Encapsulación de la benzofenona 4

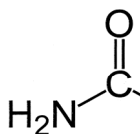
La benzofenona 4 (ácido 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona-5-sulfónico) (BZ4) es un sólido muy soluble en agua (100 mg/mL (20°C)):



Se trata de un filtro solar anti-UV A y B, particularmente empleado cuando se exige una formulación hidrosoluble. La benzofenona-4 se utiliza en las cremas solares y los productos cosméticos como sustancia «antienvjecimiento». También se utiliza como agente protector de sustancias activas contenidas en los cosméticos: permite evitar la degradación por UV de estas sustancias, como los perfumes y los colorantes. No obstante, puede dar lugar a reacciones inmunitarias, en forma de prurito, sensación de ardor, descamación, urticaria, y ampollas en la piel, o una reacción respiratoria severa. Su encapsulación permitiría mantener su actividad evitando un contacto directo con la piel.

c) Encapsulación de la urea

La urea es una sustancia activa de origen natural, que se encuentra en todos los órganos, tejidos y líquidos del cuerpo humano. Posee una solubilidad grande en agua (1,08 g/mL (20°C))



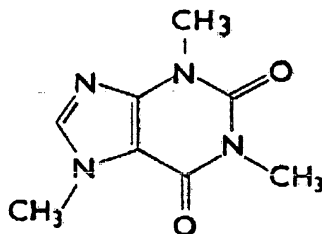
Es un agente hidratante importante en la capa córnea. Tiene diferentes efectos:

- 5 • Aplaca los pruritos, ventaja principal en el caso de la neurodermatitis infantil.
- Hidrata la capa córnea.
- Tiene un efecto descamante y normaliza la división celular.
- Tiene propiedades antibacterianas, impidiendo las sobreinfecciones, en particular en el eczema crónico.
- 10 • Favorece la penetración de otras sustancias medicamentosas aplicadas en la piel, como por ejemplo los glucocorticoides. Así, se puede reducir la dosis de los medicamentos sin disminuir su eficacia y limitando así los efectos secundarios.

d) Encapsulación de la cafeína

La cafeína agente lipolítico reconocido por sus propiedades adelgazantes. Su acción lipo-reductora es potente y dependiente de la dosis. La cafeína es la forma más activa ya que es directamente asimilable por la célula. Pero las sales de cafeína son las más utilizadas en la práctica ya que son más fácilmente integrables en una crema.

Posee una buena solubilidad en agua (22 mg/mL (20°C)).



e) Protocolos experimentales de encapsulación

20 150 mg de nanopartículas secadas de MIL-53(Fe) (diámetro medio 1,1 micrones; deshidratado a 150°C/8 horas) y MIL 100(Fe) (diámetro medio 0,5 micrones; deshidratado a 100°C/8 horas) se han dispersado en 10 mL de disoluciones acuosas que contienen diferentes agentes cosméticos (concentraciones próximas a la saturación; ver tabla siguiente), agitando todo durante 2 horas o 3 días a temperatura ambiente. A continuación, se recuperan las partículas por centrifugación (20°C, 5.000 rpm, 15 min).

25 Los sólidos cargados de cosméticos se caracterizan en primer lugar por Difracción de Rayos X en polvo (DRX). Se estima el contenido en masa de cosmético encapsulado en el sólido poroso por análisis termogravimétrico (ATG) y análisis elemental.

Tabla 23. Cuantificación del cosmético en los sólidos MIL-53 y MIL-100 por ATG (Figuras 4 y 5) y análisis elemental.

Material	Cosmético	Concentración (mg/mL)	Tiempo de impregnación (h)	ATG
MIL-100	C	22	72	24,2
	U	500	72	69,2
	BZ4	10	72	13,7
	BZ4	10	2	15,2
MIL-53	C	22	72	23,1
	U	500	72	63,5
	BZ4	10	72	5,0

	BZ4	10	2	-----
	BZ4 (EtOH)	10	2	1,0
MIL-88	C	22	72	43,6
MIL-53 2COOH	C	22	72	9,0
MIL-53 2OH	C	22	72	30,2
MIL-53 NH ₂	C	22	72	25,4
(C: Cafeína; U: urea; BZ4 Benzofenona n°4)				

La concentración de las disoluciones de partida se acerca mucho a la saturación para forzar la inserción de los cosméticos en los poros y evitar el desplazamiento del equilibrio hacia una liberación en fase líquida (Tabla anterior).

La capacidad de encapsulación de cosméticos es muy grande en todos los casos, hasta el 60-70% para la urea, una pequeña molécula muy polar. Para la cafeína, molécula de mayor tamaño, se observa una inserción de cosmético un poco menos elevada, alrededor del 25-40% en masa. Esta molécula puede interaccionar con las partes polares (metal) y apolares (ligando) de los sólidos híbridos.

Finalmente, la benzofenona 4 se encapsula bien en el MIL-100 (hasta el 15%) pero presenta una inserción mucho menor en el MIL-53 (<5%) en concordancia con dimensiones cercanas al tamaño máximo de los poros de este compuesto.

Se verifica la conservación de la estructura cristalina ordenada en todos los sólidos de estructura rígida después de la encapsulación por DRX.

La liberación de la cafeína de los sólidos con diferente estructura (MIL53, MIL88 y MIL100), y en los sólidos a base de ligandos modificados MIL53_2COOH, MIL53_2OH y MIL53_NH₂ se ha realizado poniendo en suspensión 50 mg de materiales que contienen la cafeína en 5 mL de una disolución de tampón de fosfato salino PBS (Aldrich) pH = 7,4 a 37°C con agitación.

Estas suspensiones se centrifugan (10.000 rpm 10 min a 20°C) y se extrae 1 mL del sobrenadante y se reemplaza por PBS fresco en los diferentes tiempos de liberación. La concentración de cafeína liberada en el medio se determina por espectroscopía UV-Vis a 254 nm.

Se puede observar que es posible modular la dosis administrada durante el tiempo en función de la estructura y de la composición del material.

Ejemplo 19: Encapsulación de moléculas fluorescentes

Las moléculas fluorescentes tales como el perclorato de Rodamina (A), la fluoresceína (B), la sal de sodio del ácido 8-hidroxipireno-1,3,6-trisulfónico (C) o el (R)-(-)-4-(3-aminopirrolidino)-7-nitrobenzofurazano (D) han podido ser encapsuladas en el sólido MIL-101-NH₂ siguiendo el protocolo descrito a continuación. Estas moléculas están representadas en las figuras 32 y 33.

Protocolo de operación:

Se ponen en suspensión 200 mg de sólido aminotereftalato de hierro rígido MIL-101-NH₂ (sintetizado según el método de microondas descrito en el Ejemplo 7) en 10 mL de una disolución de 2 mg/mL de molécula fluorescente en etanol:

- A: rodamina 116 perclorato (R116, Aldrich),
- B: fluoresceína (Aldrich),
- C: sal trisódica del ácido 8-hidroxipireno-1,3,6-trisulfónico (PSO₃, Aldrich, 98%), o
- D: (R)-(-)-4-(3-aminopirrolidino)-7-nitrobenzofurazano (APNF, Aldrich, 98%).

Se agita la mezcla de sólido en disolución de molécula fluorescente a temperatura ambiente con agitación durante 15 horas. Se recupera el sólido cargado de molécula fluorescente por centrifugación a 10.000 rpm/10 min.

La cuantificación de las moléculas fluorescentes encapsuladas se realiza por ATG y/o por análisis elemental. Los materiales que encapsulan las moléculas fluorescentes se caracterizan por DRX para verificar la conservación de la estructura cristalina, por FTIR para estudiar las interacciones matriz-molécula y por microscopía confocal de fluorescencia para determinar la presencia de fluorescencia en los poros o en la superficie (las propiedades de fluorescencia de cada una de las moléculas se presentan en la tabla siguiente).

Tabla 24. Propiedades de fluorescencia

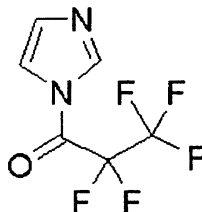
Molécula fluorescente	λ excitación (nm)	λ emisión (nm)	Disolvente
A (Rodamina 116)	516	540	etanol
B Fluoresceína	490	514	0,1M Tris pH 8,0
C (PS03)	460	510	0,1M Tris pH 8,0
D (APNF)	490	535	Acetonitrilo

Las propiedades de tecnologías de imágenes *in vivo* (bioluminescencia, fluorescencia) se pueden estudiar según los protocolos conocidos por los expertos de la técnica. Se podrá remitir por ejemplo a la publicación de Kathryn E. Luker et al., Antiviral Research, Volume 78, Issue 3, June 2008, Pages 179-187.

- 5 Además, el mismo protocolo es aplicable para la encapsulación de las moléculas A, B, C y D en el caso del sólido MOF dimetil 4,4'-bifenil dicarboxilato de hierro (sintetizado según el método solvotermal descrito en el Ejemplo 3).

Ejemplo 20: Encapsulación de moléculas fluoradas

1-(Pentafluoropropionil)imidazol:



- 10 200 mg del trimesato de hierro rígido MIL-100 (sintetizado por el método solvotermal descrito anteriormente) se deshidratan previamente a 150°C durante una noche y se ponen en suspensión en 10 mL de una disolución de 2 mg/mL de ácido perfluoropentanoico (Aldrich, 97%) o de 1-(pentafluoropropionil)imidazol (Aldrich, 98%) en etanol con agitación a temperatura ambiente durante 15 horas. Se recupera el sólido por centrifugación a 10.000 rpm/10 min.
- 15 La cuantificación de las moléculas fluoradas encapsuladas se realiza por ATG y/o por análisis elemental. Los materiales que encapsulan las moléculas fluorescentes se caracterizan por DRX para verificar la conservación de la estructura cristalina, por FTIR y 19F-RMN para estudiar las interacciones matriz-molécula.

Ejemplo 21: Encapsulación de la urea por sublimación.

- 20 Este protocolo es aplicable principalmente a las moléculas que se van a encapsular de baja temperatura de evaporación, como la urea, lo que permite una sublimación más sencilla.

Aquí, la dimensión reducida de la molécula de urea permite su encapsulación en los poros de los sólidos flexible MIL-53 y rígido MIL-100 (síntesis descritas anteriormente)

El montaje experimental utilizado para insertar por sublimación el PA, se presenta en la figura 31.

El protocolo de encapsulación se describe en las siguientes etapas:

- 25 1. El sólido poroso se deshidrata previamente a 150°C durante 12 horas a vacío (la válvula del matraz de balón que contiene el medicamento está cerrada y la válvula del matraz de balón que contiene el sólido está abierta hacia el vacío).
- 30 2. La urea se calienta a vacío para sublimarla a la temperatura T1 de sublimación a vacío de la urea. El sólido MOF por su parte se calienta a la temperatura T2, 5°C superior a T1. Así mismo, se calienta todo el circuito para evitar la recristalización de la urea (la válvula del matraz de balón «medicamento» está abierta hacia el vacío y la válvula del «sólido» está cerrada).
3. La válvula del «sólido» se abre a continuación para poner en contacto el medicamento sublimado y el sólido deshidratado para realizar la encapsulación del medicamento en el material.

5. La válvula del matraz de balón que contiene el «sólido» se cierra a continuación.

6. Se introduce nitrógeno gaseoso en el matraz de balón del sólido.

7. El sólido que encapsula la urea se recupera a continuación.

VI. Nanopartículas de superficie modificada

5 Ejemplo 22: Formulación de carboxilatos de hierro (III) de superficie modificada por el quitosano

La modificación de superficie de las nanopartículas con el quitosano permite considerar diferentes vías de administración de las nanopartículas gracias a las propiedades de bio-adhesión específicas de este polímero.

En este ejemplo la modificación superficial se realiza durante la síntesis del material MIL-88A.

a) Preparación de las nanopartículas de superficie modificada

- 10 A una disolución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 mmol, 270 mg; Alfa Aesar, 98%), y de ácido fumárico (1 mmol, 116 mg; Acros, 99%) en 5 mL de agua destilada, en una bomba de teflón de 23 mL, se han añadido 7 mg del agente modificador de la superficie, el quitosano modificado. Se han utilizado dos tipos de quitosano modificados con cadenas alquilo (C_{12} , laurilo); uno con una modificación del 2% de las cadenas alquilo (Q25) y el otro modificado con el 7% (Q100).

Para la disolución completa del quitosano, la disolución se pone en agitación durante 45 minutos.

- 15 La bomba de teflón se coloca en un cuerpo metálico cerrado herméticamente y se calienta en una estufa a 80°C durante 12 horas.

El sólido obtenido se recupera por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos y se lava con agua destilada y acetona.

b) Análisis y caracterización

- 20 El tamaño de partículas obtenidas se mide con un dispositivo de potencia Z Malvern Zetasizer Nano serie - Nano-ZS; modelo Zen 3600; serial N° 500180; Reino Unido, observando un tamaño de 2,64 y 0,91 micrones para MIL88A-Q 25 y MIL88A-Q 100, respectivamente.

Los diagramas de difracción de rayos X (DRX) se recogen con un difractómetro Siemens D5000 X'Pert MDP (λ_{Cu} $\text{K}\alpha_1$, $\text{K}\alpha_2$) de 3 a 20° (2 θ) con un tamaño de paso de 0,04° y 2 s por paso.

- 25 Los diagramas de DRX presentados en la figura 15 han permitido verificar que la fase obtenida es el MIL-88A. La flexibilidad del material también se ha verificado por DRX añadiendo una gota de agua al sólido.

La cantidad de quitosano incorporada al material se estima por análisis termogravimétrico (ATG) que se presenta en la figura 16. El dispositivo utilizado es un dispositivo TGA2050 TA de 25 a 500°C con una rampa de calentamiento de 2°C/min con flujo de oxígeno (100 mL/min). En los materiales, la cantidad de ácido fumárico es de alrededor del 45% (con respecto al producto deshidratado). Los materiales MIL88A-Q25 y MIL-88A-Q100 contienen una cantidad de quitosano del orden del 16% y del 22% (peso) con respecto al producto deshidratado, respectivamente.

- 30 Ejemplo 23: Formulación de carboxilatos de hierro (III) de superficie modificada por el dextrano de fluoresceína y biotina

En este ejemplo, el dextrano utilizado se injerta por una parte con la fluoresceína y por otra parte con la biotina (Dex B FITC 10.000 g/mol, aniónica, lisina fijable, Molecular Probes, catalog D7178).

- 35 Las características del dextrano son las siguientes: Dextrano de fluoresceína y biotina, peso molecular 10.000 g/mol, aniónico, capaz de fijar la lisina («mini-emerald») lote 36031A, D7178, «Molecular probes», Tecnología de detección *in vitro*, 1 mol fluoresceína/mol, 2 moles biotina/mol.

a) Preparación de las nanopartículas de superficie modificada

- 40 Las partículas de 1,3,5-bencenotricarboxilato de hierro MIL-100 (diámetro de partícula 1,79 micrones) se han lavado con agua MilliQ.

Se han dispersado cinco miligramos de partículas en 0,5 mL de agua MilliQ. Se ha añadido a esta suspensión 0,5 mL de disolución acuosa de Dex B FITC (5 mg/mL). Se han incubado durante 24 horas a temperatura ambiente, y luego se han recuperado por centrifugación (3800 rpm, 10 min). El sobrenadante se ha extraído, y luego el sedimento (partículas) se ha vuelto a poner en suspensión en 0,5 mL de agua MilliQ. Después de una nueva centrifugación, las partículas lavadas así con Dex B FITC en exceso se han colocado sobre una placa con el fin de observarlas en el microscopio confocal (excitación 488 nm, emisión 515 nm).

- 45

b) Análisis y caracterización

La fluoresceína permite la detección de las partículas mediante un microscopio confocal de barrido láser, mientras que la biotina, hidrófoba, permite:

- el anclaje en el interior de las partículas
- la funcionalización con ligandos biotinilados

La figura 17 presenta los cortes ópticos obtenidos de esta forma. Se distingue una aureola alrededor de las partículas, que indica la presencia de dextrano (único compuesto fluorescente) únicamente en la superficie. En efecto, las largas cadenas de polímero no han podido penetrar en el interior de las partículas.

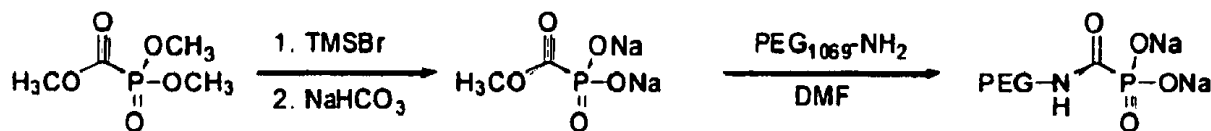
Este método de modificación de superficie presenta la ventaja de no perturbar el interior de las partículas (que contiene principios activos) y hacerse post-síntesis, por lo tanto de ofrecer una variedad de recubrimientos posibles.

Ejemplo 24: Formulación de carboxilatos de hierro (III) de superficie modificada por el polietilenglicol (PEG)

Para reducir al mínimo la toxicidad del Busulfán en el hígado, hay que impedir que las nanopartículas se dirijan al hígado; el mejor método consiste en injertar en la superficie de las nanopartículas híbridas cadenas hidrófilas de tipo poli(etilenglicol) (PEG), con el fin de reducir su acumulación en este órgano. Se contempla un estudio completo de la degradación *in vitro* de las partículas recubiertas o no de PEG, en diferentes medios.

Las cadenas del PEG podrán tener diferentes grupos terminales para injertarse en la superficie de los materiales. De esta forma, la interacción del PEG con la superficie de la partícula se puede modificar utilizando diferentes tipos de PEG.

- PEG-NH₂ (alfa-t-Butiloxicarbonilamino-omega-amino poli(etilenglicol) (PEG; Boc-NH-PEG-NH₂, 5000 MW, Iris Biotech)
- PEG-COOH (ácido poli(etilenglicol)carboxílico, Iris Biotech)
- PEG-PO₄ sintetizado en el laboratorio según el siguiente procedimiento:



El grupo fosfonato está unido al PEG-NH₂ mediante una condensación amida con un éster unido a un grupo fosfonato. Se ha utilizado la sal de sodio del fosfonato. A continuación, se lleva a cabo el acoplamiento a partir del trimetil-fosfonoformato[CAS 31142-23-1] según el procedimiento de Robert A. Moss, Hugo Morales-Rojas, Saketh Vijayaraghavan and Jingzhi Tian, J. Am. Chem. Soc., 2004, 126, (35), 10923 - 10936.

Se ha calentado una disolución de PEG-NH₂ (87.6 mg, M = 5400, Iris Biotech GmbH, PEG1069) en 2 mL de DMF (Fluka, 97%) con un exceso de disodimetilfosfonoformato (50 mg, M = 183,99) a 100°C durante 15 horas con agitación. Después, se ha eliminado el disolvente a vacío suspendido en etanol absoluto. El exceso de fosfonoformato es insoluble, por lo tanto se puede eliminar por filtración. El filtro se concentra para obtener el producto (85 mg). NMR ³¹P, (D₂O), d = 1,3 ppm.

La PEGilación se podrá realizar durante la síntesis o post-síntesis.

a) Modificación superficial con PEG-COOH durante la síntesis

Las síntesis de los MOFs se hacen directamente en presencia de monometoxi PEG monoácido (MeO-PEG-COOH) (Sigma, masa molar 5.000 g/mol): CH₃-O-(CH₂-CH₂-O)_n-CH₂-CH₂-COOH.

El monometoxi PEG monoácido se introduce al 3, 8,5 ó 13% con respecto al peso total del sólido utilizado en la síntesis.

Procedimiento de preparación:

El acetato de hierro (1 mmol; sintetizado según la síntesis A descrita en el ejemplo 1) y el ácido mucónico (1 mmol; Fluka 97%) se mezclan en 10 mL de metanol (Aldrich, 99,9%). Se introduce todo en un recipiente de teflón de 23 mL. El monoácido PEG se introduce a continuación a nivel de 3, 8,5 ó 13% en masa con respecto al peso total del sólido. Se añaden eventualmente 0,35 mL de sosa 2 M. Se pone la disolución con agitación durante 20 minutos.

La bomba de teflón se coloca en un cuerpo metálico cerrado herméticamente y se calienta en una estufa a 100°C durante 12 horas.

El sólido obtenido se recupera por centrifugación a 5.000 rpm durante 10 minutos y se lava con agua destilada y acetona.

- 5 La medida del PEG en los carboxilatos de hierro se realiza tal como sigue: las partículas se degradan totalmente en medio ácido (HCl 5M) con el fin de liberar el PEG asociado. Después de neutralizar las disoluciones obtenidas (a pH = 7) y la destrucción de las nanopartículas con la sosa, la medida del PEG se ha realizado por espectrofotometría UV (con longitud de onda de 500 nm), según el método descrito en B. Baleux et al. C.R. Acad. Sciences Paris, serie C, 274 (1972) pages 1617-1620 [33]. Los principales resultados se registran en la tabla siguiente.

10 Tabla 25. Modificación del material MIL88A con el PEG 5.000 g/mol.

Adición de disolución acuosa de NaOH	% en masa de PEG introducido al principio de la síntesis	% en masa de PEG en la composición de las nanopartículas	Diámetro de las nanopartículas (nm) (medido por difusión de luz)
-	3	3,8	570
Sí	3	4,8	230
-	8,5	13,4	590
Sí	8,5	13	230
-	13	18,5	565
Sí	13	18	310

Se puede constatar que:

- la adición de sosa permite reducir el tamaño de las nanopartículas
- el % en masa de PEG en las nanopartículas es superior al % de PEG introducido al comienzo de la síntesis
- de forma destacada, es posible obtener partículas de aproximadamente 230 nm que contienen un 13% en peso de PEG, lo que resulta interesante para aplicaciones médicas («furtividad»).

- 15 En efecto, las nanopartículas «furtivas» descritas en la bibliografía contienen generalmente menos del 10% en masa de PEG, tal como se describe en R. Gref et al. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, Volume 18, Issues 3-4, October 2000, pages 301-313 [34].

b) Modificación superficial de las nanopartículas MIL-100 con PEG por el método de post-síntesis.

- 20 Las nanopartículas del MIL-100 se sintetizan por microondas (Microondas CEM) partiendo de una disolución de 9,7 g de nitrato de hierro hexahidratado (Aldrich, 97%), 3,38 g de ácido 1,3,5-benzenotricarboxílico (1,3,5-BTC, Aldrich, 99%) y 40 g de agua destilada a 180°C durante 30 min (potencia 600 W). El tamaño de partícula medido por difusión de luz es de 400 nm.

- 25 Las nanopartículas pegiladas del MIL-100 se obtienen por modificación de la superficie de las partículas citadas anteriormente. Se han puesto en suspensión 30 mg del MIL-100 en 3 mL de una disolución acuosa de 10 mg del polietilenglicol aminoterminal (PEG-NH₂ 5.000 g/mol, Aldrich, 97%) a 30°C durante 3 horas con agitación. Estas nanopartículas se recuperan por centrifugación (10.000 rpm/10 min) y se lavan con agua destilada.

- 30 La cantidad de PEG en superficie se determina por el método Baleux y Champertier, basado en la formación de un complejo coloreado por una disolución de yodo-yoduro en el PEG, que se mide selectivamente por espectrofotometría a 500 nm). La cantidad de PEG es de 19% en masa y el tamaño de partículas después de la PEGilación aumenta a 800 nm). Por el contrario, la observación de nanopartículas PEGiladas y no PEGiladas en microscopio electrónico de barrido (SEM) muestra nanopartículas de 150 nm en los dos casos. Esta diferencia se puede deber quizás a fenómenos de agregación de partículas.

- 35 Ejemplo 25: Síntesis con ultrasonidos de carboxilatos de hierro (III) de superficie modificada por el polietilenglicol (PEG)

La síntesis con ultrasonidos de nanopartículas de sólido MIL-88A de superficie modificada por el PEG se basa en el protocolo de operación del Ejemplo 8 y se ha realizado en diferentes tiempos de reacción (30, 60, 90 y 120 minutos).

En los siguientes ejemplos se han realizado dos modos de operación:

a) en el primer modo de operación, el PEG se añade 15 minutos antes del final de la síntesis

b) en el segundo modo de operación, el PEG se añade desde el principio de la síntesis ($t = 0$ min).

Para cada una de las síntesis siguientes, se han preparado disoluciones acuosas de cloruro de hierro III (2,7 mg/mL) y ácido fumárico (1,16 mg/mL) tal como se describe en el Ejemplo 8 (Tabla 10).

5 a) *Síntesis n° 1:*

A cada uno de los 8 matraces de 20 mL se le añaden 5 mL de disolución de cloruro de hierro III (2,7 mg/mL) y 5 mL de disolución de ácido fumárico (1,16 mg/mL):

- 4 matraces sirven como testigo en los que se realizan las reacciones para los 4 tiempos de síntesis: 30, 60, 90 y 120 min,

- en los otros 4 matraces se añaden 5 mg de PEG 15 minutos antes de finalizar cada una de las síntesis de duración 30, 60, 90 y 120 min (el final de una síntesis corresponde a la salida del baño de ultrasonidos).

Los 8 matraces se colocan al mismo tiempo en un baño de ultrasonidos a 0°C, con los tiempos t correspondientes (30, 60, 90 y 120 min).

- 15 Después de la síntesis, se toma un volumen de 0,1 mL de disolución de cada matraz para determinar el tamaño de las partículas por difusión de luz mediante un dispositivo de Dynamic Light Scattering (DLS, Nanosizer). El resto de la disolución se pasa a continuación a la centrifugadora a 10.000 rpm a 0°C durante 15 min con el fin de separar el sobrenadante del sólido formado. El sobrenadante se elimina mediante una pipeta pasteur y el sedimento recuperado se coloca en una campana a temperatura ambiente.

- 20 La evolución del tamaño de partícula (P en nm) en función del tiempo (t en min) está representada en la figura 29. La presencia del PEG 15 minutos antes del fin de la síntesis produce un aumento del tamaño de partícula de aproximadamente 5 nm, lo que puede ser debido al espesor de la capa de PEG (5.000 Da).

b) *Síntesis n° 2:*

A cada uno de los 8 matraces de 20 mL se le añaden 5 mL de disolución de cloruro de hierro III (2,7 mg/mL) y 5 mL de disolución de ácido fumárico (1,16 mg/mL):

- 25 • 4 matraces sirven como testigo en los que las reacciones se realizan para los 4 tiempos de síntesis: 30, 60, 90 y 120 min,

- en los otros 4 matraces, se añaden 5 mg de PEG desde el comienzo de cada una de las síntesis de duración 30, 60, 90 y 120 min.

- 30 Los 8 matraces se colocan al mismo tiempo en un baño de ultrasonidos a 0°C, con los tiempos t correspondientes (30, 60, 90 y 120 min).

- 35 Después de la síntesis, se toma un volumen 0,1 mL de disolución de cada matraz para determinar el tamaño de las partículas por difusión de luz mediante un dispositivo de Dynamic Light Scattering (DLS, Nanosizer). El resto de la disolución se pasa a continuación a la centrifugadora a 10.000 rpm a 0°C durante 15 min con el fin de separar el sobrenadante del sólido formado. El sobrenadante se elimina mediante una pipeta pasteur y el sedimento recuperado se coloca en una campana a temperatura ambiente.

La evolución del tamaño de partícula (P en nm) en función del tiempo (t en min) está representada en la figura 30. Ésta muestra que no hay variación significativa después de la adición del PEG en el tiempo inicial de síntesis.

Que sea en presencia o no de PEG en el tiempo inicial de la síntesis, es posible observar en DRX un hombro a 11°, característico de la fase MIL-88A que parece aumentar en intensidad con el tiempo de síntesis.

40 c) *Conclusión del estudio:*

El objetivo de este estudio era optimizar el tamaño de las partículas que deben ser inferiores a 200 nm con el fin de hacerlas compatibles con una administración por vía intravenosa. Los resultados obtenidos son satisfactorios ya que los diámetros de partículas obtenidos son inferiores a 200 nm (con verificación de las estructuras cristalinas tipo MIL-88A en la mayoría de los sólidos). Además, incluso si los rendimientos son inferiores a los obtenidos por vía solvothermal o por microondas, se les puede considerar como aceptables (tabla siguiente).

45

Tabla 26. Rendimientos de síntesis con ultrasonidos

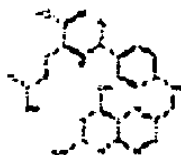
Tiempo (min)	Rendimiento (%)			
	Testigo	AcH	PEG t = 0	PEG tf-15min
30	24	13,4	31,4	20,1
60	27,2	15	29,4	No medido
90	35,6	14	24	28,3
120	35,1	19,1	32	41,2

Se puede observar que el tamaño de las partículas aumenta en función del tiempo de síntesis.

Igualmente la pegilación a t = 0 min da como resultado diámetros de partículas más pequeños que la pegilación a t = f-15 min, probablemente debido al hecho de que el crecimiento cristalino se haya detenido más pronto.

- 5 Ejemplo 26: Formulación de sólidos MOF de superficie modificada por el polietilenglicol (PEG) y el ácido fólico (FA)

Ácido fólico:



a) *Síntesis n° 1: modificación de superficie después de la formulación de las nanopartículas*

Modificación de superficie con el PEG:

- 10 Se dispersan 100 mg de nanopartículas de MIL100, MIL88, MIL53 o MIL101 (previamente deshidratado a 100°C/noche) con sonicación en 100 mL de disolución 17,9 mM de 2-(metoxi(polietileno)xi)-propiltrimetoxisilano en tolueno anhidro. La mezcla se somete a ultrasonidos a 60°C durante 4 horas, con un caudal de gas inerte (nitrógeno). La suspensión coloidal resultante, que contiene las nanopartículas de superficie modificada con PEG, se lava dos veces con etanol y dos veces en una disolución de citrato de sodio 20 mM (pH 8,0) y finalmente se vuelve a poner en suspensión en agua.
- 15

Modificación de superficie con PEG y FA:

El FA se ha unido a las nanopartículas mediante un espaciador bifuncional, el silano-PEG-trifluoroetiléster (TFEE) sintetizado según un método descrito en la bibliografía por Kohler N. et al., J Am Chem Soc 2004; 126: 7206-7211

- 20 Se recubren 100 mg de nanopartículas con PEG-TFEE según el mismo método descrito anteriormente, utilizando el silano-PEG-TFEE en lugar del 2-metoxi (polietileno)xi)-propiltrimetoxisilano.

- Las nanopartículas resultantes, recubiertas de PEG-TFEE, se lavan dos veces y luego se vuelven a poner en suspensión en 100 mL de tolueno seco. Se ha injertado una amina primaria en los grupos terminales de las cadenas de PEG añadiendo 1 mL de etilendiamina (Sigma) a las nanopartículas mantenidas con flujo de nitrógeno. Se ha sometido la mezcla a ultrasonidos (4 horas, 60°C). Las nanopartículas resultantes, recubiertas por la amina, se han lavado tres veces con etanol y tres veces con dimetilsulfóxido (DMSO). Finalmente las nanopartículas se han vuelto a poner en suspensión en 50 mL de DMSO anhidro. El FA se ha acoplado a los grupos amino terminales de las cadenas de PEG volviendo a añadir 50 mL de disolución de FA (23 mM FA en DMSO) en cantidades equimolares de dicitclohexilcarbodiimida (DCC) (Sigma) y 10 µL de piridina. La mezcla se ha protegido de la luz y se deja reaccionar durante una noche con agitación bidimensional (180 rpm). Las nanopartículas conjugadas con PEGH y FA (NP-PEG-FA) se han lavado dos veces con etanol, y dos veces con una disolución de citrato de sodio 20 mM (pH 8.0) y finalmente se han vuelto a poner en suspensión en esta misma disolución de citrato de sodio.
- 25
- 30

b) *Síntesis n° 2: modificación de superficie durante la síntesis de las nanopartículas.*

La modificación de la superficie de los sólidos MOF también se puede hacer durante la síntesis.

- 35 En el ejemplo que sigue, la modificación de superficie se realiza con quitosano previamente injertado con el ácido fólico (FA).

Un ejemplo de síntesis de quitosano injertado con el ácido fólico mediante un espaciador PEG está descrito en la publicación de Peggy Chan et al., *Biomaterials*, Volume 28, Issue 3, 2007, pp 540-549.

Se han utilizado los siguientes reactivos para la realización de este ejemplo:

- quitosano (masa molar Mn de 255 kDa, viscosidad: 200-800 cps en 1% de ácido acético, comercializado por la sociedad Sigma-Aldrich)
- la N-hidroxisuccinimida-PEG-Maleimida (NHS-PEG-MAL, Mn 3400 Da, comercializada por la sociedad Nektar, NOF Corporation, Tokyo, Japón)
- el éster succinimidil de monometoxi-PEG (mPEG-SPA, Mn 5.000 Da, comercializado por la sociedad Nektar, NOF Corporation, Tokyo, Japón).

El quitosano es desacetilado previamente para obtener un grado de acetilación del 82% (determinado por $^1\text{H-NMR}$) según el procedimiento descrito por Wang LS (Thesis, National University of Singapore, Singapur, 2001).

Se han disuelto 100 mg de quitosano en 50 mL de disolución de ácido acético (20%). Se ha ajustado el pH de la disolución a 6 por adición de hidróxido de sodio y se ha introducido el mPEG-SPA en la mezcla de reacción. La mezcla se deja reaccionar durante 24 horas a temperatura ambiente con agitación. El producto obtenido se ha dializado durante 24 horas contra agua desionizada utilizando una membrana con un umbral de corte de 12,000 Da (Spectrum Laboratories, EEUU) y finalmente, liofilizado.

Para sintetizar el quitosano injertado con PEG y FA, se ha preparado el éster de N-hidroxisuccinimida de FA según el método descrito por J.H. Van Steenis et al., *J Control Release* 87 (2003), pp. 167-176.

De forma resumida, se ha añadido 1 g de FA a una mezcla de DMSO anhidro (40 mL) y trietilamina (TEA, 0,5 mL). Se ha agitado la mezcla protegida de la luz durante la noche, en condiciones anhidras. Los otros reactivos, diciclohexilcarbodiimida (DCC, 0,5 g) y N-hidroxisuccinimida (NHS, 0,52 g) se han añadido y la mezcla se deja reaccionar durante 18 horas protegida de la luz y en condiciones anhidras. El producto secundario, la diciclohexilurea (DCU) que ha precipitado, ha sido retirada por filtración. El DMSO y el TFA se han evaporado a vacío. El producto de la reacción se ha secado a vacío, luego se ha disuelto en 1,5 mL de mezcla 2:1 (v:v) de DMSO y TEA. Se ha vuelto a añadir una cantidad equimolar de 2-aminoetanol (Wako) y se ha dejado continuar la reacción durante la noche en condiciones anhidras. Así, se ha podido introducir un grupo tiol en el ácido fólico y el producto resultante se denomina FA-SH.

Se han disuelto 100 mg de quitosano en 50 mL de disolución de ácido acético (20%). El pH de la disolución se ajusta a 6 por adición de hidróxido de sodio y se introducen 100 mg de NHS-PEG-Mal en la mezcla de reacción. La mezcla se deja durante 3 horas a temperatura ambiente con agitación, luego se ajusta el pH a 7. La mezcla se deja reaccionar durante la noche, en condiciones anhidras. Se ha añadido el FA-SH sintetizado como antes de forma gradual con agitación y se ha ajustado el pH a 6,5-7,5 con sosa.

El conjugado obtenido denominado FA-PEG chi lleva FA acoplado al quitosano mediante un brazo espaciador de PEG, lo que es una ventaja para alcanzar al receptor del ácido fólico (tal como se ha descrito en la bibliografía, véase por ejemplo: A. Gabizon, H. Shmeeda, A.T. Horowitz y S. Zalipsky, Tumor cell targeting of liposome-entrapped drugs with phospholipids-anchored folic acid-PEG conjugates, *Adv Drug Deliv Rev* 56 (2004), pp. 1177-1192.

El grado de sustitución se puede ajustar haciendo variar la relación en masa PEG: quitosano utilizado en la reacción. Este polímero ha sido dializado durante 48 horas contra agua desionizada utilizando una membrana con un umbral de corte de 12,000 Da (Spectrum Laboratories, EEUU) y finalmente, liofilizado.

c) Síntesis n° 3:

Los sólidos híbridos pueden ser modificados en superficie por adsorción de polisacáridos tales como el dextrano injertado con la biotina.

Por lo tanto, se puede considerar la adsorción, en lugar del dextrano injertado con la biotina, el quitosano injertado con el ácido fólico (sintetizado tal como se describe en la publicación mencionada anteriormente), y eventualmente, si es necesario, injertado también con otros compuestos hidrófobos como el colesterol o los eslabones alifáticos, con el fin de asegurar una mejor adhesión a nivel de la superficie de las nanopartículas.

Una funcionalización de superficie podría hacerse también mediante adsorción de otros polisacáridos injertados con el FA.

d) Síntesis n° 4:

Los sólidos híbridos se pueden modificar en superficie con PEG durante su síntesis. Se propone sustituir el monometoxi PEG monoácido utilizado durante esta síntesis por PEG monoácido que comprende una función reactiva bloqueada al final de la cadena tal como el producto comercial:

Boc-PEG-carbonatoNHS, MW 5.000, Boc = tert-butoxicarbonilo

Referencia SUNBRIGHT® BO-050TS, NOF Corporation

Después de la reacción, tal como se indica en el ejemplo, excepto que se utilizarán mezclas de MeO-PEG-COOH y Boc-PEG-carbonatoNHS (relaciones en masa 1:0.05 a 1:0.5) en lugar de MeO-PEG-COOH, haciendo la desprotección por adición de ácido trifluoroacético (TFA)

5 Protocolo posible:

Se añaden 0,6 mL de TFA a una suspensión de 300 mg de nanopartículas en 2 mL de agua. Se deja reaccionar durante 1 hora a T ambiente con agitación magnética. Se aíslan las partículas por centrifugación y se lavan tres veces con agua bidestilada.

Se funcionalizan los grupos reactivos en superficie con ligandos tales como el FA, por ejemplo en la síntesis A.

10 e) *Caracterización de las nanopartículas:*

La cantidad acoplada de ácido fólico efectivamente acoplada a las nanopartículas se podrá determinar después de la degradación de éstas en un medio ácido, neutralización a pH 7, y luego redisolución en un disolvente apropiado, tal como el diclorometano, el DMSO, o una mezcla de estos dos disolventes. Entonces, se podrá cuantificar el ácido fólico mediante una medida de la absorbancia UV (a 358 nm, el coeficiente de extinción molar E del ácido fólico es 15,76 M⁻¹ cm⁻¹).

15 Para verificar que el ácido fólico se encuentra en la superficie de las nanopartículas, se podría utilizar una técnica tal como la resonancia de superficie de plasmones (BIAcore). La proteína de enlace al ácido fólico («folate binding protein») se inmovilizará a nivel de la superficie del detector, sobre una fina película de dextrano activado (procedimiento clásico recomendado por el constructor BIAcore). La cantidad de nanopartículas efectivamente unidas a este soporte se evaluará con respecto a la de la cantidad de nanopartículas no recubiertas de ácido fólico.

Ejemplo 27: Formulación de sólidos MOF mixtos: a base de Gadolinio y de hierro)

Son posibles dos condiciones de síntesis:

Síntesis N° 1:

25 0,028 g (0,5 mmoles) de polvo de hierro metálico Fe° (Riedel de Haën, 99%), 0,225 g de nitrato de gadolinio(III) hexahidratado (0,5 mmoles, Aldrich, 99,9%), 0,140 g de ácido 1,3,5 bencenotricarboxílico (0,666 mmoles, Aldrich 95%) dispersados en 10 mL de agua desionizada, se deja todo ello durante 24 horas a 180°C en un recipiente de Teflón de 23 mL colocado en una Bomba metálica PAAR. A continuación se filtra el sólido y se lava con agua y luego etanol.

Síntesis N° 2:

30 0,065 g (-0,5 mmoles para 1 hierro por trímero) de acetato de hierro (III) (preparado según la síntesis descrita en el ejemplo 1), 0,225 g de nitrato de gadolinio(III) hexahidratado (0,5 mmoles, Aldrich, 99,9%), 0,140 g de ácido 1,3,5 bencenotricarboxílico (0,666 mmoles, Aldrich 95%) dispersados en 10 mL de agua desionizada (o metanol o etanol o dimetilformamida), se dejan durante 12 horas a 150°C en un recipiente de Teflón de 23 mL colocado en una Bomba metálica PAAR. A continuación se filtra el sólido y se lava con agua y luego etanol.

35 Ejemplo 28: Otros sólidos MOF: encapsulación de la urea en un carboxilato de Zirconio y en fosfonato de titanio.

No hay evidencia que muestre que el titanio (Ti) o el zirconio (Zr) constituyan un riesgo para la salud, razón por la que se han elegido para la realización de este ejemplo. En efecto, el titanio actualmente se utiliza en implantes como dióxido de titanio, en el que no ocurre ninguna reacción adversa en los tejidos, lo que sugiere que es biológicamente compatible. Además, la administración intravenosa de 250 mg/kg en ratas muestra al dióxido de titanio como una sustancia inerte (C.B. Huggings, J.P. Froehlich, *J. exp. Med.*, 124, 1099, 1966). Más concretamente, estudios sobre titanatos han mostrado una dosis letal 50 (DL50) oral en ratas de más de 12 g/kg (J.R. Brown, E. Mastromatteo, *Ind. Med. Surg.*, 31, 302, 1962).

45 Zr es un elemento traza en el organismo e incluso si su presencia en el organismo es relativamente elevada, no se ha demostrado todavía ninguna función metabólica específica con respecto al elemento Zr. Aparentemente, este metal no es ni tóxico ni esencial (S. Ghosh, A. Sharma, G. Talukder, *Biological Trace Element Research*, 35 (3), 247, 1992). Por el contrario, desde su utilización en nuevos materiales o como agente de contraste por rayos X, se hacen necesarios estudios más a fondo sobre su toxicidad (oral DL50 en la rata del ZrCl₄ 1.7 g/kg).

50 De la misma forma, es posible utilizar ligandos orgánicos con grupos que forman complejos con el metal distintos de los carboxilatos, como imidazolatos, catecolatos o fosfonatos. En los ejemplos que siguen, se ha elegido el ligando orgánico N,N'-piperazinabis(metilenfosfonato) como ligando fosfonato complejante. Los fosfonatos generalmente son más complejantes que los carboxilatos, dando estructuras más estables. En efecto, se podrá modificar el metal,

el ligando o el grupo complejante para modificar las propiedades de los sólidos (biodegradación, hidrófilo, interacciones molécula activa-matriz...).

a) Síntesis del difosfonato de titanio MIL-91(Ti): $(\text{TiO}(\text{H}_2\text{L}) \cdot n\text{H}_2\text{O})$ ($n \approx 4.5$, $\text{L} = \text{O}_3\text{P}-\text{CH}_2-\text{NC}_4\text{H}_8\text{N}-\text{CH}_2-\text{PO}_3$)

- 5 El sólido poroso N,N'-piperazinabis(metilenfosfonato) de titanio (IV) MIL-91(Ti) se ha preparado por síntesis hidrotermal a partir de una mezcla de 96 mg de $\text{TiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 270 mg de ácido N,N'-piperazinabis(metilenfosfónico) (elaborado según el procedimiento descrito por Moedritzer, K.; Irani, R. R. *J. Org. Chem.* 31, 1603, 1966), 0,04 mL de ácido fluorhídrico HF (Prolabo Normapur 40%), y 4,95 mL de agua desionizada se introducen sin agitación en un recipiente de teflón de 23 mL; este últimos se coloca a continuación en un recipiente metálico PAAR y se pone todo a continuación a 210°C durante 96 horas.
- 10 El dióxido de titanio hidratado $\text{TiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ se prepara a partir de 500 mL de TiCl_4 (Aldrich, 99%) introducido lentamente en 500 mL de una disolución de ácido hidrocórico HCl (Prolabo, 36%) con agitación. La disolución amarilla se neutraliza a continuación lentamente por adición de amoníaco (Prolabo, 20%) a temperatura ambiente con agitación. La introducción de la base se detiene cuando el pH de la suspensión llega a 7-8. El precipitado blanco resultante se filtra en primer lugar y luego se lava tres veces con un exceso de agua destilada. El sólido se seca a continuación a 100°C durante 24 horas y luego se vuelve a dispersar en un gran volumen de agua (1 litro) para retirar las trazas de sales de amonio y luego se filtra y enjuaga varias veces con agua destilada. El sólido final se seca con aire.
- 15

El tamaño de partícula monodisperso medido por difusión de luz es de 265 nm.

b) Síntesis del carboxilato de zirconio ZrBDC

- 20 Una mezcla preparada a partir de 235 mg de ZrCl_4 (Alfa Aesar, 99,5%), 230 mg de ácido tereftálico (Aldrich, 98%) y 5 mL de dimetilformamida (Acros Organics, extra-dry) se introduce en un recipiente de teflón con agitación durante 10 minutos a temperatura ambiente.

A continuación, se introduce el recipiente de Teflón en un recipiente metálico PAAR y luego se pone en una estufa a 150°C durante 15 horas. Después de volver a temperatura ambiente, se recupera el sólido por filtración y se seca al aire. El disolvente contenido en los poros se retira por calcinación del sólido a 200°C con aire durante 15 horas.

- 25 El tamaño de partícula medido por difusión de luz presenta dos poblaciones, una mayoritaria a 150 nm y otra muy minoritaria a 1 μm .

c) Encapsulación de la urea

- 30 Para la inserción de cosméticos en los materiales MOF, se ponen en suspensión 150 mg de sólido MIL-91(Ti) o de sólido ZrCO , previamente deshidratados (150°C/12h), en 10 mL de una disolución de urea en agua destilada (500 mg/mL) o en etanol (30 mg/mL) con agitación a temperatura ambiente durante 5 días. Después de adsorción, el sólido cargado de cosméticos se recupera por centrifugación a 10.000 rpm durante 15 min y se seca con aire. Los sólidos se caracterizan por DRX y FTIR. La cuantificación del contenido en cosmético adsorbido se realiza por ATG.

- 35 La DRX permite verificar que la estructura cristalina de los dos materiales se mantiene después de la encapsulación de la urea. La intensidad relativa de los primeros picos de difracción varía en el fosfonato de titanio MIL-91 después de la adsorción del cosmético debido a la presencia de la urea en los poros.

En el tereftalato de zirconio que contiene la urea, encapsulada a partir de una disolución en etanol, se observa un ensanchamiento de las líneas (picos de difracción). Se puede explicar por una pequeña degradación después de 5 días en etanol.

- 40 La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) permite verificar la aparición de bandas correspondientes a la urea a 1680 ($\nu(\text{C}=\text{O})$) y 3400 cm^{-1} ($\nu(\text{N}-\text{H})$), lo que indica que la urea está presente en los sólidos.

Las cantidades de urea encapsuladas por los materiales MIL-91 et ZrCO son muy grandes, hasta el 41 y 66% referidas al sólido seco, respectivamente (tal como se describe en la tabla siguiente).

Tabla 27. Cuantificación de la urea encapsulada en el fosfonato de Ti y carboxilato de Zr por ATG

	H ₂ O (%)	Urea (% , referida al sólido seco)	Ligando (% , referido al sólido seco)
MIL-91	17,8	-	26,8
MIL-91 U H ₂ O	13,0	41,1	29,9
ZrCO	23,8	-	52,7
ZrCO U H ₂ O	5,3	65,9	51,5

	H ₂ O (%)	Urea (% , referida al sólido seco)	Ligando (% , referido al sólido seco)
ZrCO U EtOH	16,2	17,5	54,8

Lista de las referencias

- [1] Solicitud de patente estadounidense US 10/039.733
- [2] Solicitud de patente estadounidense US 10/061.147
- [3] Solicitud de patente estadounidense US 10/137.043
- 5 [4] Patente estadounidense US 5.648.508
- [5] Patente estadounidense US 6.638.494
- [6] Bone Marrow Transplant. 2002, 30 (12), 833-841
- [7] Patente estadounidense US 4.329.332
- 10 [8] J. Bouligand, P. Couvreur, A. Layre, A. Deroussent, A. Paci, E. Delain, G. Vassal, R. Gref « Busulfan-loaded long-circulating nanospheres, a very attractive challenge for both galenists and pharmacologists », *Int. J. Pharm.*, 2004
- [9] K. Byrapsa, M. Yoshimura, « Handbook of hydrothermal technology », Noyes Publications, Parkridge, New Jersey USA, William Andrew Publishing, LLC, Norwich NY USA, 2001
- [10] G. Tompsett, W. C. Conner, K. S. Yngvesson, *ChemPhysChem*. 2006, 7, 296
- [11] S.-E. Park, J.-S. Chang, Y. K. Hwang, D. S. Kim, S. H. Jhung, J. -S. Hwang, *Catal. Survey Asia* 2004, 8, 91
- 15 [12] C. S. Cundy, Collect. Czech. *Chem. Commum.* 1998, 63, 1699 ;
- [13] S. H. Jhung, J.-H. Lee, J.-S. Chang, *Bull. Kor. Chem. Soc.* 2005, 26, 880 .
- [14] A. Pichon, *Cryst. Eng. Comm.* 8, 2006, 211-214
- [15] D. Braga, *Angew. Chem. Int. Ed.* 45, 2006, 142-246
- [16] D. Braga, *Dalton Trans.*, 2006, 1249-1263.
- 20 [17] Sabine Balthasar, Kerstin Michaelis, Norbert Dinauer, Hagen von Briesen, Jörg Kreuter and Klaus Langer, "Preparation and characterisation of antibody modified gelatin nanoparticles as drug carrier system for uptake in lymphocytes", *Biomaterials*, 2005, 26, 15, 2723-2732.
- [18] Ruxandra Gref, Patrick Couvreur, Gillian Barratt and Evgueni Mysiakine, "Surface-engineered nanoparticles for multiple ligand coupling", *Biomaterials*, 2003, 24, 24, 4529-4537
- 25 [19] Stella B, Marsaud V, Arpicco S, Geraud G, Cattel L, Couvreur P, Renoir JM., "Biological characterization of folic acid-conjugated poly(H₂NPEGCA-co-HDCA) nanoparticles in cellular models", *J Drug Target*. 2007, 15 (2), 146-53
- [20] Hattori Y, Maitani Y., "Folate-linked lipid-based nanoparticle for targeted gene delivery", *Curr Drug Deliv*. 2005, 2(3), 243-52
- 30 [21] Mulder WJ, Griffioen AW, Strijkers GJ, Cormode DP, Nicolay K, Fayad ZA, « Magnetic and fluorescent nanoparticles for multimodality imaging », *Nanomed*. 2007, 2 (3), 307-324
- [22] A.K. Gupta, R.R. Naregalkar, V.D. Daidya, M. Gupta, « Recent advances on surface engineering or magnetic iron oxide nanoparticles and their biomedical applications », *Nanomed*. 2007, 2 (1), 23-39
- [23] P Caravan, « Strategies for increasing the sensitivity of gadolinium based MRI contrast agents », *Chem. Soc. Rev.*, 2006, 35, 512-523
- 35 [24] Yan-Ping Ren, La-Sheng Long, Bing-Wei Mao, You-Zhu Yuan, Rong-Bin Huang, and Lan-Sun Zheng, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2003, 42, No. 5, 532
- [25] C.T. Dziobkowski, T.J. Wroblewski, D.B. Brown, *Inorg. Chem.*, 1982, 21, 671
- [26] C. Serre, F. Millange, C. Thouvenot, M. Nogues, G. Marsolier, D. Loüer, G. Férey *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, 124, 13519
- 40 [27] T. Loiseau, C. Mellot-Draznieks, H. Muggera, G. Férey, M. Haouas, F. Taulelle, *C.R.Acad.Sci*, 2005, 8, 765

- [28] C. Serre, F. Millange, S. Surblé, G. Férey *Angew. Chem. Int. Ed.* 2004, 43, 6286:
- [29] Suzy Surblé, Christian Serre, Caroline Mellot-Draznieks, Franck Millange, and Gérard Férey: *Chem. Comm.* 2006 284-286
- [30] C. Serre, C. Mellot-Draznieks, S. Surblé, N. Audebrand, Y. Fillinchuk and G. Férey: *Science*, 2007, 3151828.
- 5 [31] C. Mellot-Draznieks, C. Serre, S. Surblé, N. Audebrand and G. Férey: *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127, 16273-16278
- [32] Sung Hwa Jung, Jin-Ho Lee, Ji Woong Yoon, Christian Serre, Gérard Férey and Jong-San Chang « Facile Synthesis of the Chromium Terephthalate MIL-101 with Giant Pores and Its Sorption Ability for Benzene », *Adv. Mater.*, 2006, 19(1), 121-124.
- 10 [33] B. Baleux, G. Champetier « Chimie analytique-dosage colorimétrique d'agents de surface non ioniques polyoxyéthylènes à l'aide d'une solution iode-iodurée », *C.R. Acad. Sciences Paris*, 1972, série C, 274, 1617-1620 .
- [34] R. Gref, M. Lück, P. Quellec, M. Marchand, E. Dellacherie, S. Harnisch, T. Blunk and R. H. Müller, "Stealth" corona-core nanoparticles surface modified by polyethylene glycol (PEG): influences of the corona (PEG chain length and surface density) and of the core composition on phagocytic uptake and plasma protein adsorption", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2000, 18, 3-4, 301-313
- 15 [35] G. Oros, T. Cserhati, E. Forgacs, *Chemosphere* 52, 2003, 185
- [36] A.M. Badawi, E.M.S. Azzam, S.M.I. Morsy, *Bioorg. Med. Chem.*, 14, 2006, 8661
- [37] W-J. Tsai, Y-J Shiao, S-J Lin, W-F Chiou, L-C Lin, T-H Yang, C-M teng, T-S Wu, L-M Yang, *Bioorg. Med. Chem. Letters* 16, 2006, 4440
- 20 [38] Kim, Y.; Swager, T. M. *Chem. Commun.* , 2005, 372-374 .
- [39] L. Anzalone, J. A. Hirsch, *J. Org. Chem.*, 1985, 50, 2128-213
- [40] Shiotani Akinori, *Z. Naturforsch.* 1994, 49, 12, 1731-1736
- [41] Ameerunisha et al., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1679, 1995
- 25 [42] Kohler N, Fryxell GE, Zhang MQ. A bifunctional poly(ethylene glycol) silane immobilized on metallic oxide-based nanoparticles for conjugation with cell targeting agents. *J Am Chem Soc* 2004; 126: 7206-7211
- [43] Peggy Chan, Motoichi Kurisawa, Joo Eun Chung, Yi-Yan Yang, Synthesis and characterization of chitosan-g-poly(ethylene glycol)-folate as a non-viral carrier for tumor-targeted gene delivery, *Biomaterials*, Volume 28, Issue 3, 2007, pp 540-549
- 30 [44] Wang LS. Polyelectrolyte complex (PEC) membrane composed of chitosan and alginate for wound dressing application. Thesis, National University of Singapore, Singapore, 2001.
- [45] J.H. Van Steenis, E.M. van Maarseveen, F.J. Verbaan, R. Verrijck, D.J.A. Crommelin and G. Storm et al., Preparation and characterization of folate-targeted PEG-coated pDMAEMA-based polyplexes, *J Control Release* 87 (2003), pp. 167-176.
- [46] Roch et al, *J Chem Phys* 110, 5403-5411, 1999
- 35 [47] Kathryn E. Luker et Gary D. Luker, Applications of bioluminescence imaging to antiviral research and therapy: Multiple luciferase enzymes and quantitation, *Antiviral Research*, Volume 78, Issue 3, June 2008, Pages 179-187
- [48] C.B. Huggings, J.P. Froehlich, *J. exp. Med.*, 124, 1099, 1966)
- [49] J.R. Brown, E. Mastromatteo, *Ind. Med. Surg.*, 31, 302, 1962.
- [50] S. Ghosh, A. Sharma, G. Talukder, *Biological Trace Element Research*, 35 (3), 247, 1992.
- 40 [51] Moedritzer, K.; Irani, R. R. *J. Org. Chem.* 31, 1603, 1966

REIVINDICACIONES

1. Sólido MOF cristalino poroso isorreticular que comprende una sucesión tridimensional de restos que responden a la siguiente fórmula (I):



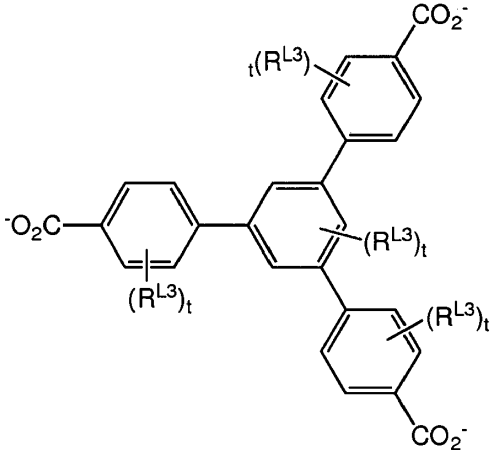
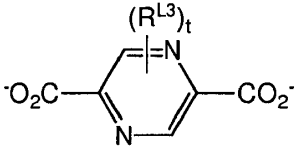
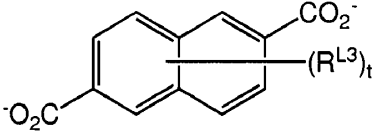
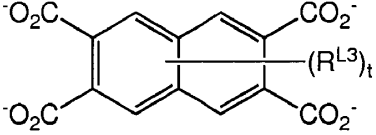
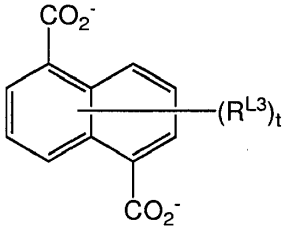
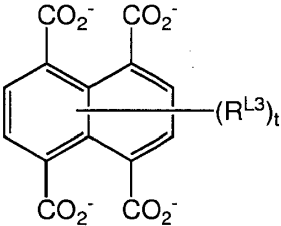
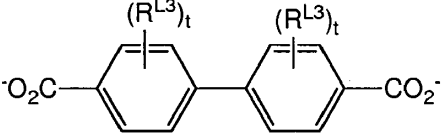
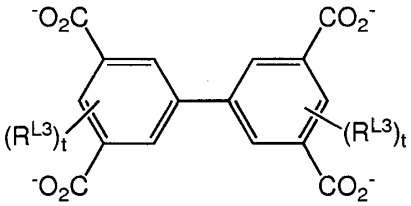
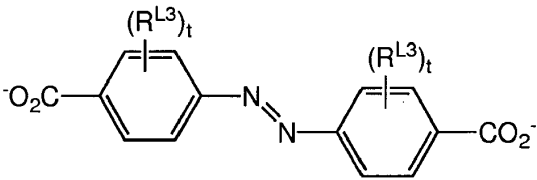
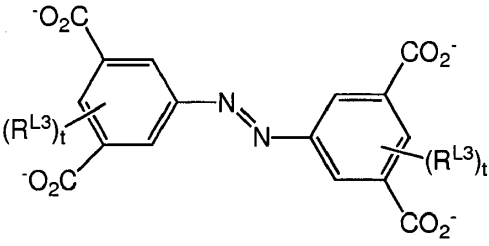
5 en la que:

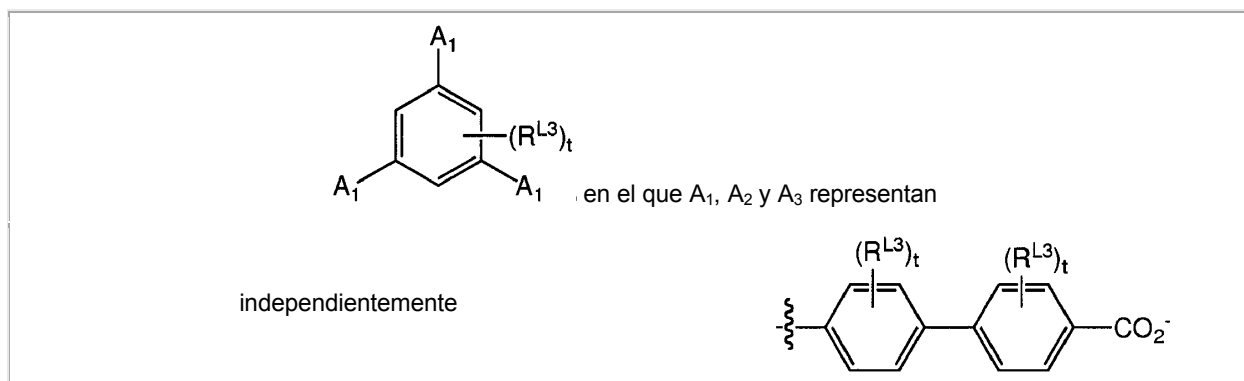
en cada caso, M representa independientemente un ión metálico Fe^{2+} o Fe^{3+} ;

m, k, l y p son números ≥ 0 elegidos de forma que se respete la neutralidad de las cargas del resto; preferentemente, m, k, l y p son independientemente de 0 a 4, por ejemplo m y p son independientemente 1, 2 ó 3 y/o k y l son independientemente 0 ó 1;

10 X es un ligando elegido entre el grupo que comprende OH^- , Cl^- , F^- , I^- , Br^- , SO_4^{2-} , NO_3^- , ClO_4^- , $R^1-(COO)_n^-$, $R^1-(SO_3)_n^-$, $R^1-(PO_3)_n^-$, en el que R^1 es un hidrógeno, un alquilo de C_1 a C_8 , lineal o ramificado, n = 1 a 6;

L es un ligando espaciador di-, tri-, tetra- o hexa-carboxilato elegido entre el grupo formado por:



en los que:

X_1 representa O o S,

s representa un número entero de 1 a 4,

en cada caso, t representa independientemente un número entero de 1 a 4,

5 u representa un número entero de 1 a 7,

R^{L1} y R^{L2} representan independientemente H, un halógeno o un alquilo de C_1 a C_6 , y

en cada caso, R^{L3} representa independientemente H, un halógeno, OH, NH_2 , NO_2 o un alquilo de C_1 a C_6 ;

10 en el que la superficie está modificada en que comprende al menos un agente de superficie orgánico elegido entre el grupo que comprende un oligosacárido, un polisacárido, un glicosaminoglicano, un polímero, un tensioactivo, una vitamina, una coenzima, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo, un aminoácido o un péptido.

2. Sólido según la reivindicación 1, en el que el ligando L es un ligando di-, tri- o tetra- carboxilato elegido entre el grupo formado por: $C_2H_2(CO_2^-)_2$ (fumarato), $C_2H_4(CO_2^-)_2$ (succinato), $C_3H_6(CO_2^-)_2$ (glutamato), $C_4H_4(CO_2^-)_2$ (muconato), $C_4H_8(CO_2^-)_2$ (adipato), $C_7H_{14}(CO_2^-)_2$ (azelato), $C_5H_3S(CO_2^-)_2$ (2,5-tiofenodicarboxilato), $C_6H_4(CO_2^-)_2$ (tereftalato), $C_6H_2N_2(CO_2^-)_2$ (2,5-pirazinodicarboxilato), $C_{10}H_6(CO_2^-)_2$ (naftaleno-2,6-dicarboxilato), $C_{12}H_8(CO_2^-)_2$ (bifenilo-4,4'-dicarboxilato), $C_{12}H_8N_2(CO_2^-)_2$ (azobencenodicarboxilato), $C_6H_3(CO_2^-)_3$ (benceno-1,2,4-tricarboxilato), $C_6H_3(CO_2^-)_3$ (benceno-1,3,5-tricarboxilato), $C_{24}H_{15}(CO_2^-)_3$ (benceno-1,3,5-tribenzoato), $C_6H_2(CO_2^-)_4$ (benceno-1,2,4,5-tetracarboxilato), $C_{10}H_4(CO_2^-)_4$ (naftaleno-2,3,6,7-tetracarboxilato), $C_{10}H_4(CO_2^-)_4$ (nafataleno-1,4,5,8-tetracarboxilato), $C_{12}H_6(CO_2^-)_4$ (bifenil-3,5,3',5'-tetracarboxilato), y los análogos modificados elegidos entre el grupo que comprende el 2-aminotereftalato, el 2-nitrotereftalato, el 2-metiltireftalato, el 2-clortereftalato, el 2-bromotereftalato, el 2,5-dihidroxotereftalato, el tetrafluorotereftalato, el tetrametiltireftalato, el dimetil-4,4'-bifenildicarboxilato, el tetrametil-4,4'-bifenildicarboxilato, el dicarboxi-4,4'-bifenildicarboxilato, el 2,5-pirazinodicarboxilato, el 2,5 diperfluorotereftalato, azobenceno-4,4'-dicarboxilato, 3,3'-dicloroazobenceno 4,4'-dicarboxilato, 3,3'-dihidroazobenceno-4,4'-dicarboxilato, 3,3'-diperfluoroazobenceno-4,4'-dicarboxilato, 3,5,3',5'-azobencenotetracarboxilato, 2,5-dimetiltireftalato, perfluorosuccinato, perfluoromuconato, perfluoroglutarato, 3,5,3',5'-perfluoro-4,4'-azobencenodicarboxilato, 3,3'-diperfluoroazobenceno 4,4'-dicarboxilato.

3. Sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que el ligando L es un ligando fluorado elegido entre el grupo formado por tetrafluorotereftalato, perfluorosuccinato, perfluoromuconato, perfluoroglutarato, 2,5-diperfluorotereftalato, 3,6-perfluoro 1,2,4,5 bencenotetracarboxilato, 3,5,3',5'-perfluoro-4,4'-azobencenodicarboxilato, 3,3'-diperfluoroazobenceno-4,4'-dicarboxilato.

30 4. Sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que el ligando L es un ligando biológicamente activo elegido entre el grupo formado por $C_7H_{14}(CO_2^-)_2$; aminosalicilato; clodronato, pamidrontato, alendronato, etidronato; meprobamato; porfirinas que comprenden grupos carboxilatos, fosfonatos y/o amino; aminoácidos; azobencenos que comprenden grupos carboxilatos, fosfonatos y/o amino; dibenzofuran-4,6-dicarboxilato, dipicolinato; glutamato, fumarato, succinato, suberato, adipato, nicotinato, nicotinamida, purinas y pirimidinas.

35 5. Sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el ligando X se elige entre el grupo formado por OH^- , Cl^- , F^- , CH_3-COO^- , PF_6^- y ClO_4^- .

6. Sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que al menos en un caso el ligando X es $^{18}F^-$.

7. Sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, estando dicho sólido en forma de nanopartícula.

40 8. Sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el agente de superficie orgánico se elige entre el grupo formado por un oligosacárido, un polisacárido, el quitosano, el dextrano, el ácido hialurónico, la

heparina, el fucoidano, el alginato, la pectina, la amilosa, las ciclodextrinas, el almidón, la celulosa, el xilano, el polietilenglicol (PEG), el plurónico, el alcohol polivinílico y la polietilenimina.

9. Sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el agente de superficie orgánico es una molécula diana elegida entre el grupo formado por: la biotina, el ácido fólico, el ácido lipoico, el ácido ascórbico, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo y un péptido.

10. Sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, comprendiendo dicho sólido en sus poros o en su superficie al menos un principio farmacéuticamente activo y/o una sustancia activa que entra en la formulación de una preparación cosmética y/o un marcador.

11. Sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que el principio farmacéuticamente activo se elige entre el grupo formado por: el taxotero, el busulfán, la azidotimidina (AZT), la azidotimidina fosfatada (AZTP), el cidofovir, la gemcitabina y el tamoxifeno.

12. Sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, comprendiendo dicho sólido en sus poros o en su superficie al menos una molécula fluorescente elegida entre el grupo formado por: las rodaminas, la fluoresceína, la luciferasa, el pireno y derivados, y el aminopirrolidino-7-nitrobenzofurazano.

13. Sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, comprendiendo dicho sólido en sus poros o en su superficie al menos un principio farmacéuticamente activo con una capacidad de carga de 1 a 200% en peso de sólido seco.

14. Sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, comprendiendo dicho sólido en sus poros o en su superficie al menos una sustancia activa que entra en la formulación de una preparación cosmética elegida entre el grupo que comprende la benzofenona, la visnadina y el ácido salicílico.

15. Sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, comprendiendo dicho sólido en sus poros o en su superficie al menos un marcador, eligiéndose éste entre el grupo que comprende un marcador de tecnologías de imágenes médicas, un agente de contraste, un trazador, un marcador radiactivo, un marcador fluorescente y un marcador fosforescente.

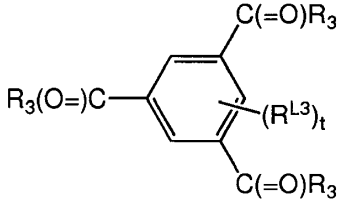
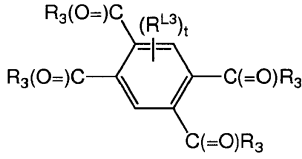
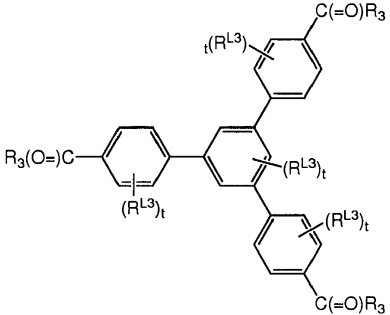
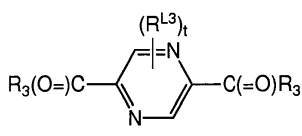
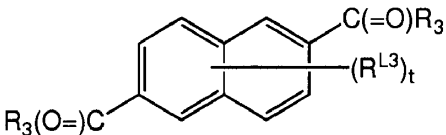
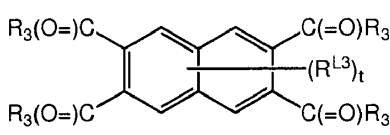
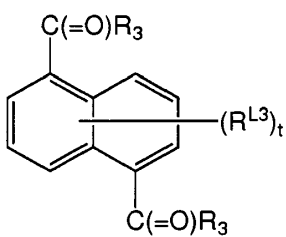
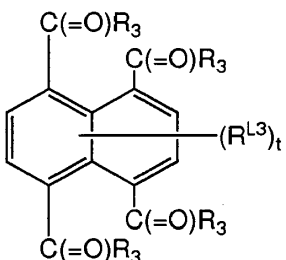
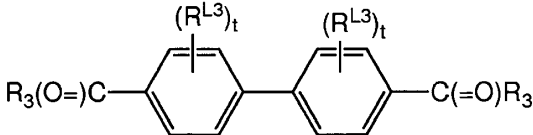
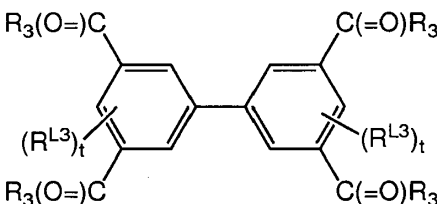
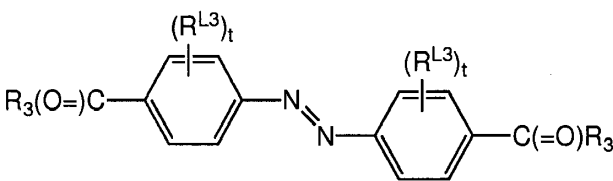
16. Sólido según la reivindicación 15, en el que el marcador se elige entre el grupo formado por: un compuesto fluorescente, un óxido de hierro, un complejo de gadolinio e iones gadolinio directamente presentes en la estructura.

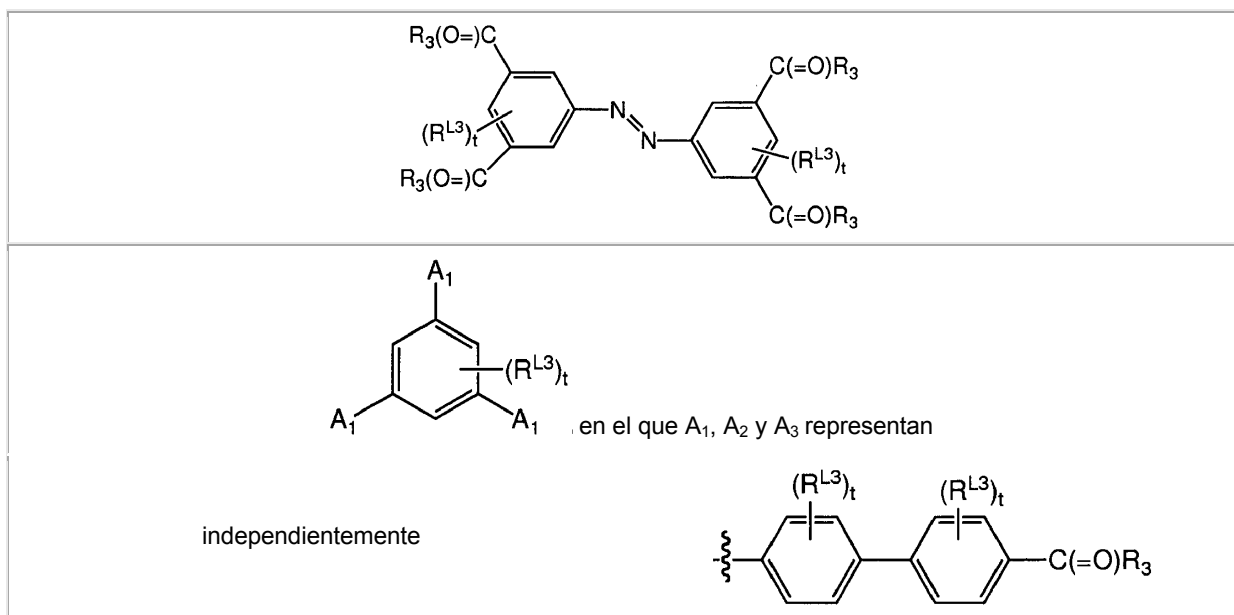
17. Procedimiento de preparación de un sólido tal como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, que comprende:

a) al menos una etapa de reacción (i) que consiste en mezclar en un disolvente polar:

- al menos una disolución que comprende al menos un precursor inorgánico metálico que se presenta en forma de metal M, de una sal del metal M o de un complejo de coordinación que comprende el ión metálico M en el que M es tal como se ha definido en la reivindicación 1;

- al menos un ligando L' di-, tri-, tetra- o hexadentado elegido entre el grupo formado por:



en los que:

R_3 se elige entre el grupo formado por un radical $-OH$, un radical $-OY$ en el que Y representa un catión de metal alcalino, un halógeno, o un radical $-OR^4$, $-O-C(=O)R^4$ o $-NR^4R^{4'}$, en el que R^4 y $R^{4'}$ son radicales alquilo de C_{1-12} ,

X_1 representa O o S,

5 s representa un número entero de 1 a 4,

en cada caso, t representa independientemente un número entero de 1 a 4,

u representa un número entero de 1 a 7,

R^{L1} y R^{L2} representan independientemente H, un halógeno o un alquilo de C_1 a C_6 , y

en cada caso, R^{L3} representa independientemente H, un halógeno, OH, NH_2 , NO_2 o un alquilo de C_1 a C_6 ;

10 b) una etapa (iii) de fijación sobre dicho sólido de al menos un agente de superficie orgánico elegido entre el grupo que comprende un oligosacárido, un polisacárido, un glicosaminoglucano, un polímero, un tensioactivo, las vitaminas, las coenzimas, los anticuerpos o fragmento de anticuerpo, los aminoácidos o los péptidos;

de forma que se obtenga dicho sólido.

15 18. Procedimiento según la reivindicación 17, en el que el ligando L utilizado es un ácido di-, tri- o tetra- carboxílico elegido entre el grupo formado por: $C_2H_2(CO_2H)_2$ (ácido fumárico), $C_2H_4(CO_2H)_2$ (ácido succínico), $C_3H_6(CO_2H)_2$ (ácido glutárico), $C_4H_4(CO_2H)_2$ (ácido mucónico), $C_4H_8(CO_2H)_2$ (ácido adípico), $C_7H_{14}(CO_2H)_2$ (ácido azelaico), $C_5H_3S(CO_2H)_2$ (ácido 2,5-tiofenodicarboxílico), $C_6H_4(CO_2H)_2$ (ácido tereftálico), $C_6H_2N_2(CO_2H)_2$ (ácido 2,5-pirazinodicarboxílico), $C_{10}H_6(CO_2H)_2$ (ácido naftaleno-2,6-dicarboxílico), $C_{12}H_8(CO_2H)_2$ (ácido bifenilo-4,4'-dicarboxílico), $C_{12}H_8N_2(CO_2H)_2$ (ácido azobencenodicarboxílico), $C_6H_3(CO_2H)_3$ (ácido benceno-1,2,4-tricarboxílico), $C_6H_3(CO_2H)_3$ (ácido benceno-1,3,5-tricarboxilato), $C_{24}H_{15}(CO_2H)_3$ (ácido benceno-1,3,5-tribenzoico), $C_6H_2(CO_2H)_4$ (ácido benceno-1,2,4,5-tetracarboxílico), $C_{10}H_4(CO_2H)_4$ (ácido naftaleno-2,3,6,7-tetracarboxílico), $C_{10}H_4(CO_2H)_4$ (ácido naftaleno-1,4,5,8-tetracarboxílico), $C_{12}H_6(CO_2H)_4$ (ácido bifenil-3,5,3',5'-tetracarboxílico), y los análogos modificados elegidos entre el grupo que comprende el ácido 2-aminotereftálico, ácido 2-nitrotereftálico, ácido 2-metiltereftálico, ácido 2-clorotereftálico, ácido 2-bromotereftálico, ácido 2,5-dihidroxotereftálico, ácido 2,5-difluorotereftálico, ácido 2,5-dicarboxitereftálico, ácido dimetil-4,4'-bifenildicarboxílico, ácido tetrametil-4,4'-bifenildicarboxílico, ácido dicarboxi-4,4'-bifenildicarboxílico, ácido 2,5-pirazinodicarboxílico, ácido 2,5-diperfluorotereftálico, ácido azobenceno-4,4'-dicarboxílico, ácido 3,3'-dicloroazobenceno-4,4'-dicarboxílico, ácido 3,3'-dihidroazobenceno-4,4'-dicarboxílico, ácido 3,3'-diperfluoroazobenceno-4,4'-dicarboxílico, ácido 3,5,3',5'-azobencenotetracarboxílico, ácido 2,5-dimetiltereftálico, ácido perfluoroglutárico.

30 19. Procedimiento de preparación de un sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 17 a 18, en el que la etapa de reacción (i) se realiza con al menos una de las siguientes condiciones de reacción:

(i) una temperatura de reacción de $0^\circ C$ a $220^\circ C$;

- (ii) una velocidad de agitación de 0 a 1.000 rpm;
 - (iii) un tiempo de reacción de 1 minuto a 96 horas;
 - (iv) un pH de 0 a 7;
 - (v) la adición de al menos un co-disolvente al disolvente, al precursor, al ligando o a la mezcla de éstos, eligiéndose dicho co-disolvente entre el grupo que comprende el ácido acético, el ácido fórmico y el ácido benzoico;
 - (vi) el disolvente se elige entre el grupo que comprende agua, alcoholes R^S -OH en los que R^S es un radical alquilo de C_1 a C_6 lineal o ramificado, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, acetonitrilo, tetrahidrofurano, dietilformamida, cloroformo, ciclohexano, acetona, cianobenceno, diclorometano, nitrobenzono, etilenglicol, dimetilacetamida o mezclas de estos disolventes, miscibles o no;
 - (vii) en un medio supercrítico;
 - (viii) por microondas y/o con ultrasonidos;
 - (ix) en condiciones de electrólisis electroquímica;
 - (x) en condiciones de utilización de un triturador de cilindros;
 - (xi) en un flujo gaseoso.
20. Procedimiento de preparación de un sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 17 a 19, que comprende además una etapa (ii) de introducción en dicho sólido de al menos un principio farmacéuticamente activo y/o una sustancia activa que entra en la formulación de una preparación cosmética y/o marcador.
21. Sólido susceptible de ser obtenido por un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 17 a 20.
22. Utilización de un sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 para la fabricación de un marcador utilizable en tecnologías de imágenes médicas.
23. Utilización de un sólido según una de las reivindicaciones 10 a 16 que comprende en sus poros o en su superficie al menos un principio farmacéuticamente activo, para la fabricación de un medicamento.
24. Utilización de un sólido según una cualquiera de las reivindicaciones 3, 6 y 10 para la fabricación de un marcador utilizable en tecnologías de imágenes por tomografía por emisión de positrones.

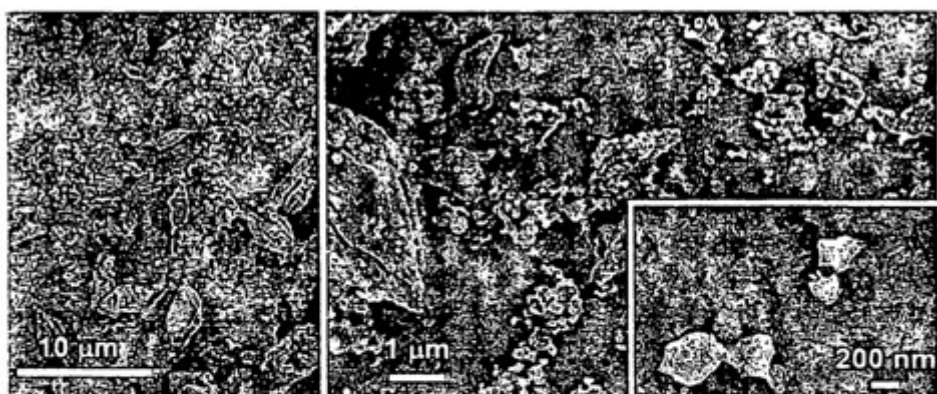


Figura 1



Figura 2

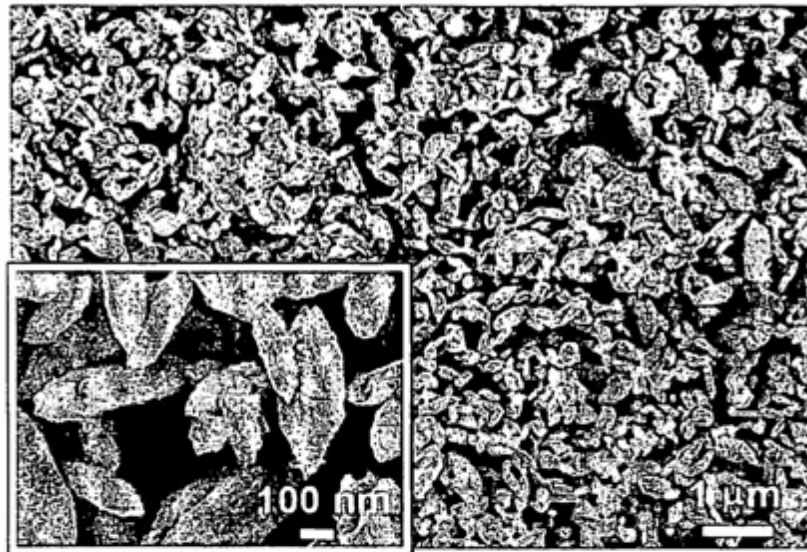


Figura 3

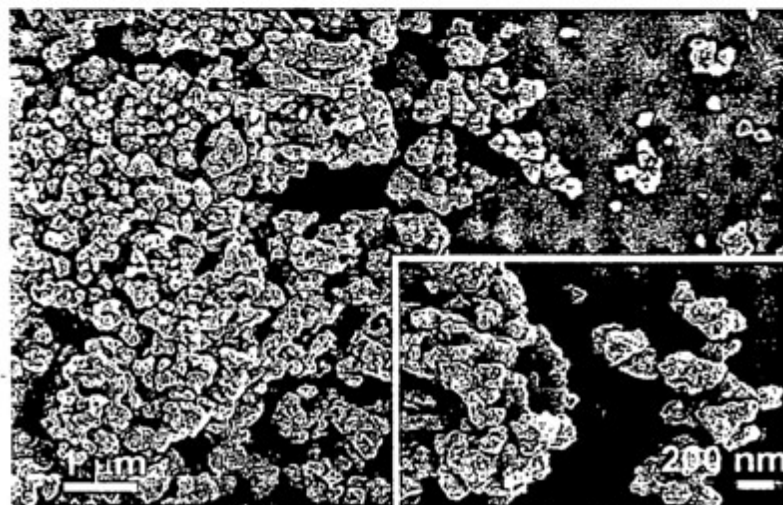


Figura 4

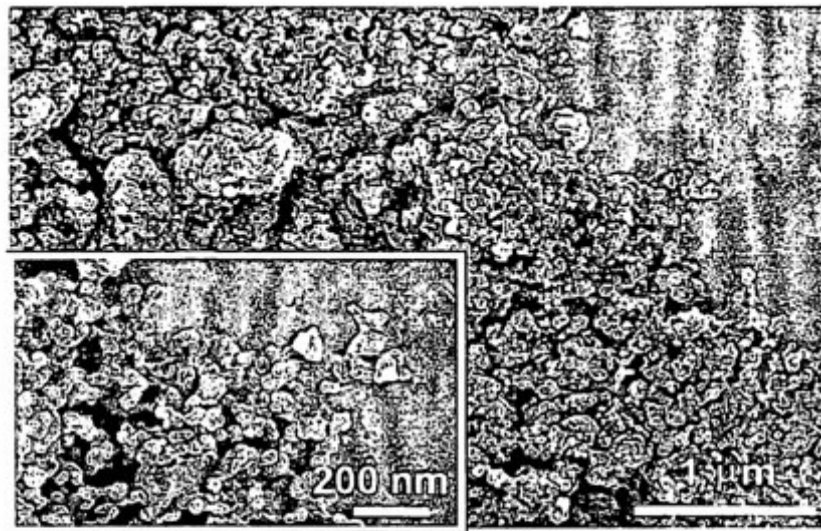


Figura 5



Figura 6

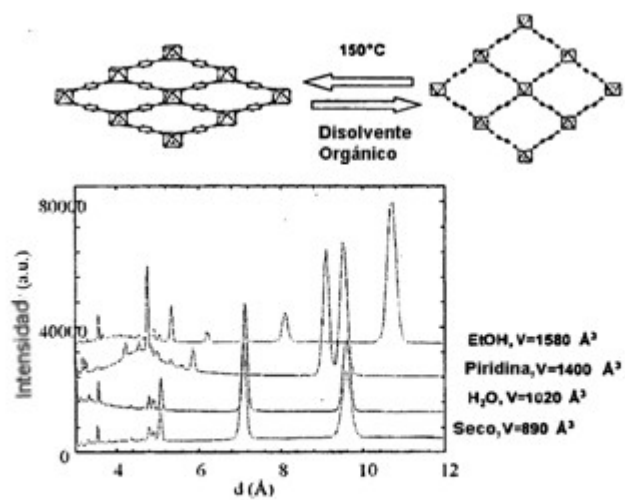


Figura 7

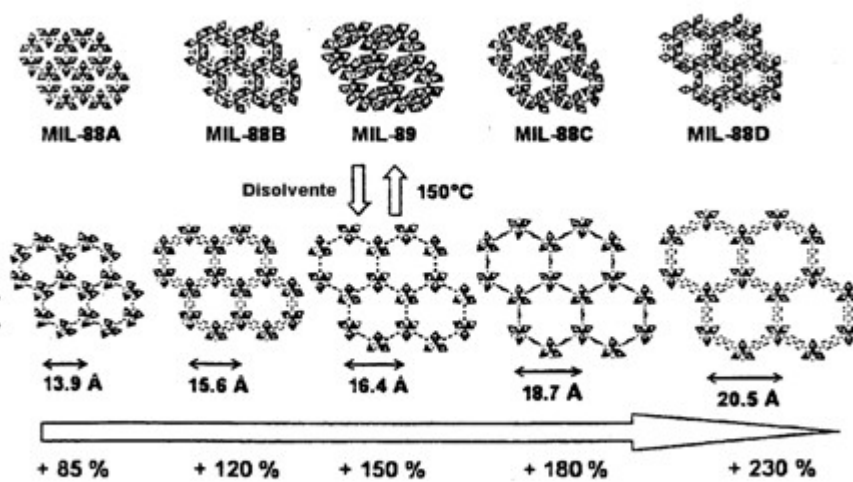


Figura 8

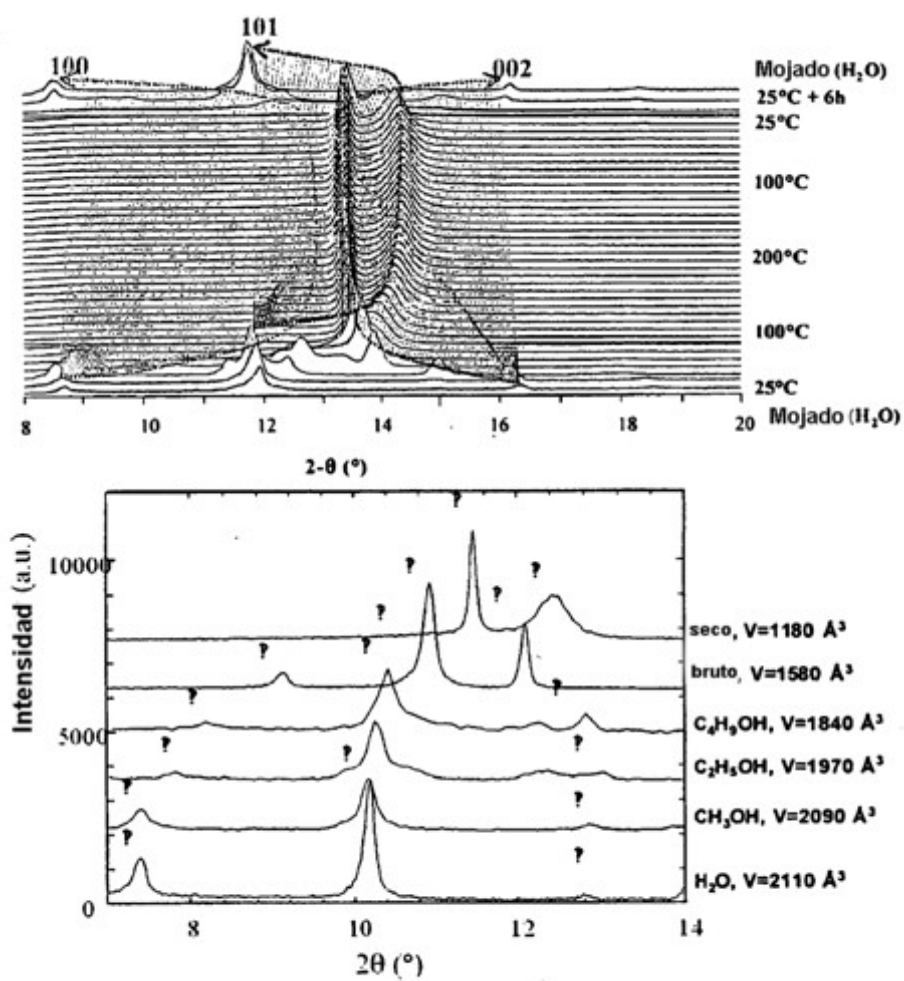


Figura 9

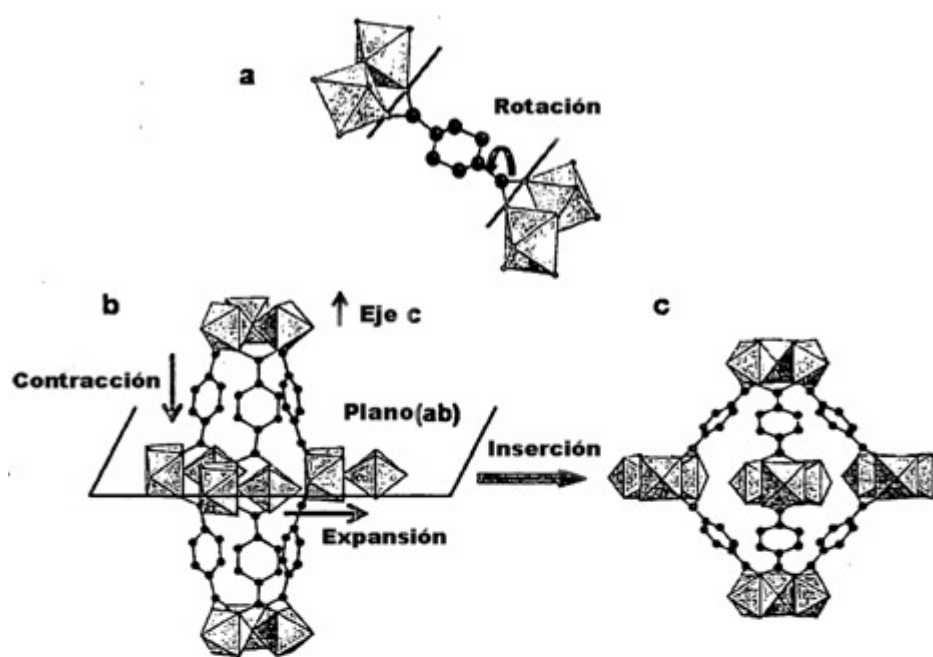


Figura 10

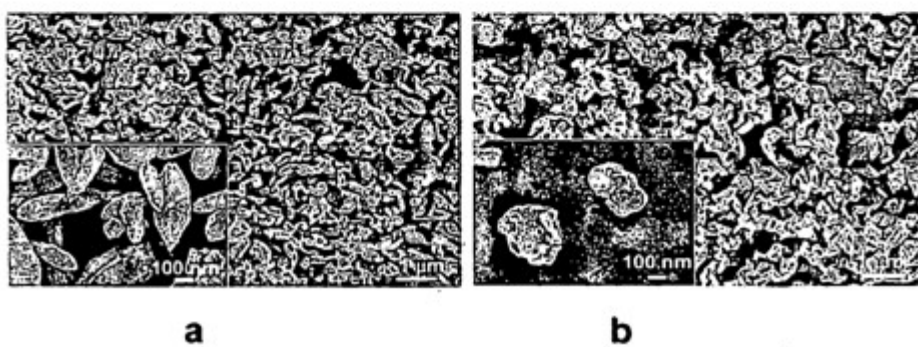


Figura 11

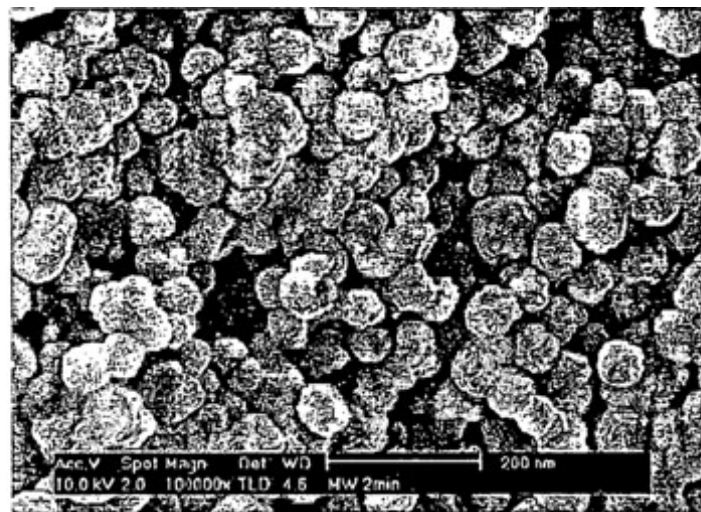


Figura 12



Figura 13

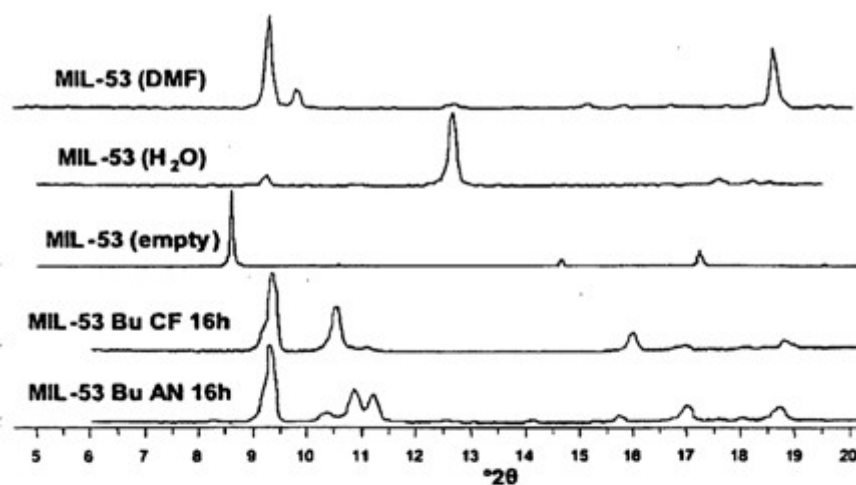


Figura 14

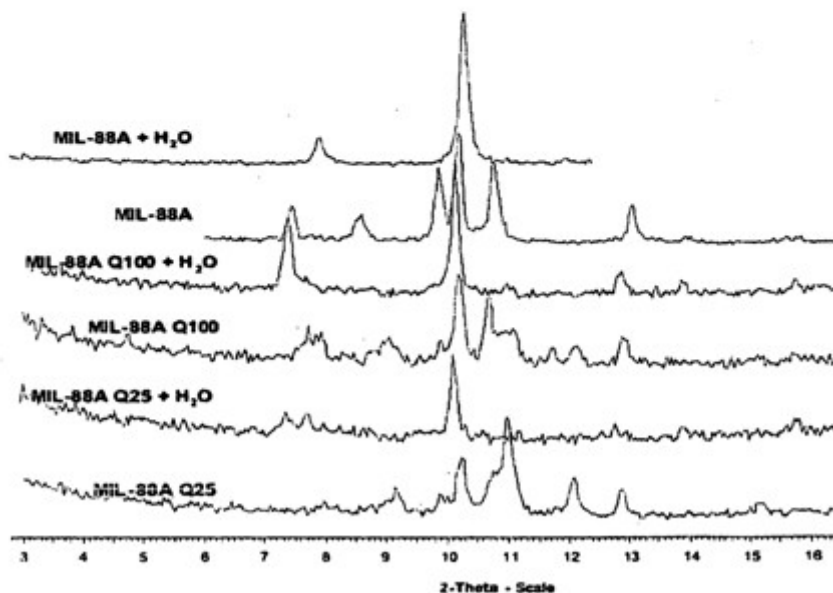


Figura 15

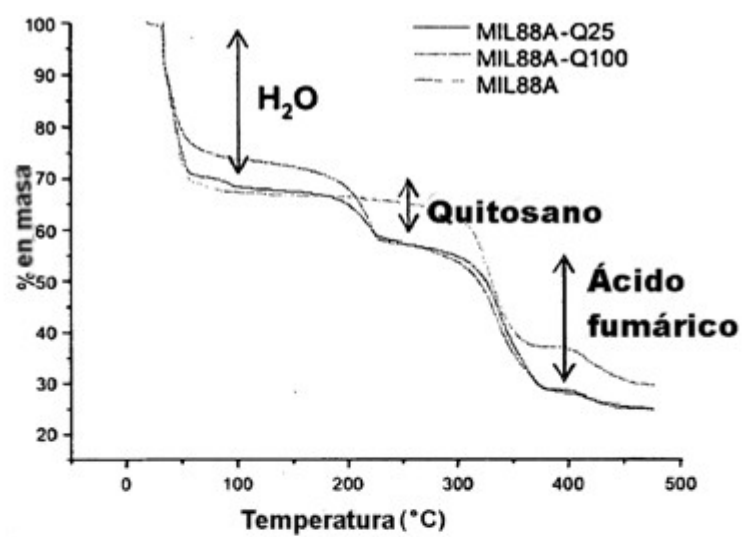


Figura 16

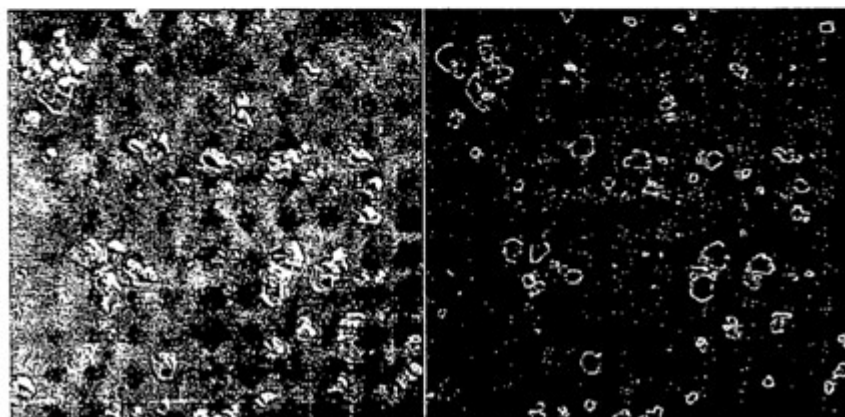


Figura 17

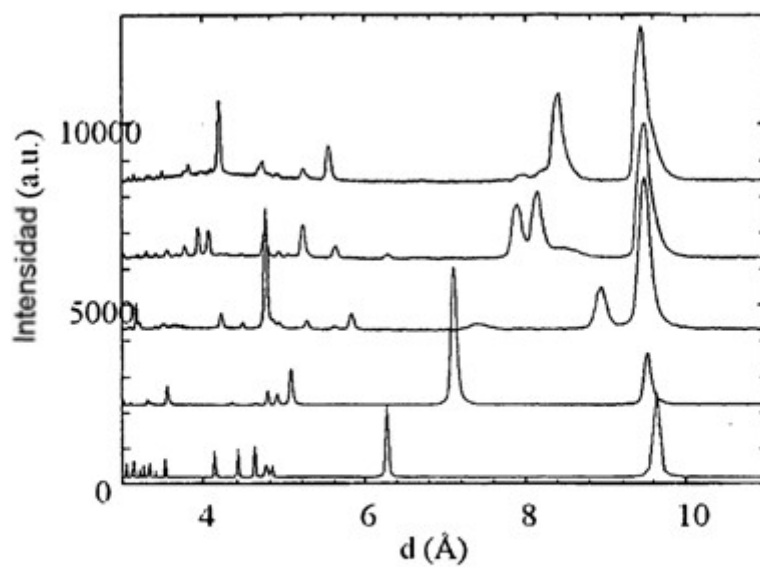


Figura 18

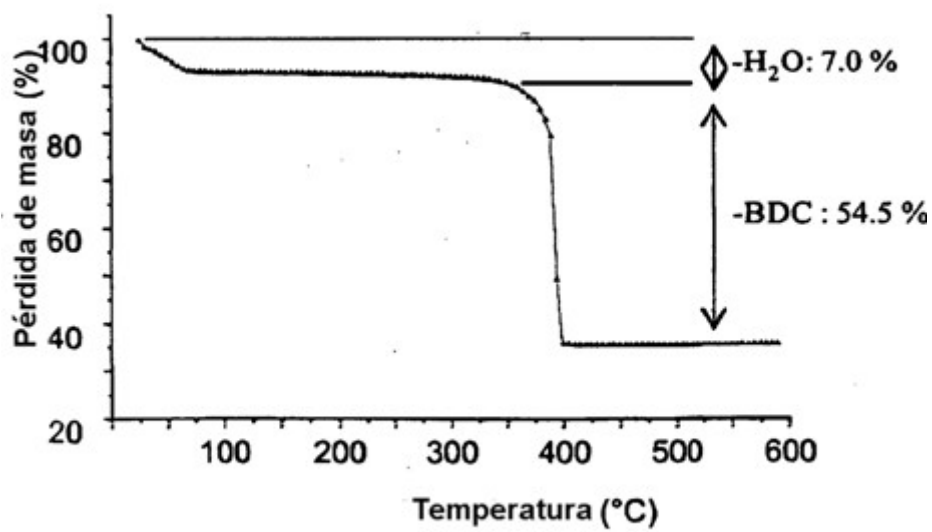


Figura 19

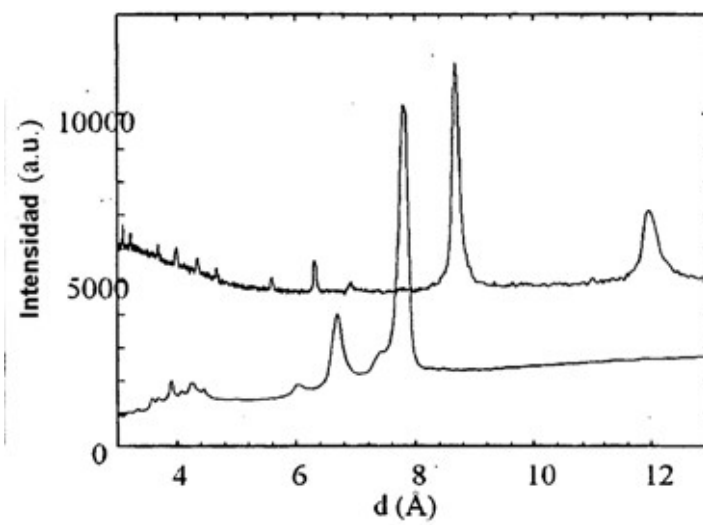


Figura 20

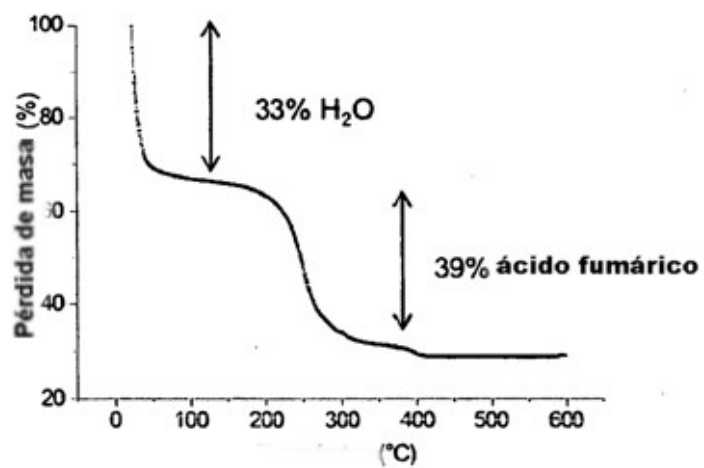


Figura 21

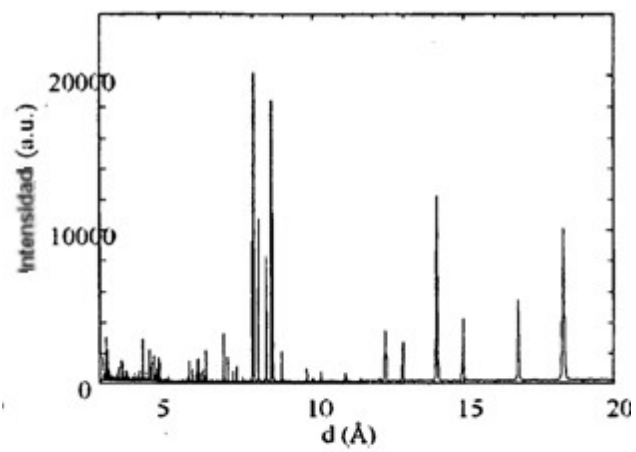


Figura 22

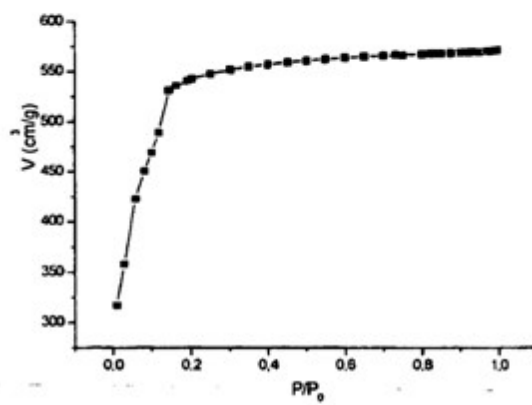


Figura 23

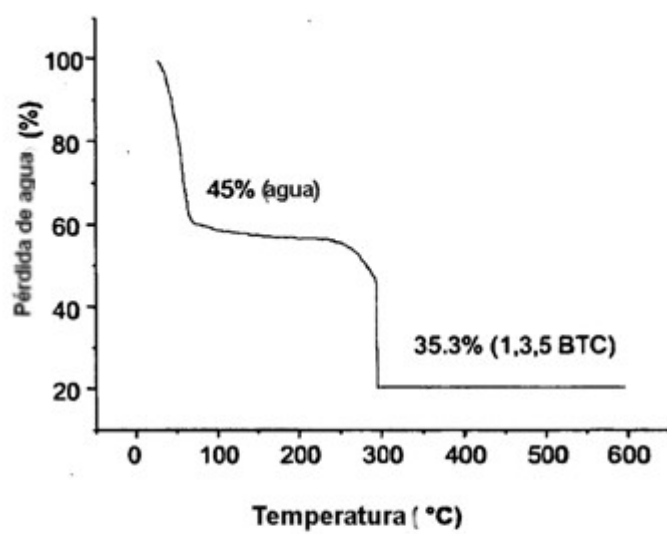


Figura 24

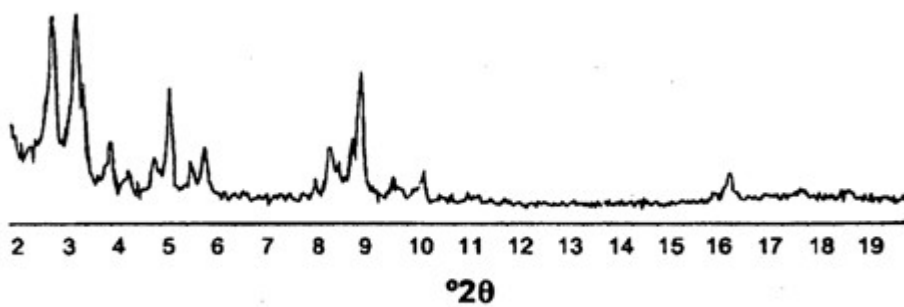


Figura 25

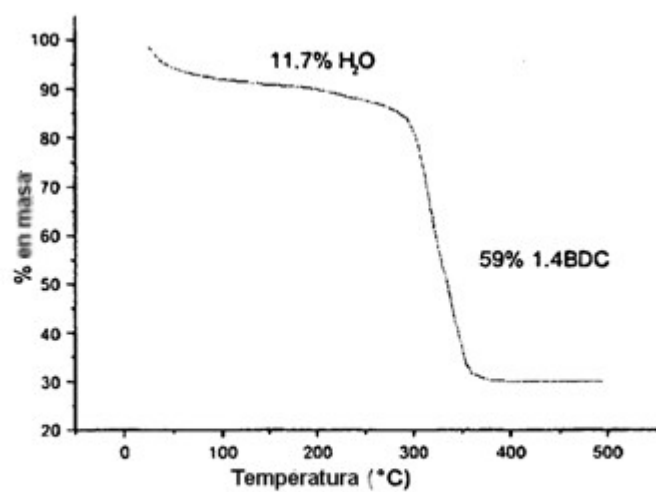


Figura 26

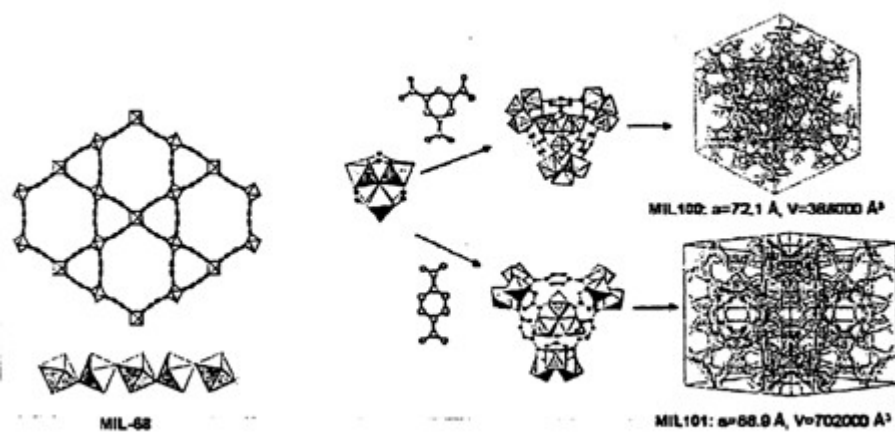
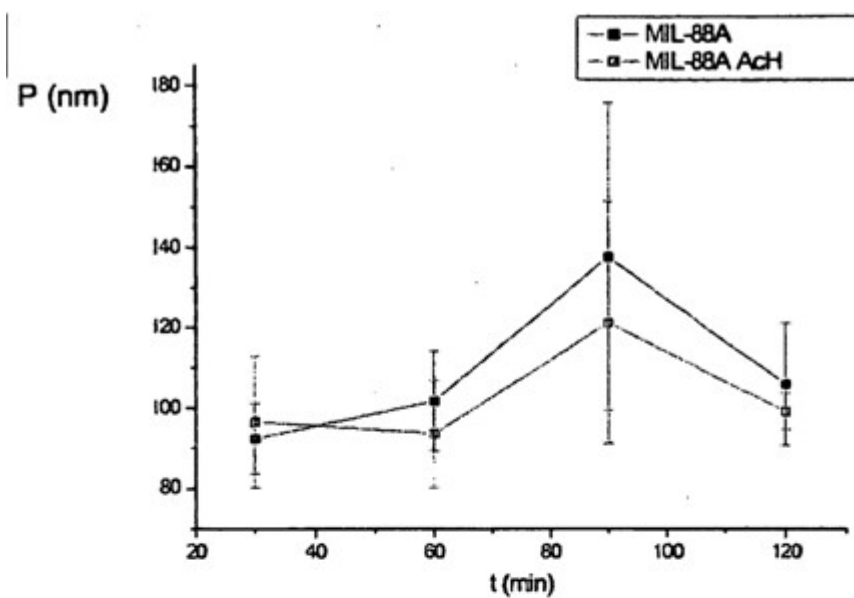
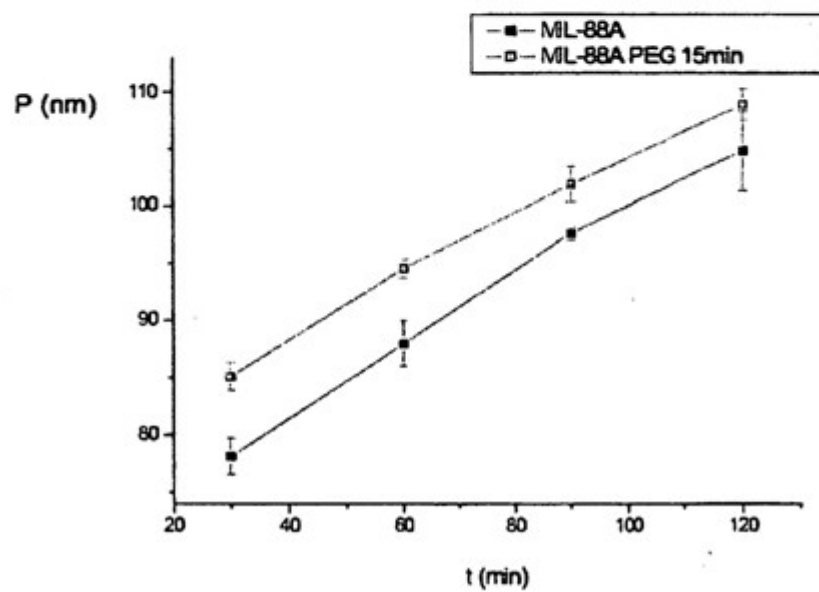


Figura 27

**Figura 28****Figura 29**

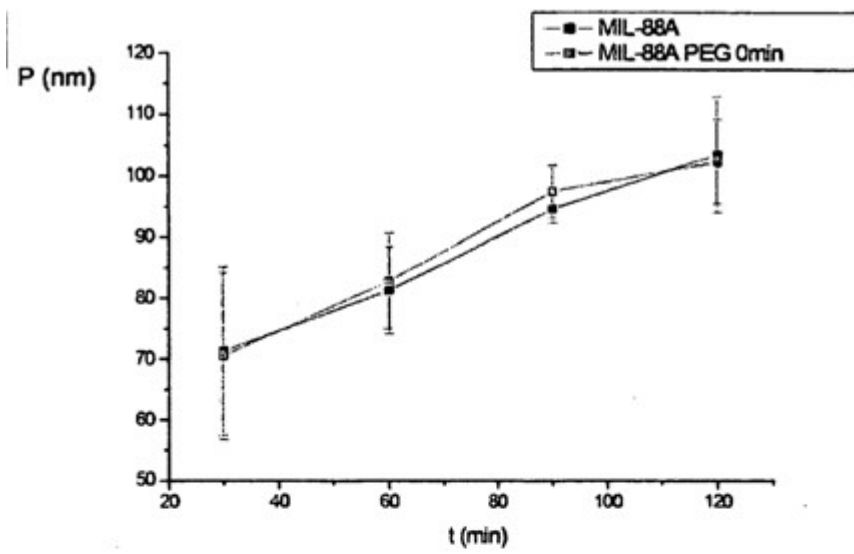


Figura 30

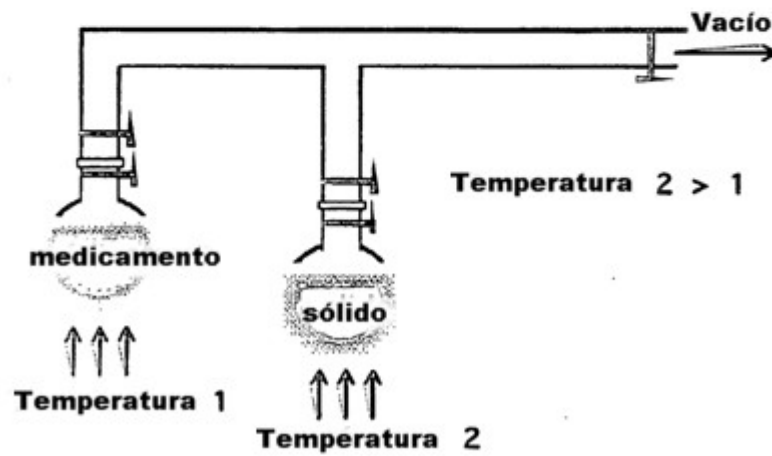


Figura 31

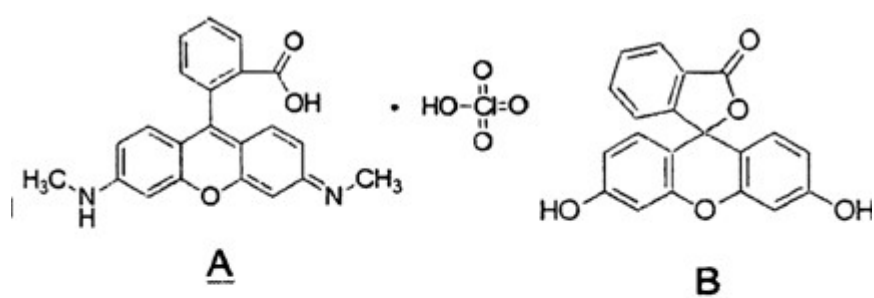


Figura 32

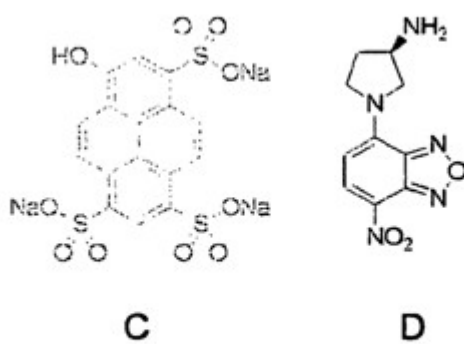


Figura 33

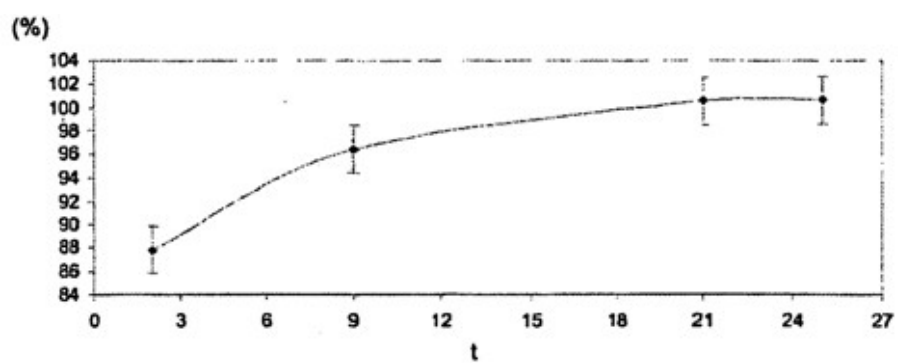


Figura 34

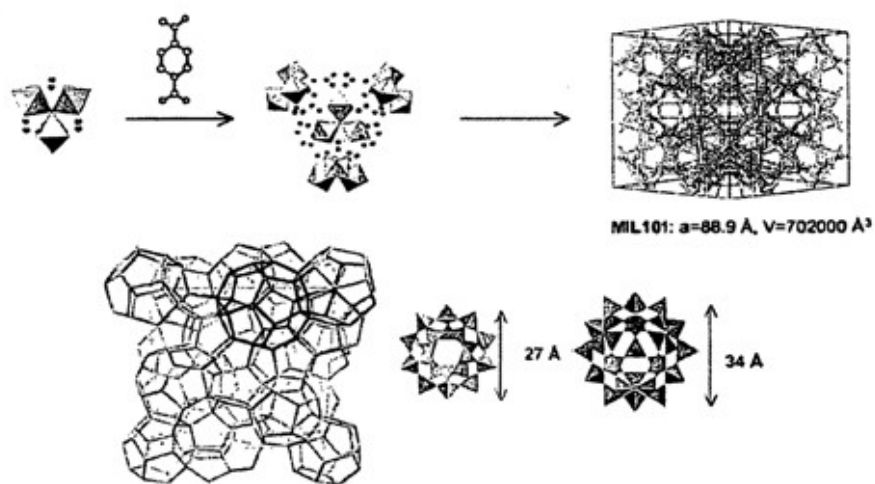


Figura 35

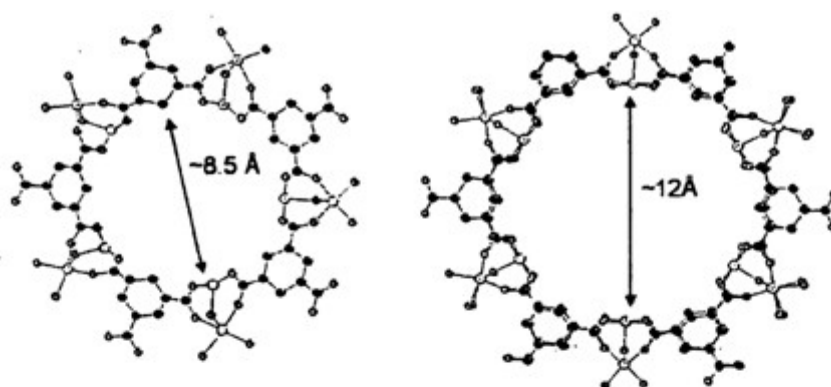


Figura 36

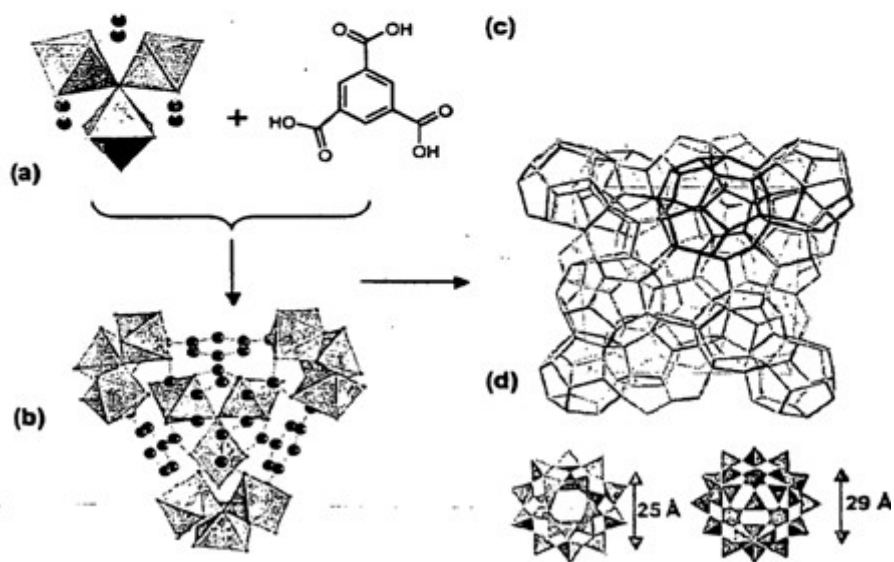


Figura 37

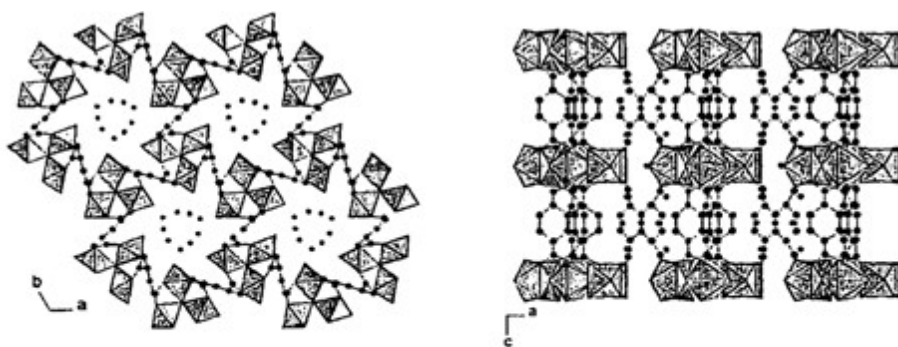


Figura 38

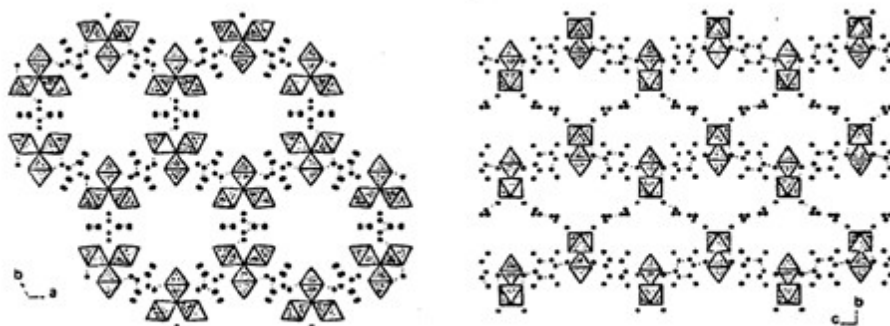


Figura 39

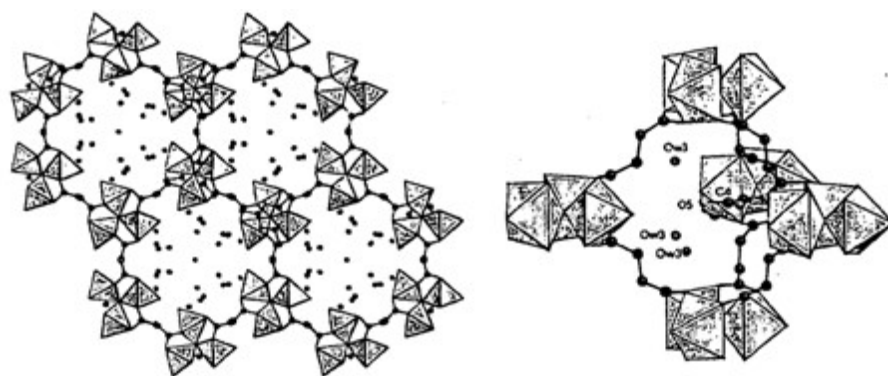


Figura 40

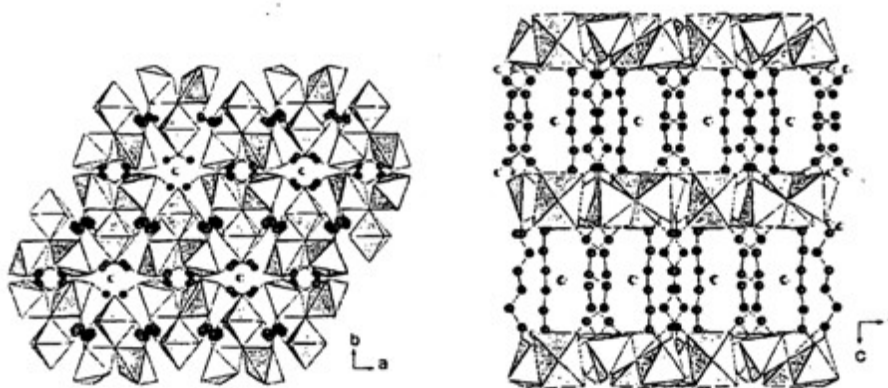


Figura 41