

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

El uso de las MOF como acarreadoras de fármacos antimicrobianos

Alumno: Osornio Pedraza Eder Cutberto 2153059344

Asesor Interno: Dr. Carlos Tomás Quirino Barreda Vo. Bo. 

Asesor Externo: M. en C.F. Dalia Ramos González Vo. Bo. 

Índice

Introducción.....	3
Objetivo General	4
Objetivos Específicos.....	4

Metodología	4
Resultados y meta alcanzados.	5
Conclusiones.	6
Referencias.....	6
El uso de las MOF como acarreadoras de fármacos antimicrobianos	7
Introducción:	7
1. ESTRUCTURAS METAL ORGÁNICAS.....	8
1.1 BIOAPLICACIONES	9
1.2 COMPONENTES ESTRUCTURALES DE LAS MOF CON APLICACIÓN BIOLÓGICA	10
1.3 MECANISMOS DE ENTREGA DE FÁRMACOS	11
1.4 Parámetros para realizar una encapsulación.....	13
2. MOF con actividad antimicrobiana	15
2.1 MOF vacía.....	15
2.2 MOF conteniendo un fármaco con actividad antimicrobiana	18
3. Técnicas <i>in vitro</i> de la evaluación de la actividad antimicrobiana	19
3.1 Conteo de UFC.....	19
3.2 Recuento de placa.....	19
3.3 Colorimetría alamar azul	20
3.4 MTT	21
3.5 ISYP.....	22
4. Técnicas <i>in vitro</i> utilizadas para la evaluación de la actividad antimicrobiana de una MOF	22
5. Bibliografía	24

Introducción.

Cuando los microorganismos, ya sean, hongos, bacterias, virus o parásitos, sufren “cambios” provocando que los medicamentos o fármacos que hasta entonces eran eficaces contra ellos, dejen de serlo, a este suceso se le llama resistencia microbiana. El término más exacto para referirse a todo tipo de resistencia proveniente de un microorganismo es la resistencia a los antimicrobianos (RAM), ésta abarca medicamentos antibacterianos, antivirales, antiparasitarios y, por último, pero no menos importante, a fungicidas (Serra Valdés, M. 2017). Se considera como resistencia a los antimicrobianos cuando las bacterias permanecen refractarias a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de los fármacos. El desarrollo de resistencia a los antibióticos es un proceso de evolución natural, la cual se puede clasificar en tres categorías: intrínseca, adaptativa o adquirida (Quiñones-Pérez, D. 2017.).

La creciente resistencia de los microorganismos a los fármacos se considera un problema de salud pública a nivel mundial por las consecuencias que las RAM traen en la salud de la población. En respuesta a esta emergencia sanitaria a nivel global se han abordado diferentes estrategias para contrarrestar la resistencia de los microorganismos a los fármacos, entre estos enfoques, se ha optado por la investigación dosis-respuesta de los antibióticos administrados de manera individual o en conjunto, más en específico, se evalúa qué combinación es más eficaz (la Fuente-Salcido, D. y col. 2015); sin embargo, esta no es una opción permanente, debido a que se ya se han observado cepas que presentan resistencia a estas combinaciones así como a nuevos fármacos o moléculas, es por ello que se ha encontrado una oportunidad en el diseño y desarrollo de micro y nanoestructuras, que son una herramienta en el desarrollo de materiales y productos con propiedades antimicrobianas (Aguado, S. y col. 2014) y que actúan como acarreadores para dirigir o liberar sustancias activas (Pino, K., 2015), entre estos sistemas transportadores de antimicrobianos se pueden identificar, entre otros: puntos cuánticos (Quantum Dots) (Ding, C. y col., 2016), polímeros, liposomas (Oh, J., 2017.), por mencionar algunas estructuras. Dentro de estos materiales destacan los

acarreadores metal orgánicos estructurados, también denominados por el acrónimo MOF, por sus siglas en inglés: Metal Organic Framework.

La evaluación de la actividad antimicrobiana de estas estructuras que pueden obtenerse en función de su tamaño, en la escala micro o nanométrica, presenta un reto, ya que en las fases iniciales del desarrollo, muchas veces se logra sintetizar cantidades muy pequeñas y tienen un comportamiento diferente con respecto a los fármacos convencionales al estado puro, por lo que en este proyecto nos propusimos realizar una revisión bibliográfica sistematizada, acerca de la actividad antimicrobiana propia que se ha identificado en algunas de estas mencionadas MOF, así como en las MOF que son utilizadas para la encapsulación o carga de fármacos antimicrobianos y, particularmente, en los retos que representa la evaluación de su actividad con base a diversas técnicas *in vitro*, que se han publicado hasta la fecha para evaluar actividad antimicrobiana, pero que no necesariamente pueden ser aplicadas directamente en sistemas micro o nanoestructurados como son las MOF.

Objetivo General

- Realizar una revisión bibliográfica de las técnicas *in vitro* para la determinación de la actividad antimicrobiana de las MOF.

Objetivos Específicos

- Realizar una búsqueda sistemática utilizando términos específicos (palabras clave) y operadores booleanos en distintas bases de datos
- Seleccionar los resultados que cumplan con los criterios de inclusión.
- Clasificar los artículos según la técnica utilizada.
- Describir las condiciones adecuadas para las pruebas microbiológicas
- Analizar los artículos seleccionados.

Metodología.

Se realizó una búsqueda sistemática sobre las generalidades de las MOF's y su aplicación biológica, en específico con actividad antimicrobiana y su evaluación,

donde se incluyeron los siguientes términos: MOF, antimicrobiano, antifúngico, antiviral en las bases de datos de la Biblioteca de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco (BiDi-UAMX) y Google Académico, ACS Publications, Wiley Online Library, Scielo, ScienceDirect, SpringerLink. De revistas como Chemical Society Reviews, Nano letters, Advanced, NanoBiomed Research, Ultrasonics Sonochemistry, Journal of Molecular Liquids, ChemNanoMat, Dalton Transactions, Journal of Drug Delivery Science and Technology.

Se seleccionaron los artículos científicos de acuerdo con los siguientes criterios de inclusión:

- Idioma inglés o español
- Incluyan métodos cuantitativos o cualitativos de medición de la actividad antimicrobiana de alguna MOF
- Evalúen la MOF como sistema de entrega de fármacos
- Evalúen la actividad antimicrobiana de la MOF vacía
- A partir del año 2010 al 2022

Criterios de exclusión

- No presenten una técnica microbiológica
- Reviews
- No evalúen una MOF

Finalmente, con todo lo recopilado en cada aspecto, se elaboró un artículo de revisión mediante la información obtenida en las bases de datos.

Resultados y meta alcanzados.

En el Anexo 1. se presenta una revisión bibliográfica tipo artículo en donde se aborda todo lo esencial acerca de las MOF, seguido por sus aplicaciones como antimicrobianos y la carga de este tipo de fármacos, para finalizar con algunas técnicas de conteo microbiano.

En donde se obtuvieron 107 artículos, obtenidos de diversas bases de datos, de los cuales se seleccionaron 64 con base a los criterios establecidos en la metodología.

Conclusiones

Debido a la aparición de la resistencia antimicrobiana, el desarrollo de sistemas de entrega de fármacos se propone como estrategia para mejorar la eficacia terapéutica de los agentes antimicrobianos convencionales, sin embargo, la etapa de desarrollo y caracterización de la actividad antimicrobiana de dichos sistemas, así como de los fármacos encapsulados en las estructuras utilizadas requiere de la adaptación de los métodos convencionales de análisis microbiológico y farmacéutico con el fin de caracterizar apropiadamente el desempeño de las estructuras como las MOF para decidir si son aptas para ser utilizadas como sistema de entrega de fármacos antimicrobianos. La información publicada a la fecha es escasa en relación con la adaptación de los métodos convencionales de caracterización, por lo que sigue siendo un reto establecer un único método de evaluación de la actividad biológica de las MOF como sistemas de entrega de fármacos o sistemas acarreadores, Por lo que estamos frente a un campo de estudio novedoso y que aun tiene mucho por describirse.

Referencias

- Aguado, S., Quirós, J., Canivet, J., Farrusseng, D., Boltes, K., & Rosal, R. (2014). Antimicrobial activity of cobalt imidazolate metal–organic frameworks. *Chemosphere*, *113*, 188-192.
- Ding, C., Tong, L., Feng, J., & Fu, J. (2016). Recent advances in stimuli-responsive release function drug delivery systems for tumor treatment. *Molecules*, *21*(12), 1715.
- la Fuente-Salcido, D., Margarita, N., Villarreal-Prieto, J., Díaz León, M., & García Pérez, A. (2015). Evaluación de la actividad de los agentes antimicrobianos ante el desafío de la resistencia bacteriana. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, *46*(2), 7-16.
- Oh, J. (2017). Polymers in drug delivery: chemistry and applications. *Molecular Pharmaceutics*, *14*(8), 2459-2459.
- Pino, K. (2015). Micropartículas porosas nanoestructuradas de quitosano acarreadoras de moléculas bioactivas.
- Quiñones-Pérez, D. (2017). Resistencia antimicrobiana: evolución y perspectivas actuales ante el enfoque “Una salud”. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. *69*(3) 117

Serra Valdés, M. (2017). La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. Revista Habanera de Ciencias Médicas. 16(3) 402419.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Xochimilco



Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica
UNIDAD XOCHIMILCO

El uso de las MOF como acarreadoras de fármacos antimicrobianos

Osornio Pedraza, Eder Cutberto¹; Ramos González, Dalia¹; Quirino Barreda Carlos Tomás¹

1. Laboratorio de Farmacia Molecular y Liberación Controlada. División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Departamento de Sistemas Biológicos. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, CP 04960, CDMX, México.

Palabras Clave

MOF,
antimicrobiano,
entrega de
fármaco, alamar
azul

Resumen: Las MOF, materiales de estructura organometálica, son materiales híbridos orgánico-inorgánico, con área superficial extensa, alta estabilidad, bajo costo de producción y alta porosidad, con diferentes aplicaciones biológicas. La resistencia a medicamentos antimicrobianos por parte de las bacterias se ha convertido en un problema de salud pública. Es por esta razón que este artículo presenta una revisión bibliográfica de la evaluación de las MOF como sistemas acarreadores de este tipo de fármacos y la actividad antimicrobiana de estas por sí mismas; además de explorar los aspectos a tomar en cuenta dentro de la síntesis de las MOF. Para finalizar con algunas técnicas para la evaluación de la actividad antimicrobiana.

Introducción:

Se considera como resistencia a antimicrobianos cuando las bacterias permanecen refractarias a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de los fármacos. El desarrollo de resistencia a los antibióticos es un proceso de evolución

natural (Quiñones-Pérez, D. 2017). Se ha encontrado una oportunidad para contrarrestar esta resistencia en el diseño y desarrollo de micro y nanoestructuras, dentro de las cuales destacan los acarreadores metal orgánicos estructurados, también denominadas por el acrónimo MOF, por sus siglas en inglés: *metal organic framework*.

La evaluación de la actividad antimicrobiana de estas estructuras presenta un reto, debido a que la estabilidad de estas estructuras *in vivo* puede ser corta, por lo que debe ser evaluada previamente. Además, son rápidamente fagocitadas (Ha, L. y col. 2021), y en ocasiones presentan incompatibilidad fisiológica (Tan, G. y col. 2020). Por lo que se propuso realizar una revisión bibliográfica acerca de las mencionadas MOF, haciendo énfasis en su síntesis y su posible e inherente actividad antimicrobiana, su capacidad de encapsulación de fármacos antimicrobianos y la evaluación de su actividad con base a diversas técnicas *in vitro*.

1. ESTRUCTURAS METAL ORGÁNICAS

Las MOF; materiales de estructura organometálica, son materiales híbridos orgánico-inorgánico novedosos, que dependen de los iones metálicos para formar enlaces con ligandos orgánicos. Se caracterizan por su área superficial extensa, alta estabilidad y su costo de producción bajo (Syed Rizvi y col. 2019), poros internos, que son abundantes, así como sus superficies de poros modificadas. Los usos actuales de las MOF son múltiples: se usan en reacciones de catálisis, como biosensoras, también para la entrega y liberación de fármacos (Meng Chen y col. 2020).

Las MOF son “construidas” usando diversos ligandos y iones metálicos que determinan su estructura y características. Gracias a los iones metálicos y a los ligandos es amplia la variedad de MOF que se pueden sintetizar, aunque, se debe de tener en cuenta su biocompatibilidad y toxicidad; tanto los iones como los ligandos deben de ser no tóxicos y la estructura habrá de mantener un balance entre la degradación y la estabilidad biológica (He, S. y col. 2021).

1.1 BIOAPLICACIONES

1.1.1 Nanoplateformas de bioimagen

El rápido desarrollo de las tecnologías de bioimagen provee una gran importancia para explorar diversas patologías, así como las funciones metabólicas de los tejidos; lo que es muy alentador en el diagnóstico de enfermedades. Los agentes de imagen, como los son las pequeñas moléculas fluorescentes o los agentes de contraste de imagen son usados para generar la señal o mejorar el contraste de esta. Las MOF han sido usadas en las imágenes de fluorescencia, tomografía computarizada y resonancia magnética nuclear (Yang, J. y col. 2020).

1.1.2 Biosensores

Ante el aumento en la demanda de una eficiente detección de bioseñales anormales, se han desarrollado una gran variedad de materiales que actúan como sensores. Un buen sensor debe de ser capaz de detectar el analito con una gran sensibilidad y selectividad, además de que otros factores como la estabilidad y el reciclaje deben de ser considerados durante su desarrollo. En este terreno, las MOF han ganado una gran atención debido a su diseño estructural y la capacidad de ajuste de las propiedades. Las aplicaciones de las MOF como biosensores se especializan en la detección de biomoléculas, biomarcadores, fármacos y toxinas (Zhao, Y. y col. 2021).

1.1.3 Entrega de fármacos

Muchos principios activos tienen diversos inconvenientes, por ejemplo: una baja solubilidad y reducida estabilidad, baja biodisponibilidad, una vida media corta y una limitada permeabilidad de las membranas biológicas (Curcumina y 5-fluoroacilo, por mencionar algunos). Como una solución a las citadas dificultades se han empleado diversos nano-acarreadores, pero algunos de estos al final presentan problemas al momento de la entrega. En comparación con otros acarreadores orgánicos (polímeros, liposomas, micelas) e inorgánicos (sílica, carbón alótropo), las MOF presentan ventajas únicas: la alta y ajustable porosidad que ya se mencionó antes, también presentan una buena capacidad de carga y una multifunción controlable (Luo, Z. y col. 2019), que las vuelven una excelente opción como sistema de entrega de fármacos.

1.2 COMPONENTES ESTRUCTURALES DE LAS MOF CON APLICACIÓN BIOLÓGICA

1.2.1 Iones metálicos

Los iones más recomendados para la entrega de medicamentos con MOF's se muestran en la Tabla 1, junto a las dosis máximas (DL_{50} (g/kg)) en las que se pueden administrar. Las aplicaciones a las que están destinadas son, principalmente, a la entrega de medicamentos anticancerígenos, antibióticos y antivirales (He, S. y col. 2021).

Tabla 1. Iones y dosis letales en MOF (He, S. y col. 2021).

Ion	DL_{50} (g/kg)
Potasio	0.215
Zinc	0.35
Zirconio	4.1
Hierro	0.45

1.2.2 Ligandos orgánicos

Respecto a este tema, se brindan 2 posibilidades. La más común son los ligandos exógenos, estos son sintetizados a partir de compuestos naturales sin interferir en los ciclos del cuerpo. En la Tabla 2 se presentan los ligandos orgánicos más utilizados, junto con su respectivo valor de DL_{50} . La segunda opción es el uso de ligandos endógenos, idealmente podría ser la ruta más usada para la entrega de fármacos, debido a que se podrían reutilizar por el cuerpo mismo; los más utilizados para la síntesis de MOF son aminoácidos, bases nitrogenadas y oligosacáridos (Sun, C. y col. 2013).

Tabla 2. Principales ligandos orgánicos exógenos utilizados en el desarrollo de MOF como sistemas de entrega de fármacos y dosis letal (Sun, C. y col. 2013).

Ligando	DL_{50} (g/kg)
2-metilimidazol	1.4
Ácido trimesico	8.4
Ácido 5-aminoisoftálico	1.6
Ácido isonicotínico	5

1.2.3 Principios activos para encapsular

1.2.3.1 Fármacos

Las MOF han sido estudiadas como nano-acarreadoras de varios fármacos. Los fármacos se unen a las MOF mediante una encapsulación *in situ* o mediante modificaciones post-sintéticas. La encapsulación permite que los fármacos termoestables (DOX) superen la liberación prematura, además de ser un método sencillo para que los fármacos lleguen al sitio de acción sin sufrir degradación o metabolismo (Sun, Y. y col. 2020). Además, las MOF's utilizadas como acarreadores o sistemas de entrega de fármacos son biodegradables frente a medios acuosos y dentro de las condiciones fisiológicas (Bieniek, A. y col. 2021), y presentan una gran capacidad de carga y un buen control de la liberación (Haydar, M. y col. 2017) y esta liberación lo hace en el sitio de acción (Chen, X. y col. 2018)

1.2.3.2 Ácidos nucleicos

Las MOF han sido usadas como acarreadoras de microARN para protegerlos contra la degradación antes de que tengan su efecto sobre la célula, también ayudan a incrementar el consumo de microARN y a ayudarlo a escapar de los endosomas para silenciar a los genes encargados de la multiresistencia hacia fármacos (Sun, Y. y col. 2020).

1.2.3.3 Proteínas

La unión de las MOF y proteínas con actividad biológica no ha sido completamente integrada, de tal manera que hay sin estudiar muchas propiedades interesantes de los compuestos proteína-MOF. La preparación de estos compuestos supone un gran reto debido al gran tamaño de las proteínas. Pero si bien este es un reto, si se logra, estos compuestos tendrán un uso muy amplio en áreas como el bioanálisis, biocatálisis y la ingeniería enfocada a la biomedicina (Lyu, F. y col. 2014).

1.3 MECANISMOS DE ENTREGA DE FÁRMACOS

1.3.1 Entrega controlada

Las MOF proveen de un control espacial y temporal sobre la liberación del fármaco hasta el punto o sitio de acción, así mismo, proveen control de la dosificación de los fármacos. El diseño de los complejos proteína-MOF debe de estar basado en un

total entendimiento de señales de estímulo y los mecanismos de liberación (Carrillo-Carrión, C. 2020). La Tabla 3 muestra algunos ejemplos de este tipo de sistema de entrega.

Tabla 3. Ejemplos de MOF's con sistema de entrega controlable de fármacos

Controlable	Nombre	Fármaco	Condiciones de liberación	Fuente
Si	CAF@UiO-66s	Cafeína	Se liberó entre un 85-93% en 12 h.	Sarker, M. y col. 2019
Si	ZIF-8@alginate NP	Metformina	Un 84% se liberó después de 8 h a un pH de 8 en un medio PBS	Vahed, T. y col. 2019

1.3.2 Liberación dependiente de estímulos

Algunos materiales han recibido una atención especial en el terreno de las bioaplicaciones. Las MOF han sido estudiadas como candidatas para la liberación controlada de fármacos con base a un estímulo-respuesta. Usualmente se pueden dividir en dos categorías; los que responden a un solo estímulo y las que lo hacen a varios. Estas MOF son capaces de lograr una entrega o liberación regulada de fármacos tras recibir la activación por uno o más estímulos como pueden ser: pH, temperatura, luz, presión, campo magnético o iones por mencionar solo algunos (Wu, M. y col. 2017) como lo muestra la Tabla 4.

Tabla 4. MOF's dependientes de un solo estímulo

Estímulo	Nombre	Fármaco	Condiciones de liberación	Fuente
pH	Zn-MOF-74	Arsénico trióxido	A un pH de 6.0 a 37°C, se liberó un 94.3% después de 24 h.	Schnabel, J. y col. 2020
Humedad	HKUST-1(Cu)	Isotiocianato de alilo volátil (AITC)	Frente a una HR entre 95 y 100%, libero entre un 70 y 90% de todo el AITC cargado	Cai, W., Wang, J y col. 2019
Temperatura	(ZIF-8,Tb20) @AuNP	5-FU	Bajo una radiación de 524.5nm, la liberación alcanzó un 40% a los 30 min. en un pH por debajo de 7.	Karimzadeh, S. y col. 2021

1.3.3 Dependiendo del nivel de complejidad

Debido a la gran variedad y funcionalidad de las MOF's, un nivel alto de complejidad se puede lograr con un diseño cuidadoso de los componentes que conforman la estructura de las MOF's y sus modificaciones post-sintéticas. Las MOF's pueden ser diseñadas para responder a un gran número de estímulos (Tabla 5.) o a uno simple. Generalmente un alto nivel de complejidad implica un mayor control sobre el sistema (Carrillo-Carrión, C. 2020).

Tabla 5. Ejemplos de MOF's dependientes de multi-estímulos

Doble estímulo	Nombre	Fármaco	Condiciones de liberación	Bibliografía
pH/ATP	ZIF-90(Zn)	DOX	En 2 h, se liberó un 70.2% en un pH bajo y una alta concentración de ATP	Wen, T. y col. 2021
pH/REDOX	ZIF-8	DOX	Gracias a GSH, se liberó un 81.2% a un pH de 5	Nirosha-Yalamandala, y col. 2021
pH/NIR	CSD-MOF	DOX	Con una irradiación laser de 1.6 W cm ⁻² por 240 min y un pH de 5 se liberó un 40%	Liu, W. y col. 2019

1.4 Parámetros para realizar una encapsulación

La manera en que los agentes terapéuticos se pueden incorporar dentro de la estructura de las MOF puede ser de diversas maneras, tal como se presentan a continuación:

1.4.1 Adsorción de superficie

Debido a que las MOF tienen una gran porosidad y área superficial, las moléculas pueden ser adsorbidas en la superficie. Usualmente la adsorción se logra agitando las MOF con una solución de moléculas con alguna actividad farmacéutica. Las fuerzas que hacen posible esta absorción son: interacciones de Van der Waals, puentes de hidrógeno o interacciones π - π . Es una estrategia sencilla, por lo que no es necesario un diámetro de poro en particular o que las MOF tengan algún grupo funcional en específico (Sun, Y. y col. 2020).

1.4.2 Encapsulación en los poros

Las MOF con cavidades mesoporosas representan una notable clase de material para la inmovilización de fármacos, estos poros presentan algunas ventajas: una amplia variedad de fármacos que pueden albergar por el volumen y tamaño del poro, por ejemplo; las enzimas se pueden adsorber dentro del poro, lo que contribuye a una mejorar la estabilidad y la reducción de la lixiviación con el uso constante, el tamaño del poro provee selectividad respecto al tamaño frente a substratos específicos. Los metales trivalentes brindan estabilidad química a las MOF frente a soluciones acuosas y se pueden acomodar en grupos con buena simetría, lo que sitúa a los iones trivalentes como el componente metálico dominante de las MOF mesoporosas (Lian, X. y col. 2017).

1.4.3 Enlaces covalentes

La superficie de las MOF, por su ligando orgánico, tiene una gran variedad de grupos funcionales, tales como; grupos amino, carboxilo e hidroxilo, estos grupos se pueden utilizar para formar enlaces covalentes con el sitio de acción del objetivo. Los grupos carboxilo y amino del ligando orgánico pueden ser usados para coordinarse con algunas enzimas como la glucosa oxidasa. Además de los ligandos orgánicos, los metales inorgánicos proveen diferentes sitios de acción a las MOF para formar un enlace covalente (Sun, Y. y col. 2020). Estos sitios de acción también pueden ser definidos como “Sitios metálicos abiertos” (Imagen 1) que son como su nombre lo dice, sitios metálicos pero que son insaturados o sitios que se comportan como ácido-base de Lewis, con el objetivo de que tengan pares de electrones libres que interactúen con el centro metálico u otras especies deficientes de electrones, con el propósito de tener una mayor sensibilidad en el reconocimiento molecular (Villegas-Fernández, M.).

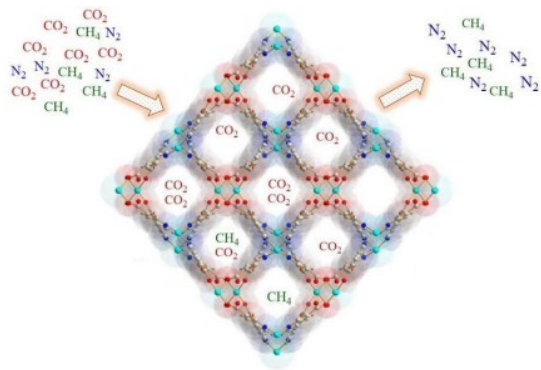


Imagen 1. Sitios metálicos abiertos en una MOF (tomado y modificado de He, C y col. 2020).

1.4.4 Moléculas funcionales como bloque de construcción

Algunas de las moléculas más usadas como componentes de construcción de MOF's son: bifenilos, trifenilos, metalo-porfirinas, oligoarenos/heteroarenos, trifenilarenos. Todas estas moléculas han sido modificadas de tal manera que brinden estabilidad química y térmica, respuesta a estímulos, fotoconmutabilidad, y una conductividad eléctrica específica. Lo que les ha brindado un enfoque especial en el desarrollo de estructuras con redes cristalinas porosas tales como lo son las MOF (Hassan, Z. y col. 2020). En la Tabla 6. Se muestran algunos ejemplos de las condiciones de encapsulación de las MOF.

1. MOF con actividad antimicrobiana

1.1 MOF sin un fármaco encapsulado.

Se habla mucho de que las MOF son buenas en el transporte de fármacos, pero no solo son buenas para esto, si no también que estas mismas tienen actividad antimicrobiana por sí mismas, es por eso por lo que a continuación se presentan algunos ejemplos de esta característica:

En un estudio se demostró la actividad antimicrobiana de Cu-MOF (Imagen 2) usando 5 cepas diferentes de microorganismos: una bacteria gram positiva (*Staphylococcus aureus*), una levadura (*Candida* spp.) y tres bacilos gram negativos (*E. coli*, *Pseudomonas* y *Klebsiella* spp.). Los resultados mostraron que la actividad de Cu-MOF es igual o superior en comparación con los fármacos habitualmente usados contra varios patógenos a una concentración es $50 \mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$. También se

demonstró que la eficacia es mayor cuando la dosificación incrementa (Sheta, S. y col. 2018).

Tabla 6. Ejemplos de condiciones de encapsulación de MOF's

Fármaco encapsulado	MOF	Condiciones de encapsulación	Porcentaje de encapsulación	Porcentaje de liberación	Referencia
Insulina	NU-1000	El principio activo se absorbe en 30 min. a temperatura ambiente y a una concentración de 4×10^{-4} g/L	40%	A un pH de 1.29, el % de liberación es del 10% en 1 h y lo hace mediante condiciones físicas.	Chen, Y. y col. 2018
Doxorrubicina	DOX@ZIF-8	Se mezcló durante un total de 16 min. usando agua desionizada y se dejó secar a temperatura ambiente	20%	La liberación es dependiente de pH, en menos de 1 h se libera todo el contenido, a un pH de 5-7.4	Zheng, H. y col. 2018
Verde de indocianina (ICG)	MOF@HA @ ICG NPs	Se mezcló por 24h a una concentración de 150 μ g/mL, protegiendo dicha mezcla de la luz.	42%	La luz es un factor desencadenante, la liberación no se ve afectada por pH entre 5.5-7.4 después de 60 h.	Cai, W. y col. 2017
Curcumina	MCH NPs	Curcumina se disolvió en etanol y mezclada con MIL-100, se incubó a 37 °C por 12 h.	30.6	EL factor liberador es el pH, a un pH de 5.6 se obtiene una liberación del 62% después de 72 h.	Zhang, Y. y col. 2018

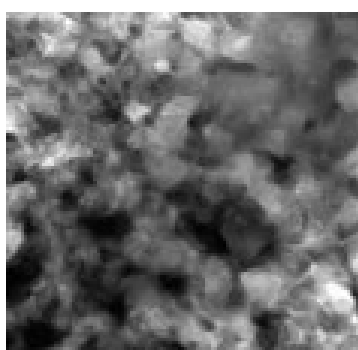


Imagen 2. Cu-MOF vista a través de un microscopio electrónico de transmisión (tomado y modificado de Sheta, S. y col. 2018).

La actividad antibacteriana de Zn-MOF (Imagen 3) se determinó a una dilución de 0.006 a 0.1 g/ 100 mL. Los resultados se evaluaron en 45 tubos con diferentes concentraciones de Zn-MOF, se encontró crecimiento microbiano en 8 tubos y en 37 no se encontró crecimiento; incrementando la concentración de 0.006 a 0.1 g/ 100 mL se presenta una diferencia significativa en la frecuencia del crecimiento bacteriano y la falta de este, a una concentración más alta la inhibición es más efectiva. Dicha actividad se midió frente a *Acinetobacter baumannii*, *Salmonella entérica*, *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Saphylococcus aureus* y *K. neumoniae* (Akbarzadeh, F. y col. 2020).

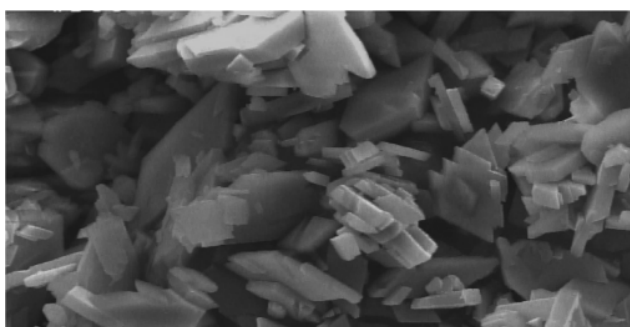


Imagen 3. Zn-MOF a través de una microscopía electrónica de barrido, se aprecia la estructura mesoporosa de la MOF (tomado y modificado de Akbarzadeh, F. y col. 2020).

En otro estudio se evaluó la actividad antimicrobiana de Cu-MOF (Imagen 4), una MOF a base de cobre, sobre tres bacterias gram positivas; *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus cereus*, dos gram negativas; *Salmonella enterica* y *Escherichia coli* y finalmente sobre un hongo: *Aspergillus niger*. Cu-MOF demostró tener una actividad insignificante cuando se le comparó con el ácido tereftálico (fármaco potenciador de antimicrobianos) frente a las cinco especies bacterianas. Pero demostró tener un gran efecto inhibitorio frente a *Aspergillus niger* (Abdelmoaty, A. y col. 2022).

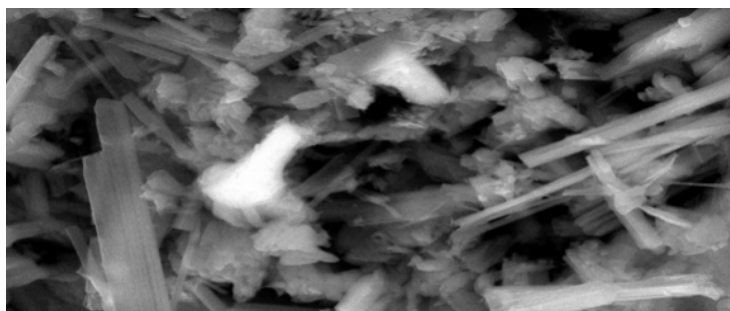


Imagen 4. Cu-MOF. Imagen tomada con un microscopio electrónico de transmisión, se aprecia los espacios en los que puede ser incorporado un fármaco. (tomado y modificado de Abdelmoaty, A. y col. 2022).

1.2 MOF conteniendo un fármaco con actividad antimicrobiana

Como se ha expresado anteriormente, las MOF son utilizadas con frecuencia para el transporte de fármacos. En la Tabla 7 se muestran algunos ejemplos acerca de la actividad de las MOF como sistemas acarreadores de fármacos antimicrobianos.

Tabla 7. Eficiencia de algunas MOF utilizadas como acarreadores de fármacos antimicrobianos

MOF	Fármaco	Especie	Eficiencia	Bibliografía
Cu(AZPY)-MOF	4,4-Azopiridina	<i>C. albicans</i>	98-99.6% con una concentración de 0.35, 0.5 mg/ml	Yang, S. y col. 2022
		<i>A. niger</i>	97-99.6% con una concentración de 0.35, 0.5 mg/ml	
Ag@MOF-5	Nanoparticulas de plata	<i>E. coli</i>	Mostró un diámetro de inhibición de 16.05 mm	Hu, Y. y col. 2021
		<i>S. auerus</i>	Mostró un diámetro de inhibición de 14.62 mm	
MOF-53(Fe)@Van	Vancomicina	<i>S. auerus</i>	Con un 95% de Van. liberado, la actividad fue de 99.3%	Zhao, W. y col. 2021
Cu-BTC@SSD	Sulfadiazina de plata	<i>E. coli</i>	Se alcanzó un 100% de inhibición en 10 h.	Soltani, S. y col. 2022
		<i>S. aureus</i>	Se alcanzó un 99.99% de inhibición en 10 h.	
MIL-101(Fe)@Ag	iones de plata	<i>Acinetobacter cereus</i>	El diámetro de inhibición fue de 11 cm	Xi, L. y col. 2022
V-ZIF-II	Voriconazol	<i>C. albicans</i>	A una MFC de 0.10 se logró reducir 4 unidades logarítmicas de biofilm	Su, L. y col. 2020

2. Técnicas *in vitro* de la evaluación de la actividad antimicrobiana

2.1 Conteo de UFC

El número de unidades formadoras de colonias o UFC es tomado en cuenta para cumplir con los estándares en el área de alimentos, el área de la salud, en el análisis de agua, aire y suelo entre otros. Estos estándares son establecidos por la normatividad vigente existente en cada país (Sánchez, E. y col. 2017). La tabla 8 muestra las ventajas y desventajas de usar esta técnica.

Tabla 8. Ventajas y desventajas del conteo de UFC para ensayos de actividad antimicrobiana

Ventajas	Desventajas	Bibliografía
<ul style="list-style-type: none">• Provee una medida general de calidad higiénica• Permite el conteo de y detección de diferentes sustancias• Estudia diversas sustancias y microorganismos	<ul style="list-style-type: none">• Desgastante para el analista• Consume grandes cantidades de tiempo• Los resultados varían por analista• Tiene un valor de diagnóstico limitado de identificación	Sánchez, E. y col. 2017. Ruiz-Cortés, T. y col. 2012 Martín, J. y col. 2022

2.2 Recuento de placa

Es uno de los métodos más utilizados para determinar el número de microorganismos viables dentro de un medio líquido. Se utiliza para hacer un análisis cuantitativo de cultivos puros y mixtos, el método está basado en hacer una serie de diluciones de una muestra y hacer un recuento de UFC al final. Se divide en 2 tipos: el primero es por una siembra en profundidad, utilizado en conteo de microorganismos anaerobios facultativos o microaerofilos, y el segundo es por siembra en superficie, especializado en el conteo de bacterias aerobias (Ramírez, J. y col. 2017). La tabla 9 muestra las ventajas y desventajas de usar esta técnica.

Tabla 9. Ventajas y desventajas de la técnica de recuento de placa en ensayos para determinar crecimiento microbiano mediante Unidades Formadoras de Colonias (UFC)

Ventajas	Desventajas	Bibliografía
<ul style="list-style-type: none"> • Buen límite de detección • Amplio límite de detección • Permite procesar varias muestras • La muestra se utiliza tal cual 	<ul style="list-style-type: none"> • Consume mucho material • Requiere periodos largos para su ejecución 	<p>Corral-Lugo, A. y col. 2012 Acosta-Diaz, A y col. 2020</p>

2.3 Colorimetría con alamar azul

El reactivo rezasurina, también conocido como alamar azul, es un compuesto sólido de color azul (no fluorescente) y cuando es reducido a resofurina se vuelve un compuesto de color rosado (altamente fluorescente) por acción de oxidorreductasas, como se muestra en la Imagen 5. Estas se encuentran en la mitocondria de células viables, en donde el nitrógeno de la rezasurina se reduce lo que forma la resofurina. Esta última se secreta al medio lo que permite de manera indirecta por medio de la intensidad de fluorescencia el monitoreo de la proliferación o citotoxicidad que tiene alguna sustancia sobre células viables que pueden ser tanto humanas como animales, bacterias inclusive hongos (Escobar, L. y col. 2010). Las ventajas y desventajas de realizar el conteo microbiano por Alamar azul se muestran en la Tabla 10.

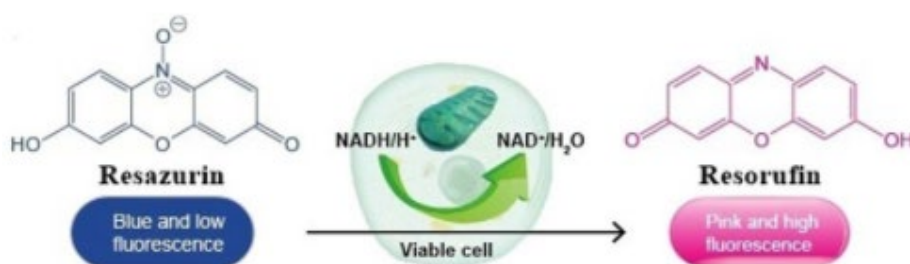


Imagen 5. Reacción de rezasurina a resofurina. Se muestra el mecanismo de la reducción del reactivo alamar azul a un compuesto fluorescente. (tomado y modificado de Coelho, L., 2018).

Tabla 10. Ventajas y desventajas de la técnica microbiológica de Alamar azul

Ventajas	Desventajas	Bibliografía
<ul style="list-style-type: none"> • Lectura directa • Sensibilidad y especificidad del 98% • Uso de diferentes concentraciones • Bajo costo • Biodisponibilidad de reactivos • Buena reproducibilidad para INH (Isoniazida) y RIF (Rifampicina) • Resultados rápidos • Determina la inhibición 	<ul style="list-style-type: none"> • Infraestructura • Personal entrenado • Bioseguridad • No hay resultados contundentes para antibióticos bacteriostáticos 	<p>Cuevas-Córdoba, B. y col. 2010</p> <p>Secretaría de Salud</p> <p>Cho, S. y col. 2015</p>

2.4 Ensayo de reducción metabólica del Bromuro de 3- (4,5dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT) y sales de tetrazolio relacionadas

Bromuro de tetrazolio es una de las sales más usadas en bioensayos en donde se pretende probar viabilidad celular o citotoxicidad, así como actividad citostática son ampliamente usadas en las líneas celulares de mamíferos, bacterias y hongos. Usualmente las sales de tetrazolio en solución son incoloras, se forman cristales color violeta al entrar en contacto con NADH. En el caso de células eucariotas la reducción se lleva a cabo en el retículo endoplásmico gracias a la producción de NADH glucolítico, mientras que, en el caso de las células procariotas, la NADH deshidrogenasa de la membrana es la que reduce a MTT (Grela y col. 2018), las ventajas y desventajas de MTT se aprecian en la tabla 11.

Tabla 11. Ventajas y desventajas de la técnica MTT

Ventajas	Desventajas	Bibliografía
<ul style="list-style-type: none"> • Barato y simple • Rápido • Obtiene resultados similares al conteo de placa • Útil en ensayos de detección • No tóxico • Alta especificidad 	<ul style="list-style-type: none"> • No tiene un protocolo establecido • El mecanismo de acción es células procariotas es escaso • Hay interacciones en los resultados a altas concentraciones 	<p>(Grela y col. 2018)</p>

2.5 ISYP

Integral System Yeasts Plus (ISYP) es una prueba para identificación de efecto antifúngico, el sistema contiene sustratos bioquímicos y antimicóticos en 24 pozos que están basados en reacciones de carboxilatos y crecimiento o inhibición de levaduras en medios de cultivos con agentes antimicóticos. La evaluación se realiza, de acuerdo con la observación del cambio de color, lo que hace referencia a una buena asimilación de cada azúcar. La identificación de cada especie se hace mediante una tabla de códigos de acuerdo con la características diferenciales y morfología. El cambio de color a rojo muestra un crecimiento inhibido de la levadura, uno a naranja un crecimiento parcialmente inhibido y por último uno amarillo demuestra un buen crecimiento (Bicmen, C. y col. 2012). La técnica ISYP tiene ventajas y desventajas que se enlistan en la Tabla 12.

Tabla 12. Ventajas y desventajas de ISYP

Ventajas	Desventajas	Bibliografía
<ul style="list-style-type: none">• Método rápido• Simple identificación	<ul style="list-style-type: none">• Los resultados dependen de la certeza del código• El código debe de ser actualizado	Milanov, D. y col. 2014 Barati, M. y col. 2018

3. Técnicas *in vitro* utilizadas para la evaluación de la actividad antimicrobiana de una MOF

Ag-MOF, es una MOF a base de plata cargada con AgNO₃, está demostró tener buena actividad antibiótica frente a *P. aeruginosa* y *E. coli*, a una MIC de 39 y 20 ppm respectivamente y esto se comprobó mediante el método de difusión en disco (Pettinari, C. y col. 2021).

El método recuento en placa se usó para evaluar la actividad antimicrobiana de la MOF-5-NCs, la actividad se evaluó frente a *P. aeruginosa*, demostrando que la MIC es de 12.5 mg/ml (Pezeshkpour, V. y col. 2018).

Por medio del ensayo alamar azul, NH2-MIL-125, una MOF a base de Titanio, demostró tener actividad antibacteriana y antibiofílica frente a *S. aureus* con una concentración mínima inhibitoria de 5 mg/ml (Khan, Z. y col. 2021).

Aunque el método de recuento de placa es un método sencillo, barato y el cual no requiere una gran preparación, se considera que el tiempo empleado para este método es demasiado largo, además otro de los inconvenientes de esta técnica es que llegado a un punto se vuelve muy difícil hacer el conteo de las bacterias, dando como resultado el término TMTC (significa: “demasiados para contarlos” del inglés: Too Many To Count). por sus siglas en inglés) haciendo referencia a que son demasiadas colonias para contar, infiriendo que no es una metodología muy exacta.

Si bien el alamar azul como método de evaluación de la actividad antimicrobiana es un método rápido, simple y semiautomático, este mismo presenta problemas como que las bacterias no metabolizan de la misma manera y algunas veces el requerimiento de concentraciones altas es necesario para que las bacterias generen una señal, esto puede afectar la calidad de la señal dentro de los resultados, en adición el método no ha sido estandarizado en ensayos con MOF por las dificultades técnicas que presentan estos materiales y las pequeñas cantidades que se sintetizan en su fase de desarrollo.

4. Conclusión

Se encontró que hay múltiples estudios que demuestran la capacidad antimicrobiana de las MOF ya sea como sistemas acarreadores de moléculas antimicrobianas o por sí mismas.

Además, las MOF suelen presentar buenos resultados en contra de bacterias gram positivas y gram negativas, es por esto por lo que se recomienda el escalamiento para la producción de cantidades mayores.

Con relación a la evaluación de la actividad antimicrobiana de las MOF, la técnica de Alamar Azul presenta cierta ventaja en sencillez y bajo costo sobre otros métodos para evaluar la actividad antimicrobiana de estas micro estructuras. Sin embargo, presenta limitaciones en cuanto a que se requiere evaluar para cada tipo de MOF

la factibilidad de su uso como técnica de determinación de la MIC, ya sea solas o como acarreadoras de antimicrobianos; por lo que son escasos los trabajos con MOF que incluyen esta técnica colorimétrica.

5. Bibliografía

Abdelmoaty, A., El-Beih, A., & Hanna, A. (2022). Synthesis, Characterization And Antimicrobial Activity of Copper-Metal Organic Framework (Cu-MOF) And Its Modification By Melamine. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 1-8.

Acosta-Diaz, A., & Leguizamo-Gonzalez, E. (2020) Métodos y técnicas de cuantificación microbiana empleados en la industria de alimentos, farmacéutica, agrícola y ambiental. Revisión sistematica de la literatura.

Akbarzadeh, F., Motaghi, M., Chauhan, N. & Sargazi, G. (2020). A novel synthesis of new antibacterial nanostructures based on Zn-MOF compound: design, characterization and a high performance application. *Heliyon*, 6(1), e03231.

Barati, M., Ghazanfari, M., Bazrafshan, F., Farhadi, K., NAGHDALIPOOR, M., Fakhri, Z., & Fattahi, A. (2018). Validation of integral system yeast plus for rapid identification and determination of antifungal susceptibility profile of clinically important *Candida* species. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics*, 16(1), 1-4.

Bicmen, C., Doluca, M., Gulat, S., Gunduz, A., & Tuksavul, F. (2012). Species level identification and antifungal susceptibility of yeasts isolated from various clinical specimens and evaluation of Integral System Yeasts Plus. *New Microbiologica*, 35(3), 327-334.

Bieniek, A., Terzyk, A., Wiśniewski, M., Roszek, K., Kowalczyk, P., Sarkisov, L., & Kaneko, K. (2021). MOF materials as therapeutic agents, drug carriers, imaging agents and biosensors in cancer biomedicine: Recent advances and perspectives. *Progress in Materials Science*, 117, 100743.

Cai, W., Gao, H., Chu, C., Wang, X., Wang, J., Zhang, P., Lin, G., Li, W., Liu, G., & Chen, X. (2017). Engineering phototheranostic nanoscale metal–organic frameworks for multimodal imaging-guided cancer therapy. *ACS applied materials & interfaces*, 9(3), 2040-2051.

Cai, W., Wang, J., Chu, C., Chen, W., Wu, C., & Liu, G. (2019). Metal–organic framework-based stimuli-responsive systems for drug delivery. *Advanced Science*, 6(1), 1801526.

Carrillo-Carrión, C. (2020). Nanoscale metal–organic frameworks as key players in the context of drug delivery: evolution toward theranostic platforms. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 412(1) 3754

- Chen, X., Tong, R., Shi, Z., Yang, B., Liu, H., Ding, S., ... & Fang, W. (2018). MOF nanoparticles with encapsulated autophagy inhibitor in controlled drug delivery system for antitumor. *ACS applied materials & interfaces*, 10(3), 2328-2337.
- Chen, Y., Li, P., Modica, J. A., Drout, R. J., & Farha, O. K. (2018). Acid-resistant mesoporous metal–organic framework toward oral insulin delivery: protein encapsulation, protection, and release. *Journal of the American Chemical Society*, 140(17), 5678-5681.
- Cho, S., Lee, H., & Franzblau, S. (2015). Microplate alamar blue assay (MABA) and low oxygen recovery assay (LORA) for *Mycobacterium tuberculosis*. In *Mycobacteria protocols* (pp. 281-292). Humana Press, New York, NY.
- Coelho, L. (2018). Vascularization: plant decellularization and electrospinning techniques for the development of small and medium caliber blood vessels.
- Corral-Lugo, A., Morales-García, Y. E., Pazos-Rojas, L. A., Ramírez-Valverde, A., Martínez-Contreras, R. D., & Muñoz-Rojas, J. (2012). Cuantificación de bacterias cultivables mediante el método de "Goteo en Placa por Sellado (o estampado) Masivo". *Revista colombiana de biotecnología*, 14(2), 147-156.
- Cuevas-Córdoba, B., & Zenteno-Cuevas, R. (2010). Tuberculosis drogorresistente: mecanismos moleculares y métodos diagnósticos. *Enfermedades Infecciosas y microbiología clínica*, 28(9), 621-628.
- Escobar, L., Rivera, A. & Aristizábal, F. (2010). Estudio comparativo de los métodos de resazurina y MTT en estudios de citotoxicidad en líneas celulares tumorales humanas. *Vitae*. 17(1)
- Grela, E., Kozłowska, J., & Grabowiecka, A. (2018). Current methodology of MTT assay in bacteria—A review. *Acta histochemica*, 120(4), 303-311.
- Ha, L., Choi, K. M., & Kim, D. P. (2021). Interwoven MOF-Coated Janus Cells as a Novel Carrier of Toxic Proteins. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 13(16), 18545-18553.
- Hassan, Z., Matt, Y., Begum, S., Tsotsalas, M., & Braese, S. (2020). Assembly of molecular building blocks into integrated complex functional molecular systems: structuring matter made to order. *Advanced Functional Materials*, 30(26), 1907625.
- Haydar, M., Abid, H., Sunderland, B., & Wang, S. (2017). Metal organic frameworks as a drug delivery system for flurbiprofen. *Drug Design, Development and Therapy*, 11, 2685.
- He, C., Hou, C., Wang, Y., Gong, X., Jiang, H., Sun, Y., ... & Cao, X. Q. (2020). Open metal site (OMS) and Lewis basic site (LBS)-functionalized copper–organic framework with high CO₂ uptake performance and highly selective CO₂/N₂ and CO₂/CH₄ separation. *CrystEngComm*, 22(19), 3378-3384.

- He, S., Wu, L., Li, X., Sun, H., Xiong, T., Liu, J., Huang, C., Xu, H., Chen, W., Gref, R. & Zhang, J. (2021). Metal-organic frameworks for advanced drug delivery. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 11(8), 2362-2395.
- Hu, Y., Yang, H., Wang, R., & Duan, M. (2021). Fabricating Ag@ MOF-5 nanoplates by the template of MOF-5 and evaluating its antibacterial activity. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 626, 127093.
- Karimzadeh, S., Javanbakht, S., Baradaran, B., Shahbazi, M., Hashemzaei, M., Mokhtarzadeh, A., & Santos, H. (2021). Synthesis and therapeutic potential of stimuli-responsive metal-organic frameworks. *Chemical Engineering Journal*, 408, 127233.
- Khan, Z., Goda, E., ur Rehman, A., & Sohail, M. (2021). Selective antimicrobial and antibiofilm activity of metal-organic framework NH₂-MIL-125 against *Staphylococcus aureus*. *Materials Science and Engineering: B*, 269, 115146.
- Lian, X., Fang, Y., Joseph, E., Wang, Q., Li, J., Banerjee, S., Lollar, C., Wang, X. & Zhou, H. C. (2017). Enzyme-MOF (metal-organic framework) composites. *Chemical Society Reviews*, 46(11), 3386-3401.
- Liu, W., Pan, Y., Xiao, W., Xu, H., Liu, D., Ren, F., Peng, X., & Liu, J. (2019). Recent developments on zinc (ii) metal-organic framework nanocarriers for physiological pH-responsive drug delivery. *MedChemComm*, 10(12), 2038-2051.
- Luo, Z., Fan, S., Gu, C., Liu, W., Chen, J., Li, B., & Liu, J. (2019). Metal-organic framework (MOF)-based nanomaterials for biomedical applications. *Current medicinal chemistry*, 26(18), 3341-3369.
- Lyu, F., Zhang, Y., Zare, R., Ge, J., & Liu, Z. (2014). One-pot synthesis of protein-embedded metal-organic frameworks with enhanced biological activities. *Nano letters*, 14(10), 5761-5765.
- Martín, J., Capó, Y., Morales, R., Pichardo, T., & López, A. (2022). Conteo de bacterias y levaduras en imágenes digitales. *Medisur*, 20(2).
- Milanov, D. Prunic, B. O., & Velhner, M. A. (2014). Diagnosis of yeast mastitis in dairy cows. *Lucrari Stiintifice Medicina Veterinara*, 47(1), 56-64.
- Meng Chen, Hongyu Cen, Chengbin Guo, Xingpeng Guo, Zhenyu Chen. (2020.) Preparation of Cu-MOFs and its corrosion inhibition effect for carbon steel in hydrochloric acid solution. *Journal of Molecular Liquids*. 111.
- Nirosha-Yalamandala, B., Shen, W., Min, S., Chiang, W., Chang, S., & Hu, S. (2021). Advances in Functional Metal-Organic Frameworks Based On-Demand Drug Delivery Systems for Tumor Therapeutics. *Advanced NanoBiomed Research*, 1(8), 2100014.

- Ramírez, J., Parra, J. & Aldana, A. (2017). Análisis de técnicas de recuento de Microorganismos. *Mente Joven*, 6, 0108.
- Ruiz-Cortés, T., Orozco, S., Rodríguez, L., Idárraga, J., & Olivera, M. (2012). Factores que afectan el recuento de UFC en la leche en tanque en hatos lecheros del norte de Antioquia-Colombia. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 15(1), 147-155.
- Pettinari, C., Pettinari, R., Di Nicola, C., Tombesi, A., Scuri, S., & Marchetti, F. (2021). Antimicrobial MOFs. *Coordination Chemistry Reviews*, 446, 214121.
- Pezeshkpour, V., Khosravani, S., Ghaedi, M., Dashtian, K., Zare, F., Sharifi, A., Jannesar, R., & Zoladl, M. (2018). Ultrasound assisted extraction of phenolic acids from broccoli vegetable and using sonochemistry for preparation of MOF-5 nanocubes: Comparative study based on micro-dilution broth and plate count method for synergism antibacterial effect. *Ultrasonics Sonochemistry*, 40, 1031-1038.
- Sarker, M., & Jhung, S. (2019). Zr-MOF with free carboxylic acid for storage and controlled release of caffeine. *Journal of Molecular Liquids*, 296, 112060.
- Sánchez, E., Núñez, D., Cruz, R., Torres, M. & Herrera, E. (2017). Simulación y conteo de unidades formadoras de colonias. ReCIBE. *Revista electrónica de Computación, Informática, Biomédica y Electrónica*, 6(1) 97111.
- Secretaría de Salud. Identificación, B. La bacteriología es la herramienta más importante para confirmar la presencia de bacilos pertenecientes al Complejo M. tuberculosis en la muestra.
- Schnabel, J., Ettliger, R., & Bunzen, H. (2020). Zn-MOF-74 as pH-responsive drug-delivery system of arsenic trioxide. *ChemNanoMat*, 6(8), 1229-1236.
- Sheta, S., El-Sheikh, S., & Abd-Elzaher, M. (2018). Simple synthesis of novel copper metal–organic framework nanoparticles: biosensing and biological applications. *Dalton Transactions*, 47(14) 48474855.
- Soltani, S., Akhbari, K., & Phuruangrat, A. (2022). Improved Antibacterial Activity by Incorporation of Silver Sulfadiazine on Nanoporous Cu-BTC Metal-Organic-Framework.
- Su, L., Li, Y., Liu, Y., Ma, R., Liu, Y., Huang, F., ... & Shi, L. (2020). Antifungal-inbuilt metal–organic-frameworks eradicate *Candida albicans* biofilms. *Advanced Functional Materials*, 30(28), 2000537.
- Sun, C., Qin, C., Wang, X., & Su, Z. (2013). Metal-organic frameworks as potential drug delivery systems. *Expert opinion on drug delivery*, 10(1), 89-101.
- Sun, Y., Zheng, L., Yang, Y., Qian, X., Fu, T., Li, X. & Tan, W. (2020). Metal–organic framework nanocarriers for drug delivery in biomedical applications. *Nano-Micro Letters*, 12(1) 129.

- Syed Rizvi, Nasseem Iqbal, Muhammad Haider, Tayyaba Noor, Rehan Anwar, Saadia Hanif. (2019). Synthesis and Characterization of Cu-MOF Derived Cu@AC Electrocatalyst for Oxygen Reduction Reaction in PEMFC. *Catalysis Letter*. 150 13971407.
- Tan, G., Zhong, Y., Yang, L., Jiang, Y., Liu, J., & Ren, F. (2020). A multifunctional MOF-based nanohybrid as injectable implant platform for drug synergistic oral cancer therapy. *Chemical Engineering Journal*, 390, 124446.
- Vahed, T., Naimi-Jamal, M., & Panahi, L. (2019). Alginate-coated ZIF-8 metal-organic framework as a green and bioactive platform for controlled drug release. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 49, 570-576.
- Villegas-Fernández, M., Carpio-Granillo, M., Vargas-Hernández, E., Zuno-Cruz, F., & Sánchez-Cabrera, G. (2021). Una revisión general de las estructuras metal-orgánicas (MOF) dentro de la química inorgánica. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, 8(16), 18-29.
- Wu, M., & Yang, Y. (2017). Metal–organic framework (MOF)-based drug/cargo delivery and cancer therapy. *Advanced Materials*, 29(23), 1606134.
- Wen, T., Quan, G., Niu, B., Zhou, Y., Zhao, Y., Lu, C., Pan, X., & Wu, C. (2021). Versatile Nanoscale Metal–Organic Frameworks (nMOFs): An Emerging 3D Nanoplatförm for Drug Delivery and Therapeutic Applications. *Small*, 17(8), 2005064.
- Xi, L., Xu, M., Chen, J., Zheng, H., & Liu, T. (2022) Silver-Based Bimetallic Metal-Organic Frameworks Nanomaterials for Rapid and Collaborative Sterilization.
- Yang, J., & Yang, Y. W. (2020). Metal–organic frameworks for biomedical applications. *Small*, 16(10), 1906846.
- Yang, S., Veerana, M., Yu, N., Ketya, W., Park, G., Kim, S., & Kim, Y. (2022). Copper (II)-MOF Containing Glutarate and 4, 4'-Azopyridine and Its Antifungal Activity. *Applied Sciences*, 12(1), 260.
- Zhao, W., Deng, J., Ren, Y., Xie, L., Li, W., Wang, Q., Li, S., & Liu, S. (2021). Antibacterial application and toxicity of metal–organic frameworks. *Nanotoxicology*, 15(3), 311-330.
- Zhang, Y., Wang, L., Liu, L., Lin, L., Liu, F., Xie, Z., Tian, H., & Chen, X. (2018). Engineering metal–organic frameworks for photoacoustic imaging-guided chemo-/photothermal combinational tumor therapy. *ACS applied materials & interfaces*, 10(48), 41035-41045.
- Zhao, Y., Zeng, H., Zhu, X. W., Lu, W., & Li, D. (2021). Metal–organic frameworks as photoluminescent biosensing platforms: mechanisms and applications. *Chemical Society Reviews*, 50(7), 4484-4513.

Zheng, H., Zhang, Y., Liu, L., Wan, W., Guo, P., Nyström, A. M., & Zou, X. (2016). One-pot synthesis of metal–organic frameworks with encapsulated target molecules and their applications for controlled drug delivery. *Journal of the American chemical society*, 138(3), 962-96