

# EVALUACIÓN DEL EFECTO TÉRMICO DE NANOTUBOS DE CARBONO DE PARED SIMPLE FUNCIONALIZADOS CON ÁCIDO FÓLICO

## EVALUATION OF THERMIC EFFECTS OF SINGLE-WALLED CARBON NANOTUBES FUNCTIONALIZED WITH FOLIC ACID

Elizabeth Ayala Blanco<sup>1</sup>, Yeison Gabriel Peña<sup>1</sup>, Oveimar Barbosa<sup>2</sup>, Rodrigo Torres<sup>2</sup>, Fernando Martínez O<sup>1\*</sup>.

<sup>1</sup>. Centro de Investigación en Catálisis CICAT, Escuela de Química, Universidad Industrial de Santander- Sede Guatiguará, Bucaramanga, Colombia.

<sup>2</sup>. Grupo de Investigación en Bioquímica y Microbiología (GIBIM), Escuela de Química, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.

Recibido: Agosto 10 de 2013

Aceptado: Agosto 27 de 2013

\*Correspondencia del autor. Centro de Investigación en Catálisis CICAT, Escuela de Química, Universidad Industrial de Santander- Sede Guatiguará, Bucaramanga, Colombia.

E-mail: fmartine@uis.edu.co

### RESUMEN

En el presente trabajo se estudió la funcionalización de nanotubos de carbón de pared simple (NTC) con el ácido fólico (AF) y se midió el aumento de la temperatura de soluciones acuosas de NTC-AF irradiadas con una bombilla comercial incandescente, que emiten principalmente radiación infrarroja. El procedimiento de funcionalización se inspiró en un método de síntesis usado para la aminación de la lipasa B de la *Candida antártica*, utilizando el EDAC como agente de activación de los grupos carboxílicos superficiales presentes en los NTC. Los materiales se caracterizaron principalmente mediante I.R-ATR y DLS.

Se observó un aumento de la temperatura de los nanotubos funcionalizados cuando se irradiaron con una bombilla de 60 W durante una hora. La importancia de lograr un aumento de la temperatura radica en la aplicación de estos biomateriales en un tratamiento termo terapéutico, como un método alternativo para la destrucción de células cancerígenas o las infectadas con parásitos como la *Leishmania*, en cuyo caso las células enfermas se pueden “quemar” mediante el efecto térmico localizado.

**Palabras claves:** Nanotubo de Carbono, Ácido Fólico, Funcionalización, Irradiación IR.

### ABSTRACT

This project studied the functionalization of carbon nanotubes single wall (NTC) with folic acid (FA) and it was also measured the rise in temperature of aqueous solutions of NTC-AF irradiated with commercial incandescent bulb, which mainly emit infrared radiation. The functionalization process was inspired from a synthesis method used for the amination of the lipase B from *Candida Antarctica*, EDAC is used as activating agent of the carboxyl groups present on the NTC surface. The materials were characterized mainly by IR-ATR and DLS.

It was observed an increase in temperature of the functionalized nanotubes when irradiated with a 60 W light bulb for an hour. The importance of achieving an increased temperature of this biomaterial under irradiation is its application in thermal therapeutic treatment. It's an alternative method to eliminate cancer cells or those infected with parasites such as *Leishmania*, in which the diseased cells may “burn” by localized thermal effect.

**Keywords:** Carbon Nanotubes, Folic Acid, Functionalization, Irradiation I.R, thermal effect

## INTRODUCCIÓN

El interés en el campo de la nanotecnología se ha incrementado de manera notable en la última década, debido a su gran aplicación en campos tales como la medicina, química, ingeniería, bioquímica etc. La comprensión a nivel atómico del efecto de los fármacos, del proceso de creación de fuentes de energía inagotables y del ataque a plagas, han hecho que la comunidad científica considere la nanotecnología como uno de los más innovadores y ambiciosos proyectos de la ciencia moderna.

La estructura de los nanotubos está formada por átomos de carbono que se encuentran unidos mediante enlaces  $\pi$ , considerado como un enrollamiento de una lámina de grafeno, el cual se puede clasificar en dos tipos dependiendo del número de capas presentes: nanotubos de pared simple (NTCPS) cuya capa es bidimensional formando un cilindro de diámetro nanométrico y los nanotubos de múltiples paredes (NTCPM) formados por varias capas concéntricas a una distancia similar a la distancia interplanar del grafito.

Los nanotubos de carbono (NTC), los cuales se describen como una forma alotrópica del carbono tal como el diamante o los fullerenos presentan un amplio rango de propiedades estructurales, electrónicas y térmicas que permiten trabajar a escala molecular, realizar síntesis de nanoestructuras y auto ensamblado (1). Las propiedades de los NTC han permitido visionar aplicaciones en el campo de la nanotecnología(2). El presente trabajo esta enfocado hacia el diseño de un material nanohíbrido a base de NTC y AF utilizando como estrategia una funcionalización que permita la posibilidad de obtener materiales bioconjugados sin modificar las propiedades electrónicas y estructurales de los NTC.

Se espera que la funcionalización con el AF pueda facilitar la internalización selectiva del NTC en células enfermas, ya que se ha indicado que en las células cancerígenas se manifiesta una sobreexpresión de receptores de folatos (3), luego la presencia del AF permitirá el ingreso del NTC a la célula, la cual al irradiarse con radiación infrarroja excitará los NTC, generándose un aumento local de la temperatura para “quemar” la célula (4).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Productos químicos y reactivos

Los nanotubos de carbono de pared simple carboxilados (NTC-COOH), ácido fólico (AF), etilendiamina (EDA), hidróxido de sodio, ácido clorhídrico, N,N'-diciclohexilcarbodiimida (EDAC),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  fueron adquiridos de Sigma Aldrich, usados sin posterior tratamiento.

### Funcionalización de NTC-COOH con Etilendiamina.

En un vaso de precipitado se mezclaron 20 mg de NTC-COOH, una solución acuosa 1M de EDA. y 2mg de EDAC, en un baño de hielo y se mantuvo con agitación constante durante 1 hora. Posteriormente se centrifugó la mezcla a 14000 rpm, extrayendo el sobrenadante y lavando con agua destilada para eliminar el exceso de EDA que no reaccionó. Finalmente el sólido obtenido se secó a temperatura ambiente.

### Funcionalización de NTC-EDA con Ácido Fólico.

En un vaso de precipitado se preparó una solución de AF (10mg en 22 mL de buffer fosfato (25 Mm). Luego se adicionaron 42 mg (10 mM) de EDAC y 10 mg de NTC-EDA, se realizó una agitación durante 1 hora. Posteriormente la mezcla se centrifugó a 14000 rpm, extrayendo el sobrenadante y lavando con agua para eliminar el exceso de AF que no reaccionó. El sólido obtenido se secó a temperatura ambiente.

### Evaluación del efecto térmico de la funcionalización NTC-AF.

#### - Preparación de soluciones de 100 y 1000ppm.

En un balón aforado de 50 mL se colocaron los NTC-AF y se adicionó la cantidad requerida de agua mineral para la concentración deseada. Luego, la mezcla se agitó durante 10 minutos y posteriormente fue sonicada durante 20 minutos en un ultrasonic processor.

#### - Irradiación con luz IR de las soluciones.

Se utilizó una bombilla incandescente de 60 W, este tipo de lámparas emite alrededor del 75% radiación infrarroja, 15% luz visible y 10% radiación ultravioleta. La lámpara se ubicó a 15 cm de las soluciones en un sistema cerrado y se llevó un control de temperatura cada 15 minutos hasta llegar a una hora. Se utilizó como blanco el agua

### Caracterización espectroscópica de NTC-AF y NTC-EDA mediante IR/ATR.

Los espectros de infrarrojo fueron obtenidos en un espectrofotómetro FT-IR Bruker modelo Tensor 27.

### Determinación del tamaño de partícula mediante dispersión de luz dinámica (DLS).

Los espectros de DLS fueron obtenidos mediante un equipo zetasizer nano modelo ZS90.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Funcionalización NTC

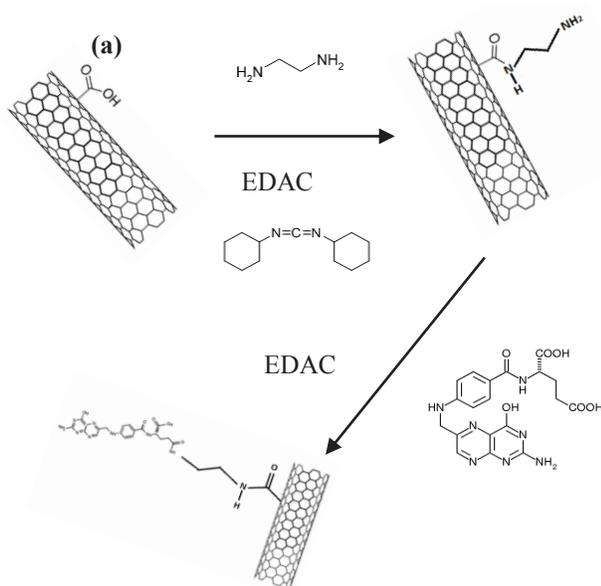


Figura 1. Esquema de: Funcionalización del NTC.

El procedimiento de funcionalización del NTC con EDA y AF se indica en la figura 1, el cual se basó en un método de síntesis desarrollado para la aminación de la lipasa B de la *Candida antarctica* (5), usando EDAC como agente activante de los grupos carboxílicos presentes en la superficie de los NTC-COOH, lo que permite el ataque nucleófilo de uno de los grupos amino de la EDA, formando así un enlace amida, y a su vez dejando libre un grupo amino primario para su funcionalización con un grupo carboxílico.

### Caracterización del NTC-COOH, NTC-EDA y NTC-AF mediante IR/ATR.

La funcionalización de NTC con EDA y AF se confirmó por Espectroscopia IR/ATR. En la figura 2 se indica el espectro del NTC-COOH, se observa la presencia del grupo COOH presente en el NTC, mediante la banda de estiramiento del OH libre en 3678.69  $\text{cm}^{-1}$ , la banda en el plano del C-O-H en 1426.27  $\text{cm}^{-1}$ , la banda de flexión

del OH en 1396.42  $\text{cm}^{-1}$  y la banda característica del C=O en 1700.20  $\text{cm}^{-1}$ .

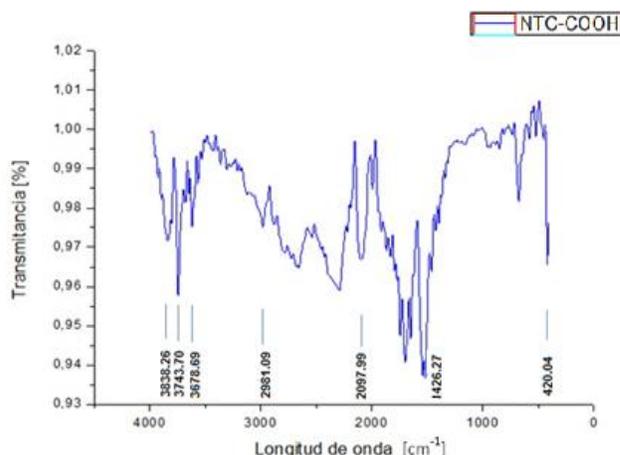


Figura 2. Espectro IR/ATR del NTC-COOH.

Además, se confirmó la presencia del NTC, que debido a su naturaleza aromática presenta ciertas bandas características: la banda de sobretono de los compuestos aromáticos en 2097.99  $\text{cm}^{-1}$ , el estiramiento del CH en la región en 2981.09  $\text{cm}^{-1}$  y la banda fuera del plano de los compuestos aromáticos sustituidos en 675.90  $\text{cm}^{-1}$ . Adicionalmente, hacia longitudes de ondas altas se evidencia la banda de los grupos OH libres en 3838  $\text{cm}^{-1}$ .

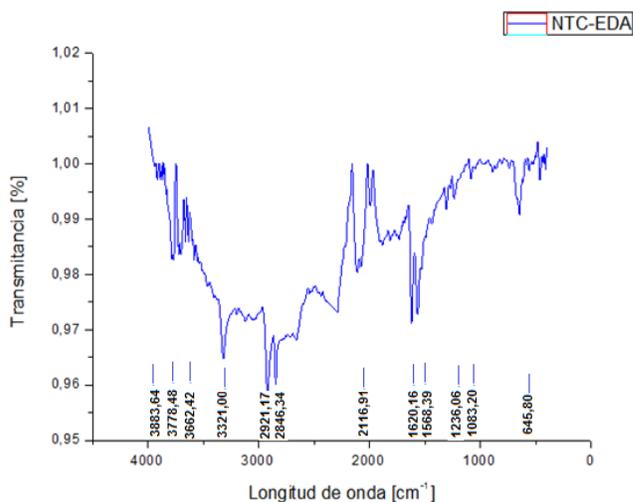


Figura 3. Espectro IR/ATR del NTC-EDA

En la figura 3 se muestra el espectro del NTC-EDA, donde se observa la banda de alargamiento del N-H de una amida secundaria en 3321  $\text{cm}^{-1}$ , además se identifican las bandas de estiramiento del C-H en aminas alifáticas, la banda I de la amida del C=O en 1620.16  $\text{cm}^{-1}$  y la banda II de la amida en 1568.39  $\text{cm}^{-1}$  y se corrobora la presencia del grupo etilo de la amina por la presencia de las bandas asociadas al estiramiento del grupo CH<sub>2</sub> en 2921.17  $\text{cm}^{-1}$  y 2846.34  $\text{cm}^{-1}$ . También se confirma el enlace carbono-nitrógeno en la banda de estiramiento

del CN en  $1083.20\text{ cm}^{-1}$  y  $1236.06\text{ cm}^{-1}$ , una banda débil resultado de la interacción entre la flexión del N-H y tensión de alargamiento del C-H. La banda fuera del plano del N-H se observa en la región de  $645.80\text{ cm}^{-1}$ .

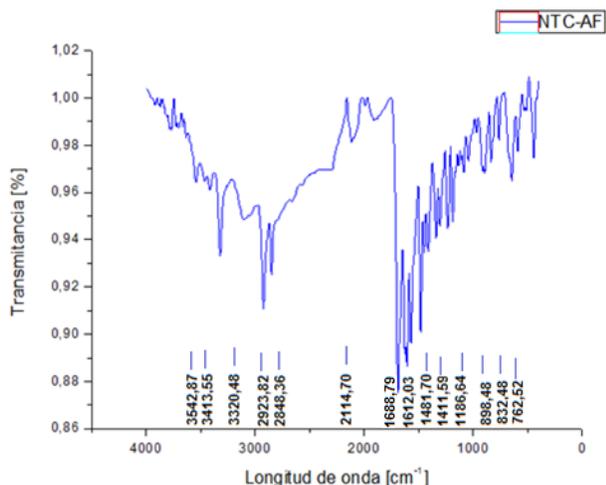


Figura 4. Espectro IR/ATR del NTC-AF

El espectro IR de NTC-AF muestra en la figura (4), la presencia del ácido fólico se evidenció por medio de las siguientes bandas: alargamiento del N-H en  $3320\text{ cm}^{-1}$  y la banda de estiramiento del C=O en  $1688.79\text{ cm}^{-1}$ . Adicionalmente, una doble absorción del benceno conjugado en  $1612.03\text{ cm}^{-1}$ , en  $1570.34\text{ cm}^{-1}$  la banda II de la amida, las bandas simétricas y asimétricas del COO- en  $1339.66\text{ cm}^{-1}$  y  $1411.59\text{ cm}^{-1}$  y en  $1481.70\text{ cm}^{-1}$  banda característica del heteroanillo conjugado de doble enlace. Y se evidencian algunas bandas características del producto intermedio NTC-EDA con la aparición de dos bandas características del grupo metilo en aminas alifáticas en  $2923.82\text{ cm}^{-1}$  y  $2848.36\text{ cm}^{-1}$ , se intensificó la banda de tensión del N-H en  $3413.55\text{ cm}^{-1}$ .

#### Determinación del tamaño de partícula

El tamaño de partícula medido, indicó que se produce un cambio en el tamaño de la partícula a medida que se funcionalizó el NTC con EDA y AF, tal como se observa en la tabla 1. Además, los índices de polidispersión (PDI), los cuales están asociados al tipo de dispersión de cada partícula, en este caso el valor de 0.1 indica el tipo de partícula presente, en este caso es de tipo monodispersa.

#### Evaluación del efecto térmico del material NTC-AF.

Para medir el efecto térmico generado por la solución que contiene los NTC funcionalizados al irradiarse con luz IR. de la lámpara incandescente, se midió la temperatura de cada solución. Se evaluó previamente los siguientes parámetros: potencia de la lámpara, altura de

Tabla 1. Tamaño de partícula de la funcionalización de NTC-AF

Muestra	Tamaño promedio (nm)	PDI
NTC-	120.8	0.318
COOH		
NTC-EDA	122.0	0.255
NTC-AF	162.5	0.591

la misma con respecto a la solución y tiempo de irradiación en un sistema cerrado.

En la Figura 5 se observa un incremento de la temperatura con respecto al tiempo para las soluciones de 100 y 1000 ppm al ser irradiadas con una lámpara incandescente de 60 W en un sistema cerrado. En donde se observó un aumento de la temperatura de las soluciones acuosas de NTC-AF, este cambio de temperatura es mayor a medida que aumenta la concentración del NTC-AF, por ejemplo para la solución de 100 ppm se observó un máximo de  $41^{\circ}\text{C}$  en cambio para la solución de 1000ppm se registró un máximo de  $53^{\circ}\text{C}$ .

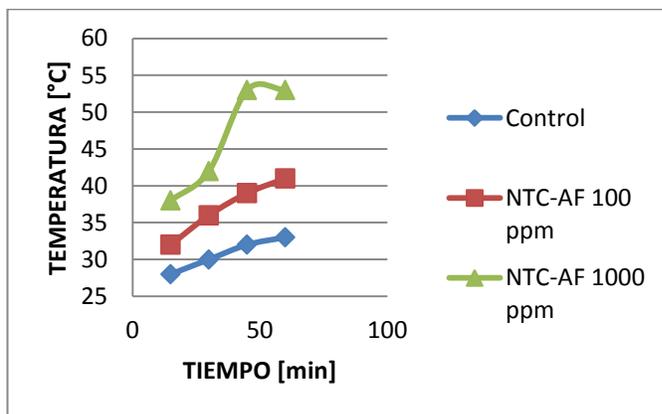


Figura 5. Medición del cambio de la temperatura en las soluciones acuosas de 100 y 1000 ppm, a una altura de 15 cm en un sistema cerrado iluminadas con bombilla incandescente de 60 W.

Incluso nuestro biocompuesto presentó un mayor aumento de la temperatura cuando se comparó con soluciones similares de NTC, donde la interacción del NTC con el AF era diferente (tipo van der Waals) (3). Este aumento de la Temperatura es debido a la presencia de los NTC ya que en el blanco se presentó un leve cambio de la temperatura. Estos resultados nos permiten proponer el sistema NTC-AF para el tratamiento de células

enfermas ya que en presencia de la radiación infrarroja se genera un efecto térmico local que podría *quemar* a célula enferma.

## CONCLUSIONES

La técnica espectroscópica IR/ATR permitió evidenciar la funcionalización de los NTC con el AF.

La técnica de DLS permitió evidenciar de manera indirecta la funcionalización de los NTC debido al cambio de tamaño de la partícula en relación con el tamaño de grupo funcional que se adhiere al NTC.

Se evidenció que la interacción de la radiación IR con el NTC-AF genera un aumento de la temperatura de la solución acuosa irradiada, el cual es proporcional a la concentración de NTC-AF.

Se propone el uso del biomaterial NTC-AF en aplicaciones biomédicas para el tratamiento de células cancerígenas o infectadas con parásitos, la presencia del AF facilita su internalización celular y mediante la generación de un efecto térmico local se conduciría la muerte selectiva de las células enfermas.

---

## BIBLIOGRAFÍA

1. Atienzar, P. "Síntesis, propiedades fotofísicas y aplicaciones de nanotubos de carbono de pared única funcionalizados", Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Valencia 2007.
2. Ya-Ping, S. Kefu, F., Yi, L y Weijie, H. *Acc. Chem. Res.* 2002 (35)1096-1104.
3. Castillo, J. "Diseño y Preparación de Nanocompuestos Funcionalizados con Ácido Fólico y sus Aplicaciones Biomédicas", Tesis Doctoral, Universidad Industrial de Santander 2012.
4. Xia W., Low P. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2010; 53: 6811-6824.
5. Galvis, M., Barbosa, O., Ruiz, M., Cruz, J., Ortiz, C., y Torres R. *Process Biochemistry*: 2012 (47) 2373-2378.
6. Wadzanai, C., y Tebello, N. *Carbon* 2010 (48) 2831-2838.
7. Castillo, J.J., Rindzevicius, T., Novoa, L., Svendsen, W., Rosloznik, N., Boisen, A., Escobar, P., Martínez, F., y Castillo, J. (2013). *Journal of Materials Chemistry*.,11475-1481.