

Nanotubos de carbono: funcionalización y aplicaciones biológicas

Carbon nanotubes: Functionalization and biological applications

Marlene Lariza Andrade Guel, Lluvia Itzel López López, Aidé Sáenz Galindo

Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila. Blvd. V. Carranza e Ing. José Cárdenas s/n, Col. República, C.P. 25280, Saltillo, Coahuila, México.

Resumen

Los nanotubos de carbono (NTC's) son alótropos del carbono, como el diamante, el grafito o los fullerenos. Existen diferentes tipos de NTC's en función de las capas de grafito que los forman, estos pueden ser nanotubos de carbono de pared sencilla (SWCNT's) y nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT's). En el presente trabajo se aborda la funcionalización química de los nanotubos de carbono con diferentes grupos funcionales como lo son aminas, ácidos carboxílicos, sales de diazonio, además de las técnicas utilizadas para llevar a cabo la funcionalización; las propiedades de los nanotubos de carbono y su importancia para las aplicaciones biológicas como su actividad antibacteriana, su uso como biosensores y como transportadores de fármacos.

Abstract

Carbon nanotubes (CNT's) are allotropes carbon, like diamond, graphite and fullerenes. There are different types of CNT's in terms of the graphite layers that form, can be single wall carbon nanotubes (SWCNT's) and multi wall carbon nanotubes (MWCNT's). This paper described the chemical functionalization of carbon nanotubes with different functional groups such as amines, carboxylic acid, diazonium salts, and the techniques used to carry out the functionalization, the biological properties of carbon nanotubes such as antibacterial activity, their use as biosensors and as carriers of drugs.

Palabras clave: nanotubos de carbono, funcionalización química, biosensor, antibacterianos.

Key words: carbon nanotubes, chemical functionalization, biosensor, antibacterial.

Correspondencia:

Dra. Lluvia Itzel López López
Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila. Blvd. V. Carranza e Ing. José Cárdenas s/n. Col. República, C.P. 25280, Saltillo, Coahuila.
Tel. (844) 415-57-52, 415-53-92, Fax 415-95-34.
e-mail: lluvialopez@uadec.edu.mx,
aidesaenz@uadec.edu.mx

Fecha de recepción: 05 de diciembre de 2011

Fecha de recepción de modificaciones:

29 de enero de 2012

Fecha de aceptación: 14 de marzo de 2012

Introducción

Los nanotubos de carbono (NTC's) son alótopos del carbono, como el diamante, el grafito o los fulerenos, fueron descubiertos accidentalmente por S. Iijima, ya que en un principio se pensó que eran fulerenos. Su estructura puede ser procedente de una lámina de grafeno enrollada sobre sí misma. Debido al grado de enrollamiento, y la manera como se conforma la lámina original, muestran distinto diámetro y geometría interna.¹

Existen diferentes tipos de NTC's en función de las capas de grafito que los forman, estos pueden ser nanotubos de carbono de pared sencilla (SWCNT's por sus siglas en inglés) y nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT's) que pueden considerarse como capas de láminas de grafito enrolladas concéntricamente donde cada átomo de carbono está unido con otros tres mediante hibridación sp^2 .

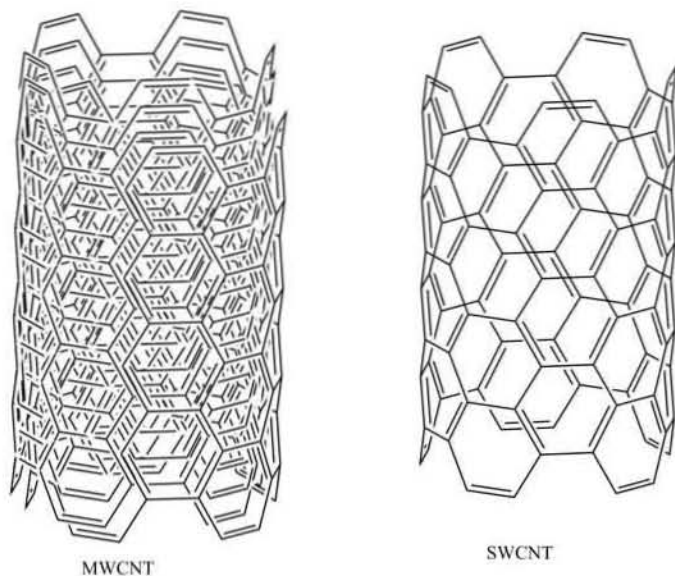


Figura 1. Dibujo de Nanotubos de pared simple (SWNT's) y de pared múltiple (MWNT's).

Así como las nanofibras de carbono (CNF por sus siglas en inglés) que representan una forma más desordenada de los MWCNT's, manteniendo su estructura tubular.² Estos nanomateriales presentan buenas propiedades físicas como son su densidad, resistencia y conductividad térmica, que resultan interesantes en la creación de nuevos nanomateriales, por ejemplo, se han preparado materiales a base de MWCNT's y polímeros con aplicaciones muy diversas.^{3,4}

Entre las aplicaciones descritas para los NTC's están su uso como biosensores, como transportadores de fármacos y agentes con propiedades antibacterianas.

En la presente revisión se abordan algunos de los métodos informados en la funcionalización química de los NTC's y sus aplicaciones biológicas relevantes, como el desarrollo de biosensores a base de estos nanomateriales, como transportadores y liberadores de fármacos, así como sus propiedades antibacterianas.

Funcionalización química de NTC's

Los SWCNT's muestran una interesante combinación de propiedades debido a su estructura, las dimensiones que presentan, estabilidad química, mecánicas y eléctricas. Sin embargo, uno de los mayores problemas son su poca dispersión, lo que ha dificultado ciertas aplicaciones, en especial las biológicas, entre las descritas se encuentran como liberadores de fármacos; lo que ha sido resuelto gracias a la funcionalización química de estas estructuras.⁵

La funcionalización se define como la modificación de propiedades por la adsorción de átomos o moléculas en las paredes exteriores de los nanotubos de carbono. Se pueden obtener cambios en las propiedades físicas de la superficie de estas nanopartículas, como lo son la solubilidad y dispersión, las cuales son importantes en las propiedades biológicas de los NTC's, ya que les permite tener una mejor interacción con moléculas biológicas.^{6,7}

Por medio de la oxidación química de SWCNT's se pueden agregar diversos grupos funcionales como ácidos carboxílicos, aminas y amidas. Además se ha utilizado la química del diazonio para la introducción de disulfuro de fenilo, siendo éste un método para introducir fácilmente radicales arilo de tipo covalente a los SWCNT's.^{8,9} En la literatura se describe la funcionalización de SWCNT's mediante la reacción electroquímica de sales de diazonio, así como bajo condiciones térmicas con aminas aromáticas, siendo un método para la funcionalización covalente de arilo con diversas sustituciones a los NTC's.

Los SWCNT's se pueden oxidar al reaccionar con una mezcla de ácido nítrico y ácido sulfúrico^{11,12} con lo cual se introducen grupos carboxílicos en sus extremos. Mediante la química del grupo carboxílico y en muchos casos su activación a cloruros de acilo, permite el acoplamiento de moléculas por medio de unión covalente formando enlaces tipo éster y amidas.¹² Se ha descrito un procedimiento "invasivo" en las paredes exteriores del grafito con ácido nítrico bajo condiciones de agua supercrítica.¹³

La funcionalización con aminas ha sido ampliamente estudiada por la unión covalente con SWCNT's o la adsorción de diferentes aminas a la estructura de los NTC's, en la Figura 3 se esquematiza la funcionalización de grupos tipo amida.¹⁴

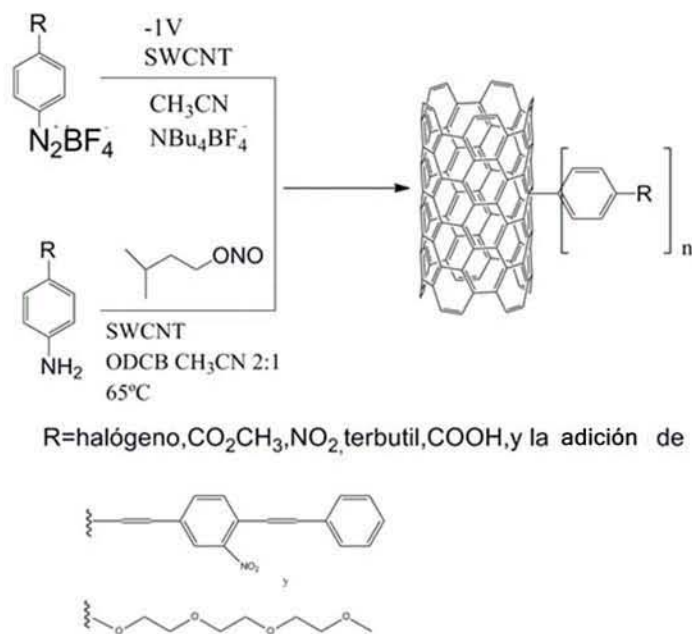


Figura 2. Funcionalización de SWCNT's por reacción con sales de diazonio y aminas.¹⁰

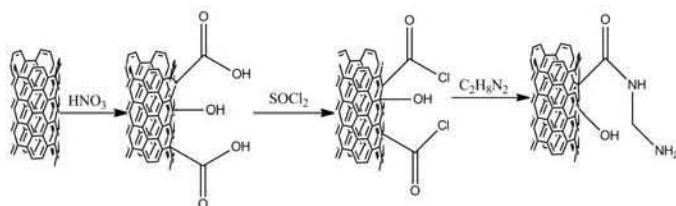


Figura 3. Esquema de funcionalización de SWCNT con aminas.

Los SWCNT's han sido utilizados en diversas reacciones como cicloadiciones, adición de carbenos, sales de diazonio e hidracinas.¹⁵ Recientemente, se ha reportado la funcionalización de nanotubos mediante plasma, mostrando ventajas en comparación con el tratamiento químico, ya que la superficie del nanotubo se modifica fácilmente.¹⁶ Existen numerosas investigaciones que abordan el tema de la purificación de los NTC's antes de funcionalizarlos.

La purificación se refiere a la remoción de catalizadores metálicos de los NTC's provenientes de algunos métodos de síntesis de estos nanomateriales. Algunos de los métodos son el tratamiento con ácido sulfúrico,¹⁷ uso de solución de ácido nítrico bajo condiciones de reflujo y utilizando mezclas de estos dos ácidos; éstos tratamientos pueden crear defectos en las paredes laterales de los NTC's, además cuando se oxidan disminuyen la superficie, los defectos que se presentan al purificarlos con estos ácidos alteran las propiedades mecánicas de los NTC's.^{18,19,20} Otro método de purificación reportado es

mediante la utilización de polímeros orgánicos, el tratamiento con peróxido de hidrogeno, así como el uso de fuentes alternativas como microondas y ultrasonido.²¹

Los NTC's funcionalizados pueden ser utilizados como materia prima para reacciones en solución homogénea, de particular importancia son las reacciones con especies biológicas que necesitan que los nanotubos de carbono funcionalizados sean lo más dispersos en agua o en alcoholes.²²

La funcionalización por medio de enlaces de tipo covalente ha resultado muy prometedora, ya que se forma un enlace fuerte entre los grupos funcionales adicionados y los SWCNT's. Sin embargo, los NTC's pueden interactuar con las moléculas de diversas maneras. Hay dos tipos de funcionalizaciones: las covalentes en la cuales se introducen grupos funcionales creando enlace a los NTC, ejemplo de ello es la funcionalización con ácidos carboxílicos y aminas.²³ La unión por medio de adsorción se ejemplifica con el antraceno y derivados, siendo moléculas poliaromáticas, presentando interacciones tipo π - π con los NTC's.²⁴

Las funcionalizaciones no covalentes se basan en la adsorción de moléculas como surfactantes, compuestos aromáticos y polímeros como poliácridamida, poliestireno, entre otros, que no alteran las propiedades de los NTC's.²⁵⁻²⁷

En el caso de MWCNT's y su funcionalización con ácido maléico y anhídrido maléico se ha mostrado con excelentes resultados, en donde se ve mejorada su dispersión.²⁸

El ultrasonido y las microondas son fuentes alternativas que se utilizan para dispersar en solución los NTC's, mejorando la interacción entre los diversos grupos funcionales y los carbonos sp^2 de los MWCNT's. Con el fin de mejorar la dispersión y la adhesión interfacial, además del ultrasonido se han utilizado fluidos supercríticos en tratamientos químicos como la oxidación con ácidos y la reacción con radicales libres.²⁸ La irradiación de microondas puede iniciar polimerizaciones en el NTC's a partir de un monómero iniciador.²⁹ Una de las ventajas de la unión de los grupos funcionales a los NTC's, es que representa una funcionalización química interesante ya que permite mejorar la dispersión de éstos, lo que ayuda en las aplicaciones biológicas.³⁰

La ruta sintética más común para funcionalizar a los MWCNT's al igual que los SWCNT's se basa en la reactividad de las paredes con grupos carboxílicos por medio de la oxidación con ácido nítrico. También se pueden realizar amidación, esterificación o la reacción de Friedel-Crafts. En la Figura 4 se muestra la funcionalización mediante oxidación y amidación. Los MWCNT's a veces presentan defectos en los cuales se pueden introducir grupos funcionales.³¹

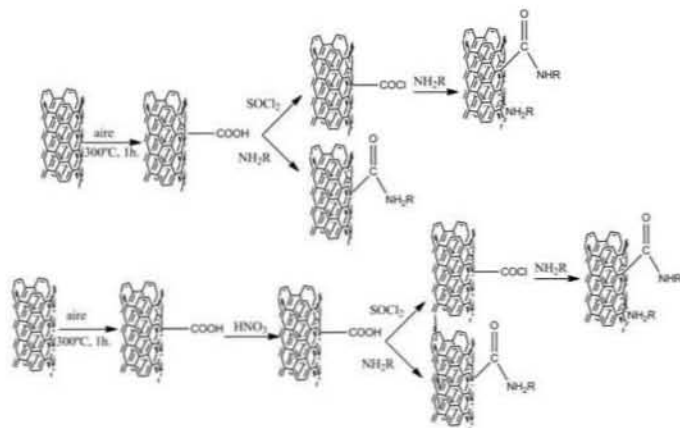


Figura 4. Reacciones de oxidación y amidaciones en nanotubos de carbono

Aplicaciones biológicas de los NTC's

Los NTC's son nanomateriales que muestran una diversidad de aplicaciones potenciales que incluyen la terapia fototérmica, imagen fotoacústica, administración de fármacos y otras aplicaciones biomédicas. El principal problema que se ha suscitado en este tipo de nanomateriales para su aplicación es su pobre solubilidad en agua y su toxicidad, los que se ha resuelto parcialmente con la modificación de la superficie de NTC's, haciéndolos más dispersos en agua, lo que se encuentra directamente relacionado con su biocompatibilidad.

Entre las aplicaciones biológicas encontradas en la literatura se encuentra que moléculas biológicas como el ADN y carbohidratos pueden unirse de manera covalente a SWCNT's funcionalizados. En donde la funcionalización de SWCNT's se realizó mediante la oxidación con $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$, lo que integra grupos ácido carboxílicos en la superficie de los SWCNT's, para posteriormente desarrollar la reacción con aminas como la etilendiamina y la ftalamida, para tener finalmente funcionalidades terminales de amida y amina, los cuales pueden interaccionar y unirse covalentemente con una diversidad de polímeros. Este tipo de nanomateriales representan una posibilidad de uso en la biotecnología, ya que las propiedades tanto de los SWNTC's como de los materiales poliméricos se modifican.³²

Otra unión entre NTC's y biomoléculas, es la descrita para SWCNT's y anticuerpos monoclonales específicos de los fulerenos C_{60} , que reconocen y se unen de manera específica a los SWNTC's, lo cual se estudió mediante técnicas tipo ELISA. Abriendo nuevas investigaciones en las disciplinas de la nanotecnología eléctrica y la inmunología monoclonal.³³

La actividad antimicrobiana de estructuras en orden nanométrico se ha investigado, en donde los NTC's no son la

excepción. El efecto antibacteriano tanto de SWCNT's como de MWCNT's utilizando *Escherichia coli*, se ha informado. En donde se demuestra que los SWCNT's son más activos que los MWCNT's, se propone que debido a su estructura y magnitud pueden atravesar la membrana de la bacteria.³⁴

Se han desarrollado filtros que tienen como propósito la inactivación de microorganismos. La estructura de éstos filtros esta compuesta por SWCNT's-MWCNT's y otros solo de MWCNT's. De acuerdo a los resultados, se demuestra la inactivación de ciertas bacterias como *E. coli* y *Staphylococcus epidermis*, en donde los mejores resultados lo muestra el filtro con mezcla de ambos NTC's.³⁵

De manera similar, se ha desarrollado un filtro electroquímico a base de MWCNT's, en el cual se aplica una corriente de 2 a 3 volts por 30 segundos, removiendo e inactivando tanto virus como bacterias. La bacteria *E. coli* se inactiva en un 75% y se propone que esto está asociado a un mecanismo de oxidación de los MWCNT's ocurrido en la bacteria.³⁶

Es bien conocida la actividad antibacteriana de la plata y el cobre, así como de sus nanopartículas. Sin embargo, también se conoce su toxicidad. En este campo se han desarrollado complejos con nanopartículas de plata y cobre en la superficie de MWCNT's. en donde se reporta la inactivación en un 97% para *E. coli* con MWCNT's-Ag y del 75% con MWCNT's-Cu, teniendo como blanco la acción de inactivación de un 20% de los MWCNT's-COOH oxidados (los cuales se obtuvieron por tratamiento ácido), resultando una mejor actividad antibacteriana de MWCNT's con nanopartículas metálicas.³⁷

Otro estudio en el cual se utilizan nanopartículas de plata y NTC's así como carbón pirolítico también recubierto con plata, en donde se consideran éstos materiales como biomateriales con naturaleza antibacteriana de válvulas cardiacas. El efecto bactericida contra *E. coli* y *S. aureus* es mucho mejor con los NTC's-Ag que con el carbón pirolítico-Ag.³⁸ Sin embargo la baja estabilidad de los iones de plata resulta la pérdida de la eficacia antimicrobiana. Con propiedad antibacteriana se ha propuesto el nanocompuesto a base de MWCNT's/epsilon-pollisina. El epsilon-pollisina es un polímero que tiene menor toxicidad que las partículas de plata, una mayor estabilidad y es considerado un biocida de amplio espectro; es sin duda un material que se puede unir covalentemente a los NTC's.³⁹

Otra molécula que se ha unido covalentemente a MWCNT's y SWCNT's es la porfirina formando un nanocompuesto con actividad antibacteriana en contra de *S. aureus*, el estudio bacteriológico se desarrolló sobre placas de agar con el nanocompuesto, en las cuales se inoculó la bacteria, se incubaron las placas a 37 °C y se contaron las colonias después de la incubación.⁴⁰

El mecanismo de acción, en el cual los NTC's producen el efecto antibacteriano mostrado no está bien esclarecido, se ha propuesto que los NTC's promueven la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) y la lipoxidación de la membrana con su posterior daño.

Biosensores biológicos a base de NTC's

Una de las aplicaciones de mayor importancia en el ámbito de los nanomateriales dentro del área de la medicina y biotecnología es la creación de biosensores para la detección de diferentes metabolitos, en los que la funcionalización de NTC's resulta importante.⁴¹⁻⁴³

Los NTC's debido a las propiedades eléctricas que presentan y a su tamaño nanométrico se consideran los biosensores ideales. Se ha reportado la inserción química de moléculas de ADN y proteínas con un reconocimiento específico de estas.^{44,45} La detección de proteínas se puede llevar a cabo con un sistema semiconductor de NTC's con anticuerpos y antígenos específicos, es importante considerar que los NTC's poseen una afinidad natural por ciertas proteínas a través de interacciones hidrófobas o electrostáticas.⁴⁶

Se ha utilizado la 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carboxiimida en la funcionalización de nanotubos oxidados en medio ácido, por conjugación de tipo covalente o adsorción de moléculas.⁴⁷ Se ha investigado el comportamiento de adsorción del sistema estreptavidina/biotina y SWCNT's encontrando las mejores condiciones utilizando un surfactante (Tritón) y polietilenglicol (PEG).⁴⁸

A través de interacciones supramoleculares y unión de tipo covalente de las biomoléculas en los NTC's, se han logrado inmovilizar ADN, proteínas y enzimas.⁴⁹ Se han desarrollado biosensores electroquímicos basados en combinar enzimas que ayudan al diagnóstico clínico; las enzimas son inmovilizadas por NTC's y retienen su actividad de biocatálisis.⁵⁰ En ocasiones se utilizan matrices poliméricas para que exista un entrecruzamiento de enzima y polímero para formar una película que sirva como biocatalizador y sensor.⁵¹ Por ejemplo, se ha diseñado un biosensor en el cual el platino parte de una matriz con SWCNT's, se inmovilizó la enzima glucosa oxidasa que se utilizó para detectar ciertos metabolitos.⁵²

El reconocimiento biomolecular de los sensores está asociado con propiedades de macromoléculas como oligonucleótidos y proteínas es por eso que se busca funcionalizar NTC's de pared múltiple con este tipo de moléculas.⁵³⁻⁵⁵ Los NTC's se han utilizado como portadores de imágenes y en la biodistribución de radio-marcadores, lo cual se ha investigado *in vivo* en ratones con la tomografía por emisión de positrones. Se encontró que los NTC funcionalizados con fosfolípidos fueron estables en la circulación y el sistema reticuloendotelial.⁵⁶

Aplicaciones farmacéuticas

La nanomedicina es una disciplina joven, en la cual la síntesis de nanofármacos con diversas aplicaciones es el centro de numerosas investigaciones. Dentro de éstos se encuentran los nanotubos de carbono modificados, debido a sus particularidades en sus propiedades. El interés del uso de los NTC's en aplicaciones biológicas surge del reporte en el cual los NTC's modificados con péptidos y proteínas son introducidos dentro de la célula espontáneamente.

Las características fisicoquímicas de los NTC's como su tamaño nanométrico, composición química, superficie de funcionalización y dispersión⁵⁷⁻⁵⁹ ayudan a la administración y transporte de fármacos, lo que se ha demostrado en estudios *in vitro*.⁶⁰

Los NTC's tienen el potencial de llevar los fármacos en el organismo ya que son más pequeños que las células sanguíneas. Algunos de los métodos desarrollados ha sido el unir moléculas como el ADN, péptidos y proteínas dentro y fuera de los NTC's. Esto le da la capacidad de detectar y destruir células individuales que pueden ser cancerosas o infectadas por virus.⁶⁰

En este campo, se ha mostrado que los MWCNT's en el sistema MWCNT's-PCA-PTX muestran propiedades biológicas interesantes. Los MWCNT's en un principio fueron funcionalizados con ácido poliacrílico (PCA) para aumentar su naturaleza hidrofílica y funcionalidad con grupos carboxílicos. Después el paclitaxel (PTX) un agente anticancerígeno, es unido vía covalente en los sitios carboxilo del PCA, obteniendo el sistema MWCNT's-PCA-PTX con un 38% en peso de contenido de fármaco. El PTX puede ser fácilmente liberado del sistema a un pH de 6.8 y 5.0, lo cual es compatible con la liberación en células y tejidos de tipo tumoral. La actividad citotóxica *in vitro* en las líneas celulares A549 y SKOV3, se muestra que el sistema MWNT-PCA no es activa en ambas líneas celulares, mientras que MWCNT's-PCA-PTX tiene efectos citotóxicos mayores que el efecto del PTX libre, lo que se sugiere sea por una mejor penetración celular del sistema MWCNT's-PCA-PTX, lo que representa una potencial terapia contra el cáncer, en donde la forma y el tamaño de las nanopartículas son dos factores críticos en la toxicidad y eficacia en los sistemas transportadores de fármacos.⁶¹

Los SWCNT's han sido extensamente estudiados para aplicaciones biomédicas. Los SWCNT's muestran particulares propiedades electrónicas, lo que se observa en sus señales en el infrarrojo, fluorescencia, fotoacústica y espectroscopia Raman, lo cual resulta en una detección no invasiva y de alta sensibilidad. Así los SWCNT's se han estudiado como agentes de imagen para la evaluación y localización de tumores tanto *in vivo* como *in vitro*.⁶²

Algunos fármacos a base de proteínas necesitan ser administrados vía intravenosa ya que por vía oral el pH del estómago no es favorable para la biodistribución del fármaco. Este problema, ha servido de base en investigaciones donde los NTC's transportan este tipo de fármacos dentro de las células.

Se tiene reporte de fármacos anticancerígenos y antivirales en estudio utilizando estos métodos de transporte.⁶³ Uno de los métodos de transporte que se cree lleva a cabo el NTC's es la ruptura de membrana ya que los NTC's actúan como una aguja, otro tipo de transporte es por endocitosis cuando los NTC's son funcionalizados con moléculas más grandes.⁶⁴

La capacidad de transporte de los NTC's combinado con anticuerpos que reconocen las proteínas de los tumores pueden mejorar aun más la eficacia y la reducción de efectos secundarios ya que los fármacos anticancerígenos pueden producirlos.⁶⁵

El factor de crecimiento epidermal (EGFR) se encuentra sobreexpresado en más del 90% de los carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello, en donde el Cetuximab (Cet) es un anticuerpo monoclonal que se une selectivamente al receptor. Nanovectores de carbono funcionalizados con PEG son usados como transportadores de fármacos anticancerígenos que muestran una baja solubilidad en agua. Estos nanovectores son capaces de secuestrar las moléculas por ejemplo del paclitaxel (Pax) por simple fisisorción y liberarlo en las células cancerígenas *in vitro*. El sistema NTC's-Cet/PTX/PEG es una formulación estable en la cual se produce PTX por unión con el EGFR. El éxito de esta formulación es el establecimiento de un protocolo *in vitro* de la combinación de anticuerpos/fármacos, donde una la unión de tipo no covalente del anticuerpo o fármaco al nanovector se requiere.⁶⁶

Una de las aplicaciones descritas en la literatura es el estudio de MWCNT's funcionalizados con poliamidoamina como vectores de genes. Estos materiales se prepararon mediante la reacción de poliamidoamina y MWCNT's oxidados. Los MWCNT's-poliamidoamino son menos tóxicos que los MWCNT's oxidados y la poliamidoamina, sobre las líneas celulares COs-7 y HeLa. Además mostrando la expresión genética *in vitro* del sistema, lo que sugiere su potencial aplicación como vector genético con baja toxicidad.⁶⁷

La toxicología y la farmacología están estrechamente relacionadas cuando se trata de proponer una nueva nanomedicina a base de NTC's ya que se deben hacer estudios *in vivo* para determinar si la administración de NTC's no causan daño a las células del cuerpo humano.^{68,69}

Algunos estudios plantean que los SWCNT's presentan mayor citotoxicidad en mamíferos mientras que los MWCNT's

muestran un bajo nivel de citotoxicidad; el mecanismo de toxicidad más aceptado es el estrés oxidativo que explica que los NTC's en bacterias como *E. coli* ocasionan rupturas en la membrana celular.^{70,71}

La comparación de la citotoxicidad de SWCNT's funcionalizados con PEG, en células neuronales PC12, mostraron una citotoxicidad de una manera dependiente con la concentración para el caso de SWCNT's en comparación con los SWCNT's-PEG donde su citotoxicidad se encontró muy baja. En ambos casos se generaron ROS de una concentración y superficie dependiente lo que indica diferentes mecanismos de estrés oxidativo. Por lo que se sugiere que la funcionalización adecuada de SWCNT's disminuye la toxicidad de estos nanomateriales mediada por ROS.⁷²

Debido al tamaño extremadamente pequeño de los NTC's, hace que sean fácilmente inhalados pasando a los pulmones humanos, y su proporción longitud-diámetro, alrededor de 10⁸ veces mayor y su gran área superficial les confiere efectos tóxicos similares a la sílica y asbesto, en especial en NTC's >5 µm en longitud.⁷³ En algunos reportes se indica que muchos NTC's pueden entrar a las células humanas y acumularse en el citoplasma y causar muerte celular, penetrar en estructuras de tejidos, migrar y causar lesiones en áreas remotas, induciendo inflamación, granulomas epiteliales, y fibrosis intersticial o pleural en los pulmones de roedores.⁷⁴ El mecanismo molecular no se ha esclarecido del todo. Algunos reportes, demuestran que los MWCNT's presentan una toxicidad dosis-dependiente sobre las células epiteliales bronquiales y alveolares de pulmón humano y fibroblastos en cultivo (SeBEAS-2B, A549 y WI38-VA13). En la cual los MWCNT's inducen la producción de ROS y daño mitocondrial, lo que implica un estrés oxidativo celular. Además los MWCNT's promueven la transformación de fibroblastos a miofibroblastos, un paso en el desarrollo de la fibrosis.⁷⁵

El diámetro de los NTC's es un parámetro importante para ser considerado en su toxicología. Muestras de MWCNT's con similar hidrofobicidad y reactividad superficial se prepararon con una longitud similar de <5 µm, pero con una diferencia marcada en su diámetro (9.4 y 70 nm). Los MWCNT's con menor diámetro resultaron ser más tóxicos tanto *in vivo* como *in vitro*, por la inducción de ROS en macrófagos alveolares murino (MH-S). Ambos MWCNT's se internalizaron en MH-S.⁷⁶

Se ha reportado que el uso de modelos 3D que "mimetizan el tejido" es una tendencia hoy día, ya que se han observado diferencias importantes en cultivos celulares de 2D, lo que sugiere un rediseño en los protocolos utilizados en la toxicidad de agentes como los son los NTC's. Uno de ellos es el que

utilizan la línea celular THP-1, siendo éste un modelo de fagocitosis, que se ha empleado para representar la resistencia de las células fagocíticas (macrófagos y monocitos) del hígado, considerando que el hígado es el sitio donde se acumulan los NTC's.⁷⁷

Si bien los NTC son nanomateriales que pueden resultar tóxicos para el ser humano ya que debido a su tamaño se pueden alojar en pulmones y se necesitan más estudios en esta área *in vivo* ya que los que hasta ahora han resultado muy eficientes en el transporte de fármacos. Además, la estructura del grafito de los SWCNT's pueden ser enzimáticamente degradados, lo que abre la posibilidad de que los nanomateriales puedan biodegradarse cuando son introducidos en los diferentes sistemas biológicos.⁷⁸

Conclusiones

Los nanotubos de carbono son nanomateriales con excelentes propiedades que pueden ser modificadas mediante la funcionalización química. Una de las propiedades físicas a modificar es su dispersión, lo que ayuda a que sus aplicaciones biológicas y médicas sean cada vez más prometedoras como la administración de fármacos y su uso para la detección de metabolitos biológicos.

Agradecimientos

Se agradece a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca de maestría otorgada No. 387368.

Referencias

1. Iijima, S. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature* 1991; 354:56-58.
2. Cruz-Delgado VJ, Ávila-Orta CA, Pérez-Camacho O, García-Zamora M, Comparán-Padilla VE, Medellín-Rodríguez FJ. Funcionalización de nanotubos de carbono para la preparación de nanocompuestos poliméricos. *Ide@s Concyteg*. 2011; 6(72):679-697.
3. Vast L, Carpentier L, Lallemand F, Colomer JF, Van-Tendeloo G, Fonseca A, Nagy JB, Mekhalif Z, Delhalle J. Multiwalled carbon nanotubes functionalized with 7-octenyltrichlorosilane and n-octyltrichlorosilane: dispersion in Sylgard® 184 silicone and Young's modulus. *J Mater Sci*. 2009; 44(13):3476-3482.
4. Araújo R, Paiva MC, Proença MF, Silva CJR. Functionalization of carbon nanofibres by 1,3-dipolar cycloaddition reactions and its effect on composite properties. *Compos Sci Technol*. 2007; 67(5):806-810.
5. Rosario-Castro BI, Contés EJ, Pérez-Davis ME, Cabrera CR. Attachment of single-wall carbon nanotubes on platinum surfaces by self-assembling techniques. *Rev Adv Mater Sci*. 2005; 10(4):381-386.
6. Enyashin AN, Ivanovskii AL. Functionalization of carbon nanotubes by covalently bonded graphite nanoplatelets: a theoretical study. *Mendeleev Commun*. 2007; 17(4):199-201.
7. Wang C, Zhang J, Ryu K, Badmaev A, Gomez De Arco L, Zhou C. Wafer-scale fabrication of separated carbon nanotube thin-film transistors for display applications. *Nano Lett*. 2009; 9(12):4285-4291.
8. Peng Z, Holm AH, Nielsen LT, Pedersen SU, Daasbjerg K. Covalent sidewall functionalization of carbon nanotubes by a "formation-degradation" approach. *Chem Mater*. 2008; 20(19):6068-6075.
9. Liu M, Yang Y, Zhu T, Liu Z. Chemical modification of single-walled carbon nanotubes with peroxytrifluoroacetic acid. *Carbon*. 2005; 43(7):1470-1478.
10. Bahr JL, Tour JM. Covalent chemistry of single-wall carbon nanotubes. *J Mater Chem*. 2002; 12(7):1952-1958.
11. Yokoi T, Iwamatsu S, Komai S, Hattori T, Murata S. Chemical modification of carbon nanotubes with organic hydrazines. *Carbon*. 2005; 43(14):2869-2874.
12. Qiu J, Wang G, Zhao C. Preparation and characterization of amphiphilic multi-walled carbon nanotubes. *J Nanopart Res*. 2008; 10(4):659-663.
13. Kitano H, Tachimoto K, Anraku Y. Functionalization of single-walled carbon nanotube by the covalent modification with polymer chains. *J Colloid Interf Sci*. 2007; 306(1):28-33.
14. Gabriel G, Sauthier G, Fraxedas J, Moreno-Mañas M, Martínez MT. Preparation and characterization of single-walled carbon nanotubes functionalized with amines. *Carbon*. 2006; 44(10):1891-1897.
15. Wang C, Zhou G, Liu H, Wu J, Qiu Y, Gu BL, Duan W. Chemical functionalization of carbon nanotubes by carboxyl groups on Stone-Wales defects: a density functional theory study. *J Phys Chem B*. 2006; 110(21):10266-10271.
16. Utegulov ZN, Mast DB, He P, Shi D, Gilland RF. Functionalization of single-walled carbon nanotubes using isotropic plasma treatment: Resonant Raman spectroscopy study. *J Appl Phys*. 2005. doi:10.1063/1.1913801.
17. Ericson ML, Fan H, Peng H, Davis VA, Zhou W, Sulpizio J, Wang Y, Booker R, Vavro J, Guthy C, Parra-Vasquez ANG, Kim MJ, Ramesh S, Saini RK, Kittrell C, Lavin G, Schmidt H, Adams WW, Billups WE, Pasquali M, Hwang WF, Hauge RH, Fischer JE, Smalley RE. Macroscopic, neat, single-walled carbon nanotube fibers. *Science*. 2004; 305(3):1447-1450.
18. Montoro LA, Rosolen JM. A multi-step treatment to effective purification of single-walled carbon nanotubes. *Carbon*. 2006; 44(15):3293-3301.

19. Hou PX, Liu C, Cheng HM. Purification of carbon nanotubes. *Carbon*. 2008; 46(15):2003-2025.
20. Strong KL, Anderson DP, Lafdi K, Kuhn JN. Purification process for single-wall carbon nanotubes. *Carbon*. 2003; 41(8):1477-1488.
21. Zhao N, He C, Li J, Jiang Z, Li Y. Study on purification and tip-opening of CNTs fabricated by CVD. *Mater Res Bull*. 2006; 41(12):2204-2209.
22. Park KC, Hayashi T, Tomiyasu H, Endo M, Dresselhaus MS. Progressive and invasive functionalization of carbon nanotube sidewalls by diluted nitric acid under supercritical conditions. *J Mater Chem*. 2005; 15(3):407-411.
23. Ma PC, Kim JK, Tang BZ. Functionalization of carbon nanotubes using a silane coupling agent. *Carbon*. 2006; 44(15):3232-3238.
24. Hu CY, Xu YJ, Duo SW, Zhang RF, Li MS. Non-covalent functionalization of carbon nanotubes with surfactants and polymers. *J Chin Chem Soc*. 2009; 56(2):234-239.
25. Ruangpomvisuti V. Molecular modeling of dissociative and non-dissociative chemisorption of nitrosamine on close-ended and open-ended pristine and Stone-Wales defective (5,5) armchair single-walled carbon nanotubes. *J Mol Model*. 2010; 16(6):1127-1138.
26. Zhang S, Lu F, Zheng L. Dispersion of multiwalled carbon nanotubes (MWCNTs) by ionic liquid-based Gemini pyrrolidinium surfactants in aqueous solution. *Colloid Polym Sci*. 2011; 289(17):1815-1819.
27. Hirsch A, Vostrowsky O. Functionalization of carbon nanotubes. *Topics in Current Chemistry*. In: *Functional Molecular Nanostructures*. Dieter SA, editor. Berlin: Springer; 2005. p. 193-237.
28. Wu HL, Wang CH, Ma CCM, Chiu YC, Chiang MT, Chiang CL. Preparations and properties of maleic acid and maleic anhydride functionalized multiwall carbon nanotube/poly(urea urethane) nanocomposites. *Compos Sci Technol*. 2007; 67(9):1854-1860.
29. Hsin YL, Lai JY, Hwang KC, Lo SC, Chen FR, Kai JJ. Rapid surface functionalization of iron-filled multi-walled carbon nanotubes. *Carbon*. 2006; 44(15):3328-3335.
30. Peng L. Modifications of carbon nanotubes with polymers. *Eur Polym J*. 2005; 41(11):2693-2703.
31. Tessonnier JP, Villa A, Majoulet O, Su DS, Schlögl R. Defect-mediated functionalization of carbon nanotubes as a route to design single-site basic heterogeneous catalysts for biomass conversion. *Angew Chem*. 2009; 121(35):6665-6668.
32. Ramanathan T, Fisher FT, Ruoff RS, Brinson LC. Amino-functionalized carbon nanotubes for binding to polymers and biological systems. *Chem Mater*. 2005; 17(6):1290-1295.
33. Erlanger BF, Chen BX, Zhu M, Brus L. Binding of an anti-fullerene IgG monoclonal antibody to single wall carbon nanotubes. *Nano Lett*. 2001; 1(9):465-467.
34. Kang S, Herzberg M, Rodrigues DF, Elimelech M. Antibacterial effects of carbon nanotubes: size does matter. *Langmuir*. 2008; 24(13):6409-6413.
35. Brady-Estévez AS, Schnoor MH, Kang S, Elimelech M. SWNT-MWNT hybrid filter attains high viral removal and bacterial inactivation. *Langmuir*. 2010; 26(24):19153-19158.
36. Vecitis CD, Schnoor MH, Rahaman MdS, Schiffman JD, Elimelech M. Electrochemical multiwalled carbon nanotube filter for viral and bacterial removal and inactivation. *Environ Sci Technol*. 2011; 45(8):3672-3679.
37. Mohan R, Shanmugaraj AM, Hun RS. An efficient growth of silver and copper nanoparticles on multiwalled carbon nanotube with enhanced antimicrobial activity. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2011; 96B(1):119-126.
38. Liu T, Tang HQ, Cai XM, Zhao J, Li DJ, Li R, Sun XL. A study on bactericidal properties of Ag coated carbon nanotubes. *Nucl Instrum Meth B*. 2007; 264(2):282-286.
39. Zhuo J, Qi X. Multi-walled carbon nanotubes/epsilon-polylysine nanocomposite with enhanced antibacterial activity. *Lett Appl Microbiol*. 2011; 52(1):76-83.
40. Berenje I, Mondal D, Martin J, Kane RS. Photoactivated antimicrobial activity of carbon nanotube-porphyrin conjugates. *Langmuir*. 2010; 26(22):17369-17374.
41. Balasubramanian K, Burghard M. Biosensors based on carbon nanotubes. *Anal Bioanal Chem*. 2006; 385(3):452-468.
42. Chen RJ, Bangsaruntip S, Drouvalakis KA, Kam NWS, Shim, Li Y, Kim W, Utz PJ, Dai H. Noncovalent functionalization of carbon nanotubes for highly specific electronic biosensors. *PNAS*. 2003; 100(9):4984-4989.
43. Cui Y, Wei Q, Park H, Lieber CM. Nanowire nanosensors for highly sensitive and selective detection of biological and chemical species. *Science*. 2001; 293(5533):1289-1292.
44. Daniel S, Rao TP, Rao KS, Rani SU, Naidu GRK, Lee HY, Kawai T. A review of DNA functionalized/grafted carbon nanotubes and their characterization. *Sensor Actuat B-Chem*. 2007; 122(2):672-682.
45. Cai H, Cao X, Jiang Y, He P, Fang Y. Carbon nanotube-enhanced electrochemical DNA biosensor for DNA hybridization detection. *Anal Bioanal Chem*. 2003; 375(2):287-293.
46. Wang Y, Tang Z, Kotov NA. Bioapplication of nanosemiconductor. *Nano Today*. 2005; 8(5):20-31.
47. Gao Y, Kyratzis I. Covalent immobilization of proteins on carbon nanotubes using the cross-linker 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide-a critical assessment. *Bioconjugate Chem*. 2008; 19(10):1945-1950.
48. Shim M, Kam NWS, Chen RJ, Li Y, Dai H. Functionalization of carbon nanotubes for biocompatibility and biomolecular recognition. *Nano Lett*. 2002; 2(4):285-288.

49. Sotiropoulou S, Chaniotakis NA. Carbon nanotube array-based biosensor. *Anal Bioanal Chem.* 2003; 375(1):103-105.
50. Li J, Wang YB, Qiu JD, Sun DC, Xia XH. Biocomposites of covalently linked glucose oxidase on carbon nanotubes for glucose biosensor. *Anal Bioanal Chem.* 2005; 383(6):918-922.
51. Wang J. Carbon-nanotube based electrochemical biosensors: a review. *Electroanal.* 2005; 17(1):7-14.
52. Rege K, Ravikar NR, Kim DY, Schadler LS, Ajayan PM, Dordick JS. Enzyme-polymer-single walled carbon nanotube composites as biocatalytic films. *Nano Lett.* 2003; 3(6):829-832.
53. Sinha N, Ma J, Yeow JTW. Carbon nanotube-based sensors. *J Nanosci Nanotechnol.* 2006; 6(3):573-590.
54. Balavoine F, Schultz P, Richard C, Mallouh V, Ebbesen TW, Mioskowski C. Helical crystallization of proteins on carbon nanotubes: a first step towards the development of new biosensors. *Angew Chem Int Ed.* 1999; 38(13/14):1912-1915.
55. Williams KA, Veenhuizen PTM, De la Torre BG, Eritja R, Dekker C. Nanotechnology carbon nanotubes with DNA recognition. *Nature.* 2002; 420(19/26):761.
56. Pavani R, Vinay K. Carbon nanotubes and pharmaceutical applications. *IRJP.* 2011; 2(7):15-21.
57. Patolsky F, Weizmann Y, Willner I. Long-range electrical contacting of redox enzymes by SWCNT connectors. *Angew Chem Int Ed.* 2004; 43(16):2113-2117.
58. Hirlekar R, Yamagar M, Garse H, Vj M, Kadam V. Carbon nanotubes and its applications: a review. *Asian J Pharm Clin Res.* 2009; 2(4):17-27.
59. Kostarelos K. Rational design and engineering of delivery systems for therapeutics: biomedical exercises in colloid and surface science. *Adv Colloid Interfac.* 2003; 106(1/3):147-168.
60. Nel A, Xia T, Mädler L, Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science.* 2006; 311(5761):622-627.
61. Sobhani Z, Dinarvand R, Atyabi F, Ghahremani M, Adeli M. Increased paclitaxel cytotoxicity against cancer cell lines using a novel functionalized carbon nanotube. *Int J Nanomedicine.* 2011; 6:705-719.
62. Liang F, Chen B. A review on biomedical applications of single-walled carbon nanotubes. *Curr Med Chem.* 2010; 17(1):10-24.
63. Gaillard C, Duval M, Dumortier H, Bianco A. Carbon nanotube-coupled cell adhesion peptides are non-immunogenic: a promising step toward new biomedical devices. *J Pept Sci.* 2011; 17(2):139-142.
64. Harutyunyan AR, Pradhan BK, Sumanasekera GU, Korobko EY, Kuznetsov AA. Carbon nanotubes for medical applications. *eCells & Materials.* 2002; 3(2):84-87.
65. Lu F, Gu L, Meziani MJ, Wang X, Luo PG, Veca LM, Cao L, Sun YP. Advances in bioapplications of carbon nanotubes. *Adv Mater.* 2009; 21(2):139-152.
66. Berlin JM, Pham TT, Sano D, Mohamedali KA, Marcano DC, Myers JN, Tour JM. Noncovalent functionalization of carbon nanovectors with an antibody enables targeted drug delivery. *ACS Nano.* 2011; 5(8), 6643-6650.
67. Liu M, Chen B, Xue Y, Huang J, Zhang L, Huang S, Li Q, Zhang Z. Polyamidoamine-grafted multiwalled carbon nanotubes for gene delivery: synthesis, transfection and intracellular trafficking. *Bioconjugate Chem.* 2011, 22(11), 2237-2243.
68. Xu HY, Meng J, Kong H. What are carbon nanotubes' roles in anti-tumor therapies? *Sci China Chem.* 2010; 53(11):2250-2256.
69. Venkatesan N, Yoshimitsu J, Ito Y, Shibata N, Takada K. Liquid filled nanoparticles as a drug delivery tool for proteins therapeutic. *Biomaterials.* 2005; 26(34):7154-7163.
70. Lacerda L, Bianco A, Prato M, Kostarelos K. Carbon nanotubes as nanomedicines: from toxicology to pharmacology. *Adv Drug Deliver Rev.* 2006; 58(14):1460-1470.
71. Akhavan O, Ghaderi E. Toxicity of graphene and graphene oxide nanowalls against bacteria. *ACS Nano.* 2010; 4(10):5731-5736.
72. Zhang Y, Xu Y, Li Z, Chen T, Susan M, Lantz SM, Howard PC, Paule MG, Slikker W, Watanabe F, Mustafa T, Biris AS, Ali SF. Mechanistic toxicity evaluation of uncoated and PEGylated single-walled carbon nanotubes in neuronal PC12 cells. *ACS Nano.* 2011; 5(9):7020-7033.
73. Palomäki J, Välimäki E, Sund J, Vippola M, Clausen PA, Jensen KA, Savolainen K, Matikainen S, Alenius H. Long, needle-like carbon nanotubes and asbestos activate the NLRP3 inflammasome through a similar mechanism. *NANO Lett.* 2011; 5(9): 6861-6870.
74. Kagan VE, Rao KMK, Kisin ER, Young SH, Meighan T, Murray AR, Tyurina YY, Castranova V, Shvedova AA. Pulmonary effects of single-walled carbon nanotubes: inflammatory response, oxidative stress/signaling, and recognition by macrophage. In: *Nanotechnology-Toxicological Issues and Environmental Safety and Environmental Safety.* Opopol N, Luster M, editors. Netherlands: Springer; 2007. p. 65-75.
75. He X, Young SH, Schwegler-Berry D, Chisholm WP, Fernback JE, Ma Q. Multiwalled Carbon nanotubes induce a fibrogenic response by stimulating reactive oxygen species production, activating NF- κ B signaling, and promoting fibroblast-to-myofibroblast transformation. *Chem Res Toxicol.* 2011; 24(12):2237-2248.
76. Fenoglio I, Aldieri E, Gazzano E, Cesano F, Colonna M, Scarano D, Mazzucco G, Attanasio A, Yakoub Y, Lison D, Fubini B. Thickness of multiwalled carbon nanotubes affects their lung toxicity. *Chem. Res. Toxicol.* 2012; 25(1):74-82.

77. Movia D, Prina-Mello A, Bazou D, Volkov Y, Giordani S. Screening the cytotoxicity of single-walled carbon nanotubes using novel 3D tissue-mimetic models. *ACS Nano*. 2011; 5(11), 9278-9290.
78. Kagan VE, Konduru NV, Feng W, Allen BL, Conroy J, Volkov Y, Vlasova II, Belikova NA, Yanamala N, Kapralov A, Tyurina YY, Shi J, Kisin ER, Murray AR, Franks J, Stolz D, Gou P, Klein-Seetharaman J, Fadeel B, Star A, Shvedova AA. Carbon nanotubes degraded by neutrophil myeloperoxidase induce less pulmonary inflammation. *Nat Nanotechnol*. 2010; 5:354-359.