

Obtención de nanodispositivos a partir del autoensamblaje de mono y multicapas sobre superficies de oro y plata

R. Cao

Facultad de Química, Universidad de La Habana, Cuba.; caov@fq.uh.cu

Recibido el 17/02/2009. Aprobado en versión final el 19/06/09

Sumario. Aquí presentamos una serie de nanodispositivos obtenidos a partir del auto-ensamblaje de mono- y multicapas sobre superficies de oro y plata. Las multicapas moleculares se formaron usando el método capa-a-capita. Las mono- y multicapas sirvieron para modificar electrodos y nanopartículas de oro y plata. Se utilizaron ciclodextrinas pertioladas y alcanotioles, así como compuestos de coordinación. Los nanodispositivos así obtenidos fueron utilizados como sensores y sistemas de reconocimiento molecular de biomoléculas. Los resultados presentados aquí permiten concluir que los procedimientos utilizados para formar mono- y multicapas auto-ensambladas son relativamente sencillos y permiten obtener una amplia variedad de nanodispositivos con diferentes propiedades.

Abstract. Here we present a series of nanodevices based on the self-assembly of mono- and multilayers on gold and silver surfaces. The molecular multilayers were obtained using the layer-by-layer method. The formed mono- and multilayers served to modify electrodes and nanoparticles. Perthiolated cyclodextrins and alkanethiols, and also coordination compounds were used. The obtained nanodevices were employed as sensors and molecular recognition systems of biomolecules. The results presented here permit to conclude that the procedures used to form self-assembled mono- and multilayers are of relative simplicity and permit to obtain a wide variety of nanodevices with different properties.

Palabras clave. Nanofabrication, 81.16.Be, Monolayers, 68.18.-g, 68.47.Pe, Multilayers 68.65.Ac

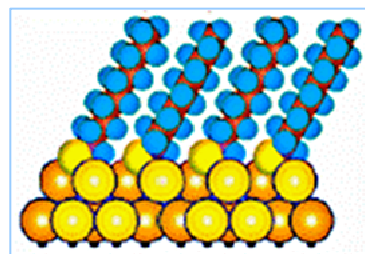
1 Introducción

La Química Supramolecular constituye uno de los pilares más importantes de las Nanociencias y, por ende, de la Nanotecnología. Como este nuevo campo de la Química se basa en la interacción entre dos o más moléculas sin formar enlace químico (covalente) es posible construir conglomerados de dimensiones nanométricas de varias moléculas que se asocien entre sí de una forma dinámica, mediante equilibrios. Esta naturaleza dinámica es muy necesaria en Nanotecnología¹.

Si se analiza la literatura a partir de mediados de los años noventa se verá que varios de los principales científicos que inicialmente trabajaron en el campo de la Quí-

mica Supramolecular ahora son líderes en las Nanociencias, desarrollando novedosos dispositivos nanométricos.

Figura 1. Representación esquemática alcanotioles autoensamblados sobre superficie de oro. ►



El Prof. Jean-Marie Lehn, Premio Nóbel de Química, definió la Química Supramolecular como *la química de los enlaces intermoleculares, que estudia las estructuras*

y funciones de entidades formadas por dos o más especies químicas².

El reconocimiento molecular es un concepto de la Química Supramolecular que corresponde a la capacidad que tienen las moléculas de reconocerse mutuamente y viene definido por la energía e información involucrada en el enlace (no covalente) y la selección del sustrato por una molécula receptora determinada. La interacción sustrato-receptor debe basarse en la afinidad entre ambos en cuanto a forma, tamaño, conformación, polaridad, polarizabilidad, fuerzas de van der Waals, etc. Esta afinidad sustrato-receptor expresa una información física y/o química a transmitirse entre ambas moléculas y que se revierte en el compuesto supramolecular formado.

Otro concepto muy importante es el auto-ensamblaje. El auto-ensamblaje (en inglés: self-assembly) es el concepto que expresa que un grupo de moléculas que son complementarias, se reconocen molecularmente en un proceso repetitivo. Así, el auto-ensamblaje implica la asociación supramolecular entre varias especies para formar un agregado de mayor tamaño y, generalmente, con una arquitectura más compleja.

El auto-ensamblaje ha sido ampliamente utilizado en la modificación de superficies de electrodos y superficies sólidas planas, así como en la estabilización de nanopartículas. Estas superficies, cuando son metales nobles, como el oro y la plata, se pueden recubrir químicamente con otras sustancias, fundamentalmente derivados sulfurados, tioles, ditiocarbamatos, etc. Como se trata de un fenómeno superficial es posible la formación de una sola monocapa auto-ensamblada, que en inglés se denomina Self-Assembled Monolayer y se representa por las siglas SAM³. La monocapa formada tiene una altura no mayor de varios nanómetros por lo que se considera bidimensional solamente.

En la figura 1 se representa esquemáticamente una SAM de alcanotioles sobre una superficie de oro con una inclinación de unos 30° respecto a la normal a la superficie.

Si bien las monocapas más estudiadas sobre metales nobles están constituidas por alcanotioles también se han estudiado otros compuestos orgánicos que contienen azufre, como ditiocarbamatos, ditiocarboxilatos, xantatos, etc.

Se puede realizar el auto-ensamblaje de multicapas, o sea, de una monocapa sobre otra. Este proceso se realiza capa-a-capita (layer-by-layer), con el que se ha llegado a formar hasta 10 monocapas una sobre otra⁴. La formación de multicapas sobre una superficie permite alcanzar las más variadas arquitecturas moleculares, con la presencia de más de un centro de reconocimiento molecular.

En el presente trabajo haremos una breve revisión del trabajo desarrollado en el Laboratorio de Bioinorgánica (LBI) de la Facultad de Química, Universidad de La Habana sobre la obtención de nanodispositivos a partir del auto-ensamblaje de mono- y multicapas sobre superficies de oro y plata.

2 Nanodispositivos supramoleculares como antecedente

El trabajo del LBI en el campo de las nanociencias comenzó realmente por la obtención de nanodispositivos de naturaleza supramolecular usando diferentes ciclodextrinas (α , β y γ), así como diferentes derivados de las mismas.

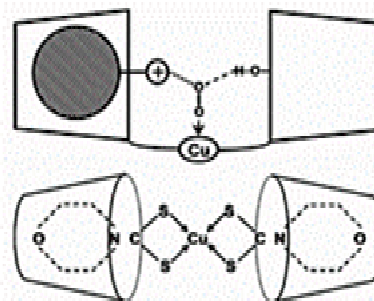


Figura 2. Dos tipos de miméticos de la SOD. El representado en la parte superior corresponde a dos mono-ditiocarbamatos de CD enlazados a Cu(II) y una de esas dos unidades de CD con una sal de amonio incluida en la cavidad. En la parte inferior esta representado un bis(ditiocarbamato)cobre(II) incluido en dos unidades de CD.

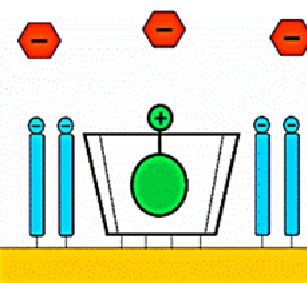


Figura 3. Representación esquemática de un electrodo de oro modificado con β -ciclodextrina pertiolada y una monocapa de ácido tióctico que sirviera de sellante del resto del área libre del electrodo¹³.

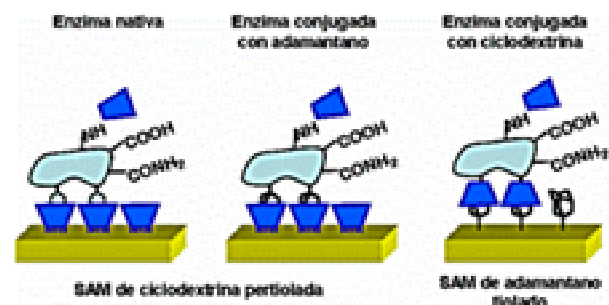


Figura 4. Los tres tipos de biosensores desarrollados basados en la inmovilización supramolecular de enzimas⁵.

Aunque no es el tema central de esta revisión es conveniente hacer una breve exposición sobre la misma. Esta temática se centró fundamentalmente en la obtención de asociaciones supramoleculares que contenían ciclodextrinas (CD) y compuestos metálicos del tipo de los bis(ditiocarbamato)cobre(II) de unos 2-3 nm de largo. Las ciclodextrinas son compuestos cíclicos tridimensionales constituidas por unidades de glucopiranosas unidas entre sí por los átomos de carbono 1 y 4. Las CD comerciales contienen 6 (α), 7 (β) y 8 (γ) de esas unida-

des de azúcares⁵. Lo singular de este tipo de compuesto químico es que presenta una cavidad central altamente hidrofóbica mientras que en su exterior es muy hidrofílica. Ello posibilita que cualquier compuesto hidrofóbico de dimensión adecuada pueda incluirse en esa cavidad de la CD adoptando propiedades hidrofílicas.

El objetivo del estudio consistía en obtener asociaciones supramoleculares que se comportaran como miméticos de la Cu,Zn- superóxido dismutasa (SOD), enzima que juega una función vital en el control de los procesos biológicos oxidativos. Los principales resultados están representados esquemáticamente en la figura 2⁶⁻¹⁰.

3 Nanodispositivos basados en SAM de derivados de ciclodextrinas

Hace más de diez años en el Laboratorio de Bioinorgánica de la Universidad de La Habana (LBI) se comenzó a trabajar en la formación de mono- y multicapas auto-ensambladas. Inicialmente, el estudio se centró en la formación de SAM sobre electrodos de oro y plata con ciclodextrinas sustituidas químicamente en uno de los extremos con grupos tioles o ditiocarbamatos.

Este tipo de electrodo modificado con CD sirvió para diferenciar isómeros posicionales de derivados del nitrobeneno^{11,12}. Para que la cavidad de la CD fuera el único centro de reconocimiento, una vez auto-ensamblada la monocapa de CD el resto del área del electrodo se selló químicamente con una monocapa de ditiocarbamato. Este mismo tipo de electrodo, pero sellado con ácido tióctico fue usado para identificar electroquímicamente dopamina, un importante neurotransmisor. El problema en este tipo de determinación consiste en que la dopamina siempre se encuentra en presencia del ácido ascórbico y ambas sustancias son muy semejantes electroquímicamente (ver figura 3). La cavidad de la β -ciclodextrina (β -CD) solamente reconoce molecularmente a la dopamina. Para aumentar la selectividad la presencia de los grupos carboxilatos deberían repeler los ascorbatos. Así mismo fue como funcionó el electrodo modificado con una total selectividad por la dopamina¹³.

Los electrodos modificados con derivados tiolados de CD sirvieron para inmovilizar enzimas, tanto naturales como modificadas químicamente, para construir diferentes tipos de biosensores. Otro procedimiento utilizado fue el de modificar el electrodo con un derivado tiolado de adamantano, un compuesto bicíclico que se incluye con alta estabilidad en la cavidad de la β -CD. Ambos enfoques se representan en la figura 4. Este trabajo sirvió para desarrollar una amplia variedad de biosensores colaborando con el Centro de Tecnología Enzimática de la Universidad de Matanzas que dirige el Dr. Reynaldo Villalonga^{5,13-18}.

Este procedimiento supramolecular para inmovilizar enzimas resultó totalmente novedoso y ventajoso. Como la enzima se asocia supramolecularmente por varios puntos de su superficie la inmovilización favorece la retención de la conformación, afectándose muy poco la acti-

vidad catalítica⁵.

Un procedimiento análogo se utilizó para inmovilizar enzimas sobre nanopartículas de oro recubiertas con β -CD pertioladas. Los principales resultados se representan esquemáticamente en la figura 5¹⁹⁻²².

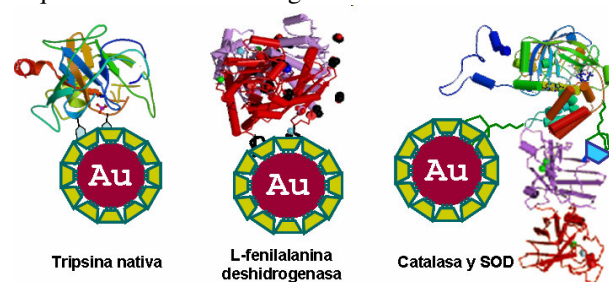


Figura 5. Tres tipos de nanopartículas de oro recubiertas con β -CD pertioladas con enzimas asociadas supramolecularmente¹⁹⁻²².

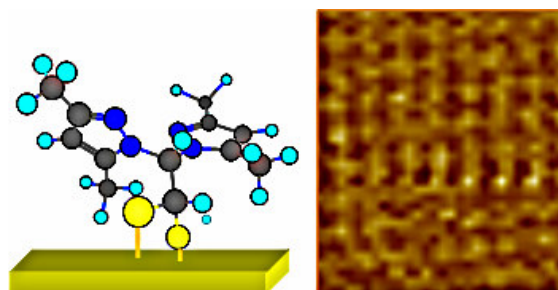


Figura 6. Esquema (izq) de SAM de bis(3,5-dimetilpirazol-1-yl)ditiocetato sobre Au(111) e imagen AFM (der) 1 x 1 nm²⁴.

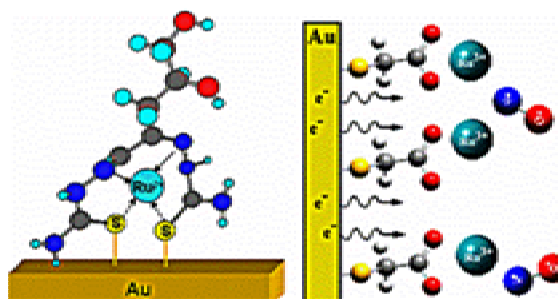


Figura 7. SAM de bis(tiosemicarbazona)rutenio(II) (izq)²⁵ y de mercaptoacetato con Ru(III) coordinado²⁶ como sensores de NO.

De los tres sistemas representados en la figura 5 el más interesante es el de la derecha que contiene inmovilizadas, tanto la catalasa (la superior, en verde) como la Cu,Zn-superóxido dismutasa (inferior en morado y rojo), ambas con importantes funciones antioxidantes, lo que permite clasificar este sistema como un nanodispositivo inteligente o nanorobot, potencialmente a ser usado en el tratamiento del estrés oxidativo.

4 Nanodispositivos basados en la construcción de compuestos metálicos so-

bre superficies metálicas

Cuando se construyen compuestos de coordinación sobre superficies metálicas se obtienen nanodispositivos que pueden utilizarse tanto para el reconocimiento molecular como para coordinar otra especie química. Este proceso constructivo se puede hacer mediante el auto-ensamblaje del compuesto como un todo para formar una monocapa. También se puede construir por paso, mediante el sistema capa-a-capita (layer-by-layer, LbL)²³.

Ambos procedimientos han sido utilizados por nosotros para la construcción de sensores de óxido nítrico, así como para el reconocimiento molecular de diferentes especies de interés biológico.

El óxido nítrico, NO, es una molécula radicalica pequeña que juega funciones biológicas muy importantes, fundamentalmente la de vasodilatador. Los pocos sensores comerciales existentes son extraordinariamente caros y poco duraderos. Ello motivó el desarrollo de este tipo de trabajo.

Se trabajó fundamentalmente en compuestos de coordinación de rutenio, un metal que forma nitrosilos estables. El primer sensor desarrollado se basó en modificar capa-a-capita electrodos de oro y plata con un compuesto de rutenio (III) con bis(3,5-dimetilpirazol-1-il)ditioacetato (bdmpztda) mediante el auto-ensamblaje inicial sobre Au(111) del ligando a través de los átomos de azufre del grupo ditioacetato, tal y como se representa esquemáticamente en la figura 6²⁴. En la figura 6 igualmente se presenta la imagen AFM de esa monocapa con una resolución de 1 x 1 nm. Los puntos más claros corresponden a los átomos del heterociclo orientado verticalmente respecto a la superficie de oro, mientras que los otros menos brillantes son del heterociclo paralelo a la superficie.

Mediante procedimientos semejantes al descrito arriba se construyeron los sensores representados esquemáticamente en la figura 7^{25,26}. También realizamos el auto-ensamblaje de una porfirina de rutenio(II) en posición vertical a la superficie²⁷.

Más recientemente realizamos el estudio de la construcción de un bis(ditiocarbamato)cobre(II) mediante el sistema LbL con la formación de cuatro capas consecutivas²⁸. Las cuatro monocapas están indicadas en la figura 8. Este sistema fue caracterizado electroquímicamente y mediante las espectroscopias XPS y ToF-SIMS. Las dos primeras monocapas también fueron caracterizadas por AFM. Precisamente la imagen AFM de la primera monocapa auto-ensamblada aparece en la parte inferior derecha de la figura 8 donde se observa un alto grado de organización.

La construcción de compuestos de coordinación sobre superficies metálicas también la hemos realizado sobre nanopartículas de oro. El único resultado publicado hasta el presente corresponde el auto-ensamblaje de ferroceno en dos capas (LbL)²⁹. Lo interesante de este tipo de nanopartícula de oro es que manifestó un fuerte efecto de auto-agregación, tal y como se representa esquemática-

mente en la figura 9.

En la parte derecha superior están las imágenes AFM de micropartículas depositadas sobre láminas de mica a partir de solución saturada en acetona, así como nanopartículas depositadas de esa misma solución pero diluida 1:10 (imagen intermedia) y diluida 1:100 (inferior derecha).

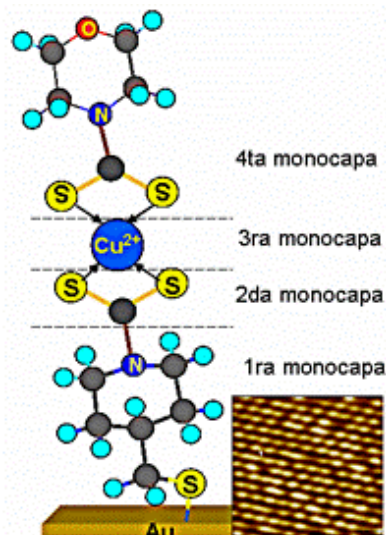
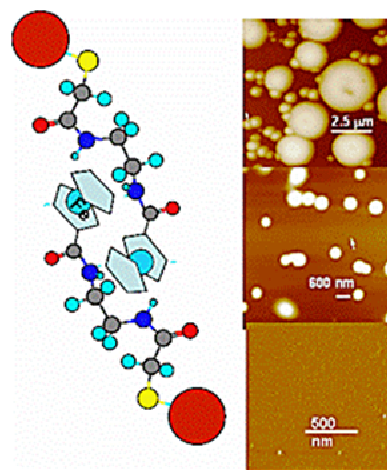


Figura 8. SAM de bis(ditiocarbamato)cobre(II) mediante el sistema LbL con la formación de cuatro capas consecutivas indicadas con líneas discontinuas. En la parte inferior derecha está la imagen AFM de la primera monocapa formada²⁸.

Figura 9. Nanopartículas de oro con grupos ferroceno terminales que manifestaron auto-agregación. La imagen AFM superior derecha corresponde a micropartículas depositadas sobre láminas de mica a partir de solución saturada en acetona (superior), así como nanopartículas depositadas de esa misma solución pero diluida 1:10 (intermedia) y diluida 1:100 (inferior).



En esta última imagen que se pueden observar una pocas nanopartículas de 28 nm de diámetro. Para poder observar esas nanopartículas fue necesario utilizar el modo discontinuo (tapping mode) ya que la punta (tip) estaba literalmente “barriendo” las nanopartículas durante el escaneo. Es por ello que en la parte superior de esta tercera imagen se puede ver unas huellas oscuras dejadas por las nanopartículas en su posición inicial.

5 Conclusiones

A partir de los ejemplos presentados aquí de trabajos propios es posible afirmar que la formación de mono y multicapas auto-ensambladas sobre superficies metálicas

permite obtener una amplia variedad de nanodispositivos mediante procedimientos relativamente simples. Este tipo de sistema puede ser usado hasta en la construcción de *narices artificiales*, o sea, sensores de gases de alta sensibilidad como uno desarrollado recientemente en colaboración con el Instituto Weizmann (Israel) a partir del auto-ensamblaje de fosfonatos sobre GaAs³⁰.

Otra conclusión importante, que resulta muy conveniente enfatizar en este tipo de revisión, es que en Cuba se puede trabajar en nanociencias con un mínimo de recursos pero con muchos deseos y dedicación. Este criterio, que pudiera resultar poco creíble, se basa en el hecho de que el grueso de los resultados expuestos aquí fue realizado en el Laboratorio de Bioinorgánica de la Universidad de La Habana que en este siglo no ha recibido prácticamente recurso alguno.

Agradecimientos

El trabajo presentado aquí requirió del concurso entusiasta y de alta dedicación de mis colaboradores, incluyendo estudiantes desde el mismo primer año. Ante todo debo destacar al Dr. Reynaldo Villalonga (UMCC), quien me ha permitido colaborar fructíferamente con él. Por derecho sobrado aparecen en esta lista los cubanos: Dra. Alicia M. Díaz García, Dr. Alex Fragoso, Dr. Eduardo Almirall, M. C. Roberto Cao Milán, Lic. Iliana Sánchez, Lic. Rudy Martin, Darío González Abradelo, etc. No puedo dejar de agradecer a excelentes colaboradores y amigos extranjeros como Luis Echegoyen (EEUU), Antonio Otero (España), Raymundo Cea (México), Valerian T. D'Souza (EEUU), etc.

Referencias

1. E. V. Anslyn, D. A. Dougherty. "Modern Physical Organic Chemistry" (University Science Books, 2006).
2. J.-M. Lehn, "Supramolecular Chemistry" (VCH-Verlag, 1995).
3. J. C. Love, L. A. Estroff, J. K. Kriebel, R. G. Nuzzo, G. M. Whitesides, "Self-assembled monolayers of thiolates on metals as a form of nanotechnology," *Chem. Rev.* 105, 1103-1169 (2005).
4. I. Doron-Mor, H. Cohen, S. R. Cohen, R. Popovitz-Biro, A. Shanzer, A. Vaskevich, I. Rubinstein, "Layer-by-layer assembly of ordinary and composite coordination multilayers," *Langmuir* 20, 10727-10733 (2004).
5. R. Villalonga, R. Cao, A. Fragoso, "Supramolecular chemistry of cyclodextrins in enzyme technology," *Chem. Rev.* 107, 3088-3116 (2007).
6. A. Fragoso, R. Cao, R. Villalonga, "Superoxide dismutase mimetic activity of the metal(II) complexes of a dithiocarbamate derivative of β -cyclodextrin," *J. Carbohydr. Chem.* 14, 1379-1386 (1995).
7. A. Fragoso, R. Cao, R., V. T. D'Souza, "Influence of positively-charged guests on the superoxide dismutase mimetic activity of copper(II) β -cyclodextrin dithiocarbamates," *J. Carbohydr. Chem.* 16, 171-180 (1997).
8. A. Fragoso, R. Cao, A. Díaz, I. Sánchez, L. Sánchez, "Influence of electrostatic interactions and hydrogen bonding in the activity of cyclodextrin-based superoxide dismutase mo-

dels," *Supramol. Chem.* 13, 619-625 (2001).

9. R. Cao, A. Fragoso, E. Almirall, R. Villalonga: "Supramolecular chemistry of cyclodextrins in Cuba," *Supramol. Chem.* 15, 161 – 170 (2003).
10. R. Martin, A. Fragoso, R. Cao, "Complexation of bis(morpholydithiocarbamate)-copper(II), a superoxide scavenger, in β -cyclodextrins," *Supramol. Chem.* 15, 171-175 (2003).
11. E. Almirall, A. Fragoso, R. Cao, "Molecular recognition of a self-assembled monolayer of a polydithiocarbamate derivative of β -cyclodextrin on silver," *Electrochem. Commun.* 1, 10-13 (1999).
12. E. Almirall, A. Fragoso, R. Cao, R. Gonzalez-Jonte, "Molecular recognition of aromatic nitrocompounds at cyclodextrin dithiocarbamate modified electrodes," *Supramol. Chem.* 15, 417-423 (2003).
13. A. Fragoso, E. Almirall, R. Cao, L. Echegoyen. "A supramolecular approach to the detection of dopamine in the presence of ascorbate" *Chem. Commun.* 2230-2231 (2004).
14. A. Fragoso, J. Caballero, E. Almirall, R. Villalonga, R. Cao, "Immobilization of adamantane-modified cytochrome c at electrode surface through supramolecular interactions," *Langmuir* 18, 5051-5054 (2002).
15. R. Cao, R. Villalonga, A. Fragoso, "Towards nanomedicine with a supramolecular approach: a review," *IEE Proc.-Nanobiotechnol.* 152, 159-164 (2005).
16. R. Villalonga, M. Matos, R. Cao. "Construction of an amperometric biosensor for xanthine via supramolecular associations" *Electrochem. Commun.* 9, 454-458 (2007).
17. C. Camacho, J. C. Matias, B. Chico, R. Cao, L. Gómez, B. K. Simpson, R. Villalonga, "Amperometric biosensor, for hydrogen peroxide, using supramolecularly immobilized horseradish peroxidase on the β -cyclodextrin-coated gold electrode," *Electroanal.* 19, 2538-2542 (2007).
18. C. Camacho, J. M. Matías, R. Cao, M. Matos, B. Chico, J. Hernández, M. A. Longo, M. A. Sanromán, R. Villalonga. "Hydrogen peroxide biosensor with a supramolecular layer-by-layer design," *Langmuir*, 24, 7654-7657 (2008).
19. R. Villalonga, R. Cao, A. Fragoso, P. D. Ortiz, A. E. Damiao, M. L. Villalonga, "Supramolecular-mediated immobilization of trypsin on cyclodextrin-modified gold nanospheres," *Supramol. Chem.* 17, 387-391 (2005).
20. R. Villalonga, R. Cao, A. Fragoso, A. E. Damiao, P. D. Ortiz, J. Caballero, "Supramolecular assembly of β -cyclodextrin-modified gold nanoparticles and Cu,Zn-superoxide dismutase on catalase," *J. Mol. Cat. B: Enzymatic* 35, 79-85 (2005).
21. R. Villalonga, S. Tachibana, R. Cao, P. D. Ortiz, L. Gomez, Y. Asano, "Supramolecular-mediated immobilization of L-phenylalanine dehydrogenase on β -cyclodextrin-modified gold nanospheres," *J. Exp. Nanosci.* 1, 249-260 (2006).
22. R. Cao, R. Villalonga. "Nanoparticles and Enzymes", in *Nanomaterials: new research developments*, edited by E. I. Pertsov (Nova Sci. Publ. Inc. 2008).
23. R. Cao, Jr., A. M. Díaz, R. Cao, "Coordination compounds built on metal surfaces," *Coord. Chem. Rev.* 253, 1262-1275 (2009)
24. A. Díaz, S. Gutiérrez, M. Ortiz, I. Sánchez, R. Cao, A. Otero, "A ruthenium(II) complex with bis(3,5-dimethylpyrazol-1-yl)dithioacetate built layer-by-layer on silver and gold surfaces," *Inorg. Chem. Commun.* 10, 1482-1484 (2007).
25. T. Ngarivhume, A. Díaz, R. Cao, M. Ortiz, I. Sánchez, "Association capacity of ribose bis (thiosemicarbazonato)copper(II) with nitric oxide," *Syn. React. Inorg. Met-*

Org. Nanomet. Chem. 35, 795-800 (2005).

26. D. González Abradelo, A. M. Díaz, R. Cao, "Electrochemical effects of coordination to Ru(III) anchored on a gold electrode via a self-assembled mercaptoacetate," *Inorg. Chem. Commun.* 11, 300-302 (2008).

27. R. Martín, R. Cao, A. Esteva, F-P. Montforts., "Interaction of nitric oxide with Ru(II) complexes of deuteroporphyrindimethylester derivatives, *J. Porphyr Phthalocya.* 13, 35-40 (2009).

28. R. Cao, Jr., A. Díaz, R. Cao, A. Otero, R. Cea, M. C.

Rodríguez-Argüelles, C. Serra, "Building layer-by-layer a bis(dithiocarbamate)copper(II) complex on Au{111} surfaces," *J. Am. Chem. Soc.* 129, 6927-6930 (2007).

29. D. G. Abradelo, R. Cao, R. Cea, "Self-aggregation of bilayer ferrocenyl terminated gold nanoparticles," *Inorg. Chem. Commun.* 10, 511-513 (2007).

30. E. Capua, R. Cao, C. A. A. Eraso, R. Naaman, "Detection of triacetone triperoxide (TATP) by an electron nose based on non-specific interactions, *Sensor Actuat. B-Chem.* 140, 122-127 (2009).