



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 353 839**

51 Int. Cl.:

**C12Q 1/68** (2006.01)

**B01D 11/00** (2006.01)

**B01J 20/00** (2006.01)

**B01D 15/38** (2006.01)

**B01J 20/291** (2006.01)

**B01J 20/22** (2006.01)

**B01J 20/29** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07861249 .6**

96 Fecha de presentación : **23.02.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **1999068**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **10.12.2008**

54

Título: **Biogel reversible para manipulación y separación de nanotubos de carbono con una sola pared.**

30

Prioridad: **24.03.2006 US 785493 P**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**07.03.2011**

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**07.03.2011**

73

Titular/es:  
**RENSELAER POLYTECHNIC INSTITUTE**  
**110 8th Street**  
**Troy, New York 12180, US**

72

Inventor/es: **McGown, Linda;**  
**Yu, Yuehua y**  
**Nalamasu, Omkaram**

74

Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

ES 2 353 839 T3

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

## DESCRIPCION

**BIOGEL REVERSIBLE PARA MANIPULACIÓN Y SEPARACIÓN DE NANOTUBOS DE CARBONO CON UNA SOLA PARED**

## 5 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El carbono existe en al menos 8 alotipos diferentes, uno de los cuales es una forma de nanotubos.

10 Las propiedades singulares de los nanotubos de carbono (CNTs), más específicamente, nanotubos de carbono con una sola pared (SWNT) han hecho de los mismos candidatos excelentes para aplicaciones en bio-sensibilización (Wohlstader, J.N., *et al.*, Adv. Mat. **2003**, 15, 1184), suministro de genes (Pantarotto, D., *et al.*, Angew. Chem., Int. Ed. **2004**, 43, 5242), pilas de combustible (Li, W., *et al.*, Carbon **2002**, 40, 791) y nanofabricación (Wei, B.O., *et al.*, Nature **2002**, 416, 495).

15 Los nanotubos de carbono con una sola pared (SWNTs) son moléculas de fullereno tubulares huecas constituidas esencialmente por átomos de carbono hibridados en sp<sup>2</sup> dispuestos típicamente en hexágonos y pentágonos. Los SWNTs tienen típicamente diámetros comprendidos en el intervalo de aproximadamente 0,5 nanómetros (nm) a aproximadamente 3,5 nm, y longitudes usualmente mayores que aproximadamente 50 nm (B. I. Yakobson and R. E. Smalley, American Scientist, **1997**, 324 337; Dresselhaus, *et al.*, Science of Fullerenes and Carbon Nanotubes, **1996**, San Diego: Academic Press, Ch. 19). Los SWNTs se distinguen unos de otros por un índice doble (n, m), en donde n y m son números enteros que describen cómo cortar una tira simple de grafito hexagonal de tal modo que sus bordes se unan sin soldadura cuando la tira se envuelve sobre la superficie de un cilindro. Cuando n = m, se dice que el tubo resultante es del tipo "sillón" o tipo (n, n), dado que cuando el tubo se corta perpendicularmente al eje del tubo, únicamente se ven expuestos los lados de los hexágonos, y su patrón alrededor de la periferia del borde del tubo se asemeja al brazo y el asiento de un sillón repetido n veces. Cuando m = 0, se dice que el tubo resultante es del tipo "zig-zag" o tipo (n, 0), dado que cuando el tubo se corta perpendicularmente al eje del tubo, el borde es un patrón en zig-zag. Cuando n ≠ m y m ≠ 0, el tubo resultante tiene quiralidad y contiene una vuelta helicoidal a aquél, cuya extensión depende del ángulo de quiralidad.

20 Por esta razón se han realizado esfuerzos de investigación considerables acerca del desarrollo de métodos para conseguir suspensiones estables de CNTs altamente dispersados (Chen, J., *et al.*, Science **1998**, 282, 95; Liu, J., *et al.*, Science **1998**, 280, 1253; Wang, Y., *et al.*, J. Am. Chem. Soc. **2006**, 128, 95; Holzinger, M., *et al.*, Angew. Chem., Int. Ed. **2001**, 40, 4002; Mickelson, E.T., *et al.*, J. Phys. Chem. B **1999**, 103, 4318; Zheng, M., *et al.*, Nature Materials **2003**, 2, 338; Ortiz-Acevedo, A., *et al.*, J. Am. Chem. Soc. **2005**, 127, 9512; O'Connell, M.J., *et al.*, Chem. Phys. Lett. **2001**, 342, 265; Liu, P. European Polymer Journal **2005**, 41, 2693; Zhao, B., *et al.*, J. Am. Chem. Soc. **2005**, 127, 8197; Chen, J., *et al.*, J. Phys. Chem. B **2001**, 105, 2525; O'Connell, M. J., *et al.*, Science **2002**, 297, 593 and Islam, M.F., *et al.*, Nano Lett. **2003**, 3, 269).

30 Sin embargo, el progreso se ha visto impedido por dos obstáculos importantes. En primer lugar, su deficiente solubilidad en disolventes tanto acuosos como orgánicos hace difícil la manipulación y funcionalización de los mismos. En segundo lugar, los CNTs se forman generalmente como mezclas heterogéneas de tubos metálicos y semiconductores con quiralidades variables. Con objeto de separar y purificar las diferentes formas de CNTs en una muestra, las mismas tienen que solubilizarse primeramente en un medio apropiado.

40 Por consiguiente, persiste una necesidad sentida desde hace mucho tiempo de métodos para conseguir la solubilización simple, rápida y no destructiva de los nanotubos de carbono y en particular SWNTs.

## SUMARIO DE LA INVENCION

45 La presente invención proporciona el uso de nuevos geles binarios de guanósina para solubilización simple, rápida y no destructiva de nanotubos de carbono individuales con una sola pared (SWNTs) a concentraciones altas. Los geles exhiben selectividad entre los SWNTs metálicos y semiconductores y entre SWNTs con quiralidades diferentes.

50 La presente invención incluye geles binarios y, adicionalmente, geles basados en combinaciones de al menos dos compuestos de guanósina, en los cuales un compuesto de guanósina hidrófilo (altamente soluble en agua) está mezclado con un compuesto de guanósina hidrófobo relativamente insoluble.

55 De acuerdo con ello, una realización de la invención proporciona geles binarios de guanósina que comprenden guanósina (GUO) y guanósina-5'-monofosfato (GMP), en donde la relación GUO:GMP es de 0,08 a 0,25.

60 En una realización, la relación GUO:GMP es 0,25.

En una realización, la relación GUO:GMP es 0,2.

En una realización, la relación GUO:GMP es 0,08.

Los geles de la presente invención son únicos en el sentido de que demuestran una gama de comportamiento termosensible que incluye comportamiento termoasociativo. De acuerdo con ello, en una realización los geles de la presente invención tienen una viscosidad que se observa mejor a la temperatura ambiente que a una temperatura inferior a la temperatura ambiente, tal como en estado refrigerado.

El comportamiento termoasociativo de los geles binarios de guanosina de la presente invención es estable también a la observación en un amplio campo de pH. Así, de acuerdo con la presente invención, los geles preferidos tienen un pH comprendido en el intervalo que va desde aproximadamente 5,0 a aproximadamente 9,0.

En una realización de la invención, los geles binarios de guanosina tienen una concentración de cloruro de potasio de al menos 0,01 M. Esta concentración puede, sin embargo, estar comprendida en el intervalo que va desde aproximadamente 0,01 a 0,5 M.

Se ha encontrado que los geles binarios de la presente invención son útiles en la solubilización y separación de nanotubos de carbono con una sola pared (SWNTs). Inesperadamente, esta solubilización da como resultado la partición de los SWNTs metálicos con respecto a los SWNTs semiconductores. Por consiguiente, en una realización de la invención se proporciona un método de enriquecimiento de la fracción de nanotubos metálicos en una muestra, que comprende solubilizar los nanotubos de carbono individuales con una sola pared (SWNTs) en los geles binarios de guanosina de la invención.

Adicionalmente, los geles se han mostrado prometedores en la distribución de los SWNTs por quiralidad. Por esta razón, en una realización de la invención se proporciona un método de partición de nanotubos de carbono con una sola pared (SWNTs) por quiralidad, que comprende solubilizar dichos SWNTs en los geles binarios de guanosina de la invención.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

A continuación se hace una descripción de realizaciones preferidas de la invención.

De acuerdo con la presente invención, se describen en esta memoria geles binarios de guanosina formados por mezcla de guanosina-5'-monofosfato (GMP) soluble con guanosina insoluble (Guo) que exhiben propiedades singulares que los hacen sumamente eficaces para dispersión de SWNT.

Los geles de guanosina (o "geles G"), formados por compuestos de guanosina individuales han sido estudiados extensamente (Gellert, M., *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. **1962**, 48, 2013; Sasisekharan, V., and Zimmerman, S.; Davies, D.R. J. Mol. Biol. **1975**, 92, 171; Proni, G., *et al.*, Chem. Eur. J. **2000**, 6, 3249; Walmsley, J.A. and Burnett, J.F. Biochemistry **1999**, 38, 14063 and Davis, J.T. Angew. Chem. Int. Ed. **2004**, 43, 668).

El bloque de construcción básico es el cuartete G formado por enlaces de hidrógeno de Hoogsteen entre cada una de 4 guaninas y sus dos vecinos más próximos. A medida que aumenta la concentración de monómero, los cuartetos G pueden agregarse en apilamientos cilíndricos por interacciones  $\pi$ - $\pi$  o, en el caso del 5'-guanosina-monofosfato (GMP), en hélices continuas con enlaces hidrógeno.

Se demuestra en esta memoria que por combinación del GMP soluble con el Guo insoluble, en relaciones particulares en solución acuosa, se demuestra que las soluciones resultantes forman geles G reversibles binarios con propiedades quirales y termosensibles singulares que pueden controlarse por ajuste de la relación Guo:GMP, contenido de cationes y pH. La quiralidad de los geles G ofrece la posibilidad de selectividad quiral que está soportada por trabajos previos que demuestran separaciones de moléculas pequeñas utilizando geles G (Dowling, V.A., *et al.*, Anal. Chem. **2004**, 15, 4558; McGown, Publicación US Previa a la Concesión 2004/0241718, publicada el 2 de diciembre de 2004).

Específicamente, en algunas proporciones los geles de la presente invención se forman por auto-asociación de guanosina y 5'-guanosina-monofosfato que son soluciones a bajas temperaturas y se transforman luego en un gel consistente a temperaturas más altas antes de fundir a temperaturas aún más altas. Como se utiliza en esta memoria, las temperaturas bajas son inferiores a la temperatura ambiente y están comprendidas entre 2 y 20°C, mientras que la temperatura ambiente se define como un valor comprendido entre 20 y 27°C, y las temperaturas altas se definen como aquellas que son superiores a la temperatura ambiente, particularmente superiores a 35°C, superiores a 45°C, superiores a 55°C, superiores a 65°C o superiores a 100°C.

Debe indicarse que las temperaturas de transición reales variarán dependiendo de la formulación específica del gel, pero en general la fase de solución existe por debajo de la temperatura ambiente, el gel existe a y por encima de la temperatura ambiente, y la fusión a temperatura superior se produce por encima de 40-50°C.

Esta dependencia singular de la temperatura hace que este gel sea ideal para encapsulación de componentes termosensibles tales como células vivas, enzimas y otros componentes biológicos,

dado que los mismos podrían añadirse a la solución a baja temperatura para distribución homogénea y elevarse luego hasta la temperatura ambiente o temperatura del cuerpo para gelificación en, por ejemplo, dispositivos de suministro de fármacos, células artificiales, tejidos artificiales, órganos artificiales, o biorreactores para uso médico o biocorrección ambiental.

Análogamente, los nanocomponentes tales como nanotubos de carbono (CNTs) o híbridos CNT-biológicos pueden dispersarse y guardarse en las soluciones a baja temperatura ambiente e inmovilizarse luego en los geles para uso a temperaturas más altas. Como tales, nanoestructuras constituidas por CNTs pueden incorporarse en los geles binarios para uso en aplicaciones tales como pilas de combustible, pilas solares, células o tejidos artificiales para propósitos médicos, microrreactores que contienen células o enzimas para biocorrección y/o suministro de fármacos.

Adicionalmente, se demuestra aquí que los geles G binarios proporcionan solubilización y dispersión selectiva de SWNTs individuales, probablemente por interacciones selectivas de los nanotubos con las guaninas aromáticas de las estructuras quirales de los geles G.

#### EJEMPLOS

##### EJEMPLO 1: Geles G Binarios: observaciones termoasociativas

Se evaluaron soluciones de guanosina (Guo) y guanosina-5'-monofosfato (GMP) en tampón (tampón Tris 25 mM, pH 7,2) y se refrigeraron luego como líquidos durante una noche respecto a cambios de fase en intervalos de temperatura diferentes y a lo largo de una gama de concentraciones catiónicas. Los datos se muestran en la Tabla 1. Debe indicarse que el tampón puede modificarse para cualquier tampón adecuado y puede contener incluso agua sola. El tampón puede contener también cationes distintos de potasio o no contener cationes en absoluto.

Las observaciones de fase marcadas en la tabla incluyen "L" para líquido, "VL" para líquido viscoso, y "G" para gel. El símbolo "-" indica la ausencia de datos de observación para este intervalo de temperaturas.

**Tabla 1**  
**Geles G binarios**

gel ID	GUO/GMP [M]	KCl [M]	Observación		
			Temp. baja (5 °C)	Temp. ambiente (25 °C)	Temp. alta (super. a 40 °C)
1056	0,00625/0,025	0,0125	VL	L	-
1057	0,0125/0,05	0,025	G	VL	-
1058	0,025/0,1	0,05	L	G	-
1059	0,05/0,2	0,1	L	VL	G

Los datos sugieren que para una relación GUO:GMP de 1:4, se producen las propiedades termoasociativas del gel (de líquido a gel por aumento de temperatura; véase ID 1058) y se intensifican a concentraciones mayores de monómero. Compárese ID 1058 con ID 1059.

##### EJEMPLO 2: Geles G binarios: Sincronización de la termoasociación

Se realizaron estudios adicionales con muestras que tenían concentraciones de monómero entre las del gel ID 1058 y 1059. Las muestras se prepararon de acuerdo con las concentraciones en la tabla (tampón Tris 25 mM, pH 7,2) y se refrigeraron luego como líquidos durante una noche. Estos datos se muestran en la Tabla 2. Se midió también el tiempo en minutos requerido por cada muestra para alcanzar un estado de gel una vez a la temperatura ambiente. Estos datos se enumeran en la tabla en la columna de temperatura ambiente. Las observaciones de fase marcadas en la tabla incluyen "L" para líquido, "VL" para líquido viscoso, y "G" para gel. El símbolo "-" indica la ausencia de datos de observación para este intervalo de temperaturas.

**Tabla 2**  
**Geles G binarios adicionales**

gel ID	GUO/GMP [M]	KCl [M]	Observación		
			Temp. baja (5 °C)	Temp. ambiente (25 °C)	Temp. alta (super. a 40 °C)
1063	0,03/0,12	0,06	L	G (14 min)	-
1064	0,035/0,14	0,07	L	G (23 min)	-
1065	0,04/0,16	0,08	L	G (35 min)	-
1066	0,045/0,18	0,09	L	VL (no se gelificaba a TA)	-

5

Los datos aquí presentados sugieren que si bien se mantiene una relación GUO:GMP de 1:4, las concentraciones mayores de monómero expanden la ventana de temperatura de la fase líquida a temperatura baja.

**EJEMPLO 3: Geles G binarios: Efecto de la concentración de cationes**

10

Se investigaron los efectos de la concentración de cationes. Se prepararon muestras que contenían guanosina 0,025 M y guanosina-5'-monofosfato 0,1 M, que tenían concentraciones de 0,01 M, 0,03 M, 0,05 M, 0,07 M o 0,09 M de cloruro de potasio (KCl) (tampón Tris 25 mM, pH 7,2). Los datos de fases se muestran en la Tabla 3. Las observaciones de fase marcadas en la tabla incluyen "L" para líquido, "VL" para líquido viscoso, y "G" para gel. El símbolo "-" indica la ausencia de datos de observación para este intervalo de temperaturas.

15

**Tabla 3**  
**Efecto de la concentración de cationes**

gel ID	GUO/GMP [M]	KCl [M]	Observación		
			Temp. baja (5 °C)	Temp. ambiente (25 °C)	Temp. alta (super. a 40 °C)
1051	0,025/0,1	0,01	VL	G	-
1052	0,025/0,1	0,03	L	G	-
1053	0,025/0,1	0,05	L	G	-
1054	0,025/0,1	0,07	L	G	-
1055	0,025/0,1	0,09	L	G	-

20

Los datos sugieren que, si bien a la temperatura mínima de KCl la transición de fase está ligeramente desplazada, las propiedades de transición de fases del gel se mantienen constantes a lo largo de una gama de concentración de cationes.

**EJEMPLO 4: Geles G binarios: efecto del pH**

25

Utilizando el mismo gel G binario (0,025/0,1; GUO:GMP), se investigaron los efectos del pH. Los datos se muestran en la Tabla 4. Se prepararon muestras (tampón Tris 25 mM, pH 7,2) y se refrigeraron luego como líquidos durante una noche. Se midió también el tiempo en minutos requerido por cada muestra para alcanzar un estado de gel una vez a la temperatura ambiente. Estos datos se enumeran

en la tabla en la columna de temperatura ambiente. Las observaciones de fase marcadas en la tabla incluyen "L" para líquido, "VL" para líquido viscoso, y "G" para gel. El símbolo "-" indica la ausencia de datos de observación para este intervalo de temperaturas.

5

**Tabla 4**  
**Efecto del pH**

gel ID	GUO/GMP [M]	pH	Observación		
			Temp. baja (5 °C)	Temp. ambiente (25 °C)	Temp. alta (super. a 40 °C)
1072	0,025/0,1	7,2	L	G (15 min)	-
1073	0,025/0,1	8,0	L	G (15 min)	-
1074	0,025/0,1	8,8	L	G (15 min)	-

10

Como se muestra en la tabla, las propiedades observadas de los geles se mantenían constantes a lo largo del intervalo de pH de 7,2-8,8.

**EJEMPLO 5: Geles G binarios: matriz de observación**

15

Se preparó una matriz de observación de las muestras a lo largo de una gama de concentraciones de GUO y GMP. En este experimento, todas las muestras que se prepararon tenían una relación GUO:GMP de 1:4, pH 7,2 y concentración de KCl de 0,05 M en tampón x (tampón Tris 25 mM, pH 7,2).

20

Los geles binarios se observaron a tres intervalos de temperatura, temperatura baja, temperatura ambiente y temperatura alta. Las observaciones resultantes se muestran en la Tabla 5 en el orden de observación a baja temperatura/observación a temperatura ambiente/observación a temperatura alta. La concentración de GUO se da en la última fila que pasa a lo largo de la matriz, mientras la concentración de GMP se da en la primera columna que pasa por debajo de la matriz. Las observaciones marcadas en la tabla incluyen "L" para líquido, "VL" para líquido viscoso, y "G" para gel. El símbolo "-" indica la ausencia de datos de observación para este intervalo de temperaturas.

25

**Tabla 5**  
**Matriz de observación**

GMP [M]	Observación					
0,20	L/L/-	L/L/-	L/L/-	L/VL/-	L/VL/-	-/L/G
0,15	L/L/-	L/L/-	L/VL/-	L/VL/-	-/L/G	L/G/-
0,10	L/L/-	L/L/-	L/G/-	L/G/-	L/G/-	VL/G/-
0,05	L/L/-	VL/VL/-	G/G/-	G/G/-	G/G/-	G/G/-
0,0	L/L/-	L/L/-	L/L/-	L/L/-	L/L/-	L/L/-
GUO [M]	0,0	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05

30

Como han sugerido otros datos de esta memoria, el comportamiento más notable del gel tiene lugar a concentraciones más altas de ambos monómeros, donde los geles se vuelven líquidos viscosos a temperatura elevada.

Estudios adicionales no han logrado identificar un límite superior para la concentración de los monómeros en la preparación de estos geles binarios. Este límite podría alcanzarse solo para la solubilidad de cada monómero.

**EJEMPLO 6: Preparación de suspensiones SWNT**

Los geles G binarios descritos en esta memoria exhiben comportamiento termoasociativo con temperaturas de gelificación que decrecen con la concentración creciente de SWNT.

Los nanotubos de carbono con una sola pared (SWNTs) se solubilizaron en geles G formados por mixturas de guanosina y 5'-guanosa-monofosfato en solución acuosa.

5 Se investigaron tres medios de guanosina diferentes. En todos los casos, se prepararon suspensiones de SWNT por tratamiento de SWNTs mediante ultrasonidos en los medios de dispersión en el emisor de ultrasonidos de baño durante 15 min. Pudieron conseguirse suspensiones estables de concentración tan alta como 5 mg/ml simplemente por sonicación.

10 Como control de referencia, el primer medio era GMP 0,25 M solo en tampón Tris de 25 mM, pH 7,2. GMP es fuertemente soluble en agua y no forma fácilmente estructuras de orden superior en ausencia de K<sup>+</sup> estabilizador. En contraste con los geles binarios descritos más adelante, hasta 1,4 mg/ml de SWNT podía solubilizarse durante hasta 24 horas en GMP 0,25 M sin Guo, después de lo cual precipitaban los SWNTs. La suspensión temporal podía formarse nuevamente por agitación de la solución mediante sacudidas.

15 El resultado demuestra que GMP solo no proporciona suspensiones estables de SWNTs dispersados. No pudieron realizarse experimentos análogos para Guo dado que el mismo es insoluble en agua.

#### Gel G binario 1

20 En segundo lugar, se solubilizaron SWNTs en un gel G binario (Gel 1) constituido por Guo 20 mM, GMP 250 mM (relación GUO:GMP de 1:12,5), KCl 50 mM en tampón Tris 25 mM, pH 7,2.

25 Se evaluaron suspensiones de 5 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml y 2 mg/ml de SWNT en Gel 1 respecto a solubilización, dispersión y viscosidad. Estas suspensiones eran líquidas entre 2 y 25°C a concentraciones de SWNT < 1 mg/ml. A concentración mayor de SWNT, las suspensiones exhiben comportamiento termoasociativo, formando geles a la temperatura ambiente. Suspensiones tan concentradas como de 5 mg/ml de SWNT eran estables, demostrando la ausencia de signos de degradación o precipitación después de 4 semanas.

Cuando se invertía, un vial que contenía 50 µg/ml de SWNT en Gel 1 fluía hasta el fondo (parte superior invertida) del vial. Sin embargo, una solución de 2 mg/ml de SWNT en Gel 1 se mantenía en la parte superior (fondo invertido) del vial como un gel cuando se invirtió.

#### Gel G binario 2

30 En tercer lugar, se solubilizaron SWNTs en un gel G binario (Gel 2) que comprendía Guo 60 mM, GMP 300 mM (relación GUO:GMP de 1:5), KCl 50 mM en el mismo tampón en Gel 1. Se encontró que el Gel 2 era termoasociativo incluso en ausencia de SWNT, formando geles a temperaturas  $\geq 33^\circ\text{C}$ .

35 Se evaluaron suspensiones de 6 µg/ml, 12 µg/ml, 30 µg/ml, 60 µg/ml, 120 µg/ml y 240 µg/ml de SWNT en Gel 2 respecto a solubilización, dispersión y viscosidad.

Se encontró que la temperatura de gelificación desciende con la concentración creciente de SWNT hasta que, por encima de 2 mg/ml de SWNT, la suspensión es un gel incluso a 2°C. Concentraciones tan altas como 2,4 mg/ml podían suspenderse en gel G2.

40 Para ambos geles 1 y 2, la recuperación de los SWNTs podía conseguirse por calentamiento de la suspensión por encima de su temperatura de fusión, haciendo que los SWNTs precipitasen.

#### **EJEMPLO 7: Microscopía óptica**

45 La microscopía óptica utilizando un microscopio óptico simple con una resolución de 200 x, se realizó sobre geles G con y sin SWNTs. Se prepararon geles con 10 µg/ml de SWNT o sin cantidad alguna de SWNT y se dejaron secar. En ambos casos, el gel deshidratado exhibía cristalinidad, pero la cristalinidad era más pronunciada y regular en presencia de SWNTs. Estos resultados sugieren que los SWNTs promueven el autoensamblaje de los geles y se convierten en una parte integral de la estructura del gel.

#### **EJEMPLO 8: Microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía de fuerza atómica (AFM) de SWNT**

50 La microscopía de fuerza atómica (AFM) de 2 mg/ml de SWNT en Gel 1 exhibía SWNTs bien dispersados con diámetros de  $\sim 2$  nm (por el análisis de escaneo de líneas) que es consistente con diámetros de  $\sim 0,9$ - $1,7$  nm que se obtuvieron de los espectros micro-Raman del modo de transpiración radial (véase el Ejemplo 9 más adelante).

55 La longitud media de los SWNTs suspendidos es 1 µm, que es similar a su longitud en el material de partida. Se observaron regiones más gruesas de SWNTs y pueden ser SWNTs individuales o en haz, o puentes de gel G entre SWNTs adyacentes.

La microscopía de fuerza atómica (AFM) de 240 µg/ml de SWNT en Gel 2 demostró que los SWNTs estaban dispersados individualmente en el gel. Había evidencia de alineación paralela, lo que

sugiere un alto grado de organización, que podría incrementarse por optimización de las condiciones experimentales y la aplicación de un campo eléctrico. La presencia de estructuras más gruesas observadas en la imagen puede ser evidencia de diferentes modos de interacción entre el gel y las diversas estructuras en la preparación heterogénea de SWNT, o para solubilización tanto de nanotubos en haz como de nanotubos monodispersados.

#### EJEMPLO 9: Espectroscopia Raman de SWNTs

Se llevó a cabo la espectroscopia micro-Raman de la región del Modo de Transpiración Radial (RBM) ( $100\text{-}300\text{ cm}^{-1}$ ) y la región de banda G ( $1400\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$ ) para SWNTs tratados con ácido en suspensión acuosa (muestra de referencia) y para SWNTs de  $1\text{ mg/ml}$  en Gel 1 después de una semana y de la parte superior y el fondo del gel después de 4 semanas. La intensidad relativa se midió contra el desplazamiento Raman ( $\text{cm}^{-1}$ ).

Cálculos de otros investigadores han demostrado que SWNTs con diámetros  $d < 1,1\text{ nm}$  son metálicos con frecuencias RBM de  $218\text{-}280\text{ cm}^{-1}$ , mientras que los SWNTs con  $d > 1,1\text{ nm}$  son semiconductores con frecuencias RBM de  $175\text{-}213\text{ cm}^{-1}$ . (Rao, A.M., *et al.*, Phys. Rev. Lett., **2001**, 86, 3895).

En este caso, se encontró que los picos en ambas regiones se desplazan al azul por  $5\text{-}7\text{ cm}^{-1}$  en el gel G con relación a la referencia, lo cual es evidencia de interacciones entre los SWNTs y las estructuras de gel G (Dresselhaus, M.S. *et al.*, Carbon **2002**, 40, 2043). Comparados con la referencia, los picos asociados con los SWNTs semiconductores en las muestras del gel G eran reducidos, lo que indica que los tubos metálicos se solubilizan preferentemente en los geles G con relación a los tubos semiconductores. (Krupke, R., *et al.*, Am. Chem. Soc. **2003**, 125, 3370).

Adicionalmente, los espectros de las suspensiones después de 4 semanas muestran evidencia de enriquecimiento selectivo desde la parte superior al fondo de estructuras diferentes dentro de cada clase de SWNTs. Eran muy notables los aumentos relativos del pico semiconductor a  $186\text{ cm}^{-1}$  y la meseta de pico metálico a  $272\text{ cm}^{-1}$  en la parte superior del gel, y el aumento del pico semiconductor a  $206\text{ cm}^{-1}$  en el fondo del gel.

En la región de la banda G ( $1400\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$ , el pico neto de los SWNTs semiconductores estaba desplazado al azul desde  $1587\text{ cm}^{-1}$  en la referencia a  $1592\text{ cm}^{-1}$  en la suspensión de gel G con lo cual es evidencia de asociación con la matriz del gel G. La meseta próxima a  $1565\text{ cm}^{-1}$ , atribuida también a los nanotubos semiconductores, era menos clara en el gel e indistinguible en la muestra tomada de la parte superior de la suspensión de 4 semanas.

En contraste, el pico ancho de los SWNTs metálicos (Dresselhaus, MS.; *et al.*, Carbon **2002**, 40, 2043; Krupke, R. *et al.*, Science **2003**, 301, 344; and Chattopadhyay, D., *et al.*, J. Am. Chem. Soc. **2003**, 125, 3370) a  $1540\text{ cm}^{-1}$  era mucho más prominente en el gel G que en la referencia, especialmente en la muestra tomada de la parte superior del gel al cabo de 4 semanas.

Estos resultados indican que los geles G solubilizan concentraciones elevadas de SWNTs con dispersión preferencial y enriquecimiento de tubos metálicos, y sugieren que, a medida que envejece la muestra, los SWNTs dentro de las dos clases se distribuyen ulteriormente sobre la base de su calidad.

#### EJEMPLO 10: Espectroscopia de dicroísmo circular de los SWNTs

El espectro de dicroísmo circular de  $5\text{ mg/ml}$  de SWNT en gel demostró magnitudes incrementadas del pico positivo a  $220\text{ nm}$  y un pico negativo a  $260\text{ nm}$  con relación al espectro del gel en ausencia de SWNTs. Es sabido que  $220\text{ nm}$  indica la función de cuartete G y  $260\text{ nm}$  señala la formación de estructura secundaria. Se encontró que la adición de SWNT en concentración elevada a los geles termoasociativos destruye su propiedad termoasociativa (TA).

Los resultados CD sugieren que la adición de nanotubos de carbono da como resultado un aumento en la concentración del cuartete G en solución, en tanto que destruyen o cambian concomitantemente las estructuras secundarias. Basándose en este descubrimiento, es posible que la interacción pi-pi entre el cuartete G y SWNT pueda ser la fuerza impulsora para la dispersión.

Si bien esta invención se ha demostrado y descrito particularmente con referencia a realizaciones preferidas de la misma, será comprendido por los expertos en la técnica que pueden hacerse en ella diversos cambios en forma y detalles sin desviarse del alcance de la invención abarcado por las reivindicaciones adjuntas.

**REIVINDICACIONES**

1. Un gel binario de guanosina que comprende guanosina y guanosina-5'-monofosfato en el cual la relación GUO:GMP es de 0,08 a 0,25.
- 5 2. El gel binario de guanosina de la reivindicación 1 en donde la relación GUO:GMP es 0,25.
3. El gel binario de guanosina de la reivindicación 1 en donde la relación GUO:GMP es 0,2.
4. El gel binario de guanosina de la reivindicación 1 en donde la relación GUO:GMP es 0,08.
5. El gel binario de guanosina de la reivindicación 1 que tiene una viscosidad que es mayor a la temperatura ambiente que su viscosidad a una temperatura menor que la temperatura ambiente.
- 10 6. El gel binario de guanosina de la reivindicación 1 que tiene un pH en el intervalo comprendido entre 5 y 9.
7. El gel binario de guanosina de la reivindicación 1 que tiene una concentración de cloruro de potasio de al menos 0,01 M.
- 15 8. El gel binario de guanosina de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 que comprende adicionalmente un nanotubo de carbono.
9. El gel binario de guanosina de la reivindicación 8, en el cual el nanotubo de carbono es un nanotubo de carbono con una sola pared (SWNT).
- 20 10. El gel binario de guanosina de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 que comprende adicionalmente una célula viva.
11. El gel binario de guanosina de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 que comprende adicionalmente una enzima.
12. El gel binario de guanosina de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 que comprende adicionalmente un fármaco.
- 25 13. Un método de enriquecimiento de la fracción de nanotubos metálicos en una muestra, que comprende solubilizar nanotubos de carbono individuales con una sola pared (SWNTs) en el gel binario de guanosina de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
14. Un método de partición de nanotubos de carbono con una sola pared (SWNTs) por quiralidad, que comprende solubilizar dichos SWNTs en el gel binario de guanosina de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
- 30