

INTERACCIÓN DE LIPOPROTEÍNAS DE BAJA DENSIDAD CON NANOTUBOS DE CARBONO DOPADOS Y FUNCIONALIZADOS

Juan Esteban Berrio Sierra¹, Jesús Antonio Carlos Cornelio^{2,*}, Lina Marcela Hoyos Palacio³,
John Bustamante Osorno⁴

1: Estudiante de Maestría en Ingeniería, Universidad Pontificia Bolivariana, Facultad de Ingenierías, Escuela de Ciencias de la Salud, Grupo de Investigación de Dinámica Cardiovascular, Medellín, Colombia.

2: Candidato a Doctor en Ciencias, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, México.

3: Doctora en Ingeniería, Universidad Pontificia Bolivariana, Facultad de Ingenierías, Escuela de Ciencias de la Salud, Grupo de Investigación de Dinámica Cardiovascular, Medellín, Colombia.

4: MD, Ph.D, Universidad Pontificia Bolivariana, Facultad de Ingenierías, Escuela de Ciencias de la Salud, Grupo de Investigación de Dinámica Cardiovascular, Medellín, Colombia.

*E-mail: iqcornelio@gmail.com

RESUMEN: La enfermedad cardiovascular aterosclerótica es la principal causa de muerte en el mundo; la acumulación de lipoproteínas provoca daños vasculares e incluso el Infarto Agudo de Miocardio (IAM). La nano-medicina ofrece una prometedora solución con tratamientos para evitar la progresión de estas enfermedades. En la presente investigación se sintetizaron nanotubos de carbono (NTC) con catalizadores de Níquel (Ni) 50%, Cobalto (Co) 50%, mezcla Níquel-Cobalto (Ni-Co) 25%-25% y mezcla Hierro-Cobalto (Fe-Co) 10%-40% vía sol-gel. Los NTC se doparon con moléculas de melamina y se funcionalizaron con fosfatidilcolina para su interacción con lipoproteínas de baja densidad (LDL). La caracterización de los NTC, se realizó mediante las técnicas de Espectroscopía Raman, Microscopia Electrónica de Barrido (SEM), Espectroscopía Infrarroja de Transformada de Fourier (FTIR) y finalmente se hizo un análisis del ángulo de contacto para evaluar la modificación de los nanotubos de carbono, la cual sugiere que los NTC catalizados con Fe-Co presentan una menor adhesión y mayor tensión superficial al contacto con las LDL.

Palabras clave: Nanotubos de Carbono, Lipoproteínas de baja densidad (LDL), Funcionalización, Aterosclerosis.

INTERACTION OF LOW DENSITY LIPOPROTEIN WITH DOPED AND FUNCTIONALIZED CARBON NANOTUBES

ABSTRACT: Atherosclerotic cardiovascular disease is the leading cause of death in the world, the accumulation of lipoproteins causes vascular damage and even Acute Myocardial Infarction (AMI). Nano-medicine offers a promising solution with treatments to prevent progression of these diseases. In this study carbon nanotubes (CNTs) were synthesized with nickel (Ni) 50%, Cobalt (Co) 50%, mixed nickel-cobalt (Ni-Co) 25%-25% mix iron-cobalt (Fe-Co) 10%-40% catalysts via sol-gel. The CNTs were doped with melamine molecules and functionalized with phosphatidylcholine to optimize their interaction with low density lipoproteins (LDL). The characterization of the CNTs was performed using Raman spectroscopy, Scanning Electron Microscopy (SEM), Infrared Spectroscopy Fourier Transform (FTIR), and finally an analysis of

the contact angle to assess the modification of the nanotubes carbon. Our analyses suggests that the CNTs catalyzed with Fe-Co had lower adhesion and higher surface tension when in contact with LDL molecules.

Keywords: Carbon Nanotubes, Low density lipoproteins (LDL), Functionalization, Atherosclerosis

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares constituyen la principal causa de muerte en los países industrializados y en los países en vía de desarrollo. Dentro de estas patologías la enfermedad coronaria es la manifestación más prevalente y se asocia con alta mortalidad y morbilidad. De acuerdo con las estadísticas publicadas por la organización mundial de la salud la enfermedad cardiovascular es un problema mundial de salud pública que contribuye al 30% de la mortalidad mundial y 10% de morbilidad. En el año 2005 se registraron un total de 58 millones de muertes en todo el mundo, de los cuales 17 millones se debió a enfermedades cardiovasculares y entre ellas 7.6 millones a cardiopatía coronaria [1-6]. La enfermedad aterosclerótica altera el comportamiento dinámico del vaso sanguíneo e impide el paso natural del fluido provocando daños vasculares e incluso el infarto por lo que se debe de intervenir al paciente con el fin de proporcionar una adecuada funcionalidad. El tratamiento más usado en la actualidad ha sido el uso de stents como terapia de revascularización miocárdica percutánea con lo que se logra reducir el fenómeno del retroceso elástico y la remodelación vascular negativa luego del trauma vascular, pero con el tiempo el paciente sufre re-estenosis incrementando la patología del paciente. Los stents medicados se diseñaron para ofrecer resistencia mecánica y un efecto biológico local a partir del medicamento que se libera en el segmento arterial intervenido, con la consecuente reducción de la re-estenosis coronaria en comparación con la angioplastia con balón en un estimativo de frecuencia promedio de $\pm 12\%$ con stents medicados [7-11].

Recientemente, investigadores buscan la forma de mejorar los tratamientos para la enfermedad cardiovascular. Las primeras aplicaciones de la nano-medicina se relacionan con la introducción de agentes farmacológicos mediante innovadores sistemas de entrega y la introducción de dispositivos médicos con recubrimientos de materiales nano-estructurados [12-18]. Una de las alternativas que surge en la presente investigación se relaciona con la modificación de las superficies endoteliales afectadas por las placas ateroscleróticas y en este sentido el desarrollo de nano-endoprótesis funcionales. Se pretende con ello la intervención precoz, de manera que evite la progresión de la enfermedad e impida que prosiga la acumulación de las lipoproteínas en la pared vascular, que son las primeras causantes de la formación de placa aterosclerótica y subsecuentemente de los cambios funcionales en la pared, siendo en este punto donde se espera que esta propuesta terapéutica presente un importante impacto para las opciones clínicas y el mejoramiento de la calidad de vida de los pacientes.

Los nanotubos de carbono (CNT, por sus siglas en inglés) fueron reportados inicialmente por Iijima, 1991 [19]. Recientemente los NTC han recibido una enorme atención en aplicaciones

biomédicas como agente administrador de fármacos, bio-sensores, andamios de materiales óseos e incluso como sustrato de crecimiento neuronal. Los nanotubos de pared múltiple (MWCNT, por sus siglas en inglés) y pared sencilla (SWCNT, por sus siglas en inglés) son conocidos por ser hidrofóbicos, por lo que deben ser modificados estructuralmente para múltiples aplicaciones; la funcionalización es la introducción de grupos funcionales en la estructura de los NTC con el objetivo de generar enlaces acordes con la matriz a utilizar, de acuerdo con la disposición final los mismos. [20-23]. En estudios previos realizados en 1997 se reporta la síntesis de nanotubos de carbono dopados con nitrógeno N-MWCNT [24], mediante la síntesis de MWCNT en una atmósfera rica en nitrógeno. También se ha reportado el dopaje de nitrógeno en NTC, y se ha encontrado que ha mejorado las propiedades electrónicas y mecánicas [24-44]. La modificación de los NTC con compuestos como la fosfatidilcolina nos ayuda a proponer el uso de estos en aplicaciones médicas. La fosfatidilcolina o lecitina de soya, se produce de forma natural en el hígado, es un componente fundamental de la bilis y de las bicapas lipídicas de las membranas celulares, tiene un gran poder emulsionante, ayuda a proteger los órganos, las arterias y la sangre de la acumulación de los niveles de colesterol y triglicéridos, gracias a la acción de la enzima lecitin-acil-transferasa (LCAT), que convierte al colesterol en éster de colesterol. La fosfatidilcolina puede facilitar la absorción de algunas vitaminas del complejo A y B. Las propiedades de la fosfatidilcolina podrían permitir su uso en regímenes de adelgazamiento ya que ayuda a movilizar los depósitos de grasas en el organismo, para facilitar la digestión, acelerando la absorción intestinal y para proteger el hígado [45, 46].

En este trabajo se presenta la modificación de NTC por dopaje con moléculas de melamina y funcionalizados por modificación química con fosfatidilcolina. Se muestra la caracterización por Raman, SEM, FTIR y finalmente se hace un análisis de ángulo de contacto de las estructuras obtenidas con Lipoproteínas de Baja Densidad (LDL, por sus siglas en inglés) oxidadas para poder evaluar la modificación y su interacción con las lipoproteínas de baja densidad.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Síntesis de nanotubos de carbono

Los nanotubos de carbono fueron sintetizados por Deposición Química de Vapor (CVD, por sus siglas en inglés). Se usó un tubo de cuarzo como sustrato para el crecimiento de los nanotubos y un horno equipado con un controlador de temperatura permitiendo alcanzar la temperatura de reacción requerida ($700^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$). Como fuente de carbono se utilizó acetileno; el catalizador usado para la producción de nanotubos de carbono multicapa (MWCNT) fue níquel 50%, cobalto 50%, níquel-cobalto 25%-25% y hierro-cobalto 10%-40%. La mezcla de gas estuvo compuesta de 80 cc/min de nitrógeno, 20 cc/min acetileno y 15 cc/min de hidrógeno. La secuencia de procesamiento incluyó el tiempo de reducción de 20 minutos, tiempo de acetileno 20 minutos y el tiempo de enfriamiento de 60 minutos [47-53].

2.2. DOPAJE Y FUNCIONALIZACIÓN DE NANOTUBOS DE CARBONO.

2.2.1 Dopaje de NTC con melamina

El dopaje de los NTC (Figura 1) se llevó a cabo durante el proceso de la síntesis de los mismos. Para ello, se utilizó un nebulizador ultrasónico acoplado al sistema del tubo de vidrio del CVD.

En el nebulizador se introdujo una cantidad conocida del precursor que lleva la solución en agua del elemento electronegativo dopante (Melamina: $C_3H_6N_6$) al 2% w/v, el cual es suministrada por medio de pulsos. El precursor nebulizado es arrastrado hacia la zona de reacción por medio de nitrógeno N_2 que lleva un flujo de 0.2 l/min.

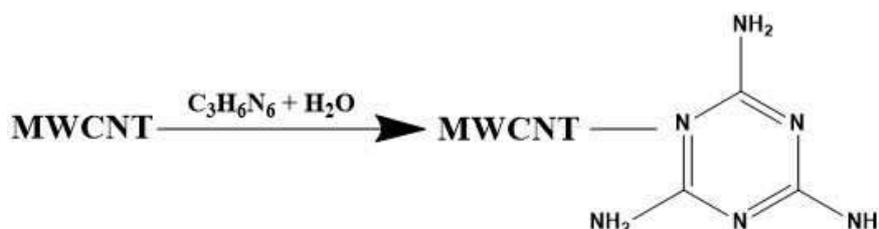


Figura 1. Síntesis de MWCNT dopados con Melamina

2.2.2. Funcionalización con ácido carboxílico

El protocolo de funcionalización de los nanotubos de carbono con ácido carboxílico está basado en la investigación de Matthew W. Marshall et al, 2006 [54]. Se utilizó 1 ml de solución concentrada de H_2SO_4 y HNO_3 (3:1v/v) por cada 2 mg de NTC (Figura 2), ésta se sónico por 20 minutos en agua a $20^\circ C$, se utilizó hielo para el control de la temperatura, evitando el rompimiento de los nanotubos y conservando su longitud original. Luego los NTC funcionalizados fueron lavados en agua desionizada limpiando el excedente de ácidos, hasta llegar un pH de alrededor de 5. El material posteriormente se secó en horno sellado a $60^\circ C$.

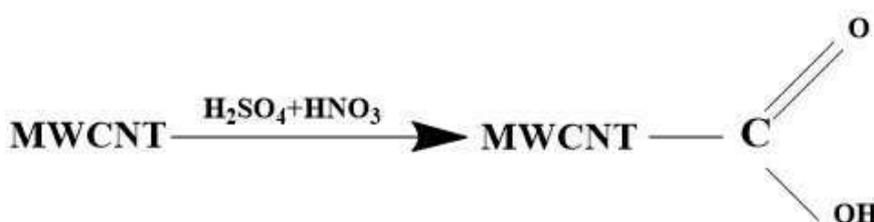


Figura 2. Funcionalización de MWCNT con ácido carboxílico

2.2.3 Funcionalización fosfatidilcolina

El proceso de funcionalización con fosfatidilcolina en una atmósfera controlada de nitrógeno, se basó en lo reportado por Leize Zhu et al, 2008 [45]. Para añadir la fosfatidilcolina a los NTC, estos deben estar previamente funcionalizados con ácido carboxílico. Inicialmente, se añadió 1 ml de H_2O destilada con 0.5ml de etanol, seguido de $195\mu l$ de una solución de bromuro de potasio (10 g de KBr en ácido nítrico al 10%) por cada 75 mg de NTC (Figura 3). El proceso descrito es conocido como una halogenación y sucede de tal manera que el diámetro y la energía del ion de bromo, tiende a desestabilizar la carga de los hidrógenos, en este caso el disponible del grupo hidroxilo, el cual es comprometido y liberado, es ahí entonces donde el bromo entra a la red.

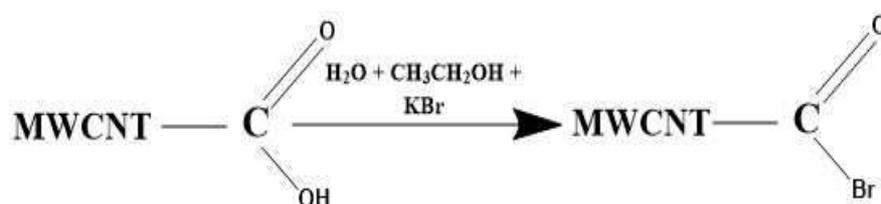


Figura 3. Halogenación del Bromo con ácido carboxílico (primera etapa).

Posteriormente, se llevó a un desecador con atmósfera controlada de nitrógeno por 24 h, luego se lavó 3 veces con agua destilada y etanol. Después de los lavados se adicionó fosfatidilcolina 134.2 mg por 75 mg de NTC (Figura 4), se dejó 72 horas en el desecador con atmósfera controlada de nitrógeno, para asegurar que ningún polímero injertado o reactivo libre se mezclara con el producto. Finalmente el material se dispersó en agua desionizada y se lavó 3 veces, seguido la muestra se deja secar en vacío [45].

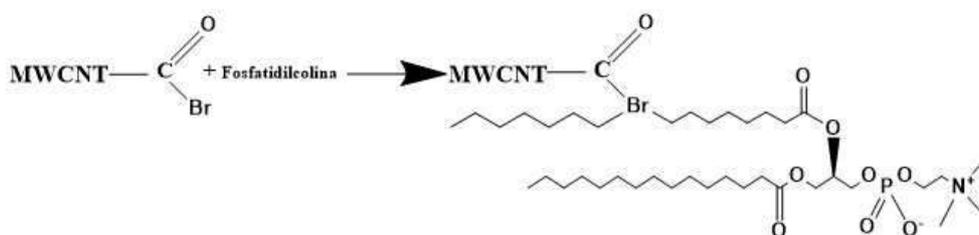


Figura 4. Etapa final de funcionalización con fosfatidilcolina.

2.3 OXIDACIÓN DE LIPOPROTEÍNAS (LDL)

Las LDL fueron obtenidas de plasma de porcino con una concentración 10 $\mu\text{g/ml}$. Las LDL se llevaron a diferentes estados de oxidación (estado natural, medio y alto) basados en la investigación de Evangelia Chnari 2005 [23]. Las LDL medianamente oxidadas se lograron al incubar 50 $\mu\text{g/ml}$ de LDL con 10 μg de sulfato de cobre (Cu_2SO_4) a 37°C en un tiempo de 2 horas. De igual manera las LDL altamente oxidadas fueron obtenidas aumentando la exposición a 18 horas al aire. En todos los casos la oxidación fue terminada con una solución acuosa 0.01% w/v de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA).

2.4 CARACTERIZACIÓN

Con el fin de conocer la microestructura y verificar la efectividad de la funcionalización y si los grupos funcionales se adhirieron correctamente a los NTC, se utilizaron métodos como la microscopía electrónica de barrido (SEM), la espectroscopia Raman, la espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (FTIR) y la medición de ángulo de contacto.

Los nanotubos de carbono obtenidos (MWCNT) fueron caracterizados por SEM mediante el uso del equipo JEOL JSM-5300, espectroscopía micro-RAMAN usando un espectrómetro Raman confocal marca Horiba Jobin Yvon, Modelo Labram HR de alta resolución con una distancia focal de 800 mm, Laser spot size de 1 a 300 μm , detector CCD con resolución de 1024x256 pixeles, rango espectral optimizado de 400-1100 nm y rejillas de difracción de 1800 y 600 cm^{-1} .

líneas/m y para el análisis FTIR se usó un equipo Marca Perkin Elmer modelo Spectrum one, detector DTGS con una resolución de 4 cm^{-1} y un rango de número de onda de 450 a 4000 cm^{-1} .

Para la medición del ángulo de contacto se obtuvieron pastillas a través de un molde que contiene NTC solos y funcionalizados. El ángulo de contacto se midió utilizando un dispositivo Dataphysics OCA Number 15 series con una jeringa con capacidad de 1ml para aplicar una gota en la superficie de la muestra. Las mediciones se realizaron a temperatura ambiente de 25°C .

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Dopaje de NTC con melamina

En la Figura 5 se muestra el aspecto de los nanotubos de carbono obtenidos dopados con melamina. En general, se puede observar un crecimiento no lineal de las estructuras de nanotubos crecidos sobre catalizadores de Níquel-Cobalto (Figura 5c), y Hierro-Cobalto (Figura 5d). También se puede observar que usando el catalizador de Cobalto (Figura 5b) y Níquel (figura 5a) se obtiene una menor presencia del crecimiento de estructuras en comparación de los demás catalizadores usados, se evidencia la presencia de material amorfo. Cabe destacar que estas estructuras obtenidas no tienen un proceso de purificación que nos ayuda a eliminar el material amorfo presente en las micrografías, sin embargo el análisis Raman ayuda a confirmar la presencia de estructuras de nanotubos de carbono. Las estructuras obtenidas presentaron diferentes diámetros y longitud, el análisis de las estructuras obtenidas en este trabajo, como por ejemplo, el diámetro de los nanotubos de carbono después de la síntesis funcionalización, el grado de agregación etc., cae fuera del alcance de este estudio en particular y será dirigida por los autores en trabajos futuros.

En el espectro Raman de los NTC dopados con melamina, y catalizados con Níquel (Figura 6a), Cobalto (Figura 6b), Níquel-Cobalto (Figura 6c), y Hierro-Cobalto (Figura 6d), de acuerdo a las bandas características de estos materiales y a la relación de intensidad entre las bandas D y G se determina el grado de grafitización de las paredes del nanotubo, así como, la presencia de defectos en la red de los mismos. La banda de vibración G, característica de los NTC, está localizada a $\sim 1580\text{ cm}^{-1}$, dicha banda es la correspondiente a la vibración fundamental (de primer orden) de elongación tangencial y se le asigna el modo de vibración E_{2G} , la banda D, (denominada de esta manera por su nombre en inglés "Disorder induced") se atribuye a los defectos que puede contener el nanotubo en la red y a las impurezas presentes, dicha banda está localizada a $\sim 1330\text{ cm}^{-1}$ y que corresponde al modo de vibración A_{1G} , mientras que la banda G' localizada en $\sim 2660\text{ cm}^{-1}$ corresponde a un sobre-tono del modo D. La relación de las bandas D y G (I_D/I_G) es un indicativo del ordenamiento estructural de los NTC, es decir, del ordenamiento alineado de las paredes de los NTC desde la superficie al interior [56-58].

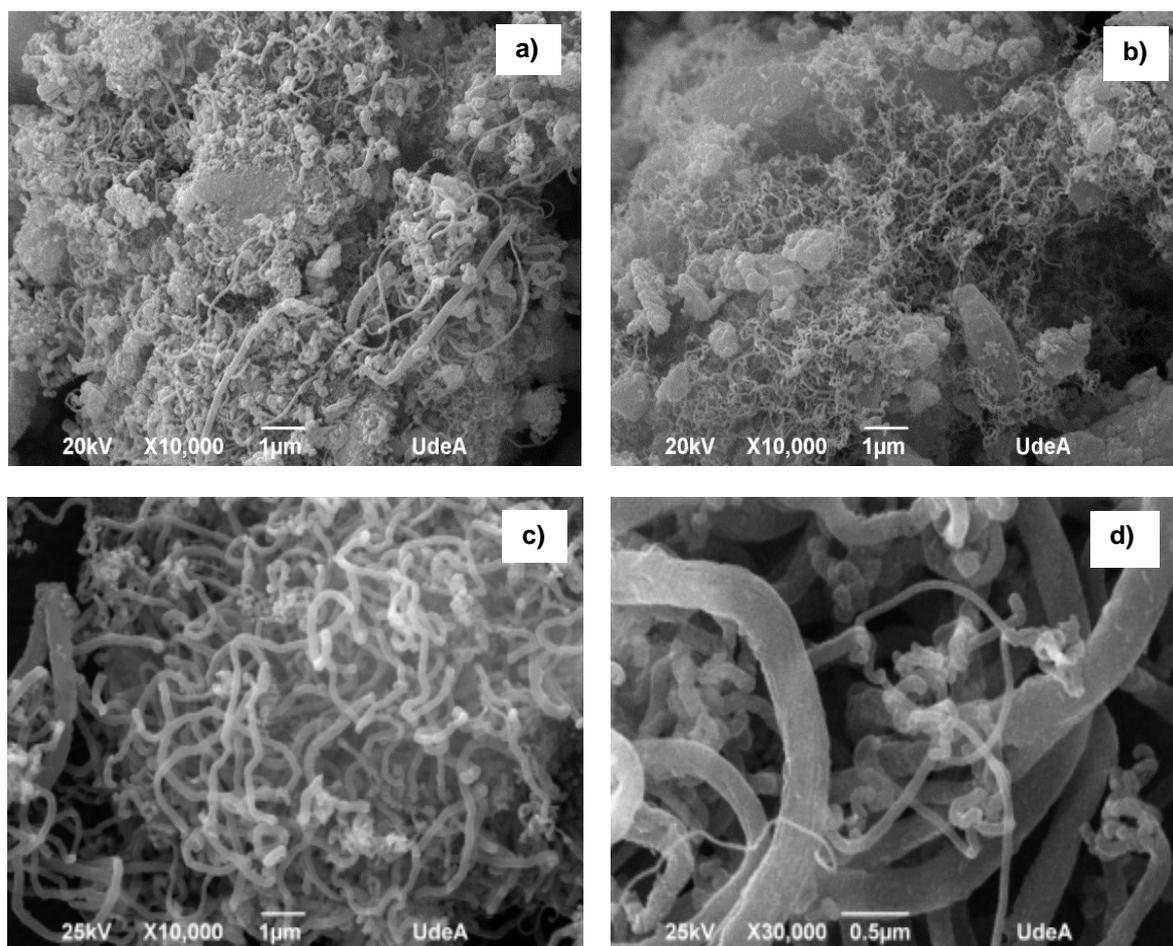


Figura 5. Micrografía de SEM de nanotubos de carbono sintetizados a) Ni, b) Co, c) Ni-Co, d). Fe-Co

La relación de intensidad entre las bandas I_D/I_G , se observa con una mayor intensidad para el catalizador de Níquel-cobalto de 1.16, en comparación Cobalto de 1.15 (Figura 6b), Níquel de 1.0 y Hierro-Cobalto 0.92 (Figura 6a), lo cual indica presencia del material dopante melanina en los NTC. Se correlaciona con el artículo de Stephen Maldonado et al. [55], en el cual se muestran cambios de relación de intensidad al aumentar la cantidad del nitrógeno sobre NTC.

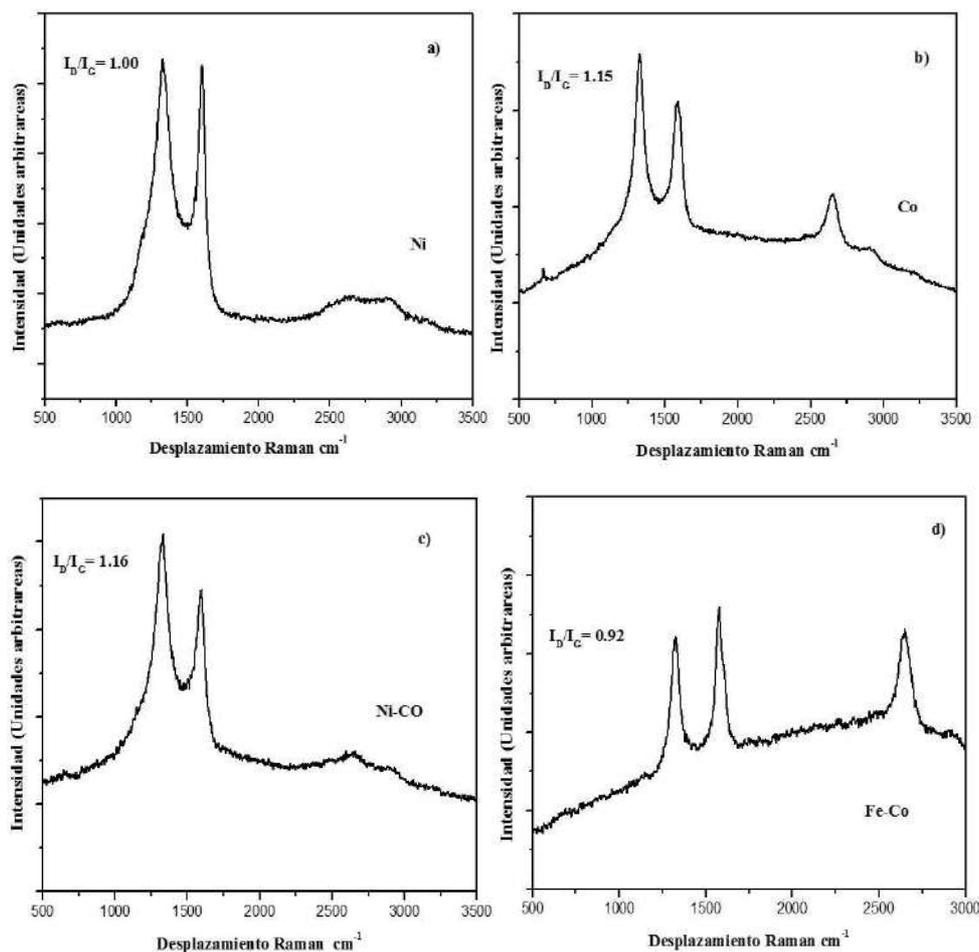


Figura 6. Espectroscopía Raman de nanotubos de carbono dopados con Melanina y catalizados con a) Ni, b) Co, c) Ni- Co, d) Fe-Co.

3.2. Funcionalización de NTC con fosfatidilcolina

En la Figura 7 se observan los NTC funcionalizados por la reacción explicada en la sección 2.2.3 y sintetizados a partir de catalizadores de Níquel (Figura 7a), Cobalto (Figura 7b), Níquel-Cobalto (Figura 7c), Hierro-Cobalto (Figura 7d), Níquel-Nitrógeno (Figura 7e) y Cobalto-Nitrógeno (Figura 7f) (estas dos últimas se adicionaron solo para mirar el comportamiento al dopar con N₂ respecto a los estudiados en este trabajo) y se aprecia el crecimiento de estructuras enredadas, la cual se puede atribuir quizás al crecimiento de estructuras de NTC así como material amorfo, quizás de los restos de catalizador o carbono, excepto en los NTC catalizados con Hierro-Cobalto (Figura 7d) y Cobalto-Níquel (Figura 7f), que exhiben un mayor crecimiento no lineal de estructuras de NTC y con menos presencia de catalizador y material amorfo.

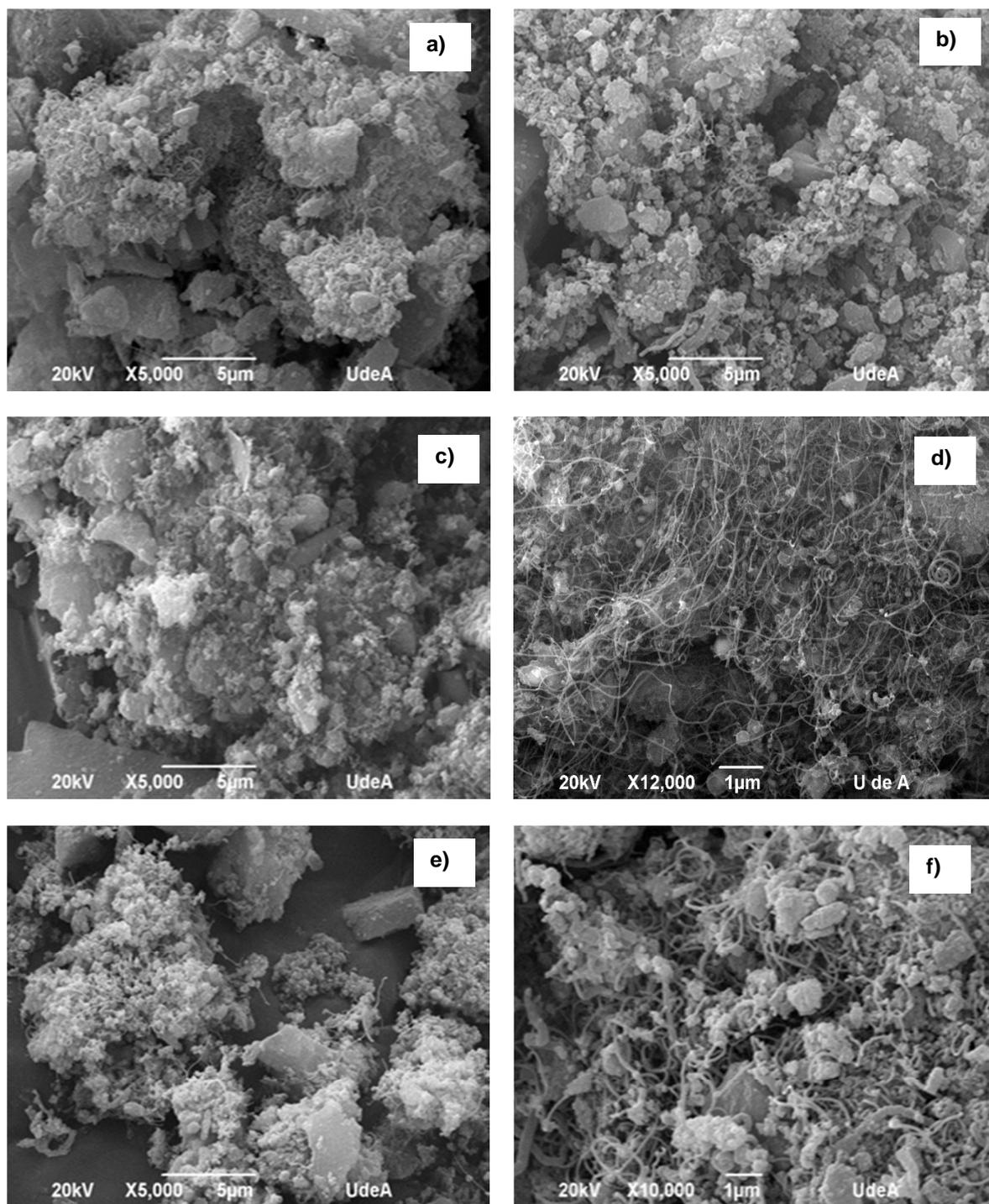


Figura 7. Micrografía de SEM de nanotubos de carbono funcionalizados con fosfatidilcolina y catalizados con a) Ni, b) Co, c) Ni-Co, d) Fe-Co, e) Ni-N₂, f) Co-N₂.

En el espectro Raman de nanotubos de carbono funcionalizados con fosfatidilcolina y crecidos sobre los catalizadores de Níquel (Figura 8a), Cobalto (Figura 8b), Níquel-Cobalto (Figura 8c), Hierro-Cobalto (Figura 8d) Níquel-Nitrógeno (Fig.8e), y Cobalto-Nitrógeno (Fig.8.f), en general

la primera banda D aparece aproximadamente en 1350 cm^{-1} , lo cual indica el desorden del grafito. Se aprecia un fuerte incremento en la banda G en 1650 cm^{-1} , dicha banda es la correspondiente al modo de vibración A_{1G} . En los catalizadores de Níquel (Figura 8a), y Cobalto (Figura 8b), aparece una banda entre 2700 cm^{-1} relacionada con la integridad de la estructura del carbono, en la cual se confirma el apilamiento de las capas de grafeno.

Esta relación del Níquel es mayor (1.18) si se compara con el Cobalto (1.09), Níquel-Cobalto (0.88), Hierro-Cobalto (1.02), Níquel-Nitrógeno (1.15), Cobalto-Nitrógeno (1.03), lo que confirma la introducción de fosfatidilcolina en el nanotubo. Los resultados obtenidos son comparables a Yu Liu et al [59], el cual muestra un fuerte incremento en la banda G a altas frecuencias del óxido de grafeno injertado con restos de fosfatidilcolina.

La funcionalización de los nanotubos de carbono con fosfatidilcolina, en presencia de catalizadores de Níquel 50%, Cobalto 50%, y Hierro-Cobalto (10%-40%), se confirmó mediante el análisis de espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (FTIR) (Figura 9), en la cual se puede observar que no hubo desplazamientos de las bandas, se obtiene una doble vibración $\text{-PCOCH}_2\text{-}$ mostrando absorbancias 1100 y 1300 cm^{-1} , un estiramiento de $\text{-C(CH}_3)_3\text{-}$ con absorbancia 1400 cm^{-1} , estiramiento -C=C- con absorbancia 1600 cm^{-1} , un estiramiento del grupo carbonilo -C=O- con absorbancia 1800 cm^{-1} , estiramiento $\text{-CH}_2\text{-N-}$ con absorbancia 2700 cm^{-1} , estiramiento -CH- con absorbancia 2900 y 3000 cm^{-1} . Los resultados obtenidos son similares a los obtenidos por Leize Zhu et al [45] en la cual se obtienen modos de vibración similares obtenidos en la funcionalización de las estructuras obtenidas en esta investigación, y se pueden decir que los nanotubos de carbono funcionalizados con esta molécula se realizó con éxito obteniendo los resultados esperados.

3.3 Ángulo de contacto

La fosfatidilcolina es una molécula electronegativa, y se ha reportado que es bio-compatibile con la estructura molecular de la bicapa de lípido presente en el endotelio. Esto se atribuye a los componentes de las lipoproteínas, y el cual uno de sus principales componentes son los fosfolípidos; estos compuestos comparten grupos funcionales con fosfatidilcolina. Además se ha comprobado que la sangre humana tiene un carácter eléctricamente negativo, y que aumenta cuando la sangre es rica en LDL oxidadas.

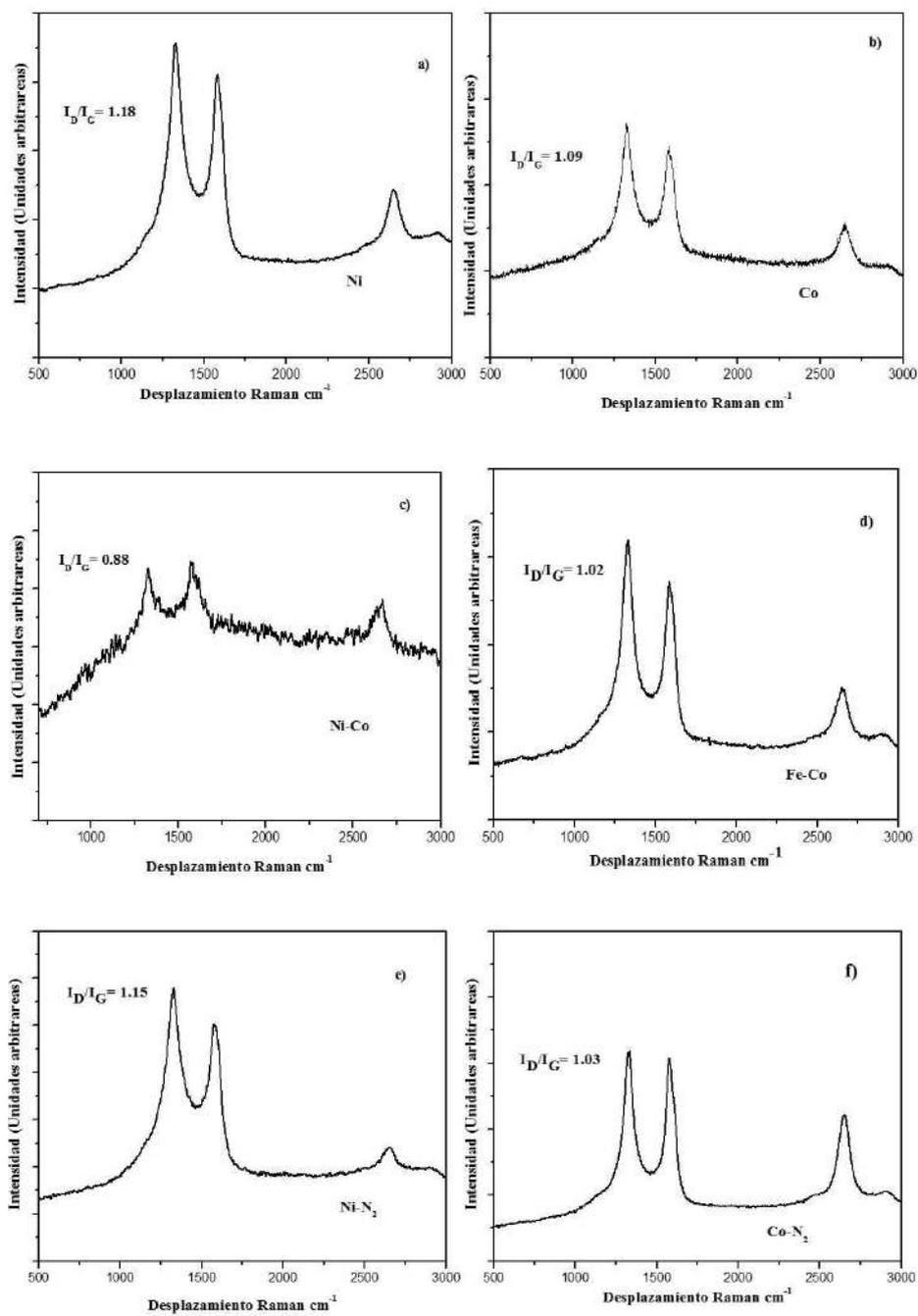


Figura 8. Espectroscopia Raman a) Ni, b) Co, c) Ni- Co, d) Fe-Co, e) Ni-N, f) Co-N

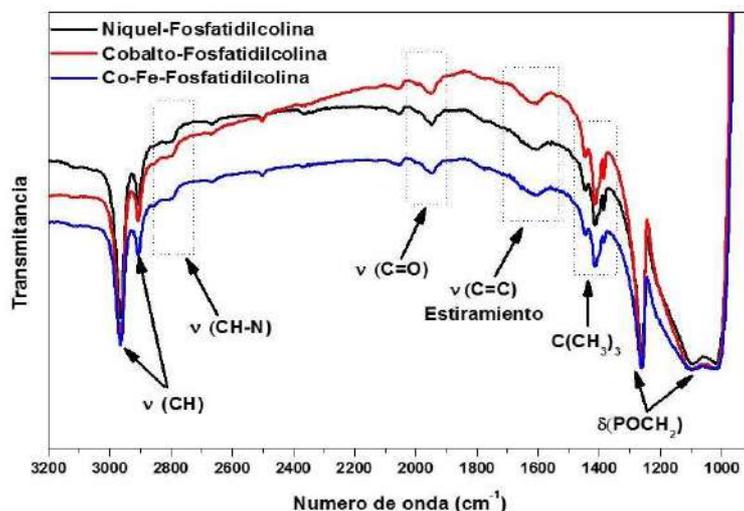


Figura 9. FTIR de la funcionalización de NTC con fosfatidilcolina y catalizados con Ni, Co y Fe-Co.

El ángulo de contacto se realizó con los NTC funcionalizados con fosfatidilcolina y catalizados con Ni-Co (Tabla 1) y Fe-Co (Tabla 2). Para la muestra de Ni-Co-NTC, presenta una alta mojabilidad debido a mayor fuerza de adhesión y menor tensión superficial, hay cambio en la estructura superficial del NTC, no presenta repulsión a las LDL sin oxidar y oxidadas. Para Fe-Co-NTC se presenta menor fuerza de adhesión y mayor tensión superficial a las cero horas con un ángulo 105.5° , además, se observan cambios en el comportamiento superficial de NTC mejorando sus propiedades, como material de recubrimiento de repulsión a las LDL sin oxidar, lo que puede sugerir que estos biomateriales pueden ser usados en el tratamiento de la aterosclerosis.

Tabla 1. Ángulo de contacto en el tiempo para Ni- Co- NTC-fosfatidilcolina

Ángulo de contacto en el tiempo					
Ni-Co-NTC- fosfatidilcolina Estado natural		Ni-Co-NTC- fosfatidilcolina Medianamente oxidadas		Ni-Co-NTC- fosfatidilcolina Altamente oxidadas	
Tiempo (s)	Ángulo($^\circ$)	Tiempo(s)	Ángulo($^\circ$)	Tiempo (S)	Ángulo($^\circ$)
1	87.3	1	36.6	1	0
3	0	3	0	3	0
6	0	6	0	6	0
9	0	9	0	9	0

Tabla 2. Ángulo de contacto en el tiempo para Co-Fe- NTC- fosfatidilcolina

Ángulo de contacto en el tiempo					
Co-Fe-NTC fosfatidilcolina Estado natural		Co-Fe-NTC- fosfatidilcolina Medianamente oxidadas		Co-Fe-NTC-fosfatidilcolina Altamente oxidada	
Tiempo (s)	Ángulo (°)	Tiempo (s)	Ángulo (°)	Tiempo (S)	Ángulo (°)
1	10.5	1	34.8	1	76.8
3	105.7	3	96.7	3	69.3
6	102.0	6	86.3	6	66.3
9	105.5	9	82.0	9	62.8

4. CONCLUSIONES

En este estudio se evaluó la interacción de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) con nanotubos de carbono dopados. Se logró obtener nanotubos de carbono dopados con melanina por medio del método CVD. Sobre los nanotubos de carbono dopados con nitrógeno se puede concluir que pueden modificar las propiedades químicas y físicas de las estructuras obtenidas, sin embargo se requieren más estudios para poder confirmar esta teoría, para así poder generando puntos de unión para su fácil funcionalización e introducción en la superficie de los recubrimientos para el tratamiento de la enfermedad aterosclerótica.

La funcionalización con fosfatidilcolina fue la mejor al utilizar Hierro-Cobalto como catalizador, pues se observó una menor cantidad de material amorfo, además se confirmó la presencia de la fosfatidilcolina en el nanotubo de carbono por FTIR. En el ángulo de contacto se encontró que la mejor mojabilidad para las estructuras analizadas es Hierro-Cobalto ya que presentó una menor fuerza de adhesión y mayor tensión superficial, el cual nos podría sugerir su uso como tratamiento de la aterosclerosis, evitando la acumulación de lipoproteínas y crecimiento de la lesión aterosclerótica.

5. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo brindado de la Feria de Ganados de Medellín-Central Ganadera S.A por las facilidades otorgadas para la obtención de muestras y al CIMAV-Chihuahua México por el apoyo brindado en el acceso a la infraestructura de caracterización de los materiales.

6. REFERENCIAS

- [1] Mendis, S., Thygesen, K., Kuulasmaa, K., Giampaoli, S., Mähönen, M., Blackett, K. N., & Lisheng, L. World Health Organization definition of myocardial infarction: 2008–09 revision. *International journal of epidemiology*, 40(1), 139-146, 2011.
- [2] Mendoza Beltrán, F. C., Isaza Restrepo, D., Beltrán Pineda, R., Jaramillo Villegas, C., Beltrán Bohórquez, J. R., & Herrera Bertel, M. A. Guías Colombianas de Cardiología. “Síndrome coronario agudo sin elevación del ST (Angina inestable e infarto agudo de miocardio sin elevación del ST)”. *Rev Colomb Cardiol*, 15(3), 141-232, 2008.
- [3] Balaguer-Malfagón, J. R., Pomar-Domingo, F., Vilar-Herrero, J. V., Planas-del Viejo, A. M., & Pérez-Fernández, E. “Trombosis del stent en la era moderna: incidencia, consecuencias y factores predictores”. *Revista española de cardiología*, 59(8), 842-845, 2006.
- [4] Carmena, R., Duriez, P., & Fruchart, J. C. “Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis”. *Circulation*, 109(23 suppl 1), III-2, 2004.
- [5] Nakajima, K., Nakano, T., & Tanaka, A. “The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: the comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma”. *Clinica Chimica Acta*, 367(1), 36-47, 2006.
- [6] Stocker, R., & Keaney, J. F. “Role of oxidative modifications in atherosclerosis”. *Physiological reviews*, 84(4), 1381-1478, 2004.
- [7] Kiemeneij, F., Serruys, P. W., Macaya, C., Rutsch, W., Heyndrickx, G., Albertsson, P., & Sigwart, U. “Continued benefit of coronary stenting versus balloon angioplasty: five-year clinical follow-up of Benestent-I trial”. *Journal of the American College of Cardiology*, 37(6), 1598-1603, 2001.
- [8] Echeverri, D. “Efectos biológicos de los stents medicados en la circulación coronaria”. *Revista Colombiana de Cardiología*, 17(2), 47-55, 2010.
- [9] Morice, M. C., Colombo, A., Meier, B., Serruys, P., Tamburino, C., Guagliumi, G., & Stoll, H. P. Quality Trial Investigators: “Sirolimus-vs. paclitaxel-eluting stents in de novo coronary artery lesions: The REALITY trial—A randomized controlled trial”. *JAMA*, 295, 895-904, 2006.
- [10] Stettler, C., Wandel, S., Allemann, S., Kastrati, A., Morice, M. C., Schömig, A., & Goy, J. J. “Outcomes associated with drug-eluting and bare-metal stents: a collaborative network meta-analysis”. *The Lancet*, 370(9591), 937-948, 2007.
- [11] Nebeker, J. R., Virmani, R., Bennett, C. L., Hoffman, J. M., Samore, M. H., Alvarez, J., & Yarnold, P. R. “Hypersensitivity cases associated with drug-eluting coronary stents: a review of

available cases from the Research on Adverse Drug Events and Reports (RADAR) project”. *Journal of the American College of Cardiology*, 47(1), 175-181, 2006.

[12] Albini, A., Mussi, V., Parodi, A., Ventura, A., Principi, E., Tegami, S., & Finzi, G. “Interactions of single-wall carbon nanotubes with endothelial cells”. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6(2), 277-288, 2010.

[13] Psarros, C., Lee, R., Margaritis, M., & Antoniadou, C. “Nanomedicine for the prevention, treatment and imaging of atherosclerosis”. *Maturitas*, 73(1), 52-60, 2012.

[14] Ruenraroengsak, P., Cook, J. M., & Florence, A. T. “Nanosystem drug targeting: facing up to complex realities”. *Journal of Controlled Release*, 141(3), 265-276, 2010.

[15] Gangupomu, V. K., & Capaldi, F. M. “Interactions of carbon nanotube with lipid bilayer membranes”. *Journal of Nanomaterials*, 2011.

[16] Gharib et al, Patent No. US 2012/0058170A1. United States. Mar 8, 2012.

[17] Lewis, D. R., Kamisoglu, K., York, A. W., & Moghe, P. V. “Polymer-based therapeutics: nanoassemblies and nanoparticles for management of atherosclerosis”. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 3(4), 400-420, 2011.

[18] Rouhanizadeh, M., Tang, T., Li, C., Hwang, J., Zhou, C., & Hsiai, T. K. “Differentiation of oxidized low density lipoproteins by nanosensors”. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 114(2), 788-798, 2006.

[19] Iijima, S. “Helical microtubules of graphitic carbon”. *Nature*, 354(6348), 56-58, 1991.

[20] Diaz Lantada, A. “Metodología para el desarrollo de dispositivos médicos basados en el empleo de polímeros activos como sensores y actuadores” (Doctoral dissertation, Industriales), 2009

[21] Meng, L., Fu, C., & Lu, Q. “Advanced technology for functionalization of carbon nanotubes”. *Progress in Natural Science*, 19(7), 801-810, 2009.

[22] Tian, H., Tang, Z., Zhuang, X., Chen, X., & Jing, X. “Biodegradable synthetic polymers: preparation, functionalization and biomedical application”. *Progress in Polymer Science*, 37(2), 237-280, 2012.

[23] Chnari, E., Lari, H. B., Tian, L., Uhrich, K. E., & Moghe, P. V. “Nanoscale anionic macromolecules for selective retention of low-density lipoproteins”. *Biomaterials*, 26(17), 3749-3758, 2005.

[24] Terrones, M., Grobert, N., Olivares, J., Zhang, J. P., Terrones, H., Kordatos, K., & Cheetham, A. K. “Controlled production of aligned-nanotube bundles”. *Nature*, 388(6637), 52-55, 1997.

- [25] Wang, X., Liu, Y., Zhu, D., Zhang, L., Ma, H., Yao, N., & Zhang, B. "Controllable growth, structure, and low field emission of well-aligned CN x nanotubes". *The Journal of Physical Chemistry B*, 106(9), 2186-2190, 2002.
- [26]. Nath, M., Satishkumar, B. C., Govindaraj, A., Vinod, C. P., & Rao, C. N. R. "Production of bundles of aligned carbon and carbon-nitrogen nanotubes by the pyrolysis of precursors on silica-supported iron and cobalt catalysts". *Chemical Physics Letters*, 322(5), 333-340, 2000.
- [27] Glerup, M., Castignolles, M., Holzinger, M., Hug, G., Loiseau, A., & Bernier, P. "Synthesis of highly nitrogen-doped multi-walled carbon nanotubes". *Chemical Communications*, (20), 2542-2543, 2003.
- [28] Terrones, M., Redlich, P., Grobert, N., Trasobares, S., Hsu, W. K., Terrones, H., & Rühle, M. "Carbon nitride Nanocomposites: formation of aligned C_xN_y nanofibers". *Advanced materials*, 11(8), 655-658, 1999.
- [29] Terrones, M., Terrones, H., Grobert, N., Hsu, W. K., Zhu, Y. Q., Hare, J. P., & Zhang, J. P. "Efficient route to large arrays of CN_x nanofibers by pyrolysis of ferrocene/melamine mixtures". *Applied Physics Letters*, 75(25), 3932-3934, 1999.
- [30] Lim, S. H., Elim, H. I., Gao, X. Y., Wee, A. T. S., Ji, W., Lee, J. Y., & Lin, J. "Electronic and optical properties of nitrogen-doped multiwalled carbon nanotubes". *Physical Review B*, 73(4), 045402, 2006.
- [31]. Droppa Jr, R., Ribeiro, C. T. M., Zanatta, A. R., Dos Santos, M. C., & Alvarez, F. "Comprehensive spectroscopic study of nitrogenated carbon nanotubes". *Physical Review B*, 69(4), 045405, 2004.
- [32] Czerw, R., Terrones, M., Charlier, J. C., Blase, X., Foley, B., Kamalakaran, R., & Blau, W. "Identification of electron donor states in N-doped carbon nanotubes". *Nano Letters*, 1(9), 457-460, 2001.
- [33] Burch, H. J., Davies, J. A., Brown, E., Hao, L., Contera, S. A., Grobert, N., & Ryan, J. F. "Electrical conductance and breakdown in individual CN_x multiwalled nanotubes". *Applied physics letters*, 89(14), 143110, 2006.
- [34] Liu, A. Y., & Wentzcovitch, R. M. "Stability of carbon nitride solids". *Physical Review B*, 50(14), 10362, 1994.
- [35] Reyes-Reyes, M., Grobert, N., Kamalakaran, R., Seeger, T., Golberg, D., Rühle, M., & Terrones, M. "Efficient encapsulation of gaseous nitrogen inside carbon nanotubes with bamboo-like structure using aerosol thermolysis". *Chemical physics letters*, 396(1), 167-173, 2004.

- [36] García, A., "Obtención y caracterización teórica y experimental de nanotubos de carbono dopados con diferentes elementos". Tesis (Doctorado en Materiales). Centro de Investigación y de estudios avanzados del Instituto Politécnico Nacional: Santiago de Querétaro, México, 230 pp. 2010,
- [37] Robertson, J., & Davis, C. A. "Nitrogen doping of tetrahedral amorphous carbon". *Diamond and Related Materials*, 4(4), 441-444, 1995.
- [38] Ewels, C. P., & Glerup, M. "Nitrogen doping in carbon nanotubes". *Journal of Nanoscience and nanotechnology*, 5(9), 1345-1363, 2005.
- [39] Yang, J. H., Kim, B. J., Kim, Y. H., Lee, Y. J., Ha, B. H., Shin, Y. S, & Yoo, J. B. "Nitrogen-incorporated multiwalled carbon nanotubes grown by direct current plasma-enhanced chemical vapor deposition". *Journal of Vacuum Science & Technology B*, 23(3), 930-933, 2005.
- [40] Sharifi, T., Nitze, F., Barzegar, H. R., Tai, C. W., Mazurkiewicz, M., Malolepszy, A., & Wågberg, T. "Nitrogen doped multi walled carbon nanotubes produced by CVD-correlating XPS and Raman spectroscopy for the study of nitrogen inclusion". *Carbon*, 50(10), 3535-3541, 2012.
- [41] Suenaga, K., Yudasaka, M., Colliex, C., & Iijima, S. "Radially modulated nitrogen distribution in CN x Nano tubular structures prepared by CVD using Ni phthalocyanine". *Chemical Physics Letters*, 316(5), 365-372, 2000.
- [42] Kotakoski, J., Krasheninnikov, A. V., Ma, Y., Foster, A. S., Nordlund, K., & Nieminen, R. M. "B and N ion implantation into carbon nanotubes: insight from atomistic simulations". *Physical Review B*, 71(20), 205408, 2005.
- [43] Choi, H. C., Bae, S. Y., Park, J., Seo, K., Kim, C., Kim, B., & Shin, H. J. "Experimental and theoretical studies on the structure of N-doped carbon nanotubes: possibility of intercalated molecular N₂". *Applied Physics Letters*, 85(23), 5742-5744, 2004.
- [44] Srivastava, D., Menon, M., Daraio, C., Jin, S., Sadanadan, B., & Rao, A. M. "Vacancy-mediated mechanism of nitrogen substitution in carbon nanotubes". *Physical Review B*, 69(15), 153414, 2004.
- [45] Zhu, L., Jin, Q., Xu, J., Ji, J., & Shen, J. "Poly (2- (methacryloyloxy) ethyl phosphorylcholine)-functionalized multi-walled carbon nanotubes: Preparation, characterization, solubility, and effects on blood coagulation". *Journal of applied polymer science*, 113(1), 351-357, 2009.
- [46] Cole, L. K., Vance, J. E., & Vance, D. E. "Phosphatidylcholine biosynthesis and lipoprotein metabolism". *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1821(5), 754-761, 2012.
- [47] Zhan, S., Tian, Y., Cui, Y., Wu, H., Wang, Y., Ye, S., & Chen, Y. "Effect of process conditions on the synthesis of carbon nanotubes by catalytic decomposition of methane". *China Particuology*, 5(3), 213-219, 2007.

- [48] Cornelio, J. A. C., Cuervo, P. A., Hoyos-Palacio, L. M., Lara-Romero, J., Toro, A. "Tribological properties of carbon nanotubes as lubricant additive in oil and water for a wheel-rail system". *Journal of Materials Research and Technology*. 5(1), 68-76, 2016.
- [49] Musso, S., Porro, S., Vinante, M., Vanzetti, L., Ploeger, R., Giorelli, M., & Tagliaferro, A. "Modification of MWNTs obtained by thermal-CVD". *Diamond and related materials*, 16(4), 1183-1187, 2007.
- [50] Hoyos L.M. "Efectos de los catalizadores Fe, Co, Ni, Mo y sus mezclas soportadas sobre sílice sol-gel, para la síntesis de nanotubos de carbono mediante CVD". Tesis de Doctorado Universidad Pontificia Bolivariana. Medellín, 2010.
- [51] Mionic', M., Alexander, D. T., Forró, L., & Magrez, A. "Influence of the catalyst drying process and catalyst support particle size on the carbon nanotubes produced by CCVD". *Physica status solidi (b)*, 245(10), 1915-1918, 2008.
- [52] Pan, Z. W., Xie, S. S., Chang, B. H., Sun, L. F., Zhou, W. Y., & Wang, G. "Direct growth of aligned open carbon nanotubes by chemical vapor deposition". *Chemical Physics Letters*, 299(1), 97-102, 1999.
- [53] Li, Q., Yan, H., Zhang, J., & Liu, Z. "Pulsed CVD growth of single-walled carbon nanotubes". *Carbon*, 41(14), 2876-2878, 2003.
- [54] Marshall, M. W., Popa-Nita, S., & Shapter, J. G. "Measurement of functionalized carbon nanotube carboxylic acid groups using a simple chemical process". *Carbon*, 44(7), 1137-1141, 2006.
- [55] Maldonado, S., Morin, S., & Stevenson, K. J. "Structure, composition, and chemical reactivity of carbon nanotubes by selective nitrogen doping". *Carbon*, 44(8), 1429-1437, 2006.
- [56] Malard, L., et al., Raman spectroscopy in graphene. *Physics Reports*, 2009. 473(5): p. 51-87.
- [57] Donato, M., et al., Optimisation of gas mixture composition for the preparation of high quality MWCNT by catalytically assisted CVD. *Diamond and related materials*, 2007. 16(4): p. 1095-1100.
- [58] Donato, M., et al., Experiments on C nanotubes synthesis by Fe-assisted ethane decomposition. *Diamond and related materials*, 2008. 17(3): p. 318-324.
- [59] Liu, Y., Zhang, Y., Zhang, T., Jiang, Y., & Liu, X. "Synthesis, characterization and cytotoxicity of phosphorylcholine oligomer grafted graphene oxide". *Carbon*, 71, 166-175, 2014.