

KOMPLEKS FULERENOLA SA BAKAR(II) JONOM*

Polihidroksilovani fullerenski derivati imaju veliki potencijal u nanomedicinskoj primeni. Istraživanja osobina polianjonske nanočestice fulerenola, $C_{60}(OH)_{24}$, od ključnog su značaja za tumačenje bioloških mehanizama. U našem radu je ispitana osobina polianjonske nanočestice fulerenola $C_{60}(OH)_{24}$ kao polidentatnog liganda. Vodeni rastvori fulerenola, $C_{60}(OH)_{24}$, dodavani su u rastvor $[Cu(NH_3)_4]^{2+}$ do formiranja tamno smeđeg kompleksa. Apsorbancija rastvora $[Cu(NH_3)_4]^{2+}$ smanjuje se sa povećanjem koncentracije polianjonskog polidentatnog nanoliganda fulerenola u svim ispitanim koncentracijama $[Cu(NH_3)_4]^{2+}$. U svim slučajevima, odnos graditelja kompleksa Cu^{2+} i polianjonskog polidentatnog nanoliganda povećava se približno 1,5 do 9 sa povećanjem koncentracije graditelja kompleksa i smanjenjem koncentracije polianjonskog polidentatnog nanoliganda u alkalnoj sredini. Graditelj kompleksa Cu^{2+} katalizuje proces oksidacije polidentatnog polianjonskog nanoliganda fulerenola do CO i CO_2 na temperaturama od 380 i 410 °C, dok se sam polidentatni polianjonski ligand oksiduje u jednostepenom procesu na temperaturi od 490 °C.

Istraživanja na fullerenskim derivatima ukazuju na sve šire mogućnosti njihove upotrebe u biološkim aplikacijama kao što su: antioksidansi, MRI kontrastni agensi, vektori lekova, enzimski inhibitori, biosenzori, antibakterijski i antiviralni agensi, fotodinamički aktivne materije, radioprotektori, hemioprotektori i dr. [1]. Polihidroksilovani derivati fulerena (C_{60}), fulerenoli ($C_{60}(OH)_x$, $x = 4-36$), i polikarboksilni derivati ($C_{60}(COOH)_n$, $n = 1-4$) spadaju u grupu jedinjenja sa najviše ispitanim biološkim osobinama [2,3]. Fulerenol u širokom koncentracionom gradijentu od milimolskih do nanomolskih koncentracija u vodenom rastvoru formira nanočestice. Veličina nanočestica varira u zavisnosti od: pH sredine, temperature, prisustva metalnih katjona, proteina, postupka sinteze. Pri pH 3, dimenzije čestica se kreću između 120 i 460 nm dok pri višim pH vrednostima dijometri čestica opadaju tako da se pri pH 6 molekuli organizuju gradeći nanočestice dimenzija 122 nm a pri pH 10 oko 10 nm. U vodenom rastvoru nanočestice fulerenola pokazuju proton akceptorske osobine u pH intervalima: 3,6, 4,7, 5,8, 7,1-7,3 i 8,6-9,0 što je od posebnog značaja za tumačenje biološke aktivnosti. Dimenzije nanočestica fulerenola na temperaturi od 20 °C su oko 225 nm a pri povećanju temperature (≥ 45 °C) dimenzije čestice neznatno opadaju [4]. Koloidna nanočestica fulerenola je bez obzira na pH vrednost manje ili više negativno naelektrisana (polianjonska nanočestica) i površine sa negativnim nabojem su veće u kiselj sredini u poređenju sa baznom sredinom što je u skladu sa uticajem pH vrednosti na veličinu čestica [5]. Polianjonska nanočestica fulerenola gradi sa molekulima vode vodonične veze kako u samoj nano-

čestici tako i na površini nanočestice. Na spoljašnjoj sferi nanočestice se zbog repulzionih interakcija negativnog naboja nalaze deprotonovani polianjonski molekuli ($C_{60}(OH)_xO_y^-$, $x + y = 24$) fulerenola što celu nanočesticu čini polianjonskim proton akceptorkim sistemom. U unutrašnjosti nanočestice su najverovatnije prisutni samo molekuli fulerenola. Ove osobine koloidne nanočestice omogućavaju da fulerenol u fiziološkim uslovima ima antioksidativna i helatorska svojstva što najverovatnije čini osnovu biološke aktivnosti fulerenola [6,7]. Fulerenolske nanočestice su detektovane u *in vitro* sistemu u intra i ekstra celularnoj tečnosti kao i u *in vivo* sistemu u tkivu organa i oko organa u abdominalnoj duplji ako se fulerenol daje intra peritonealno. [8]. Elektronskom mikroskopijom je nepobitno dokazano prisustvo fulerenola u intracelularnom prostoru [9,10], što ukazuje na to da se molekuli fulerenola raskidanjem vodoničnih veza odvajaju od nanočestice i slobodno difunduju kroz ćelijsku membranu u intracelularni prostor, formirajući novu biološki aktivnu intracelularnu nanočesticu [11]. Mehanizam delovanja fulerenola $C_{60}(OH)_{24}$ u biološkim modelima se najverovatnije bazira na fizičkim i hemijskim osobinama formiranih koloidnih nanočestica. U našem radu je ispitana osobina polianjonske nanočestice fulerenola $C_{60}(OH)_{24}$ kao polidentatnog liganda.

MATERIJAL I METODE

Za karakterizaciju dobijenih proizvoda korišćeni su sledeći uređaji:

- FTIR: Thermo-nicolet, nexus 670;
- TG, DTG, DTA: DuPont 1090 TA, TGA 951;
- XRD: Rendgenografski difraktometar Philips difraktograf X-zraka za prah, PW 1020, $U = 30$ kV, $I = 30$ mA, $\lambda = 0,154218$ nm (Cu);
- UV-Vis: spektrofotometar Cecil CE 2021;
- SEM: Jeol 6460 LV.

*Rad saopšten na skupu „Sedmi seminar mladih istraživača“, Beograd, 22-24. decembar 2008.

Autor za prepisku: A. N. Đorđević, Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju, Trg Dositeja Obradovića 3, 21000 Novi Sad, Srbija.

E-pošta: dvadj@ih.ns.ac.yu

Rad primljen: 22. decembar 2008.

Rad prihvaćen: 22. januar 2009.

Sinteza fulerenola i kompleksa fulerenola sa bakrom

100 mg $C_{60}Br_{24}$ tretirano je sa 50 ml rastvora NaOH, pH 12. Reakciona smeša je mešana na magnetnoj mešalici na sobnoj temperaturi 2 h do potpune homogenizacije heterogene smeše. Vodeni rastvor fulerenola je tamno smeđe boje. Tako dobijen vodeni rastvor polianjonskog polidentatnog nanoliganda fulerenola je separisan od reakcionog viška NaOH i NaBr.

Kompleks polianjonskog polidentatnog nanoliganda fulerenola sa Cu^{2+} sintetisan je dodatkom rastvora $CuSO_4$, $c = 0,5 \text{ mmol/dm}^3$ u vodeni rastvor fulerenola koncentracije, $c = 4.43 \times 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$. Formirani smeđi precipitat je odvojen centrifugiranjem i ispran tri puta demineralizovanom vodom.

REZULTATI I DISKUSIJA

FTIR

$C_{60}(OH)_{24}$: 3427 (–OH), 1627 i 1419 (C=C i C–C), 1080 cm^{-1} (C–O); ^{13}C -NMR (D_2O): singletni pik na $\delta = 169,47 \text{ ppm}$ i multipletni pik 160–110 ppm (sp^3 hibridizacija); MALDI (matrix α -cyano-4-hydroxycinnamic acid), (m/z): 720 (C_{60}^+), 721 ($C_{60}H^+$), 722 ($C_{60}H_2^+$), 737 ($C_{60}(OH)^+$), 808 ($C_{60}(OH)_5^+$), 839 ($C_{60}(OH)_7^+$), 856 ($C_{60}(OH)_8^+$), 1009 ($C_{60}(OH)_{17}^+$), 1026 ($C_{60}(OH)_{18}^+$) i minorni pik 1128 ($C_{60}(OH)_{24}^+$). Elementarnom analizom su dobijene sledeće vrednosti: C – 63,0%, H – 2,0%; izračunate vrednosti: C – 63,83%, H – 2,13%.

Na slici 1 predstavljeni su termogrami TGA polianjonskog polidentatnog nanoliganda fulerenola i kompleksa fulerenola sa $CuSO_4$.

Na slici 2 predstavljeni su DTA polianjonskog polidentatnog nanoliganda fulerenola i kompleksa fulerenola sa $CuSO_4$.

Na termogramima TGA i DTA polianjonskog polidentatnog nanoliganda fulerenola i kompleksa fulerenola sa $CuSO_4$, uočavaju se endotermni efekti koji potiču

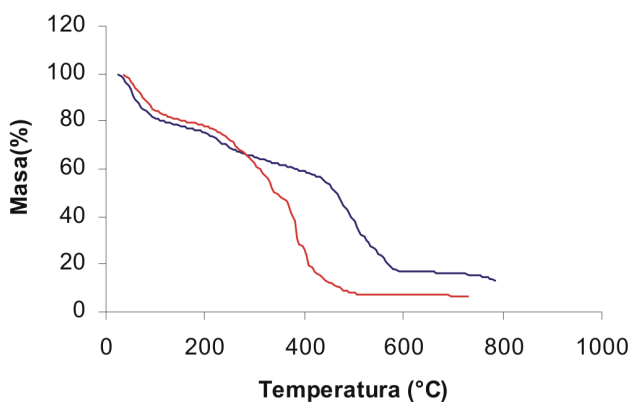
od dehidratacije i egzotermni efekti degradacije polianjonskog polidentatnog nanoliganda fulerenola i kompleksa. Na početku termograma TGA i DTA fulerenola uočava se vrlo dobro definisan endotermni pik nastao kao rezultat gubitka vode (vlage) na temperaturi oko 100 °C, a zatim gubitak mase kao posledica termičke destrukcije polianjonskog polidentatnog nanoliganda fulerenola i gubitka hidroksilnih grupa. Na temperaturi iznad 400 °C uočava se gubitak mase kao posledica oksidativne degradacije fulerenola. Poređenjem termograma polianjonskog polidentatnog nanoliganda fulerenola i kompleksa fulerenola sa $CuSO_4$ može se videti uticaj $CuSO_4$ na pomeranje termičke stabilnosti ka nižim temperaturama za oko 100 °C. Temperatura pika oksidacije fulerenola, t_m , je 490 °C; a za kompleks polianjonskog polidentatnog nanoliganda fulerenola sa $CuSO_4$ mogu se zapaziti tri pika od kojih su dominantna dva na $t_m = 380$ °C i $t_m = 410$ °C. Na osnovu ovih rezultata može se uočiti da prisustvo $CuSO_4$ utiče na proces oksidacije fulerenola na nižim temperaturama. Posle žarenja kompleksa fulerenola sa $CuSO_4$ u sudu zaostaje karakterističan talog CuO . Na slici 3 prikazan je difraktogram kompleksa fulerenola i $CuSO_4$.

Difraktogram kompleksa fulerenola sa $CuSO_4$ ukazuje da je supstanca amorfne strukture i veoma slična polaznom polianjonskom polidentatnom nanoligandu fulerenolu.

FTIR polianjonskog polidentatnog nanoliganda fulerenola i kompleksa sa Cu^{2+} identični su sa karakterističnim trakama za fulerenol.

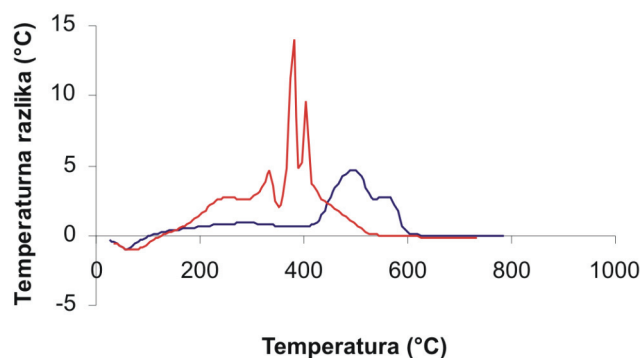
Na slici 4 predstavljena je struktura polianjonskog polidentatnog nanoliganda fulerenola.

U vodeni rastvor $CuSO_4$ dodat je vodeni rastvor NH_3 u višku kako bi se formirao kompleks tetraaminobakar (II) $[Cu(NH_3)_4]^{2+}$. Praćena je promena absorbanije plavog kompleksa $[Cu(NH_3)_4]^{2+}$ u zavisnosti od koncentracije polianjonske polidentatne nanočestice fulerenola kao polidentatnog liganda. Koncentracije $[Cu(NH_3)_4]^{2+}$



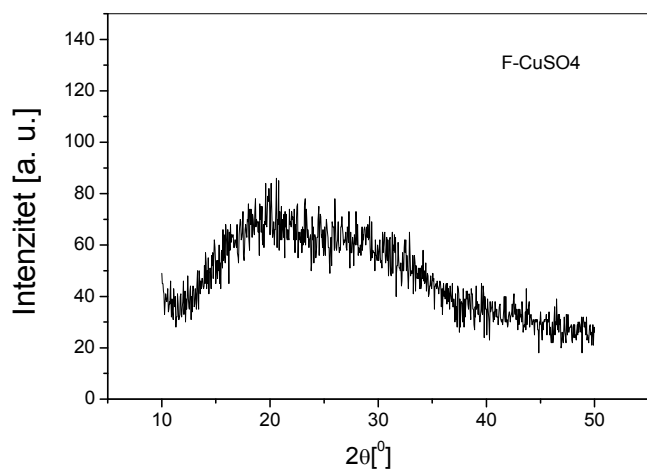
Slika 1. TGA fulerenola (—) i kompleksa fulerenola sa $CuSO_4$ (—).

Figure 1. TGA of fullerene (—) and complex fullerene with $CuSO_4$ (—).



Slika 2. DTA fulerenola (—) i kompleksa fulerenola sa $CuSO_4$ (—).

Figure 2. DTA of fullerene (—) and complex fullerene with $CuSO_4$ (—).

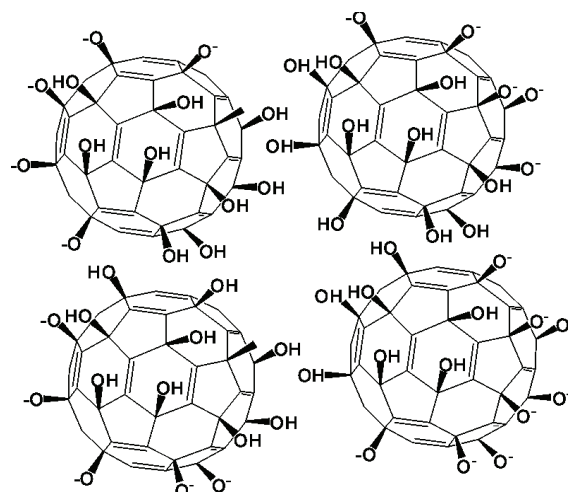


Slika 3. Difraktogram kompleksa fulerenola sa CuSO_4 .
Figure 3. Difractogram of complex fullereneol with CuSO_4 .

kretale su se u opsegu od $1,87 \times 10^{-5}$ do $4,47 \times 10^{-5}$ mol/dm³. Koncentracije fulerenola su se kretale u opsegu od $5,2 \times 10^{-6}$ do $16,2 \times 10^{-6}$ mol/dm³.

Na slici 5 predstavljen je grafik zavisnosti apsorbancije $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ od koncentracije polianjonskog polidentatnog nanoliganda fulerenola.

Na slici 5 može se videti da se apsorbancija rastvora $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ nakon dodatka fulerenola menja u zavisnosti od koncentracije polianjonskog polidentatnog nanoliganda fulerenola. Apsorbancija rastvora se smanjuje sa povećanjem koncentracije fulerenola u svim ispitanim koncentracijama $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$. Primećeno je da se pri najvećim ispitanim koncentracijama c_4 i c_5 $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ apsorbancija rastvora ne menja sa povećanjem koncentracije fulerenola iznad $11,5 \times 10^{-6}$ mol/dm³. Takođe je primećeno da se u svim ispitanim koncentracijama,



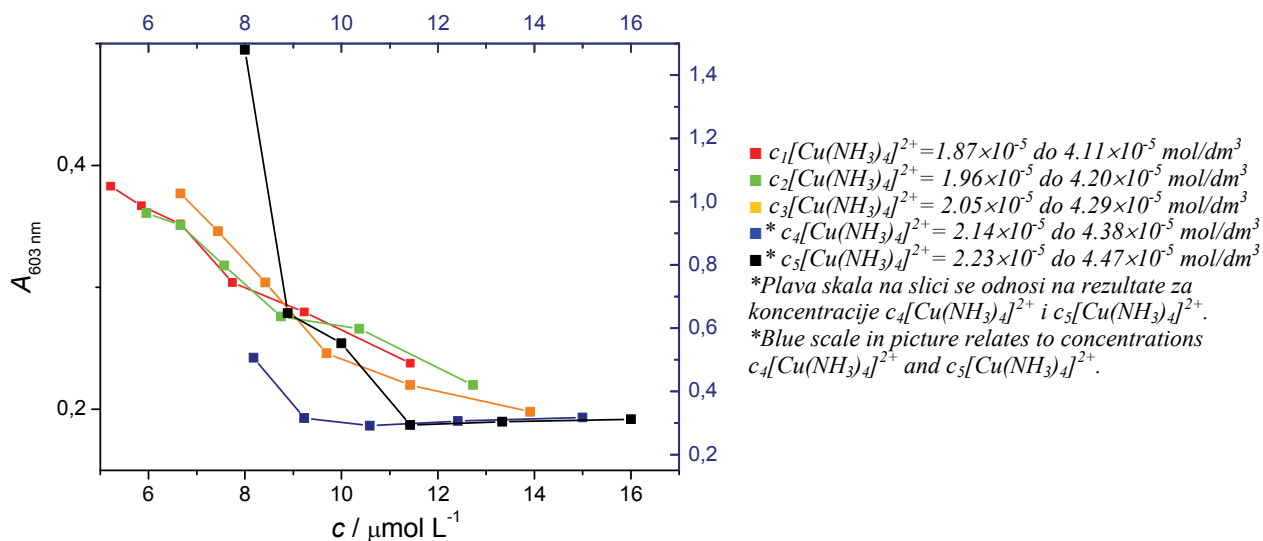
Slika 4. Struktura polianjonskog polidentatnog nanoliganda fulerenola.

Figure 4. Structure of polidentate polyanion nanoligand fullereneol.

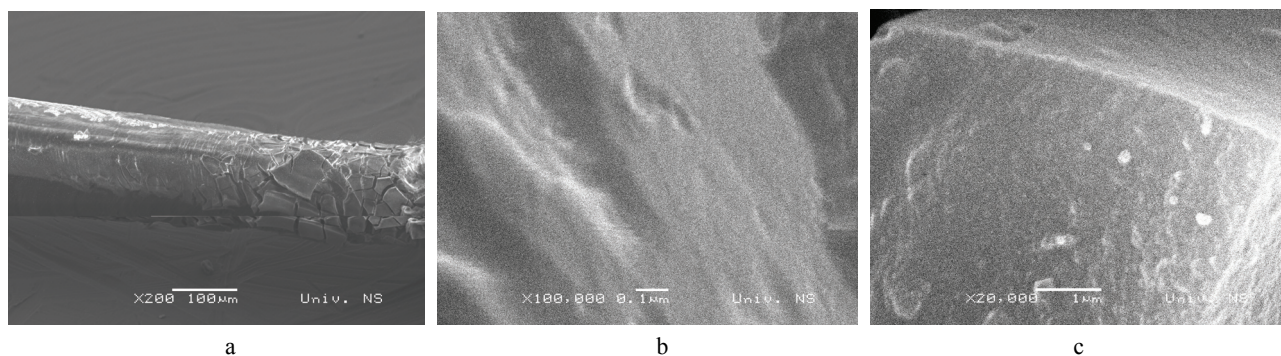
c_1 – c_5 , odnos graditelja kompleksa Cu^{2+} i polianjonskog polidentatnog nanoliganda, povećava od približno 1,5 do 9 sa povećanjem koncentracije graditelja kompleksa i smanjenjem koncentracije polianjonskog polidentatnog nanoliganda u alkalnoj sredini.

Na slici 6 prikazani su SEM snimci kompleksa polianjonskog polidentatnog nanoliganda fulerenola sa Cu^{2+} .

Pri koncentraciji $c_5[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+} = 2,68 \times 10^{-5}$ mol/dm³ i polianjonskog polidentatnog nanoliganda fulerenola, $c = 13,4 \times 10^{-6}$ mol/dm³ formirana je nit dužine oko 100 nm i prosečne debljine od 200 μm. Na slici 6a može se videti da nit značajno menja strukturu svoje površine i prečnika pod uticajem snopa elektrona što ukazuje na prisustvo vode. Na slikama 6b i 6c je prikazana struktura poprečnog preseka.



Slika 5. Zavisnost apsorbancije $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ od koncentracije polianjonskog polidentatnog nanoliganda fulerenola.
Fig. 5 Absorbance of $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ vs. concentration of polidentate polyanion nanoligand fullereneol.



Slika 6. SEM kompleksa polianjionskog polidentatnog nanoliganda fulerenola sa CuSO_4 .
Figure 6. SEM of complex fullereneol with CuSO_4 .

ZAKLJUČAK

– Vodeni rastvor polidentatnog polianjionskog nanoliganda fulerenola $\text{C}_{60}(\text{OH})_{24}$ sa CuSO_4 gradi čvrst, tamno smeđi kompleks.

– Na TGA–DTA termogramima fulerenola i kompleksa polianjionskog polidentatnog nanoliganda fulerenola sa CuSO_4 uočavaju se endotermni efekti koji potiču od dehidratacije i egzotermni efekti degradacije fulerenola i kompleksa. Na početku TGA–DTA termograma fulerenola uočava se vrlo dobro definisan endotermni pik koji potiče od gubitka vode (vlage) na temperaturi oko $100\text{ }^\circ\text{C}$. Na temperaturi iznad $400\text{ }^\circ\text{C}$ izražen je egzotermni efekat oksidacije fulerenola do CO , odnosno CO_2 i H_2O .

– Na TGA–DTA termogramima kompleksa polidentatnog polianjionski nanoliganda fulerenola sa CuSO_4 zapaža se pomeranje termičke stabilnosti ka nižim temperaturama za oko $100\text{ }^\circ\text{C}$. Temperatura pika oksidacije fulerenola, t_m , je $490\text{ }^\circ\text{C}$, a za kompleks polianjionskog polidentatnog nanoliganda fulerenol sa CuSO_4 zapažena su tri pika od kojih su dva dominantna na $t_m = 380\text{ }^\circ\text{C}$ i $t_m = 410\text{ }^\circ\text{C}$.

– CuSO_4 katalizuje proces oksidacije polianjionskog polidentatnog nanoliganda fulerenola do CO , odnosno CO_2 . Posle žarenja kompleksa polianjionskog polidentatnog nanoliganda fulerenola sa CuSO_4 u sudu za žarenje zaostaje karakterističan talog CuO .

– Difraktogram kompleksa polianjionskog polidentatnog nanoliganda fulerenola sa CuSO_4 ukazuje na amorfnu strukturu supstance.

– Apsorbancija rastvora se smanjuje sa povećanjem koncentracije polianjionskog polidentatnog nanoliganda fulerenola u svim ispitanim koncentracijama $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$. Primećeno je da se u svim ispitanim koncentracijama, c_1 – c_5 , odnos graditelja kompleksa Cu^{2+} i polianjionskog polidentatnog nanoliganda fulerenola, povećava približno od 1,5 do 9 sa povećanjem koncentracije graditelja kompleksa i smanjenjem koncentracije polianjionskog polidentatnog nanoliganda u alkalnoj sredini.

Zahvalnica

Istraživanja su realizovana u okviru naučnog projekta broj 142076 Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije. Zahvaljujemo se na nesebičnoj pomoći prof. dr Slavku Mentusu za termičke analize uzoraka i dr Nenadu Ignjatoviću na rendgeno-strukturalnoj analizi uzorka.

LITERATURA

- [1] F. Cataldo, P. Milani, Medicinal Chemistry and Pharmacological Potential of Fullerenes and Carbon Nanotubes, Springer, 2008, p. 1–23, 51–79, 157–181.
- [2] A. Đorđević, G. Bogdanović, S. Dobrić, Fullerenes in biomedicine, J. BUON **11** (2006) 391–404.
- [3] R. Injac, N. Radić, B. Govedarica, A. Đorđević, B. Strukelj, Bioapplication and activity of fullereneol $\text{C}_{60}(\text{OH})_{24}$, African J. Biotechnol. **25** (2008) 4940–4050.
- [4] J.A. Brant, J. Labelle, C.O. Robichaud, M. Wiesner, Fullerol cluster formation in aqueous solution: implication for environmental release, J. Colloid. Interface Sci. **314** (2007) 281–288.
- [5] B. Vilen, P.R. Marcoux, M. Lekka, A. Sienkiewicz, T. Feher, L. Forro, Spectroscopic and photophysical properties of a highly derivatized C_{60} fullerol, Adv. Funct. Mater. **16** (2006) 120–128.
- [6] R. Anderson, A.R. Barron, Reaction of Hydroxyfullerene with Metal Salts: A Route to Remediation and Immobilization, J. Am. Chem. Soc. **127** (2005) 10458–10459.
- [7] I. Ičević, A. Đorđević, D. Štrbac, Fullereneol polidentatni ligand, Tehnika **2** (2005) 7–10.
- [8] R. Injac, M. Perse, N. Obermajer, V. Đorđević-Milić, M. Prijatelj, A. Đorđević, A. Cerar, S. Borut, Potential Hepatoprotective Effects of Fullereneol $\text{C}_{60}(\text{OH})_{24}$ in Doxorubicin-induced Hepatotoxicity in Rats With Mammary Carcinomas, Biomaterials **29** (2008) 3451–3460.
- [9] H. Yamavaki, N. Iwai, Cytotoxicity of water-soluble fullerene in vascular endothelial cells, Am. J. Physiol. Cell Physiol. **290** (2006) 1495–1502.
- [10] T. Xia, M. Kovochich, J. Brant, M. Hotze, J. Sempf, T. Oberley, C. Sioutas, J.I. Yeh, M.R. Wiesner, A.E. Nel, Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm, Nano Lett. **6** (2006) 1794–1807.
- [11] C. Beck, L. Härtl, Fullerenes as new colloidal model systems, Prog. Colloid Polym. Sci. **117** (2001) 126–130.

SUMMARY**COMPLEX WITH FULLERENOL AND COPPER (II)**Aleksandar N. Đorđević¹, Ivana Đ. Ičević¹, Višnja V. Bogdanović²¹Faculty of Science, Department of Chemistry, Novi Sad, Serbia²Institute of Oncology, Department of Experimental Oncology, Sremska Kamenica, Serbia

(Scientific paper)

Polyhydroxy fullerene derivatives have significant potential in nanomedical application. Research of polyanion nanoparticle fullereneol $C_{60}(OH)_{24}$ is of high significance for interpretation of biological mechanisms. This paper investigated the properties of polyanion nanoparticle fullereneol $C_{60}(OH)_{24}$ as a potential polydentate ligand. Fullereneol $C_{60}(OH)_{24}$ water solutions were added in solution of $[Cu(NH_3)_4]^{2+}$ in order to form a dark brown complex. Absorbance of $[Cu(NH_3)_4]^{2+}$ solution was decreasing with increasing concentration of polyanion nanoparticle nanoligand fullereneol. This relation was determined in all investigated concentrations of $[Cu(NH_3)_4]^{2+}$. The ratio of Cu^{2+} complex composer to polyanion polydentate nanoligand fullereneol had an increase from 1.5 to 9, proportional to the increase of the complex composer concentration and decrease of polyanion polydentate nanoligand fullereneol in the alkali medium. The thermogram TGA-DTA of fullereneol and fullereneol and $CuSO_4$ complex, clearly show endothermic effects (which are the result of dehydration and dehydroxylation) and exothermic effects (as the result of degradation of $C_{60}(OH)_{24}$ molecules and processes of oxidation in CO, CO_2). At the beginning of TGA-DTA fullereneol thermogram, there is a very well defined endothermic peak of water loss at 100 °C, followed by mass decrease as a consequence of lost hydroxyl groups, covalently bonded for C_{60} . The influence of the complex composer is manifested in the moving of thermal stability towards lower temperatures. The complex composer is a catalyst of the process of polyanion polydentate nanoligand fullereneol oxidation to CO and CO_2 . The temperature peak of fullereneol oxidation is at 490 °C and in the case of complex oxidation two peaks were detected at 380 and 410 °C.

Ključne reči: Polidentatni • Polianjonski • Nanoligand • Fullereneol • Kompleks • Cu^{2+}

Key words: Polydentat • Polyanion • Nanoligand • Fullereneol • Complex • Cu^{2+}