

5. FULERENSKE NANOTEHNOLOGIJE U MEDICINI

5.1. UVOD

Molekul C_{60} je nova (treća) alotropska modifikacija ugljenika, pored grafita i dijamanta, koja je laserski sintetisana 1985. godine (Rajs Univerzitet, USA), fizičko-hemijskim metodama, kao kristal proizvedena 1990. (Univerzitet u Arizoni, USA) i prvi put viđena sa internom strukturom pomoću skenirajuće tunelske mikroskopije (STM) 1992. (Univerzitet u Beogradu). U decembru 1991. godine proglašen je molekulom godine u časopisu „Science“, a 1996. godine Curl, Kroto i Smalley su za njegovo otkriće dobili Nobelovu nagradu u oblasti hemije.

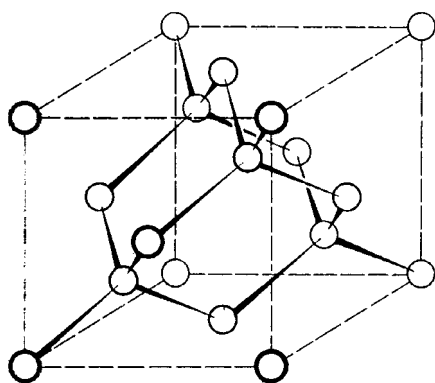
Ovaj molekul sadrži 60 atoma ugljenika koji su raspoređeni po površini sfere u pentagone i heksagone. Ime fullerena dobio je prema poznatom američkom arhitekti Buckminster Fuller-u, jer je Fuller-ova geodezijska kupola napravljena još 1967. godine u Montrealu poslužila naučnicima, dobitnicima Nobelove nagrade, da odgonetnu strukturu ovog molekula. Danas se Fulerenima naziva čitava klasa zatvorenih sferičnih ugljenikovih struktura, tipa C_{20+2n} (n-broj heksagona, $n \neq 1$) sa 12 pentagona i neograničenim brojem heksagona. Princip izgradnje fulerena je u skladu sa Euler-ovom teoremom o poliedrima, prema kojoj je za zatvaranje svake sferne mreže od n heksagona potrebno tačno 12 pentagona, izuzev za $n = 1$.

Najmanji stabilan i u isto vreme najzastupljeniji fullerena, koji je izolovan je *buckminster* fullerena C_{60} , sa ikosaedarskom simetrijom (Ih), oblika fudbalske lopte. Sledeći stabilan homolog je C_{70} . Prate ga viši fulereni C_{76} , C_{78} , C_{82} , C_{84} , C_{90} , C_{94} i C_{96} .

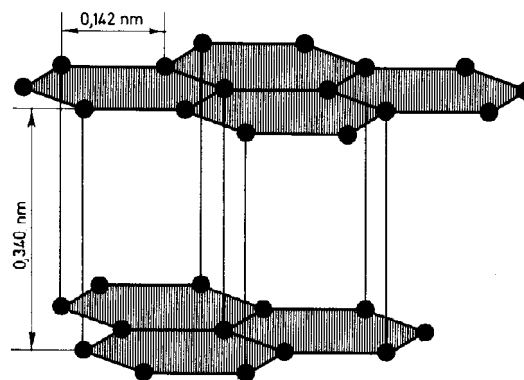
Gotovo svi derivati fulerena, bilo da su to produkti kovalentne adicije ili soli fulerena – fuleridi, mogu uspešno da se projektuju, što upućuje na njihovu moguću primenu kao novih materijala ili biološki aktivnih molekula.

5.2. STRUKTURA

Čisto ugljenična forma dijamant predstavlja prostorni raspored četiri sp^3 orbitale po ugljenikovom atomu u tetraedarskim pravcima, sa međusobnim uglom od $109^\circ 28'$. Grafit predstavlja raspored tri sp^2 orbitale po ugljenikovom atomu u ravni, sa uglom od 120° .



Slika 5.1. Struktura dijamanta.

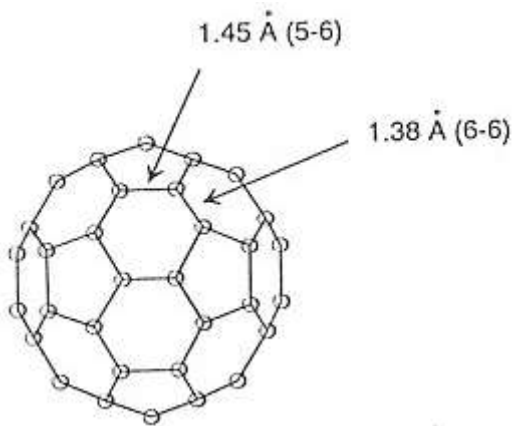


Slika 5.2. Struktura grafita.

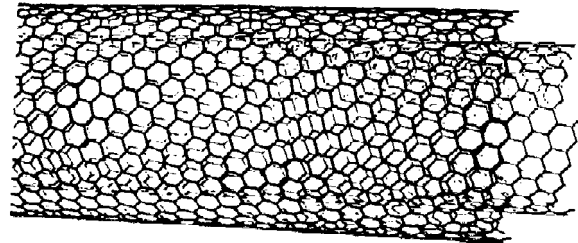
Obe forme fulerena, ugljeni-klasteri-kavezi (3C) i ugljenične nanotube (CNT) se baziraju na sp^2 orbitalama i π elektronima, ali različito prostorno orjentisanim. Kod 3C fulerena svi π elektroni su orjentisani prema centru kaveza ili prema tački, dok su kod nanotuba usmereni prema liniji ili prema osi.

Molekul C_{60} sastoji se od 60 ekvivalentnih, kvaternarnih, sferno organizovanih atoma ugljenika raspoređenih u 12 pentagona i 20 heksagona, dok viši homologični članovi niza imaju konstantan broj pentagona i promenljivi broj heksagona.

Svih dvanaest pentagona izolovani su heksagonima. Pravilo izolovanih pentagona (IPR) predviđa da su strukture kod kojih su pentagoni međusobno odvojeni heksagonim stabilnije, a sferičnost molekula izraženija. Veze između dva heksagona kraće su od veza između heksagona i pentagona. Prečnik fulerena C_{60} iznosi oko 1 nm.



Slika 5.3. Struktura fulerena C_{60} .



Slika 5.4. Struktura nanotuba.

Sledeći viši stabilan fuleren koji zadovoljava pravilo izolovanog pentagona je C_{70} , sa D_{5h} simetrijom. Molekul C_{70} sastoji se od 12 pentagona i 25 heksagona raspoređenih po površini sfere.

Ugljenične nanotube su urolani slojevi grafita, krajeva zatvorenih polifulerenima. Nanotube mogu biti monoslojne ili sastavljene od nekoliko koncentričnih slojeva. Prečnik nanotuba se kreće oko nekoliko desetina nanometara, dok im dužina dostiže i nekoliko stotina nanometara.

Na osnovu organizacije sp orbitala i π elektrona ugljenikovih atoma u prostoru, dijamant je trodimenzionalna struktura (3D), grafit je dvodimenzionalna struktura (2D), ugljenične nanotube su jednodimenzionalna struktura (1D), dok su 3C fulereni nula dimenzionalna (0D) ugljenična struktura.

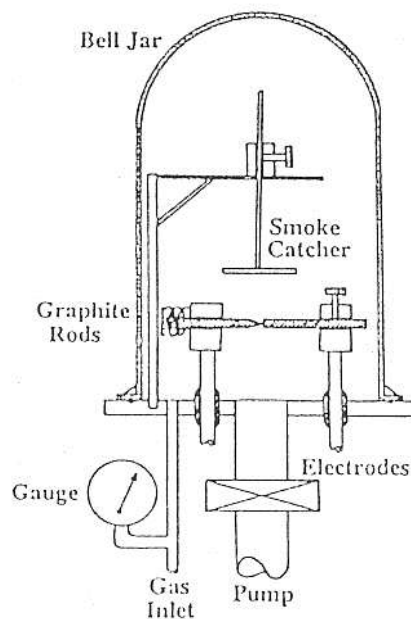
5.3. PROIZVODNJA

Prva tehnika kojom su Huffman/Krättschmer proizveli fulerene u makroskopskim količinama bila je otpornim zagrevanjem grafita. Isparavanje grafitne šipke može se vršiti otpornim zagrevanjem ili stvaranjem električnog luka između dve elektrode, korišćenjem snage naizmenične (ac) ili jednosmerene struje (dc).

Uređaj koji su Huffman i Krättschmer koristili sastojao se iz jednog suda kao recipijenta, povezanog sa sistemom za pumpanje i otvorom za gas. U unutrašnjosti suda su se nalazile dve grafitne šipke povezane u strujno kolo preko bakarnih elektroda.

Aparat za proizvodnju čađi se više puta puni i prazni sa helijumom i konačno ispuni sa oko 100 torr helijuma. Posle uspostavljanja napona, električna struja koja prolazi kroz šipke troši većinu Omske snage za zagrevanje na uskoj tački kontakta. U isto vreme, u kontaktnoj zoni se razvija dim koji se odvodi konvekcijom i sakuplja na hladnijim zonama aparata (zvonasti sud i hvatač dima).

Postoji niz procesnih varijabli koje utiču na prinos čađi, fulerena i raspodelu molekulskih masa fulerena unutar čađi, kao što su: odsustvo kiseonika, gas kojim se komora puni, vrsta izvora energija (dc ili ac), jačina struje, veličina grafitne elektrode, kvalitet grafita i geometrija komore. Generalno, slabije struje daju veće prinose čađi i fulerena. Razvijene su i druge metode za proizvodnju fulerena: piroliza naftalena, sagorevanje ugljovodonika u plamenu, solarni generatori fulerena ili lasersko ozračivanje grafita.



Slika 5.5. Generator fulerena koji su koristili Huffman i Krättschmer.

5.4. EKSTRAKCIJA I HROMATOGRAFIJA

Bez obzira na način proizvodnje ugljenične čađi, u prvoj fazi procesa za dobijanje prečišćenih fullerenskih nanomaterijala neophodno je ekstrahovati fulerene iz sirove čađi, a zatim ih frakcionisati prema specifičnim molekulskim masama hromatografskim metodama. Ekstrakcija i hromatografska separacija fulerena iz ugljenične čađi vrše se na osnovu njihove rastvorljivosti.

Čisto ugljenični, nepolaran C_{60} je potpuno nerastvoran u polarnim rastvaračima koji se vodonično vezuju kao što su: aceton, tetrahidrofur, metanol i voda. Slabo je rastvoran u alkanima pri čemu se rastvorljivost povećava sa povećanjem broja C atoma. U aromatičnim rastvaračima i u ugljen-disulfidu zapažena je značajna rastvorljivost. Idući od benzena ka naftalenima rastvorljivost se povećava.

Za ekstrakciju fulerena iz čađi najčešće se koristi toluen, pošto obezbeđuje dovoljnu rastvorljivost, a manje je toksičan od benzena ili ugljen-disulfida. Čađ se može ekstrahovati Soxhlet-ovom metodom ili refluktovanjem - vrućom ekstrakcijom praćenom filtracijom.

Soxhletova ekstrakcija je dva puta efikasnija od refluktovanja. Pri dužim ekstrakcionim vremenima dobijaju se veći prinosi fullerena. Alternativno se kao rastvarači za ovu metodu mogu koristiti heksan, heptan i dr. Tipična boja toluenskog ekstrakta čađi je crvena do crveno – braon. Pored osnovnih fullerena C_{60} i C_{70} , on sadrži u manjoj količini i više fullerene, molekulskih masa manjih od C_{100} , na pr. : C_{76} , C_{78} , C_{84} , C_{90} i C_{96} . Buckminsterfullerene C_{60} je najobilnija vrsta.

Pri daljim ekstrakcijama preostale čađi, nerastvorne u toluenu, sa drugim aromatičnim rastvaračima visoke tačke ključanja i veće molekulske mase, kao što su: 1,2,4-trihlorbenzen, 1,2-dihlorbenzen, hlorbenzen, 1,2,3,5-tetrametilbenzen, 1,3,5-trimetilbenzen, hinolin ili piridin dobija se dodatan rastvoran materijal. U dobijenim frakcijama detektovani su masenom spektrometrijom viši fulereni $> C_{100}$, uključujući gigantske fullerene vrlo velike mase do C_{466} . Međutim, pri tim drastičnijim ekstrakcionim uslovima, u nekim slučajevima zapažene su hemijske reakcije između fullerena i rastvarača. Najpogodniji rastvarač za ekstrakciju viših fullerena iz ugljenične čađi je 1,2-dihlorbenzen. Sukcesivnim ekstrahovanjem čađi sa određenim organskim rastvaračima moguće je dobiti frakcije fullerena tačno određene molekulske mase, prema definisanim ekstrakcionim šemama.

Pogodan rastvarač za izolovanje endohedralnih metalofulerena iz čađi, koji sadrže inkapsulirane metalne atome unutar ugljeničnog klastera, tipa $M@C_{60}$, je anilin. Za ekstrakciju drugih endohedralnih fullerena tipa $M@C_{82}$ ili $M@C_{84}$, kao što su $Sc@C_{82}$ ili $Sc@C_{84}$, korišćeni su drugi rastvarači, kao što su ugljendisulfid ili 1,2-dihlorbenzen.

Dimerni fullerenski oksidi $C_{120}O$, $C_{130}O$, kao i viši fulereni mase preko C_{90} izolovani su iz ugljenične čađi metodom hidrotermalno inicirane dinamičke ekstrakcije. U ovoj metodi, pre ekstrakcije sa organskim rastvaračem, čađ se tretira sa ključalom vodom koja ne rastvara fullerene i daje minimalne količine nusprodukata. Hidrotermalni tretman menja morfologiju čađi, otvarajući čestice čađi i izlažući zarobljene vrste organskim rastvaračima u sledećem koraku procesa.

Za razdvajanje fullerena uglavnom se koriste hromatografske metode, kako klasične kao što su hromatografija na koloni ili tankom sloju, tako i metode pod pritiskom, kao što je visoko efikasna tečna hromatografija (HPLC), bilo preparativna ili analitička.

Tečna hromatografija (LC) je najbolja metoda za razdvajanje fullerena. Prva metoda kojom je postignuto izolovanje C_{60} iz fullerenskog ekstrakta čađi bila je hromatografija na koloni aktiviranog, neutralnog Al_2O_3 , kontinuiranim eluiranjem sa heksanom ili 5 % toluenom u heksanu. Ovom metodom može se postići odlično razdvajanje C_{60} i C_{70} u analitičkim količinama. Dobijene su čiste frakcije C_{60} ($>99,9\%$) i C_{70} ($>99\%$), što je potvrđeno maseno spektrometrijskim merenjima. Međutim, pošto su fulereni slabo rastvorni u heksanu potrebne su relativno velike količine rastvarača i aluminijum-oksida. Kontinuiranim eluiranjem sa rastvaračima veće rastvorljivosti, kao što je toluen, dolazi do istovremenog eluiranja svih fullerena zajedno bez zadržavanja na aluminijumu.

Za separaciju fullerena mogu se koristiti i druge stacionarne faze, kao što su silika-gel, grafit ili smese aktivnog uglja i silika-gela. Pri hromatografiji na grafitu mogu se koristiti veće koncentracije toluena u smesi sa heksanom, za izolovanje C_{60} . Glavni prodor koji je omogućio korišćenje čistog toluena kao mobilne faze postignut je hromatografijom na smesama uglja i silika-gela. Ovo je najefikasniji način za brzu separaciju C_{60} . Međutim, viši fulereni se vrlo teško eluiraju sa ugljenih kolona, a izvesna količina fullerena se razlaže ili ireverzibilno adsorbuje na ovoj stacionarnoj fazi. Materijal koji je potpuno nereaktivan prema fulerenima je polistirenski gel. Na ovoj stacionarnoj fazi se može takođe postići dobro razdvajanje fullerena sa toluenom kao mobilnom fazom.

Jedna od najefikasnijih LC tehnika je HPLC, koja omogućava razdvajanje fullerena prema njihovim molekulskim masama, veličinama, oblicima ili drugim parametrima. To je potpuno automatizovan sistem, koji sakuplja uzorak i ponovo ga ubrizgava, obnavlja

neizmenjen rastvarač iz procesa i omogućava razdvajanje do 10 g ekstrakta dnevno. Dobija se C₆₀ visoke čistoće, a obnavljanje je blizu 100 %. Kao stacionarne faze mogu da se koriste silika-gel ili mnogo češće obrnute stacionarne faze: C₁₈-silika-gel, faze Pirklovog tipa, γ-ciklodekstrin faze ili obrnute faze koje sadrže policiklične aromate ili fenil grupe. Rastvarač koji se najčešće koristi je heksan, bilo čist ili u kombinaciji sa polarnijim komponentama, kao što su: CH₂Cl₂, ET₂O, THF ili toluen. Za HPLC na C₁₈-silika-gel obrnutoj fazi pogodne mobilne faze su na pr. toluen/MeCN 75:25 ili CHCl₃/MeCN 60:40. Pirenilpropil grupa, pirenietil grupa ili pentabromobenzil grupa vezane za silika gel su pogodne stacionarne faze za preparativno razdvajanje fulerena HPLC-om, eluiranjem sa toluenom, hlorbenzenom, trihlorbenzenom, heksanom i dr. HPLC metode su značajne za razdvajanje fulerenskih derivata sa kovalentno vezanim grupama, endohedralnih fulerena ili viših fulerena.

5.5. ADICIJE NA FULEREN C₆₀

Kako je C₆₀ čisto ugljenični klaster, ikozaedarske geometrijske strukture i ne sadrži vodonikove atome, reakcije supstitucije (karakteristične za aromate) nisu moguće sa fulerenima.

Strukturne i elektronske karakteristike fulerena omogućavaju sledećih pet osnovnih tipova hemijskih transformacija:

- adicione reakcije,
- elektron-transferne reakcije koje rezultuju u formiranju soli fulerena, fulerida,
- reakcije otvaranja prstena i degradacione reakcije,
- formiranje endohedralnih kompleksa i
- formiranje klatrata sa nespecifičnim slabim fizičko-hemijskim vezama.

Kada se razmatra hemija fulerena, osnovni principi hemijskog reagovanja mogu da se fokusiraju na adicione reakcije, kao i na reakcije formiranja soli (reakcije redukcije).

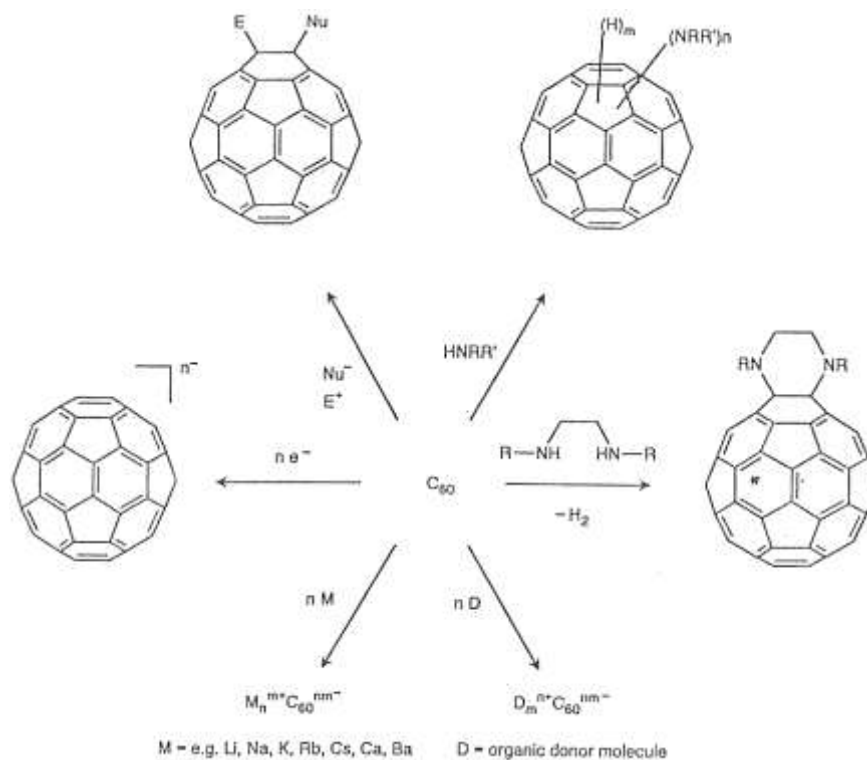
Poređenjem hemijskog ponašanja C₆₀ sa drugim klasama hemijskih jedinjenja ukazuje da C₆₀ reaguje kao lokalizovani elektron-deficitarni poliolefin. Ugljenikovi atomi u C₆₀ su sp² hibridizovani, sa visokim stepenom piramidalizacije. Reakcije adicije na fulerensko jezgro dovode do nastajanja zasićenih, tetraedarski hibridizovanih C-atoma i energetski su veoma favorizovane, jako pomognute lokalnim naponom piramidalizacije prisutnim u fulerenima. Adicije na C₆₀ su u većini slučajeva egzotermne reakcije. Egzoternost reakcije se smanjuje sa povećanjem broja adenada već vezanih na C₆₀. Osnovna pokretačka sila koja uslovljava adicione reakcije (posebno formiranje adukata sa malim brojem adenada) je rezultat "oslobađanja", smanjenja, velikog unutrašnjeg napona fulerenskog kaveza. Ovo predstavlja Prvi princip hemije fulerena (I PHF).

Minimizacija broja [5,6] dvstrukih veza je jedan od osnovnih, dominantnih faktora koji diktira regiohemiju adicionih reakcija (II PHF).

Elektrofilnost *per se*, posebno se odražava na lakoću elektrohemijske i hemijske redukcije kao i nukleofilnih adicija.

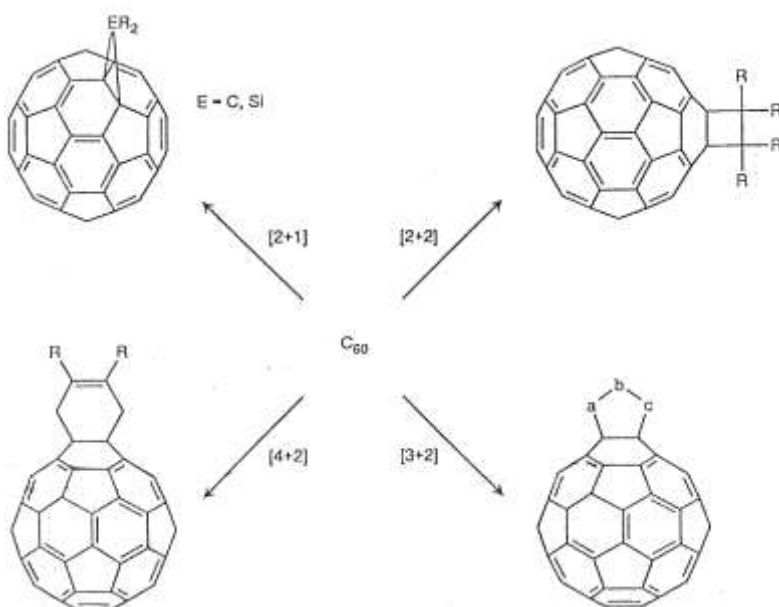
Prve hemijske transformacije izvedene na C₆₀ su bile reakcije redukcije sa alkalnim i zemnoalkalnim metalima, jakim organskim donorima, kao što je tetrakis-dimetilamino-etilen (TDAE), kao i elektrohemijske redukcije, pri čemu se formiraju soli-fuleridi.

C₆₀ podleže brojnim nukleofilnim adicijama amina, ugljeničnih nukleofila i hidrosida.



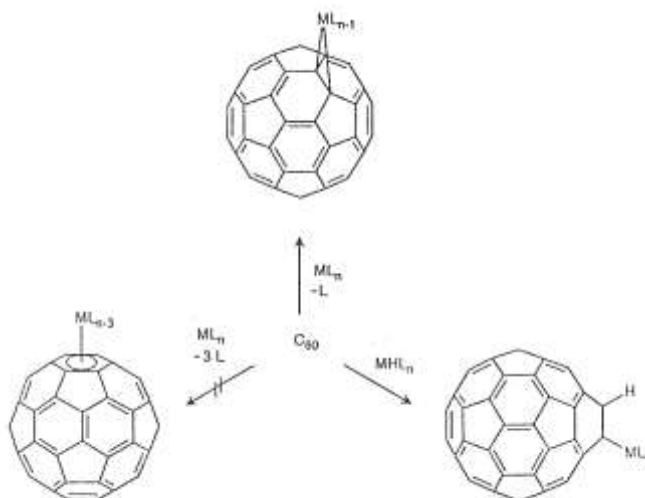
Šema 5.1.

Analogno olefinima C_{60} podleže velikom varijetetu cikloadicija po tipu [2+2], [2+1], [3+2] (najstabilniji adukti) i po modu [4+2]. U velikom broju slučajeva cikloadicije utiču na stabilnost adukata C_{60} . Ove reakcije su izuzetno korisne za uvođenje funkcionalnih grupa na C_{60} .



Šema 5.2.

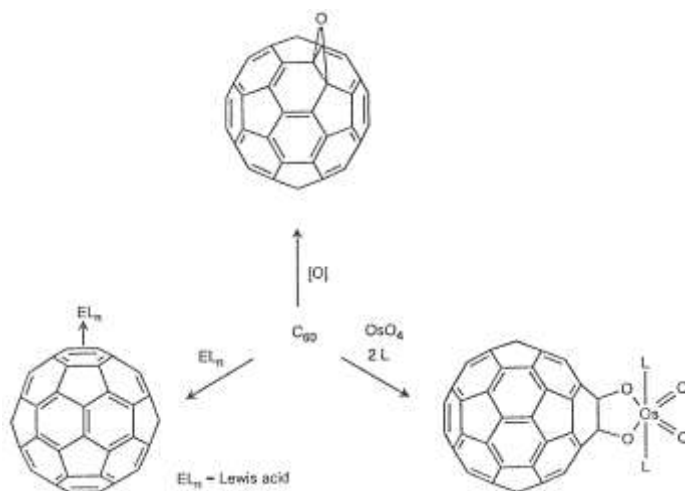
Sa prelaznim metalima (Pt, Pd, Ni), C_{60} formira π - π komplekse, radije η^2 nego η^5 ili η^6 - π komplekse ili dolazi do reakcije hidrometalacije.



Šema 5.3.

C_{60} se ponaša kao radikalski sunder. Veliki broj organskih kao i neorganskih radikala se lako adira na C_{60} . Kao u slučaju nukleofilnih adicija, do višestrukih adicija radikala dolazi ako višak slobodno radikalske vrste stupi u reakciju sa fulerenima.

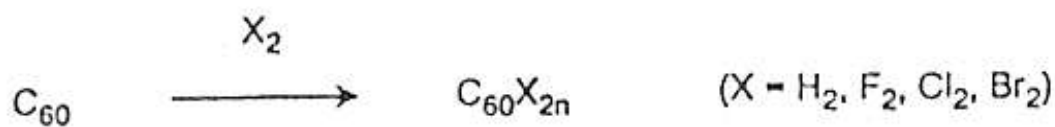
Slično olefinima, C_{60} podleže osmilaciji i epoksidaciji, kao i adiciji Luisovih kiselina, gde se ponaša kao elektron donorska vrsta.



Šema 5.4.

Dugotrajna hidrogenacija i halogenovanja dovode do stvaranja adukata $C_{60}X_{2n}$ sa srednjim brojem adenada vezanih za fuleren npr. $n = 12$ i $n = 18$.

C_{60} podleže procesima fluorovanja $C_{60}F_{2n}$, hlorovanja $C_{60}Cl_{2n}$, bromovanja $C_{60}Br_{2n}$ (formira se bromni solvat $C_{60}Br_6, C_{60}Br_8$), reakcijama sa jodom, $C_{60}I_{2n}$, uz mogućnost interhaliranja atoma joda.

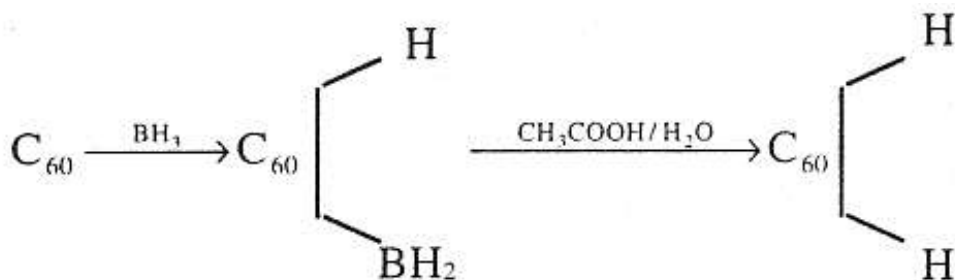


Šema 5.5.

Hidrogenacija fulerena

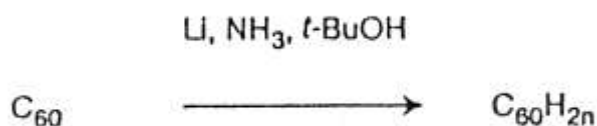
Hidrogenacija fulerena je jedan od najvećih izazova za hemičare. Još uvek nije izvršena kompletna strukturna karakterizacija nijednog polihidrofulerena, niti je sintetisan $C_{60}H_{60}$.

Hidrogenacija do oligohidrofulerena, $C_{60}H_{2n}$ i $C_{70}H_{2n}$ ($n = 1-6$), se izvodi preko hidroboraacije ili hidrocirkonacije. Reakcija hidrogenacije se odvija u dva stepena. Prvi stepen je hiroboracija ili hidrocirkonacija fulerena, a u drugom stepenu se vrši hidroliza dobijenog intermedijera sa sirćetnom ili hlorovodoničnom kiselinom.



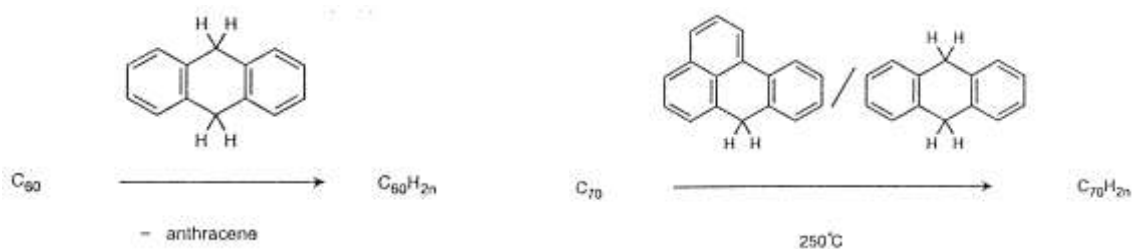
Šema 5.6. Hidrogenacija preko hidrobiranja i hidrocirkoniranja

Birch-Hückelovom redukcija sa Li u tečnom NH_3 u prisustvu $t\text{-BuOH}$ je metoda za dobijanje polihidrofulerena $C_{60}H_{2n}$ i $C_{70}H_{2n}$ ($n = 7-30$).



Šema 5.7. Birch-Hückelova redukcija

Formiranje polihidrofulerena je takođe moguće transfer hidrogenacijom, upotrebom 9,10 – dihidroantracena kao izvora vodonika, na 350°C, pod azotom. Manje reaktivan C₇₀ se takođe može hidrogenisati na ovaj način.



Šema 5.8. Transfer hidrogenacija upotrebom 9,10 – dihidroantracena

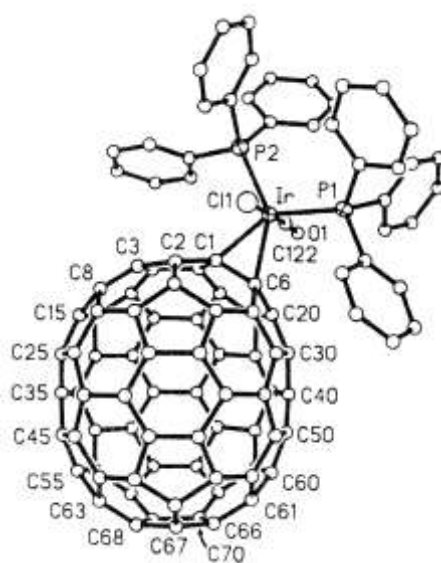
5.6. HEMIJA C₇₀ I VIŠIH FULERENA

Najveći deo hemije fulerena bazira se na molekulu C₆₀, najharmoničnijem molekulu. Poslednjih godina izvedeno je više različitih funkcionalizacija molekula C₇₀. Izolovani su i okarakterisani takođe i čisti derivati većih kompleksnijih ugljeničnih sfera, kao što su C₇₆, C₈₄ i nedavno C₇₈.

Adicije na C₇₀

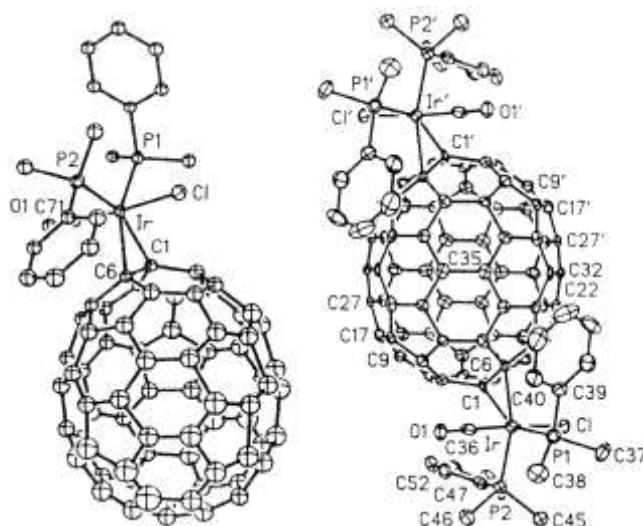
Reakcijom Ir(CO)Cl(PPh₃)₂ sa C₇₀ formiran je adukt, (η²-C₇₀)Ir(CO)Cl(PPh₃)₂·2,5C₆H₆. Prikazan je izgled molekula, dobijen rendgenskom analizom pojedinačnog kristala. Iridijumov atom je koordinisan na 1,9 C-C vezu (na spoju 6:6 prstenova) na jednom polu molekula.

Formiranje ovog pojedinačnog izomera odražava visok π red 1,9-veze, kao i činjenicu da je molekul najzakrivljeniji blizu polova, dok je oko ekvatora zaravnjen. Usled zakrivljenja, ugljenični atomi 1 i 9 su najviše piramidalizovani i termodinamički su najreaktivniji u klasteru.



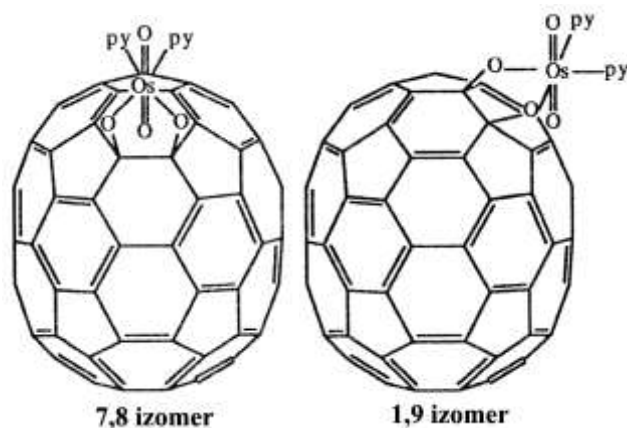
Slika 5.6. Struktura (η²-C₇₀)Ir(CO)Cl(PPh₃)₂ određena rendgenskom kristalografijom.

Ispitana je takođe višestruka adicija kompleksa Vaska-tipa na C_{70} . Reakcijom C_{70} sa viškom $Ir(CO)Cl(PMe_2Ph)_2$ dobija se vrlo homogen kristalni materijal $(\eta^2-C_{70})\{Ir(CO)Cl(PMe_2Ph)_2\}_2 \cdot 3C_6H_6$.



Slika 5.7. Strukture $(\eta^2-C_{70})Ir(CO)Cl(PMe_2Ph)_2$ i $(\eta^2-C_{70})\{Ir(CO)Cl(PMe_2Ph)_2\}_2$.

Tretiranjem C_{70} sa osmijum tetroksidom u piridinu proizvedena su dva izomerna monoadiciona proizvoda. Veze 1,9 i 7,8 imaju najveći π red veze, i stoga bi trebalo da budu najreaktivnije. Međutim, samo po ovom kriterijumu, 7,8 veza bi trebalo da bude najreaktivnija, ali 1,9 izomer prevladava. Veća reaktivnost 1,9 mesta objašnjava se većim stepenom zakrivljenja na ovom mestu i većim stepenom piramidalizacije C atoma.



Slika 5.8. Struktura dva izomera $C_{70}O_2OsO_2(py)_2$ dobijena ^{13}C NMR analizom.

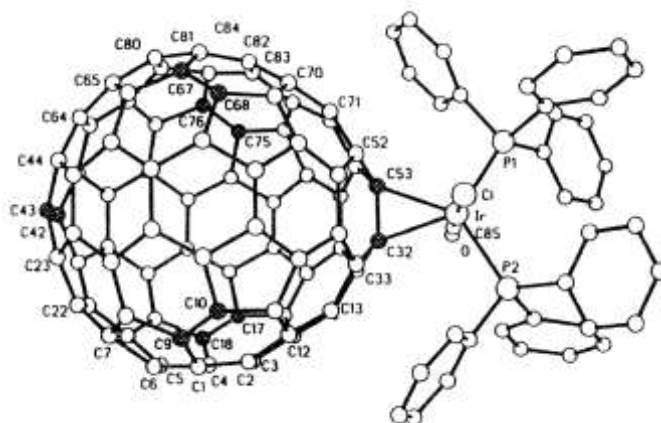
Adicije na C_{76} , osmilacija

Osmilacija C_{76} u prisustvu hiralnih alkaloidnih liganada kine korišćena je za kinetičku rezoluciju ovog hiralnog fulerena u njegove enantiomere.

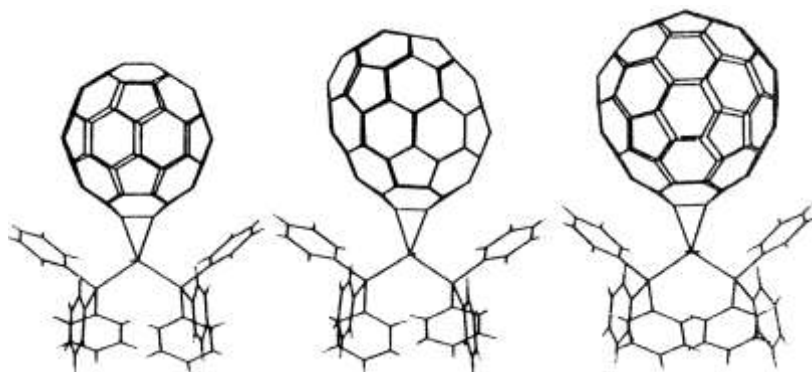
Adicija na C₈₄

Tretiranjem zasićenog rastvora C₈₄ u benzenu sa viškom Ir(CO)Cl(PPh₃)₂ proizvedeni su crni kristali kompleksa (η²-C₈₄)Ir(CO)Cl(PPh₃)₂·4C₆H₆. Dok sam kompleks nema kristalografski određenu simetriju, geometrija C₈₄ odgovara D_{2d} izomeru. Jon iridijuma koordinisan je na C(32)-C(53) vezu. Hückel-ovi proračuni su pokazali da je to veza C₈₄ koja ima najveći π red veze, i zato bi trebalo da bude najreaktivnija.

Prikazana su tri različita fulerena C₆₀, C₇₀ i C₈₄, strukturno okarakterisana sa istom organometalnom grupom, Ir(CO)Cl(PPh₃)₂, povezanom na spoljašnjost molekula, tako da se mogu uporediti razlike u veličinama i oblicima ovih fulerena.



Slika 5.9. Struktura (η²-C₈₄)Ir(CO)Cl(PPh₃)₂.



Slika 5.10. Poređenje struktura (η²-C₆₀)Ir(CO)Cl(PPh₃)₂, (η²-C₇₀)Ir(CO)Cl(PPh₃)₂ i (η²-C₈₄)Ir(CO)Cl(PPh₃)₂.

5.7. PRIMENA FULERENA U BIOHEMIJI I BIOMEDICINI

Sa razvojem metoda za transformacione reakcije fulerena omogućeno je dobijanje potpuno novih, vodorastvornih, amfifiličnih biomolekula koji pokazuju sledeće biološke i fiziološke aktivnosti, sa potencijalnim primenama u biohemiji i biomedicini:

- Inhibiciju HIV-proteaze i transkriptaze (HIVP i HIVT), potencijalni lek protiv side
- Anti viralnu aktivnost
- Citotoksičnost
- Transportnu funkciju (kavezi) biološki aktivnih molekula i terapeutskih agenasa kroz ćelijske membrane
- Transfer i "unos" biološki aktivnih molekula visoke molekulske mase (preko $M=990$) kroz krvno moždane barijere
- Unos metala u formi endohedralnih kompleksa u moždanu sferu
- Ceganje deoksiribonukleinske kiseline (DNA) na specifičnim mestima, guanin (G)
- Inkorporacija u veštačke lipidne dvosloje, agensi u fotodinamičkoj terapiji
- Specifične interakcije sa proteinima, proizvodnja fulerenskih specifičnih antitela
- Antioksidansi i biofarmaceutski preparati
- Neuroprotektivni agensi
- Lečenje koštanih poremećaja
- Lekovi za arteriosklerozu
- Vektori presecanja
- Rendgenski kontrastni agensi
- Vodeni rastvori polivinil-pirolidina sa fulerenom indukuju ćelijsku diferencijaciju
- Fulereni i jedinjenja fulerena ne dovode do akutne toksičnosti

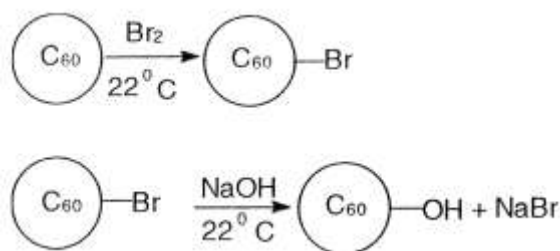
Neophodan uslov za potencijalnu farmaceutsku primenu jedinjenja je pored fiziološke aktivnosti rastvorljivost u vodi. Fulereni, kao i sam molekul C_{60} , su potpuno nerastvorni u polarnim rastvaračima i u vodi, ali se funkcionalizacijom sa vodorastvornim grupama može znatno povećati njihova rastvorljivost.

Vodorastvorni, polihidroksilni derivat fulerena $C_{60}(OH)_{24}$ sprečava polimerizaciju mikrotubula (MT) i zaustavlja ćelijski rast, slično kolhicinu preko inhibicije formiranja deobnog vretena, što ukazuje na mogućnost primene ovog fulerena kao citostatika.

Ispitane su optičke apsorpcione osobine novih materijala nanofotonskih sočiva, koji su se sastojali od poli(metil metakrilata-PMMA) i tri različita tipa nanomaterijala (fulerena C_{60} , hidroksilata fulerena $C_{60}(OH)_{24}$ i metformin hidroksilata fulerena $C_{60}(OH)_{12}(OC_4N_5H_{10})_{12}$, spektroskopskom metodom UV/VIS, mikroskopijom atomskih sila (AFM), mikroskopijom magnetnih sila (MFM) i optomagnetnom spektroskopijom. Nađeno je da su osobine nanofotonskih sočiva bliže osetljivosti ljudskog oka na svetlost u odnosu na klasična sočiva koja se sastoje samo od PMMA.

Postupak sinteze polihidroksilnih derivata fullerena u dva stepena.

U prvom stepenu izvrši se bromovanje fullerena na 22 °C, reakcijom C₆₀ sa elementarnim bromom, u prisustvu katalitičkih količina FeBr₃. Dobijeni bromni derivat fullerena rastvoren u pogodnom rastvaraču tretira se sa vodenim rastvorom NaOH ili KOH. Po završetku reakcije, NaBr ili KBr koji nastaje u reakciji izdvaja se kristalizacijom iz reakcionog sistema. U balonu se istaloži svetlo smeđa amorfna supstanca, polihidroksilni derivat fullerena C₆₀(OH)₂₄.



Šema 5.9. Sinteza fullerola iz bromnog derivata

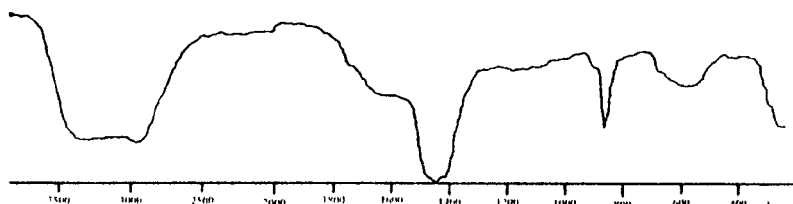
Dobijanje fullerola u dvofaznom reakcionom sistemu pomoću katalizatora faznog prelaza

Razvijene su različite metode za dobijanje vodorastvornih derivata fullerena C₆₀. Polihidroksilni derivati fullerena, fulleroli – C₆₀ mogu se dobiti direktno iz C₆₀ ili iz njegovih derivata. Hidroksilacija fullerena u dvofaznom reakcionom sistemu, koji se sastoji iz nepolarnog rastvora C₆₀ u organskom rastvaraču, benzenu ili toluenu i vodenog rastvora NaOH, u prisustvu različitih katalizatora faznog prelaza, kao što su cetil trimetil amonijum bromid (CTAB), tetrabutil-amonijum hidroksid (TBAH) ili polietilen-glikol (PEG) predstavlja jednostavnu, efikasnu metodu za direktnu sintezu iz C₆₀ strukturno definisanih fullerola C₆₀(OH)_x.

Generalna procedura za dobijanje fullerola C₆₀(OH)₂₄

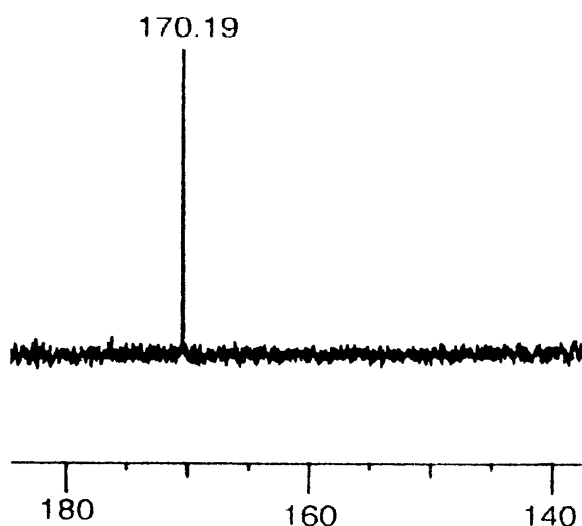
Rastvor fullerena C₆₀ u toluenu ljubičaste boje dodaje se u kapima vodenom rastvoru NaOH, koji sadrži katalizator faznog prelaza CTAB i 5 kapi H₂O₂ (30 %). Mogu se koristiti i drugi katalizatori faznog prelaza, kao što su TBAH ili PEG. Dobijena suspenzija postavi se u termostatirano vodeno kupatilo na željenu temperaturu ili u mikrotalasni reaktor snabdeven programiranim sistemom za kontrolu temperature. Smesa se meša pomoću magnetne mešalice do obezbojenja organskog sloja. U slučaju mikrotalasnog reaktora reakcija se odvija u mikrotalasnom polju od 2,45 GHz. Kada se organski sloj obezboji, odvoji se od vodene faze crvenkasto-braon boje centrifugiranjem. Dobijeni proizvod se istaloži dodavanjem etanola u vodeni rastvor do pH7. Ovaj korak se ponavlja najmanje tri puta da bi se omogućilo potpuno uklanjanje nečistoća od NaOH i CTAB. Dobijeni talog se osuši na 60 °C u toku 5 h. Konačni proizvod je smeđa supstanca dobro rastvorna u vodi.

Karakteristične trake u IR spektru ovako sintetisanog fullerola su na: 3400-2900, 1450, 870 i 590 cm^{-1} . U poređenju sa literaturnim IR spektrima fullerola, ovim postupkom se dobija supstanca sa veoma jakom trakom na 1450 cm^{-1} koja potiče od C-C veze, što ukazuje na visoko adiran proizvod. Široka traka na 3400-2900 ukazuje na prisustvo jake intra molekulske vodonične veze.



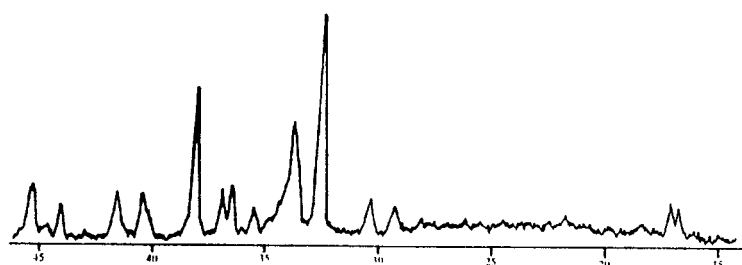
Slika 5.11. IR spektar fullerola.

^{13}C NMR spektar polihidroksilnog derivata fullerena $\text{C}_{60}(\text{OH})_{24}$ je izuzetno karakterističan. Jedan pik u spektru fullerola ukazuje na ekvivalentan uticaj supstituenata na svih 60 ugljenikovih atoma, što je karakteristika savršeno simetričnog rasporeda supstituenata po sferi C_{60} .



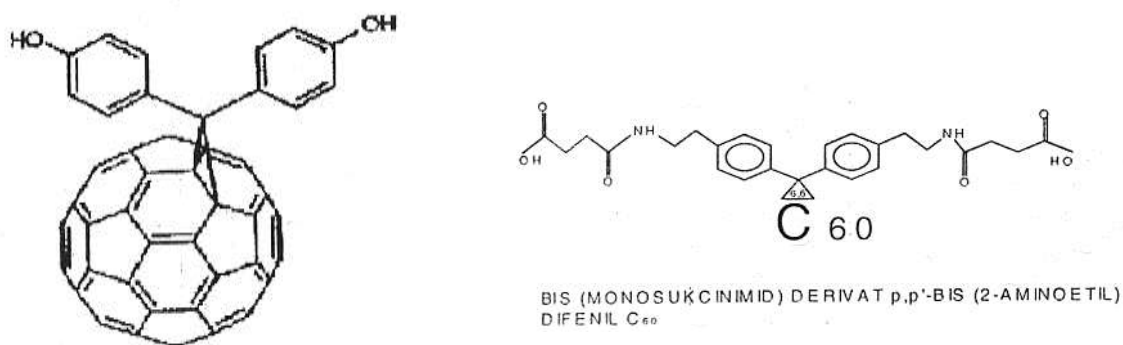
Slika 5.12. ^{13}C NMR spektar fullerola.

Na difraktogramu fullerola javljaju se pikovi na d vrednostima: 5.27, 5.17, 3.04, 2.9, 2.74, 2.65, 2.52, 2.46, 2.43, 2.35, 2.23, 2.17, 2.05, 2.00, različitim od vrednosti za C_{60} .



Slika 5.13. Difraktogram fullerola

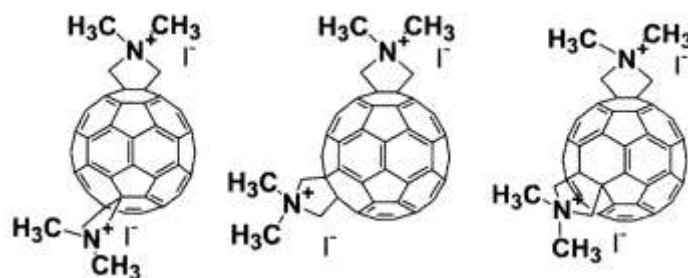
Vodorastvorni metanofuleren, bis(monosukcinimid) derivat p,p'-bis(2-aminoetil)difenil C₆₀ je dobijen polazeći od adicije supstituisanog difenildiazometana.



Slika 5.14. Difenil C₆₀, polazna supstanca za sintezu anti HIVP.

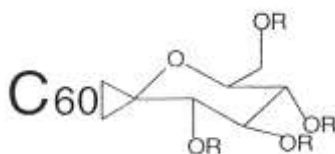
Za ovaj sintetički dobijen derivat C₆₀ je ustanovljeno da inhibira HIV proteazu, a takođe i HIV-1 i HIV-2 reverzne trnskriptaze u niskom mikromolarnom koncentracionom opsegu. HIVP je jedan od ključnih proteina koji je odgovoran za životni ciklus HIV-1, jer utiče na cepanje proteina virusa i na taj način obezbeđuje strukturne i enzimske elemente za nastanak novih virusa.

Nedavno su sintetisani novi derivati fulerena C₆₀, I i II, na slici, koji pokazuju interesantne anti-HIV osobine u velikom nanomolarnom opsegu koncentracija. Mashino i saradnici su otkrili da derivati fulerena I, II i III, na slici, inhibiraju reverznu HIV transkriptazu u opsegu mikromolarnih koncentracija.



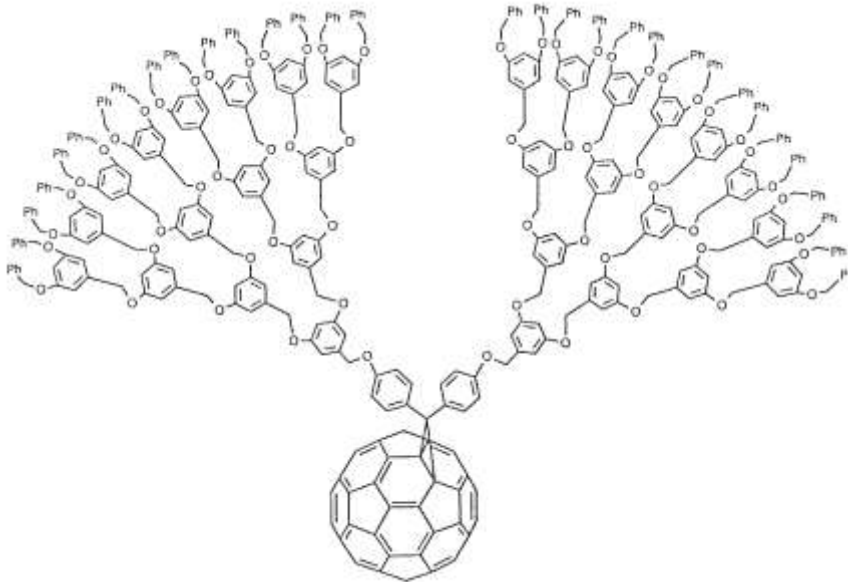
Slika 5.15. Novi derivati C₆₀, inhibitori HIV-a.

Šećerni diazirini, prekursori nukleofilnih i amfifiličnih karbena, se uspešno adiraju na molekul C₆₀ pri čemu nastaju fullerenski šećeri. Fullerenski šećeri su pogodni supstrati za ispitivanje biohemijskih i farmaceutskih osobina fullerenskih derivata.



Slika 5.16. Ciklo [2+1] adicioni proizvod 1,2-metano monoaddukt monosaharida.

Metanofulerenski derivati koji takođe mogu biti interesantni sa aspekta svoje moguće primene su inkapsulirane fullerenske sfere unutar dendritne fullerenske školjke. Dendritni nizovi izuzetno povećavaju rastvorljivost fulerena i omogućavaju mnogo efikasniju adsorpciju između nizova polimera.

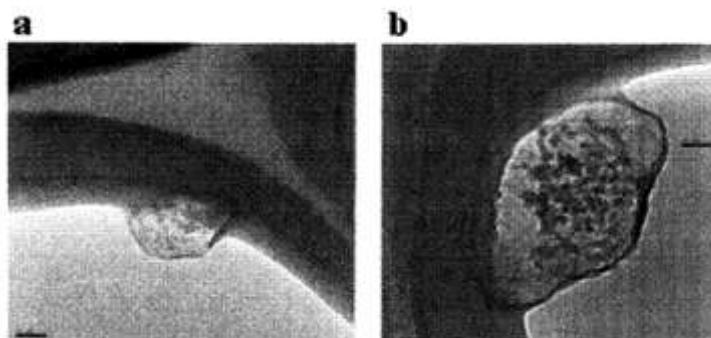


Slika 5.17.

Interakcijom nedavno dobijenog vodorastvornog derivata C_{60} i antitela ZME-018 melanoma, sintetisan je i okarakterisan prvi imunokonjugat fulerena C_{60} , kao početni korak u razvoju fullerenske imunoterapije (FIT).

Antitelo označeno sa ZME-018 prepoznaje, pogađa gp240 antigen, poznat takođe kao antigen visoke molekulske mase pridružen melanomu (HMWMAA), nađen na više od 80% površine ćelija humanog melanoma iz biopsijskih uzoraka. Imunokonjugati koji sadrže ZME-018 brzo prodiru u ćelije melanoma u kulturi. Ovi konjugati imaju jak citotoksični efekat na tumore.

Prava prednost FIT u odnosu na ostale ciljane terapijske agense je mogućnost vezivanja više, čak različitih lekova za C_{60} , u cilju dobijanja ciljnih koktela u jednoj dozi. Na slici je dat uporedni prikaz ZME-018 antitela i imunokonjugata.



Slika 5.18. TEM slike a) ZME-018 antitela i b) C_{60} -Ser-(ZME-018) imunokonjugata.

Fulereni su moćni antioksidansi, lako i brzo reaguju sa slobodnim radikalima, koji mogu dovesti do ćelijskih oštećenja. Značajne primene fulerena očekuju se u medicini za prevenciju oksidativnih oštećenja ćelija.

Velike farmaceutske kompanije ispituju upotrebu fulerena u kontroli neuroloških poremećaja, kao što su Alzheimer-ova bolest i Lou Gehrig-ova bolest, koje su rezultat radikalskih oštećenja. Lekovi za arteriosklerozu, koštane poremećaje, vektori presecanja, fotodinamička terapija, kontrastni rendgenski i anti-viralni agensi su takođe u razvoju.

Endohedralni metalofulereni mogu se takođe vrlo uspešno koristiti u dijagnostičkoj i terapeutskoj medicini kao: kontrastni agensi (MR, X-ray, NMR tomografija, radiomarkeri itd.) ili u radionuklearnoj terapiji.

5.8. OSTALE MOGUĆE PRIMENE FULLERENA

Ispitivanjem neobičnih osobina koje pokazuju fulereni, kao što su superprovodljivost, molekulski magnetizam, katalitička i biološka aktivnost, postaje razumljivo veliko interesovanje istraživača za ove molekule.

Predložene su brojne komercijalne primene fulerena kao novih materijala:

- Elektronski i optički uređaji na bazi fulerena i fulerenskih polimera (električna i foto provodljivost)
- Foto i elektroluminescentni materijali
- Katalizatori
- Farmaceutski proizvodi
- Hemijski senzori
- Baterije
- Molekulsko skladištenje vodonika
- Superprovodnici
- Poluprovodnici
- Prekursori za sintezu tankih dijamantskih filmova
- Maziva
- Abrazivi
- Nelinearna optička sredstva
- Feromagnetni kompleksi
- Solarne ćelije
- Magnetni materijali
- Skladištenje radioaktivnih izotopa
- Mikrovlakna velike čvrstoće
- Polupropustljive membrane za razdvajanje gasova iz smese
- Konstituenti tzv. "super legura"
- Goriva za rakete
- Nova generacija fulerenskih polimera
- Antioksidansi za nefiziološke primene

Primena fulerena u oblasti elektrohemijskih izvora električne energije je najperspektivnija u domenu hidrogenacije i interhalacije [10-14,622-624].

Hidridi fulerena pružaju mogućnost brojnih korisnih primena:

- Hidrogenizovani fuleren bi mogao da zameni kadmijum ili metalni hidrid u Ni/Cd ili Ni/MH akumulatorima.
- Za skladištenje vodonika
- Za prečišćavanje vodonika
- Fulerensko hidridna čvrsta goriva
- Visoko energetske baterije

Na bazi 56 atoma vodonika, napravljen je decembra 1993. godine u SAD prvi prototip Ni/C₆₀H₅₆ baterije, koja je pokazala bolja svojstva od Ni/Cd baterije.

Fulerenske nanotube su visoko perspektivan anodni materijal koji može da primi veliku količinu jona litijuma u svoju kristalnu rešetku. Ovaj materijal bi mogao da nađe primenu u komercijalnim litijum-jon akumulatorima.

5.9. NAŠ RAD

U prvoj fazi našeg rada, unapređene su postojeće i razvijene nove metode i tehnike za ekstrakciju osnovnih i viših fulerena iz uzoraka ugljenične čađi, sa različitim i novim rastvaračima ili kombinacijama rastvarača. Pronađeni su postupci za povećanje prinosa osnovnih i viših fulerena, kao i za selektivno ekstrahovanje viših fulerena iz ugljenične čađi.

Utvrđena je razlika u rastvorljivosti osnovnih i viših fulerena i upoređene su mogućnosti pojedinih rastvarača, kombinacija rastvarača i metoda u ekstrakciji i prečišćavanju fulerena (*p*-ksilen, smesa ksilena, piridin, *n*-heptan, *n*-heksan, toluen, kao i benzen, hlorbenzen i anilin).

Dobijen je logičan niz rastvorljivosti fulerena za niz korišćenih rastvarača. Postignuta su dalja i značajna povećanja prinosa fulerena u odnosu na prethodno postignute rezultate. Pored određivanja prinosa svih dobijenih ekstrakata čađi određen je i njihov sastav spektroskopskim IR, UV/VIS, kao i EI masenom spektrometrijom (anilinski ekstrakti čađi) i hromatografskim metodama.

U drugoj fazi, razvijene su nove, unapređene procesne metode za hromatografsko prečišćavanje fulerena iz dobijenih ekstrakata čađi, korišćenjem različitih originalnih sistema rastvarača i stacionarne faze.

Hromatografska separacija osnovnih i viših fulerena iz dobijenih ekstrakata čađi izvedena je kontinuiranim eluiranjem, u jednoj fazi procesa, pod atmosferskim pritiskom, sa različitim, originalnim, definisanim gradijentima rastvarača, od čistog heksana ili 5 % toluena u heksanu do čistog 100 % toluena, na koloni aktivnog Al₂O₃, novim unapređenim metodama.

Najvažniji rezultat razvijenih metoda predstavlja izolovanje viših fulerena C₇₆ i C₈₄ visoke čistoće, sukcesivno posle osnovnih fulerena C₆₀ i C₇₀, u povećanim miligramskim prinosima, pod atmosferskim pritiskom, sa navedenim originalnim sistemima rastvarača, što prethodno nije opisano.

Ostale prednosti sastoje se u korišćenju manjih količina polaznih materijala (ekstrakta čađi, stacionarne faze, Al_2O_3 fine granulacije i rastvarača za eluiranje), kao i jeftinije laboratorijske opreme, u poređenju sa prethodnim hromatografskim metodama za dobijanje navedenih molekula pod piritskom. Smanjeni su ukupni materijalni troškovi rada i vreme procesa prečišćavanja.

Izolovanje viših fulerena posle osnovnih takođe predstavlja značajan doprinos u poređenju sa prethodnim metodama kojima su uspešno izolovani i okarakterisani samo osnovni fulereni.

Razvijeni su novi, unapređeni procesi za dobijanje u povećanim prinosima, hromatografsku separaciju i spektroskopsku karakterizaciju fulerenskih nanomaterijala.

Identifikacija osnovnih i viših fulerena u dobijenim ekstraktima čađi i hromatografski prečišćenim uzorcima izvedena je tehnikama IR i UV/VIS spektroskopije koje prethodno nisu prikazane za više fulerene.

IR spektri hromatografski izolovanih uzoraka viših fulerena C_{76} i C_{84} , dobijeni KBr tehnikom, u oblasti od $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ prethodno nisu prikazani.

UV/VIS spektri hromatografski izolovanih molekula C_{76} i C_{84} , snimljeni iz rastvora u heksanu određene koncentracije, 10^{-3} do 10^{-4} mol/dm^3 , u oblasti do $200\text{-}900\text{ nm}$ takođe prethodno nisu prikazani.

Posebno je važno istaći da UV/VIS apsorpcija višeg fulerena C_{84} u spektralnoj oblasti od 200 do 900 nm , naročito u oblasti od $200\text{-}400\text{ nm}$, gde fulereni intenzivno apsorbuju, prethodno nije opisana pod bilo kojim eksperimentalnim uslovima, što predstavlja značajan doprinos.

Najvažniji rezultat spektroskopskih karakterizacija predstavlja registrovanje jedinstvenih i dominantnih, najintenzivnijih apsorpcionih maksimuma izolovanih viših fulerena C_{76} i C_{84} , u IR i UV/VIS oblastima gde ovi molekuli intenzivno apsorbuju, što prethodno nije prikazano. Važno je takođe napomenuti da je postignuta odlična, precizna korelacija između svih eksperimentalno zapaženih maksimuma prečišćenih uzoraka C_{76} i C_{84} , iz nekoliko različitih originalnih hromatografskih procesa, i teorijski izračunatih vrednosti, što prethodno nije postignuto i predstavlja značajno unapređenje.

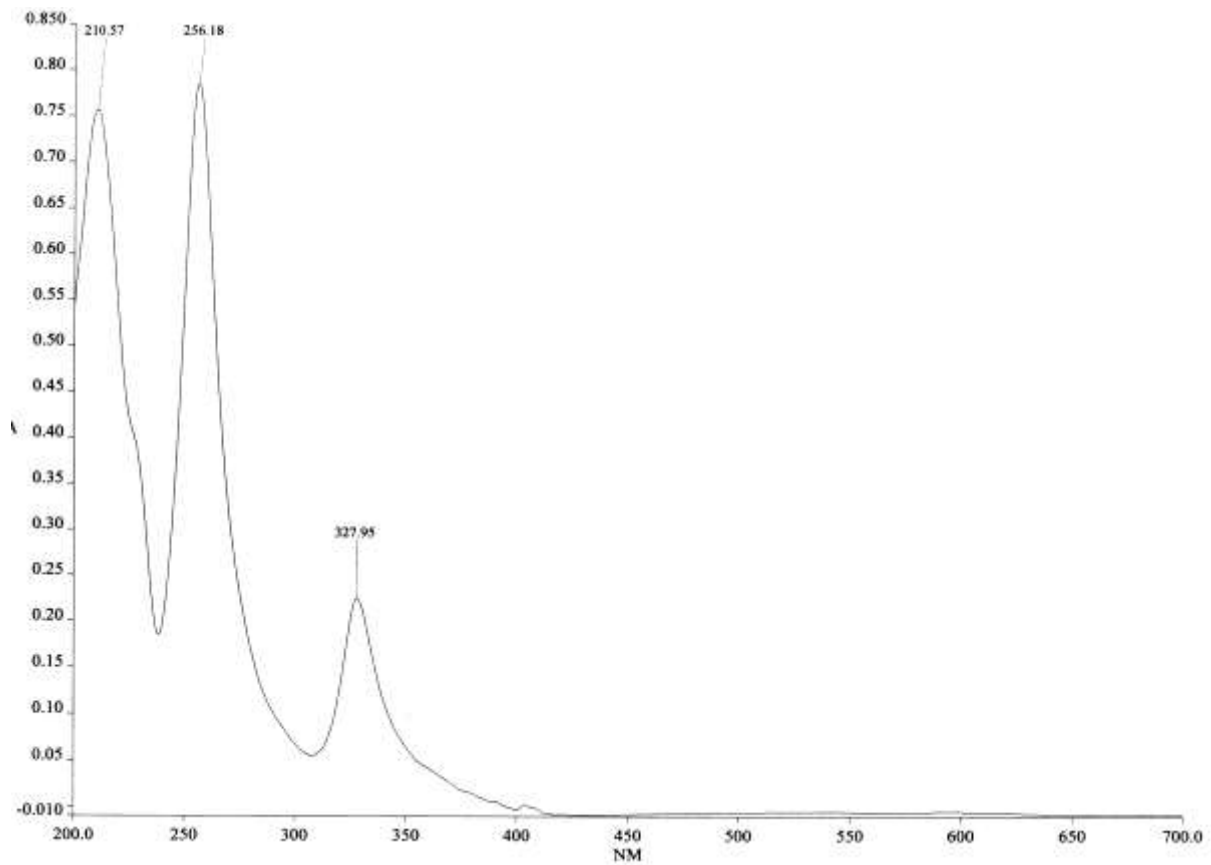
Zapažene su karakteristične i nove osobine, jedinstvene trake, promene relativnih intenziteta i lokacija apsorpcionih maksimuma koje pokazuju izolovanje i separaciju osnovnih i viših fulerena.

Dobijeni originalni spektri značajno će doprineti boljem upoznavanju osobina i mogućnosti identifikacija ove nove klase nanomaterijala, ze potrebe projektovanja i izradu nanoupravljačkih sistema.

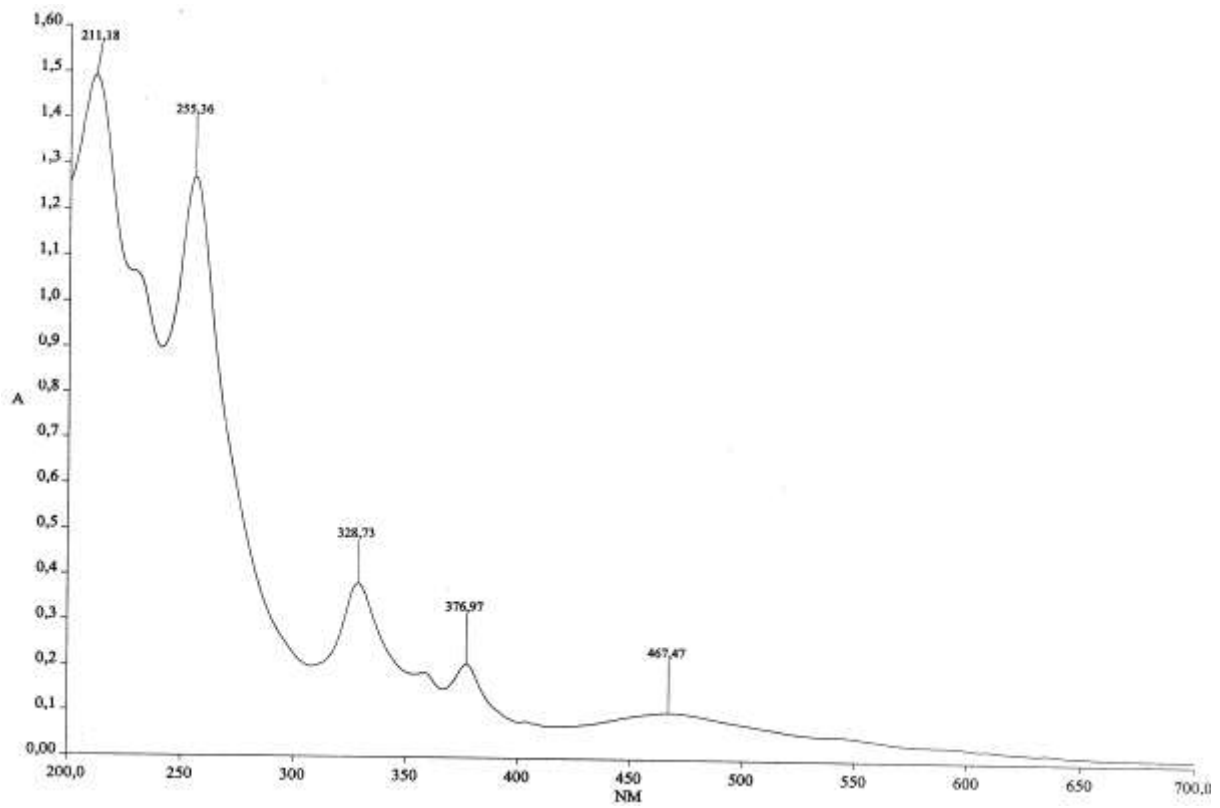
Na osnovu dobijenih rezultata, zaključeno je da se razvijene, pogodne metode i procesi mogu koristiti u praksi za dobijanje osnovnih i viših fulerena visoke čistoće u povećanim prinosima.

U prethodnoj fazi rada iz ove oblasti izolovani su fulereni C_{60} i C_{70} visoke čistoće iz dobijenih ekstrakata čađi, sa originalnim sistemima rastvarača, novim, unapređenim metodama i procesima. Kao eluenti su korišćeni heksan, 5 % toluen u heksanu i 20 % toluen u heksanu, kao i heksan 5 % ksilen u heksanu i 20 % ksilen u heksanu, na koloni aktiviranog aluminijum-oksida kao stacionarnoj fazi. Urađena je takođe hromatografska separacija sa heksanom, 5 % benzenom u heksanu i 20 % benzenom u heksanu. Postignuta su poboljšanja razdvajanja fulerena u odnosu na prethodno razvijene metode.

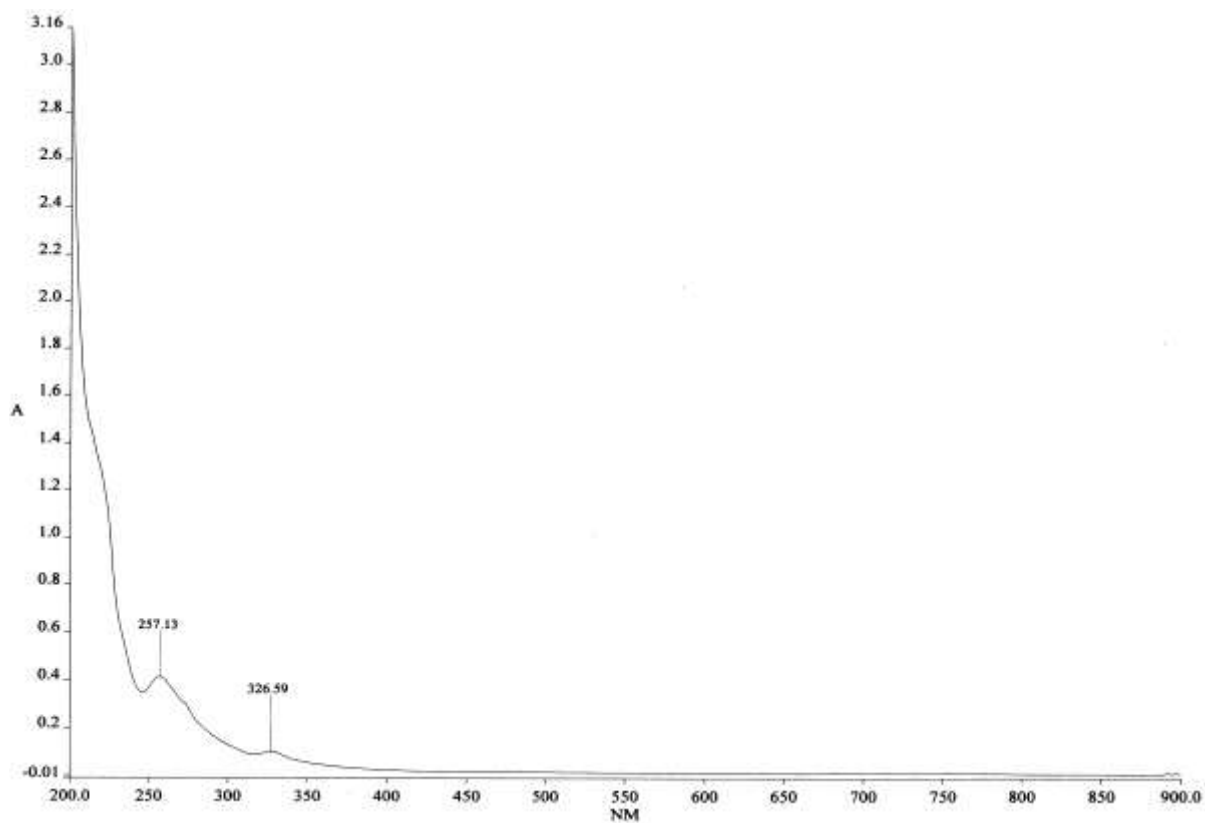
Na Slikama 5.19-5.26. prikazani su dobijeni UV/VIS i IR spektri hromatografski izolovanih uzoraka osnovnih fulerena C_{60} i C_{70} i viših fulerena C_{76} i C_{84} u okviru procesa našeg rada.



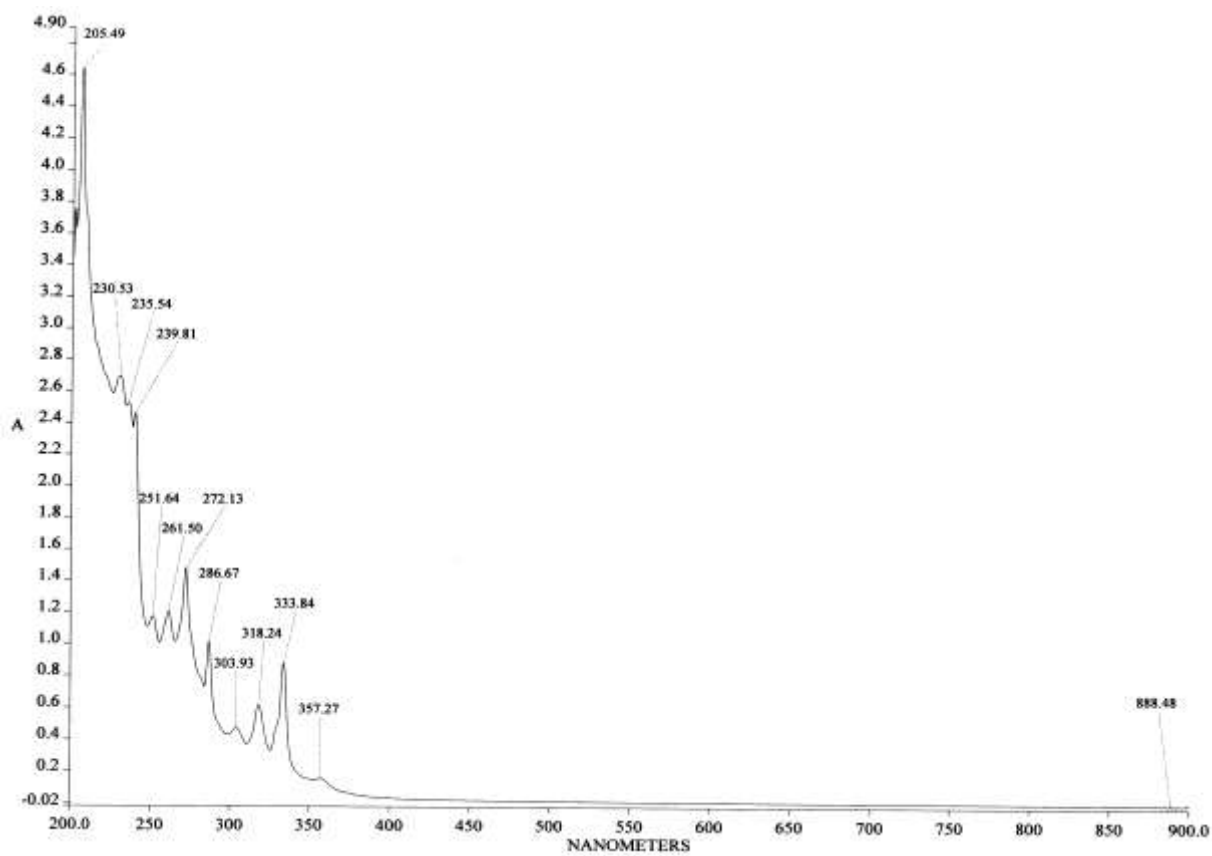
Slika 5.19. UV/VIS spektar hromatografski prečišćenog fulerena C₆₀.



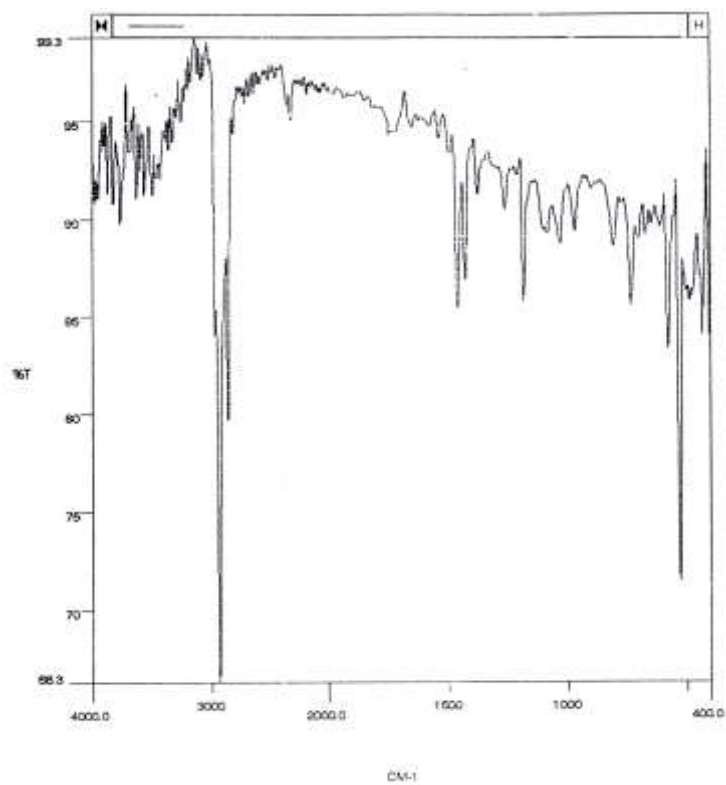
Slika 5.20. UV/VIS spektar hromatografski prečišćenog fulerena C₇₀.



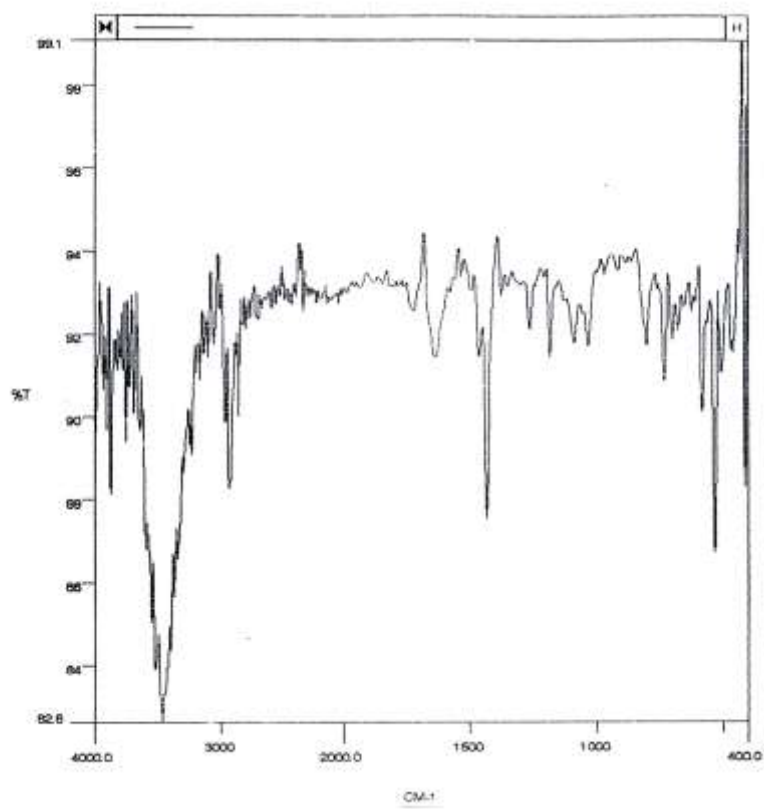
Slika 5.21. UV/VIS spektar hromatografski prečiščenog višeg fulerena C₇₆.



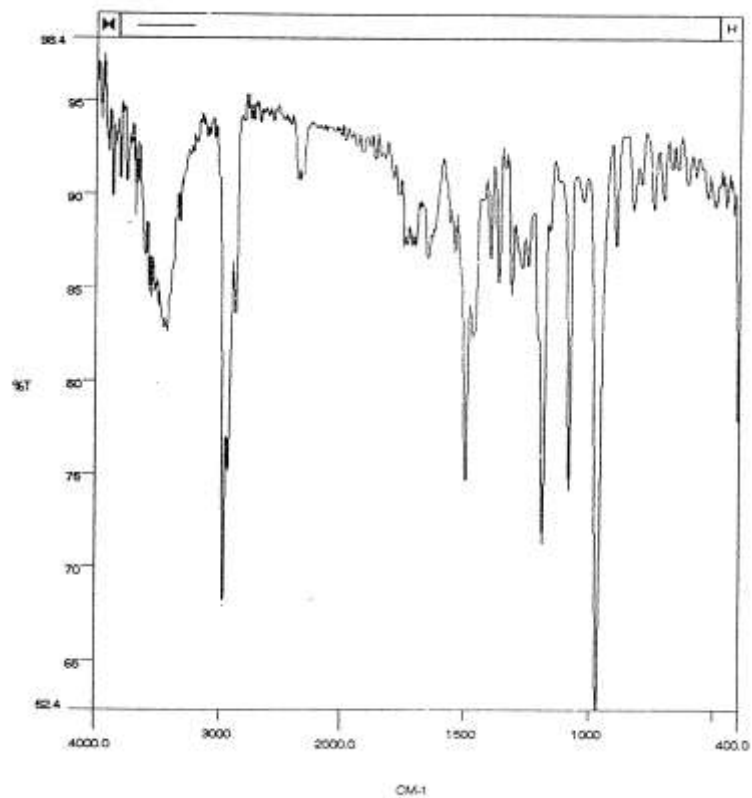
Slika 5.22. UV/VIS spektar hromatografski prečiščenog višeg fulerena C₈₄.



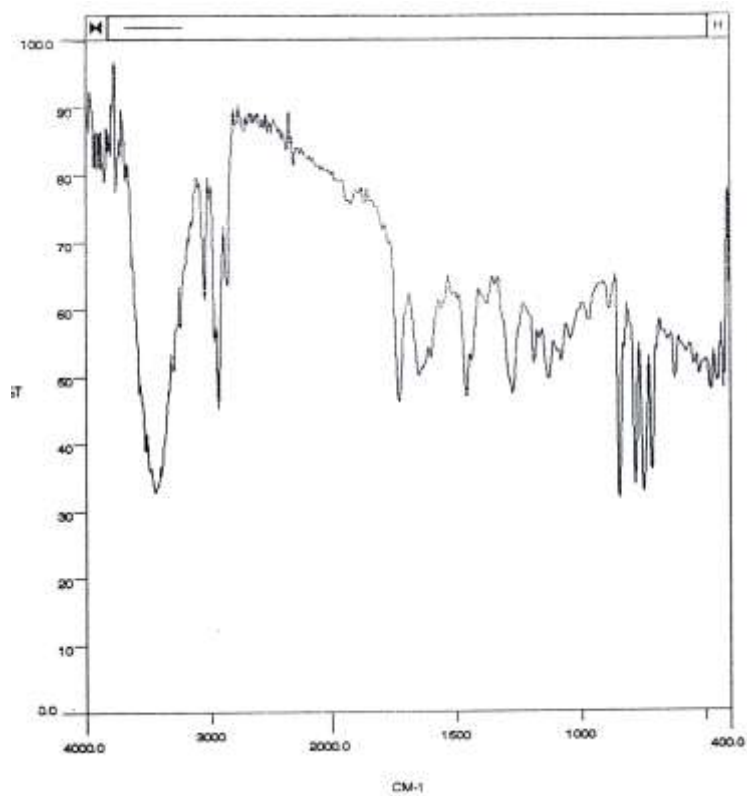
Slika 5.23. IR spektar hromatografski prečišćenog fulerena C₆₀.



Slika 5.24. IR spektar hromatografski prečišćenog fulerena C₇₀.



Slika 5.25. IR spektar hromatografski prečišćenog višeg fullerena C_{76} .



Slika 5.26. IR spektar hromatografski prečišćenog višeg fullerena C_{84} .

Literatura

1. Koruga, Dj. Hameroff, S., Withers, J., Loufty, R., and Sundareshan, M. (1993) Fullerene Production. Electrochemistry of Fullerenes and its Applications. Practical Applications of Fullerenes. In *Fullerene C₆₀: History, Physics, Nanobiology*, Elsevier Science Publishers, B.V: Amsterdam, 273-290, 305-368.
2. T. Jovanovic and Dj. Koruga, Purification and Characterization of Fullerene Nanomaterials, in *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, edited H. S. Nalwa, American Scientific Publishers, Valencia, 2011, Volume 21, pages 537-590, ISBN 1-58883-186-8.
3. Jovanovic, T., Koruga, Dj. and Jovancevic, B. (2011) *Fuller. Nanotub. Car. N.*, 19(4): 309-316.
4. Jovanovic, T., Koruga, Dj. and Jovancevic, B. (2013) *Fuller. Nanotub. Car. N.*, 21(1): 64-74, published online 25 September 2012.
5. Jovanovic, T., Koruga, Dj., Jovancevic, B., and Simic-Krstic, J. (2009) *Fuller. Nanotub. Car. N.*, 17(2): 135-150.
6. Jovanovic, T., Koruga, Dj. and Jovancevic, B. (2013) *Fuller. Nanotub. Car. N.*, accepted, in press.
7. Jovanovic, T., Koruga, Dj., Jovancevic, B. and Simic-Krstic, J. (2003) *Fuller. Nanotub. Car. N.*, 11(4): 383-394.
8. Jovanovic, T., Koruga, Dj., Polic, P., and Devic, G. (2003) *Mater. Sci. Forum*, 413: 59-64.
9. Jovanovic, T., Koruga, Dj., Jovancevic, B. and Simic-Krstic, J. (2003) *Int. J. Nanosci.* 2(3): 129-140.
10. Hirsch, A. and Brettreich, M. (2005) Parent Fullerenes, Principles and Perspectives of Fullerene Chemistry. In *Fullerenes Chemistry and Reactions*, Wiley: VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Stuttgart, New York, 1-48, 383-415.
11. Jinno, K. (1999) Technical Advances in the Liquid Chromatographic Separation of Fullerenes. The Preparative Separation of Fullerenes. In *Separation of Fullerenes by Liquid Chromatography*, RSC Chromatography Monographs, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1-24, 25-48.
12. Taylor, R. (1995) Fullerene Production. Properties of Fullerenes. In *The Chemistry of Fullerenes*, World Scientific Publishing: London, 20-52.
13. Taylor, R., Hare, J.P., Abdul-Sada A.K., and Kroto, H.W. (1990) *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (20): 1423-1425.
14. Krätschmer, W., Fostiropoulos, K., and Huffman, D.R. (1990) *Chem. Phys. Lett.*, 170: 167-170.
15. Ajie, H., Alvarez, M.M., Anz, S.J., Beck, R.D., Diederich, F., Fostiropoulos, D.R., and Whetten, R.L. (1990) *J. Phys. Chem.*, 94: 8630-8633.
16. Bethune, D. S., Meijer, G., Tang, W. C., Rosen, H. J., Golden, W.G., Seki, H., Brown, C. A., and de Vries, M. S. (1991) *Chem. Phys. Lett.*, 179: 181-186.
17. Komatsu, N., Kadota, N., Kimura, T., Kikuchi, Y., and Arikawa, M. (2007) *Fuller. Nanotub. Car. N.*, 15: 217-226.
18. Komatsu, N. (2008) *J. Incl. Phenom. Macro.*, 61(3-4): 195-216.
19. Zarzycki, P.K., Ohta, H., Harasimiuk, F.B., Jinno, K. (2007) *Anal. Sci.*, 23: 1391-1396.
20. Diederich, F., Ettl, R., Rubin, Y., Whetten, R.L., Beck, R., Alvarez, M., Anz, S., Sensharma, D., Wudl, F., Khemani, K.C. and Koch, A. (1991) *Science*, 252: 548-551.

21. Jinno, K., Matsui, H., Ohta, H., Saito, Y., Makagava, K., Nagashima, H., and Itoh, K. (1995) *Chromatographia*, 41: 353-360.
22. Jinno, K., Saito, Y., Nagashima, H., and Itoh, K. (1998) *J. Microcolumn Sep.*, 10(1): 79-88.
23. Orlandi, G., Zerbetto, F., Fowler, P.W., and Manolopoulos, D.E. (1993) *Chem. Phys. Lett.*, 208: 441-445.
24. Ettl, R., Chao, I., Diederich, F., and Whetten, R.L. (1991) *Nature*, 353: 149-153.
25. Zhang, B.L., Wang, C.Z., and Ho, K.M. (1993) *Phys. Rev. B*, 47: 1643-1646.
26. Dennis, T.J.S., Hulman, M., Kuzmany, H., and Shinohara, H. (2000) *J. Phys. Chem. B*, 104:5411-5413.
27. Andreev, I.; Petrukhina, A.; Garmanova, A.; Babakhin, A.; Andreev, S.; Romanova, V.; Troshin, P; Troshina, O.; DuBuske, L. (2008) *Fuller. Nanotub. Car. N.*, 16, 89
28. Ashcroft, J. M.; Tsyboulski, D. A.; Hartman, K. B.; Zakharian, T. Y.; Marks, J. W.; Weisman, R. B.; Rosenblum, M.G.; Wilson, L. (2006) *J. Chem. Commun.*, 3004-3006.
29. Canteenwala, C. Yu, T.; El-Khouly, M. E.; Araki, Y.; Pritzker, K.; Ito, O.; Wilson, B. C.; Chiang, L. Y. (2005) *J. Mater. Chem.*, 15: 1857.
30. Marchesan, S.; Da Ros, T.; Spalluto, G.; Balzarini, J.; Prato, M. (2005) *Bioorg. Med.Chem. Lett.*, 15: 3615.
31. Mashino, T.; Shimotohno, K.; Ikegami, N.; Nishikawa, D.; Okuda, K.; Takahashi, K. (2005) *Bioorg. Med.Chem. Lett.*, 15: 1107.