

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ФУЛЛЕРЕНОВ — РЕАЛИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

УДК 615.3+577.1
DOI: 10.17816/RCF1614-20

© **М.А. Думпис, Д.Н. Николаев, Е.В. Литасова, В.В. Ильин, М.А. Брусина, Л.Б. Пиотровский**

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Для цитирования: Думпис М.А., Николаев Д.Н., Литасова Е.В., и др. Биологическая активность фуллеренов — реалии и перспективы // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. – 2018. – Т. 16. – № 1. – С. 4–20. doi: 10.17816/RCF1614-20

Поступила в редакцию 10.01.2018

Принята к печати 07.03.2018

◆ **Резюме.** В обзоре рассмотрены свойства фуллеренов и их производных и возможность их применения в биологии и медицине. Фуллерены могут оказывать в биологических системах как антиоксидантное действие, улавливая активные формы кислорода (АФК), так и окислительное, придавая фуллерену фотосенсибилизирующие свойства. Обладающие мембранотропным действием, липофильные молекулы фуллеренов взаимодействуют с различными биологическими структурами

и могут изменять функции этих структур, увеличивая липофильность активной молекулы (аминокислот, нуклеиновых кислот, белков и др.). Приведены данные о биологическом действии фуллеренов в опытах *in vitro* и *in vivo*. Рассмотрены примеры адресной доставки известных терапевтических агентов.

◆ **Ключевые слова:** фуллерен; антиоксидант; фотосенсибилизатор; тераностик.

BIOLOGICAL ACTIVITY OF FULLERENES — REALITY AND PROSPECTS

© *M.A. Dumpis, D.N. Nikolaev, E.V. Litasova, V.V. Ilin, M.A. Brusina, L.B. Piotrovsky*

Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia

For citation: Dumpis MA, Nikolaev DN, Litasova EV, et al. Biological activity of fullerenes — reality and prospects. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2018;16(1):4-20. doi: 10.17816/RCF1614-20

Received: 10.01.2018

Accepted: 07.03.2018

◆ **Abstract.** The review deals with the properties of fullerenes and their derivatives and the possibility of their use in biology and medicine. Fullerenes can exert an antioxidant effect in biological systems, catching active forms of oxygen, and oxidative, giving the fullerene photosensitizing properties. The lipophilic fullerene molecules possessing membrane — tropic action interact with various biological structures and can change the functions of these structures,

increasing the lipophilicity of the active molecule (amino acids, nucleic acids, proteins, etc.). Data on the biological effect of fullerenes in *in vitro* and *in vivo* experiments are given. Examples of targeted delivery of known therapeutic agents.

◆ **Keywords:** fullerene; antioxidant; photosensitizer; theranostic.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение молекулярных механизмов взаимодействия в биологических системах — очень важная и очень интересная задача. Особую ценность имеют исследования с использованием принципиально новых и оригинальных структур. К таким структурам относятся наноструктуры углерода, открытые немногим более 30 лет тому назад. В настоящее время они представлены фуллеренами, нанотрубками, нанохорнами, наноалмазами и графеном. Все эти наноструктуры в той или иной степени рассматриваются как возможные синтоны при создании биологически активных веществ [1].

Особое место среди наноструктур занимают фуллерены. Это связано с тем, что они, и только они, представляют собой молекулярную форму углерода. Следовательно, как и всякие молекулы, они характеризуются молекулярной массой и стабильностью состава. Наиболее легко получается и поэтому широко используется наименьший по размеру фуллерен C_{60} , затем фуллерен C_{70} . Среди других выделенных и хоть минимально изученных фуллеренов можно упомянуть C_{74} , C_{76} , C_{78} , C_{80} , C_{82} и C_{84} и т. д.

Биологические свойства представителей любого класса соединений определяются их физическими и химическими свойствами. Однако это не совсем так в отношении к наноструктурам углерода во-

обще и фуллеренам в частности. Суть проблемы заключается в том, что, работая с ними, мы переходим от «обычных» систем к системам наноразмеров. А хорошо известно, что в области наномира действуют иные законы, согласно которым свойства вещества зависят не только и не столько от его состава, сколько от геометрии, формы и размера наночастиц [2]. В частности, фуллерены, склонность к агрегации которых высока за счет поверхностных липофильных атомов, способны действовать на живые системы и как отдельные молекулы, и как наночастицы. Именно поэтому фуллерены называют символом нанонауки [3]. Так как все наноструктуры углерода, за исключением наноалмазов, построены из атомов углерода в sp^2 -гибридизации, то и некоторые свойства у них одинаковые, как, например, характерное проявление фотодинамических свойств при освещении видимым светом [4].

СТРОЕНИЕ И СВОЙСТВА ФУЛЛЕРЕНОВ

Фуллерены занимают особое место среди других наноструктур углерода, так как они представляют собой единственную молекулярную форму углерода, то есть химическое соединение. Уникальность фуллеренов как класса химических соединений определяется особенностями их строения, а именно тем, что они представляют собой выпуклые замкнутые многогранники, образованные только четным числом атомов углерода в sp^2 -гибридизации, состоящие из шести- и пятичленных циклов. Они представляют собой чистый углерод, поскольку у всех других углеродных структур (алмаза, графита и т. п.) внешние валентности атомов углерода, находящихся на поверхности кристаллов, насыщены за счет присоединения инородных атомов или групп (H, OH и т. п.). Фуллерены же состоят исключительно из атомов углерода, и, в отличие от других наноструктур, в фуллеренах все атомы углерода связаны только с атомами углерода. Можно сказать, что фуллерены — это химические соединения, состоящие из одинаковых молекул, тогда как остальные углеродные наноструктуры — это материалы [2]. К «исключениям», казалось бы, можно отнести лишь замкнутые однослойные нанотрубки. Но в действительности эти замкнутые углеродные структуры следует рассматривать как фуллерены, но не сферической, а цилиндрической, палочкообразной формы.

Как уже указывалось выше, молекулы фуллеренов построены из гекса- и пентагонов, образованных атомами углерода в sp^2 -гибридизации, то есть из фрагментов ароматических структур, и должны бы проявлять свойства ароматических соединений. Вначале так и казалось — ведь молекула фуллерена C_{60} была открыта на «кончике пера» в двух независимых работах [5, 6]. И один из первооткрывате-

лей, Е. Осава, считал ее суперароматичной. Однако в действительности фуллерены являются не ароматическими, а алициклическими сопряженными полинасыщенными системами, для которых характерны реакции присоединения.

Еще одно уникальное свойство фуллеренов — это существование в молекуле внутренней полости. Так как сами молекулы фуллеренов небольшие (например, молекула C_{60} в диаметре всего около 1 нм [7]), то и внутренние полости невелики. Туда помещаются лишь отдельные атомы или небольшие атомные кластеры. Такие соединения называются эндодральными фуллеренами. Необходимо подчеркнуть, что никакие молекулы, тем более биологически активные, поместить внутрь фуллеренов (даже относительно больших типа C_{84}) невозможно. Например, в случае фуллерена C_{60} это могут быть атомы (именно атомы, а не молекулы) водорода и гелия. Подробности получения эндофуллеренов см. ниже.

Прежде чем перейти к конкретным примерам, остановимся коротко на некоторых проблемах номенклатуры. Так как для молекул фуллеренов возможны только реакции присоединения, то, соответственно, молекула замещенной быть не может и заместителей в ней быть не может. Поэтому экзопроизводные фуллеренов, то есть имеющие какие-либо радикалы снаружи углеродного кора, называются функционализированными производными (или аддуктами), а сами «заместители» — аддендами.

На сегодняшний день наиболее доступен и поэтому наиболее изучен, в том числе и с точки зрения биологических свойств, фуллерен C_{60} .

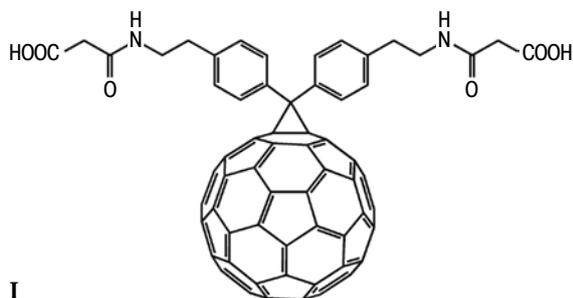
Одним из физических свойств молекул фуллеренов является то, что при облучении видимым светом они переходят в возбужденное триплетное состояние ($^3C_{60}^*$). Такая молекула может играть роль фотосенсилизатора, так как способна передавать энергию молекуле обычного триплетного кислорода 3O_2 , превращая его в синглетный кислород 1O_2 . В биологических системах в присутствии доноров электронов могут образовываться и другие активные формы кислорода (АФК) [8].

С химической точки зрения поведение фуллеренов определяет наличие в молекулах сопряженных, и к тому же напряженных, связей. Поэтому наиболее важным свойством является электронодефицитность этих молекул, приводящая к необычайной легкости присоединения свободных радикалов. Молекула фуллерена C_{60} способна присоединять до 15 радикалов, что позволило даже назвать ее «губкой для радикалов». Причем по силе антиоксидантного действия фуллерен C_{60} превосходит такой хорошо известный антиоксидант, как витамин С [8]. Следовательно, фуллерен может, особенно в биологических системах, проявлять себя как «двулик Янус» — быть одновременно и антиоксидантом, и «окислителем».

Еще один важный для проявления биологических свойств параметр фуллерена — липофильность. Вещества, для которых коэффициент распределения $\log P$ меньше нуля (высокогидрофильные вещества), легко проходят во внеклеточные области, но не могут проникнуть через мембраны клеток и/или биологические барьеры. Если же величина $\log P \geq 0-3$ (липофильные вещества), то такие вещества быстро проходят через мембрану и обычно быстро распространяются по всему организму. Дальнейшее повышение этой величины снова приводит к снижению адсорбции вещества, так как резко падает растворимость в воде и становится трудно подвести вещество к мембране. Кроме того, высоколипофильное вещество, попав в мембрану, там и остается, и на этом его распределение по организму заканчивается. Для фуллерена C_{60} в системах октанол – вода и толуол – вода величины коэффициента распределения равны 6,67 и 8,44 соответственно [9]. Это очень высокие величины, указывающие на высокое сродство молекул к липофильным биологическим фазам. Поэтому следует в принципе ожидать накопления молекул C_{60} в жировых депо организма. Однако такая высокая липофильность определяет и мембранотропный механизм противовирусного действия фуллерена и его производных [10].

Выше уже отмечалось, что распределение данного вещества, а, следовательно, и его биологические свойства зависят от его липофильности. И изменения последней могут не только менять распределение вещества в организме, но и влиять на спектр его биологического действия. В этом случае молекулы фуллерена могут играть исключительную роль, так как введение сравнительно небольшого по размерам, но высоколипофильного остатка в данную молекулу (аминокислоту, нуклеиновую кислоту, белки и др.) изменяет их функции, обеспечивая встраивание в мембраны, проникновение в клеточные органеллы и т. д. А образование супрамолекулярных комплексов на основе фуллеренов с терапевтическими агентами может улучшать биодоступность и фармакокинетику последних, что открывает путь к созданию систем адресной доставки лекарственных веществ [11].

В настоящее время объем работ по биологической активности фуллеренов достиг тысяч статей в год. Во многих работах были показаны перспективы эффективного использования фуллеренов в медико-биологических исследованиях.



I

Первая работа, посвященная использованию фуллеренов в медицинской химии, появилась уже в 1993 г. [12]. В ней описывалось производное фуллерена (I), способное стерически блокировать цилиндрическую полость в протеазе вируса СПИДа.

Основная проблема изучения биологических свойств фуллеренов связана с их нерастворимостью в воде и других полярных растворителях. По данным С.Т. Jafvert и Р.Р. Kulkarni [9], растворимость фуллерена C_{60} в воде составляет 7,96 нг/л ($1,11 \cdot 10^{-11}$ М), поэтому приходится придумывать различные обходные пути. В настоящее время в литературе описаны введение в биологические системы суспензии микронизированного кристаллического фуллерена (фуллерита), стабильные «гидрофильные» коллоидные дисперсии в воде (наноС60), образование водорастворимых комплексов с полимерами и синтез водорастворимых производных [8].

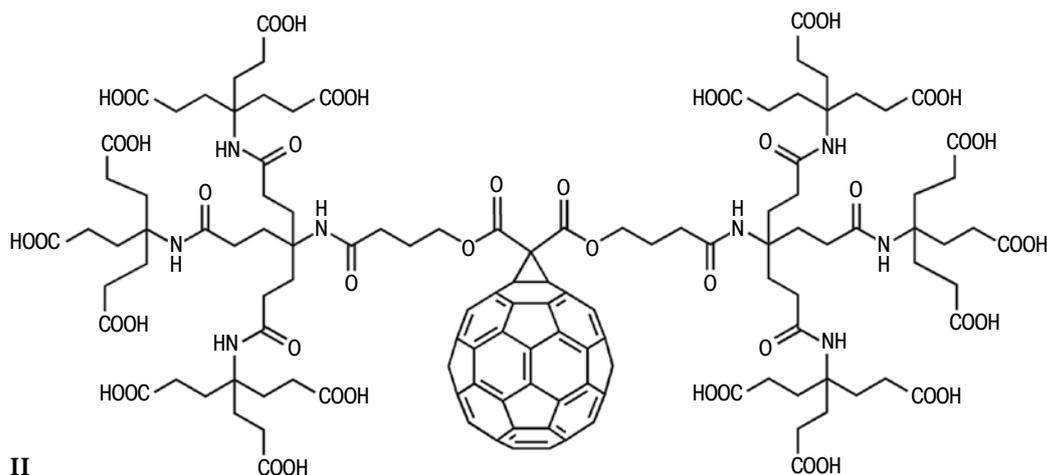
Суспензия фуллерита с размером частиц примерно от 150 до 1500 нм была использована, например, для определения токсичности фуллерена C_{60} *in vivo*. Стабильные коллоидные дисперсии могут быть получены или методом замены растворителей, или же при длительном контакте фуллерита с водой. В случае коллоидных суспензий наноС60 размер частиц лежит в интервале примерно от 50 до 600 нм и зависит от способа их получения. При этом показано, что эти наночастицы несут на поверхности отрицательный заряд и таким образом становятся гидрофильными [8].

Для биологических исследований часто используются водорастворимые полимерные композиции, комплексы включения с фуллеренами, образованные нековалентными взаимодействиями [13].

Хорошо известно, что изменение физико-химических характеристик фуллеренов, переход от индивидуальных молекул к агрегированным формам, приводит к изменению их свойств, что в конечном счете в значительной степени изменяет ответ биологической системы. Например, в комплексе C_{60} /поливинилпирролидон (C_{60} /ПВП) степень агрегации молекул фуллерена зависит от молекулярной массы ПВП и концентрации фуллерена, а в комплексе C_{60} /гамма-циклодекстрин (C_{60} /2γ-ЦД) молекула фуллерена мономолекулярна [2].

Особое место, конечно, занимает использование водорастворимых ковалентных производных. Если вышеперечисленными методами можно изучать лишь свойства самого фуллерена, свойства его кора, то при использовании производных возможно также изучать влияние введения фуллеренового остатка в биологически активную молекулу или же вообще использовать фуллереновый кор как достаточно нейтральный носитель какого-либо фармакофора.

Растворимость функциональных производных фуллерена (аддуктов) определяется наличием в их молекулах достаточного количества полярных гидрофильных групп, удерживающих гидрофобный



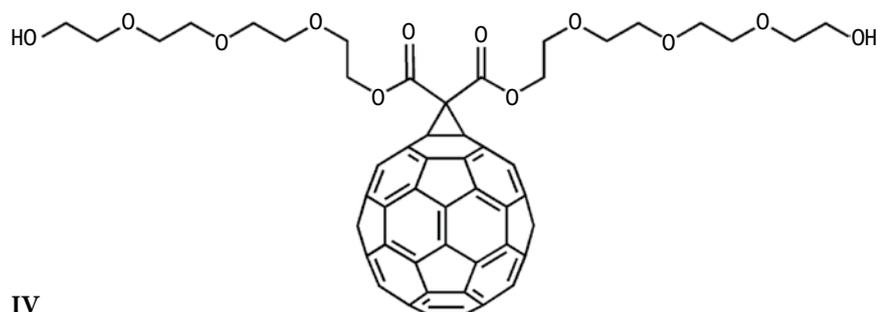
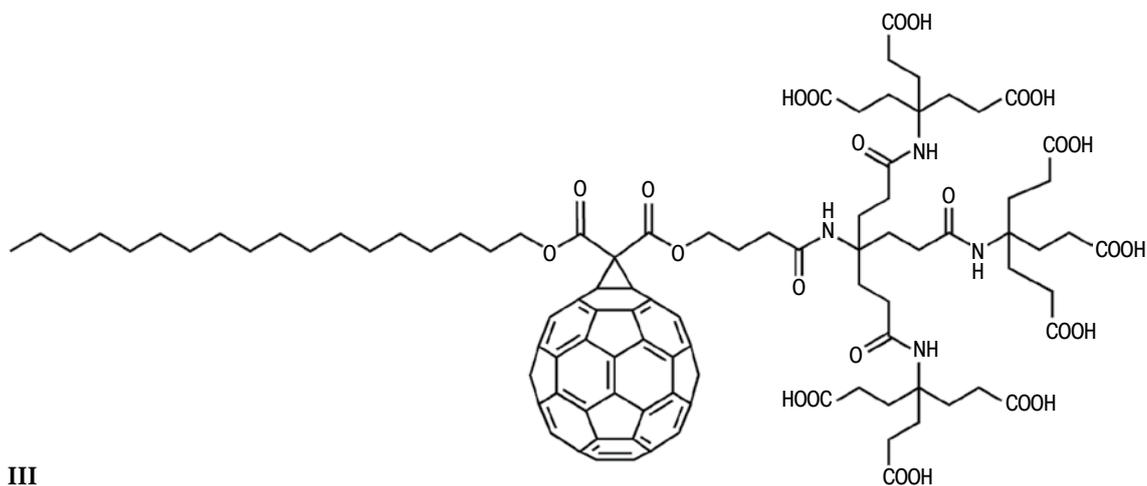
остаток фуллерена в растворе и препятствующих ассоциации молекул. Для того чтобы достичь приемлемой для биологических исследований растворимости аддукта фуллерена в воде, необходимо ввести в него как минимум три ионогенные группы [14].

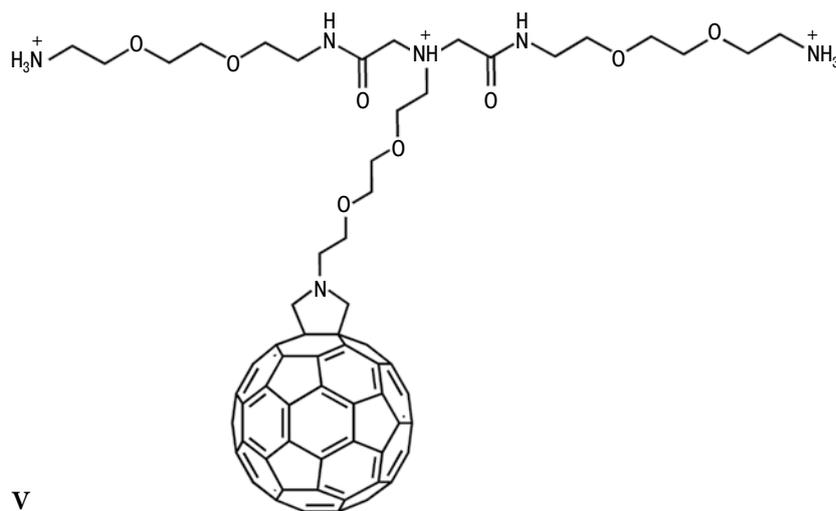
Одним из возможных решений является синтез аддуктов дендримерного типа — соединений, содержащих один (или несколько) разветвленных аддендов, содержащих, в свою очередь, несколько полярных групп. При этом увеличение числа полярных групп достигается не столько количеством введенных аддендов, сколько количеством полярных групп в каждом из них.

Например, соединение (II) содержит 18 карбоксильных групп и прекрасно растворимо в воде [15].

Хотя, казалось бы, что один адденд не сильно экранирует фуллереновый кор, в действительности его липофильность практически не проявляется, и в растворе соединение (II) существует в виде мономера даже при нейтральных значениях pH. Очевидно, что 18 заряженных групп делают невозможным «слипание» фуллереновых коров.

В пользу этого предположения говорит и тот факт, что замена только «половины» адденда с 9 заряженными группами на липофильный октадециловый остаток приводит к соединению (III), легко образующему крупные кластеры. Если же полимерный адденд вообще не содержит заряженных групп, как в соединении (IV), содержащем две полиэтиленгликолевые цепи, то такой аддукт практически нерас-





V

творим в воде, что почти сводит на нет возможность его использования в биологических экспериментах.

Еще одним примером растворимости таких аддуктов фуллерена может служить моноаддукт (V) с тремя положительными зарядами и триэтиленгликолевыми цепями, растворяющийся в воде до концентрации около 10^{-5} М, но, к сожалению, склонный к образованию значительного числа агрегатов. Отсюда однозначно следует, что чем менее экранирован фуллереновый кор, тем выше в целом липофильность соединения и его склонность к агрегации.

Следовательно, подбор аддендов позволяет получать соединения, резко отличающиеся друг от друга как по растворимости и способности к агрегации, так и по химическому строению (заряженные или нейтральные структуры).

В биологических исследованиях очень часто используются гидроксилсодержащие производные фуллеренов — фуллеренолы. Формула $C_{60}(OH)_n$ отражает общую структуру, в которую входят как соединения с разным количеством гидроксильных групп, так и разные стереоизомеры. Растворимость этих соединений определяется числом гидроксильных групп, введенных в молекулу фуллерена. В воде растворимы соединения, содержащие более 20 групп OH. Растворимость фуллеренолов $C_{60}(OH)_{36}$ и $C_{60}(OH)_{44}$ в воде составляет 17 и 65 мг/мл соответственно. Фуллеренолы, содержащие 10–12 или 12–14 групп OH, в воде растворяются плохо [16].

К сожалению, существенным недостатком фуллеренолов является плохая воспроизводимость данных, полученных с их использованием. При синтезе фуллеренолов различными методами образуются сложные смеси продуктов с нечетко определенной структурой [16], отличающиеся по растворимости и биологическим эффектам, что, вероятно, отражает неконтролируемые отличия в числе и положении гидроксильных групп, а также возможное присутствие других содержащих кислород групп ($=O$, $O<$). Хотя недавно появилась работа, в которой предложен метод определения распределения гидроксильных

групп на поверхности кора с помощью рамановской спектроскопии [17].

Производные фуллерена с определенным расположением гидроксильных групп можно получить через хлорпроизводные фуллеренов C_{60} и C_{70} [18]. Однако в этом случае гидроксильные группы отделены от кора линкерами, да и сам метод имеет существенные ограничения по структуре получаемых соединений.

Одним из путей решения проблемы агрегации фуллерена является возможная иммобилизация C_{60} на поверхности твердой фазы [19], которая предотвращает агрегацию молекул C_{60} и позволяет регенерировать иммобилизованный фотокатализатор [20].

Индивидуальные молекулы и наночастицы по-разному взаимодействуют с биологическими структурами не только из-за разницы химических свойств, но и просто вследствие различий в размерах. Размеры молекул фуллеренов вполне биологичны (с учетом ван-дер-Ваальсовых радиусов около 1 нм для фуллерена C_{60}), и это позволяет им легко проникать в молекулы белков. Однако размер агрегированных молекул фуллерена (частицы наноС60 более 50 нм) не позволяет им проникать в молекулы или биологические мембраны, имеющие размеры в несколько нанометров. Поэтому изолированные молекулы фуллерена образуют комплексы включения с белками [21], тогда как частицы наноС60 ведут себя совершенно иначе — они адсорбируют бычий сывороточный альбумин (БСА) на своей поверхности. При этом молекулы белка сорбируются в растянутой конформации. Аналогично процесс происходит и при взаимодействии с нуклеиновыми кислотами. Так, молекулы фуллеренов, содержащие на поверхности аминогруппы, могут образовывать с нуклеиновыми кислотами ионные связи, и полученные комплексы можно использовать для доставки генов. Несмотря на то что частицы наноС60 заряжены отрицательно, ДНК прикрепляются к ним благодаря чрезвычайно сильному π–π-стекинг-взаимодействию между основаниями ДНК и наноС60 [22].

ФУЛЛЕРЕНЫ В ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Свойство молекул фуллеренов (как уже указывалось выше) под действием видимого света переходить в возбужденное состояние, превращая триплетный кислород $^3\text{O}_2$ в синглетный $^1\text{O}_2$, позволяет использовать их в фотодинамической терапии (ФДТ) в качестве фотосенсилизаторов [8].

Фуллерены как фотосенсилизаторы имеют ряд серьезных преимуществ, к ним относится в первую очередь высокая фотостабильность. Они могут участвовать в обоих типах фотохимических реакций: типе I, протекающем по свободнорадикальному механизму, и типе II, связанному с образованием синглетного кислорода [23].

Ослабление фотосенсибилизирующего действия вызывается «самотушением» триплетного состояния C_{60} , в результате чего понижается степень продуцирования АФК [24]. Этим объясняется установленная в биологических системах зависимость фототоксичности производных C_{60} от их дисперсионного состояния, обусловленного изменением молекулы C_{60} путем химической модификации или образованием комплекса [23]. В некоторых случаях при длительном взаимодействии фуллерена с водой кластер C_{60} вообще теряет свойства фотосенсибилизатора [20]. Известно также, что хорошо диспергируемые производные C_{60} легко вызывают окислительный стресс под действием УФ-облучения [23]. Отметим тут же, что снижение (ослабление) антиоксидантной активности при агрегации происходит также из-за «снижения концентрации», уменьшения площади доступной поверхности.

Фотодинамические свойства фуллеренов обусловили широкий фронт исследований их противовирусного и противоракового действия [25, 26]. Неоднократно описано фотодинамическое действие фуллерена для инактивации оболочечных вирусов [10].

Фуллерены проявляют свойства фотосенсилизаторов не только в «свободном состоянии», но и в составе сложных комплексов. Так, было показано, что немодифицированный фуллерен C_{60} проявляет эти свойства, будучи включен как в липосомы с катионной поверхностью, так и в простые липосомы [27].

В некоторых случаях для создания систем для фотодинамической терапии на основе фуллерена полезно использовать полимеры. Так, конъюгат фуллерена C_{60} с полиэтиленгликолем (ПЭГ) накапливается преимущественно в опухолевой ткани и поэтому может быть использован для избирательного фотодинамического воздействия на опухоль. Эффект зависит от концентрации и дозы облучения и не проявляется без облучения или при облучении в отсутствие фуллерена, подтверждая тем самым, что воздействие на раковые клетки оказывает фуллерен C_{60} в конъюгате [28].

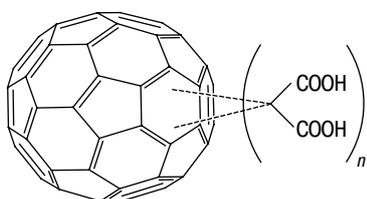
Оценивать относительную эффективность производных фуллерена C_{60} как фотосенсилизаторов в зависимости от степени функционализации удобно на близких по строению соединениях, например на трех малонатных производных C_{60} (VI). На клетках HeLa был установлен следующий ряд эффективности: $\text{DMA C}_{60} > \text{TMA C}_{60} > \text{QMA C}_{60}$ [29]. Тем самым подтверждается вывод о том, что увеличение числа аддендов приводит к снижению фотодинамической активности всей молекулы.

Достаточно широко исследовались и фотодинамические свойства фуллерена C_{70} . Сравнение ФДТ-активности C_{60} и C_{70} , инкапсулированного в димиристоилфосфатидил-холиновые липосомы, против клеток HeLa показало, что C_{70} как фотосенсилизатор был в пять раз активнее C_{60} [30]. При изучении комплекса $\text{C}_{70}/2\gamma\text{-CD}$ было продемонстрировано, что молекулы фуллерена переходят из комплекса в клеточную мембрану, проявляя при этом свойства фотосенсилизатора [31]. Описано также использование для фотодинамической терапии функционализированных производных C_{70} и C_{84}O_2 [32], которые в зависимости от длины волны облучения индуцировали апоптоз раковых клеток HeLa, одновременно повреждая митохондрии и лизосомы.

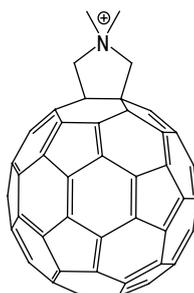
Моно- и поликатионные производные фуллерена C_{60} типа (VII) и (VIII) эффективны как антимикробные фотосенсилизаторы широкого спектра.

Изучение связи структуры функционализированных фуллеренов с их антимикробной фотодинамической активностью было проведено K. Mizuno et al. [33]. Применение этих соединений возможно при лечении кожных инфекций, например ран и ожогов, где проникновение облучения в ткань не является проблемой. Однако во многих случаях поглощение и рассеивание облучения биологическими тканями

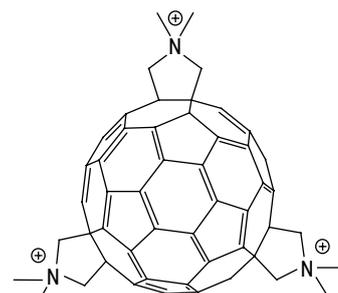
DMA C_{60} $n = 2$, TMA C_{60} $n = 3$, QMA C_{60} $n = 4$



VI



VII



VIII

может существенно ограничивать использование метода. Это актуально в случае солидных опухолей, подействовать на которые не удастся при использовании коротковолнового облучения (УФ и синий свет). Поэтому для воздействия на глубокорасположенные ткани необходимо применять фотосенсибилизаторы, поглощающие излучение в области больших длин волн (в красной области спектра), и увеличивать поглощение вещества присоединением к нему светособирающей антенны [34].

ФУЛЛЕРЕНЫ КАК АНТИОКСИДАНТЫ

Антиоксидантным свойствам фуллеренов посвящено множество обзоров. Фуллерен C_{60} сам по себе мощная ловушка для радикалов — в основе его антиоксидантных свойств лежит уже упоминавшаяся выше электронодефицитность его молекул и легкость присоединения свободных радикалов. Эта способность фуллеренов, в том числе и в биологических системах, документирована очень хорошо, и не стоит повторяться [8].

Поэтому рассмотрим лишь некоторые примеры. Антиоксидантное действие присуще не только самому фуллерену C_{60} , но и его производным, причем как *in vitro*, так и *in vivo* [35]. В частности, фуллерен (в виде нано C_{60}) защищает *in vivo* печень мышей от действия циклофосамида [36]. Также гепатопротекторным действием обладают и фуллеренолы C_{60} и C_{70} [37].

Относительно широко в качестве антиоксидантов используются нековалентные водорастворимые комплексы с биосовместимыми полимерами — ПВП, ПЭГ, γ -ЦД и др. Эти полимерные композиции фуллерена показали себя мощными ловушками радикалов в клеточных культурах кератиноцитов человека и могут защищать кожу от ультрафиолетового облучения и окислительного повреждения трет-бутилгидропероксидом. Радикальная антиоксидантная активность дендрофуллерена может найти применение в радиационной защите в естественных условиях [8].

Известны данные, указывающие на связь антиоксидантного действия фуллерена C_{60} с продолжительностью жизни. Показано, что пероральное применение раствора фуллерена C_{60} в оливковом масле удлинит жизнь крыс [38], причем авторы связывают это с антиоксидантным действием фуллерена.

Производные фуллерена, встроенные в липосомы, легко проникают через кожу, оказывая высокое антиоксидантное действие и не обладая выраженной токсичностью, а гели, содержащие фуллерен, можно использовать для лечения угрей и воспалительных заболеваний, вызванных окислительным стрессом [39]. Такие композиции действуют как ловушки радикалов на клетках кожи, предотвращая повреждение митохондрий и фрагментацию ДНК, не оказывая токсического действия. Именно на этом

основано использование фуллерена C_{60} в косметике, в виде Radical Sponge® (комплекс C_{60} /ПВП) [40] либо LipoFullerene® (раствор C_{60} в сквалане) компании Vitamin C60 Bioresearch Corporation [41]. Эти препараты не обладают фотоцитотоксичностью и прооксидантной активностью, и поэтому применение их совершенно безопасно. Вообще следует отметить, что эта компания была одной из первых, выпустивших на рынок косметику с фуллеренами. На сегодняшний день она выпускает следующие фуллеренсодержащие ингредиенты для создания косметических композиций: это уже упоминавшиеся Radical Sponge® и LipoFullerene®, а также Moist Fullerene™ (набор косметических ингредиентов для приготовления фуллеренсодержащих липосом), Veil Fullerene™ (фуллерен, сорбированный на кремнеземе), раствор фуллерена в органическом растворителе Sun Guard Fullerene™ A и Hair Shiny Fullerene™, содержащий, кроме фуллерена C_{60} , гамма-докозалактон, неионные сурфактанты и другие компоненты.

Другие применения фуллерена в косметике и дерматологии см. [42].

ФУЛЛЕРЕН И БИОЛОГИЧЕСКИЕ МОЛЕКУЛЫ

Для исследований применения фуллеренов в биологии необходимо отдельно рассмотреть их взаимодействие с биологическими молекулами, а именно белками и нуклеиновыми кислотами.

То, что в основе биологических эффектов фуллерена C_{60} лежит его комплементарное взаимодействие с белком, впервые было высказано в работе [12]. Было показано, что молекула фуллерена чисто стерически блокирует липофильный канал протеазы вируса HIV-1.

Прямое взаимодействие фуллерена с пептидами было впервые показано А. Bianco et al. [43]. Авторы описали «пептидный» рецептор для фуллерена C_{60} — нонапептид, содержащий шесть остатков α -аминогексановой кислоты, глициновый спейсер и два остатка L-Тур в положении 2- и 8-, где гидроксильные группы в боковой цепи были замещены остатками ферроценоила.

Одним из наиболее ярких доказательств способности фуллеренов взаимодействовать с белками является образование фуллеренспецифических антител. Данные рентгеноструктурного анализа Fab-фрагмента этих антител показывают, что фуллерен взаимодействует с белками по механизму индуцированного соответствия. Гидрофобность фуллеренового кора при образовании комплекса антиген – антитело способствует взаимодействию C_{60} с неполярными радикалами аминокислот, особенно содержащими ароматические остатки, при возникновении π - π -стекинг-взаимодействия. Следует отметить, что сам факт образования антител к фул-

леренам свидетельствует о неограниченных возможностях иммунной системы, способной узнавать и продуцировать иммунный ответ даже на такую необычную геодезическую структуру, как молекула фуллерена. Но он же свидетельствует и о том, что все-таки фуллерены не чужды организмам [8].

Было показано прямое взаимодействие фуллерена C_{60} и его производных с белками плазмы крови, в частности сывороточным альбумином. Однако в первых работах нет ни слова об изменении конформаций белковых молекул при взаимодействии с фуллереном. В дальнейшем при использовании фосфорсодержащего водорастворимого производного $C_{60}O_m(OH)_n[C(PO_3Et_2)_2]_p$ ($m \sim 8$, $n \sim 12$, $p \sim 1$) выявили, что связывание с ним вызывает в молекуле альбумина существенные конформационные изменения: процентное содержание α -спирали и β -складчатой структуры молекулы белка увеличивается, а β -изгибов становится меньше, что свидетельствует об увеличении компактности белка в процессе ассоциации [8].

Возможные центры докинга молекулы C_{60} с белковыми структурами (для более чем 1200 структур) с учетом имеющихся экспериментальных данных о взаимодействии белков с фуллереном C_{60} рассмотрены М. Calvaresi и F. Zerbetto [21]. Существуют опосредованные указания на взаимодействие фуллерена или его производных с белками и в работах, в которых приводятся данные по действию фуллерена и его производных как агонистов или антагонистов различных рецепторов или блокаторов ферментов. Например, показано ингибирование глутатионредуктазы производными фуллерена; фуллеренолы, содержащие 18–20 гидроксильных групп, являются дозозависимыми антагонистами глутаматных рецепторов, ингибируя на 50 % связывание с рецептором, а катионные соли бис-N,N-диметилфуллеропирролидиния — неконкурентные ингибиторы ацетилхолинэстеразы [8]. Среди производных фуллеренов известны ингибиторы ферментов, например тирозин-фосфатазы [44] и полимеразы вируса гепатита [45].

Фуллеренол $C_{60}(OH)_{20}$ образует комплекс включения с белками микротрубочек, основного компонента цитоскелета [46]. Фуллеренол ингибировал полимеризацию микротрубочек при низких микромолярных концентрациях, образуя комплекс включения фуллеренол – тубулин (9 : 1). Образование водородной связи между фуллеренолом и тубулином вызывало вторичные структурные изменения в тубулине и предотвращало полимеризацию микротрубочек.

Производные фуллерена могут не только ингибировать действие ферментов, но и увеличивать их экспрессию. Так, показано, что концентрация аденозин-A1- и A2A-рецепторов в клетках SK-N-MC увеличивалась после обработки производными фуллерена, при этом существенно не влияя на жизнеспособность клеток [47].

Описаны примеры специфического взаимодействия не только для изолированных молекул фуллеренов, но и для наночастиц. НаноC60 модулирует Ca^{2+} /кальмодулинзависимую протеинкиназу II (CaMKII), мультимерную внутриклеточную серин/треонинспецифичную протеинкиназу, необходимую для трансдукции сигнала Ca^{2+} , конкурируя со взаимодействием субъединицы рецептора NMDA NR2B и CaMKII [48]. Способность наноC60 поддерживать киназную активность CaMKII может в перспективе оказаться полезной для терапевтического использования фуллерена C_{60} .

Установлено, что производные фуллерена C_{60} способны ингибировать ранние стадии агрегации β -амилоидных пептидов [49–51]. Введение фуллерена в виде наноC60 в гиппокамп защищает нейроны от амилоидоза [52], также антиамилоидную активность могут проявлять и фуллеренолы [53].

ФУЛЛЕРЕНЫ И НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

При изучении взаимодействия фуллерена с нуклеиновыми кислотами методом молекулярной динамики было показано, что фуллерены прочно связываются с нуклеотидами. При этом в одноцепочечной ДНК происходит значительная деформация нуклеотидов. В отличие от ДНК, связывание C_{60} с РНК осуществляется только с большими канавками РНК-спирали, стабилизируя структуру РНК или трансформируя конфигурацию от вытянутой к скрученной [54]. Другими словами, методы молекулярной динамики указывают, что молекулы C_{60} могут отрицательно влиять на структуру, стабильность и биологические эффекты молекул ДНК. Правда, не очень понятно, как в реальности доставить изолированную молекулу фуллерена к ДНК или РНК.

Структурные изменения происходят и при ингибировании Taq ДНК-полимеразы производными фуллерена, $C_{60}(OH)_{20}$ и трисмалонатом C_{60} , что препятствует связыванию ДНК с белком и вызывает ингибирование процесса ПЦР [55].

Изучение комплекса фуллеренола $C_{60}(OH)_{24}$ с ДНК показало, что фуллеренол связывается с фосфатным скелетом нативной двухцепочечной ДНК и с парами оснований в большой канавке натриевой соли ДНК, усиливая флуоресценцию [56]. Кроме того, водорастворимые фуллеренолы могут связываться с лямбда-ДНК, дозозависимо повышая стабильность ДНК против термической дегградации [57].

ФУЛЛЕРЕНЫ КАК МЕМБРАНОТРОПНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

Мембранотропные свойства фуллеренов определяются высокой липофильностью фуллеренового ко́ра. Введение аддендов в кор, при которых

сохраняется общая липофильность молекул, лишь незначительно влияет на расположение соединений в мембране: вследствие дисперсионных взаимодействий между высокополярным фуллереновым кором и жесткими углеводородными цепями [58].

Одним из наиболее ярких примеров вклада мембранотропных эффектов в проявление биологической активности является действие изомерных трисмалонатных производных фуллерена C_{60} — **C3** (транс3,транс3,транс3- $C_{63}((COOH)_2)_3$) и **D3** (е,е,е- $C_{63}((COOH)_2)_3$). Оба соединения представляют собой мощные ловушки для гидроксильного радикала и супероксид-анион-радикала. Но уже по нейропротективному, противовирусному действию и действию на культуры тканей они заметно различаются, что вызвано различием их взаимодействия с мембранами [59]. Мембранотропные свойства производных фуллерена определяют и их противомикробное действие [60].

Противовирусное действие, в основе которого лежит взаимодействие с мембранами, фуллерен C_{60} проявляет также и в составе комплекса с ПВП. Было показано, что этот комплекс ингибирует репродукцию вирусов гриппа и способен ингибировать репродукцию ДНК-содержащих вирусов, в частности вируса простого герпеса (HSV-1). После обработки вируса гриппа типа А комплексом C_{60} /ПВП морфология вируса была изменена: присутствовало большое количество дефектных вирионов и вирионов с поврежденной «кистой» и нарушениями липидной оболочки. Полученные данные позволяют предположить, что комплекс мешает процессу сборки в цикле репликации вируса и блокирует самонастраивание зрелых вирусных частиц [10].

Таким образом, липофильность фуллеренового кора может играть, а в некоторых случаях и играет, решающую роль во взаимодействии фуллерена и его производных с биологическими объектами как *in vitro*, так и *in vivo*.

СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ НА ОСНОВЕ ФУЛЛЕРЕНОВ

Важнейшее направление современной химии лекарственных веществ и фармакологии представляет собой адресная доставка лекарственных препаратов, способствующая повышению эффективности их действия за счет оптимизации биораспределения. Уникальные свойства наноматериалов и их биологическая активность могут быть использованы для адресной доставки лекарственных препаратов и вакцин в ЦНС, для борьбы с онкологическими, кардиологическими и другими заболеваниями.

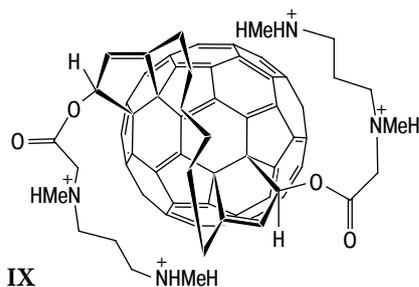
Существуют различные подходы к созданию подобных систем доставки, отличающиеся сложностью структур наночастиц, выступающих в роли «носителя»

активного вещества. Одним из возможных носителей лекарственных веществ может служить фуллереновый модифицированный кор. Размер, форма и высокая липофильность фуллерена позволяют его молекуле довольно легко проникать в клетки и представляют собой идеальное сочетание свойств для использования его в качестве вектора для адресной доставки лекарственных веществ и трансфекции генов [2]. Одна из первых работ по медицинской химии фуллеренов была посвящена целенаправленной доставке фуллерена-фотосенсилизатора к мишени с помощью олигонуклеотидной последовательности, ковалентно связанной с фуллереновым кором [61]. Для повышения эффективности действия был синтезирован конъюгат фуллерена C_{60} с 14-мерным олигонуклеотидом — он связывался с одноцепочечной ДНК и фиксировал фотосенсилизатор (остаток фуллерена) вблизи ДНК. Естественно, это резко увеличивало эффективность действия. Для увеличения специфичности связывания фуллерена были также синтезированы соединения, содержащие в его молекуле остаток, связывающийся с малой бороздкой ДНК [62].

Для целенаправленной доставки препарата центрального действия гексаметония был использован конъюгат фуллерена C_{60} с 6-аминогексановой кислотой, образующий ионные пары-комплексы с гексаметонием. В результате образования комплекса высокополярная молекула периферического ацетилхолинового блокатора проникает в ЦНС, блокируя центральные эффекты, вызываемые никотином. Это является свидетельством того, что на основе функционализированной молекулы фуллерена C_{60} возможно создание систем транспорта полярных веществ в ЦНС [11].

Для расширения возможности использования остатка фуллерена в качестве носителя можно модифицировать его молекулу. Производные фуллерена, не обладающие цитотоксичностью и поглощающиеся клетками, были применены в качестве носителя для противоракового средства паклитаксела и подавляли рост клеток линии MCF-7 рака молочной железы человека [63]. Для обеспечения целенаправленной доставки противоопухолевого препарата доцетаксела (DTX) был создан дендримероподобный переносчик на основе фуллерена C_{60} -PEI-FAC, представлявший собой дендример с внешним слоем из молекул фолиевой кислоты (FAC). Система доставки лекарства была получена введением в корону молекулы доцетаксела. На культивированных раковых клетках РС3 *in vitro* была показана высокая эффективность проникновения этой системы через клеточные мембраны, усиление апоптоза и повышение противоопухолевого действия. Аналогичное повышение активности по сравнению с немодифицированным DTX было показано в экспериментах *in vivo* [64].

Конъюгат трисмалоната фуллерена C_{70} (TF70) с аптамером R13 представляет собой еще одну



систему направленной доставки на основе полинуклеотидов. Он значительно усиливает фотодинамическую активность TF70 по отношению к клеткам карциномы легких человека A549. Этот конъюгат локализуется в липосомах и может продуцировать внутриклеточные АФК, уничтожающие опухолевые клетки [65].

На основе фуллерена возможно также создание модульных несущих систем, состоящих из тройки блоков: терапевтический блок (собственно биологически активный компонент), блок, обеспечивающий направленность действия, и блок, способный увеличивать количество биологически активных фрагментов, которые способна переносить система. В качестве такой системы предложен гексааддукт фуллерена C_{60} , содержащий пять малонатных остатков для связывания двух терапевтических начал (фотосенсибилизатор пиррофеофорбид- α) каждый, то есть всего десять. А шестой спейсер используется для присоединения «адресующего» остатка, в данном случае моноклонального антитела ритуксимаба [66]. Такая модульная система доставки с повторяющимися фрагментами может использоваться в ФДТ и применяться при терапии, где требуется высокая избирательность и сродство к мишени.

Липофильный характер фуллеренового кора можно использовать для создания композитных систем, проникающих через липофильные барьеры. Например, с участием некоторых производных $C_{60}S(COOH)_2$ были созданы системы для переноса богатых аргинином пептидов типа олигоаргининов, проникающих через двуслойные мембраны [67]. Кроме того, на основе фуллеренов можно создавать и средства для трансфекции генов. В качестве примеров можно привести так называемое «двурукое» производное фуллерена (IX) и два положительно заряженных производных — октаамино- и додекааминопроизводных фуллерена C_{60} [68].

Еще одна новая система доставки включает в себя фуллереновый кор, соединенный через остаток глицина с N-дезметилтамоксифеном [26].

ТЕРАНОСТИКИ

Тераностики — соединения, объединяющие в одной частице два начала: терапевтическое и диагностическое (визуализирующее). В настоящее вре-

мя создаются тераностики на основе объединения углеродных наноструктур и полимеров [69], а также на основе эндофуллеренов [70].

Фуллерены могут служить и в качестве терапевтических, и в качестве вспомогательных средств при создании тераностиков. При этом благодаря фуллерену тераностики могут быть не наночастицами, как обычно считается, а отдельными молекулами. В качестве примера можно привести метанофуллерен, к циклопропильному циклу которого с помощью гидрофильных цепочек были ковалентно присоединены две молекулы доксорубина. Тем самым в одной молекуле, а не наночастице были объединены и средство доставки, и действующее начало [71].

Еще один противораковый препарат-тераностик был создан на основе фуллеренола $C_{60}(OH)_{24}$. Опухоли, в которые вводили препарат, визуализировали с использованием фотоакустической томографии, затем термически обрабатывали ИК-лазером. В результате размер опухоли уменьшился на 72 % уже в первые два часа, а через 20 часов на месте опухоли был только небольшой пузырек [72].

ЭНДОМЕТАЛЛОФУЛЛЕРЕНЫ

Как уже отмечалось, уникальной особенностью молекул фуллеренов является наличие в них внутренней полости. Однако эта полость относительно невелика и в лучшем случае у фуллеренов размером больше C_{80} может включать не просто атомы, а группы атомов. Такие соединения были обнаружены одним из открывателей фуллеренов Р. Смолли и названы эндофуллерены [73]. При высокотемпературном испарении стержней из композита La_2O_3 /графита были получены лантансодержащие металлофуллерены [74]. Однако в толуол экстрагировался только $La@C_{82}$, хотя в масс-спектре наблюдались $La@C_{60}$ и $La@C_{70}$, но они оказались нестабильны на воздухе и в растворах. Другими атомами, которые включаются в эндофуллерены, могут быть H, He, Ne, Ar, N, Li, Sc, Y, La, Ca, Sr, Ba, так же как и некоторые кластеры, например карбиды металлов, азотсодержащие карбиды металлов, оксиды и сульфиды металлов.

Было показано, что на основе эндометаллофуллеренов (ЭМФ) могут создаваться и противоопухолевые препараты. Так, полигидроксилированный эндоэдральный фуллерен $Gd@C_{82}(OH)_{22}$ образует в физиологическом растворе частицы размером примерно 22 нм. Эти частицы в дозе 10^{-7} мол/кг проявляли высокую антинеопластическую активность на мышах, не вызывая токсического действия как *in vitro*, так и *in vivo*, ингибировали рост опухолей, вмешиваясь в процессы инвазии опухоли в нормальную мышечную ткань. Это резко отличает их от обычных противоопухолевых препаратов, для которых

характерно именно цитотоксическое действие. Эти результаты свидетельствуют о том, что с помощью производных фуллеренов с соответствующим образом модифицированной поверхностью может быть реализована мечта онкологов-химиотерапевтов о создании высокоэффективного, но низкотоксичного противоопухолевого препарата [8]. Противоопухолевые средства могут быть разработаны и на основе ЭМФ, не содержащих радиоактивные атомы, что повышает ценность таких препаратов для лечения рака [75].

Эндометаллофуллерены используются в радиоиммунотерапии [76]. В контрастных агентах для МРТ на основе фуллеренов сочетаются эффективная диагностика и лечебный эффект. Например, контрастирующий препарат Gd-DTPA-HSA можно модифицировать трисмалонатом C_{60} [77]. И тогда в действии препарата объединятся оба направления — лечебное (фуллереновый кор как фотосенсибилизатор) и диагностическое (гадолиний как контрастный агент для МРТ). В этом конъюгате HSA и карбоксифуллерен проявляют синергический эффект. Возможна разработка таких препаратов и на основе ЭМФ, включающих радиоактивные атомы, например атома ^{177}Lu [78].

Использование эндофуллеренов для разработки контрастных агентов чрезвычайно привлекательно. Углеродный каркас этих молекул защищает атом металла, предотвращая его высвобождение в организме, поэтому такие агенты нетоксичны. При этом к фуллереновому кору возможно присоединить гидрофильные функциональные группы и «нацеливающие» агенты. С участием ЭМФ можно получать контрастные агенты не только для различных типов томографии, но и для других методов исследований. Применение ЭМФ подробно рассмотрено в обзоре [79].

ТОКСИЧНОСТЬ, БИОСТАБИЛЬНОСТЬ И БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЕ ФУЛЛЕРЕНОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ

Литература по изучению токсичности фуллеренов достаточно обширна. Упомянем лишь несколько обзоров [8, 80]. В них делается достаточно однозначный вывод, что сам фуллерен C_{60} можно отнести к безвредным соединениям. Исключение может составлять лишь ингаляционное воздействие,

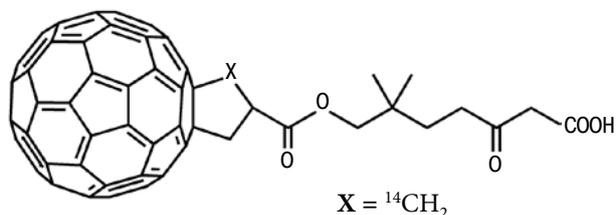
однако неоднократно показано, что при таком пути введения токсичность связана с размером, формой и плотностью частиц, а не с их составом [81].

Что касается конкретных токсикологических эффектов фуллерена в организме, то отметим сначала работу N. Gharbi et al. [82], которые изучали действие водной суспензии C_{60} (~250–1000 нм) при внутрибрюшинном введении. Не было найдено никаких проявлений ни острой, ни хронической токсичности. При этом оказалось, что фуллерен C_{60} проникает в печень и защищает ее от поражения свободными радикалами (на модели с CCl_4). Не обнаружено никаких токсических эффектов и при исследовании токсичности комплекса фуллерена C_{60} с поливинилпирролидоном (C_{60} /ПВП) [83, 84].

Одним из факторов, осложняющих применение фуллеренов в практических целях, является недостаток данных об их судьбе в организме. Такие исследования ведутся, однако их относительно немного. Большинство аналитических методов — ВЭЖХ, масс-спектрометрия и др. — далеко не всегда дают адекватные результаты. Так, если в биологической системе (организме или органе) не найден фуллерен после его введения, это не значит, что его там нет. Чаще всего это связано с методом обработки биологического материала или низкой чувствительностью метода.

Радиоизотопный метод был и остается самым надежным, однако получать меченый фуллерен — задача не простая и не дешевая. Тем не менее с использованием меченого ^{14}C - C_{60} (**X**) было исследовано биораспределение *in vivo* у крыс и показано, в частности, что он проникает в мозг [85].

При пероральном введении соединение (**X**) очень плохо абсорбируется, в печени и в других органах наблюдаются только следы метки. А почти вся радиоактивность (до 97 %) выводится с фекалиями через 48 часов. Однако при внутривенном введении через 160 часов выводится только около 5 % активности. Эта фуллереновая кислота «слишком» липофильна для карбоновых кислот и приближается по этому показателю к «обычным» неполярным соединениям. Величина $\log P$ для свободной кислоты равна 4,5, что сравнимо с величиной для дифенилэтана ($\log P$ 4,8). Исследования биораспределения после внутривенного введения показали, что метка быстро достигает различных органов (печень, селезенка, легкие, почки, сердце и т. д., включая мозг), что указывает на способность (**X**), несмотря на высокую молекулярную массу (995 Да), проникать через гематоэнцефалический барьер. Как отмечают авторы, высокая липофильность этого карбоксифуллерена приводит к медленной кинетике экскреции и накоплению в определенных органах [85]. Это вызывает беспокойство по поводу возможного возникновения у подобных веществ долговременной токсичности или токсичности после хронического введения, поскольку со временем внутри определенных участков может достигаться токсическая концен-



X

трация или самого вещества, или продуктов его деградации.

Недавно появилось несколько работ, в которых использовался меченый фуллерен C_{60} . Было показано, что у беременных крыс фуллерен $^{14}C-C_{60}$, введенный в хвостовую вену в физиологическом растворе, содержащем ПВП, может проникать через плаценту [86].

С использованием ^{13}C -меченого C_{60} и двух его производных [^{13}C -пирролидинофуллерен-61,63-дикарбоновой кислоты и $^{13}C-C_{60}(OH)_x$] на мышах было показано, что производные накапливаются в основном в печени, костной и мышечной тканях и коже, тогда как немодифицированный фуллерен в основном накапливается в печени, селезенке и легких. Наблюдаются некоторые различия в зависимости от способа введения (внутривенного, внутривентрального или перорального), но все выводится через 7 дней. Таким образом, модификация фуллеренового кора оказывает значительное влияние на его биораспределение [87].

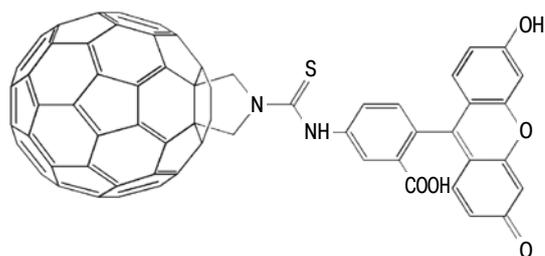
V.A. Shipelin et al. [88], после системного введения фуллерена, исследовали состояние внутренних органов-мишеней крыс методом лазерной конфокальной микроскопии, окрашивая микропрепараты флуоресцентным красителем, и не обнаружили признаков воспаления.

Следует отметить, что флуоресцентные методы при исследовании биораспределения фуллеренов нужно применять с осторожностью. С одной стороны, это связано и с тем, что фуллерены хотя и обладают свойствами флуорофора, но выражены они очень слабо и практически не могут использоваться [89]. С другой стороны, сам фуллерен может гасить в растворе флуоресценцию флуорофора, например фульвово́й кислоты [90] или порфириновых структур [91]. А в некоторых конъюгатах с флуоресцентными красителями фуллереновый кор способен гасить флуоресценцию связанного с ним остатка [92]. Считается, что это обусловлено перераспределением заряда между фуллереном и флуорофорным остатком и фотоиндуцированным внутримолекулярным переносом электрона [93].

На способности фуллеренового кора тушить флуоресценцию основана весьма любопытная структура — зонд, описанный K. Xu et al. [94]. Он состоит из двух функциональных фрагментов: флуоресцеина, играющего роль флуорофора и донора электронов, и фуллерена C_{60} , действующего как акцептор электронов и аналог субстрата для трипсина. В присутствии трипсина обнаруживается усиление флуоресценции, так как комплексообразование остатка C_{60} с трипсином ингибирует перенос электронов.

Однако C. Schuetze et al. [95] показали, что в N-флуоресцеин-5-изотиоцианате пирролидинофуллерена C_{60} (XI) тушения флуоресценции не происходит.

Этот конъюгат захватывается опухолевыми клетками и проявляет фотосенсибилизирующие свойства.



XI

Правда, не очень понятно, почему авторы говорят о проникновении в клетки фуллерена — вышеупомянутый конъюгат нельзя сравнивать с фуллереном, так как остаток флуоресцеина как минимум не меньше остатка фуллерена (что отчетливо видно из приведенного рисунка), и весьма вероятно, что именно он и «протаскивает» фуллерен в клетку.

Работы по изучению ферментативной устойчивости наноструктур углерода ведутся уже в течение нескольких лет. Незамещенный фуллерен C_{60} очень медленно разлагается в природе — меченый (^{14}C) C_{60} наблюдается в почве и через 12 недель [96]. Другие наноструктуры углерода (одно- и многостенные нанотрубки, нанохорны и др.) биodeградируют под действием ферментов [97]. Что же касается самого фуллерена C_{60} , то лишь недавно появились прямые доказательства действия на него ферментов млекопитающих [98]. Поэтому следует тщательно исследовать свойства фуллеренов при разработке лекарственных препаратов.

В последнее время появляются новые методы, дающие возможность отслеживать распределение наночастиц в целом и фуллеренов в частности в живых системах. Мощным инструментом, позволяющим получать подробную информацию о взаимодействиях с опухолью и лекарством или наночастицей с течением времени, является прижизненная микроскопия. С использованием этого метода была проведена непрерывная количественная оценка динамики фуллеренов в опухолях и нормальных тканях. В частности, прижизненная микроскопия применялась для изучения внутриутробной кинетики биотрансляции производного C_{60} -ser, вводимого внутривенно, в подкожных опухолях рака груди 4T1-luc в сравнении с нормальной тканью у живых мышей. Конъюгация C_{60} -ser с флуоресцентным красителем PromoFluoro-633 (C_{60} -serPF) позволила отслеживать флуоресценцию и относительную количественную оценку C_{60} -ser *in vivo* [99]. Авторы считают, что, поскольку этот флуорофор (~ 650 Да) сопоставим по размеру и структуре с низкомолекулярными препаратами для лечения рака, такими как паклитаксел (854 Да), его можно рассматривать как стерически модельный препарат для исследования C_{60} -serPF в качестве носителя лекарственного средства.

Подводя итог обсуждения биораспределения, биodeградации (биостабильности) и токсичности фуллеренов, подчеркнем, что, хотя фуллерен C_{60} достаточно долго остается в организме неизменным, большинство водорастворимых производных

выводятся в течение нескольких недель. Такой длительный период полувыведения должен настораживать, так как биоаккумуляция может в принципе приводить к развитию отсроченных эффектов. Хотя в общем острая оральная, дермальная и ингаляционная токсичности невелики, еще слишком мало экспериментальных исследований хронической токсичности, репродуктивной токсичности и канцерогенного эффекта. При этом фуллерены и функционализированные фуллерены с более высокой растворимостью могут вести себя по-разному. Поэтому необходимо очень ответственно подходить к исследованию токсичности каждого нового производного фуллерена.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время фуллерены, их производные и комплексы находят все большее и большее применение. Изучение биологических свойств производных фуллеренов показало, что они обладают следующими видами активности: антиоксидантной, антибактериальной, противораковой, радиозащитной, мембранотропной, могут служить ингибиторами белков, вектором для доставки лекарств, контрастирующими агентами для МРТ и для фотодинамической терапии. При поиске лекарственных препаратов, изменяя структуру производных фуллерена, возможно обеспечить точную «подстройку» их структуры для получения лекарственного вещества с определенным биологическим эффектом или для создания средств доставки лекарственного препарата к месту воздействия без побочных эффектов в других тканях и органах. При этом остается плохо исследованным вопрос об их биораспределении и метаболизме. И так как все остальные данные свидетельствуют о перспективности дальнейшего развития исследований биологической активности фуллеренов, необходимо, на наш взгляд, усилить работы по исследованию судьбы фуллеренов в организме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Teradal NL, Jelinek R. Carbon Nanomaterials in Biological Studies and Biomedicine. *Adv Healthc Mater.* 2017;6(17):1700574. doi: 10.1002/adhm.201700574.
2. Пиотровский Л.Б. Очерки о наномедицине. – СПб.: Европейский дом, 2013. [Piotrovskiy LB. *Essays on nanomedicine.* Saint Petersburg: Evropeyskiy dom; 2013. (In Russ.)]
3. Zhang GP, Sun X, George TF. Nonlinear optical response and ultrafast dynamics in C₆₀. *J Phys Chem A.* 2009;113(7):1175-1188. doi: 10.1021/jp802244b.
4. Albert K, Hsu HY. Carbon-Based Materials for Photo-Trigged Theranostic Applications. *Molecules.* 2016;21(11). doi: 10.3390/molecules21111585.
5. Osawa E. Superaromaticity. *Kagaku.* 1970;25:854-863.
6. Бочвар Д.А., Гальперн Е.Г. О гипотетических системах: карбододекаэдре, s-икозаэдрани и карбо-s-икозаэдрани // Доклады Академии наук СССР. – 1973. – Т. 209. – № 3. – С. 610–612. [Bochvar DA, Gal'pern EG. On hypothetical systems: carbododecahedron, s-icosahedron and carbo-s-icosahedron. *Dokl Akad Nauk SSSR.* 1973;209(3):610-612. (In Russ.)]
7. Елецкий А.В., Смирнов Б.М. Фуллерены и структуры углерода // Успехи физических наук. – 1995. – Т. 165. – № 9. – С. 977–1009. [Eletskiy AV, Smirnov BM. Fullerenes and the structures of carbon. *Uspekhi fizicheskikh nauk.* 1995;165(9):977-1009. (In Russ.)]. doi: 10.3367/UFNr.0165.199509a.0977.
8. Пиотровский Л.Б., Киселев О.И. Фуллерены в биологии. – СПб.: Росток, 2006. [Piotrovskiy LB, Kiselev OI. *Fullerenes in Biology.* Saint Petersburg: Rostok; 2006. (In Russ.)]
9. Jafvert CT, Kulkarni PP. Buckminsterfullerene's (C₆₀) Octanol-Water Partition Coefficient (Kow) and Aqueous Solubility. *Environ Sci Technol.* 2008;42(16):5945-5950. doi: 10.1021/es702809a.
10. Piotrovsky LB, Kiselev OI. Fullerenes and Viruses. *Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures.* 2005;12(1-2):397-403. doi: 10.1081/fst-120027198.
11. Piotrovskiy LB, Litasova EV, Dumpis MA, et al. Enhanced brain penetration of hexamethonium in complexes with derivatives of fullerene C₆₀. *Dokl Biochem Biophys.* 2016;468(1):173-175. doi: 10.1134/S1607672916030030.
12. Sijbesma R, Srdanov G, Wudl F, et al. Synthesis of a fullerene derivative for the inhibition of HIV enzymes. *J Am Chem Soc.* 1993;115(15):6510-6512. doi: 10.1021/ja00068a006.
13. Penkova AV, Acquah SF, Piotrovskiy LB, et al. Fullerene derivatives as nano-additives in polymer composites. *Russian Chemical Reviews.* 2017;86(6):530-566. doi: 10.1070/rcr4712.
14. Witte P, Beuerle F, Hartnagel U, et al. Water solubility, antioxidant activity and cytochrome C binding of four families of exohedral adducts of C₆₀ and C₇₀. *Org Biomol Chem.* 2007;5(22):3599-3613. doi: 10.1039/b711912g.
15. Brettreich M, Hirsch A. A highly water-soluble dendro[60] fullerene. *Tetrahedron Lett.* 1998;39(18):2731-2734. doi: 10.1016/s0040-4039(98)00491-2.
16. Semenov KN, Charykov NA, Keskinov VN. Fullerenol Synthesis and Identification. Properties of the Fullerenol Water Solutions. *J Chem Eng Data.* 2011;56(2):230-239. doi: 10.1021/je100755v.
17. Dawid A, Górný K, Gburski Z. The influence of distribution of hydroxyl groups on vibrational spectra of fullerenol C₆₀(OH)₂₄ isomers: DFT study. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2015;136:1993-1997. doi: 10.1016/j.saa.2014.08.023.
18. Khakina EA, Yurkova AA, Peregodov AS, et al. Highly selective reactions of C₆₀Cl₆ with thiols for the synthesis of functionalized [60]fullerene derivatives. *Chem Commun (Camb).* 2012;48(57):7158-7160. doi: 10.1039/c2cc32517a.

19. Ильин В.В., Пиотровский Л.Б. Исследование стабильности пленок фуллерена C₆₀ // Обз. клин. фармакол. лек. тер. – 2017. – Т. 15. – №. 2. – С. 42–45. [Ilyin VV, Piotrovskii LB. The study of the stability of fullerene C₆₀ films. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2017;15(2):42-45. (In Russ.)]. doi: 10.17816/RCF15242-45.
20. Lee J, Yamakoshi Y, Hughes JB, Kim J-H. Mechanism of C₆₀ Photoreactivity in Water: Fate of Triplet State and Radical Anion and Production of Reactive Oxygen Species. *Environ Sci Technol*. 2008;42(9):3459-3464. doi: 10.1021/es702905g.
21. Calvaresi M, Zerbetto F. Baiting proteins with C₆₀. *ACS Nano*. 2010;4(4):2283-2299. doi: 10.1021/nn901809b.
22. Maeda-Mamiya R, Noiri E, Isobe H, et al. *In vivo* gene delivery by cationic tetraamino fullerene. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(12):5339-5344. doi: 10.1073/pnas.0909223107.
23. Zhao B, He YY, Bilski PJ, Chignell CF. Pristine (C₆₀) and hydroxylated [C₆₀(OH)₂₄] fullerene phototoxicity towards HaCaT keratinocytes: type I vs type II mechanisms. *Chem Res Toxicol*. 2008;21(5):1056-1063. doi: 10.1021/tx800056w.
24. Kong L, Zepp RG. Production and consumption of reactive oxygen species by fullerenes. *Environ Toxicol Chem*. 2012;31(1):136-143. doi: 10.1002/etc.711.
25. Castro E, Martinez ZS, Seong CS, et al. Characterization of New Cationic N,N-Dimethyl[70]fulleropyrrolidinium Iodide Derivatives as Potent HIV-1 Maturation Inhibitors. *J Med Chem*. 2016;59(24):10963-10973. doi: 10.1021/acs.jmedchem.6b00994.
26. Misra C, Kumar M, Sharma G, et al. Glycinated fullerenes for tamoxifen intracellular delivery with improved anticancer activity and pharmacokinetics. *Nanomedicine (Lond)*. 2017;12(9):1011-1023. doi: 10.2217/nnm-2016-0432.
27. Ikeda A, Mae T, Ueda M, et al. Improved photodynamic activities of liposome-incorporated [60]fullerene derivatives bearing a polar group. *Chem Commun (Camb)*. 2017;53(20):2966-2969. doi: 10.1039/c7cc00302a.
28. Asada R, Liao F, Saitoh Y, Miwa N. Photodynamic anticancer effects of fullerene [C₆₀]-PEG complex on fibrosarcomas preferentially over normal fibroblasts in terms of fullerene uptake and cytotoxicity. *Mol Cell Biochem*. 2014;390(1-2):175-184. doi: 10.1007/s11010-014-1968-8.
29. Yang XL, Fan CH, Zhu HS. Photo-induced cytotoxicity of malonic acid [C₆₀]fullerene derivatives and its mechanism. *Toxicol In Vitro*. 2002;16(1):41-46. doi: 10.1016/s0887-2333(01)00102-3.
30. Doi Y, Ikeda A, Akiyama M, et al. Intracellular uptake and photodynamic activity of water-soluble [60]- and [70]fullerenes incorporated in liposomes. *Chemistry*. 2008;14(29):8892-8897. doi: 10.1002/chem.200801090.
31. Ikeda A, Matsumoto M, Akiyama M, et al. Direct and short-time uptake of [70]fullerene into the cell membrane using an exchange reaction from a [70]fullerene-gamma-cyclodextrin complex and the resulting photodynamic activity. *Chem Commun (Camb)*. 2009;(12):1547-1549. doi: 10.1039/b820768b.
32. Sperandio FF, Sharma SK, Wang M, et al. Photoinduced electron-transfer mechanisms for radical-enhanced photodynamic therapy mediated by water-soluble decacationic C₇₀ and C₈₄O₂ Fullerene Derivatives. *Nanomedicine*. 2013;9(4):570-579. doi: 10.1016/j.nano.2012.09.005.
33. Mizuno K, Zhiyentayev T, Huang L, et al. Antimicrobial Photodynamic Therapy with Functionalized Fullerenes: Quantitative Structure-activity Relationships. *J Nano-med Nanotechnol*. 2011;2(2):1-9. doi: 10.4172/2157-7439.1000109.
34. Yin R, Wang M, Huang YY, et al. Photodynamic therapy with decacationic [60]fullerene monoadducts: effect of a light absorbing electron-donor antenna and micellar formulation. *Nanomedicine*. 2014;10(4):795-808. doi: 10.1016/j.nano.2013.11.014.
35. Injac R, Prijatelj M, Strukelj B. Fullerenol nanoparticles: toxicity and antioxidant activity. *Methods Mol Biol*. 2013;1028:75-100. doi: 10.1007/978-1-62703-475-3_5.
36. Elshater AA, Haridy MAM, Salman MMA, et al. Fullerene C₆₀ nanoparticles ameliorated cyclophosphamide-induced acute hepatotoxicity in rats. *Biomed Pharmacother*. 2018;97:53-59. doi: 10.1016/j.biopha.2017.10.134.
37. Zhou Y, Li J, Ma H, et al. Biocompatible [60]/[70] Fullerenols: Potent Defense against Oxidative Injury Induced by Reduplicative Chemotherapy. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2017;9(41):35539-35547. doi: 10.1021/acsami.7b08348.
38. Baati T, Bourasset F, Gharbi N, et al. The prolongation of the lifespan of rats by repeated oral administration of [60]fullerene. *Biomaterials*. 2012;33(19):4936-4946. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.03.036.
39. Inui S, Aoshima H, Nishiyama A, Itami S. Improvement of acne vulgaris by topical fullerene application: unique impact on skin care. *Nanomedicine*. 2011;7(2):238-241. doi: 10.1016/j.nano.2010.09.005.
40. Xiao L, Takada H, Maeda K, et al. Antioxidant effects of water-soluble fullerene derivatives against ultraviolet ray or peroxy lipid through their action of scavenging the reactive oxygen species in human skin keratinocytes. *Biomed Pharmacother*. 2005;59(7):351-358. doi: 10.1016/j.biopha.2005.02.004.
41. Kato S, Aoshima H, Saitoh Y, Miwa N. Biological safety of LipoFullerene composed of squalane and fullerene-C₆₀ upon mutagenesis, photocytotoxicity, and permeability into the human skin tissue. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2009;104(6):483-487. doi: 10.1111/j.1742-7843.2009.00396.x.
42. Mousavi SZ, Nafisi S, Maibach HI. Fullerene nanoparticle in dermatological and cosmetic applications. *Nanomedicine*. 2017;13(3):1071-1087. doi: 10.1016/j.nano.2016.10.002.
43. Bianco A, Corvaja C, Crisma M, et al. A Helical Peptide Receptor for [60]Fullerene. *Chem Eur J*. 2002;8(7):1544-1553. doi: 10.1002/1521-3765(20020402)8:7<1544::aid-chem1544>3.0.co;2-t.
44. Qian M, Shan Y, Guan S, et al. Structural Basis of Fullerene Derivatives as Novel Potent Inhibitors of Protein Tyrosine Phosphatase 1B: Insight into the Inhibitory Mechanism

- through Molecular Modeling Studies. *J Chem Inf Model*. 2016;56(10):2024-2034. doi: 10.1021/acs.jcim.6b00482.
45. Kataoka H, Ohe T, Takahashi K, et al. Novel fullerene derivatives as dual inhibitors of Hepatitis C virus NS5B polymerase and NS3/4A protease. *Bioorg Med Chem Lett*. 2016;26(19):4565-4567. doi: 10.1016/j.bmcl.2016.08.086.
 46. Ratnikova TA, Govindan PN, Salonen E, Ke PC. *In vitro* polymerization of microtubules with a fullerene derivative. *ACS Nano*. 2011;5(8):6306-6314. doi: 10.1021/nn201331n.
 47. Giust D, Leon D, Ballesteros-Yanez I, et al. Modulation of adenosine receptors by [60]fullerene hydrosoluble derivative in SK-N-MC cells. *ACS Chem Neurosci*. 2011;2(7):363-369. doi: 10.1021/cn200016q.
 48. Miao Y, Xu J, Shen Y, et al. Nanoparticle as signaling protein mimic: robust structural and functional modulation of CaMKII upon specific binding to fullerene C₆₀ nanocrystals. *ACS Nano*. 2014;8(6):6131-6144. doi: 10.1021/nn501495a.
 49. Kim JE, Lee M. Fullerene inhibits β -amyloid peptide aggregation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;303(2):576-579. doi: 10.1016/s0006-291x(03)00393-0.
 50. Bobylev AG, Shpagina MD, Bobyleva LG, et al. Anti-amyloid properties of fullerene C₆₀ derivatives. *Biophys*. 2012;57(3):300-304. doi: 10.1134/s0006350912030050.
 51. Makarova EG, Gordon RY, Podolski IY. Fullerene C₆₀ Prevents Neurotoxicity Induced by Intrahippocampal Microinjection of Amyloid- β Peptide. *J Nanosci Nanotechnol*. 2012;12(1):119-126. doi: 10.1166/jnn.2012.5709.
 52. Gordon R, Podolski I, Makarova E, et al. Intrahippocampal Pathways Involved in Learning/Memory Mechanisms are Affected by Intracerebral Infusions of Amyloid- β 25-35 Peptide and Hydrated Fullerene C₆₀ in Rats. *J Alzheimers Dis*. 2017;58(3):711-724. doi: 10.3233/JAD-161182.
 53. Bednarikova Z, Huy PD, Mocanu MM, et al. Fullerenol C₆₀(OH)₁₆ prevents amyloid fibrillization of A β 40-*in vitro* and *in silico* approach. *Phys Chem Chem Phys*. 2016;18(28):18855-18867. doi: 10.1039/c6cp00901h.
 54. Xu X, Wang X, Li Y, et al. A large-scale association study for nanoparticle C₆₀ uncovers mechanisms of nanotoxicity disrupting the native conformations of DNA/RNA. *Nucleic Acids Res*. 2012;40(16):7622-7632. doi: 10.1093/nar/gks517.
 55. Nedumpully Govindan P, Monticelli L, Salonen E. Mechanism of taq DNA polymerase inhibition by fullerene derivatives: insight from computer simulations. *J Phys Chem B*. 2012;116(35):10676-10683. doi: 10.1021/jp3046577.
 56. Pinteala M, Dascalu A, Ungurenasu C. Binding fullerenol C₆₀(OH)₂₄ to dsDNA. *Int J Nanomedicine*. 2009;4:193-199.
 57. An H, Jin B. DNA exposure to buckminsterfullerene (C₆₀): toward DNA stability, reactivity, and replication. *Environ Sci Technol*. 2011;45(15):6608-6616. doi: 10.1021/es2012319.
 58. Bortolus M, Parisio G, Maniero AL, Ferrarini A. Monomeric fullerenes in lipid membranes: effects of molecular shape and polarity. *Langmuir*. 2011;27(20):12560-12568. doi: 10.1021/la202524r.
 59. Dugan LL, Turetsky DM, Du C, et al. Carboxyfullerenes as neuroprotective agents. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(17):9434-9439. doi: 10.1073/pnas.94.17.9434.
 60. Bosi S, Da Ros T, Spalluto G, Prato M. Fullerene derivatives: an attractive tool for biological applications. *Eur J Med Chem*. 2003;38(11-12):913-923. doi: 10.1016/j.ejmech.2003.09.005.
 61. Boutorine AS, Takasugi M, Hélène C, et al. Fullerene – Oligonucleotide Conjugates: Photoinduced Sequence-Specific DNA Cleavage. *Angew Chem Int Ed Engl*. 1995;33(2324):2462-2465. doi: 10.1002/anie.199424621.
 62. Da Ros T, Vazquez E, Spalluto G, et al. Design, synthesis and biological properties of fulleropyrrolidine derivatives as potential DNA photo-probes. *J Supramol Chem*. 2002;2(1-3):327-334. doi: 10.1016/s1472-7862(03)00089-3.
 63. Partha R, Mitchell LR, Lyon JL, et al. Buckysomes: Fullerene-Based Nanocarriers for Hydrophobic Molecule Delivery. *ACS Nano*. 2008;2(9):1950-1958. doi: 10.1021/nn800422k.
 64. Shi J, Zhang H, Wang L, et al. PEI-derivatized fullerene drug delivery using folate as a homing device targeting to tumor. *Biomaterials*. 2013;34(1):251-261. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.09.039.
 65. Liu Q, Xu L, Zhang X, et al. Enhanced photodynamic efficiency of an aptamer-guided fullerene photosensitizer toward tumor cells. *Chem Asian J*. 2013;8(10):2370-2376. doi: 10.1002/asia.201300039.
 66. Rancan F, Helmreich M, Molich A, et al. Synthesis and *in vitro* testing of a pyropheophorbide-a-fullerene hexakis adduct immunoconjugate for photodynamic therapy. *Bioconjug Chem*. 2007;18(4):1078-1086. doi: 10.1021/bc0603337.
 67. Nishihara M, Perret F, Takeuchi T, et al. Arginine magic with new counterions up the sleeve. *Org Biomol Chem*. 2005;3(9):1659-1669. doi: 10.1039/b501472g.
 68. Sitharaman B, Zakharian TY, Saraf A, et al. Water-soluble fullerene (C60) derivatives as nonviral gene-delivery vectors. *Mol Pharm*. 2008;5(4):567-578. doi: 10.1021/mp700106w.
 69. Liu Z, Liang XJ. Nano-carbons as theranostics. *Theranostics*. 2012;2(3):235-237. doi: 10.7150/thno.4156.
 70. Ceron MR, Maffei V, Stevenson S, Echegoyen L. Endohedral fullerenes: Synthesis, isolation, mono- and bis- functionalization. *Inorg Chim Acta*. 2017;468:16-27. doi: 10.1016/j.ica.2017.03.040.
 71. Liu JH, Cao L, Luo PG, et al. Fullerene-conjugated doxorubicin in cells. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2010;2(5):1384-1389. doi: 10.1021/am100037y.
 72. Krishna V, Singh A, Sharma P, et al. Polyhydroxy Fullerenes for Non-Invasive Cancer Imaging and Therapy. *Small*. 2010;6(20):2236-2241. doi: 10.1002/smll.201000847.
 73. Shinohara H. Another big discovery-metallofullerenes. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci*. 2016;374(2076). doi: 10.1098/rsta.2015.0325.
 74. Chai Y, Guo T, Jin C, et al. Fullerenes with metals inside. *J Phys Chem*. 1991;95(20):7564-7568. doi: 10.1021/j100173a002.
 75. Meng J, Liang X, Chen X, Zhao Y. Biological characterizations of [Gd@C₈₂(OH)₂₂]_n nanoparticles as fuller-

- ene derivatives for cancer therapy. *Integr Biol (Camb)*. 2013;5(1):43-47. doi: 10.1039/c2ib20145c.
76. Diener MD, Alford JM, Kennel SJ, Mirzadeh S. $^{212}\text{Pb}@C_{60}$ and Its Water-Soluble Derivatives: Synthesis, Stability, and Suitability for Radioimmunotherapy. *J Am Chem Soc*. 2007;129(16):5131-5138. doi: 10.1021/ja068639b.
77. Zhen M, Zheng J, Ye L, et al. Maximizing the relaxivity of Gd-complex by synergistic effect of HSA and carboxylfullerene. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2012;4(7):3724-3729. doi: 10.1021/am300817z.
78. Shultz MD, Duchamp JC, Wilson JD, et al. Encapsulation of a radiolabeled cluster inside a fullerene cage, $^{177}\text{Lu}_x\text{Lu}_{(3-x)}\text{N}@C_{60}$: an interleukin-13-conjugated radiolabeled metallofullerene platform. *J Am Chem Soc*. 2010;132(14):4980-4981. doi: 10.1021/ja9093617.
79. Bolskar RD. Gadofullerene MRI contrast agents. *Nanomedicine (Lond)*. 2008;3(2):201-213. doi: 10.2217/17435889.3.2.201.
80. Aschberger K, Johnston HJ, Stone V, et al. Review of fullerene toxicity and exposure – appraisal of a human health risk assessment, based on open literature. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2010;58(3):455-473. doi: 10.1016/j.yrtph.2010.08.017.
81. Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J. Nanotoxicology: An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles. *Environmental Health Perspectives*. 2005;113(7):823-839. doi: 10.1289/ehp.7339.
82. Gharbi N, Pressac M, Hadchouel M, et al. [60]fullerene is a powerful antioxidant *in vivo* with no acute or subacute toxicity. *Nano Lett*. 2005;5(12):2578-2585. doi: 10.1021/nl051866b.
83. Popov VA, Tyunin MA, Zaitseva OB, et al. C_{60} /PVP complex – No Toxicity after Intraperitoneal Injection to Rats. *Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures*. 2008;16(5-6):693-697. doi: 10.1080/15363830802317130.
84. Dumpis MA, Iljin VV, Litasova EV, et al. The acute and subacute toxicity of C_{60} /PVP complex *in vivo*. *Adv Nano Res*. 2016;4(3):167-179. doi: 10.12989/anr.2016.4.3.167.
85. Yamago S, Tokuyama H, Nakamura E, et al. *In vivo* biological behavior of a water-miscible fullerene: ^{14}C labeling, absorption, distribution, excretion and acute toxicity. *Chem Biol*. 1995;2(6):385-389. doi: 10.1016/1074-5521(95)90219-8.
86. Snyder RW, Fennell TR, Wingard CJ, et al. Distribution and biomarker of carbon-14 labeled fullerene C_{60} ($[^{14}\text{C}(\text{U})C_{60}$] in pregnant and lactating rats and their offspring after maternal intravenous exposure. *J Appl Toxicol*. 2015;35(12):1438-1451. doi: 10.1002/jat.3177.
87. Wang C, Bai Y, Li H, et al. Surface modification-mediated biodistribution of ^{13}C -fullerene C_{60} *in vivo*. *Part Fibre Toxicol*. 2016;13:14. doi: 10.1186/s12989-016-0126-8.
88. Shipelin VA, Smirnova TA, Gmshinskii IV, Tutelyan VA. Analysis of toxicity biomarkers of fullerene C_{60} nanoparticles by confocal fluorescent microscopy. *Bull Exp Biol Med*. 2015;158(4):443-449. doi: 10.1007/s10517-015-2781-4.
89. Zhao Y, Fang Y, Jiang Y. Fluorescence study of fullerene in organic solvents at room temperature. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2006;64(3):564-567. doi: 10.1016/j.saa.2005.07.054.
90. Wu F, Bai Y, Mu Y, et al. Fluorescence quenching of fulvic acids by fullerene in water. *Environ Pollut*. 2013;172:100-107. doi: 10.1016/j.envpol.2012.08.005.
91. Pal D, Bhattacharya S. Absorption spectrophotometric, fluorescence and theoretical investigations on supramolecular interaction of a designed bisporphyrin with C_{60} and C_{70} . *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2011;79(3):638-645. doi: 10.1016/j.saa.2011.03.050.
92. Yu W-D, Nie Y-M, Yuan H, et al. Synthesis and characterization of a highly stable zinc phenylporphyrin Isoxazoline-[60] fullerene dyad: Impact of coordination on the redox and fluorescence properties. *Inorg Chem Commun*. 2017;84:134-137. doi: 10.1016/j.inoche.2017.08.014.
93. Ray A, Santhosh K, Bhattacharya S. Absorption spectrophotometric, fluorescence, transient absorption and quantum chemical investigations on fullerene/phthalocyanine supramolecular complexes. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2011;78(5):1364-1375. doi: 10.1016/j.saa.2011.01.011.
94. Xu K, Liu F, Ma J, Tang B. A new specific fullerene-based fluorescent probe for trypsin. *Analyst*. 2011;136(6):1199-1203. doi: 10.1039/c0an00576b.
95. Schuetze C, Ritter U, Scharff P, et al. Interaction of N-fluorescein-5-isothiocyanate pyrrolidine- C_{60} with a bimolecular lipid model membrane. *Mater Sci Eng C*. 2011;31(5):1148-1150. doi: 10.1016/j.msec.2011.02.026.
96. Navarro DA, Kookana RS, McLaughlin MJ, Kirby JK. Fate of radiolabeled C_{60} fullerenes in aged soils. *Environ Pollut*. 2017;221:293-300. doi: 10.1016/j.envpol.2016.11.077.
97. Vlasova, II, Kapralov AA, Michael ZP, et al. Enzymatic oxidative biodegradation of nanoparticles: Mechanisms, significance and applications. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2016;299:58-69. doi: 10.1016/j.taap.2016.01.002.
98. Litasova EV, Iljin VV, Sokolov AV, et al. The biodegradation of fullerene C_{60} by myeloperoxidase. *Dokl Biochem Biophys*. 2016;471(1):417-420. doi: 10.1134/S1607672916060119.
99. Lapin NA, Vergara LA, Mackeyev Y, et al. Biotransport kinetics and intratumoral biodistribution of malonodiserialamide-derivatized [60]fullerene in a murine model of breast adenocarcinoma. *Int J Nanomedicine*. 2017;12:8289-8307. doi: 10.2147/IJN.S138641.

♦ Информация об авторах

Марина Анатольевна Думпис — канд. хим. наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория синтеза и нанотехнологий лекарственных веществ отдела нейрофармакологии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: mardoom@mail.ru.

♦ Information about the authors

Marina A. Dumpis — PhD (Chemistry), Leading Researcher, Laboratory of Synthesis and Nanotechnology of Drugs, S.V. Anichkov Dept. of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia. E-mail: mardoom@mail.ru.

Дмитрий Николаевич Николаев — научный сотрудник, лаборатория синтеза и нанотехнологий лекарственных веществ отдела нейрофармакологии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: pp225@yandex.ru.

Елена Викторовна Литасова — канд. биол. наук, старший научный сотрудник, лаборатория синтеза и нанотехнологий лекарственных веществ отдела нейрофармакологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: llitasova@mail.ru.

Виктор Владимирович Ильин — канд. хим. наук, научный сотрудник, лаборатория синтеза и нанотехнологий лекарственных веществ отдела нейрофармакологии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: victor.iljin@mail.ru.

Мария Александровна Брусина — младший научный сотрудник, лаборатория синтеза и нанотехнологий лекарственных веществ отдела нейрофармакологии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: mashasemen@mail.ru.

Левон Борисович Пиотровский — д-р биол. наук, руководитель лаборатории синтеза и нанотехнологий лекарственных веществ отдела нейрофармакологии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: levon-piotrovsky@yandex.ru.

Dmitrii N. Nikolayev — Scientific Researcher, Laboratory of Synthesis and Nanotechnology of Drugs, S.V. Anichkov Dept. of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia. E-mail: pp225@yandex.ru.

Elena V. Litasova — PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Synthesis and Nanotechnology of Drugs, S.V. Anichkov Dept. of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia. E-mail: llitasova@mail.ru.

Viktor V. Iljin — PhD (Chemistry), Scientific Researcher, Laboratory of Synthesis and Nanotechnology of Drugs, S.V. Anichkov Dept. of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia. E-mail: victor.iljin@mail.ru.

Mariya A. Brusina — Junior Researcher, Laboratory of Synthesis and Nanotechnology of Drugs, S.V. Anichkov Dept. of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia. E-mail: mashasemen@mail.ru.

Levon B. Piotrovsky — Dr. Biol. Sci., Professor, Head, Laboratory of Synthesis and Nanotechnology of Drugs, S.V. Anichkov Dept. of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia. E-mail: levon-piotrovsky@yandex.ru.