

ЗАСТОСУВАННЯ КОМПЛЕКСІВ ФУЛЕРЕНУ C₆₀ ІЗ ПРОТИПУХЛИННИМИ ПРЕПАРАТАМИ У ХІМІОТЕРАПІЇ

С. В. ПРИЛУЦЬКА

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна

E-mail: psvit@bigmir.net

Отримано 07.04.2014

Узагальнено дані літератури і результати власних досліджень щодо протипухлинної дії *in vitro* й *in vivo* фулерену C₆₀ та його похідних, цитостатиків, а також кон'югованих комплексів на їх основі, які уможливають його практичне застосування у комбінованій хіміотерапії для підвищення ефективності лікування злоякісних новоутворень.

Механізм протипухлинної дії фулерену C₆₀ у комбінованому застосуванні з цитостатиками ґрунтується на антиоксидантній властивості його молекули, що сприяє зниженню побічної токсичної дії традиційних препаратів в організмі, та здатності цілеспрямовано транспортувати їх у клітини-мішені.

Унікальна структура фулерену C₆₀ дає змогу модифікувати його поверхню хіміотерапевтичними препаратами. За комбінованої дії кон'югату «фулерен C₆₀–хіміопрепарат» спостерігається посилення протипухлинних ефектів як за умов *in vitro*, так й *in vivo*, зокрема зниження кількості життєздатних пухлинних клітин, зменшення розміру пухлини тощо. Окрім того, виявлено захисні ефекти фулерену C₆₀ та його похідних щодо токсичної дії хіміопрепаратів в організмі. Збільшення розміру кон'югату дозволяє йому довше утримуватись у клітині і подовжувати тривалість дії препарату. Здатність молекул C₆₀ до вибіркового накопичення уможливорює використання їх для таргетного доставлення ліків.

Ключові слова: фулерен C₆₀, доксорубіцин, цисплатин, паклітаксель, трансформовані клітини, комбінована хіміотерапія.

Створення нових біосумісних наноматеріалів, здатних виявляти протипухлинну активність, сприяти цілеспрямованому доставленню ліків у місця локалізації патологічних процесів і посилювати протипухлинну дію у поєднанні з традиційними хіміопрепаратами, водночас знижуючи їхні токсичні ефекти в організмі, є важливою комплексною проблемою, яка потребує використання досягнень нанобіотехнологій. Протипухлинну хіміотерапію, як окремо так і комбіновано (хірургічне втручання, гормоно-, радіо-, імунотерапія тощо), широко застосовують для лікування онкологічних захворювань (раку молочної залози, легень, крові, лімфом, сарком тощо), унаслідок чого подовжується і поліпшується життя хворих. Як відомо, протипухлинні препарати ефективно діють на клітини, що швидко проліферують. Разом з тим вони негативно впливають на нормаль-

ні клітини, спричинюючи різноманітні побічні ефекти під час і після лікування [1–3].

Характеристика цитостатиків. Найпоширенішими терапевтичними засобами у хіміотерапії раку є антибіотики антрациклінового ряду, зокрема доксорубіцин, андріаміцин, епірубіцин, рубоміцин та їх аналоги [4]. Так, доксорубіцин має антимітотичну й антипроліферативну активність, що зумовлено його здатністю цілеспрямовано взаємодіяти з ДНК (інтеркалювати) і пригнічувати синтез нуклеїнових кислот [5]. З другого боку, доксорубіцин справляє побічні ефекти на організм хворих, що обмежує його застосування у протираковій хіміотерапії. Виявлено доксорубіциніндуковану кардіо- [6], гепато- [7, 8], нефрон- [9, 10] і пульмонотоксичність [11, 12]. Ці ефекти доксорубіцину зумовлені безпосереднім ушкодженням міоцитів, гепатоцитів, альвеол, епітеліальних

клітин. Посилення запальних процесів у легенях, нирках, печінці тощо призводить до гемолітичного і уремичного синдромів, ушкодження судин та структури органів, що, у свою чергу, супроводжується хронічними їх захворюваннями і порушенням нормального функціонування організму загалом [13, 14].

Доксорубіцин опосередковано спричинює зсув окисно-відновних реакцій у пухлинах і здорових тканинах. Молекула доксорубіцину здатна проникати всередину клітини шляхом пасивної дифузії або за допомогою активного транспорту. Доксорубіцин сприяє зростанню продукції вільних радикалів — активних форм кисню (АФК) і азоту, внаслідок чого посилюються процеси пероксидного окиснення ліпідів мембран та біомолекул [15, 16], порушується функція дихального ланцюга мітохондрій [17], змінюється плинність мембран і транспорт іонів, зокрема внутрішньоклітинна концентрація іонів кальцію [18], порушується передача міжмолекулярних сигналів тощо, що зрештою призводить до загибелі клітин через апоптоз.

Наступний препарат, який широко використовують у лікуванні онкозахворювань, зокрема раку яєчників, сечового міхура, стравохода, легень, а також пухлин голови і шиї, є водорозчинне неорганічне похідне двовалентної платини — цисплатин (цис-діамінодихлорплатина) $cis\text{-}[\text{Pt}(\text{II})(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$. Похідними платини як терапевтичні препарати є тетра-, ормі-, іпро-, оксаліплатина тощо.

Цисплатин — протипухлинний металовмісний препарат алкілювальної дії, який ковалентно зв'язується з ДНК. Як сильна електрофільна сполука, він реагує з нуклеофільними групами нуклеїнових кислот та сульфгідрильними групами протеїнів. Цитотоксична дія препарату на клітини зумовлена утворенням ДНК-платинових аддуктів (із сусідніми залишками гуанінів), зшивок ДНК з протеїнами. У клітинах пухлин цисплатин спричинює вибірково і стійке гальмування синтезу ДНК і, відповідно, поділу та розмноження. Встановлено, що ці клітини чутливіші до дії препарату, ніж нормальні. Цитокінетичні характеристики свідчать, що найчутливішою до дії цисплатину є S-фаза, а за високих доз препарату — G₂-фаза мітотичного циклу [19]. Сполуки платини ушкоджують пухлини внаслідок індукції апоптозу, який опосередково активується різними шляхами сигнальної трансдукції, — посилюється продукція АФК, накопичується цитохром c у цитозолі, відбувається деполаризація мітохондрій, транслокація Вах із цитозолу в мітохондрії, знижується екс-

пресія Bcl-2, розщеплюються каспази -7 і -9, конденсується хроматин і фрагментується ДНК.

Препарати на основі платини також спричинюють побічні ефекти в організмі, а саме нефро-, гепато-, кардіотоксичність, порушення ЦНС і органів чуття тощо [20].

Паклітаксель — алкалоїд рослинного походження, який одержують напівсинтетичним шляхом з рослини *Taxus Oaccata*. Похідними цього препарату є таксол, абітаксел, інтаксел, мітотакс, паклітакс та паксен. Таксани застосовують у лікуванні раку яєчників, молочної залози, легень, пухлин голови і шиї, саркоми Капоші. Механізм їхньої дії пов'язаний зі здатністю стимулювати «збирання» мікротрубочок з димерних молекул тубуліну, стабілізувати їх структуру і гальмувати динамічну реорганізацію в інтерфазі, що порушує мітотичну функцію клітини [21]. Унаслідок цього змінюється форма, пригнічується мітоз клітин, які активно діляться. Порушення рівноваги між мікротрубочками і тубуліном завдяки незворотній полімеризації трубочок є основним механізмом антинеопластичної дії таксанів. Вони негативно впливають на серцево-судинну, дихальну, кровотворну і травну системи організму.

Отже, механізм протипухлинної дії доксорубіцину і цисплатину полягає в їхній здатності інтеркалювати в ДНК та блокувати синтез нуклеїнових кислот або викликати зсув окисно-відновних реакцій у клітині, у результаті чого індукується апоптоз. Паклітаксель порушує мітотичну функцію клітини.

Важливим залишається пошук сполук, які б знижували побічну дію традиційних цитостатиків, цілеспрямовано транспортували їх у місце патологічного процесу, контролювали лікування на клітинному рівні (радіоактивні ізотопи, флуоресцентні мітки, органічні барвники), підвищували розчинність у біодоступній формі, захищали від деградації тощо. У цьому сенсі значний інтерес становлять вуглецеві наноструктури, зокрема фулерен C₆₀.

Властивості фулерену C₆₀. Молекулі C₆₀ притаманні такі особливості:

1) нанорозмірність — діаметр молекули C₆₀ становить ~0,7 нм;

2) особливість будови — молекула C₆₀ майже сферичної форми, складається з 60 атомів вуглецю, які об'єднані у правильні гексагональні (20) і пентагональні (12) структури;

3) унікальні фізико-хімічні властивості — завдяки наявності на поверхні сис-

теми π -кон'югованих подвійних зв'язків між гекса- і пентагональними структурами молекула C_{60} зв'язує вільні радикали і виявляє антиоксидантні властивості [22–25], а за умов фотозбудження може продукувати АФК, тобто здатна виявляти прооксидантні властивості, що супроводжується загибеллю злоякісних клітин [26, 27];

4) гідрофобність — завдяки спорідненості поверхні фулерену C_{60} до ліпідного бішару плазматичної мембрани він проникає всередину клітини шляхом пасивної дифузії або ендцитозу [28, 29]. З використанням моноклональних антитіл, флуоресцентної мітки (FITC) та імунофлуоресцентної мікроскопії виявлено локалізацію молекул C_{60} у цитозолі та мітохондріях клітин нирок COS-7 мавп [30]. За допомогою просвічуальної електронної мікроскопії (ПЕМ) встановлено локалізацію похідних фулерену C_{60} у субклітинних компартментах моноцитарних макрофагів [31]. Підтверджено поглинання наночастинок фулерену C_{60} кератиноцитами HaCaT [32]. Із застосуванням конфокальної мікроскопії зафіксовано внутрішньоклітинну фотолюмінесценцію фулерену C_{60} , поглинутого клітинами молочної залози MCF10A [33];

5) токсичність — фулерен C_{60} та його водорозчинні похідні не спричинювали гострих та хронічних токсичних ефектів у системах *in vitro* й *in vivo* [23, 34]. Так, за внутрішньовенного введення фулерену C_{60} показник LD_{50} через 7 днів для мишей становив 0,7 г/кг, а для щурів — 2 г/кг [35].

Немодифікований фулерен C_{60} (10^{-6} – 10^{-5} М) не впливав на життєздатність нормальних клітин (тимоцитів щура), накопичення продуктів ПОЛ у гомогенатах печінки і мозку та стійкість еритроцитів до гемолізу [36].

Отже, молекула C_{60} — хімічно стабільна наноструктура, яка здатна взаємодіяти з біомолекулами, завдяки гідрофобним властивостям проникати крізь плазматичні мембрани та локалізуватись усередині клітини, а за низьких (фізіологічних) концентрацій не виявляє токсичної дії щодо нормальних клітин.

Проте біологічні властивості фулерену C_{60} залежать від способу його модифікації, природи замісника, концентрації у біосередовищі, умов введення в організм, тривалості інкубації, типу клітин тощо.

З метою посилення біологічної дії та підвищення biodostupnosti молекул C_{60} доцільним є створення їхніх водорозчинних похідних: іммобілізація фулерену C_{60} на хімічно інертних наночастинках діоксиду кремнію [37]; синтез комплексів фулерену C_{60} із полі-

мерами, зокрема нетоксичним детергентом полі-N-вінілпіролідом (ПВП) [38], γ -циклодекстринами (γ -ЦД) [39] та органічними розчинниками — тетрагідрофураном [40] і диметилсульфоксидом [38]; хімічна модифікація або (полі)функціоналізація фулеренового кору через приєднання замісників різної природи (гідроксильних, карбоксильних, аміногруп) [41]; створення кон'югованих комплексів фулерену C_{60} із цитостатиками [42, 43, 44].

Оскільки фулерени C_{60} здатні проникати всередину клітин різних типів і за певних умов спричинювати загибель таких пухлин, вони можуть бути використані як потенційні протипухлинні агенти.

Протипухлинні ефекти фулерену C_{60} та його похідних. Виявлено антиметастатичний і антипухлинний ефекти водорозчинного фулерену C_{60} (загальна доза 7,5 мг/кг) *in vivo*, про що свідчило подовження тривалості життя тварин-пухлиноносіїв з перещепленою карциномою Льюїс (рак легень), зниження кількості метастазів у легенях, зменшення розміру пухлини тощо [45].

Фулерол $C_{60}(\text{OH})_x$ виявляв протипухлинну активність за умов *in vivo* щодо гепатокарциноми H22 мишей, зокрема за умов внутрішньочеревного введення у концентрації 0,2 і 1 мг/кг щодня упродовж 17 діб розмір пухлини зменшувався на 32% і 38%, відповідно [46]. Окрім того, *in vitro* він стимулював активацію перитонеальних макрофагів, продукцію TNF- α , однак не спричинював гострої токсичності за концентрації 5 мг/кг.

Фулеренол $C_{60}(\text{OH})_{20}$ (0,08–0,4 мг/мл) виявляв протипухлинну і антиметастатичну активність щодо клітин ЕМТ-6 (метастатична модель раку молочної залози), про що свідчило зниження експресії факторів ангіогенезу CD-31. Припускають, що інгібування росту пухлини і метастазів відбувається через пригнічення сигнальних шляхів за участю тирозинових кіназ [47].

Похідне фулерену $[\text{Gd}@C_{82}(\text{OH})_{22}]$ характеризувалося імуномодулювальною активністю *in vivo* й *in vitro*, унаслідок чого відбувалася стимуляція макрофагів і Т-клітин, вивільнення цитокінів IL-2, IL-4, IL-5, TNF- α і IFN- γ , які сприяють інгібуванню росту пухлини *in vivo* [48].

Наночастинки фулерену C_{60} впливали на проліферацію клітин HeLa за АФК-індукованим механізмом і шляхом посилення автофагії, оскільки всередині клітини їх захоплювали автофагосоми [49].

Виявлено значну антиангіогенну активність фулеренів C_{60} щодо фактора росту

фібробластів або ендотеліального фактора росту судин на моделі мембрани алантоїну курча [50]. Авторами [51] встановлено, що похідні фулерену C_{60} за низьких концентрацій здатні регулювати одночасно більше 10 ангіогенних факторів на рівні мРНК, що й підтверджено на рівні протеїну. Крім того, автори [52] показали, що нановуглецеві частинки, одержані різними методами, пригнічували ангіогенез гліобластоми *in ovo*. Отже, наведені результати чітко вказують, що C_{60} -фулеренвмісні матеріали є ефективними антиангіогенними інгібіторами, які можуть одночасно впливати на кілька чинників.

Механізм протипухлинної дії фулерену C_{60} до кінця ще не з'ясовано. Припускають, що він може бути реалізований на декількох рівнях, зокрема через вплив на елементи позаклітинного матриксу, структурно-функціональний стан плазматичної мембрани або проведення регуляторних сигналів чи інших внутрішньоклітинних медіаторів прогресії клітинного циклу. Особливістю протипухлинної дії фулерену C_{60} та його похідних є також їхня здатність до вибіркового накопичення та ушкодження трансформованих клітин.

*Біорозподіл C_{60} -вмісних сполук *in vitro* та *in vivo*.* Досліджено біорозподіл водорозчинного кон'югату $^{125}\text{I}-C_{60}$ -ПЕГ (поліетилен-гліколь) в організмі мишей-пухлиноносців (підшкірно вводили клітини фібросаркоми MethA). Кон'югат (концентрація фулерену C_{60} становила 424 мкг/кг) вводили тваринам внутрішньовенно, коли розмір пухлини досягав 7 мм. Спостерігали рівномірне розподілення кон'югату в усіх органах: через 24 год після введення препарат накопичувався у печінці (6%), нирках (2%), легенях та серці (0,1%) і виводився кровотоком з організму поступово (78%), а через 144 год — повністю. Кон'югат C_{60} -ПЕГ не виявляв спорідненості до нормальних тканин, однак більшою мірою накопичувався та довше утримувався у пухлині, ніж у нормальних тканинах [53].

Після внутрішньовенного введення полігидроксильованого похідного фулерену $^{125}\text{I}-C_{60}(\text{OH})_x$ (10 мкг) у хвостову вену мишам-пухлиноносцям було встановлено, що через 24 год ця сполука накопичувалася переважно в пухлині порівняно з нормальною м'язовою тканиною (Т/Н), зокрема за гепатоканциноми мишей H22 (3,41 Т/Н), остеосаркоми людини OS732 (1,21 Т/Н), карциноми легень людини PD (2,46 Т/Н), раку ободової кишки людини НСТ-8 (3,41 Т/Н) і раку шлунка людини MGC803 (6,26 Т/Н). Рівень

накопичення $C_{60}(\text{OH})_x$ у пухлинах залежав від її типу [54].

Автори [46] вважають, що доставлення наночастинок здійснюється головним чином мононуклеарною фагоцитарною системою печінки, селезінки, легень і кісткового мозку, а проникнення, утримання та накопичення фулеренів C_{60} у пухлині відбувається унаслідок фагоцитозу мононуклеарними фагоцитами.

З використанням лазерної сканувальної конфокальної мікроскопії та проточної цитометрії досліджено розподіл водорозчинного маломодисериноламідного похідного фулерену C_{60} (C_{60} -ser) і його локалізацію всередині пухлинних клітин печінки [55]. Для цього до похідного фулерену C_{60} було приєднано флуорофор — PromoFluor-633 (PF). Показано, що через 2 год кон'югат C_{60} -ser-PF локалізувався в ядрах клітин Hep3B і Huh7, проникаючи через клітинні бар'єри — ядерно-поровий комплекс. Припускають, що наночастинок проникають у клітину енергозалежним шляхом макропіно- та ендоцитозу.

Автори [55] також дослідили біорозподіл кон'югату фулерену C_{60} *in vivo*. Для цього мишам вводили в печінку клітини Hep3B, а через 4 тижні у хвостову вену — C_{60} -ser-PF. Через 16 год наночастинок концентрувались у нирках, печінці, пухлині печінки і мозку. Імовірно, кон'юговані наночастинок C_{60} -ser-PF асоціюються з протеїнами сироватки крові і долають гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ), уникаючи ретикулоендотеліальної системи, та проникають у тканини через змінену систему судин.

З метою вивчення біорозподілу та візуалізації в організмі тварин наночастинок до кон'югату $^{59}\text{Fe}-C_{60}$ -ПЕГ було приєднано гадоліній і одержано хелатний комплекс C_{60} -ПЕГ-Gd [56]. Через 1 год після внутрішньовенного введення $^{59}\text{Fe}-C_{60}$ -ПЕГ-Gd мишам-пухлиноносцям з фібросаркомою людини Meth AR1 ця сполука накопичувалась у пухлині, а за умов фотозбудження досліджуваній кон'югат виявляв протипухлинний ефект, який залежав від дози і тривалості опромінення.

У групі тварин, яким попередньо вводили полігидроксильовані фулерени C_{60} , порівняно з контрольною групою фіксували чітко сформовану межу між пухлиною (H22 гепатоканцинома миші) і сусідньою нормальною тканиною, зокрема відмежовування фібробластів, лімфоцитів і макрофагів, що інгібувало інфільтрацію пухлини до сусідньої нормальної скелетної м'язової тканини [46]. Спостерігали некроз пухлинної тканини.

Кон'югація фулеренів C_{60} з протипухлинними препаратами, наприклад доксорубіцином, цисплатиною, паклітакселем тощо, може допомогти збалансувати побічні ефекти цих цитостатиків, а також сприяти цілеспрямованому доставленню їх шляхом вибіркового поглинання пухлинними клітинами. Розмір молекули фулерену C_{60} сприяє утриманню кон'югованого фармацевтичного препарату в організмі і, таким чином, може подовжити терапевтичну дію.

Протипухлинний ефект фулерену C_{60} у комплексі з хіміопрепаратами. Кон'югація фулерену C_{60} із традиційними лікарськими препаратами є перспективною стратегією для набуття ними специфічних властивостей, оскільки їхня біологічна дія істотно відрізняється від дії вільних молекул ліків за механізмом проникнення всередину клітини і біорозподілом.

Так, теоретично (у рамках модельних квантово-хімічних розрахунків) і експериментально (у межах вимірювання спектрів поглинання складних систем) [42] підтверджено можливість існування у водному розчині стабільного комплексу фулерену C_{60} із доксорубіцином. Згідно з одержаними результатами три молекули доксорубіцину здатні одночасно зв'язуватись із фулереном C_{60} , утворюючи комплекс діаметром близько 1,38 нм (рисунок).

В експериментах *in vitro* продемонстровано, що комплекс фулерену C_{60} із доксорубіцином знижував токсичний ефект цитостатика на нормальні клітини (гепатоцити), тоді як загибель пухлинних клітин (асцитна карцинома Ерліха) зростала [57]. Спостерігали також підвищення функціональної активності лімфоцитів за присутності цього комплексу порівняно з уведенням цих сполук окремо.



Розрахована оптимальна структура комплексу фулерену C_{60} із доксорубіцином

Виявлено антипроліферативний ефект фулеролу C_{60} , який мав дозо- (0,5–7,9 мкг/мл) та часозалежний характер (24, 48 і 72 год), а також його захисний ефект щодо цитотоксичної дії доксорубіцину [58]. Фулерол $C_{60}(OH)_{22}$ інгібував ріст клітин ліній MCF-7, MDA-MB-231 і T47D раку молочної залози людини (через 24 год після інкубації клітин у присутності фулеролу індекс IC_{50} становив 1,9 мкг/мл). Доксорубіцин у межах концентрації 0,001–100 мкМ пригнічував ріст пухлинних клітин. Показник IC_{50} для нього залежав від типу клітин і терміну інкубації та коливався від 0,07 до 5,5 мкМ. Захисну дію фулеролу (1,9 мкг/мл) досліджували за одночасного внесення з доксорубіцином (1 мкМ), а також за 1 год до і після введення препарату в суспензію клітин, унаслідок чого їх проліферація відновлювалася до значень за внесення лише фулеролу і контрольного розчину.

Доксорубіцин індукував окисне ушкодження, тоді як фулеренол запобігав цьому, виявляючи антиоксидантні властивості [59], а саме *in vivo* фулеренол $C_{60}(OH)_{24}$ (25, 50, 100 мг/кг) запобігав токсичній дії доксорубіцину (8 мг/кг). Показано, що за внутрішньочеревного введення фулеренолу тваринам з індукованим раком молочної залози та колоректальним раком перед терапією доксорубіцином рівень активності антиоксидантних ензимів (супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази, глутатіонредуктази) та лактатдегідрогенази у сироватці крові тварин відновлювався до контрольних значень, тимчасом як за дії доксорубіцину рівень їх знижувався. За умов *in vitro* виявлено захисний ефект фулеренолу (10 і 44 мкг/мл) як за попередньої преінкубації клітин гепатоцелюлярної карциноми людини (HepG2), так і за одночасного внесення з доксорубіцином (1 і 5 мкМ) через 12, 24, 48 і 96 год.

Фулеренол виявляв антипроліферативні властивості і захисні ефекти від кардіотоксичної дії доксорубіцину [60].

Протипухлинний препарат доксорубіцин характеризується поглинанням і флуоресценцією у видимій ділянці спектра, що дає змогу детектувати доксорубіцинвмісні кон'югати за допомогою оптичних методів. З використанням флуоресцентної мікроскопії досліджували розподіл кон'югату «фулерен C_{60} –доксорубіцин» у клітинах раку молочної залози людини (MCF-7) [61]. Показано, що кон'югат через 1 год після інкубації з клітинами MCF-7 локалізувався переважно в цитоплазмі (в ендосомах і лізосомах), а вільні молекули доксорубіцину — в ядрі клітини. Доцільно застосовувати цей

кон'югат для доставлення протипухлинного препарату і візуалізації його локалізації у пухлині з використанням флуоресцентних зондів.

З метою дослідження розподілу лікарських препаратів в організмі кон'югат «фулерен C₆₀-доксорубіцин» вводили у м'язову тканину грудей ембріона курчати. Концентрація фулерену C₆₀ становила 5 мг/мл, а доксорубіцину — 31, 63, 125, 250 і 500 мкг/мл. Показано, що доксорубіцин здатен флуоресціювати за 6549, а комплекс — 5849 опт. од. Із застосуванням вискоефективної рідинної хроматографії (HPLC) і електрохімічної детекції (HPLC-ED) встановлено, що через 4 год після введення в ембріон курчат цей кон'югат розподілявся у таких органах, як серце, мозок, печінка і кишечник [62].

Виявлено протипухлинну дію полігідроксильованих фулеренів C₆₀ (фулеренолів) у комбінованій дії з протипухлинними препаратами (доксорубіцин, цисплатина) і локалізацію кон'югату «наночастинки-препарат» усередині клітин пухлин [63]. Гідрофільна поверхня молекули C₆₀ завдяки ОН-групі є доступною для модифікації препаратами.

Токсичні ефекти кон'югату «фулеренол-доксорубіцин» виявлено *in vitro* на клітинах В16-F10 меланоми і LLC1 карциноми легень мишей. Показник IC₅₀ через 24 год після внесення кон'югату до суспензії пухлинних клітин становив 12 і 10 мкМ, відповідно. Його цитотоксична дія посилювалась із часом. Для клітин MDA-MB-231 раку молочної залози людини індекс IC₅₀ становив 8 мкМ через 72 год після внесення кон'югату. З використанням флуоресцентної мітки (FITC), яку було введено до складу фулеренолу, досліджено поглинання наночастинок клітинами пухлин. Показано, що через 2 год після інкубації кон'югат «фулеренол-доксорубіцин» локалізувався у лізосомальних компартментах клітин В16-F10 і через 24 год — у клітинах MDA-MB-231. Через 24 год кон'югат пригнічував проліферацію клітин В16-F10 унаслідок блокування клітинного циклу у фазі G₂-М шляхом апоптозу.

За умов *in vivo* кон'югат фулеренол-доксорубіцин (вводили у хвостову вену по 6 мг/кг в еквіваленті доксорубіцину тричі на 9-, 12- і 15-ту добу після підшкірного перещеплення пухлинних клітин) істотно пригнічував ріст меланоми В16/В10 у мишей-пухлиноносіїв через 16 діб після перещеплення пухлини.

Кон'югат «фулеренол-цисплатина» виявляв антипроліферативний ефект порівня-

но з дією цисплатини, зокрема виживаність клітин LLC1 через 48 год після внесення цього кон'югату була нижчою, ніж за введення одного препарату.

Ковалентно зв'язаний кон'югат фулерену (метано-C₆₀) (0,32 мМ) з доксорубіцином (25 мкг/мл) за умов *in vitro* справляв антинеопластичну дію щодо клітин раку молочної залози людини — кількість життєздатних клітин MCF-7 через 24 год знижувалася порівняно з дією доксорубіцину [43].

Паклітаксель є одним з найперспективніших хіміопрепаратів щодо раку легень. Наявність вільних гідроксильних груп у молекулі (найбільш реактивними є ОН-групи в положеннях 1 і 7) дає змогу вводити до його складу сполуки, які здатні посилювати протипухлинну дію. Синтезований кон'югат «фулерен C₆₀-паклітаксель» виявляв протипухлинну активність стосовно клітин епітеліальної карциноми легень людини А549 [44]. Запропоновано використовувати цей кон'югат для лікування раку легень шляхом аерозольного введення.

Досліджено цитотоксичні властивості й локалізацію всередині клітин фулерену C₆₀ з інкапсульованим гідрофобним паклітакселем [64]. Із цією метою до складу наноносія було введено флуоресцентну мітку 1,1'-діоктадецил-3,3',3',3'-тетраметиліндокарбоціанін перхлорат (DiI). Використовуючи флуоресцентну мікроскопію, встановили, що *in vitro* через 18 год цей кон'югат локалізувався у цитоплазмі макрофагів мишей і проникав всередину клітини шляхом ендоцитозу. Окрім того, наносій з іншою флуоресцентною міткою (6-амінофлуорисцеїн) через 18 год локалізувався у ліпідних ділянках мембран клітин А431 епідермоїдної карциноми людини. Цитотоксичної дії вільного фулерену C₆₀ на клітини MCF-7 молочної залози виявлено не було, водночас кон'югат «фулерен C₆₀-паклітаксель» пригнічував пухлинний ріст. Автори пропонують використовувати такі наноматеріали для доставлення гідрофобних молекул.

З метою цілеспрямованого доставлення ліків, зокрема паклітакселею, до онкоклетин було синтезовано водорозчинний хіміотерапевтичний фулерен C₆₀-вмісний кон'югат [65]. Досліди проводили *in vitro* на культурі клітин меланоми А375М, раку сечового міхура Т-24 і гепатоцелюлярної карциноми Нер3В. Порівняно з дією вільного паклітакселею паклітаксель-2'-сукцинат-фулерен C₆₀ виявляв меншу цитотоксичність, тимчасом як ПЕГ-вмісне похідне фулерену C₆₀ — значну. За допомогою аналізу ELISA встановлено, що імунокон'югат Gd@C₆₀(OH)_x-mAb специ-

фічно зв'язується з антитілами (мас-спектрометрія ICP-MS) і вибірково накопичується у клітинах-мішенях. На моделі мишей *in vivo* показано, що за введення похідного паклітаксель-ПЕГ-фулерену C₆₀ розмір пухлини зменшувався порівняно з дією препарату Абрахане®. Виявлений ефект не був пов'язаний із втратою тваринами маси. У роботі також продемонстровано значний цитотоксичний ефект і протипухлинну дію кон'югату «фулерен C₆₀-паклітаксель».

Механізм протипухлинної дії фулерену C₆₀ у комбінованому застосуванні з цитостатиками можна пояснити антиоксидантною властивістю молекули C₆₀, що сприяє зниженню побічної дії традиційних хіміопрепаратів в організмі та здатністю цілеспрямовано транспортувати їх у клітини-мішені.

У таблиці наведено основні фізико-хімічні характеристики і біологічні ефекти фулерену C₆₀ та його похідних.

Отже, унікальна структура фулерену C₆₀ дає змогу модифікувати його поверхню протипухлинними препаратами. За комбінованої дії кон'югату «фулерен C₆₀-препарат» спостерігається посилення протипухлинних ефектів як *in vitro*, так й *in vivo*, зокрема зниження кількості життєздатних клітин пухлини, зменшення її розміру тощо. Окрім того, виявлено захисні ефекти фулерену C₆₀ та його похідних від токсичної дії препарату. Збільшення розміру кон'югату дозволяє йому довше утримуватись у клітині й подовжувати тривалість дії препарату. Здатність молекул C₆₀ до вибіркового накопичення уможливорює використання їх для таргетного доставлення ліків.

Фізико-хімічні характеристики і біологічні ефекти фулерену C₆₀ та його похідних

Сполука (розмір наночастинки)	Об'єкт досліджень	Біологічні ефекти	Концентрація фулерену C ₆₀	Умови досліджу	Умови введення	Джерело
C ₆₀	Карцинома Льюїс	Антиметастатичний, антипухлинний	7,5 мг/мл	<i>In vivo</i>	Внутрішньом'язове у кінцівку	[45]
C ₆₀	Клітини MCF-7	Цитотоксичність	10 ⁻⁵ М	<i>In vitro</i>		[66]
C ₆₀ (OH) _x	Гепатокарцинома H22 мишей	Протипухлинна активність	0,2, 1 мг/мл	<i>In vivo</i>	Внутрішньочеревне	[46]
	Перитонеальні макрофаги	Продуктування TNF-α, захист імунної системи	15, 30, 60 мкг/мл	<i>In vitro</i>		[46]
C ₆₀ (OH) ₂₀	Клітини ЕМТ-6 (метастатична модель раку молочної залози)	Протипухлинна і антиметастатична активність	0,08-0,4 мг/мл	<i>In vitro</i>		[47]
[Gd@C ₈₂ (OH) ₂₂]	T-, В-лімфоцити, перитонеальні макрофаги	Імуномодульвальна активність, підвищення рівня протизапальних цитокінів (IL-2, 4, 5, 6, TNF-α)	100 мкМ	<i>In vitro</i>		[48]
	Карцинома Льюїс	Протипухлинна активність	0,5 мкМ/кг	<i>In vivo</i>	Внутрішньочеревне	[48]
C ₆₀	Клітини HeLa	Зниження проліферації, посилення автофагії		<i>In vitro</i>		[49]
C ₆₀ -ПЕГ-Gd	Фібросаркома людини Meth AR1	За умови фотозбудження протипухлинний ефект	100 мкМ/кг	<i>In vivo</i>	Внутрішньочеревне	[56]
Комплекс C ₆₀ з Dox	Гепатоцити, клітини асцитної карциноми Ерліха (рак молочної залози)	Зниження токсичного ефекту цитостатика	0,15, 1,5 мг	<i>In vitro</i>		[57]

$C_{60}(OH)_{22}$	клітини MCF-7, MDA-MB-231, T47D раку молочної залози людини	Антипроліферативний ефект, захисний ефект щодо цитотоксичної дії доксорубіцину	0,5-7,9 мкг/мл (IC_{50} 1,9 мкг/мл)	<i>In vitro</i>		[58]
$C_{60}(OH)_{24}$ комбіновано з доксорубіцином	Рак молочної залози, колоректальний рак	Захисний ефект щодо токсичної дії доксорубіцину	(25, 50, 100 мг/кг)	<i>In vivo</i>	Внутрішньочеревне	[59]
	Клітини гепатоцелюлярної карциноми людини (HepG2)	Захисний ефект щодо цитотоксичної дії доксорубіцину	10, 44 мкг/мл	<i>In vitro</i>		[59]
Фулеренол	Гомогенат серця, еритроцити, лейкоцити	Антипроліферативні властивості, захисні ефекти від кардіотоксичної дії доксорубіцину	50, 100 мг/кг	<i>In vivo</i>	Внутрішньочеревне	[60]
Кон'югат фулеренол-доксорубіцин	Клітини B16-F10 меланоми, клітини LLC1 карциноми легень мишей, клітини MDA-MB-231 раку молочної залози людини	Цитотоксична дія, пригнічення проліферації клітин B16-F10 внаслідок блокування клітинного циклу у фазі G2-M шляхом апоптозу, протипухлинна активність	IC_{50} 12 і 10 мкМ, 8 мкМ	<i>In vitro</i>		[63]
Кон'югат фулеренол-цисплатин (10-100 нм)	Клітини LLC1	Антипроліферативний ефект щодо пухлинних клітин		<i>In vitro</i>		[63]
Кон'югат (метано- C_{60})-доксорубіцин	Клітини MCF-7 раку молочної залози людини	Антинеопластичний ефект	0,128 мМ, 0,83 мМ, 0,32 мМ	<i>In vitro</i>		[43]
Кон'югат фулерен C_{60} -паклітаксель (120-145 нм)	Клітини епітеліальної карциноми легень людини A549	Протипухлинна активність	410 нМ	<i>In vitro</i>		[44]
Кон'югат фулерен C_{60} -паклітаксель (128 нм)	Клітини MCF-7 молочної залози	Зниження життєздатності пухлинних клітин	0,48 мМ	<i>In vitro</i>		[64]
Кон'югат фулерен C_{60} -паклітаксель (130 нм)	Клітини меланоми A375M, раку сечового міхура T-24, гепатоцелюлярної карциноми Hep3B	Цитотоксичний ефект	IC_{50} 40 нМ IC_{50} 70 нМ	<i>In vitro</i>		[65]
Кон'югат Gd@ПЕГ-фулерен C_{60}	Клітини меланоми A375M, раку сечового міхура T-24, гепатоцелюлярної карциноми Hep3B	Цитотоксичний ефект	6,67 нМ (IC_{50} 44,8 нг/мл, 13320 нг/мл)	<i>In vitro</i>		[65]
Кон'югат паклітаксель-фулерен C_{60} (245 нм)	Модель гепатоцелюлярної карциноми Hep3B мишей	Зменшення розміру пухлини	78 мкг/кг упродовж 5 днів	<i>In vivo</i>	Внутрішньочеревне	[65]

REFERENCES

1. Severin E. S., Rodina A. V. Problems and prospects of modern anticancer therapy. *Uspekhi Biologicheskoy Khimii*. 2006, V. 46, P. 43–64. (In Russian).
2. Deavall D. G., Martin E. A., Horner J. M., Roberts R. Drug-induced oxidative stress and toxicity. *J. Toxicol.* 2012, 13. ID 645460, <http://dx.doi.org/10.1155/2012/645460>.
3. De Vita V. T., Hellman S., Rosenberg S. A. Principles and practice of oncology. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 2001, P. 1126–1161.
4. Thorna C. F., Oshiroa C., Marshe S., Hernandez-Boussard T., McLeod H., Kleina T. E., Russ B. Altmana doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects. *Pharmacogenet. Genomics*. 2011, 21 (7), 440–446.
5. Kizek R., Adam V., Hrabeta J., Eckschlager T., Smutny S., Burda J. V., Frei E., Stiborova M. Anthracyclines and ellipticines as DNA-damaging anticancer drugs: Recent advances. *Pharmacol. Therap.* 2012, V. 133, P. 26–39.
6. Minotti G., Menna P., Salvatorelli E., Cairo G., Gianni L. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol. Rev.* 2004, V. 56, P. 185–229.
7. Yagmurca M., Bas O., Mollaoglu H., Sahin O., Nacar A., Karaman O., Songur A. Protective effects of erdosteine on doxorubicin induced hepatotoxicity in rats. *Arch. Med. Res.* 2007, V. 38, P. 380–385.
8. Pedrycz A., Wieczorski M., Czerny K. Increased apoptosis in the adult rat liver after a single dose of adriamycin administration. *Ann. UMCS. Sect.* 2004, V. 59, P. 313–318.
9. Hahn H., Park Y. S., Ha I. S., Cheong H. I., Choi Y. Age-related differences in adriamycin-induced nephropathy. *Pediatr. Nephrol.* 2004, V. 19, P. 761–766.
10. Liu L. L., Li Q. X., Xia L., Li J., Shao L. Differential effects of dihydropyridine calcium antagonists on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Toxicology*. 2007, V. 231. P. 81–90.
11. Meadors M., Floyd J., Perry M. C. Pulmonary toxicity of chemotherapy. *Semin. Oncol.* 2006, V. 33, P. 98–105.
12. Tsai S. F., Yang C., Liu B. L., Hwang J. S., Ho S. P. Role of oxidative stress in angiotensin-induced pulmonary toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2006, V. 216, P. 347–353.
13. Reinhold S. W., Reichle A., Leiminger S., Bergler T., Hoffmann U., Krüger B., Banas B., Krämer B. K. Renal function during rofecoxib therapy in patients with metastatic cancer: retrospective analysis of a prospective phase II trial. Renal function during rofecoxib therapy in patients with metastatic cancer: retrospective analysis of a prospective phase II trial. *BMC Res. Notes*. 2011, V. 4, P. 2–24.
14. Francescato H. D., Marin E. C., de Queiroz Cunha F., Costa R. S., da Silva C. G., Coimbra T. M. Role of endogenous hydrogen sulfide on renal damage induced by adriamycin injection. *Arch. Toxicol.* 2011, V. 85, P. 1597–1606.
15. Minotti G. NADPH- and adriamycin-dependent microsomal release of iron and lipid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 1990, V. 277, P. 268–276.
16. Matyash M. G., Kravchuk T. L., Vysotskaya V. V., Chernov V. I., Goldberg V. E. Anthracycline-induced cardiotoxicity: mechanisms of development and clinical manifestations. *Sib. Oncol. Zh.* 2008, 6 (30), 66–75. (In Russian).
17. Chaiswing L., Cole M. P., St Clair D. K., Ittarat W., Szweda L. I., Oberley T. D. Oxidative damage precedes nitrative damage in adriamycin-induced cardiac mitochondrial injury. *Toxicol. Pathol.* 2004, 32 (5), 536–547.
18. Ewer M. S., Benjamin R. S. Cardiotoxicity of chemotherapeutic drugs. In M. C. Perry, ed. *The Chemotherapy source book*. 1997, P. 649–663.
19. Cepeda V., Fuertes M. A., Castilla J., Alonso C., Quevedo C., Pérez J. M. Biochemical mechanisms of cisplatin cytotoxicity. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*. 2007, V. 7, P. 3–18.
20. Florea A.-M., Busselberg D. Cisplatin as an anti-tumor drug: cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects. *Cancers*. 2011, V. 3, P. 1351–1371. doi:10.3390/cancers3011351.
21. Priyadarshini K., Keerthi Aparajitha U. Paclitaxel against cancer: A short review. *Med. Chem.* 2012, 2 (7), <http://dx.doi.org/10.4172/2161-0444.1000130>.
22. Gharbi N., Pressac M., Hadchouel M., Szwarc H., Wilson S., Moussa F. [60] Fullerene is a powerful antioxidant *in vivo* with no acute or subacute toxicity. *Nano Lett.* 2005, V. 5, P. 2578–2585.
23. Kolosnjaj J., Szwarc H., Moussa F. Toxicity studies of fullerenes and derivatives. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2007, V. 620, P. 168–180.
24. Prylutska S. V., Grynyuk I. I., Matyshevska O. P., Prylutskyi Y. I., Ritter U., Scharff P. Anti-oxidant properties of C₆₀ fullerenes *in vitro*. *Fullerenes, Nanotubes, and Carbon Nanostruct.* 2008, V. 5–6, P. 698–705.
25. Johnston H. J., Hutchison G. R., Christensen F. M., Aschberger K., Stone V. The biological mechanisms and physicochemical characteristics responsible for driving fullerene toxicity. *Toxicol. Sci.* 2010, V. 114, P. 162–182.
26. Scharff P., Ritter U., Matyshevska O. P., Prylutska S. V., Grynyuk I. I., Golub A. A.,

- Prylutsky Yu. I., Burlaka A. P.* Therapeutic reactive oxygen generation. *Tumori*. 2008, 94 (2), 278–283.
27. *Prylutska S. V., Grynyuk I. I., Palyvoda K. O., Matyshevska O. P.* Photoinduced cytotoxic effect of fullerenes C₆₀ on transformed T-lymphocytes. *Exp. Oncol.* 2010, 32 (1), 29–32.
 28. *Wong-Ekkabut J., Baoukina S., Triampo W., Tang I-M., Tieleman P. D., Monticelli L.* Computer simulation study of fullerene translocation through lipid. *Nat. Nano.* 2008, 3 (6), 363–368.
 29. *Prylutska S., Bilyy R., Overchuk M., Bychko A., Andreichenko K., Stoika R., Rybalchenko V., Prylutsky Yu., Tsierkezos N. G., Ritter U.* Water-soluble pristine fullerenes C₆₀ increase the specific conductivity and capacity of lipid model membrane and form the channels in cellular plasma membrane. *J. Biomed. Nanotechnol.* 2012, 8 (3), 522–527.
 30. *Foley S., Crowley C., Smahhi M., Bonfils C., Erlanger B. F., Seta P., Larroque C.* Cellular localisation of a water-soluble fullerene derivative. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002, V. 294, P. 116–119.
 31. *Porter A. E., Muller K., Skepper J., Midgley P., Welland M.* Uptake of C₆₀ by human monocyte macrophages, its localization and implications for toxicity: Studied by high resolution electron microscopy and electron tomography. *Acta Biomater.* 2006, 2 (4), 409–419.
 32. *Horie M., Nishio K., Kato H., Shinohara N., Nakamura A., Fujita K., Kinugasa S., Endoh S., Yamamoto K., Yamamoto O., Niki E., Yoshida Y., Iwahashi H.* In vitro evaluation of cellular responses induced by stable fullerene C₆₀ medium dispersion. *J. Biochem.* 2010, V. 148, P. 289–298.
 33. *Levi N., Hantgan R. R., Lively M. O., Carroll D. L., Prasad G. L.* C₆₀-fullerenes: detection of intracellular photoluminescence and lack of cytotoxic effects. *J. Nanobiotechnol.* 2006, V. 4, P. 14–25.
 34. *Aschberger K., Johnston H. J., Stone V., Aitken R. J., Tran C. L., Hankin S. M., Peters S. A., Christensen F. M.* Review of fullerene toxicity and exposure appraisal of a human health risk assessment, based on open literature. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2010, V. 58, P. 455–457.
 35. *Yamago S., Tokuyama H., Nakamura E., Kikuchi K., Kananishi S., Sueki K., Nakahara H., Enemoto S., Ambe F.* In vivo biological behavior of a water-miscible fullerene: labeling, absorption, distribution, excretion and acute toxicity. *Chem. Biol.* 1995, V. 2, P. 385–389.
 36. *Prylutska S. V., Matyshevska O. P., Golub A. A., Prylutsky Yu. I., Potebnya G. P., Ritter U., Scharff P.* Study of C₆₀ fullerenes and C₆₀-containing composites cytotoxicity *in vitro*. *Mater. Sci. Engineer. C.* 2007, V. 27, P. 1121–1124.
 37. *Golub A., Matyshevska O., Prylutska S., Sysoyev V., Ped L., Kudrenko V., Radchenko E., Prylutsky Yu., Scharff P., Braun T.* Fullerenes immobilized at silica surface: topology, structure and bioactivity. *J. Mol. Liq.* 2003, 105 (2–3), 141–147.
 38. *Ruoff R. S., Tse D. S., Malhotra M., Lorents D. C.* Solubility of fullerene C₆₀ in a variety of solvents. *J. Phys. Chem.* 1993, V. 97, P. 3379–3383.
 39. *Anderson T., Westman G., Wennerstrom O., Sundahl M.* NMR and UV-VIS investigation of water-soluble fullerene-C₆₀- α -cyclodextrin. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II.* 1994, V. 5, P. 1097–1101.
 40. *Trpkovic A., Todorovic-Markovic B., Kleut D., Misirkic M., Janjetovic K., Vucicevic L., Pantovic A., Jovanovic S., Dramicanin M., Markovic Z., Trajkovic V.* Oxidative stress-mediated hemolytic activity of solvent exchange-prepared fullerene (C₆₀) nanoparticles. *Nanotechnology.* 2010, 21 (37), 37–45.
 41. *Troshin P. A., Lyubovskaya R. N.* Organic chemistry of fullerenes: the major reactions, types of fullerene derivatives and prospects for practical use. *Russ. Chem. Rev.* 2008, 77 (4), 323–348.
 42. *Evstigneev M. P., Buchelnikov A. S., Voronin D. P., Rubin Yu. V., Belous L. F., Prylutsky Yu. I., Ritter U.* Complexation of C₆₀ fullerene with aromatic drugs. *Chem. Phys. Chem.* 2013, 14 (3), 568–578.
 43. *Lu F., Haque S. A., Yang S. T., Luo P. G., Gu L., Kitaygorodskiy A., Li H., Lacher S., Sun Y.-P.* Aqueous compatible fullerene-doxorubicin conjugates. *J. Phys. Chem. C.* 2009, 113 (41), 17768–17773.
 44. *Zakharian T. Y., Seryshev A., Sitharaman B., Gilbert B. E., Knight V., Wilson L. J.* A Fullerene-paclitaxel chemotherapeutic: Synthesis, characterization, and study of biological activity in tissue culture. *J. Am. Chem. Soc.* 2005, V. 127, P. 12508–12509.
 45. *Prylutska S. V., Burlaka A. P., Klymenko P. P., Grynyuk I. I., Prylutsky Yu. I., Schuetze Ch., Ritter U.* Using water-soluble C₆₀ fullerenes in anticancer therapy. *Cancer Nanotechnol.* 2011, V. 2, P. 105–110.
 46. *Zhu J., Ji Z., Wang J., Sun R., Zhang X., Gao Y., Sun H., Liu Y., Wang Z., Li A., Ma J., Wang T., Jia G., Gu Y.* Tumor-inhibitory effect and immunomodulatory activity of fullerol C₆₀(OH)_x. *Small.* 2008, V. 4, P. 1168–1175.
 47. *Jiao F., Liu Y., Qu Y., Li W., Zhou G., Ge C., Li Y., Sun B., Chen C.* Studies on anti-tumor and antimetastatic activities of fullerol in

- a mouse breast cancer model. *Carbon*. 2010, V. 48, P. 2231–2243.
48. Liu Y., Jiao F., Qiu Y., Li W., Lao F., Zhou G.Q. The effect of Gd@C₈₂(OH)₂₂ nanoparticles on the release of Th1/Th2 cytokines and induction of TNF- α mediated cellular immunity. *Biomaterials*. 2009, V. 30, P. 3934–3945.
49. Wei P., Zhang L., Lu Y., Man N., Wen L. C₆₀(Nd) nanoparticles enhance chemotherapeutic susceptibility of cancer cells by modulation of autophagy. *Nanotechnology*. 2010, V. 21, P. 495–501.
50. Murugesan S., Mousa S. A., O'Connor L. J., Lincoln D. W., Linhardt R. J. Carbon inhibits vascular endothelial growth factor- and fibroblast growth factor-promoted angiogenesis. *FEBS Lett*. 2007, V. 581, P. 1157–1160.
51. Meng H., Xing G., Sun B., Zhao F., Lei H., Li W., Song Y., Chen Z., Yuan H., Wang X., Long J., Chen C., Liang X., Zhang N., Chai Z., Zhao Y. Potent angiogenesis inhibition by the particulate form of fullerene derivatives. *ASC Nano*. 2010, V. 4, P. 2773–2783.
52. Grodzik M., Sawosz E., Wierzbicki M., Orlowski P., Hotowy A., Niemiec T., Szmids M., Mitura K., Chwalibog A. Nanoparticles of carbon allotropes inhibit glioblastoma multiforme angiogenesis *in ovo*. *Int. J. Nanomed*. 2011, V. 6, P. 3041–3048.
53. Tabata Y., Murakami Y., Ikada Y. Photodynamic effect of polyethylene glycol-modified fullerene on tumor. *Jpn. J. Cancer Res*. 1997, 88 (11), 108–1116.
54. Ji Z. Q., Sun H., Wang H., Xie Q., Liu Y., Wang Z. Biodistribution and tumor uptake of C₆₀(OH)_x in mice. *J. Nanopart. Res*. 2006, V. 8, P. 53–63.
55. Raoof M., Mackeyev Yu., Cheney M. A., Wilson L. J., Curley S. A. Internalization of C₆₀ fullerenes into cancer cells with accumulation in the nucleus via the nuclear pore complex. *Biomaterials*. 2012, 33 (10), 2952–2960.
56. Liu J., Ohta S., Sonoda A., Yamada M., Yamamoto M., Nitta N., Murata K. Preparation of PEG-conjugated fullerene containing Gd³⁺ ions for photodynamic therapy. *J. Contr. Release*. 2007, 117 (1), 104–110.
57. Prylutska S. V., Didenko G. V., Kichmarenko Yu. M., Kruts O. O., Potebnya G. P., Cherepanov V. V., Prylutsky Yu. I. Effect of C₆₀ fullerene, doxorubicin and their complex on tumor and normal cells of BALB/c mice. *Biotechnologia Acta*. 2014, 7 (1), 60–65. (In Ukrainian).
58. Bogdanovic G., Kojic V., Podevic A., Canadianovic-Brunet J., Vojinovic-Miloradov M., Baltic V. Modulating activity of fullerol C₆₀(OH)₂₂ on doxorubicin-induced cytotoxicity. *Toxicology in Vitro*. 2004, V. 18, P. 629–637.
59. Injac R., Perse M., Boskovic M., Djordjevic-Milic V., Djordjevic A., Hvala A., Cerar A., Strukelj B. Cardioprotective effects of fullereneol C₆₀(OH)₂₄ on a single dose doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats with malignant neoplasm. *Technol. Cancer Res. Treat*. 2008, 7 (1), 15–25.
60. Torres V. M., Srdjenovic B., Jacevic V., Simic V. D., Djordjevic A., Simplício A. L. Fullereneol C₆₀(OH)₂₄ prevents doxorubicin-induced acute cardiotoxicity in rats. *Pharmacol. Rep*. 2010, 62 (4), 707–718.
61. Liu J. H., Cao L., Luo P. G., Yang S. T., Lu F., Wang H., Meziari M. J., Haque S. A., Liu Y., Lacher S., Sun Y. P. Fullerene-conjugated doxorubicin in cells. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2010, 2 (5), 1384–1389.
62. Blazkova I., Nguyen H. V., Kominkova M., Konecna R., Chudobova D., Krejcova L., Kopel P., Hynek D., Zitka O., Beklova M., Adam V., Kizek R. Fullerene as a transporter for doxorubicin investigated by analytical methods and *in vivo* imaging. *Electrophoresis*. 2014, 35 (7), 1040–1049.
63. Chaudhuri P., Paraskar A., Soni S., Mashelkar R. A., Sengupta S. Fullereneol cytotoxic conjugates for cancer chemotherapy. *ASC Nano*. 2009, 3 (9), 2505–2514.
64. Partha R., Mitchell L. R., Lyon J. L., Joshi P. P., Conyers J. L. Buckysomes: Fullerene-based nanocarriers for hydrophobic molecule delivery. *ASC Nano*. 2008, V. 2, P. 1950–1958.
65. Berger Ch. S. Toward fullerene immunotherapy with water-soluble paclitaxel-fullerene conjugates. Doctoral Thesis, Rice University (Houston, Texas). 2013, P. 109, <http://hdl.handle.net/1911/71131>.
66. Grynyuk I. I., Perepelytsina O. M., Prylutska S. V., Garmanchuk L. V., Hranovska N. N., Matyshevska O. P., Sidorenko M. V. Influence of fullerenes C₆₀ on the survivability of breast cancer cell line MCF-7 during long term incubation. *Biotechnologiya*. 2010, 3 (4), 75–79. (In Ukrainian).

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМПЛЕКСОВ
ФУЛЛЕРЕНА C₆₀
С ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМИ
ПРЕПАРАТАМИ В ХИМИОТЕРАПИИ**

С. В. Прилуцкая

Киевский национальный университет
имени Тараса Шевченко, Украина

E-mail: psvit@bigmir.net

Обобщены данные литературы и результаты собственных исследований противоопухолевого действия *in vitro* и *in vivo* фуллерена C₆₀ и его производных, цитостатиков, а также конъюгированных комплексов на их основе, которые дают возможность применять его в комбинированной химиотерапии для повышения эффективности лечения злокачественных новообразований.

Механизм противоопухолевого действия фуллерена C₆₀ в комбинированном применении с цитостатиками базируется на антиоксидантных свойствах его молекулы, что способствует снижению побочного токсического действия традиционных препаратов в организме, и способности целенаправленно транспортировать их в клетки-мишени. Уникальная структура фуллерена C₆₀ позволяет модифицировать его поверхность химиотерапевтическими препаратами. При комбинированном действии конъюгата «фуллерен C₆₀-химиопрепарат» наблюдается усиление противоопухолевых эффектов как в условиях *in vitro*, так и *in vivo*, в частности снижение количества жизнеспособных опухолевых клеток, уменьшение размера опухоли и т. д. Кроме того, обнаружены защитные эффекты фуллерена C₆₀ и его производных относительно токсического действия химиопрепаратов в организме. Увеличение размера конъюгата дает ему возможность дольше удерживаться в клетке и увеличивать длительность действия препарата. Способность молекул фуллерена C₆₀ к избирательному накоплению позволяет использовать его для таргетной доставки лекарств.

Ключевые слова: фуллерен C₆₀, доксорубин, цисплатин, паклитаксель, трансформированные клетки, комбинированная химиотерапия.

**USING OF C₆₀ FULLERENE COMPLEXES
WITH ANTITUMOR DRUGS
IN CHEMOTHERAPY**

S. V. Prylutska

Taras Shevchenko National University of Kyiv,
Ukraine

E-mail: psvit@bigmir.net

The literature data and own research results concerning antitumor effect *in vitro* and *in vivo* of C₆₀ fullerene and its derivatives, cytostatics, and conjugated systems on their basis, which enable the practical application of C₆₀ in combined chemotherapy for treatment efficacy improving of malignant tumors are generalized.

The mechanism of antitumor action of C₆₀ fullerene in combined treatment with cytostatics is based on antioxidant properties of its molecule, thereby reducing toxic side effects of traditional drugs in a body and ability to their transport purposefully into the target cells. The unique structure of C₆₀ enables to modify its surface with chemotherapeutic drugs. Under combined action of the «fullerene C₆₀-chemotherapy drug» conjugate the anti-tumor effects enhancement is observed both *in vitro* and *in vivo*, namely quantity reduction of viable tumor cells, tumor reduction etc. Furthermore, protective effects of fullerene C₆₀ and derivatives relatively toxic effects of chemotherapeutic agents in a body were observed. Conjugate auxesis empowers it to be kept longer in a cell and prolong the duration of drug action. Ability of fullerene C₆₀ to selective accumulation provides its using for target drug delivery.

Key words: C₆₀ fullerene, doxorubicin, cisplatin, paclitaxel, transformed cells, combination chemotherapy.