

ФУЛЕРЕНИ C_{60} — БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ МОЛЕКУЛИ

I. Фізико-хімічні властивості та біодоступність

О. П. МАТИШЕВСЬКА, С. В. ПРИЛУЦЬКА, І. І. ГРИНЬОК

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

E-mail: matysh@yahoo.com

Здійснено аналіз даних літератури щодо особливостей будови представників нового класу наносполук — фулеренів C_{60} , їхніх фізичних та хімічних властивостей, способів уведення в біологічні системи, токсичності та перспектив використання як біологічно активних сполук.

Ключові слова: фулерен C_{60} , водорозчинні похідні C_{60} , продукування активних форм кисню, біодоступність.

Пошук нових нанорозмірних хімічно-інертних сполук, здатних впливати на клітинні процеси, є актуальним завданням розвитку нанобіотехнологій. З огляду на це інтенсивно досліджуються представники нової алотропної форми вуглецю — фулерени C_{60} , яким притаманні унікальні фізико-хімічні властивості.

Існує багато даних щодо різноманітних біологічних властивостей фулеренів, а саме їхньої здатності проникати крізь клітинні мембрани та локалізуватись усередині клітини, анти- та прооксидантних властивостей, антибактеріальних та антивірусних ефектів, впливу на сигнальні системи клітини, на активність окремих ензимів та процесу пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ). Для розуміння механізмів біологічної дії фулеренів C_{60} та розроблення методів їх застосування важливими є дані щодо фізико-хімічних властивостей C_{60} і способів оптимізації уведення їх у водне середовище, аналіз яких наведено в огляді.

Структура молекули. Відомо, що вуглець існує у вигляді двох алотропних форм — графіту й алмазу. У 1980-х роках було відкрито нову алотропну форму вуглецю, представниками якої є фулерени — молекули з унікальними фізико-хімічними властивостями, що зумовлені особливостями їхньої будови. Молекули фулеренів — це замкнені каркасні структури, сферична поверхня яких складається з шестичленних та п'ятичленних циклів з атомами вуглецю у вершинах. Загальна парна кількість атомів вуглецю у складі молекули може бути різною —

60, 70, 76, 78, 82 і т. д. Через таку незвичну будову ці сполуки було названо фулеренами на честь архітектора Б. Фулера, який проектував геодезичні куполи [1].

Особливе місце серед фулеренів посідає молекула C_{60} , що має найвищий ступінь симетрії і є найбільш стабільною. Сферична поверхня C_{60} містить 20 правильних гексагональних і 12 пентагональних структур, чим нагадує поверхню футбольного м'яча (рис. 1). Зв'язки між сусідніми гексагонами (завдовжки 1,35 Å) є подвійними, а зв'язки між гексагонами та пентагонами (завдовжки 1,47 Å) — одинарними. Таким чином, гекса- та пентагональні одиниці поєднані кон'югованою π -електронною системою, чим і пояснюється компактне укладання атомів вуглецю, малі розміри молекули та її властивості [2, 3]. Так, площа поверхні молекули C_{60} утричі менша, ніж очікувана для біологічної молекули такої самої молекулярної маси (720 Да), а її діаметр становить лише 0,714 нм, тобто за величиною є близьким до діаметра α -спіралі поліпептидів або молекули стероїдів. Це дає підстави припустити, що стерично молекула C_{60} є цілком сумісною з біологічними структурами, наприклад упізнавальними сайтами рецепторів або активними центрами ензимів.



Рис. 1. Структура молекули C_{60}

У зв'язку з цим на особливу увагу заслуговують дані щодо пригнічення фулереном C_{60} протеази ВІЛ. Просторова організація активного центру цього ензиму відома — це гідрофобна западина з розміщеними на відстані 0,5 нм залишками Асп-25 та Асп-125, які беруть участь у гідролітичному розщепленні пептидного зв'язку субстрату [4]. Діаметр каталітичної западини дорівнює 1 нм, тобто відповідає діаметру молекули C_{60} . Дані молекулярного моделювання передбачали, що в разі ван-дер-ваальсової взаємодії між ними доступ до активного центру ензиму буде заблоковано. Дійсно, було синтезовано похідні C_{60} , які пригнічували активність протеази ВІЛ в інфікованих моноцитах та лімфоцитах крові [5].

Хімічні властивості. Немодифіковані (пристінні) фулерени C_{60} є ліпофільними молекулами, вони нерозчинні у полярних розчинниках, зокрема у воді чи метанолі, краще розчиняються в аліфатичних і є максимально розчинними в ароматичних вуглеводнях, таких як толуол та бензол [6]. Завдяки гідрофобним властивостям молекула C_{60} може вбудовуватись у біологічні мембрани та локалізуватись у неполярних ділянках мембранних структур [7].

Фулереновий каркас є жорстким, і циклогексатрієнові одиниці у його структурі залишаються плоскими, незважаючи на істотне відхилення геометрії спряжених подвійних зв'язків від нормальної планарної. Напруга, що виникає внаслідок такого відхилення, є причиною високої реакційної здатності фулеренів C_{60} . Молекула C_{60} — досить сильний електронний акцептор, здатний приєднувати 1–6 електронів з утворенням відповідних аніонів C_{60}^{n-} (де n — кількість приєднаних електронів) [8]. Висока спорідненість до електронів пояснюється тим, що після приєднання двох електронів нестійка $4n$ π -електронна система циклогексатрієнових одиниць на поверхні молекули C_{60} переходить у стабільну ароматичну $(4n + 2)$ систему [3]. Отже, подвійні зв'язки в каркасі C_{60} є електронодефіцитними, що й зумовлює електронакцепторні властивості молекули та її здатність легко приєднувати реагенти, що містять неспарений електрон (вільні радикали). Фулерен C_{60} інколи називають «губкою для радикалів» — так, у роботі [9] показано, що одна молекула може приєднати 34 метильні радикали. Завдяки такій здатності фулерени діють у біологічних системах як уловлювачі вільних радикалів, зокрема гідроксильного та супероксиданіону. Оскільки гіперпродукція кисневміс-

них радикалів є причиною виникнення багатьох клінічних патологій, антирадикальна активність фулеренів C_{60} та їхніх похідних відкриває перспективи застосування цих сполук як антиоксидантів.

Фізичні властивості. Фулеренам C_{60} притаманне інтенсивне поглинання в УФ-діапазоні (220, 265, 345 нм) та наявність менш інтенсивних смуг поглинання у видимому діапазоні (450, 600 нм) до 700 нм включно [10, 11]. Унікальною властивістю молекули C_{60} є здатність переходити під дією світлового випромінювання у збуджений стан та майже зі 100% -ю ефективністю продукувати активні форми кисню (АФК) — синглетний 1O_2 та супероксиданіон O_2^- [12]. Після поглинання світла молекула фулерену C_{60} переходить у синглетний стан ($^1C_{60}^*$), час існування якого у водних розчинах становить близько 1,3 нс [13, 14]. Основним механізмом розпаду синглетів фулерену є перехід у збуджений триплетний стан ($^3C_{60}^*$), час існування якого в розчинах є більш тривалим — 50–130 мкс. Для виявлення фотоактивності C_{60} у клітинах визначальним є час існування триплету $^3C_{60}^*$. Оскільки в'язкість цитоплазми є набагато вищою, ніж в'язкість водних розчинів, припускають, що ефективними продуцентами АФК у клітині можуть бути лише триплети з періодом існування ≥ 100 мкс [12].

Запропоновано два шляхи продукування АФК фулеренами C_{60} після фотозбудження — за механізмом передачі енергії або ж за механізмом передачі електронів від фотозбудженої молекули C_{60} на молекулу O_2 (рис. 2).

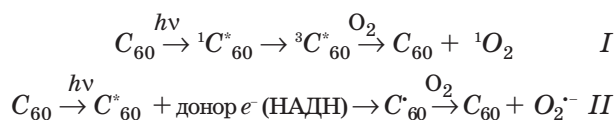


Рис. 2. Схема шляхів продукування активних форм кисню молекулою C_{60}

Згідно з першим механізмом у разі зворотного переходу молекули фулерена зі збудженого триплетного стану у вихідний вивільнена енергія передається на молекулярний кисень з утворенням синглетного кисню (рис. 2, I). Згідно з другим механізмом за наявності у середовищі донорів електронів (наприклад, НАДН або амінних груп) збуджена молекула фулерена, яка є сильнішим акцептором електронів, аніж незбуджена, взаємодіє з донорами електронів і перетворюється на аніон-радикал, який передає електрон на молекулярний кисень з утворенням супероксиданіону (рис. 2, II).

Припускають, що у полярних біологічних системах механізм перенесення електронів є більш імовірним, ніж перенесення енергії, тому домінуючим буде процес утворення супероксиданіону, який є ініціатором реакцій утворення H_2O_2 та гідроксилрадикала $\cdot\text{OH}$.

У літературі описано результати модельних експериментів щодо ушкодження структури ДНК після фотозбудження молекули C_{60} , зокрема щодо перетворення суперспіральної ДНК плазмиди pBR322 на лінійну внаслідок виникнення одноланцюгових розривів [15, 16]. Найбільш чутливими до дії утворюваних АФК виявились гуанінові основи, які перетворюються на 8-гідроксигуанінові, що призводить до дестабілізації найближчого фосфодіефірного зв'язку та його гідролітичного розщеплення [17, 18]. Здатність фотозбуджених фулеренів C_{60} продукувати цитотоксичні для клітини кисневмісні радикали може бути використана в онкології для поліпшення методів фотодіагностичної терапії пухлин.

Таким чином, притаманні фулеренам C_{60} нанорозмірність, просторова тривимірність структури, антиоксидантні ефекти, унікальні фотофізичні властивості свідчать про перспективність застосування їх у біології та медицині. Проте основною перешкодою на цьому шляху є нерозчинність C_{60} у воді, що обмежує їх біодоступність. Унаслідок агрегації молекул C_{60} у водному розчині значно знижується їхня реакційна здатність. Тому актуальним є пошук оптимальних шляхів введення фулеренів C_{60} у біологічні системи.

Методи створення проб фулеренів C_{60} для біологічних досліджень

Для підвищення ступеня солюбілізації фулеренів C_{60} використовують такі основні методичні підходи:

- отримання стабільних колоїдних розчинів фулеренів C_{60} у воді;
- утворення нековалентно-зв'язаних комплексів C_{60} з водорозчинними полімерами або комплексів за типом «гість–хазяїн»;
- хімічний синтез водорозчинних похідних через приєднання до поверхні C_{60} полярних замісників.

Немодифіковані фулерени C_{60} здатні утворювати у воді стабільні «гідрофільні» колоїдні розчини, які називають також дисперсіями [19, 20, 21, 22]. Один зі способів їх отримання — змішування насиченого розчину C_{60} у бензолі з тетрагідрофураном (ТГФ) та водою з подальшою відгонкою ТГФ. Концентрація C_{60} у таких розчинах становить близько $5 \cdot 10^{-6}$ М. [23]. Інший спо-

сіб одержання стабільних водних колоїдних розчинів C_{60} , який дозволяє досягти концентрації C_{60} порядку 10^{-4} М, — це перенесення їх з органічної (толуол або бензол) у водну фазу шляхом тривалого оброблення суміші ультразвуком [20, 11]. Водні розчини C_{60} є молекулярно-колоїдними системами, що містять як поодинокі гідратовані молекули, зокрема $\text{C}_{60}(\text{H}_2\text{O})_{19}$ [24], так і гідратовані кластери молекул розміром 3,4–72 нм. Припускають, що найбільш енергетично-стабільною фулереновою структурою у водному розчині є клатрат $\text{C}_{60}(\text{H}_2\text{O})_{60}$ [11]. Колоїдні розчини C_{60} є стабільними упродовж тривалого часу (9–18 міс), що зумовлено взаємним відштовхуванням асоціатів молекул фулеренів, поверхня яких заряджена негативно. Недоліком описаних підходів є те, що концентрація у воді фулеренів C_{60} в отримуваних розчинах є низькою.

З метою оптимізації введення фулеренів C_{60} у водне середовище, запобігання агрегації, забезпечення рівномірного розміщення і специфічності взаємодії молекул фулеренів C_{60} із біологічним субстратом у зоні контакту запропоновано такий підхід, як іммобілізація фулеренів на сферичних наночастинках діоксиду кремнію — аеросилу, який є хімічно інертним матеріалом з гідрофільною поверхнею [25]. Особливості будови такого фулеренвмісного композиту дозволяють модифікувати його поверхню допоміжними групами (антраценаль, флюоресцеїн та ін.), що здатні посилювати фотосенсибілізуючий ефект фулеренів C_{60} та їхні ефекти у клітинах [26, 27, 28].

Серед водорозчинних полімерів, здатних утворювати донорно-акцепторні комплекси з фулеренами, найчастіше використовують нетоксичний детергент полі-N-вінілпіролідон (ПВП) [29]. Міжмолекулярні контакти в такій реакційній системі зумовлені донорно-акцепторною взаємодією молекул C_{60} з карбонільними групами полімерних ланцюгів ПВП. Згідно з даними роботи [30] розчинність фулерена C_{60} у складі комплексів C_{60} /ПВП становить $5,6 \cdot 10^{-4}$ М, проте їхня будова часто є невизначеною, а розчини їх нестабільні внаслідок формування надмолекулярних структур під час зберігання [31].

Фулерени C_{60} можуть утворювати водорозчинні комплекси включення типу «гість–хазяїн» з γ -циклодекстринами (γ -ЦД), що пояснюється стеричними факторами: сферична молекула C_{60} розміщується в порожнині молекули γ -ЦД, яка має форму кошика [32]. Проте концентрації C_{60} порядку 10^{-4} М у таких розчинах можна досягнути

лише за умови надлишку γ -ЦД, що є небажаним у біологічних дослідженнях [33].

Більш перспективним підходом до отримання водорозчинних препаратів C_{60} вважають хімічну модифікацію (функціоналізацію) фулеренового кора через приєднання замісників різної природи. Розчинність функціоналізованих похідних фулеренів у воді зумовлена наявністю в їхніх молекулах достатньої кількості полярних гідрофільних груп (гідроксильних, карбоксильних, аміногруп), які утримують гідрофобний C_{60} у розчині. З погляду молекулярної будови водорозчинні похідні фулеренів можна умовно поділити на дві групи — поліфункціоналізовані сполуки, у яких замісники розташовані по всій поверхні фулеренового каркаса, та сполуки з одним чи декількома замісниками у певній ділянці каркаса [34].

Так, представниками першої групи є полігідроксильовані похідні фулерена C_{60} , названі фулеренолами, яким притаманна антиоксидантна дія [35, 36]. Відомо декілька методів полігідроксилювання C_{60} , однак вони дають різні продукти — $C_{60}(OH)_{7\pm 2}$ [37], $C_{60}(OH)_{12}$ [38] або $C_{60}(OH)_{18}$ (рис. 3, а) та ін., розчинність яких у воді та біологічні ефекти варіюють залежно від кількості приєднаних гідроксильних груп.

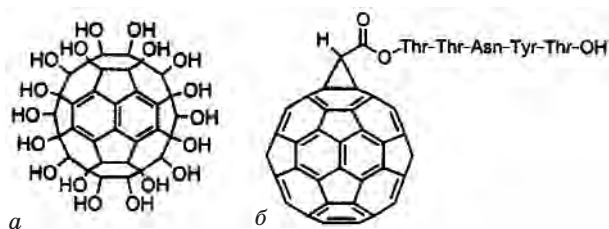


Рис. 3. Водорозчинні похідні фулеренів C_{60}

Стабільно відтворюваним є синтез похідних C_{60} , що містять три залишки маленової кислоти і несуть негативний заряд, — так званих трикарбоксіфулеренів $C_{60}[C(COO^-)_2]_3$ [39]. У D-3 ізомера цієї сполуки замісники розташовані вздовж екватора кора, тимчасом як у C-ізомера — на одній напівсфері. Такі відмінності в розташуванні замісників призводять до значних відмінностей у властивостях ізомерів, зокрема у виявленні нейропротекторних ефектів у кортикальних культурах. Водорозчинними є поліфункціоналізовані фулерени, що містять 6 етоксикарбонільних груп [40] або ж 6 сульфатованих аліфатичних ланцюгів $C_{60}[(CH_2)_4SO_3H]_6$ [41].

Встановлено, однак, що деякі з водорозчинних поліфункціоналізованих похідних фулеренів втрачають антирадикальну ак-

тивність, зокрема здатність реагувати з продуктами радіолізу води — $\cdot OH$, $\cdot H$ та гідратованими електронами e^-_{aq} [42]. Припускають, що шар зарядів гідрофільних груп, які оточують гідрофобний кор молекули C_{60} , запобігає реакції між такими продуктами та негативно зарядженими похідними C_{60} і є причиною міцельарної агрегації.

Доведено, що численні замісники, приєднані вздовж усієї поверхні молекули фулерена, змінюють електронну структуру вуглецевого скелета, порушуючи кон'юговану систему спряжених подвійних зв'язків, що призводить до зниження як антирадикальної активності, так і фотосенсибілізувальної здатності [35, 40, 42]. Тому актуальним є синтез водорозчинних сполук, у яких більша частина вуглецевого кору була б вільною від замісників. Хоча синтез таких сполук є складнішим, на сьогодні вже отримані різноманітні їх представники.

Досліджено, зокрема властивості бісфункціоналізованих фулеренів — $C_{60}[C(COO^-)_2]_2$ та $C_{60}[C_4H_{10}N^+]_2$ [35], що несуть, відповідно, позитивний та негативний заряди і не утворюють кластерів у розчині. Показано, що константа швидкості реагування цих похідних з $\cdot OH$ -радикалом ($\sim 8,0 \cdot 10^9 M^{-1}c^{-1}$), є вищою, ніж для такого поліпохідного, як $C_{60}(OH)_{18}$ ($2,4 \cdot 10^9 M^{-1}c^{-1}$). Час існування збудженого триплетного стану цих двох бісфункціоналізованих похідних у фотозбуджених розчинах — приблизно 50 мкс, що лише вдвічі нижче, ніж показник для інкапсульованих у γ -ЦД фулеренів C_{60} , а константа швидкості гасіння триплетного стану та утворення 1O_2 ($1,25$ та $1,73 \cdot 10^9 M^{-1}c^{-1}$ відповідно) є такою самою, як і для пристінних фулеренів C_{60} [35, 43].

Добре розчинними вважають C_{60} -похідні, які дають справжні водні розчини з концентрацією 0,5–1 мг/мл [34], хоча на сьогодні синтезовано сполуки і з вищою розчинністю. Так, розчинність солей C_{60} -похідних з п'ятьма ароматичними замісниками, розташованими навколо одного пентагонального циклу на фулереновому каркасі, становить близько 100 мг/мл; в експериментах на клітинних культурах продемонстровано низьку токсичність таких сполук та їхню здатність пригнічувати активність ВІЛ [44].

Один із шляхів синтезу водорозчинних похідних C_{60} з одним розкритим на фулереновому каркасі зв'язком — отримання кон'югатів унаслідок утворення ковалентного зв'язку між C_{60} і циклодекстрином, поліетиленгліколем або полівінілпіролідом. Так, синтезовано кон'югат C_{60} - γ ЦД,

який добре розчиняється у воді (2,5 мг/мл) і розчини якого стабільні упродовж декількох тижнів у разі зберігання при -10°C [45]. Показано, що кон'югат фулерена C_{60} з поліетиленгліколем [46] та полімер C_{60} -ПВП (із розчинністю у воді 5,62 мг/мл) можуть бути перспективними для фотодинамічної терапії пухлин [16].

Найбільш високорозчинним серед монозаміщених похідних є дендримерне похідне C_{60} , розгалужені ланцюги у складі якого містять 18 карбоксильних груп, його розчинність за рН 7,4–34 мг/мл [47].

Альтернативний підхід до синтезу водорозчинних похідних C_{60} з одним замісником, приєднанням до вуглецевого каркасу, — одержання кон'югатів з пептидами або з олігонуклеотидами. Фулереновий кор у складі таких сполук часто виконує допоміжну роль, збільшуючи ліпофільність активної біологічної молекули [48]. Так, приєднання до C_{60} пентапептиду Тре-Тре-Асп-Тир-Тре, який відіграє важливу роль у хемотаксисі моноцитів, посилює його біологічну активність [49]. З'ясовано, що наявність термінального залишка C_{60} не впливає на утворення пептидним ланцюгом регулярної вторинної структури, зокрема Z_{10} -спіралі (рис. 3, б) [49] або β -структури [50], стабілізованих внутрішньомолекулярними водневими зв'язками.

Отримано кон'югат C_{60} з олігонуклеотидом, що складається з 14 нуклеотидних залишків і зв'язується з одноланцюговою ДНК за принципом парування основ [51]. У разі фотозбудження C_{60} у складі кон'югата відбувається неспецифічне до певних послідовностей розщеплення ДНК за гуаніновими залишками. У роботі [52] описано олігонуклеотидне похідне фулерена C_{60} , що містить ланцюг з 37 нуклеотидних залишків і призначено для доставлення фотосенсицізатора до нуклеїнових кислот. Стабільність комплексу C_{60} -ДНК може бути підвищено приєднанням до молекул фулерена не лише олігонуклеотидного фрагмента, але й фрагментів, збагачених на позитивно заряджені групи, що утворюють допоміжні іонні зв'язки з фосфатними групами ДНК. Так, для оптимізації методу трансфекції клітин ссавців синтезовано C_{60} -похідні з ланцюгами тетраамінної природи, які зв'язуються з плазмідним ДНК-вектором і після проникнення у клітину захищають ДНК від ензиматичної деградації [53].

Розподіл в організмі та токсичність in vivo. Ліпофільні властивості фулеренів C_{60} обмежують їх адсорбцію, проникність через

стінку кишечника, розподіл в органах та проникнення всередину клітин, проте показано, що сполуки фулеренів здатні проникати через плазматичні мембрани та накопичуватись в окремих тканинах, що певною мірою залежить від способу введення C_{60} в організм та ступеня розчинності сполуки.

При пероральному введенні фулерени C_{60} та їх малорозчинні похідні не засвоюються і виводяться з організму впродовж приблизно 160 год [54]. У разі внутрішньочеревного введення водної суспензії фулеренів C_{60} мишам та щурам у дозах 0,5 та 2 г/кг відповідно максимальний рівень акумуляції C_{60} (24%) спостерігався через 7 днів. Методом сканувальної електронної мікроскопії виявлено накопичення кристалів C_{60} у клітинах печінки та селезінки (у ретикулоендотеліальних клітинах), морфологічні ознаки тканини при цьому не змінювались [55], величини LD_{50} дорівнювали відповідно 0,7 та 1,2 г/кг.

Згідно з даними роботи [56] через добу після внутрішньочеревного введення суспензії фулерени C_{60} виявляли в макрофагах печінки, через 7–12 днів — у гепатоцитах, купферовських та жирових клітинах без ознак їх ушкодження.

У разі внутрішньовенного введення малорозчинних похідних C_{60} спостерігається швидкий розподіл їх усередині організму. Так, з використанням міченої за ^{14}C піролідінокарбонової кислоти вже через 1–16 год після введення 62%, 11% та 1,2% від загальної кількості мітки виявляли у печінці, селезінці та мозку відповідно. Через 7 діб виявляли лише 2% мітки, зосередженої у скелетних м'язах [54].

Високорозчинні у воді похідні фулеренів C_{60} виводяться значно швидше. Так, дослідження розподілу радіоактивного фулерену $^{125}\text{I}-\text{C}_{60}(\text{OH})$ показало, що після внутрішньовенного введення сполука швидко, протягом 1 год, розповсюджується по всіх органах, окрім мозку, і акумулюється у печінці, нирках, селезінці та шлунку, тимчасом як із тканин серця, легень, м'язів, шкіри та кишечника виводиться упродовж 72 год [57]. Згідно з даними щодо розподілу ^{14}C -міченої C_{60} -піролідінокарбонової кислоти цю сполуку у разі внутрішньовенного введення виявляли і в мозку, що свідчить про її ліпофільність, достатню для проникнення через гематоенцефалічний бар'єр. Гостра токсичність сполуки була низькою, хронічних токсичних ефектів не спостерігали [54].

У роботі [46] досліджено розподіл в організмі мишей-пухлиноносіїв міченого кон'югату $^{125}\text{I}-\text{C}_{60}$ -поліетиленгліколю після внут-

рішньовенного введення. Кон'югат рівномірно розподілявся в усіх органах, через 24 год з організму виводилось 78% міченої сполуки, а через 144 год вона виводилась повністю. ^{125}I - C_{60} -поліетилєнглїколь не виявляв специфічної спорідненості до нормальних тканин, але його вміст у пухлинній тканині був вищим, ніж у нормальних тканинах.

Згідно з токсикологічною класифікацією, сполуки, які виявляють токсичність у дозах, що перевищують 1 г/кг, належать до нетоксичних [58]. Про відсутність токсичності пристінних C_{60} свідчать результати роботи [59], у якій встановлено, що внутрішньочеревинне введення мишам суспензії C_{60} (2,5 г/кг) не спричиняло загибелі тварин або порушень у поведінці упродовж 8 тижнів. Не виявлено токсичних ефектів колоїдних розчинів C_{60} в експериментах *in vivo* та *in vitro* за сумарних доз до 25 мг/кг [60].

Водорозчинні похідні C_{60} , як правило, також не виявляють гострої токсичності *in vivo* у дозах до 200–500 мг/кг [61]. Так, величина LD_{50} для фулеренола $\text{C}_{60}(\text{OH})_{18}$ при внутрішньовенному введенні становить 1,2 г/кг [55]. Слід зазначити, що токсичність похідних C_{60} може варіювати залежно від природи замісника. Так, синтезовано добре розчинне у воді моносукцинімідпохідне аміноетилди-

феніл- C_{60} , яке у разі внутрішньовенного введення тваринам у дозі 15 мг/кг не спричиняло токсичних ефектів, але за підвищення дози до 25 мг/кг призводило до загибелі тварин [62].

Таким чином, фулерени C_{60} виявляють унікальні фізико-хімічні властивості, які відкривають можливості їх медичного застосування. Хоча C_{60} та його похідні, як правило, не виявляють гострої та хронічної токсичності, накопичення їх в організмі є негативним чинником. Використання фулеренів C_{60} як антиоксидантів або фотосенситизаторів є перспективним, проте здатність молекули C_{60} уловлювати радикали, так само, як і здатність генерувати АФК після фотозбудження, обмежується нерозчинністю C_{60} у воді та агрегацією молекул. Уведення замісників у фулереновий кор частково вирішує цю проблему, однак для збереження біологічних ефектів виникає потреба, по-перше, дотримуватися балансу гідрофільних та гідрофобних властивостей молекули, а по-друге, обмежувати кількість та розмір замісників, які порушують π -кон'юговану систему фулеренового кора. Потрібні подальші дослідження щодо пошуку оптимальних варіантів введення молекули C_{60} у біологічні системи.

ЛІТЕРАТУРА

1. Елецкий А. В., Смирнов Б. М. Фуллерены и структуры углерода // Усп. физ. наук. — 1995. — Т. 165. — С. 977–109.
2. Kroto H. W., Heath S., O'Brien S. C. et al. C_{60} : Buckminsterfullerene // Nature. — 1985. — V. 318, N 6042. — P. 162–163.
3. Wilson S. R. Biological aspects of fullerenes // Fullerenes: Chemistry, Physics and Technology. — New York: John Wiley & Sons, 2000. — P. 437–465.
4. Sijbesma R., Srdanov G., Wudl F. et al. Synthesis of fullerene derivative for the inhibition of HIV enzymes // J. Am. Chem. Soc. — 1993. — V. 115. — P. 7918–7919.
5. Schinazi R. F., Sijbesma R., Srdanov G. et al. Synthesis and virucidal activity of a water-soluble, configurationally stable, derivatized C_{60} fullerene // Antimicrob. Agents Chemother. — 1993. — V. 37. — P. 1707–1710.
6. Dresselhaus M. S., Dresselhaus G., Eklund P. C. Science of Fullerenes and Carbon Nanotubes. — New York: Academic Press, 1996. — P. 23–89.
7. Foley S., Crowley C., Smaih M. et al. Cellular localization of a water-soluble fullerene derivative // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2002. — V. 294. — P. 116–119.
8. Xie Q., Perez-Cordero E., Echegoyen L. Electrochemical Detection of C_{60} and C_{70} : Enhanced Stability of Fullerides in Solution // Am. Chem. Soc. — 1992. — V. 114. — P. 3978–3980.
9. Krusic P. J., Wasserman P. N., Keizer P. N. et al. Radical reactions of C_{60} // Science. — 1991. — V. 254. — P. 1183–1185.
10. Jensen A. W., Wilson S. R., Schuster D. I. Biological applications of fullerenes // Bioorg. Med. Chem. — 1996. — V. 4. — P. 767–779.
11. Scharff P., Risch K., Carta-Abelmann L. et al. Structure of C_{60} fullerene in water: spectroscopic data // Carbon. — 2004. — V. 42. — P. 1203–1206.
12. Da Ros T., Spalluto G., Prato M. Biological applications of fullerene derivatives: a brief overview // Croat. Chem. Acta. — 2001. — V. 74. — P. 743–755.
13. Arbogast J. W., Foote C. S. Photophysical properties of C_{60} // J. Am. Chem. Soc. — 1991. — V. 113. — P. 8886–8889.
14. Orfanopoulos M., Kambourakis S. Chemical evidence of singlet oxygen production from C_{60} and C_{70} in aqueous and other polar media // Tetrahedron Lett. — 1995. — V. 36. — P. 435–438.

15. Tokuyama H., Yamago S., Nakamura E. et al. Photoinduced biochemical activity of fullerene carbocyclic acid // *J. Am. Chem. Soc.* — 1993. — V. 115. — P. 7918–7919.
16. Iwamoto Y., Yamakoshi Y. A highly water-soluble C60-NVP copolymer: a potential material for photodynamic therapy // *J. Chem. Commun.* — 2006. — V. 46. — P. 4805–4807.
17. Саприн А. Н., Калинина Е. В. Окислительный стресс и его роль в механизмах апоптоза и развитии патологических процессов // *Усп. совр. биол. химии.* — 1999. — Т. 39. — С. 289–326.
18. Boutorine A. S., Tokuyama H., Takasugi M. et al. Fullerene-oligonucleotide conjugates: Photoinduced sequence-specific DNA cleavage // *Angew. Chem. Intern. Ed.* — 1994. — V. 33. — P. 2462–2465.
19. Scrivens W. A., Tour J. M., Creek K. E., Pirisi L. Synthesis of labeled C₆₀, its suspension in water, and its uptake by human keratinocytes // *J. Am. Chem. Soc.* — 1994. — V. 116. — P. 4517–4518.
20. Andrievsky G. V., Kosevich M. V., Vovk O. M. et al. On the production of an aqueous colloidal solution of fullerenes // *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* — 1995. — Is. 12 — P. 1281–1282.
21. Sayes C. M., Fortner I. D., Guo W. et al. The differential cytotoxicity of water-soluble fullerenes // *Nano Lett.* — 2004. — V. 4. — P. 1881–1887.
22. Labille J., Brant J., Villieras F. et al. Affinity of C₆₀ fullerene with water // *Fuller. Nanotub. Carb. nanostruct.* — 2006. — V. 14. — P. 307–314.
23. Deguchi S., Alarg R. G., Tsujii K. Stable dispersions of fullerenes C₆₀ and C₇₀ in water. Preparation and characteristics // *Langmuir.* — 2001. — V. 17. — P. 6013–6017.
24. Korobov M. V., Stukalin E. B., Ivanova N. I. et al. DSC study of C₆₀-water system: unexpected peak // *The exciting world of Nanocages and Nanotubes / Ed. By P. Kamat, D. Guldi, K. Kadish.* — Fullerenes. ECS, 2002. — V. 12. — P. 799–814.
25. Golub A., Matyshevska O., Prylutska S. et al. Fullerenes immobilized at silica surface: topology, structure and bioactivity // *J. Mol. Liq.* — 2003. — V. 105, N 2–3. — P. 141–147.
26. Прилуцька С. В., Гринюк І. І., Голуб О. А., Матишевська О. П. Оцінка параметрів цитотоксичності фулеренів C₆₀ та C₆₀-вмісних композитів *in vitro* // *Доп. НАНУ.* — 2006. — № 1. — С. 163–167.
27. Прилуцька С. В., Гринюк І. І., Бурлака А. П. та ін. Оксидантні властивості фотозбуджених фулеренів C₆₀ та C₆₀-вмісних композитів у суспензіях тимоцитів та клітин асцитної карциноми Ерліха // *Укр. біохім. журн.* — 2006. — Т. 78, № 4. — С. 131–137.
28. Scharff P., Ritter U., Prylutska S. et al. Therapeutic reactive oxygen generation // *Tumori.* — 2008. — V. 94. — P. 278–283.
29. 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.
30. Yamakoshi Y. N., Yagami T., Fukuhara K. et al. Solubilisation of fullerenes into water with polyvinylpyrrolidone applicable to biological test // *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* — 1994. — Is. 4. — P. 517–518.
31. Pavlov G., Nazarova O., Ebel C. et al. Molecular Characteristics of Star-Like Polyvinylpyrrolidone with Fullerene C₆₀ as the Branching Site in Dilute Solutions // *Russ. J. Appl. Chem.* — 2005 — V. 78, N. 1. — P. 1981–1986.
32. Anderson T., Westman G., Wennerstrom O., Sundahl M. NMR and UV-VIS investigation of Water-soluble fullerene-C₆₀-g cyclodextrin // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II.* — 1994. — Is. 5. — P. 1097–1101.
33. Buvari-Barcza A., Rohonczy J., Rozlosnik N. et al. Aqueous solubilisation of [60]fullerene via inclusion complex formation and the hydration of C₆₀ // *Ibid.* — 2001. — P. 191–196.
34. 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. — V. 77, N. 4. — P. 323.
35. Guldi D., Asmus K. Activity of water-soluble fullerenes towards OH-radicals and molecular oxygen // *Radiat. Phys. Chem.* — 1999. — V. 56. — P. 449–456.
36. Kamat J. P., Devasagayam T. P., Priyadarshini K. I., Mohan H. Reactive oxygen species mediated membrane damage induced by fullerene derivatives and its possible biological implications // *Toxicology.* — 2000. — V. 155(1–3). — P. 55–61.
37. Chen Y-W., Hwang K., Yen C-C., Lai Y-L. Fullerene derivatives protect against oxidative stress in RAW 264.7 cells and ischemia-reperfused lungs // *Am. J. Physiol. Regular Integr. Comp. Physiol.* — 2004. — V. 287. — P. 21–26.
38. Conti F., Corvaja C., Maggini M. et al. A fulleropyrrolidine binitroxide: synthesis, EPR and electrochemical features // *Phys. Chem. Chem. Phys.* — 2001. — V. 3, Is. 17. — P. 3518 — 3525.
39. Dugan L. L., Turetsky D. V., Du C. et al. Carboxyfullerenes as neuroprotective agents // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1997. — V. 94. — P. 9434–9439.
40. Hamano T., Okuda K., Mashinon T. et al. Singlet oxygen production from fullerene derivatives: effect of sequential functiona-

- lization of the fullerene core // Chem. Commun. — 1997. — Is. 1. — P. 21–22.
41. Chiang L. Y., Lu F.-J., Lin J.-T. Free radical scavenging activity of water-soluble fullerenols // J. Chem. Soc. Chem. Commun. — 1995. — Is. 12. — P. 1283–1284.
 42. Lu C.-Yu., Yao S.-D., Lin W.-Z. et al. Studies on the fullerol of C₆₀ in aqueous solution with laser photolysis and pulse radiolysis // Radiat. Phys. Chem. — 1998. — V. 53. — P. 137–143.
 43. Foote C. Photophysical and photochemical, properties of fullerenes // Top. Curr. Chem. — 1994. — V. 169. — P. 347–363.
 44. Troshina O., Troshin P., Peregudov A. et al. Chlorofullerene C₆₀Cl₆: a precursor for straightforward preparation of highly water-soluble polycarboxylic fullerene derivatives active against HIV // Org. Biomol. Chem. — 2007. — V. 5. — P. 2783.
 45. Liu Yu., Zhao Yan-Li, Chen Yong et al. A water-soluble β-cyclodextrin derivative possessing a fullerene tether as an efficient photodriven DNA-cleavage reagent // Tetrahedr. Lett. — 2005. — V. 46, Is. 14. — P. 2507–2511.
 46. Tabata Y., Murakami Y., Ikada Y. Photodynamic effect of polyethylene glycol-modified fullerene on tumor // Jpn. J. Canc. Res. — 1997. — V. 88 (11). — P. 1108–1116.
 47. Brettreich M., Hirsch A. A highly water-soluble dendro[60]fullerene // Tetrahedr. Lett. — 1998. — V. 39. — P. 2731–2734.
 48. Bianco A., Da Ros T., Prato M., Toniolo C. Fullerene-based amino acids and peptides // J. Pept. Sci. — 2001. — V. 7. — P. 208–219.
 49. Toniolo C., Bianco A., Maggini M. et al. A bioactive fullerene peptide // J. Med. Chem. — 1994. — V. 37. — P. 4558–4562.
 50. Konarev D. V., Khasanov S. S., Otsuka A. et al. First negatively charged π-(C₆₀)₂ dimer bonded by two single bonds with biradical state at room temperature // J. Am. Chem. Soc. — 2006. — V. 128. — P. 9292–9293.
 51. Goryunkov A., Mazej Z., Zemva B. et al. C₆₀ fluorination with rare earth metal tetrafluorides: an extreme PrF₄ case // Mendeleev Commun. — 2006. — V. 16, Is. 3. — P. 159–161.
 52. Boltalina O., Markov V., Taylor R., Waugh M. Preparation and characterisation of C₆₀F₁ // Chem. Commun. — 1996. — Is. 22. — P. 2549–2550.
 53. Isobe H., Tanaka T., Nakanishi W. et al. Regioselective oxygenative tetraamination of [60]fullerene. Fullerene-mediated reduction of molecular oxygen by amine via ground state single electron transfer in dimethyl sulfoxide // J. Org. Chem. — 2005. — V. 70, N12. — P. 4826–32.
 54. Yamago S., Tokuyama H., Nakamura E. et al. In vivo biological behavior of a water-miscible fullerene: labeling, absorption, distribution, excretion and acute toxicity // Chem. Biol. — 1995. — V. 2. — P. 385–389.
 55. Ueng T. H., Kang J. J., Wang H. W., Cheng Y. W., Chiang L. Y. Suppression of microsomal cytochrome P450-dependent monooxygenases and mitochondrial oxidative phosphorylation by fullereneol, a polyhydroxylated fullerene C₆₀ // Toxicol. Lett. — 1997. — V. 93. — P. 29–37.
 56. Kolosnjaj H., Szwarc H., Moussa F. Toxicity studies of fullerenes and derivatives // Adv. Exp. Med. Biol. — 2007. — V. 620. — P. 168–180.
 57. Ji Z. Q., Sun H., Wang H. et al. Biodistribution and tumor uptake of C₆₀(OH)_x in mice // J. Nanopart. Res. — 2006. — V. 8, N 1. — P. 53–63.
 58. Пуотровский Л. Б., Киселев О. И. Фуллерены в биологии. — Санкт-Петербург: Росток, 2006. — 335 с.
 59. Moussa F., Trivin F., Ceolin R. et al. Early effects of C₆₀ administration in Swiss mice: a preliminary account for in vivo C₆₀ toxicity // Full. Sci. Technol. — 1996. — V. 4. — P. 21–29.
 60. Andrievsky G. V., Klochkov V., Derevyanchenko L. Is C₆₀ fullerene molecule toxic // Fuller. Nanotub. Carbon Nanostruct. — 2005. — V. 13. — P. 363–376.
 61. Richardson C., Schuster D., Wilson S. Properties of water soluble fullerene derivatives // Fulleren. — 2000. — V. 9. — P. 226–232.
 62. Rajagopalan P., Wudl F., Schinazi R., Boudinot F. Pharmacokinetics of a water-soluble fullerene in rats // Antimicrob. Agents Chemother. — 1996. — V. 40, N10. — P. 2262–2265.

**ФУЛЛЕРЕНЫ C₆₀ — БИОЛОГИЧЕСКИ
АКТИВНЫЕ МОЛЕКУЛЫ**

**I. Физико-химические свойства
и биодоступность**

*О. П. Матышевская
С. В. Прилуцкая
И. И. Гринюк*

Киевский национальный университет
имени Тараса Шевченко

E-mail: matysh@yahoo.com

Осуществлен анализ данных литературы относительно особенностей строения представителей нового класса наносоединений — фуллеренов C₆₀, их физических и химических свойств, способов введения в биологические системы, токсичности и перспектив использования как биологически активных соединений.

Ключевые слова: фуллерен C₆₀, водорастворимые производные C₆₀, продуцирование АФК, биодоступность.

**FULLERENES C₆₀ — BIOLOGICALLY
ACTIVE MOLECULES**

**I. Physicochemical properties
and bioavailability**

*O. P. Matyshevska
S. V. Prylutska
I. I. Grynjuk*

National Taras Shevchenko University, Kyiv

E-mail: matysh@yahoo.com

Analysis of the literature data concerning structure of a new class of nanocompounds — fullerenes C₆₀, their physical and chemical properties, and ways of introduction into biological systems, toxicity and perspectives of using as biologically active compounds is carried out.

Key words: fullerene C₆₀, C₆₀ water-soluble derivatives, ROS production, bioavailability.