

УДК 546.26.043

ФУЛЕРЕН C_{60} ТА ЙОГО ПОХІДНІ ЯК ПРОТИПУХЛИННІ АГЕНТИ: ПРОБЛЕМИ І ПЕРСПЕКТИВИ

С. В. ПРИЛУЦЬКА, Ю. М. КІЧМАРЕНКО, К. І. БОГУЦЬКА, Ю. І. ПРИЛУЦЬКИЙ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

E-mail: psvit@bigmir.net

Отримано 21.03.2012

Створення нових біосумісних матеріалів, здатних виявляти протираковинну активність чи підсилити її в комбінації з традиційними препаратами, знижуючи їхні шкідливі побічні ефекти, є важливою комплексною проблемою, яка потребує використання останніх досягнень біотехнології.

В огляді узагальнено дані літератури та результати досліджень авторів стосовно основних фізико-хімічних властивостей і біодоступності фулерену C_{60} та його похідних, їхньої мембранотропної, токсичної і пухлинотропної дії в системах *in vitro* та *in vivo*. На підставі зроблених узагальнень проаналізовано перспективи застосування цих унікальних наноструктур в онкології, зокрема в лікуванні онкохворих та з діагностичною метою. Висвітлено також деякі проблеми, що виникають за використання фулерену C_{60} та його похідних у медицині. Вони, зокрема, пов'язані зі створенням високостабільних водорозчинних нетоксичних сполук фулеренів C_{60} для введення в організм людини і доставлення кровотоком в орган, який потребуватиме терапевтичного впливу, та участю їх у процесах метаболізму.

Ключові слова: фулерен C_{60} та його похідні, біодоступність, мембранотропність, токсичність, пухлинотропність.

Подібно до того як Земля 500 років назад перестала здаватися пласкою, в наші дні увага... (дослідників) прикута до сферичного вуглецю.

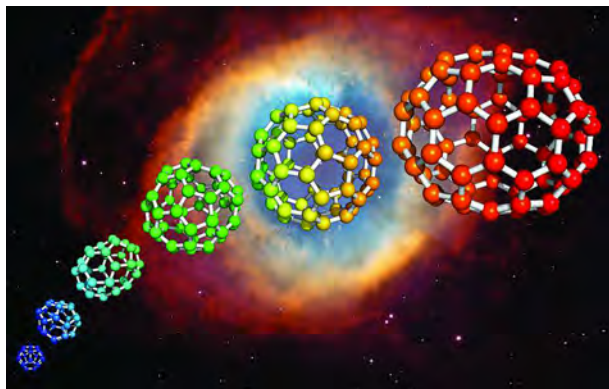
*Лауреат Нобелівської премії
Г. Крото щодо порівняння
відкриття фулерену C_{60}
з відкриттям Америки Х. Колумбом*

Однією з актуальних проблем розвитку сучасних нанобіотехнологій є цілеспрямоване застосування біосумісних низькотоксичних матеріалів розміром від 1 до 100 нм для лікування різноманітних хвороб. Так, в онкології, в рамках єдиного підходу природничих наук — фізики, хімії та біології, медицини і матеріалознавства сформовано новий науковий напрям «Нанотехнологія злоякісних пухлин», що розробляє методи молекулярної діагностики і терапії онкологічних захворювань з використанням наночастинок. Передбачається, що за допомогою запропонованих унікальних нанотехнологій буде вирішено проблеми ранньої діагности-

ки злоякісних новоутворювань з визначенням їх локалізації, адресного доставлення лікарських препаратів у пухлину, а також розроблено нові методи селективної терапії. Серед можливих ефективних протираковинних агентів значну роль відіграють вуглецеві наноструктури [1–3], зокрема фулерени C_{60} [4]. Наразі відомо, що вони мають імунomodulatory властивості, нормалізують клітинний обмін речовин та нервові процеси, підвищуючи стійкість до стресу, виявляють противірусні властивості, мають виражену протизапальну і антиалергенну дію, посилюють активність ензимів та регенеративну здатність тканин [1, 5, 6]. Зрештою, немодифіковані фулерени C_{60} та їхні похідні (модифіковані фулерени C_{60}) можуть бути допоміжним засобом у комплексній терапії раку завдяки підвищенню захисних функцій імунної та антиоксидантної систем організму [7–10].

Структура. Фулерен C_{60} являє собою молекулу майже сферичної форми (діаметром 0,72 нм), поверхня якої складається з 12 п'ятикутників і 20 шестикутників,

у вузлах яких міститься 60 атомів карбону, поєднаних між собою одинарними та подвійними хімічними зв'язками [4]. Серед можливих інших типів фулеренів (рис.) найбільший інтерес для експериментальних біологічних досліджень становить саме молекула C_{60} , яка легко утворюється, характеризується високою хімічною стабільністю та унікальними фізичними властивостями [11–13].



Послідовність фулеренів C_{24} , C_{28} , C_{32} , C_{50} , C_{60} і C_{70} , які було передбачено теоретично Г. Крото [H. W. Kroto, Nature, 1987, 329, 529–531]

Фулерени C_{60} можуть бути хімічно модифіковані (ковалентне та нековалентне приєднання різних груп, комплексів, атомів), що дає змогу забезпечити оптимальні умови вияву їхньої реакційної здатності у біологічних рідинах та всередині клітини [14–16]. Вони мають відновлювальну здатність, легко приєднуючи до шести електронів. Завдяки цьому фулерени C_{60} та їхні похідні діють у біологічних системах як уловлювачі вільних радикалів, зокрема й активних форм кисню (АФК) [17], гіперпродукція яких призводить до виникнення багатьох захворювань. Це відкриває реальну перспективу застосування цих сполук як потужних антиоксидантів, дія яких за силою і тривалістю перевищує дію відомих природних антиоксидантів — вітамінів С, Е і каротиноїдів [18–21]. З другого боку, інтенсивно поглинаючи світло в ультрафіолетовій та близькій видимій ділянках спектра [22], фулерени C_{60} та їхні похідні активно генерують АФК [23–26] і, таким чином, виступають як потужні прооксиданти.

Отже, здатність фулеренів C_{60} та їхніх похідних виявляти специфічну біологічну активність в системах *in vitro* та *in vivo*, у тому числі й завдяки своїм фотофізичним властивостям, уможливорює практичне застосування цих унікальних наноструктур у терапії раку.

Біодоступність. За хімічними властивостями фулерени C_{60} є гідрофобними — во-

ни нерозчинні у полярних розчинниках, що обмежує їх біодоступність [27]. З метою підвищення їхньої гідрофільності молекули C_{60} піддають хімічній модифікації (функціоналізації) [28]. Для цього використовують такі основні методичні підходи: утворення нековалентно зв'язаних комплексів фулеренів C_{60} з водорозчинними полімерами, хімічний синтез водорозчинних похідних фулеренів C_{60} через приєднання до їхньої поверхні полярних замісників та отримання стабільних водних колоїдних розчинів немодифікованих фулеренів C_{60} з використанням ультразвукової технології.

Найбільш перспективним підходом до отримання водорозчинних фулеренів C_{60} вважають хімічну модифікацію їхнього каркасу через приєднання полярних гідрофільних груп (гідроксильних, карбоксильних та аміногруп). З погляду молекулярної будови такі фулеренвмісні структури можна умовно поділити на дві групи — поліфункціоналізовані сполуки, у яких замісники розташовані по всій поверхні фулеренового каркасу, і сполуки з одним чи декількома замісниками у певній ділянці каркасу.

З метою оптимізації введення фулеренів C_{60} у водне середовище, запобігання агрегації, забезпечення рівномірного розміщення і специфічності їх взаємодії з біологічним субстратом у зоні контакту було запропоновано іммобілізацію фулеренів C_{60} на сферичних наночастинках діоксиду кремнію — аеросилу, який є хімічно інертним матеріалом з гідрофільною поверхнею [29]. До складу таких композитів можна вводити структури, що здатні вловлювати світло (наприклад, порфірин, антраценаль, флюоресцеїн) і посилювати фотосенсибілізувальний ефект фулеренів C_{60} у клітинах [30].

Висунуто пропозицію створювати біологічно активні гібридні наноструктури на основі амінокислотних похідних фулеренів C_{60} шляхом приєднання до фулеренового каркасу двох різних сполук (адентів): одна з них — амінокислота — забезпечує водорозчинність, а друга — специфічну біологічну дію щодо протеїнів, клітин [28, 31]. Відомі також оригінальні методики прямого приєднання амінокислот і пептидів до подвійного зв'язку у молекулі C_{60} через аміногрупу або шляхом заміщення атома водню, уведеного попередньо до структури фулерену C_{60} в процесі приєднання амінокислоти [28].

Для отримання водного розчину немодифікованих фулеренів C_{60} було застосовано метод, який ґрунтується на переведенні молекул C_{60} з толуолу у воду з подальшим об-

робленням ультразвуком [22]. Виявилося, що цей темно-коричневий розчин є типовою колоїдною системою, яка містить як поодинокі молекули C_{60} , так і сферичні кластери діаметром до 3 нм (залежно від концентрації фулеренів C_{60} у воді) у гідратованому стані [32, 33]. Встановлено [22], що найбільш енергетично доцільною структурою в такому водному розчині є клатрат $C_{60}(H_2O)_{60}$.

Отже, розглянуті методи переведення фулеренів C_{60} у біодоступну водорозчинну форму дають змогу цілеспрямовано застосовувати їх у медичних нанотехнологіях.

Мембранотропність. Під час взаємодії з мембранами клітин фулерени C_{60} та їхні похідні залежно від розміру індують появу в них різних дефектів, зокрема формування каналів і пор. Так, дослідженням субклітинного розподілу водорозчинної сполуки $C_{60}(CO_2H)_2$ із застосуванням флуоресцентної мікроскопії та моноклональних антитіл виявлено, що вона проникає через плазматичну мембрану всередину фібробластів людини, де зв'язується переважно з мітохондріями [34]. Автори пояснюють цей факт подібністю між структурою молекули C_{60} та вкритих клатриноюю ґраткою везикул, які поглинаються клітиною шляхом ендоцитозу. В експериментах з використанням флуоресцентних зондів (еритрозину і пірену), вбудованих у бішар фосфатидилхолінових ліпосом, показано, що комплекс C_{60} -полівінілпіролідол у процесі взаємодії з ліпосомами руйнується, причому полімерна матриця залишається ззовні, а молекула C_{60} вільно дифундує у мембрану [35, 36]. Проникнення фулерену C_{60} у мембрану призводить до зміни в'язкості мембранних ліпідів. Із застосуванням мічених ^{14}C - C_{60} фулеренів встановлено, що вони, взаємодіючи з поверхнею кератиноцитів людини, здатні проникати всередину клітин [37]. У разі введення піддослідним мишам суспензії міченого фулерену C_{60} (концентрація 10^{-3} М) спостерігали його накопичення у вигляді кристалів у печінці й селезінці тварин [38, 39]. За взаємодії фулеренів C_{60} із ліпосомальним бішаром відбувалося зменшення діаметра ліпосом та збільшення його поверхневого заряду [40]. Використовуючи методи молекулярної динаміки, встановили, що фулерени C_{60} здатні мігрувати всередину ліпідної основи мембрани внаслідок пасивної дифузії [41]. Високі концентрації фулеренів C_{60} індують зміни структурних і пружних властивостей ліпідного бішару [42], однак вони не є достатніми для механічного пошкодження мембрани. Показано [43–45],

що модифіковані флуоресцентною міткою фулерени C_{60} за низьких концентрацій (10^{-4} – 1 мг/мл) взаємодіють зі штучною бімолекулярною ліпідною мембраною, збільшуючи її питому провідність та електричну ємність, і проникають крізь плазматичну мембрану клітин HeLa, утворюючи в ній локальні дефекти (пори або канали).

Отже, завдяки мембранотропній активності фулерени C_{60} та їхні похідні потенційно можуть бути як транспортерами лікарських засобів у клітини і тканини організму, так і агентами специфічної біомедичної дії.

Токсичність. Відомості щодо токсичної активності фулеренів C_{60} та їхніх похідних наразі є суперечливими, що зумовлено умовами і терміном інкубації, концентрацією і розміром цих наночастинок та способом функціоналізації [46]. Так, після введення щурам шляхом інтраназальної інгаляції як нано- (діаметр 55 нм), так і мікрочастинок (0,93 мкм) фулеренів C_{60} упродовж 10 днів запальних процесів у легенях тварин не виявлено [47]. Є повідомлення про відсутність легеневої токсичності, пов'язаної з інтра-трахеальним введенням фулеренів C_{60} або $C_{60}(OH)_{24}$ щурам упродовж 3 місяців (загальна доза становила 3 мг/кг) [48]. Встановлено, що фулерол (доза до 200 мкг/на тварину) послаблює нейтрофільне запалення легень у мишей [49]. Виявлено [50], що для водорозчинних поліалкілсульфонованих фулеренів C_{60} , які вводили щурам інтраперитонеально, значення величини LD_{50} становить 600 мг/кг, а мішенями їхньої токсичної дії є нирки, печінка та жовчний міхур. Жодних токсичних ефектів чи летальних наслідків не було зафіксовано за використання суміші фулеренів C_{60} і C_{70} (водний розчин 0,5% натрійкарбоксиметилцелюлози, що містив 0,1% Tween 80) після перорального введення в організм щурів загальної дози 2 г/кг упродовж 14 днів [51]. Виявлено здатність похідних фулеренів C_{60} ініціювати дозозалежну токсичність через некротичний механізм [52]. Встановлено, що токсичний потенціал (зумовлений головним чином пероксидним окисненням ліпідів) похідних фулеренів C_{60} щодо дермальних фібробластів, гепатоцитів і нормальних астроцитів людини істотно залежить від типу їх функціоналізації [53]. Гідроксильовані фулерени C_{60} за концентрації до 100 мкг/мл під час інкубації у суспензії судинних ендотеліальних клітин протягом 10 днів призводили до їх загибелі [54]. Наночастинки C_{60} (2,4 мкг/мл, приготовлені з використанням тетрагідрофурану — ТГФ) спричинюють

токсичну дію, унаслідок якої посилюються процеси продукування АФК, пероксидного окиснення ліпідів і ушкоджуються мембрани клітин різних ліній (фібробласти шкіри, гепатоцити й астроцити) [55]. Відзначено, що токсичність сполуки $C_{60}(OH)_{18}$ є вищою порівняно з немодифікованими фулеренами C_{60} [56]. Фулерени C_{60} (концентрація до 10 мкг/мл, приготовлені з використанням ТГФ) не спричинювали токсичної дії щодо макрофагів людини *in vitro*, незважаючи на те, що локалізувались у цитоплазмі, ядрі та лізосомах клітин [57]. Припускають, що токсичність, пов'язана з дією фулеренів C_{60} , може бути наслідком присутності залишкового розчинника (або їхніх похідних), що має здатність інтеркалювати у структуру фулерену C_{60} або вивільняється у водну фазу [58]. ТГФ- C_{60} виявляли найбільшу токсичність, а немодифіковані фулерени C_{60} — найменшу у клітинних лініях кератиноцитів NTCC2544 та фібробластів шкіри NHDF людини, меланоми B6 і L929 фібросаркоми миші (діаметр наночастинок становив менше 36 нм) [59]. Виявлено, що додавання немодифікованих фулеренів C_{60} у діапазоні концентрацій 10^{-6} – 10^{-5} М (розмір наночастинок не перевищував 3 нм) до суспензій нормальних (тимоцитів) і трансформованих (асцитної карциноми Ерліха — АКЕ та лейкозу L1210) клітин не впливало на їхню життєздатність, накопичення продуктів ПОЛ у гомогенатах печінки і мозку та стійкість еритроцитів до гемолізу [60]. Наразі більшість даних літератури свідчить, що немодифіковані фулерени C_{60} за низьких концентрацій (близьких до фізіологічних) не виявляють гострої токсичної дії в системах *in vitro* та *in vivo* [61, 62].

Отже, хімічна структура, розмір, доза введення — це головні чинники, які зумовлюють специфічну біологічну дію фулеренів C_{60} та їхніх похідних, включаючи токсичність. Токсичність фулеренів C_{60} тісно пов'язана з оксидативною відповіддю, що вказує на необхідність проведення детального аналізу їхньої здатності викликати оксидативний стрес і пов'язані з ним наслідки, зокрема запалення або ушкодження ДНК.

Пухлинотропність. Один із можливих способів використання фулеренів C_{60} у терапії злоякісних новоутворень базується на їх модифікації шляхом приєднання біологічно активних лігандів, що мають протипухлинну активність. Так, фулерени C_{60} можуть слугувати вектором доставлення оксиду азоту до клітин-мішеней [63]. Відомо, що монооксид азоту (NO) контролює тонус судин,

є модулятором окисних реакцій, процесу апоптозу та імунних реакцій [64]. Виявлено хемосенсибілізуючий ефект фулеренів C_{60} як донорів NO у терапії раку, що дозволяє досягти практично 100%-го виживання експериментальних тварин. Водорозчинні немодифіковані фулерени C_{60} (загальна доза 25 мг/кг, введення — 5 разів через день) вірогідно пригнічували як ріст пухлин, так і метастазування карциноми легень Льюїс у мишей лінії C57Bl/6: максимальний терапевтичний ефект становив 25,1% за гальмуванням росту пухлини та 48% за індексом інгібування метастазів (ІМ); зростання тривалості життя тварин досягало 21,8% [9, 10].

У роботі [31] вивчено дію амінокислотних похідних фулерену C_{60} (АПФ) у комбінації з протипухлинним антибіотиком адриаміцином на моделі метастазуючої пухлини — карциноми легень Льюїс у мишей лінії BDF₁. Встановлено, що АПФ проникають через ліпідний бішар біологічної мембрани і є ефективними інгібіторами пероксидного окиснення ліпідів. Найбільший терапевтичний ефект застосування АПФ (доза 50 мг/кг) у комбінації з адриаміцином (доза 1 мг/кг) становив 40% ІМ. Уведення водорозчинних немодифікованих фулеренів C_{60} (доза 5 мг/кг) за 20 хв до введення доксорубіцину (доза 0,5 мг/кг) упродовж 10 днів (5 разів через день) сприяло вірогідному гальмуванню як росту пухлини, так і метастазів карциноми легень Льюїс у мишей лінії C57Bl/6J: максимальний терапевтичний ефект становив 79% ІМ та 34% за гальмуванням росту пухлини; зростання тривалості життя тварин досягало 24,4% [65]. У рамках хімічно індукованої моделі раку молочної залози вивчали можливу захисну роль фулеренулу [$C_{60}(OH)_{24}$] щодо дії протипухлинного препарату доксорубіцину, який спричинював легенеvu токсичність у щурів [66]. Результати чітко демонструють, що застосування лише доксорубіцину (доза 8 мг/кг) помітно погіршує функцію легень, однак попереднє введення фулеренулу (доза 100 мг/кг) за 30 хв до доксорубіцину запобігає його токсичній дії внаслідок інгібування оксидативного стресу.

Пухлиногальмівний ефект та імуномодулювальна активність фулеролу протестовано на моделі H22 гепатокарциноми миші [8]. Уведення цієї сполуки в дозах 0,2 і 1,0 мг/кг упродовж 17 днів виявило значне пригнічення об'єму пухлин, а саме: 31,9 і 38,4% відповідно. Результати засвідчили, що фулерол підвищує вроджений імунітет мишей щодо пухлин і, отже, гальмує їх ріст. Підтвер-

дженням цього факту слугують також дані щодо протекторної дії водорозчинних немодифікованих фулеренів C_{60} [10]: їх уведення (загальна доза 25 мг/кг; 5 разів через день) мишам лінії C57Bl/6J до перещеплення карциноми легень Льюїс зумовлювало вірогідне гальмування росту пухлин: максимальний терапевтичний ефект становив 96% ПМ та 35% за гальмуванням росту пухлини; зростання тривалості життя тварин досягало 30,3%.

За сучасними уявленнями, перехід від доброякісного стану пухлини у злоякісний відбувається тоді, коли пухлина починає проростати кровоносними судинами. Цей процес отримав назву васкуляризації, або ангиогенезу [67]. Індукція ангиогенезу здійснюється сигнальними протеїнами — факторами росту фібробластів (FGFb) та факторами росту ендотелію судин (VEGF), які секретуються клітинами пухлин. Показано, що похідні фулеренів C_{60} здатні одночасно регулювати більш ніж 10 ангиогенних факторів на рівні мРНК [68]. Модельні дослідження [69] виявили блокування фулеренами C_{60} утворення нових мікросудин у пухлині, що перешкоджало її подальшому росту і прогресуванню.

Слід також відзначити, що наразі обговорюється ідея створення протипухлинних медичних препаратів на основі водорозчинних ендофулеренів C_{60} (молекули C_{60} , усередині яких розміщено один або декілька атомів якого-небудь хімічного елемента) із впровадженими всередину структури фулерену C_{60} радіоактивними ізотопами. Окрім використання ендофулеренів C_{60} як нешкідливих радіоактивних маркерів уведення ліків на їх основі у тканини організму дасть змогу вибірково впливати на уражені пухлиною клітини, перешкоджаючи їх подальшому розмноженню.

Фотодинамічна терапія раку. Спрямований вплив на залежні від продукції АФК (1O_2 , $O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$, H_2O_2) сигнальні шляхи вважають перспективним способом пригнічення пухлинного росту [64]. Як традиційний напрям розглядають використання наночастинок як фотосенсибілізаторів у фотодинамічній терапії (ФДТ) [70]. ФДТ заснована на вибіркового накопиченні фотосенсибілізатора у пухлинних клітинах і його здатності генерувати АФК унаслідок опромінення світлом з певною довжиною хвилі, що призводить до загибелі ракових клітин. Унікальною фотофізичною властивістю молекули C_{60} є здатність переходити під дією УФ/ВИД-випромінювання у збуджений

стан і майже зі 100%-ю ефективністю продукувати синглетний кисень [23, 24, 71]. У рамках ФДТ пропонують використовувати комплекси порфіринів, асоційованих із фулеренами C_{60} , які значно посилюють фотосенсибілізуювальний ефект у пухлинних клітинах [30, 72, 73]. В експериментах *in vitro* з клітинами АФЕ за присутності немодифікованих фулеренів C_{60} (концентрація 10^{-5} М) виявлено зниження на 58% життєздатності трансформованих клітин після опромінення ртутною лампою (потужність 24 Вт) упродовж 2 хв. Методом ЕПР доведено генерацію фулеренами C_{60} супероксидно-аніон-радикалу зі швидкістю 10 нмоль/мл за 1 хв [24]. Показано, що інкубація пухлинних клітин із фулеренами C_{60} з наступним опроміненням видимим світлом спричинює апоптоз клітин через 4–6 год після опромінення [70]. Опромінення трис-малонатних похідних фулеренів C_{60} ($\lambda = 220\text{--}450$ нм) за інкубації у суспензії Т-клітин лінії Jurkat зумовлювало їх загибель [74]. Мишам з пухлиною, локалізованою у підшкірному шарі спини, вводили водорозчинний C_{60} -поліетиленгліколь (ПЕГ) (доза 424 мкг/кг) і опромінювали ділянку з пухлиною видимим світлом енергією 107 Дж/см², унаслідок чого ріст пухлини пригнічувався [75]. Гістологічний аналіз показав, що має місце некроз пухлини. При цьому клітини шкіри залишалися неушкодженими.

Отже, фулерени C_{60} та їхні похідні є високоефективними протипухлинними агентами, які здатні перешкоджати росту злоякісних пухлин, у комбінації з традиційними цитостатиками запобігати їхній токсичній дії на організменому рівні, посилювати генерування АФК у клітинах пухлин внаслідок УФ/ВИД-опромінення, що призводить до їх незворотних окисних ушкоджень.

Проблеми використання. Поряд зі значними перспективами у використанні фулерену C_{60} та його похідних у медицині існують також певні проблеми і перестороги на цьому шляху. Так, дані щодо біологічних випробувань водних дисперсій фулерену C_{60} ставлять під сумнів безпеку для живих організмів і навколишнього середовища загалом. З другого боку, наводяться аргументовані докази, що немодифіковані фулерени C_{60} не є токсичними, а супрамолекулярна система «фулерен C_{60} — вода» має широкий спектр високої позитивної біоактивності. Наразі встановлено, що токсичність молекул C_{60} істотно залежить від модифікації їхньої поверхні. Отже, питання токсичності фулеренів C_{60} , їх надходження і розповсюдження

у внутрішньоклітинному просторі, накопичення в органах та виведення з допустимою швидкістю залишаються досі відкритими. У разі встановлення безпеки для організму фулерени C_{60} та їхні похідні можуть набути застосування в фармакології, наприклад для таргетного спрямування до клітинних органел, впливу на внутрішньоклітинні процеси та індукції загибелі трансформованих клітин.

Таким чином, завдяки нанорозмірності, анти/прооксидантним властивостям, біодоступності, здатності взаємодіяти з біологіч-

ними молекулами, проникати всередину клітин та відсутності виявів гострої токсичності фулерен C_{60} та його похідні є потенційними фармакологічними сполуками нового класу для розроблення технології пригнічення пухлинного процесу. Вони можуть слугувати не лише носіями лікарських засобів та маркерів у клітини і тканини організму, а й високоефективними протекторами та інгібіторами росту злоякісних пухлин і метастазування, їхніми деструктантами внаслідок фотозбудження та в комбінації з відомими протипухлинними препаратами.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Cataldo F., Da Ros T.* (Eds.) Medicinal Chemistry and Pharmacological Potential of Fullerenes and Carbon Nanotubes. Series: Carbon Materials: Chemistry and Physics. — Netherlands: Springer, 2008. — 408 p.
2. *Прилуцька С. В., Ременяк О. В., Бурлака А. П., Прилуцький Ю. І.* Перспективи використання вуглецевих нанотрубок у протираковій терапії // Онкологія. — 2010. — № 12. — С. 5–9.
3. *Burlaka A., Lukin S., Prylutska S. et al.* Hyperthermic effect of multi-walled carbon nanotubes stimulated with near infrared irradiation for anticancer therapy: *in vitro* studies // *Exp. Oncol.* — 2010. — V. 32. — P. 48–50.
4. *Kroto H. W., Heath S., O'Brien S. C. et al.* C_{60} : Buckminsterfullerene // *Nature.* — 1985. — V. 318. — P. 162–163.
5. *Пиотровский Л. Б., Киселев О. И.* Фуллерены в биологии. — СПб: Росток, 2006. — 336 с.
6. *Wilson S. R.* Biological aspects of fullerenes. Fullerenes: Chemistry, Physics and Technology. — New York: John Wiley & Sons, 2000. — P. 437–465.
7. *Ashcroft J. M., Tsyboulski D. A., Hartman K. B. et al.* Fullerene C_{60} immunoconjugates: interaction of water-soluble C_{60} derivatives with the murine anti-gp240 melanoma antibody // *Chem. Commun.* — 2006. — V. 28. — P. 3004–3006.
8. *Zhu J., Ji Zh., Wang J. et al.* Tumor-inhibitory effect and immunomodulatory activity of fullerol $C_{60}(OH)_x$ // *Small.* — 2008. — V. 4. — P. 1168–1175.
9. *Prylutska S. V., Burlaka A. P., Prylutskyu Yu. I. et al.* Pristine C_{60} fullerenes inhibit the rate of tumor growth and metastasis // *Exp. Oncol.* — 2011. — V. 33. — P. 162–164.
10. *Prylutska S. V., Burlaka A. P., Klymenko P. P. et al.* Using water-soluble C_{60} fullerenes in anticancer therapy // *Cancer Nanotechnol.* — 2011. — V. 2. — P. 105–110.
11. *Елецкий А. В., Смирнов Б. М.* Фуллерены и структуры углерода // УФН. — 1995. — Т. 165. — С. 977–1009.
12. *Dresselhaus M. S., Dresselhaus G., Eklund P. C.* Science of Fullerenes and Carbon Nanotubes: Their Properties and Applications. — New York: Academic Press, 1996. — 985 p.
13. *Arbogast J. W., Foote Ch. S.* Photophysical properties of C_{60} // *J. Am. Chem. Soc.* — 1991. — V. 113. — P. 8886–8889.
14. *Da Ros T., Prato M.* Medical chemistry with fullerenes and fullerenes derivatives // *Chem. Commun.* — 1999. — V. 8. — P. 663–669.
15. *Djordjevic A., Bogdanovic G., Dobric S.* Fullerenes in biomedicine // *J. Buon.* — 2006. — V. 11. — P. 391–404.
16. *Матишевська О. П., Прилуцька С. В., Гринюк І. І.* Фулерени C_{60} — біологічно активні молекули. I. Фізико-хімічні властивості та біодоступність // Біотехнологія. — 2010. — Т. 3, № 1. — С. 18–26.
17. *Sun T., Xu Z.* Radical scavenging activities of alpha-alanine C_{60} adduct // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* — 2006. — V. 16. — P. 3731–3734.
18. *Wang I. C., Tai L. A., Lee D. D. et al.* C_{60} and water-soluble fullerene derivatives as antioxidants against radicals-initiated lipid peroxidation // *J. Med. Chem.* — 1999. — V. 42. — P. 4614–4620.
19. *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. — V. 5. — P. 2578–2585.
20. *Xiao L., Takada H., Gan X., Miwa N.* The water-soluble fullerene derivative «radical-sponge» exerts cytoprotective action against UV irradiation but not visible-light-catalyzed cytotoxicity in human skin keratinocytes // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* — 2006. — V. 16. — P. 1590–1595.
21. *Prylutska S. V., Grynyuk I. I., Matyshevskaya O. P. et al.* Anti-oxidant properties of C_{60} fullerenes *in vitro* // Fullerenes, Nanotubes, and Carbon Nanostruct. — 2008. — V. 16. — P. 698–705.
22. *Scharff P., Risch K., Carta-Abelmann L. et al.* Structure of C_{60} fullerene in water: spectro-

- scopic data // Carbon. — 2004. — V. 42. — P. 1203–1206.
23. Yamakoshi Y., Umezawa N., Ryu A. et al. Active oxygen species generated from photoexcited fullerene C₆₀ as potential medicines: versus // J. Chem. Soc. — 2003. — V. 125. — P. 12803–12809.
24. Burlaka A. P., Sidorik Ye. P., Prylutska S. V. et al. Catalytic system of the reactive oxygen species on the C₆₀ fullerene basis // Exp. Oncol. — 2004. — V. 26. — P. 326–327.
25. Prylutska S. V., Burlaka A. P., Matyshevska O. P. et al. Effect of the visible light irradiation of fullerene-containing composites on the ROS generation and the viability of tumor cells // Ibid. — 2006. — V. 28. — P. 160–162.
26. Scharff P., Ritter U., Matyshevska O. P. et al. Therapeutic reactive oxygen generation // Tumori. — 2008. — V. 94. — P. 278–283.
27. 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.
28. Hirsch A., Brettreich M. Fullerenes — Chemistry and Reactions. — New York: John Wiley & Sons, 2005. — 437 p.
29. Golub A., Matyshevska O., Prylutska S. et al. Fullerenes immobilized at silica surface: topology, structure and bioactivity // J. Mol. Liq. — 2003. — V. 105. — P. 141–147.
30. Davydenko M. O., Radchenko E. O., Yashchuk V. M. et al. Sensibilization of fullerene C₆₀ immobilized at silica nanoparticles for cancer photodynamic therapy // Ibid. — 2006. — V. 127. — P. 145–147.
31. Файнгольд И. И., Коновалова Н. П., Котельникова Р. А. и др. Аминокислотные производные фуллерена C₆₀ — модификаторы биологических реакций при цитостатической терапии метастазирующих опухолей // Рос. биотерапевт. журн. — 2007. — Т. 6, № 1. — С. 52.
32. Prilutski Yu. I., Durov S. S., Yashchuk V. N. et al. Theoretical predictions and experimental studies of self-organization C₆₀ nanoparticles in water solution and on the support // Eur. Phys. J. D. — 1999. — V. 9. — P. 341–343.
33. Bulavin L., Adamenko I., Prylutskiy Yu. et al. Structure of fullerene C₆₀ in aqueous solution // Phys. Chem. Chem. Phys. — 2000. — V. 2. — P. 1627–1629.
34. Foley S., Crowley C., Smaih M. et al. Cellular localisation of a water-soluble fullerene derivative // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2002. — V. 294. — P. 116–119.
35. Piotrovsky L. B., Dumpis M. A., Poznyakova L. N. et al. Study of the biological activity of the adducts of fullerenes with poly(N-vinylpyrrolidine) // Mol. Mater. Sci. — 2000. — V. 13. — P. 41–50.
36. Qiao R., Roberts A. P., Mount A. S. et al. Translocation of C₆₀ and its derivatives across a lipid bilayer // Nano Lett. — 2007. — V. 7. — P. 614–619.
37. 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.
38. Bullard-Dillard R., Creek K. E., Scrivens W. A., Tour J. M. Tissue sites of uptake of labeled C₆₀ // Bioorg. Chem. — 1996. — V. 24. — P. 376–385.
39. Moussa F., Trivin F., Cerolin R. et al. Early effects of C₆₀ administration in swiss mice: a preliminary account for *in vivo* C₆₀ toxicity // Full. Sci. Technol. — 1996. — N 4. — P. 21–29.
40. Katsamenis O. L., Bouropoulos N., Fatouros D. G. Interaction of fullerenes C₆₀ with large unilamellar vesicles // J. Biomed. Nanotechnol. — 2009. — V. 5. — P. 416–420.
41. Bedrov D., Smith G. D., Davande H., Li L. Passive transport of C₆₀ fullerenes through a lipid membrane: a molecular dynamics simulation study // J. Phys. Chem. B — 2008. — V. 112. — P. 2078–2084.
42. Wong-Ekkabut J., Baoukina S., Triampo W. et al. Computer simulation study of fullerene translocation through lipid membranes // Nat. Nanotechnol. — 2008. — V. 3. — P. 363–368.
43. Prylutska S. V., Matyshevska O. P., Grynyuk I. I. et al. Biological effects of C₆₀ fullerenes *in vitro* and in a model system // Mol. Cryst. Liq. Cryst. — 2007. — V. 468. — P. 265–274.
44. Schuetze C., Ritter U., Scharff P. et al. Interaction of N-fluorescein-5-isothiocyanate pyrrolidine-C₆₀ compound with a model bimolecular lipid membrane // Mater. Sci. Engineer. C. — 2011. — V. 31. — P. 1148–1150.
45. Prylutska S., Bilyy R., Overchuk M. et al. 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. — V. 8, N 3. — P. 522–527.
46. Johnston H. J., Hutchison G. R., Christensen F. M. et al. The biological mechanisms and physicochemical characteristics responsible for driving fullerene toxicity // Toxicol. Sci. — 2010. — V. 114. — P. 162–182.
47. Baker G. L., Gupta A., Clark M. L. et al. Inhalation toxicity and lung toxicokinetics of C₆₀ fullerene nanoparticles and microparticles // Ibid. — 2008. — V. 101. — P. 122–131.
48. Sayes C. M., Marchione A. A., Reed K. L., Warheit D. B. Comparative pulmonary toxicity assessments of C₆₀ water suspensions in rats: few differences in fullerene toxicity *in vivo* in contrast to *in vitro* profiles // Nano Lett. — 2007. — V. 7. — P. 2399–2406.
49. Roursgaard M., Poulsen S. S., Kepley C. L. et al. Polyhydroxylated C₆₀ fullerene (fullerenol) attenuates neutrophilic lung inflammation in mice // Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. — 2008. — V. 103. — P. 386–388.

50. *Chen H. H., Yu C., Ueng T. H. et al.* Acute and subacute toxicity study of water-soluble polyalkylsulfonated C₆₀ in rats // *Toxicol. Pathol.* — 1998. — V. 26. — P. 143–151.
51. *Mori T., Takada H., Ito S. et al.* Preclinical studies on safety of fullerene upon acute oral administration and evaluation for no mutagenesis // *Toxicology.* — 2006. — V. 225. — P. 48–54.
52. *Rouse J. G., Yang J., Barton A. R., Monteiro-Reviere N. A.* Fullerene-based amino acid nanoparticle interactions with human epidermal keratinocytes // *Toxicol. in Vitro.* — 2006. — V. 20. — P. 1313–1320.
53. *Sayes C. M., Fortner J. D., Guo W. et al.* The differential cytotoxicity of water-soluble fullerenes // *Nano Lett.* — 2004. — V. 4. — P. 1881–1887.
54. *Yamawaki H., Iwai N.* Cytotoxicity of water-soluble fullerene in vascular endothelial cells // *Am. J. Physiol.* — 2006. — V. 290. — P. C1495–C1502.
55. *Sayes C. M., Gobin A. M., Ausman K. D. et al.* Nano-C₆₀ cytotoxicity is due to lipid peroxidation // *Biomaterials.* — 2005. — V. 26. — P. 7587–7595.
56. *Kamat J. P., Devasagayam T. P. A., Priyadarisini K. I., Mohan H.* Reactive oxygen species mediated membrane damage induced by fullerene derivatives and its possible biological implications // *Toxicology.* — 2000. — V. 155. — P. 55–61.
57. *Porter A. E., Muller K., Skepper J. et al.* 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. — V. 2. — P. 409–419.
58. *Zhang B., Cho M., Fortner J. D. et al.* Delineating oxidative processes of aqueous C₆₀ preparations: role of THF peroxide // *Environ. Sci. Technol.* — 2009. — V. 43. — P. 108–113.
59. *Markovic Z., Todorovic-Markovic B., Kleut D. et al.* The mechanism of cell-damaging reactive oxygen generation by colloidal fullerenes // *Biomaterials.* — 2007. — V. 28. — P. 5437–5448.
60. *Prylutska S. V., Matyshevska O. P., Golub A. A. et al.* Study of C₆₀ fullerenes and C₆₀-containing composites cytotoxicity *in vitro* // *Mater. Sci. Engineer. C.* — 2007. — V. 27. — P. 1121–1124.
61. *Kolosnjaj J., Szwarc H., Moussa F.* Toxicity studies of fullerenes and derivatives // *Adv. Exp. Med. Biol.* — 2007. — N 620. — P. 168–180.
62. *Aschberger K., Johnston H. J., 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. — V. 58. — P. 455–473.
63. *Файнгольд И. И., Коновалова Н. П., Котельникова Р. А. и др.* Фуллереннитраты как адъюванты цитостатической химиотерапии // *Рос. биотерапевт. журн.* — 2006. — Т. 5. — С. 21–22.
64. *Бурлака А. П., Сидорик Є. П.* Радикальні форми кисню та оксиду азоту при пухлинному процесі. — К.: Наук. думка, 2006. — 227 с.
65. *Prylutska S. V., Burlaka A. P., Prylutsky Yu. I. et al.* Comparative study of antitumor effect of pristine C₆₀ fullerenes and doxorubicin // *Біотехнологія.* — 2011. — Т. 4, №6. — С. 82–87.
66. *Injac R., Radic N., Govedarica B. et al.* Acute doxorubicin pulmototoxicity in rats with malignant neoplasm is effectively treated with fullereneol C₆₀(OH)₂₄ through inhibition of oxidative stress // *Pharmacol. Rep.* — 2009. — V. 61. — P. 335–342.
67. *Freitas Jr R. A.* Nanomedicine, Volume IIA: Biocompatibility, Landes Bioscience. — Georgetown: TX, 2003. — 262 p.
68. *Meng H., Xing G., Sun B. et al.* Potent angiogenesis inhibition by the particulate form of fullerene derivatives // *ASC Nano.* — 2010. — V. 4. — P. 2773–2783.
69. *Murugesan S., Mousa S. A., O'Connor L. J. et al.* Carbon inhibits vascular endothelial growth factor- and fibroblast growth factor-promoted angiogenesis // *FEBS Lett.* — 2007. — V. 581. — P. 1157–1160.
70. *Li W.-T.* Nanotechnology-based strategies to enhance the efficacy of photodynamic therapy for cancers // *Curr. Drug Met.* — 2009. — V. 10. — P. 851–860.
71. *Mroz P., Tegos G. P., Gali H. et al.* Photodynamic therapy with fullerenes // *Photochem. Photobiol. Sci.* — 2007. — V. 6. — P. 1139–1149.
72. *Constantin C., Neagu M., Ion R. M. et al.* Fullerene-porphyrin nanostructures in photodynamic therapy // *Nanomedicine.* — 2010. — V. 5. — P. 307–317.
73. *Sharma S. K., Chiang L. Y., Hamblin M. R.* Photodynamic therapy with fullerenes *in vivo*: reality or a dream? // *Ibid.* — 2011. — V. 6. — P. 1813–1825.
74. *Rancan F., Rosan S., Boehm F. et al.* Cytotoxicity and photocytotoxicity of a dendritic C₆₀ mono-adduct and a malonic acid C₆₀ tris-adduct on Jurkat cells // *J. Photochem. Photobiol.* — 2002. — V. 67. — P. 157–162.
75. *Tabata Y., Murakami Y., Ikada Y.* Photodynamic effect of polyethylene glycol-modified fullerene on tumor // *Jpn. J. Cancer Res.* — 1997. — V. 88. — P. 1108–1116.

**ФУЛЛЕРЕН C₆₀ И ЕГО ПРОИЗВОДНЫЕ
КАК ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ АГЕНТЫ:
ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ**

*С. В. Прилуцкая
Ю. М. Кичмаренко
К. И. Богуцкая
Ю. И. Прилуцкий*

Киевский национальный университет
имени Тараса Шевченко

E-mail: psvit@bigmir.net

Создание новых биосовместимых материалов, способных проявлять противоопухолевую активность или усиливать ее в комбинации с традиционными препаратами, снижая их вредные побочные эффекты, является важной комплексной проблемой, которая требует использования последних достижений биотехнологии.

В обзоре обобщены данные литературы об основных физико-химических свойствах и биодоступности фуллерена C₆₀ и его производных, их мембранотропном, токсическом и опухолетропном действии в системах *in vitro* и *in vivo*. На основании сделанных обобщений проанализированы перспективы применения этих уникальных наноструктур в онкологии, в частности в лечении онкобольных и с диагностическими целями. Освещены также некоторые проблемы, возникающие при использовании фуллерена C₆₀ и его производных в медицине. Они, в частности, связаны с созданием высокостабильных водорастворимых нетоксичных соединений фуллеренов C₆₀ для введения в организм человека и доставки кровотоком в орган, подлежащий терапевтическому воздействию, и их участием в процессах метаболизма.

Ключевые слова: фуллерен C₆₀ и его производные, биодоступность, мембранотропность, токсичность, опухолетропность.

**FULLERENE C₆₀ AND ITS DERIVATIVES
AS ANTICANCER AGENTS:
PROBLEMS AND PROSPECTS**

*S. V. Prylutska
Yu. M. Kichmarenko
K. I. Bogutska
Yu. I. Prylutskyy*

Taras Shevchenko National University
of Kyiv

E-mail: psvit@bigmir.net

Creation of new biocompatible materials, which can exhibit antitumor activity or enhance it in combination with conventional drugs, reducing their harmful side effects, is an important complex problem that requires the use of last accomplishments of biotechnology.

The data regarding the main physico-chemical properties and bioavailability of fullerene C₆₀ and its derivatives, their membranotropic, toxic and tumortropic effects *in vitro* and *in vivo* systems are summarized in the review. Based on these generalizations the prospects of these unique nanostructures in oncology, particularly in the treatment of cancer patients and for diagnostic purposes are analyzed. At the same time, some problems arising from the use of fullerene C₆₀ and its derivatives in medicine are highlighted. They are particularly associated with the creation of highly stable water-soluble non-toxic compounds of fullerene C₆₀, which could be introduced into the human body and delivered with the bloodstream in the organ to be a therapeutic effect and their participation in the processes of metabolism.

Key words: fullerene C₆₀ and its derivatives, bioavailability, toxicity, membranotropic and tumortropic effects.