

УДК 546.26.043

## АГРЕГАТНОЕ СОСТОЯНИЕ C<sub>60</sub>-ФУЛЛЕРЕНА В РАЗЛИЧНЫХ СРЕДАХ

И. И. Гринюк<sup>1</sup>С. В. Прилуцкая<sup>1</sup>Н. С. Слободяник<sup>1</sup>А. Ю. Чунихин<sup>2</sup>О. П. Матышевская<sup>1</sup><sup>1</sup>Киевский национальный университет  
имени Тараса Шевченко, Украина<sup>2</sup>Институт биохимии им. А. В. Палладина НАН Украины, Киев

E-mail: igrynyuk@yahoo.com

Получено 23.07.2013

Методом фотонной корреляционной спектроскопии осуществлена оценка распределения по интенсивности, объему и количеству наночастиц немодифицированного (pristine) C<sub>60</sub>-фуллере́на в водной среде, лишенной химических дисперсантов, различающейся по солевому и протеиновому составу. Показано, что в водном коллоидном растворе содержатся частицы C<sub>60</sub>-фуллере́на диаметром от 38 до 600 нм, при этом значительную часть составляют наночастицы диаметром порядка 43 нм. В солевом растворе (0,9% NaCl) наблюдается образование агломератов C<sub>60</sub>-фуллере́на — процентное содержание более крупных наночастиц C<sub>60</sub> возрастает по сравнению с таковым в водном растворе. Добавление альбумина в среду способствует диспергированию наночастиц C<sub>60</sub> и предотвращает их как спонтанную, так и NaCl-зависимую агломерацию. При внесении C<sub>60</sub>-фуллере́на в концентрации 10<sup>-5</sup> М в среду RPMI 1640, содержащую 5%-ю эмбриональную телячью сыворотку, не наблюдается значительной агломерации наночастиц. Полученные данные свидетельствуют, что гомогенный стабильный водный коллоидный раствор немодифицированного C<sub>60</sub>-фуллере́на может быть использован для изучения клеточного ответа в культуральной среде.

**Ключевые слова:** C<sub>60</sub>-фуллерен, фотонная корреляционная спектроскопия, агломерация, альбумин.

В последнее время произошел значительный прорыв в области исследования свойств наноматериалов и возможности их применения в биологии и медицине. Особый интерес вызывает представитель карбоновых наноструктур C<sub>60</sub>-фуллере́н. Наноразмерность и особенности строения обуславливают уникальные физико-химические свойства молекулы C<sub>60</sub>. Благодаря наличию системы π-конъюгированных двойных связей на поверхности молекула C<sub>60</sub> улавливает свободные радикалы и проявляет свойства антиоксиданта, а при условии фотовозбуждения способна продуцировать активные формы кислорода и может быть использована в качестве фотосенсибилизатора для антираковой фотодинамической терапии. C<sub>60</sub>-фуллере́ны обладают нейропротекторной активностью, антимикробным и антивирусным действием, что определяет их применение в медицине [1–3].

Ограничениями для такого применения являются высокая степень гидрофобности молекул C<sub>60</sub>, агломерация в водной среде,

образование наночастиц различного размера и, как следствие, нестабильность водных дисперсий наночастиц C<sub>60</sub>. Тот факт, что биологическая активность C<sub>60</sub>-фуллере́на в значительной степени зависит от диаметра образуемых наночастиц, их концентрации, поверхностного заряда, формы, распределения по размеру, объясняет определенную противоречивость данных относительно биосовместимости и токсичности фуллере́на C<sub>60</sub> [4–6]. Считается доказанным отсутствие токсичности C<sub>60</sub>-фуллере́на в диапазоне концентраций 10<sup>-7</sup>–10<sup>-5</sup> [7, 8]. Для повышения гидрофильности C<sub>60</sub> используют модификацию поверхности молекулы полярными заместителями, однако такая модификация изменяет свойства молекулы, влияет на ее антиоксидантную активность и способность проникать через клеточную мембрану. В связи с этим перспективным является изучение возможности использования немодифицированного (pristine) C<sub>60</sub>-фуллере́на в биологических исследованиях, в частности для изучения клеточного ответа *in vitro*.

Относительная агрегация молекул  $C_{60}$  в водной дисперсии определяется двумя основными факторами — способом получения карбоновых наночастиц и составом суспензионной среды, которая часто содержит диспергирующие вещества: тетрагидрофуран, диметилсульфоксид, поливинилпирролидон для обеспечения стабильности водных дисперсий [1, 9, 10]. Между тем, культуральные среды для клеток млекопитающих характеризуются высоким содержанием электролитов (соли, аминокислоты, витамины), необходимых для клеточного роста, но способствующих агрегации наночастиц. Целью работы была оценка распределения наночастиц pristine  $C_{60}$ -фуллерена в лишенной химических дисперсантов водной среде, различающейся по солевому и протеиновому составу.

### Материалы и методы

В работе использован метод получения  $C_{60}$ -фуллерена, основывающийся на сжигании графитового стержня в дуге постоянного тока и атмосферы гелия при температуре 6 000 °С. Очистку  $C_{60}$ -фуллерена осуществляли методом гель-хроматографии с использованием в качестве элюента толуола и высокоэффективной жидкостной хроматографии (Jasco PU-2086). Органический растворитель удаляли выпариванием в вакууме, после добавления дистиллированной воды смесь фуллерена  $C_{60}$  подвергали длительной (8 ч) обработке в ультразвуковой бане для получения водного коллоидного раствора [11].

Размер наночастиц определяли методом фотонной корреляционной спектроскопии на лазерном корреляционном спектрометре ZetaSizer-3 (Malvern Instruments, Великобритания), оборудованном He-Ne лазером ЛГН-111 ( $P = 25$  мВт,  $\lambda = 633$  нм). Диапазон измерения прибора составляет от 1 нм до 20 мкм. Работа спектрометра основана на анализе корреляционных характеристик флуктуации интенсивности динамически рассеянного света при прохождении лазерного луча через среду [12]. Измерение корреляционной функции флуктуаций интенсивности рассеянного света и интегральной интенсивности рассеяния позволяет рассчитать коэффициент трансляционной диффузии дисперсных частиц в жидкостях и по уравнению Стокса–Эйнштейна определить распределение наночастиц в жидкостях по эффективному гидродинамическому диаметру. Коэффициент трансляционной диффузии  $D$  частиц связан с интервалом корреляции  $\tau_c$  соотношением:

$$Dq^2 = 1/\tau_c.$$

Волновой вектор флуктуации концентрации  $q$  описывается соотношением:

$$q = \frac{4\pi n}{\lambda_0} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right),$$

где  $n$  — показатель преломления среды (жидкости);

$\lambda_0$  — длина волны излучения;

$\theta$  — угол рассеяния.

Используя формулу Стокса–Эйнштейна, которая связывает значение гидродинамического диаметра частиц с коэффициентом трансляционной диффузии и вязкостью жидкости, можно рассчитать диаметр сферических частиц:

$$d(H) = \frac{k_B \cdot T}{3\pi\eta D},$$

где  $k_B$  — постоянная Больцмана;

$T$  — абсолютная температура, К;

$\eta$  — динамическая вязкость среды, в которой суспендированы частицы;

$D$  — коэффициент трансляционной диффузии.

Исследуемую суспензию в количестве 1 мл помещали в цилиндрическую оптическую кювету из кварца диаметром 10 мм, которую вводили в лунку лазерного корреляционного спектрометра с поддержанием постоянной температуры. Регистрацию и статистическую обработку лазерного излучения, рассеянного от водной ( $n = 1,33$ ) суспензии наночастиц, проводили многократно в течение 180 с при температуре +22 °С под углом рассеяния 90°.

Полученные результаты измерений обрабатывали с помощью сервисной компьютерной программы PCS-Size mode v1.61. Лазерный корреляционный спектрометр оборудован коррелятором multi computing correlator type 7032 се.

Агрегатное состояние наночастиц  $C_{60}$ -фуллерена оценивали в водной среде без добавок, с добавлением NaCl (0,9%), сывороточного альбумина (5%), а также в среде RPMI 1640, содержащей 5%-ю эмбриональную телячью сыворотку (ЭТС).

### Результаты и обсуждение

Немодифицированные (pristine) фуллерены способны образовывать в воде стабильные «гидрофильные» коллоидные растворы, называемые также дисперсиями [3, 13, 14]. В данной работе использован один из способов их получения — перенесение из органической (толуол) в водную фазу и длительная

обработка ультразвуком до получения водного коллоидного раствора  $C_{60}$ -фуллерена в концентрации  $10^{-4}$  М. Степень чистоты  $C_{60}$ -фуллерена в полученном растворе составляла 99,5% [11].

Гидрофобность поверхности немодифицированного (pristine) фуллерена обуславливает тенденцию к самосборке и агрегации молекул  $C_{60}$  с формированием фуллереновых наночастиц различного размера. Однако поведение очищенных фуллереновых наночастиц, которые имеют отрицательный поверхностный заряд, определяется не только гидрофобными и ван-дер-ваальсовыми, но и электростатическими взаимодействиями, т. е. зависит от присутствия электролитов в среде растворения [15]. В связи с этим был проведен сравнительный анализ распределения  $C_{60}$ -наночастиц в водном растворе и в осмолярном NaCl.

Анализ интенсивности рассеивания света при прохождении лазерного луча через коллоидный водный ( $10^{-5}$ ) раствор  $C_{60}$ -фуллерена показывает, что диапазон размеров содержащихся в растворе сферических частиц  $C_{60}$  составляет 38–600 нм с пиком порядка 221 нм (рис. 1, А). В растворе 0,9% NaCl наблюдалось смещение вправо как диапазона размеров частиц (50–800 нм), так и значения пика на 293 нм.

Кривые, характеризующие относительный объем, занимаемый частицами определенного размера в воде и в растворе NaCl, также отличаются (рис. 1, В). Значительный объем в водном растворе занимают частицы размером от 45 до 220 нм. В солевом растворе возрастает в три раза по сравнению с таковым в водном растворе процентное содержание крупных  $C_{60}$ -частиц диаметром 403 нм.

Анализ относительного количества наночастиц определенного размера в образце указывает на гомогенность водного коллоидного раствора  $C_{60}$ -фуллерена, значительную часть которого (30%) составляют наночастицы диаметром 43 нм (рис. 1, В). В физиологическом растворе NaCl выявлены  $C_{60}$ -наночастицы преимущественно диаметром 94 нм и в небольшом количестве — частицы диаметром 378 нм.

Как показано нами ранее, во время проведения повторяющихся в течение 15 мин измерений гидродинамический радиус  $C_{60}$ -наночастиц в водном коллоидном растворе не изменяется [16]. Нами отмечено, что этот показатель не изменяется и через 6 мес, что указывает на стабильность полученной  $C_{60}$ -суспензии в течение длительного периода хранения.

Таким образом, агрегатное состояние частиц  $C_{60}$ -фуллерена в присутствии NaCl изменяется. Установлено, что электрофор-

етическая подвижность, обусловленная отрицательным поверхностным зарядом фуллереновых наночастиц, снижается при повышении концентрации как моновалентных, так и дивалентных электролитов [17–19]. Повышение концентрации натрия приводит к связыванию иона на поверхности наночастички, экранированию ее поверхностного заряда и снижению энергетического барьера агрегации, вследствие чего агрегация наночастиц ускоряется [20].

Согласно приведенным в [15] данным, критическая концентрация коагуляции наночастиц немодифицированного (pristine)  $C_{60}$ -фуллерена для NaCl при pH 5,2 составляет 120 мМ. Полученные нами данные подтверждают тенденцию к агломерации наночастиц немодифицированного (pristine)  $C_{60}$  в растворах с физиологической концентрацией NaCl.

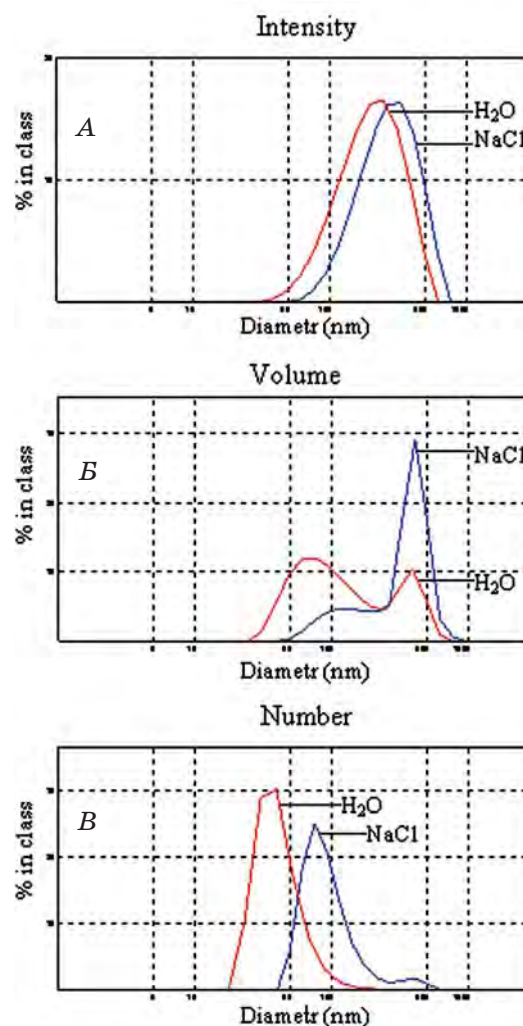


Рис. 1. Анализ агрегатного состояния частиц  $C_{60}$ -фуллерена в водной среде и в 0,9% -м растворе NaCl методом фотонной корреляционной спектроскопии

Поскольку обязательным компонентом культуральных сред, приближенных по составу к биологическим, являются протеины, было исследовано распределение наночастиц  $C_{60}$  при внесении в среду не только NaCl, но и альбумина.

Характерный диапазон размеров частиц в 5%-м водном растворе альбумина составляет 2–26 нм с пиком порядка 5 нм (рис. 2, кривая 2). При смешивании  $C_{60}$ -фуллерена и альбумина диаметр выявляемых в растворе наночастиц увеличивается (диапазон — от 4 до 40 нм, пик — 10 нм) (рис. 2, кривая 3), что свидетельствует о связывании  $C_{60}$ -фуллерена с альбумином. Такое связывание предотвращает вызываемую NaCl агломерацию молекул  $C_{60}$ -фуллерена, поскольку в растворе, содержащем альбумин, NaCl и  $C_{60}$ , диапазон размера наночастиц (рис. 2, кривая 4) остается почти таким же (4,5–45 нм), как и в растворе  $C_{60}$  с альбумином, а значение среднего диаметра наночастиц в среде, содержащей альбумин, NaCl и  $C_{60}$  (13 нм) является меньшим, чем наночастиц  $C_{60}$  в воде (43 нм) (рис. 2, кривая 1) и в 0,9%-м NaCl (94 нм) (рис. 1, В). Таким образом, присутствие альбумина в среде способствует диспергированию наночастиц  $C_{60}$  и предотвращает как их спонтанную, так и зависимую от NaCl агломерацию.

Для исследования длительной динамики клеточного ответа на воздействие наночастиц часто используют среду RPMI 1640 — сложную смесь, содержащую, в частности, соли, аминокислоты, различные протеины и липиды. Важной составляющей таких исследований является оценка концентрационной зависимости эффектов наночастиц. В связи с этим было изучено распределение фуллереновых наночастиц в среде RPMI

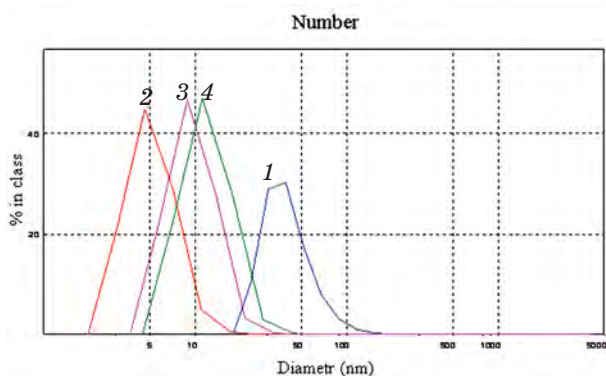


Рис. 2. Сравнительный анализ количественного распределения по размеру частиц в водной среде, содержащей  $C_{60}$  (1), альбумин (2),  $C_{60}$  и альбумин (3),  $C_{60}$ , альбумин и NaCl (4) методом фотонной корреляционной спектроскопии

1640 с 5% ЭТС при внесении  $C_{60}$  в двух концентрациях —  $10^{-5}$  и  $2 \cdot 10^{-5}$ .

Анализ кривых, отражающих относительный объем, занимаемый частицами определенного размера в общем объеме образца, показал увеличение объема, занимаемого частицами со средним диаметром 495 нм в среде RPMI 1640 по сравнению с водной средой, что свидетельствует об усилении агломерации частиц в  $10^{-5}$  М растворе  $C_{60}$ -фуллерена. Однако существенной агломерации не происходит — как в RPMI 1640, так и в водном растворе преобладают наночастицы со средним диаметром 50 нм (рис. 3, Б; рис. 1, В). В то же время двукратное увеличение концентрации  $C_{60}$ -фуллерена в среде RPMI сопровождается заметным усилением агломерации. Так, объем, занимаемый частицами 40–200 нм, снижается, а занимаемый частицами со средним диаметром 431 нм — увеличивается. Кривая, характеризующая объемное распределение частиц, смещается вправо и имеет два пика — 92 и 413 нм (рис. 3, А).

Таким образом, при внесении  $C_{60}$ -фуллерена в концентрации  $10^{-5}$  М в среды, приближенные по составу к биологическим, не наблюдается значительной агломерации частиц. Это согласуется с гипотезой [9] относительно того, что включение компонентов протеиновой и липидной природы в состав среды является условием оптимального дис-

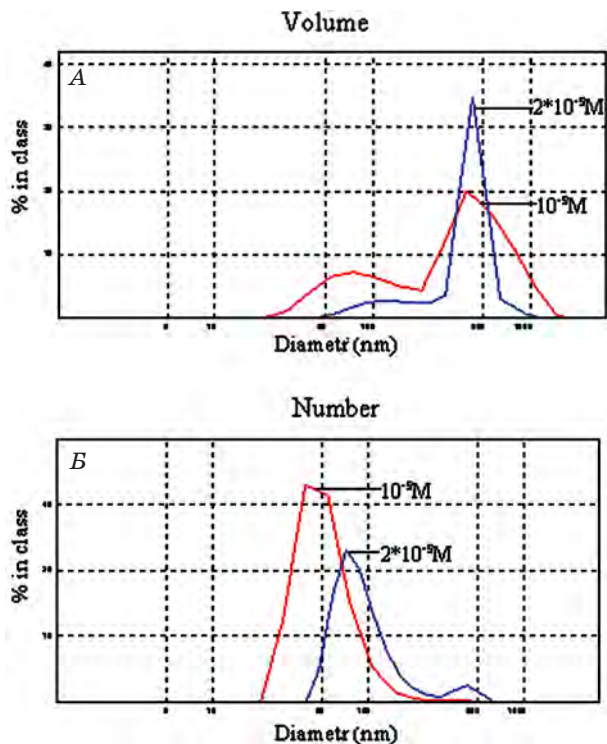


Рис. 3. Агрегатное состояние частиц  $C_{60}$ -фуллерена при внесении их в концентрации  $1 \cdot 10^{-5}$  М и  $2 \cdot 10^{-5}$  М в среду RPMI 1640 с 5% ЭТС

пергирования карбоновых наночастиц в биологических системах. Критическим фактором, способствующим агломерации фуллереновых наночастиц, является повышение концентрации  $C_{60}$  в среде.

Размер наночастиц в значительной степени определяет их взаимодействие с клетками. Так, в работе [4] продемонстрировано эффективное поглощение наночастиц пристинного фуллерена  $C_{60}$  размером 100–130 нм кератиноцитами HaCaT. Эпителиальные клетки Нер-2 селективно захватывали наночастицы размером 40–70 нм, выявляемые в ядре [21].

Важным условием взаимодействия карбоновых наночастиц с клеточной мембраной является их гидрофобность. Так, показано, что немодифицированные полистироновые наночастички эффективно связываются с энтероцитами линии Caco-2 и поглощаются в кишечнике крыс, в то время как модификация поверхности гидрофильным поллоксамером предотвращает такое поглощение [21].

Таким образом, показано, что в водном коллоидном растворе содержатся частицы  $C_{60}$ -фуллерена диаметром от 38 до 600 нм, при этом значительную часть составляют наночастицы диаметром порядка 43 нм. В солевом растворе (0,9% NaCl) наблюдается образование агломератов  $C_{60}$ -фуллерена — процентное содержание более крупных наночастиц  $C_{60}$  возрастает по сравнению с таковым в водном растворе. Добавление альбумина в среду способствует диспергированию наночастиц  $C_{60}$  и предотвращает их как спонтанную, так и зависимую от NaCl агломерацию. При внесении  $C_{60}$ -фуллерена в концентрации  $10^{-5}$  М в среду RPMI 1640, содержащую 5% -ю эмбриональную телячью сыворотку, не наблюдается значительной агломерации наночастиц. Полученные данные свидетельствуют, что гомогенный стабильный водный коллоидный раствор немодифицированного (pristine)  $C_{60}$ -фуллерена может быть использован для изучения клеточного ответа в культуральной среде.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Jensen A. W., Wilson S. R., Schuster D. I. Biological applications of fullerenes // *Bioorg. Med. Chem.* — 1996. — V. 4. — P. 767–779.
2. Bakry R., Vallant R. M., Najam-ul-Haq M. et al. Medicinal applications of fullerenes // *Intern. J. Nanomed.* — 2007. — V. 2, N 4. — P. 639–649.
3. Пиотровский Л. Б., Еропкин М. Ю., Еропкина М. А. и др. Механизмы биологического действия фуллеренов — зависимость от агрегатного состояния // *Психофарм. биол. наркол.* — 2007. — Т. 7., Вып. 2. — С. 1548–1554.
4. Horie M., Nishio K., Kato H. et al. In vitro evaluation of cellular responses induced by stable fullerene  $C_{60}$  medium dispersion // *J. Biochem.* — 2010. — V. 148. — P. 289–298.
5. Levi N., Hantgan R. R., Lively M. O. et al.  $C_{60}$ -Fullerenes: detection of intracellular photoluminescence and lack of cytotoxic effects // *J. Nanobiotechnol.* — 2006. — V. 4. P. 14–25.
6. Moussa F., Trivin F., Ceolin R. et al. Early effects of  $C_{60}$  administration in Swiss mice: a preliminary account for in vivo  $C_{60}$  toxicity // *Full. Sci. Technol.* — 1996. — V. 4. — P. 21–29.
7. Andrievsky G. V., Klochkov V., Derevyanchenko L. Is  $C_{60}$  fullerene molecule toxic // *Fuller. Nanotub. Carbon Nanostruct.* — 2005. — V. 13. — P. 363–376.
8. Прилуцька С. В., Гринюк І. І., Голуб О. А. та ін. Оцінка параметрів цитотоксичності фулеренів  $C_{60}$  та  $C_{60}$ -вмісних композитів in vitro // *Доп. НАН України.* — 2006 — № 1. — С. 163–167.
9. Buford M. C., Hamilton Jr. R. F., Holian A. A comparison of dispersing media for various engineered carbon nanoparticles // *Part. Fibre Toxicol.* — 2007. — V. 4, N 6. — doi:10.1186/1743-8977-4-6.
10. Deguchi S., Yamazaki T., Mukai S. A. et al. Stabilization of  $C_{60}$  nanoparticles by protein adsorption and its implications for toxicity studies // *Chem. Res. Toxicol.* — 2007. — V. 20. — P. 854 — 858.
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. Scott E. McNeil. Characterization of nanoparticles intended for drug delivery. — Humana press. — 2011. — P. 283.
13. 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.
14. Labille J., Brant J., Villieras F. et al. Affinity of  $C_{60}$  fullerene with water // *Fuller. Nanotub. Carbon Nanostruct.* — 2006. — V. 14. — P. 307–314.
15. Chen K. L., Elimelech M. Aggregation and Deposition Kinetics of Fullerene ( $C_{60}$ ) Nanoparticles // *Langmuir.* — 2006. — V. 22. — P. 10994–11001.
16. Grynyuk I., Grebinyuk S., Prylutska S. et al. Photoexcited fullerene  $C_{60}$  disturbs prooxidant-antioxidant balance in leukemic L1210 cells // *Mat.-wiss. u. Werkstofftech.* — 2013. — V. 44, N 2 — 3. — P. 139–143.

17. *Deguchi S., Alargova R. G., Tsujii K.* Stable dispersions of fullerenes, C<sub>60</sub> and C<sub>70</sub>, in water. Preparation and Characterization // *Langmuir*. — 2001. — V. 17, N 19. — P. 6013–6017.
18. *Mchedlov-Petrosyan N. O., Klochkov V. K., Andrievsky G. V.* Colloidal dispersions of fullerene C<sub>60</sub> in water: some properties and regularities of coagulation by electrolytes // *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* — 1997. — V. 93, N 24. — P. 4343–4346.
19. *Brant J. A., Labille J., Bottero J.-Y. et al.* Characterizing the impact of preparation method on fullerene cluster structure and chemistry // *Langmuir*. — 2006. — V. 22, N 8. — P. 3878–3885.
20. *Elimelech M., Gregory J., Jia X., Williams R. A.* Particle deposition and aggregation: measurement, modelling and simulation; Butterworth-Heinemann: Oxford, U.K., 1995.
21. *Neumeyer A., Bukowski M., Veith M. et al.* Propidium iodide labeling of nanoparticles as a novel tool for the quantification of cellular binding and uptake // *Nanomedicine*. — 2011. — V. 7, N 4. — P. 410–419.

### АГРЕГАТНИЙ СТАН C<sub>60</sub>-ФУЛЕРЕНУ В РІЗНИХ СЕРЕДОВИЩАХ

*I. I. Гринюк<sup>1</sup>  
С. В. Прилуцька<sup>1</sup>  
М. С. Слободяник<sup>1</sup>  
О. Ю. Чуніхін<sup>2</sup>  
О. П. Матишевська<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Київський національний університет  
імені Тараса Шевченка, Україна

<sup>2</sup>Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна  
НАН України, Київ

*E-mail: igrynyuk@yahoo.com*

Методом фотонної кореляційної спектроскопії оцінено розподіл за розміром, об'ємом та кількістю наночастинок немодифікованого (pristine) C<sub>60</sub>-фулерену в позбавленому хімічних дисперсантів водному середовищі, що розрізняється за сольовим та протеїновим складом. Показано, що водний колоїдний розчин містить частинки C<sub>60</sub>-фулерену діаметром від 38 до 600 нм, при цьому значним є вміст наночастинок діаметром 43 нм. У сольовому розчині (0,9% NaCl) спостерігається утворення агломератів C<sub>60</sub>-фулерену — відсотковий вміст більших наночастинок зростає порівняно з таким у водному середовищі. Додавання альбуміну в середовище сприяє диспергуванню наночастинок C<sub>60</sub> та запобігає їх як спонтанній, так і NaCl-залежній агломерації. У разі внесення C<sub>60</sub>-фулерену в концентрації 10<sup>-5</sup> М в середовище RPMI 1640, що містить 5%-ну ембріональну телячу сироватку, не спостерігається агломерації наночастинок. Одержані дані свідчать, що гомогенний стабільний водний колоїдний розчин немодифікованого C<sub>60</sub>-фулерену може бути використано для дослідження клітинної відповіді в культуральному середовищі.

**Ключові слова:** C<sub>60</sub>-фулерен, фотонно-кореляційна спектроскопія, альбумін, агломерація.

### THE AGGREGATE STATE OF C<sub>60</sub>-FULLERENE IN VARIOUS MEDIA

*I. I. Grynyuk<sup>1</sup>  
S. V. Prylutska<sup>1</sup>  
N. S. Slobodyanik<sup>1</sup>  
O. Yu. Chunikhin<sup>2</sup>  
O. P. Matyshevska<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv,  
Ukraine

<sup>2</sup>Palladin Institute of Biochemistry  
of National Academy Sciences of Ukraine, Kyiv

*E-mail: igrynyuk@yahoo.com*

The distribution of pristine C<sub>60</sub>-fullerene nanoparticles by volume and number in water solution without chemical dispersants with different salt and protein composition was evaluated using the correlation spectroscopy analysis. It was shown, that water colloid solution contains C<sub>60</sub>-fullerene particles with hydrodynamic diameter from 38 to 600 nm, and the main peak position is at 43nm. In saline solution (0,9% NaCl) the particle size distribution range enlarges that may result from the C<sub>60</sub> aggregation. Albumin introducing into the medium promotes dispersed state of C<sub>60</sub> nanoparticles and prevents their spontaneous as well as NaCl-dependent agglomeration. No obvious aggregation was detected when C<sub>60</sub>-fullerene in concentration 10<sup>-5</sup> M was added to RPMI medium containing 5% fetal bovine serum. The data show that stable homogenous water colloid solution of pristine C<sub>60</sub> fullerene could be used for studding cell responses in cultural medium.

**Key words:** C<sub>60</sub>-fullerene, photon correlation spectroscopy, albumin, agglomeration.