

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ЛЕГКИХ ФУЛЛЕРЕНОВ В МЕДИЦИНЕ

Кукалия О. Н.¹, Мещеряков А. А.¹, Юрьев Г. О.^{1,2,3},
Андоскин П. А.^{1,2}, Семенов К. Н.^{1,2,4}, Молчанов О. Е.²,
Майстренко Д. Н.², Мурин И. В.⁴, Шаройко В. В.^{1,2,4}

Контактная информация:

Юрьев Глеб Олегович,
ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ
им. И. П. Павлова» Минздрава России,
ул. Льва Толстого, д. 6–8,
Санкт-Петербург, Россия, 197022.
E-mail: glebbi407@mail.ru

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А. М. Гранова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

Статья поступила в редакцию 01.09.2023
и принята к печати 28.12.2023.

Резюме

Одними из наиболее перспективных направлений использования фуллеренов и их производных являются биология и медицина. Это связано с тем, что фуллерены обладают высокой реакционной способностью благодаря наличию двойных связей, способных присоединять различные радикалы, и демонстрируют высокую антиоксидантную активность, способность проникать через липидный бислой, модулировать трансмембранный транспорт ионов. В обзоре рассмотрены основные биологические свойства водорастворимых производных легких фуллеренов, определяющие их применение в биомедицине.

Ключевые слова: аддукты фуллерена с аминокислотами, биосовместимость, карбоксилированный фуллерен, фуллерен, фуллеренол.

Для цитирования: Кукалия О.Н., Мещеряков А.А., Юрьев Г.О. и др. Перспективы применения водорастворимых производных легких фуллеренов в медицине. Трансляционная медицина. 2023;10(6):507-521. DOI: 10.18705/2311-4495-2023-10-6-507-521. EDN: JTTUSS

PROSPECTS FOR THE APPLICATION OF WATER-SOLUBLE DERIVATIVES OF LIGHT FULLERENES IN MEDICINE

Oleg N. Kukalia¹, Anatoly A. Meshcheryakov¹, Gleb O. Iurev^{1, 2, 3}, Pavel A. Andoskin^{1, 2}, Konstantin N. Semenov^{1, 2, 4}, Oleg E. Molchanov², Dmitry N. Maistrenko², Igor V. Murin⁴, Vladimir V. Sharoyko^{1, 2, 4}

¹ Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

² Russian Scientific Center for Radiology and Surgical Technologies named after A. M. Granov, Saint Petersburg, Russia

³ Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

⁴ Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Gleb O. Iurev,
Academician I. P. Pavlov First Saint
Petersburg State Medical University,
Lva Tolstogo str., 6–8, Saint Petersburg,
Russia, 197022.
E-mail: glebbi407@mail.ru

Received 01 September 2023; accepted
28 December 2023.

Abstract

One of the most promising areas for the use of fullerenes and their derivatives is biology and medicine. This is due to the fact that fullerenes are highly reactive due to the presence of double bonds capable of attaching various radicals, and demonstrate high antioxidant activity, the ability to penetrate through the lipid bilayer, and modulate transmembrane ion transport. The review considers the main biological properties of water-soluble derivatives of light fullerenes, which determine their application in biomedicine.

Key words: biocompatibility, carboxylated fullerene, fullerene, fullerene adducts with amino acids, fulleranol.

For citation: Kukalia ON, Meshcheryakov AA, Iurev GO, et al. Prospects for the application of water-soluble derivatives of light fullerenes in medicine. Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine. 2023;10(6):507-521 (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2023-10-6-507-521. EDN: JTTUSS

Одними из наиболее перспективных направлений использования фуллеренов и их производных являются биология и медицина. Это связано с тем, что фуллерены обладают уникальными физико-химическими свойствами [1–6], высокой реакционной способностью благодаря наличию двойных связей, способных присоединять различные радикалы, и демонстрируют высокую антиоксидантную активность, способность проникать через липидный бислой, модулировать трансмембранный транспорт ионов [7–10].

Проблема растворимости фуллерена стоит особенно остро в связи с его потенциальным применением в медицине, в водной среде он практически нерастворим ($< 10^{-11}$ г/л) [11, 12], что обусловлено его высокой гидрофобностью.

Большим достижением в химии фуллеренов является то, что в последние годы были разработа-

ны подходы, позволяющие синтезировать аддукты фуллерена с приемлемыми для медицинского применения показателями растворимости в воде: 10–200 мг/мл и более [13–15].

С начала открытия препаративного способа получения фуллерена актуальной задачей является синтез водорастворимых аддуктов фуллеренов, которые обладают широким спектром биологической активности: противоопухолевой [16], антивирусной [17, 18], антимикробной [19], антиоксидантной [20], нейропротекторной [21, 22], фотодинамической [23–26], мембранотропной [27], кроме того, они могут использоваться как ингибиторы ферментов и апоптоза, а также в качестве радиопротекторов.

Все это говорит о том, что фуллерены и их производные могут являться основой для создания новых высокотехнологичных медицинских

материалов и лекарственных препаратов [28–33]. Например, в работах [34, 35] показано, что производные фуллеренов могут являться стерическими ингибиторами протеазы вируса ВИЧ за счет встраивания в полость активного центра фермента.

Антиоксидантные и цитопротекторные свойства

В последнее десятилетие биологические свойства фуллеренолов стали предметом интенсивных исследований. Остановимся сначала на антиоксидантных и цитопротекторных свойствах одного из наиболее изученных аддуктов фуллеренов — полигидроксилированных фуллеренов (фуллеренолов). Фуллереновые аддукты можно считать перспективными соединениями для профилактики и коррекции ишемического повреждения. Известно, что радикалы кислорода играют важную роль в патогенезе ишемического и реперфузионного повреждения [36]. Именно поэтому большое количество исследований антиоксидантного действия различных функционализированных фуллеренов, в том числе и фуллеренолов, было проведено на модели ишемии-реперфузии. Например, антиоксидантная активность фуллеренола $C_{60}(OH)_{18-20}$, полученного согласно [37], была продемонстрирована в экспериментах по трансплантации тонкой кишки у собак. Установлено, что как при профилактических, так и при лечебных инъекциях он снижал уровень свободных радикалов, образующихся в результате постишемического реперфузионного повреждения. Такой же эффект фуллеренола $C_{60}(OH)_{18-20}$ был продемонстрирован и при ишемическом реперфузионном повреждении кишечника.

Цай и соавторы [38] показали, что фуллеренол блокирует вызванное перекисью водорода ингибирование передачи сигналов нейронами гиппокампа крысы *in vitro*. Способность $C_{60}(OH)_{24}$ захватывать нитроксильный радикал была продемонстрирована Мирковым и коллегами [39]. Предварительное введение крысам $C_{60}(OH)_{24}$ предотвращало вызванное нитроксильным радикалом снижение активности ферментов, таких как каталаза, глутатионтрансфераза и глутатионпероксидаза. Также фуллеренол $C_{60}(OH)_{24}$ ингибировал перекисное окисление липидов, проявляя тем самым свойства антиоксиданта. Эффект фуллеренола был сравним с действием такого известного антиоксиданта, как бутилгидрокситолуол. Имеются данные о том, что в тесте с использованием ксантин-ксантинооксидазной системы фуллеренол способен захватывать супероксидный анион-радикал [39]. В работе Жа и соавторов [40] было показано, что направленное биологическое действие и возможная токсич-

ность фуллеренола связаны с его локальным накоплением в клетке. Эти данные были получены при изучении влияния различных концентраций фуллеренола на культивируемые нейроны гиппокампа крысы. При этом фуллеренол в зависимости от концентрации либо способствовал гибели клеток, либо защищал их от повреждения. Одним из возможных механизмов антиоксидантного действия фуллеренола $C_{60}(OH)_{24}$ является его стимулирующее влияние на транскрипционный фактор NRF2. NRF2 представляет собой фактор транскрипции, контролирующий экспрессию антиоксидантных ферментов. Например, авторы работы [41] представили данные, свидетельствующие о цитопротекторных и антиапоптотических свойствах фуллеренола $C_{60}(OH)_{24}$, обусловленных его способностью индуцировать NRF2-зависимую экспрессию генов, кодирующих ферменты гемоксигеназу-1, НАДФН: хининоксидоредуктазу 1 и γ -глутамилцистеин лигазу. Несмотря на то, что к настоящему времени установлены различные биологические эффекты фуллеренолов, мало что известно об их возможном генотоксическом действии. Анализ хромосомных aberrаций и блокирования цитокинеза показал, что фуллеренол $C_{60}(OH)_{24}$ в концентрациях 11–221 мкМ не оказывает генотоксического действия на клетки яичников китайского хомячка [42].

Эффект захвата свободных радикалов и цитопротекторное действие трех образцов фуллеренолов ($C_{60}(OH)_{6-12}$, $C_{60}(OH)_{32-34} \cdot 7H_2O$ и $C_{60}(OH)_{44} \cdot 8H_2O$) изучали на кератиноцитах человека (NaCaT), подвергшихся воздействию УФ-излучения [43]. Установлено, что повреждения NaCaT, вызванные действием УФС (280–315 нм) или УФА (315–400 нм), сильнее подавлялись фуллеренолом с самым высоким содержанием гидроксильных групп: $C_{60}(OH)_{44} \cdot 8H_2O$. В результате УФС-облучения в клетках NaCaT быстро повышался уровень внутриклеточного окислительного стресса, происходило образование циклобутанпиримидиновых димеров и конденсация хроматина. Все эти эффекты подавлялись в присутствии $C_{60}(OH)_{44} \cdot 8H_2O$. Таким образом, повреждающее действие УФС-облучения на кератиноциты можно предотвратить с помощью фуллеренола $C_{60}(OH)_{44} \cdot 8H_2O$, цитопротекторный эффект которого связан с поглощением АФК.

При сравнении эффектов фуллеренола $C_{60}(OH)_{18-20}$ с эффектами аскорбиновой кислоты с целью выяснения механизма ее антиоксидантного действия установлено, что оба соединения ингибируют пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов крыс, гладкомышечных клеток коронарной артерии человека и некоторых других

типов клеток. Примечательно, что фуллеренол (в большей степени, чем аскорбиновая кислота) ингибировал аллоксан-индуцированное образование супероксидных анион-радикалов и дозозависимо снижал активность цитозольной протеинкиназы С и тирозиновой протеинкиназы [44]. Возможно, что подавление пролиферации сосудистых клеток фуллеренолом может быть, по крайней мере частично, связано с его способностью непосредственно ингибировать тирозиновую протеинкиназу. Известно, что полифенолы куркумин, эскулетин, скопарон и байкалеин ингибируют пролиферацию гладкомышечных и моноклеарных клеток сосудов *in vitro* [45–50]. Это указывает на сходство биологической активности фенолов и фуллеренола, который, в принципе, является полигидроксильрованным олефином.

Особый интерес представляют ярко выраженные прооксидантные свойства фуллеренов, позволяющие использовать их в качестве фотосенсибилизаторов для ФДТ. Благодаря фотодинамической активности фуллерены являются потенциальными противоопухолевыми агентами. ФДТ — метод локальной световой активации фотосенсибилизатора, накапливающегося в опухоли, который в присутствии тканевого кислорода приводит к развитию фотохимических реакций, разрушающих опухолевые клетки. При дефиците кислорода фуллерен способен продуцировать свободные радикалы, что также приводит к гибели клеточной линии аденокарциномы гортани человека (Нер-2) через каспаза-3-зависимый механизм [51].

В результате изучения механизмов противоопухолевого действия фуллеренов были получены данные о способности фуллеренов и их аддуктов вызывать повреждение нуклеиновых кислот. При этом как нативные фуллерены, солюбилизированные циклодекстрином [52], поливинилпирролидоном [53] и липосомами [54], так и химически модифицированные аддукты фуллерена [55] вызывали повреждение ДНК. Показано, что фуллерены могут вызывать разрыв цепи ДНК только при облучении УФ или видимым светом и в присутствии доноров электронов. В темноте повреждения ДНК не происходит, а в отсутствие донора электронов фотодинамическая эффективность фуллерена резко падает. Следует отметить, что повреждение ДНК происходит именно по остаткам гуанозина [56], причем повреждение может происходить как через синглетный кислород, так и через супероксидные анион-радикалы, в отсутствие кислорода повреждения не происходит [57]. Установлено, что механизм фотодинамического кислородопосредованного повреждения ДНК реализуется за счет ре-

акции циклоприсоединения молекулы кислорода к пуриновому основанию гуанозина с образованием нестабильного эндопероксида [58]. Протекание последующих реакций, а также состав конечных продуктов зависят от положения гуанозина в двойной цепи ДНК. Предпринимались попытки создать гибридную фуллеренол-олигонуклеотидную молекулу для адресной доставки и повреждения определенных участков ДНК за счет фотодинамического действия фуллереновой части.

Авторы [59] синтезировали тройные гибридные соединения олигонуклеотид- C_{60} -триметоксииндол (антибиотик и противоопухолевый препарат дуокармицинового ряда) с целью специфического связывания с сайтами ДНК и образования устойчивых тройных спиралей. Показано, что эти соединения образуют с ДНК тройные спирали, но образующиеся при этом комплексы обладают низкой стабильностью. В результате фотовозбуждения фуллерен C_{60} и фуллеренол $C_{60}(OH)_{18}$ могут генерировать активный кислород и вызывать значительное перекисное окисление липидов и окисление белков в мембранах. Помимо повреждения ароматических аминокислот в белках за счет реакции циклоприсоединения, синглетный кислород способен избирательно реагировать с аминокислотами цистеином и метионином, так как атомы серы в их составе имеют относительно высокую электронную плотность [60].

На микросомах печени крыс [61] показано, что фотоиндуцированное действие фуллеренола $C_{60}(OH)_{18}$ превосходит действие фуллерена C_{60} , при этом повреждающим агентом в фотодинамическом эффекте C_{60} является синглетный кислород, а в случае фуллеренола — супероксидный анион-радикал. Эти явления можно предотвратить путем добавления в исследуемую систему эндогенных природных антиоксидантов (глутатиона, аскорбиновой кислоты и токоферола). Антиоксидантная активность обнаружена и у не менее перспективных аддуктов легких фуллеренов — карбоксилированных фуллеренов.

Ранее считалось, что *C3* изомер карбоксилированного фуллерена (рис. 1) проявляет свойства ловушки свободных радикалов [62, 63]. В работе [64] изучали фотоиндуцированную цитотоксичность дималоновой кислоты C_{60} , трималоновой кислоты C_{60} и квадромалоновой кислоты C_{60} . В культуре клеток HeLa все эти аддукты ($C = 40$ мкМ) проявляли фотоиндуцированную цитотоксичность, уменьшающуюся с увеличением количества остатков малоновой кислоты. При отсутствии освещения никаких эффектов не наблюдалось. Дималоновая кислота C_{60} проявляла цитотоксический

эффект на клетки HeLa при освещении, и этот эффект дозозависимо усиливался с увеличением концентрации. Отмечено, что в результате фотоиндуцированного действия дималоновой кислоты C_{60} происходило значительное повреждение клеток. В отсутствие освещения цитотоксический эффект дималоновой кислоты C_{60} не наблюдался даже при концентрации 60 мкМ.

Авторы работы [65] сравнили цитопротекторную активность двенадцати водорастворимых аддуктов фуллерена C_{60} на эмбрионах рыб *Danio rerio*. Было установлено, что изомер карбоксилированного фуллерена C3 обладал наиболее сильным защитным действием на модели гентамицин-индуцированной цитотоксичности.

Следующий класс соединений с антиоксидантными свойствами — это фуллерены, функционализированные различными аминокислотами, пептидами и белками. Существует множество подходов к получению аминокислотных аддуктов фуллерена, включая прямое аминирование фуллерена аминокислотами [66–69].

Аддукты фуллеренов с пептидами благодаря наличию фуллеренового ядра обладают следующим набором свойств: трехмерная архитектура молекул, высокая липофильность, уникальные электронные свойства. И, наоборот, пептидная

составляющая обеспечивает структурное разнообразие в зависимости от длины и аминокислотного состава, реализацию различных зарядовых состояний, способность к молекулярному распознаванию. В настоящее время остается малоизученным вопрос о влиянии фуллеренового ядра на трансмембранный транспорт аддуктов, а также их влиянии на жизнеспособность клеток и антимикробную активность.

Белакович и коллеги [70] провели сравнительную оценку антиоксидантной активности N-замещенных фуллеропирролидинов, содержащих боковую пептидную цепь, с помощью антиоксидантного анализа FOX. Показано, что все соединения обладают более выраженной антиоксидантной активностью, чем витамин С.

Как известно, оксидативный стресс играет важную роль в развитии нейродегенеративных заболеваний. Исходя из этого, соединения, обладающие антиоксидантной активностью, привлекают внимание исследователей как потенциальные лекарственные средства для лечения нейродегенеративных заболеваний. В исследованиях [71, 72] показано, что нейропротекторная активность функционализированных фуллеренов обусловлена их способностью действовать как ловушки АФК. Имеются данные о корреляции между нейропро-

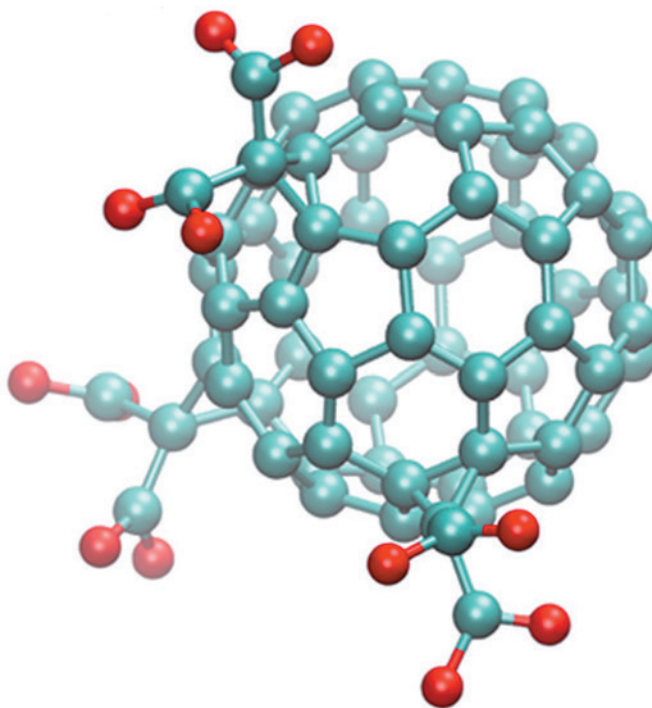


Рис. 1. C3 изомер карбоксилированного фуллерена

Figure 1. C3 isomer of carboxylated fullerene

текторной эффективностью различных карбокси-фуллеренов и их антиоксидантной активностью [73]. Были исследованы шесть различных карбоксифуллеренов, миметиков супероксиддисмутазы. В качестве модели для оценки структурно-функциональной взаимосвязи между реакционной способностью производных фуллеренов с супероксидами и защитой нейронов авторы рассматривали нейротоксичность, опосредованную NMDA-рецепторами, в которых участвуют внутриклеточные супероксиды. Установлена также корреляция между нейропротекторной активностью функционализированных фуллеренов и их дипольным моментом. В работе [74] утверждается, что карбоксифуллерен является перспективным терапевтическим средством для лечения болезни Паркинсона благодаря своим антиоксидантным свойствам, что было подтверждено в исследованиях *in vivo* на модели болезни Паркинсона у приматов (*Macaque fascicularis*).

Нейропротекторная активность аддуктов фуллеренов включает также антиамилоидное действие. Согласно «амилоидной гипотезе» возникновения и развития болезни Альцгеймера полимеризация и отложение β -амилоида является одной из основных причин, нарушающих функционирование, а впоследствии и целостность нейронов.

Токсичность фуллеренов

Первые исследования токсичности фуллерена появились в 1995–1996 гг. [75, 76]. При изучении острой токсичности показано, что при введении мышам фуллерена в дозе 2,5 г/кг он не вызывал гибели и нарушений поведения подопытных животных в течение восьми недель. Многочисленные дальнейшие исследования также не выявили каких-либо нежелательных или токсических проявлений при действии фуллерена на организм. По токсикологической классификации вещества, проявляющие токсичность в дозах выше 1 г/кг, относятся к классу нетоксичных веществ. Таким образом, данные о введении фуллерена в дозе 2,5 г/кг свидетельствуют о том, что это нетоксичное соединение [77].

В работе [78] показано, что фуллерены не раздражают кожу и слизистые оболочки глаз, не проявляют сенсibilизирующих свойств и не проникают в более глубокие слои кожи экспериментальных животных. Значимых токсических эффектов при пероральном введении фуллерена не наблюдается, что свидетельствует о низкой степени всасывания фуллерена из желудочно-кишечного тракта и его эффективном выведении.

При взаимодействии с водой фуллерен способен образовывать ассоциаты различного размера

и, соответственно, различной степени токсичности. Поэтому, наряду с повышением привлекательности фуллеренов для медицинского применения, существует также некоторая неопределенность в отношении их токсичности и последствий их использования. Функционализация C_{60} со снижением кажущейся токсичности может существенно повлиять на характер взаимодействия фуллеренов с биологическими системами [79]. При определенных условиях C_{60} может вызывать лизис эритроцитов человека в зависимости от дозы и времени, который можно было купировать введением N-ацетил-L-цистеина, что указывает на роль АФК в этом процессе [80]. Показано, что фуллерен C_{60} в виде водной коллоидной дисперсии не проявляет токсических свойств, а проявляет только антиоксидантные свойства [81]. Этот вывод основан на более чем десятилетних биологических испытаниях дисперсии фуллеренов в различных экспериментах *in vitro* и *in vivo*, не выявивших каких-либо токсических эффектов (при концентрациях $C = 10^{-9}$ – 10^{-4} моль·л $^{-1}$ и при суммарных дозах до 25 мг/кг). Таким образом, приведенные выше данные, полученные разными исследователями на разных моделях *in vitro* и *in vivo*, свидетельствуют о том, что C_{60} при местном применении и внутрибрюшинном введении не проявляет острой токсичности.

Для изучения хронической токсичности был проведен длительный эксперимент на крысах [82], в рацион которых добавляли фуллерен в виде раствора в оливковом масле. В качестве контроля использовались диеты с добавлением только оливкового масла и воды. Фуллерен почти удвоил продолжительность жизни крыс.

Различные рационы не влияли на динамику массы животных, что также свидетельствует об отсутствии токсических эффектов у C_{60} . Анализ механизмов действия растворов C_{60} в оливковом масле на экспериментальной модели крыс с четыреххлористым углеродом показал, что влияние на продолжительность жизни связано в основном с подавлением окислительного стресса. Аналогичным действием обладает фуллеренол $C_{60}(OH)_{22-24}$. Крысам предварительно вводили $C_{60}(OH)_{22-24}$, а затем также подвергали воздействию четыреххлористого углерода, что приводило к образованию трихлорметильного радикала $CCl_3\cdot$ [83]. Известно, что $CCl_3\cdot$ в присутствии кислорода образует трихлорметилпероксирадикалы типа $CCl_3OO\cdot$, которые приводят к быстрому окислению жиров в клетках. Установлено, что предварительное введение фуллеренола $C_{60}(OH)_{22-24}$ останавливало накопление сывороточных маркеров поражения этих

органов и, соответственно, развитие гистологических признаков поражения печени и почек. Кроме того, предварительная обработка фуллеренолом приводила к увеличению соотношения восстановленный/окисленный глутатион. Таким образом, фуллеренол $C_{60}(OH)_{22-24}$, являясь ловушкой для свободных радикалов, оказывает нефро- и гепатопротекторное действие, защищая клетки печени и почек от токсического действия четыреххлористого углерода.

Авторы [84] исследовали действие фуллеренола $C_{60}(OH)_{24}$ на модели изолированной матки крысы. Использование раствора фуллеренола приводило к снижению активности Cu/Zn-супероксиддисмутазы и предотвращению индуцированного повышения активности глутатионредуктазы в присутствии диметилсульфоксида.

Авторы [85] охарактеризовали механизмы цитотоксичности фуллерена C_{60} и его полигидроксированного аддукта фуллеренола в отношении различных клеточных культур: клеток фибросаркомы мыши L929, клеток глиомы крысы C6, клеток глиомы человека U251. Цитотоксичность фуллерена была выше, чем у фуллеренола, при этом C_{60} вызывал быстрый некроз (по механизму фотореактивного окисления) клеток без фрагментации ДНК, а фуллеренол индуцировал апоптоз, фрагментацию ДНК и повреждение клеточных мембран. Можно предположить, что в отличие от фуллерена, для которого фотоиндуцированная продукция свободных радикалов является основным механизмом действия на клетки, гидроксированный аддукт в высоких дозах, по-видимому, влияет на внутриклеточные молекулярные механизмы апоптоза, связанные с ограниченными процессами протеолиза, запускаемыми активацией каспаз.

В экспериментах *in vivo* была показана потенциальная защитная функция фуллеренола $C_{60}(OH)_{24}$ при токсическом воздействии доксорубина на клетки печени, почек и сердца [86–89]. Авторы установили, что фуллеренол проявляет свойства гепато-, кардио- и нефропротекторов.

Известно, что доксорубин является распространенным противоопухолевым препаратом, но его применение ограничено из-за его низкой селективности и кардиотоксичности. Показано, что конъюгат доксорубина с фуллереном C_{60} накапливается в ядрах опухолевых клеток значительно быстрее, чем доксорубин без вектора. Проникновение комплекса доксорубина с фуллереном в клетки увеличивается на 20–30 % по сравнению с таковым без фуллерена. В экспериментах *in vivo* на мышях с перевитыми опухолями комплекс доксорубина с фуллереном C_{60} приводил к увеличе-

нию продолжительности жизни в 2,5 раза и уменьшению объема опухоли на 63 % по сравнению с индивидуальным доксорубином. Важно отметить, что повышение эффективности препарата не приводило к усилению побочных эффектов, что было показано морфологическим анализом.

Для определения потенциальной токсичности фуллеренолов остановимся на результатах работы [90], в которой эпидермальные кератиноциты человека подвергались воздействию фуллеренолов с низким ($C_{60}(OH)_{20}$), средним ($C_{60}(OH)_{24}$) и высоким ($C_{60}(OH)_{32}$) содержанием гидроксильных групп в интервале концентраций $C = 0.0005$ – 42.5 мкг/мл в течение 24 и 48 часов. Статистически значимое снижение жизнеспособности клеток наблюдали только при использовании фуллеренола с высоким содержанием гидроксильных групп $C_{60}(OH)_{32}$ при концентрации водного раствора $C = 42.5$ мкг/мл через 24 часа. Авторы пришли к выводу, что различные аддукты гидроксированных фуллеренов не вызывают воспалительного или цитотоксического действия при использовании растворов с концентрацией не более 8,55 мкг/мл.

Суй и коллеги [91] изучали влияние аддукта C_{60} -GluEG при различных концентрациях и инкубации в течение 12 и 24 часов на клеточную линию HeLa и показали, что C_{60} -GluEG также обладает низкой цитотоксичностью и высокой биосовместимостью.

Роуз и соавторы [92] исследовали влияние фуллеренового пептида (Baa-Lys (FITC)-NLS) на клеточную линию HEK293 в диапазоне концентраций $C = 0.00004$ – 0.4 мг/мл. Обнаружено, что жизнеспособность клеток, измеренная методом МТТ через 48 часов инкубации, значительно снижается ($p < 0.05$) при концентрациях Baa-Lys (FITC)-NLS 0,04 и 0,4 мг/мл.

Лукафо и коллеги [93] провели *in vitro* исследование биологических свойств катионного аддукта фуллерена, относящегося к классу аминокислотных фуллеренов, на модели клеточной линии аденокарциномы молочной железы человека (MCF-7). При изучении цитотоксичности данный аддукт не вызывал клеточной гибели. Показано, что благодаря наличию гидрофильной цепи он проникает в клетки MCF-7 путем пассивной диффузии и равномерно распределяется в цитоплазме клеток. Он также не накапливается в ядре и органеллах независимо от времени экспозиции клеток. Катионный аддукт фуллерена не проникает в лизосомы и митохондрии клеток, что позволяет ограничить, а в некоторых случаях даже избежать его ферментативной деградации. В связи с этим функционализированные фуллерены имеют широкие перспективы ис-

пользования в качестве носителей для адресной доставки противоопухолевых препаратов к опухолевым клеткам.

Таким образом, при оценке токсичности фуллереновых аддуктов следует учитывать не только введенную дозу, но и ряд других параметров: степень агрегации, способ солюбилизации, наличие соразтворителей, количество и структуру лигандов.

Биодеградация фуллеренов

Известно, что углеродные наноструктуры, а именно нанотрубки и графен, подвергаются биодеградации [94]. Например, окисленные углеродные нанотрубки могут быть полностью разрушены растительными ферментами, такими как пероксидаза хрена и др. [95, 96]. В продуктах разложения были идентифицированы ароматические молекулы, такие как бензальдегид, бензиловый спирт, пирокатехин (1,2-дигидроксибензол) и флороглюцин (флороглюцин, 1,3,5-тригидроксибензол). В свою очередь, при изучении деградации фуллерена разные авторы отмечают стабильность фуллеренового ядра [97–105]. Даже использование фуллерена C_{60} , меченного атомами ^{14}C , не позволило установить его детектируемую трансформацию в почве или в организме червей, а было отмечено, что захвату фуллерена и его биоаккумуляции препятствует размер самой молекулы [97]. Чрезвычайно медленная минерализация $^{14}C-C_{60}$ в почве показана в работе [98], в которой также отмечено, что фуллерен C_{60} может накапливаться в растениях, особенно в корнях. При биодеградации фуллеренов преимущественно происходит промежуточное образование фуллеренолов [99–101]. Перечисленные работы свидетельствуют об устойчивости фуллерена C_{60} к действию биологических факторов. В ряде исследований отмечено, что в биологических системах фуллерен претерпевает изменения под действием различных веществ, при этом реакции протекают преимущественно на поверхности ядра с образованием эпоксидов, полуацеталей и гидроксильных аддуктов и не приводят к нарушению топологии молекулы [102–105].

Ранее было показано, что под влиянием миелопероксидазы, фермента нейтрофилов млекопитающих, происходит глубокая деградация молекул фуллерена C_{60} [106]. Наноразмерные молекулярные коллоидные дисперсии C_{60} , полученные путем смешивания C_{60} в растворе толуола с водой с использованием ультразвука, подвергались биодеградации [107]. Эта биодеградация, вызванная реакцией фуллерена с гипохлоритом, генерируемым ферментом, приводит к разрушению ядра фуллерена, признаками которого являются изме-

нение окраски раствора, исчезновение поглощения в области выше 300 нм электронного (УФ/видимого) спектра и исчезновение «фуллереновых» полос в ИК-спектрах [106].

Фотодеградация нанотрубок и фуллеренов под действием реактива Фентона изучалась в работах [108, 109]. В обоих случаях первыми стадиями процесса было гидроксильное окисление как фуллерена C_{60} , так и углеродных нанотрубок. Поэтому неудивительно, что последующие превращения приводят к полициклическим насыщенным аддуктам. В случае нанотрубок в качестве конечных продуктов отмечают 2-гидроксиэтан-1,1,2-трикарбоновую кислоту, щавелевую кислоту и продукты полного окисления — CO_2 и H_2O [108]. В случае фуллерена C_{60} образующиеся полициклические фрагменты при раскрытии кольца приводят к образованию различных гидроксилзамещенных α,ω -дикислот, дальнейшее окисление которых приводит к образованию уксусной кислоты, этанола и пропилена, а также продуктов окисления [109].

Радиопротекторные свойства

Фуллеренолы могут быть использованы в качестве радиопротекторов. В работе [110] сравнивали эффективность фуллеренола $C_{60}(OH)_{24}$ ($C = 10$ и 100 мг/кг) и стандартного радиопротектора амифостина ($C = 300$ мг/кг) в защите крыс от воздействия ионизирующего излучения. Установлено, что фуллеренол лучше, чем амифостин предотвращает радиационно-индуцированное снижение уровня лейкоцитов (гранулоцитов и лимфоцитов), особенно в течение первых 7 дней после облучения. При патоморфологическом исследовании выявлено, что радиозащитное действие фуллеренола (по сравнению с амифостином) более выражено в селезенке, тонкой кишке и легких, при этом амифостин превосходит фуллеренол по радиозащитным свойствам при защите сердца, печени и почек.

Авторы [111] изучали способность фуллеренола $C_{60}(OH)_{36}$ уменьшать повреждения, вызванные высокоэнергетическими электронами (6 МэВ) в мембранах эритроцитов человека. В результате проведенных исследований авторы обнаружили следующие эффекты: снижение пострадиационного гемолиза, оттока калия и окисления тиоловых групп, предотвращение радиационно-индуцированного повышения текучести мембран и изменения конформации белков. Сделан вывод, что радиозащитные свойства фуллеренола связаны с его способностью поглощать АФК.

Как отмечалось ранее, при определенных условиях аддукты фуллеренов способны защищать клетки от действия ультрафиолетового и других

видов излучения [112, 113]. Ху и соавторы [64] изучали биологические эффекты аддуктов фуллерена C_{60} с фолатом и аминокислотами L-фенилаланином и L-аргинином на опухолевой клеточной линии HeLa. Показано, что при облучении клеток HeLa видимым светом наблюдается снижение митохондриального мембранного потенциала, жизнеспособности клеток, активности ферментов СОД, каталазы, глутатионпероксидазы, что в совокупности приводит к активации каспазы-3 и, соответственно, к запуску программы апоптоза клеток.

Цзян и коллеги [114] изучали биологическое действие аддукта фуллерен-глицин на клеточных линиях HeLa и Lm8. В результате исследований установлено, что аддукт фуллерена с глицином при облучении ($\lambda = 500\text{--}600\text{ нм}$) вызывает дозозависимую гибель клеточной линии Lm8 и индуцирует апоптоз в клеточной линии HeLa. По мнению авторов, гибель клеток происходит в основном за счет повреждения фосфолипидов и белков клеточных мембран. Под действием света аддукт фуллерена с глицином переходит из возбужденного синглетного состояния в возбужденное триплетное по механизму, свойственному немодифицированному фуллерену. Затем синглетный кислород мгновенно вступает в реакцию с белками, нуклеиновыми кислотами и фосфолипидами мембран, что приводит к повреждению и гибели клеток.

Одним из важнейших направлений современной медицинской химии и фармакологии является адресная доставка лекарств. Уникальные свойства наноматериалов на основе легких фуллеренов и их биологическая активность могут быть использованы для адресной доставки лекарств и вакцин в центральную нервную систему, для борьбы с онкологическими, кардиологическими и другими заболеваниями.

Аддукты фуллерена с аминокислотами эффективно проникают через гематоэнцефалический барьер и выступают переносчиками лекарственных препаратов к нервной ткани. В исследовании [115] *in vivo* на мышах и крысах показали, что комплекс фуллерена C_{60} с гексаметином блокирует эффекты центрального *H*-холиномиметика никотина, проявляя противосудорожную активность и влияя на двигательную активность, вызванную введением никотина. Баланс гидрофильных и липофильных свойств надмолекулярного комплекса гексаметония с функционализированными фуллеренами предполагает возможность создания систем доставки полярных веществ в ЦНС на основе функционализированных молекул фуллерена C_{60} .

Способность аддуктов фуллерена с аминокислотами проникать через гематоэнцефалический

барьер и выступать переносчиками лекарственных средств в нервную ткань описана также в работе [116]. Авторы в экспериментах *in vitro* и *in vivo* установили, что аддукты фуллерена C_{60} с различными аминокислотами: — L-фенилаланином, L-серином и β -аланином и с остатками γ -фенилмасляной кислоты, подавляют пролиферацию клеток глиобластомы и снижают скорость их роста на модели рыб вида *Danio rerio*. Выявлено также, что аддукт фуллерена C_{60} с L-фенилаланином ингибирует рост глиобластомы, не замедляя восстановление нейронов и не влияя на нейрональные стволовые клетки. Предположительно, противоопухолевый механизм действия аддуктов фуллерена C_{60} с аминокислотами объясняется их участием в регуляции свободнорадикальных процессов. В частности, аддукт фуллерена C_{60} с γ -фенилмасляной кислотой оказывал существенное влияние на пролиферацию нервных стволовых клеток и их восстановление, не влияя на опухолевый рост. Стоит отметить, что поверхностные функциональные группы определяют свойства, а также взаимодействия аддуктов C_{60} с нейрональными стволовыми клетками и клетками глиомы. Авторы предположили, что различные концевые солубилизирующие группы могут влиять на растворимость, размер и самосборку водорастворимых аддуктов фуллерена с аминокислотами [116].

Фуллерены, функционализированные порфиринами, также обладают способностью доставлять лекарственные вещества. В работах [117, 118] были исследованы кардиопротекторные свойства $^{25}\text{Mg-PMCl}_6$. Эти наночастицы, обладая низкой токсичностью, пригодны для адресной доставки в сердечную мышцу катионов $^{25}\text{Mg}^{2+}$, необходимых для активации синтеза АТФ.

Заключение

Медицинское применение нанотехнологий привело к формированию нового междисциплинарного направления медицинской науки. Наиболее перспективными являются разработка технологий адресной доставки лекарств, создание противораковых и бактерицидных препаратов. В настоящее время мало известно о молекулярных механизмах действия на клетки человека новых синтетических наноструктур, в частности фуллеренов. Вместе с тем на функционализированные фуллерены возлагаются большие надежды в связи с их уникальными физико-химическими свойствами, такими как малый размер, антиоксидантные свойства, большое соотношение площади поверхности к массе. Несмотря на сложность функционализации, очистки и выделения фуллеренов, а также

противоречивость данных по их биологической активности, можно заключить, что, благодаря своим уникальным свойствам и практически неограниченной возможности функционализации, фуллерены и их производные могут совершить революцию в диагностике и терапии различных заболеваний и, возможно, изменить в лучшую сторону будущее всего человечества.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциально-го конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Благодарности / Acknowledgments

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации (государственное задание по теме «Разработка радиопротектора на основе водорастворимых форм наноуглерода, модифицированных L-аминокислотами. ЕГИСУ: 123020800170-8»). / The work was carried out with the financial support of the Ministry of Health of the Russian Federation (state assignment on the topic "Development of a radioprotector based on water-soluble forms of nanocarbon modified with L-amino acids. EGISU: 123020800170-8").

Список литературы / References

- Podolsky NE, Marcos MA, Cabaleiro D, et al. Physico-chemical properties of C₆₀(OH)₂₂₋₂₄ water solutions: Density, viscosity, refraction index, isobaric heat capacity and antioxidant activity. *J Mol Liq.* 2019 Mar; 278:342–55. DOI: 10.1016/j.molliq.2018.12.148.
- Serebryakov EB, Zakusilo DN, Semenov KN, et al. Physico-chemical properties of C₇₀-l-threonine bisadduct (C₇₀(C₄H₉NO₂)₂) aqueous solutions. *J Mol Liq.* 2019 Apr; 279:687–99. DOI: 10.1016/j.molliq.2019.02.013.
- Nikolaev DN, Podolsky NE, Lelet MI, et al. Thermodynamic and quantum chemical investigation of the monocarboxylated fullerene C₆₀CHCOOH. *J Chem Thermodyn.* 2020 Jan; 140:105898. DOI: 10.1016/j.jct.2019.105898.
- Podolsky NE, Lelet MI, Ageev SV, et al. Thermodynamic properties of the C₇₀(OH)₁₂ fullerene in the temperature range T = 9.2 K to 304.5 K. *J Chem Thermodyn.* 2020 May; 144:106029. DOI: 10.1016/j.jct.2019.106029.
- Podolsky NE, Lelet MI, Ageev SV, et al. Thermodynamic Properties from Calorimetry and Density Functional Theory and the Thermogravimetric Analysis of the Fullerene Derivative C₆₀(OH)₄₀. *J Chem Eng Data.* 2019 Apr 11; 64(4):1480–7. DOI: 10.1021/acs.jced.8b01075.
- Markin AV, Samosudova YS, Ogurtsov TG, et al. Heat capacity and standard thermodynamic functions of the fullerene C₆₀(OH)₂₄. *J Chem Thermodyn.* 2020 Oct; 149:106192. DOI: 10.1016/j.jct.2020.106192.
- Semenov KN, Charykov NA, Postnov VN, et al. Fullerenols: Physicochemical properties and applications. *Prog Solid State Chem.* 2016 Jun; 44(2):59–74. DOI: 10.1016/j.progsolidstchem.2016.04.002.
- Semenov KN, Andrusenko EV, Charykov NA, et al. Carboxylated fullerenes: Physico-chemical properties and potential applications. *Prog Solid State Chem.* 2017 Dec; 47–48:19–36. DOI: 10.1016/j.progsolidstchem.2017.09.001.
- Pochkaeva EI, Podolsky NE, Zakusilo DN, et al. Fullerene derivatives with amino acids, peptides and proteins: From synthesis to biomedical application. *Prog Solid State Chem.* 2020 Mar; 57:100255. DOI: 10.1016/j.progsolidstchem.2019.100255.
- Sharoyko VV, Ageev SV, Podolsky NE, et al. Biologically active water-soluble fullerene adducts: Das Glasperlenspiel (by H. Hesse) *J Mol Liq.* 2021 Feb; 323:114990. DOI: 10.1016/j.molliq.2020.114990.
- Bezmel'nitsyn VN, Eletsii AV, Okun' MV. Fullerenes in solutions. *Physics-Uspekhi.* 1998 Nov 30; 41(11):1091–114. DOI: 10.1070/PU1998v041n11ABEH000502.
- Bagchi D. Bio-nanotechnology: a revolution in food, biomedical, and health sciences. Wiley-Blackwell, 2013. 803 p.
- Semenov KN, Charykov NA, Postnov VN, et al. Fullerenols: Physicochemical properties and applications. *Prog Solid State Chem.* 2016 Jun; 44(2):59–74. DOI: 10.1016/j.progsolidstchem.2016.04.002.
- Pochkaeva EI, Podolsky NE, Zakusilo DN, et al. Fullerene derivatives with amino acids, peptides and proteins: From synthesis to biomedical application. *Prog Solid State Chem.* 2020 Mar; 57:100255. DOI: 10.1016/j.progsolidstchem.2019.100255.
- Matsubayashi K, Kokubo K, Tategaki H, et al. One-step Synthesis of Water-soluble Fullerenols Bearing Nitrogen-containing Substituents. *Fullerenes, Nanotub Carbon Nanostructures.* 2009 Jul 1; 17(4):440–56. DOI: 10.1080/01490450903039263.
- Yang XL, Fan CH, Zhu HS. Photo-induced cytotoxicity of malonic acid [C₆₀] fullerene derivatives and its mechanism. *Toxicol Vitro.* 2002 Feb; 16(1):41–6. DOI: 10.1016/S0887-2333(01)00102-3.
- Medzhidova MG, Abdullaeva MV, Fedorova NE, et al. In vitro antiviral activity of fullerene amino acid derivatives in cytomegalovirus infection. *Antibiot i khimioterapii = Antibiot chemotherapy [sic].* 2004; 49(8–9):13–20.
- Lin Y-L, Lei H-Y, Wen Y-Y, et al. Light-Independent Inactivation of Dengue-2 Virus by Carboxyfullerene C₃ Isomer. *Virology.* 2000 Sep; 275(2):258–62. DOI: 10.1006/viro.2000.0490.
- Tsao N, Luh T-Y, Chou C-K, et al. Inhibition of Group A Streptococcus Infection by Carboxyfullerene.

- Antimicrob Agents Chemother. 2001 Jun;45(6):1788–93. DOI: 10.1128/AAC.45.6.1788-1793.2001.
20. Wang IC, Tai LA, Lee DD, et al. C 60 and Water-Soluble Fullerene Derivatives as Antioxidants Against Radical-Initiated Lipid Peroxidation. *J Med Chem*. 1999 Nov 1;42(22):4614–20. DOI: 10.1021/jm990144s.
 21. Dugan LL, Turetsky DM, Du C, et al. Carboxyfullerenes as neuroprotective agents. *Proc Natl Acad Sci*. 1997 Aug 19;94(17):9434–9. DOI: 10.1073/pnas.94.17.9434.
 22. Dugan LL, Lovett EG, Quick KL, et al. Fullerene-based antioxidants and neurodegenerative disorders. *Parkinsonism Relat Disord*. 2001 Jul;7(3):243–6. DOI: 10.1016/S1353-8020(00)00064-X.
 23. Käsermann F, Kempf C. Buckminsterfullerene and photodynamic inactivation of viruses. *Rev Med Virol*. 1998 Jul;8(3):143–51. DOI: 10.1002/(sici)1099-1654(199807/09)8:3<143::aid-rmv214>3.0.co;2-b.
 24. Vilenko B, Sienkiewicz A, Lekka M, et al. In vitro assay of singlet oxygen generation in the presence of water-soluble derivatives of C60. *Carbon N Y*. 2004;42(5–6):1195–8. DOI: 10.1016/j.carbon.2003.12.042.
 25. Fursov V, Namestnikova D, Kuznetsov DA. In Silico Track to Reveal a Translational Potential of Porphyrin-c60 Nanoparticles in the Ischemic Stroke Related Preclinical Studies. *Research Square*; 2022. DOI: 10.21203/rs.3.rs-2169685/v1.
 26. Fursov VV, Zinchenko DI, Namestnikova DD, Kuznetsov DA. „IN SILICO ALGORITHM FOR OPTIMIZATION OF PHARMACOKINETIC STUDIES OF [25Mg2+]PORPHYRIN-FULLERENE NANOPARTICLES“ *Bulletin of Russian State Medical University*, no. 4, 2022. P. 58–63. DOI: 10.24075/brsmu.2022.037.
 27. Andreev IM, Romanova VS, Petrukhina AO, et al. Amino-acid derivatives of fullerene C60 behave as lipophilic ions penetrating through biomembranes. *Phys. Solid State* 44, 683–685 (2002). <https://doi.org/10.1134/1.1470559>
 28. Bhakta P, Barthunia B. Fullerene and its applications: A review. *Journal of Indian Academy of Oral Medicine and Radiology* 32(2):p 15963, Apr–Jun 2020. [DOI: 10.4103/jiaomr.jiaomr_191_19.
 29. Hou W, Shi G, Wu S, et al. Application of Fullerenes as Photosensitizers for Antimicrobial Photodynamic Inactivation: A Review. *Front Microbiol*. 2022 Jul 14;13. DOI: 10.3389/fmicb.2022.957698.
 30. Siringan MJ, Dawar A, Zhang J. Interactions between fullerene derivatives and biological systems. *Mater Chem Front*. 2023;7(11):2153–74. DOI: 10.1039/D3QM00004D.
 31. Giannopoulos GI. Fullerene Derivatives for Drug Delivery against COVID-19: A Molecular Dynamics Investigation of Dendro[60]fullerene as Nanocarrier of Molnupiravir. *Nanomaterials*. 2022; 12(15):2711. <https://doi.org/10.3390/nano12152711>
 32. Kazemzadeh H, Mozafari M. Fullerene-based delivery systems. *Drug Discov Today*. 2019 Mar;24(3):898–905. DOI: 10.1016/j.drudis.2019.01.013.
 33. Fernandes NB, Shenoy RUK, Kajampady MK, et al. Fullerenes for the treatment of cancer: an emerging tool. *Environ Sci Pollut Res* 29, 58607–58627 (2022). <https://doi.org/10.1007/s11356-022-21449-7>
 34. Friedman SH, DeCamp DL, Sijbesma RP, et al. Inhibition of the HIV-1 protease by fullerene derivatives: model building studies and experimental verification. *J Am Chem Soc*. 1993 Jul 1;115(15):6506–9. DOI: 10.1021/ja00068a005.
 35. Friedman SH, Ganapathi PS, Rubin Y, Kenyon GL. Optimizing the binding of fullerene inhibitors of the HIV-1 protease through predicted increases in hydrophobic desolvation. *J Med Chem*. 1998;41(13):2424–2429. DOI: 10.1021/jm970689r.
 36. Chien CT, Lee PH, Chen CF, et al. De Novo Demonstration and Co-localization of Free-Radical Production and Apoptosis Formation in Rat Kidney Subjected to Ischemia/Reperfusion. *J Am Soc Nephrol*. 2001 May;12(5):973–82. DOI: 10.1681/ASN.V125973.
 37. Chiang LY, Upasani RB, Swirczewski JW. Versatile nitronium chemistry for C60 fullerene functionalization. *J Am Chem Soc*. 1992 Dec 1;114(26):10154–7. DOI: 10.1021/ja00052a010.
 38. Tsai M-C, Chen YH, Chiang LY. Polyhydroxylated C60, Fullerenol, a Novel Free-radical Trapper, Prevented Hydrogen Peroxide- and Cumene Hydroperoxide-elicited Changes in Rat Hippocampus In-vitro. *J Pharm Pharmacol*. 2011 Apr 12;49(4):438–45. DOI: 10.1111/j.2042-7158.1997.tb06821.x.
 39. Mirkov SM, Djordjevic AN, Andric NL, et al. Nitric oxide-scavenging activity of polyhydroxylated fullerenol, C60(OH)24. *Nitric Oxide*. 2004 Sep;11(2):201–7. DOI: 10.1016/j.niox.2004.08.003.
 40. Zha YY, Yang B, Tang ML, et al. Concentration-dependent effects of fullerenol on cultured hippocampal neuron viability. *Int J Nanomedicine*. 2012;7:3099–3109. DOI: 10.2147/IJN.S30934.
 41. Ye S, Chen M, Jiang Y, et al. Polyhydroxylated fullerene attenuates oxidative stress-induced apoptosis via a fortifying Nrf2-regulated cellular antioxidant defence system. *Int J Nanomedicine*. 2014;9:2073–2087. Published 2014 Apr 29. DOI: 10.2147/IJN.S56973.
 42. Mrđanović J, Šolajić S, Bogdanović V, et al. Effects of fullerenol C60(OH)24 on the frequency of micronuclei and chromosome aberrations in CHO-K1 cells. *Mutat Res Toxicol Environ Mutagen*. 2009 Nov;680(1–2):25–30. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2009.08.008.
 43. Saitoh Y, Miyanishi A, Mizuno H, et al. Super-highly hydroxylated fullerene derivative protects human

keratinocytes from UV-induced cell injuries together with the decreases in intracellular ROS generation and DNA damages. *J Photochem Photobiol B*. 2011;102(1):69–76. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2010.09.006.

44. Lu LH, Lee YT, Chen HW, et al. The possible mechanisms of the antiproliferative effect of fullereneol, polyhydroxylated C₆₀, on vascular smooth muscle cells. *Br J Pharmacol*. 1998;123(6):1097–1102. DOI: 10.1038/sj.bjp.0701722.

45. Huang HC, Jan TR, Yeh SF. Inhibitory effect of curcumin, an anti-inflammatory agent, on vascular smooth muscle cell proliferation. *Eur J Pharmacol*. 1992;221(2–3):381–384. DOI: 10.1016/0014-2999(92)90727-1.

46. Huang HC, Huang YL, Chang JH, et al. Possible mechanism of immunosuppressive effect of scoparone (6,7-dimethoxycoumarin). *Eur J Pharmacol*. 1992;217(2–3):143–148. DOI: 10.1016/0014-2999(92)90835-r.

47. Huang HC, Lee CR, Weng YI, et al. Vasodilator effect of scoparone (6,7-dimethoxycoumarin) from a Chinese herb. *Eur J Pharmacol*. 1992;218(1):123–128. DOI: 10.1016/0014-2999(92)90155-w.

48. Huang H-C, Hsieh L-M, Chen H-W, et al. Effects of baicalein and esculetin on transduction signals and growth factors expression in T-lymphoid leukemia cells. *Eur J Pharmacol Mol Pharmacol*. 1994 Jun;268(1):73–8. DOI: 10.1016/0922-4106(94)90121-X.

49. Huang H-C, Lai M-W, Wang H-R, et al. Antiproliferative effect of esculetin on vascular smooth muscle cells: possible roles of signal transduction pathways. *Eur J Pharmacol*. 1993 Jun;237(1):39–44. DOI: 10.1016/0014-2999(93)90090-.

50. Huang H-C, Wang H-R, Hsieh L-M. Antiproliferative effect of baicalein, a flavonoid from a Chinese herb, on vascular smooth muscle cell. *Eur J Pharmacol*. 1994 Jan;251(1):91–3. DOI: 10.1016/0014-2999(94)90447-2.

51. Alvarez MG, Prucca C, Milanese ME, et al. Photodynamic activity of a new sensitizer derived from porphyrin-C₆₀ dyad and its biological consequences in a human carcinoma cell line. *Int J Biochem Cell Biol*. 2006;38(12):2092–2101. DOI: 10.1016/j.biocel.2006.05.019.

52. Nakanishi I, Fukuzumi S, Konishi T, et al. DNA cleavage via electron transfer from NADH to molecular oxygen photosensitized by γ -cyclodextrin-bicapped C₆₀. In: *Fullerenes for the New Millennium. The Electrochemical Society, Inc.*, 2001. P. 138–51.

53. Yamakoshi Y, Umezawa N, Ryu A, et al. Active oxygen species generated from photoexcited fullerene (C₆₀) as potential medicines: O₂-* versus IO₂. *J Am Chem Soc*. 2003;125(42):12803–12809. DOI: 10.1021/ja0355574.

54. Ikeda A, Doi Y, Hashizume M, et al. An Extremely Effective DNA Photocleavage Utilizing Functionalized Liposomes with a Fullerene-Enriched Lipid Bilayer. *J Am Chem Soc*. 2007 Apr 1;129(14):4140–1. DOI: 10.1021/ja070243s.

55. Ikeda A, Hatano T, Kawaguchi M, et al. Water-soluble [60]fullerene-cationic homooxacalix[3]arene complex which is applicable to the photocleavage of DNA. *Chem Commun*. 1999;(15):1403–4. DOI: 10.1039/a903872h.

56. Bernstein R, Prat F, Foote CS. On the Mechanism of DNA Cleavage by Fullerenes Investigated in Model Systems: Electron Transfer from Guanosine and 8-Oxo-Guanosine Derivatives to C₆₀. *J Am Chem Soc*. 1999 Jan 1;121(2):464–5. DOI: 10.1021/ja983335d.

57. Liu Y, Zhao Y-L, Chen Y, et al. A water-soluble β -cyclodextrin derivative possessing a fullerene tether as an efficient photodriven DNA-cleavage reagent. *Tetrahedron Lett*. 2005 Apr;46(14):2507–11. DOI: 10.1016/j.tetlet.2005.01.181.

58. Buchko GW, Wagner JR, Cadet J, et al. Methylene blue-mediated photooxidation of 7,8-dihydro-8-oxo-2'-deoxyguanosine. *Biochim Biophys Acta - Gene Struct Expr*. 1995;1263(1):17–24. DOI: [https://doi.org/10.1016/0167-4781\(95\)00078-U](https://doi.org/10.1016/0167-4781(95)00078-U)

59. Da Ros T, Spalluto G, Bourtine A, Prato M. Current Chemistry: Fullerene Derivatives as Potential DNA Photoprobes. *Aust J Chem*. 2001 Aug 6;54:223–4. DOI: 10.1071/CH01058.

60. Davies MJ. Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;305(3):761–770. DOI: 10.1016/s0006-291x(03)00817-9.

61. Kamat JP, Devasagayam TPA, Priyadarsini KI, Mohan H. Reactive oxygen species mediated membrane damage induced by fullerene derivatives and its possible biological implications. *Toxicology*. 2000;155(1):55–61. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(00\)00277-8](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(00)00277-8)

62. Wang IC, Tai LA, Lee DD, et al. C₆₀ and Water-Soluble Fullerene Derivatives as Antioxidants Against Radical-Initiated Lipid Peroxidation. *J Med Chem*. 1999 Nov 1;42(22):4614–20. DOI: 10.1021/jm990144s.

63. Dugan LL, Turetsky DM, Du C, et al. Carboxyfullerenes as neuroprotective agents. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(17):9434–9439. DOI: 10.1073/pnas.94.17.9434.

64. Hu Z, Zhang C, Huang Y, et al. Photodynamic anticancer activities of water-soluble C(60) derivatives and their biological consequences in a HeLa cell line. *Chem Biol Interact*. 2012;195(1):86–94. DOI: 10.1016/j.cbi.2011.11.003.

65. Beuerle F, Witte P, Hartnagel U, et al. Cytoprotective activities of water-soluble fullerenes in zebrafish models. *J Exp Nanosci*. 2007 Sep 1;2(3):147–70. DOI: 10.1080/17458080701502091.

66. Liu Z, Zou Y, Zhang Q, et al. Distinct Binding Dynamics, Sites and Interactions of Fullerene and Fullerenols with Amyloid- β Peptides Revealed by Molecular Dynamics Simulations. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20(8):2048. <https://doi.org/10.3390/ijms20082048>

67. Piotrovsky LB, Kiselev OI. Fullerenes and Viruses. *Fullerenes, Nanotub Carbon Nanostructures*. 2005 Jan 2;12(1–2):397–403. DOI: 10.1081/FST-120027198.
68. Burley GA, Keller PA, Pyne SG. [60] Fullerene Amino Acids and Related Derivatives, *Fullerene Science and Technology*. 1999;7:6, 973–1001. DOI: 10.1080/10641229909350301.
69. Bianco A, Da Ros T, Prato M, Toniolo C. Fullerene-based amino acids and peptides. *J Pept Sci*. 2001;7(4):208–219. DOI: 10.1002/psc.313.
70. Bjelaković M, Kop T, Maslak V, et al. Synthesis and characterization of highly ordered self-assembled bioactive fulleropeptides. *J Mater Sci*. 2016; 51:739–747. DOI: 10.1007/s10853-015-9396-z.
71. Huang HM, Ou HC, Hsieh SJ, Chiang LY. Blockage of amyloid beta peptide-induced cytosolic free calcium by fullereneol-1, carboxylate C60 in PC12 cells. *Life Sci*. 2000;66(16):1525–1533. DOI: 10.1016/s0024-3205(00)00470-7.
72. Basso AS, Frenkel D, Quintana FJ, et al. Reversal of axonal loss and disability in a mouse model of progressive multiple sclerosis. *J Clin Invest*. 2008;118(4):1532–1543. DOI: 10.1172/JCI33464.
73. Ali SS, Hardt JI, Dugan LL. SOD activity of carboxyfullerenes predicts their neuroprotective efficacy: a structure-activity study. *Nanomedicine*. 2008;4(4):283–294. DOI: 10.1016/j.nano.2008.05.003.
74. Dugan LL, Tian L, Quick KL, et al. Carboxyfullerene neuroprotection postinjury in Parkinsonian nonhuman primates. *Ann Neurol*. 2014;76(3):393–402. DOI: 10.1002/ana.24220.
75. Moussa F, Chretien P, Dubois P, et al. The Influence of C 60 Powders On Cultured Human Leukocytes. *Fuller Sci Technol*. 1995 Jan;3(3):333–42. DOI: 10.1080/153638X9508543788.
76. Moussa F, Trivin F, Céolin R, et al. Early effects of C60 Administration in Swiss Mice: A Preliminary Account for In Vivo C60 Toxicity. *Fullerene Science and Technology*. 1996;4(1):21–29. DOI: 10.1080/10641229608001534.
77. Piotrovskii LB. Fullerenes in the drug design. *Nanotechnol Russia*. 2009;4:541–555. <https://doi.org/10.1134/S1995078009090018>
78. Hendrickson OD, Morozova OV, Zherdev AV, et al. Study of Distribution and Biological Effects of Fullerene C60 after Single and Multiple Intragastrical Administrations to Rats, Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures. 2015;23(7):658–668. DOI: 10.1080/1536383X.2014.949695.
79. Gao J, Wang HL, Shreve A, Iyer R. Fullerene derivatives induce premature senescence: a new toxicity paradigm or novel biomedical applications. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2010;244(2):130–143. DOI: 10.1016/j.taap.2009.12.025.
80. Trpkovic A, Todorovic-Markovic B, Trajkovic V. Toxicity of pristine versus functionalized fullerenes: mechanisms of cell damage and the role of oxidative stress. *Arch Toxicol*. 2012;86(12):1809–1827. DOI: 10.1007/s00204-012-0859-6.
81. Andrievsky G, Klochkov V, Derevyanchenko L. Is the C60 Fullerene Molecule Toxic, Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures. 2005;13(4):363–376. DOI: 10.1080/15363830500237267.
82. Baati T, Bourasset F, Gharbi N, et al. The prolongation of the lifespan of rats by repeated oral administration of fullerene [published correction appears in *Biomaterials*. 2012 Sep;33(26):6292–4]. *Biomaterials*. 2012;33(19):4936–4946. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.03.036.
83. Xu J-Y, Su Y-Y, Cheng J-S, et al. Protective effects of fullereneol on carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Carbon N Y*. 2010;48(5):1388–96. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2009.12.029>.
84. Slavic M, Djordjevic A, Radojicic R, et al. Fullereneol C60(OH)24 nanoparticles decrease relaxing effects of dimethyl sulfoxide on rat uterus spontaneous contraction. *J Nanopart Res* 15, 1650 (2013). <https://doi.org/10.1007/s11051-013-1650-1>
85. Isakovic A, Markovic Z, Todorovic-Markovic B, et al. Distinct cytotoxic mechanisms of pristine versus hydroxylated fullerene. *Toxicol Sci*. 2006;91(1):173–183. DOI: 10.1093/toxsci/kfj127.
86. Injac R, Perse M, Boskovic M, et al. Cardioprotective effects of fullereneol C(60) (Oh)(24) on a single dose doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats with malignant neoplasm. *Technol Cancer Res Treat*. 2008;7(1):15–25. DOI: 10.1177/153303460800700102.
87. Djordjević-Milić V, Djordjević A, Dobrić S, et al. Influence of Fullereneol C60(OH)24 on Doxorubicin Induced Cardiotoxicity in Rats. *Mater Sci Forum*. 2006 Jul; 518:525–30. DOI: 10.4028/www.scientific.net/MSF.518.525.
88. Injac R, Boskovic M, Perse M, et al. Acute doxorubicin nephrotoxicity in rats with malignant neoplasm can be successfully treated with fullereneol C60(OH)24 via suppression of oxidative stress. *Pharmacol Rep*. 2008;60(5):742–749.
89. Injac R, Perse M, Obermajer N, et al. Potential hepatoprotective effects of fullereneol C60(OH)24 in doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats with mammary carcinomas. *Biomaterials*. 2008;29(24–25):3451–3460. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2008.04.048.
90. Saathoff JG, Inman AO, Xia XR, et al. In vitro toxicity assessment of three hydroxylated fullerenes in human skin cells. *Toxicol In Vitro*. 2011;25(8):2105–2112. DOI: 10.1016/j.tiv.2011.09.013.
91. Xu D, Liu M, Huang Q, et al. A Novel method for the preparation of fluorescent C60 poly(amino acid) composites and their biological imaging. *J Colloid Interface Sci*. 2018;516:392–397. DOI: 10.1016/j.jcis.2018.01.085.

92. Rouse JG, Yang J, Barron AR, Monteiro-Riviere NA. Fullerene-based amino acid nanoparticle interactions with human epidermal keratinocytes. *Toxicol In Vitro*. 2006;20(8):1313–1320. DOI: 10.1016/j.tiv.2006.04.004.
93. Lucafò M, Pacor S, Fabbro C, et al. Study of a potential drug delivery system based on carbon nanoparticles: effects of fullerene derivatives in MCF7 mammary carcinoma cells. *J Nanoparticle Res*. 2012 Mar 28;14(4):830. DOI: 10.1007/s11051-012-0830-8.
94. Chen M, Qin X, Zeng G. Biodegradation of Carbon Nanotubes, Graphene, and Their Derivatives. *Trends Biotechnol*. 2017;35(9):836–846. DOI: 10.1016/j.tibtech.2016.12.001.
95. Allen BL, Kotchey GP, Chen Y, et al. Mechanistic Investigations of Horseradish Peroxidase-Catalyzed Degradation of Single-Walled Carbon Nanotubes. *J Am Chem Soc*. 2009 Dec 2;131(47):17194–205. DOI: 10.1021/ja9083623.
96. Kagan VE, Kapralov AA, St Croix CM, et al. Lung macrophages “digest” carbon nanotubes using a superoxide/peroxynitrite oxidative pathway. *ACS Nano*. 2014;8(6):5610–5621. DOI: 10.1021/nn406484b.
97. Li D, Fortner JD, Johnson DR, et al. Bioaccumulation of $^{14}\text{C}_{60}$ by the Earthworm *Eisenia fetida*. *Environ Sci Technol*. 2010 Dec 1;44(23):9170–5. DOI: 10.1021/es1024405.
98. Avanasí R, Jackson WA, Sherwin B, et al. C_{60} Fullerene Soil Sorption, Biodegradation, and Plant Uptake. *Environ Sci Technol*. 2014 Mar 4;48(5):2792–7. DOI: 10.1021/es405306w.
99. Navarro DA, Kookana RS, McLaughlin MJ, Kirby JK. Fate of radiolabeled C_{60} fullerenes in aged soils. *Environ Pollut*. 2017 Feb;221:293–300. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.11.077.
100. Berry TD, Filley TR, Clavijo AP, et al. Degradation and Microbial Uptake of C_{60} Fullerenes in Contrasting Agricultural Soils. *Environ Sci Technol*. 2017 Feb 7;51(3):1387–94. DOI: 10.1021/acs.est.6b04637.
101. Navarro DA, Kookana RS, McLaughlin MJ, et al. Fullerol as a Potential Pathway for Mineralization of Fullerene Nanoparticles in Biosolid-Amended Soils. *Environ Sci Technol Lett*. 2016 Jan 12;3(1):7–12. DOI: 10.1021/acs.estlett.5b00292.
102. Tiwari AJ, Morris JR, Vejerano EP, et al. Oxidation of C_{60} aerosols by atmospherically relevant levels of O_3 . *Environ Sci Technol*. 2014;48(5):2706–2714. DOI: 10.1021/es4045693.
103. Fortner JD, Kim D-I, Boyd AM, et al. Reaction of Water-Stable C_{60} Aggregates with Ozone. *Environ Sci Technol*. 2007 Nov 1;41(21):7497–502. DOI: 10.1021/es0708058.
104. Sanchís J, Aminot Y, Abad E, et al. Transformation of C_{60} fullerene aggregates suspended and weathered under realistic environmental conditions. *Carbon N Y*. 2018 Mar;128:54–62. DOI: 10.1016/j.carbon.2017.11.060.
105. Gitsov I, Simonyan A, Wang L, et al. Polymer-assisted biocatalysis: Unprecedented enzymatic oxidation of fullerene in aqueous medium. *J Polym Sci Part A Polym Chem*. 2012 Jan 23;50(1):119–26. DOI: 10.1002/pola.24995.
106. Litasova EV, Iljin VV, Sokolov AV, et al. The biodegradation of fullerene C_{60} by myeloperoxidase. *Dokl Biochem Biophys*. 2016;471(1):417–420. DOI: 10.1134/S1607672916060119.
107. Brant JA, Labille J, Bottero JY, Wiesner MR. Characterizing the impact of preparation method on fullerene cluster structure and chemistry. *Langmuir*. 2006;22(8):3878–3885. DOI: 10.1021/la053293o.
108. Li T, Zhang C-Z, Fan X, et al. Degradation of oxidized multi-walled carbon nanotubes in water via photo-Fenton method and its degradation mechanism. *Chem Eng J*. 2017 Sep;323:37–46. DOI: 10.1016/j.cej.2017.04.081.
109. Li T, Zhang C-Z, Ding D, et al. Experimental and theoretical study on degradation of oxidized C_{60} in water via photo-Fenton method. *Chem Eng J*. 2018 Feb;334:587–97. DOI: 10.1016/j.cej.2017.10.062.
110. Trajković S, Dobrić S, Jačević V, et al. Tissue-protective effects of fullerol $\text{C}_{60}(\text{OH})_{24}$ and amifostine in irradiated rats. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2007;58(1):39–43. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2007.01.005.
111. Grebowski J, Kazmierska P, Litwinienko G, et al. Fullerol $\text{C}_{60}(\text{OH})_{36}$ protects human erythrocyte membrane against high-energy electrons. *Biochim Biophys Acta Biomembr*. 2018;1860(8):1528–1536. DOI: 10.1016/j.bbmem.2018.05.005.
112. Orlova MA, Trofimova TP, Orlov AP, et al. Fullerene and apoptosis. *Oncohematology*. 2013;8(1):65–71. In Russian [Орлова М.А., Трофимова Т.П., Орлов А.П. и др. Фуллерены и апоптоз. Онкогематология. 2013;8(1):65–71]. DOI: 10.17650/1818-8346-2013-8-1-65-71.
113. Mroz P, Tegós GP, Gali H, et al. Photodynamic therapy with fullerenes. *Photochem Photobiol Sci*. 2007;6(11):1139–1149. DOI: 10.1039/b711141j.
114. Jiang G, Yin F, Duan J, Li G. Synthesis and properties of novel water-soluble fullerene-glycine derivatives as new materials for cancer therapy. *J Mater Sci Mater Med*. 2015;26(1):5348. DOI: 10.1007/s10856-014-5348-4.
115. Piotrovskiy LB, Litasova EV, Dumpis MA, et al. Enhanced brain penetration of hexamethonium in complexes with derivatives of fullerene C_{60} . *Dokl Biochem Biophys*. 2016;468(1):173–175. DOI: 10.1134/S1607672916030030.
116. Hsieh FY, Zhilenkov AV, Voronov II, et al. Water-Soluble Fullerene Derivatives as Brain Medicine: Surface Chemistry Determines If They Are Neuroprotective and Antitumor. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2017;9(13):11482–11492. DOI: 10.1021/acsami.7b01077.
117. Rezayat SM, Boushehri SV, Salmanian B, et al. The porphyrin-fullerene nanoparticles to promote the ATP overproduction in myocardium: $^{25}\text{Mg}^{2+}$ -magnetic isotope

effect. Eur J Med Chem. 2009;44(4):1554–1569. DOI: 10.1016/j.ejmech.2008.07.030.

118. Amirshahi N, Alyautdin RN, Sarkar S, et al. Fullerene-based low toxic nanocationite particles (porphyrin adducts of cyclohexyl fullerene-C(60)) to treat hypoxia-induced mitochondrial dysfunction in mammalian heart muscle. Arch Med Res. 2008;39(6):549–559. DOI: 10.1016/j.arcmed.2008.05.007.

Информация об авторах:

Кукалия Олег Нугзарович, врач, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова;

Мещеряков Анатолий Анатольевич, к.х.н., младший научный сотрудник, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова;

Юрьев Глеб Олегович, к.х.н., ассистент, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова;

Андоскин Павел Александрович, к.б.н., ассистент, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова;

Семенов Константин Николаевич, д.х.н., профессор, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова;

Молчанов Олег Евгеньевич, д.м.н., Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А. М. Гранова;

Майстренко Дмитрий Николаевич, д.м.н., Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А. М. Гранова;

Мурин Игорь Васильевич, д.х.н., профессор, Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии;

Шаройко Владимир Владимирович, д.б.н., профессор, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова.

Authors information:

Oleg N. Kukalia, MD, Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;

Anatoly A. Meshcheryakov, Ph.D., laboratory assistant, Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;

Gleb O. Iurev, Ph.D., assistant, Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;

Pavel A. Andoskin, Ph.D., assistant, Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;

Konstantin N. Semenov, D.Sc., prof., Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;

Oleg E. Molchanov, MD, PhD, Russian Scientific Center for Radiology and Surgical Technologies named after A. M. Granov;

Dmitry N. Maistrenko, MD, PhD, Russian Scientific Center for Radiology and Surgical Technologies named after A. M. Granov;

Igor V. Murin, D.Sc., prof., Saint Petersburg State University, Institute of Chemistry;

Vladimir V. Sharoyko, D.Sc., prof., Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University.