

- of full-length HPV16 E6 or E7 protein inhibits the growth of HPV16 associated tumors. *Oncol. Rep.* 2010; 24(5): 1323–9.
49. Chu N. R., Wu H. B., Wu T., Boux L. J., Siegel M. I., Mizzen L. A. Immunotherapy of a human papillomavirus (HPV) type 16 E7-expressing tumour by administration of fusion protein comprising *Mycobacterium bovis* bacille Calmette-Guérin (BCG) hsp65 and HPV16 E7. *Clin. Exp. Immunol.* 2000; 121(2): 216–26.
 50. Li Y. L., Liu J., Liu J. N., Zhang J. Immunization of protein HPV16 E7 in fusion with mouse HSP70 inhibits the growth of TC-1 cells in tumor bearing mice. *Vaccine.* 2011; 29(35): 5959–62.
 51. Préville X., Ladant D., Timmerman B., Leclerc C. Eradication of established tumors by vaccination with recombinant Bordetella pertussis adenylate cyclase carrying the human papillomavirus 16 E7 oncoprotein. *Cancer Res.* 2005; 65(2): 641–9.
 52. Marin Caballero J., Garzón A., González-Cintado L., Kowalczyk W., Jimenez Torres I., Calderita G. et al. Chimeric infectious bursal disease virus-like particles as potent vaccines for eradication of established HPV-16 E7-dependent tumors. *PLoS One.* 2012; 7(12): 52976.
 53. Newberg M. H., Smith D. H., Haertel S. B., Vining D. R., Lacy E., Engelhard V. H. Importance of MHC class I alpha2 and alpha3 domains in the recognition of self and non-self MHC molecules. *J. Immunol.* 1996; 156: 2473–80.
 54. Daftarian P. M., Mansour M., Pohajdak B., Fuentes-Ortega A., Krets-Smith E., Macdonald L. et al. Rejection of large HPV-16 expressing tumors in aged mice by a single immunization of Vaccimax encapsulated CTL/T helper peptides. *J. Trans. Med.* 2007; 5: 26.
 55. Di Bonito P., Grasso F., Mochi S., Petrone L., Fanale-Belasio E. et al. Anti-tumor CD8⁺ T cell immunity elicited by HIV-1-based virus-like particles incorporating HPV-16 E7 protein. *Virology.* 2009; 395(1): 45–55.
 56. Petrone L., Ammendolia M. G., Cesolini A., Caimi S., Superti F., Giorgi C., Di Bonito P. Recombinant HPV16 E7 assembled into particles induces an immune response and specific tumour protection administered without adjuvant in an animal model. *J. Transl. Med.* 2011; 9: 69.

Поступила 12.05.14
Received 12.05.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 615.272.4:546.26].011

Андреев С. М., Башкатова Е. Н., Пургина Д. Д., Шершакова Н. Н., Хаитов М. Р.

ФУЛЛЕРЕНА: БИОМЕДИЦИНСКИЙ АСПЕКТ

ФГБУ ГНЦ Институт иммунологии ФМБА, 115478, Москва

Обзор посвящен краткому анализу биологической активности фуллерена C_{60} и его производных с акцентом на антиоксидантные и иммунологические эффекты его водорастворимых форм. Молекула фуллерена характеризуется высокой липофильностью, сильным сродством к электрону, большой сферической поверхностью и способностью к самоассоциации с образованием кластеров, что обуславливает его многие биологические эффекты. Анализ литературы последнего десятилетия свидетельствует о существенном расширении сферы практического применения фуллеренов. О воздействии фуллерена на иммунную систему пока немного информации, а немногочисленные сообщения на эту тему противоречивы. В то же время имеются неоспоримые свидетельства, указывающие на большой потенциал фуллереновых препаратов как противовоспалительных и противоаллергических средств. Одним из важных аспектов применения фуллерена в медицине является разработка эффективных способов его количественного анализа в биологических тканях, чему уделяется особое внимание.

Ключевые слова: фуллерен C_{60} ; антиоксидантная активность; антифуллереновые антитела; противовоспалительный эффект.

Для цитирования: Иммунология. 2015; 36(1): 57–61.

S. M. Andreev, E. N. Bashkatova, D. D. Purgina, N. N. Shershakova, M. R. Haitov

FULLERENES: BIOMEDICAL ASPECTS

NRC Institute of Immunology FMBA, 115478, Moscow, Russian

The review is devoted to a brief analysis of the biological activity of fullerene C_{60} and its derivatives, with emphasis on antioxidant and immunological effects of water-soluble forms. The fullerene molecule is characterized by high lipophilicity, strong electron affinity, large spheroid surface and the ability to self-education cluster, which accounts for its many biological effects. The analysis of the literature of the last decade has shown a significant expansion of the range of practical applications of fullerenes. About the effect of fullerene on the immune system until a little information and a few messages on this topic is full of contradictions. At the same time, there is compelling evidence pointing to the great potential of the fullerene drugs as anti-inflammatory and antiallergic agents. Some of the important points of application of fullerene in medicine, the development of effective methods for its quantitative analysis in biological tissues, which is given special attention.

Key words: fullerene C_{60} ; antioxidant activity; anti-fullerenes antibodies; anti-inflammatory effect.

Citation: Immunologiya. 2015; 36(1): 57–61.

Введение

Фуллерен представляет собой единственно известную молекулярную форму углерода, являясь его аллотропной разновидностью наряду с известными формами – графитом, ал-

мазом, карбином, графеном и углеродными нанотрубками. Его открытие состоялось в 1985 г., микроскопические количества фуллерена были получены исследователями путем лазерного испарения графита в пульсирующей струе гелия, масс-спектрометрия показывала, что большинство молекул в парах графита состоят из 60 атомов углерода (C_{60}) [1]. Свое название фуллерены получили благодаря американскому инженеру и дизайнеру Р. Бакминстеру Фуллеру, в чьих конструкциях используется замкнутая форма, состоящая из правильных пятиугольников и шестиугольников. За открытие

Для корреспонденции: Андреев Сергей Михайлович, andsergej@yandex.ru

For correspondence: Andreev Sergey Mikhailovich, andsergej@yandex.ru

фуллеренов в 1996 г. Г. Крото (Англия), Р. Смолли и Р. Керлу (США) была вручена Нобелевская премия по химии.

В 1990 г. В. Кретчмером и Д. Хаффманом был разработан препаративный способ получения фуллерена, в котором использовали электродуговой разряд в парах графита в разреженной инертной атмосфере [2]. Сообщение о таком простом и недорогом методе получения уникального вещества вызвало настоящий бум и послужило толчком к масштабным исследованиям свойств нового материала и возможностей его применения в различных областях науки и техники. Сейчас ежегодно в мире регистрируются сотни патентов, тысячи публикаций, посвященных методам получения, структуре и свойствам фуллеренов и их производных, в том числе связанных с практическим применением.

К уникальным параметрам фуллерена и некоторых его производных можно отнести мощную электронно-акцепторную активность, высокую поляризуемость молекулы, наличие большого числа эквивалентных реакционных центров и гидрофобность. Последнее свойство, по-видимому, имеет отношение к их способности проникать через биологические мембраны. Большая поверхность C_{60} и хорошо разработанная химия фуллерена позволяют присоединять к сферической молекуле различные гидрофильные адденды, создавать поливалентные структуры, что представляет интерес для конструирования новых биопрепаратов.

С начала открытия препаративного способа получения фуллерена были синтезированы многие сотни его производных с обширным спектром биологической активности: противоопухолевой [3], антивирусной [4, 5], антимикробной [6], антиоксидантной [7], нейропротективной [8, 9], фотодинамической [10, 11], мембранотропной [12, 13]; кроме того, они могут использоваться как ингибиторы ферментов, блокаторы апоптоза и радиопротекторы. Все это говорит о том, что фуллерен как основа является перспективным материалом для создания новых высокотехнологичных медицинских материалов и лекарственных препаратов [14]. В настоящем обзоре мы подробно рассмотрим антиоксидантные свойства фуллерена и его иммунобиологическую активность.

Антиоксидантные свойства

Результаты многих экспериментов показали, что фуллерены имеют огромный потенциал в качестве биологических антиоксидантов. Их антиоксидантные свойства обусловлены большой системой частично сопряженных двойных связей, способной принимать дополнительные электроны, например от свободных радикалов. Установлено, что одна молекула фуллерена может принимать до 34 метильных радикалов, эффективно захватывать и инактивировать как супероксиданион-радикалы, так и гидроксильные радикалы *in vivo* и *in vitro*. Ввиду этого фуллерен охарактеризовали как «губку, впитывающую свободные радикалы» [15]. Основным преимуществом использования фуллеренов в качестве медицинских антиоксидантов является их способность локализоваться внутри митохондрий и в других компартментах, где продуцируются свободные радикалы [16].

Трикарбоксифуллерен (C_3), полученный в виде двух изомерных водорастворимых соединений, демонстрировавших нейропротективную активность, оказался прекрасной ловушкой для свободных радикалов, причем как *in vivo*, так и *in vitro* [8]. Влияние же C_3 на радикалы NO, как оказалось, не связано с его антиоксидантными способностями, в этом случае эффект обусловлен ингибированием работы фермента, продуцирующего NO и ответственного за синтез цитрулина [17]. Еще одно водорастворимое производное C_{60} с пятью цистиновыми остатками на ядро, CFD, может улавливать как супероксид, так и гидроксильный радикал. Показано, что CFD не проявляет заметной токсичности и способен проникать через клеточную мембрану, блокируя накопление внутриклеточного пероксида [18].

Эксперименты, проведенные на крысах, показали, что водная дисперсия C_{60} , приготовленная без использования органических растворителей, не только не обладает острой

токсичностью у грызунов, но и защищает их печень от повреждения свободными радикалами [19]. Крысам вводили токсичный CCl_4 , что вызывало образование трихлорметильного радикала $CCl_3\cdot$ и серьезные повреждения печени. При реакции с кислородом формируются радикалы трихлорметилпероксида $CCl_3OO\cdot$, которые быстро инициируют цепную реакцию перекисного окисления липидов [20]. Молекула C_{60} способна инактивировать сразу большое количество таких радикалов, и это приводит к тому, что у крыс, предварительно обработанных фуллереном, при интоксикации CCl_4 не происходит повреждения печени, что доказано гистологическими исследованиями.

Водорастворимые фуллеренол и карбоксифуллерен способны проникать через клеточную мембрану и локализоваться преимущественно в митохондриях [21, 22]. Поскольку именно эти клетки генерируют основную массу свободных радикалов и активных форм кислорода (АФК) в организме, то эти производные являются первыми претендентами на эффективный антиоксидантный препарат [23–25].

Сравнительный анализ антиоксидантной активности различных производных фуллерена (PEG/ C_{60} , PVP/ C_{60} , циклодекстрин- C_{60}), фуллеренол и изостеариновая кислота/фуллерен) по отношению к кератиноцитам кожи человека показал, что все они имеют мощный блокирующий потенциал [26].

Фуллерены как акцепторы радикалов показали свою способность защищать рост клеток от различных токсинов, которые могут вызвать апоптотические повреждения *in vitro* [27, 28] на различных типах клеток, таких как нейроны [8, 25], гепатоциты [29], эпителиальные клетки [30].

При изучении защитной активности фуллерена против окислительного стресса при апоптозе мононуклеарных периферических клеток человека (МКПК), вызванном 2-дезоксид-рибозой или TNF α с циклогексимидом, установлено, что карбоксифуллерен защищает МКПК от апоптоза путем сохранения целостности митохондриальной мембраны [31].

Фуллерены применяли также для защиты клеток от действия ультрафиолетовых лучей [32]. Ультрафиолетовое облучение (320–400 нм) генерирует АФК, что оказывает биологическое воздействие на клетки кожи человека, приводя к повреждению и гибели клеток. Водорастворимый комплекс C_{60} /поливинилпирролидон был испытан в качестве защиты от окислительного стресса. В этом случае способность фуллерена проникать в глубокие слои эпидермиса кожи человека и устойчивость к окислительной деградации делает его более перспективным препаратом, чем витамин С. Он предотвращает старение кожи.

Производные фуллерена могут рассматриваться и как перспективные лекарственные средства для профилактики и коррекции ишемических повреждений, например при реперфузии ишемизированного трансплантата. Поврежденные ишемией митохондрии могут продуцировать большее количество электронов за счет их «утечки» из электронно-транспортной цепи и участвуют в образовании супероксиданион-радикала. Гексасульфобутилфуллерен (ГСБФ), содержащий 6 сульфобутильных групп, введенный в перфузат изолированного сердца, значительно снижал содержание свободных радикалов по данным электронного парамагнитного резонанса [33]. ГСБФ был также активен и в случае инфаркта головного мозга [34], что роднит его с препаратом C_3 . Введение фуллеренола приводило к снижению тканевого содержания индикаторов окислительного стресса – конъюгированных диенов и малонового диальдегида, определенного через 30 и 60 мин после реперфузии. Кроме того, фуллеренол предохранял трансплантат от вызванного ишемией–реперфузией истощения тканевых запасов глутатиона [35]. Другой препарат фуллерена $C_{60}(ON(O_2)_2)_7$ снижал выраженность ишемически-реперфузионного повреждения изолированных легких крысы [36].

Иммунобиологическая активность фуллерена

Фуллерен и его соединения стали испытывать уже в начале 90-х годов, почти сразу после его открытия. В основе

биологической активности фуллеренов лежат в первую очередь три свойства этих молекул: липофильность, определяющая мембранотропные свойства; электроноакцепторная активность, приводящая к способности взаимодействовать со свободными радикалами; способность из возбужденного состояния передавать энергию молекуле обычного кислорода и превращать его в синглетный кислород. К сожалению, низкая растворимость в водной среде чистого фуллерена ограничивает его непосредственное использование в качестве лекарственного средства. Поэтому при модификации фуллерена основные усилия были направлены на придание ему водной растворимости.

Оказалось, что производные фуллерена можно эффективно использовать для блокады ВИЧ-инфекции [37]. Фотоактивированный фуллерен способен разрушать молекулу ДНК, вызывать апоптоз клеток, инактивировать бактерии. Фуллерены обладают также нейропротективным свойством и могут быть полезны в терапии неврологических заболеваний, таких как болезни Альцгеймера и Лу Герига. Они проявляли себя и как блокаторы аллергического воспаления [38], как противоопухолевые препараты [39]. Имеются работы, связанные с использованием фуллерена для доставки лекарственных средств в клетки и ткани.

Особый интерес представляет вопрос об антигенной активности фуллерена. Возможна ли генерация специфических антител в ответ на введение в организм фуллерена и его производных, обладает ли он иммуномодулирующей активностью? Установлено, что фуллерен в физиологической среде быстро взаимодействует с компонентами физиологической среды, белками, липидами и другими биомолекулами, содержащими гидрофобные фрагменты [40].

Один из важных аспектов современных исследований связан с иммунологической реакцией организма на фуллерен. Возможные гипотетические эффекты включают гиперактивацию клеток иммунной системы с выбросом медиаторов, провоцирующих воспалительные реакции, продукцию специфических антител с последующей сенсибилизацией, формирование комплексов с аутоантигенами, ведущее к аутоиммунной реактивности.

Фуллерен кардинально отличается по структуре от всех известных биогенных молекул, и можно предположить, что вряд ли в иммунном репертуаре присутствуют клоны с рецепторами, обладающие достаточным аффинитетом к этой молекуле. В реальности вряд ли может происходить экспонирование такой гидрофобной молекулы фуллерена клеточным рецепторам. В физиологическом окружении неизбежно будет идти его взаимодействие с ее компонентами: белками, липидами и другими молекулами, имеющими гидрофобные участки [40, 41], т. е. углеродная поверхность практически будет недоступна для распознавания.

Как известно, антитела к простым углеродным материалам, графиту и алмазу, более распространенным веществам, получить практически невозможно [42, 43], именно поэтому они активно используются в эндопротезировании. С другой стороны, антифуллереновые антитела представляют ценный инструмент для анализа фуллерена в биологических средах. Такой анализ имеет прямое отношение и к системе токсикологического контроля нанопроductии, однако в случае фуллерена и его производных – это очень сложная задача. Наибольшее распространение пока получил метод высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с УФ- или масс-спектрометрическими детекторами. Он предусматривает предварительную экстракцию фуллерена органическим растворителем, но это довольно трудоемкий и дорогой метод, а точность и чувствительность его оставляет желать лучшего.

Естественно, что более специфичный и универсальный метод анализа в биологической среде – иммуноферментный, его чувствительность может достигать пико и сотен фемтограммов на 1 мл образца, особенно при использовании люминесцирующих субстратов. Центральная проблема в этой схеме – необходимо иметь специфическое антитело

к молекуле фуллерена. В конце 90-х годов были опубликованы данные о продукции специфических анти- C_{60} -антител класса IgG, полученных при иммунизации мышей BALB/c конъюгатом высокомолекулярного белка тироглобулина с фуллереновым производным, содержащим сукцинильную функцию [44]. Авторы построили компьютерную модель взаимодействия фуллерена с антителом, они предполагали, что чистые фуллерены C_{60} и C_{70} могут распознаваться антителами с гидрофобными аминокислотами в связывающем центре [44, 45]. Эта работа не получила дальнейшего развития и реального практического применения в формате иммуноферментного анализа, к тому же в ней имелся целый ряд неясных моментов. Недавно российские исследователи [46] сумели получить C_{60} -специфические поликлональные и моноклональные антитела класса IgG, способные распознавать углеродные молекулы. На основе конкурентного поляризационного флуоресцентного иммуноанализа удавалось определять различные углеродные наноматериалы с высокой чувствительностью в биологической ткани. Правда, осталось неясным, какую форму фуллерена детектируют эти антитела – одиночную молекулу фуллерена, кластер, фуллерен со свободной поверхностью, фуллерен ли, покрытый водной оболочкой, или это некий комплекс с белками.

В работах по изучению антигенности фуллерена две другие группы исследователей не смогли воспроизвести результаты американцев. В этих работах применялись аминокислотные производные фуллерена и их конъюгаты с белками в присутствии сильных адъювантов. Но продукции специфических антител класса IgG не наблюдалось ни в одном опыте [47–49]. Некоторые результаты дают основание предполагать, что ковалентное присоединение фуллерена к белку может повышать его аллергическую активность [47].

Установлено, что некоторые производные фуллерена могут подавлять IgE-зависимый аллергический ответ. Так, полигидроксифуллерен ($C_{60}(OH)_n$, $n = 18–22$) и N-этилполиаминофуллерен ($C_{60}(NHCH_2CH_3)_n$, $n = 6–18$) ингибировали *in vitro* IgE-зависимую дегрануляцию тучных клеток и секрецию ими цитокинов и простагландинов в ответ на стимуляцию аллергеном. Авторы предположили, что этот эффект связан со снижением уровня АФК в клетках, т. е. блокированием окислительного стресса при аллергической реакции за счет антиоксидантной активности фуллерена [50]. Противовоспалительная активность производных фуллерена была зарегистрирована рядом исследователей [51]. При инкубировании тучными клетками и базофилами крови человека они подавляли гиперчувствительность I типа, а в модели анафилаксии тормозили высвобождение гистамина. Предполагалось, что этот эффект связан со снижением уровня АФК в клетках [50]. Отмечалось также, что фуллерен ингибирует провоспалительные цитокины, секреция которых опосредована фактором некроза опухоли (TNF α в синовиальных фибробластах, лимфоцитах и макрофагах, и является перспективным препаратом для лечения артрита [52]. С другой стороны, показано, что водная дисперсия фуллерена, полученная методом Андриевского [53], вызывала экспрессию генов провоспалительных цитокинов (IL-1, TNF α , IL-6) и Th1 цитокинов (IL-12, IFN γ) у мышей при аэрозольном введении в дыхательные пути [54]. Производные фуллерена, фуллерен-ол и N-этил-полиамино-фуллерен (перо- C_{60}), не влияли на реактивность Т-клеток, продукцию цитокинов, соотношение CD4/CD8, но значительно усиливали секрецию IL-6 и экспрессию CD69 у натуральных киллеров. Авторы сделали вывод о том, что они действуют только на клетки врожденной иммунной системы [55]. Те же соединения ингибировали IgE-зависимую дегрануляцию тучных клеток и секрецию ими цитокинов и простагландинов в ответ на провокацию аллергеном. Нанодисперсия чистого фуллерена C_{60} оказывала ингибирующее воздействие на IgE-опосредованную секрецию гистамина из базофилов периферической крови в системе *in vitro* и подавляла анафилаксию у мышей, вызванную введением овальбумина [56]. Недавно показано, что водная дисперсия фуллерена проявляет заметную модулирующую

активность в реакции гиперчувствительного замедленного типа, подавляя выброс цитокинов Th1-профиля [57]. Складывается впечатление, что фуллерен способен ингибировать иммунный ответ как Th1, так и Th2, и может представлять интерес как перспективный препарат для лечения воспалительных заболеваний.

Заключение

В настоящем обзоре отображена современная ситуация и текущие тенденции в активно развивающемся направлении биотехнологии – фуллерены как препараты для медицины. Анализ научной литературы последнего десятилетия показал существенное расширение сферы практического применения фуллеренов. В то же время ясно вырисовывается недостаточность и некоторая противоречивость результатов исследований по токсикологии, иммунологии и ряду других разделов. Результаты, полученные *in vitro*, нередко несопоставимы с результатами *in vivo*. Пока нет ни одного полноценного длительного тщательного доклинического и клинического исследования препарата на основе фуллерена. Очень важным представляется разработка методов, позволяющих проводить надежную оценку данных эксперимента. Некоторая трудность здесь связана с тем, что фуллерен и его соединения имеют склонность формировать ассоциаты, в том числе с компонентами среды, часто с непредсказуемыми свойствами (нерастворимость, необратимая адсорбция), растворы фуллерена чувствительны к ионной силе, поэтому известные методики в приложении к ним требуют предварительной оценки и обработки. Несмотря на эти трудности, многие исследователи продолжают работы с фуллеренами в надежде на создание эффективных фармпрепаратов и других средств.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ, в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» (соглашение № 14.604.21.0059 от 27 июня 2014).

ЛИТЕРАТУРА

- Меджидова М. Г., Абдуллаева М. В., Федорова Н. Е., Романова В. С., Куш А. А. Противовирусная активность аминокислотных производных фуллерена при цитомегаловирусной инфекции *in vitro*. *Антибиотики и химиотерапия*. 2004; 49(8–9): 13–20.
- Андреев И. М., Романова В. С., Петрухина А. О., Андреев С. М. Аминокислотные производные фуллерена C₆₀ ведут себя как липофильные ионы, проникающие через биологические мембраны. *Физика твердого тела*. 2002; 44: 658–660.
- Потроковский Л. Б., Киселев О. И. *Фуллерены в биологии*. ООО «Издательство «Росток». СПб.; 2006.
- Сыренский А. В., Галагудза М. М., Егорова Е. И. Предпосылки к изучению сердечно-сосудистых эффектов производных фуллерена. *Артериальная гипертензия*. 2004; 10(3): 1–7.
- Нуретдинов И. А., Губская В. П., Corvaka C., Губайдуллин А. Т., Коновалова Н. П. Квантовые и биологические свойства нитроокисных метанофуллеренов. *Наночастицы в конденсированных средах: сборник научных статей*. 2008; 225–230.
- Андреев С. М., Бабахин А. А., Петрухина А. О., Романова В. С., Парнес З. Н., Петров Р. В. Иммуногенные и аллергенные свойства конъюгатов фуллерена с аминокислотами и белком. *Доклады РАН*. 2000; 390(2): 261–4.
- Андреев С. М., Бабахин А. А., Петрухина А. О., Романова В. С., Парнес З. Н., Петров Р. В. Иммуногенные и аллергенные свойства конъюгатов фуллерена с аминокислотами и белком. *Доклады РАН*. 2000; 390(2): 261–4.
- Андреев С. М., Петрухина А. О., Бабахин А. А., Гарманова А. В., Романова В. С., DeBuske L. M. О генерации антител к фуллерену C₆₀. *Иммунология*. 2006; 27(6): 343–8.
- Масалова О. В., Шепелев А. В., Атанадзе С. Н., Парнес З. Н., Романова В. С., Вольпина О. М., Семилетов Ю. А., Куш А. А. Иммуностимулирующее действие водорастворимых производных фуллерена – перспективных адъювантов для вакцин нового поколения. *Доклады РАН*. 1999; 369(3): 411–3.
- Башкатова Е. Н., Андреев С. М., Шершакова Н. Н., Бабахин А. А., Шиловский И. П., Хаитов М. Р. Изучение модулирующей активности производных фуллерена C₆₀ на реакцию гиперчувствительности замедленного типа. *Физиология и патология иммунной системы*. 2012; 2: 17–27.

Поступила 10.11.14

REFERENCES

- Kroto H. W., Heath J. R., O'Beien S. C., Curl R. F., Smalley R. E. C₆₀: Buckminsterfullerene. *Nature*. 1985; 318: 162–3.
- Kratschmer W., Lamb L. D., Fostiropoulos K., Huffman D. R., Solid C₆₀: a new form of carbon. *Nature*. 1990; 347: 354–356.
- Yang X. L., Fan C. H., Zhu H. S. Photo-induced cytotoxicity of malonic acid C₆₀ fullerene derivatives and its mechanism. *Toxicology in vitro*. 2002; 16: 41–6.
- Medzhidova M. G., Abdullayev M. V., Fedorova N. E., Romanov V. S., Kush A. A. Antiviral activity of amino acid derivatives of fullerene with cytomegalovirus infection in vitro. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2004; 49(8–9): 13–20.
- Lin Y. L., Luh T., Chou C. K., Liu H. S. Light-independent inactivation of dengue-2 virus by carboxyfullerene C₆₀ isomer. *Virology*. 2000; 275: 258–62.
- Tsao N., Luh T., Chou C., Wu J., Lin Y. and Lei H. Inhibition of group A streptococcus infection by carboxyfullerene. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2001; 45(6): 1788–93.
- Wang I. C. et al. C₆₀ and water-soluble fullerene derivatives as antioxidants against radical-initiated lipid peroxidation. *J. Med. Chem.* 1999; 42: 4614–20.
- Dugan L. L. et al. Carboxyfullerenes as neuroprotective agents. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997; 94: 9434–9.
- Dugan L. L. et al. Fullerene-based antioxidants and neurodegenerative disorders Parkinsonism Relat. *Disord.* 2001; 7: 243–6.
- Kasermann F., Kempf C. Buckminsterfullerene and photodynamic inactivation of viruses. *Rev. Med. Virol.* 1998; 8: 143–51.
- Vileno B. In vitro assay of singlet oxygen generation in the presence of water-soluble derivatives of C₆₀. *Carbon*. 2004; 42: 1195–98.
- Andreev I. M., Romanova V. S., Petrukina A. O., Andreev S. M. Amino acid derivatives of fullerene C₆₀ behave as lipophilic ions that penetrate through biological membranes. *Fizika tverdogo tela*. 2002; 44: 658–60. (in Russian).
- Kotelnikova R. A. et al. Features of the effect C₆₀ amino acid derivatives on the structure and functions of biomembranes. *Mol. Mat.* 1998; 11: 111–6.
- Piotrowski L. B., Kiselev O. I. *Fullerenes in biology [Fullereny v biologii]*. Publisher “Rostok”, SPb. 2006: 336. (in Russian)
- Krustic P. J., Wasserman E., Keizer P. N. et al. Radical reactions of C₆₀. *Science*. 1991; 254: 1183–5.
- Bakry R., Vallant R. M., Najam-ul-Hag M., Rainer M., Szabo Z., Huck C. W., Bonn G. K. Medicinal applications of fullerenes. *Int. J. Nanomedicine*. 2007; 2(4): 639–49.
- Wolf D., Papoiu A., Mialkowski K., Richardson C., Schuster D., Wilson S. Inhibition of nitric oxide synthase isoform by trimalonil-C₆₀-fullerene adducts. *Arch. Biochem. Biophys.* 2000; 378: 216–23.
- Hu Z., Guan W., Wang W., Huang L., Xing H., Zhu Z. Protective effect of a novel cystine C(60) derivative on hydrogen peroxide-induced apoptosis in rat pheochromocytoma PC12 cells. *Chem. Biol. Interact.* 2007; 167(2): 135–44.
- Gharbi N., Pressac M., Hadchouel M. et al. Fullerene is a powerful antioxidant in vivo with no acute or subacute toxicity. *Nano Lett.* 2005; 5: 2578–85.
- Slatet T. F., Cheeseman K. H., Ingold K. U. Carbon tetrachloride toxicity as a model for studying free-radical mediated liver injury. *Philos. Trans. R. Soc. Lond B Biol. Sci.* 1985; 311: 633–45.
- Foley S., Growley C., Smaih M. et al. Cellular localisation of a water-soluble fullerene derivative. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002; 294: 116–19.

22. Youle R. J., Karbowski M. Opinion: mitochondrial fission in apoptosis. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 2005; 6: 657–63.
23. Tsai M. C., Chen Y. H., Chiang L. Y. Polyhydroxylated C₆₀, fulleranol, a novel free-radical trapper, prevented hydrogen peroxide- and cumene hydroperoxide-elicited changes in rat hippocampus *in vitro*. *J. Pharm. Pharmacol.* 1997; 49: 438–45.
24. Lotharius J., Dugan L. L., O'Malley K. L. Distinct mechanisms underlie neurotoxin-mediated cell death in cultured dopaminergic neurons. *J. Neurosci.* 1999; 19: 1284–93.
25. Bisaglia M., Natalini B., Pellicciari R. et al. C3-fullerotrismethanodicarboxylic acid protects cerebellar granule cells from apoptosis. *J. Neurochem.* 2000; 74: 1197–204.
26. Xiao L., Takada H., Maeda K. et al. Antioxidant effects of water-soluble fullerene derivatives against ultraviolet ray or peroxy lipid through their action of scavenging the reactive oxygen species in human skin keratinocytes. *Biomed. Pharmacotherapy.* 2005; 59: 351–8.
27. Lin A. M., Chyi B. Y., Wang S. D. et al. Carboxyfullerene prevents iron-induced oxidative stress in rat brain. *J. Neurochem.* 1999; 72: 1634–40.
28. Chen Y. W., Hwang K. C., Yen C., Lai Y. Fullerene derivatives protect against oxidative stress in RAW 264.7 cells and ischemia-reperfused lungs. *The American Journal of Physiology: Regulatory Integrative and Comparative Physiology.* 2004; 287(1): R21–R26.
29. Huang Y. L., Shen C. K., Luh T. Y. et al. Blockage of apoptotic signaling of transforming growth factor-beta in human hepatoma cells by carboxyfullerene. *Eur. J. Biochem.* 1998; 254: 38–43.
30. Strafe E., Natalini B., Monti D. et al. C3-Fullerotrismethanodicarboxylic acid protects epithelial cells from radiation-induced anoikia by influencing cell adhesion ability. *FEBS Lett.* 1999; 454: 335–40.
31. Monti D., Moretti L., Salvioli S. et al. C₆₀ carboxyfullerene exerts a protective activity against oxidative stress-induced apoptosis in human peripheral blood mononuclear cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000; 277: 711–17.
32. Xiao L., Takada H., Gan X.H. et al. The water-soluble fullerene derivative 'Radical Sponge' exerts cytoprotective action against UVA irradiation but not visible-light-catalyzed cytotoxicity in human skin keratinocytes. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2006; 16: 1590–5.
33. Chueh S. C., Lai M. K., Lee M. S., Chiang L. Y., Ho T. I., Chen S. C. Decrease of free radical level in organ perfusate by a novel water-soluble carbon-sixty, hexa(sulfobutyl)fullerenes. *Transplantation Proceedings.* 1999; 31(5): 1976–7.
34. Yang D. Y., Wang M. F., Chen I. L., Chan Y. C., Lee M. S., Cheng F. C. Systemic administration of water-soluble hexasulfonated C₆₀ (FC₄S) reduces cerebral ischemia-induced infarct volume in gerbils. *Neurosci. Lett.* 2001; 311(2): 121–4.
35. Syrensky A. V., Calagudza M., Egorova E. Background to the study of the cardiovascular effects of fullerene derivatives. *Arterial'naya Hypertension.* 2004; 10(3): 1–7. (in Russian)
36. Lai Y. L., Murugan P., Hwang K. C. Fullerene derivative attenuates ischemia-reperfusion-induced lung injury. *Life Sci.* 2003; 72(11): 1271–8.
37. Sijbesma R., Srdanov G., Wudl F., Castoro J. A., Wilkins C., Friedman S. H., DeCamp D. L., Kenyon G. L. Synthesis of a fullerene derivative for the inhibition of HIV enzymes. *J. Am. Chem. Soc.* 1993; 115: 6510–2.
38. Bredas J. L., Durrant J. R. Organic photovoltaics. *Accounts Chem. Res.* 2009; 42: 1689–92.
39. Nuretdinov I. A., Gubskaya V. P., Corvaja C., Cubaidullin A. T., Kononov N. P. *Quantum and biological properties of the nitroxide methanofullerenes. Nanoparticles in condensed media: collection of scientific articles [Kvantovye i biologicheskie svoystva nitroksidnykh metanofullerenov. Nanochastitsy v kondensirovannykh sredakh: sbornik nauchnykh statey].* 2008; 225–30. (in Russian)
40. Belgorodsky B., Fadeev L., Ittah V., Benyamini H., Zelnor S., Huppert D., Kotlyar A. B., Gozin M. Formation and characterization of stable human serum albumin-tris-malonic acid [C₆₀] fullerene complex. *Bioconjug. Chem.* 2005; 16(5): 1058–62.
41. Benyamini H., Shulman-Peleg A., Wolfson H. J., Belgorodsky B., Fadeev L., Gozin M. Interaction of C₆₀-fullerene and carboxyfullerene with proteins: docking and binding site alignment. *Bioconjugate Chem.* 2006; 17: 378–86.
42. Weber U., Rettig H. The use of carbon as manufacturing material of endoprotheses. *Z. Orthop. Ihre Grenzgeb.* 1979; 117: 268–76.
43. Pinneo M. Diamond Growth: Today and Tomorrow, in Krummenacker M. & Lewis J. (eds.) *Prospects in Nanotechnology: Toward Molecular Manufacturing*, Proceedings of the First General Conference on Nanotechnology: Development, Applications, and Opportunities, 11–14 November 1992, John Wiley & Sons. New York, 1995; 147–72.
44. Chen B. X., Wilson S. R., Das M., Coughlin D. J., Erlanger B. F. Antigenicity of fullerenes: antibodies specific for fullerenes and their characteristics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998; 95(18): 10809–13.
45. Braden B. C., Goldbaum F. A., Chen B. X., Kirschner A. N., Wilson S. R., Erlanger B. F. X-ray crystal structure of an anti-Buckminsterfullerene antibody Fab fragment: Biomolecular recognition of C₆₀. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000; 97(22): 12193–7.
46. Hendrickson O., Fedyunina N., Zherdev A., Solopova O., Sveshnikov P., Dzantiev B. Production of monoclonal antibodies against fullerene C₆₀ and development of a fullerene enzyme immunoassay. *Analyst.* 2012; 137(1): 98–105.
47. Andreev S. M., Babakhin A. A., Petrukhina A. O., Romanova V.S., Parnes Z. N., Petrov R. V. Immunogenic and allergenic properties of fullerene amino acids and proteins conjugates. *Doklady RAS.* 2000; 390(2): 261–4. (in Russian)
48. Andreev S. M., Petrukhina A. O., Babakhin A. A., Garmanova A. V., Romanova V. S., DuBuske L. M. About the generation of fullerene C₆₀-specific antibodies. *Immunologiya.* 2006; 27(6): 343–8. (in Russian)
49. Masalova O. V., Shepelev A. V., Atanadze S. N., Parnes Z. N., Romanov V. S., Volpina O. M., Semiletov Yu. A., Kusch A. A. Immunostimulating effect of water-soluble fullerene derivatives – promising adjuvants for new generation vaccines. *Doklady RAS.* 1999; 369(3): 411–3. (in Russian)
50. Ryan J. J., Bateman H. R., Stover A. et al. Fullerene nanomaterials inhibit the allergic response. *J. Immunol.* 2007; 179(1): 665–72.
51. Magoulas G. E., Garnelis T., Athanassopoulos C. M. et al. Synthesis and antioxidative/anti-inflammatory activity of novel fullerene-polyamine conjugates. *Tetrahedron.* 2012; 68(35): 7041–9.
52. Yudoh K., Karasawa R., Masuko K., Kato T. Water-soluble fullerene (C₆₀) inhibits the development of arthritis in the rat model of arthritis. *Int. J. Nanomedicine.* 2009; 4: 217–25.
53. Andrievsky G. V., Klochkov V. K., Derevyanchenko L. Is C₆₀ fullerene molecule toxic?! *Fullerenes, Nanotubes. Carbon Nanostruct.* 2005; 13(4): 363–76.
54. Park E.-J., Kim H., Kim Y., Yi J., Choi K., and Park K. Carbon fullerenes (C₆₀s) can induce inflammatory responses in the lung of mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2010; 244(2): 226–33.
55. Bunz H., Plankenhorn S., Klein R. Effect of buckminsterfullerenes on cells of the innate and adaptive immune system: an *in vitro* study with human peripheral blood mononuclear cells. *Int. J. Nanomedicine.* 2012; 7: 4571–80.
56. Babakhin A. A., Andrievsky G., DuBuske L. M. Inhibition of systemic and passive cutaneous anaphylaxis by water-soluble fullerene C₆₀. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009; 123(2): 118.
57. Bashkatova E. N., Andreev S. M., Shershakova N. N., Babakhin A. A., Shilovsky I. P., Khaitov M. R. The study of the influence of modulating the activity of fullerene C₆₀ derivatives on delayed-type hypersensitivity reaction. *Physiol. Pathol. Imm. Syst.* 2012; 2: 17–27.

Received 10.11.14