

**ГИБРИДНЫЕ СТРУКТУРЫ НА ОСНОВЕ ФУЛЛЕРЕНА C₆₀
В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ И
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ.**

И.И. Файнгольд, Р.А.Котельникова, Н.П. Коновалова, Д.В Мищенко,
Д.А. Полетаева, Г.Н.Богданов, *В.С. Романова, А.И. Котельников

Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка,

* Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН,
Москва

**Ингибирование
активных центров
ферментов**

**Влияние на структуру
и проницаемость
липидного матрикса
мембран**



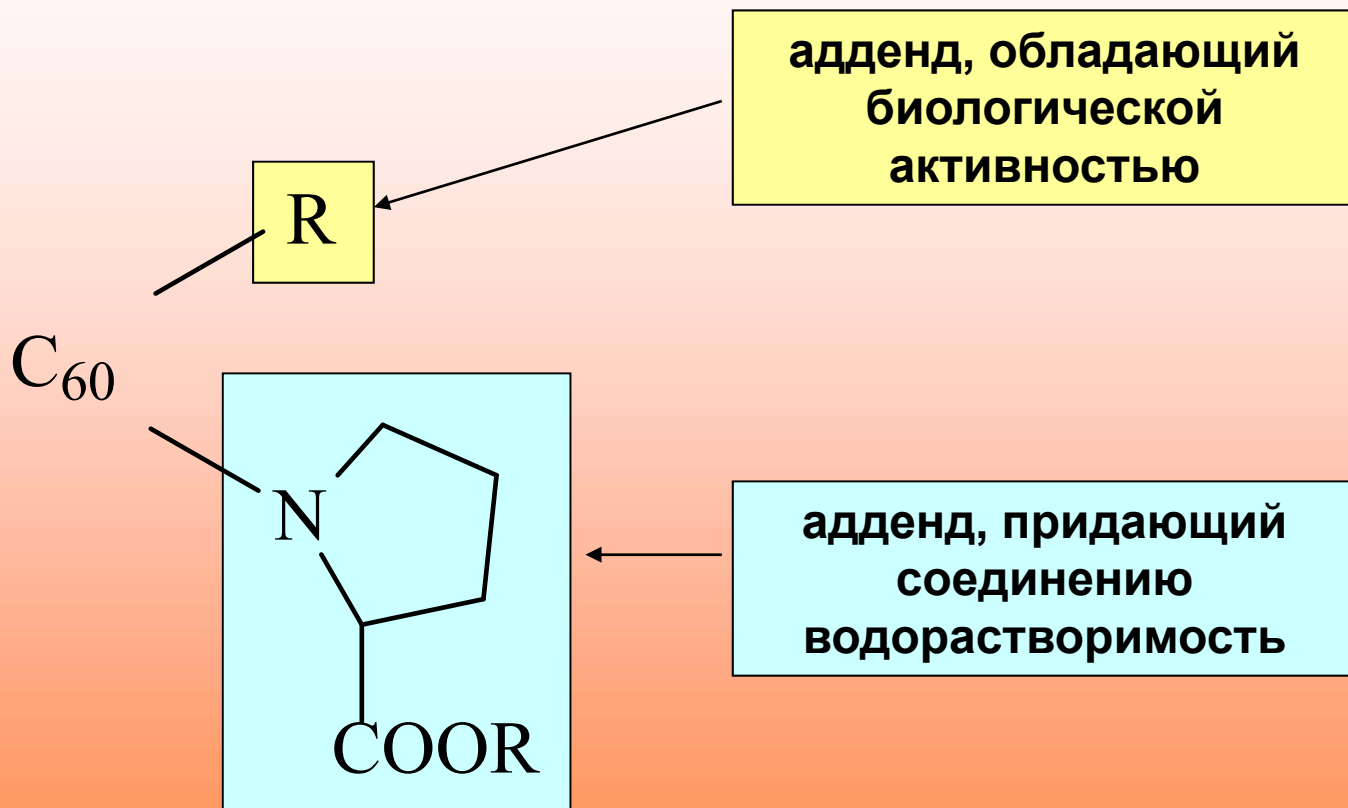
**Биологическое действие
фуллеренов и их
производных**



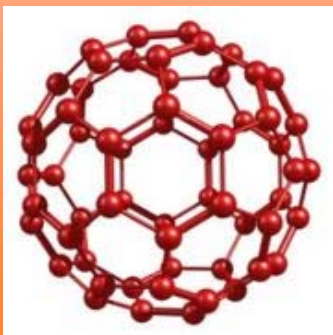
**Антиоксидантное
действие
фуллеренов**

**Фотодинамическое
действие
фуллеренов**

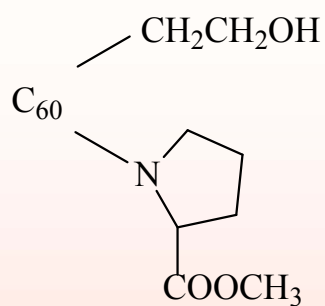
Гибридная структура фуллерена C₆₀



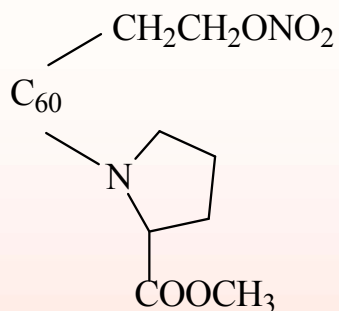
Фуллерен C₆₀



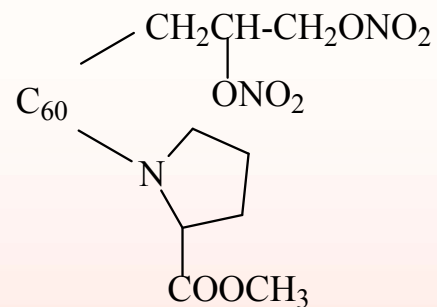
Гибридные соединения на основе фуллерена C₆₀ (ГСФ)



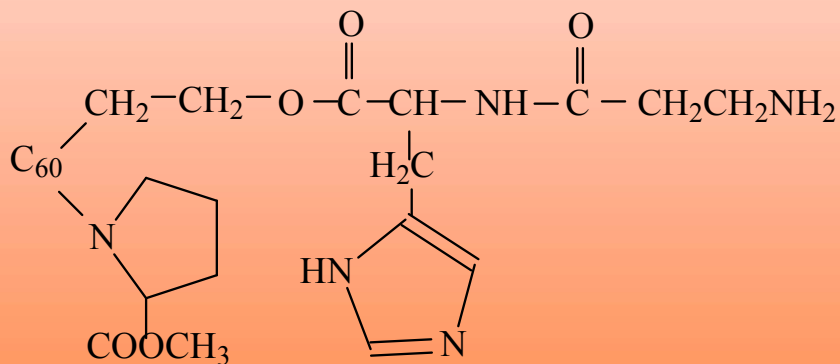
C₆₀-OH Pro



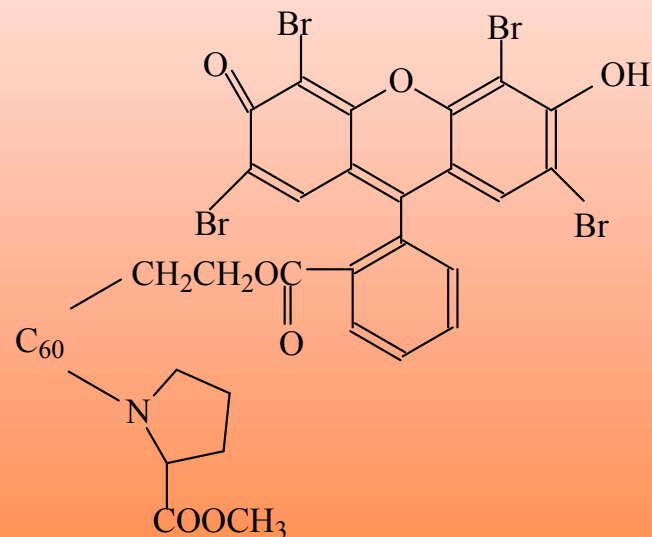
C₆₀-NO₂ Pro



C₆₀-(NO₂)₂ Pro



C₆₀-carnosine Pro



C₆₀-eosin Pro

Цель работы:

Исследование физико-химических свойств водорастворимых гибридных соединений на основе фуллерена C_{60} (ГСФ) и их противоопухолевой активности.

Задачи исследования:

- Изучить способность ГСФ проникать через липидный бислой липосом и биологических мембран.
- Оценить влияние ГСФ на пероксидное окисление липидов.
- Исследовать действие ГСФ на каталитическую активность мембраносвязанного фермента цитохром с-оксидазу.
- Изучить особенности распределения ГСФ в органах животных-опухоленосителей.
- Исследовать противоопухолевые свойства ГСФ.

Константы скорости тушения фосфоресценции эритрозина для гибридных соединений на основе фуллерена C₆₀ (ГСФ) в водных растворах (K₀) и в суспензии фосфатидилхолиновых липосом (K_q)

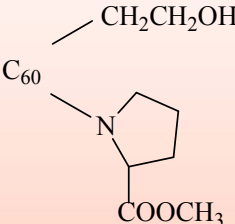
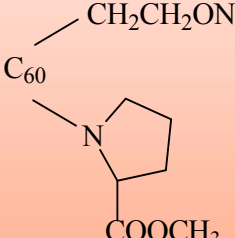
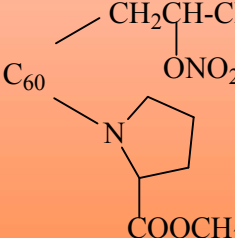
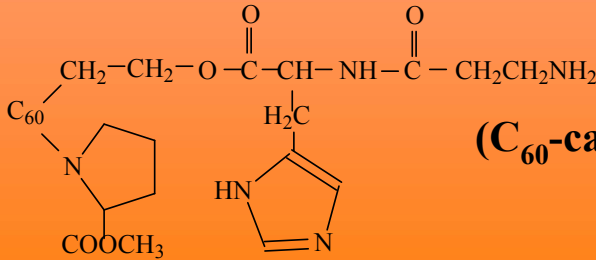
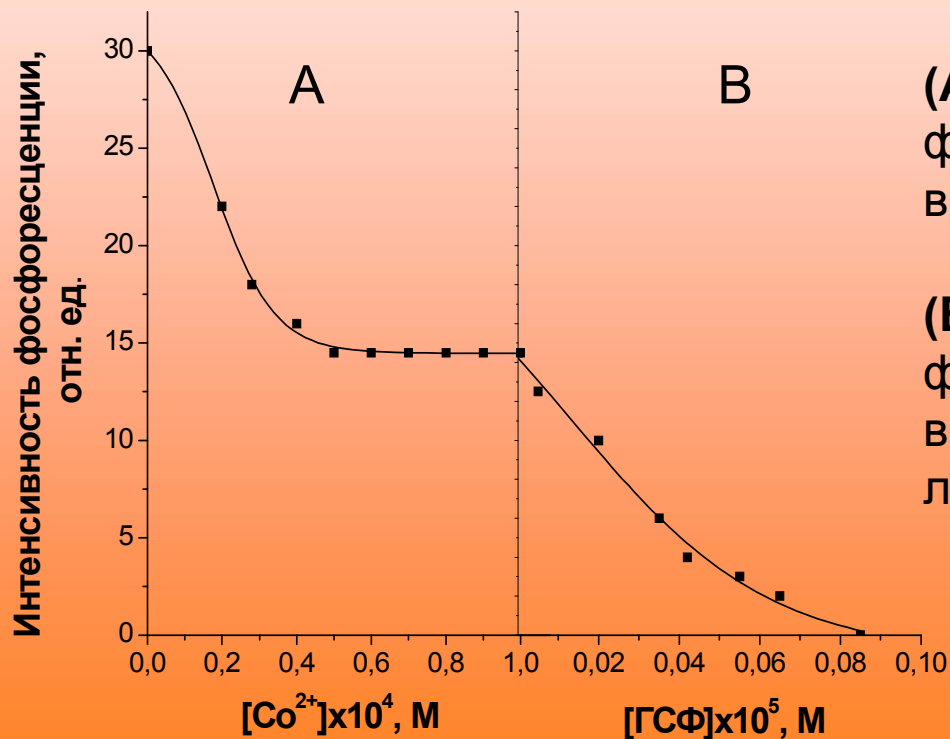
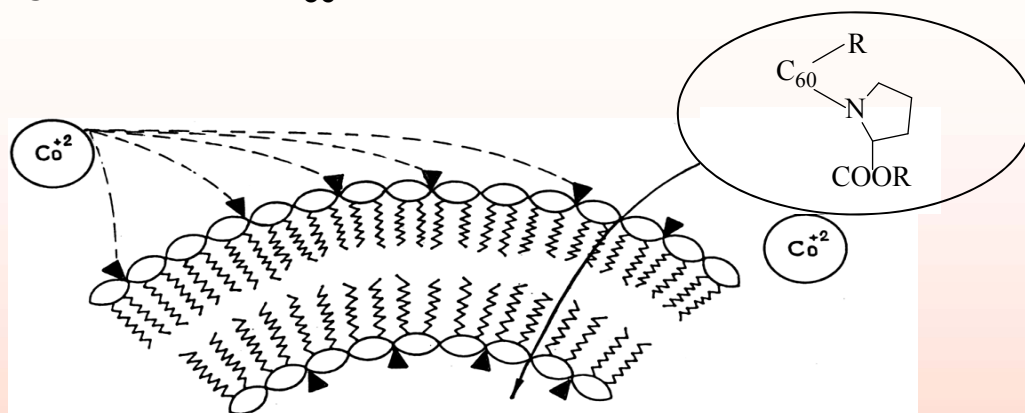
№	ГСФ	K ₀ x 10 ⁹ , M ⁻¹ c ⁻¹	K _q x 10 ⁹ , M ⁻¹ c ⁻¹
1	 <p align="center">(C₆₀-OH Pro)</p>	0,74±0,02	0,25±0,04
2	 <p align="center">(C₆₀-NO₂ Pro)</p>	0,44±0,08	0,17±0,01
3	 <p align="center">(C₆₀-(NO₂)₂ Pro)</p>	0,49±0,01	0,28±0,02
4	 <p align="center">(C₆₀-carnosine Pro)</p>	0,34±0,03	0,20±0,10

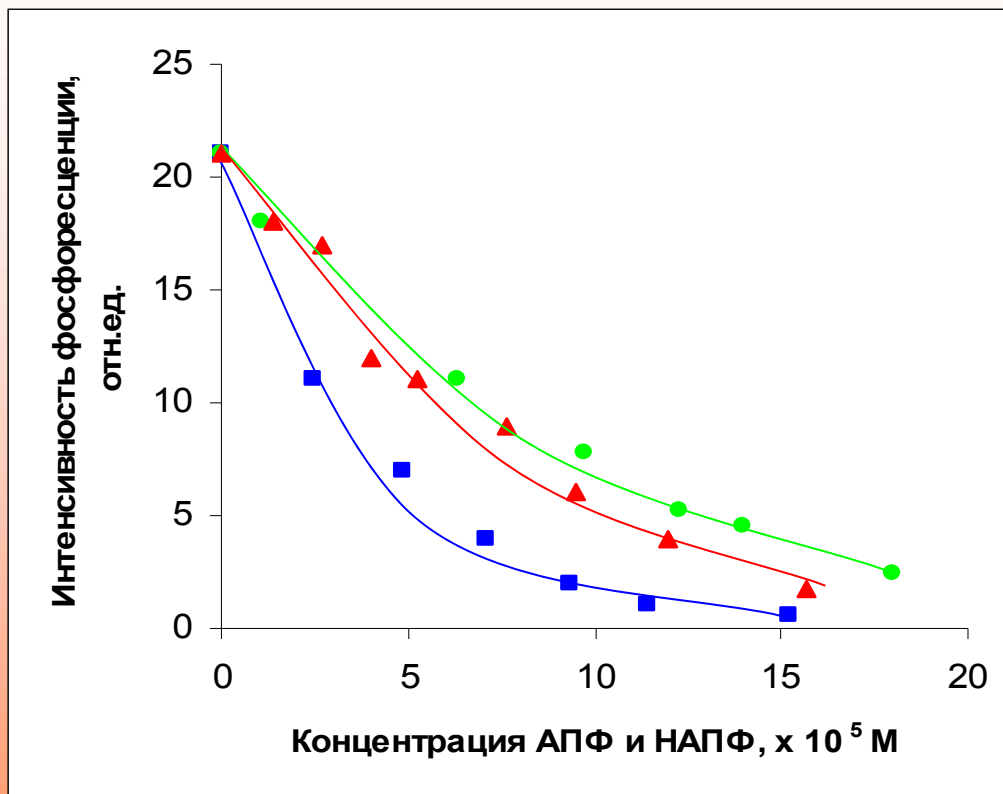
Схема трансмембранного переноса гибридных соединений на основе фуллерена C_{60} и ионов Co^{2+} через липидный бислой липосом



(A) – изменение интенсивности флуоресценции эритрозина на внешней поверхности липосом;

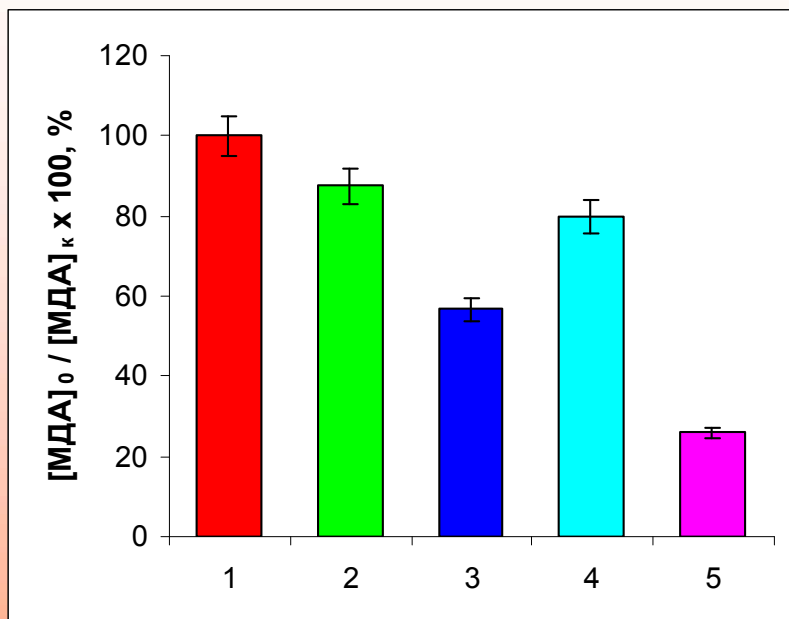
(B) – изменение интенсивности флуоресценции эритрозина на внутренней поверхности липосом.

Изменение интенсивности флуоресценции эритрозина в суспензии фосфатидилхолиновых липосом при действии ГСФ



- - C₆₀-OH-Pro
- - C₆₀-NO₂-Pro
- ▲ - C₆₀-(NO₂)₂-Pro

Влияние ГСФ на интенсивность пероксидного окисления липидов биологических мембран гепатоцитов



1	Контроль
2	C ₆₀ -OH-Pro
3	C ₆₀ -NO ₂ Pro
4	C ₆₀ -(NO ₂) ₂ Pro
5	C ₆₀ -carnosine Pro

[MDA]_к – концентрация МДА в контрольном образце;

[MDA]_o – концентрация МДА в опытном образце.

Концентрация ГСФ – 10⁻⁴М

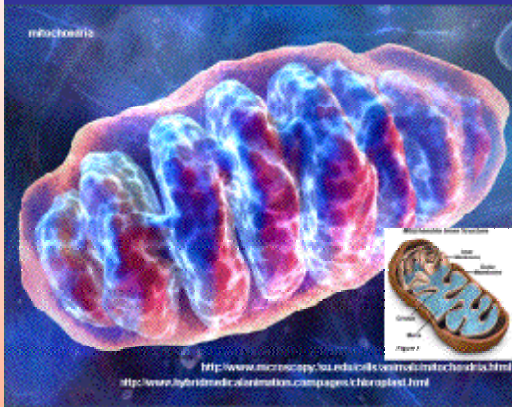
**p<0,05 по отношению к контролю*

ГСФ являются эффективными ингибиторами пероксидного окисления липидов - антиоксидантами

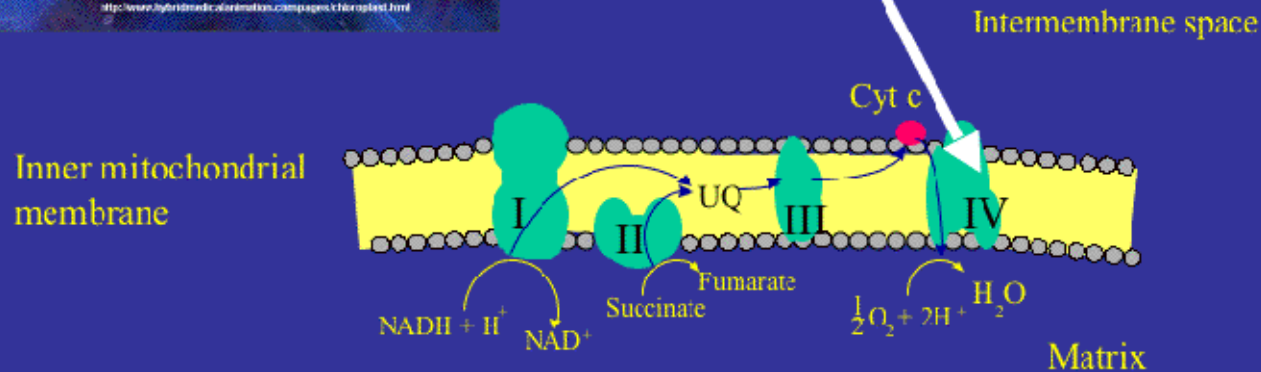
Взаимодействие оксида азота с митохондриальной цитохром с-оксидазой

(M.A. Sharpe, C.E. Cooper. Reactions of nitric oxide with mitochondrial cytochrome . // Biochem (1998), 332, 9-19.)

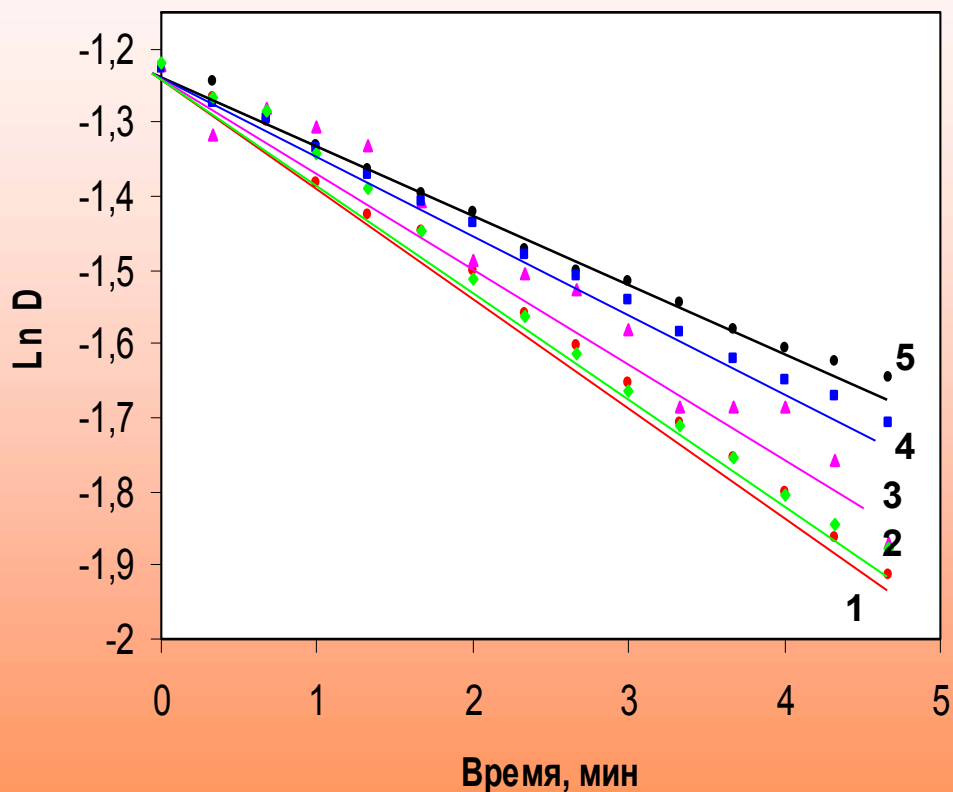
MITOCHONDRIAL ELECTRON TRANSFER CHAIN



Nitric Oxide



Изменение каталитической активности митохондриальной цитохром с-оксидазы при действии ГСФ



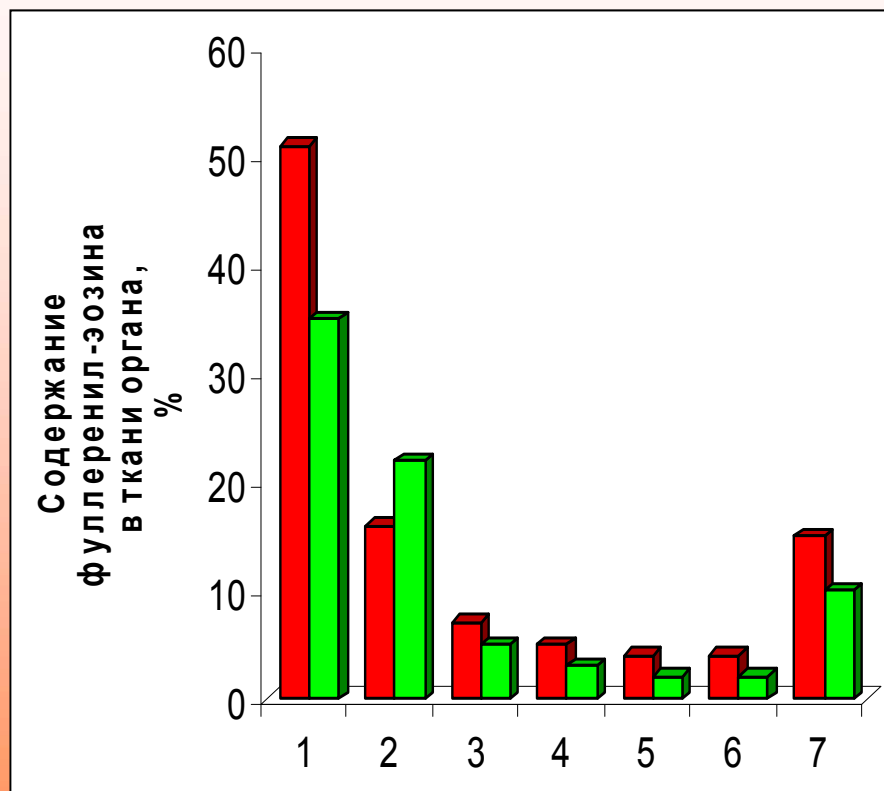
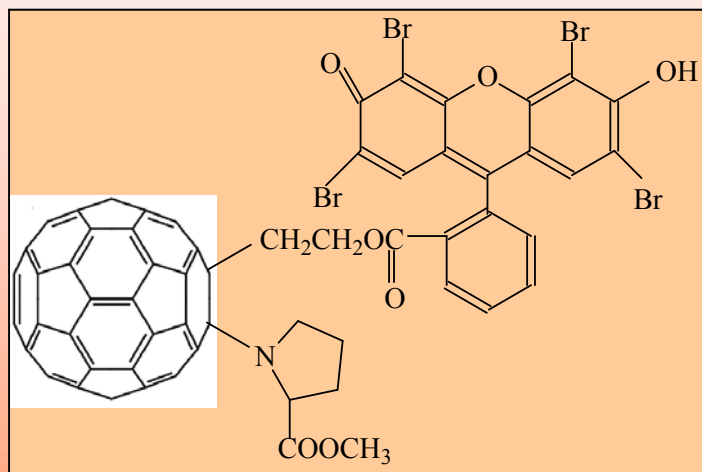
№	Соединение	$k \times 10^{-2}, \text{мин}^{-1}$
1	Контроль	$14,88 \pm 0,20$
2	C_{60} -OH Pro	$14,75 \pm 0,15$
3	C_{60} -NO ₂ Pro	$12,33 \pm 0,11$
4	C_{60} -(NO ₂) ₂ Pro	$10,53 \pm 0,16$
5	Никорандил	$9,52 \pm 0,43$

k – константа скорости ферментативного окисления цитохрома с

D – оптическая плотность, при $\lambda_{\text{погл.}} = 550 \text{ нм}$

Максимальный ингибирующий эффект наблюдается для C_{60} -(NO₂)₂-Pro

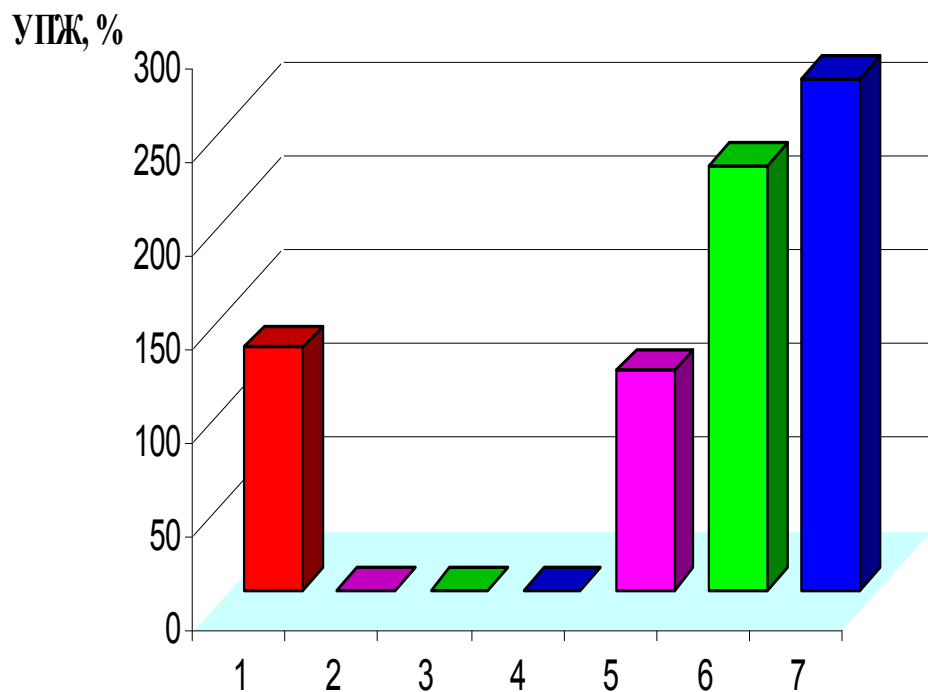
Распределение фуллеренил-эозина в организме животных с аденокарциномой молочной железы



1-печень; 2- почки; 3-легкие; 4-сердце; 5-селезенка; 6-кровь; 7-опухоль

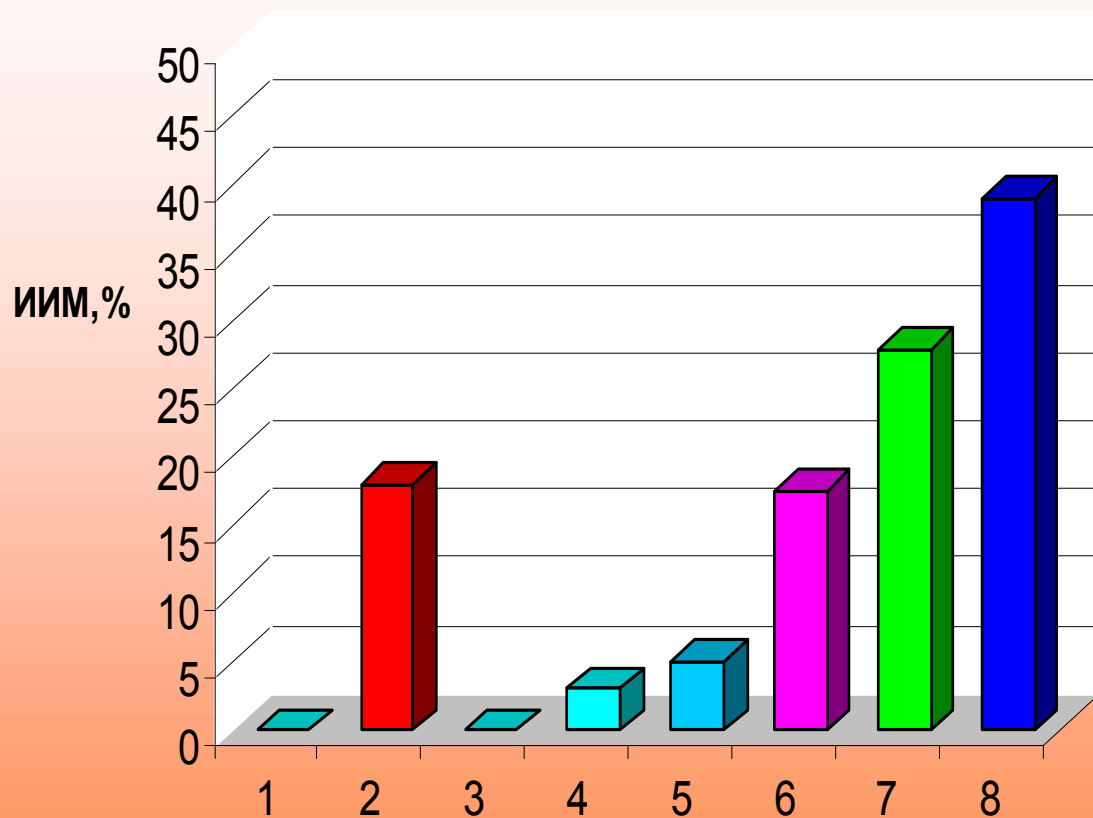
- - 1 час после введения фуллеренил-эозина;
- - 3 часа после введения фуллеренил-эозина.

Усиление антилейкемического эффекта циклофосфамида при комбинированной терапии с ГСФ (лейкемия Р-388)



№	препарат	Разовая доза, мг/кг	Излеченные животные %
1	ЦФ	30	0
2	C₆₀-OHPro	90	0
3	C₆₀-NO₂Pro	50	0
4	C₆₀-(NO₂)₂Pro	133	0
5	ЦФ+ C₆₀-OHPro	30+83	25
6	ЦФ+ C₆₀-NO₂Pro	30 +50	65
7	ЦФ+ C₆₀-(NO₂)₂Pro	30+133	80

Усиление антиметастатического эффекта адриамицина при комбинированной терапии с гибридными соединениями на основе фуллерена C_{60} (карцинома легких Льюис).



- 1-Контроль;
- 2- Адриамицин (АДР);
- 3- C_{60} -OHPro;
- 4- C_{60} -NO₂Pro;
- 5- C_{60} -(NO₂)₂Pro;
- 6- АДР+ C_{60} -OHPro;
- 7- АДР+ C_{60} -NO₂Pro;
- 8- АДР+ C_{60} -(NO₂)₂Pro.

По оси ординат – индекс ингибирования метастазирования

Выводы

- Определены константы скорости тушения фосфоресценции эритрозина в водных растворах и в составе фосфатидилхолиновых липосом. Показана способность ГСФ транспортироваться через липидный бислой фосфатидилхолиновых липосом.
- Обнаружено, что ГСФ являются антиоксидантами.
- Впервые показано, что нитраты на основе аминокислотных производных фуллерена C_{60} являются ингибиторами митохондриальной цитохром с-оксидазы, что указывает на их возможность выступать в качестве доноров монооксида азота.
- Впервые установлена выраженная тропность ГСФ к опухолевым тканям.
- Показана, способность ГСФ повышать противоопухолевую и антиметастатическую эффективность цитостатиков при комбинированной химиотерапии.

Полученные в работе данные, свидетельствуют о возможности применения гибридных соединений на основе фуллерена C₆₀ в качестве хемосенсибилизаторов, повышающих противоопухолевую эффективность цитостатиков.

Результаты работы вносят существенный вклад в решение фундаментальных проблем нанотехнологии биологически активных веществ и их применения в экспериментальной химиотерапии.

Спасибо за внимание