

На правах рукописи

КОРНЕВ Алексей Борисович

,

-

02.00.03 – органическая химия

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Черноголовка – 2013

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте проблем химической физики Российской академии наук (ИПХФ РАН)

Научный руководитель

кандидат химических наук

Официальные оппоненты:

доктор химических наук, профессор,
Московский государственный университет
имени М. В. Ломоносова, Химический факультет,
профессор кафедры органической химии

доктор химических наук, профессор,
Ивановский государственный университет,
декан биолого-химического факультета,
заведующий кафедрой органической
и физической химии

Ведущая организация

Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Институт органической химии
имени Н. Д. Зелинского Российской академии наук

Защита состоится «8» октября 2013 г. в 15 часов 30 минут на заседании диссертационного совета Д 002.102.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологически активных веществ Российской академии наук (ИФАВ РАН) по адресу: 142432, Московская область, г. Черноголовка, Северный проезд, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИФАВ РАН.
Автореферат размещен на сайте ИФАВ РАН: www.ipas.ac.ru.

Автореферат разослан «___» сентября 2013 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 002.102.01



к. х. н. С. В. Афанасьева

. В настоящее время биологические свойства фуллеренов и их функциональных производных активно изучаются с целью создания на их основе новых лекарственных средств и биоматериалов. Среди производных фуллеренов найдены соединения, обладающие различными видами противомикробной, противораковой, антиоксидантной и иммуномодулирующей активности; при этом они отличаются также оптимальными мембранотропными и фармакокинетическими свойствами, характерными для наноразмерных частиц.

Вероятность создания клинических лекарственных препаратов или диагностических средств на основе производных фуллеренов представляется высокой, что делает исследования по данной тематике актуальными и востребованными в настоящее время с научной и практической точек зрения. Исследования в рамках данной работы были поддержаны Российским фондом фундаментальных исследований (грант 12-03-31719 мол_а), Федеральной целевой программой «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2013 годы» (государственные контракты № 02.513.12.3103 и № 16.512.11.2231), грантами Президента РФ (грант МК-4916.2011.3).

. Получение индивидуальных биологически активных производных фуллеренов является трудной задачей из-за необходимости проводить регио- и хемоселективную функционализацию чувствительных фуллереновых субстратов, добиваясь при этом получения соединений со специфическими свойствами (растворимость в воде, нетоксичность, химическая и биологическая стабильность и т. д.). Обычно для получения функциональных производных фуллеренов используют реакции циклоприсоединения, которые позволяют получать разнообразные моноаддукты фуллеренов, в том числе с полезными свойствами [A. Hirsch, M. Brettreich. Fullerenes: Chemistry and Reactions. John Wiley & Sons, 2006]. При получении таким путем водорастворимых производных требуется либо использование весьма сложных солюбилизирующих аддендов [M. Brettreich et al. Tetrahedron Letters. 1998. V. 39. P. 2731], либо многократное присоединение более простых аддендов с образованием смеси изомерных полиаддуктов [I. Lamparth et al. Chem. Commun. 1994. P. 1727], что существенно сужает возможности метода.

Из-за ограниченного потенциала реакции циклоприсоединения для синтеза биоак-

тивных производных фуллеренов с указанной целью применялись другие методы, например, радикальное присоединение медьорганических соединений [Isobe, H. et al. *Org. Lett.* 2003. V. 5. P. 4461] или аминов [Isobe, H. et al. *Org. Lett.* 2000. V. 2. P. 3663]. Синтезируемые таким путем продукты пока не нашли широкого применения в исследованиях биологической активности, вероятно, из-за узкого круга получаемых соединений и трудностей работы с используемыми реагентами. Перспективным является также применение галогенфуллеренов в качестве прекурсоров для синтеза поликарбокисильных производных [Troshina, O. A. et al. *Org. Biomol. Chem.* 2007. V. 5. P. 2783] и аминопроизводных фуллеренов [Troshina, O. A. et al. *Tetrahedron.* 2006. V. 62. P. 10147].

Параллельно и независимо с исследованиями, проводившимися в рамках данной диссертационной работы, в той же лаборатории были найдены новые методы синтеза водорастворимых производных [60]фуллерена, основанные на реакциях хлорфуллерена $C_{60}Cl_6$ с тиолами [Khakina, E. A. et al. *Chem. Commun.* 2012. V. 48. P. 7158] и алкилфосфитами [Yurkova, A. A. et al. *Chem. Commun.* 2012. V. 48. P. 8916].

В целом к настоящему времени синтезировано лишь несколько десятков водорастворимых соединений фуллеренов с индивидуальной структурой, еще меньшее их количество исследовано на предмет биологической активности и показало полезные свойства. Практически не изучены биологические свойства производных фуллерена C_{70} и высших фуллеренов; данные по зависимостям «структура-активность» для производных фуллеренов носят отрывочный и иногда противоречивый характер. Поэтому для дальнейшего развития области биомедицинских исследований фуллеренов необходимо разработать новые эффективные подходы к синтезу их водорастворимых производных, получить серии родственных соединений и систематически изучить их физико-химические свойства и различные виды биологической активности.

. Основной целью данной работы было изучение возможности создания лекарственных препаратов на основе производных фуллеренов. Для этого в работе решались следующие основные задачи.

1. Разработка удобных подходов для синтеза водорастворимых производных фуллеренов C_{60} и C_{70} , а также конъюгатов таких производных с биологически активными малыми молекулами.
2. Получение большой серии различных водорастворимых производных фуллере-

нов, подтверждение их состава, строения и чистоты с помощью комплекса физико-химических методов и наработка образцов соединений с целью последующего исследования их свойств.

3. Изучение состояния полученных соединений в водных растворах. Систематическое исследование токсичности и противовирусной активности полученных производных фуллеренов и конъюгатов на их основе. Изучение зависимости свойств соединений от их структуры и выявление наиболее перспективных для медицинского применения веществ.

. Впервые синтезированы индивидуальные производные фуллерена C_{70} , обладающие высокой растворимостью в воде – более 150-200 мг/мл. Получен новый тип пентааминопроизводных [60]фуллерена $C_{60}(NR_2)_5X$ ($X=Cl, H$) по селективной реакции хлорфуллерена $C_{60}Cl_6$ с первичными и вторичными алифатическими аминами. Получено и охарактеризовано 61 новое производное фуллерена, в том числе 32 водорастворимых соединения. Синтезированные соединения были использованы в исследованиях цитотоксичности и острой токсичности, противовирусной активности на различных ДНК- и РНК-содержащих вирусах (18 различных вирусов и вирусных штаммов). Среди производных C_{70} найдены соединения, обладающие анти-ВИЧ активностью в наномолярном диапазоне концентраций, а также соединения, сопоставимые по противогриппозной активности с клиническими противовирусными препаратами, такими как осельтамивир (тамифлю®). Показано, что конъюгация водорастворимых производных фуллерена с биологически активными малыми молекулами может быть удобным методом модификации их свойств с целью повышения противовирусной активности и снижения токсичности.

. Результаты, полученные в данной работе, подтверждают перспективность применения производных фуллеренов в качестве противовирусных лекарственных препаратов. Такие виды биологической активности, как ингибирование гликопротеина gp120 вируса ВИЧ-1 и противогриппозная активность, впервые обнаружены для производных фуллеренов, что представляет собственный теоретический интерес.

Методы синтеза, основанные на реакциях хлорфуллерена $C_{60}Cl_6$ с аминами и арилирования хлорфуллеренов $C_{70}Cl_8$ и $C_{70}Cl_{10}$, позволяют получать индивидуальные водорастворимые производные фуллеренов в макроколичествах, что является необхо-

димым условием для проведения систематического исследования их биологической активности и возможного практического применения. Поликарбокисильные арилированные производные фуллеренов C_{60} и C_{70} обладают противовирусной активностью в отношении ряда вирусов, таких как ВИЧ-1, ВИЧ-2, вирус простого герпеса, цитомегаловирус, вирусы гриппа А (H1N1 и H3N2) и Б, вирус кошачьего инфекционного перитонита, вирус кошачьего герпеса, вирус вакцинии, респираторный синтициальный вирус человека, парагрипп типа 3, вирус Синдбис, вирус Пунта Торо, и могут послужить основой для создания нового класса фуллеренсодержащих препаратов противовирусного действия. Достигнутые показатели активности, характеризующие терапевтической дозой (ID_{50}) и химиотерапевтическим индексом (ХТИ), свидетельствуют о том, что эта задача может быть решена уже в ближайшем будущем.

Способность легкодоступных полифункциональных производных фуллеренов образовывать в водном растворе стабильные наноагрегаты может послужить основой для разработки лекарственных форм клинических фармацевтических препаратов в виде фуллеренсодержащих наночастиц.

. При выполнении данной диссертационной работы была принята следующая методология исследований.

Вначале проводился химический синтез производных фуллерена с потенциальной биологической активностью. При этом использовались известные методы синтеза водорастворимых производных фуллеренов [Troshina, O. A. et al. *Org. Biomol. Chem.* 2007. V. 5. P. 2783], а также новые подходы, основанные на использовании для получения водорастворимых производных хлорфуллеренов $C_{70}Cl_8$ и $C_{70}Cl_{10}$ в качестве прекурсоров и на селективной реакции хлорфуллерена $C_{60}Cl_6$ с аминами.

Состав и строение полученных веществ подтверждались с помощью методов одномерной и двумерной спектроскопии ЯМР, масс-спектрометрии, ИК-спектроскопии, элементного анализа и хроматографии ВЭЖХ; изучение состояния соединений в водном растворе проводилось посредством методов оптической спектроскопии в УФ-видимом диапазоне и динамического рассеяния света.

Биологическая активность полученных производных фуллеренов изучалась в сотрудничестве с коллегами из профильных исследовательских подразделений ИПХФ РАН и других учреждений в России и за рубежом. В ходе испытаний сначала определялось токсическое действие соединений на выбранной экспериментальной модели, а

затем изучался соответствующий вид биологической активности.

Исследование активности большого числа соединений на ряде биологических моделей позволило получить совокупность сопоставимых данных. Их анализ в итоге привел к выявлению отдельных закономерностей, связывающих структуру соединений с проявляемым ими биологическим действием.

1. Разработан новый метод синтеза водорастворимых производных фуллерена C_{70} , основанный на использовании хлорфуллеренов $C_{70}Cl_8$ и $C_{70}Cl_{10}$ в качестве прекурсоров для получения арилированных производных с присоединенными остатками фенилкарбоновых кислот. По известным ранее и новым методам синтезировано 32 новых водорастворимых производных фуллеренов, в том числе первые хорошо растворимые в воде производные C_{70} , а также водорастворимые конъюгаты на основе поликарбоксильных производных фуллерена C_{60} . Строение всех новых соединений подтверждено комплексом современных физико-химических методов.
2. Впервые получен новый тип аминопроизводных [60]фуллерена состава $C_{60}(NR_2)_5X$ ($X=Cl, H$), образующихся по реакции хлорфуллерена $C_{60}Cl_6$ с первичными и вторичными алифатическими аминами в мягких условиях. В качестве реагентов при этом может быть использован широкий круг аминов, что делает эту реакцию удобным методом синтеза индивидуальных пентааминопроизводных фуллерена C_{60} , в том числе биологически активных.
3. Изучена агрегация синтезированных производных фуллеренов в водных растворах с использованием методов оптической спектроскопии и динамического рассеяния света. Установлено, что исследованные производные образуют в растворах наночастицы со средним размером около 100 нм и узким распределением по размерам.
4. Исследованы цитотоксичность и острая токсичность производных фуллеренов в опытах на клеточных культурах и лабораторных животных. Найдены закономерности, связывающие токсичность и молекулярное строение водорастворимых соединений фуллеренов. Арилированные поликарбоксильные производные фуллеренов C_{60} и C_{70} и конъюгаты с малыми молекулами на их основе отличаются весьма низкой токсичностью, что указывает на возможность их применения в

живом организме.

5. Исследована противовирусная активность водорастворимых соединений фуллеренов по отношению к широкому кругу вирусов. Поликарбоксильные производные фуллерена C_{60} и в особенности фуллерена C_{70} в экспериментах *in vitro* обладали высокой активностью против вируса иммунодефицита человека, сопоставимой с активностью лучших известных фуллереносодержащих соединений, что в сочетании с низкой токсичностью делает их потенциальными лекарствами для лечения СПИДа. Установлен новый для производных фуллеренов механизм анти-ВИЧ активности – связывание с поверхностным гликопротеином gp120 вируса ВИЧ, ответственным за проникновение вируса в клетки.
6. Обнаружена высокая активность арилированных поликарбоксильных производных фуллеренов и конъюгатов на их основе с карнозином и рубоксилом против возбудителей герпесвирусных инфекций – вируса простого герпеса и цитомегаловируса. Производные фуллерена C_{70} обладают активностью по отношению к нескольким штаммам вируса гриппа, сопоставимой с активностью таких клинических противогриппозных препаратов, как римантадин и осельтамивир. Шесть поликарбоксильных производных фуллеренов C_{60} и C_{70} активны одновременно в отношении 5-10 различных вирусов, что делает возможным разработку противовирусных препаратов комбинированного действия на основе производных фуллеренов.

. Непосредственный вклад автора заключается в участии в постановке задач исследования; в проведении анализа литературных данных; в планировании и проведении экспериментов по получению производных фуллеренов; в участии в исследовании физико-химических свойств соединений; в анализе, обсуждении и оформлении полученных результатов и в участии в подготовке публикаций и заявок на изобретения.

. Достоверность полученных в работе данных обеспечивается проведением исследований на современном уровне с привлечением комплекса физико-химических и биологических методов.

Отдельные результаты работы представлялись на конкурсе научных работ им. С. М. Батурина (г. Черноголовка, 2011 г.) и на семи научных конференциях: Третьем международном симпозиуме «Molecular Photonics» (С.-Петербург, 2012 г.), V

Троицкой конференции «Медицинская физика и инновации в медицине» (Троицк, 2012 г.), Всероссийской конференции «Фотоника органических и гибридных наноструктур» (Черноголовка, 2011 г.), Всероссийской молодежной конференции «Успехи химической физики» (Черноголовка, 2011 г.), Седьмой национальной научно-практической конференции с международным участием «Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека» (Смоленск, 2011 г.), юбилейной научной конференции «Химическая физика вчера, сегодня, завтра» (Москва, 2011 г.), Всероссийской молодежной научной конференции «Проблемы фундаментальных и прикладных, естественных и технических наук в современном информационном обществе» (Долгопрудный, 2011 г.).

. По материалам работы подготовлено 7 публикаций в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень Высшей аттестационной комиссии Министерства образования и науки РФ, одна обзорная глава в коллективной монографии, 14 тезисов докладов. Получено 2 патента на изобретения и еще 4 заявки на изобретения находятся на экспертизе в Федеральном институте промышленной собственности.

. Диссертация изложена на 186 страницах, включает введение, литературный обзор, раздел обсуждения результатов, экспериментальную часть, выводы и список использованной литературы (273 библиографические записи). Текст проиллюстрирован 47 рисунками, 22 таблицами и 26 схемами.

. Автор выражает благодарность д. х. н. А. С. Перегудову и к. х. н. А. В. Черняку за регистрацию спектров ЯМР, к. х. н. В. М. Мартыненко за регистрацию масс-спектров, к. х. н. А. Г. Буяновской и к. х. н. Г. В. Гусевой за проведение элементного анализа, студентам Г. О. Карпову и А. Н. Козыреву за помощь в проведении химических синтезов. Опыты по динамическому рассеянию света проведены к. ф.-м. н. А. В. Иванчихиной. Исследования противовирусной активности в отношении вирусов простого герпеса, цитомегаловируса и часть исследований цитотоксичности проведены д. б. н. А. А. Куш и сотрудниками ее лаборатории к. б. н. Н. Е. Федоровой, к. б. н. Р. Р. Климовой, Ю. А. Тюленевым и Е. В. Чичевым, исследования активности против других вирусов и большая часть исследований цитотоксичности выполнены в лаб. проф. Я. Бальзарини. Исследования острой токсичности проведены д. б. н. Н. П. Коноваловой и Т. Е. Сашенковой, а также д. х. н. К. В. Балакиным и

д. м. н. А. С. Кинзирским. Автор благодарен всем партнерам по биологическим исследованиям – без их участия работа была бы невозможна. Автор благодарен д. х. н. Р. Н. Любовской, д. ф.-м. н. В. Ф. Разумову, сотрудникам отделов аспирантуры ИПХФ РАН и ИФАВ РАН, а также всем коллегам по группе полифункциональных материалов и органической электроники ИПХФ РАН за помощь в работе. Автор выражает благодарность своему научному руководителю.

обоснована актуальность темы исследования и дана оценка степени ее разработанности; сформулированы цели и задачи работы; описана ее теоретическая и практическая значимость, а также методология и методы исследований; представлены положения, выносимые на защиту; дана оценка научной новизны полученных результатов и личного вклада автора; приведены сведения об апробации работы, приведен список публикаций по теме работы.

В разделе дано краткое описание методов химической функционализации фуллеренов, имеющих наибольшее значение для синтеза их биологически активных производных, а также приведена детальная информация о различных классах водорастворимых и биологически активных производных фуллеренов. Подробно проанализированы опубликованные данные по токсикологии и различным видам биологической активности производных фуллеренов. Обзор охватывает работы, опубликованные до июля 2013 г.

Отдельно изложены

Раздел состоит из 8 подразделов, описывающих результаты работ по синтезу и исследованию водорастворимых производных фуллеренов.

1.

60

-

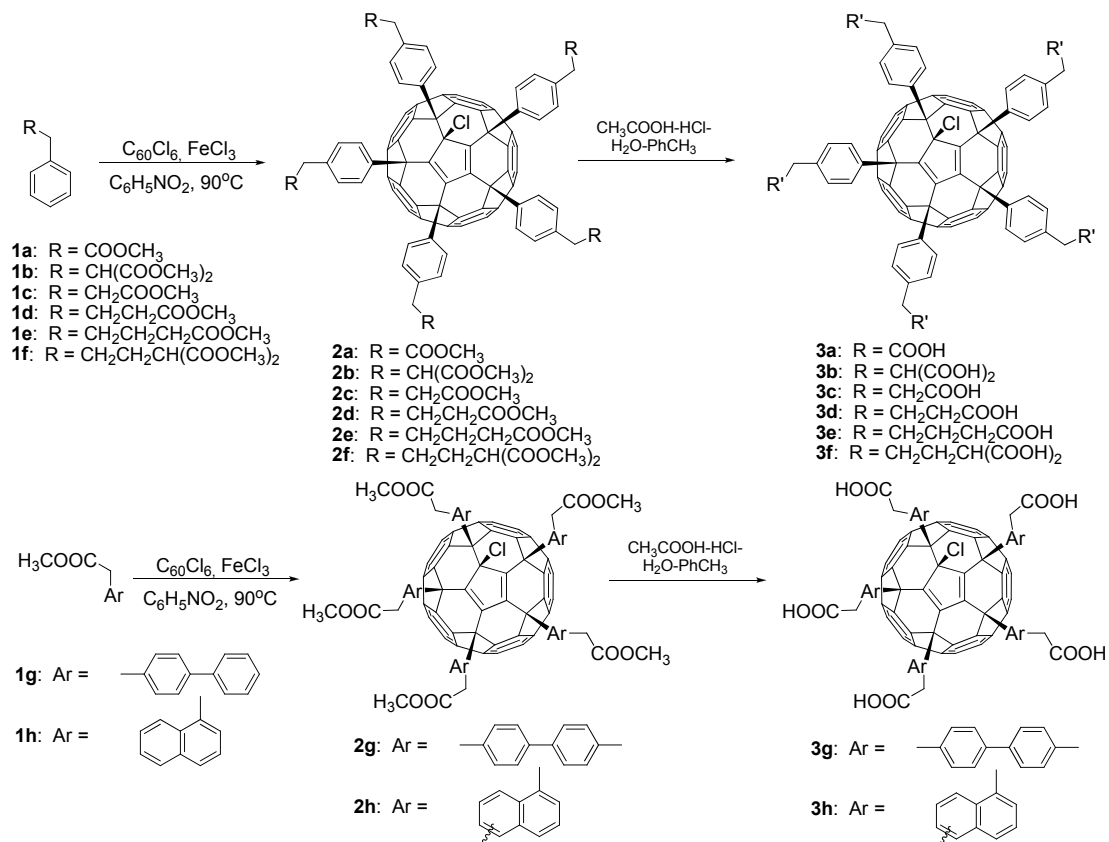


Ранее был предложен метод синтеза биологически активных поликарбокисильных производных C_{60} , ключевыми стадиями которого являются арилирование C_{60}Cl_6 эфирами фенилуксусной и бензилмалоновой кислот и снятие защитных групп с помощью кислотного гидролиза [Troshina, O. A. et al. Org. Biomol. Chem. 2007. V. 5. P. 2783].

В настоящей работе известные ранее соединения **3 -b** получены в граммовых количествах с целью дальнейшего исследования их биологической активности, а также

расширен круг присоединяемых к каркасу C_{60} остатков ароматических кислот и получены ранее неизвестные водорастворимые соединения **3-h** (схема 1).

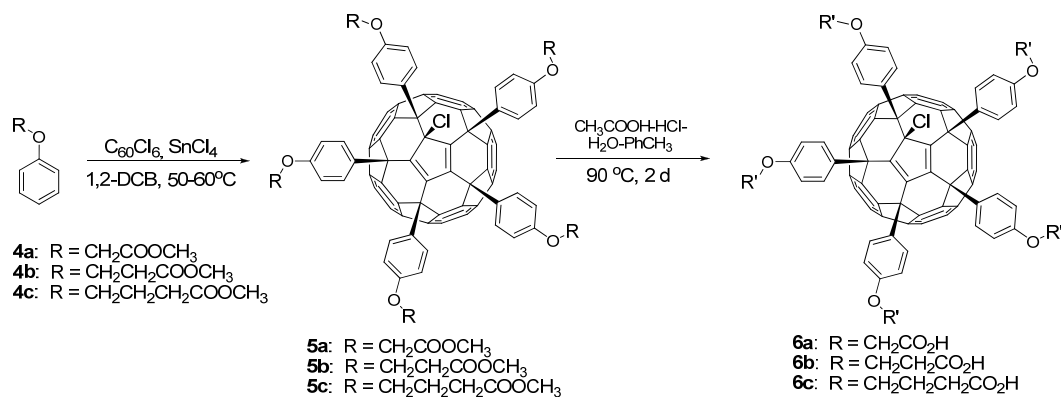
Схема 1



Строение и состав соединений **2c-h** и **3c-h**, а также других описанных в разделах 1-3 и 5 новых производных фуллеренов подтверждались комплексом физико-химических методов (см. раздел методология и методы исследования, стр. 4).

Аналогично соединениям **3a-b**, соединения **3c-h** давали хорошо растворимые в воде соли с катионами калия и натрия, что позволило использовать их в исследованиях биологической активности и агрегации в водном растворе (см. разделы 4, 6-8).

Схема 2

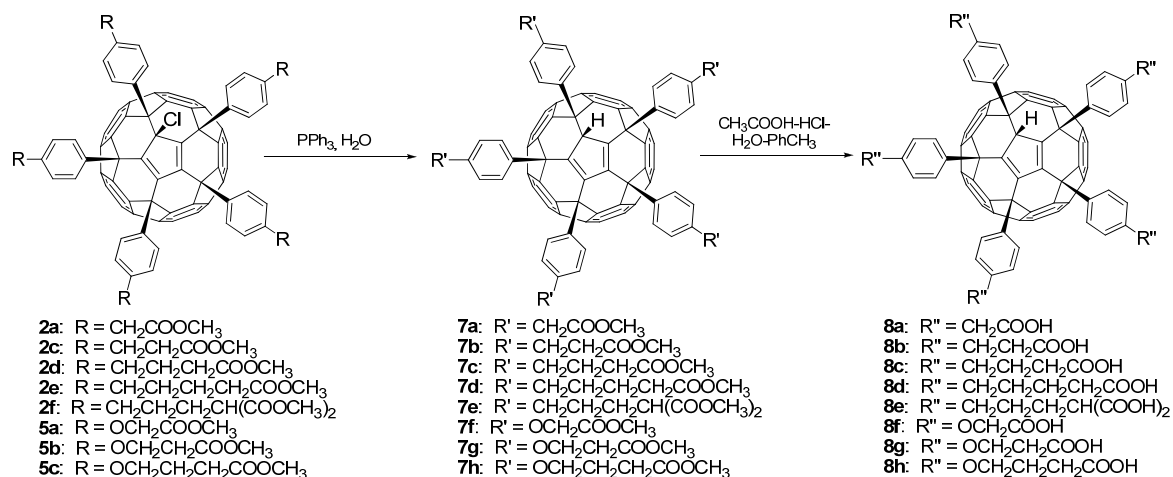


Использование в качестве реагентов в реакции арилирования более активных эфи-

ров феноксикарбоновых кислот **4a-** вместо эфиров арилкарбоновых кислот **1a-h** позволило отказаться от использования высокотоксичного нитробензола в качестве растворителя в пользу 1,2-дихлорбензола и заменить FeCl_3 на более удобные катализаторы – хлориды титана или олова (схема 2). После снятия сложноэфирных защитных групп были получены свободные кислоты **6a-c**.

Чтобы определить, насколько сильно влияет присутствие лабильного атома хлора в структуре производных **3-h** и **6a-c** на их биологическую активность, было предпринято получение серии гидридных водорастворимых производных **8a-h** (схема 3) с помощью восстановления трифенилфосфином в присутствии источника протонов [Avent, A. G. et al. J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1994. P. 1463].

Схема 3



Таким образом, с помощью метода арилирования хлорфуллерена C_{60}Cl_6 эфирами ароматических карбоновых кислот (с восстановлением в гидридные производные или без него) и последующим снятием защитных групп было получено 17 новых поликарбоксильных соединений фуллерена C_{60} . Хорошо растворимые в воде и полярных средах калиевые соли этих кислот были в последующем использованы для изучения агрегации в водном растворе, токсических свойств и биологической активности.

2.

70,

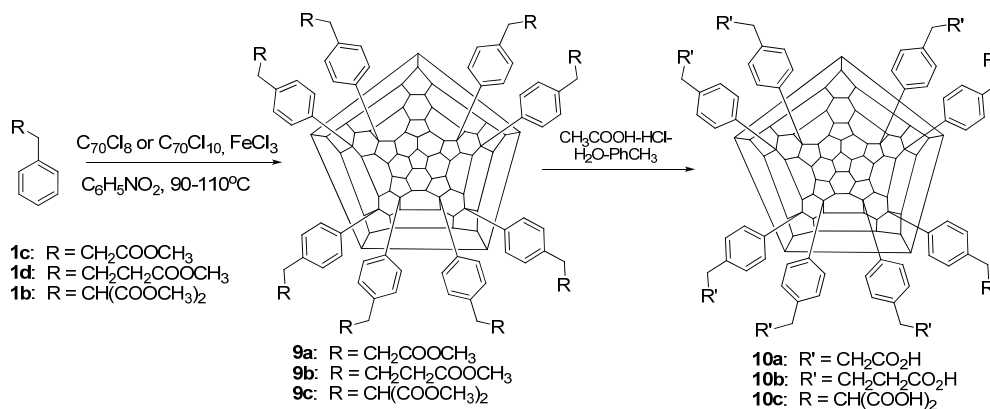
-

C_{70}Cl_8 $\text{C}_{70}\text{Cl}_{10}$

Поскольку реакция арилирования хлорфуллерена C_{60}Cl_6 обладает большим потенциалом как метод синтеза водорастворимых производных фуллерена C_{60} , было решено исследовать возможность получения с помощью реакции арилирования водорастворимых производных фуллерена C_{70} из его легкодоступных хлоридов C_{70}Cl_8 и $\text{C}_{70}\text{Cl}_{10}$.

Оба указанных хлорфуллерена в условиях реакции арилирования эфирами арил-карбоновых кислот дают идентичные продукты **9a-c** (выход 40-60 %), содержащие восемь присоединенных остатков ароматических кислот (схема 4), причем реакция с $C_{70}Cl_8$ протекает более гладко и дает меньшее количество побочных продуктов.

Схема 4



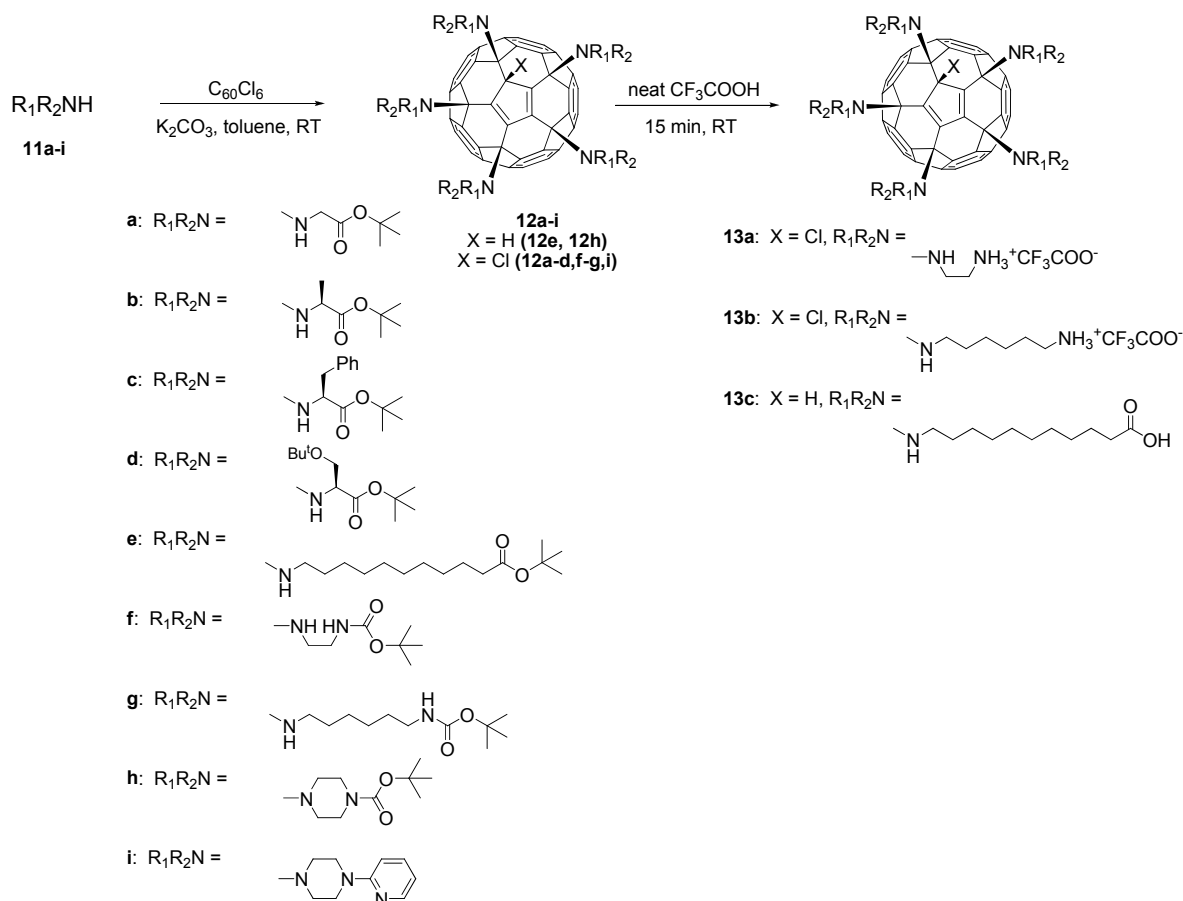
Калиевые или натриевые соли синтезированных свободных кислот **10a-c**, содержащие 8 или 16 солубилизирующих карбоксилатных групп, являются первыми описанными хорошо растворимыми в воде индивидуальными производными фуллерена C_{70} (растворимость более 150 мг/мл). Результаты изучения биологических свойств этих соединений приведены в разделах 6-8.

3.

C_{60}

Полученные нами арилированные поликарбоксильные производные фуллеренов отличаются высокой растворимостью в воде, стабильностью, низкой токсичностью и проявляют различную биологическую активность. Тем не менее, методы их получения остаются довольно сложными и трудоемкими. Поэтому было решено детально изучить реакцию хлорфуллерена $C_{60}Cl_6$ с мягкими нуклеофилами – первичными и вторичными алифатическими аминами – как метода получения водорастворимых производных фуллерена C_{60} . Описанное в литературе исследование реакции хлорфуллерена $C_{60}Cl_6$ с вторичными аминами указывает на образование соединений состава $C_{60}(NR_2)_2$ с невысокими выходами и смеси продуктов с 4-6 присоединенными остатками аминов [Troshina, O. A. et al. *Tetrahedron*. 2006. V. 62. P. 10147].

Было установлено, что в ходе реакции хлорфуллерена $C_{60}Cl_6$ с широким кругом алифатических аминов при комнатной температуре и в присутствии основания замещаются только пять наиболее подвижных атомов хлора исходной молекулы (схема 5).



Реакция протекает при комнатной температуре, не требует использования защитной атмосферы и дает высокие выходы продуктов (до 70 %), а в ряде случаев также позволяет обходиться без хроматографической очистки. Все это делает реакцию с аминами весьма удобным методом синтеза индивидуальных производных C_{60} .

В отдельных случаях наряду с замещением хлора происходит также восстановление производного фуллерена, по-видимому, под действием избытка реагента, с образованием гидридных производных **12** и **12h** (схема 5).

Таким способом был получен ряд аминопроизводных фуллерена **12a-i**. После снятия защитных групп были получены водорастворимые соединения **13 -c**. К сожалению, получить водорастворимые соединения из производных с остатками природных аминокислот (**12 -d**) и замещенных пиперазинов (**12h-i**) не удалось из-за неустойчивости исходных соединений в условиях снятия защитных групп.

4.

60 70

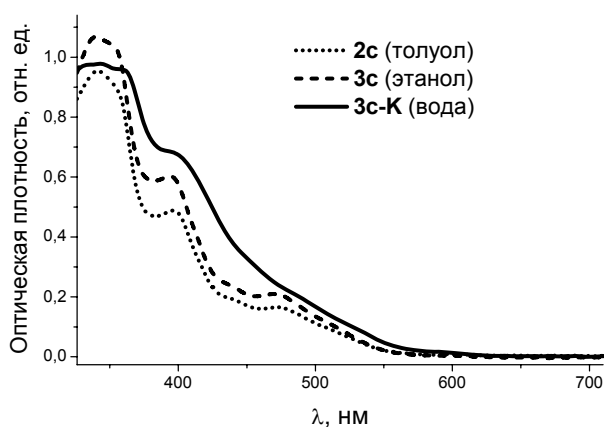
Способность водорастворимых производных фуллеренов к агрегации в водном растворе хорошо известна: даже наиболее растворимые соединения присутствуют в

растворах в виде агрегатов [Quaranta, A. et al. Phys. Chem. Chem. Phys. 2003. V. 5. P. 843]. Особенности агрегации соединений имеют важное значение для понимания их биологических свойств, поэтому было предпринято изучение агрегации синтезированных производных фуллеренов методами оптической спектроскопии и динамического рассеяния света.

На рис. 1 приведены оптические спектры поглощения для эфирного производного **2** в толуольном растворе, свободной пентакарбоновой кислоты **3** в этаноле и калиевой соли кислоты **3** (обозначено **3 - ¹**) в воде. Видно, что в последнем случае полосы поглощения сильно уширены, что свидетельствует о существенно большей агрегации производных фуллеренов именно в полярной водной среде. Аналогичное поведение характерно для аминокислотных производных C_{60} **12e**, **13** и **13 -** (рис. 2).

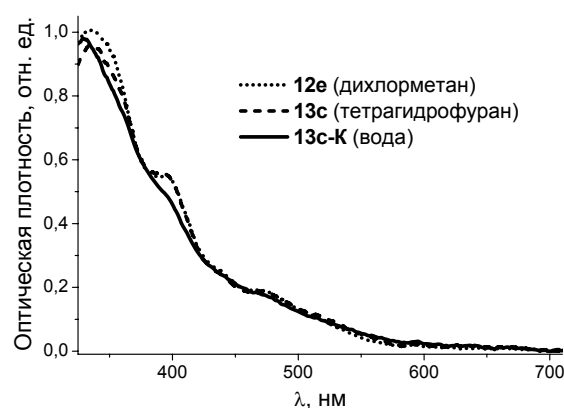
Агрегация соединений была изучена методом динамического рассеяния света (ДРС), позволяющим определять распределение по размеру присутствующих в растворах наночастиц. На рис. 3 показаны полученные распределения по размерам частиц в водных растворах четырех различных поликарбоксильных соединений.

Было установлено, что в растворах всех изученных соединений преобладают наноагрегаты с размером около 70-100 нм и узким распределением по размерам. В некоторых случаях (соединения **3a-K** и **8b-K**) в растворе зафиксировано присутствие небольшого количества мономерной формы соединений (размер приблизительно 2 нм).



. 1.

2 , 3 3 -

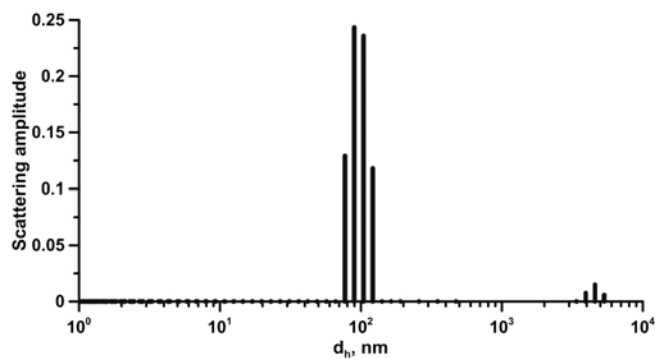
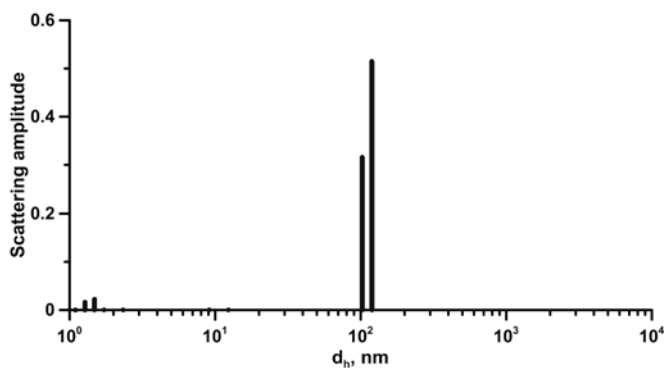
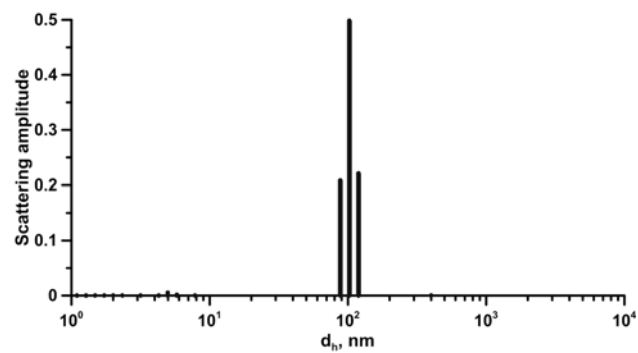
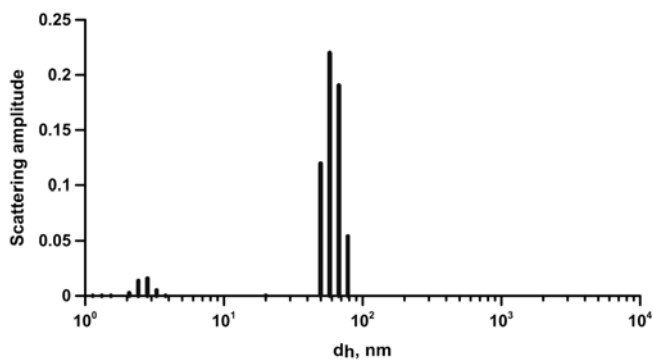


. 2.

12 , 13 13 -

Неожиданным является тот факт, что структурно отличные от пентаариллированных производных C_{60} производные фуллерена C_{70} , содержащие восемь присоединенных аддендов, обладают весьма похожим агрегационным поведением (рис 3, г).

¹ Здесь и далее соли поликарбоксильных производных фуллеренов обозначаются указанием катиона после названия соединения (например, **10a-K** – калиевая соль соединения **10**).



. 3.

3 -К (), 6a-К (), 8b-К () 10a-К ()

Для одного из соединений – производного **3d-К** – было показано, что размер агрегатов в водном растворе практически не зависит от температуры в диапазоне от 10 до 30 °С и от концентрации производного в пределах от 0,125 мг/мл до 4 мг/мл.

Можно предполагать, что агрегационные свойства производных фуллеренов будут иметь важное значение при их возможном использовании в медицине. Так, например, образуемые производными фуллеренов наночастицы имеют размер, близкий к оптимальному с точки зрения использования в качестве носителей лекарств. В то же время, присутствие в растворе небольшого количества мономерной формы соединений делает возможным проявление этими веществами тех видов биологической активности, для которых имеет значение трехмерная структура производного фуллерена (например, взаимодействие с конкретными биомолекулами-мишенями).

5.

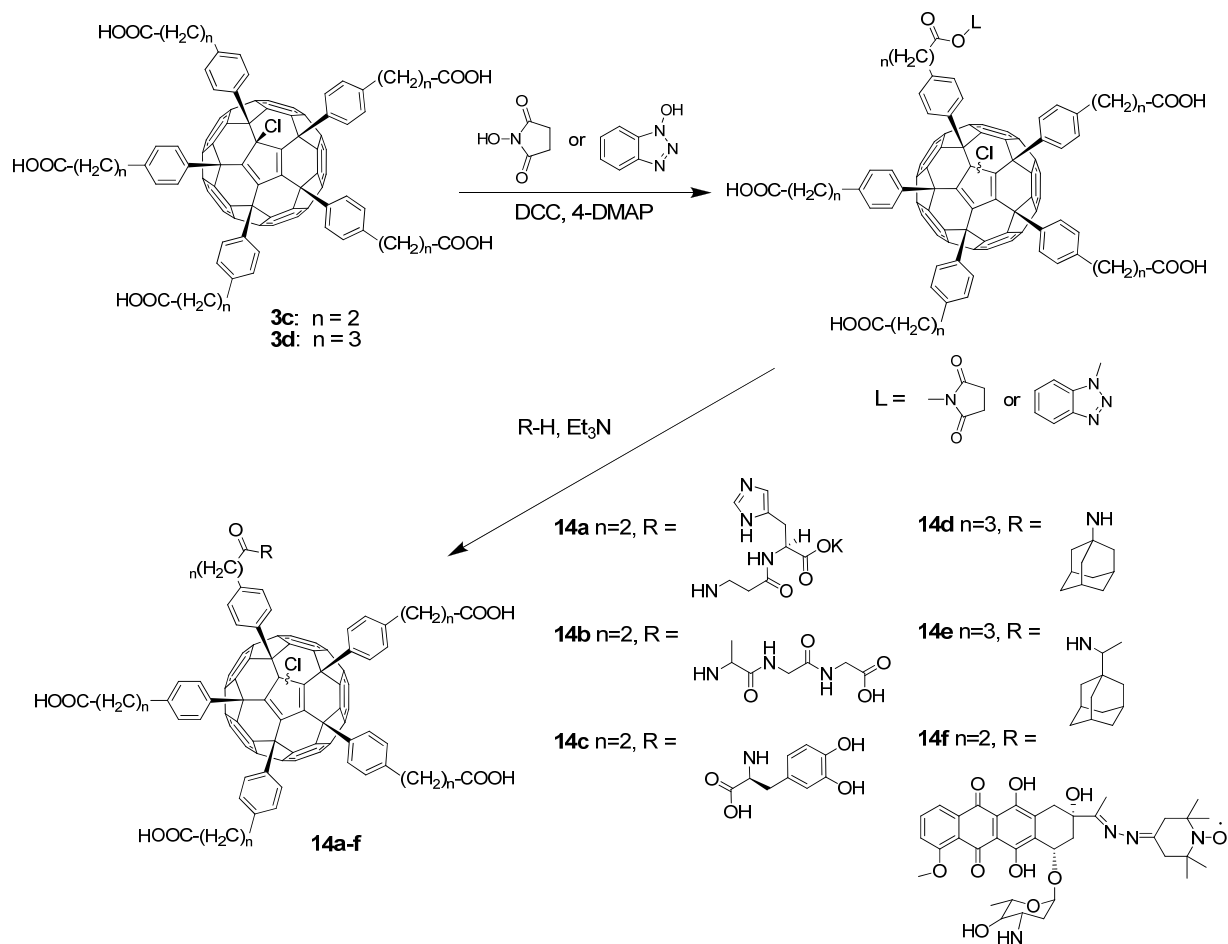
60

Отдельный интерес для возможного биомедицинского использования представляют конъюгаты биологически активных малых молекул с производными фуллеренов, потенциально сочетающие фармакокинетические свойства фуллеренов с терапевтическим действием присоединенных веществ.

В настоящей работе был синтезирован ряд конъюгатов поликарбоксильных произ-

водных фуллеренов с фрагментами биологически активных соединений, имеющих реакционноспособную аминогруппу. Для синтеза использовался классический карбодимидный способ создания амидной связи.

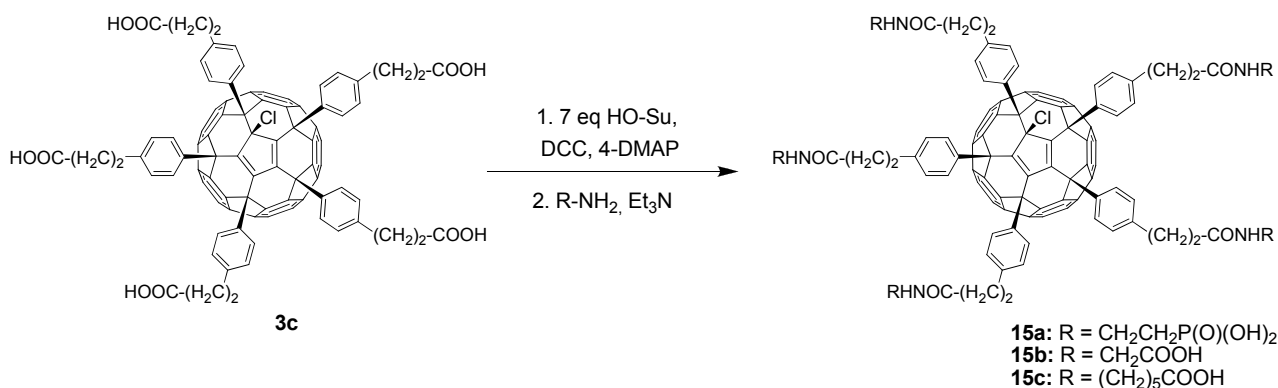
Схема 6



Таким образом были получены соединения, содержащие присоединенные к фуллереновому каркасу остатки пептидов карнозина и аланил-глицил-глицина, молекул лекарственных препаратов – леводопы, амантадина и римантадина, антрациклинового антибиотика рубоксила (схема 6).

При присоединении малых молекул, которые сами по себе содержат хотя бы одну солюбилизирующую группу, возможно использование для конъюгации всех пяти карбоксильных групп производного C_{60} , растворимость продуктов в воде при этом сохраняется (схема 7). Так были получены соединения, содержащие пять присоединенных остатков 2-аминоэтилфосфоновой кислоты, аминокислот глицина и 6-аминокапроновой кислоты.

Все полученные конъюгаты **14 -f** и **15a-c** были хорошо растворимы в воде в виде калиевых солей и использовались для исследования биологической активности.



6.

60 70

Первым этапом изучения биологической активности новых соединений является оценка их токсичности в опытах *in vitro* и *in vivo*.

Токсикологические параметры острой токсичности (максимальная переносимая доза МПД, среднесмертельная доза ЛД₅₀ и непереносимая доза ЛД₁₀₀) при внутрибрюшинном введении для девяти полученных соединений были определены в опытах на мышах-гибридах BDF₁ (исследования проводились в ИПХФ РАН под руководством д. б. н. Н. П. Коноваловой и в ИФАВ РАН под руководством д. м. н. А. С. Кинзирского). Полученные результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1. Острая токсичность водорастворимых производных фуллеренов

		, /	50, /	100, /
1	3a-K	200	300	400
2	3 -K	100	340	400
3	3d-K	400	580	700
4	6a-K	100	138	160
5	6c-K	600	840	900
6	8b-K	100	265	400
7	10a-K	100	560	800
8	13a	250	680	1000

Изученные водорастворимые производные фуллеренов относились к малотоксичным веществам (IV класс токсичности по токсикологической классификации), что позволяет рассчитывать на их безопасное применение *in vivo*. Соединения **3d-K** и **6c-K** наименее токсичны среди всех известных водорастворимых соединений C₆₀, обладающих индивидуальной структурой (менее токсичными являются полигидроксильированные производные, т. н. фуллеренолы [Bobylev, A. G. et al. Org. Biomol. Chem. 2011. V. 9. P. 5714]).

Результаты изучения цитотоксичности, проведенного для большинства получен-

ных в работе водорастворимых соединений (данные полностью приведены и проанализированы в тексте диссертации), хорошо коррелируют с результатами определения острой токсичности. Анализ полученных данных по цитотоксичности и острой токсичности позволил выявить ряд закономерностей, связывающих уровень токсичности соединений с их молекулярной структурой.

1. Токсичность арилированных производных C_{60} , содержащих остатки коротких феноксикарбоновых кислот (**6a-K** и **8f-K**), несколько выше, чем токсичность аналогичных производных, содержащих короткие остатки фенилкарбоновых кислот (**3c-K** и **8b-K**).
2. Токсичность арилированных производных C_{60} , содержащих остатки фенилкарбоновых и феноксикарбоновых кислот, существенно понижается при увеличении числа атомов углерода в алифатической цепи остатка кислоты (например, токсичность снижается в рядах **3 - - 3 - - 3d-K** и **6 - - 6b-K - 6 -K**).
3. Токсичность гидридных производных фуллерена C_{60} (**8a- - 8c-K, 8f- - 8h-K**) принципиально не отличается от токсичности соответствующих хлорсодержащих аналогов (**3a-K, 3c- , 3d-K, 6a- - 6c-K**).
4. Поликарбоксильное арилированное производное фуллерена C_{70} **10a-K** обладает низкой острой токсичностью (LD_{50} более 500 мг/кг), что, возможно, указывает на высокую биосовместимость каркаса C_{70} . Этот вывод подтверждают данные по цитотоксичности для соединений **10 -K - 10c-K**.

Конъюгаты производных фуллеренов с нетоксичными малыми молекулами также отличались низкой токсичностью. Высокую цитотоксичность на культуре раковых клеток HeLa показал только конъюгат **14f** с цитотоксическим антибиотиком рубоксидом, что объясняется природой присоединенной малой молекулы.

7. -

Ранее была известна выраженная анти-ВИЧ активность для поликарбоксильных производных **3a-b** в опытах *in vitro* на инфицированных Т-лимфоцитах человека СЕМ [Troshina, O. A. et al. Org. Biomol. Chem. 2007. V. 5. P. 2783]. Одной из главных задач данной работы был поиск фуллереновых противовирусных препаратов с более высокой активностью и изучение зависимости анти-ВИЧ активности соединений от их молекулярного строения. Результаты изучения анти-ВИЧ активности синтезирован-

ных производных на клетках СЕМ приведены в таблице 2 (данные получены в лаборатории проф. Я. Бальзарини, Институт медицинских исследований, г. Лёвен).

Таблица 2. Анти-ВИЧ активность водорастворимых производных фуллеренов

		/ ¹		= ^{50/} ^{50²}	
		-1	-2	-1	-2
1	3a-K	2,0±0,71 ³	7,0±1,4 ³	>52 ³	>14 ³
		7,2±1,5	9,4±3,7	–	–
2	3b-K	5,67±1,53 ³	17,7±8,7 ³	>17 ³	>6 ³
		7,6±2,0	7,9±0,49	–	–
3	3 -K	5,7±2,4	17±4,2	>18	>6
4	3d-K	5,8±0,64	28 ± 11	>17	>4
5	3g-K	50±11	28±11	–	–
6	3h-K	37±0,1	31±15	–	–
7	6a-K	6,0±0,92	16±5,7	15	6
8	6b-K	8,5±0,71	8,6±0,49	–	–
9	6c-K	7,4±1,2	35±4,2	>27	>6
10	8a-K	6,9±2,2	12±3,0	10	6
11	8b-K	7,3±1,6	9,0±1,1	12	10
12	8c-K	8,2±0,28	36±0,0	>24	>6
13	8f-K	8,0±0,0	13±2,1	10	6
14	8g-K	8,3±0,14	13±0,1	–	–
15	8h-K	6,6±1,3	38±5,7	>30	>5
16	10a-K	4,2±1,6	53±0,0	>24	>2
17	10b-K	8,2±0,64	42±4,9	> 24	>5
18	10c-K	1,5±0,49	8,6±0,49	> 67	> 12
19	13a	>4 ⁴	>4 ⁴	–	–
20	14 -K	6,5±0,57	10±0,99	–	–
21	14b-K	4,2±3,8	6,0±4,6	–	–
22	14c-K	8,6±0,42	10±1,5	–	–
23	14f-K	н/а	н/а	–	–
24	15a-K	12±3,5	10±2,2	–	–
25	15b-K	5,0±3,5	5,3±4,2	–	–
26	15c-K	3,8±3,5	7,8±1,6	–	–

1. ИД₅₀ – 50%-ная ингибирующая доза; концентрация производного в культуральной среде, на 50% ингибирующая вызванные вирусом цитопатологии.

2. ХТИ – химиотерапевтический индекс, определяется как отношение 50%-ной цитотоксической дозы соединения, при которой жизнеспособность клеток понижается на 50% по сравнению с контролем, к дозе ИД₅₀ для того же соединения.

3. Данные из работы [Troshina, O. A. et al. Org. Biomol. Chem. 2007. V. 5. P. 2783].

4. При более высокой концентрации соединения наблюдалось его осаждение из культуральной среды, что делало невозможным определение противовирусной активности.

Все фенилированные производные фуллеренов и конъюгаты на их основе обладают высокой активностью против ВИЧ-1, а также более или менее выраженной активностью против ВИЧ-2. Это не является удивительным, принимая во внимания известную активность соединений **3a-b**. Неожиданным, однако, является отсутствие выраженной зависимости активности фенилированных производных C₆₀ от их молекуляр-

ной структуры – ингибирующая концентрация ИД₅₀ составляет для всех соединений примерно 3,5 мкМ. Можно предположить поэтому, что фармакофорным фрагментом в таких соединениях является каркас фуллерена с присоединенными к нему пятью фенильными группами. Только у производных **3g-h**, содержащих объемные остатки бифенилуксусной или нафтилуксусной кислот, наблюдалось выраженное изменение (в сторону понижения) их анти-ВИЧ-1 активности.

Большой интерес представляет обнаружение у водорастворимых поликарбоксылных производных C₇₀ анти-ВИЧ активности, превосходящей активность производных C₆₀. Лучшее соединение **10** показало активность в наномолярном диапазоне концентраций (ИД₅₀ 500±160 нМ) при высокой величине ХТИ. Значения активности для этого соединения сопоставимы с лучшими показателями среди всех исследованных ранее производных фуллеренов (в работе [Shuster, D. et al. Proceedings of the Electrochemical Society of USA. 2000. P. 267] приводится значение ИД₅₀, равное 200 нМ, для дендримерного моноаддукта C₆₀, содержащего 18 карбоксылных групп). Можно предположить, что водорастворимые производные C₇₀ имеют особенно высокий потенциал использования в качестве антиретровирусных препаратов.

Методом поверхностного плазмонного резонанса¹ было показано, что производные **10a-b** обладают способностью связываться с иммобилизированным на поверхности биочипа белком gp120 из штамма вируса ВИЧ-1 Ш_В. Связывание с gp120 и ингибирование его активности является важным механизмом анти-ВИЧ активности некоторых антиретровирусных препаратов. Такая способность была впервые продемонстрирована для поликарбоксылных производных фуллеренов на примере соединений **10a-b**. Можно предполагать, что именно она обуславливает их анти-ВИЧ активность.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования производных фуллеренов в качестве лекарственных и/или профилактических препаратов для борьбы с ВИЧ-инфекцией.

8.

В сотрудничестве с НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского изучалась противовирусная активность производных фуллеренов в отношении вирусов простого герпеса (ВПГ) и цитомегаловируса (ЦМВ). Результаты определения активности *in vitro* по от-

¹ Исследования проведены Б. Хорелбеке в лаборатории проф. Я. Бальзарини (Бельгия).

ношению к указанным герпесвирусам приведены в таблице 3.

Таблица 3. Противогерпетическая активность производных фуллеренов

-		50, /		50, /	= 50/ 50
3a-K	Vero	485	ВПГ	7,4	65
	HELFL	50	ЦМВ	н/а*	н/а
3b-K	Vero	1045	ВПГ	12	87
	HELFL	475	ЦМВ	н/а	н/а
3c-K	Vero	1065	ВПГ	20	53
	HELFL	40	ЦМВ	н/а	н/а
3d-K	Vero	> 2000	ВПГ	2,9	> 690
	HELFL	1260	ЦМВ	8,4	150
3g-K	Vero	1760	ВПГ	0,98	1796
	HELFL	670	ЦМВ	н/а	н/а
3h-K	Vero	1630	ВПГ	5,9	276
	HELFL	486	ЦМВ	н/а	н/а
6a-K	Vero	1020	ВПГ	0,52	1960
	HELFL	45	ЦМВ	н/а	н/а
6b-K	Vero	1410	ВПГ	23	61
	HELFL	58	ЦМВ	3	19
6c-K	Vero	2000	ВПГ	18	111
	HELFL	1269	ЦМВ	10	127
8b-K	Vero	1100	ВПГ	14,8	74
	HELFL	41	ЦМВ	0,57	72
8g-K	Vero	1400	ВПГ	н/а	н/а
	HELFL	474	ЦМВ	17	28
10b-K	Vero	222	ВПГ	н/а	н/а
	HELFL	191	ЦМВ	н/а	н/а
14 -K	Vero	2320	ВПГ	0,58	4000
	HELFL	428	ЦМВ	32	13
14f-K	Vero	700	ВПГ	50	14
	HELFL	304	ЦМВ	7	43

* н/а – не активно.

Все изученные поликарбокисильные производные C₆₀ оказались активны по отношению хотя бы к одному из двух названных вирусов, и только производное C₇₀ – **10b-K** - оказалось полностью неактивным. Для большинства соединений значения ИД₅₀ лежат в микромолярном диапазоне, иногда опускаясь ниже 1 мкМ (соединения **3g**, **6**, **8b** и **14**). Тем не менее, благодаря весьма низкой цитотоксичности ХТИ часто превышает значение 100, а иногда и 1000. В настоящее время трудно сделать выводы о закономерностях структура-активность для этого типа биологической активности, однако обнаружение широкого круга активных соединений позволяет рассчитывать на разработку на их основе новых противогерпетических лекарственных средств.

Отдельно следует остановиться на обнаружении у некоторых соединений активно-

сти против вирусов гриппа различных типов. Показатели противогриппозной активности для соединений, проявивших противовирусную активность в опытах *in vitro*, приведены в табл. 4 вместе с данными для клинических лекарственных средств.

Таблица 4. Противогриппозная активность производных фуллеренов¹

-	50, /	H1N1		H3N2			
		50		50		50	
3b-K	> 100	10,5 ± 2,1	> 9	9 ± 0,1	> 10	> 20	–
3h-K	10,3 ± 4,3	> 4	–	3 ± 1,4	3,5	> 4	–
6b-K	> 100	> 20	–	3 ± 1,4	> 33	> 20	–
8b-K	> 100	8 ± 1	> 12	9 ± 0,1	> 11	> 20	–
8f-K	13,5 ± 0,5	1,5 ± 0,5	9	> 4	–	> 4	–
10b-K	> 100	4,2-11,5	> 12	4,2-10,5	> 13	4,2-12,5	> 12
10c-K	> 100	32,5±17,7	> 3	10,5 ± 2,1	> 9	> 100	–
14 -K	> 100	> 100	–	20	> 5	> 100	–
15a-K	> 100	39,5±7,8	> 2	8 ± 5,7	> 12	> 100	–
- *	> 200	144 ± 78	–	0,7 ± 0,1	> 285	> 200	–
- *	> 200	89 ± 1	–	0,9 ± 0,07	> 220	> 200	–
- *	> 100	14,5±7,8	> 7	0,5 ± 0,1	> 200	52 ± 67,9	–
- *	> 100	5,5 ± 2,1	> 18	4,5 ± 3,5	> 22	9 ± 0,1	> 11

* Значения приведены в мкМ.

Восемь соединений показали активность против одного или двух штаммов гриппа А, а одно соединение – производное C₇₀ **10b-** – по отношению ко всем трем изученным субтипам вируса, в том числе к вирусу гриппа Б. Как показало расширенное изучение активности на девяти различных штаммах вирусов гриппа А и Б, соединение **10b-** сопоставимо по активности и селективности с клиническими противовирусными препаратами, такими как осельтамивир и рибавирин.

Этот результат представляется особенно важным, поскольку в настоящее время для лечения гриппа разрешены только четыре противовирусных препарата, которые постепенно теряют эффективность из-за возникновения резистентных штаммов. Возможно, на основе водорастворимых производных фуллеренов могут быть разработаны новые препараты для лечения этого опасного заболевания.

Изучена активность производных фуллеренов в отношении одиннадцати других

¹ Данные получены в лаборатории проф. Я. Бальзарини.

вирусов: кошачьего коронавируса (вирус кошачьего инфекционного перитонита, FIPV), вируса кошачьего герпеса, вируса вакцинии, респираторного синтициального вируса человека, парагриппа типа 3, вируса Синдбис, вируса Пунта Торо, вируса везикулярного стоматита, реовируса-1, вируса Коксаки В4, вируса ветряной оспы (VZV). По отношению ко всем указанным вирусам, за исключением четырех последних, были выявлены соединения с более или менее выраженной ингибирующей активностью *in vitro*.

Одним из возможных подходов для улучшения противовирусной активности соединений фуллеренов является их конъюгация с биологически активными молекулами. Например, конъюгат **14**, который получен путем ковалентного присоединения одного фрагмента карнозина (β -аланилгистидина) к производному **3**, более чем в 30 раз активнее в отношении вируса простого герпеса, а его цитотоксичность ниже более чем в два раза по сравнению с исходным соединением. В результате соединение **14** обладает весьма высоким химиотерапевтическим индексом – 4000 (табл. 3). Кроме того, конъюгат **14** становится активным против цитомегаловируса человека и гриппа H3N2, на которые не действовало исходное производное фуллерена **3** (табл. 3, 4).

Проведенная работа по синтезу и исследованию широкой группы новых биологически активных производных фуллеренов позволила выявить 23 новых соединения с различной противовирусной активностью. Для производных фуллеренов впервые обнаружено ингибирование гликопротеина gp120 вируса ВИЧ-1 и активность против вирусов гриппа А и Б. Некоторые поликарбокисильные соединения (**6a-c**, **8b**, **10b**, **14a**) активны одновременно против 5-10 различных вирусов и в ряде случаев сопоставимы по эффективности с клиническими препаратами.

Полученные в работе результаты позволяют рекомендовать целый ряд производных фуллеренов для проведения доклинических и клинических испытаний, которые позволят ответить на вопрос о возможности создания на их основе нового класса клинических противовирусных средств.

В _____ указаны использовавшиеся в работе приборы, дано описание экспериментальных методик, приведены физико-химические константы синтезированных веществ.

В разделе подведены итоги работы.

1. Разработан эффективный метод синтеза водорастворимых производных фуллерена C_{70} , основанный на реакции арилирования хлорпроизводных $C_{70}Cl_8$ и $C_{70}Cl_{10}$. Синтезировано 32 новых водорастворимых производных фуллеренов C_{60} и C_{70} . Строение всех вновь полученных соединений подтверждено комплексом современных физико-химических методов.

2. Получена новая группа аминопроизводных фуллерена C_{60} состава $C_{60}(NR_2)_5X$ ($X=Cl, H$), в том числе водорастворимые аддукты с аминокислотами и аминами. Показано, что селективная реакция хлорфуллерена $C_{60}Cl_6$ с первичными и вторичными аминами является простым методом синтеза индивидуальных пентааминированных производных фуллерена C_{60} .

3. Исследование водных растворов ряда производных фуллеренов с использованием методов оптической спектроскопии и динамического рассеяния света показало формирование наноагрегатов со средним размером около 100 нм и узким распределением по размерам. Такие наночастицы представляют интерес для изучения в качестве средств направленной доставки лекарственных препаратов.

4. Изучены токсические свойства производных фуллеренов в опытах на клеточных культурах и лабораторных животных. Найдены отдельные закономерности, связывающие токсичность и молекулярное строение соединений. Низкая токсичность большинства полученных производных фуллеренов указывает на безопасность их применения в живых системах.

5. Выявлена противовирусная активность синтезированных производных фуллеренов по отношению к широкому кругу вирусов в экспериментах *in vitro*. Поликарбокисильные производные C_{60} и C_{70} подавляют вирус иммунодефицита человека, вирус простого герпеса и цитомегаловирус в наномолярном и нижнем микромолярном диапазоне концентраций. Некоторые соединения активны также против вирусов кошачьего инфекционного перитонита, кошачьего герпеса, вакцинии, респираторного синтициального вируса человека, парагриппа типа 3, вируса Синдбис и вируса Пунта Торо. Установлен новый механизм анти-ВИЧ активности производных фуллеренов – связывание с поверхностным гликопротеином вируса gp120.

6. Предложен простой метод усиления противовирусной активности поликарбокисильных производных фуллерена, основанный на их конъюгации с биологически активными малыми молекулами. Присоединение карнозина к поликарбокисильному производному фуллерена позволило повысить его противогерпетическую активность в 30 раз, снизить цитотоксичность в два раза и получить в результате препарат с индексом селективности, равным 4000.

Перспективы использования фуллеренов и их производных в медицине представлялись весьма обширными перед началом данной работы. Полученные результаты в еще большей степени подтверждают необходимость дальнейшего развития этой области исследований. К настоящему моменту накоплено необходимое количество первичной информации для перевода работ по биологически активным производным фуллеренов из фундаментальной области в область доклинических испытаний, клинических испытаний и практического внедрения.

В исследованиях химии и технологии фуллеренов Россия занимает одно из лидирующих мест. В нашей стране создано конкурентоспособное промышленное производство фуллеренового экстракта и чистых фуллеренов, что является необходимой предпосылкой для их практического использования. Можно надеяться, что накопленные знания и опыт будут использованы для разработки оригинальных отечественных лекарственных препаратов, которые будут в последующем внедрены на практике.

Статьи в рецензируемых журналах:

1. Kornev, A. B. Synthesis and antiviral activity of highly water-soluble polycarboxylic derivatives of [70]fullerene / **A. B. Kornev**, A. S. Peregudov, V. M. Martynenko, J. Balzarini, B. Hoorelbeke, P. A. Troshin // Chem. Commun. – 2011. – V. 47. – P. 8298-8300.
2. Kornev, A. B. Facile preparation of amine and amino acid adducts of [60]fullerene using chlorofullerene $C_{60}Cl_6$ as a precursor / **A. B. Kornev**, E. A. Khakina, S. I. Troyanov, A. A. Kushch, D. G. Deryabin, A. S. Peregudov, A. Vasilchenko, V. M. Martynenko, P. A. Troshin // Chem. Commun. – 2012. – V. 48. – P. 5461-5463.
3. Fedorova, N. E. Carboxylic fullerene C_{60} derivatives: efficient microbicides against herpes simplex and cytomegalovirus infections in vitro / N. E. Fedorova, R. R. Klimova, Yu. A. Tulenev, E. V. Chichev, **A. B. Kornev**, P. A. Troshin, A. A. Kushch // Mendeleev Commun. – 2012. – V. 22. – P. 254-256.
4. Гольдшлегер, Н. Ф. Поведение окта(бензо-15-краун-5)- и тетрасульфопфталоцианинов в присутствии водорастворимых соединений C_{60} / Н. Ф. Гольдшлегер, . . . , А. В. Баринов, П. А. Трошин, А. И. Котельников, В. Е. Баулин, А. Ю. Цивадзе // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2012. – Т. 6. – С. 1228-1235.
5. Баринов, А. В. Фотодинамическая активность гибридной наноструктуры на основе поликатионного производного фуллерена и ксантенового красителя эозина Y / А. В. Баринов, Н. С. Горячев, Д. А. Полетаева, А. Ю. Рыбкин, . . . , П. А. Трошин, Ф. И. Шмитт, Г. Ренгер, Г. И. Эйхлер, А. И. Котельников // Рос-

сийские нанотехнологии. – 2012. – Т. 7. – № 7-8. – С. 66-70.

6. Полетаева, Д. А. Оценка мембранотропности водорастворимых полизамещенных производных фуллеренов люминесцентными методами / Д. А. Полетаева, Р. А. Котельникова, Д. В. Мищенко, А. Ю. Рыбкин, А. В. Смолина, И. И. Файнгольд, П. А. Трошин, . . . , Е. А. Хакина, А. И. Котельников // Российские нанотехнологии. – 2012. – Т. 7. – № 3-4. – С. 64-68.
7. Kotelnikov, A. I. Hybrid photoactive fullerene derivative–ruboxyl nanostructures for photodynamic therapy / A. I. Kotelnikov, A. Yu. Rybkin, E. A. Khakina, **A. V. Kornev**, A. V. Barinov, N. S. Goryachev, A. V. Ivanchikhina, A. S. Peregudov, V. M. Martynenko and P. A. Troshin // Org. Biomol. Chem. – 2013. – V. 11. – P. 4397-4404.

Обзорные работы:

1. Корнев, А. Б. Биологически активные производные фуллеренов, методы их получения и применение в медицине / . . . , О. А. Трошина, П. А. Трошин // В кн. «Органические и гибридные наноматериалы: тенденции и перспективы» / под ред. В. Ф. Разумова [и др]. – Иваново: Иван. гос. ун-т, 2013. – С. 392-502.

Патенты

1. Аминофуллерены и способ их получения : пат. 2460688 Рос. Федерация : МПК С 01 В 31/00, С 07 С 229/00, В 82 В 1/00, В 82 В 3/00, В 82 Y 5/00, В 82 Y 30/00 / Трошин П. А., . . . , Хакина Е. А., Разумов В. Ф. ; заявители и патентообладатели Институт проблем химической физики РАН, Российская Федерация в лице Министерства образования и науки. – № 2010127788/05 ; заявл. 07.07.2010 ; опубл. 10.09.2012, Бюл. № 25.
2. Водорастворимые арилированные производные C₇₀ и способ их получения : пат. 2477267 Рос. Федерация : МПК С 07 С 57/40, С 07 С 51/09, С 07 С 27/02, А 61 К 31/194 / . . . , Трошин П. А., Разумов В. Ф. ; заявитель и патентообладатель Институт проблем химической физики РАН. – № 2011111780/04 ; заявл. 30.03.2011 ; опубл. 10.03.2013, Бюл. № 7.

Тезисы докладов

1. Kotelnikov A. I., Rybkin A. Yu., Goryachev N. S., **Kornev A. V.**, Khakina E. A., Troshin P. A. Hybrid nanostructures on the basis of water soluble fullerene derivatives and dyes for photodynamic therapy // Book of Abstracts. The 3-rd International Symposium «Molecular Photonics». June 24-29, 2012, St. Petersburg, Russia. P. 63.
2. Rybkin A. Yu., Barinov A. V., Goryachev N. S., **Kornev A. V.**, Khakina E. A., Troshin P. A. , Kotelnikov A. I. Hybrid molecular systems based on fullerene derivative and dyes as potential drugs for photodynamic therapy // Book of Abstracts. The 3-rd International Symposium «Molecular Photonics». June 24-29, 2012, St. Petersburg, Russia. P. 182.
3. Котельников А. И., Котельникова Р. А., Коновалова Н. П., Богданов Г. Н., Романова В. С., Файнгольд И. И., Мищенко Д. В., Полетаева Д. А., Смолина А. В., Рыбкин А. Ю. , Горячев Н. С., Кареев И. Е., Бубнов В. П., Ягубский Э. Б., -

- . ., Хакина Е. А., Трошин П. А. Гибридные наноструктуры на основе фуллеренов для применения в терапии и диагностике социально значимых заболеваний // Сборник материалов. V Троицкая конференция «Медицинская физика и инновации в медицине». 4-8 июня 2012 г. г. Троицк Московской обл. С. 16-18.
4. Рыбкин А. Ю., Баринов А. В., Горячев Н. С., . ., Трошин П. А., Котельников А. И. Гибридные структуры на основе поликатионного производного фуллерена и красителя как потенциальные препараты для фотодинамической терапии // Сборник материалов. V Троицкая конференция «Медицинская физика и инновации в медицине». 4-8 июня 2012 г. г. Троицк Московской обл. С. 277-279.
 5. Котельникова Р. А., Полетаева Д. А., Мищенко Д. В., Рыбкин А. Ю., Файнгольд И. И., . ., Хакина Е. А., Трошин П. А., Котельников А. И. Исследование биологической активности водорастворимых полизамещенных производных фуллеренов методами оптической спектроскопии // Сборник материалов. V Троицкая конференция «Медицинская физика и инновации в медицине». 4-8 июня 2012 г. г. Троицк Московской обл. С. 171-173.
 6. Котельников А. И., Котельникова Р. А., Баринов А. В., Горячев Н. С., Романова В. С., Файнгольд И. И., Полетаева Д. А., Рыбкин А. Ю., . ., Хакина Е. А., Трошин П. А. Гибридные наноструктуры на основе фуллеренов и красителей для фотодинамической терапии // Сборник тезисов докладов Всероссийской конференции «Фотоника органических и гибридных наноструктур», Черноголовка, 5-9 сентября 2011 года. С. 80.
 7. Котельникова Р. А., Полетаева Д. А., Мищенко Д. В., Рыбкин А. Ю., Файнгольд И. И., . ., Хакина Е. А., Трошин П. А., Котельников А. И. Изучение молекулярных механизмов биологического действия водорастворимых производных фуллеренов люминесцентными методами // Сборник тезисов докладов Всероссийской конференции «Фотоника органических и гибридных наноструктур», Черноголовка, 5-9 сентября 2011 года. С. 81.
 8. Полетаева Д. А., Смолина А. В., . ., Хакина Е. А., Трошин П. А., Котельникова Р. А., Котельников А. И. Метод триплетных зондов в изучении мембранотропных свойств полизамещенных водорастворимых производных фуллеренов // Сборник тезисов докладов Всероссийской конференции «Фотоника органических и гибридных наноструктур», Черноголовка, 5-9 сентября 2011 года. С. 119.
 9. Рыбкин А. Ю., Мищенко Д. В., . ., Хакина Е. А., Трошин П. А., Котельникова Р. А., Котельников А. И. Оценка антирадикальных свойств водорастворимых полизамещенных производных фуллерена C_{60} методом хемилюминесценции // Сборник тезисов докладов Всероссийской конференции «Фотоника органических и гибридных наноструктур», Черноголовка, 5-9 сентября 2011 года. С. 133.
 10. Мищенко Д. В., Рыбкин А. Ю., . ., Файнгольд И. И., Хакина Е. А.,

- Полетаева Д. А., Смолина А. В., Котельникова Р. А., Трошин П. А., Богданов Г. Н., Романова В. С. Ингибирование пероксидного окисления липидов водорастворимыми производными фуллерена C_{60} // Сборник тезисов докладов Всероссийской молодежной конференции «Успехи химической физики», Черноголовка, 21-23 июня 2011 г. С. 207.
11. Рыбкин А. Ю., Мищенко Д. В., Хакина Е. А., . . ., Смолина А. А., Трошин П. А., Богданов Г. Н., Котельников А. И., Котельникова Р. А. Оценка антиоксидантных свойств водорастворимых производных фуллерена C_{60} методом хемилюминесценции // Сборник тезисов докладов Всероссийской молодежной конференции «Успехи химической физики», Черноголовка, 21-23 июня 2011 г. С. 209.
12. Rybkin A. Yu., Poletaeva D. A., Troshin P. A., **Kornev A. B.**, Khakina E. A., Smolina A. V., Shtolko V. N., Kotelnikov A. I. Antiradical activity of water soluble derivatives of fullerenes // Тезисы в сборнике материалов седьмой национальной научно-практической конференции с международным участием «Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека», Смоленск, 14-18 сентября 2011 года. С. 138-139.
13. Смолина А. А., . . ., Полетаева Д. А., Хакина Е. А., Файнгольд И. И., Котельникова Р. А., Богданов Г. Н., Трошин П. А., Котельников А. И. Водорастворимые полизамещенные производные фуллерена C_{60} и мембраносвязанные ферменты // Тезисы в научном издании «Химическая физика вчера, сегодня, завтра» под общей редакцией академика А. А. Берлина. Юбилейная научная конференция, Москва, 12-14 октября 2011 года. С. 75.
14. Полетаева Д. А., Котельникова Р. А., Котельников А. И., . . ., Хакина Е. А., Трошин П. А. Локализация водорастворимых полизамещенных производных фуллеренов в структуре мембран фосфатидилхолиновых липосом // Тезисы 54-й научной конференции МФТИ - Всероссийская молодежная научная конференция «Проблемы фундаментальных и прикладных, естественных и технических наук в современном информационном обществе», Долгопрудный, 25-26 ноября 2011 года.