

На правах рукописи

КОРНЕВ Алексей Борисович

**СИНТЕЗ НОВЫХ ВОДОРАСТВОРИМЫХ
ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНОВ,
ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ
И БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ**

02.00.03 – органическая химия

Автореферат
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

Трошин Павел Анатольевич

Официальные оппоненты: **Вацадзе Сергей Зурабович**

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

Клюев Михаил Васильевич

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

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. 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 противоионной, 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).

Степень разработанности темы исследования. 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 аминокислотных производных 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.

Цели и задачи работы. 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.

Научная новизна. 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.

Теоретическая и практическая значимость работы. 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, характеризующиеся 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.

Методология и методы исследования. 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.

Положения, выносимые на защиту.

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. Поликарбокисильные 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 поликарбокисильных 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 поликарбокисильных 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.

Личный вклад автора. 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.

Степень достоверности и апробация результатов. 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.).

Публикации. 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.

Структура и объем диссертации. 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.

Благодарности. 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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении 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 **обзора литературы** 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 **исходные предпосылки и цели диссертационной работы**.

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

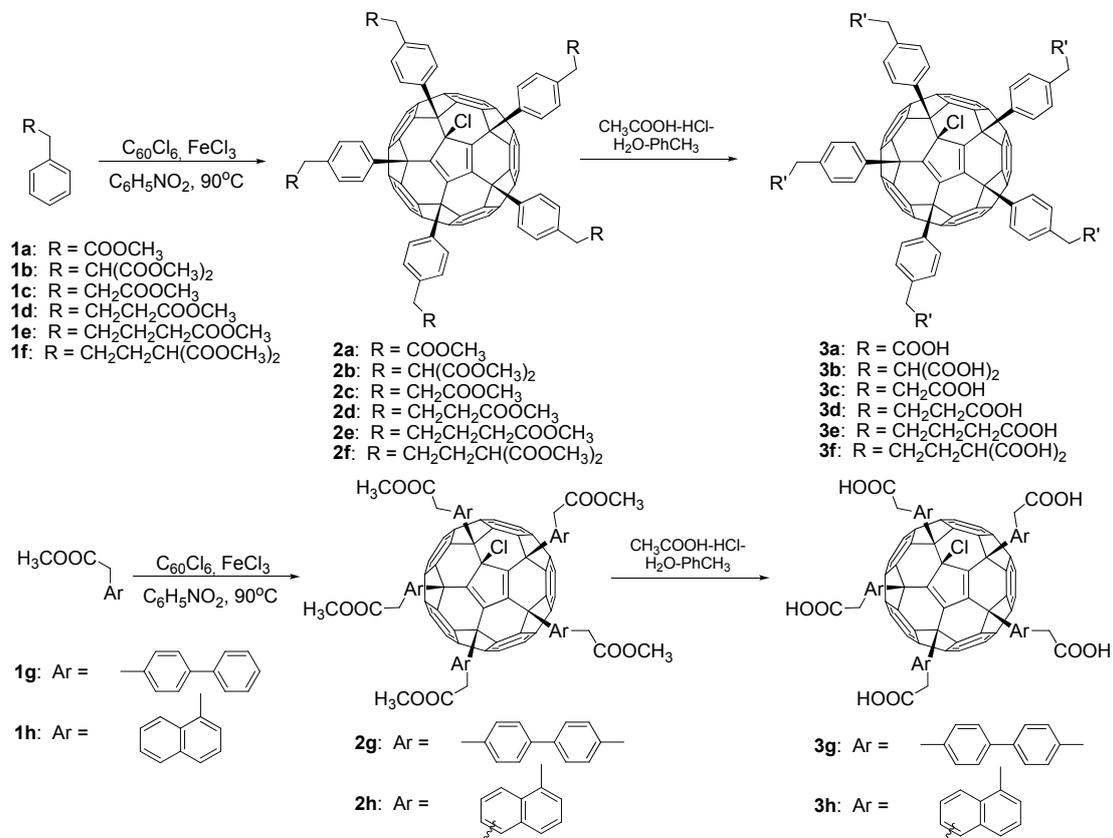
1. Получение водорастворимых производных фуллерена C₆₀ по реакции арилирования хлорфуллерена C₆₀Cl₆

Ранее был предложен метод синтеза биологически активных поликарбокисильных производных C₆₀, ключевыми стадиями которого являются арилирование C₆₀Cl₆ 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 **3a-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 **3c-h** (схема 1).

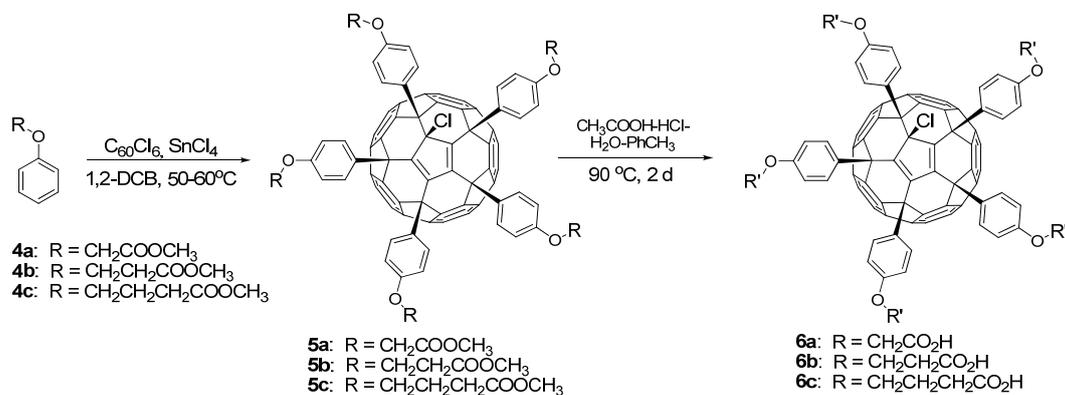
Схема 1



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

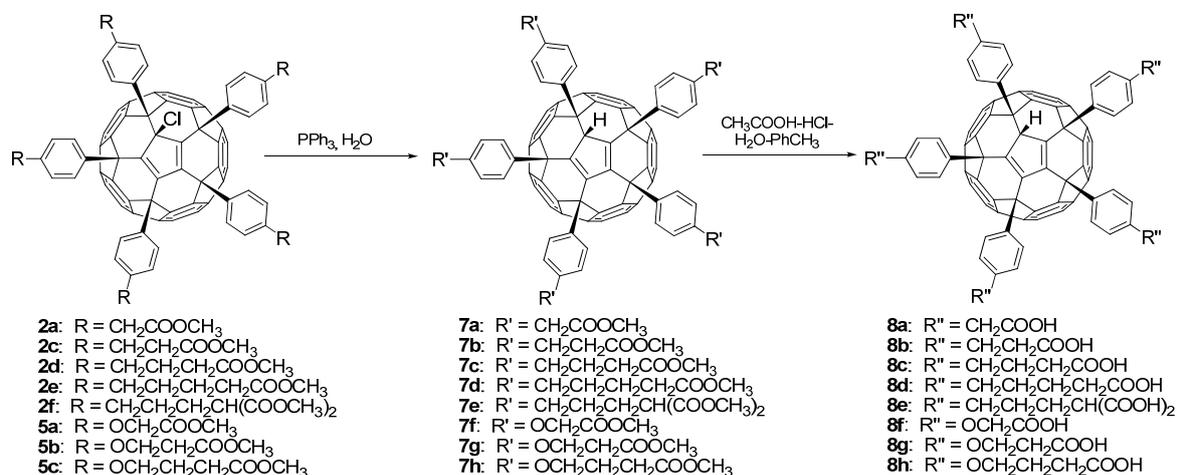


Использование в качестве реагентов в реакции арилирования более активных эфи-

ров феноксикарбоновых кислот **4a-c** 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 **3a-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



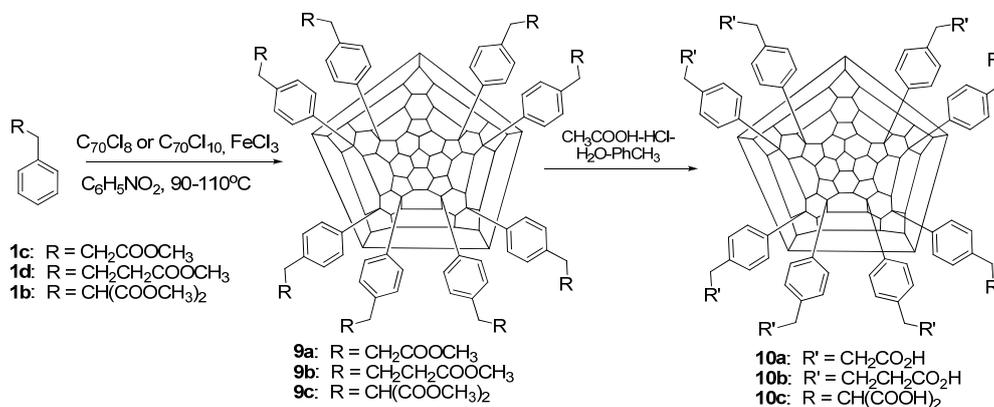
Таким образом, с помощью метода арилирования хлорфуллерена C_{60}Cl_6 эфирами ароматических карбоновых кислот (с восстановлением в гидридные производные или без него) и последующим снятием защитных групп было получено 17 новых поликарбоксильных соединений фуллерена C_{60} . Хорошо растворимые в воде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

2. Первые водорастворимые производные фуллерена C_{70} , полученные из хлорфуллеренов C_{70}Cl_8 и $\text{C}_{70}\text{Cl}_{10}$

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

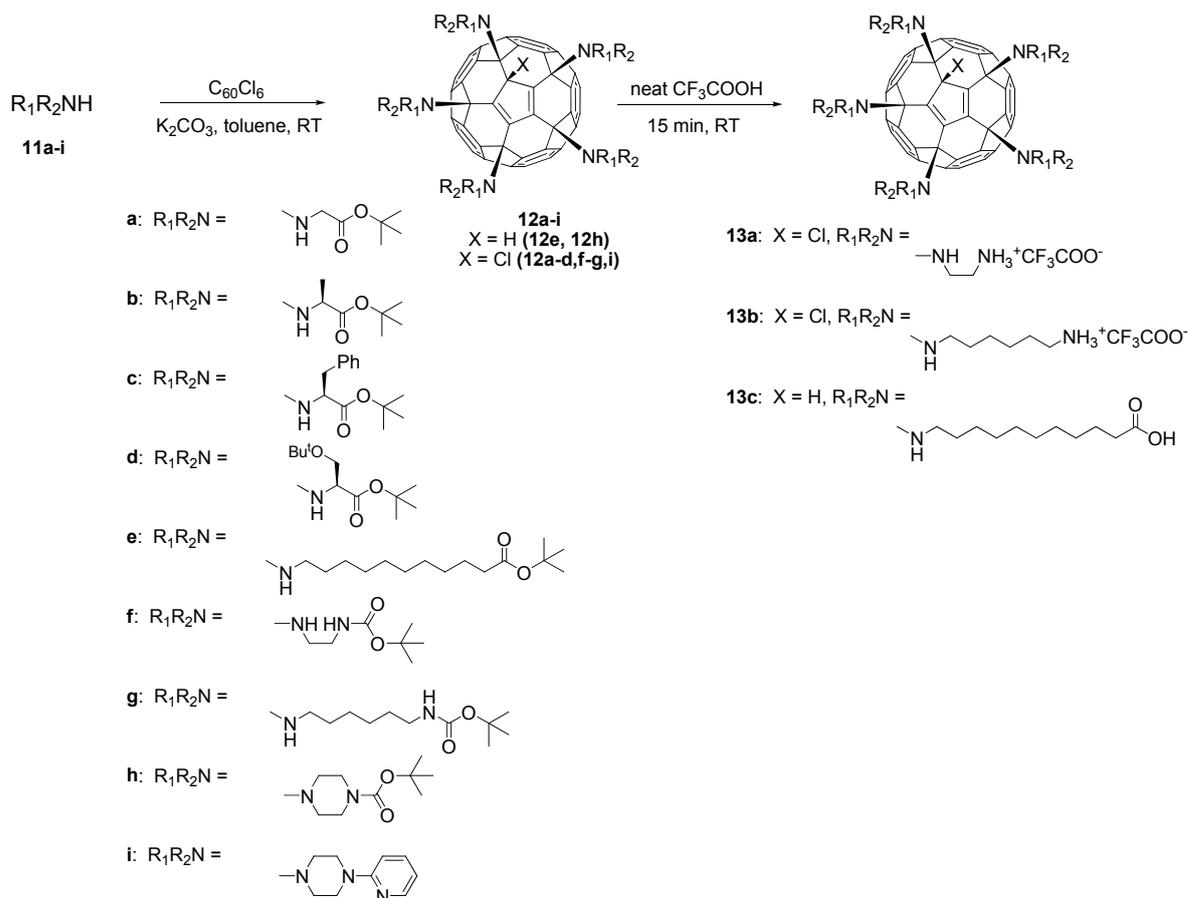


Калиевые или натриевые соли синтезированных свободных кислот **10a-c**, содержащие 8 или 16 солубилизирующих карбоксилатных групп, являются первыми описанными хорошо растворимыми в воде индивидуальными производными фуллерена C_{70} (растворимость более 150 мг/мл). Результаты изучения биологических свойств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

3. Новый тип аминопроизводных фуллерена 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 **12e** и **12h** (схема 5).

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

4. Исследование состояния водорастворимых производных C_{60} и C_{70} в водном растворе

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 **2c** в толуольном растворе, свободной пентакарбоновой кислоты **3c** в этаноле и калиевой соли кислоты **3c** (обозначено **3c-K¹**) 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 C₆₀ **12e**, **13c** и **13c-K** (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).

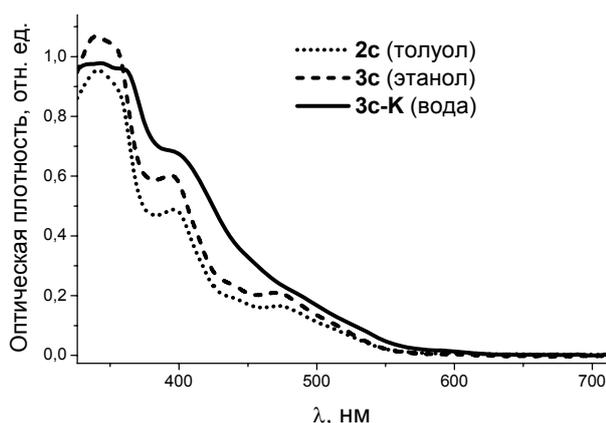


Рис. 1. Спектры поглощения соединений **2c, **3c** и **3c-K****

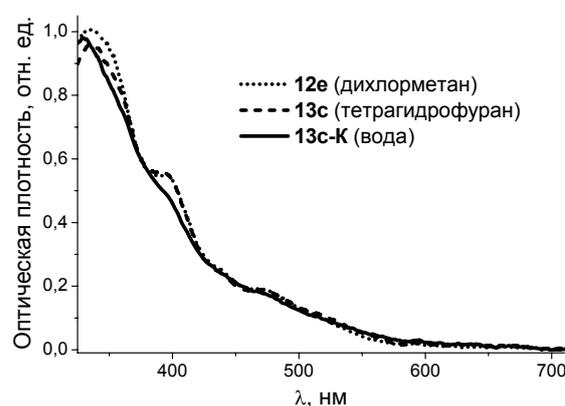


Рис. 2. Спектры поглощения соединений **12e, **13c** и **13c-K****

Неожиданным является тот факт, что структурно отличные от пентаариллированных производных C₆₀ производные фуллерена C₇₀, 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 **10a**).

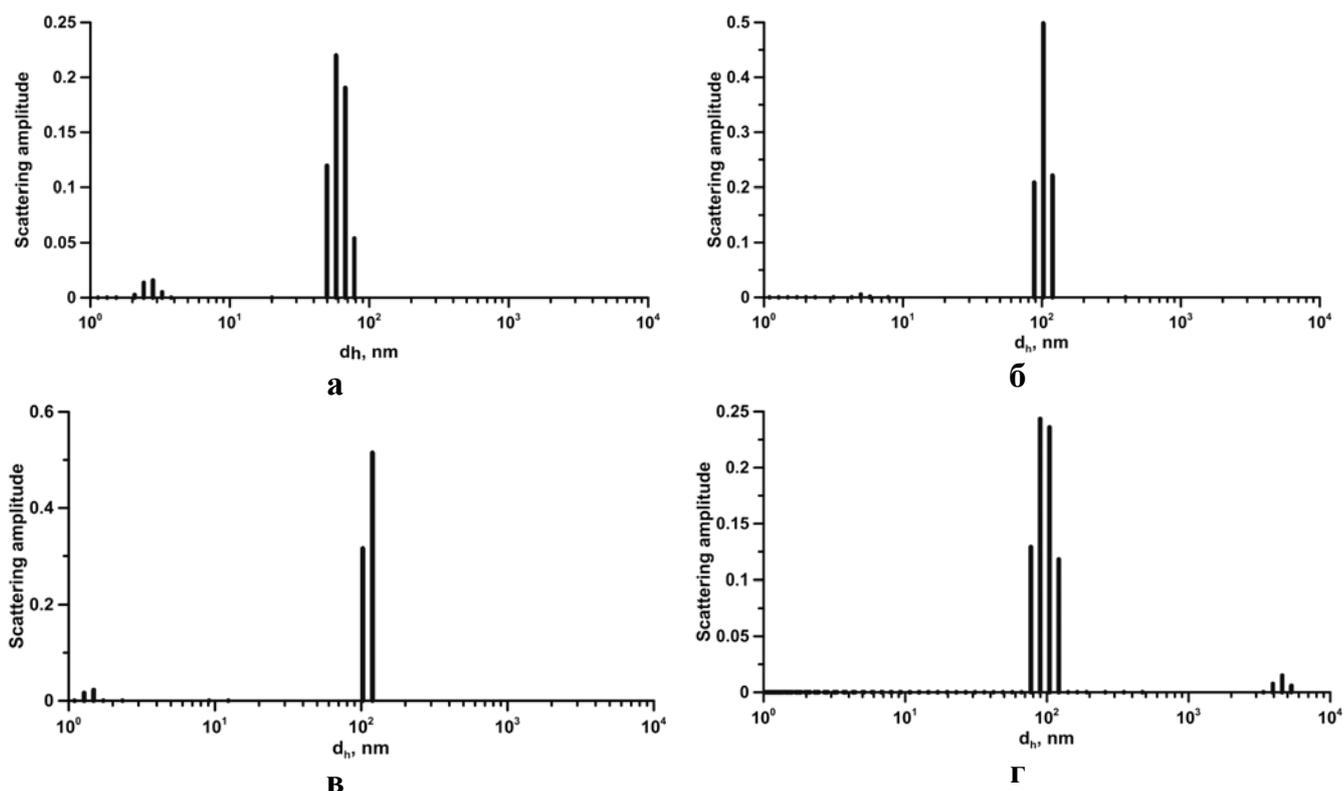


Рис. 3. Результаты измерения ДРС для растворов соединений 3а-К (а), 6а-К (б), 8b-К (в) и 10а-К (г)

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).

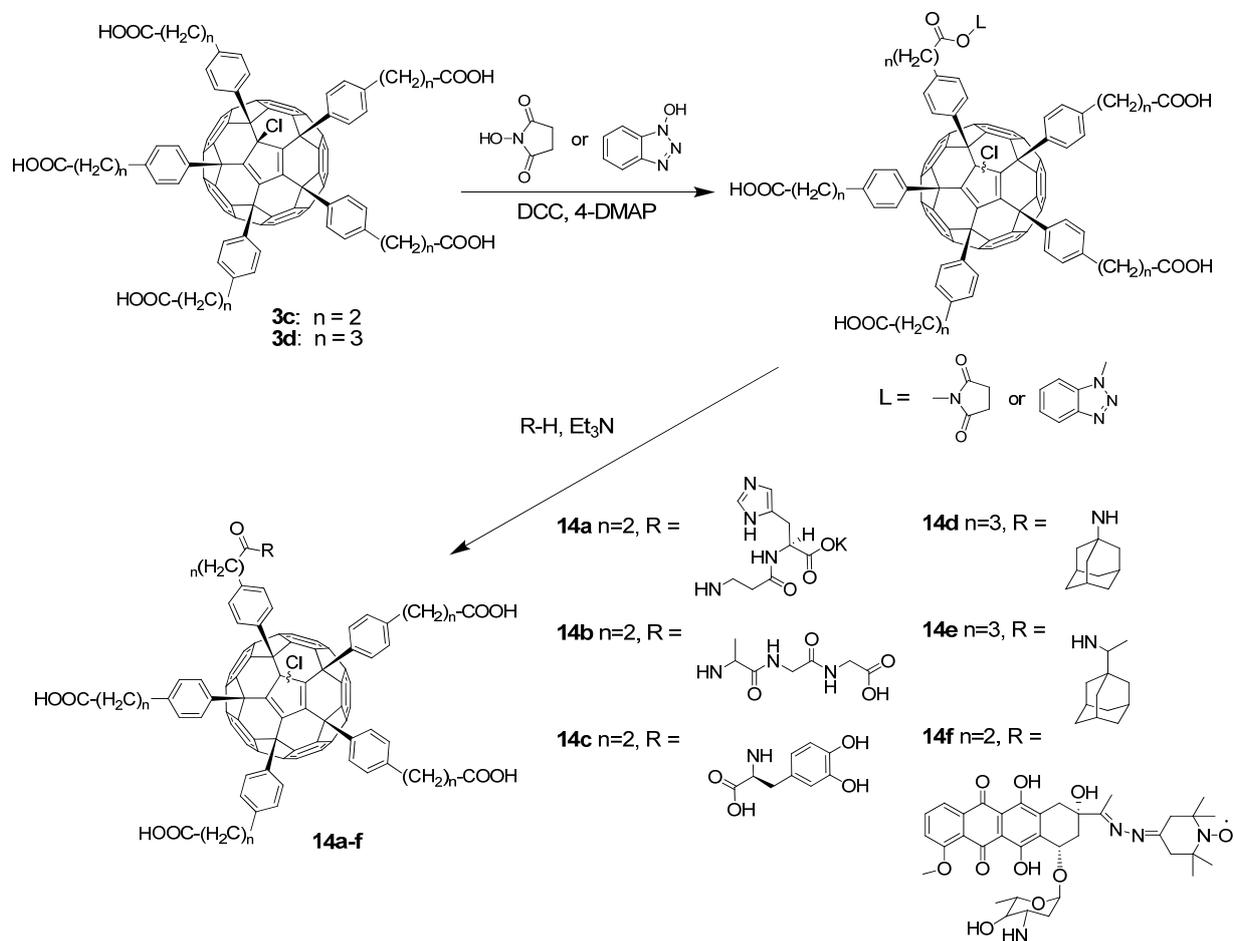
5. Синтез водорастворимых конъюгатов на основе поликарбоксильных производных фуллерена C₆₀ и молекул биологически активных соединений

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.

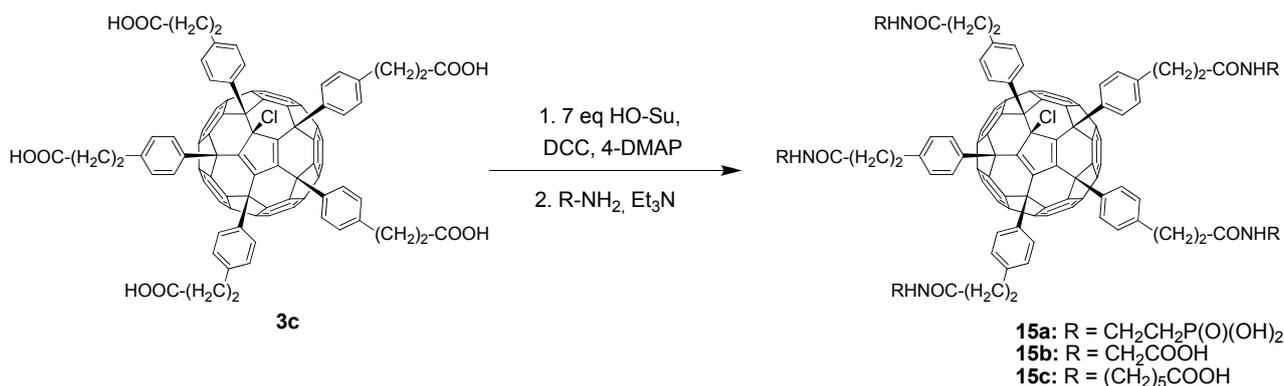
Схема 6



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 C₆₀, 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 **14a-f** и **15a-c** были хорошо растворимы в воде в виде калиевых солей и использовались для исследования биологической активности.



6. Исследование острой токсичности и цитотоксичности водорастворимых производных фуллеренов C₆₀ и C₇₀

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

№	Соединение	МПД, мг/кг	ЛД ₅₀ , мг/кг	ЛД ₁₀₀ , мг/кг
1	3a-K	200	300	400
2	3c-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 **3a-K** – **3c-K** – **3d-K** и **6a-K** – **6b-K** – **6c-K**).
3. Токсичность гидридных производных фуллерена C_{60} (**8a-K** – **8c-K**, **8f-K** – **8h-K**) принципиально не отличается от токсичности соответствующих хлорсодержащих аналогов (**3a-K**, **3c-K**, **3d-K**, **6a-K** – **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 **10a-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 рубоксолом, что объясняется природой присоединенной малой молекулы.

7. Анти-ВИЧ активность водорастворимых производных фуллеренов

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

№	Соединение	ИД ₅₀ , мкг/мл ¹		ХТИ=ИД ₅₀ /ИД ₅₀ ²	
		ВИЧ-1	ВИЧ-2	ВИЧ-1	ВИЧ-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	3c-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	14a-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 поликарбоксильных производных C₇₀ анти-ВИЧ активности, превосходящей активность производных C₆₀. Лучшее соединение **10c** 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 карбоксильных 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 III_B. Связывание с gp120 и ингибирование его активности является важным механизмом анти-ВИЧ активности некоторых антиретровирусных препаратов. Такая способность была впервые продемонстрирована для поликарбоксильных 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. Противовирусная активность производных фуллеренов в отношении других вирусов

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

Соединение	Клеточная линия	ЦД ₅₀ , мкг/мл	Вирус	ИД ₅₀ , мкг/мл	ХТИ=ЦД ₅₀ /ИД 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
14a-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**, **6a**, **8b** и **14a**). 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

В-во	ЦД ₅₀ , мкг/мл	грипп А подтип Н1N1		грипп А подтип Н3N2		грипп Б	
		ИД ₅₀	ХТИ	ИД ₅₀	ХТИ	ИД ₅₀	ХТИ
3b-К	> 100	10,5 ± 2,1	> 9	9 ± 0,1	> 10	> 20	–
3h-К	10,3 ± 4,3	> 4	–	3 ± 1,4	3,5	> 4	–
6b-К	> 100	> 20	–	3 ± 1,4	> 33	> 20	–
8b-К	> 100	8 ± 1	> 12	9 ± 0,1	> 11	> 20	–
8f-К	13,5 ± 0,5	1,5 ± 0,5	9	> 4	–	> 4	–
10b-К	> 100	4,2-11,5	> 12	4,2-10,5	> 13	4,2-12,5	> 12
10c-К	> 100	32,5±17,7	> 3	10,5 ± 2,1	> 9	> 100	–
14a-К	> 100	> 100	–	20	> 5	> 100	–
15a-К	> 100	39,5±7,8	> 2	8 ± 5,7	> 12	> 100	–
Риман-тадин*	> 200	144 ± 78	–	0,7 ± 0,1	> 285	> 200	–
Аман-тадин*	> 200	89 ± 1	–	0,9 ± 0,07	> 220	> 200	–
Осель-тамивир*	> 100	14,5±7,8	> 7	0,5 ± 0,1	> 200	52 ± 67,9	–
Рибавирин*	> 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-К** – 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-К** 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 **14a**, который получен путем ковалентного присоединения одного фрагмента карнозина (β -аланилгистидина) к производному **3c**, 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 **14a** обладает весьма высоким химиотерапевтическим индексом – 4000 (табл. 3). Кроме того, конъюгат **14a** становится активным против цитомегаловируса человека и гриппа H3N2, на которые не действовало исходное производное фуллерена **3c** (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 **экспериментальной части** указаны использовавшиеся в работе приборы, дано описание экспериментальных методик, приведены физико-химические константы синтезированных веществ.

В разделе **выводов** 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.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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.

СПИСОК РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

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 тетрасульфоталоцианинов в присутствии водорастворимых соединений C_{60} / Н. Ф. Гольдшлегер, **А. Б. Корнев**, 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, **А. Б. Корнев**, 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, **А. Б. Корнев**, 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. B. 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 / **А. Б. Корнев**, 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., **Корнев А. Б.**, 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 / **Корнев А. Б.**, 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. B.**, 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. B.**, 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., **Кор-**

- нев А. 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., **Корнев А. Б.**, 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., **Корнев А. Б.**, 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., **Корнев А. Б.**, 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., **Корнев А. Б.**, 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., **Корнев А. Б.**, 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., **Корнев А. Б.**, 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., **Корнев А. Б.**, 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 C₆₀ // 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., **Корнев А. Б.**, Смолина А. А., Трошин П. А., Богданов Г. Н., Котельников А. И., Котельникова Р. А. Оценка антиоксидантных свойств водорастворимых производных фуллерена C₆₀ 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., **Корнев А. Б.**, 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 C₆₀ 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., **Корнев А. Б.**, 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.