

УДК 546.26.043 + 544.77

ПОЛУЧЕНИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ВОДНЫХ КОЛЛОИДНЫХ РАСТВОРОВ СМЕСЕЙ ФУЛЛЕРЕНОВ C₆₀ И C₇₀

*И. Э. Сердюк*²
*И. В. Белочкина*¹
*А. П. Крышталь*²
А. Д. Рошаль^{1,2}
*И. М. Неклюдов*³
*В. В. Борц*³
*В. Н. Воеводин*³
*В. И. Ткаченко*³
*Б. П. Сандомирский*¹

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины
НАН Украины, Харьков

²Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина

³Национальный научный центр
«Харьковский физико-технический институт» НАН Украины

E-mail: alexandre.d.rochal@univer.kharkov.ua; alexandrerochal@ukr.net

Сведения о биологической активности фуллеренов, их токсичности достаточно противоречивы. Есть данные о токсичности фуллеренов, хотя в большинстве работ токсичность немодифицированных соединений подвергается сомнению. В работе описан процесс получения коллоидных растворов смеси фуллеренов C₆₀ и C₇₀, исследованы химический состав и свойства полученных золей. Установлено, что при переходе из твердой фазы в коллоидный раствор соотношение фуллеренов C₆₀ и C₇₀ не изменяется. Показано, что полученные золи устойчивы при кипячении на водяной бане и УФ-облучении, однако свойства коллоидного раствора (размер мицелл и способность к агрегации) зависят от условий его получения, в частности от времени между приготовлением промежуточного толуольного раствора фуллеренов и переводом последних в коллоидный раствор.

Исследования показали, что коллоидные растворы фуллеренов обладают выраженными антиоксидантными свойствами, при этом они не оказывают какого-либо заметного цитотоксического действия и не влияют на пролиферацию клеточной культуры.

Ключевые слова: фуллерены, коллоидные растворы, биологическая и антиоксидантная активность.

Фуллерены, производные фуллеренов и фуллеренсодержащие смеси являются объектом изучения специалистов, работающих в различных областях науки и техники [1, 2], в том числе в биохимии и экспериментальной медицине [3]. Сведения о биологической активности фуллеренов чрезвычайно противоречивы. Есть данные о токсичности фуллеренов [4], хотя в большинстве работ токсичность немодифицированных соединений подвергается сомнению [5, 6]. В то же время присутствие зон повышенной электронной плотности на поверхности молекул фуллерена обуславливает наличие у последнего восстановительных свойств и способности к захвату свободных радикалов [7], что является типичным для антиоксидантов. Следует отметить, что разнообразные, в том числе и противоречивые, данные о биологической активности фуллеренов отчасти обусловлены их достаточно высокой химической активностью. Любое химическое модифицирование молекул фуллеренов,

в частности и самопроизвольное, например окисление на свету, приводит к существенному изменению характера их воздействия на биологические системы [5].

Очевидно, что для исследования влияния фуллеренов на биологические объекты, в частности на животные ткани или культуры клеток, необходимы водные растворы этих соединений. Поскольку фуллерены нерастворимы в воде, для исследования могут быть использованы их водные коллоидные растворы [8, 9].

Применение водных золей накладывает существенные ограничения на исследования взаимодействия фуллеренов с биологическими системами. Во-первых, молекулы фуллеренов в золях имеют высокую степень агрегации, вследствие чего площадь поверхности взаимодействия фуллерен-субстрат значительно ниже, чем в идеальных растворах с такой же концентрацией фуллеренов. Во-вторых, биологические испытания, как правило, проводят в изотонических растворах или питательных средах с высокой кон-

центрацией электролита, что существенно снижает порог коагуляции мицелл фуллеренов [9]. Экстраполяция зависимости порога коагуляции золя от концентрации NaCl [10] показывает, что в изотонических растворах (0,9% масс. NaCl) устойчивы золи с концентрацией фуллерена не более чем $3,0-3,5 \times 10^{-5}$ моль/л. Следовательно, введение в биологическую среду более концентрированных коллоидных растворов приводит к их коагуляции, кристаллизации фуллеренов и, в конечном итоге, к искажению результатов экспериментов.

Еще одной из причин, ограничивающей применение этих соединений в биологических исследованиях, является сложность выделения и, как следствие, высокая стоимость чистых фуллеренов.

Синтез фуллеренов сопровождается образованием различных аллотропных модификаций углерода, в результате конечная смесь кроме искомым молекул C_{60} и C_{70} (максимальное содержание — 10–15% по массе) содержит также графит, нанотрубки и т. д. [11, 12]. Очистка смеси фуллеренов от других примесей несложна, однако последующее разделение молекул C_{60} и C_{70} представляет собой достаточно трудоемкий процесс [13, 14].

По нашему мнению, более простым решением было бы использование для большинства биологических испытаний исходной смеси фуллеренов C_{60} и C_{70} . Однако в этом случае необходимо исследование процесса перехода данной смеси в коллоидный раствор, установление структуры и состава полученного золя, изучение устойчивости последнего к проведению стандартных процедур биологической стерилизации и, в конечном итоге, оценка биологической и антиоксидантной активности золя на клеточных культурах или тканях. Именно это и стало целью работы.

Материалы и методы

Для исследований применяли смесь фуллеренов C_{60} и C_{70} , полученную согласно методике Кретчера [15] из сажи, синтезированной на вакуумно-дуговой установке в среде гелия (рис. 1). Наибольший выход фуллеренов (до 15%) получали при сочетании величин давления 13–26 кПа и силы тока дуги 60–70 А. Извлечение смеси фуллеренов из сажи проводили толуолом в аппарате Сокслета, с последующим упариванием экстракта в роторном вакуумном испарителе при пониженном давлении. Дополнительную очистку осуществляли методом колоночной хроматографии на графите с использованием в качестве элюента смеси толуола

с гексаном. Очищенный экстракт, содержащий смесь фуллеренов C_{60} и C_{70} , упаривали, осадок фуллерита промывали диэтиловым эфиром и сушили при температуре 165 °С.



Рис. 1. Фотография установки для синтеза фуллереновой сажи

Концентрацию C_{60} и C_{70} в истинных и коллоидных растворах определяли спектрофотометрически по методу Фирордта [16], используя молярные коэффициенты поглощения на длинах волн 336, 383, 471 из статьи [17]. Измерения выполняли на спектрофотометре Hitachi U4321.

Размеры мицелл в золях определяли методом электронной микроскопии с использованием просвечивающего электронного микроскопа ПЭМ-125К с ускоряющим напряжением 100 кВ. Электронно-микроскопические изображения регистрировали при помощи ПЗС видеокамеры и обрабатывали на персональном компьютере.

Для оценки антиоксидантной активности коллоидного раствора смеси фуллеренов применяли метод, основанный на измерении скорости гашения хемилюминесценции фенольных эфиров акридинийкарбоновой кислоты [18] и оттестированный ранее на биологических экстрактах и таких антиоксидантах, как аскорбиновая кислота и кверцетин [19].

Для мониторинга биологической активности исследуемых коллоидных растворов фуллеренов была взята культура перевиваемой линии клеток почек эмбриона свиньи

(СПЭВ). Клетки культивировали в среде 199, дополненной 5% эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота («БиолоТ», Россия), пенициллином (100 Ед/мл) и стрептомицином (100 мг/мл). Контроль метаболической активности клеток при культивировании в среде, содержащей коллоидный раствор смеси C_{60} и C_{70} , выполняли при помощи нетоксичного редокс-индикатора alamarBlue® (AbD Serotec, Великобритания), который восстанавливается в присутствии метаболически активных клеток с образованием флуоресцирующего продукта [20].

Клетки рассеивали с поверхностной концентрацией 10^4 клеток/см² в лунки 24-луночного планшета. На следующие сутки культивирования в лунки вносили среду с фуллеренами и оставляли в CO_2 -инкубаторе при 37 °С на 24 ч, после чего в среду культивирования добавляли alamarBlue® до концентрации 10% и инкубировали при 37 °С на протяжении 2 ч. Флуоресценцию alamarBlue® оценивали с использованием планшетного спектрофлуориметра Tecan GENios (Tecan inc., Австрия) при волне возбуждения 550 нм и эмиссии 590 нм. Обработку данных проводили с помощью программы XFLUOR4 v.4.50. Результаты представляли как разницу между флуоресценцией опытной и холостой (без клеток) пробы и выражали в условных единицах флуоресценции (УЕФ). В качестве холостой пробы использовали 10%-й раствор alamarBlue® в среде культивирования без добавления (холостая проба 1) и с добавлением (холостая проба 2) фуллеренов.

Визуальный контроль культур осуществляли на фазово-контрастном инвертированном микроскопе Meiji Techno (Япония), оснащенном видеокамерой с выводом на компьютер. Количество клеток в лунке определяли с помощью программы BioVision 4.0 путем подсчета клеток в 10 полях зрения и последующего пересчета на площадь лунки с использованием соответствующих калибровок.

Результаты и обсуждение

Получение, состав и свойства золь фуллеренов. Коллоидные растворы фуллеренов получали в два этапа. На первом этапе растворяли смесь фуллеренов в толуоле. Анализ спектров поглощения толуольных растворов показал наличие в них полос, характерных как для фуллерена C_{60} (полоса 336 нм), так и для его аллотропа — C_{70} (полосы 382 и 471 нм) (рис. 2). Определение количественного состава компонентов смеси в толуольном растворе на длинах волн 336, 383,

471 нм [17] показало, что раствор смеси фуллеренов содержит 67,8–69,4 масс. % соединения C_{60} .

Далее толуольный раствор перемешивали с дегазированной дистиллированной водой в объемном соотношении раствор фуллеренов — вода 1:4. Дегазацию воды проводили непосредственно перед изготовлением коллоидного раствора ультразвуковой обработкой в течение 30 мин при пониженном давлении (20–40 мм. рт. ст.).

Смесь воды и раствора фуллеренов обрабатывали ультразвуком (42 кГц, 50 Вт) на протяжении 4–5 ч в открытом сосуде при комнатной температуре до полного испарения толуольного слоя. Избыток фуллеренов при этом осаждался на стенках сосуда. Полученный золь отделяли от механических примесей фильтрованием через нейлоновый фильтр с размером пор 0,20 мкм. Затем раствор выдерживали на кипящей водяной бане в течение 45 мин для удаления следов толуола и стерилизации. Спектр полученного золя приведен на рис. 2.

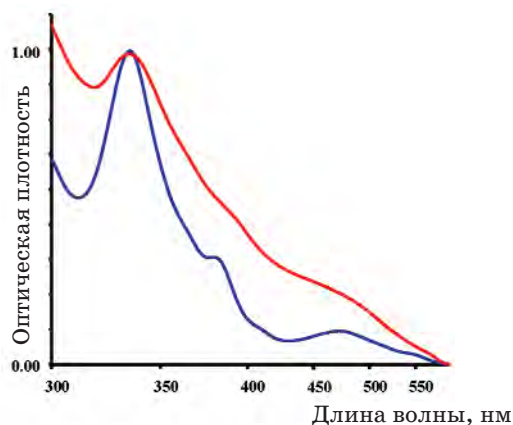


Рис. 2. Нормированные спектры поглощения смеси фуллеренов в толуольном растворе (—) и в водном золе (—)

Концентрацию суммы фуллеренов в коллоидном растворе определяли спектрофотометрическим методом [21]. Наибольшая концентрация фуллеренов в золе составляла 44,6 мг/л ($6,2 \cdot 10^{-5}$ моль/л) в пересчете на C_{60} . Повторение этого анализа спустя 7 и 14 дней показало, что на протяжении этого периода оптическая плотность раствора фуллеренов не изменяется, что свидетельствует о его высокой устойчивости. Значительная устойчивость золя наблюдалась также при облучении его УФ-светом. Обработка дегазированного коллоидного раствора светом длиной волны 360 нм в течение 40 мин с суммарной экспозицией $2,33 \cdot 10^{-5}$ Э/мл также не вызвала изменений в спектрах поглощения фуллеренов.

Анализ соотношения фуллеренов C_{60} и C_{70} в коллоидном растворе проводили следующим образом. 2 мл золя трижды последовательно экстрагировали 2 мл дихлорметана, экстракты объединяли, сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали досуха. Сухой остаток растворяли в толуоле и далее определяли количество фуллеренов по методу Фирордта, как описано выше. Анализ показал, что содержание C_{60} находится в пределах 69,4–70,0 масс. %. Таким образом, при образовании золя массовое соотношение фуллеренов не изменяется и соответствует таковому в толуольном растворе.

Варьируя условия получения золя фуллеренов, установили, что концентрация и свойства последнего зависят от времени хранения исходного толуольного раствора. Золи, имеющие наибольшую устойчивость, были получены из свежеприготовленных толуольных растворов (рис. 3). При хранении толуольных растворов в течение 2–4 нед концентрация фуллеренов в полученных из них золях была более низкой, а сами золи демонстрировали меньшую устойчивость к последующим процедурам стерилизации.

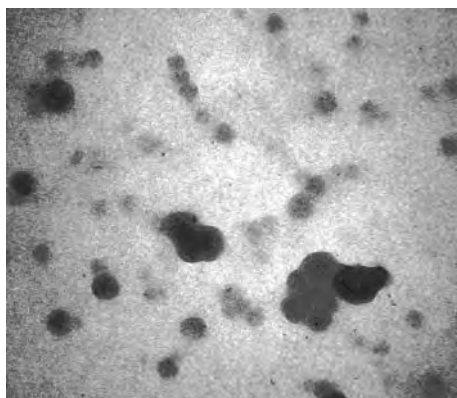


Рис. 3. Фотография золя смеси фуллеренов, полученного из свежеприготовленного толуольного раствора.

$U_{\text{уск}} = 100$ кВ, увеличение $\times 40\,000$, масштаб: 1 см = 100 нм

Анализ распределения мицелл по размеру позволил выделить две популяции частиц: основную (97,3%) — средний диаметр мицелл в которой составляет $39,6 \pm 1,7$ нм (коэффициент вариации диаметра частиц в популяции — 27%) и минорную (2,7%) со средним диаметром мицелл $\sim 75\text{--}85$ нм (рис. 4).

Анализ водного золя, полученного из толуольного раствора через 4 нед после его приготовления, показал, что он также состоит из частиц, образующих основную (92%) и минорную (8%) фракции. Диаметр мицелл минорной фракции такой же, как и у преды-

дущего золя. Частицы основной фракции имеют больший диаметр — $55,5 \pm 2,1$ нм (коэффициент вариации размера — 14%). Кроме того, мицеллы этого раствора проявляют большую склонность к ассоциации, что объясняет меньшую его устойчивость. В частности, на фотографиях золя видны вторичные агрегаты, состоящие из мицелл (рис. 5).

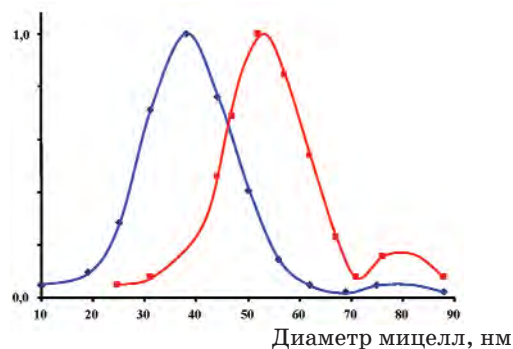


Рис. 4. Нормированные кривые распределения мицелл по размерам в золях, полученных из свежеприготовленного толуольного раствора фуллеренов (—) и из толуольного раствора через 4 недели после его приготовления (—)

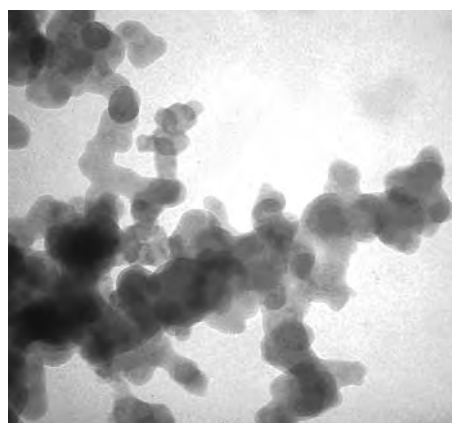


Рис. 5. Фотография вторичных агрегатов в золе фуллеренов, полученном из толуольного раствора спустя 4 недели после изготовления последнего.

$U_{\text{уск}} = 100$ кВ, увеличение $\times 50\,000$, масштаб: 1 см = 100 нм

Первичное исследование биологической активности проводили, оценивая антиоксидантные свойства зольей с помощью измерения скорости затухания хемилюминесценции фенолового эфира акридинийкарбоновой кислоты [18]. Удельную константу скорости затухания хемилюминесценции, являющуюся мерой антиоксидантной активности образца, определяли в 5 параллелях. Для коллоидного раствора фуллеренов с концентрацией $6,2 \cdot 10^{-5}$ моль/л среднее значение константы составило $80,89 \text{ г}^{-1}$ (соответствующее

значение молярной константы затухания — $5,82 \cdot 10^4$ моль⁻¹). Растворы других антиоксидантов — аскорбиновой кислоты и кверцетина, измеренные в аналогичных условиях, имели величины $2,80 \text{ г}^{-1}$ ($4,93 \cdot 10^2$ моль⁻¹) и $24,00 \text{ г}^{-1}$ ($7,25 \cdot 10^3$ моль⁻¹), соответственно. Таким образом, можно сделать вывод о наличии у коллоидных растворов фуллеренов существенных антиоксидантных свойств.

Как уже было отмечено выше, для работы с биологическими объектами необходимо использовать коллоидные растворы в изотоническом растворе, что, в свою очередь, накладывает ограничения на величину концентрации фуллеренов в золе. Попытка получения золя путем прямого перехода фуллеренов из толуольного раствора в 0,9% -й дегазированный водный раствор NaCl была безуспешной. Таким образом, коллоидные растворы фуллеренов в изотоническом растворе могут быть получены только путем смешения более концентрированных золя и раствора хлорида натрия. При этом концентрация компонентов не должна превышать величину, соответствующую порогу коагуляции раствора.

Биологическая активность золя фуллеренов. Для оценки биологической активности золь фуллеренов были протестированы два раствора с рабочей концентрацией фуллеренов в среде культивирования клеток $0,6 \cdot 10^{-5}$ моль/л (образец 1) и $3,7 \cdot 10^{-5}$ моль/л (образец 2) в пересчете на C₆₀.

Результаты оценки активности клеток по тесту с alamarBlue® представлены в таблице. Инкубация в течение 2 ч раствора alamarBlue® с питательной средой (холостая проба 1) и смесью питательной среды и золя фуллеренов (холостая проба 2) в отсутствие клеток не вызывала восстановления alamarBlue®.

Судя по высоким значениям интенсивности флуоресценции красителя в контрольной пробе и в образцах 1 и 2 до добавления золя, можно сделать заключение о высокой метаболической активности клеток. Через сутки

после добавления фуллеренов интенсивность свечения восстановленной формы alamarBlue® во всех сериях с клетками возрастала примерно на 33–40%, что указывает на симбатное увеличение количества клеток в культуре. Установлено также, что в контрольной и двух опытных сериях показатели восстановления alamarBlue® достоверно не различались.

Параллельно, вместе с оценкой уровня восстановления alamarBlue®, являющегося интегральным показателем активности пролиферации и метаболизма клеток, определяли и количество клеток в лунках планшета. В контрольной пробе и в пробах, содержащих фуллерены, в процессе культивирования наблюдалось примерно одинаковое (39–42%) увеличение количества клеток, что коррелирует с ростом интенсивности флуоресценции продукта восстановления alamarBlue® (табл. 1). Прирост количества клеток также отмечался при визуальных наблюдениях (рис. 6).

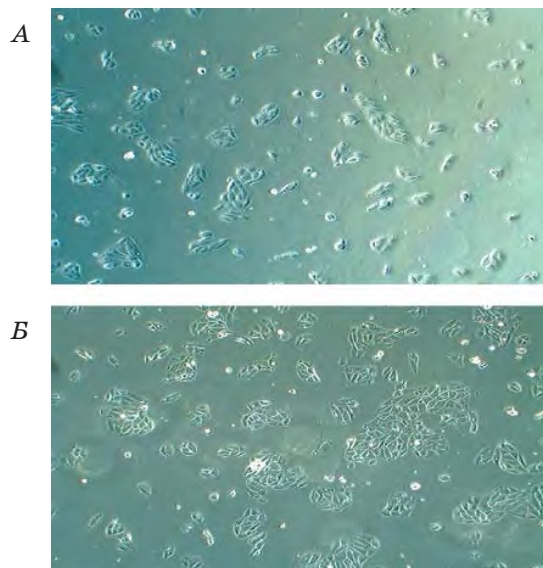


Рис. 6. Клетки линии СПЭВ в культуре перед добавлением (А) и через 1 сут после добавления фуллеренов (Б).

Концентрация золя фуллеренов — $3,7 \cdot 10^{-5}$ М, фазовый контраст, увеличение $\times 100$

Изменение интенсивности свечения продукта восстановления красителя alamarBlue® и количества клеток в процессе их культивирования в присутствии золь фуллеренов

Проба	Интенсивность флуоресценции, УЕФ		Прирост интенсивности флуоресценции, %	Прирост количества клеток, %
	до введения фуллеренов	через 24 ч после введения фуллеренов		
Контроль	13672±985	18175±1247	33	41
Образец 1*	12655±1037	17703±1327	40	39
Образец 2*	12874±1104	17438±1386	36	42
Холостая проба 1**	550±36		—	—
Холостая проба 2**	532±45		—	—

Примечание. * — Концентрация фуллерена в образце 1 — $0,6 \cdot 10^{-5}$ моль/л, в образце 2 — $3,7 \cdot 10^{-5}$ моль/л.

** — Интенсивность флуоресценции питательной среды без добавления золя фуллеренов (холостая проба 1) и через 2 ч после добавления золя (холостая проба 2).

Следовательно, можно сделать вывод, что на клетках линии СПЭВ коллоидные растворы смеси фуллеренов не проявляют заметной биологической активности как цитотоксического, так и пролиферативного характера.

Таким образом, проведенные исследования показали, что смеси фуллеренов C_{60} и C_{70} , полученные экстракцией из фуллереновой сажи, могут быть переведены в водные коллоидные растворы. При этом соотношение фуллеренов C_{60} и C_{70} при переходе в коллоидное состояние не изменяется. В то же время свойства коллоидных растворов определяются условиями их получения, в частности устойчивость золь зависит от состоя-

ния толуольного раствора фуллеренов, используемого для их приготовления.

Полученные золи смеси фуллеренов отличаются высокой антиоксидантной активностью и при этом не оказывают какого-либо заметного цитотоксического или пролиферативного действия на клеточные культуры.

Работа выполнена при финансовой поддержке УНТЦ (грант № 4913). Авторы выражают благодарность профессору Харьковского национального университета им. В. Н. Каразина, заведующему кафедрой физической химии Н. О. Мчедлову-Петросяну за консультацию по вопросам структуры зольей фуллеренов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Fullerenes. Principles and Applications* / Eds. Langa de la Puente F., Nierengarten J. F. — Cambridge: RSC Edition, 2007. — 400 p.
2. *Fullerenes: From Synthesis to Optoelectronic Properties (Developments in Fullerene Science)* / Eds. Guldi D. M., Martin N. — Dordrecht: Kluwer, 2010. — 447 p.
3. *Medicinal Chemistry and Pharmacological Potential of Fullerenes and Carbon Nanotubes* / Eds. Cataldo F., da Ros T. — Philadelphia: Springer, 2011. — 408 p.
4. *Baker G. L., Gupta A., Clark M. L. et al. Inhalation Toxicity and Lung Toxicokinetics of C_{60} Fullerene Nanoparticles and Microparticles* // *Toxicol. Sci.* — 2008. — V. 101, N 1. — P. 122–131.
5. *Kolosnjaj J., Szwarc H., Moussa F. Toxicity studies of fullerenes and derivatives* // *Adv. Experim. Med. Biol.* — 2007. — V. 620. — P. 168–180.
6. *Aschberger K., Johnston H. J., Stone V. et al. Review of fullerene toxicity and exposure — Appraisal of a human health risk assessment, based on open literature* // *Reg. Toxicol. Pharmacol.* — 2010. — V. 58, N 3. — P. 455–473.
7. *Gharbi N., Pressac M., Hadchouel M. et al. [60]fullerene is a powerful antioxidant in vivo with no acute or subacute toxicity* // *Nano Letters.* — 2005. — V. 5, N 12. — P. 2578–2585.
8. *Andrievsky G. V., Kosevich M. V., Vovk O. M. et al. On the Production of an Aqueous Colloidal Solution of Fullerenes* // *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* — 1995. — N 15. — P. 1821–1822.
9. *Mchedlov-Petrossyan N. O., Klochkov V. K., Andrievsky G. V. Colloidal dispersions of fullerene in water: some properties and C_{60} regularities of coagulation by electrolytes* // *J. Chem. Soc., Faraday Transaction.* — 1997. — V. 93, N 24. — P. 4343–4346.
10. *Мчедлов-Петросян Н. О. Растворы фуллерена C_{60} : коллоидный аспект* // *Хім. фіз. технол. поверх.* — 2010. — Т. 1, № 1. — С. 19–37.
11. *Fadeenko Yu. I. Fullerene synthesis conditions and mechanism* // *Powder Metallurgy and Metal Ceramics.* — 1994. — V. 33, N 7–8. — P. 397–400.
12. *Saidane K., Razafinimanana M., Lange H. et al. Fullerene synthesis in the graphite electrode arc process: local plasma characteristics and correlation with yield* // *J. Phys. D: Appl. Phys.* — 2004. — V. 37, N 2. — P. 232–239.
13. *Nagata K., Dejima E., Kikuchi Y., Hashiguchi M. Kilogram-scale [60]Fullerene Separation from a Fullerene Mixture: Selective Complexation of Fullerenes with 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU)* // *Chem. Lett.* — 2005. — V. 34, N 2. — P. 178–179.
14. *Liu Y., Yang Y.-W., Chen Y. Thio[2-(benzoylamino)ethylamino]- β -CD fragment modified gold nanoparticles as recycling extractors for [60]fullerene* // *Chem. Commun.* — 2005. — V. 33. — P. 4208–4210.
15. *Kratschmer W., Lamp L. D., Fostiropoulos K., Huffman D. R. Solid C_{60} — a new form of carbon* // *Nature.* — 1990. — V. 347, N 9. — P. 354–358.
16. *Бернштейн И. Я., Каминский Ю. Л. Спектрофотометрический анализ в органической химии.* — Ленинград: Химия, 1986. — 200 с.
17. *Cicek B., Kenar A., Nazir H. Simultaneous determination of C_{60} and C_{70} fullerenes by a spectrophotometric method* // *Fuller. Sci. technol.* — 2001. — V. 9, N 1. — P. 103–111.
18. *Pat. P-381661 PL. Sposob oznaczania aktywnosci przeciwutleniajacej lub utleniajacej ekstraktow organicznych w oparciu o chemiluminescencje estrow akrydyniowych* / Krzyminski K., Roshal A. D., Synchykova O. P., Sandomirsky B. P. / *Prior. date.* 01.02.2007.
19. *Ермакова Н. Ю., Рошаль А. Д., Сынчикова О. П., Сандомирский Б. П. Технология получения экстракта из пчелиного подмора* // *Биотехнология.* — 2010. — Т. 3, № 2. — С. 89–95.
20. *Petrenko Yu. A., Gorokhova N. A., Tkachova E. N., Petrenko A. Yu. The reduction of alamar blue by peripheral blood lymphocytes and isolated*

mitochondria // Укр. біохім. журн. — 2005. — Т. 77, № 5. — Р. 100–105.
 21. *Andrievsky G. V., Klochkov V. K., Bordyuh A. B., Dovbeshko G. I.* Comparative analysis of two

aqueous-colloidal solutions of C₆₀ fullerene with help of FTIR reflectance and UV–Vis spectroscopy // Chem. Phys. Lett. — 2002. — V. 364, N 1–2. — P. 8–17.

ОДЕРЖАННЯ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ВОДНИХ КОЛОЇДНИХ РОЗЧИНІВ СУМІШЕЙ ФУЛЕРЕНІВ C₆₀ І C₇₀

I. E. Serdiuk², I. V. Belochkina¹, O. P. Kryshchal², O. D. Roshal^{1,2}, I. M. Neklyudov³, B. V. Borts³, V. N. Voevodin³, V. I. Tkachenko³, B. P. Sandomirsky¹

¹Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України, Харків
²Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна

³Національний науковий центр «Харківський фізико-технічний інститут» НАН України

E-mail: alexandre.d.rochal@univer.kharkov.ua; alexandrerochal@ukr.net

Відомості про біологічну активність фулеренів і їхню токсичність досить суперечливі. Є дані про токсичність фулеренів, хоча в більшості робіт токсичність немодифікованих сполук ставиться під сумнів.

У роботі описано одержання колоїдних розчинів суміші фулеренів C₆₀ та C₇₀, досліджено хімічний склад і властивості отриманих золей. Встановлено, що з переходом від твердої фази до колоїдного розчину співвідношення фулеренів C₆₀ і C₇₀ не змінюється. Показано, що отримані золі є стійкими під час кип'ятіння на водяній бані та УФ-опромінення, однак властивості колоїдних розчинів (розмір міцел та здатність до агрегації) залежать від умов їх одержання, зокрема від часу між приготуванням проміжного толуольного розчину фулеренів та переведенням останніх у колоїдний стан.

Дослідження показали, що колоїдні розчини фулеренів мають виражені антиоксидантні властивості; при цьому вони не справляють будь-якої істотної цитотоксичної дії і не впливають на проліферацію клітинної культури.

Ключові слова: фулерени, колоїдні розчини, біологічна та антиоксидантна активність.

PREPARATION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF AQUEOUS COLLOID SOLUTIONS OF C₆₀ AND C₇₀ FULLERENE MIXTURES

I. E. Serdiuk², I. V. Belochkina¹, A. P. Kryshchal², A. D. Roshal^{1,2}, I. M. Neklyudov³, B. V. Borts³, V. N. Voevodin³, V. I. Tkachenko³, B. P. Sandomirsky¹

¹Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv

²Karazin's Kharkiv National University

³National Science Center «Kharkiv Institute of Physics and Technology» of National Academy of Sciences of Ukraine

E-mail: alexandre.d.rochal@univer.kharkov.ua; alexandrerochal@ukr.net

There is information about fullerenes biological activity and their toxicity, although in most works the toxicity of the unmodified substances is exposed to the doubt.

The preparation of colloid solutions of C₆₀ and C₇₀ fullerene mixture, as well as the chemical composition and properties of the resulted sols are described. It has been found that the ratio of fullerenes C₆₀ and C₇₀ does not change on going from a solid phase into colloid solution. It has been shown that the obtained sols are resistant for water bath boiling and UV irradiation procedures. It has been also found that the properties of colloid solutions (micelle size and ability to aggregation) depend on their preparation conditions, in particular, on the time between preparing intermediate toluene solution of fullerenes and transfer of them into colloid solution. The studies have shown that colloid solutions of fullerenes possess substantial antioxidant properties, at the same time they do not possess any noticeable cytotoxic or antiproliferative effect on cell culture.

Key words: fullerenes, colloid solutions, biological and antioxidant activities.