



(51) МПК

C07F 9/40 (2006.01)

C09C 1/44 (2006.01)

C01B 31/00 (2006.01)

C07C 23/46 (2006.01)

C07C 61/28 (2006.01)

C07D 241/12 (2006.01)

A61K 31/025 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2012128402/04, 09.07.2012

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
09.07.2012

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 09.07.2012

(43) Дата публикации заявки: 20.01.2014 Бюл. № 2

(45) Опубликовано: 10.05.2015 Бюл. № 13

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: Jeng U. S. et al, Progress in Colloid & Polymer Science, 2001, 118, 232-237, . Sawamura Masaya et al, Chemistry Letters, 2000, 9, 1098-1099, . Zhen Hu et al, Biomaterials, 2010, 31, 8872-8881, . Н.Ф. Гольдилегер и др., Известия АН, Серия Химическая, 2012, . Christie M. Sayes et al, Nano Letters, 2004, vol. 4, . RU2010150483 A, 20.06.2012

Адрес для переписки:

142432, Московская обл., г. Черноголовка, пр-кт Академика Семенова, 1, ФГБУН Институт проблем химической физики РАН (ИПХФ РАН), Директору ИПХФ РАН академику С.М. Алдошину

(72) Автор(ы):

Корнев Алексей Борисович (RU),
Хакина Екатерина Александровна (RU),
Иванчихина Анастасия Викторовна (RU),
Коновалова Нина Петровна (RU),
Разумов Владимир Федорович (RU),
Трошин Павел Анатольевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химической физики РАН (ИПХФ РАН) (RU)

(54) НАНОАГРЕГАТЫ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНОВ, СПОСОБ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ, КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ НАНОАГРЕГАТОВ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНОВ, ПРИМЕНЕНИЕ НАНОАГРЕГАТОВ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНОВ И КОМПОЗИЦИЙ НА ИХ ОСНОВЕ В КАЧЕСТВЕ БИОЛОГИЧЕСКИ-АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, ДЛЯ ПОНИЖЕНИЯ ТОКСИЧНОСТИ И УСИЛЕНИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, А ТАКЖЕ В КАЧЕСТВЕ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

(57) Реферат:

Изобретение относится к наноагрегатам водорастворимых производных фуллеренов, которые могут применяться для понижения токсичности и усиления терапевтического действия лекарств против онкологических заболеваний. Предложены наноагрегаты водорастворимых производных фуллеренов общей формулы

где $k=3-1000000000$;где значения i , l , m , X и R определяются следующими формулами:

$i=30$, $m=5$, $X=H$, $l=1$, а R - остаток тиокислоты формулы $-S(C_nH_{2n})COOH$, $n=2$ в виде калиевой соли; $i=30$, $m=5$, а $X=H$, $l=1$, R - фосфонатный

остаток $P(O)(OR^4)(OR^{4'}) (OR^{4''})$, где $R^4, R^{4'}, R^{4''}$ являются этильным радикалом; $i=30, m=5, X=Cl, l=1$, а R - арильный остаток формулы $-C_6H_4(C_nH_{2n})COOH$, где $n=3$, который может быть в виде калиевой соли; $i=35, m=8, l=0$, а R -

арильный остаток формулы $-C_6H_4(C_nH_{2n})COOH$, где $n=2$, в виде калиевой соли. Предложены новые нанонагрегаты, которые могут быть эффективны при лечении онкологических заболеваний. 2 н.п. ф-лы, 9 пр., 1 табл., 11 ил.

R U 2 5 5 0 0 3 0 C 2

R U 2 5 5 0 0 3 0 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

C07F 9/40 (2006.01)*C09C* 1/44 (2006.01)*C01B* 31/00 (2006.01)*C07C* 23/46 (2006.01)*C07C* 61/28 (2006.01)*C07D* 241/12 (2006.01)*A61K* 31/025 (2006.01)*A61P* 35/00 (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: 2012128402/04, 09.07.2012

(24) Effective date for property rights:
09.07.2012

Priority:

(22) Date of filing: 09.07.2012

(43) Application published: 20.01.2014 Bull. № 2

(45) Date of publication: 10.05.2015 Bull. № 13

Mail address:

142432, Moskovskaja obl., g. Chernogolovka, pr-kt
Akademika Semenova, 1, FGBUN Institut problem
khimicheskoy fiziki RAN (IPKhF RAN), Direktoru
IPKhF RAN akademiku S.M. Aldoshinu

(72) Inventor(s):

Kornev Aleksej Borisovich (RU),
Khakina Ekaterina Aleksandrovna (RU),
Ivanchikhina Anastasija Viktorovna (RU),
Konovalova Nina Petrovna (RU),
Razumov Vladimir Fedorovich (RU),
Troshin Pavel Anatol'evich (RU)

(73) Proprietor(s):

Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe
uchrezhdenie nauki Institut problem
khimicheskoy fiziki RAN (IPKhF RAN) (RU)

(54) **NANOAGGREGATES OF WATER-SOLUBLE FULLERENE DERIVATIVES, METHOD FOR PREPARING THEM, COMPOSITIONS BASED ON NANOAGGREGATES OF WATER-SOLUBLE FULLERENE DERIVATIVES, USING NANOAGGREGATES OF WATER-SOLUBLE FULLERENE DERIVATIVES AND BASED COMPOSITIONS AS BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS FOR REDUCING TOXICITY AND ENHANCING THERAPEUTIC ACTION OF DRUG PREPARATIONS, AND ALSO AS PREPARATIONS FOR TREATING ONCOLOGIC DISEASES**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention refers to nanoaggregates of water-soluble fullerene derivatives, which can be used for reducing toxicity and enhancing therapeutic action of drugs for oncologic diseases. There are presented nanoaggregates of water-soluble fullerene derivatives of general formula $[C_{2i}(R)_mX_l]_k$, wherein $k=3-1,000,000,000$; wherein the values i, l, m, X and R are described by the following formulas: $i=30, m=5, X=H, l=1$, while R is a residue of thioic acid of formula $-S(C_nH_{2n})COOH, n=2$ in the form of potassium salt; $i=30, m=5, X=H, l=1, R$ is a phosphonate residue of

$P(O)(OR^4)(OR^{4'}) (OR^{4''})$, wherein $R^4, R^{4'}, R^{4''}$ are ethyl radical; $i=30, m=5, X=Cl, l=1$, while R is an aryl residue of formula $-C_6H_4(C_nH_{2n})COOH$, wherein $n=3$, which can be presented in the form of potassium salt; $i=35, m=8, l=0$, while R is an aryl residue of formula $-C_6H_4(C_nH_{2n})COOH$, wherein $n=2$, in the form of potassium salt.

EFFECT: there are presented new nanoaggregates, which can be effective in treating the oncologic diseases.

2 cl, 9 ex, 1 tbl, 11 dwg

Наноагрегаты водорастворимых производных фуллеренов и их применение для понижения токсичности и усиления терапевтического действия противоопухолевого препарата рубоксила.

Изобретение относится к химической и фармацевтической отраслям промышленности, а именно к наноагрегатам на основе водорастворимых производных фуллеренов C_{60} и C_{70} . Изобретение может найти применение в производстве фуллеренсодержащих лекарственных препаратов, а также средств доставки лекарственных соединений других классов.

Фуллерены и их производные проявляют выраженную противовирусную, противоопухолевую, нейропротекторную, антиамилоидную и другие активности [Л.Б. Пиотровский, О.И. Киселев. Фуллерены в биологии. СПб, Росток, 2006]. Уникальное сочетание мембранотропных и амфифильных свойств функционализированных фуллеренов, определяющее их способность легко проходить через клеточные мембраны, благоприятствуют созданию эффективных лекарственных средств на основе этого класса соединений. Кроме того, фуллерены могут быть использованы в качестве средств улучшенной доставки других лекарственных препаратов в живые ткани и клетки.

Наряду с химическим строением производных фуллеренов, важнейшим фактором, определяющим их биологические свойства, является состояние этих соединений в водном растворе. Большинство водорастворимых производных фуллеренов являются амфифильными, то есть содержат в своей структуре фрагменты с выраженными полярными (гидрофильными) и неполярными свойствами. Известно множество различных форм, в которых соединения фуллеренов существуют в водном растворе: плотные сферы, везикулы, иглы, стержни и тубулы размером от единиц нанометров до единиц микрометров [D. M. Guldi, F. Zerbetto, V. Georgakilas, M. Prato. Ordering Fullerene Materials at Nanometer Dimensions. Acc. Chem. Res., 2005, 38, 38-43]. Тем не менее состояние в растворе большинства соединений, для которых исследована биологическая активность, остается неизвестным. Это затрудняет понимание механизмов их биологического действия и препятствует направленной разработке производных фуллеренов с требуемыми свойствами.

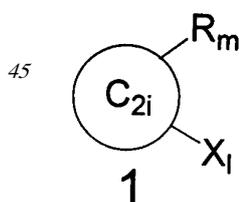
В настоящем изобретении раскрываются состав наноагрегатов водорастворимых производных фуллеренов и способ получения таких агрегатов.

Термин "водорастворимые производные фуллеренов" мы применяем к производным фуллеренов с растворимостью в воде не менее 0,1 мг/мл.

Термин "наноагрегаты производных фуллеренов" мы применяем к любым надмолекулярным структурам, образованным молекулами производных фуллеренов, независимо от их формы и строения (везикулы, мицеллы и др.), размеры которых ни по одному из измерений не превышают 1000 нм (1 мкм).

Такие агрегаты, схематически изображенные на Фиг. 1, отличаются узким распределением по размерам и легкостью их получения.

Для получения наноагрегатов в соответствии с раскрываемым изобретением могут быть использованы водорастворимые производные фуллеренов, отвечающие общей формуле 1:



где X=H или Cl;

l=0-1;

i=30, 35;

m=5 или 8,

5 R определяется следующими формулами:

- остаток тиоокислоты нормального или разветвленного строения, имеющий состав $-S(C_nH_{2n})COOH$, n=1-20;

- остаток аминокислоты нормального или разветвленного строения, имеющий состав $-NH(C_nH_{2n})COOH$, n=1-20;

10 - остаток иминокислоты нормального или разветвленного строения, имеющий состав $-N[(C_nH_{2n})COOH]_2$, n=1-20;

- остаток алифатического диамина в нейтральной $-NR^4(C_nH_{2n})NR^4'R^4''$ или ионной -

15 $NR^4(C_nH_{2n})N^+R^4'R^4''R^4'''$ формах, где n=1-20, а R^4 , R^4' , R^4'' и R^4''' - атом водорода или произвольным образом замещенный линейный или разветвленный алкильный радикал;

- остаток циклического диамина в нейтральной $-N(C_nH_{2n})NR^4$ или ионной

20 $N(C_nH_{2n})N^+R^4R^4'$ формах, где n=1-20, а R^4 и R^4' - атом водорода или произвольным образом замещенный линейный или разветвленный алкильный (C_bH_{2b+1} ; b=1-20), алкенильный (C_nH_{2n-1} ; n'=2-20) или алкинильный радикал (C_nH_{2n-3} ; n'=2-20);

25 - фосфонатный остаток $P(O)(OR^4)(OR^4')(OR^4'')$, где R^4 , R^4' , R^4'' являются атомом водорода или произвольным образом замещенным линейным или разветвленным алкильным (C_nH_{2n+1} ; n=1-20), алкенильным (C_nH_{2n-1} ; n'=2-20) или алкинильным радикалом (C_nH_{2n-3} ; n'=2-20);

- арильный фрагмент ряда бензола состава $-C_6H_4(C_nH_{2n})COOH$, где n=1-20;

- арильный фрагмент ряда бензола состава $-C_6H_4O(C_nH_{2n})COOH$, где n=1-20.

30 Наиболее близким аналогом защищаемых в данном изобретении агрегатов являются образуемые фенилированным производным фуллерена C_{60} нановезикулы, описанные в работе [S. Zhou, C. Burger, B. Chu, M. Sawamura, N. Nagahama, M. Toganoh, U. E. Hackler, H. Isobe, E. Nakamura. Spherical Bilayer Vesicles of Fullerene-Based Surfactants in Water: A Laser Light Scattering Study]. В отличие от описанных ранее фуллереновых нановезикул, в данном изобретении везикулы образованы не просто амфифильными, но
35 растворимыми в воде производными фуллеренов в соответствии со структурной формулой 1. Именно высокорастворимые в воде соединения фуллеренов являются перспективными для применения в качестве лекарственных средств благодаря их низкой токсичности и выраженной биологической активности.

40 Фуллереновые наноагрегаты в соответствии с описываемым изобретением в растворах находятся в равновесии с соответствующими мономерными формами (примеры 4, 5). Поэтому в таких системах производные фуллеренов могут проявлять как индивидуальные свойства отдельных молекул (например, связывание с молекулярными мишенями), так и свойства, присущие наночастицам - способность
45 проникать через различные биологические барьеры и транспортировать другие химические вещества.

Защищается также способ получения наноагрегатов водорастворимых производных фуллеренов. Он основан на переводе в водный раствор производных фуллеренов, описываемых структурной формулой 1, в зависимости от их свойств либо

непосредственно, либо в виде водорастворимых солей с органическими или неорганическими кислотами или основаниями.

Получение наноагрегатов производных фуллеренов без их трансформации в водорастворимые соли может проводиться при растворении образцов производных фуллерена в воде или водных средах (в том числе буферных растворах) либо напрямую, либо с помощью вспомогательного органического растворителя, который удаляется после образования наночастиц (пример 5).

Если для получения водного раствора фуллереновых наноагрегатов требуется осуществить перевод соединений фуллеренов в соответствующие соли, то он может осуществляться различными способами. Для получения препаратов фуллереновых нановезикул могут использоваться заранее приготовленные соли, или же перевод соединений фуллеренов в соли может происходить одновременно с растворением их в водной среде, содержащей требуемый реагент (кислоту или основание). В последнем случае может также использоваться полярный органический растворитель, облегчающий процесс образования соли (пример 4).

Прототипом используемого метода получения является метод получения наноагрегатов ("бакисом") из амфифильных гексааддуктов фуллерена C₆₀ [R. Partha, L.R. Mitchell, J.L. Lyon, P.P. Joshi, J.L. Conyers. Buckysomes: Fullerene-Based Nanocarriers for Hydrophobic Molecule Delivery. ACS Nano, 2, 9, 1950-1958]. Используемый в данной работе метод получения фуллереновых агрегатов основан на растворении производного фуллерена в растворе цитратного буфера с использованием интенсивного перемешивания. Отличием способа получения нановезикул в соответствии с данным изобретением является то, что формирование наночастиц из производных фуллеренов общих формул 1-6 является самопроизвольным и не требует дополнительных воздействий на раствор.

Получаемые указанным способом наноагрегаты производных фуллеренов образуют стабильные и прозрачные (т.е. не рассеивающие свет) водные растворы, устойчивые при хранении в темноте в течение нескольких месяцев. Растворы, содержащие такие наночастицы, способны растворять не растворимые в воде липофильные вещества, например органические и неорганические красители (фталоцианины). Таким образом, наноагрегаты производных фуллеренов могут быть использованы для солюбилизации и транспорта других веществ.

Описываемые в данном патенте наноагрегаты производных фуллерена могут найти широкое применение в медицине и фармацевтике, в частности в составе лекарственных препаратов. Лекарственное действие при этом могут оказывать как сами производные фуллеренов, описываемых формулой 1, находящиеся в виде агрегатов или присутствующих в равновесии с ними мономерных форм, так и другие биологически активные вещества, находящиеся в составе фуллереновых наночастиц в растворенном виде или в виде комплекса с образующими наноагрегаты молекулами производных фуллерена общей формулы 1. Улучшенные терапевтические свойства при применении композиций агрегатов производных фуллеренов с биологически активными веществами обеспечивается высокими мембранотропными и транспортными свойствами наночастиц производных фуллеренов.

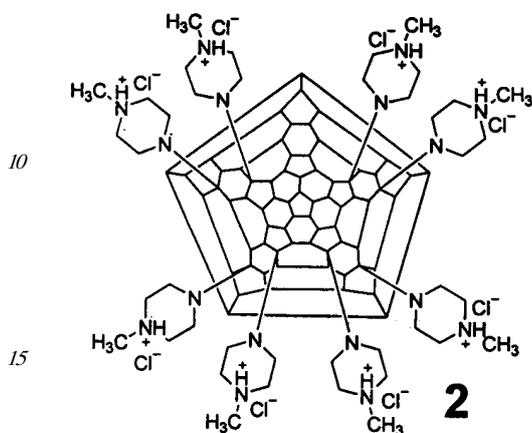
Возможность практического применения заявляемых наноагрегатов производных фуллеренов в качестве противоопухолевых препаратов иллюстрируется примером 6.

Данное изобретение иллюстрируется, но никак не ограничивается следующими примерами.

Пример 1.

Аминопроизводное фуллерена C₇₀ 2 (20 мг, 0,0103 ммоль) растворяли в 5 мл бидистиллированной или деионизованной воды. Полученный прозрачный раствор коричнево-красного цвета выдерживали при комнатной температуре в течение 3 часов, при этом распределение по размерам образовавшихся наноагрегатов принимало

5 равновесное значение.



Методом динамического светорассеяния было изучено распределение по размерам наноагрегатов, образованных производным 2. Полученные результаты представлены

20 на Фиг. 2. В растворе присутствуют наноагрегаты со средним размером 21 и 92 нм, а также ассоциаты из этих наноагрегатов с размером 4-10⁴ нм.

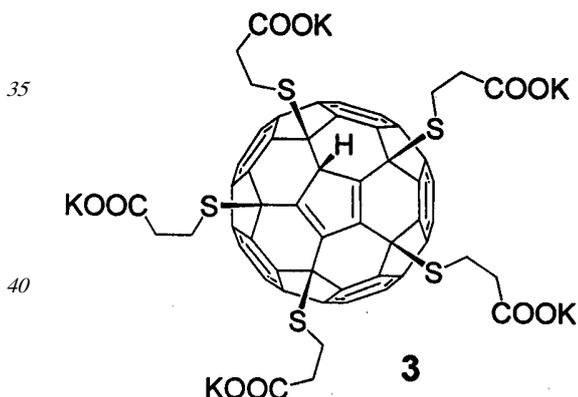
Полученные растворы наноагрегатов производного 2 стабильны при хранении в течение 6 месяцев, при этом не наблюдается изменения цвета раствора или выпадения осадка, а результаты определения размера частиц методом динамического

25 светорассеяния дают те же результаты, что и для свежеприготовленных растворов.

Пример 2.

По способу, указанному в примере 1, был получен водный раствор соединения 3 с концентрацией 4 мг/мл. Методом динамического светорассеяния (ДРС) было

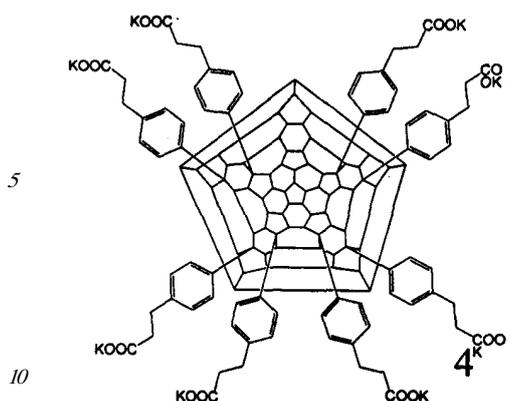
30 установлено распределение по размерам наноагрегатов, образованных соединением 3 (Фиг. 3). В растворе соединения присутствуют в основном наноагрегаты со средним размером частиц около 85 нм и узким распределением частиц по размеру (стандартное отклонение 13 нм).



Пример 3.

По способу, указанному в примере 1, был получен раствор соединения 4 (4 мг/мл) в натрий-фосфатном буфере (PBS, pH 6,8). При помощи метода динамического светорассеяния было определено распределение по размерам частиц для нановезикул, образованных указанным производным фуллерена C₇₀.

45

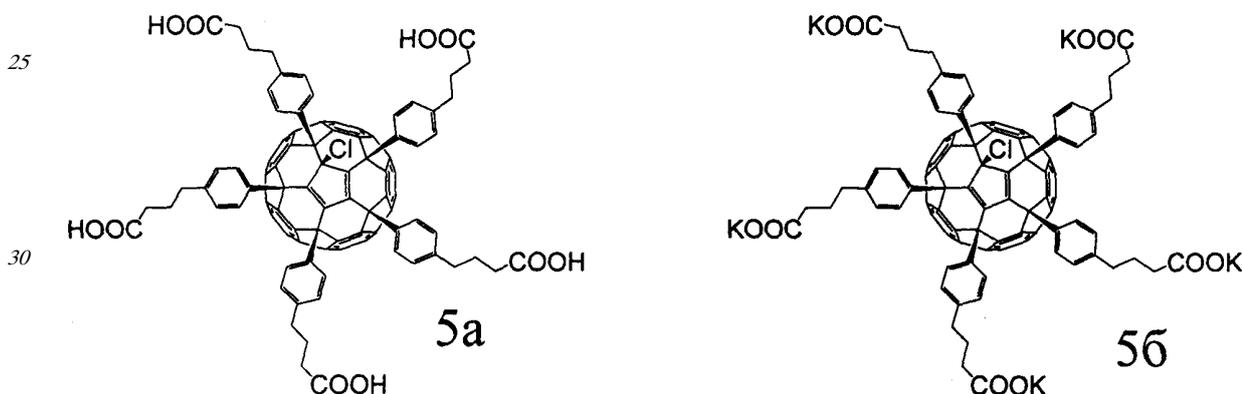


Полученные результаты представлены на Фиг. 4. Наноагрегаты производного фуллерена имеют средний размер 100 нм и узкое распределение по размерам (стандартное отклонение 15 нм).

15 Пример 4.

Арилированное поликарбоксылное соединение фуллерена C_{60} 5a (17,84 мг, 0,0113 ммоль) растворяли в 5 мл водного раствора, содержащего стехиометрическое количество карбоната калия (3,90 мг, 0,0565 ммоль) для перевода соединения 5a в калиевую соль 5б. Для облегчения растворения фуллереновой кислоты в воде может использоваться органический соразтворитель (тетрагидрофуран, этанол, метанол, ацетон, объем 1-5

20 мл), который в последующем удаляется. В получившемся растворе, содержащем наночастицы производного 5б, был определен размер частиц методом ДРС. Полученные результаты показаны на Фиг. 5.



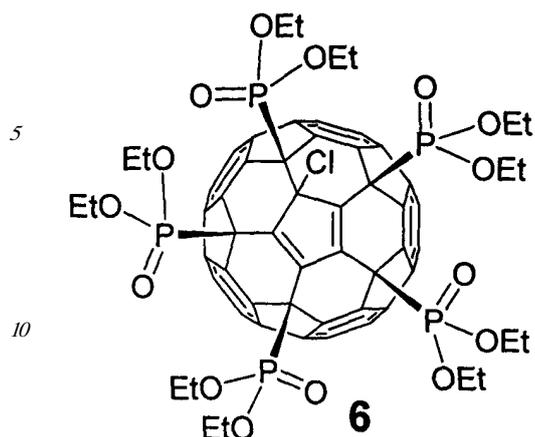
35 В растворе присутствуют во взаимном равновесии мономерная форма соединения 5б (пик с размером частиц 1,9 нм) и наноагрегаты соединения 5б со средним размером 105 нм.

Пример 5.

40 Раствор наноагрегатов фосфорсодержащего производного 6 был получен следующим образом. Раствор соединения 6 (20 мг, 0,0139 ммоль) в тетрагидрофуране или толуоле (2-3 мл) прибавили к воде (20 мл), после чего органический растворитель удалили упариванием на роторном испарителе вместе с большей частью воды. Объем водного раствора соединения 6 был доведен до 5 мл прибавлением бидистиллированной воды, после чего раствор выдерживался при комнатной температуре в течение суток для установления равновесного распределения по размеру частиц.

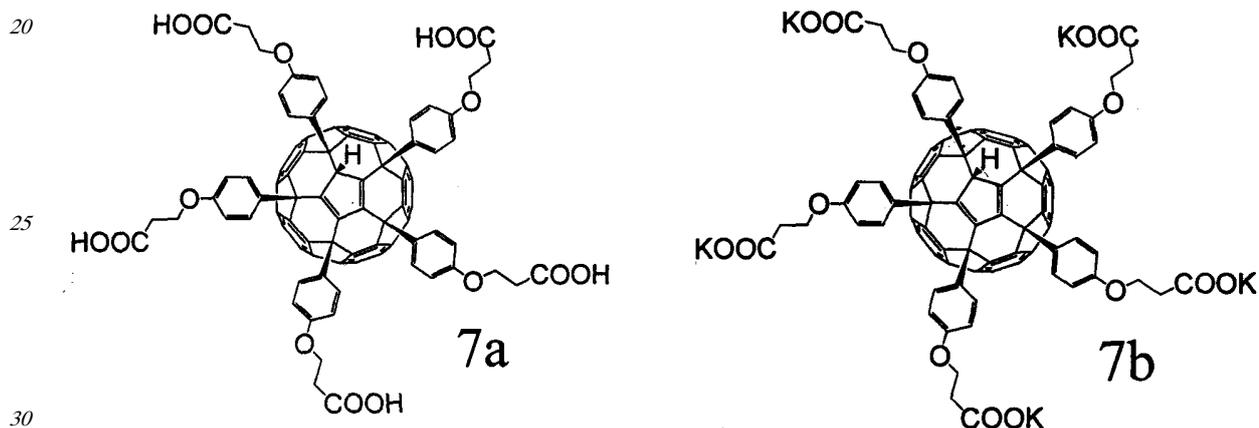
45 По данным динамического светорассеяния было установлено (Фиг. 6), что в полученном растворе присутствует мономерная форма соединения 6 (пик, соответствующий частицам со средним гидродинамическим размером 2,3 нм), наноагрегаты производного 6 со средним размером частиц 97 нм и небольшое

количество меньших агрегатов с размером около 10 нм.



Пример 6.

15 Арилированное поликарбоксылное соединение фуллерена C_{60} 7a (15,47 мг, 0,01 ммоль) растворяли в 5 мл водного раствора, содержащего стехиометрическое количество карбоната калия (3,45 мг, 0,025 ммоль) для перевода соединения 7a в калиевую соль 7b. В получившемся растворе, содержащем наночастицы производного 7b, был определен размер частиц методом ДРС. Полученные результаты показаны на Фиг. 7.



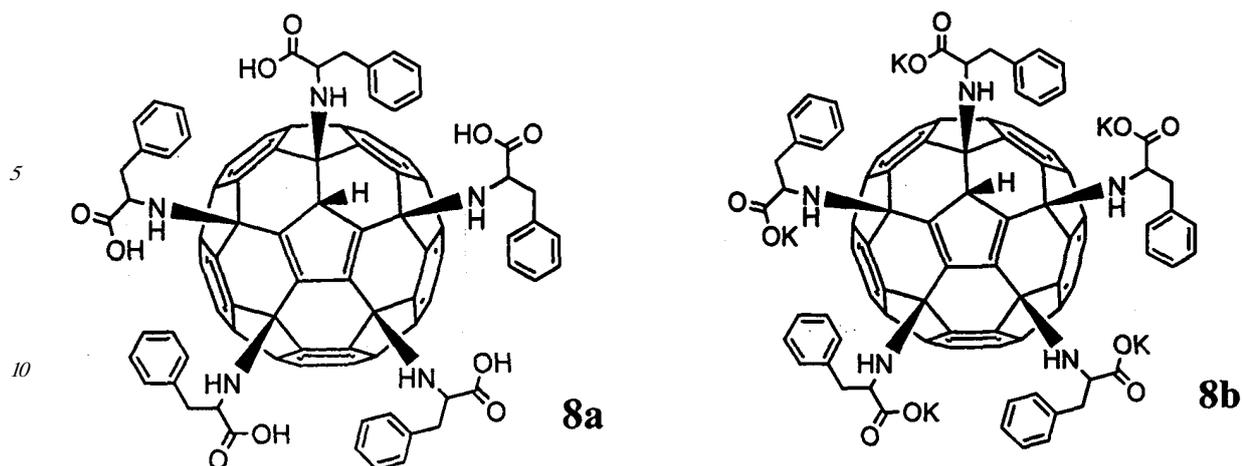
В растворе 7b присутствуют лишь наноагрегаты, обладающие узким распределением по размерам: 120 ± 20 нм.

Пример 7.

35 Водорастворимое производное соединения фуллерена C_{60} 8a (15,42 мг, 0,01 ммоль) с присоединенными аминокислотными остатками фенилаланина растворяли в 5 мл водного раствора, содержащего стехиометрическое количество карбоната калия (3,45 мг, 0,025 ммоль) для перевода соединения 8a в калиевую соль 8b. В получившемся растворе, содержащем наночастицы производного 8b, был определен размер частиц методом ДРС. Полученные результаты показаны на Фиг. 8.

40

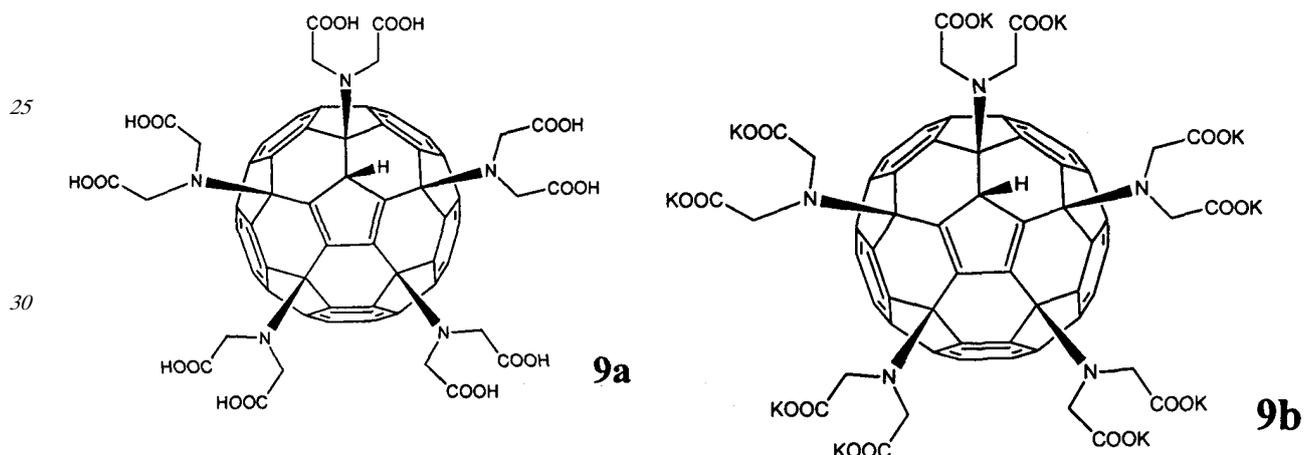
45



В растворе присутствует мономолекулярная форма соединения в равновесии с
наноагрегатами со средними размерами 8 нм и 54 нм.

Пример 8.

Водорастворимое производное соединения фуллера C₆₀ 9a (13,82 мг, 0,01 ммоль)
с присоединенными остатками иминодиуксусной кислоты растворяли в 5 мл водного
раствора, содержащего стехиометрическое количество карбоната калия (6,90 мг, 0,05
ммоль) для перевода соединения 9a в калиевую соль 9b. В получившемся растворе,
содержащем наночастицы производного 9b, был определен размер частиц методом
ДРС. Полученные результаты показаны на Фиг. 9.



В растворе присутствуют лишь наноагрегаты, обладающие узким распределением
по размерам: 40 ± 12 нм.

Пример 9.

Возможность применения наноагрегатов на основе водорастворимых производных
фуллеренов в медицине, в частности в терапии злокачественных новообразований,
иллюстрируется следующим примером.

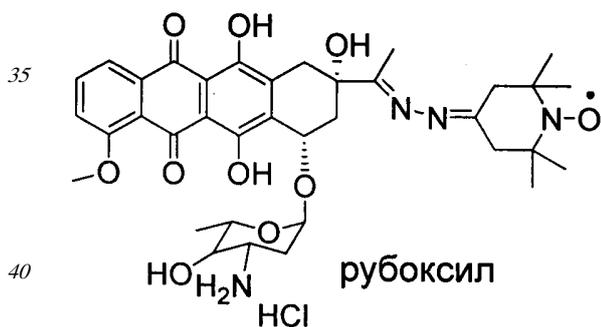
Наноагрегаты производного 3, содержащие противоопухолевый антибиотик
рубоксил, были получены совместным растворением в воде указанных соединений в
воде в мольном соотношении 1:1. Заметим, что химического взаимодействия между
соединением 3 и рубоксилом не происходит, что подтверждается хроматографическим
выделением каждого из компонентов в неизменном виде. Определение размеров частиц
методом ДРС показало присутствие трех групп нанокластеров со средними размерами
3.1 нм, 15.1 нм и 79 нм (Фиг. 10). Используя стандартные формулы объема сферы
применительно к одной молекуле производного фуллера ($r = 0.7$ нм) и

соответствующим кластерам, можно легко оценить максимально возможное число молекул в кластере (т.е. величину k). Так, наименьшие по размеру кластеры (средний размер 3.1 нм) состоят из 30-200 молекул. А наибольшие (средний размер 79 нм, распределение от 50 до 150 нм) содержат от 300 000 до 10 000 000 молекул.

Заметим, что чистый рубоксил не дает наноагрегатов, обнаруживаемых методом ДРС. Чистое соединение 3 дает лишь один основной тип наноагрегатов со средним размером частиц 85 нм (пример 2, Фиг. 3) и чрезвычайно узким распределением по размерам. Значительное уширение распределения по размерам, наблюдаемое для наноагрегатов производного фуллерена 3, содержащих противоопухолевый антибиотик рубоксил, а также существенный вклад меньших по размеру кластеров (средние размеры 3.1 нм и 15.1 нм) свидетельствуют о структурной перестройке наночастиц в результате включения в них рубоксила.

В то же время люминесценция рубоксила и производного фуллерена 3 оказывается почти полностью потушенной в составе наноагрегатов. Наблюдаемый эффект проиллюстрирован на Фиг. 11. Рубоксил дает мощную красную люминесценцию (сплошная линия 1 на Фиг. 11). Производное фуллерена 3 характеризуется значительно более слабой оранжевой люминесценцией (пунктирная линия 2 на Фиг. 11). А в случае наноагрегатов на основе производного фуллерена 3 и рубоксила (линия 3 на Фиг. 11) люминесценция потушена более чем в 20 раз по сравнению с чистым рубоксисом и почти в 4 раза по сравнению с чистым соединением 3. Наблюдаемое тушение люминесценции можно объяснить эффективным фотоиндуцированным разделением зарядов в системе рубоксил-производное фуллерена 3, что возможно лишь в случае стерической близости молекул хромофора и тушителя в составе наноагрегатов. Таким образом, данные флуоресцентной спектроскопии также свидетельствуют об образовании гибридных наноагрегатов на основе производного фуллерена 3, содержащих противоопухолевый антибиотик рубоксил.

Общая токсичность полученных наноагрегатов была изучена на мышах-гибридах линии BDF1 (внутрибрюшинное введение препарата) и составила: непереносимая доза $LD_{100}=400$ мг/кг, среднесмертельная доза $LD_{50}=250$ мг/кг, максимальная переносимая доза МПД = 200 мг/кг. Необходимо особо подчеркнуть существенное понижение токсичности комбинированного препарата по сравнению с исходным антибиотиком (LD_{50} для чистого рубоксила составляет 45 мг/кг).



Использованные режимы изучения противоопухолевой активности на мышинной модели лейкемии P388 и полученные результаты приведены в таблице 1.

Видно, что препарат на основе наноагрегатов производных фуллерена превосходит по активности рубоксил. Число излеченных животных при использовании режима внутрибрюшинного введения наноагрегатов на 1, 4, и 7 сутки после трансплантации опухоли превышает 60%, а увеличение средней продолжительности жизни составляет 155%. Для рубоксила эти величины значительно ниже и составляют 13% и 104%,

соответственно.

Таким образом, наноагрегаты производных фуллерена и противоопухолевых препаратов могут быть использованы в качестве противораковых средств, обладающих улучшенными характеристиками.

5 Таблица 1. Сравнительный антилейкемический эффект рубоксила и наноагрегатов на основе соединения 3 и рубоксила

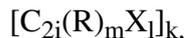
№	Препарат	Разовая доза, мг/кг	Режим введения, сутки	Количество животных в опыте	% выживших животных	СПЖ*, сутки	УПЖ**, %
1	Рубоксил	15	1;4;7	8	13	19,0	104
2	Наноагрегаты 3+рубоксил	50	1;4;7	8	63	23,7	155
3	Контроль	-	-	9	0	9,3	-

* средняя продолжительность жизни животных

** увеличение продолжительности жизни

Формула изобретения

1. Наноагрегаты водорастворимых производных фуллеренов общей формулы



где $k=3-1000000000$;

где значения i, l, m, X и R определяются следующими формулами:

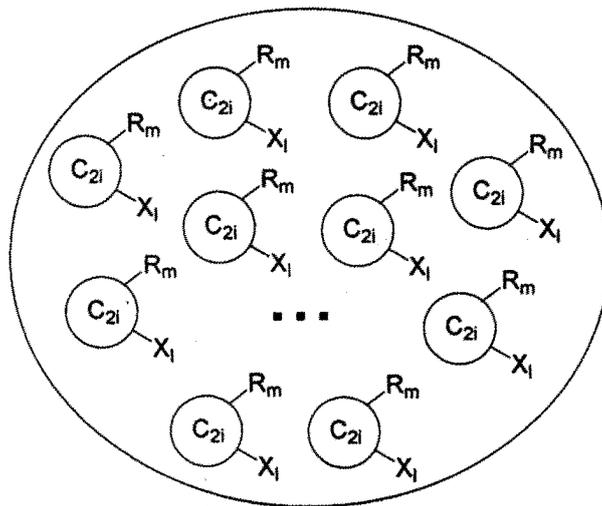
25 - $i=30, m=5, X=H, l=1$, а R - остаток тиокислоты формулы $-S(C_nH_{2n})COOH, n=2$ в виде калиевой соли;

- $i=30, m=5$, а $X=H, l=1$, R - фосфонатный остаток $P(O)(OR^4)(OR^{4'})(OR^{4''})$, где $R^4, R^{4'}, R^{4''}$ являются этильным радикалом;

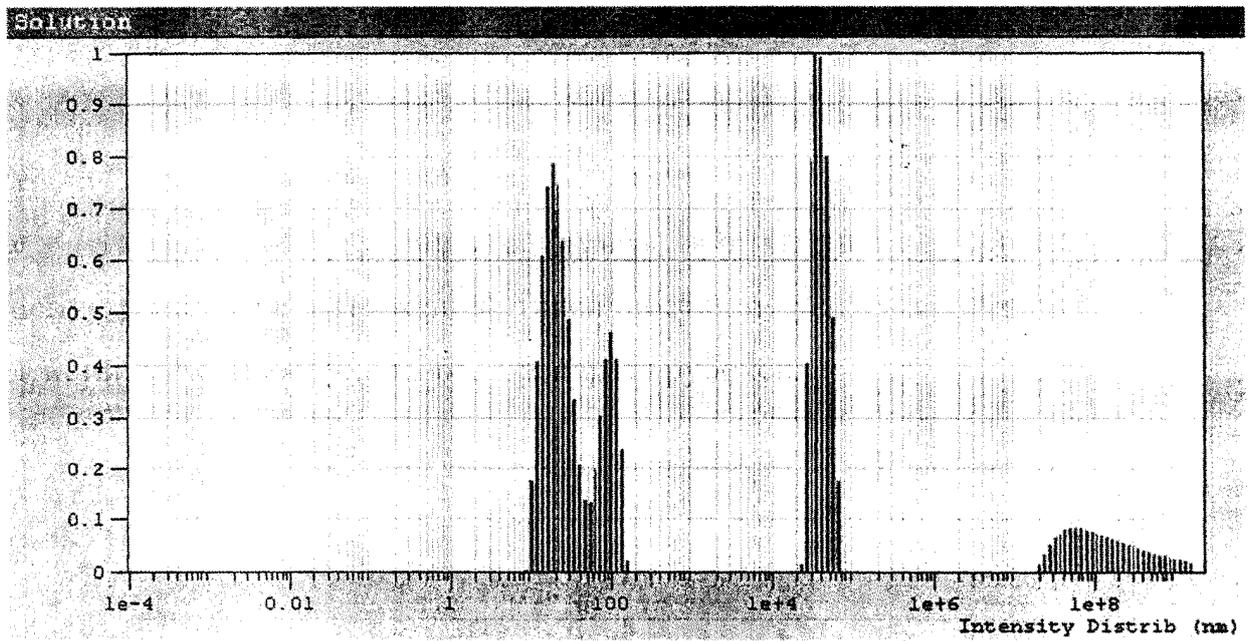
30 - $i=30, m=5, X=Cl, l=1$, а R - арильный остаток формулы $-C_6H_4(C_nH_{2n})COOH$, где $n=3$, который может быть в виде калиевой соли;

- $i=35, m=8, l=0$, а R - арильный остаток формулы $-C_6H_4(C_nH_{2n})COOH$, где $n=2$, в виде калиевой соли.

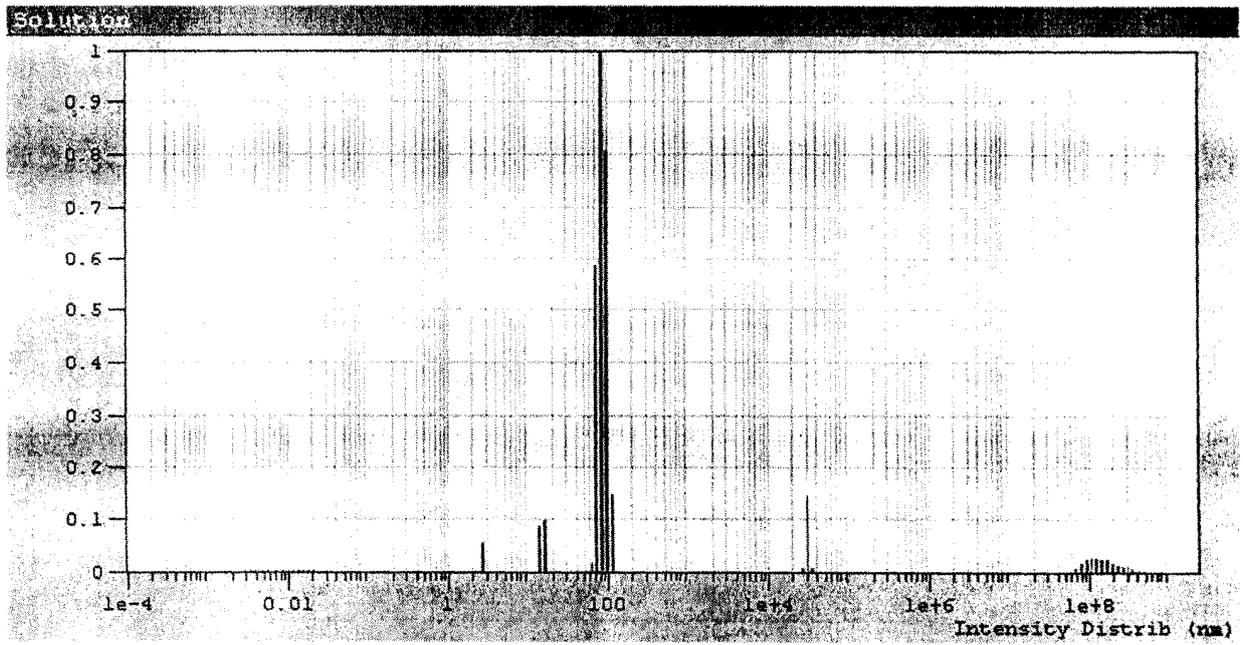
2. Применение наноагрегатов водорастворимых производных фуллеренов по п.1 35 состава $[C_{2i}(R)_mX_l]_k$, где $k=30-10000000, i=30, m=5, X=H, l=1$, а R - остаток тиокислоты формулы $-S(C_nH_{2n})COOH, n=2$ в виде калиевой соли для понижения токсичности и усиления терапевтического действия противоопухолевого антибиотика рубоксила.



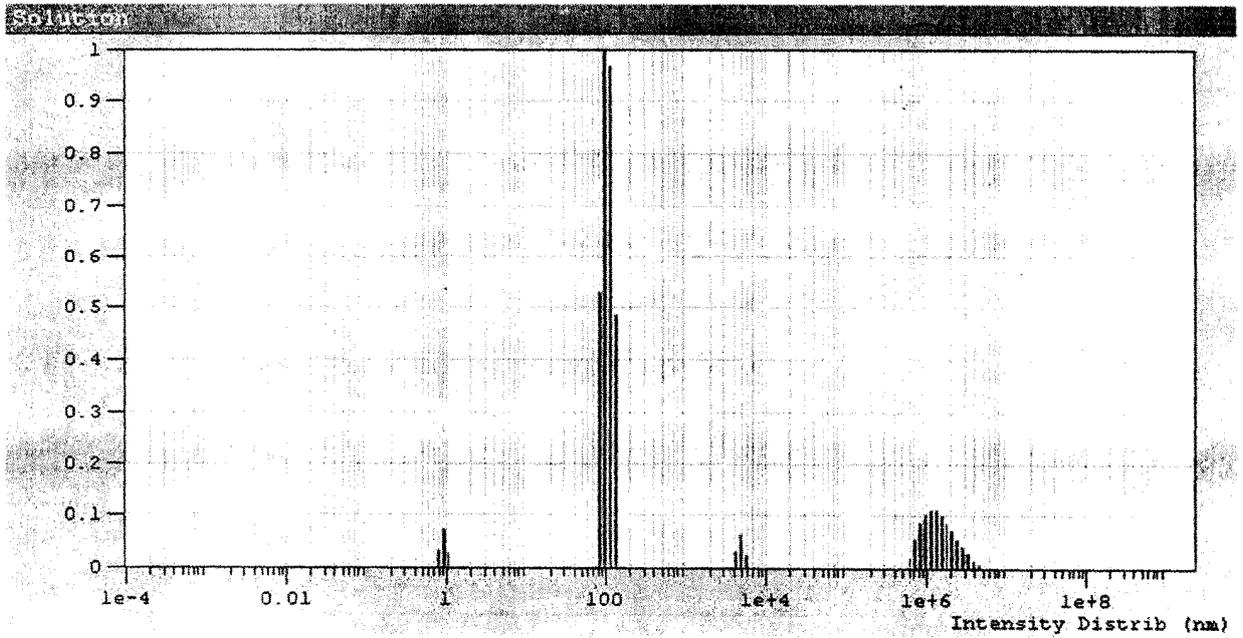
Фиг. 1



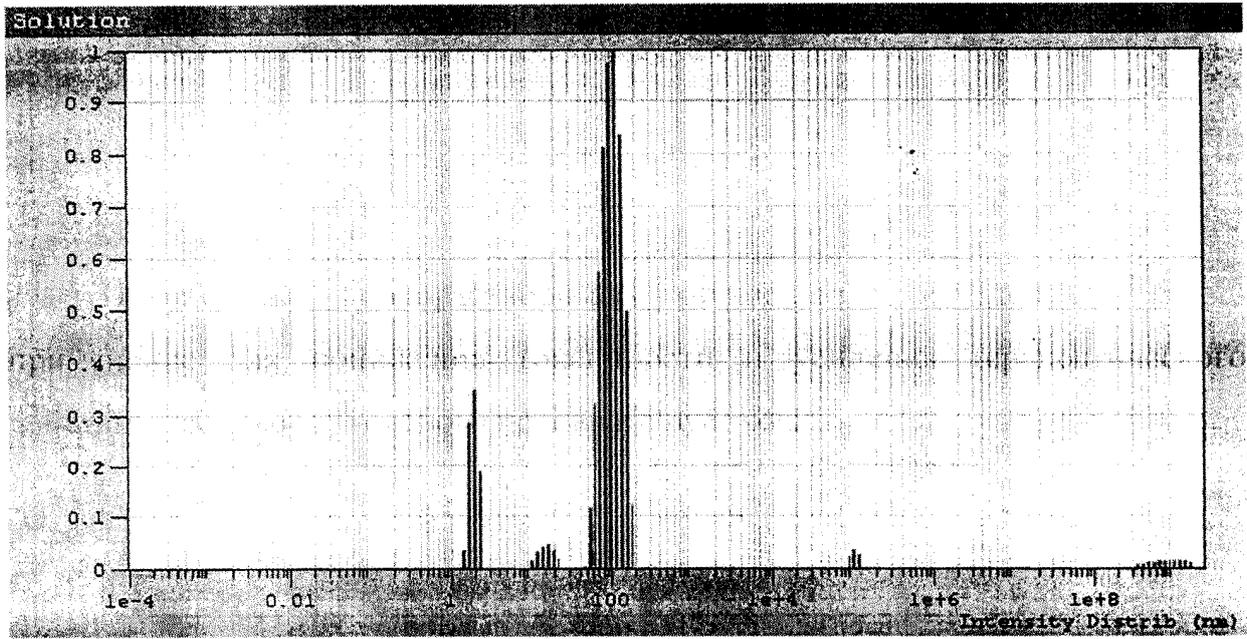
Фиг. 2



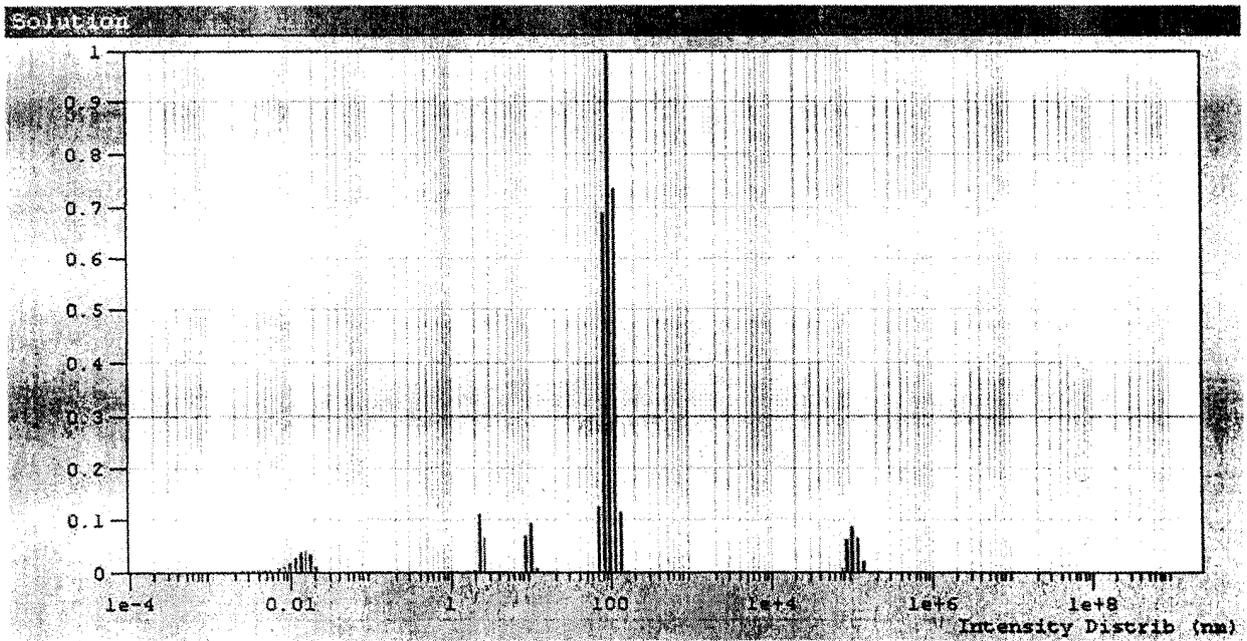
Фиг. 3



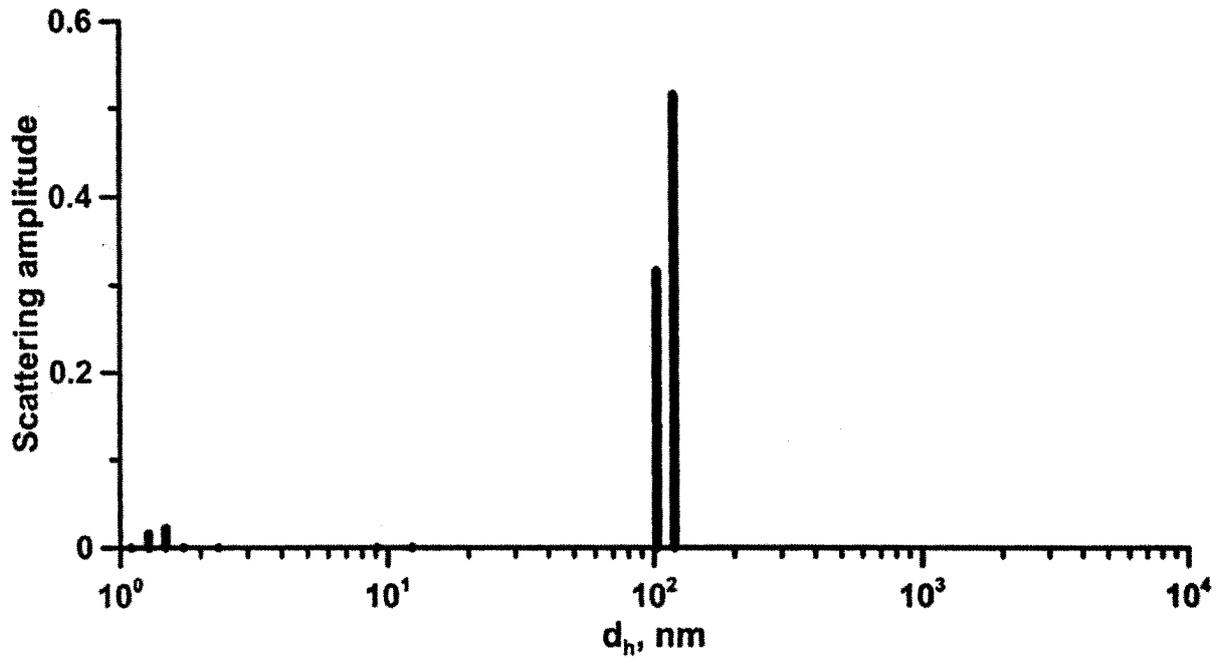
Фиг. 4



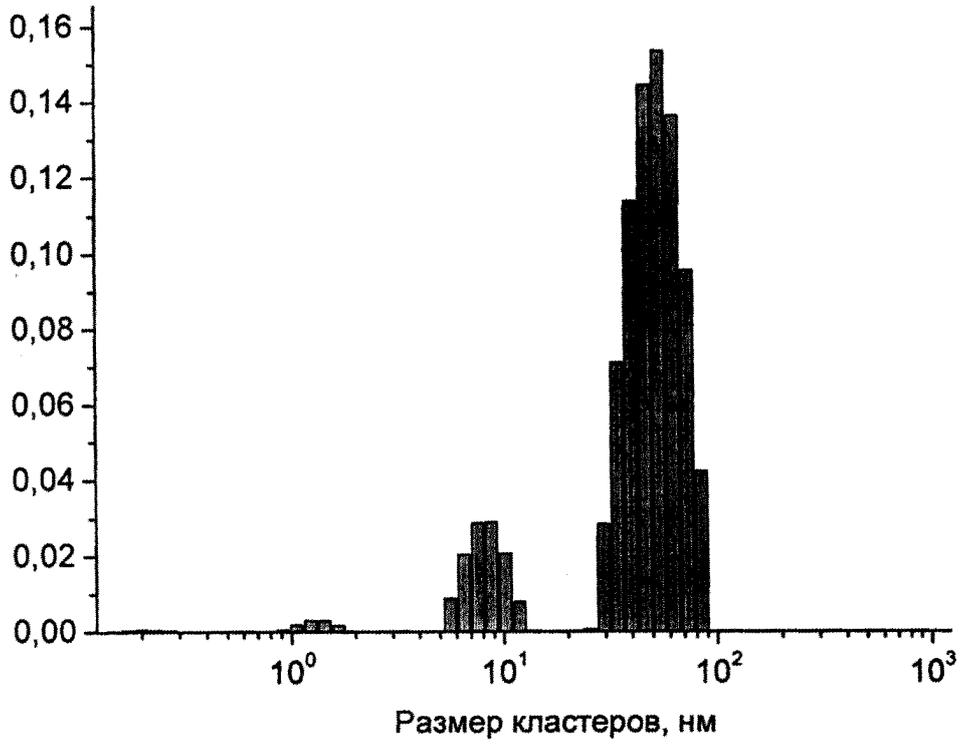
Фиг. 5



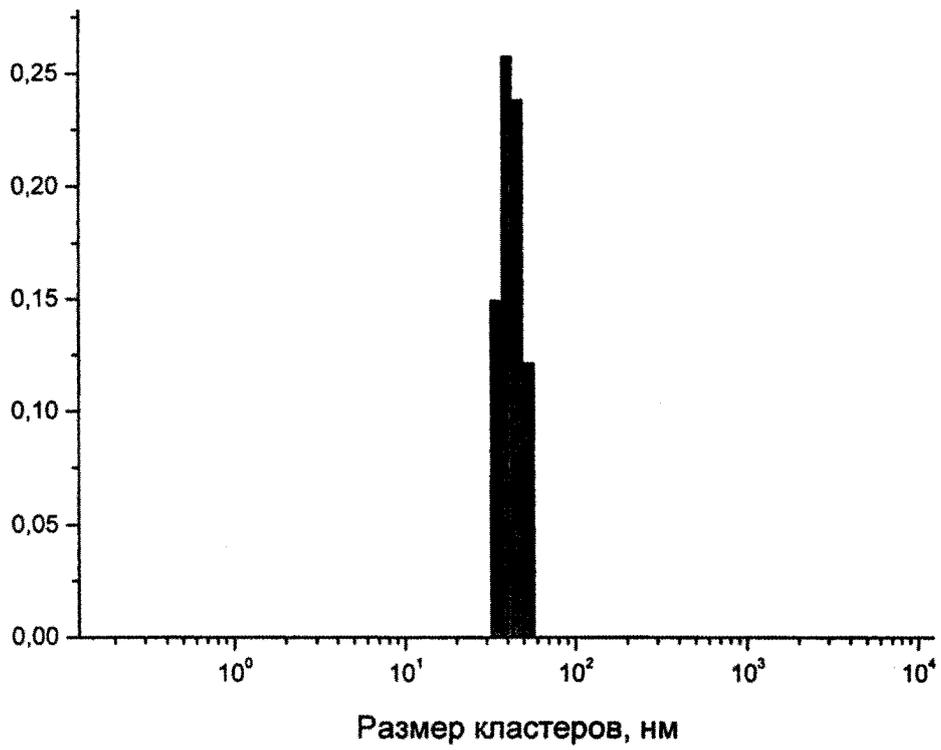
Фиг. 6



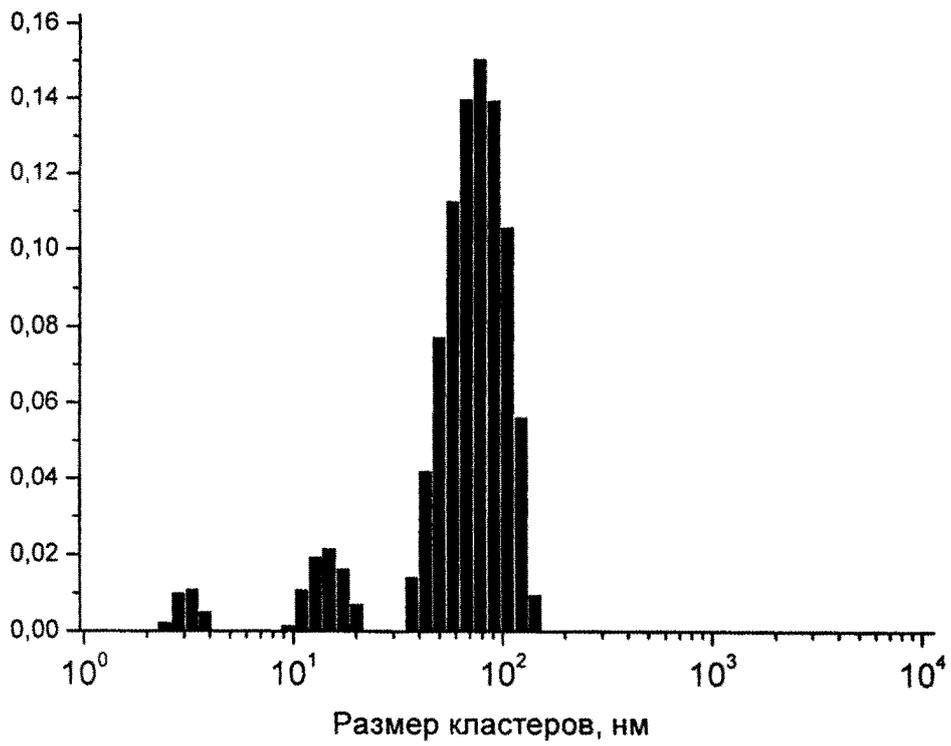
Фиг. 7



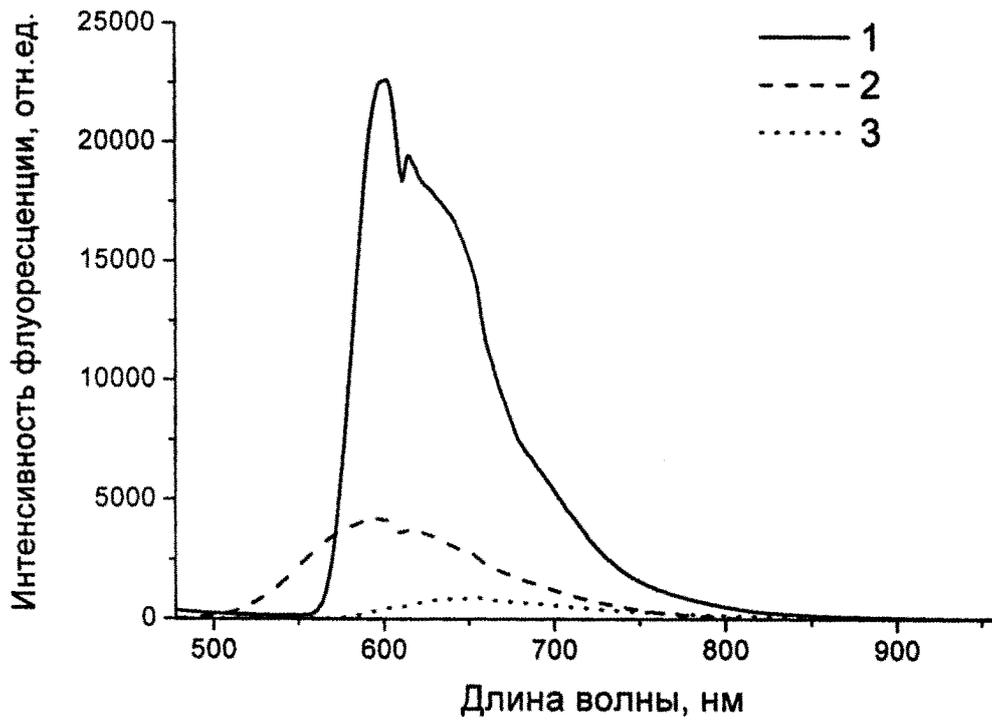
Фиг. 8



Фиг. 9



Фиг. 10



Фиг. 11