

Fulerenol $C_{60}(OH)_{24}$ kot potencialna učinkovina

Fullerenol $C_{60}(OH)_{24}$ as a potential drug

Rade Injac, Nina Kočevar, Borut Štrukelj

Povzetek: Fulereni predstavljajo relativno novo skupino spojin, za katere je značilna sferična prostorska ureditev, zgrajeni pa so izključno iz ogljikovih atomov. Od njihovega odkritja leta 1985 intenzivno raziskujejo fizikalne in kemijske lastnosti ter biološko uporabnost fulerenov in njihovih derivatov. V *in vitro* in *in vivo* modelih so se kot potencialni antioksidanti v bioloških sistemih pokazali polihidroksilirani fulerenovi derivati, C_{60} -fulerenoli ($C_{60}(OH)_n$, $n = 2-28$). V članku predstavljamo pregled do sedaj objavljenih raziskav o biološki aktivnosti fulerenov s posebnim poudarkom na najbolj proučenem fulerenolu $C_{60}(OH)_{24}$.

Ključne besede: fulereni, fulerenoli, antioksidanti

Abstract: Fullerenes are a relatively new group of compounds and represent a class of sphere-shaped molecules made exclusively of carbon atoms. Since their discovery in 1985, many aspects of both fullerene and its analogues have been intensively studied to reveal their physical and chemical reactivity, as well as potential use in biological systems. Both *in vitro* and *in vivo* studies have shown that polyhydroxylated fullerene derivatives, fullerenols ($C_{60}(OH)_n$, $n = 2-28$), can be potential antioxidative agents in biological systems. The article represents a review of published investigations of fullerenes' biological activities with special emphasis on the most examined fullereneol $C_{60}(OH)_{24}$.

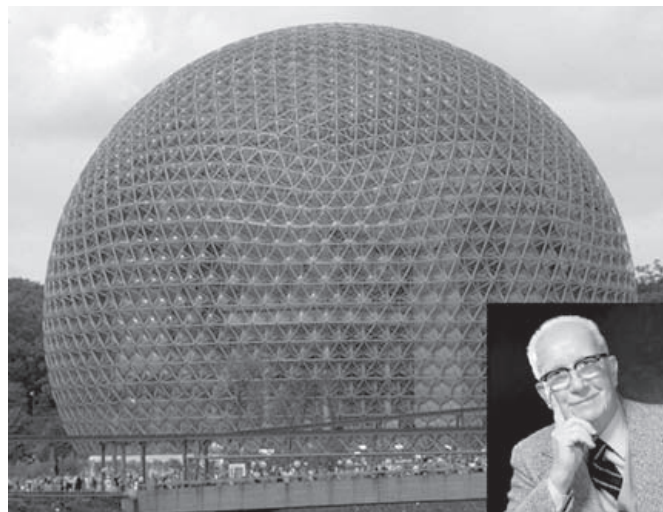
Keywords: fullerene, fullerenols, antioxidants

1 Uvod

Fulereni ali klastične oblike ogljika so novoodkrita, tretja alotropska modifikacija ogljika. Ime so dobili po arhitektu Buckminsterju Fullerju, ki je pri projektiranju Geodezijskega doma v Montrealu v konstrukcijo kupole ameriškega paviljona EXPO 1967 vklopil heksagonske in pentagonske strukture (slika 1). Leta 1996 so Robert F. Curl, Harold W. Kroto in Richard E. Smalley prejeli Nobelovo nagrado s področja kemije za odkritje in rešitev strukture najbolj znanega predstavnika fulerenov, molekule C_{60} (1).

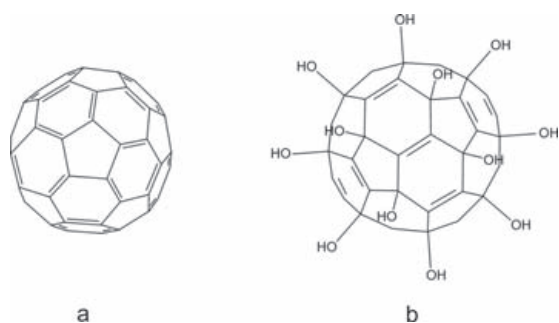
Vsak fuleren je sestavljen iz $2 \times (10 + M)$ ogljikovih atomov ($M \geq 0$) s konstantnim številom 12 pentagonov. Fuleren C_{60} ali [5,6]-fuleren-60- I_h ima simetrijo priskekanega ikozaedra z osjo simetrije pete vrste (7).

Fuleren C_{60} je v nasprotju z diamantom in grafitom kemijsko zelo reaktiven (2, 3). Z modifikacijo fulerena C_{60} so dobili številne vodotopne biološko aktivne molekule, med katerimi so se kot najbolj zanimivi v *in vitro* in *in vivo* raziskavah pokazali polihidroksilirani fulerenovi derivati, C_{60} -fulerenoli ($C_{60}(OH)_n$, $n = 2-28$). V dosedanjih raziskavah na kemijskih in bioloških modelnih sistemih so pokazali izredno visoko antioksidativno aktivnost (4-6). Zgradbi fulerena C_{60} in fulerenola $C_{60}(OH)_{24}$ sta prikazani na sliki 2.



Slika 1: Arhitekt Buckminster Fuller, v ozadju kupola za ameriški paviljon EXPO 1967 v Montrealu

Figure 1: Architect Buckminster Fuller and his construction of American pavilion EXPO 1967 in Montreal

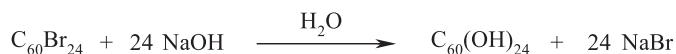


Slika 2: Zgradbi fulerena C_{60} (a) in fulerenola $C_{60}(OH)_{24}$ (b)

Figure 2: Structures of fullerene C_{60} (a) and fullerol $C_{60}(OH)_{24}$ (b)

2 Sinteza fulerenola $C_{60}(OH)_{24}$

Fulerenol $C_{60}(OH)_{24}$ sintetiziramo po originalnem postopku (8):



Čeprav postopek ni preveč zahteven, je pridobivanje produkta s stopnjo čistote nad 95 odstotkov zelo težavno. Sinteza poteka v naslednjih korakih: 150 mg $C_{60}Br_{24}$ zmešamo s 5 mL 0,1 M raztopine NaOH. Ob sprotneem zniževanju pH z dodajanjem 0,1 M HCl do pH 4,5 mešamo raztopino 30 minut pri sobni temperaturi. Raztopino nato uparimo do suhega pod znižanim tlakom pri 40 °C. Reakcijsko zmes spiramo trikrat s 25 mL metanola in dvakrat s 25 mL vodne raztopine etanola (1 : 1; v/v). Na koncu speremo fulerenol s 50 mL prečiščene vode in nato sušimo pri 50 °C (8).

3 Lastnosti fulerenola $C_{60}(OH)_{24}$

Fulerenol $C_{60}(OH)_{24}$ je rjava, amorfna, higroskopna praškasta spojina. V vodi je zmerno topen (do 10 mg/mL). Stabilen je pri dnevni svetlobi in sobni temperaturi. S kovinskimi ioni tvori rjavo oborino. V kislem je stabilen, v alkalnem pa je prisoten v ionizirani obliki, $C_{60}(OH)_{24-n}(ONa)_n$. Vodna raztopina je rjave barve in ne daje značilnih vrhov v

UV/VIS spektru. Krivulja termostabilnosti kaže, da je spojina zelo odporna na visoke temperature (po 24 urah pri 150 °C več kot 80 odstotkov spojine ostane nespremenjene).

Točk tališča, vrelišča, vnetljivosti in sublimacije še niso določili, prav tako ne eksplozivnosti in gostote spojine. Obstoječi podatki o toksičnih učinkih obsegajo dražeče delovanje na očesno in nosno sluznico, v nekaterih primerih tudi na kožo. Fulerenol $C_{60}(OH)_{24}$ je zelo lahko vnetljiva spojina, ki reagira z oksidanti, halogeni in kislinami. Hidroksilne skupine v molekuli fulerenola $C_{60}(OH)_{24}$ imajo značaj terciarnih alkoholnih skupin (4, 8, 9). Shranjevat ga moramo stran od izvorov kuhinjskega plina, ognja in spojin, ki izkazujejo fizikalno-kemijsko inkopatibilnost (8, 9). Na trgu so trenutno dostopni polihidroksilirani derivati fulerena $C_{60}(OH)_n$ z različnim deležem $C_{60}(OH)_{24}$. Proizvajalci so Nano-C (ZDA), Alfa Aesar (Nemčija) in Mer Corporation (ZDA).

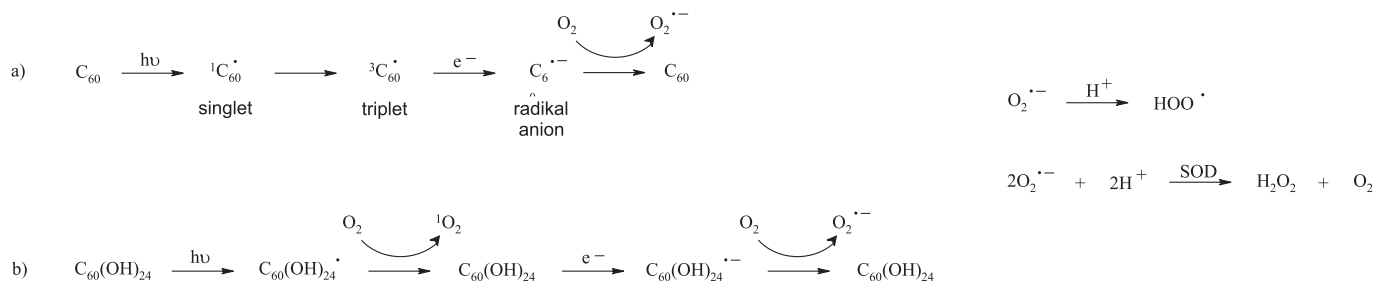
4 Biološko aktivni derivati fulerena

Čeprav so agregati fulerena C_{60} pokazali izjemno toksičnost v poskusih na človeških celicah, je toksičnost polihidroksiliranih derivatov izrazito manjša. Toksičnost je posledica nastanka superoksidnih radikalov in posledične poškodbe celične membrane (9).

Kot je prikazano v sistemu reakcij na sliki 3, je nastanek kisikovih radikalov posledica fotoekscitacije molekule C_{60} (10, 11, 12). Primarno nastaneta singletni kisik in superoksidni anion, ki povzročita nastanek vodikovega peroksida in hidroperoksidnega radikala.

Singletni kisik (1O_2) je visokoreaktivna elektrofilna neradikalaska molekula in selektivni oksidant. Zaradi velike reaktivnosti ga v atmosferi praktično ni, nastaja pa v nekaterih kemijskih reakcijah in fotokemično iz tripletnega kisika (3O_2). V zelo kratkem času (10^{-6} s) reagira z večino organskih spojin, ki so v celici: s spojinami, ki imajo z elektroni bogate dvojne vezi in tudi z lahko oksidirajočimi funkcionalnimi skupinami, kot so v sulfidih (R-S-R), fenolih in anilinih (13). 1O_2 povzroča fragmentacijo verige DNK in ga lahko uporabljamo za oksidativno uničenje bakterij (11).

Onesnaženi fulerenški derivati imajo citotoksični učinek, predvsem kadar čas tripletnega stanja traja več kot 100 μ s, kar povzroči fragmentacijo DNK in poškodbe celične membrane (14).



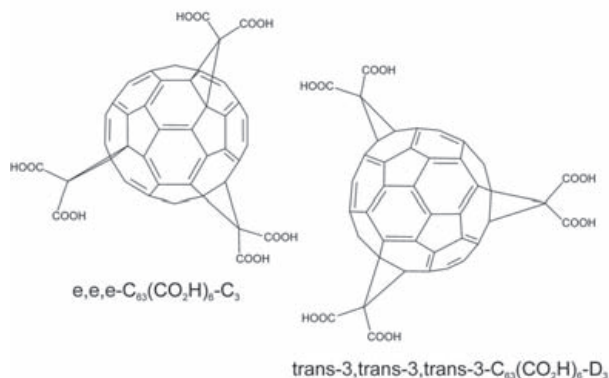
Slika 3: Fotoekscitacija molekul C_{60} (a) in $C_{60}(OH)_{24}$ (b) ter nastanek reaktivnih kisikovih zvrsti; SOD – superoksid dismutaza (10, 11, 12)

Figure 3: Photoexcitation of C_{60} (a) and $C_{60}(OH)_{24}$ (b) molecules and formation of reactive oxygen species; SOD – superoxide dismutase (10, 11, 12)

Ko se fuleren veže na molekulo DNK v pufrski raztopini, nastanejo agregati. Na podlagi tega lahko domnevamo, da bi z uvedbo ustreznih funkcionalnih skupin v molekulo fulerena dobili strukture, ki bi lahko vplivale na DNK znotraj celice, kar nakazuje na potencialno uporabo derivatov v genskem zdravljenju (15).

Pri vezavi polarnih skupin (-OH, $-NH_2$, -NHR, -COOH, -OCCOR, -NHCOR itd.) na molekulo fulerena dobimo derivate, ki so v vodi bolj topni kot lipofilna molekula C_{60} (8). Fulerenoli, polihidroksilirani derivati fulerena ($C_{60}(OH)_n$), so se pokazali kot odlične spojine za odstranjevanje radikalov. Antioksidativno aktivnost fulerenola $C_{60}(OH)_{24}$ so potrdili na kemijskem modelnem sistemu. Predpostavljeni mehanizmi delovanja vključujejo inaktivacijo hidroksilnega (OH^*) in superoksidnega radikala (O_2^*) ter dušikovega oksida (NO^*) (16, 17).

C3-karboksifulereni (*tris* in *bis* derivati; slika 4) imajo antioksidativno vlogo v dopaminergičnih delih možganov, kjer pride v patoloških razmerah do nastanka oksidativnega stresa zaradi povečane koncentracije ionov železa. S tem se odpirajo možnosti za uporabo vodotopnih derivatov fulerena v zdravljenju nevrodegenerativnih bolezni, kot sta Parkinsonova in Alzheimerjeva bolezen. Potrdili so, da lahko z injiciranjem C3-karboksifulerena zmanjšamo poškodbe, ki nastanejo na dopaminskih receptorjih po vnosu železa v intrastrialni del bazalnih ganglijev. Visok delež ionov železa v bazalnih ganglijih je vzrok za oksidativne poškodbe pri Parkinsonovi bolezni (19).



Slika 4: Zgradba karboksifulerena s parnimi karboksilnimi skupinami na površini C_{60} . Izomera prikazujeta C3 in D3 simetrijo (18).

Figure 4: Structure of carboxyfullerene with the paired carboxyl groups on the C_{60} sphere. The two isomers shown are in C3 and D3 symmetry.

C3-karboksifulereni imajo zaščitne učinke na periferne krvne mononuklearne celice. Z delnim vgrajevanjem v membrano mitohondrijev lahko preprečijo celično smrt, ki naj bi bila posledica vpliva 2-deoksi-D-riboze, dejavnika tumorske nekroze $TNF-\alpha$ in cikloheksimida (20).

Inhibitorni vpliv fulerenovega derivata dimalonke kisline na relaksacijo aorte poskusnega kunca, ki je posledica vazodilatatornega učinka dušikovega oksida, lahko pojasnimo z nastajanjem superoksida in posledično nevtralizacijo dušikovega oksida s superoksidnim anionom. Ob prisotnosti encima superoksid-

dismutaze je ta učinek prikrit. Enak učinek so opisali pri derivatih monomalonke kisline (21).

Poleg tega so C3-karboksifulereni dobri blokatorji virusne replikacije, vplivajo pa tudi na vzdrževanje ionske homeostaze v celicah (22, 23).

Mehanizem antioksidativnega učinka fulerenola temelji na katalitičnem vplivu v zaključni stopnji radikalskih reakcij oziroma na radikalsko-adicijskih reakcijah hidroksilnega radikala na dvojne vezi fulerenola, pri čemer nastanejo derivati $C_{60}(OH)_n$ ($n > 24$).

5 Biološka aktivnost $C_{60}(OH)_{24}$

V molekuli fulerenola $C_{60}(OH)_{24}$ so najbolj reaktivne dvojne vezi, ki povezujejo posamezne pentagonske strukture. Reaktivni radikali, ki so prisotni v biološkem sistemu, se po vnosu fulerenola vežejo na njegovo površino, vendar ta vezava ni kovalentna (8). Interakcija med hidroksilnim radikalom in fulerenolom temelji na radikalski adiciji hidroksilnega radikala (OH^*)_{2n} na olefinske dvojne vezi fulerenolovega ogrodja do proizvoda $C_{60}(OH)_{24} + (OH^*)_{2n}$ ($n = 1-12$). Drugi možni mehanizem je, da fulerenol odda svoj vodik radikalu OH^* , pri tem pa nastane stabilni radikal $C_{60}(OH)_{23}O^*$ (24).

Natrijev nitroprusid je donor dušikovega oksida (NO), ki ga fulerenol $C_{60}(OH)_{24}$ zelo uspešno lovi. Raztopina natrijevega nitroprusida odpušča NO pod vplivom vidne svetlobe pri sobni temperaturi ali v temi pri temperaturi 34 °C, kar je podobno razmeram v biološkem sistemu. Učinkovitost fulerenola kot lovilca NO lahko sledimo preko nitritov, ki nastanejo z oksidacijo NO. Redukcija nitrita v raztopinah je odvisna od odmerka $C_{60}(OH)_{24}$ (25).

Na mišjem gladkomišičnem tkivu so naredili primerjalno analizo antioksidativnih učinkov fulerenola in vitamina C. Fulerenol je na dveh celičnih linijah izkazoval večjo učinkovitost kot vitamin C (26). Na miših so določili tudi akutno toksičnost fulerenola po intraperitonealnem vnosu, in sicer znaša LD_{50} 1,2 g/kg (27).

V *in vitro* raziskavah s človeškimi in z živalskimi celicami različnih linij (eritrolevkemije, Burkitovega limfoma, adenokarcinoma dojke, fibroblasta pri miših, nefrona hrčka) so ugotovili antiproliferativno aktivnost fulerenola $C_{60}(OH)_{24}$. Molekula fulerenola v nanomolskih koncentracijah v prvih 48 urah inhibira rast vseh naštetih tumorskih celičnih linij, razen linije Burkitovega limfoma. Inhibicija te vrste je zelo nizka. Inhibicija rasti je reverzibilna, saj so celice po 48 urah rasti v mediju primerljive s kontrolnimi vzorci (28).

Železo iz sistema Fe^{2+} /askorbat spodbudi lipidno peroksidacijo v spermatozoidih sesalcev in pri tem poškoduje nanasičene maščobne kisline v membrani, kar povzroči nastanek oksidativnega stresa v epididimisu in testisih ter nastanek neplodnosti. Indijska strokovna skupina Murugana in sodelavcev je prva potrdila, da fulerenol $C_{60}(OH)_n$ (predvsem $C_{60}(OH)_{18}$) preprečuje z železom inducirani oksidativni stres. V raziskavah so uporabljali spermo koze (*in vitro*), kar je prvi znanstveni podatek o vplivu fulerenola na reproduktivna tkiva (29).

V raziskavi na celicah človeške eritrolevkemije K-562, obdelanih s fulerenolom $C_{60}(OH)_{24}$, so proučevali sposobnost sinteze DNK, mitotsko aktivnost in celični cikel. Sintezo in mitotsko fazo celičnega cikla so ocenili na podlagi mitotskega in proliferacijskega indeksa.

Preglednica 1

Tkivo	Dnevi po obsevanju	Aplikacija (mg/kg i.p.)					
		Brez		F (100)		A (300)	
		D	V	D	V	D	V
Tanko črevo	7	3	3	1	1	1	1
	28	5	5	2	1	4	2
Vranica	7	3	3	1	1	2	2
	28	5	5	3	2	5	4
Jetra	7	3	3	2	2	1	1
	28	5	5	3	4	2	3
Ledvice	7	3	3	2	2	1	1
	28	4	5	3	3	2	2
Srce	7	3	3	1	1	0	0
	28	4	4	2	3	1	1
Pljuča	7	3	2	1	1	2	2
	28	5	4	2	2	4	3

Preglednica 1: Vpliv fulerenola (F) in amifostina (A) na degenerativne (D) in vaskularne (V) poškodbe tkiva pri podganah, izpostavljenih rentgenskemu sevanju (7 Gy). Degenerativne spremembe: 0 ni poškodbe; 1 posamezne celice z granulami v citoplazmi, normalno jedro, rahlo povečane; 2 >50 % celic z redkimi vakuolami v citoplazmi in nukleoplazmi; 3 vse celice s številnimi vakuolami v citoplazmi in nukleoplazmi, piknotično jedro; 4 plazmaliza in karioliza, infiltracija polimorfonuklearnih celic, fagocitoza mrtvih celic; 5 aktivacija in proliferacija fibroblastov, nastanek vezivnega tkiva. Vaskularne spremembe: 0 ni poškodbe, 1 blaga dilatacija, ni sprememb v žilni steni; 2 izrazita dilatacija, staza, hiperemija, edem; 3 transmuralno pretrganje do 50 % žil, kopičenje polimorfonuklearnih celic; 4 popolna izguba bazalne membrane in endotelija pri >50 % žil; 5 huda krvavitev.

Table 1: Influence of fullereneol (F) and amifostine (A) on tissue damage score for degenerative (D) and vascular (V) changes in X-irradiated rats (7 Gy). Degenerative changes: 0 no damage; 1 single cells with small cytoplasmic granules, normal nucleus, slightly enlarged; 2 >50% cells with mild vacuolisation of cytoplasm and nucleoplasm; 3 All cells with pronounced vacuolisation of cytoplasm and nucleoplasm, pycnotic nucleus; 4 plasmolysis and caryolysis, infiltration of polymorphonuclear cells, phagocytosis of dead cells; 5 activation and proliferation of fibroblasts, production of connective tissue. Vascular changes: 0 no damage; 1 mild dilatation, no changes in blood vessel wall; 2 strong vasodilatation, stasis, hyperaemia, oedema; 3 transmural rupture of up to 50% of blood vessels, accumulation of polymorphonuclear cells; 4 complete loss of the basal membrane and endothelium of >50% blood vessels; 5 strong haemorrhage.

Mitotski indeks celic, obdelanih s fulerenolom, je manjši kot pri kontrolnih celicah. Ta rezultat potrjuje prejšnje hipoteze, da $C_{60}(OH)_{24}$ inhibira nastanek delitvenega vretena in mikrotubulov, in sicer ne glede na čas inkubacije celic s fulerenolom. Mitotski indeks (MI) ocenjujemo na osnovi razmerja:

$$MI = [\text{število celic v mitozih}] / [\text{skupno število celic}]$$

Molekula $C_{60}(OH)_{24}$ torej spreminja celični cikel celic K-562, saj vpliva na sintezo in mitotsko fazo cikla. $C_{60}(OH)_{24}$ ima večjo citostatično kot pa citotoksično aktivnost na celični liniji humane eritrolevkemije K-562, kar potrjuje tudi visoka stopnja preživelih celic, ki so bile obdelane s fulerenolom (30).

Fulerenol v *in vitro* razmerah na človeških limfocitih periferne krvi ni pokazal genotoksičnosti v razponu koncentracij od 1 do $10^3 \mu\text{g/mL}$ (31). V preliminarnih *in vivo* raziskavah na miših je pokazal zadovoljivo radioprotekcijo v odmerku 100 mg/kg, danem intraperitonealno 30 minut pred obsevanjem (31). Opravljena je bila tudi raziskava na podganah, v kateri so primerjali učinkovitost radioprotekcije fulerenola (100 mg/kg) z učinkovitostjo klasičnega radioprotektiva amifostina

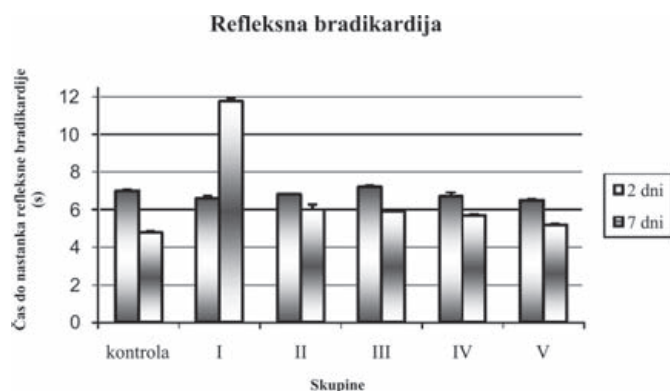
(300 mg/kg), ki so ju injicirali intraperitonealno 30 minut pred obsevanjem (32). Rezultate histopatološke analize tkiv različnih organov (pljuč, srca, jeter, ledvic, tankega črevesa in vranice) prikazuje preglednica 1.

6 Fulerenol $C_{60}(OH)_{24}$ kot potencialni kardioprotektiv pri zdravljenju malignih neoplazem z doksorubicinom

Doksorubicin je antraciklinski antibiotik z zelo široko uporabo v onkologiji, saj izkazuje širok spekter protitumorske aktivnosti. Najpomembnejše indikacije za njegovo uporabo so limfomi, akutne levkemije in solidni tumorji, kot so karcinom dojke, drobnocelični pljučni karcinom, karcinomi sečnega mehurja, ščitnice in želodca, sarkomi mehkih tkiv in osteogeni sarkomi, nevroblastomi in Wilmsov tumor (33). Vendar pa njegovo učinkovitost omejujejo mielosupresija in okvare gastrointestinalnega trakta, zlasti pa kardiotoksičnost. Ta je odvisna od odmerka in je kumulativna, pojavi pa se lahko v akutni,

subakutni ali kronični obliki (34, 35). Kardiotoksičnost doksorubicina je ireverzibilna in rezistentna na zdravljenje. Zmanjšanje odmerka doksorubicina izboljša prenašanje zdravila, vendar pa značilno zmanjša njegovo protitumorsko aktivnost. Zaradi tega bi odkritje učinkovitega in dobro prenosljivega kardioprotektiva pomenilo pomemben premik v zdravljenju onkoloških bolnikov, pri katerih je indicirana uporaba doksorubicina.

Na podlagi znanih kardioprotektivnih lastnosti fulerenola v *in vitro* sistemih potekajo intenzivne predklinične raziskave, s katerimi poskušamo ugotoviti, ali ima fulerenol potencial pri zaščiti pred kardiotoksičnostjo doksorubicina, ali je ta učinek odvisen od odmerka in ali bolniki sam fulerenol v uporabljenih odmerkih dobro prenašajo. Poleg tega proučevanje antioksidativnih mehanizmov fulerenola *in vivo* prispeva k boljšemu poznavanju njegovega farmakološkega profila, o čemer zaenkrat obstaja zelo malo znanstvenih podatkov. Objavljeni rezultati kažejo vpliv samega fulerenola $C_{60}(OH)_{24}$ in fulerenola, injiciranega 30 minut pred doksorubicinom (8 mg/kg; i.v.), na utrip in tkivo miokarda pri zdravih podganah Wistar (obeh spolov, mase 180-250 g). V poskusu so bile živali razdeljene v šest skupin: kontrolno, obdelano z doksorubicinom (I), obdelano s fulerenolom (50 mg/kg) in z doksorubicinom (II), obdelano s fulerenolom (100 mg/kg) in z doksorubicinom (III), obdelano s fulerenolom (200 mg/kg) in z doksorubicinom (IV) ter obdelano samo s fulerenolom (100 mg/kg) (V) (36). Kot prikazujejo rezultati na sliki 5, doksorubicin po sedmih dneh izrazito poveča čas do nastanka refleksne bradikardije. Te toksične spremembe na miokardu pa se značilno zmanjšajo po injiciranju fulerenola $C_{60}(OH)_{24}$.



Slika 5: Vpliv fulerenola na z doksorubicinom inducirane spremembe v kardiovaskularnem refleksu med infuzijo adrenalina pri podganah

Figure 5: Influence of fullereneol on doxorubicin-induced changes in cardiovascular reflex during adrenalin infusion in rats

Kardioprotektivne lastnosti fulerenola smo proučevali tudi v raziskavi na Sprague-Dawleyevih podganah z malignimi neoplazmami, kjer smo določali učinke na aktivnost serumskih encimov (kreatin-kinaze, laktat-dehidrogenaze α -hidroksibutirat-dehidrogenaze), pokazatelje oksidativnega stresa v srcu (malondialdehida, glutationa, glutation disulfida, glutation-peroksidaze, superoksid-dizmutaze, katalaze, glutation-reduktaze in celotni antioksidativni status) ter patohistološke

spremembe srčnega tkiva (37). Doksorubicin je tudi v tem primeru povzročil močne oksidativne poškodbe tkiva, ki so se izrazile v značilno povišanih vrednostih encimov. Po intraperitonealnem vnosu fulerenola, injiciranega 30 minut pred doksorubicinom, pa so vrednosti ostale primerljive s kontrolno skupino.

7 Sklep

Fulerenoli so v kemijskih in bioloških modelnih sistemih v dosedanjih raziskavah pokazali izredno visoko antioksidativno aktivnost. Preventivna uporaba fulerenola $C_{60}(OH)_{24}$ bi lahko pomembno zmanjšala kardiotoksične in hepatotoksične učinke doksorubicina pri zdravljenju malignih tumorjev. Poleg tega se kaže potencialna uporaba fulerenola in drugih derivatov fulerena tudi na področju nevrodegenerativnih bolezni (Parkinsonove in Alzheimerjeve) in bolezni na reproduktivnih tkivih, obetavne pa so tudi njegove citostatične in radioprotektivne lastnosti.

8 Literatura

- Kroto H, Heath J, O'Brien S et al. C_{60} : Buckminsterfullerene. Nature 1985; 318: 162-163.
- Hirsch A. The Chemistry of the Fullerenes. New York: Wiley; 1993.
- Dresselhaus MS, Dresselhaus G, Eklund PC. Science of Fullerenes and Carbon Nanotubes. San Diego: Academic Press; 1996: 292-325.
- Chaing LY, Lu FJ, Lin JT. Free radical scavenging activity of water soluble fullerenols. J Chem Soc Chem Commun 1995; 24 (12): 1283-1284.
- Dugan LL, Gabrielsen JK, Yu SP et al. Buckminsterfullerene Free Radical Scavengers reduce Cytotoxic and Apoptotic Death of Cultured Cortical Neurons. Neurobiol Dis 1996; 3 (2): 129-135.
- Tagmatarchis N, Shinohara H. Fullerenes in Medicinal Chemistry and their Biological Applications. Mini-Rev Med Chem 2001; 1 (4): 339-348.
- Kroto HW, Alaff W, Balm SP. C_{60} : Buckminsterfullerene. Chem Rev 1991; 91 (6): 1213-1235.
- Djordjević A. Biological Active Derivatives of fullerene C_{60} . Zadužbina Andrejević Beograd, 2002.
- Sayes CM, Fortner DJ, Guo W et al. The differential cytotoxicity of water-soluble fullerenes. Nano Lett 2004; 4 (10): 1881-1887.
- Foot CS. Top Curr Chem 1997; 169: 347-363.
- Pickering KD, Wiesner MR. Fullerol-Sensitized Production of ROS in Aqueous Solution. Environ Sci Technol 2005; 39 (5): 1359-1365.
- Lee J, Fortner JD, Hughes JB et al. Photochemical production of reactive oxygen species by C_{60} in the aqueous phase during UV irradiation. Environ Sci Technol 2007; 41 (7): 2529-2535.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. The chemistry of free radicals and related „reactive species“. In: Free radicals in Biology and Medicine, 3. izdaja, Oxford University Press: Oxford 1999, 36-104.
- Irie K, Nakamura Y, Ohigashi H et al. Photocytotoxicity of water-soluble fullerene derivatives. Biosci Biotech Biochem 1996; 60 (8): 1359-1361.

15. Culver KW, Blaese RM. Gene therapy for adenosine deaminase deficiency and malignant solid tumors. In: Wolff JA. Gene Therapeutics, Birkhäuser: Boston 1994, 263-280.
16. Mirkov S, Djordjevic A, Andric N et al. Nitric oxide-scavenging activity of polyhydroxylated fullerene, $C_{60}(OH)_{24}$. Nitric Oxide-Biol Ch 2004; 11 (2): 201-207.
17. Djordjevic A, Canadanovic-Brunet J, Vojinovic-Miloradov M et al. Antioxidant properties and hypothetical radical mechanism of fullerene $C_{60}(OH)_{24}$. Oxi Comm 2005; 27 (1): 213-218.
18. Fumelli C, Marconi A, Salvioli S et al. Carboxyfullerenes protect human keratinocytes from ultraviolet-B-induced apoptosis. J Invest Dermatol 2000; 115 (5): 835-841.
19. Lin AM, Chyi BY, Wang SD et al. Carboxyfullerene prevents iron-induced oxidative stress in rat brain. J Neurochem 1999; 72 (4): 1634-1640.
20. Monti D, Moretti L, Salvioli S et al. C60 Carboxyfullerene Exerts a Protective Activity against Oxidative Stress-Induced Apoptosis in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. Biochem Biophys Research Comm 2000; 277 (3): 711-717.
21. Sato M, Matsuo K, Kiriya H et al. Inhibitory effects of fullerene derivative, dimalonate C_{60} , in nitric oxide-induced relaxation of rabbit aorta. Eur J Pharm 1997; 327 (2-3): 175-181.
22. Kostelnikova RA, Kostelnikov IA, Bogdanov GN et al. Membranotropic properties of the water soluble amino acid and peptide derivatives of fullerene C_{60} . FEBS Lett 1996; 389 (2): 111-114.
23. Friedman SH, DeCamp DL, Sijbesma RP et al. Inhibition of HIVp by fullerene derivatives: Model building studies and experimental verification. J Am Chem Soc 1993; 115 (15): 6506-6509.
24. Djordjevic A, Bogdanovic G, Dobric S. Fullerenes in Biomedicine. J BUON 2006; 11 (4): 391-404.
25. Mirkov S. Magistrska teza. Medicinska fakulteta. Novi Sad 2001.
26. Lu LH, Lee YT, Chen CW et al. The possible mechanisms of the antiproliferative effect of fullerene, polyhydroxylated C60, on vascular smooth muscle cells. Brit J Pharmacol 1998; 123 (6): 1097-1102.
27. Ueng TH, Kang JJ, Wang HW et al. Suppression of microsomal cytochrome P450-dependent monooxygenases and mitochondrial oxidative phosphorylation by fullerene, a polyhydroxylated fullerene C_{60} . Toxicol Lett 1997; 19 (1): 29-37.
28. Bogdanović G, Vojinović-Miloradov M, Kojić V et al. World Congress of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences '99, 59th International Congress of FIP, Barcelona, Spain 1999. Abstract book P-081, 55.
29. Murugan MA, Gangadharan B, Mathur PP. Antioxidative effect of fullerene on goat epididymal spermatozoa. Asian J Androl 2002; 4 (2): 149-152.
30. Jakimov D, Bogdanović G, Baltić M et al. Water-soluble fullerene $C_{60}(OH)_{24}$ modulates growth and proliferation of K562 human erythroleukemia cell line. Advances in Simulation, Systems Theory and Systems Engineering, Skiatos, Greece, 2002. Abstract and manuscript book pp. 117-122.
31. Trajković S, Dobrić S, Djordjević A et al. Radioprotective efficiency of fullerene in irradiation mice. Mater Sci Forum 2005; 494: 549-553.
32. Trajković S, Dobrić S, Jačević V et al. Tissue-protective effects of fullerene $C_{60}(OH)_{24}$ and amifostine in irradiated rats. Colloids Surf B Biointerfaces 2007; 58 (1): 39-43.
33. De Vita TV, Hellman JRS, Rosenberg AS. Cancer principles and practice of oncology, Philadelphia: Lippincott-Raven 1997: 375-512.
34. Abraham R, Basser RL, Green MD. A risk-benefit assessment of tetracycline antibiotics in antineoplastic therapy. Drug Saf 1996; 15 (6): 406-429.
35. Hoeckman K, Van der Vijgh WJF, Vermorker JB. Clinical and preclinical modulation of chemotherapy-induced toxicity in patients with cancer. Drugs 1999; 50: 133-156.
36. Djordjević-Milić V, Djordjević A, Dobrić S et al. Influence of fullerene $C_{60}(OH)_{24}$ on doxorubicin induced cardiotoxicity in rats. Mater Sci Forum 2006; 518: 525-529.
37. Injac R, Perše , Boskovic M et al. Cardioprotective Effects of Fullerene $C_{60}OH_{24}$ on a Single Dose Doxorubicin-induced Cardiotoxicity in Rats With Malignant Neoplasm. Technol Cancer Res Treat 2008; 7 (1): 15-26.