Дәріс 8. Фуллерендердің биологиялық және медициналық қолданылуы

Дәрістің жоспары:

1 Фуллерендердің биологиялық жүйелермен әрекеттесуінің физика-химиялық негіздері
2 Антиоксиданттық және цитопротекторлық белсенділігі
3 Фотодинамикалық қасиеттері және фотодинамикалық терапия
4 Антивирустық және фармакологиялық белсенділігі
5 Дәрілер мен гендерді жеткізу жүйелері
6 Диагностика және биобейнелеу
7 Биоүйлесімділігі және уыттылығы

Кіріспе

Фуллерендердің медицинада қолданылу мүмкіндігі олардың бірнеше ерекшелігіне негізделеді: молекуланың нанометрлік өлшемі (C_{60} үшін ван-дер-ваальстік диаметрі шамамен 1 нм), көлемді гидрофобты қаңқасы, электрон акцепторлық қасиеті және қозған күйде оттегіні белсендіре алу қабілеті. Бұл қасиеттер фуллеренді бір мезгілде антиоксидант, фотосенсибилизатор, ферменттердің тежегіші және нанотасымалдағыш ретінде қарастыруға мүмкіндік береді. Алдыңғы дәрісте қарастырылған химиялық функционализация фуллеренді суда еритін, биологиялық ортада тұрақты түрге келтіруге мүмкіндік берді, сондықтан медициналық қолданудың барлық бағыты дерлік функционалданған туындыларға негізделген.

1 Биологиялық жүйелермен әрекеттесудің физика-химиялық негіздері

Таза C_{60} суда іс жүзінде ерімейді және гидрофобты болғандықтан биологиялық сұйықтықтарда агрегаттар түзеді. Сондықтан in vitro және in vivo зерттеулер үшін фуллеренді сулы ортаға тасымалдау тәсілдері әзірленген (кесте 8.1). Тәсілді таңдау фуллереннің әрекетін айтарлықтай өзгертеді: агрегаттанған күйінде фотосенсибилизациялық белсенділік төмендейді, ал ковалентті модификацияланған мономолекулалық түрлер жоғары белсенділік көрсетеді.

Кесте 8.1 – Фуллеренді суда ерітудің негізгі тәсілдері

Тәсіл	Мәні	Ерекшелігі
Ковалентті функционалдау	гидрофильді топтар (–OH, –COOH, $–NH_3^+$) қосу: фуллеренол, карбоксифуллерен	мономолекулалық ерітінді, тұрақты; қасиеттері модификацияға тәуелді
Супрамолекулалық кешендер	циклодекстрин, каликсарен, ПВП немесе липосомамен кешен	құрылымы өзгермейді; кешен тұрақтылығы шектеулі
Коллоидты дисперсия (nC_{60})	C_{60} агрегаттарын еріткіш алмастыру немесе ұзақ араластыру арқылы алу	агрегат өлшемі шамамен ондаған–жүздеген нм; құрамы қайталанбайды

Тәсіл	Мәні	Ерекшелігі
Амфифилді туындылар	гидрофильді және гидрофобты бөліктері бар фуллерен	ұйымдасқан құрылымдар (везикулалар) түзеді

2 Антиоксиданттық және цитопротекторлық белсенділігі

Фуллереннің ең көп зерттелген биологиялық қасиеті – бос радикалдармен әрекеттесуі. Сфералық қаңқада көптеген қос байланыс болғандықтан, C_{60} молекуласына бірнеше радикал қосылады (1-теңдеу), ал түзілген аддукттар тұрақты болады. Осы қасиет үшін фуллерен «радикалдар қармағы» деп аталады. Сулы ортада фуллеренолдар мен карбоксифуллерендер супероксид-анион-радикал және гидроксил радикалын тиімді ұстайды.

$$C_{60} + n\mathrm{R}\bullet \rightarrow C_{60}(\mathrm{R})_n \qquad (1)$$

Сонымен қатар, кейбір туындылар супероксиддисмутаза (SOD) ферментінің әрекетін еліктейді, яғни супероксидтің диспропорциялануын жеделдетеді:

$$2O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2 \qquad (2)$$

Цитопротекторлық әсері жүйке жасушаларында зерттелді: Дуган мен әріптестері (1997) карбоксифуллерендердің (трис-малонат туындылары) глутаматпен туындаған эксайтотоксикалық жасуша өліміне қарсы қорғаныс әсерін көрсетті; кейіннен аталған қосылыстар бүйірлік амиотрофиялық склероз, Паркинсон ауруы модельдерінде жануарларға тексерілді. Фуллеренолдардың радиациялық қорғаныш (радиопротекторлық) әсері, коллаген мен теріні ультракүлгін сәулеленуден қорғауы да сипатталған; осыған байланысты фуллерен косметикалық құралдарда қолданылады. Бұл салада алынған нәтижелердің біразы алдын ала сипатта, оларды клиникалық растау қажет.

3 Фотодинамикалық қасиеттері және фотодинамикалық терапия

Жарық жұтқанда фуллерен синглеттік қозған күйге өтеді, ол интеркомбинациялық конверсия (ISC) арқылы жоғары кванттық шығыммен триплеттік күйге ауысады (3-теңдеу). Триплеттік C_{60} оттегімен екі жолмен әрекеттеседі. II типті механизмде энергия оттегі молекуласына беріледі де, синглеттік оттегі $^1O_2$ түзіледі (4-теңдеу). I типті механизмде электрон тасымалданады (5-теңдеу): субстраттан (D) электрон алынып, C_{60} радикал-аниондары түзіледі, ол молекулалық оттегімен әрекеттесіп супероксидті береді. Супероксидтен тотықтырғыш ортада (мысалы, Fe^{2+} қатысында) одан әрі H_2O_2 және өте белсенді •OH радикалы түзілуі мүмкін.

$$C_{60} + h\nu \rightarrow {}^1C_{60}^{*} \rightarrow (\mathrm{ISC})\ {}^3C_{60}^{*} \qquad (3)$$

$${}^3C_{60}^{*} + {}^3O_2 \rightarrow C_{60} + {}^1O_2 \qquad (4)$$

$$^3C_{60}^* + D \rightarrow C_{60}^{\bullet-} + D^{\bullet+}; \quad C_{60}^{\bullet-} + O_2 \rightarrow C_{60} + O_2^{\bullet-} \qquad (5)$$

Синглеттік оттегінің түзілу тиімділігі кванттық шығыммен сипатталады (6-теңдеу):

$$\Phi_\Delta = \Phi_T \cdot S_\Delta, \quad S_\Delta = k_q[O_2] / (k_0 + k_q[O_2]) \qquad (6)$$

мұндағы Φ_T – триплеттік күйдің кванттық шығымы; S_Δ – триплеттің оттегімен сөндірілу үлесі; k_0 – оттегі жоқ кездегі триплеттік күйдің ыдырау тұрақтысы; k_q – оттегімен сөндірілу тұрақтысы; $[O_2]$ – оттегі концентрациясы. Формула әрбір сөндіру акті $^1O_2$ түзеді деген жуықтауда алынған, сондықтан S_Δ-ның жоғарғы шегін береді. C_{60} үшін ерітінділерде Φ_Δ мәні бірлікке жақын (шамамен 0,8–1). Практикада оттегі концентрациясы төмен гипоксиялық ұлпада I типті механизмнің үлесі артады.

Фотодинамикалық терапияда (ФДТ) фотосенсибилизатор ұлпаға енгізіліп, оны жарықпен сәулелендіргенде түзілген белсенді оттегі формалары (БОФ) нысана жасушаларды (ісік, бактерия) жояды. Фуллерендердің кемшілігі – жұтылуы негізінен ультракүлгін және көрінетін көк аймақта, ал ұлпаның терең қабаттарына қызыл және жақын инфрақызыл жарық енеді. Осы себепті фуллерені көрінетін жарықты жақсы жұтатын хромофорлармен (порфирин, фталоцианин) біріктіреді, немесе көрінетін аймақта жұтылуын арттыратын модификация жүргізеді. Катиондық фуллерен туындылары (аммоний, пиридиний топтары бар) бактерия жасушасының теріс зарядталған қабырғасымен байланысып, грам-теріс және грам-оң бактерияларға, саңырауқұлақтарға қарсы антимикробты ФДТ-да тиімді екені көрсетілген. Ісік ФДТ бойынша жұмыстар жануарлар моделінде жүргізілген, клиникалық қолдану әзірше жоқ.

4 Антивирустық және фармакологиялық белсенділігі

1993 жылы Фридман, Вудль, Шинацци топтары C_{60} туындыларының АИТВ-1 протеазасын тежейтінін көрсетті: фуллерен молекуласының гидрофобты бетінің өлшемі мен пішіні ферменттің белсенді орталығындағы гидрофобты қуыспен геометриялық сәйкес келеді. Одан кейін бұл бағытта көптеген туындылар (диаминдер, дендрофуллерендер) зерттелді. Тежегіш белсенділік вирустың басқа ферменттеріне (кері транскриптаза, гепатит С вирусының NS3-протеазасы) және басқа вирустарға қатысты да байқалған, бірақ дәрілік препарат деңгейіне жеткен қосылыс жоқ.

Қабынуға қарсы, аллергияға қарсы (мастоциттердің тежелуі), гиполипидемиялық және антибактериялық әсерлері жеке зерттеулерде сипатталған. Антибактериялық әсер механизмі БОФ түзілуімен және жасуша мембранасын бұзумен түсіндіріледі.

5 Дәрілер мен гендерді жеткізу жүйелері

Фуллерен – шағын, қатты және беті көп функционалданатын нанотасымалдағыш. Фуллеренге бірнеше дәрі молекуласын ковалентті (жеңіл гидролизденетін эфир, амид, дисульфид байланыс арқылы) бекітуге болады. Мұндай жүйелерде дәрінің бөлінуі жасушаішілік ортада pH төмендегенде немесе ферментативті ыдырау кезінде жүреді. Дәрінің фуллеренмен (мысалы, паклитаксел–C_{60} конъюгаттары) біріктірілуі оның ерігіштігін жақсартып, жасушаға түсуін арттыруы мүмкін.

Гендерді жеткізу үшін катиондық фуллерен туындылары (фуллеропирролидиний тұздары) қолданылады: оң зарядталған топтар теріс зарядталған ДНҚ-мен электростатикалық кешен түзіп, оны жасушаға өткізеді (трансфекция). Амфифилді фуллерендер суда өздігінен ұйымдасып, везикулаларға ұқсас құрылымдар түзеді, оларды дәрі капсулаларының баламасы ретінде қарастырады. Фуллерен тасымалдағыштарының басты кемшілігі – ұзақ мерзімді биоүйлесімділікті бағалаудың жеткіліксіздігі және жинақталуы.

6 Диагностика және биобейнелеу

Эндоэдральді металлофуллерендер магнитті-резонансты томография (МРТ) үшін контраст зат ретінде зерттеледі. Гадолиниймен толтырылған фуллерен $Gd@C_{60}(OH)_x$ және $Gd@C_{82}(OH)_x$ Gd^{3+} ионын көміртек қабығының ішінде ұстайды, сондықтан бос гадолиний иондарының уыттылығы болмайды. Контраст заттың тиімділігі релаксивтілікпен (r_1) бағаланады, ол протондардың бойлық релаксация жылдамдығының Gd концентрациясына тәуелділігінен анықталады (7-теңдеу):

$$1 / T_1 = 1 / T_{1,0} + r_1 \cdot C_{Gd} \qquad (7)$$

мұндағы T_1 – контраст заты бар ортадағы бойлық релаксация уақыты; $T_{1,0}$ – контрастсыз орта үшін мән; C_{Gd} – гадолиний концентрациясы (мМ). Әдебиеттегі мәліметтер бойынша гидроксилденген Gd-металлофуллерендердің r_1 мәндері әдеттегі хелат негізіндегі контрастарға қарағанда бірнеше есе жоғары болуы мүмкін, бұл су молекулаларының алмасуы мен агрегация әсерімен түсіндіріледі. Диагностикада сонымен бірге радиоактивті изотоппен таңбаланған фуллерендер биотаралуын зерттеуге, ал жақын инфрақызыл флуоресценциясы бар туындылар оптикалық бейнелеуге қолданылады.

7 Биоүйлесімділігі және уыттылығы

Фуллерендердің уыттылығы туралы деректер қарама-қайшы, себебі нәтижелер молекуланың түріне (таза/функционалданған), дисперсия дайындау әдісіне, дозаға, енгізу жолына және жасуша типіне тәуелді. Сайес пен әріптестерінің (2004) зерттеулері бойынша агрегаттанған nC_{60} адам жасуша дақылдарына жоғары

цитоуыттылық көрсетті, ол мембрана липидтерінің асқын тотығуымен байланыстырылды, ал гидроксилденген және карбоксилденген туындылардың уыттылығы бірнеше рет төмен болды. Демек, беттік модификация уыттылықты айтарлықтай азайтады. Дегенмен, кейбір ерте тәжірибелердегі әсерді еріткіш қалдықтарымен (мысалы, ТГФ ыдырау өнімдері) байланыстыруға болады, сондықтан препаратты дайындау кезінде еріткіш қалдығын бақылау керек.

Биологиялық таралуы: су ерігіш туындылар қан ағынында айналып, бауыр мен көкбауырда жинақталады, шығарылуы функционалдау түріне тәуелді. Кейбір туындылардың организмнен баяу шығарылуы жинақталу қаупін тудырады. Ауызша енгізгенде таза C_{60} аз сіңеді және жедел уыттылығы төмен (егеуқұйрықтарда LD_{50} 2000 мг/кг-нан жоғары деп хабарланған). Май ерітіндісіндегі C_{60} егеуқұйрықтардың өмір ұзақтығын арттырады деген ұсыныс бар, бірақ бұл нәтиже басқа топтармен толық расталмаған және дау тудыруда. Қазіргі таңда фуллерен негізіндегі дәрі клиникалық қолдануға бекітілмеген; препарат ретінде тіркелген өнімдер жоқ. Клиникалық қолданысқа өту үшін фармакокинетика, созылмалы уыттылық, иммуногенділік және стандарттау бойынша жүйелі зерттеулер қажет.

Кесте 8.2 – Фуллерендердің медициналық қолданылу бағыттары

Бағыт	**Белсенді түрі**	**Механизмі**	**Даму сатысы**
Антиоксидант	фуллеренол, карбоксифуллерен	радикалдарды ұстау, SOD-тәрізді әсер	in vitro, in vivo модельдер
ФДТ	C_{60} және катиондық туындылар	$^1O_2$ және $O_2^{\bullet-}$ түзілуі	in vitro, жануарлар
Антивирустық	C_{60} диаминдері, дендрофуллерендер	АИТВ-1 протеазасын тежеу	in vitro
Жеткізу жүйелері	конъюгаттар, катиондық туындылар	дәрі/ДНҚ тасымалдау	in vitro, жануарлар
МРТ контрасты	$Gd@C_{60}(OH)_x$, $Gd@C_{82}(OH)_x$	протондардың релаксациясын жылдамдату	доклиникалық

Қорытынды

Фуллерендер биомедицинада антиоксидант, фотосенсибилизатор, тасымалдағыш және контраст зат ретінде үлкен әлеуетке ие, бірақ қолданудың негізгі шектеуі – суда ерігіштік, гидрофобты агрегация және ұзақ мерзімді қауіпсіздік туралы деректердің жеткіліксіздігі. Зерттеудің келесі кезеңі функционалдау жолымен қасиеттері дәл реттелген, құрамы анық сипатталған туындыларды алуға және оларды стандартты биологиялық модельдерде салыстыруға бағытталуы тиіс.

Дәрісті бекіту сұрақтары:

1. Фуллерендердің биологиялық белсенділігі қандай қасиеттеріне негізделген?
2. Фуллеренді суда еритін түрге келтіру тәсілдерін салыстырыңыз.
3. Фотодинамикалық терапиядағы I және II типті механизмдерді сипаттаңыз.
4. Синглеттік оттегінің кванттық шығымы қандай шамаларға тәуелді?
5. Фуллерендердің уыттылығына қандай факторлар әсер етеді?
6. Металлофуллерендердің МРТ-да қолдану принципін түсіндіріңіз.

Әдебиеттер:

1. Сидоров Л.Н., Юровская М.А. и др. Фуллерены. М.: Экзамен, 2005. – 688 с.
2. Bakry R. et al. Medicinal applications of fullerenes // Int. J. Nanomedicine. 2007. Vol. 2(4). P. 639–649.
3. Friedman S.H. et al. Inhibition of the HIV-1 protease by fullerene derivatives // J. Am. Chem. Soc. 1993. Vol. 115. P. 6506–6509.
4. Dugan L.L. et al. Carboxyfullerenes as neuroprotective agents // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. Vol. 94. P. 9434–9439.
5. Sayes C.M. et al. The differential cytotoxicity of water-soluble fullerenes // Nano Lett. 2004. Vol. 4. P. 1881–1887.
6. Mroz P. et al. Photodynamic therapy with fullerenes // Photochem. Photobiol. Sci. 2007. Vol. 6. P. 1139–1149.