

## КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ ФУЛЛЕРЕНА C<sub>60</sub> С АКРИДИНОВЫМ МУТАГЕНОМ ICR-191 В ВОДНОМ РАСТВОРЕ

Сало В.А.<sup>1</sup>, Бучельников А.С.<sup>2</sup>, Воронин Д.П.<sup>1</sup>, Евстигнеев М.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Севастопольский государственный университет  
ул. Университетская, 33, г. Севастополь, 299053, РФ

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет  
Средний пр., 41, г. Санкт-Петербург, 199004, РФ; e-mail: viktoriya\_salo@mail.ru

Поступила в редакцию: 27.08.2018.

**Аннотация.** С помощью различных физико-химических методов проведено исследование межмолекулярных взаимодействий в системе Фуллерен C<sub>60</sub> – ICR-191. Данные спектрофотометрического титрования, динамического светорассеяния, атомно-силовой микроскопии, а также изотермальной титрационной калориметрии указывают на образование прочных нековалентных комплексов между молекулами фуллерена и мутагена. Дополнительное подтверждение этому получено с помощью методов молекулярной динамики.

**Ключевые слова:** агрегация, фуллерен C<sub>60</sub>, мутаген, спектрофотометрия, динамическое светорассеяние, изотермальная титрационная калориметрия.

### ВВЕДЕНИЕ

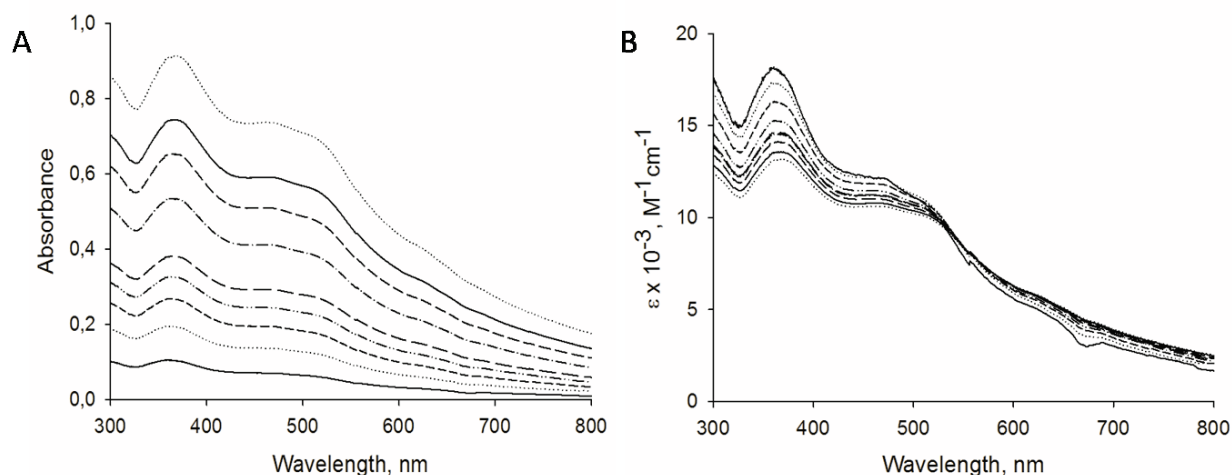
Фуллерен C<sub>60</sub> представляет собой сферическую углеродную наночастицу, состоящую из 32 ароматических колец и имеющую в диаметре чуть менее 1 нм. Слабая токсичность, антиоксидантная активность, способность взаимодействовать с биомолекулами и проникать через клеточные мембраны вдохновили исследователей на изучение возможностей применения фуллерена C<sub>60</sub> в медицине [1]. Многочисленные данные указывают на то, что фуллерен C<sub>60</sub> может повысить эффективность противоопухолевых агентов, одновременно уменьшая их токсические эффекты [2, 3]. Фуллерен проявляет свойства противоопухолевого препарата [4], кроме того, он может выступать в качестве носителя в системе доставки лекарственных препаратов к пораженным клеткам [5], возможного противоаллергического средства, может быть эффективен при ряде воспалительных процессов [6, 7].

Фуллерен C<sub>60</sub> способен взаимодействовать с различными ароматическими соединениями, такими как противоопухолевые препараты [2, 8], интеркаляторы и красители ДНК [3, 9, 10], ферменты и порфирины [11]. Однако механизм этих взаимодействий остается неясным и широко обсуждается. В настоящее время существует несколько гипотез, объясняющих механизм образования смешанных агрегатов фуллерена C<sub>60</sub> и молекул препаратов. Многие авторы предполагают, что нековалентные взаимодействия отвечают за взаимодействия фуллерена C<sub>60</sub> с препаратами, за счёт π-π взаимодействий (формирование стэкинг-комплекса) [3, 11, 12], ван-дер-ваальсовы взаимодействия [13] или гидрофобное связывание препарата внутри кластеров фуллерена C<sub>60</sub>.

Назрела необходимость в описании наиболее вероятного механизма образования смешанных агрегатов в водных растворах. Это позволит в недалеком будущем эффективно разрабатывать способы использования фуллерена C<sub>60</sub> и других углеродных наночастиц в качестве терапевтических агентов для лечения широкого круга заболеваний. Знание таких механизмов будет полезно для использования углеродных наночастиц в качестве противоопухолевых агентов. Фуллерен, как система доставки, может служить основой для контролируемого высвобождения лекарственного средства и возможного снижения концентрации лекарственного препарата необходимой для эффективного подавления рака. Это, в свою очередь, может привести к снижению побочных эффектов лекарственных препаратов, улучшив как состояние пациентов, так и эффективность лечения. Чтобы объяснить потенциальную роль фуллерена C<sub>60</sub> в качестве переносчика лекарственного средства, мы провели широкий спектр биофизических экспериментов с использованием высокостабильного очищенного коллоидного водного раствора фуллерена C<sub>60</sub> (C<sub>60</sub>FAS), полученного в соответствии с методом, описанным в работе [14]. Исследовали также модели ароматического акридинового мутагена ICR-191. Представленные результаты позволяют рассмотреть возможные механизмы взаимодействия фуллерена C<sub>60</sub> с биологически активными ароматическими молекулами в водном растворе.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

В рамках настоящей работы была количественно оценена самоассоциация наночастиц фуллерена C<sub>60</sub> и гетероассоциация их с акридиновым мутагеном ICR-191. Для определения взаимодействий между C<sub>60</sub>FAS и ICR-191 были проведены два независимых спектрофотометрических эксперимента. Результаты первого из них – спектры поглощения C<sub>60</sub>FAS в широком диапазоне концентраций (5,8-69,3 мкмоль/л) в 0,2 М натрий-фосфатном буфере (pH = 6,8) – представлены на рисунке 1А. Полученные данные нормированы на концентрацию C<sub>60</sub>FAS и также представлены в виде молярных спектров экстинкции на рисунке 1В.

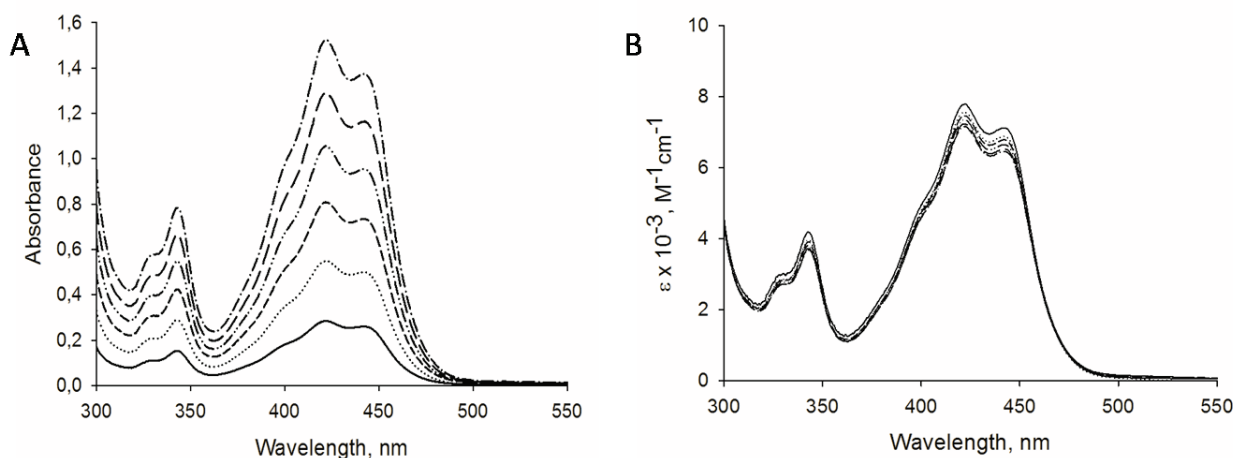


**Рисунок 1.** Спектрофотометрический анализ  $C_{60}$ FAS. (A): спектры  $C_{60}$ FAS (диапазон концентраций 5,8...69,3 мкмоль/л) в 0,2 М натрий-фосфатном буфере (pH = 6,8). (B): данные нормированы на концентрацию  $C_{60}$ FAS и представлены в виде коэффициента модуляции

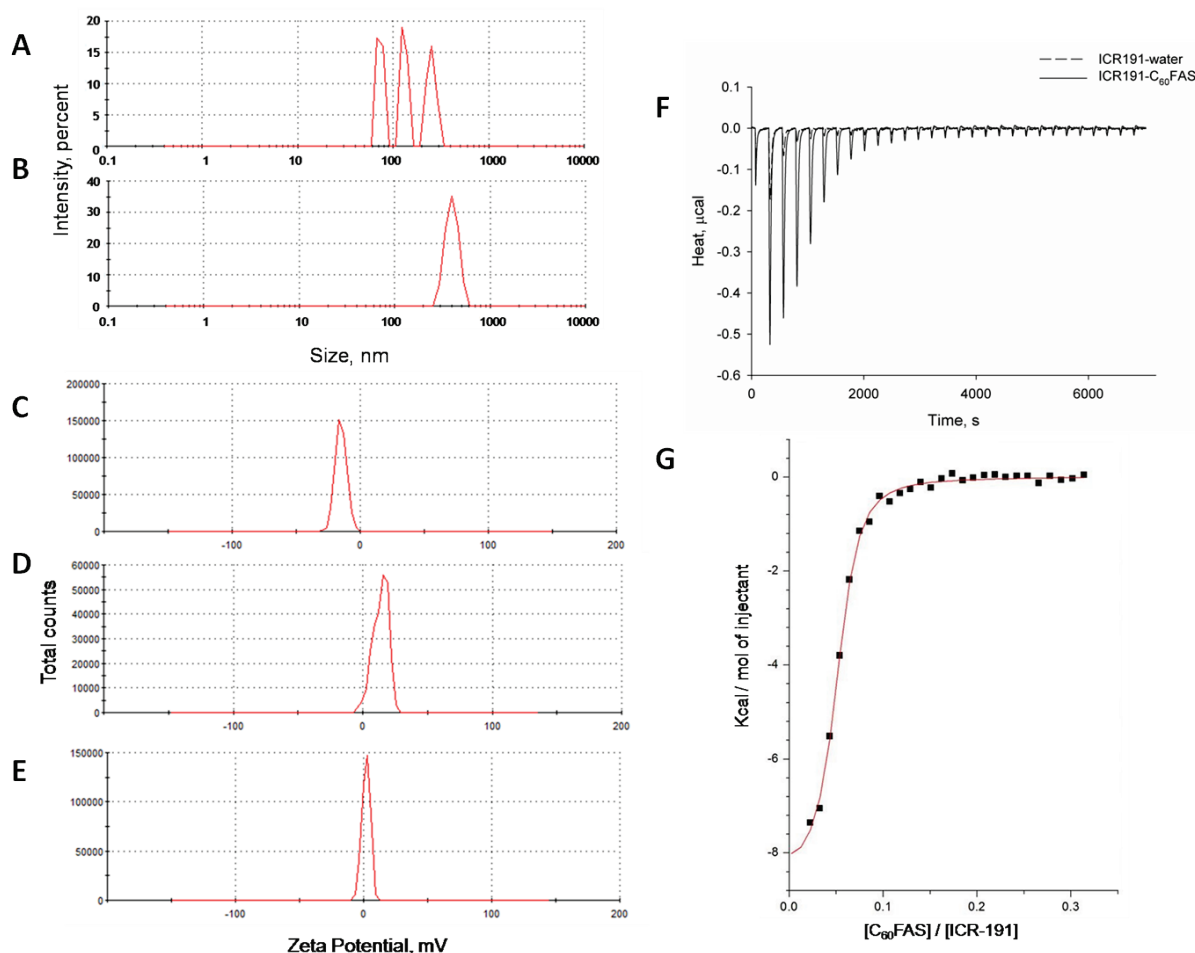
Водный раствор  $C_{60}$ FAS имеет тенденцию образовывать гомоагрегаты в представленном диапазоне концентраций, которые интенсивно рассеивают свет. Более того, спектры  $C_{60}$ FAS и ICR-191 (опубликованные в работе [15]) перекрываются, что препятствует дальнейшему термодинамическому анализу.

Во втором эксперименте  $C_{60}$ FAS, исходная концентрация которого составила 26 мкмоль/л, титровали с ICR-191 (диапазон концентраций 36,52...212,53 мкмоль/л). Для того чтобы скорректировать эффекты, вызванные сильным кластерообразованием  $C_{60}$ FAS, из исходных спектров поглощения, представленных на рисунке 1А, были вычтены спектры при соответствующих концентрациях из полученных новых данных. Результирующие спектры показаны на рисунке 2А. Полученные данные были нормированы на концентрацию ICR-191 и представлены в виде молярного коэффициента экстинкции на рисунке 2В.

Наночастицы фуллерена  $C_{60}$ FAS сильно рассеивают свет и делают такой анализ невозможным [16]. Для оценки гомоагрегации  $C_{60}$ FAS и взаимодействия в системе Фуллерен  $C_{60}$  – ICR-191 был использован метод динамического рассеяния света (DLS). Значения средних гидродинамических диаметров фуллереновых кластеров были получены из графиков, представленных на рисунке 3А.  $C_{60}$ FAS является полидисперсным раствором с распределением максимальных размеров до 73,2, 130,7 и 252,9 нм, поэтому основная доля молекул  $C_{60}$  существует в виде крупных кластеров. Введение ICR-191 в  $C_{60}$ FAS вызывает значительное смещение к пику с максимальным распределением по размеру равным 402,1 нм (рис. 3В). Определение значения дзета-потенциала ( $\xi$ ) электрофоретической способностью коллоидных частиц предоставили дополнительную информацию об образовании смешанных агрегатов  $C_{60}$  – ICR-191. Вычисленное среднее значение  $\xi$  для  $C_{60}$ FAS составило  $-15,1$  мВ (рис. 3С), для молекул ICR-191 равняется 11 мВ (рис. 3Д), а для смеси  $C_{60}$  – ICR-191 составило 1,97 мВ (рис. 3Е).



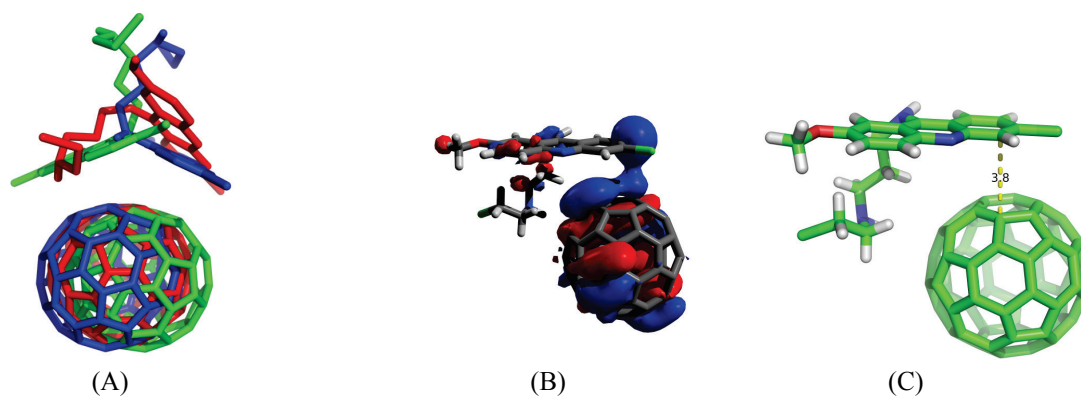
**Рисунок 2.** Спектрофотометрическое титрование  $C_{60}$ FAS и ICR-191, с уменьшенным поглощением  $C_{60}$ FAS. (A): спектры  $C_{60}$ FAS, представленные на рисунке 1А вычтены из спектров, полученных для смеси  $C_{60}$ FAS (исходная концентрация 26 мкмоль/л), титровали ICR-191 (диапазон концентраций 36,52...212,53 мкмоль/л). (B): Данные были нормированы на концентрацию мутагенов и представлены в форме молярного коэффициента экстинкции



**Рисунок 3.** Агрегация фуллерена  $C_{60}$  и ICR-191. (A): Усредненное распределение гидродинамического диаметра в полидисперсной популяции  $C_{60}FAS$  (концентрация 0,87 мМ), максимальные размеры: 73,2, 130,7, 252,9 нм. (B): Усредненное распределение гидродинамического диаметра смеси  $C_{60}$  – ICR-191 (концентрации 0,17 мМ и 0,294 мМ соответственно), максимальный размер: 402,1 нм. (C): Дзета-потенциал  $C_{60}FAS$  (концентрация 41,6 мМ) составляет -15,1 мВ. (D): Дзета- потенциал ICR-191 (концентрация 0,359 мМ) составляет 11 мВ. (E): Дзета- потенциал смеси  $C_{60}$  – ICR-191 (молярное соотношение 1:8) равен 1,97 мВ. (F,G): Определение значений энтальпии  $C_{60}$  – ICR-191. (F): Термограммы ICR-191 (начальная концентрация 0,204 мМ), титрование водой – пунктирная линия, фуллереном  $C_{60}$  – сплошная линия. (G): Определение термодинамических параметров взаимодействия  $C_{60}$  и ICR-191.  $\Delta H = -8,48 \pm 0,17$  ккал·моль<sup>-1</sup>,  $\Delta S = 0,215 \cdot 10^{-3}$  ккал·К<sup>-1</sup>·моль<sup>-1</sup>,  $K = 26,2 \cdot 10^5 \pm 2,5 \cdot 10^5$  М<sup>-1</sup>

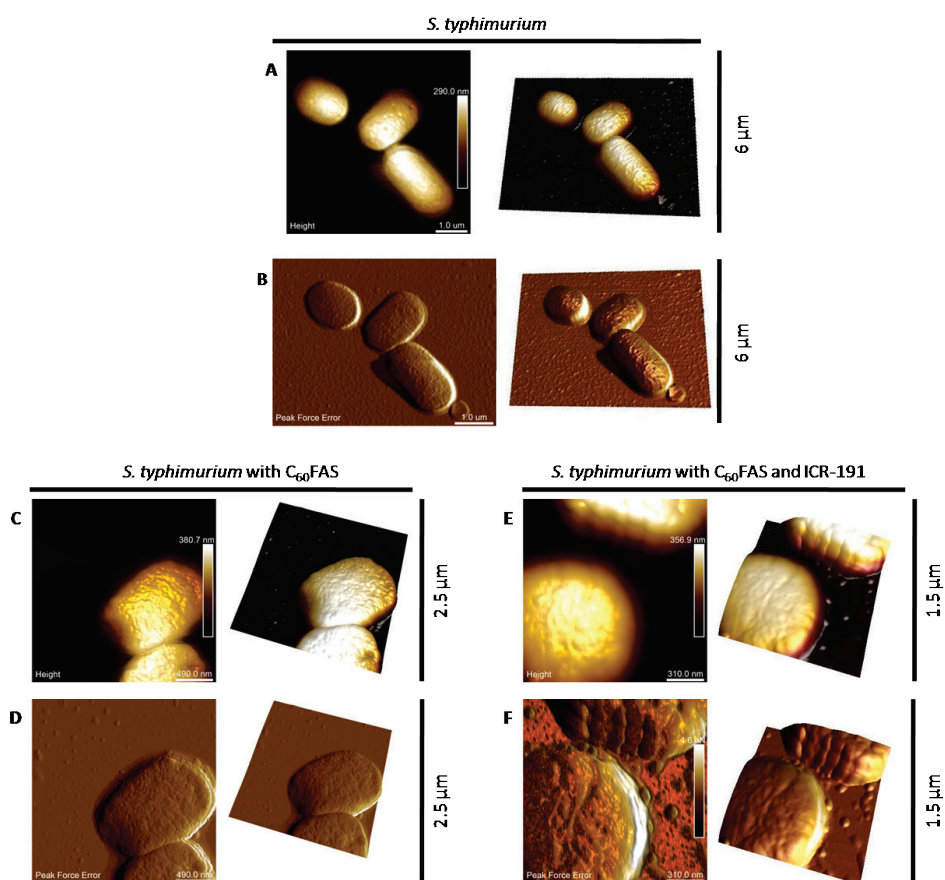
Для определения термодинамических параметров агрегации  $C_{60}$  – ICR-191 были использованы данные изотермальной титрационной калориметрии (ИТК). Мы использовали два независимых измерения: титрование ICR-191 водой и титрование ICR-191 с  $C_{60}FAS$  для учета разбавления молекул ICR-191 (рис. 3F). Используя этот подход, мы определили термодинамические параметры образования смешанных гетероагрегатов  $C_{60}$  – ICR-191, а именно: энтальпию  $\Delta H = -8,48 \pm 0,17$  ккал·моль<sup>-1</sup>, энтропию  $\Delta S = 0,215 \cdot 10^{-3}$  ккал·К<sup>-1</sup>·моль<sup>-1</sup> и константу взаимодействия  $K = 26,2 \cdot 10^5 \pm 2,5 \cdot 10^5$  М<sup>-1</sup> (рис. 3G).

Методами молекулярной динамики была изучена природа взаимодействий между фуллереном  $C_{60}$  и ICR-191. Мы использовали процедуру молекулярного докинга AutodockVina [17], чтобы получить 2500 начальных наборов низкоэнергетических комплексов  $C_{60}$  – ICR-191. Каждый набор состоял из 20 докированных низкоэнергетических комплексных конфигураций. Были выполнены около 2500 автономных стыковок, и каждый раз извлекались 20 низкоэнергетических комплексов. Все процедуры исходных молекул были проведены в 2-х молярном формате с использованием программы Avogadro. Инструменты Autodock были впоследствии применены для преобразования в формат Autodock specific pdbqt и после этого программное обеспечение AutodockVina использовалось для создания из первоначальной конформации каждого в комплекс. AutodockVina позволяет прикрепить одну молекулу к другой с использованием алгоритма Lamarckian Genetic. В качестве функции подсчёта использовалась классическая свободная энергия Гиббса. В проведенном анализе каждый комплекс состоял из двух ароматических молекул вместе с фуллереном  $C_{60}$ , рассматривавшимся как неподвижный «рецептор». ICR-191 («лиганд») мог свободно менять конформацию фуллерена  $C_{60}$  до тех пор, пока это позволяло стерические ограничения для ароматических соединений. После проведения процедуры поиска все 50000 результирующих комплексов  $C_{60}$  – ICR-191 были свернуты в соответствии с их взаимодействием свободной энергии Гиббса. Модели низкоэнергетических комплексов из каждого семейства показаны на рисунке 4.



**Рисунок 4.** Молекулярное моделирование комплекса  $C_{60}$ –ICR-191. (A): Модели трех низкоэнергетических комплексов  $C_{60}$  – ICR-191, полученных в эксперименте по молекулярному моделированию, каждый из которых представляет собой отдельное семейство. (B): Молекулярная орбиталь НОМО комплекса. (C): Иллюстрация конфигурации с наименьшей энергией комплекса  $C_{60}$  – ICR-191, расстояние между ароматическими кольцами равно 3.8 Å

Для визуализации взаимодействия фуллерена  $C_{60}$  и ICR-191 мы применили методы атомно-силовой микроскопии (АСМ) и малоугловое нейтронное рассеяние, чтобы лучше понять механизм агрегации фуллерена  $C_{60}$  – ICR-191. Изображения АСМ, отображающие  $C_{60}$ FAS, ICR-191 и их смесь представлены на рисунках 5A-C. Однослойные пленки ICR-191 (рис. 5B) содержат нитевидные объекты, которые, вероятно, образованы из-за испарения воды. Такие структуры свидетельствуют о весьма интересном и резко анизотропном взаимодействии между молекулами ICR-191. Высота нитей варьируется в диапазоне 0,4-1,0 нм, что эквивалентно 1-2 диаметрам молекулы ICR-191. Результаты нейтронного рассеяния  $C_{60}$ FAS, ICR-191 и их смеси представлены на рисунке 5D.



**Рисунок 5.** Визуализация взаимодействия фуллерена  $C_{60}$  и ICR-191. (A): АСМ изображения наночастиц  $C_{60}$ FAS на поверхности слюды (концентрация 0.15 мг/мл). (B): АСМ изображения ICR-191 на поверхности слюды (концентрация 0.15 мг/мл). (C): АСМ изображения смеси  $C_{60}$  – ICR-191 на поверхности слюды (соотношение 1:5). (D): Экспериментальные кривые (точки) для  $C_{60}$ FAS, ICR-191 и их смеси. Сплошные линии соответствуют модельным кривым, полученным процедурой обратного преобразования Фурье. (E): Параметры, полученные обратным преобразованием Фурье данных малоуглового нейтронного рассеяния

Мы обработали экспериментальные кривые, используя обратное преобразование Фурье [18], применяя программу GNOM [19] для оценки размеров кластера в выбранной системе. Кривые рассеяния анализируемых растворов хорошо описываются форм-фактором полидисперсных сферических частиц. Радиус частиц был рассчитан по уравнению  $R_g^2 = 0.6 \cdot R^2$ , учитывающему однородную и сферическую форму кластеров  $C_{60}$ . Эта предпосылка находится в хорошем согласовании с предыдущими данными АСМ [14, 16]. Средний радиус гирации поперечного сечения частицы  $R_g$  и радиус частиц  $R$  определены с помощью обратного преобразования Фурье, представлены на рисунке 5Е.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Изменения в гидродинамических радиусах (до размера 402,1 нм), определяемые методом DLS, указывают на гетероагрегацию  $C_{60}$  и ICR-191. Полученное среднее значение дзета-потенциала  $\xi$  для  $C_{60}$ FAS составило  $-15,1$  мВ (рис. 3С), для ICR-191 равняется 11 мВ (рис. 3D), что согласуется с предыдущими работами, в которых рассматривался отрицательный заряд на поверхности фуллерена [2, 20] в отличие от положительно заряженных молекул ICR-191. Наблюдаемые изменения значения дзета-потенциала для смеси  $C_{60}$  – ICR-191 (1,97 мВ, рис. 3Е) подтверждают прямое взаимодействие между положительно заряженными ICR-191 и наночастицами фуллерена  $C_{60}$ , что является следствием адсорбции мутагена на фуллереновых кластерах. Молекулы мутагена наиболее эффективно покрывают частицы фуллерена  $C_{60}$ , что приводит к общему положительному заряду полученных агрегатов, как это было описано ранее [2].

Термодинамические параметры смеси  $C_{60}$  – ICR-191 показывают, что образование смешанных агрегатов  $C_{60}$  – ICR-191 является экзотермическим процессом (рис.3F и G). Эти данные противоречат результатам, полученным ранее для взаимодействий фуллерена  $C_{60}$  с цисплатином ( $\Delta H = 0,178 \pm 0,045$  ккал·моль<sup>-1</sup>) и доксорубицином ( $\Delta H = 0,0134 \pm 0,0257$  ккал·моль<sup>-1</sup>) [2], где наблюдались незначительные тепловые эффекты гетероагрегации. Однако следует отметить, что термодинамические результаты, приведенные выше, были получены в разных условиях буфера и с использованием разнообразных численных методов. Близкое к нулю значение энтальпии для взаимодействий фуллерена  $C_{60}$  с доксорубицином и цисплатином объяснялось сильным взаимодействием фуллерен  $C_{60}$  – вода, превышающим взаимодействие фуллерен фуллерен  $C_{60}$  – антибиотик.

Фуллерен способствует благоприятному гидрофобному перераспределению воды в гидратирующих оболочках второго и более высокого уровня, которые образуются вокруг частиц фуллерена  $C_{60}$ , из-за доминирующей роли гидрофобных сил свободной энергии Гиббса рассматриваемых комплексов [2]. Термодинамический профиль, представленный в этой работе для взаимодействий  $C_{60}$  – ICR-191, может быть интерпретирован как результат сильного кулоновского притяжения между ICR-191 и частицами  $C_{60}$ , возникающего вследствие адсорбции первого на кластеры фуллерена  $C_{60}$ , что было отмечено выше и подтверждено наблюдаемым экранированием отрицательного заряда фуллерена  $C_{60}$  положительно заряженным мутагеном, зарегистрированным во время измерений дзета-потенциала (рис. 3С-Е). Другим вероятным объяснением может быть реорганизация оболочек гидратации фуллерена из-за электростатических сил, вызванных конкретной структурой ICR-191. Такая реорганизация, вероятно, позволяет молекулам ICR-191 участвовать в комплексе с фуллереном  $C_{60}$  в результате укладки  $\pi$ - $\pi$  взаимодействия и, возможно, влияет на изменения энергии.

Для дальнейшего изучения образования комплексов фуллерена  $C_{60}$  и ICR-191 было применено молекулярное моделирование. Полученная энергия, показанная на рис.4, согласуется с величиной энтальпии ( $\Delta H = -8,48 \pm 0,17$  ккал·моль<sup>-1</sup>), ранее определенной в экспериментах изотермической титрационной калориметрии. Молекула  $C_{60}$  является высокосимметричной и поэтому из неё почти невозможно выделить «ориентированные» атомы, чтобы определить расстояние между частицами фуллерена  $C_{60}$  и ICR-191. Мы измерили расстояние между двумя плоскостями: первая из которых, образована ароматическими кольцами ICR-191, а вторая — одним из шестичленных колец фуллерена  $C_{60}$ . Это расстояние равно 3,8 Å, которое является типичным значением для  $\pi$ - $\pi$  взаимодействия (рис. 4С). Ранее проведенные исследования взаимодействия фуллерен  $C_{60}$ -доксорубицин показали, что именно гидрофобное взаимодействие молекулы  $C_{60}$  с водой играет решающую роль в формировании смешанного комплекса [2]. Это исследование, вероятно, является первым докладом, подтверждающим укладку характера взаимодействия фуллерена  $C_{60}$  с другой ароматической молекулой. Для дальнейшей визуализации взаимодействий  $C_{60}$  – ICR-191 применялись методы атомно-силовой микроскопии и малоуглового нейтронного рассеяния (рис. 5). Изображения АСМ, полученные из водного коллоидного раствора фуллерена  $C_{60}$ , показывают, что кластеры состоят из плотно упакованных частиц фуллерена  $C_{60}$  (рис. 5А), что было описано ранее [21]. Эти данные также показывают, что некоторые популяции кластеров фуллеренов  $C_{60}$  реорганизуются после добавления молекул ICR-191 (рис. 5С). Предположительно, этот процесс обусловлен электростатическим притяжением между молекулами ICR и  $C_{60}$ , образующими смешанные агрегаты, что подтверждается результатами (рис. 3F, G и 5С). Ранее была получена только качественная оценка аналогичной ситуации комплексообразования доксорубицина с фуллереном  $C_{60}$ , исследованная тем же набором экспериментальных методов [22], хотя термодинамическое происхождение этой агрегации было иным.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные в этой статье исследования позволили описать взаимодействия между фуллереном C<sub>60</sub> и ICR-191. Молекула C<sub>60</sub> может непосредственно взаимодействовать с акридиновым мутагеном ICR-191, что подтверждается данными спектрофотометрического титрования, динамического светорассеяния, атомно-силовой микроскопии, а также изотермальной титрационной калориметрии. Дополнительное подтверждение факту образования прочных нековалентных комплексов C<sub>60</sub> – ICR-191 получено с помощью молекулярного моделирования. Представленные результаты указывают на то, что стэкинг-взаимодействие является основной силой, ответственной за образование смешанных агрегатов на основе наночастиц.

Работа выполнена в рамках гранта Президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ № НШ-5889.2018.3.

**Список литературы / References:**

1. Bakry R, Vallant R.M., Najam-ul-Haq M., Rainer M, Szabo Z., Huck C.W. [et al.] Medicinal applications of fullerenes. *Int. J. Nanomed.*, 2007, vol. 2, pp. 639-649.
2. Prylutsky Y., Evstigneev M.P., Pashkova I.S., Wyrzykowski D., Wozniowiczka A, Golunski G. [et al.] Characterization of C<sub>60</sub> fullerene complexation with antibiotic doxorubicin, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2014, pp. 23164-23172.
3. Skamrova G.B., Laponogov I., Buchelnikov A.S., Shkcorbatov Y.G., Prylutska S.V., Ritter U. [et al.] Interceptor effect of C<sub>60</sub> fullerene on the in vitro action of aromatic drug molecules, *Eur. Biophys. J.*, 2014, vol. 43, pp. 265-276.
4. Fan J., Fang G., Zeng F., Wang X., Wu Su. Water-dispersible fullerene aggregates as a targeted anticancer prodrug with both chemo- and photodynamic therapeutic actions, *Small*, 2013, vol. 9, pp.613-621.
5. Hughes G.A. Nanostructure-mediated drug delivery, *Nanomed.: Nanotechnol. Biol. Med.*, 2005, vol. 1, pp. 22-30.
6. Shershakova N., Baraboshkina E., Andreev S., Purgina D., Struchkova I., Kamyshnikov O. [et al.] Anti-inflammatory effect of fullerene C<sub>60</sub> in a mice model of atopic dermatitis, *J. Nanobiotechnol.*, 2016.
7. Ryan J.J., Bateman H.R., Stover A., Gomez G., Norton S.K., Zhao W. [et al.] Fullerene nanomaterials inhibit the allergic response. *J. Immunol.*, 2007, vol.179, pp. 665-672.
8. Evstigneev M.P., Buchelnikov A.S., Voronin D.P., Rubin Y.V., Belous L.F., Prylutsky Y.I. [et al.] Complexation of C<sub>60</sub> fullerene with aromatic drugs. *ChemPhysChem*, 2013, pp. 568-578.
9. Buchelnikov A.S., Kostyukov V.V., Evstigneev M.P., Prylutsky Y. Mechanism of complexation of the phenothiazine dye methylene blue with fullerene C<sub>60</sub>. *Russ. J. Phys. Chem.*, 2013, vol. 87 (4), pp. 662-667.
10. Mchedlov-Petrosyan N.O., Klochkov V.K., Andievsky G.V., Ishchenko A.A., Interaction between colloidal particles of C<sub>60</sub> hydrosol and cationic dyes. *Chem. Phys. Lett.*, 2001, vol. 341, 2001, pp. 237-244.
11. Mukherjee S., Bauri A.K., Bhattacharya S. Spectroscopic and theoretical insights on effective and selective non-covalent binding between fullerenes (C<sub>60</sub> and C<sub>70</sub>) and a designed diporphyrin in solution. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2013, pp. 835-839.
12. Reddy B.K., Gadekar S.C., Anand V.G. Non-covalent composites of antiaromatic isophlorin-fullerene. *Chem. Commun. (Camb.)*, 2015, vol. 51, pp. 8276-8279.
13. Varanasi S.R., Guskova O.A., John A., Sommer J.U. Water around fullerene shape amphiphiles: a molecular dynamics simulation study of hydrophobic hydration. *J. Chem. Phys.*, 2015, vol. 142, pp. 224-308.
14. Prylutsky Y.I., Petrenko V.I., Ivankov O.I., Kyzyma O.A., Bulavin L.A., Litsis O.O. [et al.] On the origin of C<sub>60</sub> fullerene solubility in aqueous solution. *Langmuir*, 2014, vol. 30, pp. 3967-3970.
15. Golunski G., Wozniowiczka A., Iermak I., Rychlowski M., Piosik J. Modulation of acridine mutagen ICR-191 intercalation to DNA by methylxanthines – analysis with mathematical models. *Bioorg Med Chem*, 2013.
16. Ritter U., Prylutsky Y.I., Davidenko N.A., Cherepanov V.V., Senenko A.I., Marchenko O.A. [et al.] Structural features of highly stable reproducible C<sub>60</sub> fullerene aqueous colloid solution probed by various techniques fullerenes. *Nanotubes Carbon Nanostruct.*, 2015, vol. 23 (6), pp. 530-534.
17. Trott O., Olson A.J., AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J. Comput. Chem.*, 2010, vol. 31, pp. 455-461.
18. Glatter O. A new method for the evaluation of small-angle scattering data. *J. Appl. Cryst.*, 1977, vol. 4, pp. 415-421.
19. Svergun D.I. Determination of the regularization parameter in indirect-transform methods using perceptual criteria. *J. Appl. Cryst.*, 1992, vol. 25, pp. 495-503.
20. Shinohara N., Matsumoto K., Endoh S., Maru J., Nakanishi J. *In vitro* and *in vivo* genotoxicity tests on fullerene C<sub>60</sub> nanoparticles. *Toxicol. Lett.*, 2009, vol. 191, pp. 289-296.
21. Prylutsky Y.I., Buchelnikov A.S., Voronin D.P., Kostjukov V.V., Ritter U., Parkinson J.A. [et al.] C<sub>60</sub> fullerene aggregation in aqueous solution. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2013, vol. 15, pp. 9351-9360.
22. Prylutsky Yu.I., Evstigneev M.P., Cherepanov V.V., Kyzyma O.A., Bulavin L.A., Davidenko N.A. [et al.] Structural organization of C<sub>60</sub> fullerene, doxorubicin and their complex in physiological solution as promising antitumor agents. *J. Nanopart. Res.*, 2015, vol. 17, pp. 45-49.

**COMPLEXATION BETWEEN C<sub>60</sub> FULLERENE AND ACRIDINE MUTAGEN ICR-191 IN AQUEOUS SOLUTION****Salo V.A.<sup>1</sup>, Buchelnikov A.S.<sup>2</sup>, Voronin D.P.<sup>1</sup>, Evstigneev M.P.<sup>1</sup>**<sup>1</sup> Sevastopol State University*Universitetskaya str., 33, Sevastopol, 299053, Russia*<sup>2</sup> Saint Petersburg State University*Sredniy av., 41, Saint Petersburg, 199004, Russia; e-mail: viktoriya\_salo@mail.ru*

**Abstract.** Intermolecular interactions in 'C<sub>60</sub> fullerene – ICR-191' system were studied by means of various physico-chemical methods. UV/Vis spectroscopy, dynamic light scattering, atomic force microscopy and isothermal titration calorimetry data indicate the formation of strong non-covalent complexes between fullerene and mutagen molecules. Additional confirmation was obtained using molecular dynamics methods.

**Key words:** *aggregation, C<sub>60</sub> fullerene, mutagen, UV/Vis spectroscopy, dynamic light scattering, isothermal titration calorimetry.*