

функционируют по одинаковому механизму, при этом мы предполагаем, что димеризованное состояние соответствует активной форме рецептора, в которой киназные домены сближены в пространстве, в пользу чего также говорят данные FRET-исследований, приведенные в работе [9]. Можно предположить следующий механизм активации: в неактивном состоянии ТМ-домены не взаимодействуют, а при активации рецептора, после изменения конформации внеклеточного домена, происходит их спонтанная димеризация, что не противоречит большинству литературных данных.

Данные модели могут быть использованы в будущем для исследования влияния мембранного окружения и точечных мутаций на устойчивость димера и, следовательно, на активность рецепторов.

#### Список литературы / References:

1. Saltiel A.R., Kahn C.R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, vol. 414, no. 6865, pp. 799-806.
2. Frasca F., Pandini G., Sciacca L., Pezzino V., Squatrito S., Belfiore A., Vigneri R. The role of insulin receptors and IGF-I receptors in cancer and other diseases. *Arch. Physiol. Biochem.*, vol. 114, no. 1, pp. 23-37.
3. Schiöth H.B., Craft S., Brooks S.J., Frey W.H., Benedict C. Brain insulin signaling and Alzheimer's disease: current evidence and future directions. *Mol. Neurobiol.*, vol. 46, no. 1, pp. 4-10.
4. Smith B.J., Huang K., Kong G., Chan S.J., Nakagawa S., Menting J.G., Hu S.-Q., Whittaker J., Steiner D.F., Katsoyannis P.G., Ward C.W., Weiss M.A., Lawrence M.C. Structural resolution of a tandem hormone-binding element in the insulin receptor and its implications for design of peptide agonists. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 107, no. 15, pp. 6771-6776.
5. Cabail M.Z., Li S., Lemmon E., Bowen M.E., Hubbard S.R., Miller W.T. The insulin and IGF1 receptor kinase domains are functional dimers in the activated state. *Nat. Commun.*, 2015, vol. 6, pp. 6406.
6. Hernández-Sánchez C., Mansilla A., de Pablo F., Zardoya R. Evolution of the Insulin Receptor Family and Receptor Isoform Expression in Vertebrates. *Mol. Biol. Evol.*, 2008, vol. 25, no. 6, pp. 1043-1053.
7. Tatulian S.A. Structural Dynamics of Insulin Receptor and Transmembrane Signaling. *Biochemistry*, 2015, vol. 54, no. 36, pp. 5523-5532.
8. Lee J., Miyazaki M., Romeo G.R., Shoelson S.E. Insulin Receptor Activation with Transmembrane Domain Ligands. *J. Biol. Chem.*, 2014, vol. 289, no. 28, pp. 19769-19777.
9. Kavran J.M., McCabe J.M., Byrne P.O., Connacher M.K., Wang Z., Ramek A., Sarabipour S., Shan Y., Shaw D.E., Hristova K., Cole P.A., Leahy D.J. How IGF-1 activates its receptor. *eLife*, 2014, vol. 3.
10. Menting J.G., Whittaker J., Margetts M.B., Whittaker L.J., Kong G.K.-W., Smith B.J., Watson C.J., Žáková L., Kletvíková E., Jiráček J., Chan S.J., Steiner D.F., Dodson G.G., Brzozowski A.M., Weiss M.A., Ward C.W., Lawrence M.C. How insulin engages its primary binding site on the insulin receptor. *Nature*, 2013, vol. 493, no. 7431, pp. 241-245.
11. Polyansky A.A., Chugunov A.O., Volynsky P.E., Krylov N.A., Nolde D.E., Efremov R.G. PREDDIMER: a web server for prediction of transmembrane helical dimers. *Bioinformatics*, 2014, vol. 30, no. 6, pp. 889-890.
12. Van Der Spoel D., Lindahl E., Hess B., Groenhof G., Mark A.E., Berendsen H.J.C. GROMACS: fast, flexible, and free. *J. Comput. Chem.*, 2005, vol. 26, no. 16, pp. 1701-1718.

### О СТРУКТУРНОЙ САМООРГАНИЗАЦИИ C<sub>60</sub> ФУЛЛЕРЕНА И ЦИСПЛАТИНА В ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ РАСТВОРЕ

Прилуцкий Ю.И.<sup>1</sup>, Черепанов В.В.<sup>2</sup>, Евстигнеев М.П.<sup>3,4</sup>, Воронин Д.П.<sup>3</sup>,  
Степкин В.И.<sup>2</sup>, Риттер Ю.<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Киевский национальный университет им. Т. Шевченко  
ул. Владимирская, 64, г. Киев, 01601, Украина

<sup>2</sup> Институт физики НАН Украины  
пр. Науки, 46, г. Киев, 03680, Украина

<sup>3</sup> Севастопольский государственный университет  
ул. Университетская, 33, г. Севастополь, 299053, РФ  
e-mail: max\_evstigneev@mail.ru

<sup>4</sup> Белгородский государственный национальный исследовательский университет  
пр. Победы, 85, г. Белгород, 308015, РФ

<sup>5</sup> Технический университет Ильменау,  
ул. Веймара, 25, г. Ильменау, 98693, Германия

**Аннотация.** Методами сканирующей электронной и атомно-силовой микроскопии впервые изучены особенности структурной самоорганизации C<sub>60</sub> фуллерена и антиопухолевого препарата цисплатина в физиологическом растворе (0.9% NaCl), что в дальнейшем может быть использовано для выяснения механизмов их специфической антиопухоловой активности и практического использования в онкологии.

**Ключевые слова:** C<sub>60</sub> фуллерен, цисплатин, физиологический раствор, сканирующая электронная микроскопия, атомно-силовая микроскопия.

**STRUCTURAL SELF-ORGANIZATION OF C<sub>60</sub> FULLERENE AND CISPLATIN IN PHYSIOLOGICAL SOLUTION**Prylutskyy Yu.I.<sup>1</sup>, Cherepanov V.V.<sup>2</sup>, Evstigneev M.P.<sup>3,4</sup>, Voronin D.P.<sup>3</sup>, Styopkin V.I.<sup>2</sup>, Ritter U.<sup>5</sup><sup>1</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv  
*Volodymyrska Str., 64, Kyiv, 01601, Ukraine*<sup>2</sup>Institute of Physics of NAS of Ukraine  
*Nauky Aven. 46, Kyiv, 03680, Ukraine*<sup>3</sup>Sevastopol State University  
*Universitetskaya St., 33, Sevastopol, 299053, Russia*  
*e-mail: max\_evstigneev@mail.ru*1. <sup>4</sup>Belgorod State University  
*2. Pobedy Str. 85, Belgorod, 308015, Russia*<sup>5</sup>Ilmenau University of Technology  
*Weimarer Str. 25, Ilmenau, 98693, Germany*

**Abstract.** Features of the structural self-organization of the C<sub>60</sub> fullerene and antitumor drug cisplatin in a physiological solution (0.9% NaCl) were studied by the methods of scanning electron and atomic force microscopy, which can then be used to determine the mechanisms of their specific anticancer activity and practical use in oncology.

**Key words:** C<sub>60</sub> fullerene, cisplatin, physiological solution, scanning electron microscopy, atomic-force microscopy

**Введение.**

Одна из основных проблем в развитии современной биотехнологии заключается в рациональной разработке и применении биосовместимых малотоксичных наночастиц для лечения широко распространенных заболеваний, включая рак. Предполагается, что при помощи нанотехнологий в ближайшее время будут решены проблемы ранней диагностики и определения локализации злокачественных новообразований, реализована адресная доставка лекарственных препаратов в опухоль, а также разработаны новые методы селективной терапии. На данный момент среди возможных эффективных противоопухолевых агентов значительный интерес вызывает C<sub>60</sub> фуллерен [1-3], благодаря его несложному синтезу, высокой механической прочности, возможности химической модификации [4] для обеспечения оптимальной биологической активности внутри клетки [5], а также высокой восстановительной способности (может присоединять до шести электронов) [6-7]. По химическим свойствам C<sub>60</sub> фуллерен является гидрофобным – он нерастворим в полярных растворителях, что ограничивает его биодоступность [8]. Для получения водного раствора C<sub>60</sub> фуллерена (C<sub>60</sub>FAS) была предложена воспроизводимая простая методика, основанная на переносе C<sub>60</sub> молекул из толуола в воду при воздействии ультразвука [9]. Оказалось, что полученная коллоидная система остаётся высокостабильной в течении 12 месяцев при температуре хранения 4<sup>0</sup> С. Модельные расчёты, данные атомно-силовой микроскопии (АСМ), динамического рассеяния света и мало-углового рассеяния нейтронов (SANS) подтвердили, что полученный C<sub>60</sub>FAS содержит как одиночные гидратированные C<sub>60</sub> молекулы, так и сферически-подобные гидратированные кластеры (агрегаты) диаметром до 100 нм [9-11]. Методом ИК-Фурье спектроскопии [11] выявлено поверхностное гидроксильное C<sub>60</sub> молекулы, что является наиболее вероятным механизмом её стабильности в водной среде.

Одним из распространённых терапевтических средств в химиотерапии рака является водорастворимая неорганическая производная двухвалентной платины – цисплатин (Cis-[Pt(II)(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] [12]. В опухолевых клетках цисплатин вызывает избирательное и устойчивое торможение синтеза ДНК и, соответственно, их деления и размножения. В тоже время недостатками цисплатина являются его нефро-, гепато- и кардиотоксичность, нарушение ЦНС и т.п. Поэтому важным остается поиск соединений, которые снижали бы побочные действия цисплатина, целенаправленно транспортировали его в область патологического процесса, контролировали лечение на клеточном уровне, повышали растворимость в биодоступной форме, защищали от деградации и т.п. [13]. Одним из таких потенциальных агентов может выступать C<sub>60</sub> фуллерен [14]. Однако дальнейшее целенаправленное использование C<sub>60</sub> фуллерена и цисплатина в комбинированной противоопухолевой терапии требует точных данных об их структурном состоянии в физиологических растворах, используемых в биомедицине. Эта информация необходима для выяснения молекулярных механизмов специфического биологического действия (мембранотропного, радиопротекторного, иммуномодулирующего и т.п.) образуемых наночастиц, и влияния их размеров [15].

Таким образом, целью данной работы было детальное изучение структурной самоорганизации C<sub>60</sub> фуллерена и цисплатина в физиологическом растворе (0.9 % NaCl) с использованием методов АСМ и сканирующей электронной микроскопии (СЭМ).

**Экспериментальная часть.***Подготовка образцов.*

C<sub>60</sub>FAS в максимальной концентрации 0.3 мг/мл был приготовлен согласно методике [9]. Однородность консистенции системы «C<sub>60</sub> фуллерен в физиологическом растворе» (C<sub>60</sub>+PS) была обеспечена путём смешивания в одинаковых объёмах C<sub>60</sub>FAS и физиологический раствор (1:1) с дальнейшим использованием ультразвуковой бани (ВК-9050, Germany; мощность – 50 Вт, частота – 40 кГц, время перемешивания – 3 часа).

В экспериментах использован концентрат цисплатина («Cisplatin-TEVA», Pharmachemie B.V., Голландия) исходной концентрации 0.5 мг/мл. Этот концентрат разбавляли в физиологическом растворе до концентраций 0.3 и 0.15 мг/мл (Cis+PS).

Иммобилизацию цисплатина на  $C_{60}$  фуллерене проводили по такой методике: исходные растворы  $C_{60}$ FAS (0.3 мг/мл) и Cis+PS (0.3 мг/мл) смешивали в объёмном соотношении 1:1. Полученную смесь ( $C_{60}$ +Cis+PS) обрабатывали на ультразвуковом диспергаторе в течение 30 мин, после чего её перемешивали в течение 12 часов на магнитной мешалке при комнатной температуре.

#### АСМ измерения.

Структурное состояние  $C_{60}$  фуллерена и цисплатина в физиологическом растворе контролировали с помощью АСМ. Для этого капли физиологического раствора с исследуемыми веществами наносили на атомно-гладкую поверхность подложки. Измерения проводили на сухих слоях после полного испарения растворителя. В АСМ исследованиях использовали свежесколотую поверхность слюды (V-1 Grade, SPI Supplies). АСМ визуализация образцов была проведена в полуконтактном режиме при использовании АСМ зондов типа NSG10 (NT-MDT). Измерения проводили на коммерческой системе "Solver Pro M" производства NT-MDT, Россия.

#### СЭМ измерения.

Для осаждения образцов использовались чистые кремниевые пластины p-типа (100). Изображения поверхности были получены в режиме вторичных электронов при энергии 25 кВ в JSM-35 SEM (Япония).

Образцы исследовались в подготовленном непокрытом состоянии и иногда изображения крупных частиц были слегка искажены из-за заряда пучком облучаемых электронов.

#### Результаты и обсуждение.

Для определения состава приготовленной смеси  $C_{60}$  фуллерена с цисплатином в физиологическом растворе использовались методы АСМ и СЭМ.

Процесс испарения воды из капли физиологического раствора с  $C_{60}$  фуллеренами вначале был изучен при помощи оптического микроскопа, интегрированного в АСМ комплекс. При этом на поверхности слюды наблюдали формирование кристаллов соли, которые занимали только часть подложки, изначально покрытой раствором. Для проведения последующих АСМ измерений выбирали относительно гладкие участки поверхности, не занятые видимыми кристаллами соли. На этих участках обнаружены островки с характерным латеральным размером  $\sim 1$  мкм (см. рис. 1а). Высота всех островков одинакова и составляла  $\sim 0.7$  нм, что хорошо согласуется с диаметром  $C_{60}$  молекулы (см. рис. 1б). Это показывает, что  $C_{60}$  фуллерены группируются на поверхности слюды в плотноупакованные монослойные кластеры. Кроме островков  $C_{60}$  фуллеренов выявлены игольчатые наноструктуры высотой 8-30 нм и латеральной протяженностью до 1 мкм, которые соответствуют кристаллам соли NaCl в физиологическом растворе, сформировавшимся при испарении воды (см. рис. 1а).

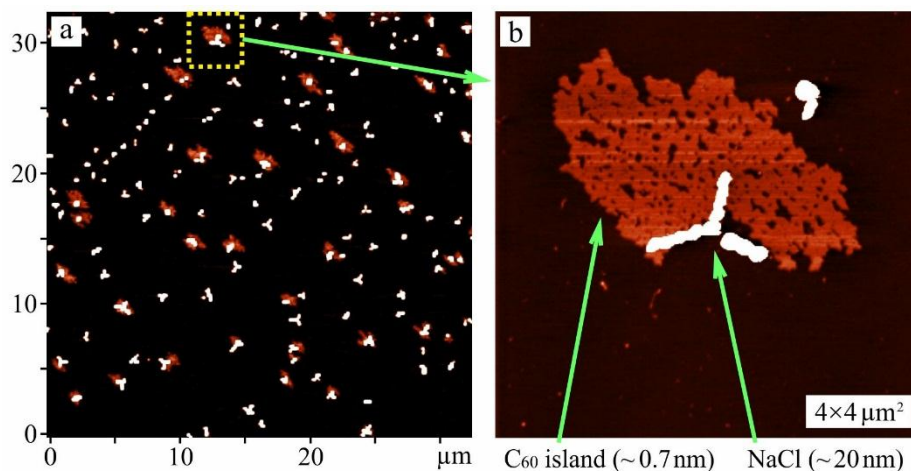


Рисунок 1 – АСМ изображения монослойных кластеров  $C_{60}$  фуллерена и кристаллов NaCl, которые образуются на поверхности слюды при нанесении  $C_{60}$  в физиологическом растворе. Стрелки указывают высоту объектов

В литературе исследованы процессы агрегации  $C_{60}$  фуллеренов в электролитах. Так, в работе [16] методом спектроскопии поглощения в УФ/видимом диапазоне выявлено смещение пика поглощения  $C_{60}$  фуллерена в красную область при добавлении хлорида натрия. Этот процесс сопровождался образованием желтоватого осадка, что свидетельствовало о коагуляции  $C_{60}$  молекул между собой, в то время как их водный раствор демонстрировал относительную стабильность. Кроме того, методом электрофоретического рассеивания света установлено, что в водном растворе кластеры  $C_{60}$  фуллеренов заряжены отрицательно ( $\zeta$ -потенциал = -23 мВ) [9]. Благодаря этому возникают силы электростатического отталкивания между  $C_{60}$  молекулами, которые способствуют стабильности дисперсной системы в целом. С другой стороны, слабokonцентрированные растворы электролитов (0,001 М) приводят к дестабилизации суспензий  $C_{60}$  фуллеренов [17]. Объединение  $C_{60}$  фуллеренов в островки в присутствии ионов соли возможно вследствие уменьшения сил электростатического отталкивания.

В таком случае Ван-дер-Ваальсовы силы притяжения начинают доминировать, что приводит к образованию монослоёв  $C_{60}$  фуллеренов при их миграции по поверхности во время испарения растворителя.

$C_{60}$  молекулы, в свою очередь, влияют на рост кристаллов соли. Так, на отдельных участках поверхности вместо иглоподобной формы наблюдали другую форму кристаллов NaCl, а именно трёхлучевой «звезды» (см., например, рис. 1b). Высота подобных кристаллов составляла  $\sim 20$  нм, длина лучей  $\sim 1$  мкм. Их образование, очевидно, связано с изменением поверхностной свободной энергии кристаллов NaCl в растворе под действием окружения  $C_{60}$  фуллеренов. Характерно, что значительная часть нанокристаллов соли локализована в пределах островков  $C_{60}$  фуллеренов или примыкает к ним. Можно предположить, что в растворе отрицательно заряженные  $C_{60}$  фуллерены / их кластеры связаны или окружены ионами  $Na^+$ . Ассоциация ионов  $Na^+$ ,  $Cl^-$  при испарении воды сопровождается высвобождением  $C_{60}$  фуллеренов / их кластеров, которые и формируют островок, расположенный по соседству с кристаллом соли.

Агрегация NaCl, цисплатина и  $C_{60}$  с цисплатином в физиологическом растворе при испарении воды из капель этих растворов предварительно была изучена методом СЭМ. Объёмная концентрация соли в физиологическом растворе примерно на порядок превышала концентрации цисплатина и  $C_{60}$  фуллерена и основным продуктом осаждения были кристаллы NaCl (см. рис. 2).

При использовании цисплатина в физиологическом растворе в осажденном слое также наблюдали наноструктуры, примыкающие к кристаллам NaCl (см. рис. 2b), которые отсутствовали при использовании чистого физиологического раствора (см. рис. 2a). Можно предположить, что эти наноструктуры соответствуют цисплатину или смеси цисплатина с NaCl. Локализация цисплатина вблизи кристаллов NaCl может быть объяснена связыванием или окружением отрицательно заряженных молекул цисплатина в физиологическом растворе ионами  $Na^+$ , подобно молекулам  $C_{60}$  фуллерена.

Локализация смеси  $C_{60}$  фуллерена с цисплатином при осаждении из физиологического раствора также происходила вблизи NaCl, что визуально проявлялось в виде плёнки, обрамляющей кристаллы (см. рис. 2c).

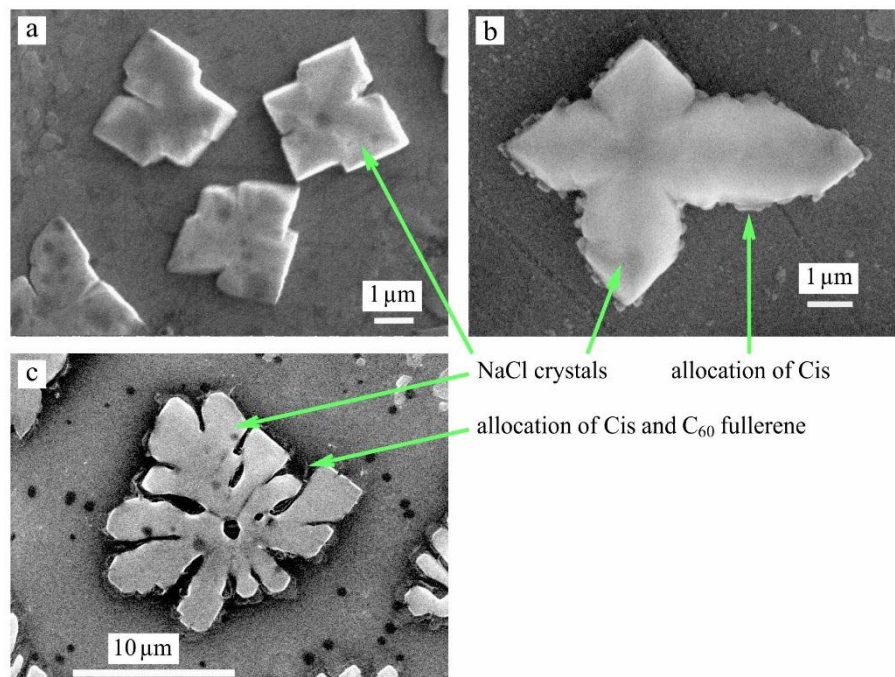


Рисунок 2 – СЭМ изображения слоев, осажденных на Si (100) из физиологического раствора (a), физиологического раствора с цисплатином (b) и физиологического раствора со смесью  $C_{60}$  и цисплатина (c)

При проведении АСМ измерений для уменьшения толщин осажденных слоёв растворы смешивали с бидистиллированной водой в соотношении 1:50. Поскольку при снижении концентрации NaCl ухудшается стабильность цисплатина, разбавление раствора производили непосредственно перед его нанесением. Измерения проводили после испарения воды в зонах с различной толщиной плёнки, условно разделяемой на “толстую” (характерная высота нанообъектов составляла несколько десятков нм) и “тонкую” (характерная высота нанообъектов соответствовала одному или нескольким монослоям).

Структура “толстой” плёнки NaCl, осажденной из чистого физиологического раствора, была однородна и состояла из отдельных кристаллов высотой 40-70 нм. В зависимости от скорости и равномерности испарения воды кристаллы имели форму островков с огранкой на краях, либо точечных нанокристаллов, расположенных вдоль прямых линий (см. рис. 3a). При увеличении средней толщины слоя нанокристаллы объединялись в непрерывные сонаправленные прямолинейные наноструктуры протяженностью 0,1-100 мкм.

Слой, осажденный из физиологического раствора с содержанием цисплатина, состоял из доменов различной морфологии. Домены I типа (см. рис. 3b; тип домена обозначен цифрой на вставке) занимали основную часть

поверхности и состояли из точечных нанообъектов высотой 30-90 нм, которые, вероятнее всего, соответствуют нанокристаллам соли, наблюдавшимся и на рисунке 3а. Домены II типа состояли из отдельных наноостровков (высота 10-40 нм, характерный латеральный размер ~150 нм), которые, преимущественно, не имели огранки на краях. Можно предположить, что эти наноостровки имеют другой химический состав, который соответствует цисплатину или сплаву цисплатина с NaCl. В отдельных случаях также наблюдали субмикронные объекты неправильной формы, которые могли быть как агрегатами NaCl, так и цисплатина.

В слоях, осажденных из физиологического раствора с содержанием смеси C<sub>60</sub> фуллерена с цисплатином, обнаружены специфичные непрерывные суперструктуры, напоминающие по форме дендриты (см. рис. 3с) или арабскую вязь (см. рис. 3д). Можно предположить, что на формирование этих суперструктур оказывает влияние смесь C<sub>60</sub> фуллерена с цисплатином, которая обеспечивает рост агрегатов в одном направлении и блокирует его в остальных. NaCl может содержаться как в химическом составе этих структур, так и осаждаться в форме кристаллов. На рисунке 3д кристаллы NaCl расположены обособленно, а на рисунке 3с – вдоль веток дендритной структуры (эти ветки имеют повышенную яркость).

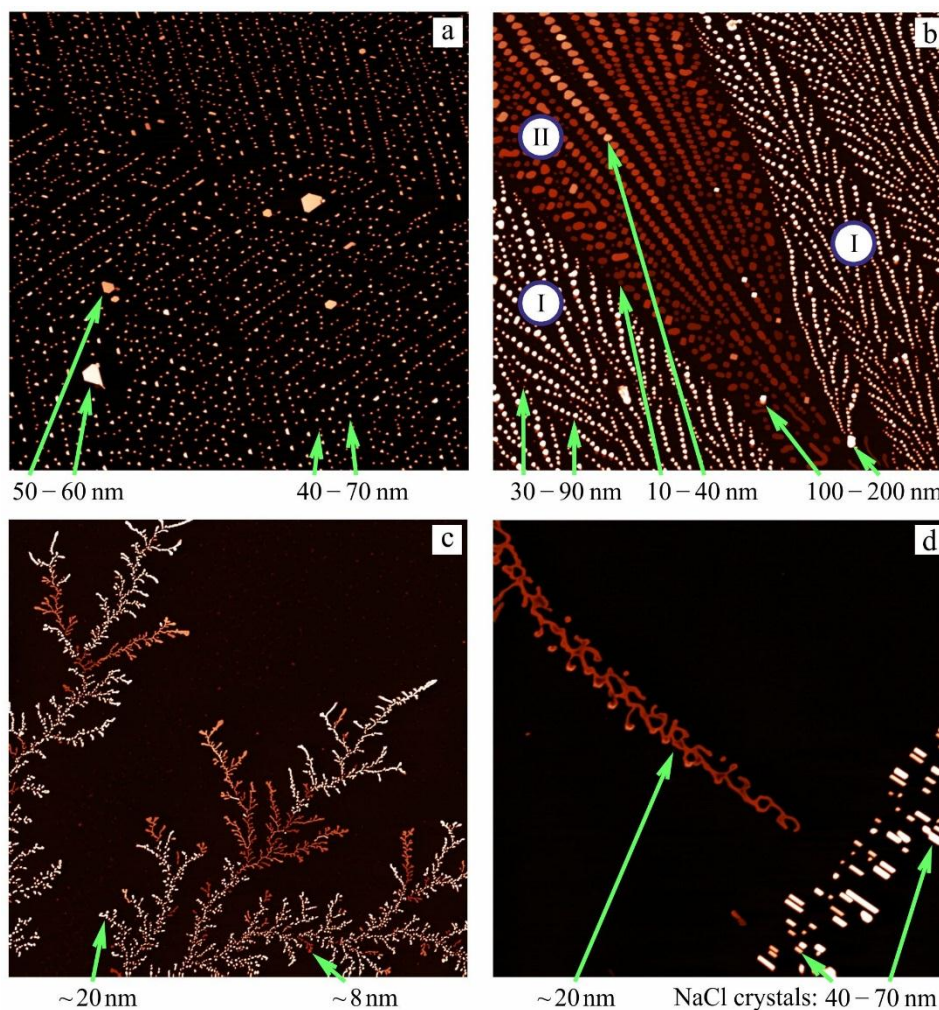


Рисунок 3 – АСМ изображения «толстых» пленок, осажденных на слюдяную подложку из физиологического раствора (а), физиологического раствора с цисплатином (б) и физиологического раствора со смесью C<sub>60</sub> и цисплатина (с). Размер изображения – 20×20 мкм<sup>2</sup>. Стрелки указывают высоту объектов

С учетом полученных данных, свидетельствующих о наличии связи между C<sub>60</sub> фуллереном и молекулой цисплатина, можно представить модель комплексной молекулы, состоящей из ядра – C<sub>60</sub> фуллерена – с прикрепленными к нему одним или несколькими «хвостами» молекул цисплатина. Можно предположить, что такой комплекс обеспечивает формирование наблюдавшихся в АСМ одномерных наноструктур, в которых ядро из C<sub>60</sub> фуллерена обеспечивает связь с подложкой, а цисплатин является связующим элементом между ядрами.

#### Выводы.

Методом АСМ впервые исследована структурная самоорганизация в слоях C<sub>60</sub> фуллеренов, молекул цисплатина и их комплекса, осажденных из физиологического раствора (0.9 % NaCl) на поверхность слюды. Это стало возможным благодаря пространственно-раздельному формированию агрегатов C<sub>60</sub> молекул и кристаллов соли. C<sub>60</sub> фуллерены образуют плотноупакованные кластеры толщиной в один монослой. Эта структура существенно отличается от структуры слоев, осаждённых из водного раствора. Отличие может быть обусловлено

экранированием или уменьшением величины отрицательного заряда поверхности  $C_{60}$  фуллеренов в присутствии ионов соли. Установлено, что при осаждении из физиологического раствора имеет место островковый рост плёнки цисплатина. В то же время при осаждении смеси  $C_{60}$  фуллерена с цисплатином из физиологического раствора дополнительно обнаружены нитевидные наноструктуры, которые, наиболее вероятно, сформированы комплексом  $C_{60}$ -цисплатин.

Работа была частично выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект 14-14-00328).

#### Список литературы / References:

1. *Medicinal Chemistry and Pharmacological Potential of Fullerenes and Carbon Nanotubes*. Series: Carbon Materials: Chemistry and Physics. Cataldo F., Da Ros T. (Eds.), vol. 1. Springer Netherlands, 2008.
2. Prylutska S.V., Burlaka A.P., Prylutsky Yu.I., Ritter U., Scharff P. Pristine  $C_{60}$  fullerenes inhibit the rate of tumor growth and metastasis. *Exp Oncol*, 2011, vol. 33, pp. 162-164.
3. Chen Zh., Mao R., Liu Y. Fullerenes for cancer diagnosis and therapy: preparation, biological and clinical perspectives. *Curr Drug Metabolism*, 2012, vol. 13, no. 8, pp. 1035-1045.
4. Hirsch A., Brettreich M., Wudl F. *Fullerenes: Chemistry and Reactions*. NY: Wiley Interscience, 2005.
5. Lucafo M., Pelillo C., Carini M., Da Ros T., Prato M., Sava G. A cationic [60] fullerene derivative reduces invasion and migration of HT-29 CRC cells in vitro at dose free of significant effects on cell survival. *Nano-Micro Lett*, 2014, vol. 6 (2), pp. 163-168.
6. Gharbi N., Pressac M., Hadchouel M., Szwarc H., Wilson S.R., Moussa F.  $C_{60}$  fullerene is a powerful antioxidant *in vivo* with no acute or subacute toxicity. *Nano Lett*, 2005, vol. 5, pp. 2578-2585.
7. Prylutska S.V., Grynyuk I.I., Matyshevska O.P., Prylutsky Yu.I., Ritter U., Scharff P. Anti-oxidant properties of  $C_{60}$  fullerenes *in vitro*. *Fullerenes Nanotubes Carbon Nanostruct*, 2008, vol. 16, pp. 698-705.
8. Mchedlov-Petrossyan N.O. Fullerenes in liquid media: an unsettling intrusion into the solution chemistry. *Chem. Rev.*, 2013, vol. 113, pp. 5149-5193.
9. Ritter U., Prylutsky Yu.I., Evstigneev M.P., Davidenko N.A., Cherepanov V.V., Senenko A.I., Marchenko O.A., Naumovets A.G. Structural features of highly stable reproducible  $C_{60}$  fullerene aqueous colloid solution probed by various techniques. *Fullerenes, Nanotubes, Carbon Nanostruct.*, 2015, vol. 23, no. 6, pp. 530-534.
10. Prylutsky Yu.I., Buchelnikov A.S., Voronin D.P., Kostjukov V.V., Ritter U., Parkinson J.A., Evstigneev M.P.  $C_{60}$  fullerene aggregation in aqueous solution. *Phys.Chem.Chem.Phys.*, 2013, vol. 15, pp. 9351-9360.
11. Prylutsky Yu.I., Petrenko V.I., Ivankov O.I., Kyzyma O.A., Bulavin L.A., Litsis O.O., Evstigneev M.P., Cherepanov V.V., Naumovets A.G., Ritter U. On the origin of  $C_{60}$  fullerene solubility in aqueous solution. *Langmuir*, 2014, vol. 30, no. 14, pp. 3967-3970.
12. Florea A.-M., Busselberg D. Cisplatin as an anti-tumor drug: cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects. *Cancer*, 2011, vol. 3, pp. 1351-1371.
13. Dong X.P., Xiao T.H., Dong H., Jiang N., Zhao X.G. Endostar combined with cisplatin inhibits tumor growth and lymphatic metastasis of lewis lung carcinoma xenografts in mice. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 2013, vol. 14, pp. 3079-3083.
14. Montellano A., Da Ros T., Bianco A., Prato M. Fullerene  $C_{60}$  as multifunctional system for drug and gene delivery. *Nanoscale* 2011, vol. 3, pp. 4035-4041.
15. Prylutska S., Bilyy R., Overchuk M., Bychko A., Andreichenko K., Stoika R., Rybalchenko V., Prylutsky Yu., Tsierkezos N.G., Ritter U. Water-soluble pristine fullerenes  $C_{60}$  increase the specific conductivity and capacity of lipid model membrane and form the channels in cellular plasma membrane. *J. Biomed. Nanotechnol.*, 2012, vol. 8, no. 3, pp. 522-527.
16. Deguchi S., Alargova R.G., Tsujii K. Stable dispersions of fullerenes,  $C_{60}$  and  $C_{70}$  in water. Preparation and characterization. *Langmuir*, 2001, vol. 17, pp. 6013-6017.
17. Brant J., Lecoanet H., Wiesner M.R. Aggregation and deposition characteristics of fullerene nanoparticles in aqueous systems. *J. Nanopart. Res.*, 2005, vol. 7, pp. 545-553.