

УДК 579.84:615.011.5:615.277.3

**ОЦЕНКА БИТОКСИЧЕСКОГО И ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ДНК ДЕЙСТВИЙ
КОМПЛЕКСОВ ЦИСПЛАТИНА С ФУЛЛЕРЕНОМ C₆₀ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
МОРСКИХ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ БАКТЕРИЙ И РЕКОМБИНАНТНЫХ
LUX-БИОСЕНСОРОВ**

Кацев А. М.¹, Евстигнеев М. П.², Сало В. А.², Шарипов Э. Т.¹

¹*Медицинская академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия*

²*ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», Севастополь, Россия
E-mail: katsev@mail.ru*

Описаны результаты исследования комбинированного действия цисплатина и фуллера C₆₀ на биолюминесценцию морских бактерий *V. fischeri* F1и рекомбинантных штаммов *E. coli* MG1655 (pRecA-lux) и (pColD-lux). Полученные данные указывают на существование взаимодействия фуллера с цисплатином, которое проявляется в снижении биотоксичности препарата на 20–40%, а также его генотоксичности в 2–6 раз. Предполагается связь полученных данных с возможным образованием нековалентных комплексов фуллерен–цисплатин, действие которых происходит независимо от типа биологических систем, что может быть использовано при создании наноразмерных лекарственных форм с адресной доставкой лекарственных веществ.

Ключевые слова: фуллерен, противоопухолевые препараты, биолюминесцентные бактерии, lux-биосенсоры.

ВВЕДЕНИЕ

Определенные успехи, достигнутые к настоящему времени в проблематике разработки оптимальных систем адресной доставки лекарственных препаратов, за редкими исключениями не оказывают системного влияния на качество современной химиотерапии рака. Стандартные противоопухолевые препараты (например, доксорубицин, цисплатин, митоксантрон и др.), широко используемые в клинической практике по всему миру, являются типичным примером соединений, характеризующихся высокой побочной токсичностью при химиотерапии, значительная часть которых так и не была введена на рынок фармацевтической продукции (например, ногаламицин, актиномицин Д и др.). Понижение токсичности этих препаратов могло бы быть достигнуто путем создания эффективной системы адресной доставки, в качестве которой в настоящее время рассматривают наночастицы углерода, среди которых наиболее перспективным является немодифицированный фуллерен C₆₀.

В 2008 году появились первые свидетельства о том, что водная смесь модифицированного фуллера C₆₀ (фуллеренола) обладает протекторным эффектом в

отношении кардио- и гепатотоксичности, индуцированной антибиотиком доксорубицином [1, 2]. Начиная с 2012 года стали появляться первые систематические исследования подобного эффекта в отношении водной смеси немодифицированного фуллерена C_{60} в комбинации с доксорубицином и некоторыми другими препаратами [3], причем было показано, что концентрация антибиотика в раковых клетках увеличивается, вызывая выраженное увеличение противоопухолевого эффекта *in vitro* и *in vivo* [4–6]. Результаты этих исследований показали, что наблюдаемое повышение противоопухолевого эффекта за счет снижения токсичности лежит в плоскости научного поиска механизмов нековалентного комплексообразования частиц фуллерена C_{60} с лекарственными препаратами в физиологической среде [7, 8]. Чуть позже аналогичный эффект был предсказан и обнаружен в отношении другого противоопухолевого препарата цисплатина, что позволило сформулировать гипотезу о том, что комбинация фуллерена C_{60} с противоопухолевыми лекарственными препаратами может выступать в роли системы адресной доставки и в будущем явиться основой новой лекарственной формы этих препаратов [9, 10]. Для новой и быстроразвивающейся отрасли знаний – молекулярной медицины – этот результат мог бы иметь большое значение не только в отношении группы противоопухолевых средств, но и перспективы разработки способов повышения медико-биологической эффективности других типов препаратов.

Если допустить справедливость гипотезы о комплексообразовании биологически активных соединений с фуллереном как ключевого этапа механизма ожидаемого медико-биологического синергизма при их совместном введении в биосистему, то наблюдаемый эффект может быть условно независим от типа используемой биосистемы (клеточной линии), то есть введение комбинации фуллерена и препарата должно сопровождаться биологическим синергизмом этих компонентов по сравнению с их действием по отдельности. Ранее данное допущение нашло предварительное подтверждение на примере *in vitro* тестирования комбинированного действия смесей фуллерен–препарат в делящихся и неделящихся клеточных системах [11], а также *in vivo* тестирования на модели мышей с трансплантированными клеточными линиями [4–6]. В настоящей работе на примере двух стандартных противоопухолевых агентов – доксорубицина и цисплатина – нами был впервые использован метод тестирования комбинаций фуллерен–препарат на различных биолюминесцентных штаммах делящихся бактерий, хорошо зарекомендовавший себя ранее как метод оценки токсичности различных биологически активных соединений [12].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали водорастворимую форму фуллерена C_{60} , приготовленную по методике [13]. Рабочие растворы противоопухолевых антибиотиков получали разведением концентрата цисплатина для приготовления растворов для инфузий (Цисплатин-ЛЭНС, Лэнс-Фарм ООО, Россия) с концентрацией 0,5 мг/мл, а также Доксорубицин-РОНЦ (РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН филиал «Наукапрофи», Россия).

Оценку неспецифического антибактериального действия противоопухолевых препаратов проводили на морских биолюминесцентных бактериях *Vibrio fischeri* F1, *Photobacterium leiognathi* Cr1 и *Vibrio* sp. W16 из коллекции Медицинской академии Крымского федерального университета [14]. Также для оценки специфического повреждающего действия антибиотиков и их комплексов с фуллереном, в отношении нуклеиновых кислот, были использованы рекомбинантные lux-биосенсоры *E. coli* MG1655 (pRecA-lux) и *E. coli* MG1655 (pColD-lux), любезно предоставленные д. б. н. И. В. Мануховым (Лаборатория молекулярной генетики, МФТИ). Методики биотестирования на основе как морских светящихся тест-бактерий, так и рекомбинантных lux-биосенсоров, были описаны ранее [15].

Для выращивания бактерий и подготовки их для биотестирования использовали жидкие и плотные питательные среды (HiMedia M001, M002, Индия). При культивировании морских бактерий в среду дополнительно вводили хлорид натрия до конечной концентрации 3 %. Питательные среды для рекомбинантных бактерий содержали 1% NaCl и 100 мкг/мл ампициллина. Измерение интенсивности биолюминесценции при биотестировании проводили с помощью биолюминометра БЛМ 8801 (СКТБ «Наука», Красноярск), а также LuMate® (Awareness Technology Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В работе изучали действие цисплатина и его комплексов с фуллереном C₆₀ на морские светящиеся бактерии, а также на генно-инженерные Lux-штаммы, чувствительные к специфическому повреждению ДНК. Изучение действия цисплатина и доксорубина показало, что они ингибируют люминесценцию морских бактерий *Vibrio fischeri* F1, *Photobacterium leiognathi* Cr1 и нового биопленкообразующего штамма *Vibrio* sp. Наиболее чувствительным к действию антибиотиков оказались бактерии *V. fischeri* F1 (рис.1).

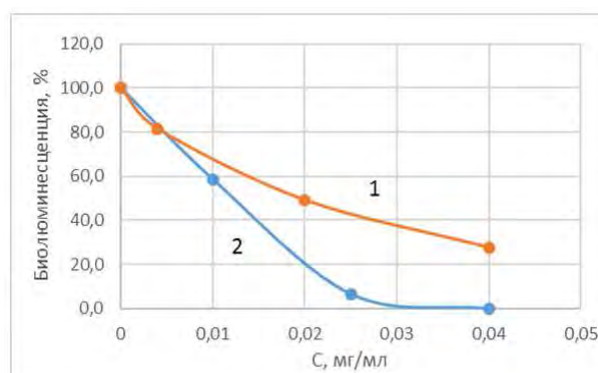


Рис. 1. Действие доксорубина (1) и цисплатина (2) на биолюминесценцию морских бактерий *V. fischeri* F1.

Изучение действия противоопухолевых препаратов на генно-инженерные штаммы *E. coli* pRecA-lux и pColD-lux представлено на рис. 2. Диоксидин, используемый как

положительный контроль, индуцировал люминесценцию Lux-штаммов pRecA-lux и pColD-lux, с соответствующими индексами 10 и 72. Сходными характеристиками обладал и исследуемый цисплатин, который активировал билюминесценцию репортерных штаммов в 8 и 38 раз, соответственно. Доксорубин в исследуемых условиях не проявлял повреждающее действие в отношении ДНК и не вызывал значительных изменений интенсивности бактериального свечения.

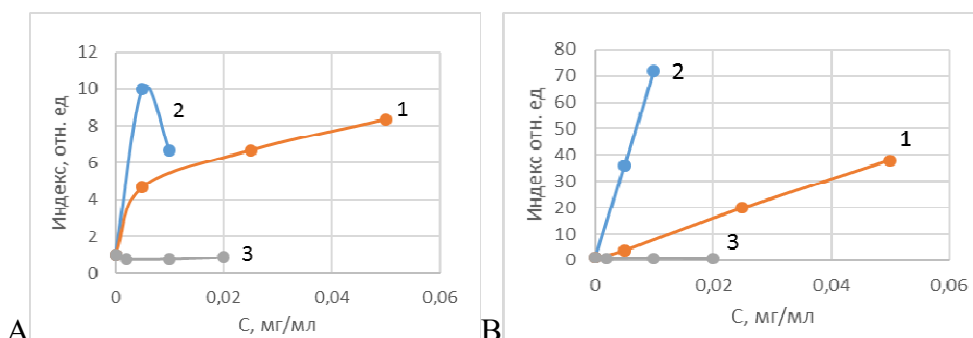


Рис. 2. Действие цисплатина (1), диосквицина (2) и доксорубина (3) на билюминесценцию рекомбинантных *E. coli* MG1655 бактерий: А – pRecA-lux; В – pColD-lux.

Изучение действия фуллерена C_{60} выявило отсутствие его влияния на билюминесценцию как морских светящихся, так и рекомбинантных тест-бактерий.

На следующем этапе анализировали совместное действие цисплатина и фуллерена C_{60} на билюминесценцию морских бактерий *V. fischeri* F1. При соотношении цисплатин/фуллерен (моль/моль) менее 12 (концентрации C_{60} $7 \cdot 10^{-6}$ и $1,4 \cdot 10^{-6}$ моль/л) наблюдалось уменьшение ингибирующей билюминесценцию способности препарата в среднем на 20–40 % (рис. 3).

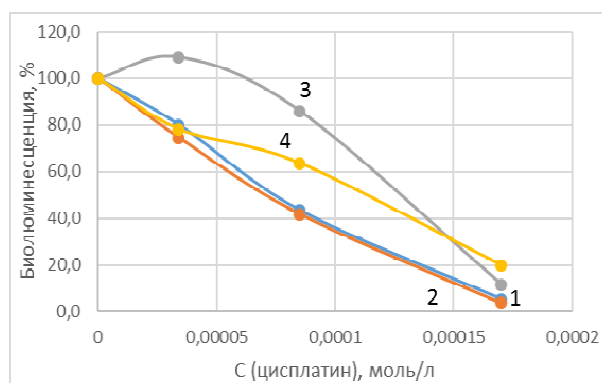


Рис. 3. Совместное действие цисплатина и фуллерена C_{60} при концентрациях фуллерена 0 (1), $2,80 \cdot 10^{-6}$ (2), $7,00 \cdot 10^{-6}$ (3), $1,40 \cdot 10^{-5}$ (4) моль/л соответственно.

Аналогично результатам биотестирования на морских светящихся бактериях, добавление фуллерена к цисплатину снижало его ДНК-тропное действие, что приводило к уменьшению значений индексов индукции биолюминесценции рекомбинантных Lux-биосенсоров. Для *E. coli* MG1655 (pResA-lux) соотношения цисплатин/фуллерен (моль/моль) от 4,8 до 120 вызвали двукратное снижение индекса индукции биолюминесценции (рис. 4).

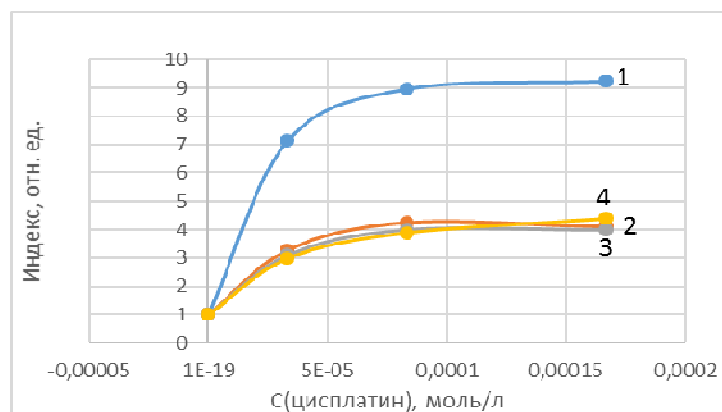


Рис. 4. Совместное действие цисплатина и фуллерена на биолюминесценцию рекомбинантного *E. coli* (pResA-lux) при концентрациях фуллерена 0 (1), $1,39 \cdot 10^{-6}$ (2), $3,47 \cdot 10^{-6}$ (3), $6,94 \cdot 10^{-6}$ (4) моль/л соответственно.

Введение тех же соотношений цисплатина и фуллерена C_{60} в среду *E. coli* MG1655 (pColD-lux) приводило к уменьшению индексов индукции биолюминесценции от 2 до 6,6 раз (рис. 5).

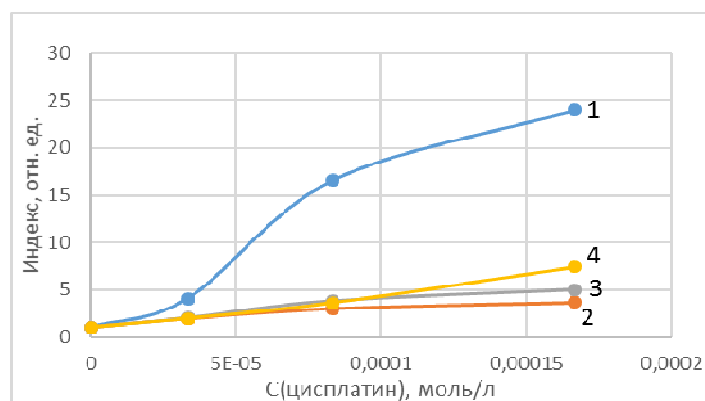


Рис. 5. Совместное действие цисплатина и фуллерена на биолюминесценцию рекомбинантного *E. coli* (pColD-lux) при концентрациях фуллерена 0 (1), $1,39 \cdot 10^{-6}$ (2), $3,47 \cdot 10^{-6}$ (3), $6,94 \cdot 10^{-6}$ (4) моль/л соответственно.

Полученные данные свидетельствуют о том, что образование комплексов цисплатина, одного из широко используемых препаратов цитотоксического действия, с фуллереном C₆₀, приводит к снижению некоторых видов биологической активности, таких как био(-эко)токсичность и генотоксичность, анализируемых по интенсивности биолюминесценции морских светящихся бактерий и рекомбинантных биорепортерных штаммов. Полученные результаты совпадают с данными других работ, где было показано образование комплексов цисплатина с фуллереном [9, 10], их более высокую противоопухолевую активность с одновременным снижением мутагенного эффекта по данным теста Амеса [10], а также снижение биологической активности доксорубицина, этидия бромида и профлавина при образовании комплексов с фуллереном C₆₀ [11]. Таким образом, исходная гипотеза об условной независимости проявления эффекта биологического взаимодействия фуллерен–препарат от типа клеточной системы, являющееся следствием нековалентного комплексообразования фуллерена с молекулами препарата в физиологической жидкости, нашло подтверждение в настоящей работе. Предположительно, адсорбция препарата в кластеры фуллерена, существующие в жидкости, блокирует его действие на биосистему, что проявляется в понижении токсичности. В этом смысле эффект действия фуллерена на препарат подобен действию хорошо изученных в настоящее время молекул–интерцепторов, типа кофеина, хлорофиллина, витамина B₂: интерцепторы образуют нековалентные гетерокомплексы с молекулами препарата, понижая его активную концентрацию и биологический эффект [16, 17]. К сожалению, более глубокой интерпретации механизма биологического взаимодействия фуллерен–препарат в настоящее время дать невозможно, что является предметом дальнейших исследований. Тем не менее, проведенное биотестирование *in vitro* эффекта действия смеси фуллерен–препарат на различные клеточные системы важно для формулирования рекомендаций к использованию этих смесей в последующем доклиническом скрининге в качестве новых лекарственных форм стандартных противоопухолевых антибиотиков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Показано, что противоопухолевые препараты цисплатин и доксорубицин проявляют свою общую неспецифическую токсичность ингибируя бактериальную люминесценцию трех видов морских светящихся тест-бактерий.
2. С использованием рекомбинантных биорепортерных штаммов *E. coli* pRecA-lux и pColD-lux, чувствительных к повреждению нуклеиновых кислот, установлено, что таким биологическим эффектом обладает цисплатин (индексы индукции биолюминесценции составляли 8 и 38, в зависимости от тест-штамма), но не доксорубицин.
3. Биотестирование совместного действия цисплатина и фуллерена C₆₀ на морских светящихся тест-бактериях и на рекомбинантных биорепортерных штаммах показало, что комплексообразование лекарственного вещества с наночастицами приводит к снижению как общей биотоксичности (на 20–40%), так и генотоксичности (в 2–6,6 раза).

Список литературы

1. Injac R. Cardioprotective effects of fullereneol C(60)(OH)(24) on a single dose doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats with malignant neoplasm / R. Injac, M. Perse, M. Boskovic, V. Djordjevic-Milic, A. Djordjevic, A. Hvala, A. Cerar, B. Strukelj // *Technol. Cancer. Res. Treatment*. – 2008. – Vol. 7, № 1. – P. 15–25.
2. Injac R. Protective effects of fullereneol C60(OH)24 against doxorubicin-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity in rats with colorectal cancer / R. Injac, M. Perse, M. Cerne, N. Potocnik, N. Radic, B. Govedarica, A. Djordjevic, A. Cerar, B. Strukelj // *Biomaterials*. – 2009. – Vol. 30, № 6. – P. 1184–96.
3. Al-Subiai S. N. Merging nano-genotoxicology with eco-genotoxicology: an integrated approach to determine interactive genotoxic and sub-lethal toxic effects of C(60) fullerenes and fluoranthene in marine mussels, *Mytilus* sp. / S. N. Al-Subiai, V. M. Arlt, P. E. Frickers, J. W. Readman, B. Stolpe, J. R. Lead, A. J. Moody, A. N. Jha // *Mutat. Res.* – 2012. – Vol. 745, № 1–2. – P. 92–103.
4. Prylutska S. C60 fullerene as synergistic agent in tumor-inhibitory Doxorubicin treatment / S. Prylutska, I. Grynyuk, O. Matyshevska, Y. Prylutsky, M. Evstigneev, P. Scharff, U. Ritter // *Drugs in R&D*. – 2014. – Vol. 14, № 4. – P. 333–40.
5. Panchuk R. R. Application of C60 Fullerene-Doxorubicin Complex for Tumor Cell Treatment In Vitro and In Vivo / R. R. Panchuk, S. V. Prylutska, V. V. Chumakl, N. R. Skorokhyd, L. V. Lehka, M. P. Evstigneev, Y. I. Prylutsky, W. Berger, P. Heffeter, P. Scharff, U. Ritter, R. S. Stoika // *J. Biomed. Nanotechnology*. – 2015. – Vol. 11, № 7. – P. 1139–52.
6. Prylutska S. V. Complex of C60 Fullerene with Doxorubicin as a Promising Agent in Antitumor Therapy / S. V. Prylutska, L. M. Skivka, G. V. Didenko, Y. I. Prylutsky, M. P. Evstigneev, G. P. Potebnya, R. R. Panchuk, R. S. Stoika, U. Ritter, P. Scharff // *Nanoscale Res. Lett.* – 2015. – Vol. 10, № 1. – P. 499–505.
7. Evstigneev M. P. Complexation of C60 fullerene with aromatic drugs. / M. P. Evstigneev, A. S. Buchelnikov, D. P. Voronin, Y. V. Rubin, L. F. Belous, Y. I. Prylutsky, U. Ritter // *Chem. Phys. Chem.* – 2013. – Vol. 14, № 3. – P. 568–78.
8. Prylutsky Y. I. Characterization of C60 fullerene complexation with antibiotic doxorubicin. / Y. I. Prylutsky, M. P. Evstigneev, I. S. Pashkova, D. Wyrzykowski, A. Woziwodzka, G. Goluński, J. Piosik, V. V. Cherepanov, U. Ritter // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2014. – Vol. 16, № 42. – P. 23164–72.
9. Prylutsky Y. I. Structural self-organization of C60 and cisplatin in physiological solution / Y. I. Prylutsky, V. V. Cherepanov, M. P. Evstigneev, O. A. Kyzyma, V. I. Petrenko, V. I. Styopkin, L. A. Bulavin, N. A. Davidenko, D. Wyrzykowski, A. Woziwodzka, J. Piosik, R. Kazmierkiewicz, U. Ritter // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2015. – Vol. 17, № 39. – P. 26084–92.
10. Prylutska S. C60 fullerene enhances cisplatin anticancer activity and overcomes tumor cell drug resistance / S. Prylutska, R. Panchuk, G. Goluński, L. Skivka, Y. Prylutsky, V. Hurmach, N. Skorohyd, A. Borowik, A. Woziwodzka, J. Piosik, O. Kyzyma, V. Garamus, L. Bulavin, M. Evstigneev, A. Buchelnikov, R. Stoika, W. Berger, U. Ritter, P. Scharff // *Nano Research*. – 2017. – Vol. 10, № 2. – P. 652–671.
11. Skamrova G. B. Interceptor effect of C60 fullerene on the in vitro action of aromatic drug molecules / Skamrova G. B., Laponogov I., Buchelnikov A. S., Shckorbatov Y. G., Prylutska S. V., Ritter U., Prylutsky Y. I., Evstigneev M. P. // *Eur. Biophys. J.* – 2014. – Vol. 43, № 6–7. – P. 265–276.
12. Дерябин Д. Г. Бактериальная биолюминесценция: фундаментальные и прикладные аспекты / Д. Г. Дерябин. – М: Наука, 2009. – 248 с.
13. Ritter U. Structural features of highly stable reproducible C60 fullerene aqueous colloid solution probed by various techniques / U. Ritter, Y. I. Prylutsky, M. P. Evstigneev, N. A. Davidenko, V. V. Cherepanov, A. I. Senenko, O. A. Marchenko, A. G. Naumovets // *Fullerenes Nanotubes and Carbon Nanostructures*. – 2015. – Vol. 23, № 6. – P. 530–534.
14. Кацев А. М. Новые термофильные люминесцентные бактерии, выделенные из Азовского моря. / А. М. Кацев // *Таврический медико-биологический вестник*. – 2014. – Т. 17, № 2. – С. 59–64.
15. Малыгина В. Ю. Светящиеся бактерии Черного и Азовского морей / В. Ю. Малыгина, А. М. Кацев // *Экология моря*. – 2003. – Т. 64. – С. 18–23.

16. Woziwodzka A. Caffeine and other methylxanthines as interceptors of food-borne aromatic mutagens: inhibition of Trp-P-1 and Trp-P-2 mutagenic activity / Woziwodzka A., Gołuński G., Wyrzykowski D., Kaźmierkiewicz R., Piosik J // Chem. Res. Toxicol. – 2013. – Vol. 26, № 11. – P. 1660–1673.
17. Hill G. M. Attenuation of cytotoxic natural product DNA intercalating agents by caffeine. / Hill G. M., Moriarity D. M., Setzer W. N // Sci. Pharm. – 2011. – Vol. 79, № 4. – P. 729–747.

ESTIMATION OF THE BIOTOXIC AND DNA TROPIC ACTIVITY OF CISPLATIN COMPLEXES WITH FULLERENE C₆₀ WITH APPLYING OF MARINE LUMINESCENT BACTERIA AND RECOMBINANT LUX-BIOSENSORS

Katsev A. M.¹, Evstigneev M. P.², Salo V. A.², Sharipov E. T.¹

¹*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia*

²*Sevastopol State University, Sevastopol, Russia*

E-mail: katsev@mail.ru

The combined effect of cisplatin and its complexes with fullerene C₆₀ on the bioluminescence of marine luminous bacteria *V. fischeri* F1, as well as on genetically engineered Lux-strains sensitive to the action of DNA-tropic agents *E. coli* MG1655 (pRecA-lux) and (pColD-lux).

Cisplatin induced the luminescence of Lux-strains pRecA-lux and pColD-lux at 8 and 38 times, respectively. The study of the action of fullerene C₆₀ revealed the absence of influence on bioluminescence of both marine luminous and recombinant test bacteria. The next step was to analyze the joint effect of cisplatin and fullerene C₆₀ on the bioluminescence of sea bacteria *V. fischeri* F1. At a cisplatin/fullerene (mol/mol) ratio of less than 12 (C₆₀ concentrations of $7 \cdot 10^{-6}$ and $1.4 \cdot 10^{-6}$ mol/l), the inhibiting bioluminescence of the drug ability was on average 20–40 %.

Similar to the results of biotesting on marine luminous bacteria, the addition of fullerene to cisplatin reduced its DNA-tropic effect, which led to a decrease in the indices of induction of bioluminescence of recombinant Lux-biosensors. For *E. coli* MG1655 (pRecA-lux), the cisplatin/fullerene (mol/mol) ratios of 4.8 to 120 caused a two-fold decrease in the bioluminescence induction index. The introduction of the same ratios of the antibiotic and fullerene C₆₀ to *E. coli* MG1655 (pColD-lux) resulted in a decrease in indices of induction of bioluminescence from 2 to 6.6 times.

The obtained data indicate the existence of fullerene interaction with cisplatin, which manifests itself in a decrease in the eco- and genotoxicity of the drug effect on strains of luminous bacteria when administered as an aqueous mixture with fullerene C₆₀. This effect is presumably a consequence of non-covalent complexation of fullerene with drug molecules and manifests itself in various types of biosystems – the dividing and non-dividing cell lines *in vitro* and *in vivo*. Such rapid *in vitro* testing of the effect of the fullerene-drug mixture on various cellular systems is important for formulating recommendations for the use of these mixtures in subsequent preclinical screening as new dosage forms of standard antitumor drugs.

Keywords: fullerene, antitumor drugs, bioluminescent bacteria, lux-biosensors.

References

1. Injac R., Perse M., Boskovic M., Djordjevic-Milic V., Djordjevic A., Hvala A., Cerar A., Strukelj B. Cardioprotective effects of fullereneol C(60)(OH)(24) on a single dose doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats with malignant neoplasm, *Technol. Cancer. Res. Treatment*, **7**(1), 15 (2008).
2. Injac R., Perse M., Cerne M., Potocnik N., Radic N., Govedarica B., Djordjevic A., Cerar A., Strukelj B. Protective effects of fullereneol C60(OH)24 against doxorubicin-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity in rats with colorectal cancer, *Biomaterials*, **30**(6), 1184 (2009).
3. Al-Subiahi S. N., Arlt V. M., Frickers P. E., Readman J. W., Stolpe B., Lead J. R., Moody A. J., Jha A. N. Merging nano-genotoxicology with eco-genotoxicology: an integrated approach to determine interactive genotoxic and sub-lethal toxic effects of C(60) fullerenes and fluoranthene in marine mussels, *Mytilus* sp., *Mutat. Res.*, **745**(1-2), 92 (2012).
4. Prylutska S., Grynyuk I., Matyshevska O., Prylutsky Y., Evstigneev M., Scharff P., Ritter U. C60 fullerene as synergistic agent in tumor-inhibitory Doxorubicin treatment, *Drugs in R&D*, **14**(4), 333 (2014).
5. Panchuk R. R., Prylutska S. V., Chumak V. V., Skorokhyd N. R., Lehka L. V., Evstigneev M. P., Prylutsky Y. I., Berger W., Heffeter P., Scharff P., Ritter U., Stoika R. S. Application of C60 Fullerene-Doxorubicin Complex for Tumor Cell Treatment In Vitro and In Vivo, *J. Biomed. Nanotechnology*, **11**(7), 1139 (2015).
6. Prylutska S. V., Skivka L. M., Didenko G. V., Prylutsky Y. I., Evstigneev M. P., Potebnya G. P., Panchuk R. R., Stoika R. S., Ritter U., Scharff P. Complex of C60 Fullerene with Doxorubicin as a Promising Agent in Antitumor Therapy, *Nanoscale Res. Lett.*, **10**(1), 499 (2015).
7. Evstigneev M. P., Buchelnikov A. S., Voronin D. P., Rubin Y. V., Belous L. F., Prylutsky Y. I., Ritter U. Complexation of C60 fullerene with aromatic drugs, *Chem. Phys. Chem.*, **14**(3), 568 (2013).
8. Prylutsky Y. I., Evstigneev M. P., Pashkova I. S., Wyrzykowski D., Woziwodzka A., Gołuński G., Piosik J., Cherepanov V. V., Ritter U. Characterization of C60 fullerene complexation with antibiotic doxorubicin, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **16**(42), 23164 (2014).
9. Prylutsky Y. I., Cherepanov V. V., Evstigneev M. P., Kyzyma O. A., Petrenko V. I., Styopkin V. I., Bulavin L. A., Davidenko N. A., Wyrzykowski D., Woziwodzka A., Piosik J., Kaźmierkiewicz R., Ritter U. Structural self-organization of C60 and cisplatin in physiological solution, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **17**(39), 26084 (2015).
10. Prylutska S., Panchuk R., Gołuński G., Skivka L., Prylutsky Y., Hurmach V., Skorokhyd N., Borowik A., Woziwodzka A., Piosik J., Kyzyma O., Garamus V., Bulavin L., Evstigneev M., Buchelnikov A., Stoika R., Berger W., Ritter U. and Scharff P. C60 fullerene enhances cisplatin anticancer activity and overcomes tumor cell drug resistance, *Nano Research*, **10**(2), 652 (2017).
11. Skamrova G. B., Laponogov I., Buchelnikov A. S., Shckorbatov Y. G., Prylutska S. V., Ritter U., Prylutsky Y. I., Evstigneev M. P. Interceptor effect of C60 fullerene on the in vitro action of aromatic drug molecules, *Eur. Biophys. J.*, **43**(6-7), 265 (2014).
12. Deryabin D. G. Bacterial bioluminescence: fundamental and application aspects, 248 p. (M: Science, 2009).
13. Ritter U., Prylutsky Y. 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 C60 fullerene aqueous colloid solution probed by various techniques, *Fullerenes Nanotubes and Carbon Nanostructures*, **23**(6), 530 (2015).
14. Katsev A. M. New thermophilic luminescent bacteria isolated from Azov sea, *Tavrisheskiy Mediko-Biologicheskiy Vestnik*, **17**(2), (2014).
15. Maligina V. Yu., Katsev A. M. Luminous bacteria from the Black sea and the Sea of Azov, *Ekologiya Morya*, **64**, 18 (2003).
16. Woziwodzka A., Gołuński G., Wyrzykowski D., Kaźmierkiewicz R., Piosik J. Caffeine and other methylxanthines as interceptors of food-borne aromatic mutagens: inhibition of Trp-P-1 and Trp-P-2 mutagenic activity, *Chem. Res. Toxicol.*, **26**(11), 1660 (2013).
17. Hill G. M., Moriarity D. M., Setzer W. N. Attenuation of cytotoxic natural product DNA intercalating agents by caffeine, *Sci. Pharm.*, **79**(4), 729 (2011).