

- protein receptor for *Clostridium botulinum* type B neurotoxin in rat brain synaptosomes. J Biol Chem, 1994, **269**: 10498~ 10503
- 14 Montecucco C, Schiavo G. Mechanism of action of tetanus and botulinum neurotoxins. Molecular Microbio, 1994, **13** (1): 1~ 8
- 15 Simpson L L. Current concepts on the mechanism of action of clostridial neurotoxins. In: DasGupta B R ed. Botulinum and tetanus neurotoxins. Plenum Press, 1993. 5~ 15
- 16 Martin T F. The molecular machinery for fast and slow neurosecretion. Curr Opin Neurobiol, 1994, **4**: 626~ 632
- 17 Schiavo G, Rossetto O, Montecucco C. Clostridial neurotoxins as tools to investigate the molecular events of neurotransmitter release. Seminars Cell Biol, 1994, **5**: 221~ 229
- 18 Williamson L C, Halpern J L, Montecucco C *et al.* Clostridial neurotoxins and substrate proteolysis in intact neurons. J Biol Chem, 1996, **271**: 7694~ 7699
- 19 Banerjee A, Kowalchuk J A, DasGupta B R *et al.* SNAP-25 is required for a late postdocking step in Ca^{2+} -dependent exocytosis. J Biol Chem, 1996, **271**: 20227~ 20230

Progress in Study on the Mechanism of Botulinum Neurotoxin Actions. SHI Yu-liang, HU Qian (*Shanghai Institute of Physiology, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China*).

Abstract Recent achievements in researching botulinum neurotoxin actions' mechanism are as follows. (1) Electrophysiology experiments demonstrate the decrease of Ca^{2+} sensitivity in the transmitter release system is responsible to the synaptic block induced by BoNTs. Directly

intracellular introducing of BoNTs shows BoNTs have no intracellularly cholinergic specificity and inhibit secretion from all types of cells. (2) Binding experiments indicate the binding of BoNTs includes an initial low-affinity step and a subsequent high-affinity step. The low-affinity receptors might be gangliosides, while the high-affinity receptor might be synaptotagmin, a synaptic vesicle membrane protein. (3) The intoxication of BoNTs is more appropriately described by a four-step process: binding to the preferential receptors, internalizing by the process of receptor-mediated endocytosis, membrane translocation and escaping endosomes by an acidification process, as well as selectively cleaving the proteins involved in exocytosis as an enzyme. The carboxyterminus and the aminoterminal of the heavy chain as well as the light chain play important roles in tissue targeting, internalization, and intracellular target modification respectively. The internalized light chain cleaves the proteins involved in the fusion of synaptic vesicles so that the exocytosis as well as the transmitter releases are inhibited.

Key words botulinum neurotoxin, vesicle fusion, neurotransmitter release, function domain

富勒烯的生物活性研究进展*

徐正 锁志勇 魏先文

(南京大学配位化学研究所, 配位化学国家重点实验室, 南京 210093)

朱德煦

(南京大学生物化学系, 南京 210093)

摘要 90年代初以来, 富勒烯类化合物的生物活性逐渐引起人们的注意, 初步研究表明在抗艾滋病、酶活性抑制、切割DNA、光动力学治疗等方面具有独特的功效. 此类化合物在生化、医学、药理学等领域有良好的应用前景.

关键词 富勒烯, 生物活性, 毒性, 溶解性, 新陈代谢, 光动力学治疗

学科分类号 R914

富勒烯是单质碳的第三种同素异形体, 具有中空的笼状结构, 它的家族成员有 C_{60} 、 C_{70} 、 C_{76} 、 C_{78} 、 C_{82} 、 C_{84} 、 C_{90} 、 C_{94} ... C_{240} 、

C_{540} 等, 它们中的突出代表是 C_{60} 和 C_{70} . 自

* 国家自然科学基金资助项目 (29671018).

收稿日期: 1996-12-25, 修回日期: 1997-03-28

1990年克拉希姆(W. Kratschmer)等发明了合成克量级 C_{60} 的方法以来,在世界范围内掀起了研究 C_{60} 的热潮,涉及的学科包括物理、化学、生物、天文和材料科学等.一个分子能如此迅速地打开通向科学新领域的大门,这是非常罕见的.由于 C_{60} 分子的巨大科学意义,被美国《Science》杂志评为1991年的“明星分子”. C_{60} 是由60个碳原子组成的球型分子,包含12个五元环和20个六元环,直径为0.71 nm. C_{60} 独特的结构赋予了它特殊的物理、化学性质.业已发现 C_{60} 具有能量最低的最低空轨道 T_{1u} ,可以接纳六个电子,是一个优良的电子接受体; C_{60} 通过光诱导产生单重态氧的效率高达100%,被喻为“单重态氧的发生器”^[1]; C_{60} 极易与游离基反应,被喻为“吸收游离基的海绵”; C_{60} 的体积与HIV病毒活性中心的孔穴大小相匹配,有可能堵住洞口,切断病毒的营养供给^[2]; C_{60} 有30个双键,可以发生Diels-Alder反应、Bingel反应等^[3],是药物设计的理想基体,可以根据需要接上多种基团,人们把 C_{60} 喻为药物设计中的“化学针插”(chemical pin cushion). C_{60} 的这些特性引起了生物学家、药物学家的浓厚兴趣.在过去几年中已有不少研究小组开始研究富勒烯及其衍生物的生物活性,并已取得了一些令人鼓舞的结果.以下分九个方面作一概要评述.

1 水溶性富勒烯衍生物的合成

生物体系都是水溶液体系,但 C_{60} 、 C_{70} 在水中几乎不溶,为了探索富勒烯的生物活性首先要增加其在水中的溶解度.近几年来已发展了不少方法,包括合成具有亲水基团的衍生物、用 γ 环糊精、杯芳烃等形成主客体化合物、形成水溶胶、将 C_{60} 包裹在胶束、脂质体、囊泡中等.多氨基和多羟基衍生物^[4],含极性侧链的单加合物^[5](图1)等是已合成的水溶性富勒烯衍生物中的代表;主客体化合物中具代表性的是 γ 环糊精包合物^[6].加入表面活性剂(如Tween-20等^[7])和水溶性聚

合物(如PVP等^[8])制备水溶胶,也是常用的增加水溶性的方法.但所有这些方法均有一个共同问题,这就是衍生物中的加合基团、主客体化合物中的主体化合物和水溶胶中的添加剂对生物体系和 C_{60} 的性质是否有影响.为了避开这个问题,我们发展了一个简单有效的方法,不需要任何添加剂,可以得到高浓度和稳定的 C_{60} 、 C_{70} 水溶胶^[9].

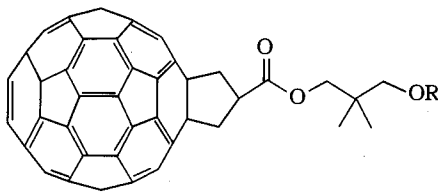


图1 含极性侧链的 C_{60} 水溶性衍生物1

a: $R = CO(CH_2)_2CO_2H$, b: $R = H$, c:

$R = CO(CH_2)_2CO_2H \cdot NEt_3$.

为了搞清楚 C_{60} 是否具有生物活性, Tour等^[10]合成了用 ^{14}C 标记的 C_{60} 的水溶胶,研究了 C_{60} 与人的角质细胞、成纤维细胞的相互作用,发现 C_{60} 迅速与细胞结合,但对细胞的繁殖没有影响,这表明 C_{60} 在人体细胞中的迅速积累并没有引起急性中毒. Miyata等用 C_{60} 或 C_{70} -PVP(聚乙烯吡咯烷酮)水溶液作羊红细胞的溶血作用实验^[8],将无菌的羊红细胞和 C_{60} 或 C_{70} 混合后在37℃培养30 min,测定上层清液的 A_{550} ,没有发现溶血作用.富勒烯水溶液的生物活性实验刚刚开始,还有大量的工作要做.

2 抗艾滋病毒活性

C_{60} 是个球型分子,分子尺度与HIV病毒活性中心的孔道大小相匹配.可以设想如果用 C_{60} 分子堵住病毒活性中心的洞口,切断病毒赖以生存的营养供给,就可以杀死病毒.这个想法是有一定的科学依据的,因为 C_{60} 分子和病毒活性中心孔道的内腔均是憎水性的,有强的van der Waals相互作用,可能导致 C_{60} 分子正好座落在洞口上. Friedman等用DOCK3程

序做了模型计算^[2], 得到两者的缔合常数 $K_d = 10^{-6} \sim 10^{-9}$ mol/L, 对水溶性的 C_{60} 衍生物 2 (图 2) 做了类似的计算^[2], 再一次得出衍生物 2 中的 C_{60} 单元正好处在病毒活性位

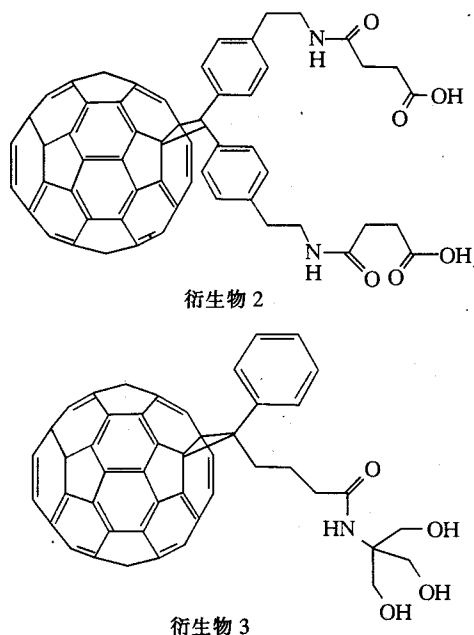


图 2 具有抗 HIV 活性的 C_{60} 衍生物 2、3

置的憎水腔中心. Schinazi 等^[11]对衍生物 2 的抗病毒活性进行了实验研究, 发现该化合物对被 HIV 急、慢性感染的细胞具有抗病毒活性. 如对被 1LA-I 感染的人外周血单核细胞 (PBMC) 抗病毒活性 (EC_{50}) 为 $(7.3 \pm 5.9) \mu\text{mol/L}$, 对慢性感染的 H9 细胞, $EC_{50} = (10.8 \pm 8.2) \mu\text{mol/L}$. 对被 HIV-2_{ROD} 急性感染的人 PBMC 细胞, $EC_{50} = (5.5 \pm 3.8) \mu\text{mol/L}$. 目前已有的抗艾滋病药 AZT (3'-叠氮基-3'-脱氧胸苷) 对于急性感染的抗病毒活性好于衍生物 2 (AZT 的 $EC_{50} = (0.003 \pm 0.004) \mu\text{mol/L}$, 但 AZT 对于慢性感染的 H9 细胞无抗病毒活性. 已证明衍生物 2 的抗 HIV 病毒活性是由于衍生物 2 与病毒直接作用的结果, 并具有选择性, 试验证实在浓度高达 $100 \mu\text{mol/L}$ 的情况下, 对未感染的慢分裂的 PBMC 或迅速分裂的 H9、Vero 或 CEM 细胞, 在 AZT 具有细胞毒性的条件下,

衍生物 2 无细胞毒性. 此外将衍生物 2 给小鼠注射, 剂量高达 $50 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ^[12], 连续注射 6 d, 小鼠体重逐步增加, 给药两月没有一只死亡. 衍生物 3 的抗 HIV-1_{LIA} 病毒活性比衍生物 2 更大一些^[13], 前者的 $EC_{50} = 2.5 \mu\text{mol/L}$, 后者的 $EC_{50} = 7.5 \mu\text{mol/L}$. 这类化合物在血液和血制品中 HIV 病毒的去活性处理方面将会有巨大的应用潜力.

3 切割 DNA

富勒烯衍生物具有专一性地切割 DNA 的能力, 实验发现将衍生物 1a 或 1c 分别与超螺旋的 pBR322 DNA 共同培养, 经光照后, DNA 即被切断. 衍生物 1c 切割 DNA 具有专一性, 断裂常发生在鸟嘌呤碱基处^[14]. Boutorine 等^[15]合成了富勒烯-低聚核苷酸化合物 4 (图 3), 发现化合物 4 可以与单股 DNA、双股 DNA 或带“发夹”的双股 DNA 结合分别形成双螺旋、三螺旋或带“发夹”的三螺旋结构, 富勒烯的引入并未影响双螺旋和三螺旋结构的形成. 将这类化合物用光照射时, DNA 发生专一性切割, 断裂部位总在靠近富勒烯一端的鸟嘌呤碱基处. 根据这些实验结果, 并考虑到富勒烯具有光激发敏化单重态氧 $^1\text{O}_2$ 生成的能力, 切割的机理可能涉及到 $^1\text{O}_2$ 与 DNA 的相互作用. 但这个机理与 An 等的实验结果相矛盾. An 等^[16]合成了另一种富勒烯-低聚核苷酸化合物 5, 它也具有专一性地切割 DNA 的能力, 切割部位与化合物 4 相同. 为了搞清楚 $^1\text{O}_2$ 是否参与反应, 他们合成了四溴荧光素-低聚核苷酸化合物, 该化合物也具有光敏化生成单重态氧 $^1\text{O}_2$ 的能力. 由于 $^1\text{O}_2$ 的寿命在 D_2O 中比在 H_2O 中更长, 实验在 D_2O 和 H_2O 两种介质中进行, 发现四溴荧光素-低聚核苷酸只有在 D_2O 中才能有效地切割 DNA, 而化合物 5 在 D_2O 和 H_2O 中同样有效. 加入 NaN_3 ($^1\text{O}_2$ 淬灭剂), 四溴荧光素-低聚核苷酸丧失切割 DNA 的能力, 而 NaN_3 对化合物 5 不发生任何影响. 这些结果表明富

勒烯-低聚核苷酸切割 DNA 的机理并不涉及 $^1\text{O}_2$ ，而可能是鸟嘌呤与富勒烯之间发生直接相互作用，如发生光诱导的电子传递等。这是一个有争议的问题，尚待深入研究。

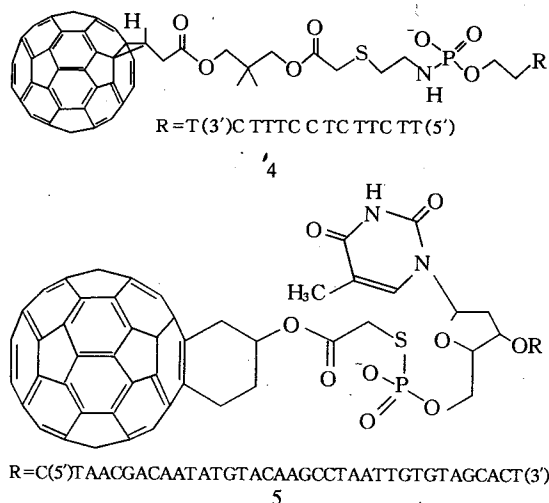


图3 富勒烯 (C_{60}) -低聚核苷酸化合物 4、5

4 光动力学治疗

众所周知，血卟啉能敏化产生 $^1\text{O}_2$ ， $^1\text{O}_2$ 具有极高的反应活性，可以杀死癌细胞。最近美国、日本等国家正式批准卟啉可以用于临床。 C_{60} 和 C_{70} 产生 $^1\text{O}_2$ 的效率远比卟啉高^[1]。实验发现富勒烯衍生物 1a 和 1c 与 HeLa S3 细胞共同培养并用光照射时，呈现细胞毒性，但当处于黑暗中对细胞无任何影响^[14]。为了进一步观察化合物 1a 和 1c 中 C_{60} 的作用，用与 1a 和 1c 分子中侧链相类似的化合物作同样的实验，发现它们没有生物活性。Nakajima 等^[17]为了增加 C_{60} 的溶解度，合成了带聚乙二醇单元的 C_{60} 衍生物，并检查了它的细胞毒性，情况与 1a 和 1c 类似，即光照时有细胞毒性，黑暗时没有毒性。这些结果表明，可能是 O_2^- 与细胞发生了相互作用，但也不排除 $^1\text{O}_2$ 、羟基自由基或激发态的 C_{60} 直接与细胞作用的可能性。这个问题有待进一步确证。

他们还发现当细胞色素 c 与带聚乙二醇的富勒烯衍生物混合并经光照，细胞色素 c 则被还原，当加入 SOD (超氧化物歧化酶) 时，

细胞色素 c 的还原则被抑制^[17]。这意味着光照后有超氧化物生成。但有趣的是，富勒烯衍生物的细胞毒性却与加入 SOD 无关，表明经辐照产生的超氧化物并没有被 SOD 所转化。这些结果表面上看起来是互相矛盾的，但考虑到富勒烯衍生物可以被细胞吸收而 SOD 则不被吸收，富勒烯衍生物辐照产生的超氧化物就可能直接与细胞作用而不受 SOD 影响。

Li 等^[18]用脂质体包裹的 C_{60} 与人宫颈癌细胞混合，并用光照很短时间，发现被辐照的癌细胞的繁殖速率增加了大约两倍。这个结果似乎与上述情况相矛盾，但是已发现血卟啉也有类似现象，后者表明只有当激光功率超过某一阈值，并且辐照的时间合适时才会杀死癌细胞，否则反而促进细胞生长。

5 跨膜电子转移

C_{60} 具有能量较低的三重简并最低空轨道 (LUMO) T_{1u} ，可以接纳六个电子，具有良好的导电性能。Hwang 等^[19]将 C_{70} 嵌在双层脂膜中研究电子通过膜的传送。膜的一边是含有 V_c (电子给体) 的水溶液，另一边是含有 2-磺酸蒽醌 (电子受体) 的水溶液，在膜两边的水溶液中插入电极并除去膜中的氧，当用光照射时，有电流产生。在开始 2 min 内电流保持不变，然后逐渐减小到零，历时 30 min。当脂质膜中没有 C_{70} 或膜中有氧存在时，光照不会产生电流。导电的机理可能是电子在 C_{70} 分子之间发生跳跃，也可能是 C_{70} 被还原后， C_{70} 负离子通过双层脂膜扩散并在膜的另一边释放电子。

6 清除生物体系中的游离基

C_{60} 极易与游离基反应，被喻为“吸收游离基的海绵”。Chiang 等^[20]发现水溶性的 C_{60} 多羟基衍生物 (富勒醇) 保持了 C_{60} 吸收游离基的特性，他们用富勒醇处理血液样品，观察样品的化学发光。单独光泽精的发光是很弱的，当光泽精与健康人的血液样品相混合，化学发光适度增加；加入 SOD 后，发光被抑制，表明化学发光是由于光泽精与血液样品中的超

氧化物游离基相互作用的结果. 如果把胃癌病人的血样与光泽精混合, 则观察到高强度的化学发光; 如果把胃癌病人的血样事先用浓度为 60 mg/L 的多羟基 C₆₀ 处理, 化学发光则大为减弱, 这是由于超氧化物游离基被多羟基 C₆₀ 俘获的结果, 俘获效率高达 85%. 目前对富勒醇俘获游离基的机理尚不清楚, 如果上述结果能被重复, 并能推广至更大范围的病例, 则水溶性富勒烯可能有重大的医学用途, 特别是可以用来处理侵入的病原体导致产生游离基的那些病例. 这项工作值得进行深入研究.

7 富勒烯膜的生物效应

用真空镀膜技术把富勒烯蒸气沉积在各种类型的基底表面上, 再在富勒烯膜上附加哺乳动物细胞、蛋白质和 DNA 等, Richmond 等^[21]发现只有当基底是玻璃时, 附加上的细胞才能生长, 这可能与基底的亲水性有关. 他们将中国仓鼠卵巢 AA8 细胞植在以玻璃为基底的富勒烯膜上, 在合适的介质中, 细胞会生长并形成单层膜. 将此试样在氧气氛中以可见光束 (不含紫外成分但含 10% 红外成分) 照射, 导致细胞毁坏. 如果没有氧气, 细胞不被辐照所破坏. 与此相对照, 直接沉积在玻璃上的细胞无论在有氧或无氧的条件下, 均不被光照所破坏. 虽然这里并没有直接的实验根据证明细胞的毁坏与¹O₂ 有关, 但考虑到富勒烯是产生¹O₂ 的敏化剂, 很可能与¹O₂ 有关.

上述结果表明这是一个有用的实验方法, 可以用来研究膜关联药物的相互作用, 在富勒烯涂层表面上的信号传递, 细胞联合、分化以及 DNA 抗体、蛋白质等进入细胞的过程等.

8 新陈代谢、排泄与毒性

由于富勒烯是¹O₂ 的发生器, 并且具有切割 DNA 的功能, 故对人体的健康有潜在的威胁. 因此富勒烯在人体内的传送、分布、滞留、代谢和排泄等是个非常重要的研究课题.

Yamago 等^[5]用¹⁴C 标记的衍生物 1a 给老鼠口服, 发现只有少量被吸收, 大部分随粪便

排出; 如果采用静脉注射, 则大部分药物在 1 h 内被输送到各组织, 注射一周后仅有 2.4% 的药物随粪便排出体外, 滞留在器官组织里的不足 2%, 其余的药物全都分布在肌肉和鼠毛里. 衍生物 1a 在体内滞留时间很长, 是一个值得注意的问题. C₆₀ 在体内的沉积对生物医学应用来说是个不利因素.

由于富勒烯可以极迅速地传送到各种组织里, 因此有可能利用它作为高极性药物的载体, 把后者迅速地输送到象肝这样的憎水性部位和组织里去. 另外已发现用¹⁴C 标记的 1a 具有逾越脑血管屏障的能力^[5].

Scrivens 等还研究了用¹⁴C 标记的 C₆₀ 悬浮液与人角化细胞的相互作用, 发现 C₆₀ 被细胞迅速吸收并且未导致急性中毒^[10]. 但目前还不清楚结合在细胞的什么部位: 表面、双层脂膜或细胞内. 对悬浮液中 C₆₀ 粒子具体以何种方式与细胞结合也不太清楚 (粒子整体进入细胞、释放 C₆₀ 分子扩散至细胞或粒子碎裂后再进入细胞). 未标记的 C₆₀ 对人角化细胞和人成纤维细胞的繁殖速度没有产生什么影响.

Nelson 等^[22]在老鼠皮肤上局部涂覆 C₆₀ 以观察致癌的可能性. 实验结果表明, 在所用的剂量下, 涂覆 72 h 后对老鼠表皮 DNA 的合成或鸟氨酸脱羧酶的活性没有产生有害的影响. 涂覆 24 周后没有引起皮肤肿瘤.

已有的实验表明, 富勒烯及其衍生物的毒性是较低的. Zakharenko 等^[23]发现富勒烯和富勒醇没有遗传毒性. Moussa 等^[7]将大量的微粒化的 C₆₀ 注入瑞士鼠体内, 发现 C₆₀ 聚积在脾和肝脏里呈结晶形式, 表明 C₆₀ 具有穿透细胞膜的能力. 富勒烯及其衍生物的代谢、排泄和毒性研究还刚刚开始, 尚不能作任何肯定的结论.

9 展 望

富勒烯的生物活性研究才刚刚起步, 合成的富勒烯衍生物非常有限, 已得到的初步结果表明富勒烯在生物医药领域会有广泛的应用, 许多问题还有待进一步深入. 影响研究工作的

最大障碍是富勒烯在水中的溶解度很差, 这仍是今后首先要解决的问题。其次要运用分子设计的方法, 系统地将具有特定药理功能的基团加到富勒烯分子上, 研究它们的生物活性、代谢和毒性。在这一领域里, 化学家、生物学家和药学家均有许多工作要做, 我们相信富勒烯必将会对生物、医药研究产生巨大的影响。

参 考 文 献

- 1 Arbogast J W, Foote C S. Photophysical properties of C_{70} . J Am Chem Soc, 1991, **113** (23): 8886~ 8889
- 2 Friedman S H, DeCamp D L *et al.* Inhibition of the HIV-1 protease by fullerene derivatives: model building studies and experimental verification. J Am Chem Soc, 1993, **115** (15): 6506~ 6509
- 3 Diederich F, Thilgen C. Covalent fullerene chemistry. Science, 1996, **271** (5247): 317~ 323
- 4 Chiang L Y, Wang L Y, Swirczewski J W *et al.* Efficient synthesis of polyhydroxylated fullerene derivatives *via* hydrolysis of polycyclosulfated precursors. J Org Chem, 1994, **59** (14): 3960~ 3968
- 5 Yamago S, Tokuyama H, Nakamura E *et al.* *In vivo* biological behavior of a water-miscible fullerene: ^{14}C labeling, absorption, distribution, excretion and acute toxicity. Chem Biol, 1995, **2** (6): 385~ 389
- 6 Andersson T, Nilsson K, Sundahl M *et al.* C_{60} Embedded in γ -cyclodextrin: a water-soluble fullerene. J Chem Soc Chem Commun, 1992, (8): 604~ 606
- 7 Moussa F, Trivin F, Céolin R *et al.* Early effects of C_{60} administration in swiss mice: a preliminary account for *in vivo* C_{60} toxicity. Fullerene Sci Technol, 1996, **4** (1): 21~ 29
- 8 Yamakoshi Y N, Yagami T, Miyata N *et al.* Solubilization of fullerenes into water with polyvinylpyrrolidone applicable to biological tests. J Chem Soc Chem Commun, 1994, (4): 517~ 518
- 9 Wei X W, Wu M F, Qi L *et al.* Selective solution-phase generation and oxidation reaction of C_{60}^{n-} ($n=1, 2$) and formation of an aqueous colloidal solution of C_{60} . J Chem Soc Perkin Trans 2, 1997, (7): 1389~ 1393
- 10 Scrivens W A, Tour J M, Creek K E *et al.* Synthesis of ^{14}C -labeled C_{60} and its biological uptake in human keratinocytes. Proc Electrochem Soc, 1994, **94** (24): 676~ 688
- 11 Schinazi R F, Sijbesma R, Srdanov G *et al.* Synthesis and virucidal activity of a water-soluble, configurationally stable, derivatized C_{60} fullerene. Antimicrob Agents Chemother, 1993, **37** (8): 1707~ 1710
- 12 Schinazi R F, McMillan A, Juodawlkis A S *et al.* Anti-human immunodeficiency virus, toxicity in cell culture, and tolerance in mammals of a water-soluble fullerene. Proc Electrochem Soc, 1994, **94** (24): 689~ 696
- 13 Schinazi R F, Bellavia C, Gonzalez R *et al.* Anti-human immunodeficiency virus activity and toxicity in cell culture of a tris (hydroxymethyl) fullerene derivative. Proc Electrochem Soc, 1995, **95** (10): 696~ 698
- 14 Tokuyama H, Yamago S, Nakamura E *et al.* Photoinduced biochemical activity of fullerene carboxylic acid. J Am Chem Soc, 1993, **115** (117): 7918~ 7919
- 15 Bourtine A S, Tokuyama H, Takasugi M *et al.* Fullerene oligonucleotide conjugates: photo-induced sequence-specific DNA angew. Chem Int Ed Engl, 1994, **33** (23/24): 2462~ 2465
- 16 An Y Z, Chen C H B, Anderson J L *et al.* Sequence-specific modification of guanosine in DNA by a C_{60} -linked deoxy-oligonucleotide: evidence for a non-singlet oxygen mechanism, tetrahedron, 1996, **52** (14): 5179~ 5189
- 17 Nakajima N, Nishi C, Li F M *et al.* Photo-induced cytotoxicity of water-soluble fullerene. Fullerene Sci Technol, 1996, **4** (1): 1~ 19
- 18 Li W, Qian K, Huang W *et al.* Water-soluble C_{60} -liposome and the biological effect of C_{60} to human cervix cancer cells. Chin Phys Lett, 1994, **11** (4): 207~ 210
- 19 Hwang K C, Mauzerall D. Photoinduced electron transport across a lipid bilayer mediated by C_{70} . Nature, 1993, **361** (3608): 138~ 140
- 20 Chiang L Y, Lu F J, Lin J T. Medical application of water-soluble polyhydroxylated fullerene derivatives. Proc Electrochem Soc, 1995, **95** (10): 699~ 702
- 21 Richmond R C, Gibson U J. Vapor-deposited fullerene surfaces as a photodynamic basement for attached cells and biogenic factors. Proc Electrochem Soc, 1995, **95** (10): 684~ 695
- 22 Nelson M A, Domann F E, Bowden G T *et al.* Effect of acute and subchronic exposure of topically applied fullerene extracts on the mouse skin. Toxicol Ind Health, 1993, **9** (4): 623~ 630
- 23 Zakharenko L P, Zakharov I K, Lunegov S N *et al.* Absence of genotoxicity of fullerene C_{60} as demonstrated by somatic mosaics. Dokl Akad Nauk, 1994, **335** (2): 261~ 262

Progress in Research of Fullerenes' Biological Activities. XU Zheng, SUO Zh-yong, WEI Xian-wen (Coordination Chemistry Institute, State Key Laboratory of Coordination Chemistry, Nanjing University, Nanjing 210093, China); ZHU De-xu (Department of Biochemistry, Nanjing University, Nanjing 210093, China).

Abstract The biological activities of fullerenes and their derivatives have been recognized since early this decade. The preliminary research indicates that they have the unique performances in anti-HIV activity, enzyme inhibition, DNA cleavage etc., and they will be widely applied in biochemistry, medicine, pharmaceuticals.

Key words fullerene, biological activity, cytotoxicity, solubility, metabolism, photodynamic therapy