

Высокогидроксилированные фуллеренолы $C_{60}(OH)_{36}$ как потенциальные загрязнители окружающей среды: оценка антиоксидантной активности в клетках печени

Ашура И. Исрапилова¹, Айна А. Адиева¹, Альбина М. Джафарова², Надира О. Гусейнова², Жанна Б. Лютова^{3,4}, Алина А. Борисенкова^{3,4}, Рамазан Г. Яхьяев⁵, Вагаб Р. Абдуллаев^{2,6}

¹Прикаспийский институт биологических ресурсов ДФИЦ РАН, Махачкала, Россия

²Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

³Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), Санкт-Петербург, Россия

⁴Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия

⁵Дагестанский государственный медицинский университет, Махачкала, Россия

⁶Филиал Дагестанского государственного университета, Кизляр, Россия

Контактное лицо

Ашура И. Исрапилова, аспирант, Прикаспийский институт биологических ресурсов Дагестанского Федерального Исследовательского центра Российской Академии Наук; 367000, г. Махачкала, ул. М. Гаджиева, д. 45.
Тел. +79331111529
Email ms.israpilova98@bk.ru
ORCID <https://orcid.org/0009-0001-6318-595X>

Формат цитирования

Исрапилова А.И., Адиева А.А., Джафарова А.М., Гусейнова Н.О., Лютова Ж.Б., Борисенкова А.А., Яхьяев Р.Г., Абдуллаев В.Р.
Высокогидроксилированные фуллеренолы $C_{60}(OH)_{36}$ как потенциальные загрязнители окружающей среды: оценка антиоксидантной активности в клетках печени // Юг России: экология, развитие. 2025. Т.20, N 3. С. 103-114.
DOI: 10.18470/1992-1098-2025-3-9

Получена 29 мая 2025 г.

Прошла рецензирование 10 июля 2025 г.

Принята 25 июля 2025 г.

Резюме

Целью данной работы было исследование антиоксидантных свойств фуллеренола $C_{60}(OH)_{36}$ в различных модельных системах *in vitro*, а также оценка протекторной эффективности фуллеренола в отношении белков и липидов гомогенатов печени.

Эксперименты проводились на гомогенатах печени белых лабораторных крыс. На первоначальном этапе оценивалась антиоксидантная активность фуллеренола в различных концентрациях (от $1 \cdot 10^{-5}$ до 0,2 мг/мл). Поскольку в системе аутоокисления адреналина достаточно высокую антиоксидантную активность показала концентрация фуллеренола 0,001 мг/мл, мы использовали ее для исследования антиоксидантной активности в других модельных системах, в которых проводилась искусственная индукция окислительного стресса.

В дальнейшем в каждой модельной системе были получены контрольные значения, относительно которых судили об эффективности действия фуллеренола в качестве антиоксиданта. Оценивалась протекторная эффективность фуллеренола в отношении белков и липидов гомогенатов печени. Также проведено исследование влияния фуллеренола на активность фермента супероксиддисмутазы. На модельной системе было показано, что фуллеренол предотвращает окислительные повреждения липидов.

Исследование интенсивности окислительной модификации белков в модельной системе Fe^{+2}/H_2O_2 (среда Фентона) показало, что фуллеренол эффективно снижал прирост карбонильных групп. $C_{60}(OH)_{36}$ в концентрации 0,001 мг/мл снижал уровень генерации АФК (активные формы кислорода) в митохондриях печени крыс, что выражалось в падении интенсивности флуоресценции АФК-чувствительного зонда.

Ключевые слова

Фуллеренол, антиоксидант, свободные радикалы, активные формы кислорода.

Highly hydroxylated fullerenols $C_{60}(OH)_{36}$ as potential environmental pollutants: Evaluation of antioxidant activity in liver

Ashura I. Israpilova¹, Aina A. Adieva¹, Albina M. Dzhafarova², Nadira O. Guseynova², Zhanna B. Lyutova^{3,4}, Alina A. Borisenkova^{3,4}, Ramazan H. Yahyaev⁵ and Vagab R. Abdullaev^{2,6}

¹Caspian Institute of Biological Resources, Dagestan Federal Research Centre, Russian Academy of Sciences, Makhachkala, Russia

²Dagestan State University, Makhachkala, Russia

³St. Petersburg State Institute of Technology (Technical University), St. Petersburg, Russia

⁴B.P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute, National Research Centre Kurchatov Institute, Gatchina, Russia

⁵Dagestan State Medical University, Makhachkala, Russia

⁶Branch of Dagestan State University, Kizlyar, Russia

Principal contact

Ashura I. Israpilova, postgraduate student, Caspian Institute of Biological Resources, Dagestan Federal Research Centre, Russian Academy of Sciences; 45 M. Gadzhiev St., Makhachkala, Russia 367000. Tel. +79331111529

Email ms.israpilova98@bk.ru

ORCID <https://orcid.org/0009-0001-6318-595X>

How to cite this article

Israpilova A.I., Adieva A.A., Dzhafarova A.M., Guseynova N.O., Lyutova Zh.B., Borisenkova A.A., Yahyaev R.H., Abdullaev V.R. Highly hydroxylated fullerenols $C_{60}(OH)_{36}$ as potential environmental pollutants: Evaluation of antioxidant activity in liver. *South of Russia: ecology, development*. 2025; 20(3):103-114. (In Russ.) DOI: 10.18470/1992-1098-2025-3-9

Received 29 May 2025

Revised 10 July 2025

Accepted 25 July 2025

Abstract

The aim of this work was to study the antioxidant properties of fullereneol $C_{60}(OH)_{36}$ in various in vitro model systems, as well as to evaluate the protective effectiveness of fullereneol against proteins and lipids of liver homogenates.

The experiments were carried out on liver homogenates of white laboratory rats. At the initial stage, the antioxidant activity of fullereneol in various concentrations (from 1×10^{-5} to 0.2 mg/ml) was evaluated. Since the fullereneol concentration of 0.001 mg/ml showed a sufficiently high antioxidant activity in the epinephrine autoxidation system, we used it to study the antioxidant activity in other model systems in which artificial induction of oxidative stress was performed.

Subsequently, control values were obtained in each model system, relative to which the effectiveness of fullereneol as an antioxidant was judged. The protective efficacy of fullereneol against liver homogenate proteins and lipids was evaluated. The effect of fullereneol on the activity of the superoxide dismutase enzyme was also studied. Using the model system, it was shown that fullereneol prevents oxidative damage to lipids.

A study of the intensity of oxidative modification of proteins in the Fe^{+2}/H_2O_2 model system (Fenton's medium) showed that fullereneol effectively reduced the increase in carbonyl groups. $C_{60}(OH)_{36}$ at a concentration of 0.001 mg/ml reduced the rate of ROS generation in rat liver mitochondria, which resulted in a decrease in the fluorescence intensity of the ROS-sensitive (reactive oxygen species) the probe.

Key Words

Fullereneol, antioxidant, free radicals, reactive oxygen species.

ВВЕДЕНИЕ

Фуллерены и их производные используются в самых разных областях, таких как косметология, солнечная энергетика, создание и исследование новых фармацевтических препаратов. Помимо лабораторного и промышленного синтеза, фуллерены также могут образовываться в результате естественных и антропогенных процессов горения и были обнаружены в промышленных выбросах [1] и т. д. В дополнение к источникам, переносимым по воздуху (т. е. побочным продуктам сгорания), одним из потенциальных путей попадания фуллеренов и их производных в почвенную среду является повторное использование загрязненных продуктов, образуемых при очистке сточных вод [2; 3].

Фуллерены известны своей сильной фотохимической реакционной способностью и способностью как генерировать, так и гасить активные формы кислорода АФК. АФК участвуют во многих окислительно-восстановительных процессах для сохранения клеточного гомеостаза. Однако их перепроизводство приводит к развитию окислительного стресса (ОС), приводящего к повреждению клеточных структур [4]. Кроме того, появляется все больше доказательств, подтверждающих роль АФК в развитии различных патологических состояний [5]. Таким образом, оценка про/антиоксидантных свойств соединений, являющихся потенциальными загрязнителями окружающей среды, является актуальной задачей, решение которой необходимо для понимания возможных последствий в случае попадания нанозагрязнителей в организм человека.

Фуллерены, благодаря наличию сопряженной π -электронной системы, обладают антиоксидантной активностью. Однако применение нефункционализированных фуллеренов в биомедицине ограничено вследствие их крайне малой растворимости в воде и, как следствие, низкой биосовместимости. Поверхностно-функционализированные фуллерены, содержащие гидроксильные, карбоксильные, аминокислотные и др. группы обладают хорошей биосовместимостью [6]. Кроме того, водорастворимые гидроксипроизводные фуллерена – фуллеренолы – способны эффективно нейтрализовать различные АФК как *in vitro*, так и *in vivo*. Фуллеренолы показали свою перспективность в качестве препаратов для лечения заболеваний, ассоциированных с ОС (окислительный стресс). Так, было показано, что фуллеренолы обладают противовирусной [7], нейропротекторной [8], противоопухолевой активностью [9; 10], защищают клетки от воздействия ультрафиолетового [11; 12] и ионизирующего излучения [13; 14]. В некоторых исследованиях показано, что фуллеренолы могут выполнять роль защитных агентов благодаря своей способности эффективно удалять свободные радикалы и снижать перекисное окисление липидов плазматической мембраны. Они поддерживают окислительно-восстановительный баланс в организме, стимулируя активность антиоксидантных ферментов [15].

Производные фуллерена продемонстрировали свою способность действовать как сильные антиоксиданты в водных растворах [15–19], в некоторых исследованиях было показано, что они индуцируют ОС в клеточных системах [20]. Кроме того, в настоящее время нет однозначного ответа, что в большей степени определяет антиоксидантные свойства фуллеренов –

собственно функциональные группы и их количество на поверхности фуллерена, или же ненасыщенные связи фуллереновой молекулы. С другой стороны, функционализированное производное, помимо антиоксидантных свойств, должно обладать хорошей биосовместимостью – высокой растворимостью в воде и отсутствием цитотоксичности.

Несмотря на большое количество работ, биологические свойства некоторых фуллеренолов [21] продолжают исследоваться, поскольку литературные данные, полученные различными исследовательскими группами достаточно противоречивы. Целью данной работы было исследование антиоксидантных свойств фуллеренола $C_{60}(OH)_{36}$ в различных модельных системах *in vitro*, а также оценка протекторной эффективности фуллеренола в отношении белков и липидов клеток печени.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Фуллеренол $C_{60}(OH)_{36}$ был синтезирован и охарактеризован ранее [22].

Получение гомогенатов печени крыс и выделение митохондрий

Опыты проводились на крысах-самцах Вистар массой 200–220 грамм. Эксперименты выполнены с соблюдением правил надлежащей лабораторной практики (приказ МЗ РФ от 01.04.2016 г. № 199н). Животные содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. После декапитации животного извлекали печень и помещали в охлажденную до 0°C среду выделения следующего состава: 250 мМ сахароза (AppliChem, Германия), 3 мМ Tris-ОН (AppliChem, Германия), 0,5 мМ ЭГТА (Sigma, США) (рН=7,3). Промытую ткань через 1 мин измельчали ножницами в стеклянном стаканчике на холоде на кусочки размером 2–3 мм, взвешивали, пропускали через стальную давилку-пресс, охлажденную до 4°C, а затем измельчали в течение 2 мин при 4°C в гомогенизаторе Поттера (стекло-тефлон, зазор 200 мкм) в десятикратном объеме (объем/масса) среды выделения. Выделение интактных митохондрий из полученных гомогенатов производили методом дифференциального центрифугирования [23].

Оценка активности фуллеренола против супероксидного анион-радикала в системе аутоокисления адреналина

Для генерации супероксидного аниона использовали систему аутоокисления адреналина, в процессе которого в урановешенном с воздухом растворе 0,1 % раствора адреналина гидрохлорида в 0,2 М карбонатно-натриевом (Na_2CO_3 - $NaHCO_3$) буфере (рН 10,7) [24].

Для этого добавляли 2,0 мл карбонатно-натриевого буфера с рН=10,7, 100 мкл 0,1 % раствора адреналина гидрохлорида, 30 мкл фуллеренола и перемешивают в течение 30 секунд. Поглощение полученного раствора измеряли на спектрофотометре при длине волны 347 нм в течение двух минут от начала реакции. Раствор, содержащий 0,2 М 2,0 мл буфера, 100 мкл 0,1 % адреналина используют в качестве контрольного образца.

Антиоксидантная активность (АА, %) различных концентраций фуллеренола была определена по формуле:

$$AA = \frac{(A1 - A2)}{A1} * 100\%$$

где A1 – поглощение раствора адреналина в карбонатном буфере;

A2 – поглощение раствора адреналина в карбонатном буфере в присутствии фуллеренола.

Оценка влияния фуллеренола на перекисное окисление липидов

Для индукции перекисного окисления липидов (ПОЛ) использовали среду Fe^{2+} /аскорбат (12 мМ соль Мора, 0,5 мМ аскорбиновой кислоты). Эксперимент начинали с предварительной инкубации (15 минут, 37 °C) гомогената печени крыс с фуллеренолом (40 мкл), после чего отбирали пробу и добавляли в среду Fe^{2+} /аскорбат. Для определения динамики накопления МДА в пробах из среды в нулевое время, через 10, 20 и 30 минут отбирали пробы для определения концентрации МДА. Отбирали 0,6 мл и добавляли в среду, содержащую 0,6 мл соли Мора и 0,6 мл аскорбиновой кислоты. Сразу из среды же отбирали аликвоту в 0,4 мл и добавляли 1 мл ТХУ для того, чтобы остановить реакцию. Отбор аликвот для последующего определения МДА производили через 10 минут и 30 мин инкубации. Для учета исходных значений МДА в гомогенате, его после предварительной инкубации, добавляли в среду с фосфатным буфером без среды Фентона, из которого затем отбирали пробы для анализа МДА.

Оценка влияния фуллеренола на окислительную модификацию белков

Для индукции использовали модельную систему, содержащую 10^{-3} М $FeSO_4$; $3 \cdot 10^{-4}$ М H_2O_2 ; 10^{-3} М ЭДТА (среда Фентона). Фуллеренол (40 мкл) инкубировали с гомогенатом печени крыс (0,6 мл) в течение 15 минут при 37 °C. Отбирали 0,6 мл и добавляли в среду, содержащую 0,6 мл H_2O_2 и 0,6 мл смеси $FeSO_4$ и ЭДТА. Сразу из среды отбирали аликвоту в 0,1 мл и добавляли 0,1 мл ТХУ для того, чтобы остановить реакцию. Отбор аликвот для последующего определения МДА производили через 20 минут и 40 мин инкубации

Определение содержания малонового диальдегида

Содержание малонового диальдегида (МДА) определяли по его реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), в результате которой в кислой среде образуется окрашенный комплекс с максимумом поглощения при 532 нм [25].

Определение содержания карбонильных групп в белках печени

Содержание карбонильных групп в белках митохондрий определяли по реакции их с 2,4-динитрофенил-гидразином.

Исследование влияния фуллеренола на уровни генерации АФК в митохондриях

Митохондрии печени крыс инкубировали в специальной термостатированной (37 °C) кювете спектрофлуориметра в 2 мл среды инкубации (100 мМ KCl, 20 мМ Трис, 3 мМ $MgCl_2$, 3 мМ H_3PO_4 (рН 7,3)). Измеряли интенсивность флуоресценции дихлорфлуоресцеина (CM- H_2 DCFDA) в энергезированных сукцинатом (5 мМ) митохондриях после добавления фуллеренола (0,001 мг/мл) или ротенона

(1,5 мкМ) при λ возбуждения 395 и λ эмиссии 500–540 на спектрофлуориметре Hitachi F-7000.

Определение активности супероксиддисмутазы

Суммарную активность супероксиддисмутазы (СОД) в митохондриях определяли адренохромовым методом, основанным на спонтанном автоокислении адреналина [26] с образованием супероксидных анионов, регистрируемых с помощью нитросинего тетразолия. Для этого добавляют 2,0 мл 0,2 М карбонатно-натриевого (Na_2CO_3 - $NaHCO_3$) буфера с рН=10,65, 56 мкл 0,18 % раствора адреналина (эпинефрина) гидрохлорида, 30 мкл антиоксиданта и перемешивают в течение 30 секунд. Оптическую плотность полученного раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны 347 нм в течение 10 мин.

Статистическая обработка результатов исследования

Обработка данных произведена с использованием пакета прикладных программ SPSS Statistics 22 (IBM, США). Нормальность распределения определяли критерием Шапиро-Уилка. Равенство дисперсий экспериментальных данных оценивали с помощью критериев Левеня и Уэлча. Для множественных сравнений независимых групп использовали непараметрический дисперсионный анализ и критерий Краскела-Уоллиса (H-test). При обнаружении статистически значимых различий между группами проводили апостериорные сравнения с помощью критерия Манна-Уитни с новым критическим уровнем значимости, учитывающим количество сравниваемых групп. Данные в таблицах представлены в виде медианы с указанием нижнего и верхнего квартилей – Me [Q1:Q3].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование антиоксидантной активности фуллеренола в модельной системе аутоокисления адреналина

Одной из широко используемых моделей исследования антиоксидантной активности различных веществ является модель аутоокисления адреналина, происходящего в щелочной среде [27]. Из рис. 1 видно, что при отсутствии фуллеренола добавление адреналина в щелочную среду способствует быстрому аутоокислению адреналина после чего увеличивается поглощение раствора при 347 нм, соответствующее одному из продуктов аутоокисления. На нескольких стадиях процесса аутоокисления выделяется супероксидный анион-радикал, участвующий в протекании реакций. Следовательно, соединение, обладающее антиоксидантными свойствами и поглощающее супероксид, будет ингибировать процесс аутоокисления адреналина. Так, на рис. 1 видно, что фуллеренол дозозависимо ингибировал процесс аутоокисления адреналина. Высокие дозы фуллеренола (0,2 мг/мл) существенно ингибировали процесс окисления, в то время как очень низкие (0,00001 мг/мл) оказывали лишь незначительный эффект. При этом кинетические кривые в присутствии различных доз адреналина имели различные углы наклона, из тангенса которых была определена скорость аутоокисления адреналина (рис. 2).

Из рис. 2 следует, что фуллеренол при концентрации 0,2 мг/мл существенно подавлял

реакцию аутоокисления адреналина, что отражается в снижении скорости реакции на 67 %. Фуллеренол в низкой дозе (0,00001 мг/мл) не показал статистически значимого эффекта на реакцию аутоокисления. В то же

время фуллеренол в умеренных дозах (0,001–0,1 мг) в одинаковой степени тормозил скорость реакции аутоокисления адреналина.

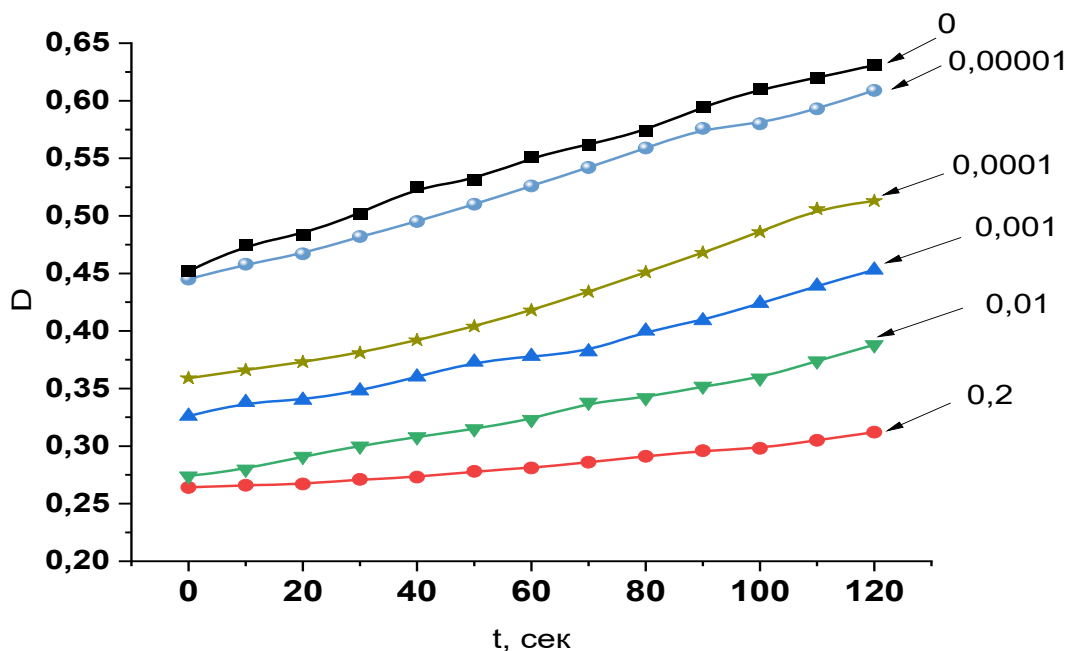


Рисунок 1. Влияние различных концентраций фуллеренола (0,00001–0,2 мг/мл) на кинетику аутоокисления адреналина в карбонатном буфере (pH 10,7)

Figure 1. Effect of different concentrations of fullereneol (0.00001–0.2 mg/ml) on the kinetics of adrenaline autooxidation in a carbonate buffer (pH 10.7)

Для того, чтобы исключить возможные эффекты самого фуллеренола на изменение оптической плотности карбонатного буфера, производился контрольный эксперимент: в карбонатный буфер добавляли

эквивалентное количество фуллеренола и следили за изменением оптической плотности при 347 нм. Поглощения на этой длине волны не было обнаружено и оно не изменялась в динамике.

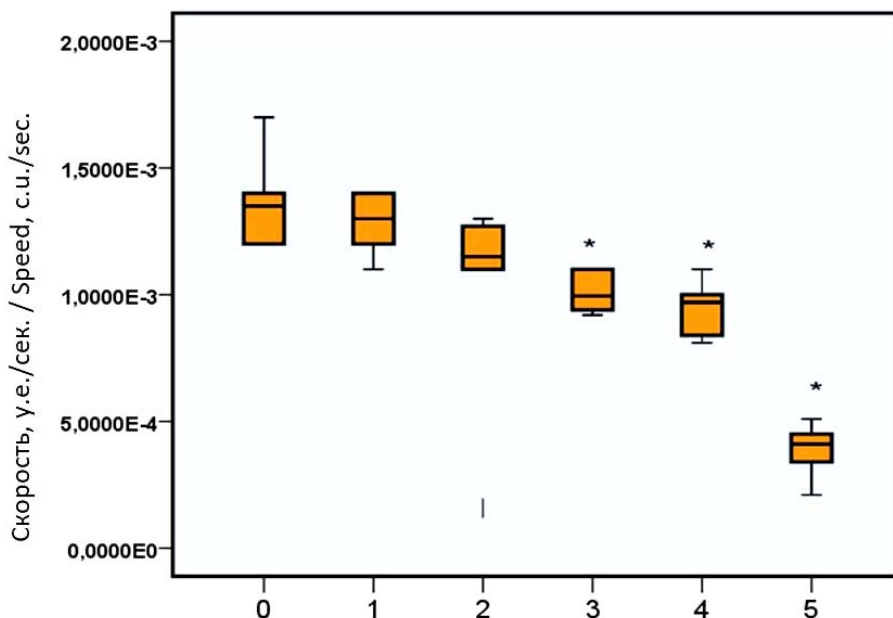


Рисунок 2. Влияние различных концентраций фуллеренола на скорость аутоокисления адреналина в карбонатном буфере: 1 – 0,00001 мг/мл, 2 – 0,0001 мг/мл, 3 – 0,001 мг/мл, 4 – 0,01 мг/мл, 5 – 0,2 мг/мл (Me [Q1:Q3], * – $p \leq 0.05$ относительно модельной системы без фуллеренола)

Figure 2. Effect of different concentrations of fullereneol on the rate of adrenaline autooxidation in a carbonate buffer: 1 – 0.00001 mg/ml, 2 – 0.0001 mg/ml, 3 – 0.001 mg/ml, 4 – 0.01 mg/ml, 5 – 0.2 mg/ml (Me [Q1:Q3], * – $p \leq 0.05$ relative to the model system without fullereneol)

Результаты расчета антиоксидантной активности фуллеренола приведены на рисунке 3. Считается, что вещество обладает антиоксидантными свойствами, когда $AA > 10\%$. Из рисунка 3 видно, что фуллеренол в низкой дозе (0,00001 мг/мл) обладает незначительной антиоксидантной активностью – 7,1 [5,2;8,9] %. При

дозе 0,0001 мг/мл показана умеренная антиоксидантная активность – 14,2 [10,7;15,3] %. При дозе 0,001 мг/мл AA равна 32,1 [26,2;39,3] %, при дозе 0,01 мг/мл – 43,4 [38,3;49,5] %, при дозе 0,2 мг/мл – 79,5 [73,7;83,5] %.

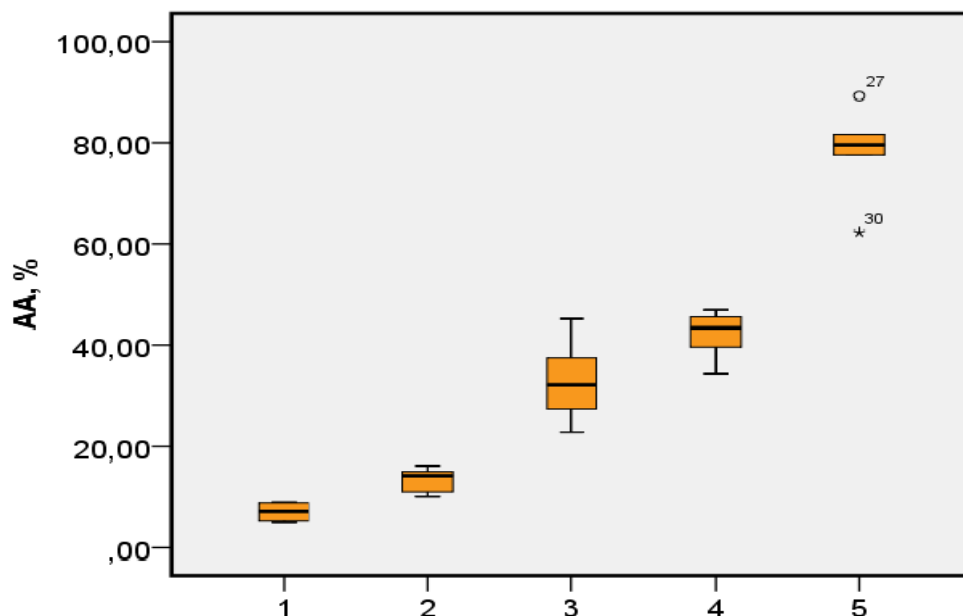


Рисунок 3. Антиоксидантная активность различных концентраций фуллеренола (0,0001 – 0,2 мг/мл) в системе аутоокисления адреналина: 1 – 0,00001 мг/мл, 2 – 0,0001 мг/мл, 3 – 0,001 мг/мл, 4 – 0,01 мг/мл, 5 – 0,2 мг/мл (Me [Q1:Q3], ° – негрубые выбросы, * – грубые выбросы)

Figure 3. Antioxidant activity of various concentrations of fullereneol (0.0001 – 0.2 mg/ml) in an adrenaline autooxidation system: 1 – 0.00001 mg/ml, 2 – 0.0001 mg/ml, 3 – 0.001 mg/ml, 4 – 0.01 mg/ml, 5 – 0.2 mg/ml (Me [Q1:Q3], ° – non-rough outliers, * – rough outliers)

Влияние фуллеренола на динамику перекисного окисления липидов

Поскольку в системе аутоокисления адреналина достаточно высокую антиоксидантную активность показал фуллеренол в концентрации 0,001 мг/мл, мы использовали ее для исследования антиоксидантной активности в других модельных системах. Исследовано влияние фуллеренола на динамику Fe^{2+} /аскорбат-индуцированного перекисного окисления липидов (ПОЛ) в гомогенате печени крыс *in vitro*. Об интенсивности ПОЛ судили по накоплению конечного продукта ПОЛ – МДА. Среда, содержащая ионы железа (в составе соли Мора) и аскорбиновую кислоту, с большой скоростью генерирует гидроксильные (OH^*) радикалы. Результаты исследования, представленные на рис. 4 показали, что в гомогенатах печени крыс содержание МДА (исходный уровень) составляет 1,28 нмоль/мг белка. В течение 30 мин инкубации при температуре 37 °C (в термостатированной кювете) уровень МДА незначительно снижался. Это, вероятно, обусловлено тем, что для эксперимента использовали гомогенат, предварительно замороженный при температуре -70 °C. Процедура инкубации гомогената при температуре 37 °C могла привести к активации антиоксидантных ферментов в гомогенате или активации системы по метаболизированию МДА в уксусную кислоту, как это описано в работе Холливеда и Гуттериджа [28].

В среде Fe^{2+} /аскорбат происходило очень быстрое накопление МДА, так что в течение нескольких

секунд перемешивания гомогената с компонентами среды и процедуры измерения уже наблюдался рост МДА (на 21,7 %). Наиболее существенный рост количества МДА происходил в первые 10 мин инкубации. Дальнейшая инкубация в среде Fe^{2+} /аскорбат продолжала способствовать повышению уровня МДА: за 30 мин он увеличивался относительно контроля в 2,5 раза. Инкубация гомогената с фуллеренолом в среде Фентона существенно снижала уровень накопления продуктов ПОЛ, что очевидно из графика, представленного на рисунке 4. Так, на 30 минуте инкубации уровень ПОЛ снижался на 23,4 %. При этом он оставался значительно выше контрольных значений.

Известно, что субстратами ПОЛ являются ненасыщенные жирнокислотные остатки фосфолипидов, содержание которых в печени очень высокое. Ненасыщенные фосфолипиды локализованы, главным образом, в окрестностях мембранных белков, образуя так называемые аннулярные липиды. В связи с этим, аннулярные липиды могут подвергаться перекисному окислению в первую очередь. Этому может способствовать также и то, что рядом расположенный белок, является местом связывания металлов, в том числе и ионов железа, которые могут промотировать процессы генерации радикалов [28].

Перекисное окисление липида начинается с отрыва гидроксильным радикалом атома водорода от атома углерода, находящегося рядом с двойной связью углеводородной цепочки. Далее в результате

перегруппировки атомов образуется диеновый конъюгат, судьба которого зависит от наличия кислорода в липидном слое. Взаимодействие диенового конъюгата с молекулой кислорода приводит к образованию перекиси жирной кислоты, которая может распадаться с образованием МДА и других альдегидов. Диеновые конъюгаты могут быть восстановлены под действием глутатионпероксидазы гидроперекисей липидов [29].

Можно предположить, что со временем

происходит обрыв цепной реакции ПОЛ, при взаимодействии липопероксильных радикалов друг с другом или с антиоксидантами, например, токоферолом. Нельзя также исключить высокую скорость метаболизма МДА в гомогенатах, а также высокую активность глутатионпероксидазы. Известно, что глутатионпероксидаза содержит редокс-чувствительную тиоловую группу окисление которой может способствовать компенсаторному повышению её активности.

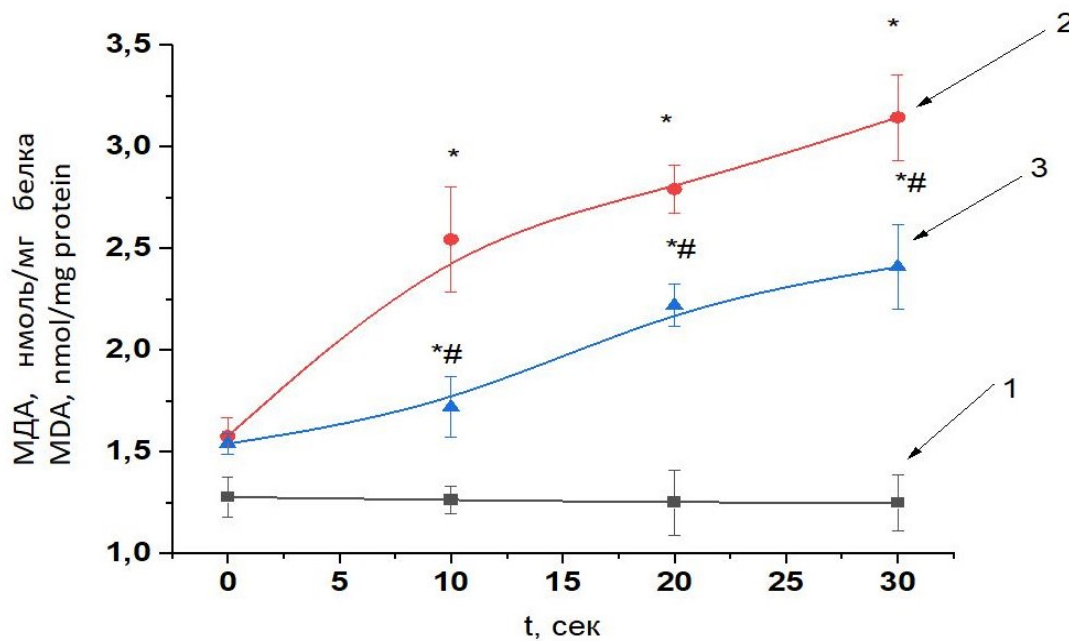


Рисунок 4. Влияние фуллеренола (0,001 мг/мл) на динамику Fe²⁺/аскорбат-индуцированного ПОЛ в гомогенате печени крыс in vitro: 1 – контроль (исходный уровень МДА), 2 – Fe²⁺/аскорбат-индуцированный уровень МДА, 3 – фуллеренол + Fe²⁺/аскорбат-индуцированный уровень МДА (p<0.05 * – относительно контроля, # – относительно Fe²⁺/аскорбат)

Figure 4. The effect of fullereneol (0.001 mg/ml) on the dynamics of Fe²⁺/ascorbate-induced lipid peroxidation in rat liver homogenate in vitro: 1 – control (initial MDA level), 2 – Fe²⁺/ascorbate-induced MDA level, 3 – fullereneol + Fe²⁺/ascorbate-induced MDA level (p<0.05 * – relative to control, # – relative to Fe²⁺/ascorbate)

Влияние фуллеренола на интенсивность окислительной модификации белков

Окислительная модификация белков (ОМБ) – это важный процесс, в котором участвуют АФК. Наиболее подвержены окислению серосодержащие (метионин, цистеин) и ароматические (гистидин, триптофан, тирозин и фенилаланин) аминокислотные остатки белков. Это может приводить к образованию различных продуктов, таких как карбонильные группы, дисульфиды, битиризины [30].

Таким образом, большой интерес должны предоставлять вещества, направленные на защиту белков от окислительной деструкции. В качестве такого соединения можно предложить фуллеренолы. Нами исследованы антиоксидантные свойства C₆₀(OH)₃₆ в модельной системе Fe²⁺/H₂O₂ (среда Фентона), инициирующей металлкализируемое окисление пролиновых, аргининовых, лизиновых, гистидиновых остатков белков. Моделирование эксперимента производилось по такому же алгоритму, что и моделирование с индукцией ПОЛ, описанному выше. Об интенсивности ОМБ в модельной системе судили по накоплению карбонильных групп. Для этого отбирали по

0,1 мл сразу же после индукции ОМБ, через 10, 20 минут и 40 минут (рис. 5)

Из рисунка 5 видно, что исходный уровень карбонильных групп в гомогенате печени крыс составлял 1,8 нмоль/мг белка. Инкубация гомогената в буфере приводила к незначительному росту карбонильных групп, обусловленному, возможно, конформационными изменениями в белках за длительный период инкубации в кювете при температуре 37 °С. Более того, нельзя исключить и тот факт, что с повышением температуры происходила активация ферментных систем, участвующих в генерации АФК. В частности, ксантиноксидазы, монооксигеназы, простогландинсинтазы, НАДН-оксидазы. Образующиеся АФК способствуют окислению белков.

Инкубация гомогената в среде Фентона приводила к существенному росту количества карбонильных групп уже в течение первых секунд инкубации. В течение 40 мин наблюдался значительный рост количества карбонильных групп: оно превышало контрольные значения в 3,1 раз. Фуллеренол эффективно подавлял рост карбонильных групп. Так за 30 мин инкубации подавление роста карбонильных групп в среде Фентона составляло 40,2 %.

Флуоресцентные исследования влияния фуллеренола на интенсивность генерации АФК

Известно, что электрон-транспортные цепи (ЭТЦ) митохондрий являются основными источниками АФК в клетке, избыточная генерация которых может привести к окислительным повреждениям митохондриальных структур и нарушению их функций. В связи с этим несомненный интерес могут представлять вещества, способные снизить интенсивность генерации митохондриальных АФК и тем самым защитить клетки от неблагоприятных последствий митохондриальной дисфункции. Обнаруженная нами высокая антиоксидантная активность фуллеренола и его наноразмеры позволяют рассмотреть его в качестве потенциального кандидата на роль митохондри-

адресованного антиоксиданта. Для экспериментальной проверки способности фуллеренола влиять на интенсивность генерации АФК в митохондриях был использован флуоресцентный метод, основанный на использовании зондов, которые при взаимодействии с АФК изменяют свои спектральные характеристики. Одним из распространенных зондов является CM-H₂DCFDA (дихлорфлуоресцин). Данный зонд хорошо проницаем для биологических мембран, при этом он гидролизруется в цитозоле с образованием карбоксилатного аниона DCFH. Окисление посредством АФК приводит к образованию флуоресцентного DCF, максимум возбуждения которого приходится на 495 нм, а максимум эмиссии на 520 нм [31].

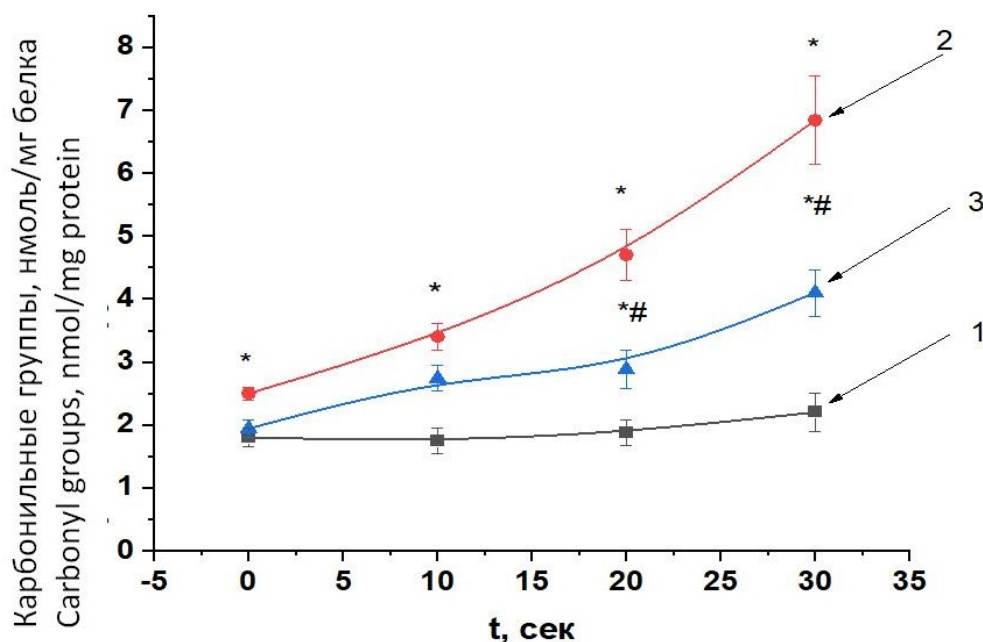


Рисунок 5. Влияние фуллеренола (0,001 мг/мл) на динамику Fe²⁺/H₂O₂-индуцированной ОМБ в гомогенате печени крыс *in vitro*: 1 – исходный уровень карбонильных групп (контроль), 2 – Fe²⁺/H₂O₂-индуцированный уровень карбонильных групп, 3 – фуллеренол + Fe²⁺/H₂O₂-индуцированный уровень карбонильных групп (p≤0.05 * – относительно контроля, # – относительно Fe²⁺/H₂O₂)

Figure 5. Effect of fullereneol (0.001 mg/ml) on the dynamics of Fe²⁺/H₂O₂-induced OMP in rat liver homogenate *in vitro*: 1 – control (initial level of carbonyl groups), 2 – Fe²⁺/H₂O₂-induced level of carbonyl groups, 3 – fullereneol + Fe²⁺/H₂O₂-induced level of carbonyl groups (p≤0.05 * – relative to control, # – relative to Fe²⁺/H₂O₂)

Исследование проводилось с использованием энергизированных сукцинатом митохондрий, то есть находящихся в метаболическом состоянии 2 по Чансу (после добавления избытка субстрата Комплекса II ЭТЦ – сукцината). В первом случае митохондрии инкубировали в течение 10 минут в среде инкубации с сукцинатом, во втором – в среде сукцинат+фуллеренол (0,001 мг/мл), в третьем – сукцинат+ротенон.

Из рисунка 6, на котором представлены спектры флуоресценции DCFH, видно, что добавление сукцинатата существенно увеличивает интенсивность флуоресценции зонда. Это обусловлено интенсификацией потока электронов по ЭТЦ митохондрий и, следовательно, вероятности восстановления кислорода до супероксидного радикала. Одним из предполагаемых механизмов повышения скорости генерации АФК является, возможно, обратный транспорт электронов на Комплекс I ЭТЦ (НАДН-дегидрогеназа) в условиях избытка сукцината, что приводит к

перевосстановленности данного комплекса, который считается главным источником АФК в митохондриях. Доказательством этой гипотезы является тот факт, что добавление ротенона в среду с сукцинатом и митохондриями максимально подавляет интенсивность генерации АФК в митохондриях (I_{max} снижается в 3,1 раз).

Добавление фуллеренола (в дозе 0,001 мг/мл) существенно снижало интенсивность флуоресценции DCFH (на 37 % снижается I_{max}), что указывает на существенное подавление уровня АФК в митохондриях.

Исследование эффектов фуллеренола на активность супероксиддисмутазы

Фуллеренол может оказывать влияние на активность антиоксидантных ферментов, в частности супероксиддисмутазы (СОД). Для того, чтобы оценить возможное воздействие фуллеренола на данный фермент, мы предварительно инкубировали в течение

10 мин митохондрии в буфере, содержащем 0,001 мг/мл фуллеренола. В качестве контроля использовали митохондрии, инкубированные за тот же промежуток времени в буфере, не содержащем

фуллеренол. Через 10 мин отбирали 50 мкл инкубационной смеси и определяли в ней активность СОД в соответствии с методикой по регистрации активности фермента.

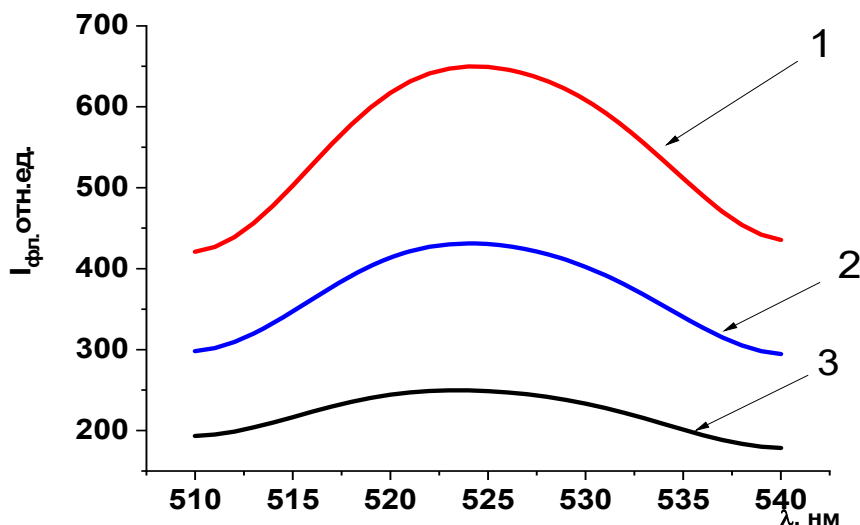


Рисунок 6. Влияние фуллеренола на спектры флуоресценции DCFH в митохондриях печени крыс:

1 – сукцинат, 2 – сукцинат+фуллеренол (0,001 мг/мл), 3 – сукцинат+ротенон

Figure 6. Effect of fullereneol on DCFH fluorescence spectra in rat liver mitochondria:

1 – succinate, 2 – succinate+fullereneol (0.001 mg/ml), 3 – succinate+rotenone

Таблица 1. Влияние фуллеренола на активность СОД в митохондриях печени крыс

Table 1. Effect of fullereneol on SOD activity in rat liver

Активность СОД (ед/мг белка) / SOD activity (U/mg protein)	
Гомогенат Homogenate	5,2 [7,4;4,5]
Гомогенат+фуллеренол Homogenate+fullereneol	4,4 [3,7;5,4]

Из таблицы 1 видно, что фуллеренол незначительно снижал активность СОД (на 15,5 %), однако это снижение не является статистически достоверным. Такие эффекты СОД, вероятно, связаны с влиянием фуллеренола на конформацию фермента. Фуллеренол $C_{60}(OH)_{36}$ обладает множеством гидроксильных групп, которые могут взаимодействовать с белками с помощью водородных связей. Таким образом, несмотря на целый ряд обнаруженных антиоксидантных эффектов фуллеренола, он может оказывать и нежелательное влияние на биополимеры, в частности, на ферменты, способствуя изменению их конформации, а, следовательно, и активности. Вероятно, фуллеренол оказывает антиоксидантный эффект за счет непосредственного взаимодействия с свободными радикалами.

На сегодняшний день фуллерены и их водные растворы являются одними из самых эффективных известных антиоксидантов. Их механизм действия принципиально отличается от традиционных антиоксидантов. В отличие от обычных восстановителей, которые расходуются в ходе нейтрализации свободных радикалов, фуллерены выступают в роли катализаторов. Они способствуют рекомбинации и взаимной нейтрализации активных кислородных соединений, не расходуясь сами. Это позволяет фуллеренам проявлять сверхмощные антиоксидантные свойства даже в ничтожно малых дозах. При этом их действие сохраняется в течение длительного времени

после однократного применения – в отдельных случаях в течение нескольких месяцев. По своей эффективности и продолжительности действия фуллерены качественно превосходят все другие известные антиоксиданты. Их можно сравнить с витаминами, где фуллерен C_{60} выступает в роли "витаминной формы углерода".

Фуллеренолы имеют различное количество и распределение гидроксильных групп, что может заметно повлиять на их реакционную способность, стабильность и оптические свойства [32]. Таким образом, чрезвычайно важно понять взаимосвязь между конфигурацией фуллеренолов и их антиоксидантными свойствами для применения в области биомедицины.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Литературные данные указывают на то, что даже сверхмалые дозы фуллеренолов (0,0000001 мг/мл) обладают антиоксидантной активностью. Для того, чтобы подобрать те концентрации фуллеренола, что малотоксичны, но обладающие умеренной антиокислительной активностью, мы исследовали антиоксидантную активность $C_{60}(OH)_{36}$ в системе аутоокисления адреналина. Фуллеренол $C_{60}(OH)_{36}$ в диапазоне концентраций 0,00001–0,2 мг/мл дозозависимо снижал скорость генерации супероксидного радикала в модельной системе аутоокисления адреналина, при этом антиоксидантная активность при максимальной концентрации фуллеренола (0,2 мг/мл)

составляла 79,58 %, а при 0,00001 мг/мл – 7,1 %. Таким образом, фуллеренол обладал высокой антиоксидантной активностью.

Исследования в системе Fe^{2+} /аскорбат, в которой инициируется ПОЛ, показали, что фуллеренол в концентрации 0,001 мг/мл предотвращает окислительные повреждения липидов. Исследование интенсивности окислительной модификации белков в модельной системе $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ (среда Фентона) показало, что фуллеренол эффективно снижает прирост карбонильных групп. $\text{C}_{60}(\text{OH})_{24}$ в концентрации 0,001 мг/мл подавлял окисление белков гидроксильными радикалами, генерируемыми в модельной системе $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$, снижая уровни карбонильных групп за 30 минут инкубации гомогената на 40,2 %.

Для оценки антиоксидантной активности фуллеренола был использован также флуоресцентный метод. Было обнаружено, что фуллеренол существенно снижал интенсивность флуоресценции чувствительного к АФК зонда дихлорфлуоресцина при инкубации митохондрий в среде, содержащей избыток сукцината. Эффекты фуллеренола могут быть связаны с его влиянием на активность на активность антиоксидантных ферментов, в частности, СОД. Оказалось, что фуллеренол незначительно снижал активность СОД (на 20,9 %), однако это снижение не является статистически достоверным. Такие эффекты СОД, вероятно, связаны с влиянием фуллерена на конформацию фермента посредством образования водородных связей.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Sanchís J., Berrojalbiz N., Caballero G., Dachs J., Farré M., Barceló D. Occurrence of aerosol-bound fullerenes in the Mediterranean Sea atmosphere // *Environmental science & technology*. 2012. V. 46 (3). P. 1335–1343.
- Navarro D.A., Kookana R.S., Kirby J.K., Martin S.M., Shareef A., Du J., McLaughlin M.J. Behaviour of fullerenes (C60) in the terrestrial environment: potential release from biosolids-amended soils // *Journal of hazardous materials*. 2013. V. 262. P. 496–503.
- Navarro D.A., Kookana R.S., McLaughlin M. J., Kirby J.K. Fullerol as a potential pathway for mineralization of fullerene nanoparticles in biosolid-amended soils // *Environmental Science & Technology Letters*. 2016. V. 3 (1). P. 7–12.
- Yu Y., Liu S., Yang L., Song P., Liu Z., Liu X., Yan X., Dong Q. Roles of reactive oxygen species in inflammation and cancer // *MedComm*. 2024. V. 5(4). Article ID: e519. DOI: 10.1002/mco2.519
- Bardawel S.K., Gul M., Alzweiri M., Ishaqat A., ALSalamat H.A., Bashatwah R.M. Reactive Oxygen Species: the Dual Role in Physiological and Pathological Conditions of the Human Body // *Eurasian J Med*. 2018. V. 50(3). P. 193–201. <https://doi.org/10.5152/eurasianjmed.2018.17397>
- Zhao Y., Shen X., Ma R., Hou Y., Qian Y., Fan C. Biological and biocompatible characteristics of fullerene nanomaterials for tissue engineering // *Histol. Histopathol*. 2021. V. 18316. P. 456–477 <https://doi.org/10.14670/HH-18-316>
- Xu P.Y., Li X.Q., Chen W.G., Deng L.L., Tan Y.Z., Zhang Q., Xie S.Y., Zheng L.S. Progress in Antiviral Fullerene Research // *Nanomaterials*. 2022. V. 12. P. 67–73.
- Bolshakova O.I., Borisenkova A.A., Golomidov I.M., Komissarov A.E., Slobodina A.D., Ryabova E. V., Ryabokon I.S., Latypova E.M., Slepneva E.E., Sarantseva S.V. Fullerenols Prevent Neuron Death and Reduce Oxidative Stress in Drosophila Huntington's Disease Model // *Cells*. 2023. V. 12. P. 56–63. <https://doi.org/10.3390/cells12010170>
- Tang J., Chen Z., Sun B., Dong J., Liu J., Zhou H., Wang L., Bai R., Miao Q., Zhao Y., et al. Polyhydroxylated Fullerenols Regulate Macrophage for Cancer Adoptive Immunotherapy and Greatly Inhibit the Tumor Metastasis // *Nanomedicine*. 2016. V. 12. Iss. 4. P. 945–954. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.11.021>
- Caldeira D. de A.F., Mesquita F.M., Pinheiro F.G., Oliveira D.F., Oliveira L.F.S., Nascimento J.H.M., Takiya C.M., Maciel L., Zin W.A. Acute Exposure to C60 Fullerene Damages Pulmonary Mitochondrial Function and Mechanics // *Nanotoxicology*. 2021. V. 15. Iss. 3. P. 352–365. <https://doi.org/10.1080/17435390.2020.1863498>
- Saitoh Y., Miyaniishi A., Mizuno H., Kato S., Aoshima H., Kokubo K., Miwa N. Super-Highly Hydroxylated Fullerene Derivative Protects Human Keratinocytes from UV-Induced Cell Injuries Together with the Decreases in Intracellular ROS Generation and DNA Damages // *J Photochem Photobiol*. 2011. V. 102. Iss. 1. P. 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2010.09.006>
- Chen X., Yang J., Li M., Zhu S., Zhao M., Yang C., Liu B., Gao H., Lu A., Ge L., et al. Fullerene Protects Cornea from Ultraviolet B Exposure // *Redox Biol*. 2022 V. 54. Article ID: 102360. <https://doi.org/doi:10.1016/j.redox.2022.102360>
- Bogdanovic V., Stankov K., Nikolic A., Icevici I., Solajic S., Bogdanovic G., Djordjevic A. The Influence of Fullerene on Antioxidative Enzyme Activity in Irradiated Human Erythrocytic Cell Line (K562) // *Hem Ind*. 2007. V. 61. Iss. 3. P. 164–166. <https://doi.org/10.2298/hemind0703164b>
- Wang C., Zhao M., Xie J., Ji C., Leng Z., Gu Z. Fullerene nano-Montmorillonite Nanocomposite as an Efficient Radioprotective Agent for Ameliorating Radioactive Duodenal Injury // *Chemical Engineering Journal*. 2022.V. 427. Article ID: 131725. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.131725>
- Grebowski J., Kazmierska-Grebowska P., Cichon N., Piotrowski P., Litwinienko G. The Effect of Fullerene C60(OH)36 on the Antioxidant Defense System in Erythrocytes // *Int. J. Mol. Sci*. 2021. V. 23(119). Iss. 1. <https://doi.org/10.3390/ijms23010119>
- Grebowski J., Konopko A., Krokosz A., DiLabio G.A., Litwinienko G. Antioxidant Activity of Highly Hydroxylated Fullerene C60 and Its Interactions with the Analogue of α -Tocopherol // *Free Radic Biol Med*. 2020. V. 160. P. 734–744. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.08.017>
- Kovel E.S., Sachkova A.S., Vnukova N.G., Churilov G.N., Knyazeva E.M., Kudryasheva N.S. Antioxidant Activity and Toxicity of Fullerenols via Bioluminescence Signaling: Role of Oxygen Substituents // *Int J Mol Sci*. 2019. V. 20. Iss. 9. Article ID: 2324. <https://doi.org/10.3390/ijms20092324>
- Kovel E.S., Kicheeva A.G., Vnukova N.G., Churilov G.N., Stepin E.A., Kudryasheva N.S. Toxicity and Antioxidant Activity of Fullerene C60,70 with Low Number of Oxygen Substituents // *Int J Mol Sci*. 2021. V. 22. Iss. 12. Article ID: 6382. <https://doi.org/10.3390/ijms22126382>
- Markelić M., Drača D., Krajnović T., Jović Z., Vuksanović M., Koruga D., Mijatović S., Maksimović-Ivanić D. Combined Action of Hyper-Harmonized Hydroxylated Fullerene Water Complex and Hyperpolarized Light Leads to Melanoma Cell Reprogramming *In Vitro* // *Nanomaterials*. 2022. V. 12. Iss. 8. <https://doi.org/10.3390/nano12081331>
- Sergeeva V., Kraevaya O.A., Ershova E., Kameneva L., Malinovskaya E., Dolgikh O., Konkova M., Voronov I., Zhilenkov A., Veiko N., et al. Antioxidant properties of fullerene derivatives depend on their chemical structure: A study of two fullerene derivatives on HELFs // *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2019. Iss. 1. Article ID: 4398695. <https://doi.org/10.1155/2019/4398695>
- Кукалия О.Н., Мещеряков А.А., Юрьев Г.О., Андошкин П.А., Семенов К.Н., Молчанов О.Е., Майстренко Д.Н., Мурын И.В., Шаройко В.В. Перспективы применения водорастворимых производных легких фуллеренов в медицине // *Трансляционная медицина*. 2023. Т. 10(6). С. 507–521. <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2023-10-6-507-521>
- Borisenkova A.A., Eropkin M.Y., Konovalova N.I., Titova A.V., Markova M.A., Lyutova Z.B., Mazur A.S., Sedov V.P., Orlova V.A., Lykholay A.N., Orlova D.N., Arutyunyan A.V. Fullerene C60 (OH) 36: Antioxidant, Cytoprotective, Anti-Influenza Virus Activity, and Self-Assembly in Aqueous Solutions and Cell Culture Media // *Antioxidants*. 2024. V. 13(12). P. 1525–1530.
- Djafarzadeh S., Jakob S.M. Isolation of Intact Mitochondria from Skeletal Muscle by Differential Centrifugation for High-resolution Respirometry Measurements // *J Vis Exp*. 2017. V. 8(121). Article ID: e55251. <https://doi.org/10.3791/55251>
- Мустафакулов М.А., Набиев А.Х., Абдулладжанова Н.Г., Матчанов А.Д., Тухтаева С. Изучение антиоксидантной и

антирадикальной активности листьев *Isatis tinctoria* L // *Universum: химия и биология*. 2022. Т. 15. N 7. С. 40–44.

25. Лысакова Т.И. Влияние факторов ишемического повреждения на перекисное окисление липидов в синапсомозга крыс // *Биофизика*. 1997. Т. 42. N 2. С. 408–411.

26. Сирота Т.В. Использование нитросинего тетразолия в реакции автоокисления адреналина для определения активности супероксиддисмутазы // *Биомедицинская химия*. 2013. Т. 59. N 4. С. 399–410.

27. Torres-Cuevas I., Parra-Llorca A., Sánchez-Illana A., Nuñez-Ramiro A. Oxy-gen and oxidative stress in the perinatal period // *Redox Biology*. 2017. V. 12. P. 674–681.

28. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 4th Edition, Oxford University Press, Oxford. 2006. V. 14.

29. Imai H., Nakagawa Y. Biological significance of phospholipids hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx, GPx4) in mammalian cells // *Free Radical Biology and Medicine*. 2003. V. 34. P. 145–169.

30. Дубинина Е.Е. Продукты кислородного обмена в функциональной активности клеток: (жизнь и смерть, созидание и разрушение) // *Физиологические и клиничко-биохимические аспекты*. СПб.: Медицинская пресса, 2006. Т. 397. С. 95–102.

31. Kalyanaraman B., Darley-Usmar V., Davies K.J., Dennery P.A., Forman H.J., Gri-sham M.B., Mann G.E., Moore K., Roberts L.J., Ischiropoulos H. Measuring reactive oxygen and nitrogen species with fluorescent probes: challenges and limitations // *Free Radic Biol Med*. 2012. V. 52(1). P. 1–6.

<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.09.030>

32. Fileti E.E., Rivelino R., Mota F.D., Malaspina T. Effects of hydroxyl group distribution on the reactivity, stability and optical properties of fullereneols // *Nanotechnology*. 2008. V. 19. P. 509–801.

REFERENCES

1. Sanchis J., Berrojalbiz N., Caballero G., Dachs J., Farré M., Barceló D. Occurrence of aerosol-bound fullerenes in the Mediterranean Sea atmosphere. *Environmental science & technology*, 2012, vol. 46, no. 3, pp. 1335–1343.

2. Navarro D.A., Kookana R.S., Kirby J.K., Martin S.M., Shareef A., Du J., McLaughlin M.J. Behavior of fullerenes (C60) in the terrestrial environment: potential release from biosolids-amended soils. *Journal of hazardous materials*, 2013, vol. 262, pp. 496–503.

3. Navarro D.A., Kookana R.S., McLaughlin M.J., Kirby J.K. Fullerol as a potential pathway for mineralization of fullerene nanoparticles in biosolid-amended soils. *Environmental Science & Technology Letters*, 2016, vol. 3, no. 1, pp. 7–12.

4. Yu Y., Liu S., Yang L., Song P., Liu Z., Liu X., Yan X., Dong Q. Roles of reactive oxygen species in inflammation and cancer. *MedComm*, 2024, vol. 5, no. 4, article ID: e519. DOI: 10.1002/mco2.519

5. Bardaweel S.K., Gul M., Alzweiri M., Ishaqat A., AlSalamat H.A., Bashatwah R.M. Reactive Oxygen Species: the Dual Role in Physiological and Pathological Conditions of the Human Body. *Eurasian J Med*, 2018, vol. 50, no. 3, pp. 193–201.

<https://doi.org/10.5152/eurasianjmed.2018.17397>

6. Zhao Y., Shen X., Ma R., Hou Y., Qian Y., Fan C. Biological and biocompatible characteristics of fullereneol nanomaterials for tissue engineering. *Histol. Histopathol*, 2021, vol. 18316, pp. 456–477.

<https://doi.org/10.14670/HH-18-316>

7. Xu P.Y., Li X.Q., Chen W.G., Deng L.L., Tan Y.Z., Zhang Q., Xie S.Y., Zheng L.S. Progress in Antiviral Fullerene Research. *Nanomaterials*, 2022, vol. 12, pp. 67–73.

8. Bolshakova O.I., Borisenkova A.A., Golomidov I.M., Komissarov A.E., Slobodina A.D., Ryabova E.V., Ryabokon I.S., Latypova E.M., Slepneva E.E., Sarantseva S.V. Fullerenols Prevent Neuron Death and Reduce Oxidative Stress in Drosophila Huntington's Disease Model. *Cells*, 2023, vol. 12, pp. 56–63. <https://doi.org/10.3390/cells12010170>

9. Tang J., Chen Z., Sun B., Dong J., Liu J., Zhou H., Wang L., Bai R., Miao Q., Zhao Y., et al. Polyhydroxylated Fullerenols Regulate Macrophage for Cancer Adoptive Immunotherapy and Greatly Inhibit the Tumor Metastasis. *Nanomedicine*, 2016, vol.12, iss. 4, pp. 945–954.

<https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.11.021>

10. Caldeira D. de A.F., Mesquita F.M., Pinheiro F.G., Oliveira D.F., Oliveira L.F.S., Nascimento J.H.M., Takiya C.M., Maciel L., Zin W.A., Acute Exposure to C60 Fullerene Damages Pulmonary Mitochondrial Function and Mechanics. *Nanotoxicology*, 2021, vol. 15, iss. 3, pp. 352–365. <https://doi.org/10.1080/17435390.2020.1863498>

11. Saitoh Y., Miyanishi A., Mizuno H., Kato S., Aoshima H., Kokubo K., Miwa N. Super-Highly Hydroxylated Fullerene Derivative Protects Human Keratinocytes from UV-Induced Cell Injuries Together with the Decreases in Intracellular ROS Generation and DNA Damages. *J Photochem Photobiol*, 2011, vol.102, iss. 1, pp. 69–76.

<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2010.09.006>

12. Chen X., Yang J., Li M., Zhu S., Zhao M., Yang C., Liu B., Gao H., Lu A., Ge L., et al. Fullereneol Protects Cornea from Ultraviolet B Exposure. *Redox Biol*, 2022, vol. 54, article ID: 102360.

<https://doi.org/doi:10.1016/j.redox.2022.102360>

13. Bogdanovic V., Stankov K., Nikolic A., Icevic I., Solajic S., Bogdanovic G., Djordjevic A. The Influence of Fullereneol on Antioxidative Enzyme Activity in Irradiated Human Erythroleukemic Cell Line (K562). *Hem Ind.*, 2007, vol. 61, iss. 3, pp. 164–166.

<https://doi.org/10.2298/hemind0703164b>

14. Wang C., Zhao M., Xie J., Ji C., Leng Z., Gu Z. Fullereneol nano-Montmorillonite Nanocomposite as an Efficient Radioprotective Agent for Ameliorating Radioactive Duodenal Injury. *Chemical Engineering Journal*, 2022, vol. 427, article ID: 131725.

<https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.131725>

15. Grebowski J., Kazmierska-Grebowska P., Cichon N., Piotrowski P., Litwinienko G. The Effect of Fullereneol C60(OH)36 on the Antioxidant Defense System in Erythrocytes. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 23 no.119, iss. 1. <https://doi.org/10.3390/ijms23010119>

16. Grebowski J., Konopko A., Krokosz A., DiLabio G.A., Litwinienko G. Antioxidant Activity of Highly Hydroxylated Fullerene C60 and Its Interactions with the Analogue of α -Tocopherol. *Free Radic Biol Med*, 2020, vol. 160, pp. 734–744.

<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.08.017>

17. Kovel E.S., Sachkova A.S., Vnukova N.G., Churilov G.N., Kryazeva E.M., Kudryasheva N.S. Antioxidant Activity and Toxicity of Fullerenols via Bioluminescence Signaling: Role of Oxygen Substituents. *Int J Mol Sci*. 2019, vol. 20, iss. 9, article ID: 2324.

<https://doi.org/10.3390/ijms20092324>

18. Kovel E.S., Kicheeva A.G., Vnukova N.G., Churilov G.N., Stepin E.A., Kudryasheva N.S. Toxicity and Antioxidant Activity of Fullereneol C60.70 with Low Number of Oxygen Substituents. *Int J Mol Sci.*, 2021, vol. 22, iss. 12, article ID: 6382. <https://doi.org/10.3390/ijms22126382>

19. Markelić M., Drača D., Krajnović T., Jović Z., Vuksanović M., Koruga D., Mijatović S., Maksimović-Ivanić, D. Combined Action of Hyper-Harmonized Hydroxylated Fullerene Water Complex and Hyperpolarized Light Leads to Melanoma Cell Reprogramming In Vitro. *Nanomaterials*, 2022, vol. 12, iss. 8.

<https://doi.org/10.3390/nano12081331>

20. Sergeeva V., Kraevaya O.A., Ershova E., Kameneva L., Malinovskaya E., Dolgikh O., Konkova M., Voronov I., Zhilenkov A., Veiko N., et al. Antioxidant properties of fullerene derivatives depend on their chemical structure: A study of two fullerene derivatives on HELFs. *Oxid. Med. Cell. Longev*, 2019, iss. 1, article ID: 4398695.

<https://doi.org/10.1155/2019/4398695>

21. Kukaliya O.N., Meshcheryakov A.A., Yuryev G.O., Andoskin P.A., Semenov K.N., Molchanov O.E., Maistrenko D.N., Murin I.V., Sharoiiko V.V. Prospects for the use of water-soluble derivatives of light fullerenes in medicine. *Translational medicine*, 2023, vol. 10, no. 6, pp. 507–521. (In Russian) <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2023-10-6-507-521>

22. Borisenkova A.A., Eropkin M.Y., Konovalova N.I., Titova A.V., Markova M.A., Lyutova Z.B., Mazur A.S., Sedov V.P., Orlova V.A., Lykholay A.N., Orlova D.N., Arutyunyan A.V. Fullereneol C60 (OH) 36: Antioxidant, Cytoprotective, Anti-Influenza Virus Activity, and Self-Assembly in Aqueous Solutions and Cell Culture Media. *Antioxidants*, 2024, vol. 13, no. 12, pp. 1525–1530.

23. Djafarzadeh S., Jakob S.M. Isolation of Intact Mitochondria from Skeletal Muscle by Differential Centrifugation for High-resolution Respirometry Measurements. *J Vis Exp.*, 2017, vol. 8, no. 121, article ID: e55251. <https://doi.org/10.3791/55251>

24. Mustafakulov M.A., Nabiev A.Kh., Abdulladzhanova N.G., Matchanov A.D., Tukhtaeva S. Study of antioxidant and antiradical activity of isatis tinctoria leaves. *Universum: chemistry and biology*, 2022, vol. 15, no. 7, pp. 40–44. (In Russian)

25. Lysakova T.I. The influence of ischemic injury factors on lipid peroxidation in rat brain synaptosomes. *Biophysics*, 1997, vol. 42, no. 2, pp. 408–411. (In Russian)

26. Sirota T.V. Use of nitroblue tetrazolium in the reaction of adrenaline autooxidation to determine the activity of superoxide dismutase. *Biomedical Chemistry*, 2013, vol. 59, no. 4, pp. 399–410. (In Russian)
27. Torres-Cuevas I., Parra-Llorca A., Sánchez-Illana A., Nuñez-Ramiro A. Oxygen and oxidative stress in the perinatal period. *Redox Biology*, 2017, vol. 12, pp. 674–681.
28. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 4th Edition, Oxford University Press, Oxford, 2006, vol. 14.
29. Imai H., Nakagawa Y., Biological significance of phospholipids hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx, GPx4) in mammalian cells *Free Radical Biology and Medicine*, 2003, vol. 34, pp. 145–169.
30. Dubinina E.E. *Produkty kislorodnogo obmena v funktsional'noi aktivnosti kletok: (zhizn' i smert', sozidanie i razrushenie)*.

- Fiziologicheskie i kliniko-biokhimicheskie aspekty* [Oxygen metabolism products in the functional activity of cells: (life and death, creation and destruction)]. Physiological and clinical-biochemical aspects]. St. Petersburg, Medical Press, 2006, vol. 397, pp. 95–102. (In Russian)
31. Kalyanaraman B., Darley-Usmar V., Davies K.J., Dennery P.A., Forman H.J., Gri-sham M.B., Mann G.E., Moore K., Roberts L.J., Ischiropoulos H. Measuring reactive oxygen and nitrogen species with fluores-cent probes: challenges and limitations. *Free Radic Biol Med*, 2012, vol. 52, no. 1, pp. 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.09.030>
32. Fileti E.E., Rivelino R., Mota F.D., Malaspina T. Effects of hydrox-yl group distribution on the reactivity, stability and optical properties of fullerenols. *Nanotechnology*, 2008, vol. 19, pp. 509–801.

КРИТЕРИИ АВТОРСТВА

Ашүра И. Исрапилова написала текст статьи, проанализировала и интерпретировала результаты исследования. Айна А. Адиева сформулировала идеи, проанализировала и интерпретировала результаты исследования. Рамазан Г. Яхьяев подготовил обзор литературных источников, собрал данные. Альбина М. Джафарова разработала методики исследования. Надира О. Гусейнова обобщила данные, подготовила табличный материал. Жанна Б. Лютова провела научное редактирование текста. Алина А. Борисенкова провела синтез гидроксированной формы фуллеренола. Вагаб Р. Абдуллаев провел статистическую обработку и обобщил данные. Все авторы в равной степени несут ответственность при обнаружении плагиата, самоплагиата или других неэтических проблем.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Ashura I. Israpilova undertook writing the text of the article, analysis and interpretation of the research results. Aina A. Adieva formulated the idea, analysed and interpreted the research results. Ramazan G. Yahyaev prepared a review of literary sources and undertook data collection. Albina M. Dzhafarova undertook development of research methodology. Nadira O. Guseynova generalised data and prepared tabular material. Zhanna B. Lyutova undertook scientific text editing. Alina A. Borisenkova undertook synthesis of the hydroxylated form of fullereneol. Vagab R. Abdullaev undertook statistical data processing and data synthesis. All authors are equally responsible for plagiarism, self-plagiarism and other ethical transgressions.

NO CONFLICT OF INTEREST DECLARATION

The authors declare no conflict of interest.

ORCID

Ашүра И. Исрапилова / Ashura I. Israpilova <https://orcid.org/0009-0001-6318-595X>
 Айна А. Адиева / Aina A. Adieva <https://orcid.org/0000-0001-8868-4782>
 Альбина М. Джафарова / Albina M. Dzhafarova <https://orcid.org/0000-0001-7744-859X>
 Надира О. Гусейнова / Nadira O. Guseynova <https://orcid.org/0000-0003-3979-4293>
 Жанна Б. Лютова / Zhanna B. Lyutova <https://orcid.org/0000-0001-6925-2802>
 Алина А. Борисенкова / Alina A. Borisenkova <https://orcid.org/0000-0002-7618-5617>
 Рамазан Г. Яхьяев / Ramazan H. Yahyaev <https://orcid.org/0009-0006-5097-5908>
 Вагаб Р. Абдуллаев / Vagab R. Abdullaev <https://orcid.org/0000-0002-3551-1746>