

УДК 57.052

## НОВЫЕ СТИМУЛЯТОРЫ РОСТА РАСТЕНИЙ НА ОСНОВЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ НАНОЧАСТИЦ N-ЗАМЕЩЕННЫХ МОНОАМИНОКИСЛОТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНА C<sub>60</sub> И ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ИХ ДЕЙСТВИЯ

© 2020 г. В.А. Волков\*, О.В. Ямскова\*\*, М.В. Воронков\*, Д.В. Курилов\*\*\*, В.С. Романова\*\*, В.М. Мисин\*, И.Н. Гагарина\*\*\*\*, Н.Е. Павловская\*\*\*\*, И.В. Горькова\*\*\*\*, А.В. Лушников\*\*\*\*

\*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4

\*\*Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 28

\*\*\*Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, 119991, Москва, Ленинский просп., 47

\*\*\*\*Орловский государственный аграрный университет им. Н.В. Парахина, 302019, Орёл, ул. Генерала Родина, 69

E-mail: vl.volkov@mail.ru

Поступила в редакцию 22.11.2019 г.

После доработки 12.05.2020 г.

Принята к публикации 08.06.2020 г.

Исследованы ростостимулирующие эффекты водорастворимых наночастиц N-замещенных моноаминокислотных производных фуллерена C<sub>60</sub> (L- и D- аланина, L- и D-валина, L- и D-аспарагиновой кислоты, β-аланина, а также γ-аминоасляной и ε-аминокапроновой кислот в солевой форме). Обнаружено, что факторами, влияющими на такие физиологические параметры, как всхожесть, энергия прорастания и длина корешка гороха посевного, являются размер наночастиц производных фуллерена и их относительная антирадикальная активность. Установлено, что в выбранной группе соединений относительная антирадикальная активность наночастиц определяется их суммарной площадью поверхности и не зависит от строения аминокислотного заместителя. Продемонстрирована возможность использования аминокислотных производных фуллерена в качестве эффективных ростостимулирующих веществ. Обнаружен эффект, выражающийся в дозозависимом влиянии, оказываемом калиевой солью N-(моногодрофуллеренил)-D-аланина на показатели всхожести и энергии прорастания гороха в диапазоне концентраций 10<sup>-9</sup>–10<sup>-11</sup> М.

*Ключевые слова:* фуллерен, наночастицы, антиоксиданты, стимуляторы роста, горох посевной.

DOI: 10.31857/S000630292004016X

Повышение урожайности сельскохозяйственных культур является одной из ключевых задач современной агрохимии. При этом предпочтение отдается тем средствам, применение которых безопасно для окружающей среды. В настоящее время особый интерес представляет использование наноматериалов, которые благодаря своим размерным характеристикам обладают уникальными свойствами. Среди таких материалов важное место отводится углеродным наноструктурам, в частности фуллерену C<sub>60</sub>, а также его производным. В этой связи актуальным является изучение механизмов ростостимулирующего действия фуллерена C<sub>60</sub> и его производных.

В литературных источниках имеются противоречивые данные о физиологическом влиянии, оказываемом фуллереновыми производными на растения. Так, найдено, что функциональные производные фуллерена C<sub>60</sub>, например, такие как фуллеренолы, оказывают положительный эффект на рост гипокотили у арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* L.) [1]. Как предполагают, положительный эффект при воздействии указанных соединений на растения связан с их антиоксидантной активностью, а именно — со способностью связывать активные формы кислорода (АФК) [2, 3]. В частности, была выявлена способность фуллеренола предотвращать развитие окислительного стресса в корнях и их субапикальное утолщение при ультрафиолетовом средневолновом облучении проростков зерновых культур благодаря снижению содержания АФК.

Сокращения: АФК — активные формы кислорода, АПФ — аминокислотные производные фуллерена, ОАА — относительная антирадикальная активность.

Также есть подтверждения тому, что добавление в питательный раствор водорастворимых производных фуллерена  $C_{60}$  с аминокислотами (АПФ), такими как L-лизин, L-треонин L-аргинин, L-гидроксипролин (в виде их калиевых солей), способствовало увеличению сухой массы растения у яровой пшеницы [4]. Однако не все функционализированные фуллерены показывают эффект стимуляции в отношении роста растений. Например, авторы публикации [5] сообщили, что водорастворимое малонатное производное (карбоксивуллерен)  $C_{70}[C(COOH)_2]_{4-8}$ , добавленное в питательную среду, дозозависимым образом усиливает ингибирование роста корней вплоть до 60%, а также приводит к деформации почка корней у арабидопсиса (*A. thaliana* L.). Выдвинуто предположение о том, что указанные негативные эффекты могут быть связаны с нарушением транспорта ауксина в корнях, отклонениями в процессах клеточного деления в зоне меристемы корня, а также с уменьшением внутриклеточного количества АФК. В присутствии карбоксивуллерена  $C_{70}[C(COOH)_2]_{2-4}$  на клеточной культуре табака сигарного (*Nicotiana tabacum* L.) также были зафиксированы эффекты ингибирования роста, связанные с деформацией клеточной стенки и окислительным стрессом [6]. Сделан вывод о том, что адсорбция карбоксивуллеренов на клеточных стенках приводит к разрушению этих клеточных стенок и мембран, что в итоге ингибирует рост клеток. Кроме того, при действии карбоксивуллеренов наблюдается увеличение количества гликозидных остатков на клеточных стенках (в зависимости от концентрации растворов и времени воздействия), а также аккумуляция АФК, что, как предполагают, представляет собой стратегию защиты растения при воздействии этих производных фуллерена.

В целом взаимосвязи между строением производных фуллерена и их биологической активностью недостаточно изучены.

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Объекты исследования.** Фуллерен  $C_{60}$  и его N-монозамещенные производные калиевых солей L- и D- аланина, L- и D-валина, L- и D-аспарагиновой кислоты,  $\beta$ -аланина, а также  $\gamma$ -аминомасляной и  $\epsilon$ -аминокапроновой кислот, способные к образованию в водном растворе наночастиц, были синтезированы в ИНЭОС им. А.Н. Несмеянова РАН.

**Определение относительной антирадикальной активности аминокислотных производных фуллерена.** Определение величины относительной антирадикальной активности (ОАА) было осуществлено по методу ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) в модификации, представ-

ленной в работе [7]. В этом методе в качестве источника свободных радикалов используется 2,2'-азобис(2-амидинопропан)дигидрохлорид, который склонен к термическому гомолитическому распаду, в результате которого в присутствии кислорода образуются алкоксильные либо алкилпероксидные радикалы, а флуоресцеин играет роль атакующей радикалами мишени, текущая концентрация которой определяется с высокой чувствительностью.

Растворы флуоресцеина и 2,2'-азобис(2-амидинопропан)дигидрохлорида готовили в фосфатном буфере (75 мМ, рН 7.4), а затем инкубировали в течение 10 мин при 37°C. В кювете флуориметра сначала смешивали растворы флуоресцеина и исследуемого образца; раствор 2,2'-азобис(2-амидинопропан)дигидрохлорида вводили последним и немедленно начинали запись кинетической кривой изменения интенсивности флуоресценции. Конечные концентрации компонентов смеси в кювете составляли: 9.6 мМ 2,2'-азобис(2-амидинопропан)дигидрохлорида,  $10^{-8}$  М флуоресцеина,  $2.5 \cdot 10^{-6}$  М исследуемого раствора. Фосфатный буфер (75 мМ) использовали для холостого опыта, тролокс (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновую кислоту) в концентрации  $1.2 \cdot 10^{-6}$  М — в качестве препарата сравнения. Значение величины, характеризующей ОАА, рассчитывали как отношение разностей площадей под кривыми тушения флуоресценции соответственно для исследуемого образца ( $S_{обр}$ ) и для тролокса ( $S_{Тр}$ ) с учетом холостого опыта («бланка», т.е. без добавления антиоксидантов,  $S_{бл}$ ), а также концентраций тролокса ( $C_{Тр}$ ) и исследуемых образцов ( $C_{обр}$ ):

$$ОАА = ((S_{обр} - S_{бл}) / (S_{Тр} - S_{бл})) \cdot (C_{Тр} / C_{обр}). \quad (1)$$

Кинетические кривые изменения интенсивности флуоресценции с течением времени регистрировали на спектрофлуориметре FluoroLog 3.21 (Horiba Scientific Ltd., Франция) при температуре  $37 \pm 0.2^\circ\text{C}$  (при термостатировании в кюветном отделении). Наблюдаемую флуоресценцию детектировали при длине волны  $\lambda = 515$  нм под прямым углом относительно пучка возбуждения в стандартной (1 см) кварцевой кювете при длине волны возбуждающего света  $\lambda = 491$  нм. Интенсивности флуоресценции были скорректированы по отношению к чувствительности измеряющего фотоэлектронного умножителя. Температуру образца поддерживали при помощи термостата модели 12108-15 (Cole-Parmer, США) (6 л, вода, нагрев/охлаждение, цифровой контроллер). Компоненты образца (за исключением инициатора) предварительно термостатировали в течение 10 мин перед смешиванием. Температуру в кювете уточняли при помощи ртутного термометра с шагом деления шкалы  $0.1^\circ\text{C}$ .

Влияние на показатели физиологических параметров (энергии прорастания, всхожести и длины корешка гороха), оказываемое фуллереном C<sub>60</sub> и АПФ, а также найденные соответствующие этим соединениям значения величин ОАА и среднего размера частиц

Тестируемое соединение, 10 <sup>-9</sup> М	ОАА, отн. ед.	Размер частиц, нм	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %	Длина корешка, см
H-C <sub>60</sub> -L-Ala-OK (1)	0.16 ± 0.02	94 ± 13	98	98	4.36 ± 1.42
H-C <sub>60</sub> -D-Ala-OK (2)	0.63 ± 0.10	42 ± 6	98	98	3.76 ± 1.34
H-C <sub>60</sub> -L-Val-OK (3)	0.27 ± 0.04	90 ± 15	89	97.3	5.10 ± 1.28
H-C <sub>60</sub> -D-Val-OK (4)	0.04 ± 0.01	107 ± 18	87.3	91.7	5.78 ± 2.14
H-C <sub>60</sub> -L-Asp-(OK) <sub>2</sub> (5)	—*	108 ± 30	86	88.3	3.62 ± 0.89
H-C <sub>60</sub> -D-Asp-(OK) <sub>2</sub> (6)	0.010 ± 0.002	110 ± 20	79.7	82.3	3.78 ± 1.09
H-C <sub>60</sub> -NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -COOK (7)	0.08 ± 0.01	—**	97.7	98	4.16 ± 1.32
H-C <sub>60</sub> -NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -COOK (8)	0.35 ± 0.05	—**	91.7	92.3	5.12 ± 1.12
H-C <sub>60</sub> -NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -COOK (9)	—*	—**	85.3	87.7	2.86 ± 1.79
C <sub>60</sub> (10)	—*	78 ± 6	100	100	3.80 ± 1.24
Вода (контроль)	—	—	88	90.3	3.30 ± 0.67

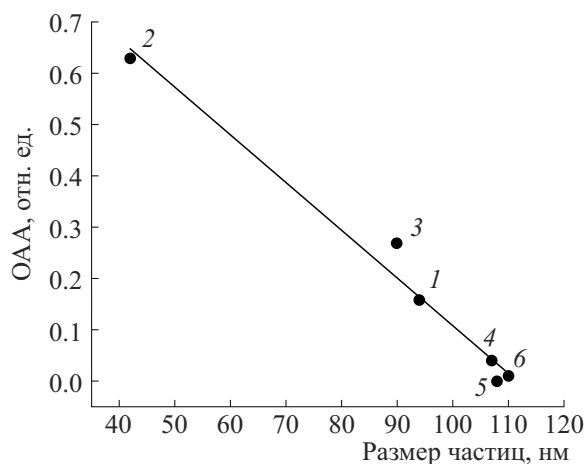
*Примечание.* \* — Значение величины (при заданных условиях эксперимента) находится ниже предела детектирования; для этих соединений значения ОАА; \*\* — вследствие полидисперсности наночастиц в растворе оценку их усредненного размера нельзя считать корректной.

**Определение размеров наночастиц.** Для определения гидродинамического радиуса частиц АПФ, диспергированных в водном растворе, использовали метод лазерного динамического рассеяния света (фотонной корреляционной спектроскопии). Измерения проводили на анализаторе «Photocor Compact-Z» (ООО «Фотокор», Москва), оснащенный термостабилизированным диодным AlGaInP-лазером с длиной волны λ = 637.4 нм (мощностью 30 мВт) и многоканальным коррелятором «Photocor-FC». Распределения по гидродинамическому радиусу получали из измеренных корреляционных функций интенсивности рассеянного света при помощи программного обеспечения DynaLS фирмы «Alango Ltd» (Израиль) методом кумулянтов [8], а также ALV-5000/E фирмы «ALV-GmbH» (Германия) методом CONTIN [9]. Измерения проводили при величине угла рассеивания 90° и температуре 25°С. Были использованы цилиндрические кюветы диаметром 8 мм и объемом 1 мл. Концентрации образцов составляли 10<sup>-6</sup> М.

**Контролируемые параметры проращивания.** Исследование проводили на семенах гороха сорта «Фараон», которые предварительно замачивали в растворе исследуемых веществ в течение двух часов, после чего переносили на фильтровальную

бумагу в чашки Петри для проращивания на свету в течение восьми суток при температуре 23°С. Представленные значения величин физиологических параметров рассчитаны как среднее арифметическое из трех повторностей. В каждой из повторностей проводили проращивание 100 семян. В качестве изучаемых физиологических параметров при проращивании семян выступали всхожесть, энергия прорастания и длина корешка. Длину корешка и всхожесть (количество нормально проросших семян) определяли на восьмые сутки проращивания как величину, выраженную в процентах по отношению к параметрам биоматериала, взятого для анализа. Энергию прорастания (как процент проросших семян) определяли на четвертые сутки. Важно отметить, что физиологический параметр энергии прорастания характеризует способность семян давать в полевых условиях дружные и ровные всходы, а значит, — хорошую выровненность и выживаемость растений. Измерение показателей всхожести и энергии прорастания осуществляли в соответствии с методикой, описанной в ГОСТ 12038-84 [10].

**Статистическую обработку** полученных экспериментальных данных проводили при помощи



**Рис. 1.** Диаграмма корреляционной зависимости между величиной относительной антиоксидантной активности и усредненным размером наночастиц аминокислотных производных фуллерена.

программ Microsoft Excel 2010, Origin Pro 8.0 и Past 3.25.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Как следует из полученных экспериментальных данных (см. таблицу), фуллерен  $C_{60}$  и большинство АПФ (в виде соответствующих калиевых солей) в концентрации  $10^{-9}$  М способствуют увеличению показателей всхожести, энергии прорастания и длины корешка. Наибольшее положительное влияние на всхожесть и энергию прорастания оказывал незамещенный фуллерен  $C_{60}$ . АПФ преимущественно также способствовали увеличению значений указанных параметров. Однако, например, в присутствии некоторых из числа испытанных АПФ – производных L- и D-аспарагиновой, а также  $\epsilon$ -аминокапроновой кислот – несколько снижались показатели как всхожести, так и энергии прорастания. Введение аминокислотного остатка в молекулу фуллерена  $C_{60}$  способствовало увеличению ростостимулирующего эффекта в отношении длины корешка гороха. Важно также отметить, что наибольшие значения величины ОАА и при этом наименьшие размеры наночастиц, образуемые в водном растворе, продемонстрированы в случае фуллеренового производного D-аланина.

Выявлена тесная отрицательная корреляционная связь линейного типа (со значением коэффициента корреляции Пирсона  $r_{yx} = -0.9885$  и значением коэффициента детерминации  $R^2 = 0.977$ ) между величиной относительной антиоксидантной активности и размером наночастиц АПФ, образующихся в водном растворе (рис. 1).

Осуществлена оценка статистической значимости полученного значения линейного коэффициента корреляции Пирсона  $r_{yx}$  на основании  $t$ -критерия Стьюдента. Указанный критерий подчиняется закону распределения Стьюдента с числом степеней свободы  $\nu = n - 2$ . Фактически наблюдаемое значение  $t$ -статистики ( $t_{\text{набл}}$ ) для совокупности малого объема вычислено в соответствии с формулой:

$$t_{\text{набл}} = |r_{yx}| [(n - 2) / (1 - r_{yx}^2)]^{1/2},$$

где  $n$  – объем совокупности ( $n = 6$ ); число степеней свободы  $\nu = n - 2 = 4$ ;  $|r_{yx}|$  – абсолютное значение величины линейного коэффициента корреляции Пирсона;  $t_{\text{набл}}$  – наблюдаемое (расчитанное) значение  $t$ -статистики.

Найдено, что значение  $t_{\text{набл}} = 13.052$ . Для уровня значимости  $\alpha = 0.05$  (5%-й вероятности ошибки первого рода) и числа степеней свободы  $\nu = 4$  квантиль распределения Стьюдента (табличное критическое значение величины  $t$ -статистики,  $t_{\text{кр}}$ ) составляет  $t_{\text{кр}} = 2.776$ . Поскольку  $t_{\text{набл}} > t_{\text{кр}}$ , то полученная оценка позволяет отклонить нулевую гипотезу  $H_0$  о статистической незначимости коэффициента корреляции (о случайном характере связи) и принять альтернативную гипотезу  $H_1$  о статистической значимости коэффициента корреляции (о наличии статистически значимой связи, имеющей неслучайный характер).

Расчитаны параметры аналитического представления корреляционной зависимости в виде гипотетического уравнения линейного типа  $\hat{y}_x = a_0 + a_1x$  (где коэффициенты  $a_1 = -0.00937$  и  $a_0 = 1.04412$ ) и, таким образом, построена регрессионная модель, характеризующая связь между факторным ( $x$ , размером частиц АПФ в растворе) и результативным ( $\hat{y}_x$ , теоретической величиной ОАА) признаками.

Выявленная корреляционная зависимость между величиной относительной антирадикальной активности и размером наночастиц АПФ, по-видимому, обусловлена стерическим фактором: при увеличении размеров наночастиц уменьшается величина отношения площади поверхности наночастицы к ее объему:

$$S_{\text{нч}} / V_{\text{нч}} = 4\pi r^2 / 1.33\pi r^3 = 3/r, \quad (2)$$

где  $S_{\text{нч}}$  – площадь поверхности наночастицы,  $V_{\text{нч}}$  – объем наночастицы,  $r$  – радиус наночастицы.

Молекулы, заключенные внутри указанного объема наночастицы, оказываются труднодоступными для взаимодействия со свободными радикалами, и соответствующее АПФ показывает меньшие значения величины ОАА.

Для нахождения зависимости между свойствами АПФ и тестируемыми физиологическими па-

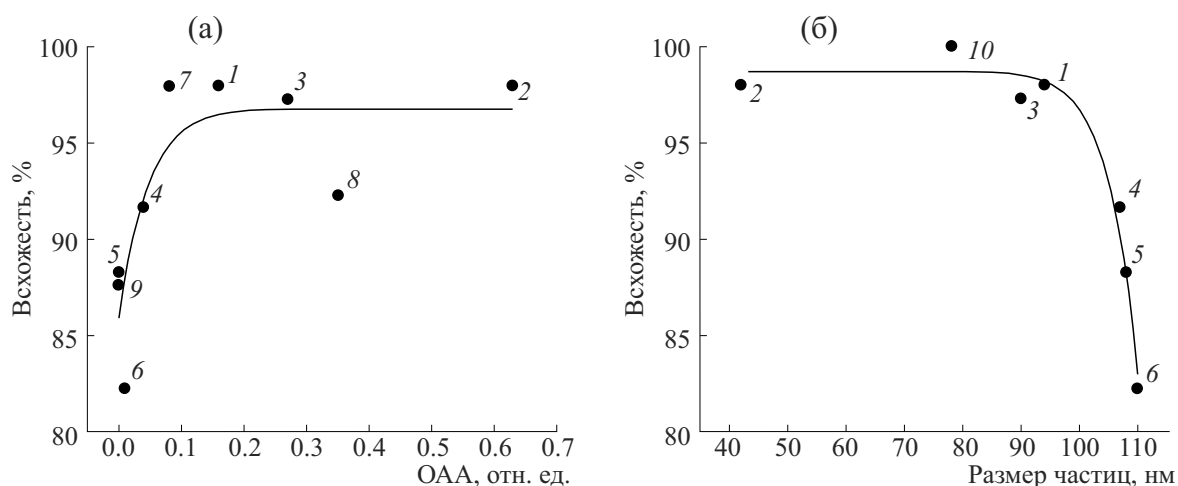


Рис. 2. Диаграммы корреляционной зависимости влияния величины относительной антиоксидантной активности (а) и размеров наночастиц аминокислотных производных фуллерена в растворе (б) на всхожесть гороха сорта «Фараон».

раметрами был осуществлен корреляционный анализ. Параметры всхожести и энергии прорастания показали положительную нелинейную корреляционную связь с величиной ОАА, переходя в область насыщения при определенном уровне значений соответствующего параметра, причем с величиной размеров наночастиц прослеживается отрицательная нелинейная корреляционная связь параметра всхожести (рис. 2).

Посредством компьютерного моделирования установлено, что в аналитическом виде изменение показателя всхожести ( $y$ , результативного признака), представленное на рис. 2, хорошо аппроксимируется уравнением роста Бергаланфи (L. von Bertalanffy), которое имеет общий вид  $\hat{y}_x = a[1 - b \exp(-cx)]$ , где в качестве независимой переменной ( $x$ , факторного признака) фигурируют соответственно величины ОАА и размер частиц, коэффициент  $a$  – предельное (асимптотическое) значение тестируемого физиологического показателя (результативного признака), коэффициент  $c$  – интенсивность (градиент) изменения тестируемого физиологического показателя (результативного признака).

Для зависимостей на рис. 2 найдены следующие соответствующие параметры гипотетического уравнения:  $a = 96.797$ ,  $b = 0.11246$ ,  $c = 21.334$  и  $a = 98.662$ ,  $b = 8.6938 \cdot 10^{-12}$ ,  $c = -0.2148$  (для зависимостей (а) и (б) соответственно).

Продемонстрирована весьма тесная положительная корреляционная зависимость (коэффициент корреляции Пирсона  $r_{yx} = 0.91$ ) длины корешков от значений величин ОАА АПФ (рис. 3). Необходимо отметить, что при расчете данного коэффициента не учитывались экспериментальные данные, полученные для фуллереновых про-

изводных D-аланина (таблица, соединение 2) и D-валина (таблица, соединение 4): они рассматривались как «статистический выброс», связанный, возможно, с изменением размеров агрегатов (наночастиц) этих соединений.

Для корреляционной зависимости, представленной на рис. 3, найден аналитический вид аппроксимирующей функции линейного типа  $\hat{y}_x = a_0 + a_1x$ , где коэффициенты  $a_1 = 5.0434$  и  $a_0 = 3.5515$ .

Эксперимент по оценке зависимости величин всхожести и энергии прорастания от концентрации АПФ в растворе (в области низких концентраций при значениях, ниже наномолярных,  $10^{-10}$  и  $10^{-11}$  М) на примере фуллеренового про-

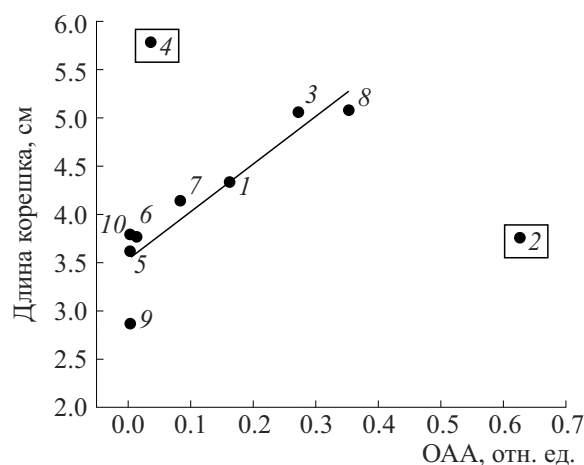
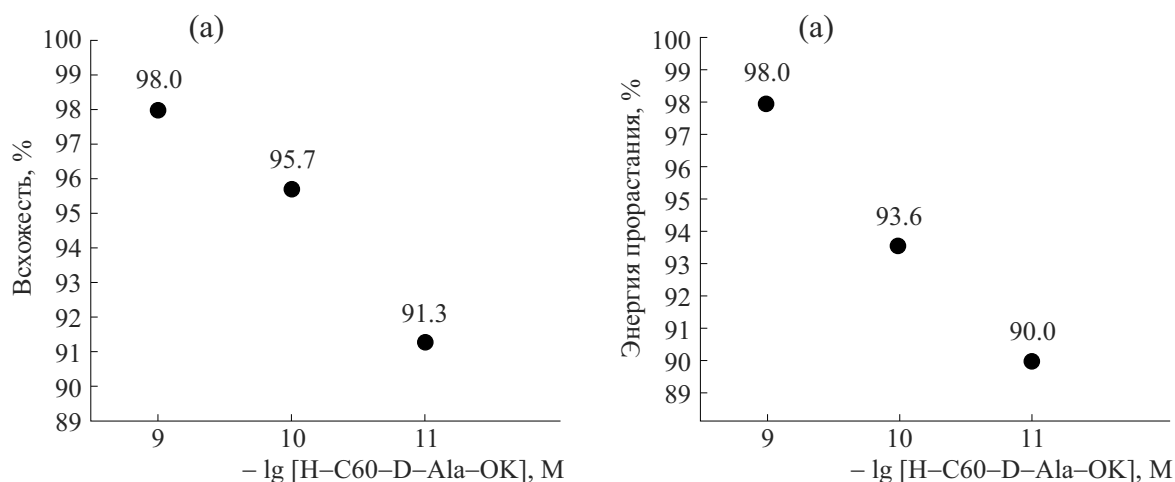


Рис. 3. Диаграмма корреляционной зависимости между величинами относительной антиоксидантной активности и длиной корешка гороха посевного.



**Рис. 4.** Зависимость показателей всхожести (а) и энергии прорастания (б) семян гороха сорта «Фараон» от концентрации N-(моногидрофуллеренил)-D-аланина в растворе для проращивания.

изводного калиевой соли D-аланина, как это видно из диаграммы, представленной на рис. 4, в обоих случаях показал тенденцию к уменьшению показателей упомянутых физиологических параметров при снижении концентрации АПФ.

Важно отметить, что в процессе прорастания семени наблюдается усиление интенсивности клеточного дыхания, для осуществления которого требуется кислород, и при этом происходит образование активных форм кислорода. В литературных источниках имеются данные, указывающие на то, что АФК могут стимулировать рост растения, а также активировать экспрессию эндогенных факторов антиоксидантной защиты, что в конечном итоге приводит к повышению антиоксидантного статуса организма. В клетках животных обнаружена и активно изучается редокс-чувствительная система Nrf2/Keap1/ARE, которая контролирует экспрессию от 1 до 10% генов [11]. Nrf2/ARE-регулируемые гены кодируют ферменты, различные регуляторные и структурные белки, в число которых входят ферменты, контролирующие редокс-статус клетки — обладающие непосредственной антиоксидантной активностью или синтезирующие эндогенные восстановители (в первую очередь, глутатион) [12]. Возможно, подобная система регуляции действует и в растительной клетке. При проращивании семян ячменя, обработанных водным раствором, содержащим нанопузырьки различных газов, которые при схлопывании являются источниками гидроксильного радикала  $OH\cdot$ , наблюдалось усиление экспрессии генов, отвечающих за синтез белков, влияющих на разрыхление клеточной

стенки, включая экспансины, ксилоглюкан эндотрансглюкозилазы/гидразы, пероксидазы и белков переноса липидов, что способствует процессу удлинения проростка [13]. Однако также известно, что накопление АФК в клетках инициирует перекисное окисление липидов и других биомолекул. Изменение и нарушение структуры белков и ДНК приводит, в свою очередь, к нарушению процессов транскрипции и репликации [14, 15]. При недостатке антиоксидантов подобные процессы свободнорадикального окисления приводят к нарушению целостности клетки и ее гибели, что в свою очередь приводит к некрозам тканей листьев, молодых побегов и других органов растений. Было показано, что внесение в качестве удобрения биочара (угля, полученного при сгорании растительного материала в условиях ограниченного доступа кислорода), являющегося источником свободных радикалов, в количестве 0.5 и 1.0 г на чашку Петри диаметром 90 мм оказывает ростостимулирующий эффект (связанный, возможно, с активацией малыми дозами АФК синтеза эндогенных антиоксидантов), однако при повышении количества вносимого удобрения длина корней оказывалась значительно ниже контрольных значений [16]. Подобный эффект наблюдался и при проращивании семян ячменя, обработанных раствором полигидроксифуллерена, в стрессовых условиях. В малых концентрациях (7, 14, 75 мг/л) наблюдался стойкий ростостимулирующий эффект, однако при концентрации 1100 мг/л ростовые характеристики оказывались ниже контрольных. Такой эффект авторы объясняют наличием у полигидроксифул-

лерена прооксидантных свойств в высоких концентрациях, в результате чего в клетках ростовой зоны корня происходит накопление АФК, что, в свою очередь, приводит к образованию окислительных поперечных связей между полимерами клеточной стенки и преждевременной остановке роста [17, 18].

Имеются данные, доказывающие, что активные формы кислорода являются универсальными химическими агентами, посредством которых реализуется неблагоприятное воздействие различных видов стресса (температурный, осмотический, кислотно-основной, избыточное освещение, ультрафиолетовое излучение). Так, в ходе исследования стресс-индуцированной транскрипции генома цианобактерий *Synechocystis sp.* было обнаружено, что большая часть генов, кодирующих различные факторы защиты, экспрессируется не только в ответ на соответствующий неблагоприятный фактор внешней среды, но и в ответ на экзогенное введение пероксида водорода [19]. Это еще раз подтверждает нашу гипотезу, что антиоксидантные свойства исследованных производных фуллерена C<sub>60</sub>, по-видимому, являются ключевым фактором их ростостимулирующего и протекторного воздействия при проращивании семян гороха.

На основании проведенного экспериментального исследования возможно сделать заключение о том, что изученные аминокислотные производные фуллерена C<sub>60</sub> могут представлять интерес в качестве препаратов для обработки семенного материала и/или вегетативных органов растений с целью увеличения урожайности сельскохозяйственных культур, улучшения адаптационных характеристик растений к погодным, климатическим условиям и защиты от стрессовых факторов среды.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена с использованием научного оборудования Центра исследования строения молекул ИНЭОС РАН.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. J. Gao, Y. H. Wang, K. M. Folta, et al., *PloS One* **6** (5), 8 (2011).
2. N. Charbi, M. Pressac, M. Hadchouel, et al., *Biomaterials* **30** (4), 611 (2009).
3. Г. Г. Панова, Е. В. Канаш, К. Н. Семёнов и др., *С.-х. биология* **53** (1), 38 (2018).
4. Q. Liu, Y. Zhao, Y. Wan, et al., *ACS Nano* **4** (10), 5743 (2010). DOI: 10.1021/nn101430g
5. Q. L. Liu, X. J. Zhang, Y. Y. Zhao, et al., *Environ. Sci. Technol.* **47** (13), 7490 (2013)
6. B. Ou, M. Hampsch-Woodill, and R. L. Prior, *J. Agric. Food Chem.* **49** (10), 4619 (2001) DOI: 10.1021/jf010586o
7. P. Stepanek, in *Dynamic Light Scattering. The Method and Some Applications*, Ed. by W. Brown (Clarendon Press, Oxford, 1993), p. 177.
8. S. W. Provencher, *Comput. Phys. Commun.* **27** (3), 229 (1982). DOI: 10.1016/0010-4655(82)90174-6
9. ГОСТ 12038-84, *Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести.*
10. Н. К. Зенков, П. М. Кожин, А. В. Чечушков и др., *Биохимия* **82** (5), 749 (2017).
11. В. О. Ткачев, Е. Б. Меньшикова и Н. К. Зенков, *Биохимия* **76** (4), 502 (2011).
12. A. K. A. Ahmed, X. Shi, L. Hua, et al., *J. Agricult. Food Chem.* **66** (20), 5117 (2018). DOI: 10.1021/acs.jafc.8b00333
13. Ю. А. Владимиров и А. И. Арчаков, *Перекисное окисление липидов в биологических мембранах* (Наука, М., 1972).
14. Е. Б. Бурлакова, А. В. Алесенко, Е. М. Молочкина и др., *Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте* (Наука, М., 1975)
15. S. Liao, B. Pan, H. Li, et al., *Environ. Sci. Technol.* **48** (15), 8581 (2014). DOI: 10.1021/es404250a
16. D. J. Cosgrove, *Plant Cell* **9** (7), 1031 (1997)
17. T. De Cnodder, K. Vissenberg, D. Van Der Straeten, and J.-P. Verbelen, *New Phytol.* **168**, 541 (2005)
18. K. S. Mironov, M. A. Sinetova, M. Shumskaya, and D. A. Los, *Life* **9** (3), 67 2019 DOI: 10.3390/life9030067

## **New Plant Growth Stimulants Based on Water-Soluble Nanoparticles of N-Substituted Monoamino Acid Derivatives of Fullerene C<sub>60</sub> and the Study of Their Mechanisms of Action**

**V.A. Volkov\***, **O.V. Yamskova\*\***, **M.V. Voronkov\***, **D.V. Kurilov\*\*\***, **V.S. Romanova\*\***, **V.M. Misin\***, **I.N. Gagarina\*\*\*\***, **N.E. Pavlovskaya\*\*\*\***, **I.V. Gorkova\*\*\*\***, and **A.V. Lushnikov\*\*\*\***

*\*Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina 4, Moscow, 119334 Russia*

*\*\*Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 28, Moscow, 119991 Russia*

*\*\*\*Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Leninskii prosp. 47, Moscow, 119991 Russia*

*\*\*\*\*Parakhin Orel State Agrarian University, ul. Generala Rodina 69, Orel, 302019 Russia*

Growth-stimulating effects of water-soluble nanoparticles of N-substituted monoamino acid derivatives of fullerene C<sub>60</sub> (L- and D-alanine, L- and D-valine, L- and D-aspartic acid, β-alanine, and γ-aminobutyric and ε-aminocaproic acids in potassium salt form) were investigated. It was found that the nanoparticle size and relative antiradical activity of fullerene derivatives influence physiological factors affecting seed germination, germination energy and root growth capacity of field peas. It was shown that relative antiradical activity of nanoparticles in the selected group of compounds is evaluated by total surface area of nanoparticles regardless of the structure of the amino acid substituent. The possibility of using monoamino acid derivatives as effective growth stimulating substances is demonstrated. A dose-dependent effect of N-(monohydrofullerenyl)-D-alanine potassium salt on seed germination and germination energy of field peas in a concentration range of 10<sup>-9</sup>–10<sup>-11</sup> M is demonstrated.

*Keywords: fullerene, nanoparticles, antioxidants, growth stimulants, field peas*