АКАДЕМИЯ ЕСТЕСТВОЗНАНИЯ
«ACADEMY OF NATURAL HISTORY»

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ЖУРНАЛ ПРИКЛАДНЫХ И ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

INTERNATIONAL JOURNAL OF APPLIED AND FUNDAMENTAL RESEARCH

Журнал основан в 2007 году
The journal is based in 2007
ISSN 1996-3955

Двухлетний импакт-фактор РИНЦ = 0,564

Пятилетний импакт-фактор РИНЦ = 0,312

№ 10 2021

Научный журнал
Scientific journal

Журнал International Journal of Applied and Fundamental Research (Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований) зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Свидетельство ПИ № ФС 77-60735.

Подписной индекс по электронному каталогу «Почта России» – ПИ140

Электронная версия размещается на сайте www.rae.ru

The electronic version takes places on a site www.rae.ru

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР
к.м.н. Н.Ю. Стукова
Ответственный секретарь
к.м.н. М.Н. Бизенкова

EDITOR
Natalia Stukova
Senior Director and Publisher
Maria Bizenkova

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

д.б.н., проф. Абдуллаев А. (Душанбе); к.б.н. Алиева К.Г. (Махачкала); д.х.н., к.ф.-м.н., проф. Алоев В.З. (Чегем-2); д.б.н., проф. Андреева А.В. (Уфа); к.географ.н., доцент Аничкина Н.В. (Липецк); к.ф.-м.н. Барановский Н.В. (Томск); д.б.н., доцент Белых О.А. (Иркутск); д.т.н., проф. Бурмистрова О.Н. (Ухта); д.т.н., доцент Быстров В.А. (Новокузнецк); д.м.н., проф. Гарбуз И.Ф. (Тирасполь); д.ф.-м.н., проф. Геворкян Э.А. (Москва); д.х.н., проф. Гурбанов Г.Р. (Баку); д.ветеринар.н., доцент Ермолина С.А. (Киров); к.т.н. Есенаманова М.С. (Атырау); к.ф.-м.н., д.п.н., проф. Ефремова Н.Ф. (Ростов-на-Дону); д.м.н. Жураковский И.П. (Новосибирск); д.т.н., доцент Ибраев И.К. (Темиртау); к.т.н., доцент Исмаилов З.И. (Баку); д.б.н., с.н.с. Кавцевич Н.Н. (Североморск); д.т.н., проф. Калмыков И.А. (Ставрополь); д.б.н. Кокорева И.И. (Алматы); д.г.-м.н., доцент Копылов И.С. (Пермь); к.б.н., доцент Коротченко И.С. (Красноярск); к.с.-х.н., доцент Кряжева В.Л. (Нижний Новгород); д.ф.-м.н., доцент Кульков В.Г. (Волжский); д.б.н. Ларионов М.В. (Балашов); д.б.н., к.с.-х.н., доцент Леонтьев Д.Ф. (Иркутск); д.географ.н., к.б.н., проф. Луговской А.М. (Москва); д.г.-м.н., с.н.с. Мельников А.И. (Иркутск); д.т.н., проф. Несветаев Г.В. (Ростов-на-Дону); д.с.-х.н. Никитин С.Н. (п. Тимирязевский); д.фарм.н., доцент Олешко О.А. (Пермь); д.с.-х.н., с.н.с., проф. Партоев К. (Душанбе); к.п.н., доцент Попова И.Н. (Москва); д.т.н., проф. Рогачев А.Ф. (Волгоград); д.м.н., с.н.с., доцент Розыходжаева Г.А. (Ташкент); д.г.-м.н. Сакиев К.С. (Бишкек); д.т.н., проф. Сугак Е.В. (Красноярск); д.ветеринар.н., проф. Трефилов Б.Б. (Санкт-Петербург); д.м.н., проф. Чарышкин А.Л. (Ульяновск); д.географ.н., проф. Чодураев Т.М. (Бишкек); д.б.н., проф. Шалпыков К.Т. (Бишкек); к.х.н. Шарифуллина Л.Р. (Москва); д.п.н., проф. Щирин Д.В. (Санкт-Петербург)

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ЖУРНАЛ ПРИКЛАДНЫХ
И ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

INTERNATIONAL JOURNAL OF APPLIED
AND FUNDAMENTAL RESEARCH

Журнал включен в Реферативный журнал и Базы данных ВИНИТИ.
Сведения о журнале ежегодно публикуются в международной справочной системе по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals directory» в целях информирования мировой научной общественности.

Журнал представлен в ведущих библиотеках страны и является рецензируемым.
Журнал представлен в НАУЧНОЙ ЭЛЕКТРОННОЙ БИБЛИОТЕКЕ (НЭБ) – головном исполнителе проекта по созданию Российского индекса научного цитирования (РИНЦ) и имеет импакт-фактор Российского индекса научного цитирования (ИФ РИНЦ).

Двухлетний импакт-фактор РИНЦ = 0,564.
Пятилетний импакт-фактор РИНЦ = 0,312.

Учредитель, издательство и редакция:
ООО НИЦ «Академия Естествознания»

Почтовый адрес: 105037, г. Москва, а/я 47
Адрес редакции и издателя: 410056, г. Саратов, ул. им. Чапаева В.И., д. 56

ISSN 1996-3955

Тел. редакции – 8-(499)-704-13-41
Факс (845-2)-47-76-77

E-mail: edition@rae.ru

Зав. редакцией Т.В. Шнуровозова
Техническое редактирование и верстка Л.М. Байгузова
Корректор Е.С. Галенкина, Н.А. Дудкина

Подписано в печать – 29.10.2021
Дата выхода номера – 30.11.2021

Формат 60x90 1/8
Типография
ООО НИЦ «Академия Естествознания»
410035, Саратовская область, г. Саратов, ул. Мамонтовой, д. 5

Распространение по свободной цене

Усл. печ. л. 16,25
Тираж 500 экз.
Заказ МЖПиФИ 2021/10

© ООО НИЦ «Академия Естествознания»

СОДЕРЖАНИЕ

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

СТАТЬИ

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ТЕЛЛУРСОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Адиева А.А., Климова Р.Р., Абакаров Г.М., Меджидова М.Г., Джамалова С.А., Омарова Д.К., Меджидов М.А. 7

ОСОБЕННОСТИ СЕЗОННОГО РАЗВИТИЯ, СЕМЕННАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ И ПОСЕВНЫЕ КАЧЕСТВА СЕМЯН НЕКОТОРЫХ ВИДОВ СЕМЕЙСТВА CAMPANULACEAE СИБИРСКОЙ ФЛОРЫ

Беляева Т.Н., Бутенкова А.Н., Шмакова Г.А. 12

СООТВЕТСТВИЕ СОСТАВА ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА СТРУКТУРЕ УГОДИЙ НА ПРИМЕРЕ ЮГА ПРЕДСАЛАИРЬЯ

Миллер Г.Ф., Безбородова А.Н., Соловьев С.В. 17

ВОДОРАСТВОРИМОЕ ПРОИЗВОДНОЕ ФУЛЛЕРЕНА C_{70} РЕГУЛИРУЕТ ТРАНСКРИПЦИЮ САТЕЛЛИТА III В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ФИБРОБЛАСТАХ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА

Савинова Е.А., Каменева Л.В., Ершова Е.С., Умрюхин П.Е., Родионов И.В., Артюшин А.А., Краевая О.А., Трошин П.А., Вейко Н.Н., Костюк С.В. 22

ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ КЛЕТКИ И АКТИВНОСТЬ НЕОРГАНИЧЕСКИХ ИОНОВ

Смолянинов В.В., Потапова Т.В., Мякишева С.Н., Асланиди К.Б. 27

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ МАКРОФАГОВ: ПРИМЕНЕНИЕ СТИМУЛИРОВАННОЙ КИНЕТИЧЕСКОЙ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ

Созарукова М.М., Проскурнина Е.В. 31

ФИТОХИМИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РАСТЕНИЙ КЫРГЫЗСТАНА РОДА HEDYSARUM

Умралина А.Р., Конурбаева Р.У. 36

ВЛИЯНИЕ БЕРБЕРИНА НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ФЕНОТИП КЛЕТОК ЛИНИЙ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Филиппова С.Ю., Тимофеева С.В., Ситковская А.О., Межевова И.В., Енин Я.С., Буров О.Н., Позднякова В.В., Хохлова О.В., Мезенцев С.С., Пандова О.В. 42

ОБЗОРЫ

РОЛЬ СИСТЕМЫ МИОСАТЕЛЛИТОВ В ПРОЦЕССАХ МЫШЕЧНОЙ РЕПАРАЦИИ

Дремина Н.Н., Трухан И.С., Шурыгина И.А. 47

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ

СТАТЬИ

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОЦИАЛЬНОЙ АДАПТАЦИИ У ШКОЛЬНИКОВ ГОРОДА БИШКЕКА

Бабаджанов Н.Н., Чернышева Е.А., Сасаза К.Р., Ясынова А.М., Жусупбекова А.Ж. 55

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕДЛЕННЫХ ПРЕДДВИГАТЕЛЬНЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА (МОДИФИКАЦИЯ МЕТОДИКИ РЕГИСТРАЦИИ ПОТЕНЦИАЛА ГОТОВНОСТИ)

Трошина Е.М., Сазонова О.Б., Кроткова О.А., Шарова Е.В., Каверина М.Ю., Суханова А.В. 61

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

СЛУЧАЙ ТЯЖЕЛОГО ПОСТКОВИДНОГО СИНДРОМА

Ибраева Ж.Б., Айткулуев Н.С., Эргешова А.Б., Суранбаева Г.С., Мурзакулова А.Б., Анарбаева А.А., Алишерова А.Ш. 67

ТЕХНИЧЕСКИЕ НАУКИ

СТАТЬИ

ОБЗОР ЗАПАТЕНТОВАННЫХ СПОСОБОВ СКВАЖИННОГО, ПОДЗЕМНОГО БИОВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ СУЛЬФИДНЫХ РУД

Иодис В.А. 72

ОПРЕДЕЛЕНИЕ И СОПОСТАВЛЕНИЕ СОСТАВА ГАЗОФАЗНЫХ ПРОДУКТОВ, ОБРАЗУЮЩИХСЯ В ПРОЦЕССЕ СЖИГАНИЯ БУРОГО УГЛЯ И ЛИГНИНА

Калтаев А.Ж., Ларионов К.Б., Янковский С.А., Березиков Н.И., Горшков А.С. 79

ПРАКТИЧЕСКАЯ РЕАЛИЗАЦИЯ ТЕРМОХИМИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ПОВЕРХНОСТНОГО КАРБИДНОГО УПРОЧНЕНИЯ МЕТАЛЛООБРАБАТЫВАЮЩИХ ИНСТРУМЕНТОВ

Шматов А.А. 84

АВТОМАТИЗАЦИЯ ПОСТРОЕНИЯ МИНИМАЛЬНЫХ ВЫПУКЛЫХ ОБОЛОЧЕК НА ПЛОСКОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА QUICKHULL

Юрик Е.А., Ильичев В.Ю. 90

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

СТАТЬИ

АНАЛИЗ КОНЪЮНКТУРЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА АНТИГИСТАМИННЫХ ПРЕПАРАТОВ В КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ

Эсеналиева А.О., Исмаилов И.З., Сабирова Т.С., Мурзабаева Э.Б. 95

ФИЗИКО-МАТЕМАТИЧЕСКИЕ НАУКИ

СТАТЬИ

КИНЕТИЧЕСКАЯ ПРИРОДА МАГНИТНЫХ ЛИНИЙ

Карякин А.А., Карякин А.В., Карякина И.В. 100

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

СТАТЬИ

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОРМ НАХОЖДЕНИЯ МЕТАЛЛОВ В ПРОДУКТАХ КОМПЛЕКСНОЙ ХЛОРИДНОЙ ТЕХНОЛОГИИ ПЕРЕРАБОТКИ ЗОЛЫ

Досмухамедов Н.К., Каплан В.А., Жолдасбай Е.Е., Даруеш Г.С. 106

НАУЧНЫЕ И ТЕХНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ТЕХНОЛОГИЙ ПРОИЗВОДСТВА БЕЛКОВО-УГЛЕВОДНОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ

Мотовилов К.Я., Волончук С.К., Науменко И.В., Резепин А.И. 114

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ПРОБОПОДГОТОВКИ НЕФТИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХЛОРИД-ИОНОВ МЕТОДОМ ИОННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Полосухина М.А., Калякина О.П., Качин С.В. 120

ЦЕЛЕНАПРАВЛЕННЫЙ СИНТЕЗ, КОМПЬЮТЕРНЫЙ ПРОГНОЗ И РЕЗУЛЬТАТЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО СКРИНИНГА ПРОИЗВОДНЫХ ГАММА-ПИПЕРИДОНОВ

Сарымзакова Р.К., Ибрагимова А.А., Сарымзакова Б.К., Хаперская Л.С., Медетбекова Ж.М. 125

CONTENTS

BIOLOGICAL SCIENCES

ARTICLES

BIOLOGICAL PROPERTIES OF TELLURIUM-CONTAINING HETEROCYCLIC COMPOUNDS
Adieva A.A., Klimova R.R., Abakarov G.M., Medzhidova M.G., Dzhamalova S.A., Omarova D.K., Medzhidov M.A. 7

PECULIARITIES OF SEASONAL DEVELOPMENT, SEED PRODUCTIVITY AND SEEDS SOWING QUALITIES OF SIBERIAN FLORA SOME SPECIES OF THE CAMPANULACEAE
Belyaeva T.N., Butenkova A.N., Shmakova G.A. 12

CORRESPONDENCE OF THE COMPOSITION OF THE SOIL COVER TO THE STRUCTURE OF THE LANDS ON THE EXAMPLE OF THE SOUTH OF THE PREDSALAIR REGION
Miller G.F., Bezborodova A.N., Solovev S.V. 17

THE WATER-SOLUBLE DERIVATIVE OF FULLERENE C70 REGULATES THE TRANSCRIPTION OF SATELLITE III IN CULTUREDHUMAN SKIN FIBROBLASTS
Savinova E.A., Kameneva L.V., Ershova E.S., Umryukhin P.E., Rodionov I.V., Artyushin A.A., Kraevaya O.A., Troshin P.A., Veyko N.N., Kostyuk S.V. 22

LIFE CYCLE OF THE CELL AND THE ACTIVITY OF INORGANIC IONS
Smolyaninov V.V., Potapova T.V., Myakisheva S.N., Aslanidi K.B. 27

FUNCTIONAL ACTIVITY OF CULTURED MACROPHAGES: APPLICATION OF STIMULATED KINETIC CHEMILUMINESCENCE
Sozarukova M.M., Proskurnina E.V. 31

PHYTOCHEMICAL AND BIOLOGICAL STUDIES OF PLANTS OF KYRGYZSTAN INGENUS HEDYSARUM
Umralina A.R., Konurbaeva R.U. 36

INFLUENCE OF BERBERINE ON ENERGY PHENOTYPE OF BREAST CANCER CELL CULTURES
Filippova S.Yu., Timofeeva S.V., Sitkovskaya A.O., Mezhevova I.V., Enin Ya.S., Pozdnyakova V.V., Khokhlova O.V., Mezentsev S.S., Pandova O.V. 42

REVIEWS

THE ROLE OF THE MYOSATELLITE SYSTEM IN THE PROCESSES OF MUSCLE REPAIR
Dremina N.N., Trukhan I.S., Shurygina I.A. 47

MEDICAL SCIENCES

ARTICLES

COMPARATIVE ASSESSMENT OF SOCIAL ADAPTATION AT PUPILS FROM BISHKEK CITY
Babadzhanov N.N., Chernysheva E.A., Sasaza K.R., Yasynova A.M., Zhusupbekova A.Zh. 55

STUDY OF SLOW PRELIMINARY POTENTIALS OF THE HUMAN BRAIN (MODIFICATION OF THE METHODOLOGY THE READINESS POTENTIAL)
Troshina E.M., Sazonova O.B., Krotkova O.A., Sharova E.V., Kaverina M.Yu., Sukhanova A.V. 61

CLINICAL CASE

THE CASE OF POST-COVID SYNDROME
Ibraeva J.B., Aitkuluev N.S., Erheshova A.B., Suranbaeva G.S., Murzakulova A.B., Anarbaeva A.A., Alisherova A.Sh. 67

TECHNICAL SCIENCES

ARTICLES

OVERVIEW OF PATENTED METHODS FOR WELL, UNDERGROUND BIOLOGICAL LEACHING OF SULFIDE ORE
Iodis V.A. 72

DETERMINATION AND COMPARISON OF GAS-PHASE PRODUCTS COMPOSITION FORMED IN THE PROCESS OF LIGNITE AND LIGNIN COMBUSTION
Kaltaev A.Zh., Larionov K.B., Yankovskiy S.A., Berezikov N.I., Gorshkov A.S. 79

PRACTICAL REALIZATION OF THERMOCHEMICAL TECHNOLOGY FOR SURFACE CARBIDE STRENGTHENING METALWORKING TOOLS
Shmatov A.A. 84

AUTOMATING THE CONSTRUCTION OF MINIMAL CONVEX HULLS ON THE PLANE USING QUICKHULL
Yurik E.A., Ilichev V.Yu. 90

PHARMACEUTICAL SCIENCES

ARTICLES

ANALYSIS OF THE SITUATION ON THE PHARMACEUTICAL MARKET OF ANTIHISTAMINE PREPARATIONS IN THE KYRGYZ REPUBLIC
Esenalieva A.O., Ismailov I.Z., Sabirova T.S., Murzabaeva E.B. 95

PHYSICAL AND MATHEMATICAL SCIENCES

ARTICLES

KINETIC NATURE OF MAGNETIC FLOWS
Karyakin A.A., Karyakin A.V., Karyakina I.V. 100

CHEMICAL SCIENCES

ARTICLES

RESEARCH OF THE FORMS OF METALS IN THE PRODUCTS OF THE COMPLEX CHLORIDE TECHNOLOGY OF ASH PROCESSING
Dosmukhamedov N.K., Kaplan V.A., Zholdasbay E.E., Daruesh G.S. 106

SCIENTIFIC AND TECHNICAL ASPECTS OF PRODUCTION TECHNOLOGIES OF PROTEIN-CARBOHYDRATE FEED ADDITIVES
Motovilov K.Ya., Volonchuk S.K., Naumenko I.V., Rezepin A.I. 114

OPTIMIZATION OF OIL SAMPLE PREPARATION CONDITIONS FOR DETERMINATION OF CHLORIDE IONS BY ION CHROMATOGRAPHY METHOD
Polosukhina M.A., Kalyakina O.P., Kachin S.V. 120

TARGETED SYNTHESIS, COMPUTER PREDICTION AND RESULTS OF BIOLOGICAL SCREENING OF GAMMA-PIPERIDONE DERIVATIVES
Sarymzakova R.K., Ibragimova A.A., Sarymzakova B.K., Khaperskaya L.S., Medetbekova Zh.M. 125

СТАТЬИ

УДК 577.3

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ТЕЛЛУРСОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

[1, 4]Адиева А.А., [2]Климова Р.Р., [3]Абакаров Г.М., [4]Меджидова М.Г., [4]Джамалова С.А., [1]Омарова Д.К., [4]Меджидов М.А.

[1]Прикаспийский институт биологических ресурсов – обособленное подразделение ФГБУН Дагестанского федерального исследовательского центра РАН, Махачкала, e-mail: adieva-m@mail.ru;

[2]Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва;

[3]ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный технический университет», Махачкала;

[4]ГАОУ ВО «Дагестанский государственный университет народного хозяйства», Махачкала

Впервые были изучены биологические свойства гетероциклических производных теллура. Проведен сравнительный анализ цитотоксических и противовирусных свойств синтезированных производных теллура в модельных клеточных системах инфекций, вызванных вирусом простого герпеса и цитомегаловирусом. При изучении 4 теллурорганических соединений с использованием первичных и перевиваемых культур клеток в различных схемах заражения для каждой изученной биологической модели были выявлены различные пороги концентрации цитотоксичности. Цитотоксические эффекты 24- (острая цитотоксичность – $ОЦД_{50}$) и 72-часового (хроническая цитотоксичность – $ЦД_{50}$) лечения теллурсодержащими веществами показали, что концентрации веществ $ЦД_{50}$ и $ОЦД_{50}$ для трансформированных клеток значительно ниже, чем для первичных клеток человека. Параллельно проведенное исследование токсичности данных соединений на крысах не выявило острой цитотоксичности в тех концентрациях, которые были введены животным. Дальнейшее исследование хронической цитотоксичности *in vivo* (эритроциты и клетки печени) показало, что она не обусловлена неспецифическим повреждением клеточных мембран, так как гемолитический потенциал в эритроцитах наблюдался при значительно более высокой концентрации. Показано, что производные теллура с метоксифенил- и этоксифенилэтеном проявляют вируснейтрализующую активность, предотвращая проникновение вирионов вируса простого герпеса в чувствительные клетки.

Ключевые слова: герпесвирусы, культура клеток, производные теллура, противовирусная активность

BIOLOGICAL PROPERTIES OF TELLURIUM-CONTAINING HETEROCYCLIC COMPOUNDS

[1, 4]Adieva A.A., [2]Klimova R.R., [3]Abakarov G.M., [4]Medzhidova M.G., [4]Dzhamalova S.A., [1]Omarova D.K., [4]Medzhidov M.A.

[1]Precaspian Institute of Biological Resources of the Daghestan Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Makhachkala, e-mail: adieva-m@mail.ru;

[2]Ivanovsky Institute of Virology, N.F. Gamaleya National Research Centre of Epidemiology and Microbiology, The Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow;

[3]Daghestan State Technical University, Makhachkala;

[4]Daghestan State University of National Economy, Makhachkala

The biological properties of heterocyclic tellurium derivatives were studied for the first time. A comparative analysis of the cytotoxic and antiviral properties of synthesized tellurium derivatives in model cell systems of infections caused by the herpes simplex virus and cytomegalovirus was carried out. When studying 4 organotelluric compounds using primary and transferable cell cultures in different infection schemes, different thresholds of cytotoxicity concentration were revealed for each studied biological model. The cytotoxic effects of 24 – hour (acute cytotoxicity-CD50) and 72 – hour (chronic cytotoxicity-CD50) treatment of telluric substances showed that the concentrations of CD50 and CD50 substances for transformed cells are significantly lower than for primary human cells. A parallel study of the toxicity of these compounds in rats did not reveal acute cytotoxicity in the concentrations that were administered to animals. Further investigation of chronic cytotoxicity in vivo (red blood cells and liver cells) showed that it was not caused by non-specific damage to cell membranes, since the hemolytic potential in red blood cells was observed at a significantly higher concentration. It has been shown that tellurium derivatives with methoxyphenyl and ethoxyphenyl ethene exhibit virus neutralizing activity, preventing the penetration of herpes simplex virus virions into sensitive cells.

Keywords: herpesviruses, cell culture, tellurium derivatives, antiviral activity

Герпесвирусные инфекции (ГВИ) – широко распространенные патогены в человеческой популяции. По оценкам ВОЗ, в мире вирусом ВПГ1 инфицированы около 3700 млн чел. в возрасте до 50 лет (67% населения) и примерно 417 млн чел. (11%) – ВПГ2. Распространенность ЦМВ-инфекции различается в разных регионах мира и варьирует от 45% до 100% [1, 2]. Среди населения России ежегодно регистрируются

около 20 млн новых случаев герпесвирусной инфекции. Первичная инфекция и реактивация герпесвирусов человека вызывают серьезные заболевания, в том числе с летальным исходом. Особенно опасны ГВИ на фоне снижения иммунитета [3–5]. Все вышеизложенное позволяет считать ГВИ, в том числе ВПГ и ЦМВ этиологии, важной медико-социальной проблемой современного здравоохранения.

Основные методы медикаментозного лечения ГВИ направлены на подавление репродукции герпесвирусов в инфицированном организме. Известные специфические противовирусные препараты (ацикловир, ганцикловир и их аналоги), используемые для лечения ГВИ, имеют ряд недостатков. К наиболее существенным можно отнести токсичность и резистентность вирусов, которая развивается при длительном применении и при рекуррентных заболеваниях [6, 7]. В связи с этим актуальной задачей является поиск новых соединений, перспективных для разработки препаратов против герпесвирусных инфекций человека, различающихся механизмами действия и подавляющих ВПГ 1/2 и ЦМВ как дикого типа, так и мутантные лекарственно-устойчивые штаммы.

В последнее время интерес исследователей привлекают соединения теллура. В прошлом считавшиеся высокотоксичными соединениями, которые не представлены в живых организмах, в настоящее время соединения теллура привлекают пристальное внимание в связи с обнаружением белков, содержащих теллурметионин и теллурцистеин в клетках про- и эукариот, а также с широким использованием соединений теллура для получения наночастичных полупроводников, инсектицидов, магнитных дисков, ферментных электродов, используемых в диагностике различных заболеваний. Накопление теллурсодержащих соединений в окружающей среде и их высокая реакционность требует изучения токсических свойств данного класса соединений с параллельным изучением их биологической активности. В настоящее время синтезированы соединения теллура, обладающие различной биологической активностью [8, 9], однако противовирусные свойства химических производных теллура практически не изучены. На кафедре химии ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный технический университет» синтезирован ряд новых теллурсодержащих соединений и показано, что при введении некоторых из них лабораторным животным наблюдается усиление интенсивности свободнорадикальных процессов в периферической крови и в печени. Представляло интерес выяснить, окажут ли влияние вновь синтезированные соединения на развитие герпесвирусных инфекций в клетках животных и человека.

Цель настоящей работы состояла в изучении цитотоксического эффекта четырех производных теллура в культуре первичных и перевиваемых клеток, а также противовирусных свойств в отношении инфекций, вызванных ВПГ1 и ЦМВ.

Материалы и методы исследования

Культура клеток. В работе использовали перевиваемую линию эпителиальных клеток почек зеленой мартышки – Vero и первичную культуру диплоидных фибробластов эмбрионов человека – ФЭЧ, полученные из коллекции клеточных культур при ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ России. Культуры были свободными от присутствия бактериальной или грибковой флоры. Клетки культивировали в среде Игла МЕМ (Vero) и Игла ДМЕМ (ФЭЧ) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки.

Вирусы. Референс-штаммы ВПГ и ЦМВ были получены из коллекции вирусов при ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ России. Титр вируса, выраженный в количестве бляшкообразующих единиц в 1 мл – БОЕ/мл, определяли после заражения чувствительной культуры методом подсчета бляшек через 3–6 суток.

Вещества. Изучены противовирусные свойства следующих теллурсодержащих органических веществ:

1) [3-метилбензотеллуразол-2] [4-диметиламинобензо] триметинцианйодид (вещество 1),

2) [3-метилбензотеллуразол-2] [1-метилхинолин-2] триметинцианйодид (вещество 2),

3) [2-бензотеллуразолил–2] [4-метоксифенил] этен (вещество 3),

4) [2-бензотеллуразолил–2] [4-этоксифенил] этен (вещество 4).

Строение синтезированных соединений доказано данными элементного анализа и данными ЯМР-исследований. При исследовании биологической активности синтезированных теллурсодержащих гетероциклов ставилась задача возможного изучения влияния различных радикалов, содержащихся как в ароматическом кольце, так и в гетерокольце. При изучении противовирусных свойств исследуемых соединений в качестве положительного контроля использовали сертифицированные препараты, включенные в протоколы лечения инфекций, использованных в данной работе в качестве модельных ГВИ – ВПГ 1 – ацикловир, ЦМВ – ганцикловир. АЦВ, Зовиракс – «ГлаксоСмитКляйн Вэллком»,

Великобритания; ГЦВ, Цимевен – «Хоффман-ЛяРош», Швейцария.

Определение цитотоксичности. Цитотоксичность теллурсодержащих гетероциклов определяли по влиянию на жизнедеятельность клеток Vero и ФЭЧ, которую оценивали методом исключения витального красителя трипанового синего и методом МТТ. Острую цитотоксичность ($ОЦД_{50}$), вызывающую гибель 50% клеток, определяли через 24 ч после внесения различных концентраций гетероциклических соединений теллура. Хроническую токсичность ($ЦД_{50}$) оценивали через 72 ч после внесения соединений. Значения 50% цитотоксической дозы (концентрация, вызывающая гибель 50% клеток в монослое) рассчитывали методом линейной регрессии с использованием пакета документов Microsoft Excel.

Противовирусную активность соединений определяли с использованием четырех схем воздействия: профилактическая, которая моделирует профилактическое воздействие – первая схема; микробицидная, моделирует экстренное профилактическое воздействие – вторая схема; лечебная, моделирует терапевтическое действие – третья схема; вирулицидная, характеризует способность соединений нейтрализовать вирус и/или инфекционную активность вируса – четвертая схема. Значения 50% ингибирующей дозы гетероциклических соединений теллура, исследованных в данной работе, рассчитывали методом линейной регрессии. Учитывали степень подавления бляшкообразования на 50% по отношению к контролю. Химиотерапевтический индекс (ХТИ) рассчитывали как отношение 50% цитотоксической дозы к 50% ингибирующей дозы.

Результаты исследования и их обсуждение

Цитотоксичность соединений. При определении хронической цитотоксичности соединения использовались в различных концентрациях (от 0,1 мкг/мл до 500 мкг/мл). Значения $ЦД_{50}$ для культуры клеток Vero значительно различались и составили от 0,7 мкг/мл до 160 мкг/мл. Цитотоксичность для клеток ФЭЧ ($ЦД_{50}$), также варьировала, от 5,9 мкг/мл до 316,0 мкг/мл.

Поскольку вещества проявили выраженный антипролиферативный эффект, для сравнения приведены данные по цитотоксическому действию доксорубицина, антрациклинового антибиотика, широко используемого для лечения рака молочной железы и гематологических злокачественных новообразований. Данные представлены в таблице.

Цитотоксическое действие 24- и 72-часового лечения теллурсодержащими органическими веществами различных клеточных линий

Вещества	Культура клеток					
	ФЭЧ		Vero		Эритроциты	Клетки печени
	$ЦД_{50}$, мкг/мл	$ОЦД_{50}$, мкг/мл	$ЦД_{50}$, мкг/мл	$ОЦД_{50}$, кг/мл		
Вещество 1	146,8	147,8	3,5	6,5	> 100 мг/мл	> 100 мг/мл
Вещество 2	5,9	7,3	0,7	0,9	> 100 мг/мл	> 100 мг/мл
Вещество 3	306,3	577,2	160	180	> 300 мг/мл	> 100 мг/мл
Вещество 4	316,0	433,6	153	157	> 300 мг/мл	> 100 мг/мл
Доксорубицин	0,19	0,24	0,02	0,03	н/и	н/и

Статистический анализ показал, что значение $ЦД_{50}$ для соединений 3 и 4 значительно больше по сравнению с таковым для соединений 1 и 2 в отношении культуры клеток Vero и ФЭЧ ($P < 0,001$), что свидетельствует о более низкой цитотоксичности данных соединений.

Для определения острой цитотоксичности в отношении клеток ФЭЧ и Vero теллурсодержащие органические соединения использовали в более высоких концентрациях (от 1 мкг/мл до 1 мг/мл). Значения $ОЦД_{50}$, которые были определены через 24 ч после внесения исследуемых веществ для клеток Vero варьировали от 0,9 мкг/мл до 180 мкг/мл, для диплоидных фибробластов человека от 7,3 мкг/мл до 577,2 мкг/мл. В данной схеме обработки также вещества 3 и 4 показали меньшую цитотоксичность в отношении обеих культур клеток ($P < 0,005$).

Определение токсического действия соединений в отношении ФЭЧ и Vero показало, что наибольшим токсическим действием обладает соединение 2-[3-метилбензотеллуразол-2] (1-метилхинолин-2] триметилцианйодид. Для этого соединения были зафиксированы крайне низкие нетоксичные концентрации. Так, $ОЦД_{50}$ и $ЦД_{50}$ в первичной культуре составили 7,3 мкг/мл и 5,9 мкг/мл,

а для перевиваемой культуры – 0,9 мкг/мл и 0,7 мкг/мл. Соединение 1-[3-метилбензотеллуразол-2] [4-диметиламинобензо] триметилцианйодид вызывало 50% гибель клеток ФЭЧ на третьи сутки в концентрации 146,8 мкг/мл, для клеток Vero $ЦД_{50}$ составил 3,5 мкг/мл. Если сравнить данные по $ЦД_{50}$ для ФЭЧ, то этот показатель сходен с аналогичными данными для ганцикловира, эталонного препарата при лечении ЦМВИ. Надо отметить, что концентрации соединений 1 и 2, вызывающие гибель 50% клеток первичной и перевиваемой культур при острой и хронической цитотоксичности практически не отличались.

Наименьшее цитотоксическое действие проявляли соединения 3 и 4-(2-бензотеллуразолил)-2-(4-метоксифенил) этен и (2-бензотеллуразолил)-2-(4-этоксифенил) этен. Так, $ОЦД_{50}$ для веществ 3 и 4 в культуре клеток Vero были равны 180 мкг/мл и 157 мкг/мл, $ЦД_{50}$ – 160 мкг/мл и 153 мкг/мл соответственно. Для фибробластов человека $ОЦД_{50}$ превышали 400 мкг/мл и составили для 2-бензотеллуразолил-2-(4-метоксифенил) этена (вещество 3) – 577,2 мкг/мл и 433,6 мкг/мл для 2-бензотеллуразолил-2-(4-этоксифенил) этена (вещество 4). Токсическая доза через 72 ч обработки ($ЦД_{50}$) составила более 300 мкг/мл для обоих соединений (таблица).

Цитотоксические эффекты 24- и 72-часового лечения теллурсодержащих веществ, изученные на двух линиях клеток *in vitro* (первичные ФЭЧ – диплоидные фибробласты человека и перевиваемые Vero – клетки почек зеленой мартышки), показали, что они сравниваются с таковыми для доксорубицина. Концентрации веществ $ЦД_{50}$ и $ОЦД_{50}$ для трансформированных клеток значительно ниже, чем для первичных клеток человека. Параллельно проведенное исследование токсичности данных соединений на крысах не выявило острой цитотоксичности в тех концентрациях, которые были введены животным. Дальнейшее исследование хронической цитотоксичности *in vivo* (эритроциты и клетки печени) показало, что она не обусловлена неспецифическим повреждением клеточных мембран, так как гемолитический потенциал в эритроцитах наблюдался при значительно более высокой концентрации.

Исследование противовирусных свойств соединений in vitro

Противовирусную активность синтезированных производных теллура в отношении ВПГ-инфекции изучали путем внесения различных концентраций веществ (от 0,1 мкг/мл до 10 мкг/мл) в четырех схемах воздействия, описанных в разделе «Материалы и методы исследования». Анализ значений ИД50 и ХТИ для каждого соединения показал, что два из них [2-бензотеллуразолил-2] [4-метоксифенил] этен (вещество 3) и [2-бензотеллуразолил-2] [4-этоксифенил] этен (вещество 4) проявили активность в вирулицидной схеме воздействия со значением ХТИ, равным 84 и 77. Для двух других соединений (вещества 1 и 2) значения ХТИ оказались низкими в связи с высокой цитотоксичностью, проявленной в отношении клеток Vero. Определение противовирусных свойств соединений *in vitro* в отношении ЦМВ-инфекции во всех изученных схемах не дало положительного эффекта.

В последние годы возрастает интерес к органическим соединениям теллура и их рассматривают как перспективное направление, так как показано присутствие теллура в биологических жидкостях [10] и были идентифицированы белки в организмах бактерий, дрожжей и грибов, имеющие в своем составе теллурометионин и теллуроцистеин [11]. В настоящее время имеются данные об их антиоксидантных, антипролиферативных, противовоспалительных и иммуномодулирующих свойствах [12].

Изучение цитотоксичности четырех производных теллура показало, что в больших концентрациях все соединения проявляют выраженную цитотоксичность, однако биологический эффект зависит от радикала, присоединенного к теллуру. Цитотоксическая доза изученных веществ была на два порядка ниже, чем для известного противоопухолевого препарата доксорубицин (от 0,7 до 160 мкг/мл против 0,02 мкг/мл), в первичных клетках ФЭЧ эта концентрация была еще ниже (5,9–316 мкг/мл). Существенным является то, что гемолитический потенциал эритроцитов наблюдался при очень высоких концентрациях (100–300 мг/мл), поэтому цитотоксичность изученных веществ нельзя отнести к неспецифическому повреждению клеточных мембран. Природа цитотоксического эффекта теллурорганических соединений требует дальнейшего детального изучения также в связи с исследованиями последних лет [11, 12], показывающими различные механизмы индукции клеточной гибели при различных концентрациях другого гетероциклического соединения – дифенил дителлурида.

Изучение противовирусной активности исследуемых веществ в стандартной лечебной схеме против ВПГ и ЦМВ не обладало терапевтической эффективностью, однако в отношении ВПГ-инфекции были получены интересные результаты относительно вируснейтрализующей активности

соединений. Все изученные соединения обладали вируснейтрализующей активностью, но только включение в структуру метокси- и этоксигрупп позволило повысить порог токсичности для клеток и рассчитать химиотерапевтический индекс для веществ 3 и 4, который делает их перспективными соединениями для разработки комбинированных препаратов при лечении вирусных заболеваний, вызванных ВПГ.

Список литературы

1. Looker K.J., Johnston C., Welton N.J., James C., Vickerman P., Turner K.M-E., Boily M.C., Gottlieb S.L. The global and regional burden of genital ulcer disease due to herpes simplex virus: a natural history modelling study. British Medical Journal Global Health. 2020. V. 5. P. e001875. DOI: 10.1136/bmjgh-2019-001875.

2. Lichtner M., Cicconi P., Vita S., Cozzi-Lepri A., Galli M., Lo Caputo S., Saracino A., De Luca A., Moioli M., Maggiolo F., Marchetti G., Vullo V., d'Arminio Monforte A., ICONA Foundation Study. Cytomegalovirus coinfection is associated with an increased risk of severe non-AIDS-defining events in a large cohort of HIV-infected patients. The Journal of Infectious Diseases. 2015. V. 211, no. 2. P. 178–86. DOI: 10.1093/infdis/jiu417.

3. Roizman B., Whitley R.J. An Inquiry into the Molecular Basis of HSV Latency and Reactivation. Annual Review of Microbiology. 2013. V. 67. P. 355–374. DOI: 10.1146/annurev-micro-092412-155654.

4. Адиева А.А. Герпесвирусные инфекции и перинатальная патология // Российский педиатрический журнал. 2010. № 1. С. 39–44.

5. Slyker J.A., Guthrie B., Pankau M., Tapia K., Wamalwa D. Benki-Nugent S., E. Ngugi, M. Huang, I. Njuguna, A. Langat, G. John-Stewart, D. Lehman. Cytomegalovirus and Epstein-Barr virus viremia are associated with HIV DNA levels in the reservoir of Kenyan infants on antiretroviral therapy. The Journal of Infectious Diseases. 2020. P. 640. DOI: 10.1093/infdis/jiaa640.

6. Koch M.S., Lawler S.E., Chiocca E.A. HSV-1 Oncolytic Viruses from Bench to Bedside: An Overview of Current Clinical Trials. Cancers. 2020. V. 12(12). P. 3514. DOI: 10.3390/ cancers12123514.

7. Климова Р.Р., Малиновская В.В., Гусева Т.С., Паршина О.В., Гетия Е.Г., Дегтярева М.В., Солдатова И.Г., Володин Н.Н., Гаджиева З.С., Цибизов А.С., Кущ А.А. Влияние герпесвирусных инфекций на уровень провоспалительных цитокинов у недоношенных новорожденных детей // Вопросы вирусологии. 2011. № 4. С. 23–26.

8. Zinser E., Krawczyk A., Stich L. Mühl-Zürbes P., Aufderhorst U., Draßner C., Stich L., Zaja M., Strobl S., Steinkasserer A., Silke Heilingloh C.. A new Promising Candidate to Overcome Drug Resistant Herpes Simplex Virus Infections. Antiviral Research. 2018. V. 149. P. 202–210. DOI: 10.1016/j.antiviral.2017.11.012.

9. Pilar Vázquez-Tato M., Mena-Menéndez A., Xesús Feás, Seijas J.A. Novel microwave-assisted synthesis of the immunomodulator organotellurium compound ammonium trichloro(dioxoethylene-O,O')tellurate (AS101). International Journal of Molecular Sciences. 2014. V. 15(2). P. 3287–3298. DOI: 10.3390/ijms15023287.

10. Chasteen T.G., Fuentes D.E., Tantaleán J.C., Vásquez C.C. Tellurite: history, oxidative stress, and molecular mechanisms of resistance. FEMS Microbiology Reviews. 2009. V. 33(4). P. 820–832. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2009.00177.x.

11. Kim Y.J., Lee D.H., Choi Y.S., Jeong J.H., Kwon S.H. Benzo[b]tellurophenes as a Potential Histone H3 Lysine 9 Demethylase (KDM4) Inhibitor. International Journal of. Molecular Sciences. 2019. V. 20(23). P. 5908. DOI: 10.3390/ijms20235908.

12. Trindade C., Juchem A., Guecheva T.N., de Oliveira I.M., Dos Santos Silveira P. et.al. Diphenyl Ditelluride: Redox-Modulating and Antiproliferative Properties. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2019. P. 2510936. DOI: 10.1155/2019/2510936.

УДК 581.6

ОСОБЕННОСТИ СЕЗОННОГО РАЗВИТИЯ, СЕМЕННАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ И ПОСЕВНЫЕ КАЧЕСТВА СЕМЯН НЕКОТОРЫХ ВИДОВ СЕМЕЙСТВА CAMPANULACEAE СИБИРСКОЙ ФЛОРЫ

Беляева Т.Н., Бутенкова А.Н., Шмакова Г.А.

Национальный исследовательский Томский государственный университет, Сибирский ботанический сад, Томск, e-mail: sbg-flowers@yandex.ru

В статье представлены результаты исследования сезонного развития, семенной продуктивности и особенностей прорастания семян пяти видов семейства Campanulaceae сибирской флоры. По характеру фенологического развития два вида (*Campanula latifolia*, *Platycodon grandiflorus*) отнесены к весенне-летнезеленому феноритмотипу и три вида (*Campanula glomerata, C. punctata*, *C. trachelium*) – к весенне-летне-осеннезеленому. Период цветения составляет 18–25 дней у *C. latifolia*, у остальных видов – 30–45 дней. Наиболее быстро семена созревают у *C. latifolia.* Реальная семенная продуктивность исследованных видов высокая (в среднем от 6840,3 до 33026,6 семян на растение), что обусловлено биологическими особенностями видов: высокой фертильностью пыльцевых зерен, большим количеством цветков в соцветии и семян в коробочках, высоким процентом плодообразования. Семена большинства исследованных видов обладают физиологическим покоем различной степени глубины. Наиболее высокая всхожесть семян среди изученных видов семейства обнаружена у *C. glomerata*, *C. punctata*, *Platycodon grandiflorus*, которая сохранялась в течение трех лет у *C. glomerata* и в течение двух лет у *C. punctata* и *Platycodon grandiflorus*. Изученные виды перспективны для введения в культуру в условиях подтайги Западной Сибири.

Ключевые слова: семейство Campanulaceae, феноритмотип, фертильность пыльцы, реальная семенная продуктивность, посевные качества семян

PECULIARITIES OF SEASONAL DEVELOPMENT, SEED PRODUCTIVITY AND SEEDS SOWING QUALITIES OF SIBERIAN FLORA SOME SPECIES OF THE CAMPANULACEAE

Belyaeva T.N., Butenkova A.N., Shmakova G.A.

National Research Tomsk State University, Siberian Botanical Garden, Tomsk, e-mail: sbg-flowers@yandex.ru

The article presents the results of a study of seasonal development, seed productivity and characteristics of seed germination of 5 species of the Campanulaceae of the Siberian flora. According to the nature of phenological development, 2 species (*Campanula latifolia*, *Platycodon grandiflorus*) were assigned to the spring-summer-green phenorhythmotype and 3 species (*Campanula glomerata*, *C. punctata*, *C. trachelium*) – to the spring-summer-autumn green. The flowering period is 18–25 days for *C. latifolia*, and 30–45 days for other species. *Campanula latifolia* seeds ripen most rapidly. The actual seed productivity of the studied species is high (on average, from 6840.3 to 33026.6 seeds per plant), which is due to the biological characteristics of the species: high fertility of pollen grains, a large number of flowers in the inflorescence and seeds in capsules, and a high percentage of fruit formation. The seeds of most of the studied species have physiological dormancy of varying degrees of depth. The highest seed germination among the studied species of the family was found in *C. glomerata*, *C. punctata*, *Platycodon grandiflorus*, which persisted for 3 years in *C. glomerata* and for 2 years in *C. punctata* and *Platycodon grandiflorus*. The studied species are promising for growing in the subtaiga conditions of Western Siberia.

Keywords: Campanulaceae, phenorhythmotype, pollen fertility, real seed productivity, seeds sowing quality

Формирование комфортной среды обитания человека в настоящее время является приоритетной задачей на территории Российской Федерации. Для ее успешного решения необходимо усовершенствовать озеленение различных регионов России, в том числе Сибири, с использованием неприхотливых в уходе высокодекоративных видов природной флоры [1, 2].

Семейство Campanulaceae включает медоносные и ценные орнаментальные растения, перспективные для внедрения в озеленение южной тайги Западной Сибири. Они обладают продолжительным цветением, декоративными, довольно крупными цветками с лилово-фиолетовой, синевато-лиловой, розовой, белой или желтоватой окраской; устойчивы к воздействию абиотических факторов. Виды семейства используются в оформлении миксбордеров, посадках среди кустарников, в каменистых садах, как срезочные культуры. Некоторые виды находят применение в народной медицине и отличаются высоким содержанием в листьях различных биологически активных веществ (флавонолов, танинов, сапонинов, аскорбиновой кислоты и др.) [3]. *Platycodon grandiflorus* (Jacq.) A.D.C. используется в пищевой промышленности, медицине и косметологии на северо-востоке Китая, в Японии и Южной Корее. Растение богато сапонинами, флавоноидами, фенольными

кислотами и другими биологически активными соединениями [4]. Многие виды семейства являются редкими или сокращающими свой ареал в отдельных регионах Сибири. В связи с этим ботанические сады России приобретают все большее значение в области охраны растений *ex situ* [1].

Одним из важнейших показателей реализации адаптационного потенциала и перспективности введения нового вида в культуру является его способность к семенному воспроизводству. На территории лесостепной зоны Западной Сибири некоторые биологические особенности отдельных видов семейства Campanulaceae изучались С.Н. Щегловой [5], Т.И. Фоминой [6] и др. В Томской области в цветоводстве открытого грунта используются в основном европейские виды: *Campanula carpatica* Jacq. и *C. percicifolia* L.

Цель работы состояла в оценке потенциала семенного размножения пяти декоративных видов семейства Campanulaceae сибирской флоры при интродукции в южной тайге Западной Сибири в связи с необходимостью расширения ассортимента декоративных многолетников и разработки рекомендаций по их практическому применению и охране *ex situ*. Литературные сведения о семенной продуктивности и особенностях прорастания семян данных видов при культивировании в условиях Томской области отсутствуют.

Материалы и методы исследования

Исследования проводились в 2018–2021 гг. на территории экспериментального участка Сибирского ботанического сада, в южной тайге Западной Сибири. Процент плодообразования, реальную семенную продуктивность и посевные качества семян определяли, используя общепринятые методические разработки [7]. Учитывали по 25 плодов и 25 генеративных побегов. Статистическую обработку проводили с использованием программы Statistica 8.0. Лабораторную всхожесть семян определяли проращиванием их в чашках Петри в четырехкратной повторности. Массу 1000 семян определяли на электронных весах (DX-200, A and D, Япония) с ценой деления 0,001 г.

Объектами исследования послужили пять видов семейства Campanulaceae.

Campanula glomerata L. – колокольчик скученный. Евроазиатский лесостепной лесо-луговой вид [8]. Короткокорневищный рыхлодерновинный травянистый многолетник. В культуре представлен низкорослой (‘Acaulis’) и высокорослой формами.

C. latifolia L. – колокольчик широколистный. Преимущественно европейский вид, заходящий в Западную Сибирь, где находится на восточном пределе распространения. Растет по темнохвойным и смешанным лесам, на горных лугах. В горах поднимается до субальпийского пояса включительно [8]. Короткокорневищно-стержнекорневой полурозеточный геофит с развитой системой придаточных корней. В СибБС ТГУ представлен формой с крупными фиолетовыми цветками.

C. punctata Lam. – колокольчик точечный. Восточноазиатский бореальный вид, произрастающий в светлых лесах и по их опушкам [8]. Столонообразующий травянистый многолетник.

C. trachelium L. – колокольчик крапиволистный. Евроазиатский вид [8]. На юге Западной Сибири произрастает в разреженных темнохвойных лесах; является третичным реликтом широколиственных лесов. Короткокорневищный стержнекорневой травянистый полурозеточный многолетник.

Platycodon grandiflorus (Jacq.) A.D.C. – платикодон крупноцветковый. Восточноазиатский лесостепной вид, произрастающий на остепненных, часто каменистых и щебнистых склонах южной и юго-восточной экспозиций, по опушкам черно-березовых лесов [8]. Стержнекорневой каудексовый безрозеточный травянистый поликарпик.

Мобилизацию семян растений для проведения интродукционного эксперимента проводили из окрестностей г. Томска (*C. glomerata*), российских и зарубежных ботанических садов.

Исследованные виды занесены в некоторые региональные Красные книги на территории Сибири, Дальнего Востока (*Platycodon grandiflorus*), европейской части России (*C. latifolia*, *C. trachelium*).

Результаты исследования и их обсуждение

В условиях интродукции представители семейства Campanulaceae начинают вегетировать во второй половине апреля – начале мая. По срокам весеннего отрастания они отнесены к ранним (*C. trachelium*) и средним многолетникам; *Platycodon grandiflorus* – к поздним (начинает вегетировать в мае). Феноритмотип – весенне-летне-осеннезеленый (*Campanula glomerata*, *C. punctata*, *C. trachelium*), весенне-летнезеленый (*Campanula latifolia*, *Platycodon grandiflorus*). Зацветают в конце июня – первой декаде июля; *Platycodon grandiflorus* – в третьей декаде июля – начале августа. Фертильность пыльцевых зерен высокая: от 88% (*Platycodon grandiflorus*) до 99% (*C. glomerata*). Основной тип опыления – ксеногамия, в изоляторах плоды почти не завязывались.

Цветки активно посещались шмелями. Продолжительность фенофазы цветения варьирует от 18–25 (*C. latifolia*) до 30–45 дней. У некоторых видов (*C. glomerata*) возможно вторичное цветение в августе – сентябре. Наиболее быстро семена созревают у *C. latifolia* (в течение 38 дней). Продолжительность вегетационного периода составляет от 130 (*C. latifolia*) до 180 дней (*C. glomerata*) в среднем.

Реальная семенная продуктивность исследованных видов высокая (таблица), что обусловлено биологическими особенностями видов: высокой фертильностью пыльцевых зерен, продолжительным цветением, многоцветковым соцветием, большим количеством мелких семян в коробочке, а также высокой эффективностью опыления (процент плодообразования составляет от 74 % до 98 %).

Минимальное среднее число семян в коробочке (менее 71) образуется у *Campanula glomerata* и *C. punctata*; у остальных видов – от 100 (*Platycodon grandiflorus*) до 154,2–184,3 (*C. latifolia*, *C. trachelium*) семян. Наиболее высокой семенной продуктивностью отличался *C. trachelium*.

Полученные результаты в целом близки к данным, приводимым в литературе для Восточного Забайкалья [5], Башкирии [9]. Реальная семенная продуктивность *C. trachelium* и *C. punctata* в Томске существенно меньше показателей, указанных для интродукции в Башкирии [9], что, вероятно, обусловлено менее благоприятными термическими ресурсами в южной тайге Западной Сибири.

Масса 1000 семян изученных видов изменялась от 0,08 г (*Campanula punctata*) до 0,8 г (*Platycodon grandiflorus*) (рис. 1). Полученные данные близки к результатам, приводимым для Башкирии [9].

К настоящему времени накоплен значительный объем данных по динамике прорастания семян видов рода *Campanula*, которым свойственен физиологический покой различной глубины [6]. Так, В.П. Викторов [10] отмечает, что всхожесть семян *C. latifolia*, собранных в Московской области, достигала 80 %. При этом был использован переменный температурный режим проращивания: 16 ч в холодильнике при температуре 4–5 °С, затем 8 ч в термостате при температуре 30 °С. Стратификация разной продолжительности (30–60 дней) при низких положительных температурах рекомендована Т.И. Фоминой [6] для увеличения всхожести семян *C. trachelium*. Однако Л.Н. Миронова [9] отмечает, что за 8 месяцев хранения всхожесть семян *C. trachelium*, *C. punctata* достигала 52–78 %, а *C. latifolia* – 98–100 %.

Семенная продуктивность некоторых видов семейства Campanulaceae при интродукции в южной тайге Западной Сибири (средняя за период 2018–2021 гг.)

Название вида	Число плодов на побег	Число семян в коробочке	РСП генеративного побега	РСП особи
Campanula glomerata ‘Acaulis’	8,1 ± 0,9	64,2 ± 5,2	520,0 ± 42,3	7800,0 ± 685,4
Campanula glomerata высокорослая форма	36,4 ± 2,8	50,2 ± 5,3	1827,3 ± 220,4	21927,6 ± 1815,2
Campanula latifolia	10,0 ± 1,2	154,2 ± 10,3	1542,0 ± 124,4	26214,0 ± 1684,5
Campanula punctata	23,2 ± 2,1	70,2 ± 6,9	1628,6 ± 160,2	6840,3 ± 754,1
Campanula trachelium	44,8 ± 3,5	184,3 ± 18,9	8256,6 ± 778,3	33026,6 ± 2980,1
Platycodon grandiflorus	11,6 ± 2,1	99,5 ± 8,2	1160 ± 114,1	12760 ± 1288,3

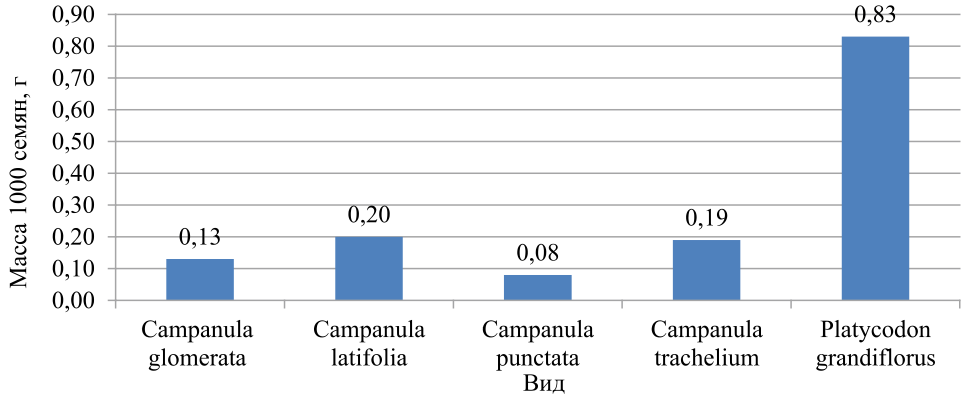


Рис. 1. Масса 1000 семян изученных видов семейства Campanulaceae

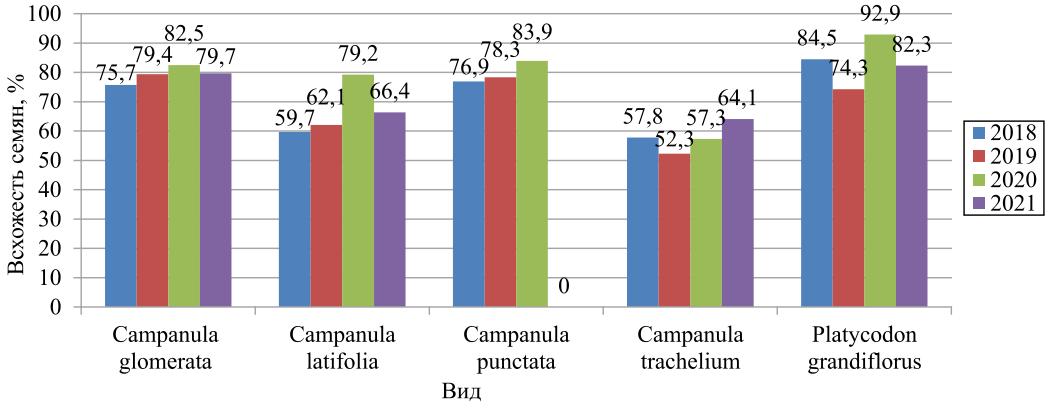


Рис. 2. Лабораторная всхожесть семян исследованных видов семейства Campanulaceae

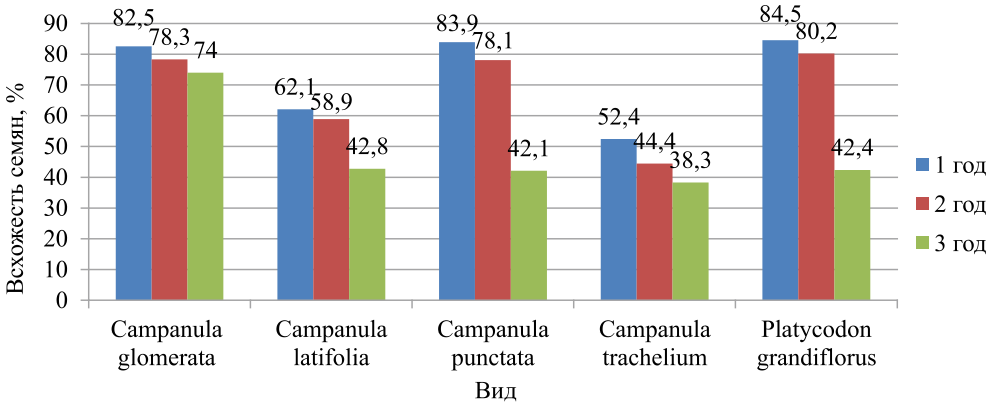


Рис. 3. Динамика изменения всхожести семян в зависимости от сроков хранения

Динамика прорастания семян изучалась нами в лабораторных условиях. Установлено, что семена *Campanula glomerata*, *C. punctata*, *Platycodon grandiflorus* отличаются среди изученных видов наиболее высокой всхожестью (рис. 2). Семена начинают прорастать на 4–6 день и, как правило, характеризуются высокой энергией прорастания (60–84 %). Покой семян *C. latifolia* неглубокий: через 9 месяцев после сбора всхожесть репродукций разных лет составила 42,1–79,2 % против 12,5–35 % при проращивании свежесобранных семян. Наиболее низкие показатели всхожести семян установлены у *C. trachelium.* Полученные результаты в основном близки к данным, полученным Л.Н. Мироновой [9] при интродукции растений в Башкирии и Т.И. Фоминой [6] в Новосибирске. Однако семена *C. punctata*, как и в Башкирии, характеризовались высокой всхожестью семян, в то время как в Новосибирске они оказались наиболее трудными для проращивания и имели крайне низкую всхожесть (6–9 %) во всех вариантах опыта [6]. Вероятно, данному виду свойственна разнокачественность семян, которую можно объяснить различным происхождением.

При хранении семян в течение трех лет при комнатной температуре всхожесть семян постепенно падала (рис. 3). При этом она оставалась высокой в течение трех лет у *Campanula glomerata* и в течение двух лет у *C. punctata* и *Platycodon grandiflorus.*

Заключение

Высокая семенная продуктивность исследованных пяти видов семейства Campanulaceae, обусловленная биологическими особенностями растений и высокой результативностью опыления, а также устойчивый ритм развития свидетельствуют о перспективности введения их в культуру в условиях подтайги Западной Сибири. Наиболее высокая всхожесть семян среди изученных видов семейства обнаружена у *Campanula glomerata*, *C. punctata*, *Platycodon grandiflorus*, которая сохранялась в течение трех лет у *C. glomerata* и в течение двух лет у *C. punctata* и *Platycodon grandiflorus.*

Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № 0721-2020-0019).

Список литературы

1. Беляева Т.Н. Биологические особенности декоративных двудольных многолетних растений при интродукции в условиях южной тайги Западной Сибири: дис. … канд. биол. наук. Томск, 2021. 959 с.

2. Беляева Т.Н., Бутенкова А.Н. Интродукция декоративных многолетников в южной тайге Западной Сибири. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2020. 422 с.

3. Кукушкина Т.А., Фомина Т.И. Содержание биологически активных веществ в листьях некоторых видов рода *Campanula* L. (Campanulaceae) // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2017. № 38. С. 122–133. DOI: 10.17223/19988591/38/7.

4. Ji M.-Y., Bo A., Yang M., Xu J.-F., Jiang L.-L., Zhou B.-Ch., Li M.-H. The pharmacological effects and health benefits of *Platycodon grandiflorus* – a medicine food homology species. Foods. 2020. Vol. 9 (2). P. 142. DOI: 10.3390/foods9020142.

5. Щеглова С.Н. Биоморфологическая и фитоценотическая характеристика *Platycodon grandiflorus* (Jacq.) A.D.C. (Campanulaceae): автореф. … канд. биол. наук. Новосибирск, 2009. 16 с.

6. Фомина Т.И. Биологические особенности декоративных растений природной флоры в Западной Сибири. Новосибирск, 2012. 179 с.

7. Беляева Т.Н., Харина Т.Г., Пулькина С.В., Бутенкова А.Н. Практикум по репродуктивной биологии семенных растений. Томск: Издательский Дом ТГУ, 2014. 68 с.

8. Олонова М.В. Семейство Campanulaceae // Флора Сибири. 1996. Т. 12. С. 148–164.

9. Миронова Л.Н., Аллаярова И.Н. Биология цветения и семенная продуктивность колокольчиков в условиях Южного Урала // Известия Уфимского научного центра РАН. 2017. № 4. С. 63–68.

10. Викторов В.П. Колокольчик широколистный // Биологическая флора Московской области. М.: Изд-во Полиэкс, 1997. Вып. 13. С. 179–191.

УДК 631.474

СООТВЕТСТВИЕ СОСТАВА ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА СТРУКТУРЕ УГОДИЙ НА ПРИМЕРЕ ЮГА ПРЕДСАЛАИРЬЯ

[1,2]Миллер Г.Ф., [1,3]Безбородова А.Н., [1,4,5]Соловьев С.В.

[1]ФГБУН Институт почвоведения и агрохимии СО РАН, Новосибирск, e-mail: miller_1981_gf@mail.ru;
[2]ФГБОУ ВО «Сибирский государственный университет геосистем и технологий», Новосибирск;
[3]ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет», Новосибирск;
[4]ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный университет экономики и управления НИНХ», Новосибирск;
[5]ФГБОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск

Представленная статья посвящена попытке научного коллектива оценить на примере отдельно взятого хозяйства соответствие состава почвенного покрова типам угодий, размещенных на территории акционерного общества «Сибиряк» Маслянинского района Новосибирской области. В данной статье приведены площади основных типов почв – серых лесных, черноземов, луговых, болотных и аллювиальных, определяющих как облик ландшафта, так и систему землепользования. Показано процентное распределение этих почв по категориям земель: земли сельскохозяйственного назначения (пашни, сенокосы и пастбища) и земли лесного фонда. Помимо этого, установлено, что эрозионноопасные почвы распашке не подвергаются, а используются под сенокосы и пастбища. Показано, что хозяйство на территории акционерного общества «Сибиряк» ведется рационально, что в условиях склоновых территорий бывает далеко не всегда. В частности, при распределении угодий землепользователь учитывает особенности рельефа (широкое распространение склонов разной протяженности, крутизны и экспозиции). В случаях, когда пашня занимает склоновую позицию, распашка ведется поперек склона. Распределение угодий по местоположениям с тем или иным типом почв на исследуемой территории вполне соответствует концепции рационального землепользования.

Ключевые слова: сельскохозяйственные угодья, антропогенная нагрузка, распашка, расчлененная территория, деградация, крутизна склонов

CORRESPONDENCE OF THE COMPOSITION OF THE SOIL COVER TO THE STRUCTURE OF THE LANDS ON THE EXAMPLE OF THE SOUTH OF THE PREDSALAIR REGION

[1,2]Miller G.F., [1,3]Bezborodova A.N., [1,4,5]Solovev S.V.

[1]Institute of Soil Science and Agrochemistry of the Siberian Branch of the RAS, Novosibirsk, e-mail: miller_1981_gf@mail.ru;
[2]Siberian State University of Geosystems and Technologies, Novosibirsk;
[3]Novosibirsk State Pedagogical University, Novosibirsk;
[4]Novosibirsk State University of Economics and Management, Novosibirsk;
[5]Novosibirsk State University, Novosibirsk

The presented article is devoted to the attempt of the research team to evaluate the correspondence of the soil cover composition to the types of lands located on the territory of the Sibiryak joint-stock company in the Maslyaninsky district of the Novosibirsk region using the example of a separate farm. This article shows the areas of the main types of soils – gray forest, chernozems, meadow, bog and alluvial, which determine both the appearance of the landscape and the system of land use. The percentage distribution of these soils by land categories is shown: agricultural land (arable land, hayfields and pastures) and forest land. In addition, it was found that erosion-prone soils are not plowed, but are used for hayfields and pastures. It is shown that the economy on the territory of the joint-stock company «Sibiryak» is conducted rationally, which is not always the case in the conditions of slope territories. In particular, when distributing land, the land user takes into account the features of the relief (wide distribution of slopes of various lengths, steepness and exposure). In cases where arable land occupies a slope position, plowing is carried out across the slope. The distribution of land by location with one or another soil type in the study area is consistent with the concept of rational land use.

Keywords: agricultural grounds, anthropogenous loading, ploughing, the dismembered territory, degradation, a steepness of slopes

Юг Предсалаирья интересен тем, что, относясь к провинции черноземных и серых лесных почв, по составу почвенного покрова он представлен главным образом подтипами серых лесных почв, а не черноземными почвами, что можно наблюдать в северной части Предсалаирья. Территория АО «Сибиряк» Маслянинского района Новосибирской области, расположенная на Присалаирской расчлененной дренированной равнине, имеет структуру сельскохозяйственных угодий, традиционную для региона в целом. Угодья подразделяются на пашни, сенокосы, пастбища, леса, ку-

старники, болота, земли, занятые населенными пунктами и пр.

Цель данной статьи – раскрыть связь структуры угодий АО «Сибиряк» с его почвенным покровом, а также оценка использования (размещения) тех или иных угодий на разных почвенных контурах.

Материалы и методы исследования

Исследуемый ключевой участок находится в пределах Предалтайской лесостепной провинции черноземов оподзоленных, выщелоченных, типичных тучных и среднегумусных среднемощных и серых лесных почв.

Основным элементом рельефа, отличающегося значительным разнообразием, являются возвышенные расчлененные увалистые равнины. Вертикальное и горизонтальное расчленение весьма значительно. В связи с наличием большого количества небольших и мелких водотоков (ручьи, мелкие реки) сильно развито горизонтальное расчленение территории [1]. Вертикальное расчленение, также ярко выраженное, связано с общей приподнятостью территории, сложенной легко размывающимися лессовидными суглинками и деятельностью множества постоянных и сезонных водотоков, в результате чего происходило и происходит до настоящего времени врезание их русел [2, 3].

Абсолютные высоты здесь колеблются от 200 до 400 м. Под остепненными лугами (ныне распаханными) сформировались выщелоченные черноземы с высоким содержанием гумуса и черноземы оподзоленные тучные. Значительные массивы под березовыми травянистыми лесами и вырубками заняты темно-серыми и серыми лесными почвами.

При проведении исследований нами использованы сравнительно-географический и картографический методы.

Результаты исследования и их обсуждение

Нужно отметить, что серые лесные почвы разных подтипов в этом районе широко и повсеместно вовлечены в пашню. Кроме того, разные подтипы серых лесных почв образуют широко распространенные сочетания друг с другом.

В первую очередь необходимо рассмотреть такой тип сельскохозяйственных угодий, как пашни, что связано с их первостепенной важностью для сельскохозяйственного производства.

Общая площадь пашни на территории АО «Сибиряк» составляет около 4226 га. При анализе имеющихся данных (типы почв, их общая площадь, их площадь по угодьям и т.д.) было выявлено, что пахотные угодья мелкоконтурные и расположены на склоновых поверхностях. Это способствует развитию эрозионных процессов и формированию почв разной степени смытости [4].

При этом почвы, которые и составляют подавляющую часть пашенного фонда, можно разделить на две большие и основные группы. Это серые лесные почвы разных подтипов и разновидностей (светло-серые, серые и темно-серые почвы) и черноземы оподзоленные. Такое условное деление этих почв на две категории возможно в связи с тем, что если речь идет о черноземах оподзоленных (маломощных среднегумусных, среднемощных малогумусных, среднемощных среднегумусных), то они использованы под пашню полностью, без исключения.

Важно, что черноземно-луговые почвы использованы не под пашню (по большей части), а под сенокосы, что, как видно, является стремлением к правильному землепользованию.

Что же касается использования под пашню серых лесных почв, т.е. почв таких, как светло-серые, серые и темно-серые (их разновидности), то картина является иной [5]. Вместе с тем, что по площади они (и в абсолютном отношении, и в структуре пашни) значительно превосходят оподзоленные черноземы, непосредственно они вовлечены в пашенные угодья тогда, когда они не заняты лесом, имеющим здесь до сих пор значительное распространение (7251,3 га, что явно и заметно превышает площадь пашни вообще). Таким образом, в том случае, если эти почвы не являются явно эрозионно опасными или не находятся в естественном своем состоянии – под лесом – то они обязательно и в очень больших количествах вовлечены в пашню.

Также необходимо отметить полную вовлеченность в рамки пахотных угодий таких комплексов почв, как темно-серые лесные маломощные слабосмытые почвы в комплексе с серыми лесными среднемощными намытыми (все 42,0 га); и темно-серые лесные среднемощные почвы в комплексе с лугово-черноземными оподзоленными среднемощными малогумусными почвами (все имеющиеся 28,5 га).

В то же время отдельно следует сказать о том, что обязательным условием непопадания того или иного почвенного контура в разряд пашенных угодий (в принципе для этой цели пригодного) является его эрозионная опасность. Это объясняется как характером рельефа, так и тем, что почвообразовательный процесс происходит

здесь на легко размываемых почвообразующих породах.

Кроме того, под пашней заняты следующие почвы: лугово-черноземные, оподзоленные средне- и маломощные – полностью, 3,5 и 1,5 га соответственно.

Почвы луговые и аллювиальные (тем более болотные) под пашню не используются ввиду их большей пригодности к иному характеру использования.

Далее будут рассмотрены угодья, занятые сенокосами, общая площадь которых составляет порядка 1766,1 га (рис. 1).

Наибольшие площади сенокосов, как и следовало ожидать, на территории АО «Сибиряк» размещены на почвах эрозионно опасных, оглеенных, черноземно-луговых, луговых и лишь частично, в небольшой степени, на аллювиальных почвах. При более детальном рассмотрении следует отметить, что полностью под сенокосами находятся почвы светло-серые лесные среднемощные эрозионно опасные в комплексе с серыми лесными среднемощными (все 29,3 га). Серые лесные мощные эрозионно опасные – практически полностью – 34,4 из 35,1 га; большая часть серых лесных среднемощных эрозионно опасных (424,9 из 702,3 га); серые лесные среднемощные эрозионно опасные в комплексе с серыми лесными глеевыми полностью – 60,1 га.

Та же ситуация и с темно-серыми лесными почвами. Например, темно-серые лесные среднемощные эрозионно опасные почвы используются под сенокосы практически полностью – 29,7 га из 30,2 га; темно-серые лесные маломощные эрозионно опасные использованы под этот вид угодий значительно (24,3 га из 72,7 га); темно-серые лесные мощные эрозионно опасные – полностью (4,3 га); как и темно-серые лесные глеевые – практически до трети от их общей площади, т.е. 112,4 га из имеющихся на территории хозяйства 363,1 га.

Кроме того, полностью заняты под сенокосы почвы лугово-черноземные оподзоленные среднемощные малогумусные эрозионно опасные (все 8,0 га); лугово-черноземные оподзоленные маломощные среднегумусные эрозионно опасные (4,0 га); черноземно-луговые почвы всех разновидностей – практически полностью, как и значительная часть собственно луговых почв.

Следующий тип сельскохозяйственных угодий рассматриваемого нами хозяйства – пастбища; они занимают почти такую же, хотя и несколько меньшую, по сравнению с сенокосами, площадь – 1615,2 га (рис. 2).

Если говорить о том, на каких именно почвах размещены сенокосы, то стоит отметить, что размещены они в целом следующим образом. Во-первых, если это серые лесные почвы разных подтипов, то это те их площади, которые не вошли в состав главным образом пашен или сенокосов; кроме того, это будут главным образом почвы эрозионно опасные (например, темно-серые лесные маломощные эрозионно опасные почвы, под пастбищами находится более половины общей площади – 48,4 га из 72,7 га) или с выраженным процессом оглеения (светло-серые лесные глеевые почвы, 19,4 га из имеющихся 254 га).

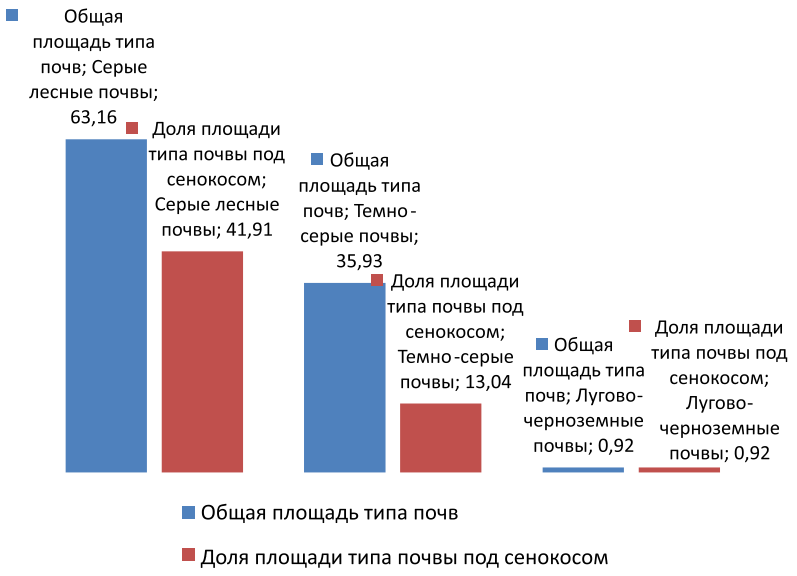


Рис. 1. Состав почв под сенокосами, %

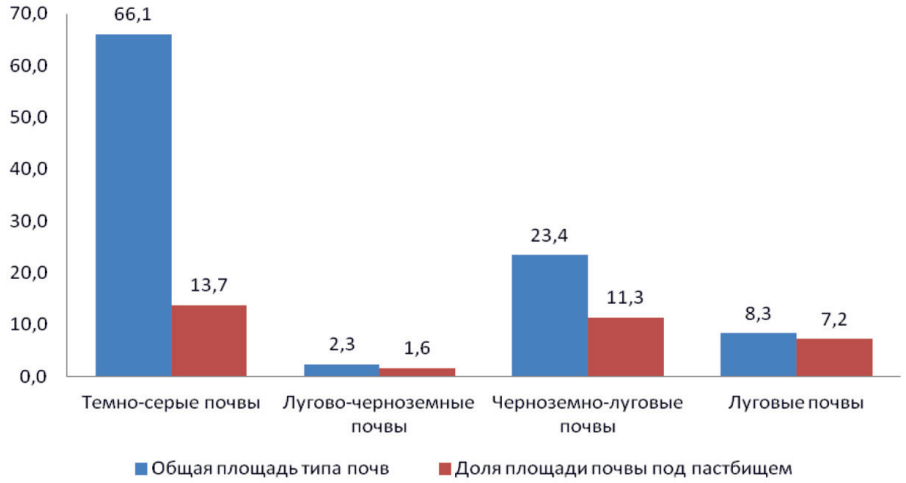


Рис. 2. Состав почв под пастбищами, %

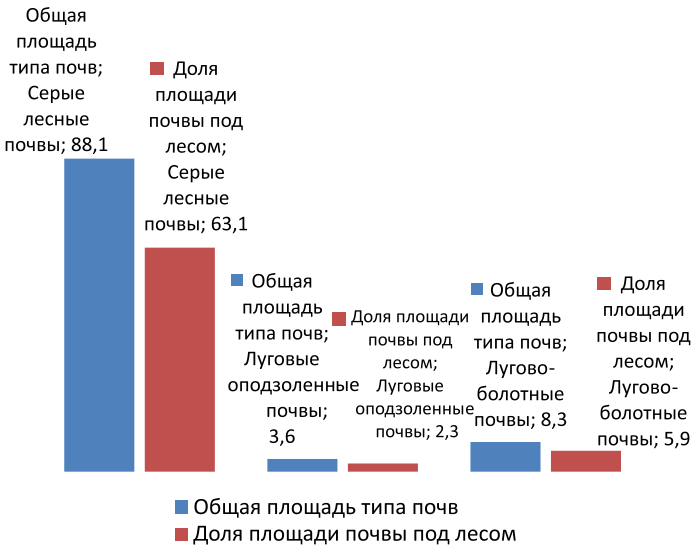


Рис. 3. Состав почв под лесами, %

Из лугово-черноземных почв под пастбищами находятся только лугово-черноземные оподзоленные среднемощные малогумусные эрозионно опасные и лугово-черноземные выщелоченные маломощные среднегумусные эрозионно опасные почвы, причем практически полностью (8,0 и 11,3 га соответственно).

Почти полностью используются под пастбищами черноземно-луговые оподзоленные маломощные малогумусные почвы – 26,1 га из 29,9 га; как и значительная часть (29,7 га из 85,7 га) черноземно-луговых оподзоленных среднемощных малогумусных почв.

Особо необходимо отметить широкое использование под данный вид угодий луговых почв (которые, впрочем, имеют сравнительно небольшие ареалы). Это луговые выщелоченные маломощные среднегумусные почвы (5,7 га из 6,7 га имеющихся); луговые выщелоченные среднемощные среднегумусные почвы (9,5 га из 9,6 га); луговые выщелоченные среднемощные малогумусные почвы (20,4 га из 24,7 га).

Но особенно широко под пастбища используются аллювиальные почвы; это является главным способом использования данного типа почв.

Леса являются самым обширным по площади видом угодий на территории АО «Сибиряк»; их площадь составляет 7251,3 га (рис. 3). Это значительно превосходит площади и пашен, и сенокосов, и пастбищ.

Леса занимают разные типы почв, в основном это различные подтипы серых лесных почв (причем если они эрозионно опасные, то они стали такими в результате

сведения лесной растительности), кроме того это могут быть серые лесные почвы с признаками оглеения; но также они располагаются и на других почвах, о чем будет сказано ниже.

Из подтипов и разновидностей серых лесных почв под лесами в основном находятся следующие. Светло-серые лесные среднемощные (1927,3 га из 2241,8 га); серые лесные маломощные (255,9 га из 335,7 га); серые лесные среднемощные (1818,7 га из 3445,9 га); серые лесные глеевые почвы (1119,2 га из 1224,0 га). Также под лесом находится значительная часть темно-серых лесных глеевых почв – 204,9 га из имеющихся 363,1 га.

Также леса покрывают значительные площади почвенных контуров, являющихся комплексами серых лесных почв с оглеенными почвами; это такие, как серые лесные среднемощные в комплексе с серыми лесными глеевыми почвами (260,6 га из 263,5 га).

Присутствуют под лесами и комплексы серых лесных среднемощных в комплексе с темно-серыми лесными среднемощными почвами в размере 27,5 га из 42,4 га имеющихся; а также комплексы светло-серых лесных среднемощных с серыми лесными среднемощными, таких комплексов также встречается достаточно много – 198,9 га из 205,7 га.

Значительная часть луговых оподзоленных почв также занята древесной растительностью (правда, в отличие от прочих луговых почв). Так, луговые оподзоленные маломощные среднегумусные почвы заняты лесом на 45,4 га из 53,1 га; луговые оподзоленные среднемощные малогумусные почвы на среднем суглинке на 63,4 га из 153,7 га; те же почвы на тяжелом суглинке лесом заняты на 103,4 га из имеющихся 122 га.

Кроме того, сравнительно сильно залесены контуры лугово-болотных перегнойных почв – 344,6 га из 533,4 га, а собственно лугово-болотные почвы покрыты лесами на 195,9 га из 233,4 га.

Приблизительно наполовину лесная растительность покрывает аллювиальные, в том числе аллювиальные луговые почвы.

Если оценивать площади, занятые кустарником, то сразу складывается впечатление, что его современное распространение обусловлено двумя причинами. С одной стороны, этот тип растительности встречается там, где ему произрастать предопределено почвенно-экологическими условиями – в пойменных и старичных понижениях, в микрозападинах и на днищах логов и балок. Лугово-болотные перегнойные почвы заняты кустарником на площади 13,5 га; аллювиальные дерновые обычные среднегумусные – на 7,8 га, и аллювиальные лугово-болотные на 4,8 га; это наибольшие контуры. Таким образом, видно, что кустарники занимают в целом совсем небольшую площадь в структуре угодий АО «Сибиряк» (всего 90,3 га). Но в то же время можно сказать, что кустарниковая растительность встречается там, где она просто до сих пор не уничтожена.

Болота занимают на территории АО «Сибиряк» площадь в 324,0 га; что превышает площади, занятые кустарниками. Однако вместе с тем развиты болота в настоящее время только на почвах лугово-болотных перегнойных (160,2 га из 533 га) и на болотных низинных торфянисто-глеевых почвах. Во всех случаях болота располагаются по днищам логов.

Населенные пункты на территории хозяйства занимают наименьшие площади в сравнении с площадями угодий (143,1 га). В их размещении проследить явную закономерность вряд ли представляется возможным.

Заключение

Таким образом, суммируя сказанное, можно сделать следующие выводы.

Структура размещения угодий в целом соответствует стремлению руководства вести рациональное хозяйство. Эрозионно опасные почвы распашке не подвергаются, а используются под сенокосы и пастбища.

Наибольшая площадь угодий на территории АО «Сибиряк» Маслянинского района Новосибирской области занята лесом. На втором месте по занимаемой площади находится, как и следовало ожидать, пашня. Сенокосы и пастбища занимают площади значительно меньшие. Таким образом, налицо ориентация на зерновое хозяйство.

Работа выполнена по государственному заданию ИПА СО РАН.

Список литературы

1. Чумбаев А.С., Танасиенко А.А. Характеристика многолетней изменчивости климатических показателей как основных факторов развития эрозии почв на юго-востоке Западной Сибири // Географическая наука, туризм и образование: современные проблемы и перспективы развития: материалы VIII Всероссийской научно-методической конференции. 2019. С. 27–30.

2. Орлов А.Д. Эрозия и эрозионно опасные земли Западной Сибири. Новосибирск: Наука, 1983. 208 с.

3. Танасиенко А.А., Чумбаев А.С., Якутина О.П. Потери талых вод в эродированных почвах расчлененных территорий юга Западной Сибири // Земледелие. 2017. № 6. С. 11–15.

4. Миллер Г.Ф., Филимонова Д.А., Безбородова А.Н., Соловьев С.В. Почвенно-экологическая оценка эрозионно опасных почв под молодыми и средневозрастными залежами юго-востока Западной Сибири // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2019. № 11. С. 26–29. DOI: 10.17513/mjpfi.12926.

5. Шапорина Н.А., Чичулин А.В., Чумбаев А.С. Пространственная вариабельность водно-физических свойств темно-серой лесной почвы в условиях Предсалаирья // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2018. № 10. С. 144–149.

УДК 575:611.77

ВОДОРАСТВОРИМОЕ ПРОИЗВОДНОЕ ФУЛЛЕРЕНА C_{70} РЕГУЛИРУЕТ ТРАНСКРИПЦИЮ САТЕЛЛИТА III В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ФИБРОБЛАСТАХ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА

[1]Савинова Е.А., [1]Каменева Л.В., [1]Ершова Е.С., [1,2]Умрюхин П.Е., [1,2]Родионов И.В., [1]Артюшин А.А., [3]Краевая О.А., [3,4]Трошин П.А., [1]Вейко Н.Н., [1]Костюк С.В.

[1]ФГБУН «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва, e-mail: pavelum@mail.ru;

[2]ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва;

[3]ФГБУН «Институт проблем химической физики» Российской академии наук, Москва;

[4]Силезский технологический университет, Гливице

Сателлитная ДНК – характерный компонент генома эукариотических клеток, состоящий из тандемно организованных повторов нуклеотидных последовательностей. Сателлитная ДНК не кодирует белки и локализована в конститутивном гетерохроматине хромосом. Сателлитная ДНК характерна для теломерных и центромерных областей хромосом. Транскрипция сателлита III и увеличение числа копий сателлита III в геноме существенно возрастают при репликативном и стресс-индуцированном старении клеток человека, наряду с увеличением уровня окислительного стресса в клетках организма. При этом клетки с большим содержанием сателлита III не отвечают на пролиферативные и иные стимулы, что значительно уменьшает жизнеспособность всей популяции стареющих клеток. В результате проведенных экспериментов в настоящем исследовании было показано, что водорастворимое производное фуллерена С70 снижает уровень транскрипции сателлита III (1q12), а также число клеток с высоким содержанием сателлита III в стареющих культивируемых фибробластах кожи (human skin fibroblasts, HSF) с высоким уровнем активных форм кислорода (АФК). Таким образом, рассматриваемое водорастворимое производное фуллерена С70 может быть рекомендовано к использованию в качестве потенциального агента, способного снижать скорость пролиферативного старения клеточных популяций, характеризующихся высоким уровнем окислительного стресса.

Ключевые слова: сателлит III, транскрипция сателлита III, фуллерены, старение

THE WATER-SOLUBLE DERIVATIVE OF FULLERENE C70 REGULATES THE TRANSCRIPTION OF SATELLITE III IN CULTUREDHUMAN SKIN FIBROBLASTS

[1]Savinova E.A., [1]Kameneva L.V., [1]Ershova E.S., [1,2]Umryukhin P.E., [1, 2]Rodionov I.V., [1]Artyushin A.A., [3]Kraevaya O.A., [3,4]Troshin P.A., [1]Veyko N.N., [1]Kostyuk S.V.

[1]Research Centre for Medical Genetics, Moscow, e-mail: pavelum@mail.ru;

[2]I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow;

[3]Institute of Problems of Chemical Physics of RAS, Moscow;

[4]Silesian University of Technology, Gliwice

Satellite DNA is a characteristic component of the genome of eukaryotic cells, consisting of tandem-organized repeats of nucleotide sequences. Satellite DNA does not encode proteins and is localized in the constitutive heterochromatin of chromosomes. Satellite DNA is characteristic of telomeric and centromeric regions of chromosomes. Transcription of satellite III and an increase in the number of copies of satellite III in the genome significantly increase with replicative and stress-induced aging of human cells, along with an increase in the level of oxidative stress in the cells of the body. At the same time, cells with a high content of satellite III do not respond to proliferative and other stimuli, which significantly reduces the viability of the entire population of aging cells. As a result of the experiments conducted in this study, it was shown that the water-soluble derivative of fullerene C70 reduces the transcription level of satellite III (1q12), as well as the number of cells with a high content of satellite III in aging cultured skin fibroblasts (human skin fibroblasts, HSF) with a high level of reactive oxygen species (ROS). Thus, the considered water-soluble derivative of fullerene C70 can be recommended for use as a potential agent capable of reducing the rate of proliferative aging of cell populations characterized by a high level of oxidative stress.

Keywords: satellite III, satellite III transcription, fullerenes, aging

Полиморфные сателлитные тандемные повторы генома человека входят в состав гетерохроматина прицентромерных и центромерных областей хромосом. Фракция сателлитных повторов, которая была обозначена как сателлит III (SatIII), локализована преимущественно в прицентромерном гетерохроматине нескольких хромосом. В ряде работ была описана транскрипция SatIII в клетках человека [1, 2]. Транскрипция сателлита является компонентом адаптивного ответа клетки на стресс. Однако

транскрипция SatIII и последующая трансформация РНКSatIII в ДНКSatIII, благодаря активности обратной транскриптазы, может приводить к увеличению размера гетерохроматинового блока SatIII [3]. Клетки с очень большим размером блока прицентромерного гетерохроматина не имеют возможности для развития адаптивного ответа и не делятся. Количество таких клеток возрастает при старении и в условиях хронического окислительного стресса [4]. Можно предположить, что снижение уровня активных форм кислорода (АФК) приведет к снижению активности транскрипции SatIII в стареющих клетках. Показано, что фуллерены C_{60} и C_{70} связывают в больших количествах АФК. В работе мы исследовали влияние водорастворимой формы фуллерена C_{70} на транскрипцию субфракции сателлита III в составе прицентромерного гетерохроматина первой и девятой хромосом.

Материалы и методы исследования

Водорастворимое производное фуллерена C_{70} (F) (рисунок, А) было синтезировано и охарактеризовано в Институте проблем химической физики РАН [5]. Четыре клеточные линии фибробластов кожи взрослых людей были отобраны из коллекции МГНЦ. Клетки (15–20 пассаж) культивировали в стандартных условиях в присутствии 10% эмбриональной телячьей сыворотки (PAA Laboratories, Австрия) в CO_2 инкубаторе при 37 °С. Фуллерен в нетоксичной концентрации 10 мкМ добавляли к клеткам на 24 ч.

МТТ–тест. Тест проводили по стандартной методике, используя реагент МТТ (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) фирмы Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) и прибор «EnSpire plate reader» (EnSpire Equipment, Turku, Finland).

РТ-ПЦР. РНК клеток выделяли с использованием набора «RNeasy Mini Kit» (Qiagen, ФРГ). РНК обработали ДНКзой 1 и провели обратную транскрипцию, применив «Reverse Transcriptase Kit» (Силекс, РФ). Амплификацию проводили с использованием набора «SYBRgreen PCR MasterMix» и прибора «StepOne Plus» (Applied Biosystems). Были использованы праймеры фирмы Силекс, РФ. В качестве стандарта применили ген TBP. Структура праймеров приводится в работе [4].

NQH (количественная нерадиоактивная гибридизация)**.** Метод подробно описан в предыдущей работе и использовался без изменений [4]. В качестве ДНК-зонда на SatIII использовали плазмиду bio-pUC1.77, которую метили биотином методом ник-трансляции с помощью набора фирмы Силекс, РФ. ДНК из клеток для проведения гибридизации выделяли стандартным методом с использованием экстракции органическими растворителями [4]. Клетки лизировали в присутствии 1% саркозилата натрия и 0,02 М ЭДТА, лизат обрабатывали последовательно РНКзой А и протеиназой К. После экстракции фенолом и фенол-хлороформом, ДНК водной фазы осаждали 70% этанолом в присутствии 0,1 М ацетата натрия. Концентрацию ДНК определяли в комплексе с ДНК-связывающимся флуоресцентным красителем PicoGreen (Molecular Probes/Invitrogen, CA, USA).

Определение АФК

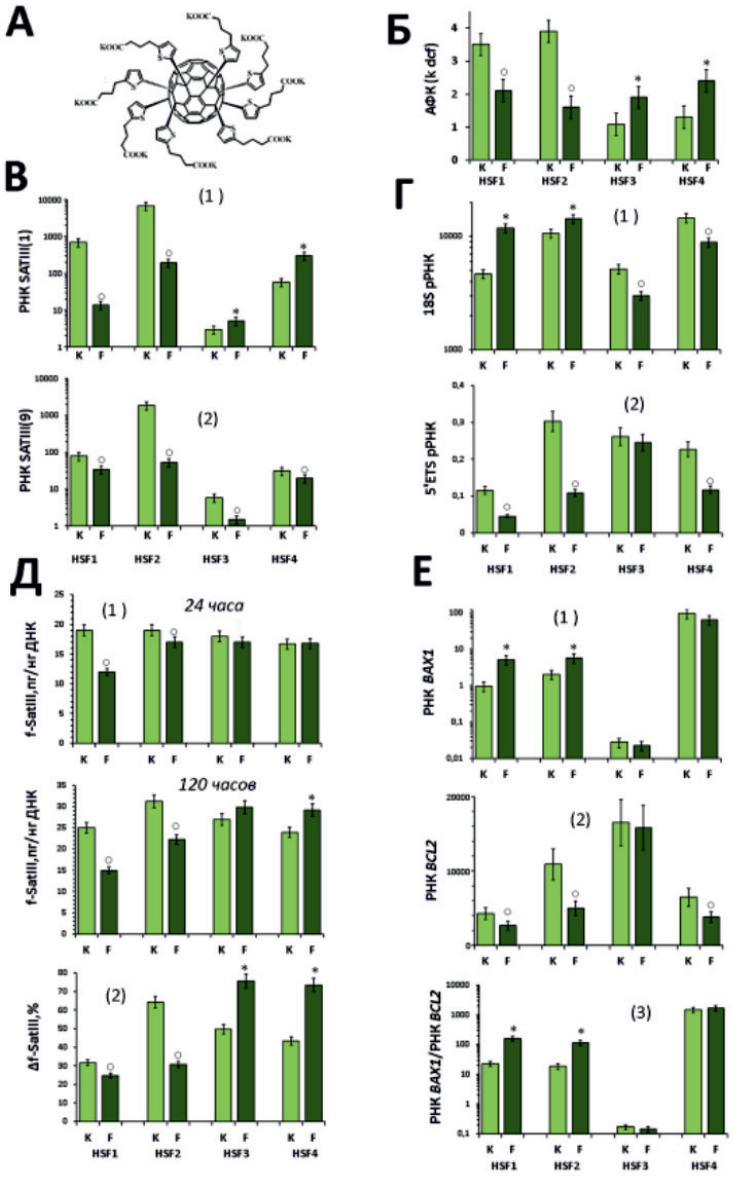
Использовали планшетный ридер (EnSpire Equipment, Finland), λв = 488 нм, λэм = 528 нм. Клетки обрабатывали 5 μМ H_2DCFH-DA (Molecular Probes/Invitrogen, CA, USA) и анализировали флуоресценцию в течение 10–40 мин. Константу синтеза DCF (k*dcf*) определяли из зависимости сигнала от времени инкубирования клеток с реагентом.

Статистический анализ

Все эксперименты были повторены не менее трех раз. На графиках приводятся средние значения измеряемых параметров и стандартные ошибки. Сравнение проводили с использованием критерия Манна – Уитни. Различия считали достоверными при значениях $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Для исследования действия водорастворимого фуллерена C_{70} (рисунок, А) на транскрипцию сателлитных повторов, из клеточной коллекции были отобраны четыре линии фибробластов кожи человека (HSF1-4). Критерием отбора клеточной линии для исследования был общий уровень АФК в клеточных культурах, определенный по реакции образования DCF из реагента H2DCFH-DA (рисунок, Б). Уровни АФК в клетках HSF1-2 были в два раза выше, чем в клетках HSF3-4. Известно, что репликативное старение сопровождается увеличением уровня транскрипции SatIII и увеличением количества повтора SatIII в клеточной ДНК [4, 6]. Поэтому были выбраны клетки 15–20 пассажа, в которых уже появляются первые признаки старения культуры: снижена скорость пролиферации и повышен уровень АФК по сравнению с клетками ранних пассажей. МТТ-тест показал, что фуллерен в концентрации 10 мкМ не токсичен для всех исследуемых линий клеток.



Характеристики и клеточные эффекты водорастворимого фуллерена C_{70}.
А. Структурная формула водорастворимого фуллерена C_{70}.
Б. Уровни АФК в клетках. Приводится константа реакции образования DCF при взаимодействии с АФК в клеточной культуре.
В. Содержание РНК SatIII(1q12) (1) и РНК SatIII(9q12) (2) в РНК клеток. Данные нормированы к содержанию РНК гена TBP (внутренний стандарт).
Г. Содержание 18S pPHK (1) и 5'ETS pPHK (2) в РНК клеток.
Д. Содержание в SatIII(1q12) в ДНК клеток после 24 и 120 ч культивирования (1). Относительное увеличение содержания SatIII(1q12) в ДНК клеток при культивировании (2).
Е. Содержание РНК BAX1 (1) и РНК BCL2 (2) в клетках. (3) Отношение BAX1/ BCL2, характеризующее апоптоз в популяции клеток

Влияние фуллерена на уровень АФК в клетках

Добавление 10 мкМ фуллерена в среду культивирования HSF1-2 через сутки приводило к снижению содержания АФК в клетках. В клетках линий HSF3-4 фуллерен, напротив, повышал уровень АФК в тех же условиях культивирования (рисунок, Б). Таким образом, мы наблюдали модулирующее действие фуллерена C_{70} на уровень АФК в фибробластах. Увеличение уровня АФК

в клетках HSF3-4 может быть связано с избыточным блокированием АФК в клетках с исходно низким уровнем окислительного стресса. Ранее было показано, что фуллерен C_{60}, блокируя большинство АФК, стимулирует компенсаторное увеличение активности фермента NOX4, который катализирует реакцию синтеза пероксида водорода в клетках. В результате через сутки, вместо ожидаемого падения, наблюдается значительное повышение уровня АФК во всех структурах клетки и особенно в ядре. Таким образом, уровень АФК в клетках в присутствии фуллерена формируется благодаря двум разнонаправленным процессам: связывание АФК фуллереном и активация синтеза АФК в ответ на снижение АФК ниже физиологически необходимого уровня [6, 7].

Влияние фуллерена на содержание РНК SatIII

Высокий уровень АФК в клеточных культурах HSF1-2 коррелирует с более высоким содержанием транскриптов SatIII(1q12) и SatIII(9q12) в клетках по сравнению с клетками HSF3-4. Транскрипция этих участков осуществляется полимеразой II [2]. Большое содержание РНКSatIII подтверждает более высокий уровень стресса в линиях клеток HSF1-2 [4]. Изменения в количестве РНК SatIII(1q12) в клетках, которые культивировали в присутствии 10 мкМ фуллерена, коррелировали с изменениями уровня АФК. В линиях HSF1 и HSF2 количество РНК SatIII(1q12) в присутствии фуллерена значительно снижалось, а в линиях HSF3-4 – возрастало. Количество РНК SatIII(9q12) в присутствии фуллерена снижалось во всех линиях клеток (рисунок, В).

Таким образом, мы обнаружили различное влияние фуллерена на транскрипцию фрагментов сателлита III, локализованных на 1-й и 9-й хромосомах. Ранее мы обнаружили аналогичный эффект при исследовании действия ионизирующего излучения на транскрипцию сателлитных повторов SatIII(1q12) и SatIII(9q12) в культивируемых клетках. Максимумы транскрипции SatIII(1q12) наблюдались при более высоких уровнях окислительного стресса, чем максимумы транскрипции SatIII(9q12).

Влияние фуллерена на содержание рибосомных РНК

Для сравнения мы проанализировали изменения в присутствии 10 мкМ фуллерена в уровне рибосомной РНК (рРНК), которая синтезируется с участием полимеразы I. Количество рРНК в клетках HSF1-2 не отличалось от количества рРНК в клетках HSF3-4. В присутствии фуллерена происходило снижение количества РНК транскрибируемого спейсера рибосомного повтора во всех линиях клеток, что говорит о блокировке фуллереном транскрипции рибосомного повтора. При этом отмечено увеличение количества 18S рРНК в клетках HSF1-2 и снижение в клетках HSF3-4. Таким образом, данный фуллерен влияет на биогенез рибосом, по-видимому, в зависимости от условий, изменяя скорость деградации рибосомы на фоне блокировки скорости синтеза рибосомной РНК.

Влияние фуллерена на уровень апоптоза

Линия HSF3 отличалась от трех других низким содержанием РНК проапоптотического гена *BAX1* и высоким содержанием РНК антиапоптотического гена *BCL2*, что говорит о низком уровне апоптоза клеток в данной популяции. В клетках HSF1-2 с высоким уровнем АФК фуллерен стимулировал увеличение экспрессии *BAX1* и снижение экспрессии *BCL2* (рисунок, Е). Отношение РНК*BAX1*/РНК*BCL2*, которое отражает уровень апоптоза в клетках [9], для линий HSF1-2 в присутствии фуллерена возрастало. Линии с низким уровнем АФК не изменяли это соотношение при культивировании с фуллереном.

Влияние фуллерена на количество SatIII(1q12) в клеточной ДНК

При длительном культивировании клеток всех линий мы обнаружили ожидаемое увеличение на 30–70% содержания SatIII(1q12) в ДНК, выделенной из клеток через сутки и 5 суток культивирования (рисунок, Д). Добавление фуллерена в среду культивирования клеток HSF1-2 приводило к снижению эффекта увеличения количества SatIII(1q12) в клетках. Однако для клеток HSF3-4 мы наблюдали обратный эффект – количество SatIII(1) в клеточной ДНК возрастало в присутствии фуллерена.

Снижение содержания SatIII(1q12) в ДНК клеток HSF1-2 при культивировании с фуллереном можно объяснить двумя факторами: блокирование транскрипции SatIII(1q12) в субпопуляции клеток (рисунок, В) и усиление процесса апоптоза (рисунок, Е), при котором в первую очередь погибают клетки с большим содержанием повтора SatIII(1q12). В случае линий клеток HSF3-4 увеличение количества транскрипта SatIII(1q12) происходит на фоне неизменных показателей апоптоза и относительно низкого уровня окислительного стресса, что приводит к увеличению в популяции количества клеток с большим блоком гетерохроматина 1q12.

Заключение

Водорастворимый фуллерен C_{70} влияет на процесс транскрипции сателлита III в клетках человека. В зависимости от исходного уровня окислительного стресса в клетках фуллерен может оказывать позитивное воздействие на популяцию стареющих клеток, индуцируя элиминацию клеток с высоким содержанием SatIII(1q12), которые не отвечают на пролиферирующие и иные стимулы и накапливаются в ходе репликативного старения [4]. При низком уровне АФК в популяции фуллерен, напротив, индуцирует накопление клеток с высоким содержанием SatIII(1q12). По-видимому, с целью снижения скорости репликативного старения для каждого типа клеток необходимо подбирать индивидуальные концентрации фуллерена, которые обеспечат баланс между связыванием АФК с фуллереном и индуцированным синтезом АФК клеткой. Фуллерен C_{70} (рисунок, А) может быть рекомендован к использованию в качестве агента, снижающего скорость пролиферативного и стресс-индуцированного старения клеточных популяций с высоким уровнем окислительного стресса.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №18-15-00437, продолжение (исследования биологических эффектов водорастворимого производного фуллерена), и гранта РНФ № 19-13-00411 (синтез водорастворимого производного фуллерена).

Список литературы

1. Feliciello I., Pezer Ž., Sermek A., Mađarić B.B., Ljubić S., Ugarković Đ. Satellite DNA-Mediated Gene Expression Regulation: Physiological and Evolutionary Implication. Prog Mol Subcell Biol. 2021. Vol. 60. P. 145–167.

2. Enukashvily N.I., Ponomartsev N.V. Mammalian satellite DNA: A speaking dumb. Adv. Protein Chem. Struct. Biol. 2013. Vol. 90. P. 31–65.

3. Bersani F., Lee E., Kharchenko P.V., Xu A.W., Liu M., Xega K., MacKenzie O.C., Brannigan B.W., Wittner B.S., Jung H., Ramaswamy S., Park P.J., Maheswaran S., Ting D.T., Haber D.A. Pericentromeric satellite repeat expansions through RNA-derived DNA intermediates in cancer. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2015. Vol. 112. P. 15148–15153. DOI: 10.1073/pnas.1518008112.

4. Ershova E.S., Malinovskaya E.M., Konkova M.S., Veyko R.V., Umriukhin P.E., Martynov A.V., Kutsev S.I., Veiko N.N., Kostyuk S.V. Copy number variation of human satellite III (1q12) with aging. Front. Genet. 2019c. 10:704. DOI: 10.3389/fgene.2019.00704.

5. Ershova E.S., Sergeeva V., Chausheva A.I., Zheglo D.G., Nikitina V., Smirnova T.D., Kameneva L.V., Porokhovnik L.N., Kutsev S.I., Troshin P.A., Voronov I.I., Khakina E.A., Veiko N.N., Kostyuk S.V. Toxic and DNA damaging effects of a functionalized fullerene in human embryonic lung fibroblasts. Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagenesis. 2016. Vol. 805. P. 46–57.

6. Enukashvily N.I., Donev R., Waisertreiger I.S., Podgornaya O.I. Human chromosome 1 satellite 3 DNA is decondensed, demethylated and transcribed in senescent cells and in A431 epithelial carcinoma cells. Cytogenet. Genome. Res. 2007. Vol. 118. P. 42–54. DOI: 10.1159/000106440.

7. Kraevaya O.A., Peregudov A.S., Godovikov I.A., Schurik E.V., Martynenko V.M., Shestakov A.F., Balzarini J., Schols D., Troshin P.A. Direct arylation of $C_{60}Cl_6$ and $C_{70}Cl_8$ with carboxylic acids: a synthetic avenue to water-soluble fullerene derivatives with promising antiviral activity. Chem. Commun. 2020. Vol. 56. P. 1179–1182.

8. Kovel E.S., Kicheeva A.G., Vnukova N.G., Churilov G.N., Stepin E.A., Kudryasheva N.S. Toxicity and Antioxidant Activity of Fullerenol $C_{60,70}$ with Low Number of Oxygen Substituents. Int J Mol Sci. 2021. 15; 22(12): 6382.

9. Valgardsdottir R., Chiodi I., Giordano M., Rossi A., Bazzini S., Ghigna C., Riva S., Biamonti G. Transcription of Satellite III non-coding RNAs is a general stress response in human cells. Nucleic Acids Res. 2008. Vol. 36. P. 423–434. DOI: 10.1093/nar/gkm1056.

УДК 577.3

ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ КЛЕТКИ И АКТИВНОСТЬ НЕОРГАНИЧЕСКИХ ИОНОВ

[1]Смолянинов В.В., [2]Потапова Т.В., [3]Мякишева С.Н., [1]Асланиди К.Б.

[1]Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, e-mail: kbaslanidi@gmail.com;

[2]Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва;

[3]Институт биофизики клетки РАН, Пущино

Жизненный цикл клетки многоклеточного организма состоит из эмбриональной фазы, включающей многочисленные этапы пролиферации и дифференцировки оплодотворённой яйцеклетки, фазы функционирования взрослой дифференцированной клетки и фазы запрограммированной клеточной гибели. В работе показано, что активность неорганических ионов в культуральной среде существенно влияет на все фазы жизненного цикла клетки. Эксперименты показали, что как время дифференцировки, так и время жизни минимальны при низких концентрациях ионов Na^+ в среде. В среде с pH 7,5 время дифференцировки составило 24 ч, а время жизни – 120 ч, а в среде при pH 8,2 время дифференцировки практически не изменилось, а время жизни увеличилось почти в полтора раза. Это означает, что низкое содержание ионов Na^+ и защелачивание цитоплазмы способствуют значительному увеличению продолжительности жизни клеток нейробластомы. На уровне организма полученные результаты могут способствовать подбору препаратов, влияющих на рост или гибель конкретных клеток, в частности опухолевых. Полученные результаты позволяют надеяться, что подбор культуральных сред поможет увеличивать выход продукции при выращивании различных клеток самых разных организмов.

Ключевые слова: неорганические ионы, клеточный цикл, пролиферация, дифференцировка, клеточная гибель, скорость дифференцировки, продолжительность жизни

LIFE CYCLE OF THE CELL AND THE ACTIVITY OF INORGANIC IONS

[1]Smolyaninov V.V., [2]Potapova T.V., [3]Myakisheva S.N., [1]Aslanidi K.B.

[1]Institute for Theoretical and Experimental Biophysics RAS, Pushchino, e-mail: kbaslanidi@gmail.com;

[2]Belozersky Scientific Research Institute of Physical and Chemical Biology Lomonosov MSU, Moscow;

[3]Institute for Cell Biophysics RAS, Pushchino

The life cycle of a cell in a multicellular organism consists of an embryonic phase, which includes numerous stages of proliferation and differentiation of a fertilized egg, a phase of functioning of an adult differentiated cell, and a phase of programmed cell death. The work shows that the activity of inorganic ions in the culture medium significantly affects all phases of the cell life cycle. Experiments have shown that both the differentiation time and the lifetime are minimal at low concentrations of Na^+ ions in the medium. In a medium with pH 7.5, the differentiation time was 24 h, and the life time was 120 h, and in a medium at pH 8.2, the differentiation time practically did not change, and the life time increased by almost one and a half times. This means that the low content of Na^+ ions and alkalization of the cytoplasm contribute to a significant increase in the lifespan of neuroblastoma cells. At the level of the organism, the results obtained can contribute to the selection of drugs that affect the growth or death of specific cells, in particular, tumor cells. The results obtained allow us to hope that the selection of culture media will help to increase the production yield when growing various cells of various organisms.

Keywords: inorganic ions, cell cycle, proliferation, differentiation, cell death, rate of differentiation, life span

Жизненный цикл клетки многоклеточного организма состоит из эмбриональной фазы, включающей многочисленные этапы пролиферации и дифференцировки оплодотворённой яйцеклетки, фазы функционирования взрослой дифференцированной клетки и фазы запрограммированной клеточной гибели. Покоящиеся терминально дифференцированные клетки имеют тенденцию быть сильно поляризованными, в то время как более пластичные типы клеток (стволовые клетки, эмбриональные клетки и раковые клетки) имеют тенденцию быть относительно деполяризованными [1]. Мембранный потенциал растёт в процессе дифференцировки и достигает максимума у взрослой дифференцированной клетки, а затем падает в процессе гибели по типу апоптоза [1, 2]. Если влияние ионного состава цитоплазмы на экспрессию различных генов интенсивно исследовалось уже много лет [1, 3], то влияние ионного состава внешней среды на различные фазы жизненного цикла клетки детально не исследовалось. Целью работы было исследование влияния активности неорганических ионов на разных этапах жизненного цикла клетки.

Материалы и методы исследования

В наших экспериментах определялось влияние различных культуральных сред на процессы пролиферации, дифференцировки и апоптоза [4]. В экспериментах

использовалась культура клеток нейробластомы мыши NIE-115 (клон С-1300), способной к обратимой дифференцировке и спонтанной регрессии.

Основные компоненты используемых сред представлены в таблице.

Через сутки после культивирования на среде № 2 (таблица) клетки переводили на одну из сред, представленных в таблице. Плотность посева в стандартных пластиковых флаконах составляла $1x10^4$ клеток на $см^2$. Степень морфологической дифференцировки определяли как долю клеток, образующих отростки, длина которых более чем в два раза превышала диаметр клетки. Время дифференцировки определяли как время воздействия среды, за которое доля дифференцированных клеток достигала 70 ± 10%%. Время жизни определяли как время, за которое гибель клеток достигала 85 ± 10%%.

Результаты исследования и их обсуждение

Значительные различия, представленные на рис. 1, были зарегистрированы при изменении кислотности среды от pH 7,5 до pH 8,2.

Основные компоненты используемых сред

Номера сред	Молярность, $\Sigma[c_i]$, мОсм	pH	$[Na^+]$, mM	$[K^+]$, mM	$[Ca^{2+}]$, mM	Аминокислоты, мМ	Углеводы, мМ
1*	408	8,2	185	5,40	4,30	11,2	6,6
2**	350	7,5	160	5,40	1,80	11,2	6,6
3	408	7,5	185	5,40	4,30	11,2	6,6
4	350	6,8	160	5,40	1,80	11,2	6,6
5	350	7,5	160	5,40	1,80	11,2	6,6
6	350	8,2	160	5,40	1,80	11,2	6,6
7	354	7,6	150	5,80	1,30	33,6	10,00
8	323	6,8	137	5,35	1,26	0,00	5,56
9	323	7,4	137	5,35	1,26	0,00	5,56
10	323	8,2	137	5,35	1,26	0,00	5,56
11	214	7,5	90	5,00	2,00	0,97	11,1

*К среде DMEM добавлено 10% сыворотки, 25 мМ NaCl и 2,5мМ $CaCl_2$.
**К среде DMEM добавлено 10% сыворотки.

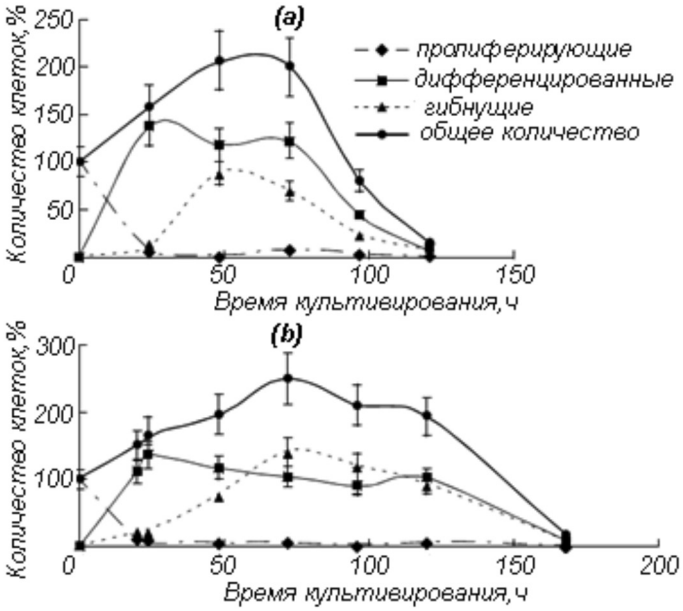


Рис. 1. Изменение количества клеток нейробластомы мыши N1E-115, выращенных в среде № 2, при замене среды (в точке t = 0 на оси времени): а – на среду № 5 (DMEM, pH 7.5; время дифференцировки – 24 ч, время жизни – 120 ч), б – на среду № 6 (DMEM, pH 8.2; время дифференцировки – 20 ч, время жизни – 168 ч)

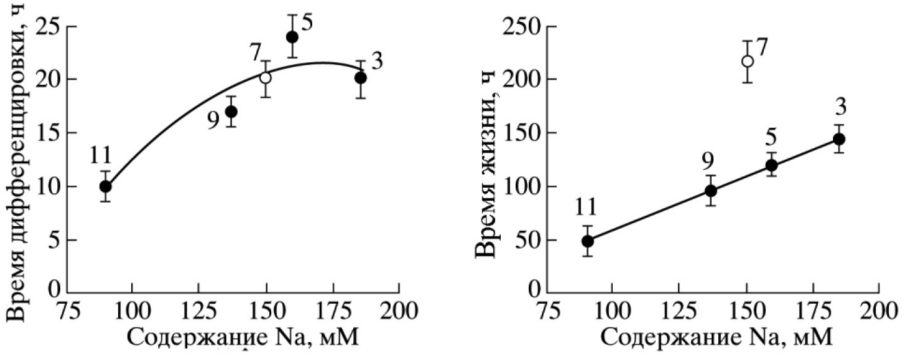


Рис. 2. Зависимость периода дифференцировки (слева) и продолжительности жизни (справа) от концентрации Na^+ в среде. Цифры рядом с точками данных соответствуют номерам сред, перечисленным в таблице

В среде № 5 при pH7,5 время дифференцировки составило 24 ч, а время жизни – 120 ч, а в среде № 6 время дифференцировки практически не изменилось, а время жизни увеличилось почти в полтора раза. Зависимости времени дифференцировки и времени жизни от содержания ионов Na^+ в культуральной среде представлены на рис. 2.

Эксперименты показали, что как время дифференцировки, так и время жизни минимальны при низких концентрациях ионов Na^+ в среде. Время дифференцировки при увеличении концентрации ионов Na^+ в среде от 100 mM до 200 mM может изменяться практически в два раза, а время жизни – почти в три раза. При изменении кислотности внешней среды от pH 7,5 до pH 8.2 время дифференцировки уменьшилось от 24 ч до 20 ч, а время жизни увеличилось с 120 ч до 168 ч.

Наши эксперименты показали значительные изменения как времени дифференцировки, так и времени жизни при изменении pH внешней среды и при изменении содержания ионов натрия. В последних публикациях рассматриваются четыре типа переносчиков ионов, регулирующих содержание ионов Na^+ и pH у глиальных клеток. Это обменники Na^+/H^+ (NHE), обменники Na^+/Ca^{2+} (NCX), котранспортеры Na^+-K^+-Cl^- (NKCC) и котранспортеры Na^+-HCO_3^- (NBC) [5, 6]. Обменники Na^+/H^+ (NHE) влияют на апоптоз, рост раковых клеток, инвазию и миграцию глиомы. Ингибирование Na^+/H^+ обменников способствует увеличению выживаемости в моделях глиомы на животных [6]. Клетки глиомы с нокдауном обменника демонстрировали значительно более медленный рост, чем контрольные клетки [7]. Сверхэкспрессия обменника усиливала пролиферацию и миграцию клеток глиобластомы [8]. Субъединица альфа1 Na^+/K^+-АТФазы экспрессируется в большинстве глиобластом активнее, чем в нормальных тканях мозга [9]. Показано, что деполяризация усиливает пролиферацию мезенхимальных стволовых клеток, полученных из жировой ткани, а гиперполяризация усиливает дифференцировку этих клеток [10].

Самые последние исследования клеток глии *in vivo* подтвердили низкое содержание ионов Na^+ во внутриклеточной среде $[Na^+]_i \approx 10$ мМ, но высокие концентрации ионов натрия Na^+ во внеклеточной среде и в крови $[Na^+]_o \approx 150$ мМ [11]. В клетках глиомы крысы *in vivo* концентрация $[Na^+]_i$ и его содержание в крови $[Na^+]_b$ не отличались от нормальной ткани, а уровень натрия во внеклеточной среде $[Na^+]_o$ был занижен. Это означает, что эндотелиальные клетки, окружающие опухоль, изменяют проницаемость гематоэнцефалического барьера для ионов Na^+. В этих условиях клетки глиомы деполяризованы относительно нормальных глиальных клеток, что свидетельствует о готовности к пролиферации [11]. Утверждается, что изменения содержания ионов натрия Na^+ в крови, в межклеточной среде или в цитоплазме *in vivo* могут рассматриваться как важный онкологический биомаркер [11].

Проведённые эксперименты показали, что при изменении кислотности внеклеточной среды от pH 8,2 до pH 7,5 время дифференцировки практически не изменилось, а время жизни уменьшилось почти в полтора раза. По-видимому, закисление цитоплазмы посредством активности Na^+/H^+ обменников способствует пролиферации раковых клеток и устойчивости лекарственным препаратам [12]. Закисление цитоплазмы астроцитов ствола мозга активирует котранспорт Na^+/HCO_3^-, который приносит Na^+

внутрь клетки. Повышение $[Na^+]_i$ активирует обменник Na^+/Ca^{2+}, что приводит к поступлению ионов Ca^{2+} в цитоплазму [13].

Это означает, что изменения pH не влияют на экспрессию генов, ответственных за процессы дифференцировки, однако высокие pH могут блокировать экспрессию генов, ответственных за апоптоз.

Наши эксперименты показали, что как время дифференцировки, так и время жизни минимальны при низких концентрациях ионов Na^+ в среде. При увеличении концентрации ионов Na^+ в среде от 100 mM до 200 mM время дифференцировки увеличивалось практически в два раза, а время жизни – почти в три раза.

Учитывая условия водно-осмотического равновесия и известное уравнение Гольдмана для потенциала на плазматической мембране [14], можно заключить, что низкому содержанию ионов Na^+ в среде будет соответствовать низкое содержание ионов Na^+ в цитоплазме. Это означает, что при низком содержании ионов Na^+ в среде клетка гиперполяризуется. В такой клетке экспрессируются гены, ответственные за процессы дифференцировки, и гены, ответственные за апоптоз. При высоком содержании ионов Na^+ в среде клетка деполяризуется и экспрессируются гены, ответственные за процессы пролиферации [1]. Основные результаты наших исследований на клетках нейробластомы недавно были подтверждены на культивируемых эпителиальных раковых клетках. Для оценки влияния неорганических ионов на пролиферацию, дифференцировку и апоптоз использовали различные культуральные смеси, в которых проницаемые ионы (Na^+, Cl^- и K^+) заменялись непроницаемыми ионами (N-метил-D-глюкамин (NMDG), глюконат, холин, SO_4^{2-}). Значения мембранных потенциалов клеток оценивали как с помощью patch clamp, так и с помощью чувствительного к напряжению красителя [15].

Таким образом, на первых этапах жизненного цикла при пролиферации и начальной дифференцировке у клеток регистрируется низкое значение мембранного потенциала, высокое содержание ионов Na^+ и благодаря работе Na^+/H^+ обменников, цитоплазма слегка защелочена. У взрослой дифференцированной клетки регистрируется высокое значение мембранного потенциала, низкое содержание ионов Na^+ и слегка закисленная цитоплазма.

На последних этапах жизни клетки развивается апоптоз или некроз, регистрируются низкие значения мембранного потенциала, высокое содержание ионов Na^+. Апоптоз приводит к ингибированию Na^+/H^+ обменников и закислению цитоплазмы. Полученные результаты позволяют надеяться, что подбор культуральных сред поможет увеличивать выход продукции при выращивании различных клеток самых разных организмов. На уровне организма полученные результаты могут способствовать подбору препаратов, влияющих на рост или гибель конкретных клеток.

Список литературы

1. Binggeli R., Weinstein R. Membrane potentials and sodium channels: hypotheses for growth regulation and cancer formation based on changes in sodium channels and gap junctions. J. Theor. Biol. 1986. Vol. 123. P. 377–401.

2. Cervera J., Pai M.P., Levin M., Mafe S. From non-excitable single-cell to multicellular bioelectrical states supported by ion channels and gap junction proteins: Electrical potentials as distributed controllers. Prog Biophys Mol Biol. 2019. Vol. 149. P. 39–53. DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2019.06.004.

3. Levin M. Bioelectric signaling: Reprogrammable circuits underlying embryogenesis, regeneration, and cancer. Cell. 2021. Vol. 84 (8). P. 1971–1989. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.034.

4. Асланиди К.Б., Мякишева С.Н., Иваницкий Г.Р. Ионная регуляция пролиферации клеток нейробластомы мыши NIE-115 in vitro. Доклады академии наук, 2008. Т. 423. № 2. С. 331–333. DOI: 10.1134/s1607672908060033.

5. Song S., Luo L., Sun B., Sun D. Roles of glial ion transporters in brain diseases. Glia. 2020. Vol. 68 (3). P. 472-494. DOI: 10.1002/glia.23699.

6. Tamtaji O.R., Mirzaei H., Shamshirian A., Shamshirian D., Behnam M., Asemi Z. New trends in glioma cancer therapy: Targeting Na(+) /H (+) exchangers. J. Cell Physiol. 2020. Vol. 235 (2). P. 658–665. DOI: 10.1002/jcp.29014.

7. Kurata T., Rajendran V., Fan S., Ohta T., Numata M., Fushida S. NHE5 regulates growth factor signaling, integrin trafficking, and degradation in glioma cells. Clin Exp Metastasis. 2019. Vol. 36 (6). P. 527–538. DOI: 10.1007/s10585-019-10001-6.

8. Pall A.E., Juratli L., Guntur D., Bandyopadhyay K., Kondapalli K.C. A gain of function paradox: Targeted therapy for glioblastoma associated with abnormal NHE9 expression. J. Cell Mol Med. 2019. Vol. 23 (11). P. 7859–7872. DOI: 10.1111/jcmm.14665.

9. Lefranc F., Kiss R. The sodium pump alpha1 subunit as a potential target to combat apoptosis-resistant glioblastomas. Neoplasia. 2008. Vol. 10 (3). P. 198–206. DOI: 10.1593/neo.07928.

10. Bhavsar M.B., Cato G., Hauschild A., Leppik L., Costa Oliveira K.M., Eischen-Loges M.J., Barker J.H. Membrane potential (Vmem) measurements during mesenchymal stem cell (MSC) proliferation and osteogenic differentiation. Peer J. 2019. Vol. 7. P. e6341. DOI: 10.7717/peerj.6341.

11. Khan M.H., Walsh J.J., Mihailović J.M., Mishra S.K., Coman D., Hyder F. Imaging the transmembrane and transendothelial sodium gradients in gliomas. Sci Rep. 2021. Vol. 11 (1). P. 6710. DOI: 10.1038/s41598-021-85925-9.

12. Aredia F., Scovassi A.I. Manipulation of Intracellular pH in Cancer Cells by NHE1 Inhibitors. Protein Pept Lett. 2016. Vol. 23 (12). P. 1123–1129. DOI: 10.2174/0929866523666161013125536.

13. Turovsky E., Theparambil S.M., Kasymov V., Deitmer J.W., Del Arroyo A.G., Gareth L., Ackland G.L., Corneveaux J.J., Allen A.N., Huentelman M.J., Kasparov S., Marina N., Gourine A.V. Mechanisms of CO2/H+ Sensitivity of Astrocytes. J, Neurosci. 2016. Vol. 36 (42). P. 10750–10758. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1281-16.2016.

14. Aslanidi K.B., Panfilov A.B. The Boyle-Convey Model Including the effect of an Electrogenic Pump for Noneexitable Cells. Mathematical Biosciences. 1986. Vol. 79. P. 45–54.

15. Bonzanni M., Payne S.L., Adelfio M., Kaplan D.L., Levin M., Oudin M.J. Defined extracellular ionic solutions to study and manipulate the cellular resting membrane potential. Biol. Open. 2020. Vol. 9 (1). P. bio048553. DOI: 10.1242/bio.048553.

УДК 571.27

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ МАКРОФАГОВ: ПРИМЕНЕНИЕ СТИМУЛИРОВАННОЙ КИНЕТИЧЕСКОЙ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ

[1]Созарукова М.М., [2]Проскурнина Е.В.

[1]ФГБУН «Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова» Российской академии наук, Москва, e-mail: s_madinam@bk.ru;

[2]ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва, e-mail: proskurnina@gmail.com

Макрофаги – клетки иннатного иммунитета, продуцирующие активные формы кислорода, которые выполняют прежде всего сигнальную функцию и участвуют в активации, поляризации и гибели макрофагов. Разработка протоколов оценки радикал-продуцирующей функции макрофагов имеет значение для изучения их физиологии в норме и при патологии. Продемонстрирована возможность использования метода кинетической хемилюминесценции для оценки радикал-продуцирующей функции культивируемых макрофагов. Первичная культура макрофагов получена из крови трех практически здоровых доноров по стандартной методике. Предложен протокол, основанный на регистрации полной кинетики хемилюминесценции, стимулированной как единичными стимулами форбол-12-миристат-13 ацетатом (ФМА) и *N*-формилметионил-лейцил-фенилаланином (фМЛФ), так и двумя последовательными стимулами в присутствии люминола. Показано, что ответ на единичные стимулы характеризуется аналогичной кинетикой и сопоставимыми амплитудами, что позволяет выбрать любой из имеющихся стимулов, а двухстадийная последовательная стимуляция ФМА + фМЛФ не имеет преимуществ перед одностадийной стимуляцией. С помощью многоканального хемилюминометра целесообразно провести регистрацию кинетики спонтанной и стимулированной хемилюминесценции в течение не менее 450 мин. В качестве аналитического параметра может быть использована площадь под кривой хемилюминесценции и коэффициент стимуляции, равный отношению светосуммы стимулированной хемилюминесценции к светосумме спонтанного ответа.

Ключевые слова: культивируемые макрофаги, активные формы кислорода, хемилюминесценция

FUNCTIONAL ACTIVITY OF CULTURED MACROPHAGES: APPLICATION OF STIMULATED KINETIC CHEMILUMINESCENCE

[1]Sozarukova M.M., [2]Proskurnina E.V.

[1]Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, e-mail: s_madinam@bk.ru;

[2]Research Centre for Medical Genetics, Moscow, e-mail: proskurnina@gmail.com

Macrophages are cells of innate immunity that produce reactive oxygen species, which primarily perform a signaling function and are involved in activation, and polarization, and death of macrophages. The development of protocols for assessing the radical-producing function of macrophages is important for the study of their physiology in health and disease. The potential of the method of kinetic chemiluminescence to assess the radical-producing function of cultured macrophages has been demonstrated. The primary culture of macrophages was obtained from the blood of three healthy donors using a standard technique. A protocol was proposed based on recording the complete kinetics of chemiluminescence stimulated by both single stimuli phorbol-12-myristate-13 acetate (PMA) and N-formylmethionyl-leucyl-phenylalanine (fMLF), and by two sequential stimuli in the presence of luminol. It was shown that the response to single stimuli is characterized by similar kinetics and comparable amplitudes, which makes it possible to choose any of the available stimuli; and two-stage sequential stimulation with PMA + fMLF has no advantages over one-stage stimulation. Using a multichannel chemiluminometer, it is expedient to record the kinetics of spontaneous and stimulated chemiluminescence for at least 450 minutes. The area under the chemiluminescence curve and the stimulation coefficient equal to the ratio of the light sum of the stimulated chemiluminescence to the light sum of the spontaneous response can be used as an analytical parameter.

Keywords: cultured macrophages, reactive oxygen species, chemiluminescence

Стимулированные макрофаги продуцируют активные формы кислорода (АФК) за счет активации НАДФН-оксидазы, которая собирается на плазматической мембране из цитозольных белковых компонентов [1]. Помимо бактерицидного эффекта АФК участвуют в передаче сигналов макрофагов, которые контролируют дифференцировку, активацию, поляризацию и гибель моноцитов и макрофагов [2, 3]. Популяции макрофагов являются гетерогенными, что связано с их возможностью поляризоваться в различные функциональные фенотипы в зависимости от внешних сигналов, при этом ключевое значение имеют АФК, что дает возможность воздействия на этот процесс при помощи антиоксидантов [4]. Избыточная продукция макрофагальных АФК может вызвать поражение ткани [5], при новой коронавирусной инфекции этот процесс имеет большое патогенетическое значение [6]. Таким образом, изучение радикал-продуцирующей

активности макрофагов имеет большое теоретическое и практическое значение.

Для определения уровня продукции активных форм кислорода давно используется метод хемилюминесценции в присутствии люминола [7]. В качестве стимулов макрофагов предложены форбол-12-миристат-13-ацетат [8], *N*-формилметионил-лейцилфенилаланин (фМЛФ) [9]. Макрофагальные активные формы кислорода представлены прежде всего супероксидным анион-радикалом и пероксидом водорода, а также митохондриальными АФК [10]. Хемилюминесцентные методы широко используются для оценки продукции АФК нейтрофилами. В подавляющем большинстве случаев используется одностадийная стимуляция, хотя двухстадийная стимуляция (ФМА и фМЛФ) позволяет значительно повысить чувствительность и информативность хемилюминометрической методики [11].

Цель исследования – изучить возможности одностадийной и двухстадийной стимуляции для изучения радикал-продуцирующей функции культивированных макрофагов и предложить параметры, характеризующие указанную функцию.

Материалы и методы исследования

Получение культуры макрофагов человека. Первичная культура моноцитов-макрофагов была получена из крови трех практически здоровых доноров (Д.1, Д.2, Д.3) в возрасте 40 ± 3 лет. Кровь была отобрана из локтевой вены после 12 ч голодания в вакуумные пробирки с гепарином лития (12–30 МЕ). Форменные элементы крови осаждали центрифугированием при 1600 об/мин (центрифуга Beckman GRP, США) с последующим отделением плазмы. Клетки суспендировали в изотоническом фосфатном буферном растворе (рН 7,4). Лейкоцитарную фракцию выделяли в градиенте плотности фиколла (ПанЭко, плотность 1,077 г/см^3), центрифугируя в течение 30 мин при 1600 об/мин. Полученные клетки трижды отмывали фосфатным буферным раствором (1600 об/мин, 10 мин) и суспендировали в среде X-Vivo 10 (Lonza, Бельгия). Количество клеток подсчитывали в камере Горяева. Клетки рассаживали на стекла в чашки Петри (10^5 клеток на 1 см^2 поверхности) и выдерживали в CO_2-инкубаторе (5% CO_2, 95% воздуха) при температуре 37 °С и 100% влажности не менее 12 ч. После удаления неадгезировавших клеток оставшиеся моноциты-макрофаги инкубировали в течение суток в среде X-Vivo 10 в CO_2-инкубаторе. Полученную клеточную культуру трехкратно промывали фосфатным буферным раствором и суспендировали (10^6 клеток в 1 мл) в растворе Хенкса (рН 7,4), содержащем 2 ммоль/л HEPES.

Хемилюминесцентный метод оценки радикал-продуцирующей функции макрофагов. Для изучения радикал-продуцирующей функции макрофагов использовали различные протоколы в присутствии люминола как активатора. № 1 – спонтанная хемилюминесценция, № 2 – хемилюминесценция, стимулированная форбол-12-миристат-13-ацетатом (ФМА), № 3 – хемилюминесценция, стимулированная *N*-формилметионил-лейцил-фенилаланином (фМЛФ), № 4 – последовательная стимуляция ФМА и фМЛФ.

Регистрацию хемилюминесценции проводили на хемилюминометре Lum-1200 («ДИСофт, Россия), позволяющем одновременно проводить анализ в 12 кюветах. В кювету, содержащую раствор Хенкса, стабилизированный HEPES (450 мкл) и люминол (конечная концентрация 45 мкМ) (все реагенты Sigma-Aldrich, США) помещали 100 мкл культуры макрофагов (100 тыс. клеток) и регистрировали спонтанную хемилюминесценцию в течение 10 мин, затем вносили 50 мкл дистиллированной воды (протокол № 1), или ФМА (50 нг/мл) (протокол № 2), или фМЛФ, (10 мкМ) (протокол № 3), или праймирующий стимул ФМА (50 нг/мл) (протокол № 4). После 15 мин инкубации в кювету № 4 вносили второй стимул фМЛФ (10 мкМ). Хемилюминограммы регистрировали не менее 450 мин. Макрофаги одного донора анализировали одновременно по четырем протоколам в трех повторах. Рассчитывали амплитуду ответа (максимальное значение хемилюминесценции) и светосумму сигнала (площадь под кривой), пропорциональную количеству АФК, продуцируемых макрофагами.

Результаты исследования и их обсуждение

Спонтанная хемилюминесценция в присутствии люминола характеризует базальную (фоновую) радикал-продуцирующую активность макрофагов, при этом свечение отражает прежде всего продукцию пероксида водорода. Хемилюминограммы приведены на рис. 1.

Из данных следует, что спонтанная хемилюминесценция развивается в течение длительного времени (более 7 ч), хемилюминограмма имеет вид кривой с максимумом, причем кинетика для разных доноров различается. Для количественной оценки этой функции целесообразно проводить интегрирование всей кривой и вычислять как общие, так и удельные (деленные на число макрофагов) показатели (табл. 1).

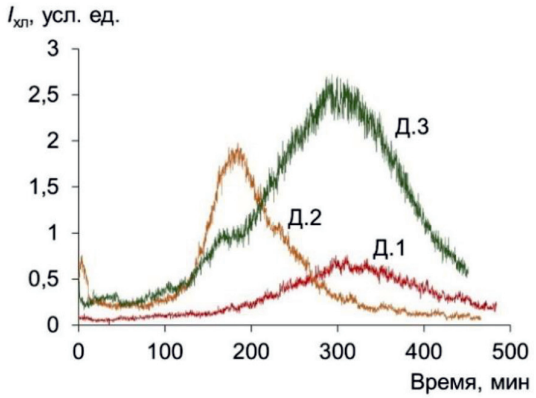


Рис. 1. Спонтанная хемилюминесценция культивируемых макрофагов трех доноров в присутствии люминола

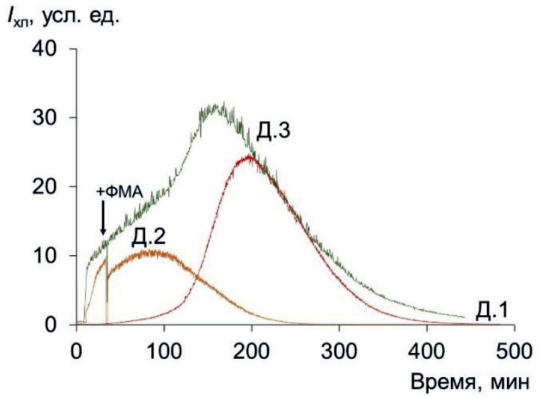


Рис. 2. ФМА-индуцированная хемилюминесценция макрофагов трех доноров; стрелкой показан момент внесения стимула

Таблица 1

Параметры, рассчитываемые из хемилюминограммы: амплитуда ответа $I_{сп}$, светосумма $S_{сп}$, рассчитанная за 450 мин, и соответствующие удельные величины $I^*_{сп}$, $S^*_{сп}$. Приведены средние из трех параллельных измерений

№ пробы	Число макрофагов в кювете, $\times10^{-4}$, кл	$I_{сп}$, $\times10^{-3}$, имп/с	$S_{сп}$, $\times10^{-3}$, имп/с	$I_{сп}$*, $\times10^{-3}$, имп/с	$S_{сп}$*, $\times10^{-3}$, имп/с
1	10,0	0,76	8201	0,01	82,0
2	100,0	1,98	14337	0,02	14,3
3	25,0	2,72	31680	0,11	126,7

Таблица 2

Параметры, рассчитываемые из хемилюминограммы: амплитуда ответа $I_{ФМА}$, светосумма $S_{ФМА}$, рассчитанная за 450 мин, соответствующие удельные величины $I^*_{ФМА}$, $S^*_{ФМА}$, а также коэффициенты усиления по отношению к спонтанной активности. Приведены средние из трех параллельных измерений

№ пробы	Число макрофагов, $\times10^{-4}$, кл	$I_{ФМА}$, $\times10^{-3}$, имп/с	$S_{ФМА}$, $\times10^{-3}$, имп/с	$I_{ФМА}$*, $\times10^{-3}$, имп/с	$S_{ФМА}$*, $\times10^{-3}$, имп/с	$K_{ФМА/сп}$= $S_{ФМА}/S_{сп}$
1	10,0	24,82	186902	2,48	18690	22,8
2	100,0	10,97	83414	0,11	834	5,8
3	25,0	32,77	365509	1,31	14620	11,5

ФМА-стимулированная хемилюминесценция так же, как и спонтанная, развивается в течение примерно такого же длительного времени, но характеризуется на 1–2 порядка большей интенсивностью (рис. 2, табл. 2).

Полный ответ на фМЛФ развивается в течение такого же времени, как и спонтанный ответ (порядка 400 мин), однако пиковое значение достигается несколько быстрее (за 100–200 мин) (рис. 3). Кинетика ответа на фМЛФ аналогична кинетике ответа на ФМА, однако интенсивность ответа в несколько раз меньше (табл. 3).

Хемилюминограммы ответа макрофагов с двойной последовательной стимуляцией приведены на рис. 4. Применение второго стимула приводит не приводит к увеличению амплитуды и светосуммы ответа (табл. 4). Коэффициенты усиления ФМА и фМЛФ сопоставимы по порядку величины, а двойная стимуляция даже приводит к снижению ответа по сравнению с одностадийной стимуляцией.

К основным результатам работы можно отнести следующие факты: 1) ответ на единичные стимулы ФМА или фМЛФ характеризуется аналогичной кинетикой и сопоставимыми интенсивностями; 2) двухстадийная стимуляция не имеет преимуществ перед одностадийной.

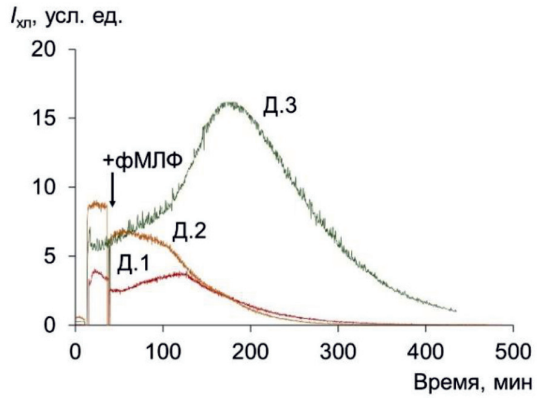


Рис. 3. ФМЛФ-индуцированная хемилюминесценция макрофагов трех доноров; стрелкой показан момент внесения стимула

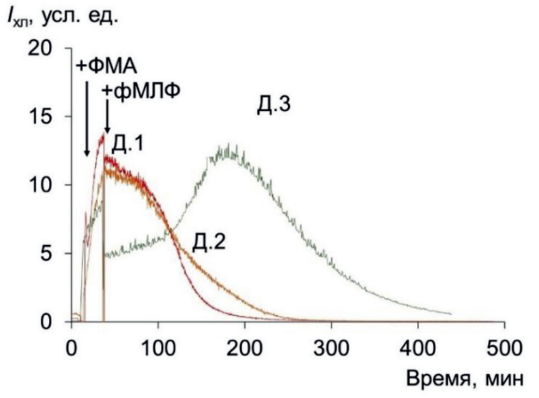


Рис. 4. Хемилюминесценция макрофагов трех доноров с двухстадийной последовательной стимуляцией ФМА+фМЛФ; стрелками показаны моменты внесения стимулов

Таблица 3

Параметры, рассчитываемые из хемилюминограммы: амплитуда ответа $I_{фМЛФ}$, светосумма $S_{фМЛФ}$, рассчитанная за 450 мин, соответствующие удельные величины $I^*_{фМЛФ}$, $S^*_{фМЛФ}$, а также коэффициенты усиления по отношению к спонтанной активности. Приведены средние из трех параллельных измерений

№ пробы	Число макрофагов, $\times10^{-4}$, кл	$I_{фМЛФ}$, $\times10^{-3}$, имп/с	$S_{фМЛФ}$, $\times10^{-3}$, имп/с	$I_{фМЛФ}^*$, $\times10^{-3}$, имп/с	$S_{фМЛФ}^*$, $\times10^{-3}$, имп/с	$K_{фМЛФ/сп} = S_{фМЛФ}/S_{сп}$
1	10,0	4,07	37034	0,41	3703	4,5
2	100,0	9,09	57961	0,09	579	4,0
3	25,0	18,71	200292	0,75	8011	6,3

Таблица 4

Параметры, рассчитываемые из хемилюминограммы: амплитуда ответа $I_{ФМА+фМЛФ}$, светосумма $S_{ФМА+фМЛФ}$, рассчитанная за 450 мин, соответствующие удельные величины $I_{ФМА+фМЛФ}^*$, $S_{ФМА+фМЛФ}^*$, а также коэффициенты усиления по отношению к спонтанной активности. Приведены средние из трех параллельных измерений

№ пробы	Число макрофагов, $\times10^{-4}$, кл	$I_{ФМА+фМЛФ}$, $\times10^{-3}$, имп/с	$S_{ФМА+фМЛФ}$, $\times10^{-3}$, имп/с	$I_{ФМА+фМЛФ}^*$, $\times10^{-3}$, имп/с	$S_{ФМА+фМЛФ}^*$, $\times10^{-3}$, имп/с	$K_{ФМА+фМЛФ/сп} = S_{ФМА+фМЛФ}/S_{сп}$
1	10,0	12,13	113114	1,18	8095	
2	100,0	11,48	74462	0,11	744	5,2
3	25,0	14,50	152069	0,58	6082	4,8

Такой отклик макрофагов отличается от ответа нейтрофилов на стимулы, где ответ на ФМА и фМЛФ характеризуется различной кинетикой, а двойная последовательная стимуляция в присутствии люминола приводила к значительному (на порядки) увеличению интенсивности ответа нейтрофилов по сравнению с единичным стимулом ФМА или фМЛФ [12]. Усиление ответа на рецепторный стимул (фМЛФ) является результатом праймирования первым стимулом ФМА, который проникает в клетку путем диффузии и стимулирует протеинкиназный путь сборки НАДФН-оксидазы [13]. В макрофагах иные механизмы праймирования и активации [14], что приводит к различиям в ответе на стимулы и в кинетике этого ответа.

В работе для анализа активности макрофагов предложены протоколы, которые были ранее разработаны для анализа функциональной активности нейтрофилов. Одновременная реализация этих протоколов позволит провести анализ в идентичных условиях, что даст возможность адекватно сравнить радикал-продуцирующую ак-

тивность нейтрофилов и культивируемых макрофагов, полученных из одной пробы крови. В перспективе целесообразно применить описанные протоколы для изучения активности моноцитов крови в сравнении с активностью культивируемых макрофагов.

Заключение

Предложен протокол оценки радикалпродуцирующей функции культивируемых макрофагов с использованием метода кинетической хемилюминесценции с единичным стимулом (ФМА или фМЛФ) в присутствии люминола. В качестве аналитического параметра целесообразно использовать площадь под кривой хемилюминесценции, регистрируемой не менее 450 мин.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, тема № 0400-2020-008.

Список литературы

1. Manea A., Manea S.A., Gan A.M., Constantin A., Fenyo I.M., Raicu M., Muresian H., Simionescu M. Human monocytes and macrophages express NADPH oxidase 5; a potential source of reactive oxygen species in atherosclerosis. Biochem Biophys Res Commun. 2015. Vol. 461. No. 1. P. 172–179.

2. Tavakoli S., Asmis R. Reactive oxygen species and thiol redox signaling in the macrophage biology of atherosclerosis. Antioxid Redox Signal. 2012. Vol. 17. No. 12. P. 1785–1795.

3. Covarrubias A., Byles V., Horng T. ROS sets the stage for macrophage differentiation. Cell Res. 2013. Vol. 23. No. 8. P. 984–985.

4. Tan H.Y., Wang N., Li S., Hong M., Wang X., Feng Y. The Reactive Oxygen Species in Macrophage Polarization: Reflecting Its Dual Role in Progression and Treatment of Human Diseases. Oxid Med Cell Longev. 2016. Vol. 2016. P. 2795090.

5. Zaloudikova M. [NADPH-oxidase and the reactive oxygen species production by macrophages]. Cesk Fysiol. 2012. Vol. 61. No. 2. P. 51–56.

6. Otsuka R., Seino K.I. Macrophage activation syndrome and COVID-19. Inflamm Regen. 2020. Vol. 40. P. 19.

7. Allen R.C., Loose L.D. Phagocytic activation of a luminol-dependent chemiluminescence in rabbit alveolar and peritoneal macrophages. Biochem Biophys Res Commun. 1976. Vol. 69, № 1. P. 245–52.

8. Beall G.D., Repine J.E., Hoidal J.R., Rasp F.L. Chemiluminescence by human alveolar macrophages: stimulation with heat-killed bacteria or phorobol myristate acetate. Infect Immun. 1977. Vol. 17. No. 1. P. 117–20.

9. Holian A., Daniele R.P. Stimulation of oxygen consumption and superoxide anion production in pulmonary macrophages by N-formyl methionyl peptides. FEBS Lett. 1979. Vol. 108. No. 1. P. 47–50.

10. Hall C.J., Sanderson L.E., Crosier K.E., Crosier P.S. Mitochondrial metabolism, reactive oxygen species, and macrophage function-fishing for insights. J Mol Med (Berl). 2014. Vol. 92. No. 11. P. 1119–1128.

11. Образцов И.В., Годков М.А., Полимова А.М., Дёмин Е.М., Проскурнина Е.В., Владимиров Ю.А. Оценка функциональной активности нейтрофилов цельной крови методом двухстадийной стимуляции: новый подход к хемилюминесцентному анализу // Российский иммунологический журнал. 2015. Т. 9 (18). № 4. С. 418–425.

12. Образцов И.В., Годков М.А., Кулабухов В.В., Владимирова Г.А., Измайлов Д.Ю., Проскурнина Е.В. Ранняя диагностика ожогового сепсиса: опыт применения нового хемилюминесцентного метода анализа функциональной активности нейтрофилов с двухстадийной стимуляцией // Общая реаниматология. 2017. Т. XIII. № 1. С. 40–51.

13. Vogt K.L., Summers C., Chilvers E.R., Condliffe A.M. Priming and de-priming of neutrophil responses in vitro and in vivo. Eur J Clin Invest. 2018. V. 48 Suppl 2. P. e12967.

14. Glass C.K., Natoli G. Molecular control of activation and priming in macrophages. Nat Immunol. 2016. Vol. 17. No. 1. P. 26–33.

УДК 57.085.23:581.192

ФИТОХИМИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РАСТЕНИЙ КЫРГЫЗСТАНА РОДА HEDYSARUM

Умралина А.Р., Конурбаева Р.У.

Институт биотехнологии Национальной академии наук Кыргызской Республики, Бишкек, e-mail: rahat-k@list.ru

В статье приводятся данные по изучению растений рода Hedysarum, произрастающих на территории Кыргызстана, по накоплению флавоноидов и антиоксидантной активности (АОА) в нативных растениях и культурах *in vitro* – изолированных и трансформированных корнях (*hairy roots*). В работе были изучены образцы 17 видов растений, собранных на разных территориях Кыргызстана. Из 17 протестированных видов наибольший эффект наблюдался у *H. neglectum, H. flavescens* и *H. kirghisorum*. Самые высокие значения АОА были обнаружены у *H. flavescens* как в цветках, так и в листьях. Высокая АОА в цветках отмечена у *H. dmitrievae*. Показано преимущество использования культуры тканей при продуцировании формононетина, что свидетельствует о перспективности применения биотехнологических методов, позволяющих сохранять естественные запасы растений. Содержание формононетина в *hairy roots* превышало его содержание в нативных растениях более чем в 4 раза у *H. denticulatum*, более чем в 7 раз у *H. parvum*, более чем в 22 раза у *H. santalaschii*, а также в нативных корнях *H. daraut-kurganicum* обнаружены следы формононетина.

Ключевые слова: Hedysarum, флавоноиды, АОА, *hairy roots*, формононетин

PHYTOCHEMICAL AND BIOLOGICAL STUDIES OF PLANTS OF KYRGYZSTAN INGENUS HEDYSARUM

Umralina A.R., Konurbaeva R.U.

Institute of Biotechnology of the National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic, Bishkek, e-mail: rahat-k@list.ru

The article provides data on the study of plants of the genus Hedysarum growing on the territory of Kyrgyzstan – on the accumulation of flavonoids and antioxidant activity (AOA) in native plants and in vitro cultures – *hairy roots*. In the work, samples of 17 plant species collected in different territories of Kyrgyzstan were studied. Of the 17 species tested, the greatest effect was observed in *H. neglectum, H. flavescens*, and *H. kirghisorum*. The highest AOA values were found in *H. flavescens*, both in flowers and leaves. High AOA in flowers was noted in *H. dmitrievae*. The advantage of using tissues in the production of formononetin is shown, which indicates the promising use of biotechnological methods that allow natural reserves of plants. The content of formononetin in the haity roots exceeded its content in native ones, and was more than 4 times in *H. denticulatum*, more than 7 times in *H. parvum*, more than 22 times in *H. santalaschii*, and in the native roots of *H. daraut -kurganicum*, traces of formononetin are found.

Keywords: Hedysarum, flavonoids, AOA, *hairy roots*, formononetin

Всестороннее изучение дикорастущей флоры вызвано наличием ряда существенных проблем как в области сохранения биоразнообразия видов, так и в области фитохимических, фармакологических и биотехнологических исследований [1, 2]. Большое внимание уделяется изучению роли копеечников [3–5], в том числе и в традиционной медицине [6] Монголии, Китая, решаются проблемы таксономии [7] и биохимии рода [8–10]. За последние десятилетия при помощи различных методов хроматографии из растений рода Hedysarum стали известны 155 соединений, которые показали предполагаемую активность: антиоксидантную, активность против старения, регулирование активности иммунной системы, противоопухолевую активность [11].

Значительный интерес с этой точки зрения представляет род Hedysarum флоры Кыргызстана – один из многочисленных родов, включает 34 вида [12], что составляет 17% мирового видового разнообразия, среди которых высок процент эндемиков. Особенности климатических и экологических условий в Республике, разнообразие географических зон способствуют биосинтезу и накоплению в растениях физиологически активных соединений. Их видовой состав, ареал, биоморфологические характеристики впервые были представлены в монографии Султановой [13].

При поддержке Королевского ботанического сада, Кью нами созданы при Институте биотехнологии НАН КР семенной банк [14, 15], коллекции культуры тканей и изолированных органов растений дикорастущей флоры, где хранятся коллекции рода Hedysarum (www.plant-biotech.kg).

Целью данного исследования было провести скрининг на содержание флавоноидов и АОА в нативных растениях и культурах *in vitro – hairy roots*.

Материалы и методы исследования

Было исследовано 17 видов растений рода Hedysarum из коллекции семенного банка, половина видов имеет статус эндемиков. Два вида – *H. chaitocarpum* и *H. montanum* – были продублированы в сравнительном изучении и взяты из двух разных географических зон. Местонахождение и природоохранный статус испытуемых растений приведены в табл. 1. Использовались гербарный материал, а также культуры тканей *in vitro – hairy roots* для определения количественного содержания флавоноидов для каждого вида и распределения их по частям растения, а также расчета АОА.

В образцах определяли сумму флавоноидов и антиоксидантную активность (АОА). Для расчета суммарного содержания флавоноидов использовали экспресс-методику [16, 17]. АОА определяли двумя методами – в соответствии с описанием патентного изобретения Т.В. Максимовой и иных [18] и с использованием DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом).

На хроматографе Agilent 1260 Infinity методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) определяли содержание изофлавона (формононетина) в экстрактах растений. Для анализа использовались нативные корни и *hairy roots* 4 видов растений рода Hedysarum из коллекции трансформированных корней копеечников, которые ранее были получены лабораторией Института биотехнологии растений НАН КР. Калибровку хроматографа проводили по стандарту формононетину с использованием колонки Eclipse Plus C18, 5 µm, 4,5 x 250 мм.

Результаты исследования и их обсуждение

Большее накопление флавоноидов отмечали в листьях по сравнению с другими частями растений, исключением был вид *H. flavescens*, у которого в цветках содержание флавоноидов превышало их содержание в листьях, данные представлены в табл. 1. Из 17 испытуемых видов наибольший эффект отмечен у *H. neglectum, H. flavescens* и *H. kirghisorum.* При сопоставлении одних и тех же видов, произрастающих в разных географических зонах (*H. chaitocarpum* и *H. montanum*), было отмечено, что количество флавоноидов существенно различалось. Это соответствует данным о том, что различия в химическом составе могут иметь место в пределах одного и того же вида в зависимости от географического происхождения [19].

Таблица 1

Содержание флавоноидов и АОА растений рода Hedysarum

	Вид	Природо-охранный статус*	Местонахождение	Часть растения	Сумма флавоноидов,%	АОА, мг кверцетина/г сухого в-ва
1	*Hedysarum chaitocarpum* Regel et Schmalh	E,KRB,VU	Чаткальский хребет, Сары-Челекский заповедник, ущелье реки Ходжа-Ата	листья	1,60 ± 0,03	29,09 ± 0,8
				стебли	0,36 ± 0,02	7,15 ± 0,2
				корни	0,05 ± 0,0	9,34 ± 0,3
			Ферганский хребет, ущелье р. Кугарт	листья	3,62 ± 0,04	31,08 ± 0,5
				цветки		2,52 ± 0,07
				стебли	0,21 ± 0,02	7,06 ± 0,03
				корни	0,11 ± 0,01	9,29 ± 0,3
2	*Hedysarum cumuschtanicum* B. Sultanova	E,VU	Таласский хребет, ущелье реки Кумуштаг	листья	2,52 ± 0,07	29,77 ± 0,4
				цветки	1,12 ± 0,01	21,06 ± 0,5
3	*Hedysarum daraut-kurganicum* B. Sultanova	E,VU	Хребет Кавак-Тоо, окрестности села Мин-Куш	листья	1,74 ± 0,05	26,32 ± 0,01
				цветки	0,91 ± 0,02	14,39 ± 0,6
				стебли	1,07 ± 0,06	18,41 ± 0,8
				корни	0,09 ± 0,01	7,82 ± 0,3
4	*Hedysarum denticulatum* Regel	SE	Алайский хребет, ущелье р. Оксу	листья	3,72 ± 0,04	38,76 ± 0,5
				стебли	0,79 ± 0,01	13,49 ± 0,04
				корни	0,53 ± 0,01	26,31 ± 1,5
5	*Hedysarum dmitrievae* Bajt	SE	Пскемский хребет, ущелье реки Кара-Корум	листья	3,22 ± 0,08	**38,03 ± 0,7**
				цветки	2,50 ± 0,03	**33,79 ± 0,7**
				стебли	1,99 ± 0,02	19,25 ± 1,1
				корни	0,24 ± 0,02	11,31 ± 0,1
6	*Hedysarum enaffae* B. Sultanova	E,VU	Южный макросклон хребта Кунгей Ала-Тоо, бас. р. Тору – Айгыр	листья	1,63 ± 0.02	37,18 ± 1.9
				цветки	0,96 ± 0,02	25,00 ± 1.3

Окончание табл. 1

	Вид	Природо-охранный статус*	Местонахождение	Часть растения	Сумма флавоноидов,%	АОА, мг кверцетина/г сухого в-ва
7	*Hedysarum ferganensis* Korsh.	SE	Между хребтом Ак-Шийрак и Ферганским хребтом, перевал Ой-Кайын	листья	2,33 ± 0,06	29,08 ± 0,5
				цветки	1,38 ± 0,02	21,72 ± 0,6
				стебли	1,04 ± 0,02	13,52 ± 0,3
				корни	0,11 ± 0,01	7,94 ± 0,1
8	*Hedysarum flavescens*Regel. et Schmalh	SE	Ферганский хребет, перевал Урумбаш	листья	**5,86 ± 0,03**	**40,45 ± 0,3**
				цветки	**8,19 ± 0,09**	**48,32 ± 0,9**
				стебли	1,64 ± 0,04	17,47 ± 0,5
9	*Hedysarum gypsaceum* Korotk	SE	Чаткальский хребет, перевал Джеде-Бель	листья	0,97 ± 0,03	34,50 ± 1,9
				стебли	0,10 ± 0,01	7,84 ± 0,4
				корни	0,11 ± 0,01	8,38 ± 0,03
10	*Hedysarum issykulensis* E. Nikit.	х.ц.	Терскей Ала-Тоо, долина реки Конурулен, близ с. Конурулен	листья	1,68 ± 0,04	22,13 ± 1,0
				стебли	1,33 ± 0,04	23,87 ± 1,3
				корни	0,69 ± 0,1	9,68 ± 0,2
11	*Hedysarum neglectum* Ledeb.	шр	Ферганский хребет, между с. Кош- Дюбе и перевалом Шордобель	листья	**8,04 ± 0,02**	**46,33 ± 1,6**
				цветки	4,11 ± 0,08	31,51 ± 1,1
				стебли	3,35 ± 0,1	20,69 ± 0,2
12	*Hedysarum kirghisorum* B. Fedtsch.	SE	Долина реки Инылчек близ березовой рощи	листья	**4,59 ± 0,07**	**40,67 ± 2,1**
				стебли	1,27 ± 0,1	19,57 ± 0,9
13	*Hedysarum montanum* B. Fedtsch.	SE	Хреб. Тахталык, близ с. Тахталык	листья	1,85 ± 0,05	27,38 ± 1,9
				цветки	1,42 ± 0,02	24,24 ± 0,9
				стебли	0,56 ± 0,01	11,70 ± 0,5
				корни	0,18 ± 0,04	9,36 ± 0,2
			Чуйсккая область, северный макросклон, хребет Кыргызского Ала-Тоо Бассейн реки Аламедин	листья	2,28 ± 0,03	29,19 ± 0,8
				стебли	0,63 ± 0,01	
14	*Hedysarum songoricum* B. Fedtsch.	SE	Хребет Кавак-Тоо, окрестности села Мин-Куш	листья	2,20 ± 0,01	34,08 ± 1,8
				цветки	1,46 ± 0,02	25,95 ± 1.4
				стебли	1,06 ± 0,02	13,67 ± 0,3
15	*Hedysarum parvum* B. Sultanova	E,EN	Пскемский хребет, ущелье реки Кара-Корум	листья	1,81 ± 0,1	28,52 ± 1,4
				цветки	0,85 ± 0,02	21,94 ± 0,4
				стебли	0,23 ± 0,01	10,83 ± 0,4
				корни	0,21 ± 0,02	16,78 ± 0,1
16	*Hedysarum santalaschi* B. Fedtsch.	E,VU	Пскемский хребет, ущелье реки Кара-Корум	листья	2,18 ± 0,03	30,04 ± 0,6
				цветки	1,79 ± 0,01	31,47 ± 0,9
				стебли	0,39 ± 0,02	9,29 ± 0,3
				корни	–	7,06 ± 0,03
17	*Hedysarum turkestanicum* Regel et Schmalh	E,VU	Южные отроги Чаткальского хребта близ пос. Шекафтар	листья	1,40 ± 0,01	28,54 ± 0,3

Примечание. *E – эндемичный вид; SE – субэндемичный вид; VU – вид находится под риском стать вымирающим; EN – вымирающий вид; х.ц. – хозяйственно-ценный вид; шр – широко распространенный вид; KRB – вид, находящийся в Красной книге.

Результаты определения АОА двумя методами представлены в табл. 1 и на рис. 1. Следует отметить, что наблюдалась определенная корреляция между данными, полученными в обоих экспериментах. Наивысшие показатели АОА были выявлены у *H. flavescens*, как в цветках, так и в листьях. Высокая АОА в цветках была отмечена у *H. dmitrievae*.

Определенный интерес представляют изучение компонентов флавоноидной природы не только в нативных растениях, но и в тканях растений Hedysarum и проведение сравнительного анализа гербарного материала и культур тканей. В работе были использованы культуры *hairy roots* из коллекции банка семян Института биотехнологии [20].

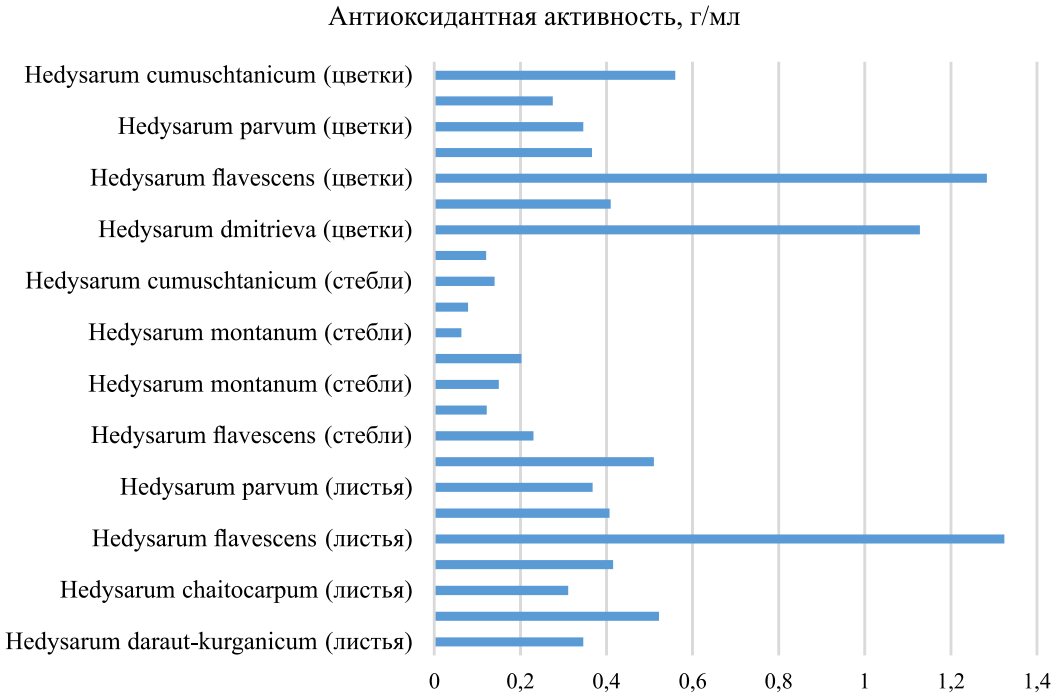


Рис. 1. Сравнительный анализ АОА в разных частях растений видов копеечника с использованием DPPH

Ранее нами совместно с И.Н. Кузовкиной (ИФР РАН) был проведен анализ корней эндемика *H. enaffae* (*hairy root* and *isolated root*) на базе Института фармакогнозии Университета им. Семмельвайса (Будапешт, Венгрия) [21]. Результаты ВЭЖХ анализа корней *H. enaffae* показали, что доминирующим компонентом культивируемых *in vitro* корней *hairy roots* являются изофлавоны – производные формононетина. Обнаруженные четко выраженные пики веществ соответствуют двум изофлавонам, которые были идентифицированы на основании данных ВЭЖХ и UV-спектроскопии и подтверждены данными ^{1}H- и ^{13}C ЯМР-спектрометрии, проведенной в Институте химической экологии им. Макса Планка в Йене (Германия). Результаты хроматографии показали, что доминирующим флавоноидом *hairy roots* and *isolated roots* копеечника является изофлавон ононин.

Изофлавон ононин является гликозидом агликона формононетина, который в свободном виде не обнаружен в корневых культурах *H. enaffae* (в отличие от *hairy roots* of *H. theinum)*. Поскольку основным компонентом культивируемых корней *H. enaffae* является ононин, было определено количественное содержание этого изофлавона в *hairy roots*. На основании данных ВЭЖХ по площади пиков была вычислена концентрация ононина в этих двух культурах. Результаты показали, что концентрация ононина в *hairy roots* составляет 10,91 мг/г сухого веса корней (или 1,1 %), в то время как в изолированных корнях концентрация изофлавона – 0,945 мг/г сухого веса (или 0,095 %), т.е. на один порядок ниже.

Результаты приведены в табл. 2.

Таблица 2

Содержание формононетина в нативных (NR) и трансформированных корнях (HR) растений рода Hedysarum, мг/г сухого вещества

Вид	Нативные корни	*Hairy roots*
H. daraut-kurganicum	0	0,663
H. denticulatum	0,271	1,212
H. parvum	0,070	0,539
H. santalaschii	0,056	1,247

Содержание формононетина в *hairy roots* превышало его содержание в нативных растениях более чем в 4 раза у *H. denticulatum*, более чем в 7 раз у *H. parvum*, более чем в 22 раза у *H. santalaschii*, а в нативных корнях *H. daraut-kurganicum* обнаруживаются следы формононетина.

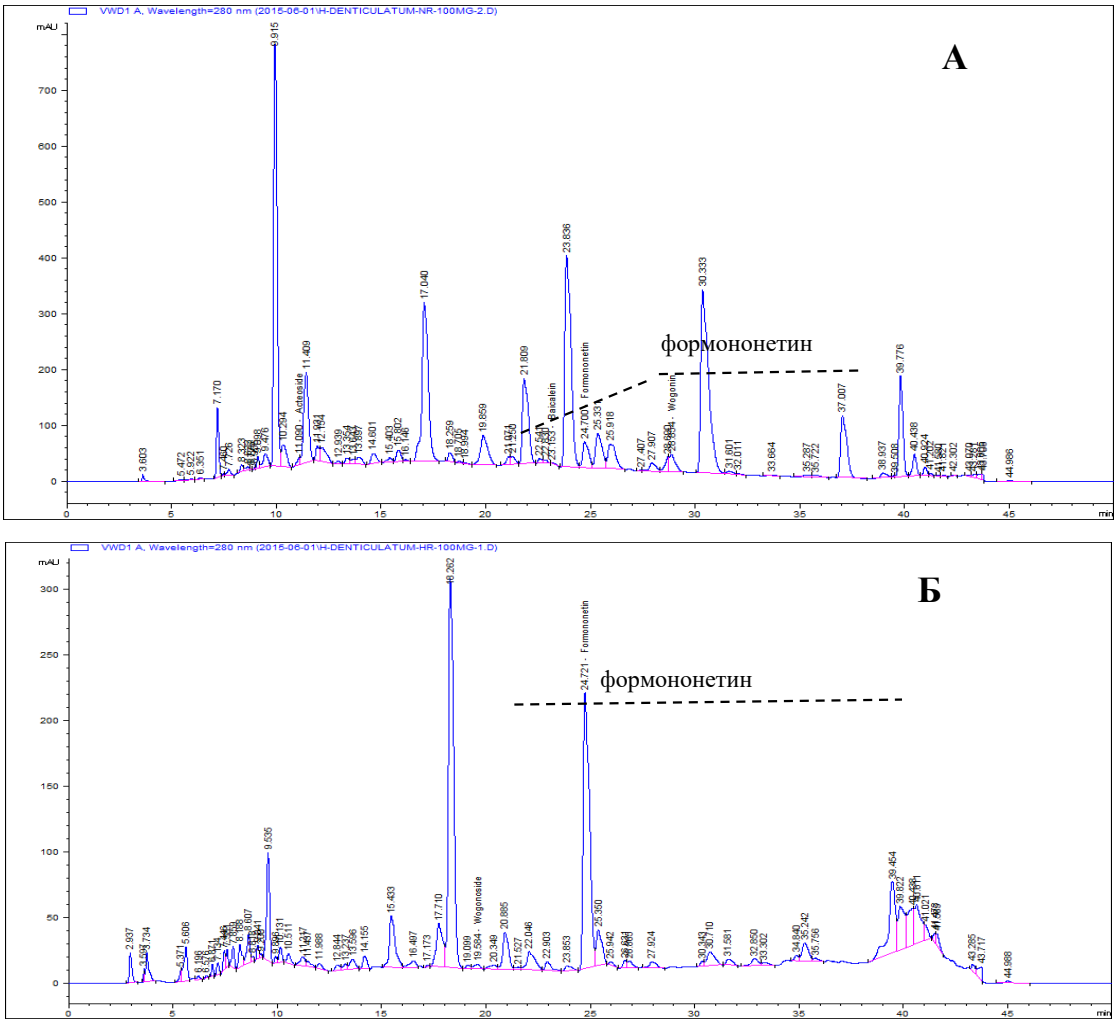


Рис. 2. Хроматограмма нативных (А) и hairy roots H. denticulatum (Б) по определению формононетина

Выводы

Исследованы 17 видов рода Hedysarum флоры Кыргызстана, большинство из которых имеют природоохранный статус «эндемики» и «субэндемики». В нативных растениях выявлено высокое содержание флавоноидов и АОА у *H. neglectum*, *H. kirghisorum* и *H. flavescens*. Сравнительное изучение содержания формононетина в нативных растениях и в *hairy roots* показало превышение его концентрации в несколько раз в *hairy roots* по сравнению с нативными растениями, что говорит о преимуществе использования методов биотехнологии.

Список литературы

1. Dong Y., Tang D., Zhang N., Li Y., Zhang C., Li L., Li M. Phytochemicals and biological studies of plants in genus Hedysarum. Chemistry Central Journal. 2013. Vol. 7. No. 1. P. 1–13.

2. Zengin G., Guler G.O., Aktumsek A., Ceylan R., Picot C.M.N., Mahomoodally M.F. Enzyme inhibitory properties, antioxidant activities, and phytochemical profile of three medicinal plants from Turkey. Advances in pharmacological sciences. 2015. [Electronic resource]. URL: https://www.hindawi.com/journals/aps/2015/410675/27861 (date of access: 17.09.2021).

3. Yurkevich O.Y., Samatadze T.E., Selyutina I.Y., Romashkina S.I., Zoshchuk S.A., Amosova A.V., Muravenko O.V. Molecular Cytogenetics of Eurasian Species of the Genus Hedysarum L. (Fabaceae). Plants. 2021. Vol. 10. No. 1. P. 89.

4. Duan L., Wen J., Yang X., Liu P., L., Arslan E., Ertuğrul K., Chang Z., Y. Phylogeny of Hedysarum and tribe Hedysareae (Leguminosae: Papilionoideae) inferred from sequence data of ITS, matK, trnL-F and psbA-trnH. Taxon. 2015. Vol. 64. No. 1. P. 49–64.

5. Nafisi H., Kazempour-Osaloo S., Mozaffarian V., Schneeweiss G.M. Molecular phylogeny and divergence times of the genus Hedysarum (Fabaceae) with special reference to section Multicaulia in Southwest Asia. Plant Systematics and Evolution. 2019. Vol. 305. No. 10. P. 1001–1017.

6. Xu J.F., Bo A., Xiao H., Zhang M.X., Zhang C.H., Li M.H. Variety textual research of Mongolian medicine of» saradma». Zhongguo Zhong yao za zhi, Zhongguo Zhongyao Zazhi. Chi-

na Journal of Chinese Materia Medica. 2020. Vol. 45. No. 16. P. 3981–3987. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20200527.108.

7. Nafisi H., Osaloo S.K., Kaveh A., Mahmoodi M. Ak Taxonomic Revision of the Genus Hedysarum L. (Fabaceae-Hedysareae) in Iran. Phytotaxa. 2021. Vol. 511. No. 2. P. 79–110.

8. Bushman B.S., Larson S.R., Peel M.D., Pfrender M.E. Population structure and genetic diversity in North American Hedysarum boreale Nutt. Crop Science. 2007. Vol. 47. No. 3. P. 1281–1288

9. Duan L., Wen J., Yang X., Liu P.L., Arslan E., Ertuğrul K., Chang Z.Y. Phylogeny of Hedysarum and tribe Hedysareae (Leguminosae: Papilionoideae) inferred from sequence data of ITS, matK, trnL-F and psbA-trnH. Taxon. 2015. Vol. 64. No. 1. P. 49–64.

10. Zvyagina N. S., Dorogina O. V., Catalan P. Genetic relatedness and taxonomy in closely related species of Hedysarum (Fabaceae). Biochemical Systematics and Ecology. 2016. Vol. 69. P. 176–187. DOI: 10.1016/j.bse.2016.10.001.

11. Appaji M Ashwini. Quantification of phytochemical contents and in vitro antioxidant activity of *Exacum bicolor* (roxb.), an endemic medicinal plant. International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2015. Vol. 7. No. 6. P. 225–230.

12. Лазьков Г.А., Султанова Б.А. Кадастр флоры Кыргызстана. Сосудистые растения. 2014. 126 с.

13. Султанова Б.А. Копеечники Киргизии. Ф.: Илим, 1976. 123 с.

14. Umralina A. Building seed collections for pharmacological research in Kyrgyzstan. Samara, 2014. Is. 26. P. 9.

15. Umralina A., Hegay S. Putting seeds to good use Kyrgyzstan explores the pharmacological potential of its native flora. Samara. 2018. Is. 34. P. 1–2.

16. Алимбаева П.К., Гончарова А.В. Дикорастущие лекарственные растения. Фрунзе, 1971. 99 с.

17. Беликов В.В. Аналитические исследования природных фенольных соединений и разработка методов их количественного определения: автореф. дис. … док. фарм. наук. Харьков, 1990. 36 с.

18. Максимова Т.В., Никулина И.Н., Пахомов В.П., Шкарина Е.И., Чумакова З.В., Арзамасцев А.П. Способ определения антиокислительной активности // Патент РФ № 2170930. Патентообладатель Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова. 2001.

19. Tava A., Biazzi E., Ronga D., Mella M., Doria F., D'Addabbo T., Candido V., Avato P. Chemical Identification of Specialized Metabolites from Sulla (*Hedysarum coronarium* L.) Collected in Southern Italy. Molecules. 2021. Vol. 26. No. 15. P. 1–15. DOI: 10.3390/molecules26154606.

20. Конурбаева Р.У., Чернышева Т.П., Умралина А.Р. Получение культур генетически трансформированных корней растений рода Hedysarum // Вестник Кыргызского Национального университета имени Жусупа Баласагына. Спец. выпуск. 2014. С. 90–94.

21. Умралина А.Р., Банайя П., Секе Е., Вдовитченко М.Ю., Кузовкина И.Н. Флавоноиды культивируемых *in vitro* корней копеечника энаффа (*Hedysarum enaffae*) // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология: материалы IX Международной конференции (Звенигород, 8–12 сентября 2008 г.). М.: ИД ФБК-ПРЕСС, 2008. С. 414–415.

УДК 618.19-006

ВЛИЯНИЕ БЕРБЕРИНА НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ФЕНОТИП КЛЕТОК ЛИНИЙ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

[1]Филиппова С.Ю., [1]Тимофеева С.В., [1]Ситковская А.О., [1]Межевова И.В., [1]Енин Я.С., [2]Буров О.Н., [1]Позднякова В.В., [1]Хохлова О.В., [1]Мезенцев С.С., [1]Пандова О.В.

[1]ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии», Ростов-на-Дону, e-mail: filsv@yandex.ru;

[2]ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону

В работе исследуется влияние берберина на показатели митохондриального дыхания и гликолиза в клеточных линиях рака молочной железы BT20, BT474 и MDA-MB-453. Базовый уровень и резерв дыхания оценивали по скорости поглощения кислорода (OCR), а показателем интенсивности гликолиза служила скорость закисления среды (ECAR). Измерения проводили на анализаторе внеклеточных потоков Seahorse XFp Analyzer (Agilent, США). Клетки исследуемых линий высаживали в количестве 2×10^4 на лунку в планшеты Seahorse XFp Analyzer в питательной среде DMEM с добавлением 10% ФСК, в опытные лунки добавляли берберин до конечной концентрации 2.5 мкМ или 10 мкМ. Планшеты с клетками культивировали 24 ч при 37°С и 5% CO_2, после чего проводили измерения с добавлением в питательную среду смеси метаболических ядов – олигомицина (1 мкМ) и FCCP (2 мкМ). По данным проведенного исследования берберин оказывал зависимое от дозы угнетающее действие на базовый уровень клеточного дыхания во всех исследованных линиях, не оказывая достоверного влияния на резерв окислительного фосфорилирования. Снижение уровня потребления кислорода сопровождалось ростом гликолиза в клетках линии MDA-MB-453, однако в клеточных культурах BT20 и BT474 уровень гликолиза достоверно не отличался в контрольных и опытных образцах. В работе впервые было обнаружено снижение резерва гликолиза, которое зависело от дозы берберина и наблюдалось во всех исследуемых клеточных линиях.

Ключевые слова: рак молочной железы, BT20, BT474, MDA-MB-453, гликолиз, окислительное фосфорилирование, берберин

INFLUENCE OF BERBERINE ON ENERGY PHENOTYPE OF BREAST CANCER CELL CULTURES

[1]Filippova S.Yu., [1]Timofeeva S.V., [1]Sitkovskaya A.O., [1]Mezhevova I.V., [1]Enin Ya.S., [1]Pozdnyakova V.V., [1]Khokhlova O.V., [1]Mezentsev S.S., [1]Pandova O.V.

[1]National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, e-mail: filsv@yandex.ru;

[2]Southern Federal University, Rostov-on-Don

The work investigates the effect of berberine on the parameters of mitochondrial respiration and glycolysis in breast cancer cell lines BT20, BT474 and MDA-MB-453. Baseline and reserve OXPHOS were assessed by the oxygen consumption rate (OCR), and the extracellular acidification rate (ECAR) of the medium served as an indicator of the intensity of glycolysis. The measurements were performed on a Seahorse XFp Analyzer (Agilent, USA) extracellular flow analyzer. Cells of the studied lines were seeded in an amount of 2×10^4 per well in Seahorse XFp Analyzer plates in DMEM medium supplemented with 10% FBS, berberine was added to the experimental wells to a final concentration of 2.5 μM or 10 μM. Plates with cells were cultured for 24 hours at 37°C and 5% CO_2, after that measurements were carried out with the addition of a mixture of metabolic poisons – oligomycin (1 μM) and FCCP (2 μM) to the medium. According to the study, berberine exerted a dose-dependent inhibitory effect on the baseline level of cellular respiration in all studied lines, without significantly affecting the OXPHOS reserve. A decrease in the level of oxygen consumption was accompanied by an increase in glycolysis in MDA-MB-453 cells, however, in BT20 and BT474 cell cultures, the level of glycolysis did not differ significantly in the control and experimental samples. The work was the first to find a decrease in the glycolysis reserve, which depended on the dose of berberine and was observed in all studied cell lines.

Keywords: breast cancer, BT20, BT474, MDA-MB-453, glycolysis, oxidative phosphorylation, berberine

Рак молочной железы (РМЖ) является одним из основных онкологических заболеваний женщин во всем мире. Применение цитостатических препаратов позволило увеличить продолжительность жизни пациентов с РМЖ, тем не менее смертность остаётся высокой и только в России составляет более 20 000 чел. в год [1]. Основная причина прогрессирования заболевания – это развитие резистентности, поэтому поиск адъювантов, способных повысить чувствительность клеток опухоли к химиотерапевтическим препаратам, является актуальной проблемой современной онкологии. Одним из перспективных направлений исследований является изучение веществ, способных воздействовать на энергетический фенотип опухолевых клеток. Быстро делящимся клеткам рака необходимо большое количество энергии в виде АТФ для обеспечения своих нужд, и воздействие химиотерапевтических препаратов усиливает потребность опухолевых клеток в энергии. Поэтому снижение энергетических резервов клеток рака может существенно понизить их способность сопротивляться цитостатическому

действию таких препаратов, как доксорубицин, циклофосфамид и паклитаксел, чаще всего применяемых в терапии РМЖ.

Берберин является природным соединением, добываемым из корней растений рода *Berberis* sp. и нашедшим широкое применение в качестве противомикробного и антидиарейного препарата в традиционной медицине. На современном же этапе развития фармакологии, благодаря многочисленным исследованиям, был раскрыт потенциал берберина для применения в разных областях терапии, в том числе, в качестве перспективного противоракового агента при лечении РМЖ [2]. Известно, что берберин способен подавлять пролиферацию и миграционную способность, а также вызывать апоптоз клеток рака *in vitro* [3]. Тем не менее эффективность берберина в качестве противоопухолевого монопрепарата является низкой [4], более перспективным представляется применение этого соединения в качестве адъюванта в сочетании с традиционными химиопрепаратами для лечения РМЖ [5–7]. Известно, что берберин обладает способностью снижать уровень сахара в крови за счёт подавления клеточного дыхания [8], тем не менее влияние этого соединения на энергетический фенотип клеток РМЖ остаётся слабо изученным. Понимание особенностей взаимодействия берберина и энергетического метаболизма опухолевых клеток может способствовать разработке более эффективных схем адъювантной терапии РМЖ.

Цель исследования: изучить влияние берберина на энергетический фенотип клеток рака молочной железы.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования послужили культуры клеток рака молочной железы BT20, BT474 и MDA-MB-453. Клетки выращивали в питательной среде DMEM (Gibco, США) с добавлением 10% фетальной сыворотки коров (ФСК) (HyClone, США) при 37 °C и 5% CO_2. Исследование энергетического фенотипа проводили на анализаторе внеклеточных потоков Seahorse XFp Analyzer (Agilent, США) с использованием набора Seahorse XFp Cell Energy Phenotype Test (Agilent, США) согласно протоколу производителя. За день до проведения теста клетки исследуемых линий высаживали в количестве 2×10^4 на лунку в планшеты Seahorse XFp Analyzer в питательной среде DMEM с добавлением 10% ФСК, в опытные лунки добавляли берберин до конечной концентрации 2,5 мкМ или 10 мкМ. Планшеты с клетками культивировали 24 ч при 37 °C и 5% CO_2, после чего среду культивирования заменяли на среду для анализа, представляющую собой низкобуферную питательную среду DMEM (Gibco, США) без фенола с добавлением глюкозы (5,5 мМ), пирувата (1 мМ) и глутамата (2 мМ). Далее клетки культивировали 1 ч при 37 °C и атмосферном содержании CO_2, после чего проводили тест на Seahorse XFp Analyzer с введением в среду культивирования смеси метаболических ядов – олигомицина (1 мкМ) и карбонилцианид-4-(трифторометокси)-фенилгидразона (Carbonyl cyanide-4 (trifluoromethoxy) phenylhydrazone – FCCP) (2 мкМ). Исследование энергетического фенотипа клеток базировалось на измерении скорости поглощения кислорода (oxygen consumption rate – OCR) клетками и скорости закисления среды (extracellular acidification rate – ECAR), являющейся показателем интенсивности гликолиза, в фоне и при воздействии смеси метаболических ядов. Олигомицин блокирует АТФ-синтазу, что приводит к подавлению окислительного фосфорилирования и вызывает компенсаторное усиление гликолиза, о чём можно судить по росту скорости закисления среды. Величина превышения ECAR над фоном служит показателем гликолитического резерва клетки и её способности быстро задействовать его в ответ на стресс любой природы. Карбонилцианид-4-(трифторометокси)-фенилгидразон вызывает разобщение перехода протона через мембрану с синтезом АТФ, вследствие чего происходит рост скорости потребления кислорода, по уровню которого судят о целостности электронной транспортной цепочки и функциональной способности митохондрий. Совокупность фоновых значений и функционального резерва гликолиза и дыхания и составляет энергетический фенотип клеток.

Для оценки влияния берберина на жизнеспособность исследуемых культур ставили параллельный опыт с теми же условиями культивирования на культуральных флаконах с площадью поверхности 25 $см^2$ (T25), в которые пассировали по 2×10^6 клеток. Каждый вариант опыта был заложен в трех экспериментальных повторах. Через 24 ч клетки снимали 0,1% раствором трипсина и определяли долю живых клеток на автоматическом счётчике Eve (NanoEnTek Inc, Корея) с применением окрашивания 0,4% трипановым синим.

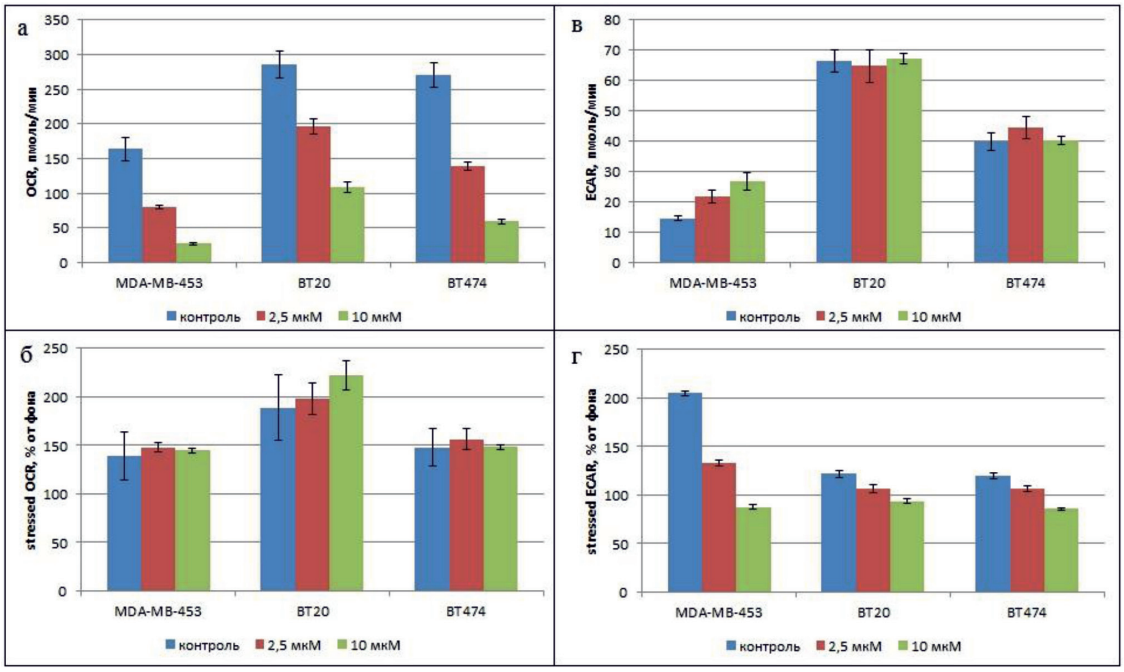
Сравнение средних значений измеряемых параметров контрольных и опытных образцов проводили с применением t-критерия Стьюдента. Принятый в исследовании уровень значимости $\alpha = 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

По результатам исследования было установлено, что культивирование с берберином в течение 24 ч не привело к существенным изменениям жизнеспособности клеток – во всех образцах доля живых клеток была выше 95% и достоверно не отличалась в опыте и контроле по результатам трёх измерений.

Тем не менее культивирование с берберином оказало значительное воздействие на энергетический метаболизм клеток исследуемых линий. Во-первых, во всех клеточных линиях наблюдалось достоверное снижение фонового уровня потребления кислорода в опытных образцах по сравнению с контрольными, которое зависело от дозы берберина (рисунок, а). Так, для культуры MDA-MB-453 разница значения OCR между опытом и контролем (ΔOCR) составила $\Delta OCR_{2,5мкМ} = 83,5$ пмоль/мин ($t_{2,5мкМ} = 15,85$, $df = 8$, $p < 0,05$) и $\Delta OCR_{10мкМ} = 136,6$ пмоль/мин ($t_{10мкМ} = 26,1$, $df = 8$, $p < 0,05$), для культуры BT20 $\Delta OCR_{2,5мкМ} = 88,2$ пмоль/мин ($t_{2,5мкМ} = 12,6$, $df = 8$, $p < 0,05$) и $\Delta OCR_{10мкМ} = 176,5$ пмоль/мин ($t_{10мкМ} = 26,9$, $df = 8$, $p < 0,05$) и для культуры BT474 $\Delta OCR_{2,5мкМ} = 131,01$ пмоль/мин ($t_{2,5мкМ} = 22,7$, $df = 8$, $p < 0,05$) и $\Delta OCR_{10мкМ} = 210,5$ пмоль/мин ($t_{10мкМ} = 37,5$, $df = 8$, $p < 0,05$). Таким образом, клеточное дыхание оказалось наиболее чувствительным к действию берберина в линии BT474, так как здесь разница значения OCR между опытом и контролем оказалась наибольшей для обеих концентраций берберина.

Воздействие FCCP во время проведения стресс-теста привело к росту скорости потребления кислорода до максимально возможного уровня, который определяется общим количеством работоспособных белков электрон-транспортной цепи в митохондриях клеток исследуемых клеточных линий РМЖ. При этом относительный рост OCR над фоновыми значениями при добавлении FCCP (так называемый резерв дыхания) во всех культурах клеток достоверно не отличался в контрольных и опытных образцах с добавлением берберина и составил около 50% для линий BT474 и MDA-MB-453 и около 100% в культуре BT20 (рисунок, б).



Показатели энергетического фенотипа клеточных линий РМЖ BT20, BT474 и MDA-MB-453 после инкубации в течение 24 ч в присутствии берберина: а – фоновое значение скорости потребления кислорода; б – значение скорости потребления кислорода при воздействии смеси метаболических ядов; в – фоновое значение скорости закисления среды; г – значение скорости закисления среды при воздействии смеси метаболических ядов. Значения на графиках представлены в виде среднее ± 95% доверительный интервал по результатам 9 измерений для фоновых значений и 15 измерений для значений под нагрузкой

В отличие от скорости потребления кислорода, фоновое значение скорости закисления среды, являющееся показателем уровня гликолиза в покое, обнаружило различную реакцию на добавление берберина в трёх исследуемых культурах. В культуре клеточной линии MDA-MB-453 наблюдалось достоверное увеличение фонового значения ECAR в опытных образцах по сравнению с контролем (ΔECAR), которое было пропорционально дозе берберина и составило $\Delta ECAR_{2,5мкМ} = 7.01$ мрН/мин ($t_{2,5мкМ} = 10,3$, $df = 8$, $p < 0,05$) и $\Delta ECAR_{10мкМ} = 12.2$ мрН/мин ($t_{10мкМ} = 13,1$, $df = 8$, $p < 0,05$). В культурах же клеточных линий BT20 и BT474 фоновые значения ECAR достоверно не отличались между контрольными образцами и обоими вариантами опыта (рисунок, в).

Подавление митохондриальной АТФ-синтазы олигомицином привело к ожидаемому росту уровня гликолиза в образцах без добавления берберина во всех исследованных клеточных линиях. Причём в линии MDA-MB-453 новое значение ECAR (sECAR) в процентах от фона составило $sECAR = 205 \pm 2,3\%$, в линии BT20 $sECAR = 121,7 \pm 3,8\%$ и в линии BT474 $sECAR = 119,4 \pm 3,2\%$. Добавление же берберина привело к достоверному дозо-зависимому снижению резерва гликолиза во всех исследованных клеточных линиях, причём берберин в дозе 10 мкМ приводил к падению уровня sECAR ниже 100% (рисунок, г). Для линии MDA-MB-453 разница значения sECAR между опытом и контролем (ΔsECAR) составила $\Delta sECAR_{2,5мкМ} = 72\%$ ($t_{2,5мкМ} = 65,8$, $df = 14$, $p < 0.05$) и $\Delta sECAR_{10мкМ} = 205,04\%$ ($t_{10мкМ} = 122,4$, $df = 14$, $p < 0,05$), для BT20 $\Delta sECAR_{2,5мкМ} = 15\%$ ($t_{2,5мкМ} = 8,07$, $df = 14$, $p < 0,05$) и $\Delta sECAR_{10мкМ} = 28,3\%$ ($t_{10мкМ} = 19,8$, $df = 14$, $p < 0,05$) и для BT474 $\Delta sECAR_{2,5мкМ} = 12,8\%$ ($t_{2,5мкМ} = 8,6$, $df = 14$, $p < 0,05$) и $\Delta sECAR_{10мкМ} = 33,9\%$ ($t_{10мкМ} = 30,3$, $df = 14$, $p < 0,05$). Таким образом, резерв гликолиза оказался наиболее чувствительным к действию берберина в культуре клеток MDA-MB-453, насколько можно судить по разнице между контрольными и опытными значениями sECAR для обеих доз берберина.

Угнетающее действие берберина на митохондриальное дыхание было показано в целом ряде работ, в том числе на клетках рака [9]. Предположительным механизмом действия является подавление дыхательного комплекса I [10]. Тот факт, что мишенью берберина в митохондриях являются именно белки электрон-транспортной цепи, косвенно подтверждается и в нашей работе. Мы обнаружили, что разница между стрессовым и фоновым значениями OCR (резерв дыхания) оказалась неизменной при добавлении берберина, что объясняется снижением максимальных значений OCR под действием FCCP пропорционально снижению базовых значений данного параметра. Такая реакция говорит об устойчивом «выключении» некоторого количества белков электрон-транспортной цепи под действием берберина.

Известно, что уменьшение количества АТФ, вызванное нарушением окислительного фосфорилирования, оказывает ряд эффектов, которые вносят вклад в противоопухолевую активность берберина. Так, снижение уровня АТФ относительно АМФ приводит к активации 5'АМФ-активируемой протеинкиназы (AMPK) [8], которая является центральным событием в цепи сигнальных взаимодействий, обуславливающих цитотоксическое действие берберина на клеточные культуры рака мозга [11], поджелудочной железы [9] и РМЖ [6]. В частности, на клетках РМЖ MCF-7 было показано, что низкие дозы берберина (менее 20 мкМ) через активацию AMPK приводят к подавлению синтеза транспортера P-gp по сигнальному пути AMPK-HIF-1α-P-gp, что усиливает чувствительность клеток к доксорубицину, однако без добавления цитостатика такие дозы берберина не сказываются на жизнеспособности клеток. Высокие же дозы берберина (более 20 мкМ) сами по себе вызывают апоптоз, связанный с активацией пути AMPK-p53 [6]. В своей работе мы также не наблюдали выраженного цитотоксического действия 2,5 мкМ и 10 мкМ берберина при культивировании в течение 24 ч на клетки РМЖ BT20, BT474 и MDA-MB-453. Для оценки же последствий вызванного берберином снижения соотношения АТФ/АМФ в этих линиях потребуются дальнейшие исследования AMPK зависимой сигнализации.

Известно, что подавление окислительного фосфорилирования приводит к компенсаторному усилению гликолиза, на чём, в частности, основан стресс-тест с добавлением олигомицина, который мы используем в данной работе. Эффект усиления гликолиза в ответ на подавление дыхания под действием берберина был описан для ряда нормальных клеток мыши и крысы [8], что породило интерес к берберину как перспективному антидиабетическому агенту, усиливающему поглощение глюкозы через усиление гликолиза. Также известны данные, подтверждающие усиление гликолиза в ответ на воздействие берберина для злокачественных клеток человека – культуре клеток гепато-

целлюлярной карциномы HepG2 [10]. Однако, как показал ряд исследований, действие берберина на гликолиз неоднозначно и в зависимости от биологических особенностей клеточной линии и условий культивирования берберин может не только стимулировать, но и подавлять гликолиз, как это было показано в культурах клеток рака яичника [12] и колоректального рака [13]. Полученные нами данные также говорят о противоречивом влиянии берберина на гликолиз в клетках РМЖ – дозозависимое усиление фонового уровня гликолиза в культуре клеток MDA-MB-453 было не характерно для линий BT20 и BT474. Возможным объяснением данного явления может быть изначально высокий уровень гликолиза в клетках культур BT20 и BT474, на фоне которого добавление берберина и отравление клеточного дыхания не вызвало дополнительно существенных изменений. Это предположение подкрепляется также тем фактом, что значение гликолитического резерва в этих культурах оказалось намного ниже, чем в культуре MDA-MB-453, даже в контрольных образцах. Добавление берберина привело к дальнейшему снижению резерва гликолиза во всех исследованных культурах, причём этот эффект был дозозависимым. Интересно отметить, что инкубация с берберином в дозе 10 мкМ, по-видимому, приводила к полному истощению энергетических резервов клетки, так как в ответ на добавление олигомицина наблюдался не рост гликолиза, как ожидалось, а, напротив, его угнетение. Подавление продукции лактата в данном случае можно связать с резким падением уровня АТФ, вызванным блокированием АТФ-синтазы во время стресс-теста, что привело, в свою очередь, к блокированию АТФ-зависимых стадий транспорта и метаболизма глюкозы.

Известные работы, в которых докладывают об успехах совместного применения берберина и химиотерапии при лечении рака молочной железы, описывают различные механизмы усиления чувствительности клеток к химиотерапии, такие как подавление экспрессии транспортера ксенобиотиков MDR1/P-gp [6], увеличение продукции активных форм кислорода [5], снижения активности XRCC1-опосредованной репарации ДНК [7] и др. Учитывая, что метаболизм клеток злокачественных новообразований часто зависит от аэробного гликолиза (так называемый эффект Варбурга) [12], можно сказать, что снижение гликолитических резервов клетки, обнаруженное в нашем исследовании, открывает новые возможности для изучения берберина в качестве перспективного адъюванта для химиотерапии.

Заключение

По результатам работы впервые было обнаружено, что помимо угнетения клеточного дыхания берберин вызывает снижение гликолитического резерва клеток рака молочной железы. Таким образом, берберин способствует формированию низкоэнергетического фенотипа с пониженной способностью сопротивляться стрессовым воздействиям, что делает это соединение перспективным адъювантом в химиотерапии рака молочной железы.

Список литературы

1. Ситковская А.О., Златник Е.Ю., Шамова Т.В., Бондаренко Е.С., Новикова И.А., Ващенко Л.Н., Кечеджиева Э.Э., Дашкова И.Р., Аушева Т.В., Кит О.И. Генерация лимфокин-активированных киллеров на фоне сниженного содержания Т-регуляторных клеток *in vitro* // Цитология. 2020. Т. 62. № 10. С. 726–737.

2. Zhang C., Sheng J., Li G., Zhao L., Wang Y., Yang W., Yao X., Sun L., Zhang Z., Cui R. Effects of Berberine and Its Derivatives on Cancer: A Systems Pharmacology Review. Front Pharmacol. 2020. № 10. P. 1461.

3. Mezhevova I.V., Filippova S.Yu., Timofeeva S.V., Sitkovskaya A.O., Shamova T.V., Enin Ya.S., Burov O.N., Pozdnyakova V.V., Khokhlova O., Pushkareva T.F., Mezentsev S.S., Novikova I.A., Kit O.I. Antimigratory effect of berberine in T98G, U87MG and primary glioma cell culture. J Clin Oncol. 2021. Vol. suppl 15. abstr e15045.

4. Xu J., Long Y., Ni L., Yuan X., Yu N., Wu R., Tao J., Zhang Y. Anticancer effect of berberine based on experimental animal models of various cancers: a systematic review and meta-analysis. BMC Cancer. 2019. Vol. 19. № 1. P. 589.

5. Zhang R., Qiao H., Chen S., Chen X., Dou K., Wei L., Zhang J. Berberine reverses lapatinib resistance of HER2-positive breast cancer cells by increasing the level of ROS. Cancer Biol Ther. 2016. Vol. 17. № 9. P. 925–34.

6. Pan Y., Zhang F., Zhao Y., Shao D., Zheng X., Chen Y., He K., Li J., Chen L. Berberine Enhances Chemosensitivity and Induces Apoptosis Through Dose-orchestrated AMPK Signaling in Breast Cancer. J Cancer. 2017. Vol. 8. № 9. P. 1679–1689.

7. Gao X., Wang J., Li M., Wang J., Lv J., Zhang L., Sun C., Ji J., Yang W., Zhao Z., Mao W. Berberine attenuates XRCC1-mediated base excision repair and sensitizes breast cancer cells to the chemotherapeutic drugs. J Cell Mol Med. 2019. Vol. 23. № 10. P. 6797–6804.

8. Yin J., Gao Z., Liu D., Liu Z., Ye J. Berberine improves glucose metabolism through induction of glycolysis. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2008. Vol. 294. № 1. E148-56.

9. Ming M., Sinnett-Smith J., Wang J., Soares H.P., Young S.H., Eibl G., Rozengurt E. Dose-Dependent AMPK-Dependent and Independent Mechanisms of Berberine and Metformin Inhibition of mTORC1, ERK, DNA Synthesis and Proliferation in Pancreatic Cancer Cells. PLoS One. 2014. Vol. 9. № 12. e114573.

10. Xu M., Xiao Y., Yin J., Hou W., Yu X., Shen L., Liu F., Wei L., Jia W. Berberine promotes glucose consumption independently of AMP-activated protein kinase activation. PLoS One. 2014. Vol. 9. № 7. e103702.

11. Wang J., Qi Q., Feng Z., Zhang X., Huang B., Chen A., Prestegarden L., Li X., Wang J. Berberine induces autophagy in glioblastoma by targeting the AMPK/mTOR/ULK1-pathway. Oncotarget. 2016. Vol. 7. № 41. P. 66944–66958.

12. Li J., Zou Y., Pei M., Zhang Y., Jiang Y. Berberine inhibits the Warburg effect through TET3/miR-145/HK2 pathways in ovarian cancer cells. J Cancer. 2021. Vol. 12. № 1. P. 207–216.

13. Mao L., Chen Q., Gong K., Xu X., Xie Y., Zhang W., Cao H., Hu T., Hong X., Zhan Y.Y. Berberine decelerates glucose metabolism via suppression of mTOR−dependent HIF−1α protein synthesis in colon cancer cells. Oncol Rep. 2018. Vol. 39. № 5. P. 2436–2442.

ОБЗОРЫ

УДК 576.53

РОЛЬ СИСТЕМЫ МИОСАТЕЛЛИТОВ В ПРОЦЕССАХ МЫШЕЧНОЙ РЕПАРАЦИИ

Дремина Н.Н., Трухан И.С., Шурыгина И.А.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», Иркутск, e-mail: drema76@mail.ru

В обзорной статье представлена роль миосателлитной системы в процессах мышечной репарации. Описаны типы миосателлитных клеток в зависимости от функциональных и морфологических характеристик. Так, по морфологическим признакам миосателлиты делятся на клетки 1-го типа, с электронноплотным ядром, узкой каймой цитоплазмы с небольшим количеством органелл, и клетки 2-го типа, имеющие электронносветлое ядро, широкую кайму цитоплазмы с немногочисленными органеллами, выраженные аппарат Гольджи и гранулярный эндоплазматический ретикулум, а также увеличенные в размере митохондрии. Перечислены белки (Notch, миостатин и мускулин), отвечающие за поддержание состояния покоя сателлитных клеток, находящихся главным образом в неактивной фазе. Представлены маркеры миосателлитных клеток, экспрессия которых напрямую зависит от стадии миосателлитов в процессе репарации. В отличие от неактивных сателлитных клеток, экспрессирующих преимущественно Pax7, активированные миосателлиты имеют на поверхности такие маркеры, как Myf5 и MyoD. В стадии клеточной дифференцировки отмечается экспрессия миогенина, MRF4 (Myf6) и тропонина Т. Рассмотрены этапы мышечной репарации, которые включают утилизацию поврежденного мышечного волокна путем фагоцитоза, активацию миосателлитных клеток, стадии дифференцировки и регенерации поврежденного или формирования нового мышечного волокна. Также представлены белки, участвующие в активации миосателлитов, пролиферации и клеточной дифференцировки.

Ключевые слова: миосателлиты, мышечная репарация, маркеры, регуляторные белки

THE ROLE OF THE MYOSATELLITE SYSTEM IN THE PROCESSES OF MUSCLE REPAIR

Dremina N.N., Trukhan I.S., Shurygina I.A.

Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk, e-mail: drema76@mail.ru

The review article presents the role of the myosatellite system in the muscle repair processes. The types of myosatellite cells depending on functional and morphological characteristics are described. Thus, according to morphological features, myosatellite are divided into 2 types. Cells of type 1 are characterized by an electron-dense nucleus, and narrow cytoplasmic border with a small number of organelles, whereas myosatellites of type 2 are distinguished by an electron-light nucleus, a wide cytoplasmic border with few organelles, marked Golgi complex and granular endoplasmic reticulum, as well as increased in size mitochondria. Proteins (Notch, myostatin, and male) responsible for maintaining the rest state of satellite cells staying predominantly in the inactive stage are discussed. In addition, markers of myosatellite cells the expression of which directly depends on the stage of myosatellite in the regeneration process are presented. Unlike inactive satellite cells expressing mainly Pax7, activated myosatellites have surface markers such as Myf5 and MyoD. However, at the stage of cellular differentiation, the expression of myogenin, MRF4 (MYF6) and troponin T is noted. The stages of muscle repair which include utilization of damaged muscle fiber by phagocytosis, activation of myosatellite cells, stages of differentiation and regeneration of damaged muscle fiber or formation of a new one are considered. Proteins involved in the myosatellite activation, proliferation and cellular differentiation are also presented.

Keywords: myosattelite, muscle repair, markers, regulatory proteins

Скелетные мышцы, осуществляющие такие жизненно важные функции, как двигательная, энергетическая и дыхательная, обладают исключительной способностью к регенерации. Регенерация является сложным физиологическим процессом с большим количеством вовлеченных белков и клеток, среди которых одно из главных мест отводится миосателлитам.

Цель – определить значимость миосателлитных клеток в репаративных процессах мышцы.

Поперечно-полосатая скелетная мышца – самая распространенная ткань человеческого организма, составляющая приблизительно 35–45% от общей массы тела. На основе сократительного и метаболического фенотипов классифицировать скелетные мышцы можно на медленно окислительные – тип I, быстро окислительные – тип IIa и быстро гликолитические – тип IIb [1, 2]. Скелетные мышцы поддерживают метаболический баланс и локомоции, обладают высоким адаптационным потенциалом, а также исключительной регенеративной способностью. Регенерировать скелетные мышцы способны в ответ на различные повреждения, благодаря наличию

резидентных мышечных стволовых клеток (миосателлитов) – одноядерных малодифференцированных клеток размером от 10 до 100 мкм, которые были описаны еще в середине прошлого столетия при изучении взрослых мышц лягушки под электронным микроскопом [3]. Недостаточное количество данных клеток значительно влияет на регенеративный процесс, а в некоторых случаях приводит к фатальным последствиям. Так, в эксперименте продемонстрировано, что у мышей Pax7-null низкое содержание миосателлитов приводит к неизбежной постнатальной гибели в течение всего нескольких недель [4].

Долгое время считалось, что миосателлиты являются однородной популяцией клеток, однако в настоящее время данные клетки подразделяются на типы в зависимости от функциональных и морфологических характеристик, определенных при электронной микроскопии. Клетки 1-го типа, являющиеся более дифференцированными, имеют электронноплотное ядро из-за большого содержания в нем гетерохроматина, узкую кайму цитоплазмы вокруг с небольшим количеством органелл. У миосателлитов 2-го типа (менее дифференцированных) ядро электронносветлое, широкая кайма цитоплазмы с немногочисленными органеллами, но более выражен аппарат Гольджи, а также увеличен объем гранулярного эндоплазматического ретикулума и размер митохондрий [5].

Существует предположение, что образование той или иной сателлитной клетки зависит от типа мышечного волокна. Так, повреждение медленных мышечных волокон способствует образованию миосателлитов, которые впоследствии восстанавливают именно этот тип мышц, а миосателлиты от быстрых волокон регенерируют быстрые мышцы [6]. В эксперименте на курицах и перепелах с помощью иммуноблоттинга и иммуноцитохимии обнаружили, что сателлитные клетки были разных типов и что быстрые и медленные мышечные волокна различались по проценту каждого типа клеток. Первичные сателлитные клетки, выделенные из быстрых мышечных волокон, образовывали только быстрые волокна, в то время как до 25% из тех, которые были выделены из медленных, образовывали волокна как быстрые, так и медленные, остальные были только быстрыми [7]. Однако другая группа исследователей в эксперименте с человеческими клетками, выделенными из четырехглавой мышцы, такой закономерности не выявила, потому что миогенные клоны экспрессировали как быстрые цепи миозина, так и медленные. На основании полученных результатов не нашли доказательств существования быстрых и медленных миосателлитов в постнатальных скелетных мышцах человека [8].

Кроме сателлитов 1-го и 2-го типов обнаружены негативные субпопуляции клеток, не экспрессирующие CD34, Myf5 и M-cadherin, и предположено, что данные клетки могут представлять собой предшественников, ответственных за поддержание популяции клеток-спутников [4]. При этом клетки, не экспрессирующие Myf5, обладают более высокой способностью к самообновлению и менее склонны к преждевременной дифференцировке, чем клетки-сателлиты Myf5-позитивные.

Сателлитные клетки, наряду с морфологическими признаками, также можно разделить, основываясь на уровне экспрессии маркера Pax7. Так, на трансгенных мышах Tg:Pax7-nGFP было показано, что клетки высоко экспрессирующие Pax7-nGFP имеют более низкую метаболическую активность с низким уровнем пролиферации и отсроченным первым митозом по сравнению с низко экспрессирующими [9].

Количество клеток и их поведение зависит от типа и расположения мышечного волокна. Например, сравнивая миосателлиты разгибателя конечности и жевательных мышц, пришли к выводу, что полученные миобласты имели разные профили экспрессии генов. Так, в сравнении с клетками разгибателей, у клеток жевательных мышц был более высокий уровень пролиферации наряду с поздней клеточной дифференцировкой. Следовательно, мышечная структура, расположение и окружающая среда способны значительно влиять на количество и активность сателлитных клеток [10].

В молодом возрасте мышечная ткань содержит более 30% сателлитных клеток, однако со временем их количество уменьшается до 5%, что связано со снижением пролиферативной способности данных клеток [11, 12]. Снижение количества миосателлитов происходит в два этапа. Быстрое снижение связано с потерей субламинарных ядер, когда клетки входят в состояние покоя. У человека данный период длится до 9 лет. Второе снижение связано со значительным снижением пролиферативного потенциала клеток в процессе старения организма и происходит постепенно [13].

Во взрослом организме миосателлиты, как правило, находятся в неактивном состоянии, т.е. в стадии G0 с низким содержанием РНК и медленным метаболизмом, благодаря трансмембранным рецепторным белкам Notch одноименного сигнального

пути. В покоящихся сателлитных клетках путь Notch находится в активном состоянии и инактивируется, когда миосателлиты входят в активный цикл [14, 15]. Нарушение этого равновесия приводит к серьезным патологическим изменениям. Так, при дефиците Notch3 сигнального пути Notch у мышей с повторяющимися травмами ускоряется клеточная пролиферация, приводящая в итоге к гиперплазии мышечной ткани [16]. Вместе с Notch за состояние покоя у миосателлитов отвечают миостатин, индуцирующий ингибитор циклинзависимой киназы, p21 и миогенный ингибитор мускулин (MyoR), снижающийся во время дифференцировки.

Однако состояние покоя у миосателлитов можно назвать относительным, так как в этой стадии активными считаются более 500 генов, являющихся отрицательными регуляторами клеточного цикла и миогенными ингибиторами, которые принимают участие в клеточной адгезии, регуляции клеточного роста, образовании внеклеточного матрикса, а также гомеостазе микроэлементов (Cu, Fe) и транспортировке липидов [17]. Сателлитные клетки хоть и находятся в этот момент в состоянии покоя, но в течение короткого периода времени после травмы готовы и способны к быстрой активации для запуска регенеративного процесса.

Маркеры сателлитных клеток

Миосателлитные клетки характеризуются экспрессией парных ядерных белков Pax3, Pax7 и кальцитонинового рецептора (CTR). Гены Pax кодируют группу факторов транскрипции. В отличие от Pax3, экспрессия которого в неактивных сателлитах находится на низком уровне (за исключением диафрагмальных мышц), Pax7 практически постоянно находится на поверхности миосателлитов. Наряду с Pax3 и Pax7, сателлитные клетки экспрессируют тирозинпротеинкиназу Met (c-met), адгезионную молекулу M-кадгерина (Cdh15), мембранные протеогликаны – синдекан 3 (Sdc3), синдекан 4 (Sdc4), сиаломуцин CD34, факторы транскрипции Foxk1, Sox8 и Sox15, α7 – и β1-интегрины, c-X-C-C рецептор хемокина типа 4 (CXCR4), кальцитонин, кальвеолин-1, а также молекулу адгезии сосудистых клеток-1 (VCAM1) и молекулу адгезии нервных клеток-1 (NCAM1) [18]. При повреждении миосателлиты быстро активируются, экспрессируя мышечные факторы транскрипции – миогенный фактор 5 (Myf5), белок определения миобластов (MyoD), которые определяют мышечную идентичность и активируют впоследствии маркеры дифференцировки, а также еще более повышается экспрессия Pax7. Следует отметить, что недостаточная экспрессия Pax7 способна привести к необратимым последствиям. Так, в эксперименте доказано, что при инактивации Pax7 дифтерийным токсином мышечная регенерация блокируется, приводя к истощению ювенильных сателлитов из-за ускоренной дифференцировки, предполагая, что Pax7 задерживает начало дифференциации, чтобы позволить увеличить пул миобластов [19, 20].

После активации клетки пролиферируют и сливаются, чтобы восстановить поврежденные или сформировать новые мышечные волокна [21]. Благодаря высокой скорости активации миосателлитов повреждение мышечных волокон при крупной травме со значительным нарушением структуры и функции может быть полностью восстановлено спустя всего несколько недель [4]. Вместе с мышечно-специфическим регуляторным фактором 4 (MRF4, известный как Myf6) и миогенином, которые повышаются во время дифференцировки миобластов, эти регуляторные факторы определяют миогенную активность мышечных предшественников. MRF4 экспрессируется исключительно в активированных миосателлитах и уровни мРНК MRF4 сильно варьируются в зависимости от типа волокна [13].

Поздним маркером клеточной дифференцировки считается тропонин T, который связывает тропомиозин с образованием тропонин-тропомиозинового комплекса, что обеспечивает его физическое взаимодействие с актином и, следовательно, опосредует сокращение мышц. Тяжелая цепь миозина (MyHC), составляющая большую часть мышечных белков, является одним из основных компонентов сократительного аппарата всех мышц. При соединении миозина с актином образуется актомиозин – основной структурный элемент сократительной системы мышц [13].

Этапы мышечной репарации

Посттравматическая регенерация мышечной ткани взрослого человека практически повторяет эмбриональное развитие благодаря аналогичным, но не идентичным механизмам и происходит в несколько стадий. При этом большое значение имеет величина повреждения. Если дефект незначительный, то на обоих концах поврежденного мышечного волокна образуются мышечные почки, растущие навстречу друг другу. В итоге почки сливаются, структурно восстанавливая поврежденное мышечное волокно [12, 22]. В случае серьезных по-

вреждений процесс репаративной регенерации проходит по другому пути. При этом для выполнения регенерации на первом этапе требуется удаление повреждённого мышечного волокна из его ниши в базальной мембране. Затем в регенерацию вступают миосателлиты (Pax7+), располагающиеся между сарколеммой и базальной пластинкой, благодаря которым в итоге образуется новое мышечное волокно [23].

Утилизация повреждённого мышечного волокна происходит путём фагоцитоза. Применительно к посттравматическому периоду фагоцитоз – процесс утилизации фагоцитами мертвых клеток и тканей, а также продуктов распада. В этот момент фагоциты играют определяющую роль в организации воспалительной реакции после повреждения тканей, контролируя как провоспалительные, так и противовоспалительные процессы [24].

Во время посттравматической репарации фагоциты продвигаются к повреждённому волокну в две «волны». Первая волна – фагоцитарная популяция моноцитов (макрофаги М1 – классически активированные), которая поступает в мышцу сразу после её повреждения. Миграция макрофагов М1 инициируется в ответ на интерлейкины-1 и -8 (IL-1, IL-8), секретируемые нейтрофилами, также находящимися в зоне повреждения. В то же время само поврежденное мышечное волокно секретирует хемоаттрактантный белок моноцитов-1 (MCP1). Первой волны достаточно для лизиса мембран и запуска воспалительной реакции для разрушения содержимого повреждённых волокон [25]. Ранние моноциты М1 достигают своей максимальной численности через 24 ч после повреждения мышц, а спустя 48 ч их количество резко снижается. Именно время работы данных клеток в повреждённой ткани связывают с болевыми ощущениями после физической нагрузки.

Вторая волна – нефагоцитарная субпопуляция макрофагов (макрофаги М2 – альтернативно активированные), находящаяся вблизи регенерирующих волокон. Пик её численности находится между 2 и 4 сутками от момента повреждения мышечного волокна. Считается, что макрофаги секретируют растворимые сигнальные молекулы, которые наряду с другими клетками индуцируют активацию, пролиферацию и дифференцировку миосателлитов.

Уже во время утилизации повреждённого волокна наступает пролиферативная стадия, состоящая из этапов активации и пролиферации миосателлитов. Получив сигнал из окружающей среды, миосателлиты, играющие главную роль в регенерации значительно поврежденных мышечных волокон, начинают интенсивно пролиферировать, экспрессируя Pax7, MyoD, Myf5, и мигрировать для заполнения образовавшейся ниши [26]. Способствуют клеточной миграции коллаген и фибронектин, но самым мощным индуктором считается ламинин [27].

Для восстановления миогенного пула сателлитные клетки проходят несколько пролиферативных циклов, чему может способствовать IGF (инсулиноподобный фактор роста), сверхэкспрессия которого у мышей увеличивает продолжительность пролиферативной стадии, в результате чего образуется более многочисленная популяция миогенных клеток. Подобный эффект достигается *in vitro* и добавлением низких концентраций HGF (фактор роста гепатоцитов), в то время как высокие концентрации приводят к обратной реакции [28]. Аналогичным образом пролиферации миобластов способствует сигнальный путь JAK1/STAT1, блокирующий преждевременную дифференцировку путем подавления генов дифференцировки [29]. Также переход от пролиферации к дифференцировке контролируют некоторые микроРНК. Например, miR-221 и miR-222 более выражены в пролиферирующих миобластах, чем в дифференцирующихся миотрубках. Эти две микроРНК подавляют ингибитор клеточного цикла p27 и миогенин, что приводит к задержке выхода из клеточного цикла.

После пролиферации (миобластическая стадия) сателлитные клетки делятся на две субпопуляции. Одна из них участвует в образовании нового мышечного волокна, другая – останавливает свою пролиферацию и дифференцировку, образуя новый пул сателлитов для новообразованного волокна [30]. Образование нового мышечного волокна происходит путём слияния нескольких образовавшихся миобластов в миотрубку диаметром около 100 мкм и 1 см в длину [31]. Новообразованная миотрубка легко отличима от зрелых мышечных волокон центральным расположением ядер, выстроенных в одну линию. Впоследствии ядра смещаются от центра к сарколемме для образования на их месте новых миофибрилл [12].

Следом за миобластической наступает вторая стадия регенерации – стадия ранней дифференцировки миосателлитов, при которой наряду с MyoD и Myf5 повышается экспрессия миогенина, Myf6 (Mrf4) и MEF2, также входящих в семейство транскрипционных факторов и являющихся одними из главных регуляторов диффе-

ренцировки клеток [32]. Благодаря данным факторам происходит слияние мышечных клеток в многоядерную миотрубку. Этот процесс сопровождается снижением экспрессии Pax7 и Myf5 и увеличением уровня миогенина. Затем наступает стадия терминальной дифференцировки, когда миотрубки увеличиваются в размере, дифференцируясь в зрелое мышечное волокно. На этом этапе уровень MyoD снижается, в то время как тяжелая цепь миозина и другие сократительные белки начинают экспрессироваться. При этом баланс между Pax7 и MyoD определяет дальнейшую судьбу клеток. Например, сверхэкспрессия Pax7 в миобластах понижает MyoD, предотвращает индукцию миогенина, ингибируя миогенез. И наоборот, миогенин непосредственно влияет на экспрессию Pax7 и может иметь решающее значение для регуляции Pax7 в дифференцированных клетках. То есть высокое соотношение Pax7: MyoD способствует покою, среднее соотношение способствует пролиферации, но не дифференцировке, в то время как низкое – запускает клеточную дифференцировку [33].

Активация и генетический контроль дифференцировки

В зрелой мышце сателлитные клетки митотически неактивны, как уже говорилось ранее, и демонстрируют ограниченную экспрессию генов и синтез белков. Но они могут быть активированы в ответ на стресс, связанный с поднятием веса или травмой, например при ранении, или при миодегенеративных заболеваниях. Триггер до конца остаётся неизвестным.

Одним из внутренних сигналов самой клетки является синтез сигнального сфинголипида – сфингозин-1-фосфата (S1P) на внутренней стороне плазматической мембраны. Сфингозин-1-фосфат требуется для вхождения сателлитов в клеточный цикл, и окончание его синтеза резко обрывает мышечную регенерацию [34]. Кроме того, сфингозин-1-фосфат регулирует кальциевый гомеостаз сателлитных клеток, вызывая выход ионов Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума в цитозоль [35]. Это вызывает полимеризацию актиновых нитей и структурные перестройки цитоскелета. Подробности данного регуляторного механизма остаются неизвестными, так как не выявлены молекулы-мишени S1P в эндоплазматической мембране.

Другим сигналом является быстрое снижение экспрессии рецептора кальцитонина – CTR. Ранее считалось, что CTR можно обнаружить только у неактивных миосателлитов. Однако при изучении экспрессии CTR *in vivo* с помощью иммуногистохимии было показано, что через три дня после инъекции кардиотоксина на активированных клетках искомого белка обнаружено не было. Появление его было замечено спустя семь дней после инъекции на периферии крупных миофибрилл с центральным расположением ядер, но не на мелких волокнах, и со временем увеличивалось. Полученные результаты показывают, что экспрессия CTR обнаруживается не только на покоящихся сателлитных клетках, но и на вновь образованных, которые тесно связаны с созревающими волокнами [17].

Неестественное растяжение и повреждение мышечного волокна вызывает множество внутриклеточных сигналов, приводящих к синтезу оксида азота (NO), что в свою очередь приводит к выбросу HGF, фактора роста фибробластов (FGF) и в итоге к активации сателлитов [36]. Также оксид азота приводит к экспрессии фоллистатина – антагониста миостатина – негативного регулятора миогенеза, экспрессируемого неактивными сателлитами.

Наряду с HGF, FGF к активации миосателлитов приводят и другие факторы, так называемые раневые гормоны, секретируемые микроокружением. К ним относятся TGFß (трансформирующий фактор роста бета) и IGF-1 (инсулиноподобный фактор роста 1), выступающие в качестве митогенов при повреждении. Являясь регуляторами активности миосателлитов при мышечной регенерации, данные ростовые факторы стимулируют покоящиеся клетки к пролиферации и дальнейшему слиянию в миотрубки [21, 37].

Непосредственно FGF активирует MAPK--киназный сигнальный каскад, а стресс-активируемые киназы p38α/β необходимы для регуляции выхода миосателлитов из состояния покоя [38]. Также FGF регулирует кальциевый гомеостаз сателлитных клеток, вызывая выход ионов кальция из межклеточной среды в цитозоль [39]. FGF относятся к семейству факторов роста, участвующих в ангиогенезе, заживлении ран и эмбриональном развитии. Факторы роста фибробластов – это многофункциональные гепарин-связывающие белки, чаще всего они являются митогенами, но также оказывают регуляторное и структурное воздействие [40, 41]. Другое их название – «плюрипотентные» факторы роста – связано с их разнородным воздействием на многие типы клеток. Было доказано, что взаимодействия с расположенными на поверхности клеток протеогликанами необходимы для передачи сигнала факторов роста фибробластов. Большинство FGF – секретируемые белки,

которые связывают гепаринсульфат, и поэтому они могут закрепляться на внеклеточном матриксе, содержащем гепарансульфатпротеогликан. Это позволяет им действовать локально как паракринные факторы.

Митоген-активируемая протеинкиназа p38α активирует димеризацию MyoD и E47, которые, в свою очередь, активируют транскрипцию циклин-зависимой протеинкиназы p21, которая останавливает клеточный цикл и активирует дифференцировку. Анализ мутантного гена p38α показал, что отключение p38α вызывает задержки выхода из клеточного цикла и нарушение синтеза соответствующих ему регуляторов в культивируемых миобластах. Как результат неконтролируемой пролиферации и отсутствие ограничивающей рост обратной связи, мутанты по гену p38α демонстрируют увеличенную пролиферацию миобластов в неонатальный период [42]. Данный эффект позволяет предположить возможность временного ингибирования p38α для наращивания клеточного пула.

HGF и FGF стимулируют MAPK-киназные каскады, которые связаны с регуляцией пролиферации и дифференцировки во многих типах клеток, включая скелетные миобласты. Были определены следующие MAPK-семейства: регулируемые внеклеточными сигналами киназы ERK, c-Jun-NH_3-терминальные киназы и стресс-активируемые MAPK-протеинкиназы p38 [43]. Роль MAPK-киназных каскадов в миогенезе противоречива, так как активация MAPK причастна как к позитивной, так и к негативной регуляции миогенной дифференцировки. Эти противоречия могут появиться из-за различий в происхождении линий и поддержании этих линий в культурах. В зависимости от типа клеток, активация каскадов MKK1/2–ERK1/2 либо стимулирует (в клетках C3H10T1/2), либо ингибирует (23A2, L6A1, и C2C12) миогенную дифференцировку. Было установлено, что активация Raf–MKK1/2–ERK1/2 требуется для пролиферации линии миосателлитов MM14, но при этом несущественна для FGF-зависимого ингибирования терминальной дифференцировки [44]. К тому же активации MKK1/2–ERK1/2 недостаточно для стимуляции пролиферации клеток MM14, что вызывает предположение о существовании дополнительных FGF-зависимых путей [38].

В экспериментах, поставленных на линии клеток MM14, было показано, что киназы ERK1/2 требуются для запуска пролиферации, но не дифференцировки [44]. Для того чтобы выяснить, какие ещё MAPK-киназы имеют роль в пролиферации и дифференцировке клеток линии MM14, была проведена ПЦР с обратной транскрипцией, направленная на поиск MAPK-киназ на разных стадиях индукции и дифференцировки. ERK1/2/3 не изменяли уровень своей экспрессии в процессе развития миосателлитов. ERK5 и p38γ снижали свою экспрессию, а p38α/β снижали её незначительно, что позволяет делать вывод об их значимости для миогенеза. В качестве сверочной точки использовалась экспрессия MyoD, которая демонстрирует скачок, а затем снижение в транскрипции мРНК. Содержание рецепторов фактора роста фибробластов FGFR1 также изначально увеличивается, а затем значительно снижается к 72 ч. В ядрах были обнаружены активные фосфорилированные формы p38α/β.

Путём ингибирования активности киназ p38α/β с помощью SB203580 было установлено, что они ответственны за экспрессию MyoD в миосателлитах. Это ещё раз подтвердило более ранние данные о регуляции активности Mef 2, а также регуляции транскрипционной активности MyoD и миогенина этими MAPK-киназами [45, 46]. Последствиями ингибирования p38α/β становятся нарушения в пролиферации и дифференцировке миосателлитов и миобластов.

В то же время показано, что введение блокатора p38 MAP-киназы SB 203580 в зону регенерации мышечной ткани позволяет «затормозить» деление миосателлитов в ранние сроки репаративного процесса, а также ведет к резкому усилению окислительного фосфорилирования в зоне регенерации мышечной ткани [47].

Однако исследование роли MAPK-киназ p38α/β в миогенезе развивающихся конечностей показало противоположный результат: миогенез был значительно усилен при ингибировании p38α/β. Объяснение этому явлению пока что не было найдено. Стоит отметить, что в большинстве известных каскадов киназы p38 ведут к апоптозу клеток. Таким образом, мишени p38α/β, регулирующие эти события, пока остаются неизвестными. Хотя многие данные показывают, что субстратами для p38α и p38β2 являются MEF2A и MEF2C, сателлитные клетки не экспрессируют эти гены до 96 ч инкубации, что говорит о маловероятной роли этих генов в p38α/β-зависимой активации и пролиферации [48]. Другие известные субстраты p38α/β включают в себя транскрипционные факторы (Max и ATF2) и фосфолипазу A2. В пролиферирующих клетках MM14 манипуляция активностью p38α/β путём удаления из среды FGF или добавления ингибитора SB203580 не оказала значительного эффекта на ATF2-зависимую

транскрипцию. Однако в дифференцирующихся клетках ATF2-зависимая транскрипция чувствительна к FGF и SB203580. Сходные данные были показаны для клеток MM14, где активность ERK1/2 была обнаружена для клеток, вступающих в S-фазу. Эти данные свидетельствуют о различных сигнальных путях в сателлитных клетках в зависимости от фенотипического положения скелетных мышц. При анализе различий в субстратной специфичности p38α/β было показано, что большинство субстратов p38α/β различны в пролиферирующих и в дифференцирующихся клетках. Таким образом, наблюдение этих киназ как в стадии пролиферации, так и при дифференцировке можно объяснить различием доступных субстратов, вызванных подготовкой к S-фазе и терминальной дифференцировке [38]. Для лучшего понимания роли p38α/β требуется идентификация субстратов, специфичных для разных фаз.

Немаловажную роль в активации и дифференцировке миосателлитов, а также в дальнейшем их слиянии в миотрубки играют металлопротеазы MMP-2, MMP-9 [49]. Металлопротеазы способны расщеплять протеогликаны сульфата гепарина (HSP), с которым связан FGF, высвобождая последний, активирующий в свою очередь сателлитные клетки. Однако MMP-2, MMP-9 оказывают воздействие на разных стадиях регенерационного процесса. Так, в эксперименте показано, что экспрессия MMP-9 связана с реакцией воспаления с последующей активацией миосателлитов, в то время как MMP-2 способствует регенерации новых волокон.

На завершающем регенеративном этапе, когда поврежденное мышечное волокно структурно и функционально восстановлено, обновленный пул миосателлитов входит в состояние покоя. В этот процесс вовлечен Spry1 – ингибитор передачи сигналов рецепторной тирозинкиназы, который экспрессируется в покоящихся миосателлитах, снижается в пролиферирующих миогенных клетках при регенерации и повторно активируется, когда клетки возвращаются в состояние покоя во вновь сформированных волокнах [16]. В противном случае, если по какой-то причине происходит сбой экспрессии Spry1, миосателлиты не способны вернуться в состояние покоя и подвергаются апоптозу, что в свою очередь приводит к снижению численности сателлитных клеток.

Заключение

Клетки-сателлиты имеют большой регенеративный потенциал, и в процесс регенерации вовлечено огромное количество различных регуляторов. На сегодняшний день имеющаяся информация по данному вопросу весьма противоречива, и нет сомнений, что исследования в этом направлении необходимо продолжить. Требуются дальнейшие экспериментальные работы для более глубокого понимания взаимодействия веществ, вовлеченных в процесс восстановления поврежденных мышечных волокон.

Список литературы

1. Qaisar R., Bhaskaran S., Van Remmen H. Muscle fiber type diversification during exercise and regeneration. Free Radic Biol Med. 2016. Vol. 98. P. 56–67. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.03.025.

2. Yin H., Price F., Rudnicki M.A. Satellite cells and the muscle stem cell niche. Physiol Rev. 2013. Vol. 93. No. 1. P. 23–67. DOI: 10.1152/physrev.00043.2011.

3. Mauro A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. J. Biophys. Biochem. Cytol. 1961Vol. 9. P. 493–495.

4. Dumont N.A., Bentzinger C.F., Sincennes M.C., Rudnicki M.A. Satellite Cells and Skeletal Muscle Regeneration. Comprehensive Physiology. 2015. Vol. 5. P. 1027–1059. DOI: 10.1002/cphy.c140068.

5. Одинцова И.А., Чепурненко М.Н., Комарова А.С. Миосателлитоциты – камбиальный резерв поперечнополосатой мышечной ткани // Гены & Клетки. 2014. Т. 9. № 1. С. 6–14.

6. Sharma G.R., Kumar V., Kanojia R.K., Vaiphei K., Kansal R. Fast and slow myosin as markers of muscle regeneration in mangled extremities: a pilot study. Eur J Orthop Surg Traumatol. 2019. Vol. 29. No. 7. P. 1539–1547. DOI: 10.1007/s00590-019-02448-w.

7. Feldman J.L., Stockdale F.E. Skeletal muscle satellite cell diversity: satellite cells form fibers of different types in cell culture. Dev Biol. 1991. Vol. 143. No. 2. P. 320–334. DOI: 10.1016/0012-1606(91)90083-f.

8. Edom F., Mouly V., Barbet J.P., Fiszman M.Y., Butler-Browne G.S. Clones of human satellite cells can express in vitro both fast and slow myosin heavy chains. Dev Biol. 1994. Vol. 164. No. 1. P. 219–229. DOI: 10.1006/dbio.1994.1193.

9. Rocheteau P., Gayraud-Morel B., Siegl-Cachedenier I., Blasco M.A., Tajbakhsh S. A subpopulation of adult skeletal muscle stem cells retains all template DNA strands after cell division. Cell. 2012. Vol. 148. No. 1–2. P. 112–125. DOI: 10.1016/j.cell.2011.11.049.

10. Ono Y., Boldrin L., Knopp P., Morgan J.E., Zammit P.S. Muscle satellite cells are a functionally heterogeneous population in both somite-derived and branchiomeric muscles. Dev Biol. 2010. Vol. 337. No. 1. P. 29–41. DOI: 10.1016/j.ydbio.2009.10.005.

11. Relaix F., Zammit P.S. Satellite cells are essential for skeletal muscle regeneration: the cell on the edge returns centre stage. Development. 2012. Vol. 139. No. 16. P. 2845–2856. DOI: 10.1242/dev.069088.

12. Шурыгин М.Г., Болбат А.В., Шурыгина И.А. Миосателлиты как источник регенерации мышечной ткани // Фундаментальные исследования. 2015. № 1 (8). С. 1741–1746.

13. Rocheteau P., Vinet M., Chretien F. Dormancy and quiescence of skeletal muscle stem cells. Results Probl Cell Differ. 2015. Vol. 56. P. 215–35. DOI: 10.1007/978-3-662-44608-9_10.

14. Bjornson C.R.R., Cheung T.H., Liu L., Tripathi P.V., Steeper K.M., Rando T.A. Notch Signaling Is Necessary to Maintain Quiescence in Adult Muscle Stem Cells. STEM CELLS. 2012. Vol. 30. No. 2. P. 232–242. DOI: 10.1002/stem.773.

15. Koch U., Lehal R., Radtke F. Stem cells living with a Notch. Development. 2013. Vol. 140. No. 4. P. 689–704. DOI: 10.1242/dev.080614.

16. Montarras D., L'honoré A., Buckingham M. Lying low but ready for action: the quiescent muscle satellite cell. FEBS J. 2013. Vol. 280. No. 17. P. 4036–4050. DOI: 10.1111/febs.12372.

17. Fukada S., Uezumi A., Ikemoto M., Masuda S., Segawa M., Tanimura N., Yamamoto H., Miyagoe-Suzuki Y., Takeda S. Molecular signature of quiescent satellite cells in adult skeletal muscle. Stem Cells. 2007. Vol. 25. No. 10. P. 2448–2459. DOI: 10.1634/stemcells.2007-0019.

18. Bentzinger C.F., Wang Y.X., Dumont N.A., Rudnicki M.A. Cellular dynamics in the muscle satellite cell niche. EMBO ReP. 2013. Vol. 14. No. 12. P. 1062–1072. DOI: 10.1038/embor.2013.182.

19. Von Maltzahn J., Jones A.E., Parks R.J., Rudnicki M.A. Pax7 is critical for the normal function of satellite cells in adult skeletal muscle. Proc Natl Acad Sci USA. 2013. Vol. 110. No. 41. P. 16474–16479. DOI: 10.1073/pnas.1307680110.

20. Marroncelli N., Bianchi M., Bertin M., Consalvi S., Saccone V., De Bardi M., Puri P.L., Palacios D., Adamo S., Moresi V. HDAC4 regulates satellite cell proliferation and differentiation by targeting P21 and Sharp1 genes. Sci ReP. 2018. Vol. 8. No. 1. P. 3448. DOI: 10.1038/s41598-018-21835-7.

21. Morgan J., Partridge T. Skeletal muscle in health and disease. Dis Model Mech. 2020. Vol. 13. No. 2. dmm042192. DOI: 10.1242/dmm.042192.

22. Шурыгина И.А., Дремина Н.Н., Шаульская Е.С., Шурыгин М.Г. Активность митогенактивируемых сигнальных каскадов при травме поперечнополосатой мышцы // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 5. С. 145.

23. Shadrin I.Y., Khodabukus A., Bursac N. Striated muscle function, regeneration, and repair. Cell Mol Life Sci. 2016. Vol. 73. No. 22. P. 4175–4202. DOI: 10.1007/s00018-016-2285-z.

24. Chazaud B. Inflammation and Skeletal Muscle Regeneration: Leave It to the Macrophages! Trends Immunol. 2020. Vol. 41. No. 6. P. 481–492. DOI: 10.1016/j.it.2020.04.006.

25. Dueweke J.J., Awan T.M., Mendias C.L. Regeneration of skeletal muscle after eccentric injury. J Sport Rehabil. 2017. Vol. 26. No. 2. P. 171–179. DOI: 10.1123/jsr.2016-0107.

26. Giordani L., Parisi A., Le Grand F. Satellite Cell Self-Renewal. Curr Top Dev Biol. 2018. Vol. 126. P. 177–203. DOI: 10.1016/bs.ctdb.2017.08.001.

27. Holmberg J., Durbeej M. Laminin-211 in skeletal muscle function. Cell Adh Migr. 2013. Vol. 7. No. 1. P. 111–121. DOI: 10.4161/cam.22618.

28. Yamada M., Tatsumi R., Yamanouchi K., Hosoyama T., Shiratsuchi S., Sato A., Mizunoya W., Ikeuchi Y., Furuse M., Allen R.E. High concentrations of HGF inhibit skeletal muscle satellite cell proliferation *in vitro* by inducing expression of myostatin: A possible mechanism for reestablishing satellite cell quiescence in vivo. Am J Physiol Cell. Physiol. 2010. Vol. 298. No. 3. P. 465–476. DOI: 10.1152/ajpcell.00449.2009.

29. Sun L., Ma K., Wang H., Xiao F., Gao Y., Zhang W., Wang K., Gao X., Ip N., Wu Z. JAK1-STAT1-STAT3, a key pathway promoting proliferation and preventing premature differentiation of myoblasts. J Cell Biol. 2007. Vol. 179. P. 129–138. DOI: 10.1083/jcb.200703184.

30. Dumont N.A., Wang Y.X., Rudnicki M.A. Intrinsic and extrinsic mechanisms regulating satellite cell function. Development. 2015. Vol. 142. No. 9. P. 1572–1581. DOI: 10.1242/dev.114223.

31. Chen B., Shan T. The role of satellite and other functional cell types in muscle repair and regeneration. Journal of Muscle Research and Cell Motility. J Muscle Res Cell Motil. 2019. Vol. 40. No. 1. P. 1–8. DOI: 10.1007/s10974-019-09511-3.

32. Taylor M.V., Hughes S.M. Mef2 and the skeletal muscle differentiation program. Semin Cell Dev Biol. 2017. Vol. 72. P. 33–44. DOI: 10.1016/j.semcdb.2017.11.020.

33. Olguin H.C., Yang Z., Tapscott S.J., Olwin B.B. Reciprocal inhibition between Pax7 and muscle regulatory factors modulates myogenic cell fate determination. J Cell Biol. 2007. Vol. 177. No. 5. P. 769–779. DOI: 10.1083/jcb.200608122.

34. Hodun K., Chabowski A., Baranowski M. Sphingosine-1-phosphate in acute exercise and training. Scand J Med Sci Sports. 2021. Vol. 31. No. 5. P. 945–955. DOI: 10.1111/sms.13907.

35. Sassoli C., Formigli L., Bini F., Tani A., Squecco R., Battistini C., Zecchi-Orlandini S., Francini F., Meacci E. Effects of S1P on skeletal muscle repair/regeneration during eccentric contraction. J Cell Mol Med. 2011. Vol. 15. No. 11. P. 2498–511. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2010.01250.x.

36. Buono R., Vantaggiato C., Pisa V., Azzoni E., Bassi M.T., Brunelli S., Sciorati C., Clementi E. Nitric oxide sustains long-term skeletal muscle regeneration by regulating fate of satellite cells via signaling pathways requiring Vangl2 and cyclic GMP. Stem Cells. 2012. Vol. 30. No. 2. P. 197–209. DOI: 10.1002/stem.783.

37. Delaney K., Kasprzycka P., Ciemerych M.A., Zimowska M. The role of TGF-β1 during skeletal muscle regeneration. Cell Biol Int. 2017. Vol. 41. No. 7. P. 706–715. DOI: 10.1002/cbin.10725.

38. Jones N.C., Tyner K.J., Nibarger L., Stanley H.M., Cornelison D.D.W., Fedorov Y.V., Olwin B.B. The p38α/β MAPK functions as a molecular switch to activate the quiescent satellite cell. The Journal of Cell Biology. 2005. Vol. 169. P. 105–116. DOI: 10.1083/jcb.200408066.

39. Liu Y., Schneider M.F. FGF2 activates TRPC and Ca2+ signaling leading to satellite cell activation. Front Physiol. 2014. Vol. 5. P. 38. DOI: 10.3389/fphys.2014.00038.

40. Шурыгин М.Г., Дремина Н.Н., Шурыгина И.А., Мачхин И.Н. Основные активаторы ангиогенеза и их применение в кардиологии (обзор литературы) // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2005. № 6 (44). С. 199–207.

41. Дремина Н.Н., Шурыгин М.Г., Чепурных Е.Е., Шурыгина И.А. Роль факторов роста при спаечном процессе в брюшной полости // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). 2019. Т. 4. № 5. С. 98–103.

42. Segalés J., Perdiguero E., Muñoz-Cánoves P. Regulation of Muscle Stem Cell Functions: A Focus on the p38 MAPK Signaling Pathway. Front Cell Dev Biol. 2016. Vol. 4. P. 91. DOI: 10.3389/fcell.2016.00091.

43. Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Зеленин Н.В., Аюшинова Н.И. Воздействие на митогенактивируемые протеинкиназы как новое направление регуляции роста соединительной ткани // Бюллетень сибирской медицины. 2017. Т. 16. № 4. С. 86–93.

44. Jones N.C., Fedorov Y.V., Rosenthal R.S., Olwin B.B. ERK1/2 is required for myoblast proliferation but is dispensable for muscle gene expression and cell fusion. Journal of Cellular Physiology. 2001. Vol. 186. P. 104–115. DOI: 10.1002/1097-4652(200101)186:1<104::AID-JCP1015>3.0.CO;2-0.

45. Wu Z., Woodring P.J., Bhakta K.S., Tamura K., Wen F., Feramisco J.R., Karin M., Wang J.Y., Puri P.L. p38 and extracellular signal-regulated kinases regulate the myogenic program at multiple steps. Mol Cell Biol. 2000. Vol. 20. No. 11. P. 3951–3964. DOI: 10.1128/MCB.20.11.3951-3964.2000.

46. Nagata Y., Kobayashi H., Umeda M., Ohta N., Kawashima S., Zammit P.S., Matsuda R. Sphingomyelin levels in the plasma membrane correlate with the activation state of muscle satellite cells. Journal of Histochemistry & Cytochemistry. 2006. Vol. 54. No. 4. P. 375–384. DOI: 10.1369/jhC.5A6675.2006.

47. Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г. Влияние p38 МАРК на окислительное фосфорилирование при регенерации мышечной ткани // Патогенез. 2018. Т. 16. № 4. С. 66–70.

48. Ornatsky O.I., Cox D.M., Tangirala P., Andreucci J.J., Quinn Z.A., Wrana J.L., Prywes R., Yu Y.T., McDermott J.C. Post-translational control of the MEF2A transcriptional regulatory protein. Nucleic Acids Research. 1999. Vol. 27. No. 13. P. 2646–2654. DOI: 10.1093/nar/27.13.2646.

49. Шурыгин М.Г., Шурыгина И.А., Дремина Н.Н., Каня О.В. Матриксная металлопротеаза 9 и ремоделирование при инфаркте миокарда // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2013. № 2–1 (90). С. 138–141.

СТАТЬИ

УДК 613.96-053.5(575.2-25)

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОЦИАЛЬНОЙ АДАПТАЦИИ У ШКОЛЬНИКОВ ГОРОДА БИШКЕКА

Бабаджанов Н.Н., Чернышева Е.А., Сасаза К.Р., Ясынова А.М., Жусупбекова А.Ж.

Кыргызская государственная медицинская академия имени И.К. Ахунбаева, Бишкек, e-mail: nursaid-n00@mail.ru

Целью нашего исследования стала оценка социальной адаптированности подростков или их способности приспосабливаться к различным требованиям среды в обычных, многодетных и неполных семьях. Сложное положение семьи в современных условиях приводит к тому, что многие дети не имеют объективных условий для нормального психосоциального развития. Возникают предпосылки для развития заболеваний нервной системы, ряда соматических заболеваний. Дети со сниженными адаптационными возможностями чаще имеют отклонения в состоянии здоровья и нуждаются в медико-психологической помощи. Именно эта категория подростков имеет вегетативную дисфункцию, которая приводит к формированию таких широко распространенных социально значимых заболеваний, как артериальная гипертензия, бронхиальная астма, патология желудочно-кишечного тракта. Первым этапом предполагается выявление группы детей с низким уровнем социальной адаптированности. Следующим этапом исследование предполагает оценку вегетативной устойчивости у этой группы детей и выработку методов патогенетической коррекции. Объектом исследования стали 447 учащихся старших классов в возрасте от 16 до18 лет, из многодетных (130) и немногодетных (317), а также из полных (361) и неполных (86) семей. Метод оценки проводился с использованием чешского двухфакторного опросника М. Гавлиновой (СВ – «социум-вегетатика») для оценки характера адаптации, содержащего анкету «социума» из 20 вопросов. Алгоритм оценки социальной адаптированности: сумма баллов складывается из положительных ответов и отрицательных ответов на основные утверждения этого теста. По результатам опросника было выделено четыре группы подростков в зависимости от степени социальной адаптированности. Полученные результаты показали, что количество детей в семье, а также состав семьи в целом не влияют на социальную адаптацию. В ходе нашего исследования было установлено, что девочки более подвержены попаданию в группу риска, поэтому они требуют к себе большего внимания.

Ключевые слова: социальная адаптация, многодетные и немногодетные семьи, полные и неполные семьи, ученики старших классов

COMPARATIVE ASSESSMENT OF SOCIAL ADAPTATION AT PUPILS FROM BISHKEK CITY

Babadzhanov N.N., Chernysheva E.A., Sasaza K.R., Yasynova A.M., Zhusupbekova A.Zh.

Kyrgyz State Medical Academy named I.K. Akhunbaev, Bishkek, e-mail: nursaid-n00@mail.ru

The aim of our study was to assess the social adaptability of adolescents or their ability to adapt to various environmental requirements in ordinary, large and incomplete families. The difficult situation of the family in modern conditions leads to the fact that many children do not have objective conditions for normal psychosocial development. There are prerequisites for the development of diseases of the nervous system, a number of somatic diseases. Children with reduced adaptive capabilities are more likely to have deviations in the state of health and need medical and psychological assistance. It is this category of adolescents who have autonomic dysfunction, which leads to the formation of such widespread socially significant diseases as arterial hypertension, bronchial asthma, and gastrointestinal tract pathology. The first stage is to identify a group of children with a low level of social adaptation. The next stage of the study involves the assessment of vegetative resistance in this group of children and the development of methods of pathogenetic correction. 447 high school students aged from 16 to 18 years old, from large families – 130 and not large families – 317, as well as from complete families – 361 and incomplete families – 86 families were questioned. The assessment method was carried out using the Czech two-factor questionnaire of M. Gavlinova (SV – «society-vegetatics») to assess the nature of adaptation, containing a questionnaire of «society» of 20 questions. Algorithm for assessing social adaptability: the sum of the points consists of positive responses and negative responses to the main statements of this test. According to the results of the questionnaire, 4 groups of adolescents were identified, depending on the degree of social adaptation. The results showed that the family composition and amount of children in the family does not affect social adaptation and, consequently, the ability of a person to adapt to different environmental requirements. Although at the same time, girls are more likely to fall into the risk group, so they require more attention.

Keywords: social adaptation, large and small families, full and incomplete families, high school students

В последнее время вопросы социальной и учебной адаптации школьников находятся в центре внимания многих наук: педагогики, психологии, медицины, физиологии и др. [1]. Каждая наука, в свою очередь, определяет социальную адаптацию через собственную призму. К примеру, философский смысл адаптации – деятельное отношение, которое формируется между личностью и социальной средой и служит для решения возникающих между ними противоречий [2]. В психологии же под социальной адаптацией понимают постоянный процесс активного приспособления индивида к условиям социальной среды, а также результат этого процесса [3].

Уникальность адаптации заключается в том, что в течение жизни человек сталкивается с необходимостью осознания и принятия (или же отвержения) различных элементов социальной среды [4].

В свою очередь, низкий уровень социальной адаптации называют социальная дезадаптация – регрессия адаптированности личности к своей социальной среде, ведущая к серьезным нарушениям взаимодействия личности с социальной средой [5].

Усложнение социальной среды, ускорение темпа жизни общества, многообразие противоречивой информации, снижение воспитательного потенциала семьи негативным образом сказываются на процессах социализации и социальной адаптации только формирующегося сознания школьников и приводит в большинстве случаев к вегетативной дисфункции и формированию социально значимых заболеваний, таких как артериальная гипертензия, бронхиальная астма, патология желудочно-кишечного тракта [1].

Цель исследования – проанализировать влияние количества детей в семье и состава семьи на социальную адаптацию подростков.

Материалы и методы исследования

Нами было проведено анкетирование учащихся пяти школ г. Бишкека. Количество учеников, принявших участие в исследовании – 447: из многодетных семей – 130 (44 мальчика, 86 девочек), немногодетных – 317 (125 мальчиков, 192 девочки). Всего мальчиков – 169, девочек – 278. Возраст подростков 16–18 лет.

Также из полных семей – 361 (137 мальчиков, 224 девочки), неполных – 86 (33 мальчика, 53 девочки). Всего мальчиков – 170, девочек – 277.

Метод оценки проводился с использованием чешского двухфакторного опросника М. Гавлиновой (СВ – «социум-вегетатика») для оценки характера адаптации, который содержит анкету «социума», состоящую из 20 вопросов. Обследуемый, оценивая себя, выбирает ответы «ДА» либо «НЕТ», соглашаясь или не соглашаясь с предложенными утверждениями.

Оценочная шкала варьирует от 0 до 20 баллов. Ноль баллов соответствует состоянию полной социальной дезадаптации. 20 баллов соответствует хорошей способности к социальной адаптации. Чем выше оценочный балл, тем лучше социальная адаптированность.

Подсчет данных проводился программой Statistica 8.

Результаты исследования и их обсуждение

По шкале социальной адаптированности среди общего количества мальчиков (табл. 1) наблюдалась следующая тенденция: социальная дезадаптация наблюдалась у 26% юношей, средний нормальный уровень у 53% и высокая способность к социальной адаптации (дальше СА) у 21%. У девочек (всех (табл. 1)) в группу с низким уровнем СА попали 31%, в среднюю нормальную группу 47%, с высоким показателем СА 22% девушек.

У юношей из многодетных семей (табл. 2) в группу риска вошли 27,3% юношей, а у 50% выявлен средний нормальный уровень. При этом высокий уровень СА выявлен у 22,7% юношей из многодетных семей.

Таблица 1

Социальная адаптация учащихся г. Бишкека

	Юноши		Девушки	
	Абсол. число	%	Абсол. число	%
1 гр.	44	26%	86	31%
2 гр.	48	28%	68	24%
3 гр.	42	25%	64	23%
4 гр.	35	21%	60	22%
Всего	169	100%	278	100%

Таблица 2

Социальная адаптация юношей из многодетных семей

М	1 гр.	2 гр.	3 гр.	4 гр.
Абс. число	12	12	10	10
В%	27,3%	27,3%	22,7%	22,7%

Таблица 3

Социальная адаптация девушек из многодетных семей

М	1 гр.	2 гр.	3 гр.	4 гр.
Абс. число	27	16	24	19
В%	31,4%	18,6%	27,9%	22,1%

Таблица 4

Социальная адаптация юношей из немногодетных семей

М	1 гр.	2 гр.	3 гр.	4 гр.
Абс. число	32	36	32	25
В%	25,6%	28,8%	25,6%	20%

Таблица 5

Социальная адаптация девушек из немногодетных семей

М	1 гр.	2 гр.	3 гр.	4 гр.
Абс. число	59	52	40	41
В%	30,7%	27,1%	20,8%	21,4%

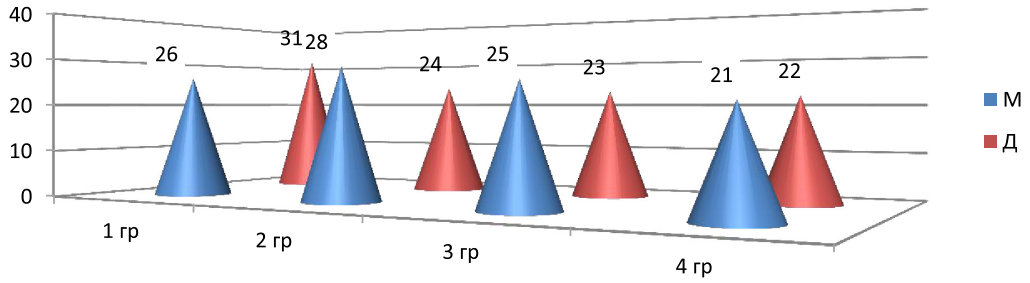


Рис. 1. Сравнение всех мальчиков и девочек из многодетных и немногодетных семей

У девушек из многодетных семей (табл. 3) в группу риска попали 31,4%, со средним нормальным результатом 46% чел. Высокую способность к СА показали лишь 22,1% девушек из многодетных семей.

У юношей из немногодетных семей (табл. 4) в группу риска попали 25,6%, средний нормальный уровень показали 54,4%, а высокий уровень социальной адаптированности – 20% исследуемых.

У девушек из немногодетных семей (табл. 5) в группу риска попали 30,7%, средний нормальный уровень показали 47,9%, а высокий уровень социальной адаптированности – 21,4%.

При сравнительной оценке мальчиков и девочек из многодетных и немногодетных семей (рис. 1) нами было выявлено, что в группе риска девочек было на 5% больше, чем мальчиков. А число мальчиков, показавших средний нормальный уровень, было на 6% больше, чем девочек. Число мальчиков и девочек, показавших высокую способность к СА, составило более 20%.

При сравнении результатов исследования у мальчиков из многодетных семей и мальчиков из немногодетных семей (рис. 2 и 3) существенной разницы в социальной адаптированности выявлено не было. Идентичные результаты были получены и у девочек.

По шкале социальной адаптированности среди общего количества мальчиков (табл. 6) наблюдалась следующая тенденция: социальная дезадаптация наблюдалась у 11,5% юношей, средний нормальный уровень у 51,5% и хорошая способность к социальной адаптации (дальше СА) у 37,5%. У девочек (всех (табл. 6)) в группу с низким уровнем СА попали 26,4%, в среднюю нормальную группу 54,5%, с хорошим показателем СА 19,1% девушек.

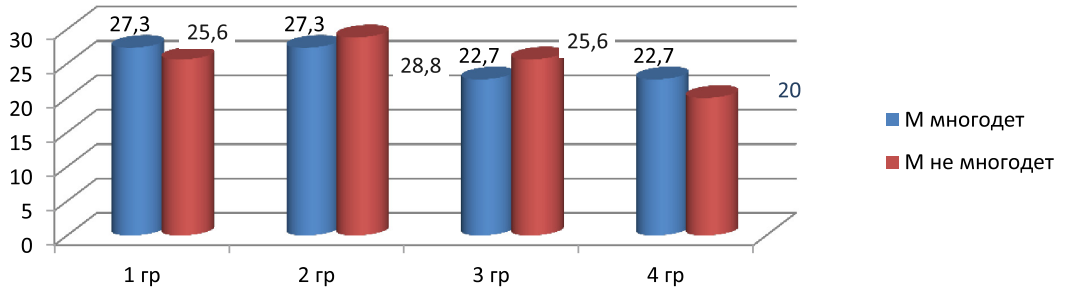


Рис. 2. Сравнение мальчиков из многодетных и немногодетных семей

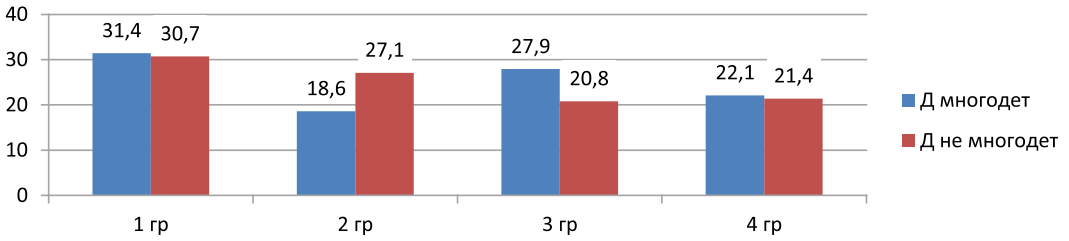


Рис. 3. Сравнение девочек из многодетных и немногодетных семей

Таблица 6

Социальная адаптация учащихся г. Бишкека из полных и неполных семей

	Юноши		Девушки	
	Абсол. число	%	Абсол. число	%
1 гр.	20	11,5%	73	26,4%
2 гр.	38	22%	71	25,6%
3 гр.	51	29,5%	80	28,9%
4 гр.	64	37,5%	53	19,1%
Всего	173	100%	277	100%

Таблица 7

Социальная адаптация юношей из полных семей

М	1 гр.	2 гр.	3 гр.	4 гр.
Абс. число	15	31	41	50
В%	11,4%	22,9%	30%	35,7%

Таблица 8

Социальная адаптация девушек из полных семей

М	1 гр.	2 гр.	3 гр.	4 гр.
Абс. число	59	54	67	44
В%	26,3%	24,1%	29,9%	19,7%

У юношей из полных семей (табл. 7) в группу риска вошли 11,4% юношей, а у 52,9% выявлен средний нормальный уровень. При этом 35,7% юношей из полных семей показали высокий уровень СА.

У девушек из полных семей (табл. 8) в группу риска попали 26,3%, со средним нормальным результатом 54% чел. Высокую способность к СА показали лишь 19,7% девушек из полных семей.

У юношей из неполных семей (табл. 9) в группу риска попали 12,1%, средний нормальный уровень составил – 45,5%, а высокий уровень социальной адаптированности показали 42,4% исследуемых.

У девушек из неполных семей (табл. 10) в группу риска попали 26% исследуемых, средний нормальный уровень показали 57% и высокий уровень способности к СА показали 17%.

При сравнительной оценке мальчиков и девочек из полных и неполных семей (рис. 4) нами было выявлено, что в целом процент девушек, попавших в группу риска, был в 2 раза больше, чем мальчиков, и составил 26,4%, мальчиков 11,5% ($p < 0,005$). При этом высокий уровень способности к социальной адаптации достоверно в 2 раза выше оказался у мальчиков и составил 37%, а у девочек 19,1% ($p < 0,005$).

При сравнении мальчиков и девочек в подкатегориях (рис. 5 и 6) результаты были аналогичны.

При сравнении результатов исследования у мальчиков из полных семей и мальчиков из неполных семей существенной разницы выявлено не было. Идентичные результаты получены и у девочек.

Таблица 9

Социальная адаптация юношей из неполных семей

М	1 гр.	2 гр.	3 гр.	4 гр.
Абс. число	4	6	9	14
В%	12,1%	18,2%	27,3%	42,4%

Таблица 10

Социальная адаптация девушек из неполных семей

М	1 гр.	2 гр.	3 гр.	4 гр.
Абс. число	14	17	13	9
В%	26%	32%	25%	17%

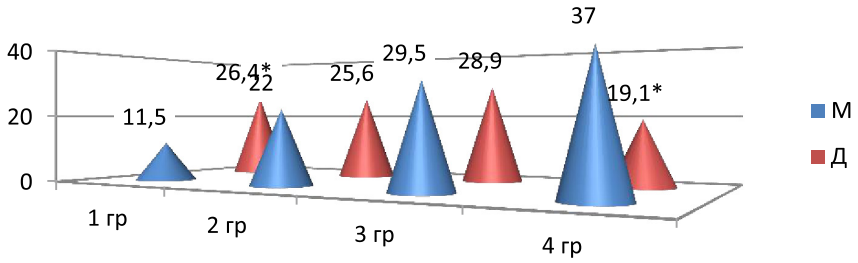


Рис. 4. Сравнение всех мальчиков и девочек из полных и неполных семей
**p < 0,005*

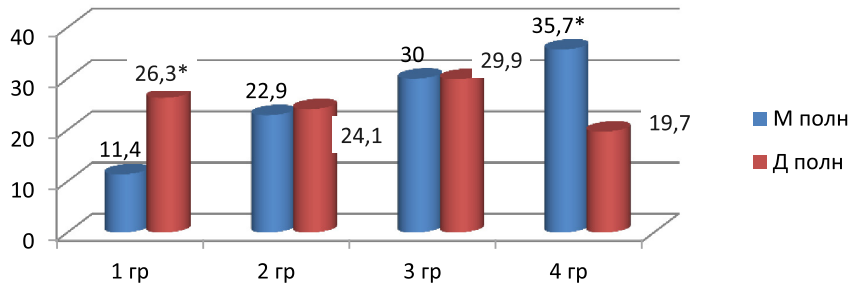


Рис. 5. Сравнение мальчиков и девочек из полных семей
**p < 0,005*

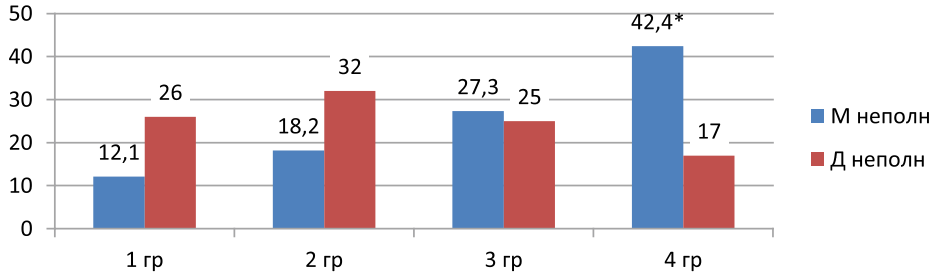


Рис. 6. Сравнение мальчиков и девочек из неполных семей
**p < 0,005*

Заключение

1. В результате проведенной исследовательской работы нами было установлено, что в целом в группу риска по социальной дезадаптации попадает более 30% подростков из городских школ.

2. Девочки превалируют над мальчиками на 10%.

3. При исследовании группы подростков из неполных и полных семей разницы в числе дезадаптантов не было выявлено.

4. При исследовании группы подростков из многодетных и немногодетных семей существенной разницы в числе дезадаптантов также не было выявлено.

5. Таким образом, по результатам исследования установлено, что состав семьи не влияет на социальную адаптацию подростков и, следовательно, на способность человека приспосабливаться к различным требованиям среды.

Список литературы

1. Полынская И.Н. Социальная адаптация школьников средствами этнохудожественного образования // Фундаментальные исследования. 2014. № 9–2. С. 418–423.

2. Ростовцева М.В., Хохрина З.В. Социальная адаптация: философские основания исследования // Философия и культура. 2017. № 5. С. 89–97.

3. Елгина Л.С. Социальная адаптация студентов в вузе // Вестник Бурятского государственного университета. Улан-Удэ, 2010. С. 164.

4. Телина И.А., Лосева А.А. Социально-психологические аспекты адаптации студентов к образовательным условиям вуза // Профессиональное становление и развитие личности. 2018. С. 134.

5. Киселева Е.В., Киселев Н.Н. Адаптация студентов в высшем учебном заведении: анализ затруднений, поиск ресурсов // Сибирский педагогический журнал. 2019. С. 60.

УДК 612.825.24

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕДЛЕННЫХ ПРЕДДВИГАТЕЛЬНЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА (МОДИФИКАЦИЯ МЕТОДИКИ РЕГИСТРАЦИИ ПОТЕНЦИАЛА ГОТОВНОСТИ)

[1]Трошина Е.М., [1]Сазонова О.Б., [1]Кроткова О.А., [2]Шарова Е.В., [1]Каверина М.Ю., [1]Суханова А.В.

[1]ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Москва, e-mail: emt@inbox.ru;
[2]ФГБУН «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии» РАН, Москва

В структуре «связанных с движением потенциалов мозга» (СДПМ) выделяется медленное негативное колебание, предшествующее реализации двигательной задачи, так называемый «потенциал готовности» (ПГ). ПГ формируется при совершении произвольного движения без какого-либо внешнего запускающего стимула и является электрографическим эквивалентом процесса формирования моторной программы. Использование классической методики регистрации ПГ оказывается невозможным у пациентов с такой формой нарушения поведения, как аспонтанность, проявляющейся вследствие церебральной патологии, что значительно затрудняет или часто делает невозможным процесс их реабилитации. При выраженной аспонтанности пациент не имеет собственного побудительного механизма для произвольного совершения движения и может выполнить задание только по внешнему «запускающему» сигналу. В связи с этим была разработана и апробирована на группе нормы модифицированная методика регистрации ПГ – выполнение движения (сжимание эспандера) по звуковому сигналу в качестве побудительного стимула. Показано, что при совершении заданного движения по звуковому сигналу регистрируется медленный негативный потенциал (МНП) по физиологическому смыслу сходный с ПГ. МНП может рассматриваться как электрографический эквивалент процесса формирования моторной программы у пациентов с аспонтанностью и использоваться в реабилитационном процессе этих пациентов.

Ключевые слова: произвольные движения, потенциал готовности, медленный негативный потенциал, аспонтанность

STUDY OF SLOW PRELIMINARY POTENTIALS OF THE HUMAN BRAIN (MODIFICATION OF THE METHODOLOGY THE READINESS POTENTIAL)

[1]Troshina E.M., [1]Sazonova O.B., [1]Krotkova O.A., [2]Sharova E.V., [1]Kaverina M.Yu., [1]Sukhanova A.V.

[1]Federal State Autonomous Institution «N.N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery»of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, e-mail: emt@inbox.ru;
[2]Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS, Moscow

In the structure of the «movement-related brain potentials» (SDPM), a slow oscillation preceding the realization of a motor task is distinguished, the so-called «readiness potential» (PG). PG is formed when performing an arbitrary movement without any external triggering stimulus and is the electrographic equivalent of the process of forming a motor program. The use of the classical method of PG registration is impossible in patients with such a form of behavior disorder as spontaneity, manifested as a result of cerebral pathology, which significantly complicates, or often makes it impossible, the process of their rehabilitation. With pronounced spontaneity, the patient does not have his own incentive mechanism for arbitrary movement and can perform the task only by an external «triggering» signal. In this regard, a modified method for registering PG was developed and tested on the norm group – performing a movement (squeezing the expander) by an audible signal as an incentive stimulus. It is shown that when a given movement is performed by an audible signal, a slow negative potential (MNP) is registered in the physiological sense similar to PG. MNP can be considered as an electrographic equivalent of the process of forming a motor program in patients with spontaneity and used in the rehabilitation process of these patients.

Keywords: voluntary movements, readiness potential, slow negative potential, spontaneity

При различных формах церебральной патологии у пациентов нередко выявляется такая форма нарушения поведения, как аспонтанность. Нейропсихология определяет аспонтанность как невозможность самостоятельного включения больного в выполнение какой-либо деятельности, такие пациенты не пытаются вступить в контакт с окружающими людьми, остаются безучастными в ответ на просьбу выполнить какое-либо действие. Как правило, симптом аспонтанности проявляется полимодально, однако может проявляться и избирательным нарушением какой-либо отдельной функции: например, выделяют речевую, двигательную аспонтанность.

Снижение спонтанной активности пациентов крайне затрудняет процесс их реабилитации. При выраженной аспонтанности пациент может повторить движение вслед за инструктором или выполнить движение по сигналу (по голосовой команде

врача, по зрительному или звуковому сигналу), однако не имеет собственного побудительного механизма для произвольного совершения движения.

При исследовании произвольных движений показана эффективность использования нейрофизиологических методик в сочетании с нейровизуализационными методами. Это анализ изменений суммарной биоэлектрической активности мозга (ЭЭГ) [1–3] в сопоставлении с параметрами фМРТ в процессе выполнения двигательной задачи [4], электромиографичекой (ЭМГ) активности [5], а также анализ кратковременных сдвигов биопотенциалов, возникающих в мозге человека за несколько секунд до начала движения [6–8]. Это так называемый «потенциал готовности» (ПГ) – медленная негативная волна, которая выделяется в структуре «связанных с движением потенциалов мозга» (СДПМ) за несколько секунд до начала выполнения произвольного движения с максимальной представленностью в лобных и центральных областях и является электрографическим коррелятом процесса формирования моторной программы [9–11]. По физиологическому смыслу ПГ сходен с другими медленными событийно связанными потенциалами (ССП) мозга (Е-волна, компонент Р300, негативность рассогласования и др.).

Особенностью ССП является то, что их возникновение не связано с каким-то внешним стимулом в обычном понимании, а регистрируются они в ответ на некое эндогенное событие, например ожидание стимула, подготовка к движению, на различия между стимулами и т.д. Сущность данного электрофизиологического феномена заключается в том, что в параметрах ССП отражаются не только реакции в ответ на тот или иной стимул, но и активность мозга, связанная с распознаванием, запоминанием стимула и принятием решения о его значимости.

Нами, совместно с отечественной фирмой МБН, разрабатывалась программа тренинга для реабилитации пациентов со сниженным уровнем спонтанности. В основу программы положена модифицированная методика регистрации ПГ с анализом его амплитудно-временных параметров в качестве электрографических коррелятов спонтанности при выполнении двигательной задачи в произвольном темпе и по заданному («запускающему») звуковому сигналу. Необходимость модификации методики была обусловлена особенностями нарушения поведения пациентов с аспонтанностью.

Целью данной работы является апробация предложенной модифицированной методики регистрации ПГ на группе здоровых людей для оценки физиологической идентичности биоэлектрической активности, зарегистрированной в двух вариантах методики: движение в произвольном темпе и по запускающему сигналу, а также оценить возможность применения модифицированной методики с запускающим сигналом при исследовании пациентов с аспонтанностью.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось на группе из 18 здоровых человек (60–22 года, средний возраст 41 год). В *первой серии* исследуемому предлагалось сжимать эспандер в произвольном темпе, не чаще 1 раза в 5–6 с, последовательно правой (тест 1) и левой (тест 2) рукой, во *второй серии* надо было сжимать эспандер в ответ на короткий звуковой сигнал, который подавался с временным интервалом 6 с (задано программой автоматически),

Активные электроды располагались на скальпе в точках F3, F4, C3, C4, комбинация отведений биопотенциалов монополярная, референтные электроды на мочках ушей – A1 и A2, четные отведения справа, нечетные – слева. Частотная полоса максимально расширена в область медленных частот (до 0,01 Гц), пропускание частых ритмов ограничивалось 25 Гц. Суммировались и усреднялись участки ЭЭГ с эпохой анализа 5 с (3 с до и 2 с после опорного сигнала, которым служил момент замыкания контакта на эспандере), количество усредняемых эпох не менее 30. Для контроля выполнения движения регистрировалась ЭМГ руки, сжимающей эспандер.

Результаты исследования и их обсуждение

В первой серии зарегистрирована медленная негативная волна перед началом движения, представленная в лобных и центральных областях мозга билатерально – потенциал готовности (ПГ), являющийся электрографическим эквивалентом процесса формирования моторной программы. Временные параметры ПГ (длительность в мс) оценивались в интервале от стабильного нарастания восходящего фронта потенциала до момента замыкания контакта эспандера при максимальном сжатии (опорный сигнал для запуска усреднения), амплитуда (в мкВ) – от начала подъема негативной фазы волны до ее максимума (рис. 1).

Длительность ПГ варьировала в диапазоне 1172–726 мс, амплитуда – 8,6–3,4 мкВ.

Существенной межполушарной асимметрии ПГ по длительности и амплитуде при движении правой и левой руки не выявлено, в отдельных случаях отмечалось преобладание амплитуды ответа и меньшая его длительность в полушарии контралатеральном по отношению к «работающей» по сравнению с ипсилатеральным полушарием.

При реализации двигательной задачи «сжимание эспандера в ответ на звуковой стимул» (вторая серия) зарегистрирован медленный негативный потенциал (МНП), аналогичный ПГ по пространственной представленности и параметрам: длительность потенциала в диапазоне 1149–702 мс, амплитуда – 8,3–3,1 мкВ (рис. 2).

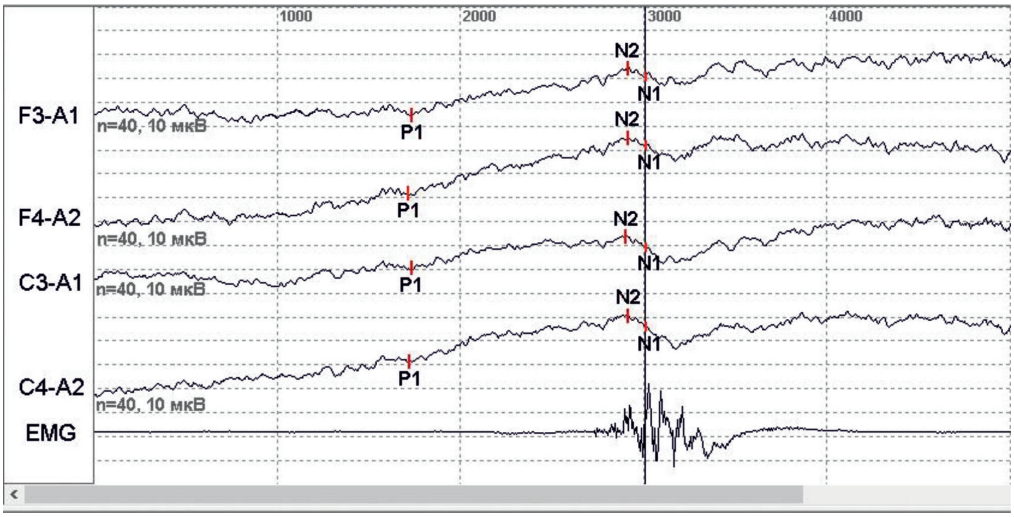


Рис. 1. Потенциал готовности (ПГ), зарегистрированный в лобных (F3, F4) и центральных (C3–C4) отведениях при сжимании эспандера в произвольном темпе, A1 и A2 – референтные электроды на мочках ушей. EMG – электромиограмма «работающей» руки. Маркерами отмечены: P1 – начало стабильного нарастания восходящего фронта негативной волны (начало ПГ), N1 – момент замыкания контакта эспандера (P1–N1 – длительность ПГ), N2 – амплитудный максимум ПГ

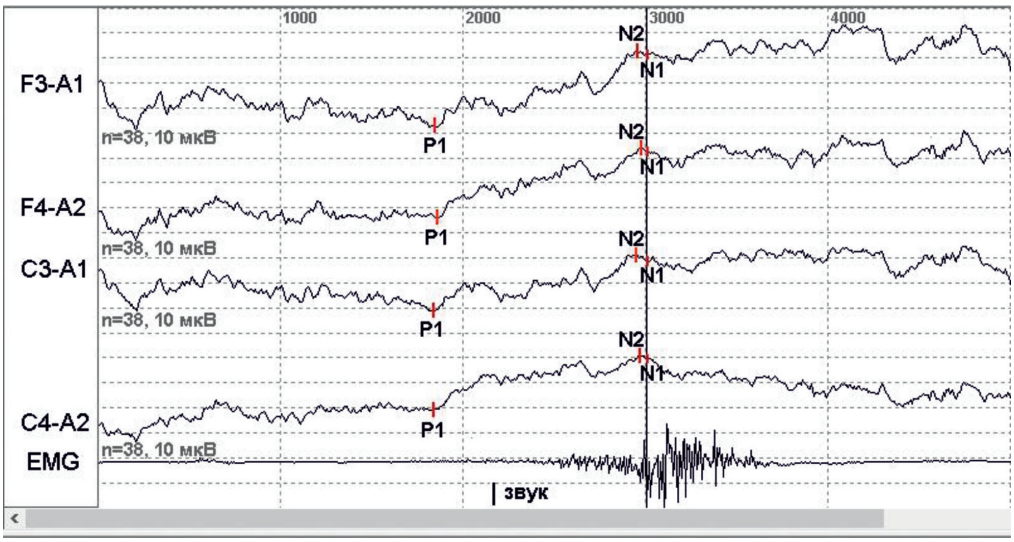


Рис. 2. Медленный негативный потенциал (МНП) (медленная волна P1–N1), зарегистрированный в лобных (F3, F4) и центральных (C3–C4) отведениях при сжимании эспандера по звуковому сигналу, A1 и A2 – референтные электроды на мочках ушей. EMG – электромиограмма «работающей» руки. Маркерами отмечены: P1 – начало стабильного нарастания восходящего фронта негативной волны (начало МНП), N1 – момент замыкания контакта эспандера (P1–N1 – длительность МНП), N2 – амплитудный максимум МНП

При сопоставлении средних показателей абсолютных значений временных параметров этих двух видов медленной активности выявляется меньшая длительность МНП, чем ПГ, что свидетельствует о более коротком периоде формирования моторной программы при реализации движения по звуковому стимулу, чем при совершении движения в произвольном темпе. Существенной разницы амплитудных параметров не отмечено. Выявлялись сходные с ПГ тенденции асимметрии амплитудно-временных параметров МНП в контралатеральном и ипсилатеральном полушарии по отношению к «работающей» руке. Отмечается начало нарастания МНП перед звуковым сигналом, что, по-видимому, свидетельствует о формирования моторной программы не с момента получения звукового сигнала, а в более ранний период, т.е. в период ожидания внешнего стимула.

Схожесть пространственной представленности и значений амплитудно-временных параметров ПГ, зарегистрированного в первой серии исследования, и МНП, зарегистрированного во второй серии исследования, дает основание полагать, что данные электрографические феномены сходны по физиологическому смыслу и механизмам формирования, и рассматривать МНП, аналогично ПГ, как электрографический эквивалент процесса формирования моторной программы.

Средние значения параметров ПГ по группе здоровых обследуемых при сжимании эспандера в произвольном темпе правой и левой рукой представлены в табл. 1.

Средние значения параметров МНП по группе здоровых обследуемых при сжимании эспандера на звуковой сигнал правой и левой рукой представлены в табл. 2.

Средние по группе нормы значения временных параметров ПГ в сопоставлении с аналогичными показателями МНП, представленные в графическом виде (рис. 3), демонстрируют большую длительность медленного потенциала (ПГ), формирующегося при произвольном движении, чем при движении по звуковому сигналу (МНП). Существенных различий в амплитудных параметрах не выявлено (рис. 4), на диаграммах также можно видеть преобладание амплитуды ответа и меньшую его длительность в полушарии контралатеральном по отношению к «работающей» по сравнению с ипсилатеральным полушарием.

Таблица 1

Временные и амплитудные параметры ПГ при сжимании эспандера в произвольном темпе правой и левой рукой (средние значения по группе здоровых обследуемых)

Отведения ЭЭГ	Длительность (мс)		Амплитуда (мкв)	
	ПГ правая рука	ПГ левая рука	ПГ правая рука	ПГ левая рука
F3-A1	947,8	949,5	6,5	6,2
F4-A2	950,2	947,9	5,8	6
C3-A1	946,5	951,5	6,2	6
C4-A2	948,8	948,5	6	5,6

Таблица 2

Временные и амплитудные параметры МНП при сжимании эспандера в произвольном темпе правой и левой рукой (средние значения по группе здоровых обследуемых)

Отведения ЭЭГ	Длительность (мс)		Амплитуда (мкв)	
	МНП правая рука	МНП левая рука	МНП правая рука	МНП левая рука
F3-A1	925,2	927,6	6	5,4
F4-A2	927,4	924,9	5,7	5,8
C3-A1	924,5	929,1	6,1	5,6
C4-A2	927,8	923,2	5,9	5,7

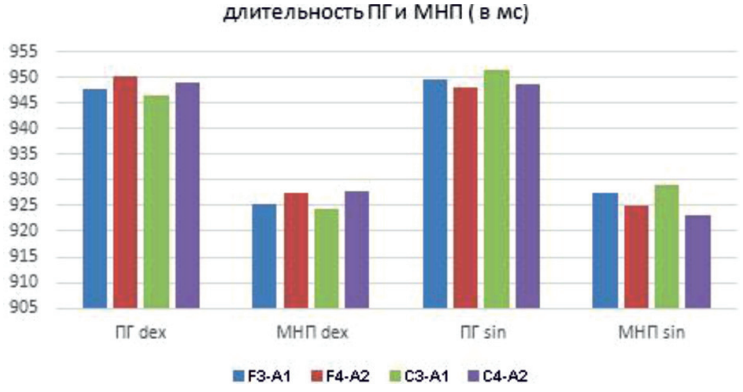


Рис. 3. Соотношение длительности ПГ и МНП при сжимании эспандера правой (ПГ dex, МНП dex) и левой (ПГ sin, МНП sin) рукой (средние значения по группе нормы); F3–A1, C3–A1 – отведения левого полушария, F4–A2, C4–A2 – отведения правого полушария

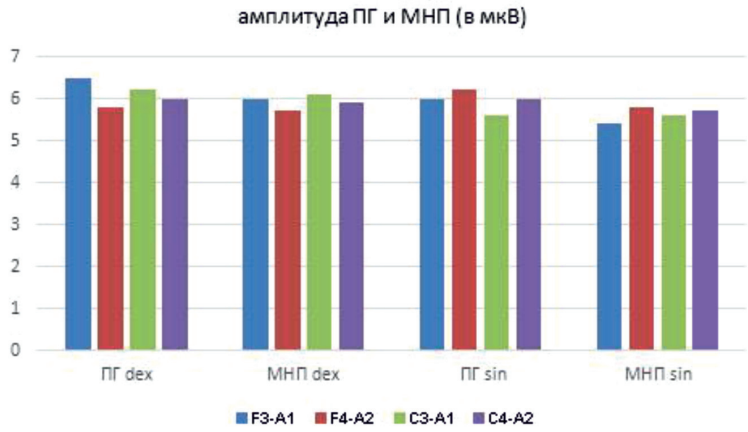


Рис. 4. Соотношение амплитуды ПГ и МНП при сжимании эспандера правой (ПГ dex, МНП dex) и левой (ПГsin, МНП sin) рукой (средние значения по группе нормы); F3–A1, C3–A1 – отведения левого полушария, F4–A2, C4–A2 – отведения правого полушария

Заключение

На группе нормы апробирована модифицированная методика регистрации ПГ для дальнейшего ее использования в качестве тренинговой программы реабилитации пациентов со сниженным уровнем спонтанности. В первой серии исследования регистрировалась медленная активность, появляющаяся за несколько секунд до начала выполнения произвольного движения (сжимание эспандера в произвольном темпе), с максимальной представленностью в лобных и центральных областях, которая является электрографическим эквивалентом процесса формирования моторной программы. Данный электрофизиологический феномен, по амплитудно-временным параметрам и пространственной представленности, соответствует классическому «потенциалу готовности», описанному в литературе. Как показано в ранее опубликованной нами статье [11], ПГ может рассматриваться в качестве электрографического коррелята спонтанности при совершении произвольного движения.

Учитывая особенности пациентов с выраженной аспонтанностью (отсутствие собственного побудительного механизма для произвольного совершения движения и выполнение движения лишь в ответ на внешний стимул), реализация классического варианта методики регистрации ПГ у них оказывается невозможной. Нами разработана модифицированная методика регистрации ПГ – выполнение заданного движения (сжимание эспандера) по звуковому сигналу. Показано, что при совершении заданного движения по звуковому сигналу регистрируется МНП (вторая серия исследования), по физиологическому смыслу сходный с ПГ. Данная активность также может рассматриваться как электрографический эквивалент процесса формирования моторной программы и как маркер спонтанности при совершении произвольного движения.

В результате проведенного исследования отмечено, что начало нарастания МНП происходит до получения звукового сигнала, что может свидетельствовать о формировании моторной программы в период ожидания внешнего стимула.

Использование звукового сигнала в качестве побудительного стимула для реализации двигательной задачи, по-видимому, будет эффективным в программе реабилитации пациентов с аспонтанностью, что планируется реализовать в наших дальнейших исследованиях.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 19-29-01002 мк.

Список литературы

1. Асланян Е.В., Кирой В.Н., Лазуренко Д.М., Бахтин О.М., Миняева Н.Р. Спектральные характеристики ЭЭГ в динамике произвольной двигательной активности // Журнал высшей нервной деятельности. 2014. Т. 64. № 2. С. 147–158. DOI: 10.7868/S0044467714020038.

2. Шарова Е.В., Болдырева Г.Н., Жаворонкова Л.А., Ярец М.Ю., Каверина М.Ю., Трошина Е.М., Кроткова О.А. Поиск ЭЭГ-маркеров произвольного компонента двигательной активности человека // Современные проблемы науки и образования. 2020. № 3. С. 56–65. [Электронный ресурс]. URL: https://science-education.ru/ru/article/view?id=29818 (дата обращения: 27.10.2021). DOI: 10.17513/spno.29818.

3. Lew E., Chavarriaga R., Silvoni S., Millán J. del R. Detection of self-paced reaching movement intention from EEG signals. Frontiers in Neuroengineering. 2012. Vol. 5. No. 13. P. 1–17. DOI: 10.3389/fnint.2012.00059.

4. Болдырева Г.Н., Шарова Е.В., Жаворонкова Л.А., Челяпина М.В., Дубровская Л.П., Симонова О.А., Смир-

нов А.С., Трошина Е.М., Корниенко В.Н. ФМРТ и ЭЭГ реакции мозга здорового человека при активных и пассивных движениях ведущей рукой // Журнал высшей нервной деятельности. 2014. Т. 64. № 5. С. 388–399. DOI: 10.7868/S0044467714050049.

5. Хорева В.С., Максименко В.А., Пицик Е.Н., Руннова А.Е., Куркин С.А., Храмов А.Е. Анализ двигательной активности с использованием сигналов электромиограмм // Информационно-управляющие системы. 2019. № 3. С. 114–120. DOI: 10.31799/1684-8853-2019-3-114-120.

6. Savić A., Lontis R., Jiang N., Popović M., Farina D., Dremstrup K., Mrachacz-Kersting N. Movement related cortical potentials and sensory motor rhythms during self initiated and cued movements. Replace, Repair, Restore, Relieve–Bridging Clinical and Engineering Solutions in Neurorehabilitation. Springer International Publishing. 2014. P. 701–707. [Electronic resource]. URL: https://researchgate.net/publication/271909395 (date of access: 29.09.2021). DOI: 10.1007/978-3-319-08072-7_98.

7. Иванова М.П. Корковые механизмы произвольных движений у человека. Отделение физиологии, ВНИИ физической культуры. М.: Наука, 1991. 189 с.

8. Brunia C.H.M., van Boxtel G.J.M., Bocker K.B.E. Negative slow waves as indices of anticipation: the Bereitschaftspotential, the Contingent negative variation, and the stimulus-preceding negativity. The Oxford Handbook of Event-Related Potential Components. Oxford Library of Psychology. Steven J. Luck, Emily S. Kappenman. Oxford University Press. 2011. P. 189–208. DOI: 10.1093/oxfordhb/9780195374148.013.0108.

9. Shibasaki H., Hallett M. What is the Bereitschaftspotential? Clinical Neurophysiology. 2006. Vol. 117. P. 2341–2356. DOI: 10.1016/j.clinph.2006.04.025.

10. Лазуренко Д.М., Кирой В.Н., Асланян Е.В., Шепелев И.Е., Бахтин О.М., Миняева Н.Р. Электрографические характеристики связанных с движением потенциалов // Журнал высшей нервной деятельности. 2017. Т. 67. № 4. С. 430–444. DOI: 10.7868/S0044467717040050.

11. Трошина Е.М., Сазонова О.Б., Кроткова О.А., Шарова Е.В., Каверина М.Ю., Болдырева Г.Н., Жаворонкова Л.А. Связанные с движением потенциалы мозга человека как электрографический коррелят подготовки и реализации произвольного двигательного акта // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2020. № 5. С. 57–62.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

УДК 616.98:578.834.1-036.1

СЛУЧАЙ ТЯЖЕЛОГО ПОСТКОВИДНОГО СИНДРОМА

[1]Ибраева Ж.Б., [2]Айткулуев Н.С., [1]Эргешова А.Б., [1,3]Суранбаева Г.С., [4]Мурзакулова А.Б., [5]Анарбаева А.А., [1]Алишерова А.Ш.

Кыргызская государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева, Бишкек, e-mail: gul1967@inbox.ru;

[2]Кыргызско-Российский Славянский университет им. Б.Н. Ельцина, Бишкек;

[3]Научно-производственное объединение «Профилактическая медицина» МЗ КР, Республиканский научно-практический центр по контролю вирусных инфекций, Бишкек;

[4]Ошская областная объединенная клиническая больница, Ош;

[5]Ошский государственный университет, Ош

В работе приведен случай тяжелого постковидного синдрома при коронавирусной инфекции COVID-19 на основании ретроспективного анализа истории болезни пациентки Т., перенесшей тяжелую форму коронавирусной инфекции, осложненной двусторонней внебольничной пневмонией, (ДН) I–II степени. При дальнейшем динамическом наблюдении в течение 8 месяцев после выписки из стационара больная неоднократно сообщала о различных жалобах: одышке при физической нагрузке, тахикардии, повышенной утомляемости, неустойчивости настроения, снижении концентрации внимания и памяти, ощущении нехватки воздуха, депрессии, тревожности, выпадении волос, бессоннице, выраженной сухости кожных покровов, потливости, болях в мышцах и суставах. Учитывая вышеперечисленные жалобы, авторы провели исследование данной пациентки на иммунологический статус по Т-звену иммунного статуса. Было отмечено снижение концентрации в крови Т-лимфоцитов (СД – 3,35% при норме 50–70%). Эффекторные звенья представлены легкой стимуляцией и небольшим повышением всех показателей, что предполагало дисбаланс гормонального фона. Индукция В-звена с увеличением CD19 сопровождалась нормальной продукцией общих иммуноглобулинов. Имеющий место дефицит фагоцитарной активности нейтрофилов (фагоцитарный индекс 44 ед.) указывал на слабость неспецифической системы резистентности пациентки. Результаты проведенного клинического и иммунологического анализа показывают, что степень тяжести перенесенного заболевания COVID-19 у наблюдаемой пациентки напрямую повлияла на уровень показателей и тяжесть протекающего у нее постковидного синдрома.

Ключевые слова: COVID-19, постковидный синдром, симптомы, иммунный статус

THE CASE OF POST-COVID SYNDROME

[1]Ibraeva J.B., [2]Aitkuluev N.S., [1]Erheshova A.B., [1,3]Suranbaeva G.S., [4]Murzakulova A.B., [5]Anarbaeva A.A., [1]Alisherova A.Sh.

[1]I.K. Akhunbaev Kyrgyz state medical academy, Bishkek e-mail: gul1967@inbox.ru;

[2]Kyrgyz-Russian Slavic University named after B.N. Eltsin, Bishkek;

[3]Scientific and Production Centre for Preventive Medicine, Bishkek;

[4]Osh Regional Amalgamated Clinical Hospital, Osh;

[5]Osh State University, Osh

The paper presents a case of severe post-COVID syndrome in the case of coronavirus infection COVID-19 based on a retrospective analysis of the medical history of patient T., who suffered a severe form of coronavirus infection and was complicated by 2-sided community-acquired pneumonia, respiratory failure of I–II degree. During further dynamic observation for eight months after discharge from the hospital, the patient repeatedly reported various complaints: shortness of breath during physical exertion, tachycardia, fatigability, instability of mood, problems with concentration and memory loss, feelings of shortness of breath, depression, anxiety, hair loss, insomnia, pronounced dryness of the skin, sweating, muscle and joint pain. Taking into account the above complaints, it was interesting for us to conduct a study of this patient for the immunological status According to the T link of the immune status, a decrease in the concentration of T lymphocytes in the blood was noted (CD – 3,35% at a norm of 50–70%). Effector links are represented by light stimulation and a slight increase in all indicators, which suggested an imbalance of the hormonal background. Induction in combination with an increase in CD19 was accompanied by normal production of total immunoglobulins. The deficiency of the phagocytic activity of neutrophils (phagocytic index 44 units) indicated the weakness of the patient's nonspecific resistance system. The results of the conducted clinical and immunological analysis show that the severity of the disease with COVID-19, in the observed patient, directly affected the level of indicators and the severity of her post-COVID syndrome.

Keywords: COVID-19, post-COVID syndrome, symptoms, immune status

Пандемия коронавирусной инфекции стала мировой проблемой на современном этапе и привела к огромным человеческим и финансовым потерям. COVID-19 все еще представляет собой значительную угрозу для человечества и требует принятия неотложных мер в отношении охраны здоровья [1]. На современном этапе в связи

с актуальностью коронавирусной инфекции COVID-19 продолжается дальнейшее изучение клинических и лабораторных особенностей этой болезни в остром периоде и после перенесения инфекции [2, 3]. Хотя борьба с данной инфекцией длится более года, еще недостаточно изучены последствия COVID-19 в сочетании или без сочетания с сопутствующими хроническими заболеваниями [4]. Тяжесть течения болезни, вызванной SARS-CoV-2, колеблется от бессимптомной до тяжелых форм с неблагоприятными исходами. По последним данным, большинство заразившихся этой инфекцией выздоравливают, но есть сообщения врачей о сохранении последствий болезни – от легких клинических симптомов до существенной дисфункции органов [5]. В настоящее время все клиницисты изучают встречаемость симптомов после перенесенной коронавирусной инфекции COVID-19 в так называемый постковидный период. Но пока еще отсутствует достоверная информация о его возникновении и длительности. Ученые из Великобритании во главе с Greenhalgh Trisha одними из первых предложили термин «long-covid», предполагающий совокупность симптомов после перенесенной коронавирусной инфекции, сохраняющихся более 3 недель с момента появления первых симптомов («подострый COVID-19») и более 12 недель («хронический COVID-19») [6].

Имеющиеся фактические данные и накопленный опыт в период пандемии COVID-19 ясно показывают, что у пациентов может быть широкий спектр симптомов после лечения от основного заболевания, продолжающихся более 12 недель [7, 8]. Борьба с последствиями COVID-19 является весьма актуальной задачей для современной медицины [9]. Постковидный синдром встречался у больных, перенесших COVID-19 в возрасте старше 50 лет, имеющих избыточную массу тела и ожирение, и предполагал наличие таких симптомов, как кашель, усталость, головная боль, диарея, потеря обоняния в начале заболевания. Симптомы постковидного синдрома появляются независимо от тяжести течения болезни. Терапия постковидного синдрома еще не разработана. Обращая внимание на жалобы пациентов, клиницисты проводят лечение постковидного синдрома симптоматическими средствами, ориентируясь только на основные проявления [10]. Возможными причинами «постковидного синдрома» могут быть устойчивая виремия, воспалительные и прочие иммунные реакции, ухудшение состояния и другие психические явления [7, 11]. Все это требует дальнейшего изучения последствий COVID-19, а также необходимости разработки эффективных методов реабилитации и мониторинга реконвалесцентов COVID-19.

Цель исследования – анализ клинического случая с тяжелым постковидным синдромом, требующего разработки более эффективных мероприятий, направленных на профилактику и лечение больных с постковидным синдромом.

Материалы и методы исследования

Проведен ретроспективный анализ истории болезни пациентки Т., перенесшей тяжелую форму коронавирусной инфекции, осложненной двусторонней внебольничной пневмонией, дыхательной недостаточностью (ДН) I–II степени. Сопутствующих заболеваний у больной не обнаружено.

Результаты исследования и их обсуждение

Пациентка Т., 56 лет, медицинский работник, поступила в стационар 02.10.2020 г. на 10-й день болезни, в тяжелом состоянии с жалобами на кашель, выраженную одышку, повышение температуры тела, головную боль, общую слабость, потливость, снижение аппетита, ломоту и боль по всему телу. Из эпидемиологического анамнеза выяснено, что больная неоднократно работала дежурным врачом в «красной зоне», где консультировала и лечила больных с COVID-19. После возвращения домой с дежурства через 5 дней пациентку стали беспокоить першение в горле и кашель. Спустя 2 дня к этим симптомам присоединились повышение температуры тела, головная боль, общая слабость. В течение 10 дней больная находилась дома, на амбулаторном лечении. Самостоятельно получала антибактериальную, гормональную и симптоматическую терапию. В динамике: общее состояние пациентки, несмотря на проведенное амбулаторное лечение, резко ухудшилось, в связи с чем больная была доставлена в инфекционную больницу скорой медицинской помощью и госпитализирована в отделение интенсивной терапии. Результат анализа мазка из носоглотки на SARS-CoV-2 (от 03.10.2020 г.), проведенного с помощью полимеразно-цепной реакции (ПЦР), оказался положительным. Из перенесенных заболеваний больная отмечает только острые респираторные вирусные инфекции. Прививка сделана по возрасту.

Объективный статус при поступлении: общее состояние больной оценивается как тяжелое. Сатурация кислорода <80 %. Сознание ясное. Температура тела 38,5 °С. Кожные покровы, видимые слизистые обо-

лочки бледные, отеков нет. В зеве отмечается выраженная гиперемия дужек миндалин. Отмечалась зернистость задней стенки глотки. Над легкими: дыхание в нижних отделах ослабленное, хрипов нет. Частота дыхания 26 в минуту. Тоны сердца приглушены, ритмичные, частота сердечных сокращений (ЧСС) 81 в минуту. Артериальное давление (АД) 120/80 мм рт. ст. Живот мягкий, размеры печени и селезенки в пределах нормы. Стул и диурез не нарушены. В психологическом статусе: больную больше беспокоили тревожность, бессонница, трудность общения с близкими, чувство страха и тревоги, депрессия.

В табл. 1 приведены показатели крови пациентки Т. при ее поступлении в инфекционную клинику. Нормы показателей даны для женщин в возрасте старше 50 лет. По данным, приведенным в табл. 1, можно отметить, что многие клинико-биохимические показатели крови находятся в пределах нормы. Несколько повышен показатель СОЭ (37 мм/ч), повышены также показатели, связанные с концентрацией веществ в крови. Так, для мочевины показатель составил 7,2 ммоль/л, против нормы до 6,46 ммоль/л, а также для холестерина – 6,0 ммоль/л при норме до 5,5 ммоль/л. Наиболее заметно превышение показателей для специфических маркеров, на COVID-19: С-реактивного белка (превышение нормы почти в 20 раз), интерлейкина-6 (в 4–5 раз), лактатдегидроназы – в 1,12 раза и Д-димера – в 1,2 раза, прокальцитонин в пределах нормы. Таким образом, клинико-биохимический анализ подтверждает наличие у пациентки Т. инфекционного процесса, связанного с COVID-19.

На обзорной рентгенограмме органов грудной клетки была выявлена двусторонняя пневмония.

В отделении интенсивной терапии была проведена следующая терапия: высокопоточная оксигенотерапия; антибактериальная терапия (левофлоксацин, цефаперозон, москицин, меропинем); кроме того, больная получала такие препараты, как клексан, актемра, омепразол, верошпирон, амбросал, ксарелто.

Таблица 1

Клинико-биохимические показатели крови пациентки Т.

№	Показатель	Значения показателя	
		В норме	В момент поступления
1	Гемоглобин	120–140 г/л	114 г/л
2	Эритроциты	3,8–5,1x10^{12} клеток/л	3,68x10^{12} клеток/л
3	Тромбоциты	200–400x10^{9}/л	213x10^{9}/л
4	Лейкоциты	3,5–12,5x10^{9}/л	8,3x10^{9}/л
5	Лимфоциты	20–35%	2,10%
6	Нейтрофилы сегментоядерные	45–72%	52%
7	Нейтрофилы палочкоядерные	1–5%	6%
8	Эозинофилы	3–14%	3%
9	Моноциты	3–14%	3%
10	СОЭ	до 20 мм/ч	37 мм/ч
11	Билирубин общий	3,4–20,4 мкмоль/л	18 мкмоль/л
12	Билирубин прямой	0–5,1 мкмоль/л	2,57 мкмоль/л
13	Билирубин непрямой	до 16,5 мкмоль/л	15,43 мкмоль/л
14	Азот остаточный	14,28–28,56 мкмоль/л	25,7 мкмоль/л
15	Мочевина	3,23–6,46 ммоль/л	7,2 ммоль/л
16	Креатинин	0,088–0,176 ммоль/л	0,084 ммоль/л
17	Холестирин	менее 5,5 ммоль/л	6,0 ммоль/л
18	Сахар (глюкоза)	3,3–5,5 ммоль/л	6,0 ммоль/л
19	Протромбированный индекс (ПТИ)	70–105%	91%
20	АЛТ	до 31 Ед/л	30 Ед/л
21	АСТ	до 32 Ед/л	28 Ед/л
	Специфические вещества (маркеры)		
22	С-реактивный белок	менее 5 мг/л	98 мг/л
23	Интерлейкин-6	1,3+3,2 пг/мл	19,44 пг/мл
24	Лактатдегидрогеназа (ЛДГ)	13–220 Ед/л	245 Ед/л
25	Д-Димер	до 0,25 мкг/мл	0,30 мкг/мл
26	Прокальцитонин	0,02–0,2 мкг/л	0,12 мкг/л

На фоне проводимой терапии общее состояние больной значительно улучшилось. Результат мазка из носоглотки на присутствие SARS-CoV-2 (от 12.10.2020 г.), проведенного с помощью ПЦР-анализа, был отрицательным. 23.10.2020 г. больная была выписана из стационара в удовлетворительном состоянии. Даны следующие рекомендации: наблюдение у семейного врача по месту жительства; соблюдение домашнего карантина в течение 14 дней; измерение температуры тела 2 раза в день; обязательное ношение маски; избегание контакта с детьми и пожилыми людьми; прием ксарелто 10 мг по 1 таблетке 1 раз в день в течение 30 дней; проведение дыхательной гимнастики.

Однако при дальнейшем динамическом наблюдении в течение 8 месяцев после выписки из стационара больная неоднократно сообщала о различных жалобах, таких как появление одышки при физической нагрузке, тахикардии, повышенной утомляемости, неустойчивости настроения, снижение концентрации внимания и памяти, ощущение нехватки воздуха, депрессия, тревожность, выпадение волос, бессонница, выраженная сухость кожных покровов, потливость, боли в мышцах и суставах. Учитывая вышеперечисленные жалобы, авторы провели исследование данной пациентки на иммунологический статус (табл. 2). При этом были получены следующие результаты: абсолютное количество лейкоцитов оставалось в пределах нормы, в лейкоцитарной формуле отмечалась эозинофилия. По Т-звену иммунного статуса было отмечено снижение концентрации в крови Т-лимфоцитов (СД-3, 35 % при норме 50–70 %). Со стороны иммунорегуляторного индекса (ИРИ) каких-либо изменений не отмечалось. Эффекторные звенья представлены легкой стимуляцией и небольшим повышением всех показателей, что предполагало дисбаланс гормонального фона. Индукция В-звена с увеличением CD-19 сопровождалась нормальной продукцией общих иммуноглобулинов. Имеющий место дефицит фагоцитарной активности нейтрофилов (фагоцитарный индекс 44 ед. против нормы 60–90 ед.) указывал на слабость неспецифической системы резистентности пациентки. Показатели аутоиммунного ответа у больной были частично повышены, что указывает на активацию иммунитета. Отмечено также увеличение концентрации в крови натуральных киллеров (СД-16) – 26 % при норме 10–24 %. Значительно, в 2–5 раз, увеличена концентрация В-лимфоцитов (СД-20) – 1134 клеток/мкл против нормы 150–450 клеток/мкл. Последний показатель свидетельствует, возможно, о наличии в организме пациентки процесса активного фагоцитоза, выработке большого количества антител и повышении устойчивости иммунитета. Со стороны циркулирующих иммунных комплексов у больной изменений не наблюдалось.

Таблица 2

Показатели клеточного и гуморального иммунитета у больной с тяжелым постковидным синдромом

Показатели клеточного иммунитета	Значения показателя		
	Результат	Норма	Ед. изм.
CD-3 (Т-лимфоциты), абс.зн.	945	350–1800	клеток/мкл
CD-3 (Т-лимфоциты),%	35	50–70	%
CD-4 (Т-хелперы),%	40	33–46	%
CD-8 (Т-лимфоциты цитотоксические),%	21	17–30	%
Иммунно-регуляторный индекс	2,0	1,40–2,40	усл. ед.
CD-16 (натуральные киллеры)	26	10–24	%
CD-25 (ИЛ-2)	34	10–28	%
CD-95 (апоптоз)	43	10–39	%
Фагоцитарный индекс	44	60–90	усл. ед.
Еа-РОК,%	8	до 5	%
CD-20 (В-лимфоциты), абс. зн.	1134	150–450	клеток/мкл
CD-20 (В-лимфоциты),%	42	17–32	%
Оценка гуморального иммунитета IgA	1,39	0,40–2,30	г/л
Оценка гуморального иммунитета IgM	1,53	0,40–2,30	г/л
Оценка гуморального иммунитета IgG	13,99	7–16	г/л
Циркулирующие иммунные комплексы	74	до 110	опт. ед.

Выводы

В результате проведенного клинического и иммунологического анализа можно сделать следующее заключение о том, что степень тяжести перенесенного заболевания с COVID-19 у наблюдаемой пациентки напрямую повлияла на уровень показателей и тяжесть протекающего у нее постковидного синдрома.

Учитывая возможность развития у больных мультисистемных жалоб после перенесенной вирусной инфекции COVID-19, в дальнейшем пациенты в обязательном порядке должны обследоваться и находиться под контролем семейных врачей. А также необходимо организовать консультации соответствующих специалистов по результатам проведенных анализов, виду симптомов, предъявляемым жалобам со стороны пациентов. Дополнительные исследования состояния здоровья пациентов с постковидным синдромом помогут своевременно исключить развивающиеся у них тяжелые осложнения и назначить адекватную поддерживающую и реабилитационную терапию в период реконвалесценции.

Список литературы

1. Никитин И.Г., Ильиченко Л.Ю., Федоров И.Г., Тотолян Г.Г. Поражение печени при COVID-19: два клинических наблюдения // Альманах клинической медицины. 2020. Т. 48. № 6. С. 412–421. DOI: 10. 18786/2072-0505-2020-48-053.

2. Chen T., Wu.D., Chen H., Yan W., Yang D., Chen G., Ma K., Xu D., Yu H., Wang H., Wang T., Guo W., Chen J., Ding C., Zhang X., Huang J., Han M., Li S., Luo X., Zhao J., Ning Q. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective. BMJ. 2020. № 368: m1091. 14 P. DOI: 10.1136/bmj.m1091.

3. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y., Qiu Y., Wang J., Liu Y., Wei 1 Y., Xia J., Yu 1 T., Zhang X., Zhang L. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: A descriptive study. Lancet. 2020. Vol. 395. № 10223. P. 507–513. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.

4. Ларина В.Н., Рыжих А.А., Бикбаева Л.И. Постковидный период: Современный взгляд и клинические особенности // Архив внутренней медицины. 2021. Т. 11. № 3. С. 186–195. DOI: 10.20514/2226-6704-2021-11-3-186-195.

5. Carlos del Rio, Lauren F. Collins, Preeti Malani. Long-term Health Consequences of COVID-19. JAMA. 2020. Vol. 324. № 17. P. 1723–1724. DOI: 10.1001/jama.2020.19719.

6. Greenhalgh Trisha, Knight Matthew, A'Court Christine, et al. Management of post-acute covid-19 in primary care. BMJ. 2020. № 370: m3026. 8 P. DOI: 10.1136/bmj.m3026.

7. Carfì A., Bernabei R., Landi F., Gemelli Against COVID-19 Post-Acute Care Study Group. Persistent Symptoms in Patients After Acute COVID-19. JAMA 2020. Vol. 324. № 6. P. 603–605. DOI: 10.1001/jama.2020.12603.

8. Halpin S.J., McIvor C., Whyatt G., Harvey A.A.O., McLean L., Walshaw L.C., Kemp S., Corrado J., Singh R., Collins T., O'Connor R.J., Sivan M. Postdischarge symptoms and rehabilitation needs in survivors of COVID-19 infection: A cross-sectional evaluation. J. Med. Virol. 2021. Vol. 93. № 2. P. 1013–1022. DOI: 10.1002/jmv.26368.

9. Каратеев А.Е., Амирджанова В.Н., Насонов Е.Л., Лила А.М., Алексеева Л.И., Погожева Е.Ю., Филатова Е.С., Нестеренко В.А. «Постковидный синдром»: в центре внимания скелетно-мышечная боль // Научно-практическая ревматология. 2021. Т. 59. № 3. С. 255–262.

10. Трисветова Е.Л. Постковидный синдром: клинические признаки, реабилитация // Кардиология в Беларуси. 2021. Т. 13. № 2. С. 268–279.

11. Goërtz Y.M.J., Van Herck M., Delbressine J.M., Vaes A.W., Meys R., Machado F.V.C., Houben-Wilke S., Burtin C., Posthuma R., Franssen F.M.E., van Loon N., Hajian B., Spies Y., Vijlbrief H., van 't Hul A.J., Janssen D.J.A., Spruit M.A. Persistent symptoms 3 months after a SARS-CoV-2 infection: the post-COVID-19 syndrome. ERJ Open Res. 2020. Vol. 26. № 6. P. 10. DOI: 10.1183/23120541.00542-2020.

СТАТЬИ

УДК 550.72

ОБЗОР ЗАПАТЕНТОВАННЫХ СПОСОБОВ СКВАЖИННОГО, ПОДЗЕМНОГО БИОВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ СУЛЬФИДНЫХ РУД

Иодис В.А.

ФГБУН Научно-исследовательский геотехнологический центр Дальневосточного отделения Российской академии наук, Петропавловск-Камчатский, e-mail: iodisva@mail.ru

В работе представлен обзор патентов базы данных российского патентного ведомства способов скважинного, подземного биовыщелачивания – способа выщелачивания сульфидных руд и концентратов НИиПИ «Унипромедь», способа бактериального выщелачивания цветных металлов из руд ИГД АН Казахской ССР, способа бактериального выщелачивания руды МГИ им. Серго Орджоникидзе, способа подземного выщелачивания сульфидных медьсодержащих полиметаллических руд ЗАО «Интегра», способа комбинированной разработки руд ЧитГУ, способа получения окислителя для выщелачивания металлов из сульфидного минерального сырья НИТУ «МИСиС», способа подземного выщелачивания металлов из сульфидсодержащего минерального сырья с выявлением их преимуществ и недостатков, а также предложение наиболее оптимального способа. В предлагаемом способе для предварительной промывки подают водный раствор серной кислоты в сульфидную руду, затем насыщают руду активной биомассой микроорганизмов. В дальнейшем предполагается чередование подачи H_2SO_4 и бактериального раствора. Для снижения эксплуатационных затрат в руду подается подкисленный раствор без металлов, полученный после извлечения ценных металлов. Для поддержания жизнедеятельности бактерий, участвующих в окислительных процессах, предлагаемый способ включает прерывистую подачу кислорода воздуха. Перед процессом биовыщелачивания рудное тело необходимо вскрыть, пробурить с получением скважин, взорвать, пробурить заезды и скважины для аэрации и слива раствора на извлечение.

Ключевые слова: скважинное, подземное биовыщелачивание, сульфидные руды, металлы, бактериальный раствор, медь, цинк, патент

OVERVIEW OF PATENTED METHODS FOR WELL, UNDERGROUND BIOLOGICAL LEACHING OF SULFIDE ORE

Iodis V.A.

Research Geotechnological Center, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences, Petropavlovsk-Kamchatsky, e-mail: iodisva@mail.ru

The paper presents an overview of the patents of the database of the Russian Patent Office of the methods of borehole, underground bioleaching – the method of leaching sulfide ores and concentrates of the RIPI «Unipromed», the method of bacterial leaching of non-ferrous metals from the ores of the MI Academy of Sciences of the Kazakh SSR, the method of bacterial leaching of ore MSI im. Sergo Ordzhonikidze, method of underground leaching of sulfide copper-containing polymetallic ores of CJSC «Integra», method of combined mining of ores of ChitSU, a method of obtaining an oxidizer for leaching metals from sulfide mineral raw materials of RTU «MISiS», a method of underground leaching of metals from sulfide-containing mineral raw materials with the identification of their advantages and disadvantages, as well as proposing the most optimal method. In the proposed method for preliminary washing, an aqueous solution of sulfuric acid is fed into the sulfide ore, then the ore is saturated with active biomass of microorganisms. In the future, it is assumed that the supply of H2SO4 and the bacterial solution will alternate. To reduce operating costs, an acidified solution without metals, obtained after the extraction of valuable metals, is fed into the ore. To maintain the vital activity of bacteria participating in oxidative processes, the proposed method includes an intermittent supply of air oxygen. Before the bioleaching process, the ore body must be opened, drilled to obtain boreholes, blasted, and drilled inlets and boreholes for aeration and drainage of the solution for extraction.

Keywords: well, underground bioleaching, sulfide ores, metals, bacterial solution, copper, zinc, patent

С целью обеспечения всевозрастающих потребностей в металлах интенсивно применяется разработка руд, залегающих на больших глубинах, эксплуатация «бедных», заброшенных (забалансовых) и небольших месторождений, где традиционное производство нерентабельно, переработка отходов производств. При этом возникает ряд трудностей – обеспечение экономической рентабельности добычи и переработки, безопасности горных работ, сохранение окружающей среды [1–3].

Одним из способов решения перечисленных выше трудностей является геобиотехнологический способ добычи металлов – биовыщелачивание и один из его методов – скважинное, подземное биовыщелачивание сульфидных руд, который позволяет сделать экономически рентабельной переработку «бедных» руд, обеспечить безопасность горных работ, существенно повысить степень извлечения металлов из сульфидных руд при относительно низких эксплуатационных и капитальных затратах, оказать минимальное воздействие на окружающую среду [4–6].

Способ основывается на том, что раствор, содержащий водный раствор H_2SO_4

с добавлением солей трехвалентного железа и микроорганизмы, закачивается в скважины или трещины в горной породе и проходит сквозь него. Процесс требует проницаемости рудного тела, постоянное и полное насыщение выщелачивающего раствора кислородом. После того, как металлы переходят в раствор, последний собирают и откачивают насосом в установку, где осуществляют их непосредственное извлечение и концентрирование [7–9].

При правильном и грамотном регулировании параметров процесса (pH от 1,0 до 3,0, температуре от 5 до 80 °C, окислительно-восстановительном потенциале 600–750 мВ, концентрация растворенного в растворе кислорода и т.д.) можно достичь существенного снижения его продолжительности.

Применение скважинного, подземного биовыщелачивания даст возможность использовать «бедные» сульфидные руды, обеспечить более полное использование минерального сырья, обеспечить простоту, упрощение технологического процесса [10–12].

Целью данной работы является обзор результатов российских патентных исследований способов скважинного, подземного биовыщелачивания сульфидных руд с выбором наиболее оптимального способа выщелачивания.

Материалы и методы исследования

Для достижения цели работы были решены следующие задачи: анализ способов скважинного, подземного биовыщелачивания с выявлением их преимуществ и недостатков; предложение наиболее оптимального способа подземного биовыщелачивания металлов. При решении указанных задач применялись методы обобщения, систематизации и сравнительного анализа.

Результаты исследования и их обсуждение

Первое авторское свидетельство к изобретению, которое было доступно автору данной работы, для метода подземного биовыщелачивания сульфидных руд принадлежит НИиПИ «Унипромедь» (1983 г.). Способ заключался в закачке биовыщелачивающего раствора и прерывистой принудительной подаче воздуха в скважины или трещины в горной породе. Подача воздуха осуществлялась в течение 60–120 мин, через каждые 60–180 мин, в течение которых растворенный в растворе O_2 поддерживал жизнедеятельность микроорганизмов и участвовал в окислительных процессах. По мере снижения содержания растворенного O_2 подача воздуха возобновлялась. Результаты экспериментов изобретения НИиПИ «Унипромедь» представлены зависимостью извлечения Cu и Zn от способа подачи воздуха, представленной в табл. 1, откуда можно сделать вывод о преимуществе прерывисто-принудительной подачи воздуха, при снижении эксплуатационных затрат на обеспечение O_2 раствора [13].

Уже в 1984 г. ИГД АН Казахской ССР патентует способ биовыщелачивания цветных металлов [14]. В трещины рудного тела подают воду, а затем водный раствор H_2SO_4 для предварительной промывки. Далее руду насыщают бактериальным раствором для окисления сульфидных минералов и закисного железа. Через некоторый промежуток времени руда промывается подкисленным раствором без Cu и Zn, а затем опять бактериальным. Из полученного в процессе промывки раствора извлекают металлы. Раствор без Cu и Zn подкисляют и направляют опять на промывку руды. Результаты экспериментов при осуществлении способа ИГД АН Казахской ССР представлены в табл. 2. Схема технологического процесса представлена на рис. 1.

К преимуществам изобретения [14] можно отнести достаточную скорость извлечения металлов, что позволяет снизить продолжительность процесса, а к недостаткам – сравнительно небольшую степень извлечения.

Таблица 1

Зависимость среднемесячного извлечения Cu и Zn от способа подачи воздуха в рудное тело [13]

Показатели (среднемесячное извлечение), %	Способ подачи воздуха		
	Естественная	Постоянно-принудительная	Прерывисто-принудительная
Cu	0,45	2,08	4,13
Zn	0,8	2,38	3,40

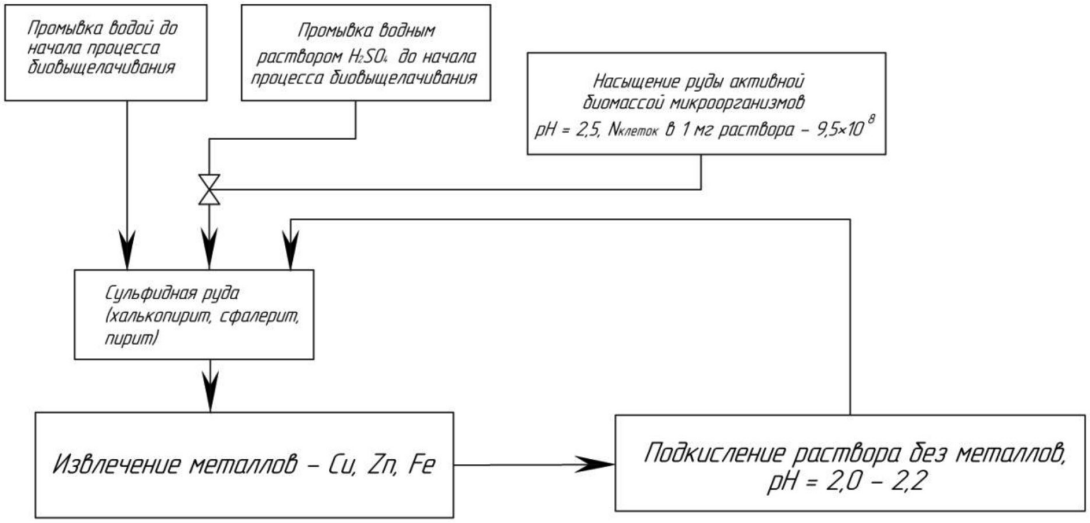


Рис. 1. Схема технологического процесса способа [14]

Таблица 2

Показатели скорости биовыщелачивания и извлечения Cu и Zn в зависимости от способа подачи бактериального и подкисленного растворов [14]

Способ подачи растворов	Скорость процесса, г/сут	Процент извлечения
Поочередная подача бактериального и подкисленного растворов	0,069 (Cu)	7,0 (Cu)
	0,064 (Zn)	14,2 (Zn)
Постоянная подача бактериального и подкисленного растворов	0,041 (Cu)	3,3 (Cu)
	0,047 (Zn)	8,3 (Zn)

Известен способ биовыщелачивания руды, разработанный Московским геологоразведочным институтом им. Серго Орджоникидзе [15]. В изобретении месторождение Cu (0,2%) обуривали с получением сетки скважин, в которые для повышения пористости и проницаемости руды устанавливали заряды и взрывали. В образовавшиеся блоки изобретением предусматривается подача питательного раствора и раствора H_2SO_4, содержащего *Thiobacillus ferrooxidans*. После заполнения блока раствором последний выдерживали в течение нескольких десятков суток (рис. 2) и начинали выпускать продуктивный раствор до момента снижения концентрации Cu в нем, а после падения концентрации в блок начинали подавать раствор H_2SO_4 повышенной концентрации, который губительно действует на микроорганизмы, потерявшие способность к окислительно-восстановительным процессам. Подачу раствора H_2SO_4 повышенной концентрации продолжали в течение 36–48 ч, с одновременным выпуском продуктивного раствора. После этого для активации подавленных активных клеток подавали питательный раствор с начальной концентрацией реагента.

Способ [15] повышает степень извлечения Cu, эффективен, однако имеют место высокие эксплуатационные затраты, вследствие повышенного расхода H_2SO_4, кроме того, крупность руды должна быть минимальна, а при подземном выщелачивании скальных руд наличие в отбитой руде более 15–20% класса 150–200 мм может в ряде случаев резко ухудшить качественные показатели добычи и повысить себестоимость готовой продукции [16].

ЗАО «Интегра» в 1999 г. предложила способ подземного выщелачивания сульфидных полиметаллических руд [17]. Процесс проводится в зонах обрушения горной породы, в трещиноватых зонах затопленных рудников. В изобретении окисление ионов железа (II) в растворе проводят с помощью микроорганизмов (*Thiobacillus ferrooxidans*) при аэрации или в присутствии дисульфида железа, при наложении акустических колебаний излучателями.

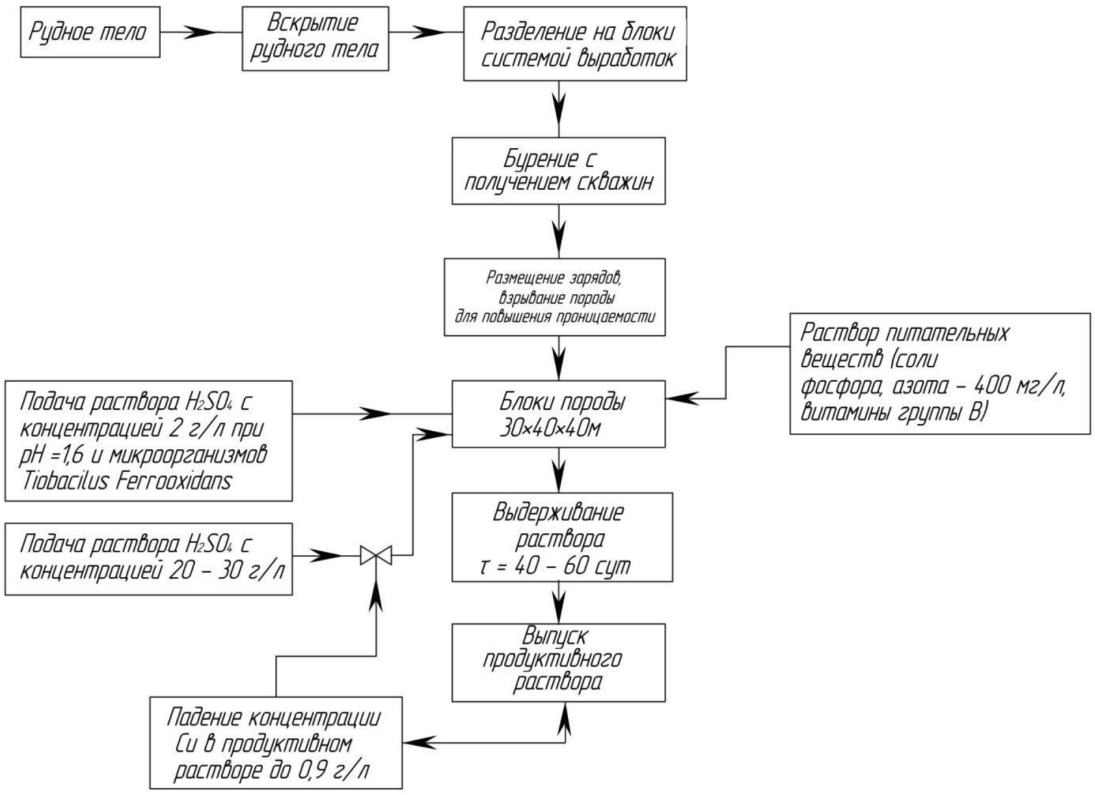


Рис. 2. Схема технологического процесса способа [15]

Для обеспечения достаточной скорости процесса, сравнительно небольшой его продолжительности, высокого процента извлечения авторы изобретения рекомендуют поддерживать концентрацию ионов железа (II) в пределах от 0,005 до 0,015 кг/л. В изобретении показано, что при окислительно-востановительном потенциале 0,4–0,45 В, концентрации 0,005 кг/л H_2SO_4, 0,01 кг/л $Fe_2(SO_4)_3$ степень извлечения после 20 дней процесса составит 99%. Для обеспечения нормальной жизнедеятельности микроорганизмов необходимо поддерживать водородный показатель на уровне от 2 до 3,5, а t = 5–25 °C. Эксперименты показали, что для окисления микроорганизмами ионов железа (II) необходима концентрация O_2 на уровне от 0,013 до 0,015 г/л, при их числе в 1 $см^3$ – до 10^8.

Изобретение [17] позволяет достичь 99% извлечения меди, при сравнительно низкой продолжительности процесса, однако в описании способа не приводятся параметры процесса наложения акустических колебаний.

Изобретение ЧитГУ [18] заключается в одновременном получении ценных металлов из «богатых» и «бедных» руд. Способ предусматривает извлечение «богатой» руды и выщелачивание оставшейся ее части – «бедной» руды. Извлечение «богатой» руды проходит по схеме «камера-целик», а в образовавшиеся камеры закладывают твердеющую смесь. В образуемое после выемки целиков пространство закладывается «бедная» руда подготовительной выработки. Биовыщелачивание Cu и Zn из «бедной» руды подготовительной выработки происходит окисленными H_2SO_4 (водородный показатель равен 3) шахтными водами, насыщенными O_2, в которые добавляют штаммы микроорганизмов на начальном этапе. Далее для выщелачивания оставшихся ценных металлов в руду добавляют комплексообразующие и окислительные растворы.

К достоинствам данного изобретения относятся: существенное снижение продолжительности технологического процесса, снижение затрат на приготовление выщелачивающих растворов, снижение потерь добываемых металлов, увеличение экологичности производства.

В 2018 г. НИТУ «МИСиС» запатентовал способ получения окислителя для выщела-

чивания металлов из сульфидных руд [19], который относится к получению окислителя сульфидов из сернокислых растворов железа (II) с использованием микроорганизмов и может быть использован для растворения сульфидов Cu, Ni, Zn, Co, As, Fe, а также выщелачивания металлов из сульфидных руд подземным и скважинным способами. В способе ацидофильные микроорганизмы иммобилизировали на древесной стружке с цеолитом, керамзите при циркуляции через слои инокулята с pH = 1,5–2,4, концентрацией Fe ≈ 0,012 кг/дм^3 и аэрации воздухом. Далее получали окислитель из сернокислого раствора Fe^{2+} с pH ≈ 2,6, концентрацией Fe ≈ 0,03 кг/дм^3.

К недостаткам данного способа относятся необходимость выщелачивания крупнокусковых руд, подготавливаемых к выщелачиванию взрывным способом, а это ухудшает качественные показатели добычи и увеличивает стоимость готовой продукции [16].

Одно из последних отечественных изобретений (2021 г.) по методам подземного выщелачивания сульфидсодержащего сырья принадлежит Д.Н. Радченко [20]. Способ подземного выщелачивания с низкотемпературным окислением предусматривает отгрузку руды в реактор 2 (рис. 3), бурение систем скважин 5 в днище реактора 2 для аэрации массива кислорода воздуха и сбора избытка растворов. В верхнюю часть реактора 2 подается в ограниченном капельном режиме выщелачивающий раствор, содержащий штаммы микроорганизмов. Авторы изобретения отмечают, что периодически может осуществляться подогрев растворов, промывка рудной массы, подача растворов для растворения пассивирующих пленок, подача горячих и иных газов через скважины 5. Процесс биовыщелачивания проходит при значении водородного показателя равного 2, предшествуя предварительному низкотемпературному окислению продолжительностью 20 сут.

К недостаткам можно отнести повышенные капитальные затраты подготовительных операций процесса биовыщелачивания.

Заключение

В результате патентного поиска и анализа способов скважинного, подземного биовыщелачивания были выявлены их преимущества и недостатки.

Анализ отечественных изобретений показал, что оптимальный способ скважинного, подземного биовыщелачивания должен предусматривать подачу водного раствора серной кислоты в сульфидную руду для осуществления предварительной промывки, затем насыщение руды активной биомассой микроорганизмов, при этом в дальнейшем чередование подачи H_2SO_4 и бактериального раствора.

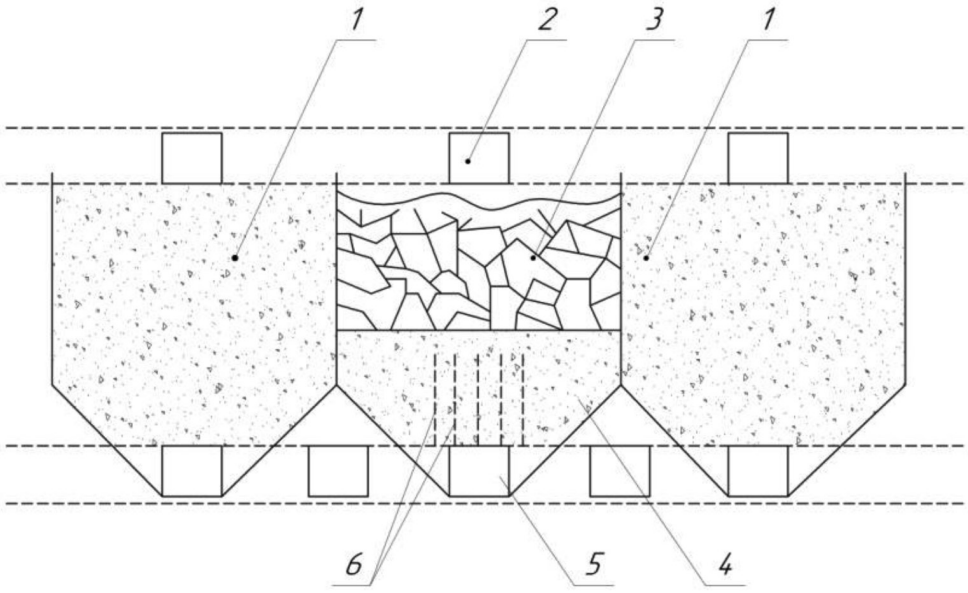


Рис. 3. Схема подземного выщелачивания с низкотемпературным окислением [20]:
1 – стенки; 2 – заезды; 3 – выщелачивание; 4 – реактор;
5 – заезд нижележащего горизонта; 6 – система скважин

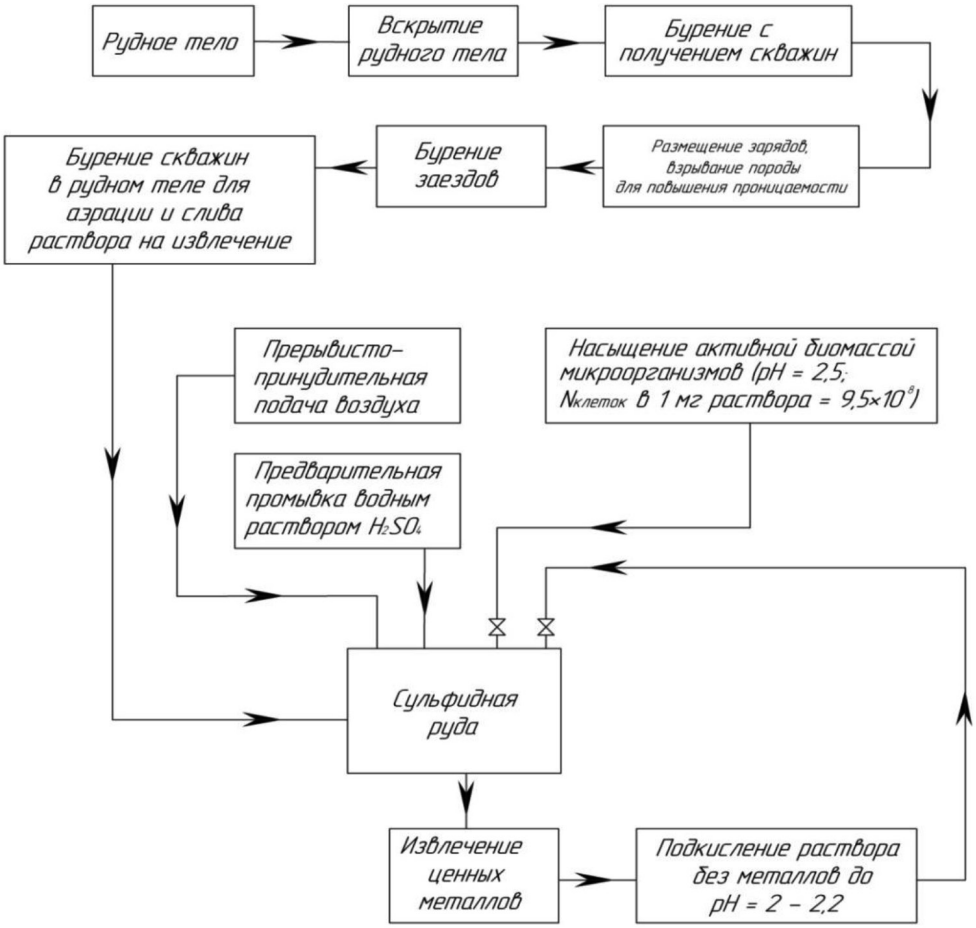


Рис. 4. Схема технологического процесса предлагаемого способа

Для снижения эксплуатационных затрат в руду подается подкисленный раствор без металлов, полученный после извлечения ценных металлов, а для поддержания жизнедеятельности бактерий, участвующих в окислительных процессах, способ включает прерывистую подачу кислорода воздуха. Перед процессом биовыщелачивания рудное тело вскрывается, бурится с получением скважин, взрывается, бурятся заезды и скважины для аэрации и слива раствора на извлечение. Схема предлагаемого способа представлена на рис. 4.

Список литературы

1. Мусихин В.О. Методы интенсификации процессов бактериально-химического выщелачивания воздействием ультразвукового излучения // Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). 2015. № 63. С. 351–355.

2. Киореску А.В. Механизмы воздействия микроволнового излучения на процессы выщелачивания минерального сырья // Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). 2015. № 63. С. 335–339.

3. Иодис В.А. Способы подземного биовыщелачивания сульфидных руд // Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). 2020. № 46. С. 104–111. DOI: 10.25018/0236-1493-2020-12-46-104-111.

4. Хайнасова Т.С. О механизме биовыщелачивания сульфидных руд // Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). 2018. № 57. С. 242–248. DOI: 10.25018/0236-1493-2018-12-57-242-248.

5. Хайнасова Т.С. Биовыщелачивание ключевых минералов сульфидных медно-никелевых руд (краткий обзор) // Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). 2020. № 46. С. 186–201. DOI: 10.25018/0236-1493-2020-12-46-186-201.

6. Мусихин В.О., Киореску А.В. Сочетанное воздействие СВЧ-излучения и ультразвука на смешанную культуру хемолитотрофных аборигенных микроорганизмов Камчатской никеленосной провинции // Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. 2018. № 6 (202). С. 159–165. DOI: 10.25808/08697698.2018.202.6.018.

7. Хайнасова Т.С., Левенец О.О. Бактериально-химическое выщелачивание как экологически безопасный способ переработки сульфидной кобальт-медно-никелевой руды // Разведка и охрана недр. 2015. № 1. С. 49–54.

8. Хайнасова Т.С. Бактериально-химические способы переработки руд // Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). 2018.

№ 12 (специализированный выпуск 57). С. 192–197. DOI: 10.25018/0236-1493-2018-12-57-192-197.

9. Хайнасова Т.С., Левенец О.О., Балыков А.А. Бактериально-химические процессы переработки руд и их исследование в Камчатском крае // Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). 2016. № 31. С. 223–234.

10. Хайнасова Т.С. Экологические аспекты распространения ацидофильных хемолитотрофных микроорганизмов, перспективных для биовыщелачивания // Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). 2018. № 57. С. 198–207. DOI: 10.25018/0236-1493-2018-12-57-198–207.

11. Хайнасова Т.С. Факторы, влияющие на бактериально-химические процессы переработки сульфидных руд // Записки Горного института. 2019. Т. 235. С. 47–54. DOI: 10.31897/PMI.2019.1.47.

12. Киореску А.В. Способы интенсификации процессов выщелачивания воздействием микроволнового излучения // Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). 2015. № 63. С. 346–350.

13. А.с. 998549 СССР, МПК С 22 В 3/00. Способ выщелачивания сульфидных руд и концентратов / Халезов Б.Д., Смирных Л.В., Рыбаков Ю.С., Абакумов В.В., Уральский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский и проектный институт медной промышленности «Унипромедь» 3344982/22 – 02; заявлено 12.10.81; опубл. 23.02.83, Бюл. 7. С. 2.

14. А.с. 943309 А СССР, МПК С 22 В 3/00; С 22 В 15/08. Способ бактериального выщелачивания цветных металлов из руд / Скрипниченко Л.Н., Илялетдинов А.Н., Институт горного дела АН Казахской ССР. 2993243/22 – 02; заявлено 08.10.80; опубл. 28.02.84, Бюл. 8. С. 3.

15. А.с. 1578322 А1 СССР, МПК Е 22 В 43/28. Способ бактериального выщелачивания руды / Секисов А.Г., Бударгин А.Ю., Хакулов В.А., Воробьев А.Е., Мусаев Н.А., Завьялов Л.А., Зверев Д.А. Московский геологоразведочный институт им. Серго Орджоникидзе. 4427646/23 – 03; заявлено 18.05.88; опубл. 15.07.90, Бюл. 26. С. 3.

16. Бубнов В.К., Голик В.И., Воробьев А.Е., Капканщиков А.М., Хадонов З.М., Поляцкий И.В., Руденко Н.К., Югай А.В., Габараев О.З., Чекушина Т.В. Актуальные вопросы добычи цветных, редких и благородных металлов. М.: Акмола, 1995. С. 601.

17. Канцель А.В., Лаверов Н.П., Нестеров Ю.В., Новосельцев В.В., Волькинштейн М.Я., Николайченков Ю.С., Хитрик М.С. Способ подземного выщелачивания сульфидных медьсодержащих полиметаллических руд // Патент РФ № 2124632, С1. Патентообладатель Закрытое акционерное общество «Интегра». 1999.

18. Секисов А.Г., Лавров А.Ю., Резник Ю.Н., Кудряшов Е.А., Зыков Н.В., Конарева Т.Г. Способ комбинированной разработки руд // Патент РФ № 2361077, С1. Патентообладатель Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Читинский государственный университет (ЧитГУ). 2009. Бюл. № 19.

19. Крылова Л.Н. Способ получения окислителя для выщелачивания металлов из сульфидного минерального сырья // Патент РФ № 2659502, С1. Патентообладатель Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС». 2018. Бюл. № 19.

20. Каплунов Д.Р., Радченко Д.Н., Радченко И.Н., Радченко Я.А., Князькин Е.А., Гаджиева Л.А. Способ подземного выщелачивания металлов из сульфидсодержащего минерального сырья // Патент РФ № 2747275, С1. Патентообладатель Радченко Д.И. 2021. Бюл. № 13.

УДК 662.62

ОПРЕДЕЛЕНИЕ И СОПОСТАВЛЕНИЕ СОСТАВА ГАЗОФАЗНЫХ ПРОДУКТОВ, ОБРАЗУЮЩИХСЯ В ПРОЦЕССЕ СЖИГАНИЯ БУРОГО УГЛЯ И ЛИГНИНА

[1]Калтаев А.Ж., [1,2,3]Ларионов К.Б., [1,2]Янковский С.А., [1,2]Березиков Н.И., [1,2]Горшков А.С.

[1]ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», Томск, e-mail: kaltaevalbert@gmail.com;

[2]ФГБОУ ВО «Кузбасский государственный технический университет имени Т.Ф. Горбачева», Кемерово, e-mail: nib.free@gmail.com;

[3]ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет МИСиС», Москва, e-mail: laryk070@gmail.com

Исследован процесс сжигания бурого угля и лигнина в виде топливных таблеток. Таблетки были подготовлены методом холодного прессования с помощью ручного пресса. Сжигание осуществлялось в камере сгорания при температуре 1000 °С. Исследование процесса горения осуществлялось методом высокоскоростной видеосъемки. Газофазный состав продуктов горения был определен с помощью поточного газоанализатора. По данным технического анализа установлено, что низшая теплота сгорания бурого угля и лигнина составила 22,9 и 21,1 МДж/кг соответственно. Разница между зольностью бурого угля и лигнина была незначительна, а выход летучих был выше на 33,9% у последнего. Относительное выделение газофазных продуктов горения лигнина NO_x/Q_i^r, SO_2/Q_i^r, CO_2/Q_i^r и CO/Q_i^r было ниже в сравнении с бурым углем на 37,2; 25,6; 4,4 и 1,3% соответственно. Значительных отличий в элементном составе исследуемых образцов лигнина и бурого угля не обнаружено. Процесс горения сопровождался образованием видимого пламени, объем которого превышал в 2–3 раза размер топливной таблетки. Скорость горения лигнина относительно бурого угля была выше, что косвенно указывает на более высокую реакционную способность.

Ключевые слова: бурый уголь, лигнин, сжигание, теплота сгорания, высокоскоростная видеосъемка, газофазные продукты

DETERMINATION AND COMPARISON OF GAS-PHASE PRODUCTS COMPOSITION FORMED IN THE PROCESS OF LIGNITE AND LIGNIN COMBUSTION

[1]Kaltaev A.Zh., [1,2,3]Larionov K.B., [1,2]Yankovskiy S.A., [1,2]Berezikov N.I., [1,2]Gorshkov A.S.

[1]National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, e-mail: kaltaevalbert@gmail.com;

[2]T.F. Gorbachev Kuzbass State Technical University, Kemerovo, e-mail: nib.free@gmail.com;

[3]National University of Science and Technology MISiS, Moscow, e-mail: laryk070@gmail.com

The process of lignite and lignin combustion in the form of fuel pellets was studied. The pellets were prepared by cold pressing using a hand press. Combustion was carried out in a combustion chamber at a temperature of 1000 °C. The study of the combustion process was performed by the method of high-speed video recording. The gas-phase composition of the combustion products was determined using an in-line gas analyzer. According to the technical analysis, it was found that the net calorific value of lignite and lignin was 22.9 and 21.1 MJ/kg, respectively. The difference between the ash content of lignite and lignin was not significant, and the volatiles yield was 33.9% higher for the latter. The relative release of gas-phase combustion products of lignin NO_x/Q_i^r, SO_2/Q_i^r, CO_2/Q_i^r, and CO/Q_i^r was lower in comparison with lignite by 37.2, 25.6, 4.4, and 1.3%, respectively. No significant differences in the elemental composition of the studied samples of lignin and lignite were found. The combustion process was accompanied by the formation of a visible flame, the volume of which was 2-3 times the size of the fuel pellet. The burning rate of lignin relative to lignite was higher, which indirectly indicates a higher reactivity.

Keywords: lignite, lignin, combustion, calorific value, high-speed video recording, gas-phase products

В связи с ожидаемым уменьшением традиционного ископаемого топлива в обозримом будущем развитие альтернативной энергетики является первостепенной задачей [1]. Одним из лучших решений считается производство энергии из возобновляемой биомассы [2]. Биомасса в основном состоит из крупных полимеров, таких как целлюлоза, гемицеллюлоза, белки, крахмал, хитин и лигнин [3]. Лигнин представляет собой сложный биополимер, придающий механическую прочность стенкам растительных клеток, и является одним из наиболее распространенных в природе наряду с целлюлозой и хитином [4].

В настоящее время ежегодно производится около 100 млн т лигнина, 70 из которых используется в бумажной промышленности [5]. Лигнин хорошо горит в сухом виде, теплота сгорания сопоставима с ископаемым топливом.

Настоящее исследование направлено на определение и сопоставление технических характеристик и количественного состава газофазных продуктов, образующихся в процессе горения лигнина и бурого угля.

Цель исследования: оценка возможности использования лигнина в качестве основного вида топлива на энергетических предприятиях.

Материалы и методы исследования

В качестве исследуемых образцов были использованы бурый уголь марки 3Б (Балахтинский район, Красноярский край) и лигнин (г. Черногорск, Республика Хакасия).

Перед проведением экспериментального исследования представленные выше образцы были измельчены и фракционированы на ситах с размером ячеек менее 200 мкм. Определение параметров влажности, зольности и выхода летучих веществ для всех рассматриваемых образцов было выполнено в соответствии со стандартными методиками ГОСТ Р 52911-2013, ГОСТ 11022-95 и ГОСТ Р 55660-2013.

Определение теплотворной способности рассматриваемых образцов (высшей и низшей теплоты сгорания) было выполнено в соответствии со стандартной методикой ГОСТ 147-2013 и бомбового калориметра АБК-1 (Русские энергетические технологии, Россия). Анализ проводился в изотермическом режиме при постоянном объеме в среде сжатого кислорода под давлением 30 кгс/см^2.

Содержание углерода, водорода, азота и серы в исследуемых образцах определяли с использованием анализатора Flash 2000 CHNS (Thermo Fisher Scientific, США). Анализы проводились в оловянных тиглях с использованием V_2O_5.

Перед проведением исследований процесса сжигания осуществлялась подготовка топливных гранул методом холодного прессования при работе гидравлического ручного пресса (рис. 1).

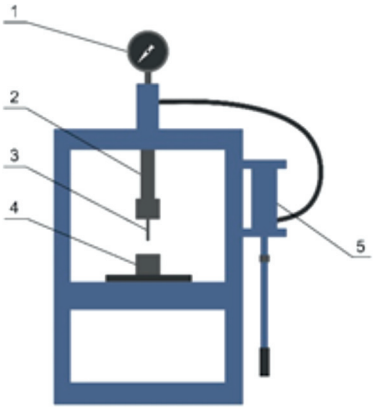


Рис. 1. Принципиальная схема установки по формированию топливных гранул методом холодного прессования (1 – манометр, 2 – шток гидравлического пресса, 3 – пуансон давления, 4 – матрица формирования топливной гранулы, 5 – масляный насос гидравлического пресса)

Навески (массой ~0,5 ± 0,01 г) измельченных образцов помещались в матрицу со сквозным отверстием диаметром 8 мм с закрепленным к основанию упорным стаканом. Прессование осуществлялось пуансоном соответствующего диаметра, закрепленным на гидравлическом механизме пресса, с усилием 4 т метрической системы единиц. Внешний вид полученных топливных гранул представлен на рис. 2.

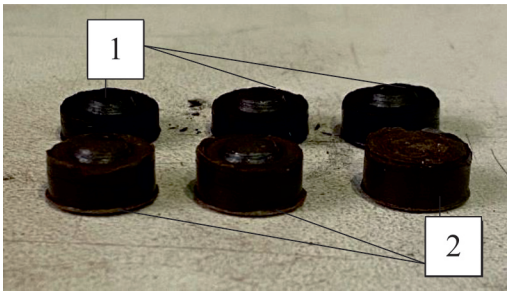


Рис. 2. Топливные гранулы (1 – бурый уголь, 2 – лигнин)

Исследование процесса горения проводилось с помощью экспериментального стенда, принципиальная схема и внешний вид которого представлены на рис. 3.

Основными элементами стенда (рис. 3) являются: камера сгорания в виде терморегулируемой печи ПМ-1400 (Русуниверсал, Россия) с цифровым регулятором температуры (погрешность измерений ±1–3 °С) объемом 0,012 м^3; высокоскоростная видеокамера FASTCAM SA1 (Photron, США) с форматом изображения 1024×1024 пикселей, частотой съемки – 105 кадров в секунду; платформа координатного механизма, предназначенного для ввода в печь топливной насыпки с погрешностью перемещения в пространстве менее 1 мм; поточный газоанализатор Тест-1 (БОНЭР, Россия).

Для проведения исследования использовались гранулированные образцы массой ~0.5 ± 0,01 г (рис. 2), которые перед подачей в терморегулируемую печь устанавливались на подложку. Подложка была прикреплена к трубке, через которую подводился воздух с расходом 2 л/мин, таким образом процесс горения сопровождался постоянной продувкой печи, что частично имитирует условия реального котлоагрегата.

Методика исследования процесса горения исследуемых образцов включала несколько этапов. В терморегулируемой печи устанавливалась требуемая температура греющей среды (1000 °С), регистрируемая хромель-алюмелевой термопарой.

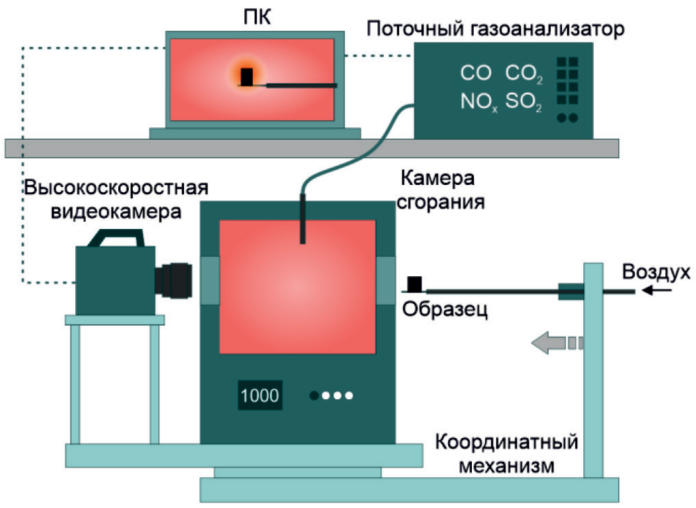


Рис. 3. Схема экспериментального стенда исследования процессов горения твердых топлив

Таблица 1

Технические характеристики исследуемых образцов

Наименование образца	Влажность W^a, мас.%	Зольность A^a, мас.%	Выход летучих веществ V^a, мас.%	Низшая теплота сгорания Q_i^r, МДж/кг
Бурый уголь 3Б	7,7	4,9	50,8	22,9
Лигнин	11,6	5,3	68,0	21,1

[a] – аналитическая масса.

Таблица 2

Элементный состав исследуемых образцов

Наименование образца	Элементный состав[a], мас.%			
	C	H	N	S
Бурый уголь 3Б	64,7	4,9	0,8	0,2
Лигнин	63,2	4,8	0,2	0,1

[a] – аналитическая масса.

Топливная гранула помещалась на держатель координатного механизма, ход которого калибровался по заданной координате в центр камеры сгорания и приводился в действие с помощью PC. Одновременно с началом движения штока с топливной насыпкой в сторону камеры сгорания проводилась видеофиксация. Уходящие газы (CO, CO_2, NO_x, SO_2) через систему приточной вентиляции фиксировались с помощью поточного газоанализатора. Процесс горения считался завершенным по данным газоанализатора (по постоянному значению образующихся газофазных соединений).

Для каждого изученного образца было проведено не менее пяти экспериментов в одинаковых условиях.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты определения физико-химических характеристик исследуемых образцов представлены в табл. 1 и 2.

Из табл. 1 следует, что образец лигнина характеризуется более высокими значениями технических характеристик (влажность, зольность, выход летучих веществ) в сравнении с бурым углем. Более низкое значение Q_i^r относительно бурого угля (на 1,8 МДж/кг) лигнина объясняется высокой влажностью (на 3,9 мас.%) и зольностью (на 0,4 мас.%) исследуемого образца.

Также из табл. 2 видно, что элементный состав исследуемых образцов не име-

ет существенных отличий (за исключением меньшего содержания азота в составе лигнина). Полученные значения физико-химических характеристик сопоставимы с другими органическими типами твердого топлива и по данному признаку могут быть использованы в качестве основного вида топлива на энергогенерирующих предприятиях (в частности, водогрейных и паровых котлах).

На рис. 4 представлены кадры высокоскоростной видеосъемки процесса горения исследуемых образцов при температуре греющей среды 1000 °С.

Из рис. 4 видно, что зажигание лигнина в отличие от бурого угля происходит быстрее, что обусловлено физико-химическими особенностями данных топлив (табл. 1 и 2). При этом существенных отличий в характере горения рассматриваемых типов топлив не зафиксировано. В целом можно заключить, что лигнин не представляет трудностей в части розжига и поддержания стабильности процесса его горения.

В табл. 3 представлены результаты определения подынтегральных площадей, образующихся газофазных продуктов горения исследуемых образцов топлива (массой 0,5 г).

В табл. 4 представлены численные значения полученных удельных показателей, образующихся газофазных продуктов к низшей теплоте сгорания топлива.

Из табл. 3 видно, что для образца лигнина зафиксировано меньшее значение площади подынтегральной кривой, характеризующей выделение газофазных продуктов горения. Для CO_2 и CO данное значение в среднем меньше на 12% и 9% соответственно. Для NO_x и SO_2 на 40% и 31% соответственно. Разница полученных значений в составе газофазных продуктов обусловлена различием в физико-химических характеристиках исследуемых образцов (табл. 1 и 2). Также более сниженные значения площадей подынтегральных кривых связаны с более высокой реакционностью лигнина по сравнению с бурым углем. Различия в реакционной способности топлив проявляются в различных скоростях горения.

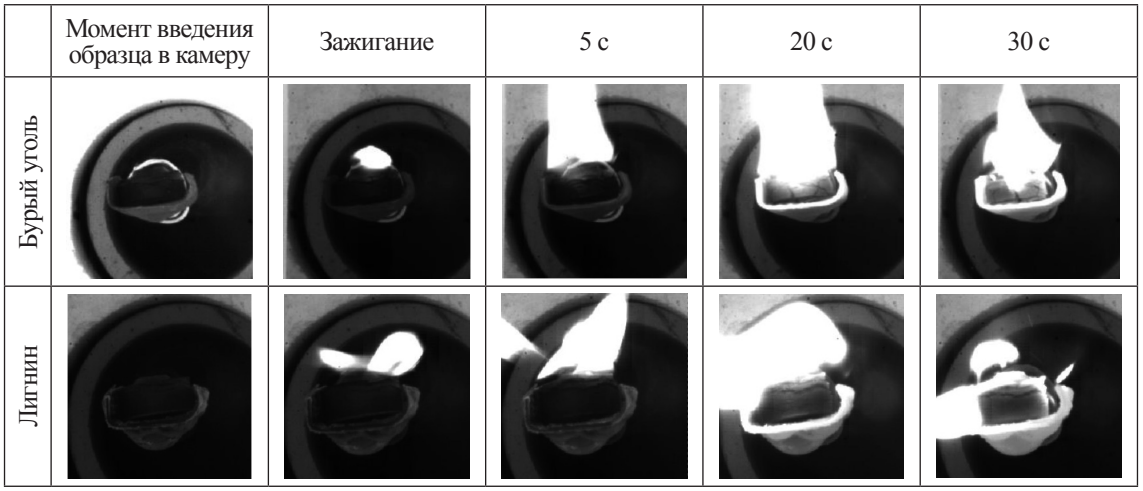


Рис. 4. Кадры высокоскоростной видеосъемки процесса горения исследуемых образцов (Зажигание: бурый уголь – 3,2 с, лигнин – 1,5 с)

Таблица 3

Площадь подынтегральных кривых исследуемых соединений, об.%

Проба	CO_2	CO	NO_x	SO_2
Бурый уголь 3Б				
1	319,8	50,4	2,7	3,5
2	321,2	52,2	3,2	3,3
3	318,4	51,7	2,5	3,6
Лигнин				
1	280,2	46,3	1,5	2,3
2	283,3	46,4	1,6	2,6
3	281,5	47,6	1,7	2,2

Таблица 4

Удельное соотношение образующегося количества газофазных соединений к теплоте сгорания топлива, об.%/МДж/кг

Проба	CO_2/Q_i^r	CO/Q_i^r	NO_x/Q_i^r	SO_2/Q_i^r
Бурый уголь 3Б				
1	13,97	2,20	0,12	0,15
2	14,03	2,28	0,14	0,14
3	13,90	2,26	0,11	0,16
Лигнин				
1	13,28	2,19	0,07	0,11
2	13,43	2,20	0,08	0,12
3	13,34	2,26	0,08	0,10

В табл. 4 представлено соотношение выделяемого количества газофазных продуктов к теплоте сгорания топлива. Так для лигнина среднее значение удельного показателя CO_2/Q_i^r и CO/Q_i^r было ниже на 4,4% и 1,3% соответственно. Для NO_x/Q_i^r и SO_2/Q_i^r на 37,2% и 25,6% соответственно.

Заключение

По результатам экспериментального исследования установлено, что лигнин характеризуется схожими физико-химическими характеристиками, как и для бурого угля марки 3Б. Для образца лигнина было зафиксировано меньшее значение содержания серы и азота. При одинаковых значениях зольности разница значений низшей теплоты сгорания между образцами бурого угля и лигнина составила 1,8 МДж/кг. Данное различие обусловлено большим содержанием воды в составе лигнина, что обусловлено его технологическим происхождением.

Исследование процесса горения показало, что лигнин характеризуется более высокой реакционной способностью, что проявлялось в более быстром процессе горения. Данные, полученные в результате газофазного анализа, показали, что при сжигании лигнина образуется меньшее количество газофазных соединений. Для CO_2 и CO данное значение в среднем меньше на 12% и 9% соответственно. Для NO_x и SO_2 на 40% и 31% соответственно. Полученные отличия обусловлены различием количественных значений, рассматриваемых образцов бурого угля и лигнина.

Вычисление удельного соотношения количества образующихся газофазных продуктов к значению низшей теплоты сгорания показало снижение выделения CO_2 и CO на 4,4% и 1,3%. Для NO_x/Q_i^r и SO_2/Q_i^r на 37,2% и 25,6% соответственно.

Работа выполнена при финансовой поддержке в соответствии с дополнительным соглашением о предоставлении субсидии из федерального бюджета на финансовое обеспечение выполнения государственного задания на оказание государственных услуг (внутренний номер 075-ГЗ/Х4141/687/3).

Список литературы

1. IEA. Net Zero by 2050: A Roadmap for the Global Energy Sector. 2021. P. 224.

2. Wiranarongkorn K., Phajam P., Im-orb K., Saebea D., Arpornwichanop A. Assessment and analysis of multi-biomass fuels for sustainable electricity generation. Renew. Energy 2021. Vol. 180. P. 1405–1418.

3. Isikgor F.H., Becer C.R. Lignocellulosic biomass: a sustainable platform for the production of bio-based chemicals and polymers. Polym. Chem. 2015. Vol. 6. № 25. P. 4497–4559.

4. Patel J.P., Parsania P.H. Characterization, testing, and reinforcing materials of biodegradable composites. Biodegradable and Biocompatible Polymer Composites Elsevier. 2018. P. 55–79.

5. Luo H., Abu-Omar M.M. Chemicals From Lignin. Encyclopedia of Sustainable Technologies Elsevier. 2017. P. 573–585.

УДК 621.793

ПРАКТИЧЕСКАЯ РЕАЛИЗАЦИЯ ТЕРМОХИМИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ПОВЕРХНОСТНОГО КАРБИДНОГО УПРОЧНЕНИЯ МЕТАЛЛООБРАБАТЫВАЮЩИХ ИНСТРУМЕНТОВ

Шматов А.А.

Белорусский национальный технический университет, Минск, e-mail: shmatovalexander@gmail.com

В статье представлены особенности технического выполнения и примеры практического применения термохимической технологии поверхностного карбидного упрочнения металлообрабатывающих инструментов. Отмечено, что наиболее эффективной и простой является технология получения износостойких поликарбидных покрытий путем термодиффузионной обработки инструментальных сталей и твердых сплавов в насыщающих порошковых средах из нескольких алюминотермически восстановленных оксидов карбидообразующих металлов. Эти насыщающие среды содержат: 1) оксиды карбидообразующих металлов Me_xO_y, которые являются поставщиками насыщающих элементов; 2) галоидное соединение NH_4Cl, которое генерирует в контейнере активную газовую фазу для массопереноса насыщающих элементов от среды к обрабатываемому инструменту; 3) «балластную» добавку Al_2O_3, которая предотвращает спекание порошковой смеси; 4) «восстановитель» Al для восстановления оксидов насыщающих металлов. Процессы поверхностного карбидного упрочнения инструментов осуществляют в два этапа: 1) предварительное приготовление насыщающей среды путем синтеза металлов из оксидов в составе смеси: 98 % (50 % Al_2O_3 + 50 % (70 % Me_xO_y + 30 % Al)) + 2 % NH_4Cl, где Me_xO_y = оксиды Cr_2O_3, TiO_2, V_2O_5, MnO_2, MoO_3, Nb_2O_5; 2) проведение химико-термической обработки инструментов в восстановленной порошковой смеси при 1000–1100 °С. После нанесения поликарбидных покрытий износостойкость стальных штампов и оснастки повысилась в 2–10 раз, а твердосплавных резцов и фрез – в 1,5–20 раз по сравнению с традиционными. Суммарный экономический эффект от внедрения данной термохимической технологии составил 540,3 тыс. долл. в эквиваленте.

Ключевые слова: термохимические технологии, инструментальные стали и твердые сплавы, поверхностное карбидное упрочнение, износостойкие многокомпонентные карбидные покрытия

PRACTICAL REALIZATION OF THERMOCHEMICAL TECHNOLOGY FOR SURFACE CARBIDE STRENGTHENING METALWORKING TOOLS

Shmatov A.A.

Belarusian National Technical University, Minsk, e-mail: shmatovalexander@gmail.com

The features of the technical implementation and examples of the practical application of the thermochemical technology for surface carbide strengthening of metalworking tools are presented in this article. It is noted that the most effective and simple technology is the production of wear-resistant polycarbide coatings by thermal diffusion treatment of tool steels and hard alloys in saturating powder media from several aluminothermically reduced oxides of carbide-forming metals. These saturating media contain: (1) carbide-forming metal oxides Me_xO_y, which are suppliers of saturating elements; (2) an halide compound NH_4Cl, which generates an active gas phase in the container for mass transfer of saturating elements from the medium to the tool being processed (3) «ballast» additive Al_2O_3, which prevents sintering of the powder mixture; (4) « reductant» Al for the reduction of oxides of saturating metals. The processes of surface carbide strengthening of tools are carried out in two stages: (1) Preliminary preparation of a saturating media by aluminothermic synthesis of metals from oxides with the following mixture composition: 98 % (50 % Al_2O_3 + 50 % (70 % Me_xO_y + 30 % Al)) + 2 % NH_4Cl, where Me_xO_y = oxides Cr_2O_3, TiO_2, V_2O_5, MnO_2, MoO_3, Nb_2O_5 ; (2) Thermochemical treatment of tools in this synthesized powder mixture at 1000–1100 °C. After applying polycarbide coatings, the wear resistance of steel dies and snaps increased by 2–10 times, and of carbide cutters and mills by 1.5–20 times as compared with traditional ones. The total economic effect from the introduction of this thermochemical technology amounted to 540.3 thousand dollars in equivalent.

Keywords: thermochemical technology, tool steels and hard alloys, surface carbide strengthening, wear-resistant multicomponent carbide coatings

Предлагаемая технология упрочнения инструментов отвечает основным требованиям быстрого внедрения на предприятиях, благодаря ее простоте, высокой эффективности и технологичности при использовании стандартного оборудования и дешевых компонентов.

Термохимическая технология для получения износостойких диффузионных поликарбидных покрытий на стальных и твердосплавных инструментах

Среди методов поверхностного упрочнения инструментов совместным термическим и химическим воздействием наибольший интерес представляют процессы получения поликарбидных покрытий, поскольку карбиды превосходят по физико-химическим и механическим свойствам другие тугоплавкие соединения [1]. С другой стороны, экстремальное повышение свойств достигается в твердых растворах, образованных при наличии взаимной растворимости нескольких карбидов переходных металлов [1–3]. Карбидные покрытия можно получать многими известными способами, однако сформировать покрытия, комплексно легированные несколь-

кими карбидами, не всегда удается [4–6]. Лучшие современные термохимические процессы с применением вакуума и высокоэнергетических источников нагрева позволяют осаждать многослойные покрытия, отдельный слой которых состоит только из одного и редко двух карбидов. Эти процессы поверхностного упрочнения отличаются большой энергоемкостью и дороговизной [7, 8].

В настоящей работе для нанесения поликарбидных покрытий на инструменты применили простой способ химико-термической обработки (ХТО) с использованием герметичных контейнеров, содержащих насыщающую смесь [9, 10]. Этот метод позволяет сформировать на сталях и твердых сплавах диффузионные покрытия, состоящие из нескольких взаимно растворимых друг в друге карбидов [2, 10]. Насыщающие среды для получения многокомпонентных диффузионных карбидных покрытий включают следующие основные компоненты: 1) порошки карбидообразующих металлов и сплавов, ферросплавов, оксидов и других их соединений – являются поставщиками насыщающих элементов; 2) галоидные соединения аммония, алюминия и щелочных металлов и др. – генерируют в контейнере активную газовую фазу, которая осуществляет массоперенос насыщающих элементов от среды к обрабатываемому инструменту; 3) «балластные» добавки в виде оксида алюминия, магния и др. – предотвращают спекание порошковой смеси, обеспечивают высокую ее газопроницаемость и предотвращают ее припекание к обрабатываемым инструментам; 4) «восстановитель» в виде алюминия – в случае восстановления оксидов насыщающих металлов-карбидообразователей.

Высокая стоимость порошков карбидообразующих металлов предопределяет высокую стоимость самих насыщающих сред. Использование алюминотермического метода самораспространяющегося высокотемпературного синтеза (СВС) для получения этих насыщающих сред позволило существенно удешевить процессы ХТО [9, 10]. Суть метода заключается в замене дорогостоящих порошков элементов более дешевыми их оксидами. При приготовлении порошковых смесей для ХТО проводят предварительное восстановление оксидов насыщающих элементов алюминием, который является недорогим компонентом. Анализ изменений изобарных потенциалов реакций образования оксидов карбидообразующих металлов показал, что алюминий восстанавливает оксиды Ti, Cr, Nb, Mn, V, W, Mo и др.

Разработанные процессы получения диффузионных поликарбидных покрытий на стальных и твердосплавных инструментах осуществляют в два этапа (рис. 1):

1. Предварительное приготовление насыщающей смеси методом алюминотермии. Процесс осуществляют путем СВС синтеза карбидообразующих металлов из оксидов в составе порошковой смеси, мас. %:

$$98_{\%}(50_{\%}Al_2O_3 + 50_{\%}(70_{\%}\text{оксидов металлов} + 30_{\%}Al)) + 2_{\%}NH_4Cl,$$

где оксиды $Me_xO_y = Cr_2O_3$, TiO_2, V_2O_5, MnO_2, MoO_3, Nb_2O_5 являются поставщиками карбидообразующих металлов. Восстановленную порошковую смесь размалывают и просеивают до размера гранул менее 500 мкм. После добавления в нее активатора ($2_{\%}$ NH_4Cl) насыщающая смесь для ХТО считается готовой к применению.

2. Проведение технологического процесса ХТО. При этом образцы инструментов упаковывают в контейнер из жаропрочной стали, заполненный предварительно приготовленной насыщающей смесью, которую герметично защищают плавким затвором из борного ангидрида или силикатного стекла (рис. 2). Затем контейнер с образцами загружают в печь, разогретую до температуры 1000–1100 °С, и выдерживают в течение 4–6 ч. Время выдержки зависит от толщины карбидного покрытия. По окончанию процесса инструменты извлекают из охлажденного контейнера, а насыщающие порошковые смеси после их регенерации многократно используют.

В результате ХТО формируются сплошные многокомпонентные карбидные покрытия толщиной 4–7 мкм на твердых сплавах и 25–70 мкм на инструментальных сталях с поверхностной твердостью до 28–37 ГПа, сравнимой с твердостью карбида кремния. В отличие от инструментальных сталей, твердые сплавы имеют меньшую толщину карбидных слоев, что связано с тем, что углерод твердосплавной матрицы связан в устойчивые карбиды и это снижает мощность подводимого к поверхности диффузионного потока углерода для образования с насыщаемыми металлами их карбидов [2, 11]. Термохимическая технология получения износостойких диффузионных поликарбидных покрытий предназначена для повышения сопротивления абразивному, окислительному и диффузионному изнашиванию металлообрабатывающих инструментов из сталей и твердых сплавов [10].

Рис. 1. Блок-схема технологических операций технологического процесса химико-термической обработки (ХТО) инструмента

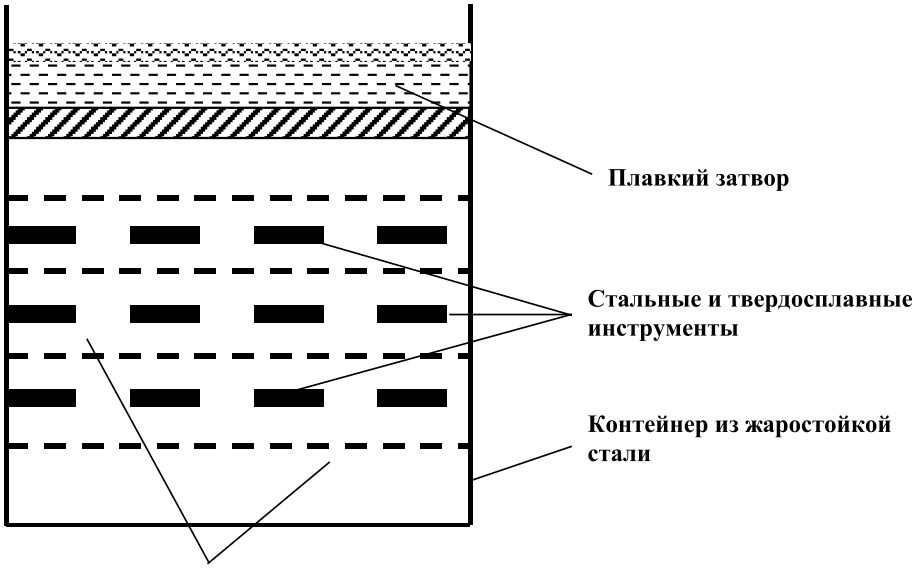


Рис. 2. Схема упаковки инструментов в контейнере с порошковой смесью и режим проведения технологического процесса химико-термической обработки (ХТО)

Промышленная апробация поликарбидных покрытий, полученных на режущих и штамповых инструментах методом ХТО

Лучшие карбидные покрытия на основе Cr-Ti-V, Cr-Ti-Mn, Cr-V, Ti-Mn и Ti-V-Mo прошли апробацию в производственных условиях [10]. Производственные испытания (таблица) показали, что в результате многокомпонентной диффузионной карбидизации стальных инструментов их стойкость по сравнению с серийными увеличилась: у клейм из стали У8 и матриц из стали ДИ-23 для холодной высадки – в 2–3 раза; у пресс-форм из стали ХВГ для прессования изделий из железных и керамических порошков – в 2–6 раз; у матриц из стали Х12 для вытяжки изделий из нержавеющей стали – в 2 раза; а пресс-форм из стали У8 для прессования пластмассовых изделий – в 2 раза; у направляющих из стали У8, предназначенных для навивки пружин – более 10 раз; у форсунок из стали У8 для распыления малярных составов – в 2–3 раза; у ножей для обрезки бумаги и картона – в 3 раза. А эксплуатационная стойкость твердосплавных инструментов после нанесения поликарбидных покрытий повысилась: у цельно изготовленных концевых фрез из сплава ВК6М – в 4–20 раз; у неперетачиваемых режущих пластин из сплава Т15К6 для чистовой токарной обработки стальных изделий – в 2–4 раза; у торцевых фрез, собранных из пятигранных пластин марки Т15К6, для черновой обработки стальных заготовок – в 1,5–4 раза.

Результаты испытаний и промышленного использования инструментов с многокомпонентными диффузионными карбидными покрытиями

Вид инструмента	Материал инструмента	Обрабатываемый материал	Стойкость $к_w$	Промышленное использование
ПО «Гомсельмаш»				
Клеймы	Сталь У8	Конструкционные стали	2–3	
Матрицы холодной высадки	Сталь ДИ-23		2–3	
Направляющие для навивки пружин	Сталь У8	Пружинные стали	Выше 10	

Окончание таблицы

Вид инструмента	Материал инструмента	Обрабатываемый материал	Стойкость $к_w$	Промышленное использование
Минский филиал ВНИСМИ				
Малярные форсунки	Сталь У8	Малярные составы	2–3	
Минский завод шестерен				
Пресс-формы	Сталь ХВГ	Железный порошок	2–3	
БР НПО порошковой металлургии (ПМ)				Внедрено в 1982 г. с эконом. эффектом 25 000 руб. (41,7 тыс. $)
Пресс-формы для импульсного прессования	Сталь ХВГ	Тугоплавкие соединения	6	
Витебское ПО «Химпласт»				Внедрено в 1986 г. с эконом. эффектом 55 800 руб. (93,0 тыс. $)
Пресс-формы	Сталь У8	Пластмассы	2	
Ножи	Сталь У10	Бумага	3	
ПО «Атлант»				
Фрезы концевые цельные	Твердый сплав ВК6М	Сталь У8 (HRC 59)	4–4,8	
КП Минский мотовелозавод (ММВЗ)				
Торцевые фрезы сборные для черновой обработки	Твердый сплав Т15К6	Стали ШХ15, 4Х5МФС	3–4	
ПО «БелАЗ»				Внедрено в 1997 г. с эконом. эффектом 2 млрд руб. РБ (339,0 тыс. $)
Режущие пластины для чистовой токарной обработки	Твердый сплав Т15К6	Сталь 9ХС	3	
		Стали ШХ15, 40Х	3–4	
		Сталь 45 (30 HRC)	2	
БПО «Экран»				Внедрено в 1987 г. с эконом. эффектом 40 000 руб. (66,7 тыс. $)
Матрицы вытяжки	Сталь Х12	Сталь 10Х18Н10Т	2	
Торцевые фрезы сборные для черновой обработки	Твердый сплав Т15К6	Малоуглеродистые стали	1,5–2	
Фрезы концевые цельные	Твердый сплав ВК6М	Сталь ДИ-22 (HRC 60)	6–20	

Технологические процессы поверхностного карбидного упрочнения стальных и твердосплавных инструментов нашли применение на белорусских предприятиях ПО «БелАЗ», БР НПО ПМ, Витебском ПО «Химпласт», БПО «Экран». Суммарный экономический эффект от использования этих процессов составил около 540,3 тыс. долл. США в эквиваленте.

В заключение следует отметить: а) что технология ХТО носит ограниченный характер применения: идеально подходит для любых видов твердосплавных инструментов и некоторых стальных инструментов, преимущественно штамповых; б) диффузионные поликарбидные покрытия рекомендуется наносить на стальные инструменты, когда их изготавливают из малодеформируемых сталей (ХВГ, Х12, др.) или если изменения размеров инструментов после высокотемпературного нагрева при ХТО и последующей термообработки не превышают разрешенные допуски; в) технология более эффективна, если правильно выбраны материал инструмента и состав насыщающей среды; г) с увеличением твердости обрабатываемого сплава стойкость упрочненных твердосплавных и стальных инструментов возрастает; д) качество поверхности изделий после их обработки режущими и штамповыми инструментами с поликарбидными покрытиями выше, чем после обработки инструментами без покрытий.

Заключение

Термохимическая технология получения износостойких поликарбидных покрытий путем термодиффузионной обработки инструментальных сплавов в насыщающих многокомпонентных карбидообразующих средах является простым и эффективным способом поверхностного карбидного упрочнения металлообрабатывающих инструментов. После нанесения поликарбидных покрытий стойкость стальных штампов и техоснастки повысилась в 2–10 раз, а твердосплавных резцов и фрез – в 1,5–20 раз по сравнению с традиционными. Суммарный экономический эффект от внедрения данной термохимической технологии составил 540,3 тыс. долл. в эквиваленте.

Список литературы

1. Самсонов Г.В., Упадхая Г.Ш., Нешпор В.С. Физическое материаловедение карбидов. Киев: Наук. думка, 1974. 456 с.

2. Shmatov Alexander, Soos Lubomir, Krajny Zdenko Forming of diffusion multi-carbide coatings on tool alloys. Bratislava: Slovak Technical University, 2018. 137 p.

3. Александров В.М. Материаловедение и технология конструкционных материалов. Учебное пособие. Архангельск: Изд-во Север. федерал. ун-та, 2015. 327 с.

4. Герасимова Н.С. Химико-термическая обработка. Калуга: Изд-во КФ МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2017. 48 с.

5. Бутуханов В.А., Лыгденов Б.Д. Влияние состава насыщающих порошковых сред на структуру и свойства диффузионных карбидных покрытий // Обработка металлов: технология, оборудование, инструменты. 2016. № 2 (71). С. 80–86.

6. Лобанов М.Л., Кардонина Н.И., Россина Н.Г., Юровских А.С. Защитные покрытия. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2014. 200 с.

7. Хокинг М., Васантасри В., Сидки П. Металлические и керамические покрытия. М.: Мир, 2000. 518 с.

8. Ельцов В.В. Восстановление и упрочнение деталей машин. Тольятти: Изд-во ТГУ, 2015. 335 с.

9. Ляхович Л.С. Химико-термическая обработка металлов и сплавов. Справочник. М.: Металлургия, 1981. 424 с.

10. Шматов А.А. Научные и технологические основы термохимических и термоциклических методов упрочняющей обработки металлообрабатывающих инструментов: дис. … докт. техн. наук: 05.16.01 и 05.02.07. Минск, 2019. 344 с.

11. Shmatov A.A., Soos L., Krajny Z. Process for producing diamond-like carbide coatings on hard. MM Science Journal. 2019. No. 2. P. 2887–2890.

УДК 621:51

АВТОМАТИЗАЦИЯ ПОСТРОЕНИЯ МИНИМАЛЬНЫХ ВЫПУКЛЫХ ОБОЛОЧЕК НА ПЛОСКОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА QUICKHULL

Юрик Е.А., Ильичев В.Ю.

Калужский филиал ФГОУ ВО «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет)», Калуга, e-mail: patrol8@yandex.ru

Одним из распространённых методов вычислительной геометрии является метод минимальных выпуклых оболочек (МВО). Он применяется во многих областях науки и техники, является удобным для алгоритмической реализации, которая до сих пор совершенствуется. Средства, необходимые для практической программной реализации прикладных задач с использованием МВО, имеются в составе модулей современного свободно распространяемого языка программирования Python. Кроме собственно функций для формирования МВО, используются средства работы с массивами данных, реализации методов создания выборок по заданным критериям, вывода качественных двухмерных и трёхмерных изображений и другие. В настоящее время использование минимальных выпуклых оболочек чрезвычайно широко распространено в компьютерных симуляциях, при создании конечно-элементных сеток в системах автоматизированного проектирования, в геоинформационных системах и во многих других технологиях. В связи с этим остро стоит проблема быстрого программного создания МВО при минимальном использовании вычислительных ресурсов и оперативной памяти. По этой причине в данной работе применяется самый производительный метод реализации МВО, лежащий в основе библиотеки QuickHull для Python. В работе описываются основные понятия, лежащие в основе построения МВО. Созданы модификации программ, позволяющих решить следующие задачи: формирование МВО для заданного множества точек с известными координатами, с последующим выводом результатов в графическом виде. Также решена задача формирования МВО для изображения, составленного из отрезков прямых линий. По результатам выполненных исследований сделано заключение, а также даны рекомендации по дальнейшему развитию созданной методики, в том числе направление разработок, запланированное авторами.

Ключевые слова: минимальная выпуклая оболочка, множество точек, триангуляция Делоне, распознавание образов, отслеживание траекторий, язык Python, модуль QuickHull

AUTOMATING THE CONSTRUCTION OF MINIMAL CONVEX HULLS ON THE PLANE USING QUICKHULL

Yurik E.A., Ilichev V.Yu.

Kaluga Branch of Bauman Moscow State Technical University, Kaluga, e-mail: patrol8@yandex.ru

One of the common methods of computational geometry is the method of minimal convex hulls (MCH). It was used in many fields of science and technology, and was a convenient tool to implement, which was still being perfected. The tools necessary for the practical software implementation of applications using MCH are included in the modules of the modern freely distributed Python programming language. In addition to the functions themselves for the formation of MCH, tools are used to work with data arrays, implement methods for creating samples according to given criteria, output high-quality two-dimensional and three-dimensional images, and others. Currently, the use of minimal convex hulls is extremely widespread in computer simulations, in the creation of finite element grids in computer-aided design systems, in geographic information systems and in many other technologies. In this regard, the problem of fast software creation of MCH with minimal use of computing resources and RAM is acute. For this reason, this work uses the most productive method of implementing profit centers, which is the basis of the QuickHull library for Python. The paper describes the basic concepts that underlie the construction of MCH. Modifications of programs have been created to solve the following problems: generation of profit centers for a given set of points with known coordinates, followed by output of results in graphic form. It is also solved the problem of forming a MCH for an image composed of straight line segments. Based on the results of the research, a conclusion and recommendations were made for the further development of the created methodology, including the direction of development planned by the authors.

Keywords: minimum convex hull, multiple points, Delaunay triangulation, image recognition, trajectory tracking, Python language, QuickHull module

Одной из часто решаемых задач в вычислительной геометрии является построение так называемых минимальных выпуклых оболочек (МВО). Данный вид геометрических преобразований используется при анализе и классификации изображений во многих областях науки и техники: в математике, статистике, оптимизации, экономике, геометрическом моделировании и этологии. Из перечисленных отраслей знаний можно выделить более узкие отрасли, где МВО применяются наиболее часто: геодезию и картографию (для ограничения регионов и прочих территорий в геоинформационных системах), материаловедение (с использованием конечных автоматов – для классификации посторонних включений, вызывающих неоднородность строения материалов) [1], системы автоматизированного проектирования (САПР) (реализация

триангуляции Делоне и метода конечных элементов – например, для расчёта деталей на прочность, деформации, перемещения), мехатронику и робототехнику (для распознавания образов объектов и определения путей обхода препятствий), кристаллографию (идентификация формы поверхностей кристаллов), организацию компьютерных сетей (в алгоритмах маршрутизации данных), определение оптимального раскроя материала (на заготовительных и производственных участках предприятий) [2]. Технологии создания минимальных выпуклых оболочек используются в исследуемых авторами системах компьютерного зрения роботов [3, 4].

Существует множество алгоритмов обработки изображений с целью получения минимальных выпуклых оболочек [5]: Р. Грэхема (Graham scan), Р. Джарвиса (Gift wrapping algorithm – алгоритм заворачивания подарка), монотонных цепочек Эндрю (Monotone Chain), Чена, алгоритм «Разделяй и властвуй» (Divide and conquer) и, наконец, используемый в данной работе алгоритм QuickHull («быстрого построения») [6], наиболее подходящий для организации быстрых вычислений с помощью программных методов.

Целью данной работы является создание программных средств для вычисления и визуализации минимальных выпуклых оболочек, построенных на плоскости для заданного множества точек i с известными координатами (x_i, y_i). Код программы должен быть написан на свободно распространяемом, популярном языке Python с использованием библиотеки функций, позволяющей в полной мере реализовать вышеупомянутый алгоритм, – QuickHull.

Созданную программу необходимо апробировать путём расчёта нескольких графических моделей; результаты расчётов следует продемонстрировать путём организации наглядного визуального отображения. Для выполнения всех описанных задач для языка программирования Python имеются наборы функций, оформленные в виде подключаемых библиотек (которые будут рассмотрены далее в статье).

Описываемая разработка дополняет ранее произведённые авторами исследования других типов преобразования и анализа графических систем методами вычислительной геометрии [7].

По результатам выполненной работы необходимо сделать заключение и выводы для дальнейшего применения и развития созданных методов и программных кодов в области обработки изображений.

Материалы и методы исследования

Прежде чем начинать создание программы для отображения рассматриваемого геометрического объекта вокруг заданного множества точек, необходимо сформулировать само понятие минимальной выпуклой оболочки (МВО).

Чтобы осуществить это наиболее наглядно, обратимся к рис. 1.

Согласно представленным схемам, оболочкой (Convex) называется замкнутая кривая, окружающая все заданные точки. Выпуклая оболочка (Convex hull) – более ограниченное понятие. «Выпуклость» её заключается в том, что любая касательная, проведённая к ней, нигде не пересекает саму оболочку, не заходит внутрь неё. МВО в литературе образно описывают как резиновую ленту, «натянутую» на внешние точки – «шляпки гвоздей» (можно отметить, что данная лента представляет собой траекторию минимальной протяжённости, как бы стянутую вокруг множества точек). При этом все точки рассматриваемого множества либо лежат на МВО, либо внутри неё. Выпуклая оболочка при этом занимает минимальную площадь поверхности (а в трёхмерном случае – минимальный объём пространства).

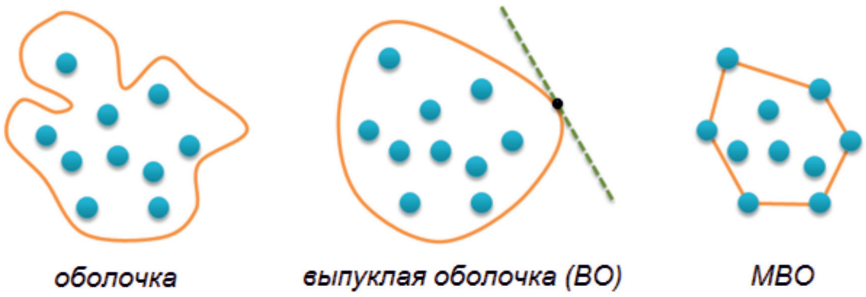


Рис. 1. К объяснению понятий «оболочка», «выпуклая оболочка», «минимальная выпуклая оболочка» (МВО)

С МВО связаны и некоторые другие, более сложные и развитые структуры вычислительной геометрии, например на ней основана триангуляция Делоне, диаграммы Вороного. Метод триангуляции Делоне, например, был рассмотрен в статье авторов [8], где продемонстрировано его использование для разбиения геометрических объектов на конечные элементы в системах трёхмерного моделирования (САПР 3D) и расчёта созданных объёмных моделей деталей.

Как было отмечено выше, для программной реализации построения минимальной выпуклой оболочки для заданного множества точек использован язык Python и необходимые в данном случае библиотеки функций. Созданный программный код включает в себя следующую последовательность программных конструкций, автоматически выполняющих определённый набор действий при их запуске:

1. Импорт библиотеки Itertools [9], позволяющей легко создавать так называемые итераторы – сочетания параметров, счётчики, суммирования, размещения, срезы, фильтрации и т.д. Данные итераторы оптимизированы с точки зрения использования минимального объёма памяти компьютера.

2. Импорт модуля Numpy [10], позволяющего организовать эффективную работу со списками и матрицами.

3. Выбор из библиотеки Pyhull [11] функции ConvexHull (выпуклая оболочка).

4. Импорт функций библиотеки Matplotlib.pyplot для вывода на экран графического отображения обрабатываемых точек, соединяющих их линий, а также вычисленной минимальной выпуклой оболочки.

5. Создание массива исходных данных, который последовательно заполняется координатами (x_i, y_i) исходных точек. Сразу после заполнения массива определяется его длина, и каждая точка помещается на график (пока не выводимый на экран).

6. Применение к массиву точек функции ConvexHull, создающей минимальную выпуклую оболочку в виде графического объекта, который нуждается в проведении ряда операций для его визуального отображения.

7. Для помещения созданной оболочки на график необходимо проделать следующую последовательность операций: для полученного объекта-оболочки с помощью использования атрибута simplices последовательно перебираются все симплексы данного объекта (в данном случае трёхмерные отображения треугольников) и создаются их комбинации (сочетания) с помощью функции Combinations библиотеки Itertools. Каждое такое сочетание образует один из отрезков прямых, составляющих оболочку, и добавляется в ранее созданный массив примитивов оболочки.

8. Создаётся поле графика, границы которого незначительно расширены, исходя из минимальных и максимальных значений координат исходных точек, для получения более совершенной визуализации результатов.

9. На график помещаются примитивы оболочки (напомним, что на него уже нанесены исходные точки). После этого изображение с определёнными в п. 8 границами выводится на экран.

Пример получаемого с помощью программы графика приведён на рис. 2.

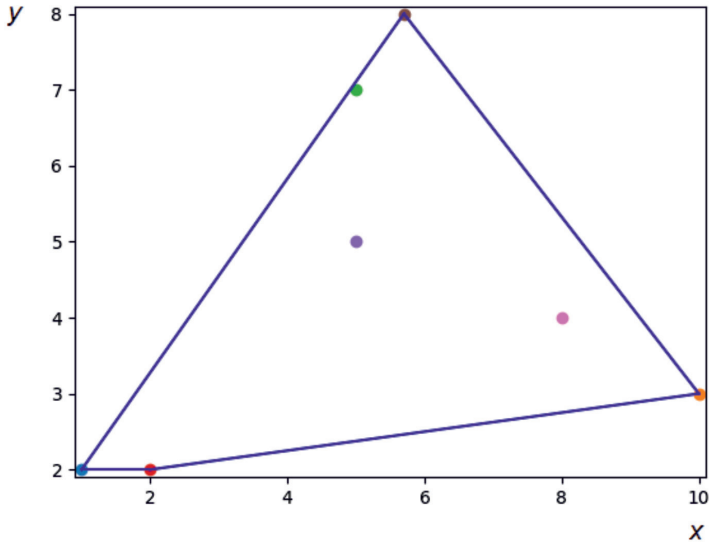


Рис. 2. Результат построения минимальной выпуклой оболочки вокруг точек с заданными координатами

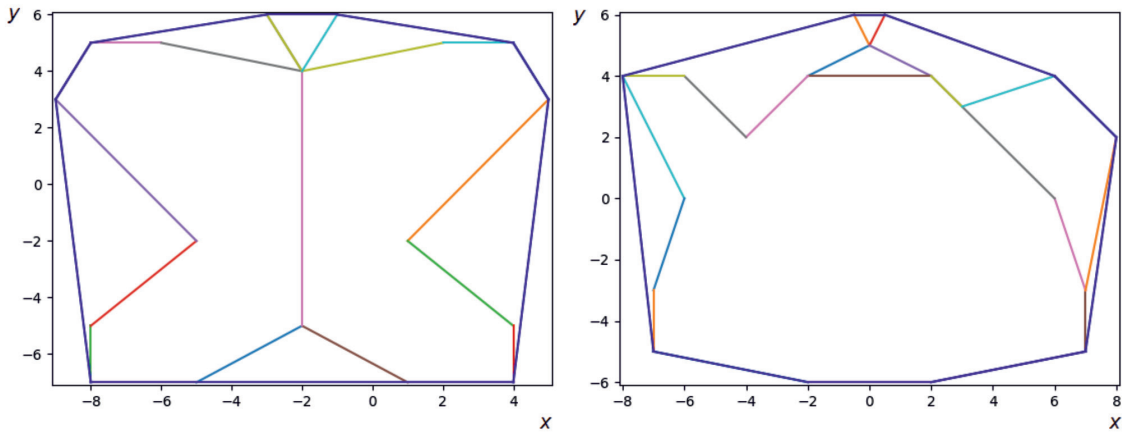


Рис. 3. Результаты выполнения программы, создающей минимальную выпуклую оболочку вокруг объекта из линий

Результаты исследования и их обсуждение

Задачи обработки массивов точек с помощью разработанного программного кода решались для разного количества точек с неизменным получением результатов, соответствующих цели исследования.

Рассмотрим ещё пару примеров, полученных с помощью несколько модифицированного варианта программы. Изменения в коде заключаются лишь в том, что исходные точки изначально составляют массив данных, а затем попарно соединяются в специально организованном для этого цикле, образуя отрезки прямых линий, из которых складывается изображение заданного объекта (и выводится на график). Алгоритм и программный код создания МВО в данном случае остаются неизменными, так как для создания оболочки важны лишь координаты исходного массива точек.

Результаты выполнения программы в этом случае представлены на рис. 3. Чтобы исключить загромождение графиков лишней информацией, сами исходные точки на них не выводятся – последовательно рисуются лишь соединяющие их линии.

Дальнейшим развитием задач, выполняемых с помощью разработанной технологии, видится создание минимальных выпуклых оболочек для пиксельных бинарных изображений, фактически также состоящих из отдельных точек. Это позволит в каждом случае охарактеризовать характер внешних очертаний изображённых на них геометрических объектов. Такая работа проводилась, например, при идентификации пятен дефектов металлических материалов по схожести построенных минимальных выпуклых оболочек с созданными по образцам эталонными образцами МВО [1].

Однако по приведённым в данной статье иллюстрациям уже видно, что создание минимальной выпуклой оболочки в практическом плане полезно в первую очередь для чёткого очерчивания границ минимальной площади, занимаемой объектом. Это особенно важно для применения в технологиях компьютерного зрения для проведения дальнейших, более детальных операций распознавания образов лишь в данной минимальной по площади зоне, ограниченной МВО.

Также перспективным является применение приведённой методики для отслеживания движения динамических объектов, когда их текущее месторасположение можно описывать лишь отдельными, крайними, точками, лежащими на минимальной выпуклой оболочке. Такие задачи решаются в областях киноиндустрии, военно-оборонных разработок, при создании игровых приложений и в огромном количестве технологических процессов [12] с предполагаемым перемещением деталей или других объектов. Например, в играх таким образом обнаруживаются моменты взаимодействия (столкновения) объектов, когда для повышения производительности реальные очертания объектов заменяются на образы в виде минимальных выпуклых оболочек.

Заключение

Созданные метод и программный код построения минимальных выпуклых оболочек позволяют не только решить упомянутые выше прикладные задачи, но и лучшим, более полным, образом охарактеризовать различные классы реальных физических

объектов. Результаты применения метода, представленные в графической форме, являются наглядными и однозначными, кроме того они позволяют охарактеризовать даже очень сложные системы (конечно, только при решении задач, когда внутренняя структура не имеет значения). Перспективно применение минимальных выпуклых оболочек при обработке массивов точек в трёхмерном пространстве.

Описанные методы исследований наглядно демонстрируют преимущества современных компьютерных математических алгоритмов (в частности, реализованных на универсальном языке программирования Python) для моделирования характеристик сложных систем. В описываемом исследовании использована автоматизация математических методов для создания организованных массивов данных и их обработки, организации циклических вычислений, вычисления координат и соединения крайних точек минимальных выпуклых оболочек ConvexHull, работа с комбинациями симплексов и других. Все созданные варианты программ характеризуются простотой кода, быстротой выполнения и наглядностью выводимых в графической форме результатов.

По результатам работы можно сделать вывод, что один из наиболее популярных в мире и, пожалуй, наиболее универсальный язык программирования Python обладает всем необходимым набором модулей для организации обозначенных в целях статьи методов исследования и для их дальнейшего развития и адаптации для использования практически в любой области науки и техники. При этом возможна реализация самых современных математических методов.

Можно рекомендовать детальное изучение применённых и описанных в данной работе математических методик и программных приёмов студентам вузов, инженерам, программистам, учёным и всем лицам, заинтересованным в развитии современных компьютерных технологий.

Список литературы

1. Магдеев Р.Г., Бактимиров Л.Ш. Применение алгоритмов построения выпуклой оболочки при анализе изображений микроструктуры металла // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2014. Т. 16. № 6–2. С. 496–500.

2. Чаднов Р.В., Скворцов А.В., Мирза Н.С. Обзор алгоритмов построения выпуклой оболочки на плоскости // Вестник Томского государственного университета. 2004. № 9–2. С. 116–121.

3. Уулу Б.М., Курочкин М.А., Востров А.В. Исследование вариантов решения комбинаторных задач в технологиях OpenCL И CUDA // Математические методы в технике и технологиях – ММТТ. 2019. Т. 12–1. С. 98–100.

4. Ильичев В.Ю. Применение библиотеки OpenCV языка Python для распознавания образов объектов // Системный администратор. 2021. № 7–8 (224–225). С. 130–132.

5. Пугачев А.И. Построение минимальной выпуклой оболочки множества точек на плоскости // Наукосфера. 2021. № 3–1. С. 107–111.

6. Статические выпуклые оболочки: Джарвис, Грэхем, Эндрю, Чен, QuickHull. [Электронный ресурс]. URL: https://neerc.ifmo.ru/wiki/index.php?title=Статические_выпуклые_оболочки:_Джарвис,_Грэхем,_Эндрю,_Чен,_QuickHull (дата обращения: 09.10.2021).

7. Ганков М.С., Ильичев В.Ю. Разработка программ на языке Python для графической интерпретации точечных отображений // Научное обозрение. Технические науки. 2021. № 3. С. 15–20.

8. Молчанов А.Н., Ильичев В.Ю. Численное исследование точечного отображения Дуффинга // Научное обозрение. Технические науки. 2021. № 4. С. 22–26.

9. Ахметшин Р.Р., Журавлёв М.П. Использование языка Python при разработке парсера // Академия педагогических идей Новация. 2017. № 2. С. 19–27.

10. Пылов П.А., Протодьяконов А.В. Использование и представление массивов в библиотеке Numpy // Инновации. Наука. Образование. 2020. № 23. С. 258–266.

11. Pyhull 1.5.4 documentation. [Электронный ресурс]. URL: https://pythonhosted.org/pyhull/ (дата обращения: 09.10.2021).

12. Raevsky V., Nasonov D., Ilichev V. Some recommendations for the calculation of pneumatic engines taking into account the smooth stop. // В сборнике: Proceedings of the 52th International JVE Conference in St. Petersburg. 2021. С. 166–171.

СТАТЬИ

УДК 615.038(575.2)

АНАЛИЗ КОНЪЮНКТУРЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА АНТИГИСТАМИННЫХ ПРЕПАРАТОВ В КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ

[1]Эсеналиева А.О., [1]Исмаилов И.З., [2]Сабирова Т.С., [1]Мурзабаева Э.Б.

[1]Института химии и фитотехнологии Национальной академии наук Кыргызской Республики, Бишкек, e-mail: aselda@mail.ru, ism-isa@mail.ru, elusya_kg@mail.ru;

[2]Кафедра базисной и клинической фармакологии имени академика М.Т. Нанаевой КГМА им. И.К. Ахунбаева, Бишкек, e-mail: sabirova_ts@mail.ru

Антигистаминные препараты (АГП) эффективно блокируют эффекты гистамина в проявлении аллергических реакций и являются одним из важнейших звеньев фармакотерапии аллергических заболеваний в клинической практике. Следует также отметить актуальность применения антигистаминных препаратов в контексте возникновения аллергических реакций на доступные в настоящее время вакцины против COVID-19. Анализ структуры ассортимента АГП на отечественном рынке необходим для оптимизации обеспечения населения Кыргызстана препаратами данной группы. Данное исследование направлено на детальное изучение фармацевтического рынка антигистаминных препаратов Кыргызской Республики в контексте маркетингового анализа с целью формирования адекватного аптечного ассортимента вышеуказанной группы лекарственных препаратов. Проведенное нами исследование позволило выделить следующее: в настоящее время на отечественном фармацевтическом рынке антигистаминные препараты зарегистрированы в количестве 98 торговых наименований на основе 13 международных непатентованных наименований, которые в основном ввозятся из Индии, России и Турции, и только 4% анализируемой группы препаратов представлены препаратами отечественного производства. Твердые лекарственные формы являются доминирующими формами. Результаты ценового анализа показали, что анализируемая группа препаратов реализуется населению в диапазоне от 1,7 до 6 долл. США.

Ключевые слова: антигистаминные препараты, аллергия, маркетинговые исследования, лекарственный рынок, Кыргызская Республика

ANALYSIS OF THE SITUATION ON THE PHARMACEUTICAL MARKET OF ANTIHISTAMINE PREPARATIONS IN THE KYRGYZ REPUBLIC

[1]Esenalieva A.O., [1]Ismailov I.Z., [2]Sabirova T.S., [1]Murzabaeva E.B.

[1]Postgraduate student of the Institute of Chemistry and Phytotechnology of the National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic, Bishkek, e-mail: aselda@mail.ru, ism-isa@mail.ru, elusya_kg@mail.ru;

[2]Department of Basic and Clinical Pharmacology named after academician M.T. Nanaeva KSMA named after I.K. Akhunbaeva, Bishkek, e-mail: sabirova_ts@mail.ru

Antihistamines effectively block the effects of histamine in the manifestation of allergic reactions and are one of the most important links in the pharmacotherapy of allergic diseases in clinical practice. Analysis of the structure of the AGP assortment in the domestic market is necessary to optimize the provision of the population of Kyrgyzstan with drugs of this group. This study is aimed at a detailed study of the pharmaceutical market of antihistamines in the Kyrgyz Republic in the context of marketing analysis in order to form an adequate pharmacy assortment of the above group of drugs. Our study made it possible to single out the following: at present, antihistamines are registered in the domestic pharmaceutical market in the amount of 98 trade names based on 13 international non-proprietary names, which are mainly imported from India, Russia and Turkey, and only 4% of the analyzed group of drugs are represented by domestically produced drugs. Solid dosage forms are the dominant forms. The results of the price analysis showed that the analyzed group of drugs is sold to the population in the range from 1.7 to 6 US dollars.

Keywords: antihistamines, allergies, marketing research, drug market, Kyrgyz Republic

В настоящее время в связи с высокой распространенностью аллергических заболеваний число антигистаминных препаратов (АГП) на фармрынке непрерывно растет вместе с увеличением объема их потребления. Распространенность аллергических заболеваний, таких как аллергический ринит, бронхиальная астма, хроническая идиопатическая крапивница, атопический дерматит и иные, продолжает расти в течение последних нескольких десятилетий, затрагивая большое количество людей во всем мире [1]. Миллионы людей испытывают физические нарушения и ухудшение качества жизни, а также экономическое бремя, вызванное аллергическими заболеваниями и связанными с ними сопутствующими заболеваниями [2, 3].

Рост объемов потребления АГП обусловлен тем, что, не являясь средствами этиотропной терапии, препараты этой фармакологической группы эффективно купируют проявления аллергии, вызванные самыми различными причинами. Поэтому изучение отечественного рынка антиаллергических препаратов является актуальным и необходимым.

Результаты недавно опубликованного исследования Всемирной организации

аллергии показали, что пациенты, страдающие аллергическими заболеваниями и состояниями гиперчувствительности, не входят в группу повышенного риска заражения COVID-19 и развития его серьезных проявлений. Однако Центр по контролю и профилактике заболеваний США сообщает, что люди с умеренной и тяжелой бронхиальной астмой могут иметь более высокий риск заболевания COVID-19 [4-6].

Следует также отметить актуальность применения антигистаминных препаратов в контексте возникновения аллергических реакций на доступные в настоящее время вакцины против COVID-19. Как и в случае с другими лекарствами, во время вакцинации могут возникнуть аллергические реакции. Хотя большинство реакций не являются частыми и серьезными, анафилактические реакции представляют собой потенциально опасные для жизни аллергические реакции, которые встречаются редко, но могут вызвать серьезные осложнения [7, 8].

Цель исследования: анализ структуры ассортимента антигистаминных препаратов, представленных на фармацевтическом рынке Кыргызской Республики.

Материалы и методы исследования

Материалами исследования послужили: Государственный реестр ЛС, прайс-листы аптечных организаций розничной реализации. Методы исследования: при проведении данного исследования нами использовались методы контент-анализа, наблюдения, сравнения, группировки, ранжирования, а также структурно-логического анализа.

Результаты исследования и их обсуждение

Первым этапом исследований было изучение объема импорта на фармацевтический рынок Кыргызстана антиаллергических препаратов (ААП) – АГП и глюкокортикостероидов (ГКС) как в натуральном, так и в денежном выражении за трехлетний период, а именно за 2018–2020 гг.

Как видно из данных рис. 1, максимальное количество поставок ААП в денежном выражении было осуществлено в 2020 г., что составило 417 млн 776 тыс. 125 сом, или 5 млн 3 тыс. 307 долл. США. Значительный прирост импорта ААП, в основном за счет ГКС, можно объяснить возникшей пандемией коронавирусной инфекции. ГКС были включены в перечень ЛС, необходимых для диагностики и лечения коронавирусной инфекции, утвержденный приказом МЗ КР № 716 от 14.09.2020.

В ходе проведения исследований нами был составлен рейтинг АГП по объему продаж в аптечных организациях КР, в сомах по состоянию на конец 2020 г. и начало 2021 г. (табл. 1).

Как видно из табл. 1, в топ-10 АГП вошли только представители генерических препаратов. Первую строчку с долей 17% занимает препарат лоратадин, на втором и третьем месте находятся препараты диазолин и димедрол. На рейтинг этих трех препаратов приходится 74% от емкости группы.

Следует отметить, что ЛП лоратадин входит в перечень жизненно важных лекарственных средств (ПЖВЛС) Кыргызской Республики в редакции 2018 г.

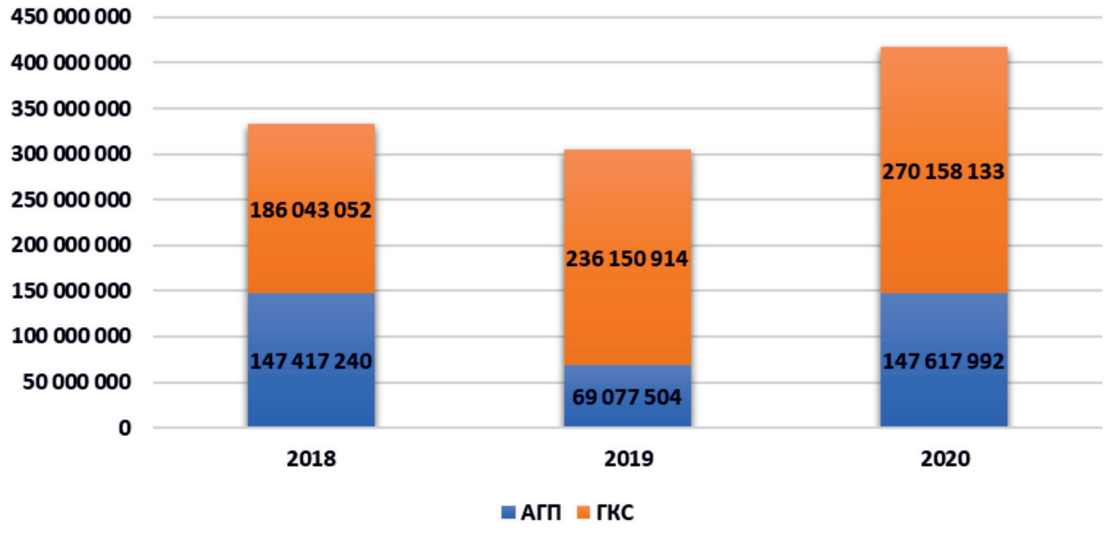


Рис. 1. Объем импорта антиаллергических препаратов за 2018–2020 гг. в денежном выражении (сом)

Таблица 1

Топ-10 антигистаминных препаратов по объему продаж в денежном выражении

Рейтинг	Торговое наименование	МНН	Доля от продаж сегмента
1	Лоратадин	Лоратадин	17%
2	Диазолин	Мебгидролин	13%
3	Димедрол	Дифенгидрамин	9%
4	Супрастин	Хлоропирамин	7%
5	Алер-G	Цетиризин	6%
6	Лоратал	Лоратадин	5%
7	Фенкарол	Хифенадин	5%
8	Кетотифен	Кетотифен	4%
9	Аллергофри	Интерферон альфа-2b + Лоратадин	4%
10	Аллермакс	Цетиризин	3%

Рис. 2. Структура антигистаминных препаратов по международным непатентованным наименованиям

По данным Государственного реестра, на фармацевтическом рынке Кыргызстана в настоящее время зарегистрировано 98 торговых наименований препаратов, обладающих селективной гистаминоблокирующей активностью с учетом лекарственных форм и форм выпуска на основе 13 международных непатентованных наименований (рис. 2).

Базируясь на результатах вышеуказанной диаграммы, можно сделать вывод, что лидерами фармацевтического рынка КР по количеству зарегистрированных торговых наименований являются: цетиризин (17%), левоцетиризин (15%), дифенгидрамин (13%) и лоратадин (12%).

Группа АГП на фармацевтическом рынке КР представлена различными лекарственными формами, лидирующим видом которых по количеству зарегистрированных препаратов являются твердые лекарственные формы – 66,3%, далее идут жидкие лекарственные формы, составляя 25,5%, и мягкие лекарственные формы – 7% соответственно (табл. 2).

Таблица 2

Виды лекарственных форм антигистаминных препаратов

Лекарственные формы	Количество	%
Твердые		
Таблетки	55	57,1
Драже	6	6,1
Капсулы	3	3
Диспергируемая пленка	1	1
Итого	65	67
Жидкие		
Раствор для инъекций	9	9,2
Сироп	6	6,1
Капли для приема внутрь	5	5,1
Раствор для приема внутрь	5	5,1
Спрей назальный	1	1
Итого	26	26
Мягкие		
Мазь	4	4
Гель	2	2
Крем	1	1
Итого	7	7
Всего	98	100

Исследование по изучению отпуска АГП в аптечных организациях Кыргызстана позволило установить, что большее количество зарегистрированных лекарств, а именно 60,2% препаратов, относятся к ОТС, которые отпускаются без рецепта врача, и только 39,8% реализуются по рецепту. Вышеуказанная информация является значимой, так как в условиях безрецептурной реализации АГП резко возрастает роль фармацевта как ключевого звена в оказании грамотных и качественных информационно-консультативных услуг во избежание неправильного использования АГП и минимизации потенциальных рисков, связанных с нежелательными лекарственными явлениями.

Нижеследующий рисунок наглядно демонстрирует, что АГП в 63,2% случаев поставляются из стран дальнего зарубежья, в основном из Индии (13,2%) и Турции (10,2%). Импорт АГП также осуществляется из стран ближнего зарубежья, составляя при этом 33,6%, лидером по количеству поставок является Россия (11,2%). Отечественное производство составляет лишь 4%.

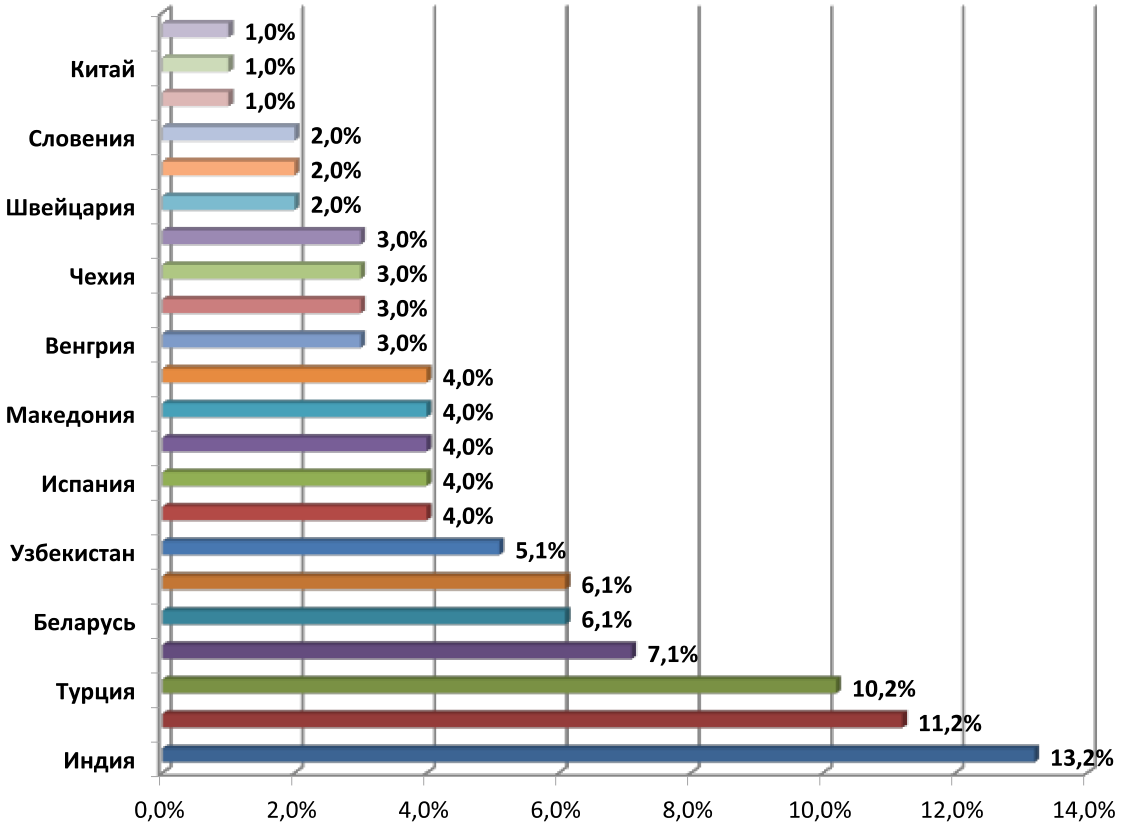


Рис. 3. Структура поставок антигистаминных препаратов по странам-производителям

Ценовая сегментация лекарственного ассортимента АГП

Известно, что стоимость препарата является одним из важных факторов, влияющих на комплаентность к лечению пациентов. Основными факторами, формирующими цены на АГП, служат: поколение, вид ЛП (оригинал или генерик), количество действующего вещества в ЛП и т.д. По причине того, что в принятии покупательских решений фактор цены присутствует всегда, при формировании рационального аптечного ассортимента АГП необходимо учитывать стоимостные характеристики ЛП в целях удовлетворения спроса потребителей ЛП с разным уровнем дохода. Проведенные исследования по ценовой сегментации ассортимента АГП показали, что розничные цены на АГП варьируют от 8 сомов (0,09 долл. США) за упаковку димедрола (10 таблеток по 50 мг, Кыргызстан) до 745 сомов (9 долл. США) за упаковку Фексофен Сановель (МНН – фексофенадин, 20 таблеток по 180 мг, Турция).

Более детальный ценовой анализ АГП на фармрынке Кыргызстана представлен на рис. 4.

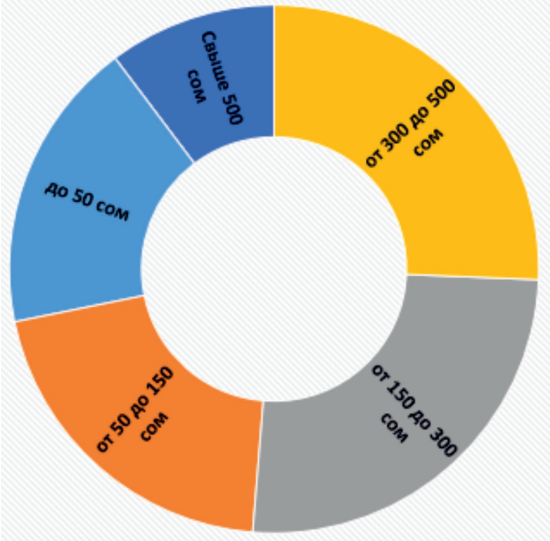


Рис. 4. Ценовая сегментация антигистаминных препаратов

Исходя из данных диаграммы можно заключить, что основной сегмент АГП в Кыргызстане, а именно 47 торговых наименований ЛП (51,2%), приобретается по цене от 150 до 500 сом за упаковку, или от 1,77 до 6 долл. США.

Выводы

1. Результаты наших исследований показали, что в данное время на рынке АГП присутствуют в количестве 98 торговых наименований на основе 13 международных непатентованных наименований.
2. Всего на фармацевтический рынок Кыргызстана препараты поставляются в основном из стран дальнего зарубежья (63,2%), а именно из Индии и Турции.
3. Фармацевтический рынок АГП в Кыргызстане представлен преимущественно твердыми лекарственными формами с долей 66,3%.
4. Было выявлено, что АГП ценового диапазона от 1,77 до 6 долл. США, на долю которых приходится 51,2%, преобладают на отечественном лекарственном рынке.

Список литературы

1. Brozek G., Lawson J., Szumilas D., Zejda J. Increasing prevalence of asthma, respiratory symptoms, and allergic diseases: four repeated surveys from 1993-2014. Respir. Med. 2015. V. 109(8). P. 982–990.

2. Baiardini I., Braido F., Brandi S., Canonica G.W. Allergic diseases and their impact on quality of life. Ann Allergy Asthma Immunol. 2006. V. 97(4). P. 419–428.

3. Zuberbier T., Lotvall J., Simoens S., Subramanian S.V., Church M.K. Economic burden of inadequate management of allergic diseases in the European Union: a GA (2) LEN review. Allergy. 2014. V. 69(10). P. 1275–1279.

4. Tanno L.K., Demoly P., Martin B., Berstein J., Morais-Almeida M., Levin M., Fiocchi A., Sánchez-Borges M., Caraballo L.R., Wong G., Ortega-Martell J.A., Rouadi P., Yáñez A., Wang L.L., Peden D.B., Chikhladze M., González-Díaz S.N., Fontaine J.F., Sublett J., Chang Y.S., Passalacqua G., Ansotegui I.J., Ebisawa M., Senna G., Caminati M. Allergy and coronavirus disease (COVID-19) international survey: Real-life data from the allergy community during the pandemic. World Allergy Organization Journal. 2021. V. 14. P. 100515.

5. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y., Qiu Y., Wang J., Liu Y., Wei Y., Xia J., Yu T., Zhang X., Zhang L. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. Lancet. 2020. V. 395(10223). P. 507–513.

6. Caminati M., Lombardi C., Micheletto C., Roca E., Bigni B., Furci F., Girelli D., Senna G., Crisafulli E. Asthmatic patients in COVID-19 outbreak: few cases despite many cases. J. Allergy Clin. Immunol. 2020. S0091-6749(20)30825-3.

7. Kounis N.G., Koniari I., de Gregorio C., Velissaris D., Petalas K., Brinia A., Assimakopoulos S.F., Gogos C., Kouni S.N., Kounis G.N., Calogiuri G., Hung M.Y. Allergic Reactions to Current Available COVID-19 Vaccinations: Pathophysiology, Causality, and Therapeutic Considerations. Vaccines (Basel). 2021. V. 9(3). P. 221.

8. Chung E.H. Vaccine allergies. Clin. Exp. Vaccine Res. 2014. V. 3. P. 50–57.

СТАТЬИ

УДК 537.6:537.811

КИНЕТИЧЕСКАЯ ПРИРОДА МАГНИТНЫХ ЛИНИЙ

Карякин А.А., Карякин А.В., Карякина И.В.

Георгиевский региональный колледж «Интеграл», Георгиевск, e-mail: kavo545@mail.ru

Рассмотрено предположение о существовании стабильной фундаментальной магнитной частицы, которая является переносчиком магнитных взаимодействий. Кинетические свойства частицы определяют магнитные взаимодействия. Сложное движение частицы включает три основных вида: вращение вокруг собственной оси, поступательное движение и вращательное движение вокруг оси движения. Путь магнитной частицы проходит по винтовой линии с изменяющимся радиусом и шагом. Вращательное движение частицы может быть правосторонним или левосторонним. Исходящие с северного полюса магнитные частицы имеют правостороннее вращение. Исходящие с южного полюса магнита магнитные частицы имеют левостороннее вращение. Объяснены причины изменения движения частицы за счет упругих соударений с другими частицами. Описано формирование магнитных потоков и их энергий. При движении частиц в потоке их кинетическая энергия суммируется и распределяется по поверхности потока. Упорядоченное движение частиц в потоке приводит к тому, что внутри поток пуст. Подобное движение в термодинамике называется закрученным потоком. Отдельный поток формирует магнитную линию. Кинетические потоки отталкиваются от соседних потоков и изменяют направление и радиус вращения. Правило буравчика объясняется правосторонним вращением потока магнитных частиц. Объяснена природа расхождений, уклонений, сцеплений магнитных микропотоков.

Ключевые слова: электромагнитное поле, силовые линии, магнитные частицы, движение частиц, винтовая линия

KINETIC NATURE OF MAGNETIC FLOWS

Karyakin A.A., Karyakin A.V., Karyakina I.V.

College «Integral», Georgievsk, e-mail: kavo545@mail.ru

The assumption of the existence of a stable fundamental magnetic particle, which is a carrier of magnetic interactions, is considered. The kinetic properties of a particle determine magnetic interactions. The complex motion of a particle includes three main types: rotation around its own axis, translational motion and rotational motion around the axis of motion. The path of a magnetic particle runs along a helical line with a varying radius and pitch. The rotational motion of the particle can be right-handed or left-handed. Magnetic particles coming from the north pole have a right-hand rotation. The magnetic particles coming from the south pole of the magnet have a left-hand rotation. The reasons for the change in particle motion due to elastic collisions with other particles are explained. The formation of magnetic fluxes and their energies is described. When particles move in a stream, their kinetic energy is summed up and distributed over the surface of the stream. The ordered movement of particles in the flow leads to the fact that the flow is empty inside. Such a motion in thermodynamics is called a swirling flow. A separate stream forms a magnetic line. Kinetic flows are repelled from neighboring flows and change the direction and radius of rotation. The rule of the gimlet is explained by the right-hand rotation of the flow of magnetic particles. The nature of divergences, deviations, and couplings of magnetic micro-flows is explained.

Keywords: electromagnetic field, power induction lines, magnetic particles, particle motion, helical line

Работа Гильберта «De Magnete» в 1600 г. заложила основы магнетизма как науки. Шаг за шагом великие ученые делали открытия в области электродинамики. В процессе исследования выдвигались различные теории. Только к концу XVIII в. классическая теория электродинамики была завершена. Двадцатый век изменил взгляды на электродинамику благодаря появлению квантовой механики. Было сделано еще больше открытий, тем не менее фундамент природы магнитного поля до конца не объяснен. Как известно, основная задача физики – выявить и объяснить законы природы, которыми определяются физические явления. Магнитные поля присущи микро- и макрообъектам и широко применяются в науке и технике, поэтому сделаем еще одну попытку объяснить физику магнитных взаимодействий. Известно, что магнитных зарядов, аналогичных электрическим, в природе не существует.

Гипотеза

Допустим, что переносчиком магнитных взаимодействий может являться элементарная магнитная частица, двигающаяся по винтовой линии. Кинетические свойства частицы определяют магнитные взаимодействия.

Тема исследования

Проверка возможности представить магнитные взаимодействия через кинетические свойства магнитной частицы и движения в потоке.

Основные свойства магнитной частицы

Новая элементарная частица может иметь параметры, свойственные элементар-

ным частицам: массу, спин, спиральность и т.п. Частица должна относиться к стабильным элементарным частицам как электрон, электронное и мюонное нейтрино, протон, фотон. Магнитная частица также должна подчиняться принципу тождественности одинаковых частиц, и её свойства должны быть полностью одинаковы во Вселенной. Взаимодействия магнитных частиц не запрещены законами сохранения энергии, импульса, момента количества движения.

Электромагнитные взаимодействия любых элементарных частиц, в том числе фундаментальных фермионов, происходят с помощью магнитных частиц. Размер магнитной частицы представляется много меньше размера протона, электрона, фотона. Подразумевается, что магнитная частица фундаментальна и является составляющей любого магнитного поля, в том числе собственных магнитных полей и магнитных моментов элементарных частиц.

Допустим, что движение частицы происходит по винтовой линии [1]. Направление винта может быть правым либо левым, относительно направления движения V (рис. 1). Именно направление винта будет определять основное свойство магнитной частицы. Допустим, что с северного полюса постоянного магнита отделяются частицы с правым направлением винта ($МЧ^{С}$). Соответственно, с южного полюса магнита отделяются частицы с левым направлением винта ($МЧ^{Ю}$). Магнитная частица существует одна в своем роде, но её проявления в движении двойственны и противоположны, как северный и южный полюс магнита.

Движение магнитной частицы

Магнитной частице присущи три основных вида движения: движение вокруг собственной оси со скоростью W_2, поступательное движение со скоростью V и вращательное движение с угловой скоростью W_1 вокруг второй оси. Вращательное движение имеет период, т.е. промежуток времени, через который движение частицы повторяется (время одного поворота). Соответственно имеется частота вращения, показывающая число оборотов в единицу времени. Угловая скорость W характеризует быстроту поворота радиуса-вектора движущейся по окружности частицы [2].

Линейная скорость частицы будет меньше скорости света, тем не менее она достаточна высока и способствует прохождению значительного пути по окружности винта. Перемещение, проходимое частицей, зависит от шага винта и будет небольшим. Путь и перемещения – разные физические величины [3].

Вынужденное движение частицы по окружности можно принять условно равномерным, т.е. на небольшом участке времени линейная скорость и нормальное ускорение постоянны.

$$a_n = \frac{V^2}{r} = w^2 r \,,$$

где a_n – нормальное ускорение.

Во времени значения угловой скорости, радиуса описываемой окружности изменяются, соответственно, изменяется и нормальное ускорение. Общее ускорение частицы определяется как

$$a = \sqrt{a_t^2 + a_n^2 + a_p^2} \,,$$

где a_t – тангенциальное (касательное) ускорение, a_p – ускорение поступательное.

Изменения ускорений происходят из-за взаимодействия магнитной частицы с другими магнитными частицами, каждая из которых имеет определенный момент импульса mv. Момент импульса – одна из важнейших характеристик движения.

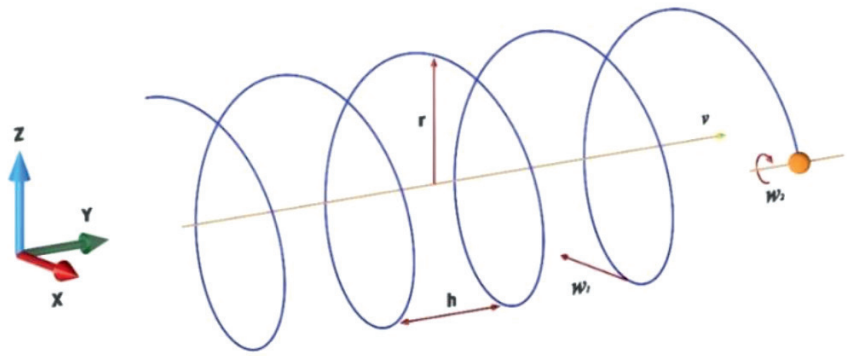


Рис. 1. Движения магнитной частицы в пространстве

Взаимодействия частиц

Без взаимодействий частицы с другими частицами её движение было бы простым и прямолинейным до соударения с другими частицами. Что же вынуждает МЧ^{С} и МЧ^{Ю} двигаться по сложной винтовой траектории?

Предположим, что магнитных частиц, обладающих моментом импульса, т.е. движущихся в окружающем нас пространстве, достаточно много. Значительно больше того количества нейтрино, которые, как недавно обнаружилось, имеют спиральность, зарядовый радиус и, соответственно, должны иметь электромагнитное взаимодействие, и которое следует обнаружить.

Допускаем, что магнитная частица является упругим телом, соответственно, столкновение магнитных частиц будет упругим ударом, аналогично столкновению бильярдных шаров.

Закон сохранения импульсов для абсолютно упругих ударов известен.

$$m_1V_1 + m_2V_2 = m_1U_1 + m_2U_2,$$

где V_1, V_2 – скорости до удара, а U_1, U_2 – скорости после удара.

В результате удара частицы обменяются скоростями. Полный импульс всех частиц останется постоянным, поскольку увеличение импульса одной частицы под воздействием другой частицы в точности компенсируется уменьшением импульса этой второй частицы из-за противодействия первой. Когда частицы действуют как физические частицы, их импульс mV, т.е. закон сохранения импульса справедлив и в квантовой механике.

$$m_1V_1 + m_2V_2 + m_3V_3 + ... = \text{const}.$$

В области, где нет магнитов, движение магнитных частиц будет неупорядоченным, по сложным траекториям.

Магниты

Предположим, что с магнитных полюсов любого магнитного объекта отделяются частицы, вращающиеся по винтовой линии. Таким образом, магнит представляется источником упорядоченного движения магнитных частиц, обладающих высокой кинетической энергией и вращающихся по винтовым траекториям. В результате в кипящем супе энергетических магнитных частиц при множестве упругих соударений и с соблюдением закона сохранения импульса формируются отдельные вихревые струи, называемые магнитными микропотоками (ММ-поток). Приставка микро- подразумевает, что у отдельного магнита магнитный поток состоит из множества микропотоков (струй).

Линии магнитной индукции

Обычно для наглядного представления магнитного поля вводятся магнитные линии или линии магнитной индукции. Линии магнитной индукции – геометрическое место точек, касательные к которым совпадают с направлением магнитной индукции в соответствующих точках [4]. Известно, что вектор индукции является силовой характеристикой магнитного поля. Направление вектора индукции магнитного поля определяется по правилу «буравчика», т.е. имеет правовинтовую систему. Линии магнитной индукции берут начало на полюсах магнита.

В данном исследовании природа силовых линий объясняется упорядоченным движением множества магнитных частиц. Частицы, у которых совпадает ось вращения, формирует единый микромагнитный поток (ММ-поток) (рис. 2).

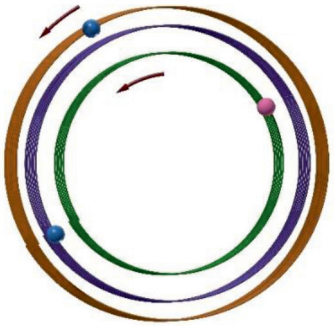


Рис. 2. Движение плотного микромагнитного потока в разрезе

При движении в микромагнитном потоке вращательное движение всех частиц направлено в одну сторону. Общее движение ММ-потока похоже на поступательно-вращательное движение идеальной жидкости, изучаемое в термодинамике. При поступательно-вращательном течении жидкость одновременно с движением вдоль оси цилиндрической трубы вращается вокруг оси трубы. Такое движение в термодинамике называется закрученным потоком [5] и встречается на практике в различного рода центробежных устройствах – проточных центрифугах, центробежных холодильниках и т.п. Линии тока жидкости имеют форму вихревых линий. Из термодинамики известно, что имеются две области движения: в кольцевом зазоре и на оси трубы. Причем в полости оси жидкости нет. Образуется

своеобразный «вихрь». Аналогичным образом формируется ММ-поток, в котором большинство частиц находятся на крайней окружности, а не в центральных областях оси вращения. По сути, ММ-поток внутри пустой. Магнитные частицы на внешнем слое вихря образуют своеобразную поверхность из множества частиц. Такое упорядочивание происходит в результате множественного соударения магнитных частиц и наиболее оптимально для перемещения в пространстве большого количества частиц. Большинство частиц ММ-потока двигаются с одинаковыми линейными скоростями, на одинаковом расстоянии r от оси вращения и имеют одинаковый импульс. В упорядоченном потоке они располагаются достаточно близко друг к другу и их упругие соударения происходят под небольшим углом.

ММ-поток, исходящий из северного полюса магнита, соответствует отдельной линии магнитной индукции и имеет правостороннее вращение всех частиц. Количество вихревых потоков энергетических магнитных частиц, исходящих с северного полюса магнита, и определяет количество магнитных линий. Любой ММ-поток с северного полюса имеет правостороннее вращение. Таким образом объясняется физика магнитных линий и правила «буравчика».

Общий магнитный поток

Классический постулат гласит, что магнитный поток Ф характеризует число линий магнитной индукции, проходящей через данную поверхность.

$$\Delta\Phi = B_n \Delta S = B \Delta S \cos\alpha.$$

В данном варианте общий магнитный поток характеризует число микромагнитных потоков, проходящих через данную поверхность. Каждый ММ-поток переносит магнитные частицы, количество которых зависит от мощности источника.

Энергия микромагнитных потоков

ММ-поток обладает механической энергией, т.е. физической величиной, которая является функцией скорости и взаимного расположения тел. Кинетическая энергия ММ-потока равна алгебраической сумме кинетических энергий всех магнитных частиц, которые участвуют в потоке:

$$E_k = \frac{m_1 V_1^2}{2} + \frac{m_2 V_2^2}{2} + \ldots + \frac{m_i V_i^2}{2}.$$

ММ-поток, начинаясь на полюсе магнита, имеет максимальную энергию, но при удалении энергия уменьшается из-за соударений с соседними потоками и изменения направления потока (отклонения), и магнитной проницаемости среды. Работа потока является мерой изменения кинетической энергии ММ-потока:

$$\Delta A = \Delta E_k.$$

Определенно ММ-поток суммирует энергию входящих в него частиц, и эта энергия распределена по поверхности потока. Таким образом, вихревой поток наиболее эффективная энергетическая структура среди неупорядоченных магнитных частиц.

Упорядочивание микромагнитных потоков

Отдельный микропоток при отсутствии внешних воздействий, то есть отсутствии центростремительной силы к оси вращения, обязательно распадется. В роли центростремительной силы выступают соседние параллельные потоки и сжатые области частиц между ММ-потоками (вытесненные свободные частицы).

Если кинетическая энергия вращения одного ММ-потока будет больше энергии соседнего потока, то направление поступательного движения потока отклонится в сторону слабого, вытесняя его в сторону. Если кинетическая энергия вращения одного потока будет больше всех соседних потоков, то радиус ММ-потока увеличится, распихивая соседние потоки. Параллельные потоки всегда стремятся расшириться, поэтому на полюсах магнита и наблюдаются расходящиеся силовые линии. Центральные линии остаются прямолинейными, они равномерно сжаты со всех сторон. Боковые линии магнита изменяют свое направление на противоположное за счет их постоянного бокового расталкивания. И причина разбега во множественном упругом встречном столкновении частиц из соседних ММ-потоков (рис. 3).

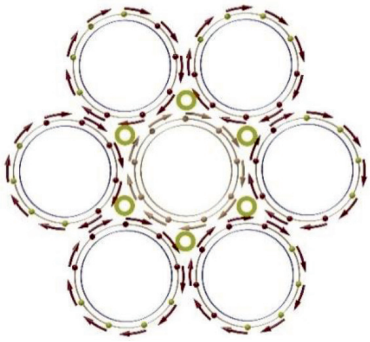


Рис. 3. Упорядочивание микромагнитных потоков

Во время одного оборота частица совершает не менее шести встречных соударений

с частицами из соседних окружающих потоков. Кроме того, частицы ММ-потоков совершают соударения с частицами в межпотоковом «желтом» пространстве.

Межпотоковое пространство

В межпотоковом пространстве находятся частицы, которые вытеснены из ММ-потоков. Свободные частицы сдавливаются ММ-потоком и приобретают вращение, противоположное вращению ММ-потока. Вынужденное движение свободных магнитных частиц упорядочивается в меньший магнитный поток, обладающий собственной кинетической энергией вращения. Если частица из ММ-потока попадает в область межпотоков, то на неё действует боковое соударение из межпотокового пространства, отклоняющее её в сторону оси вращения. Угол отклонения будет меньше, чем угол от встречных столкновений с соседним ММ-потоком. Количество столкновений частицы за время одного оборота достаточно велико, и поэтому круговое движение частицы ММ-потока приобретает форму круга (аппроксимация функции соударений до кругового движения).

Северный и южный полюс

Удаляясь от источника (от полюсов) магнита, ММ-потоки совершают работу на расталкивание и преодоление сопротивления среды. Крайние ММ-потоки постепенно меняют свое направление и разворачиваются в противоположную сторону (рис. 4).

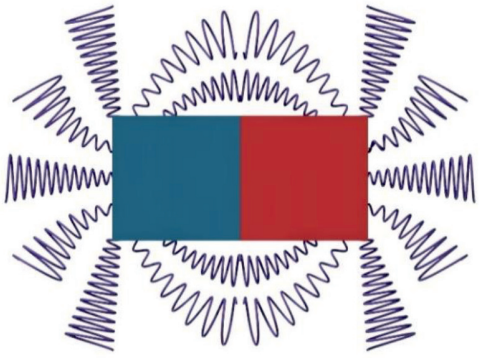


Рис. 4. Магнитные потоки на полюсах магнита

Ослабленные потоки $МЧ^{Ю}$ и $МЧ^{С}$ встречаются в межполюсном пространстве. Круговые вращения встречающихся ММ-потоков будут одинаково направлены. Встречные потоки могут незначительно отличаться по радиусу вращения r. И тот ММ-поток, у которого меньше радиус r, проникает в ММ-поток с большим радиусом. Как упоминалось ранее, ММ-поток внутри пустой, все двигающиеся частицы сосредоточены на поверхности потока. Встречные ММ-потоки сцепляются, при этом общее направление частиц по окружности совпадет, только поступательное движение будет противоположно. $МЧ^{Ю}$ продолжают двигаться к северному полюсу, а $МЧ^{С}$ двигаются к южному полюсу. Эшелоны движения частиц находятся на соседних радиусах.

Следовательно, ММ-поток будет содержать в себе $МЧ^{Ю}$ и $МЧ^{С}$, вращающихся в одном направлении, но двигающихся в противоположном поступательном движении.

Движение частиц по круговым орбитам является релятивистским. Однако относительно друг друга соударения частиц между внешним и встроенным ММ-потоком происходят на небольшой скорости и под небольшим углом, зависящим от шага винта. Если в пространстве присутствует единственный магнитный источник, то большинство его ММ-потоков замыкается в межполюсном пространстве. При наличии расположенных рядом других магнитов ММ-потоки будут пересоединяться с внешними ММ-потоками, у которых направление вращения совпадает. Встречные ММ-потоки с противоположным вращением сцепляться не будут. В этом случае соударение магнитных частиц будет под большим углом и на большой встречной скорости и в результате приведёт к изменению направления частиц потока и ослаблению потока. На границе встречных конфликтующих потоков образуется область с высокой плотностью неупорядоченных частиц, от которой потоки будут отклоняться.

Заключение

В исследовании рассматривается существование новой фундаментальной элементарной частицы и основные виды её движения. Когда частицы действуют как физические частицы, их импульс mV, т.е. закон сохранения импульса справедлив и в квантовой механике.

Сложность обнаружения магнитных частиц в том, что они сами являются составляющими элементарных частиц (лептонов, кварков, гипотетических преонов), существование которых в процессе экспериментальных подтверждений. Предположение новой магнитной частицы, как и наличие массы у нейтрино, выходит за рамки Стандартной модели и ведет к её расширению.

Подтверждением существования магнитных частиц может являться наличие магнитных моментов у элементарных частиц и изменение направления их движения в стационарном магнитном поле. В иссле-

довании описаны свойства магнитных полей, проявляющиеся через взаимодействия множества потоков $МЧ^{Ю}$ и $МЧ^{С}$. Притягивание и отталкивание магнитных полюсов также представляется через кинетические соударения частиц.

Гипотеза истинна.

Список литературы

1. Жирных Б.Г., Серегин В.И., Шарикян Ю.Э. Начертательная геометрия: учебник. М.: Издательство МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2015. 168 с.

2. Дмитриева В.Ф. Физика для профессий и специальностей технического профиля: учебник для образовательных учреждений нач. и сред. проф. образования. М.: Издательский центр «Академия», 2011. 448 с.

3. Хорошавина С.Г. Экспресс-курс физики для школьников, абитуриентов, студентов. Ростов н/Д.: Феникс, 2011. 479 с.

4. Дельцов В.П., Дельцов В.В. Физика: дойти до самой сути! Настольная книга для углубленного изучения физики в средней школе. Электромагнетизм: учебное пособие. М.: Изд. ЛЕНАНД, 2017. 240 с.

5. Букалович Б.П., Новиков И.И. Термодинамика. Учебное пособие для вузов. М.: «Машиностроение», 1972. 672 с.

СТАТЬИ

УДК 546.05:546.264:661.183.3

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОРМ НАХОЖДЕНИЯ МЕТАЛЛОВ В ПРОДУКТАХ КОМПЛЕКСНОЙ ХЛОРИДНОЙ ТЕХНОЛОГИИ ПЕРЕРАБОТКИ ЗОЛЫ

[1]Досмухамедов Н.К., [2]Каплан В.А., [1]Жолдасбай Е.Е., [1]Даруеш Г.С.

[1]Казахский национальный исследовательский технический университет им. К.И. Сатпаева, Алматы, e-mail: nurdos@bk.ru;

[2]Научный институт имени Вейцмана, Реховот

Накопленные большие объемы золы требуют изыскания рациональных технологий их переработки. Комплексная, высокоэффективная технология переработки золы с селективным извлечением кремнезема, оксида алюминия, железа и цветных металлов, содержащих РЗМ, в товарные продукты с точки зрения практики вызывает огромную заинтересованность. В настоящей работе представлены результаты исследований форм нахождения металлов в огарке, полученном после хлорирующего обжига золы совместно с $CaCl_2$, и продуктах его выщелачивания соляной кислотой. Полученные пробы подвергались исследованиям элементного, фазового анализа с использованием современных приборов и аппаратуры: атомно-абсорбционного спектрофотометра Perkin Elmer 5100, дифрактометра Rigaku, Ultima III, электронно-зондового микроанализатора JXA-8230 фирмы JEOL, дифрактометра ДРОН-3. Установлена хорошая согласованность результатов между собой, полученных различными методами анализа, что указывает на высокую достоверность полученных данных. Установлено, что обжиг немагнитной фракции золы совместно с $CaCl_2$ в условиях окислительной атмосферы сопровождается практически полным разрушением муллита. В огарке алюминий в основном присутствует в виде геленита. В условиях оптимального режима ведения обжига (T = 1100 °C; расход $CaCl_2$ – 2 раза больше стехиометрии, необходимого для разложения муллита; τ = 60 минут), количественное соотношение геленита к анортиту в огарке составляет пять к одному. При дальнейшем выщелачивании огарка соляной кислотой геленит и анортит практически полностью растворяются в соляной кислоте и переходят в маточный раствор в форме хлорида алюминия. Это повышает извлечение алюминия в раствор. Получены новые данные по распределению металлов между твердым осадком кремнезема и маточным раствором. Установлено, что более 99 % цветных металлов и РЗМ переходят в раствор в форме хлоридов.

Ключевые слова: зола, обжиг, хлорид кальция, выщелачивание, соляная кислота, металлы, формы нахождения, распределение

RESEARCH OF THE FORMS OF METALS IN THE PRODUCTS OF THE COMPLEX CHLORIDE TECHNOLOGY OF ASH PROCESSING

[1]Dosmukhamedov N.K., [2]Kaplan V.A., [1]Zholdasbay E.E., [1]Daruesh G.S.

[1]Satbaev University, Almaty, e-mail: nurdos@bk.ru;

[2]Weizmann Institute of Science, Rehovot

The processing of accumulated large volumes of ash requires the search for rational technologies for their processing. A complex, highly efficient ash processing technology with selective extraction of silica, aluminum oxide, iron and non-ferrous metals containing rare earth metals into commercial products can be of great interest for practice. This work presents the results of studies of the forms of metals in the cinder obtained after chlorinating ash burning together with $CaCl_2$ and the products of its leaching with hydrochloric acid. Comprehensive studies of the samples were carried out using the methods of elemental, phase analysis using modern instruments and equipment: a Perkin Elmer 5100 atomic absorption spectrophotometer, a Rigaku diffractometer, Ultima III, a JEOL JXA-8230 electron probe microanalyzer and a DRON-3 diffractometer with CuKα – radiation, β-filter. Good agreement between the results obtained by various methods of analysis was established, which indicates a high reliability of the data obtained. It was found that the roasting of the non-magnetic ash fraction together with $CaCl_2$ in an oxidizing atmosphere is accompanied by almost complete destruction of mullite. In the cinder, aluminum is mainly present in the form of gehlenite. Under the optimal conditions of firing (T = 1100 °C; $CaCl_2$ consumption – 2 times higher than the stoichiometry required for the decomposition of mullite; τ = 60 minutes), the quantitative ratio of gehlenite to anorthite in the cinder is five to one. With further leaching of the cinder with hydrochloric acid, helenite and anorthite are almost completely dissolved in hydrochloric acid, and pass into the mother liquor in the form of aluminum chloride. This enhances the recovery of aluminum into solution. New data have been obtained on the distribution of metals between the solid silica precipitate and the mother liquor. It was found that more than 99 % of non-ferrous metals and rare earth metals pass into solution in the form of chlorides.

Keywords: ash, roasting, calcium chloride, leaching, hydrochloric acid, metals, forms of occurrence, distribution

Истощение запасов первичного сырья, снижение его качества привело к резкому росту некондиционных полупродуктов и отходов. Ввиду отсутствия рациональной технологии их переработки значительные объемы накопленных отходов занимают большие территории и представляют серьезную экологическую проблему. В этом ряду вопросы ресурсосбережения и разработки новых перспективных технологий переработки золошлаковых отходов ТЭЦ приобретают острый характер. На сегод-

няшний день объемы ежегодного выхода и накопления золы в разрезе развитых стран огромны: Индия – 112 млн т, Китай – 100 млн т, США – 75 млн т, Германия – 40 млн т, Великобритания – 15 млн т [1, 2].

В Казахстане годовой выход золы, а также золошлаковых смесей, полученных после сжигания углей, составляет приблизительно 19 млн т. Объем отходов, накопленных на сегодняшний день в золоотвалах, составляет более 300 млн т [3]. Переработка золы и развитие производства электроэнергии является одним из главных приоритетов государства.

Используемые на практике методы переработки золы [4–6] дают возможность извлекать лишь небольшие количества ценных элементов, что с точки зрения комплексности ее использования представляется неэффективным. Согласно вещественному составу золу, полученную после сжигания угля, можно рассматривать как независимое месторождение нерудных и рудных металлов [2, 7, 8]. Химический состав золы зависит от типа сжигаемого угля и может варьировать в широких пределах по основным компонентам. Содержание глинозема может составлять от 5 до 35%. Золы содержат значительное количество редких, в г/т: Sr – 110, Zr – 2,30, Nb – 7, Ga – до 9, и редкоземельных металлов, в г/т: Y – 14, Eu – 0,68, La – 19, Pr – 7, Sm – до 15. При отсутствии разведанных источников редкоземельных элементов извлечение их из золы становится привлекательным. При переработке золы не требуются дополнительные расходы на добычу и извлечение сырья.

Принимая во внимание сложный химический состав золошлаковых отходов, их нужно рассматривать как перспективный источник сырья для извлечения металлов. При этом нужно учитывать возможность извлечения всех металлов, включая основные их компоненты: оксиды алюминия, кремнезема, железа и цветных металлов. В ракурсе исследования данного вопроса огромный интерес для практики представляет разработанная в работе [9] комплексная, высокоэффективная технология переработки золы с избирательным извлечением кремнезема, оксида алюминия, железа, цветных металлов и РЗМ в товарные продукты. Теоретические аспекты технологии, в части обжига золы совместно с $CaCl_2$ и поведения ее компонентов при обжиге, освещены в работах [10, 11]. С точки зрения расширения границ теоретических знаний хлорирующих процессов и получения новых данных, необходимых для уточнения механизма процесса обжига и выщелачивания, требуется дополнительное комплексное изучение распределения металлов между продуктами хлорирующего обжига и выщелачивания огарка соляной кислотой.

Цель настоящей работы – исследование формы нахождения алюминия, кремнезема, цветных и редкоземельных металлов в огарке и продуктах выщелачивания и определение распределения металлов между продуктами процесса выщелачивания огарка соляной кислотой.

Материалы и методы исследования

В работе исследованы пробы огарка и твердого осадка (кварца), полученные в процессе обжига золы совместно с $CaCl_2$ и выщелачивания огарка соляной кислотой в условиях различного расхода $CaCl_2$, температуры, расхода HCl и Т:Ж.

Комплексным исследованиям подвергнуто 18 выборочных проб от общего количества опытов, из которых 9 проб – пробы огарка и 9 проб – кремнезем, полученный после выщелачивания огарка соляной кислотой.

Химический и фазовый состав исходной золы характеризовали с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра, оснащенного графитовой камерой сгорания (Perkin Elmer 5100). Порошковая рентгеновская дифракция (XRD) проводилась на дифрактометре Ultima III (Rigaku Corp., Япония) с количественным фазовым анализом с использованием программного обеспечения Jade_10 (MDI, Cal.) и базы данных ICSD.

Элементный и фазовый анализ также проводили с использованием электронно-зондового микроанализатора JXA-8230 фирмы JEOL.

С целью повышения достоверности результатов был проведен дополнительный рентгенодифрактометрический анализ на автоматизированном дифрактометре ДРОН-3 ($Cu_{K\alpha}$ – излучение, β-фильтр). Условия съемки дифрактограмм: U = 35 кВ; I = 20 мА; съемка θ-2θ; детектор 2 град/мин. По дифрактограммам порошковых проб был проведен рентгенофазовый анализ на полуколичественной основе с применением метода равных навесок и искусственных смесей. Устанавливали количественные соотношения кристаллических фаз. Толкование дифрактограмм проводилось с использованием данных картотеки ICDD: база порошковых дифрактометрических данных PDF2 (Powder Diffraction File) и дифрактограмм чистых от примесей минералов. Для основных фаз проводился расчет содержания.

Результаты исследования и их обсуждение

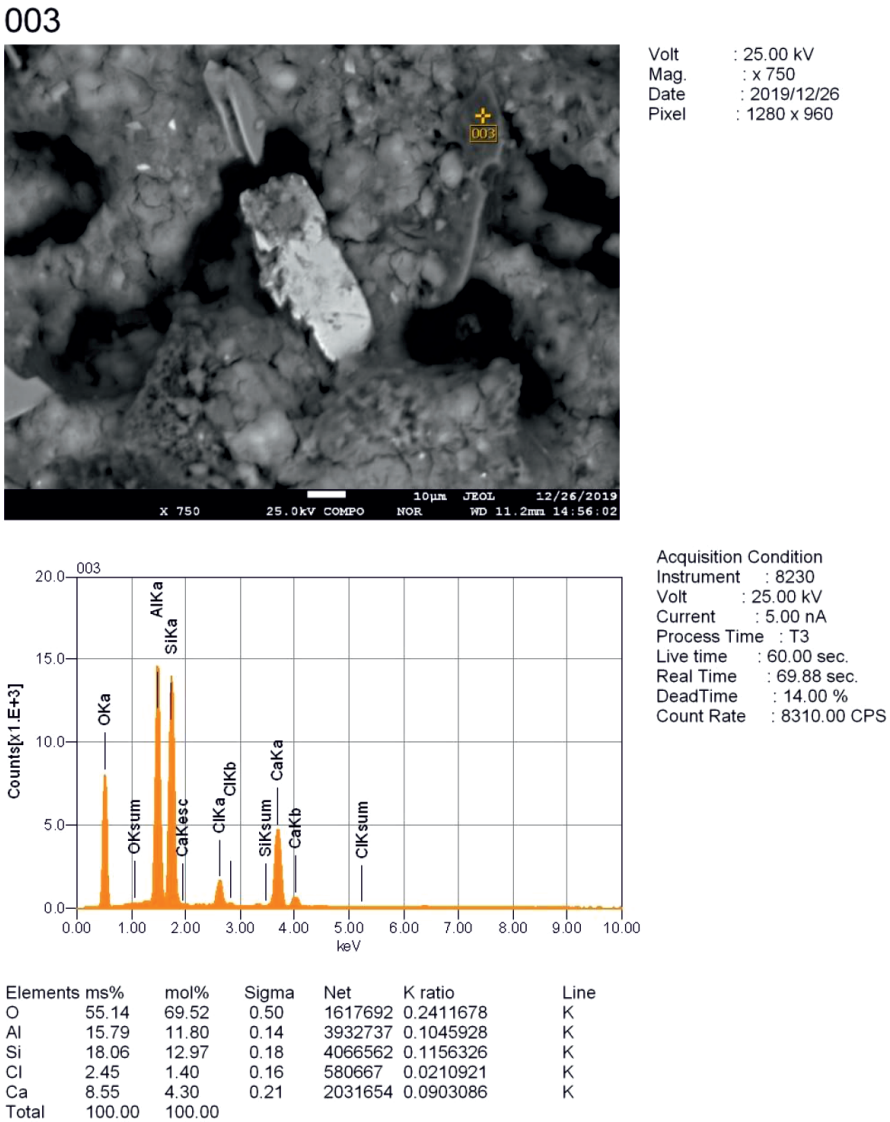
Формы нахождения металлов в огарке

Результаты EDS картирования пробы огарка, полученного в условиях оптимального режима обжига золы совместно с $CaCl_2$ (T = 1100 °C; расход $CaCl_2$ – 2 раза больше стехиометрии, необходимого для разложения муллита; τ = 60 минут), показаны на рис. 1.

В пробе полученного огарка установлены неоднородности и незначительные участки с ярко выраженными частицами различного химического состава. Это может свидетельствовать о том, что в случае неподвижного слоя золы в условиях обжига, возможно, остается незначительное количество не прореагировавшего с хлоридом кальция огарка.

На рис. 2 показаны дифрактограммы пробы огарка, полученные на аппарате D8 Advance (Bruker).

С использованием программного обеспечения EVA проводилась обработка полученных данных дифрактограмм и расчеты межплоскостных расстояний. При помощи программы Search/match были расшифрованы пробы и проведен поиск фаз. Полученные результаты полуколичественного анализа огарка приведены в табл. 1.



Elements	ms%	mol%	Sigma	Net	K ratio	Line
O	55.14	69.52	0.50	1617692	0.2411678	K
Al	15.79	11.80	0.14	3932737	0.1045928	K
Si	18.06	12.97	0.18	4066562	0.1156326	K
Cl	2.45	1.40	0.16	580667	0.0210921	K
Ca	8.55	4.30	0.21	2031654	0.0903086	K
Total	100.00	100.00				

Рис. 1. Результаты EDS картирования пробы огарка

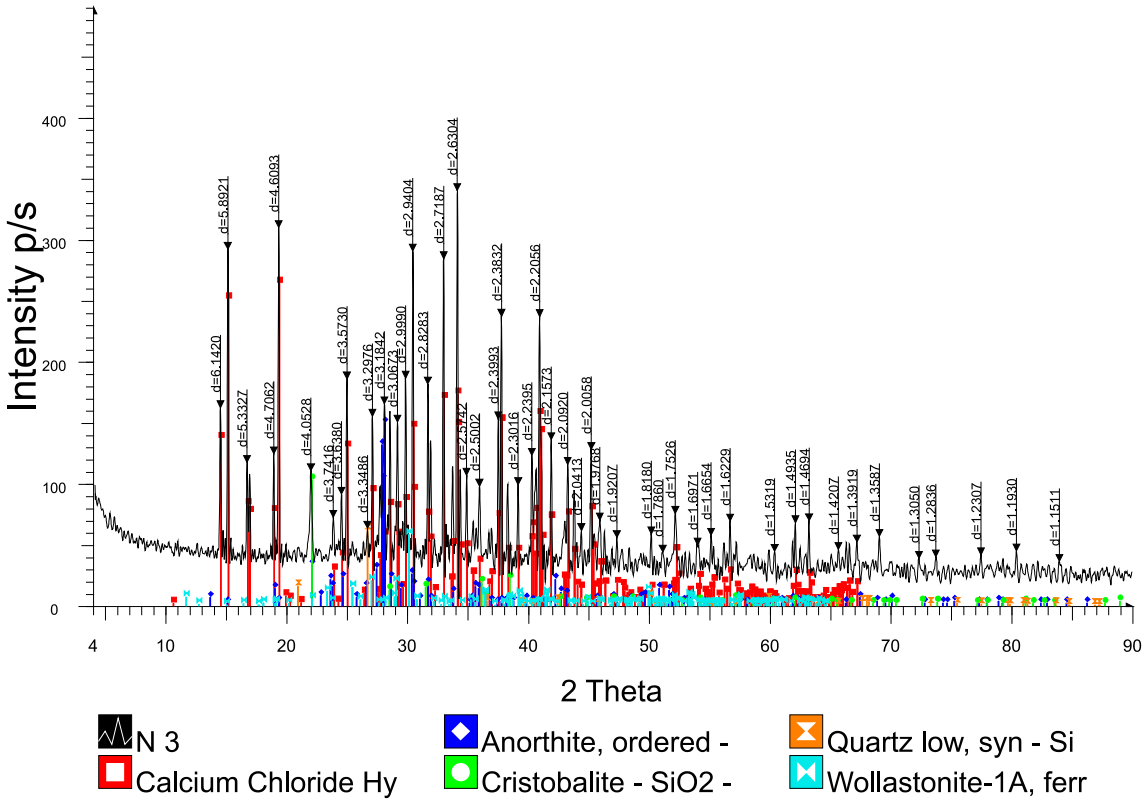


Рис. 2. Дифрактограммы пробы огарка

Таблица 1

Результаты полуколичественного анализа огарка

Название фазы	Формула	Концентрация, %
Анортит	$Ca(Al_2Si_2O_8)$	6,7
Геленит	$Ca_2Al(SiAl)O_7$	26,32
Гематит	Fe_2O_3	0,96
Волластонит	$CaSiO_3$	29,67
Хлорид кальция	$CaCl_2$	13,90
Кварц	SiO_2	1,35
КПШ	$KAlSi_3O_8$	21,1

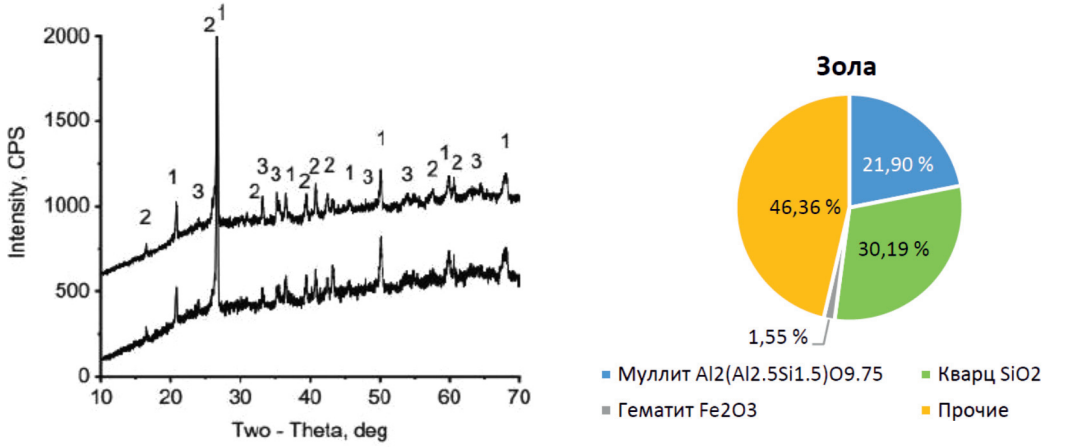
Для повышения точности и достоверности результатов, а также проведения сравнительного анализа пробы огарков были подвергнуты дополнительному рентгенофазовому анализу. Фазовый состав огарка характеризовали с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра, оснащенного графитовой камерой сгорания (Perkin Elmer 5100). Порошковая рентгеновская дифракция (XRD) проводилась на дифрактометре Ultima III (Rigaku Corp., Япония) с количественным фазовым анализом с использованием программного обеспечения Jade 10 (MDI, Cal.) и базы данных ICSD.

Результаты исследований показаны на рис. 3.

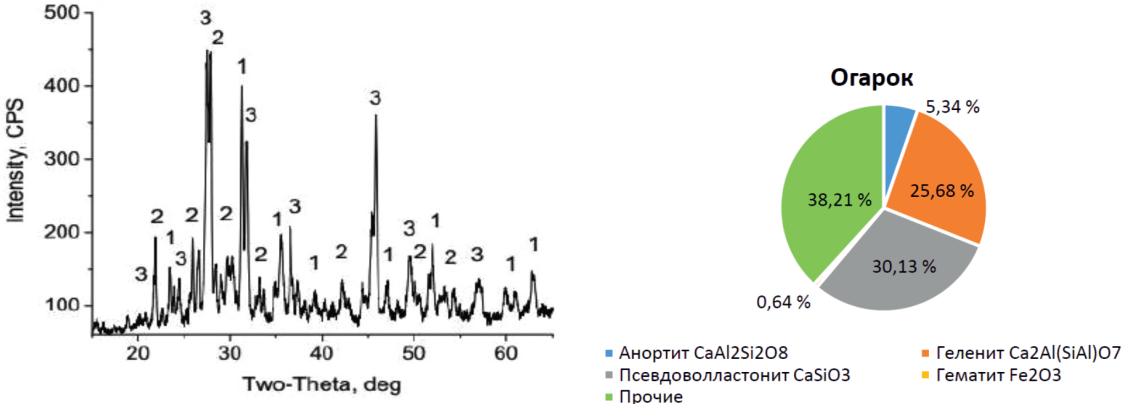
Полученные результаты показывают хорошее совпадение с данными полуколичественного анализа, приведенными в табл. 1, что позволяет принять их за основу для расчета рационального состава огарка.

Результаты расчета рационального состава огарка приведены в табл. 2.

Таким образом, можно заключить, что обжиг немагнитной фракции золы совместно с $CaCl_2$ в условиях окислительной атмосферы сопровождается практически полным разрушением муллита. В полученном огарке алюминий в основном присутствует в виде геленита. В условиях оптимального режима ведения обжига количественное соотношение геленита к анортиту в огарке составляет пять к одному (рис. 3). При дальнейшем выщелачивании огарка соляной кислотой геленит и анортит практически полностью растворяются в соляной кислоте и переходят в маточный раствор в форме хлорида алюминия. Это повышает извлечение алюминия в раствор.



А)



Б)

Рис. 3. Результаты XRD анализа (слева) и фазового состава образцов А) исходная зола (немагнитная фракция); Б) огарок. 1 – анортит; 2 – геленит; 3 – волластонит

Таблица 2

Рациональный состав огарка

Соединения	Al	Si	Fe	Ca	O	Cl	Прочие	Итого:
Анортит $CaAl_2Si_2O_8$	1,04	1,08		0,77	2,46			5,34
Геленит $Ca_2Al(SiAl)O_7$	5,05	2,63		7,51	10,49			25,68
Волластонит $CaSiO_3$		8,44		12,05	9,64			30,13
Гематит Fe_2O_3			0,49		0,15			0,64
$CaCl_2$				10,41		20,65		31,06
Прочие							7,15	7,15
Всего:	6,09	12,15	0,49	30,74	22,74	20,65	23,22	100,00

Для практических целей принципиальным представляется организация процесса обжига золы с $CaCl_2$ в условиях перемешивания шихты, например в трубчатой вращающейся печи. Это увеличит контакт частиц золы с хлоридом кальция и создаст благоприятные условия для полного протекания реакций разрушения муллита и образования легкорастворимых соединений алюминия – анортита и геленита.

Наиболее значимым параметром, влияющим на степень разрушения муллита, является расход $CaCl_2$. Математическая обработка результатов экспериментальных опытов позволила установить зависимость степени разрушения муллита (ξ) от расхода $CaCl_2$ и температуры. В результате обработки построено уравнение множественной корреляции, которое имеет вид

$$\xi = 40{,}1 \times CaCl_2 + 0{,}06 \times T - 50{,}09,\ r = 0{,}97. \quad (*)$$

Высокий коэффициент корреляции $r = 0{,}97$ уравнения (*) указывает на сильную связь между степенью разрушения муллита и расходом $CaCl_2$ и температурой. При этом, как видно из уравнения, влияние расхода $CaCl_2$ на степень разрушения муллита более значимо.

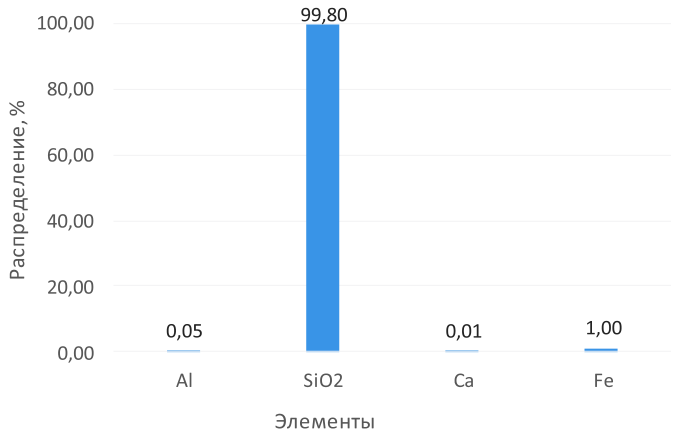
Формы нахождения металлов в продуктах выщелачивания

Продуктами процесса выщелачивания огарка являются маточный раствор, концентрированный хлоридом алюминия, и твердый осадок кремнезема. В процессе выщелачивания алюминий, железо, цветные и редкоземельные металлы переходят в раствор в виде хлоридов. Выход кремнезема в виде твердого осадка зависит от содержания кремнезема в исходной золе.

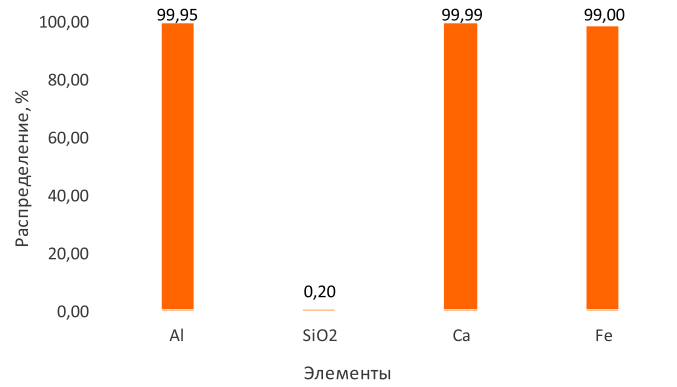
В условиях оптимального режима ведения укрупненно-лабораторного опыта по выщелачиванию огарка, выход кремнезема составил ~6 % от веса исходного огарка. Содержание кремнезема, перешедшего в маточный раствор, минимально – 0,14 *г/л*.

На рис. 4 показано распределение Al, SiO_2, Ca и Fe между твердым осадком кремнезема и маточным раствором выщелачивания, рассчитанное по результатам материального баланса укрупненно-лабораторного выщелачивания огарка в оптимальных условиях.

Распределение цветных и редкоземельных металлов между продуктами выщелачивания показано на рис. 5.

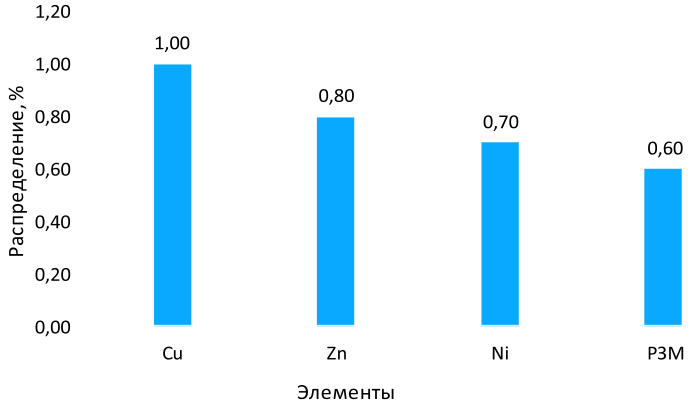


А)



Б)

Рис. 4. Распределение Al, SiO_2, Ca и Fe между осадком кремнезема и маточным раствором выщелачивания: А) твердый осадок кремнезема; Б) маточный раствор



А)

Б)

Рис. 5. Распределение Cu, Zn, Ni и РЗМ между осадком кремнезема и маточным раствором выщелачивания: А) твердый осадок кремнезема; Б) маточный раствор

Заключение

1. Изучены формы нахождения Al, SiO_2, Ca, Fe, цветных и редкоземельных металлов в огарке и продуктах выщелачивания. Определено количественное соотношение анортита и геленита в огарке. Установлено, что ~80 % алюминия от общего его количества в золе при обжиге переходит в геленит, а оставшаяся его часть присутствует в форме анортита.

2. Получены новые данные по распределению металлов между твердым осадком кремнезема и маточным раствором. Установлено, что более 99 % цветных металлов и РЗМ переходят в раствор в форме хлоридов.

Исследования проводились в рамках грантового финансирования Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан на 2021–2023 годы по приоритетному направлению «Рациональное использование природных ресурсов, в том числе водных ресурсов, геологии, переработки, новых материалов и технологий, безопасных изделий и конструкций» проекта № AP09259637 «Разработка высокоэффективной безотходной технологии для утилизации золы от сжигания угля с получением товарных продуктов».

Список литературы

1. Roth E., Macala Megan K., Lin Ronghong, Bank T., Thompson R., Howard B., Soong Y., Granite E. Distributions and Extraction of Rare Earth Elements from Coal and Coal By-Products. In World of Coal Ash Conference. Lexington, KY, USA. 2017. P. 9–11.

2. Kolkera A., Scott C., Hower C.J., Vazquez A.J., Lopano L.C., Dai S. Distribution of rare earth elements in coal combustionfly ash, determinedby SHRIMP-RG ion microprobe. International Journal of Coal Geology. 2017. Vol. 184. P. 1–10.

3. Akhmedyanov A.U., Kirgizbaeva K.Zh., Turekhanova G.I. Recycling of waste (ash and slag) of industrial enterprises. Techical Science. Mining engineering. 2018. Vol. 10. P. 1–3.

4. Roth E., Bank T., Lin R., Macala M., Howard B., Walsh A., Thompson R., Granite E., Soong Y. Distributions and Extraction of Rare Earth Elements from Coal and Coal By-Products. 2017 World of Coal Ash Conference in Lexington. 2017. May 9–11.

5. Dwivedi A. and Jain M.K. Fly ash – waste management and overview: A Review. Recent Research in Science and Technology. 2014. Vol. 6 (1). P. 30–35.

6. Patil S.V., Suryakant C. Nawle, Sunil J. Kulkarni. Industrial Applications of Fly ash: A Review. International Journal of Science, Engineering and Technology Research (IJSETR). 2013. Vol. 2. Is. 9. P. 1659–1663.

7. Черкасова Т.Г., Васильева Е.В., Тихомирова А.В., Бобровникова А.А., Неведров А.В. Угольные отходы как сырье для получения редких и рассеянных элементов // Вестник Кузбасского государственного технического университета. 2016. № 6. С. 185–189.

8. Пашкова Г.Л., Сайкова С.В., Кузьмина В.И., Пантелеева М.В., Кокорина А.Н., Линок Е.В. Золы природных углей – нетрадиционный сырьевой источник редких элементов // Journal of Siberian Federal University. Engineering & Technologies. 2012. № 5. С. 520–530.

9. Досмухамедов Н.К., Каплан В.А., Даруеш Г.С. Инновационная технология комплексной переработки золы от сжигания угля // Уголь. 2020. № 1. С. 58–63.

10. Досмухамедов Н.К., Даруеш Г.С., Жолдасбай Е.Е. Особенности поведения компонентов золы в условиях хлорирующего обжига // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2020. № 2. С. 91–98.

11. Kaplan V., Dosmukhamedov N., Zholdasbay E., Daruesh G., Argyn A. Alumina and Silica Produced by Chlorination of Power Plant Fly Ash Treatment. JOM. 2020. Vol. 72 (10). P. 3348–3357.

УДК 664.727

НАУЧНЫЕ И ТЕХНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ТЕХНОЛОГИЙ ПРОИЗВОДСТВА БЕЛКОВО-УГЛЕВОДНОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ

Мотовилов К.Я., Волончук С.К., Науменко И.В., Резепин А.И.

Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологии РАН Сибирский научно-исследовательский и технологический институт переработки сельскохозяйственной продукции, Краснообск, e-mail: volonchuk2015@yandex.ru

Цель работы – создание инновационных технологий получения кормовой добавки с использованием растительного и животного сырья. Статья обобщает научные и технические аспекты, являющиеся основой при разработке технологий производства белково-углеводной кормовой добавки, фрагменты которых отражены в ранее опубликованных авторами работах. В связи с этим в статье приведены (использованы) методы теоретических и экспериментальных исследований и результаты анализа данных, полученных авторами в 2018–2020 гг., отражающих основные этапы процесса создания технологии производства кормовой добавки для кормления сельскохозяйственных животных. Анализ научных источников показал, что для создания полноценной кормовой добавки целесообразно использовать в качестве сырья зерно пшеницы, молочную сыворотку и пшеничные отруби. Приводятся данные по составу физиологически ценных пищевых веществ компонентов кормовой добавки, влияющих на продуктивный потенциал крупного рогатого скота. В целях повышения доступности и усвояемости физиологически ценных пищевых веществ компонентов кормовой добавки они подвергаются конверсии путем физическо-химических воздействий, виды которых приводятся в статье. На основании анализа данных разработана технологическая схема производства белково-углеводной кормовой добавки, в которой приведена последовательность операций получения кормовой добавки: очистка, деструкция зерна пшеницы инфракрасной обработкой, ферментативный гидролиз его в среде молочной (подсырной) сыворотки с получением патоки, содержащей сахара в количестве 20,8 ± 0,2 %, обогащение ее белками и клетчаткой пшеничных отрубей, инфракрасная сушка до влажности 9 ± 2 %. Кормовая добавка, при сушке с плотностью потока ИК излучения 17,5 кВт/м^2, содержит сахаров – 30 ± 0,5 %, белка – 18,0 ± 0,4 %, клетчатки – 7,0 ± 0,2 %. Процесс сушки описывается регрессионной зависимостью содержания сахаров в кормовой добавке от исходной влажности сырой кормовой добавки и плотности потока ИК-излучения. Важным аспектом научного подхода при разработке технологии является использование принципов системы ХАССП на всех её этапах. Это обеспечивает качество и безопасность кормовой добавки. Приводятся результаты исследования микробиологической загрязненности добавки. Значения источников порчи, плесеней и дрожжей, не превышают допустимые нормы.

Ключевые слова: зерно, сыворотка, отруби, патока, ИК-излучение, ферментативный гидролиз, технология, кормовая добавка, качество

SCIENTIFIC AND TECHNICAL ASPECTS OF PRODUCTION TECHNOLOGIES OF PROTEIN-CARBOHYDRATE FEED ADDITIVES

Motovilov K.Ya., Volonchuk S.K., Naumenko I.V., Rezepin A.I.

Siberian Federal Research Center for Agrobiotechnology, Russian Academy of Sciences Siberian Research and Technological Institute for Processing Agricultural Products, Krasnoobsk, e-mail: volonchuk2015@yandex.ru

The purpose of the work is to create innovative technologies for obtaining a feed additive using plant and animal raw materials. The article summarizes the scientific and technical aspects that are the basis for the development of technologies for the production of a protein-carbohydrate feed additive, fragments of which are reflected in the works published by the authors earlier. In this regard, the article presents (uses) the methods of theoretical and experimental studies and the results of the analysis of data obtained by the authors in the period 2018-20, reflecting the main stages of the process of creating a technology for the production of a feed additive for feeding farm animals. Analysis of scientific sources has shown that to create a full-fledged feed additive, it is advisable to use wheat grain, whey and wheat bran as raw materials. The data on the composition of physiologically valuable nutrients of feed additive components that affect the productive potential of cattle are presented. In order to increase the availability and assimilation of physiologically valuable nutrients of the components of the feed additive, they are converted by physical and chemical effects, the types of which are given in the article. Based on the analysis of the data, a technological scheme for the production of a protein-carbohydrate feed additive was developed, which shows the sequence of operations for obtaining a feed additive: cleaning, destruction of wheat grain by infrared treatment, its enzymatic hydrolysis in a milk (cheese) whey medium to obtain molasses containing sugar in an amount of 20 , 8 ± 0.2 %, enrichment with proteins and fiber of wheat bran, infrared drying to a moisture content of 9 ± 2 %. The feed additive, when dried with a flux density of IR radiation of 17.5 kW / m^2, contains sugars – 30 ± 0.5 %, protein – 18.0 ± 0.4 %, fiber – 7.0 ± 0.2 %. The drying process is described by the regression dependence of the sugar content in the feed additive on the initial moisture content of the raw feed additive and the IR radiation flux density. An important aspect of the scientific approach in the development of technology is the use of the principles of the HACCP system at all its stages. This ensures the quality and safety of the feed additive. The results of the study of microbiological contamination of the additive are presented. The values of sources of spoilage, mold and yeast, do not exceed the permissible limits.

Keywords: grain, whey, bran, molasses, IR radiation, enzymatic hydrolysis, technology, feed additive, quality

В публикациях последних лет обращается внимание на несбалансированность компонентов в рационах крупного рогатого скота (КРС), в частности недостаток легкоперевариваемых углеводов (ЛПУ). В качестве источников углеводов в рационах животных в России принято использовать сахарную свеклу, мелассу, побочный продукт ее переработки, и различные патоки [1–5].

Следует отметить, что производство сахарной свеклы является трудоемким и дорогостоящим процессом. Хранят сахарную свеклу при низких температурах в зимний период. При оттепелях и к марту содержание сахара снижается в два раза по отношению к окончанию её уборки в осенний период. Кроме того, в Западной Сибири её выращивают в Алтайском крае, и перевозка на дальние расстояния к фермам крупного рогатого скота значительно удорожает конечный продукт.

Из источников [1, 3] известно, что при добавлении в корм животных большого количества мелассы нужно учитывать, что она содержит щелочные соли органических кислот, вызывающих раздражение пищеварительного тракта и ацидоз животных. Кроме того, практически все виды мелассы имеют превышение содержания по нитратам. Более 10 лет назад, при ПДК 1500 мг/кг, фактическое содержание в корме было до 9000 мг/кг. Возможно, этот показатель связан с высокими дозами внесения азотных удобрений [5]. Так как меласса является побочным продуктом переработки сахарной свеклы, то её транспортировка на дальние расстояния, как и у свеклы, удорожает конечный продукт.

В последние годы исследования ученых направлены на разработку различных кормовых паток из зерновых культур, являющихся источником легкоперевариваемых углеводов (ЛПУ) [1, 4, 6–8]. Это объясняется тем, что недостаток (ЛПУ) в рационах крупного рогатого скота отрицательно сказывается на надоях молока и приросте массы. Зерновые культуры в больших количествах выращиваются по всей стране, хранение их не представляет проблем. Некоторые крупные животноводческие хозяйства имеют собственные поля для выращивания зерновых культур, т.е. транспортные затраты сведены к минимуму. Недостатком кормовой патоки является необходимость скармливать ее сразу после изготовления, либо хранить при температурах 4–6 °С, так как она служит питательной средой для развития микроорганизмов, в частности плесеней и грибов, которые делают патоку небезопасной. Это ведет к увеличению расходов на производство молока и всей цепочки молочных продуктов.

Из опубликованных по результатам наших исследований работ [8, 9] известно, что в патоке из зернового сырья, получаемой по разработанной в СибНИТИП технологии, содержание сахаров составляло 17,0 ± 2 %. В ней мало белка и отсутствует клетчатка, необходимая животному для жизнедеятельности микроорганизмов, участвующих в пищеварительном процессе.

Для повышения питательной ценности патоки можно использовать молочную сыворотку при производстве патоки и дополнить её белками и клетчаткой, используя пшеничные отруби [8–10]. При этом патока насыщается физиологически ценными пищевыми веществами.

Молочная сыворотка является отходом переработки молока. Известно, что она содержит 94 % воды, 0,3 % белка, 3–5 % жира и имеет кислотность 5,5 pH единиц [11], При этом нужно учитывать, что сыворотка хранится не более двух суток при температуре 6 °С [7].

Пшеничные отруби – побочный продукт мукомольной промышленности, содержащий физиологически ценные пищевые вещества: белки – 15 %, углеводы – 16 %, клетчатку – 43,6 %. Они в незначительных количествах используются в рационах кормления животных.

Кормовая добавка в виде смеси патоки на основе молочной сыворотки и пшеничных отрубей может скармливаться сразу после получения, либо высушиваться для длительного хранения [10]. Важным аспектом научного обеспечения при разработке технологии производства кормовой добавки является обязательность использования принципов системы ХАССП [12]. Это является гарантом её качества и безопасности.

Исходя из изложенного, была поставлена цель обобщить опубликованные ранее результаты исследований, дополнив их новыми данными, в научные и технические аспекты создания технологии получения сухой кормовой добавки для кормления крупного рогатого скота, представив её в виде технологической схемы процесса получения кормовой добавки.

Материалы и методы исследования

Методы исследования предполагали на первом этапе изучение научной литературы, относящейся к рассматриваемой проблеме, и оценку различных способов её решения.

На основании данных, полученных на первом этапе, осуществили подбор материалов (сырья). Для разработки кормовой

добавки были использованы: зерно пшеницы сорта Новосибирская 31, 4-го класса (ГОСТ 52554-2006. Пшеница. Технические условия. Москва. Стандартинформ, 2006. Поправки ИУС № 3 2011 г. 12 с.), сыворотка молочная подсырная несоленая по ГОСТ 34352-2017. Сыворотка молочная – сырье. Технические условия. Москва. Стандартинформ, 2018. 7 с., являющаяся отходом производства сыра на ООО «Фабрика Фаворит» в Новосибирской области, отруби пшеничные по ГОСТ 7169-2017 Отруби пшеничные. Технические условия. Москва. Стандартинформ, 2018. 6 с, являющиеся отходом производства муки на Новосибирском мелькомбинате № 1.

Зерно очищали от примесей, кондиционировали, обрабатывали инфракрасным излучением с целью его деструкции. Степень деструкции определяли по ГОСТ 29177-91 Зерно. Методы определения состояния (степени деструкции) крахмала. Москва. ИПК Издательство стандартов, 2004. Дата актуализации 01.01.2021. 7 с.

Для получения навесок зерна использовали весы SJ-6200CE.

Затраты электроэнергии определяли счетчиком СОЭ-5250-11ш, соответствующим требованиям ТР ТС 020/2011 «Электромагнитная совместимость технических средств», подраздел 7.5 ГОСТ 31819.21-2012 «Аппаратура для измерения электрической энергии переменного тока Частные требования. Часть 21. Статические счетчики активной энергии классов точности 1 и 2».

Влажность зерна при кондиционировании, кормовой добавки сырой и сушеной определяли по ГОСТ 13586.5-2015 Зерно. Метод определения влажности. Москва. Стандартинформ, 2019. 19 с.

Общий сахар в патоке и кормовой добавке определяли по ГОСТ 26176-2019 Корма, комбикорма. Методы определения растворимых и легкогидролизуемых углеводов. Москва. Стандартинформ, 2019. 16 с.

Содержание белковой фракции определяли на анализаторе Инфралюм ФТ-12.

Определение количества дрожжевых и плесневых грибов проводили согласно ГОСТ 10444.12-2013 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов. Москва. Стандартинформ, 2014,17с. С поправкой, опубликованной в ИУС № 7, 2016 год.

ИК-обработанное зерно смешивали с молочной сывороткой в соотношении 1:5 в баке установки роторно-импульсного типа МАГ.

Смешивали пшеничные отруби и патоку до влажности 40% (патока –1,0 кг / отруби – 0,65 кг), 50% (патока – 1,0 кг / отруби – 0,5 кг), 60% (патока – 1,0 кг / отруби – 0,39 кг).

Для определения статистически оптимальных параметров сушки, по плану полного двухфакторного эксперимента, сырую кормовую добавку сушили инфракрасным излучением при плотностях потока ИК 15,0; 17,5; 20,0 кВт/м^2 , которые были установлены в наших предыдущих исследованиях [9, 10].

На основании результатов экспериментов разрабатывалась технологическая схема производства белково-углеводной кормовой добавки. Были изучены её безопасность и качество в соответствии с требованиями системы ХАССП.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате исследования литературных источников установлено, что использование мелассы сахарной свеклы в качестве добавки к кормам нежелательно в связи с отрицательными последствиями для пищеварительной системы животного [1, 3, 5]. Более полезным является использование паток из зерна пшеницы, ржи [1, 4, 6, 7]. Установлено также, что питательную ценность кормовой патоки можно увеличить за счет физиологически ценных пищевых веществ, заменив воду сывороткой молочной и добавив в патоку пшеничные отруби, получая белково-углеводную добавку [8–10]. Количественный состав физиологически ценных пищевых веществ рецептурных компонентов добавки представлен в табл. 1 [8–10].

Таблица 1

Количество физиологически ценных пищевых веществ рецептурных компонентов

Перечень пищевых веществ (БАВ)	Количество пищевых веществ, мас.%		
	Зерно (ИК) пшеницы	Сыворотка молочная	Отруби пшеничные
Углеводы (сахара)	66	3,5	16,0
Белок	13,9	0,8	15,5
Клетчатка	11,3	0	43,6
Итого	91,2	4,3	75,1

Результатами наших предыдущих исследований установлено [9, 10], что при обработке зерна ИК-излучением визуально наблюдалось изменение объемов частей зерна. По данным Д.С. Кочанова это объясняется тем, что поглощение влагой энергии ведет к быстрому нагреву зерна, испарению влаги и повышению давления внутри зерновки, что приводит к образованию внутренних напряжений вследствие неравномерности линейного расширения разных частей зерновки из-за её сложного строения и изменения плотности потока ИК-излучения по глубине. Процесс внутренней десорбции влаги приводит к образованию капиллярно-пористой структуры зерновки. ИК-облучение зерна вызывает значительное (до 98%) расщепление крахмала до сахаров, на 3–5% увеличивается количество щелочерастворимых белков, степень декстринизации крахмала при 150 °С составляет 56,4% при времени облучения 45 с и 54,6% при времени – 60 с [13, 14]. В наших исследованиях степень деструкции 47,457 мг/г сухого вещества крахмала установлена при плотности потока ИК-излучения 23 кВт/м^2 и продолжительности обработки 70 ± 5 с. По аналогии с данными, приведенными в [15], образующиеся декстрины из крахмала имеют свободные ковалентные связи, к которым легко присоединяются молекулы ферментов, что способствует ускорению и снижению энергозатрат при ферментативном гидролизе.

Ферментативным гидролизом зерна в среде молочной сыворотки была получена патока, содержащая 20,8 ± 0,2% сахаров. В результате смешивания патоки с пшеничными отрубями получена сырая кормовая добавка, содержащая физиологически ценные пищевые вещества: сахара, белки и клетчатку. Варианты сырой кормовой добавки сушили инфракрасным излучением до влажности 9 ± 1%. Статистической обработкой результатов сушки установлена достоверная на уровне 0,05 зависимость содержания сахаров в кормовой добавке от её влажности (W,%) и плотности потока ИК-излучения (Е, кВт/м^2), с областью максимальных значений для сахаров – 30 ± 0,4% при плотности потока ИК 17,5 кВт/м^2. Содержание белка при этом составило 18 ± 0,4%, клетчатки 7 ± 0,2%. Содержание сахаров в кормовой добавке от исходной влажности и плотности потока ИК излучения выражается через регрессионное уравнение:

$$\text{Сахара, \%} = -267{,}6224 + 3{,}8963\ W +$$

$$+ 22{,}5119\ E - 0{,}0414 W^2 - 0{,}6875\ E^2 + 0{,}0262\ WE.$$

Анализируя регрессионное уравнение, можно заключить, что факторы плотность потока, влажность и их парное действие оказывают положительное влияние на содержание сахаров, о чем свидетельствует знак «+» перед линейными коэффициентами этих членов уравнения. Уравнение регрессии достоверно. Расчетный уровень доверительной значимости (p = 0,023) значения критерия Фишера F = 3,97 (Fф > Fт). Величина коэффициента регрессии (R 0,865) свидетельствует о тесной связи между плотностью потока ИК-излучения и влажностью кормовой добавки, образованной смесью патоки и отрубей [10].

Установлено, что максимальное содержание сахаров 30 ± 0,5% в кормовой добавке соответствует смеси с соотношением патока – 1,0 кг / отруби – 0,5 кг при сушке с плотностью потока ИК-излучения 17,5 ± 0,5 кВт/м^2. Изменением соотношения патоки и отрубей можно получать кормовую добавку с нужной влажностью и нужным содержанием сахаров в зависимости от конкретных требований при кормлении КРС. При выборе технологических режимов нужно учитывать, что чем больше доля патоки, тем выше содержание сахаров.

Как показывают наши предыдущие исследования [10], безопасность и качество готовой кормовой добавки гарантируется выполнением требований системы ХАССП [12] на всех этапах технологического процесса.

Важным аспектом в технологии производства кормовой патоки является микробиологическая загрязненность сырья и полуфабрикатов. Микробиологическими исследованиями выявлено при ИК-облучении зерна снижение загрязненности МАФАнМ с 1,8x10^4 до 1,0x10^2, дрожжами порядка 10^2, а плесневые грибы не обнаружены, т.е. можно предполагать получение продукта (патоки) безопасного в отношении указанных микроорганизмов.

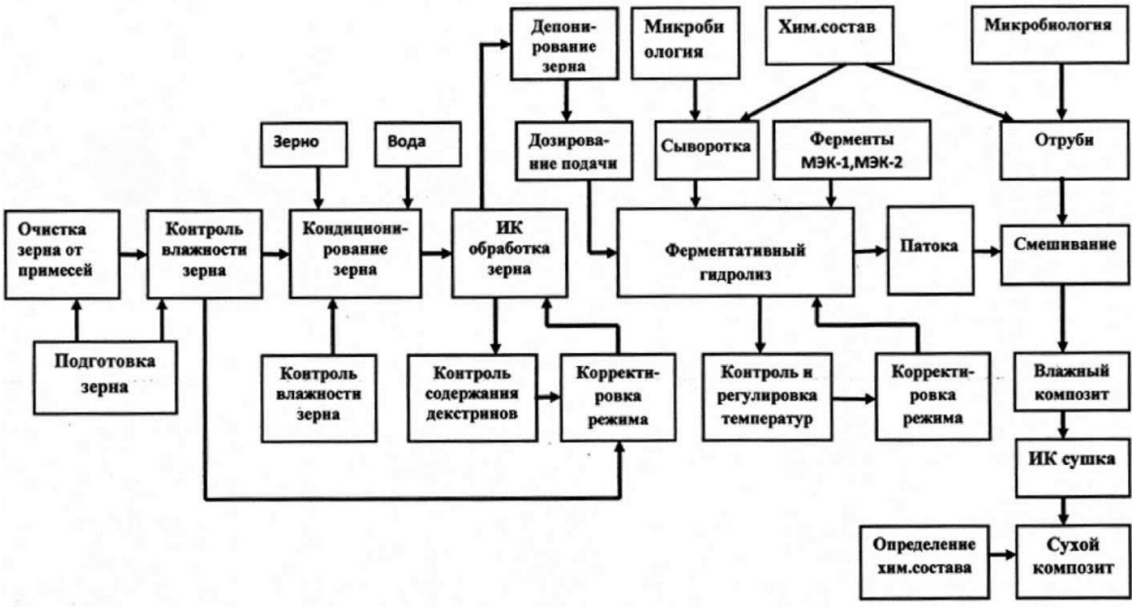
Данные микробиологических исследований кормовой добавки приведены в табл. 2. МАФАнМ, дрожжи в сухой кормовой добавке, полученной ИК-сушкой при плотностях потока ИК излучения Е = 20 кВт/м^2 и 17 кВт/м^2, находятся в пределах допуска по ТР ТС 021/2011. Плесени не растут, БГКП и Salmonella не обнаружены [16]. Это делает её безопасной при хранении и кормлении животных.

Причиной гибели исследованных микроорганизмов, вероятно, является потеря потенциальной энергии цитоплазмы клеток вследствие раздражающего импульсного воздействия ИК-излучения, которое приводит к необратимому сжатию клеток и уменьшению потенциальной энергии, что согласуется с условием равновесия Гиббса для термодинамической системы.

Таблица 2

Данные микробиологических исследований кормовой добавки

Образец	МАФАнМ (КОЕ/г)	БГКП в 0,1	Salmonella в 25 г	Плесени (КОЕ/г)	Дрожжи (КОЕ/г)
Кормовая добавка сушеная при плотности ИК потока Е = 20 кВт/м^2	4,04x10^4	–	Не обнаружено	Нет роста	2,09x10^2
Кормовая добавка сушеная при плотности ИК потока Е = 17 кВт/м^2	6,09x10^4	–	Не обнаружено	Нет роста	4,00x10!



Технологическая схема процесса получения кормовой добавки

На терморезистентность некоторых микромицетов существенно влияют различные факторы, способствующие или активному развитию, или состоянию покоя. Последнее чаще наступает при высушивании и сопровождается резким снижением ферментативной активности, от которой зависит устойчивость к неблагоприятным условиям существования [16].

Результатом обобщения научных и технических аспектов исследований является представленная на рисунке технологическая схема всех этапов процесса получения кормовой добавки.

Заключение

Проведенные исследования показали, что зерновые культуры (пшеница) являются наиболее полезными при разработке кормовых добавок для крупного рогатого скота.

Использование молочной сыворотки и отрубей, являющихся отходами переработки молока и зерна пшеницы, позволяет повысить физиологическую ценность кормовых добавок. В сухой кормовой добавке содержание сахаров составляет 30 ± 0,5 % для смеси с соотношением патока – 1,0 кг / отруби – 0,5 кг.

Установлено, что ИК-облучение плотностью потока 23 кВт/м^2 в течение 70 ± ± 5 с влияет на структуру зерна, а сушка кормовой добавки при плотности потока 17,5 ± 0,5 кВт/м^2 не только снижает влажность до 9 ± 1,0 %, но и численность микроорганизмов порчи кормовой добавки, в которые входят плесневые грибы и дрожжи, делая её безопасной при хранении и кормлении животных.

Качество и безопасность кормовой добавки напрямую зависит от использования в технологии её изготовления принципов системы ХАССП. При этом хранение сушеной кормовой добавки не представляет проблемы.

Результатом обобщения научных и технических аспектов исследований является технологическая схема всех этапов процесса получения кормовой добавки.

Исследования проводились в лабораториях института переработки сельскохозяйственной продукции (СибНИТИП) СФНЦА РАН.

Список литературы

1. Савиных П.А., Казаков В.А., Чернятьев И.А., Герасимова С.П. Применение глюкозосодержащих кормов для получения животноводческой продукции // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства. 2018. № 20. С. 329–333.

2. Казачкова Н.М., Картекенова Р.В. Интенсивность роста и мясная продуктивность бычков при скармливании смесей сахаросодержащих компонентов различными способами // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2013. № 2 (40). С. 129–132.

3. Бабенко Е. Меласса в кормлении животных [Электронный ресурс]. URL: https://soft-agro.com/korovy/melassa-v-kormleniizhivotnix.html (дата обращения: 02.09.2021).

4. Перевозчиков А.В. Влияние зерновой патоки на продуктивные и воспроизводительные показатели скота холмогорской породы: автореф. дис. ... канд. сельхоз. наук. Ижевск, 2020. 19 с.

5. Патока в рационе коров [Электронный ресурс]. URL: https://direct.farm/post|patoka-v-ratsione-korov-/3026 (дата обращения: 02.09.2021).

6. Приловская Е.И. Эффективность использования в кормлении коров кормового продукта «Патока зерновая» // Зоотехническая наука Беларуси. 2019. Т. 54. № 2. С. 46–45.

7. Истомин А.С., Адушинов Д.С., Волков И.В. Корм для сельскохозяйственных животных // Патент РФ № 2480022. Патентообладатель Истомин А.С. 2013. Бюл. № 12.

8. Волончук С.К., Науменко И.В., Резепин А.И. Компьютерное моделирование состава белково-углеводного композита // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2019. № 4. С. 21–24.

9. Волончук С.К., Науменко И.В., Резепин А.И., Веремейчик Л.Ж. Получение сухого белково-углеводного композита кормового назначения с использованием творожной сыворотки // Сборник материалов XVI Междунар. науч.-практич. конф. Пища. Экология. Качество. Барнаул. 2019. Т. 1. С. 166–169.

10. Мотовилов К.Я., Волончук С.К., Науменко И.В., Резепин А.И. Технология производства сухого белково-углеводного композита кормового назначения с использованием вторичного сырья // Достижения науки и техники АПК. 2020. Т. 34. № 4. С. 72–75. DOI: 10.244110235-2451-2020-10415.

11. Родионова К.И. Переработка безбелковой молочной сыворотки // Тезисы доклада на конференции. Волгоград: Изд-во Волгоградский государственный технический университет. 2019. С. 305–306.

12. GMP+B2 Производство кормовых ингредиентов В 2. [Электронный ресурс]. URL: https://www.gmpplus.org/media/h0ph5pph/gmp-b2-ru-20180701.pdf (дата обращения: 02.09.2021).

13. Кочанов Д.С. Научное обеспечение процесса микронизации зерновых культур и разработка технологии производства комбикормов из микронизированного зерна: автореф. дис... канд. техн. наук. Воронеж, 2014. 24 с.

14. Березовикова И.П., Влощинский П.Е. Обоснование режимов микронизации зерна пшеницы для производства цельнозерновых продуктов // Техника и технология пищевых производств. 2011. № 3. С. 5–8.

15. Bychkov A.L, Ryabchikova E.I., Korolev K.G., Lomovsky O.I. Ultrastructural changes of cell walls under intense mechanical treatment of selective plant raw material. Biomass and Bioenergy. 2012. Vol. 47. P. 260–267.

16. Волончук С.К., Чекрыга Г.П., Науменко И.В., Веремейчик Л.Ж. Влияние инфракрасного излучение на безопасность белково-углеводного композита // Ползуновский вестник. 2019. № 2. С. 3–6.

УДК 543.544.5

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ПРОБОПОДГОТОВКИ НЕФТИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХЛОРИД-ИОНОВ МЕТОДОМ ИОННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Полосухина М.А., Калякина О.П., Качин С.В.

ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», Красноярск, e-mail: mariua584@gmail.com

Разработан способ пробоподготовки образцов нефти для ионохроматографического определения хлорид-ионов. Работу выполняли на высокоэффективном жидкостном хроматографе LC-20 Prominence с программным обеспечением LC Solution (Shimadzu, Япония), укомплектованным кондуктометрическим детектором (CDD-10 Avp/10Asp), разделяющей колонкой 120×5 мм КанК-АСт14 мкм (ГЕОХИ РАН, Россия) и подавительной колонкой 200×6 мм СПС-SAC 50 мкм (ООО ПК «Аквилон», Россия). В ходе предварительных экспериментов на модельных растворах найдены оптимальные условия хроматографирования для разделения ряда неорганических анионов: объем вводимой пробы – 100 мм^3; элюент – буферный раствор 1,9 мМ Na_2CO_3 + 2,4 мМ $NaHCO_3$; объемная скорость потока – 1,0 см^3/мин; температура колонки – 33 °С. В найденных условиях достигается удовлетворительное разделение фторид-, хлорид-, нитрат-, сульфат-ионов. При этом сероводород в условиях двухколоночного варианта ионной хроматографии с карбонатно-гидрокарбонатным элюентом не имеет ионных форм и ионохроматографически не проявляется. Сочетание экстракционного извлечения с ионохроматографическим детектированием позволяет селективно определять неорганические хлориды в диапазоне от 0,1 до 50 мг/дм^3. Предел обнаружения хлорид-иона рассчитанный по 3S-критерию, составляет 0,01 мг/дм^3. С использованием метода полного факторного эксперимента оптимизированы основные параметры, определяющие эффективность извлечения хлорид-ионов из органической фазы. Установлено, что оптимальными являются: объемное соотношение нефти и экстрагента 1:10; температура экстрагента – 90 °С; время экстрагирования – 20 мин. Разработанный способ пробоподготовки апробирован в анализе образца нефти с применением метода добавок. Величину добавки хлорид-ионов варьировали в диапазоне от 5 до 20 мг/дм^3. Получены удовлетворительные результаты. Относительная погрешность определений в условиях повторяемости не превышает 4%.

Ключевые слова: нефть, ионная хроматография, пробоподготовка, хлорид-ион

OPTIMIZATION OF OIL SAMPLE PREPARATION CONDITIONS FOR DETERMINATION OF CHLORIDE IONS BY ION CHROMATOGRAPHY METHOD

Polosukhina M.A., Kalyakina O.P., Kachin S.V.

Siberian Federal University, Krasnoyarsk, e-mail: mariua584@gmail.com

A method of sample preparation of oil samples for ionochromatographic determination of chloride ions has been developed. The work was performed on a high-performance LC-20 Prominence liquid chromatograph with LC Solution software (Shimadzu, Japan), equipped with a conductometric detector (CDD-10 Avp/10asp), a 120×5 mm KanK-AST14 microns separating column (GEOHI RAS, Russia) and a 200×6 mm SPS-SAC 50 microns suppression column (Aquilon PC LLC, Russia). During preliminary experiments on model solutions, optimal chromatography conditions were found for the separation of a number of inorganic anions: the volume of the injected sample is 100 mm^3; the eluent is a buffer solution of 1.9 mM Na_2CO_3 + 2.4 mM $NaHCO_3$; the volumetric flow rate is 1.0 cm^3/min; the column temperature is 33 °C. Under the conditions found, satisfactory separation of fluoride, chloride, nitrate, and sulfate ions is achieved. At the same time, hydrogen sulfide under the conditions of a two-column ion chromatography variant with a carbonate-bicarbonate eluent does not have ionic forms and does not manifest ionochromatographically. The combination of extraction extraction with ionochromatographic detection allows the selective determination of inorganic chlorides in the range from 0.1 to 50 mg/dm^3. The detection limit of the chloride ion calculated according to the 3S criterion is 0.01 mg/dm^3. Using the method of full factorial experiment, the main parameters determining the efficiency of chloride ion extraction from the organic phase were optimized. It was established that the optimal are: the volume ratio of oil and extractant is 1:10; the temperature of the extractant is 90 °C; the extraction time is 20 minutes. The developed method of sample preparation has been tested in the analysis of an oil sample using the additive method. The amount of chloride ion addition was varied in the range from 5 to 20 mg/dm^3.Satisfactory results were obtained. The relative error of definitions in the conditions of repeatability does not exceed 4%.

Keywords: oil, ion chromatography, sample preparation, chloride ion

Соли в сырой нефти создают различные проблемы при ее добыче, транспортировке и последующей переработке. Одной из основных проблем является коррозия трубопроводов и нефтеперегонного оборудования. Кроме того, наличие солей оказывает негативное влияние на качество остаточных продуктов: мазутов, масел, гудронов и др. [1–3]. Процессы коррозии в основном связаны с хлорсодержащими соединениями органического и неорганического происхождения, которые при определенных условиях выделяют обладающий высокой коррозионной активностью хлористый водород. В связи с этим аналитический контроль содержания данных соединений в нефти известными методами, равно как и разработка новых эффективных подходов к их

определению, остаются актуальными задачами [4, 5]. Весомый вклад в развитие процессов коррозии вносят неорганические хлориды преимущественно натрия, магния и кальция, попадающие в нефть вместе с пластовой водой. Их содержание может достигать 2–3 г/дм^3 и составлять 0,3–0,4 % по массе [6]. Количественный способ определения неорганических хлоридов в нефти описан в ГОСТ 21534-76 [7]. Данный ГОСТ устанавливает два метода определения хлоридов в нефти: метод А – титрование водного экстракта и метод Б – неводное потенциометрическое титрование нефти при массовой концентрации хлористых солей более 10 мг/дм^3. Используемые методы чувствительны к ряду факторов, в частности присутствию сероводорода. Для удаления последнего водную вытяжку кипятят с добавлением серной кислоты до полного завершения процесса (метод А), а в методе Б дополнительно фиксируют скачок потенциала, соответствующий эквивалентной точке титрования сероводорода. Кроме того, используются весьма токсичные (нитрат ртути) или дорогостоящие (азотнокислое серебро) титранты и органические растворители. Наконец, аналитические возможности методов не обеспечивают количественное определение хлорид-ионов в нефти при их содержаниях менее 10 мг/дм^3.

ГОСТ Р 57033-2016 [8] устанавливает метод определения следовых количеств хлоридов, фторидов и бромидов в жидких нефтепродуктах методом ионной хроматографии с нижними пределами определения 0,1 мг/кг для фторидов и хлоридов и 0,2 мг/кг – для бромидов. Недостатком данного стандарта является достаточно сложная пробоподготовка и определение суммарного содержания хлора в нефти вне зависимости от его форм нахождения. Представляло интерес изучить возможность ионохроматографического определения малых содержаний хлорид-ионов в нефти с более простой пробоподготовкой. Ранее данный метод был успешно использован нами при анализе различных объектов [9–11].

Цель исследования – оптимизация условий пробоподготовки образцов нефти для последующего определения хлорид-ионов методом ионной хроматографии.

Материалы и методы исследования

В работе использовали следующие материалы: образцы нефти; ГСО 7262-96 состава раствора хлорид-ионов, ГСО 7258-96 состава раствора нитрат-ионов, ГСО 7789-2000 состава раствора фторид-ионов, ГСО 7253-96 состава раствора сульфат-ионов (ОАО «Уральский завод химических реактивов», Россия); карбонат, гидрокарбонат натрия (Sigma-Aldrich, США); гексан, х.ч. для хроматографии (АО «ЭКОС-1», Россия); азотная кислота, х.ч. (ООО «Полихим», Россия); деионизованная вода (установка Yonglin, Корея).

Работу выполняли на высокоэффективном жидкостном хроматографе LC-20 Prominencec программным обеспечением LC Solution (Shimadzu, Япония), укомплектованным кондуктометрическим детектором (CDD-10 Avp/10Asp), разделяющей колонкой 120×5 мм КанК-АСт14 мкм (ГЕОХИ РАН, Россия) [12] и подавительной колонкой 200×6 мм СПС-SAC 50 мкм (ООО ПК «Аквилон», Россия). Эксперимент проводили в Центре коллективного пользования СФУ.

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе предварительных экспериментов на модельных растворах найдены оптимальные условия хроматографирования для разделения неорганических анионов (рис. 1): объем вводимой пробы – 100 мм^3; элюент – буферный раствор 1,9 мМ Na_2CO_3 + 2,4 мМ $NaHCO_3$; объемная скорость потока – 1,0 см^3/мин; температура колонки – 33 °С. Как видно из рис. 1, в найденных оптимальных условиях достигается удовлетворительное разделение анионов. Время удерживания хлорид-ионов составляет 6,75 мин. При этом сероводород в условиях двухколоночного варианта ионной хроматографии с карбонатно-гидрокарбонатным элюентом не имеет ионных форм и ионохроматографически не проявляется [13].

Градуировочный график зависимости площадей хроматографических пиков хлорид-иона от его концентрации линеен в диапазоне от 0,1 до 50 мг/дм^3. Предел обнаружения хлорид-иона, рассчитанный по 3S-критерию, составил 0,01 мг/дм^3. При этом достигается хорошая воспроизводимость измерений. Значения коэффициентов вариации площадей хроматографических пиков хлорид-ионов не превышают 0,34 % (табл. 1).

Для определения хлорид-ионов в нефти анализируемую пробу экстрагировали деионизованной водой в диапазоне температур 20–95 °С [7]. Полученные водные экстракты (5 см^3) охлаждали, помещали в делительную воронку вместимостью 50 см^3, добавляли 2,5 см^3 гексана и экстрагировали в течение 10 мин. Водную фазу фильтровали через шприцевой фильтр PTFE 13 (Millipore, Германия) и хроматографировали. Максимальное извлечение хлорид-иона достигается при 80 °С и выше (рис. 2).

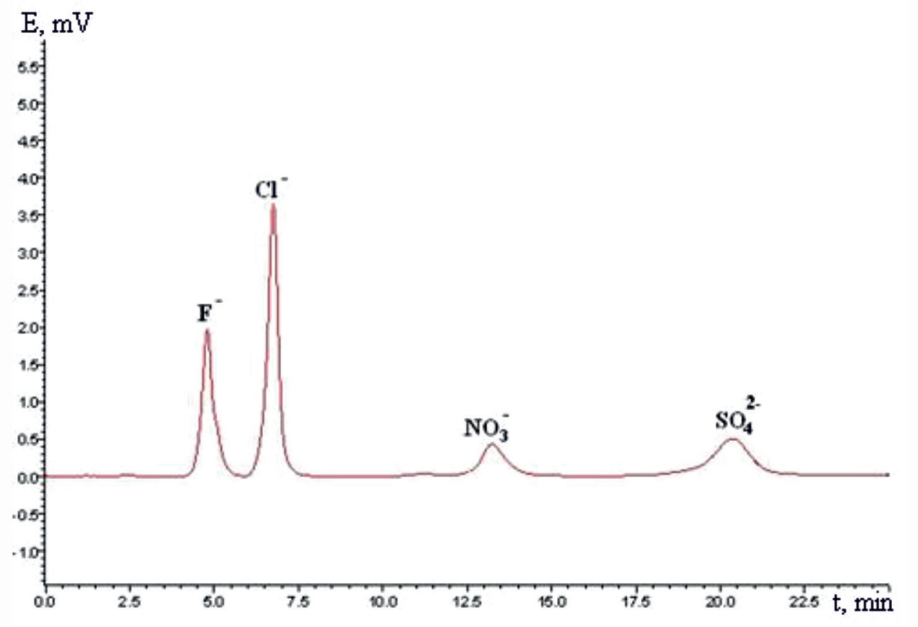


Рис. 1. Хроматограмма модельной смеси анионов: F^- (1,5 мг/ дм³), Cl^- (4,0 мг/дм³), NO_3^- (3,0 мг/ дм³), SO_4^{2-} (3,5 мг/дм³)

Таблица 1

Значения площадей (S) и коэффициентов вариации (W_S) хроматографических пиков хлорид-иона в модельных растворах (n = 3; P = 0,95)

Концентрация хлорид-иона, мг/дм³	Площадь пика (S_i), отн. ед.				W_S, %
	S_1	S_2	S_3	$S_{ср}$	
0,1	675	670	681	675	0,341
0,5	4679	4689	4682	4683	0,049
1	10894	10863	10881	10879	0,037
5	60349	60365	60351	60355	0,005
10	122232	122144	122111	122162	0,001
25	357342	357214	357293	357283	0,002
50	754074	753981	753956	754004	0,001

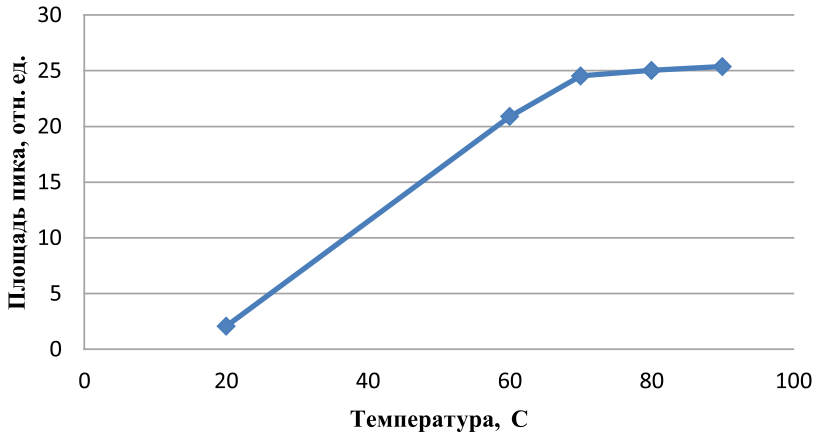


Рис. 2. Зависимость площади хроматографического пика хлорид-иона от температуры экстрагента

Таблица 2

Матрица планирования полного факторного эксперимента 2^3

№ опыта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$
1	-	-	-	8,61	8,60	8,62	8,61
2	+	-	-	8,68	8,69	8,67	8,68
3	-	+	-	8,72	8,73	8,72	8,72
4	+	+	-	8,81	8,81	8,80	8,81
5	-	-	+	8,84	8,83	8,82	8,84
6	+	-	+	8,90	8,91	8,89	8,90
7	-	+	+	8,95	8,96	8,95	8,95
8	+	+	+	9,04	9,04	9,03	9,04

Таблица 3

Результаты определения хлорид-ионов в образце нефти методом добавок (n = 3; P = 0,95)

Номер результата анализа, *i*	Величина добавки, мг/дм^3	Результат анализа пробы без добавки, x_i, мг/ дм^3	Результат анализа пробы с добавкой, x_i', мг/ дм^3	Значение экспериментально найденной величины добавки, $x_{0i} = xi' - x_i$, мг/дм^3	Δ,%
1	5,00	9,04 ± 0,01	14,20 ± 0,25	5,20	4,0
2	10,00	9,04 ± 0,01	18,90 ± 0,30	9,90	1,0
3	20,00	9,04 ± 0,01	28,70 ± 0,14	19,70	1,5

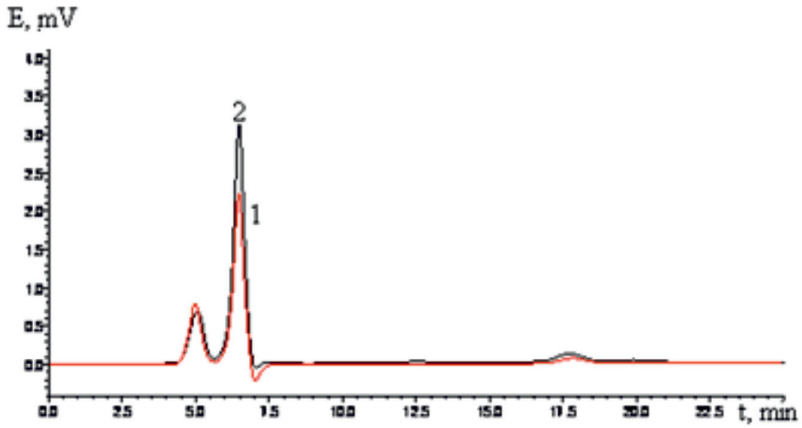


Рис. 3. Хроматограммы экстракта нефти: 1 – без добавки 2 – с добавкой

Для оптимизации условий пробоподготовки использовали метод полного факторного эксперимента [14]. В качестве параметров выбраны (табл. 2):

•x_1 – объемное соотношение нефти и экстрагента (1:5–1:10);

•x_2 – время экстрагирования, мин (10–20 мин);

•x_3 –температура экстрагента, °С (60–90 °С);

•y – концентрация хлорид-ионов, мг/дм^3.

Проведены расчеты коэффициентов регрессии по методу Йетса и известным уравнениям [15]. Сделана оценка значимости коэффициентов регрессии, построена линейная модель и проверена ее адекватность. Итоговое уравнение регрессии выглядит следующим образом:

$$y_u = 8,82 + 0,04_{x_1} + 0,06_{x_2} + 0,011_{x_{12}}.$$

Адекватность уравнения регрессии проверяли по критерию Фишера. На основании приведенных расчетов сделан вывод о неадекватности модели, достижении оптимума и завершении эксперимента при y_{max} = 9,04 мг/дм^3. Таким образом, оптимальные условия ионохроматографического определения хлорид-ионов в нефти достигаются при следующих условиях пробоподготовки: объемное соотношении нефти и экстрагента 1:10, температура экстрагента 90 °С и время экстрагирования 20 мин.

В найденных оптимальных условиях проведен анализ образца нефти с применением метода добавок. Полученные результаты представлены в табл. 3 и на рис. 3.

Как видно из табл. 3, получены удовлетворительные данные ионохроматографического определения хлорид-ионов в экс-

тракте нефти, относительная погрешность определений в условиях повторяемости не превышает 4 %. Также в условиях эксперимента не проявляется мешающее влияние сероводорода (рис. 3).

Заключение

Методом полного факторного эксперимента оптимизированы условия пробоподготовки образцов нефти для последующего определения хлорид-ионов методом ионной хроматографии: объемное соотношение нефти и экстрагента (1:10); температура экстрагента (90 °С); время экстрагирования (20 мин). В найденных оптимальных условиях достигается определение 0,1–50 мг/дм^3 хлорид-иона в присутствии сопутствующих компонентов, в частности сероводорода. Полученные удовлетворительные результаты анализа образца нефти позволяют рекомендовать разработанный способ пробоподготовки для его применения в аналитической практике.

Список литературы

1. Бакиров А.А., Бакиров Э.А., Габриэлянц Г.А., Керимов В.Ю., Мстиславская Л.П. Теоретические основы прогнозирования нефтегазоносности недр. М.: ООО «Издательский дом Недра», 2012. 412 с.

2. Heidersbach R. Metallurgy and corrosion control in oil and gas production. Hoboken: JohnWiley&Sons, Inc., 2018. 368 p.

3. Groysman A. Corrosion problems and solutions in oil refining and petrochemical industry. Springer International Publishing. Switzerland, 2017. 356 p.

4. Новиков Е.А. Определение хлора в нефтепродуктах. Обзор аналитических методов // Мир нефтепродуктов. 2019. № 7. С. 39–50.

5. Носов В.В., Пресняков А.Ю., Бадамшин А.Г., Невядовский Е.Ю., Волошин А.И., Докичев В.А. Хлорорганические соединения в нефти: проблемы и решения // Нефтяное хозяйство. 2021. № 4. С. 110–113.

6. Эрих В.Н., Расина М.Г., Рудин М.Г. Химия и технология нефти и газа. Л.: Химия, 1985. 408 с.

7. ГОСТ 21534-76. Нефть. Методы определения содержания хлористых солей. М.: Комитет стандартизации и метрологии СССР, 1976. 19 с.

8. ГОСТ Р 57033- 2016. Нефтепродукты жидкие. Определение следовых количеств хлоридов, фторидов и бромидов методом ионной хроматографии со сжиганием образца (CIC). М.: Стандартинформ, 2016. 19 с.

9. Аркадьева М.Р., Юсенко Е.В., Калякина О.П., Качин С.В. Определение анионов в минеральных природных питьевых водах методом ионной хроматографии с комбинированным детектированием // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2014. Т. 80. № 8. С. 18–21.

10. Юсенко Е.В., Полынцева Е.А., Качин С.В. Определение анионов в моче человека методом ионной хроматографии со спектрофотометрическим и кондуктометрическим детектированием // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2013. Т. 79. № 9. С. 17–20.

11. Калякина О.П., Качин С.В., Азнаева М.Р., Галынская И.С., Полынцева Е.А. Ионохроматографическое определение газов и паров, обладающих кислотными свойствами, в атмосферном воздухе г. Красноярска // Журнал Сибирского федерального университета. Химия. 2013. Т. 6. № 1. С. 85–93.

12. Долгоносов А.М. Сорбенты КанК для ионных хроматографов // Наука – производству. 2001. № 1. С. 52–56.

13. Долгоносов А.М., Рудаков О.Б., Суровцев И.С., Прудковский А.Г. Колоночная аналитическая хроматография как объект математического моделирования. Воронеж, 2013. 400 с.

14. Сауткин С.Н. Планирование эксперимента в химии и химической технологии. Л.: Химия, 1975. 135 с.

15. Сафронова Н.А., Лагуткина Е.В., Белов В.М., Иванкова В.П. Результирующий полный факторный эксперимент при хлорметилировании гидролизного лигнина // Химия растительного сырья. 1997. № 3. С. 59–60.

УДК 574.917:615.281

ЦЕЛЕНАПРАВЛЕННЫЙ СИНТЕЗ, КОМПЬЮТЕРНЫЙ ПРОГНОЗ И РЕЗУЛЬТАТЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО СКРИНИНГА ПРОИЗВОДНЫХ ГАММА-ПИПЕРИДОНОВ

Сарымзакова Р.К., Ибрагимова А.А., Сарымзакова Б.К., Хаперская Л.С., Медетбекова Ж.М.

Кыргызский национальный университет им. Ж. Баласагына, Бишкек, e-mail: Sarimzakova@mail.ru

В настоящее время при лечении многих заболеваний часто применяют лекарственные средства, содержащие в своем составе пиперидиновый цикл. Такого рода гетероциклические соединения широко распространены в природе, они содержатся во многих антибактериальных препаратах в качестве биологически активного компонента. Многие производные пиперидин-4-она используются в сельском хозяйстве и в медицине. Быстрорастущий перечень лекарств, обладающих анальгезирующей активностью, включает в себя разнообразные органические и неорганические соединения, клинические испытания которых ограничиваются из-за высокой токсичности и невысокой растворимости. Поиск и создание новых анальгетических средств и их антагонистов приводит к проведению интенсивных исследований в этой области. Работа посвящена синтезу новых соединений пиперидинового ряда: оксимы, фенилгидразоны, гидразоны, семикарбазоны и тиосемикарбазоны. Установлены их физико-химические характеристики. При определении состава и структуры новых соединений были использованы методы: элементного анализа, ИК-спектроскопии, тонкослойной хроматографии. Почти любое химическое соединение или композиция соединений обладает тем или иным видом биологической активности. Это обстоятельство обуславливает огромное ранообразие физико-химических компонентов живой материи, способных вступать во взаимодействие с самыми различными по своим свойствам и структуре веществами. Накопленные знания позволяют наиболее точно предсказать все более широкий спектр биологической активности по химической структуре вещества. Компьютерная система PASS позволяет на основании структуры соединения количественно оценить вероятность наличия у него различных видов биологической активности. Расчет компьютерного прогноза показывает, что вероятность противоопухолевой активности выражена у всех синтезированных соединений, но наиболее высока у 2,6-ди-(п-N,Nдиметиламинофенил)-3-изопропилпиперидин-4-она.

Ключевые слова: 2,6-ди-(п-N,N-диметиламинофенил)-3-изопропил-пиперидин-4-он, оксим, гидразон, фенилгидразон, семикарбазон, тиосемикарбазон, гетероциклы, синтез, компьютерный прогноз, биологический скрининг

TARGETED SYNTHESIS, COMPUTER PREDICTION AND RESULTS OF BIOLOGICAL SCREENING OF GAMMA-PIPERIDONE DERIVATIVES

Sarymzakova R.K., Ibragimova A.A., Sarymzakova B.K., Khaperskaya L.S., Medetbekova Zh.M.

Kyrgyz National University named after J. Balasagyn, Bishkek, e-mail: Sarimzakova@mail.ru

At the present time in treatment of numerous deceases drugs containing the piperidine cycle are frequently used. This kind of heterocyclic compounds are widely spread in nature, they are found in many antibacterial drugs, analgesics as a biologically active components. Many piperidine-4-one derivatives are used in agriculture and medicine. The rapidly growing list of drugs with analgesic activity includes a variety of organic and inorganic compounds, clinical trials of which are limited due to high toxicity and low solubility. The search and design of new analgesics and their antagonists leads to intensification research in this area. The article is devoted to the synthesis of new compounds of the piperidine derivatives: oximes, phenylhydrazones, hydrazones, semicarbazones and thiosemicarbazones. Their physicochemical characteristics have been determined by the following methods: elemental analysis, IR spectroscopy, thin-layer chromatography. Almost any chemical compound or composition of compounds has some kind of biological activity. This circumstance determines a huge variety of physicochemical components of living matter, capable of interacting with substances that are very different in their properties and structure. The accumulated knowledge makes it possible to most accurately predict an ever wider spectrum of biological activity based on the chemical structure of a substance. The PASS system allows, based on the structure of a compound, to quantify probability of the presence of various types of biological activity in it. According to the PASS program calculations, the probability of antitumor activity is expressed in all synthesized compounds, but the highest in 2,6-di-(p-N, N-dimethylaminophenyl)-3-isopropylpiperidin-4-one.

Keywords: 2,6-di-(p-N, Ndimethylaminophenyl)-3-isopropyl-piperidin-4-one, oxime, hydrazone, phenyl hydrazone, semicarbazone, thiosemicarbazone, heterocycles, synthesis, computer prediction, biological screening

Гетероциклические соединения широко распространены в природе. Они являются структурной основой витаминов, алкалоидов, входят в состав природных пигментов. Особое значение приобретают гетероциклические соединения с пяти- и шестичленными циклами, содержащими в своей структуре атомы азота. Пиперидиновый цикл входит в качестве структурного элемента в природные и синтетические физиологически активные соединения [1–3]. Было установлено, что наиболее интересными являются производные оксосоединения пиперидина гамма-пиперидоны, которые

приобрели большое значение для синтеза многих анальгетиков [4, 5]. К соединениям пиперидинового ряда относится промедол, который обладает сильнейшими анальгетическими свойствами. Также к соединениям пиперидинового ряда относятся многие соединения, обладающие нейролептическими свойствами, проявляющие успокаивающее действие с уменьшением реакции на внешнее возбуждение. Наиболее распространенным нейролептиком является галоперидол, он обладает антипсихотической активностью, подавляет бред и галлюцинации, оказывает лечебный эффект при шизофренических психозах, депрессиях и других тяжелых психических заболеваниях.

Цель исследования – синтез новых гетероциклических производных пиперидинового ряда и изучение реакций нуклеофильного присоединения по карбонильной группе; прогнозировании биологической активности и их сравнительный анализ.

И всё же, несмотря на всестороннее исследование соединений пиридинового ряда, оксимированные производные пиперидиновых кетонов практически малоизучены. Обзор литературы по синтезу гетероциклических оксимов показал [5, 6], что оксимы алифатических, ароматических и тетрациклических кетонов проявляют антибактериальную, противовоспалительную, анальгетическую, противогрибковую [7, 8], гербицидную и ростовую активность [9, 10].

В связи с этим интересно было синтезировать 2,6-ди-(п-N,N диметиламинофенил)-3-изопропил-пиперидин-4-он (I) и на его основе оксим, гидразон, семикарбазон, фенилгидразон, тиосемикарбазон; подобрать оптимальные условия синтеза, выделить и идентифицировать синтезированные соединения, провести биологический скрининг.

Материалы и методы исследования

Были разработаны методы синтеза физиологически активных соединений: синтез 2,6-ди-(п-N,Nдиметиламинофенил)-3-изопропилпиперидин-4-она и его производные: оксим, гидразон, фенилгидразон, семикарбазон , тиосемикарбазон.

ИК-спектры синтезированных соединений были получены на спектрофотометре ИКС-29, Specord M-80 с программой «SoftSpectra». Температура плавления измерялась на микронагревательном столике «Baetuis». Контроль за ходом реакций и индивидуальностью веществ осуществляли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на незакрепленном слое окиси алюминия. Пятна проявляли парами йода во влажной камере [5, 6].

Доэкспериментальный прогноз биологической активности проводили с использованием компьютерной системы PASS [11].

Синтез 2,6-ди-(п-N,N-диметиламинофенил)-3-изопропил-пиперидин-4-она

Реакцию совместной конденсации проводили в круглодонной трехгорлой колбе объемом 500 мл, снабженной термометром, мешалкой и обратным холодильником. В колбу помещают 42 мл 4-метилпентанона-2 (плотность = 0,8032 г/см^3), 100 г пара – N,N-диметиламинобензальдегида, 50 г ацетата аммония в 200 мл этилового спирта. Смесь нагревают при температуре 40–45 °С в течение 36 ч, периодически перемешивая. По окончании реакции реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры и оставляют на сутки для кристаллизации, предварительно отделив нижний слой. Выпавшие кристаллы отфильтровывают под вакуумом на воронке Бюхнера, промывают изопропиловым спиртом и высушивают. Перекристаллизовывают из ацетона [6]. Выход: 75 г (58 %) кристаллического вещества желтого цвета 2,6-ди-(п-N,N-диметиламинофенил)-3-изопропилпиперидин-4-он. $T._{пл.}$, = 28–30 °С, R_f = 0,60 в системе гексан: диоксан (20:1). ИК – спектр, см$^{-1}$: 1673,9 (C = O), 3385,9 (N-H), 1364,3 *i*(C_3H_7). Вычислено, %: N = 11,08. Найдено, %: N = 10,80.

Синтез оксима 2,6-ди-(п-N,N-диметиламинофенил)-3-изопропил-пиперидин-4-она

В трехгорлой круглодонной колбе, снабженной термометром, мешалкой и обратным холодильником, в 10 мл абсолютизированного этилового спирта растворяют 0,38 г 2,6-ди-(п-N,N-диметиламинофенил)-3-изопропилпиперидин-4-она и 0,07 г солянокислого гидроксиламина (в отношении 1:1). Реакционную смесь кипятят в течение 8 ч, периодически перемешивая. Ход реакции и индивидуальность вещества контролируют методом тонкослойной хроматографии на незакрепленном слое окиси алюминия в системе гексан : диоксан (20:1). По окончании реакции реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры и оставляют на трое суток для кристаллизации. Выпавшие кристаллы отфильтровывают, промывают этиловым спиртом и высушивают. Перекристаллизовывают из ацетона [6]. Выход 0,3 г (84 %) белого цвета кристаллического оксима 2,6-ди-(п-N,N-диметиламинофенил)-3-изопропилпиперидин-4-она. $T._{пл.}$, = 80–82 °С, R_f = 0,48 в системе гексан: диоксан (20:1).

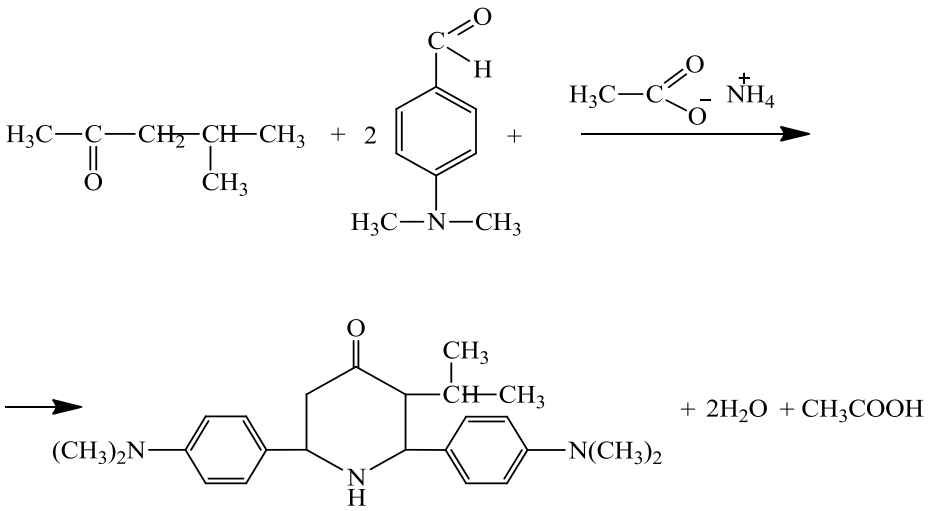
ИК-спектр, см$^{-1}$: 3242,0 (N-OH), 3390,0 (N-H), 1620,1 (C=N).

При получении других производных исходного кетона: гидразона, фенилгидразона, семикарбазона и тиосемикарбазона – использовались аналогичные методики и схемы синтеза как для получения оксима.

Результаты исследования и их обсуждение

Литературные данные показывают, что пиперидоны, имеющие ароматические заместители в C_2 и C_6 положениях, обладают биологической активностью. В частности, оксимы и тиосемикарбазоны 2,6-диарилпиперидин-4-онов проявляют анальгезирующую, местную анестезирующую и противогрибковую активность [7, с. 4]. Например, в статье [8, с. 145] указывается, что хлоренилфенилметиловый эфир оксима 1,3,5 триметил-2,6-дифенилпиперидин-4-она проявляет антибактериальную активность против *Bacillus subtilis*. Следует отметить, что его активность оказалась выше известного применяемого на практике лекарства стрептомицин.

Схема получения исходного кетона 2,6-ди-(п-N,N-диметиламинофенил)-3-изопропилпиперидин-4-она представлена ниже.



Для доказательства структуры полученного соединения был снят ИК-спектр поглощения. В области 1673,9 $см^{-1}$ наблюдаются характеристические полосы поглощения для колебаний связи (C=O), в области 3385,9 $см^{-1}$ характерные для (N-H) связи и в области 1364,3 $см^{-1}$ характерные для колебаний $i(C_3H_7)$ изопропильного радикала.

Реакция получения оксима проводилась в среде абсолютизированного этилового спирта при температуре его кипения. Ход синтеза и чистота выделенного оксима контролировались методом тонкослойной хроматографии на незакрепленном слое окиси алюминия в системе гексан – диоксан (20:1), для оксима 2,6-ди-(п-N,N-диметиламинофенил-3-изопропилпиперидин-4-она, $R_f = 0,48$.

На ИК-спектре оксима наблюдаются полосы поглощения в области 3390,0 $см^{-1}$ характерные для колебаний (N-H) связи, в области 1350,0 $см^{-1}$ характерные для колебаний $i(C_3H_7)$ связи, в области 1620,1 $см^{-1}$ характерные для (C=N) связи и в области 3242,0 $см^{-1}$ характерные для колебаний (N-OH) связи. Появление характеристических полос поглощения некоторых функциональных групп (N-OH, N – N, C = S) однозначно свидетельствует о прохождении реакции по карбонильной группе исходного кетона.

Были синтезированы производные исходного кетона: оксим, гидразон, фенилгидразон, семикарбазон и тиосемикарбазон. Некоторые физико-химические характеристики 2,6-ди-(п-N,N-диметиламино-фенил-3-изопропилпиперидин-4-она и его производных приведены в табл. 1.

В настоящее время поиск новых лекарственных средств преимущественно основан на скрининге *in vitro* огромных массивов химических веществ по отношению к сравнительно небольшому числу желаемых видов биологической активности. Свойства выявленных таким путем основных структурных фрагментов в последующем формируются путем синтеза и исследования их аналогов. При этом многие виды биологической активности, присущие изучаемым веществам, остаются неизученными в связи с ограниченными возможностями для их экспериментального тестирования, что требует тщательного отбора потенциально перспективных соединений.

Таблица 1

Некоторые физико-химические характеристики полученных веществ

	Название соединения	Т пл. °С	Rf	Выход%	N% (выч./найд)	Характеристические частоты ИК-спектров поглощения ($см^{-1}$)			
						C = O	N- OH	N – N	C = S
1. 2. 1 3. 1	2,6-ди-(п-N,Nдиметиламинофенил)-3-изопропилпиперидин-4-он	28–30	0,60	58,0	11,08/ 10,80	1 11673,9	–	–	–
4. 5. 2	Оксим2,6-ди-(п-N,Nдиметиламинофенил)-3-изопропилпиперидин-4-она	80–82	0,48	84,0	– /–	–	3242,0	–	–
6. 7. 3	Гидразон2,6-ди-(п-N,Nдиметиламинофенил)-3-изопропилпиперидин-4-она	95–96	0,42	48,0	– / –	–	–	1560,8	–
8. 9. 4	Фенилгидразон 2,6-ди-(п-N,Nдиметиламинофенил) -3-изопропилпиперидин-4-она	90,0	0,55	74,0	– / –	–	–	1557,2	–
	Семикарбозон 2,6-ди-(п-N,Nдиметиламинофенил) -3-изопропилпиперидин-4-она	68,0	0,26	43,0	– /–			1554,9	
	Тиосемикарбазон 2,6-ди-(п-N,Nдиметиламинофе-нил)-3-изопропилпипери-дин-4-она	74,0	0,38	39,0	– /–			1558,1	1368,3

При этом значительная часть новых соединений выходит из поля зрения фармакологов и попадает в разряд неперспективных для медицины и ветеринарии. Как правило, к ним затем и не возвращаются. Поэтому актуальным представляется поиск путей целенаправленной химической модификации молекулярной структуры известных лекарственных препаратов и новых физиологически активных соединений, обладающих ценными фармакологическими свойствами. Несмотря на то, что производные гамма-пиперидонов хорошо изучены, остается много вопросов, связанных с их структурными особенностями и физико-химическими характеристиками, которые могут играть существенную роль в их активности. Структурные особенности молекул можно оценить с помощью расчетных методов. Такой отбор может быть осуществлен на основе компьютерного прогноза биологической активности химических соединений. В последнее время и физико-химические свойства становится возможным оценить непосредственно из структурной формулы соединения с помощью так называемых дескрипторов. Сравнение структурных и физико-химических параметров синтезированных веществ, полученных из расчетов, может помочь оценить вклад той или иной физико-химической характеристики в проявляемую активность и глубже понять механизм действия препарата.

Компьютерная система PASS [11] позволяет на основании структуры соединения количественно оценить вероятность наличия у него активности (Pa) и неактивности (Pi) различных видов биологической активности. С помощью данной программы мы оценили активность соединений известных как производные 2,6-ди-(п-N,N-диметиламино-фенил)-3-изопропилпиперидин-4-она: оксим, гидразон, фенилгидразон, семикарбазон и тиосемикарбазон.

Для указанных соединений с помощью программы PASS оценены разные виды биологической активности (табл. 2). В табл. 2 приведен перечень синтезированных производных исходного кетона, представляющих интерес для здравоохранения как новые биологически активные соединения. Как можно видеть, программа PASS показывает замечательную прогностическую способность. С изменением радикалов при атоме азота гетероциклического соединения, такие виды активности, как антивирусная, антимикобактериальная, антигельминтная, антитуберкулезная, увеличиваются при общем снижении токсичности. Средняя точность прогноза составляет около 94% [11]. Химическая структура пред-

ставлена в PASS в виде оригинальных MNA дескрипторов (Mulilevel Neighbourhoods of Atoms). MNA дескрипторы имеют универсальный характер и с достаточно хорошей точностью описывают разнообразные зависимости «химическая структура – реакционная способность – биологические свойства».

В работе был выполнен расчет компьютерного прогноза биологической активности 2,6-ди-(п-N,N-диметиламинофенил)-3-изопропилпиперидин-4-он и пяти синтезированных на его основе веществ с помощью программы PASS, согласно выше описанной методике.

При поиске базовых структур лекарственных веществ, обладающих существенной новизной, из массива исследуемых веществ следует отбирать те, для которых выполняется условие $0,5 < P_a < 0,7$. В этом случае при подтверждении прогноза экспериментально высока вероятность новизны анализируемой структуры [11]. В настоящей работе нами была проведена оценка биологического скрининга исходного кетона и его производных с использованием компьютерной системы PASS.

При анализе результатов было установлено, что у всех синтезированных нами соединений с высокой степенью вероятности ($P_a = 0,485–0,713$) выражена противоопухолевая активность. По данным прогноза ($P_a = 0,703–0,299$) они обладают противоэкземной активностью и ноотропным действием ($P_a = 0,693–0,316$) , могут быть эффективными при плохой свертываемости крови, кислородном голодании организма, кровообращении и при лечении лейкемии.

Для оксима 2,6-ди-(п-N,N-диметиламинофенил)-3-изопропил-пиперидин-4-она $P_a > 0,605$ была спрогнозирована антицеребральная активность, показана возможность использования для лечения детского церебрального паралича (ДЦП). Для семикарбазона 2,6-ди-(п-N,-диметиламинофенил)-3-изопропилпипериди-4-она $P_a > 0,66$ была спрогнозирована вазопротекторная активность. Показана возможность использования для лечения геморроя и варикоза. Также для тиосемикарбазона 2,6-ди- (п-N,N-диметиламинофенил)-3-изопропилпиперидин-4-она $P_a > 0,578$ была спрогнозирована противовирусная активность, установлена возможность использования его для лечения гриппа. Данные расчета компьютерного прогнозирования биологической активности приведены в табл. 2.

Таблица 2

Расчет компьютерного прогноза биологической активности синтезированных соединений в процентах

№	Название соединения	Противоэкземная	Рак печени (CYP2H)	Лечение феномена Рейно	Ноотропная	Противовирусная (грипп А)	Аналептическая	Дерматологическая	Вазопротекторная
1	2,6-ди-(п- N,Nдиметиламинофенил)-3-изопропилпиперидин-4-он	70,3	71,3	31,9	69,3	25,9	53,2	40,8	51,1
2	Оксим 2,6-ди-(п-N,Nдиметиламинофенил)-3-изопропилпиперидин-4-она	32,5	60,9	29,1	31,6	0	30,6	19,3	0
3	Гидразон2,6-ди-(п-N,Nдиметиламинофенил)-3-изопропилпиперидин-4-она	29,9	60,7	29,3	0	0	36,1	0	26,4
4	Фенилгидразон 2,6-ди-(п-N,Nдиметиламинофенил)-3-изопропилпиперидин-4-она	0	60,5	28,9	0	0	34,0	0	27,2
5	Семикарбазон 2,6-ди-(п-N,Nдиметиламинофенил)-3-изопропилпиперидин-4-она	00 0	51,0	28,9	0	20,8	0	0	66,0
6	Тиосемикарбазон 2,6-ди-(п-N,Nдиметиламинофе-нил)-3-изопропилпипери-дин-4-она	0	48,5	24,9	34,3	57,8	0	0	26,2

Заключение

1. Были разработаны методы синтеза физиологически активных соединений: синтез 2,6-ди-(п-N,Nдиметиламинофенил)-3-изопропилпиперидин-4-она и производные на его основе: оксим, гидразон, фенилгидразон, семикарбазон, тиосемикарбазон. Определены некоторые физико-химические характеристики синтезированных соединений.

2. Индивидуальность и структура синтезированных веществ подтверждены элементным анализом, методом ИК-спектроскопии, методом ТСХ.

3. По программе PASS вероятность противоопухолевой активности выражена у почти у всех синтезированных соединений, но наиболее высока у 2,6-ди-(п-N,N-диметиламинофенил)-3-изопропилпиперидин-4-она. У семикарбазона наиболее высока вероятность вазопротекторной активности.

Список литературы

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Издание 16. М.: ООО РИА «Новая волна», 2020. 1236 с.

2. Солдатенков А.Т., Колядина Н.М., Щендрик И.В. Основы органической химии лекарственных веществ. М.: Мир, 2013. 153 с.

3. Наметкин С.С. Гетероциклические соединения. М.: Наука, 1981. С. 511–513.

4. Ajay Kumar K. Piperidone analogs: syntez and their diverse biological applications / Pavithra G., Renuka N., Vasanth Kumar G. International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences (IRJPAS). 2012. V. 2(6). P. 145–154.

5. Хаперская Л.С., Медетбекова Ж.М., Ибрагимова А.А., Сарымзакова Р.К. N-замещенные гамма-пиперидоны. Патент КР. № 2066 от 31 мая 2018 г. Заявка № 20170127.1 от 17.11.2017. Патентообладатель: КНУ им. Ж. Баласагына.

6. Хаперская Л.С., Медетбекова Ж.М., Сарымзакова Р.К. Синтез новых биологически активных соединений на основе N-замещенных гамма-пиперидонов // Успехи современного естествознания. 2016. № 9. С. 38–42.

7. Ахметова Г.С. Синтез и фармакологические свойства 1-(2-фенилэтил)-1-(3-этоксипропил)-4-кетоксимпиперидинов и их бензойных эфиров // Абай атындагы КазУПУ дын Хабаршысы, «Жаратылыстану – география гылымдары». 2011. № 3 сериясы (25). С. 3–5.

8. Ахметова Г.С. Синтез и фармакологическая активность некоторых сложных эфиров кетоксима N-замещенного пиперидин-4-она // Известия Томского политехнического университета. 2010. Т. 317. № 3. С. 144–147.

9. Geng Q., Zhang H., Cao W., Chen Y. A facile synthesis of N-aryl substituted piperidones. Chinese Journal of Chemistry. 2011; 27(10): P. 995.

10. Бортникова К.А., Асылханов Ж.С., Курманкулов Н.Б., Ержанов К.Б. Синтез и стереохимия оксимов 2,6-бис(диметоксифенил)-3-пропилпиперидин-4-онов // Вестник Национальной академии Республики Казахстан. 2011. № 2. С. 16–18.

11. Filimonov D.A., Lagunin A.A., Gloriozova T.A., Poroikov V.V. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. Chem. Heterocycl. 2014. Vol. 50 (3). P. 444–457.