

**МАТЕРИАЛЫ МЕЖДУНАРОДНОЙ ЗАОЧНОЙ  
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ**

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ  
БИОЛОГИИ, ХИМИИ, ФИЗИКИ**

Новосибирск, 2011 г.

УДК 50  
ББК 20  
А 43

**А 43 «Актуальные проблемы биологии, химии, физики»:**  
материалы международной заочной научно-практической  
конференции. (27 декабря 2011 г.) — Новосибирск: Изд. «ЭКОР-  
книга», 2011. — 182 с.

ISBN 978-5-8561-8247-6

Сборник трудов международной заочной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии, химии, физики» отражает результаты научных исследований, проведенных представителями различных школ и направлений современных естественных наук.

Данное издание будет полезно аспирантам, студентам, исследователям и всем интересующимся актуальным состоянием и тенденциями развития естественных наук.

ББК 20

ISBN 978-5-8561-8247-6

## **Оглавление**

<b>Секция 1. Биология</b>	<b>8</b>
<b>1.1. Биологические аспекты сельского хозяйства</b>	<b>8</b>
СВЯЗЬ ПРОДУКТИВНОСТИ ЗЕРНОВОГО АГРОЦЕНОЗА С УСЛОВИЯМИ УВЛАЖНЕНИЯ В ЛЕСОСТЕПИ ПРИОБЬЯ Сорокина Ольга Леонидовна	8
<b>1.2. Биохимия</b>	<b>13</b>
СОДЕРЖАНИЕ СКВАЛЕНА В МАСЛАХ СЕМЯН СЕМЕЙСТВА AMARANTHUS L., ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ Поскачина Елена Рудольфовна Журавская Алла Николаевна Воронов Иван Васильевич	13
ГЕТЕРОЛОГИЧНАЯ ЭКСПРЕССИЯ, ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА НСТ-А3 АКТИНИИ HETERACTIS CRISPA Ткачева Екатерина Сергеевна	17
<b>1.3. Ботаника</b>	<b>23</b>
АФИЛЛОФОРОИДНЫЕ ГРИБЫ В ЗЕЛЕННЫХ НАСАЖДЕНИЯХ ГОРОДОВ ЮЖНОГО ПРИУРАЛЬЯ Сафонов Максим Анатольевич Маленкова Анна Сергеевна Дремова Наталья Александровна	23
<b>1.4. Зоология</b>	<b>29</b>
ЭКОЛОГО-ФАУНИСТИЧЕСКИЕ КОМПЛЕКСЫ ГРЫЗУНОВ И НАСЕКОМОЯДНЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ РЕСПУБЛИКИ МОРДОВИЯ Андрейчев Алексей Владимирович Кузнецов Вячеслав Александрович	29

АНАЛИЗ АЛЬФА И БЕТА-РАЗНООБРАЗИЯ ДНЕВНЫХ БУЛОВОУСЫХ ЧЕШУЕКРЫЛЫХ (LEPIDOPTERA, DIURNA) БРЯНСКОЙ ОБЛАСТИ Голощапова Светлана Сергеевна Исаева Евгения Станиславовна Ротарь Елена Юрьевна Прокофьев Игорь Леонидович	34
К ИЗУЧЕНИЮ ПРЕСНОВОДНОЙ МАЛАКОФАУНЫ РЕКИ БОЛЬШАЯ ГОЛУБАЯ Карпенко Роман Владимирович	40
<b>1.5. Медицинская биология</b>	<b>44</b>
КАЧЕСТВО ПРОДОВОЛЬСТВЕННОГО СЫРЬЯ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И ЗДОРОВЬЕ НАСЕЛЕНИЯ ИВАНОВСКОЙ ОБЛАСТИ Яковенко Наталия Владимировна Туркина Елена Петровна	44
<b>1.6. Молекулярная биология</b>	<b>49</b>
ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ИНГИБИТОРА СЕРИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ КУНИТЦ-ТИПА INHVJ ИЗ ТРОПИЧЕСКОЙ АКТИНИИ HETERACTIS CRISPA Чаусова Виктория Евгеньевна Табакмахер Валентин Михайлович	49
<b>1.7. Физиология</b>	<b>54</b>
ВЛИЯНИЕ НИТРАТОВ НА РАЗВИТИЕ НЕВРОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ, ВЫЗВАННЫХ ИШЕМИЕЙ МОЗГА, У КРЫС Кузенков Виктор Сергеевич Крушинский Алексей Леонидович Реутов Валентин Палледиевич Курилина Татьяна Андреевна	54
ВЛИЯНИЕ ГЕПАРИНА НА АНТИНОЦИЦЕПТИВНЫЙ ЭФФЕКТ ФЕНТАНИЛА Пурсанов Кузьма Анастасович Хомутов Александр Евгеньевич Перепелюк Зоя Владимировна	61

ХАРАКТЕР ВЛИЯНИЯ СЕЛЕКТИВНОГО СТИМУЛИРОВАНИЯ АКТИВНОСТИ МОНОАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ МОЗГА НА ПСИХОДИНАМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПОВЕДЕНИЯ САМЦОВ БЕЛЫХ КРЫС Фролова Галина Александровна	67
СЕЛЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ГЕПАРИНА НА ТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЯДОВ ЖИВОТНЫХ, ОТНОсяЩИХСЯ К РАЗНЫМ ТАКСОНОМИЧЕСКИМ ГРУППАМ Хомутов Александр Евгеньевич Малиновская Светлана Львовна Звонкова Мария Борисовна Малиновский Дмитрий Сергеевич	77
ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО СОСТАВА КРОВИ ПРИ СОЧЕТАНОМ ДЕЙСТВИИ ПЧЕЛИНОГО ЯДА И ГИПЕРТЕРМИИ У КРЫС ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ Шабалин Михаил Александрович	86
<b>Секция 2. Химия</b>	<b>90</b>
<b>2.1. Аналитическая химия</b>	<b>90</b>
ПРЯМОЙ АНАЛИЗ БОЛЬШИХ НАВЕСОК ПРОБ РУД И ПРОДУКТОВ ИХ ПЕРЕРАБОТКИ НА ДВУХСТРУЙНОМ ДУГОВОМ ПЛАЗМАТРОНЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ ВРЕМЕННОЙ РАЗВЕРТКИ СПЕКТРОВ Тагильцева Елена Александровна	90
<b>2.2. Биоорганическая химия</b>	<b>98</b>
НОВЫЕ АКТИНОПОРИНЫ ИЗ АКТИНИИ NETERACTIS CRISPA: ВЫДЕЛЕНИЕ И ЧАСТИЧНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА Меньшов Александр Сергеевич Ткачева Екатерина Сергеевна Монастырная Маргарита Михайловна	98

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ПРОСТРАНСТВЕННЫЕ МОДЕЛИ МОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА ПОЛИПЕПТИДА HCGS-2.23 ИЗ АКТИНИИ HETERACTIS CRISPA С ТРИПСИНОМ Табакмахер Валентин Михайлович Гладких Ирина Николаевна Монастырная Маргарита Михайловна Зелепуга Елена Александровна	107
<b>2.3. Неорганическая химия</b>	115
ПРОЕКЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ ЛИКВИДУСА СИСТЕМЫ NO-AS-SE Ильяслы Теймур Мамед оглы Садыгов Фуад Микаил оглы Насибова Лала Элгиз гызы	115
<b>2.4. Органическая химия</b>	120
НЕОБЫЧНАЯ СТАБИЛЬНОСТЬ 1-АЦИЛАМИНО-4,5- БИС(ДИМЕТИЛАМИНО)-8-НИТРОНАФТАЛИНОВ К ДЕЗАЦИЛИРОВАНИЮ Власенко Марина Павловна Озерянский Валерий Анатольевич	120
СИНТЕЗ, СТРОЕНИЕ И PH-ИНДИКАТОРНЫЕ СВОЙСТВА ЭТИЛОВОГО ЭФИРА 3-(4-НИТРОФЕНИЛ)ГИДРАЗОНО-2,4- ДИОКСОПЕНТАНОВОЙ КИСЛОТЫ Левенец Татьяна Васильевна Листопад Екатерина Васильевна Козьминых Владислав Олегович	126
<b>2.5. Физическая химия</b>	130
СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИСПЫТАНИЯ АРМАТУРНЫХ И ЛЕГИРОВАННЫХ СТАЛЕЙ В СРЕДЕ, МОДЕЛИРУЮЩЕЙ ПОРОВУЮ ЖИДКОСТЬ БЕТОНА Матвиенко Мария Александровна Ковалюк Елена Николаевна Макарова Александра Михайловна	130
НАУКА О ВЕЩЕСТВЕ: ВЫХОД ИЗ КРИЗИСА Потапов Алексей Алексеевич	136

<b>2.6. Химия элементоорганических соединений</b>	149
РАСЧЕТ ЭНЕРГИИ ИОНИЗАЦИИ В-ДИКЕТОНАТНЫХ КОМПЛЕКСОВ В МНОГОДЕТЕРМИНАНТНОМ ПРИБЛИЖЕНИИ Иванов Юрий Васильевич	149
<b>Секция 3. Физика</b>	<b>154</b>
<b>3.1. Лазерная физика</b>	154
ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА УЛЬТРАДИСПЕРСНЫЕ МИНЕРАЛЬНЫЕ СРЕДЫ Капустина Галина Григорьевна Леоненко Нина Александровна	154
<b>3.2. Оптика</b>	161
МОДЕЛИРОВАНИЕ ВОЛНОВОДНЫХ СТРУКТУР МЕТОДОМ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ЛУЧА FFT-BPM Андросик Андрей Борисович Воробьев Сергей Андреевич Мировицкая Светлана Дмитриевна	161
<b>3.3. Радиофизика</b>	170
ОСОБЕННОСТИ ИНТЕРФЕРЕНЦИИ ВОЛН В НЕВЗАИМНЫХ СРЕДАХ Глущенко Александр Григорьевич Глущенко Евгения Павловна Иванов Виктор Васильевич Устинова Елена Сергеевна	170
<b>3.4. Физика конденсированного состояния</b>	175
ТРЕХМЕРНАЯ МОДЕЛЬ АДСОРБЦИОННО- ДИФУЗИОННЫХ ПРОЦЕССОВ С ТРЕМЯ СОСТОЯНИЯМИ Астапков Алексей Александрович Рудь Николай Алексеевич Морозов Павел Геннадьевич	175

## СЕКЦИЯ 1.

### БИОЛОГИЯ

#### 1.1. БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА

##### СВЯЗЬ ПРОДУКТИВНОСТИ ЗЕРНОВОГО АГРОЦЕНОЗА С УСЛОВИЯМИ УВЛАЖНЕНИЯ В ЛЕСОСТЕПИ ПРИОБЬЯ

*Сорокина Ольга Леонидовна*

*научный сотрудник ГНУ СибНИИЗиХ Россельхозакадемии,  
п. Краснообск*

*E-mail: [olgasorokina57@mail.ru](mailto:olgasorokina57@mail.ru)*

В Западной Сибири одним из важнейших лимитирующих факторов плодородия является влагообеспеченность культур в течение вегетационного периода. По климатическим условиям лесостепная зона считается территорией неустойчивого увлажнения. Урожайность культур в значительной степени зависит от осадков, выпадающих в данном году, от их распределения в течение периода вегетации, а также от формирующихся запасов продуктивной влаги в почве. Данные по использованию весенних почвенных влагозапасов имеются в работах Н. В. Бова, А. М. Алпатьева, Е. С. Улановой [2, с. 70-71] и др. Применения удобрений также уменьшает негативное влияние условий засушливости [4, с. 27].

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния условий влагообеспеченности на элементы продуктивности яровой пшеницы.

Исследования проводились в Центральном-лесостепном Приобском агроландшафтном районе (в соответствии с районированием СибНИИЗХим [1, с. 67-80]) в условиях полевого опыта на черноземе выщелоченном среднемощном среднегумусном среднесуглинистом. Посев бессменной мягкой яровой пшеницы сорта Новосибирская 29 проведен в трехкратной повторности в двух вариантах: 1 — контроль (без удобрений), 2 — с внесением комплекса удобрений  $N_{120}P_{60}$ . Расчет дозы удобрений проведен на планируемый урожай 40 ц/га. На обоих вариантах



проводили комплекс защиты от вредителей и болезней. Изучаемые параметры: динамика роста биомассы, структура урожая. Условия увлажнения оценивались по формуле Г. Т. Селянинова для зерновых культур, основанной на учете суммы осадков и температур выше 10° за период май-июль [2, с. 127], и формуле А. М. Алпатьева, учитывающей запасы продуктивной влаги на начало и конец вегетационного периода, сумму осадков и дефицита влажности воздуха за этот же период [2, с. 126].

### Результаты и обсуждение

Годы исследований 2007—2011 по влагообеспеченности зерновых культур можно условно разбить на две группы: 2007, 2009 и 2010 — увлажненные с  $ГТК \geq 1,0$  и 2008 и 2011 — дефицитные с  $ГТК < 1,0$  (табл. 1).

*Таблица 1.*

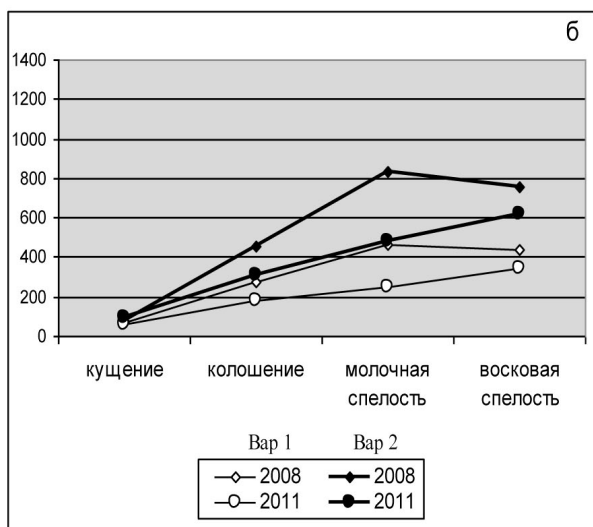
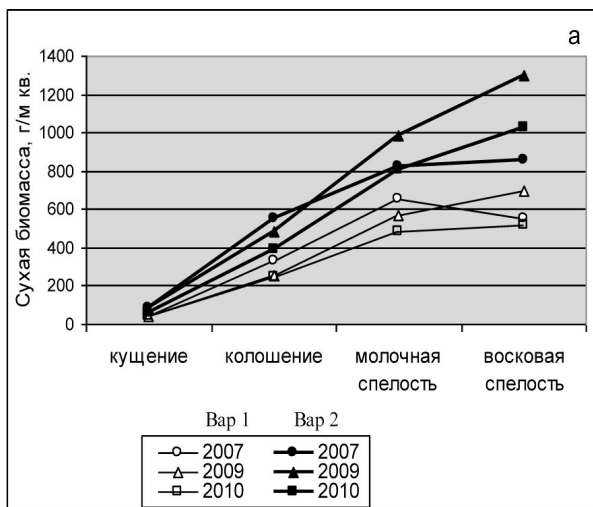
#### Характеристика лет по влагообеспеченности зерновых культур

Год исследования	Сумма температур (май-июль), град.С	Сумма осадков (май-июль), мм	ГТК по Селянинову	Запасы продуктивной влаги, мм		Сумма осадков за вегетацию, мм	Влагообеспеченность по Алпатьеву, % от оптимума
				до вегетации	после вегетации		
2007	1451	208	1,43	122	23	156	96
2009	1245	185	1,49	152	114	184	98
2010	1194	119	1,00	155	27	112	81
2008	1425	114	0,80	132	26	105	65
2011	1271	106	0,84	138	33	122	74

По А. М. Алпатьеву, с учетом запаса продуктивной влаги до посева и её расхода за период вегетации, влагообеспеченность агроценоза пшеницы составила 81-98% от оптимальной в увлажненные годы и 65-74% в дефицитные.

Рост биомассы агроценоза зависит от многих параметров, основными из которых являются ресурсы тепла, влаги и обеспеченность элементами питания. Динамика сухой биомассы на вариантах опыта отражена на рисунке 1. В нормальные по увлажнению годы в варианте без применения удобрений значение сухой биомассы с единицы площади варьировало от 500 до 690 г/м<sup>2</sup>, а в засушливые годы значения биомассы не превышали 450 г/м<sup>2</sup>. В варианте с применением удобрений наблюдалось существенное

накопление сухой биомассы и значительное различие по годам. Максимальные значения во влажные годы превышали  $1000 \text{ г/м}^2$ , а в засушливые годы составили  $600\text{-}750 \text{ г/м}^2$ .



**Рисунок 1.** Динамика накопления сухой биомассы: а) в нормальные по влагообеспеченности годы; б) в засушливые годы.

Коэффициент водопотребления, учитывающий общий расход влаги на единицу сухой биомассы [3, с. 53—54] составил для варианта без удобрений 305-462 м<sup>3</sup>/т в нормальные по влагообеспеченности годы и 547-660 м<sup>3</sup>/т в засушливые годы. Применение удобрений обеспечивает более экономный расход влаги на формирование единицы сухой биомассы агроценоза: коэффициент водопотребления значительно снизился и составил соответственно 165-326 м<sup>3</sup>/т во влажные годы и 348-374 м<sup>3</sup>/т в засушливые.

Элементы структуры урожая отражены в таблице 2. На удобренном варианте наблюдалось более интенсивное кушение растений пшеницы, что отразилось на числе продуктивных стеблей. Озерненность колоса в значительной мере зависит от взаимодействия факторов увлажнения и удобрённости. Снижение этого показателя в засушливые годы характерно в основном для варианта без удобрений.

Показатель массы 1000 зерен специфичен для сорта пшеницы, однако на неудобренном фоне он варьирует от 26,5 до 35,0 г, а на фоне комплекса удобрений значительно выше — от 29,7 до 43,5 г. Интересно отметить, что в засушливом 2011 году снижение озерненности колоса компенсировалось в некоторой степени повышением массы 1000 зерен.

**Таблица 2.**

**Элементы продуктивности агроценоза пшеницы**

Год	Число продуктивных стеблей, шт./м <sup>2</sup>		Озерненность колоса, шт./колос		Масса 1000 зерен, г		Урожай, ц/га	
	Вар 1	Вар 2	Вар 1	Вар 2	Вар 1	Вар 2	Вар 1	Вар 2
2007	442	509	15,5	19,8	33,6	35,7	24,7	38,1
2009	403	500	17,2	21,4	34,5	43,5	24,2	46,4
2010	336	511	17,2	22,7	35,0	43,0	21,9	49,4
2008	429	424	14,3	22,2	26,5	29,7	17,4	29,9
2011	375	421	11,6	17,1	31,9	35,0	14,6	27,0

Комплексный показатель развития агроценоза — урожайность. Без удобрений, только за счет естественного плодородия чернозема выщелоченного, за годы наблюдений урожайность во влажные годы составила около 22-25 ц/га, а в сухие — 14-17 ц/га. При применении комплекса удобрений урожайность значительно возрастает даже в

сухие годы — 27-30 ц/га, а во влажные приближается к 45-50 ц/га, за счет более рационального расходования имеющихся ресурсов влаги. Повышение урожайности за счет применения удобрений в нормальные по влагообеспеченности годы составляет 92—126%, в засушливые годы 72-85%.

Таким образом, условия тепло-влагообеспеченности агроценоза существенно сказываются на его продуктивности. Применение удобрений уменьшает негативное влияние стрессовых погодных условий за счет более рационального использования ресурсов влаги.

### **Список литературы:**

1. Адаптивно-ландшафтные системы земледелия Новосибирской области / РАСХН. Сиб. отд-ние. СибНИИЗХим. — Новосибирск, 2002. — 388 с.
2. Гулинова Н. В. Методы агроклиматической обработки наблюдений. — Л., 1974. — С. 126-129.
3. Кирюшин В. И. Экологические основы земледелия.- М.: Колос, 1996. — 367 с.
4. Черкасов Г. Н. Влияние погодных условий на плодородие почв, урожайность сельскохозяйственных культур и эффективность удобрений в центральном Черноземье /Г. Н. Черкасов, Н. С. Соколов, А. Н. Воронин, С. В. Трапезников// Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. — 2010. — № 5. — С. 25-27.

## 1.2. БИОХИМИЯ

### СОДЕРЖАНИЕ СКВАЛЕНА В МАСЛАХ СЕМЯН СЕМЕЙСТВА *AMARANTHUS L.*, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ

**Поскачина Елена Рудольфовна**

соискатель, Институт биологических проблем криолитозоны  
Сибирского отделения РАН  
E-mail: [poskachinalena@yandex.ru](mailto:poskachinalena@yandex.ru)

**Журавская Алла Николаевна**

д-р биол. наук, профессор, в. н. с., Институт биологических проблем  
криолитозоны Сибирского отделения РАН

**Воронов Иван Васильевич**

канд. биол. наук, н. с., Институт биологических проблем  
криолитозоны Сибирского отделения РАН

Якутия относится к территориям рискованного земледелия с коротким летом, обеднёнными и засолено-защелоченными почвами, с высокой среднегодовой амплитудой колебания температур и влиянием многолетней мерзлоты [1]. Для преодоления недостатка кормовой базы (зелёной массы, сена и силоса) в сельском хозяйстве необходимо введение в культуру растений, богатых высоким содержанием белков, жиров и углеводов, имеющих короткий вегетационный период и высокую продуктивность. Таковыми являются растения семейства *Amaranthus L.*, как культурные, так и дикорастущие. По данным ряда авторов [2] в семенах и вегетативной массе растений этого семейства находятся биологически активные соединения, необходимые для живых организмов. Среди многочисленных представителей сем. *Amaranthaceae*, особый интерес вызывает *A. retroflexus*, обильно произрастающая как сорняк на огородах и полях в Центральной Якутии, у которой химический состав изучен недостаточно.

Наличие в масле семян рода *Amaranthus* сквалена позволяет использовать эти растения в различных областях медицинского, пищевого, косметологического и сельскохозяйственного направлений. Сквален (спинацен; 2,6,10,15,19,23-гексаметилтетракоза-

2,6,10,14,18,22-гексаен) — углеводород тритерпенового ряда природного происхождения. Принадлежит к группе каротиноидов. Сквален является промежуточным соединением в биологическом синтезе стероидов, в том числе холестерина (через ланостерол) и витамина D, участвует в обмене веществ, способствует нормализации процессов тканевого дыхания, обладает ярко выраженным антимикробным и фунгицидным эффектом, является мощным антиоксидантом, выполняет в организме роль регулятора липидного и стероидного обмена, снижает уровень общего холестерина. Эти и другие свойства сквалена придают ему высокую физиологическую активность. Сквален — обязательный компонент сальных желез подкожной клетчатки человека, при повреждении которой концентрация его резко возрастает, что свидетельствует о его защитной роли [2, с. 639, 1, с. 176]. В традиционных масленичных культурах содержание сквалена, как правило, не превышает 1%, в то время как в семенах амаранта его содержание варьирует от 4,8 до 8% [9, с. 370].

Эксперимент проводили на семенах амаранта сортов «Чергинский», «Янтарь» и местного вида амаранта — щирицы запрокинутой. Щирица запрокинутая - *Amaranthus retroflexus L.*, является одним из самых широко распространённых сорняков семейства *Amaranthaceae*; в Центральной Якутии — единственный вид, естественно произрастающий.

Семена двух сортов амаранта, полученные из лаборатории генофондов и систем размножения растений ИЦиГ СО РАН (Института Цитологии и Генетики Сибирского Отделения Российской Академии Наук), высаживали в открытый грунт рассадным способом в конце мая. Щирицу высевали в эти же сроки семенами прямо в грунт. Растения убирали в конце августа и семена собирали в то же время.

Качественное и количественное определение содержания сквалена в масле проводили с применением ВЭЖХ на жидкостном хроматографе «Миллихром А-02» с ультрафиолетовым детектором. За основу была взята методика, предложенная в работе [10, с. 542]. Для внесения пробы в жидкостной хроматограф готовили раствор масла в смеси: ацетонитрил:изопропанол: гексан (72:17:11) в соотношении — 9 мкл масла на 5 мл растворителя. Для лучшего извлечения сквалена из масла смесь ставили на роторную мешалку на 30 мин. Раствор сквалена фильтровали через нейлоновый фильтр диаметром 0,45 мкм. Полученный фильтрат вносили в хроматограф.

Для определения объемной доли сквалена (ω, об.%) в масле использовали следующую формулу:

$$\omega \text{ (об. \%)} = (C \cdot V_{\text{раств.}} \cdot 0,1) / (0,86 \cdot V_{\text{масла}})$$

где:

*C* — концентрация сквалена в пробе, мкг/мл. Определяется на жидкостном хроматографе.

*V<sub>раств.</sub>* — объем растворителя, взятого для разведения масла, л

*V<sub>масла</sub>* — объем масла, взятого для анализа, л

$0,86 \cdot 10^3$  — плотность сквалена, г/л

Анализ и оценка достоверности результатов проводилась по Лакину [7, с. 293].

В табл. 1 представлено содержание сквалена в масле семян двух сортов амаранта и *A. retroflexus*. Концентрация сквалена в масле, наиболее высокое содержание было найдено для сорта «Янтарь» (до 6,8%) и *A. retroflexus* (до 6,6%), сорт «Чергинский» составил 4,5%.

**Таблица 1.**

**Содержание сквалена в масле семян двух сортов *A. cruentus* (сорт «Чергинский»), *A. hypochondriacus* (сорт «Янтарь»), и *A. retroflexus*.**

Сорт, вид	$\omega$ сквалена, об. %
<i>A. cruentus</i> (сорт «Чергинский»)	4,5±0,1
<i>A. hypochondriacus</i> (сорт «Янтарь»)	6,8±0,1
<i>A. retroflexus</i>	6,6±0,1

Установлено, что изменения условий среды сказывается не только на количестве тех или иных веществ, но может вызывать в них глубокие качественные сдвиги [6, с. 503]. Согласно сортовой характеристике, светлоокрашенный сорт «Янтарь» (*A. hypochondriacus*) наиболее богат содержанием сквалена в масле (9.7%) [4, с.28]. Интродукции «Янтаря» в Центральной Якутии приводит к снижению содержания сквалена в 1.4 раз при сравнении с сортовыми характеристиками. Для семян сорта «Чергинский» (*A. cruentus*), отличий от показателей, содержание сквалена в масле (4,9 %) указанных в сортовой характеристике, не обнаружено.

Известно, что у возделываемых культурных сортов амаранта в Центрально Черноземной зоне России содержание сквалена составляет от 6.0—7.3% [8, с. 12]. Среди масел семян семейства Amaranthaceae у вида *A. retroflexus* подтверждено присутствие сквалена [3, с. 71]. Таким образом, у щирицы — запрокинутой (*A. retroflexus*) произрастающей в Центральной Якутии по содержанию сквалена в масле, практически не уступает и может конкурировать с сортами амаранта, рекомендованными для возделывания в Сибири.

### Список литература:

1. Биленко Н. Б. Ишемические и реперфузионные повреждения органов // М.: Медицина. 1989. 176 с.
2. Гауптман З., Грефе Ю., Ремане Х. Органическая химия. М.: Химия, 1979. 639 с.
3. Дейнека Л. А., Дейнека В. И., Гостинцев И. А., Сорокопудов В. Н., Сиротин А. А. Определение сквалена В семенах некотрых растений семейства Amaranthaceae // Химия растительного сырья. 2008. №4. С. 69-74.
4. Железнов А. В. Амарант: научные основы интродукции. Новосибирск: Академ. изд. «Гео», 2009. 239 с.
5. *Коноровский А. К. Режимы мерзлотных пойменных почв долины Лены. Новосибирск: Наука, 1974. — 168 с.*
6. Кретович В. Л. Биохимия растений: учеб. — 2-е изд., перераб. И доп.; для биол. Спец. Ун-тов.-М.: Высшая школа, 1986. —503 с.
7. Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: Высш.школа, 1980. 293 с.
8. Мирошниченко Л. А. Физиолого-биохимические аспекты онтогенеза амарнта (*Amaranthus L.*) при возделывании в центрально-черноземном регионе.// Автореф. дис. канд. б.-х. наук / РУДН — М.: РУДН. — 2008. — 22 с.
9. Химическая энциклопедия // Полимерные - Трипсин // М.: Большая Российская Энциклопедия, 1995. Т. 4. 639 с.
10. Vidal-Escales E., Borros S. New methodology to follow the evolution of squalene by-products during model compound vulcanization studies // *Talanta* 62 (2004). P. 539-547.



# ГЕТЕРОЛОГИЧНАЯ ЭКСПРЕССИЯ, ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА НСТ-А3 АКТИНИИ *HETERACTIS CRISPA*

*Ткачева Екатерина Сергеевна*

*м. н. с. ТИБОХ ДВО РАН, г. Владивосток*

*E-mail: [estkacheva@gmail.com](mailto:estkacheva@gmail.com)*

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 10-08-00316-а.*

Актинопорины — пороформирующие токсины (~20 кДа), продуцируемые ядовитыми морскими кишечнорастворимыми актиниями, являются уникальными белковыми молекулами, способными существовать как в водорастворимом, так и в мембраносвязанном состоянии, в котором они осуществляют свое мембранолитическое действие [3]. Каждая актиния синтезирует множество изоформ актинопоринов, обладающих различными видами биологической активности (токсической, антиопухолевого, кардиостимулирующей, дерматонекротической, антипаразитарной). В настоящее время уже описаны высоко гомологичные актинопорины, присутствующие совместно в одном виде-продуценте: например, стихолизины I, II из актинии *Stichodactyla helianthus* [6], эквинатоксины I, II, IV и V из актинии *Actinia equina* [4], множество изоформ магнификализинов из *Heteractis magnifica* [12]. Было показано, что каждый из токсинов кодируется своим собственным геном, и изоформы одного токсина формируют мультигенное семейство. Генетический аппарат актиний специально создан для выработки уникальных по природе и функциям полипептидов (фосфолипаз, ингибиторов семейства Кунитца, нейротоксинов) для защиты от внешних врагов и нападения на жертв. Предполагают, что роль такого биоразнообразия связана с эволюционной адаптацией вида.

Ранее из тропической актинии *H. crispa* (*Radianthus macrodactylus*) сотрудниками лаборатории химии пептидов ТИБОХ ДВО РАН было выделено в гомогенном состоянии и охарактеризовано четыре гомологичных актинопорина RTX-A, RTX-S, RTX-SII и RTX-G [5, 8, 11], которые обладают высокой гемолитической активностью. Недавно было обнаружено, что актиния *H. crispa* продуцирует целое семейство актинопоринов Нст-S (18 членов) [2]. Для трех

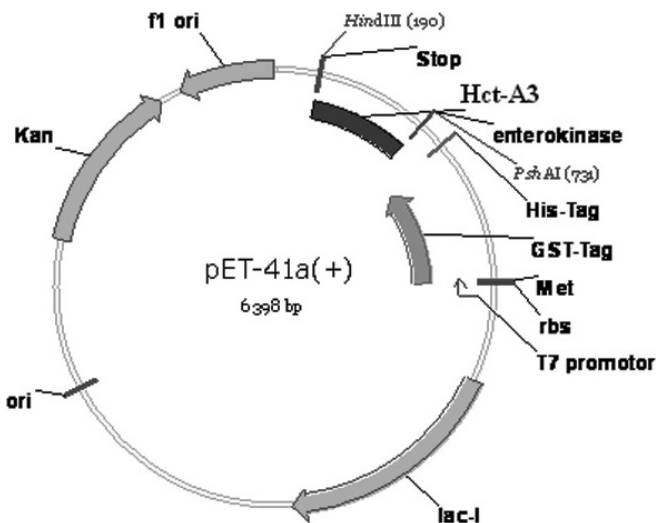
представителей этого семейства были получены функционально активные рекомбинантные формы белков [1, 2].

Цель настоящей работы — создать экспрессионную конструкцию для функциональной экспрессии нового представителя актинопорinov Нст-А3, получить рекомбинантный белок гНст-А3 и исследовать его свойства.

Для создания экспрессионной конструкции был выбран вектор на основе плазмиды pET-41a(+). Выбор был обусловлен несколькими причинами. С одной стороны, этот вектор позволяет экспрессировать клонированный продукт в виде гибридного белка, содержащего GST-белок на N-конце, что необходимо для увеличения выхода растворимой формы белка. С другой стороны, гибридный белок содержит N-концевой 6\*His-tag (для очистки гибридного белка с помощью аффинной хроматографии) и сайт рестрикции для энтеропептидазы (для отделения рекомбинантного актинопорина). Благодаря наличию lac-ингибитора создается возможность для экспрессии в клетках *E. coli* (Rosetta) токсичных для клетки актинопорinov.

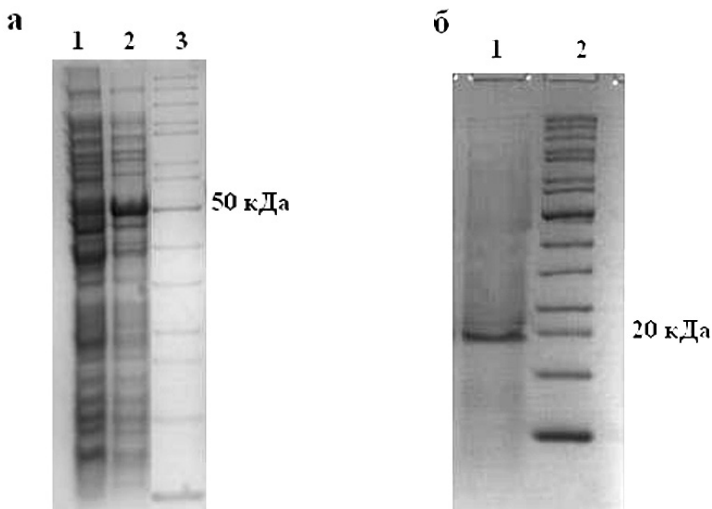
Фрагмент ДНК, кодирующий зрелый белок актинопорина Нст-А3, получен в результате ПЦР с использованием генспецифичных праймеров Нст-Af 5'-GGCTTTAGCTGGTACAATTATCGCGGGTGCA-3' и Нст-Ar (5'-GGGGAAGCTTAGCGTGAGATCTTAATTTGCAGTAT-3'), фланкирующих последовательность актинопорина. В качестве матрицы использована κДНК *H. crista*. К 5'-концу прямого праймера дополнительно присоединили нуклеотид G, чтобы сохранить сайт рестрикции для энтерокиназы. К обратному праймеру добавлена последовательность AAGCTT (сайт рестрикции для рестриктазы HindIII) и нуклеотиды CCCC.

ПЦР-фрагменты выделяли из агарозного геля (препаративный электрофорез), очищали, обрабатывали рестриктазой HindIII, и после этого лигировали в экспрессионный вектор pET-41a(+) по сайтам рестрикции PShAI и HindIII (рис. 1).



**Рисунок 1. Физическая карта плазмиды pET-41a(+) – Hct-A3.**

В результате проведения гетерологичной экспрессии получен предшественник рекомбинантного белка — гибридный белок (GST-rHct-A3), имеющий 6×His-tag на N-конце. Экспрессию гибридного белка (с молекулярной массой 52 кДа) индуцировали ИПТГ (изопропил-β-D-1-тиогаляктопиранозидом). Клеточную массу наращивали в течение 3 часов при температуре 30°C. Гибридный GST-rRTX-A3 был обнаружен как в клеточной массе, так и УТ-среде, но в очень малом количестве (данные не представлены). Присутствие гибридных белков в клеточном лизате подтверждали ДСН-ПААГ электрофорезом (рис. 2, а).



**Рисунок 2.** *а — Электрофореграмма белков клеточного лизата после экспрессии: 1 – контроль (экспрессия рЕТ41а(+)-hct-a3 без добавления ИПТГ); 2 – рЕТ41а(+)-hct-a3; 3 — маркеры молекулярной массы. б — Электрофореграмма рекомбинантного актинопорина: 1 — rHct-A3; 2 — маркеры молекулярной массы.*

Рекомбинантный актинопорин (rHct-A3) выделяли с помощью аффинной хроматографии на Ni-SAM агарозе с последующей обработкой белка энтеропептидазой (рис. 2, б). Общий выход rHct-A3 составил в среднем 4 мг с 1 литра клеточной культуры.

Расчетная молекулярная масса rHct-A3 составила 19,2 кДа, что соответствует значениям молекулярных масс нативных актинопоринов. Расчетное значение изоэлектрической точки составило 9,55, что характерно для *pI* актинопоринов RTX-A, RTX-S, RTX-SII, а также для большинства известных нативных представителей актинопоринов из других видов актиний (табл. 1).

Проверку гемолитической активности rHct-A3 осуществляли на человеческих эритроцитах. Было обнаружено, что активность rHct-A3 в полтора раза ниже активности нативных белков (табл. 1).

Таблица 1.

**Физико-химические характеристики и биологическая активность актинопорина rHct-A3 и нативных актинопоринов RTX-A [5], RTX-SII [8], EqtII [10], StnII [9], HMgI и HMgII [7].**

Актинопорин	Молекулярная масса, кДа	Изозл. точка	Гемолитическая активность, ГЕ/мг
RTX-A	~20000	~9.8	35000
rHct-A3	19,20*	9.55*	20000**
RTX-S II	19,28	10	36000
EqtII	19,0	10,5	36000
StnII	17,6	9,8	31000
HMgI	19,0	9,4	36000
HMgII	19,0	10,0	33000

\* Расчетные значения по аминокислотной последовательности.

\*\* Среднее значение трех независимых экспериментов.

Таким образом, в результате гетерологичной экспрессии в клетках *E. coli* был получен новый рекомбинантный актинопорин rHct-A3, физико-химические характеристики которого сравнимы с таковыми нативных актинопоринов.

### Список литературы:

1. Ткачева Е. С. Функциональная экспрессия актинопорина RTX-S3, нового цитолитического токсина актинии *Heteractis crispa*. // Вестник ДВО РАН. 2010. Т. 4. С. 134-137.
2. Ткачева Е. С., Лейченко Е. В., Монастырская М. М., Исаева М. П., Зелепуга Е. А., Анастук С. Д., Дмитренко П. С., Козловская Э. П. Новые актинопорины актинии *Heteractis crispa*: клонирование и функциональная экспрессия. // Биохимия. 2011. Т. 10, С. 1387-1397.
3. Anderlueh G., Maček P. Cytolytic peptide and protein toxins from sea anemones (Anthozoa: Actiniaria) // Toxicon. 2002. V. 40. P. 111-124.
4. Anderlueh G., Križaj I., Štrukelj B., Gubenšek F., Maček P., Pungertar J. Equinatoxins, pore-forming proteins from sea anemone *Actinia equina*, belong to a multigene family // Toxicon. 1999. V. 37, № 10. P. 1391–1401.
5. P'ina A., Lipkin A., Barsova E., Issaeva M., Leychenko E., Gusev K., Monastyrnaya M., Lukyanov S., Kozlovskaya E. Amino acid sequence of RTX-A's isoform actinoporin from the sea anemone, *Radianthus macrodactylus* // Toxicon. 2006. V. 47, № 5. P. 517–520.
6. Kem W. R., Dunn B. M. Separation and characterization of four different amino acid sequence variants of a sea anemone (*Stichodactyla helianthus*) protein cytolysin // Toxicon. 1988. V. 26, № 11. P. 997–1008.

7. Khoo K. S., Kam W. K., Khoo H. E., Gopalakrishnakone P., Chung M. C. M. Purification and partial characterization of two cytolysins from a tropical sea anemone, *Heteractis magnifica* // *Toxicon*. 1993. V. 31, № 12. P. 1567–1579.
8. Klyshko E. V., Issaeva M. P., Monastyrnaya M. M., Il'ina A. P., Guzev K. V., Vakorina T. I., Dmitrenok P. S., Zykova T. A., Kozlovskaya E. P. isolation, properties and partial amino acid sequence of a new actiniporins from the sea anemone *Radianthus macrodactylus* // *Toxicon*. 2004. V. 44, № 3. P. 315–324.
9. Lanio, M.E., Morera, V., Alvarez, C., Tejuca, M., Gómez, T., Pazos, F., Besada, V., Martínez, D., Huerta, V., Padrón, G., and Chávez, M. Purification and characterization of two hemolysins from *Stichodactyla helianthus* // *Toxicon*. 2001. V. 39, 187–194.
10. Maček P., Lebez D. Kinetics of hemolysis induced by equinatoxin, a cytolytic toxin from the sea anemone *Actinia equina*. Effect of some ions and pH // *Toxicon*. 1981. V. 19, № 2. P. 233–240.
11. Monastyrnaya M. M., Zykova T. A., Apalikova O. V., Shwets T. V., Kozlovskaya E. P. Biologically active polypeptides from the tropical sea anemone *Radianthus macrodactylus* // *Toxicon*. 2002. V. 40, № 8. P. 1197–1217.
12. Wang Y., Yap L. L., Chua K. L., Khoo H. E. A multigene family of *Heteractis magnificalyisins* (HMgs) // *Toxicon*. 2008. V. 51. P. 1374–1382.

### 1.3. БОТАНИКА

#### АФИЛЛОФОРОИДНЫЕ ГРИБЫ В ЗЕЛЕНЫХ НАСАЖДЕНИЯХ ГОРОДОВ ЮЖНОГО ПРИУРАЛЬЯ

*Сафонов Максим Анатольевич*

*д-р биол. наук, доцент ОГПУ, г. Оренбург*

*E-mail: [safonovmaxim@yandex.ru](mailto:safonovmaxim@yandex.ru)*

*Маленкова Анна Сергеевна*

*аспирант ОГПУ, г. Оренбург*

*Дремова Наталья Александровна*

*аспирант ОГПУ, г. Оренбург*

Городская среда стала неотъемлемой частью общего ландшафтного разнообразия нашей планеты, год от года охватывая новые территории за счет урбанизации и субурбанизации. Ее влияние распространяется и на прилегающие к городам территории, приводя к банализации флоры и фауны, нарушениям структурно-функциональных связей в экосистемах и т.п. Особенно ярко последствия антропогенных воздействий сказываются на древесных растениях и их сообществах, так как значительная продолжительность жизни деревьев позволяет оценивать суммарное воздействие поллютантов на растения без учета межгодовых показателей интенсивности загрязнения. Кроме того, древесные растения активно используются для формирования и коррекции городской среды — при создании лесополос, парков, скверов и других форм зеленого строительства. Соответственно, древесные растения являются неотъемлемой частью современного городского ландшафта.

Основными антропогенными факторами воздействия на среду в урбанизированных территориях являются:

- химическое и физическое загрязнение атмосферы, почвы и почвенных вод промышленными, транспортными и бытовыми отходами;
- чрезмерные, зачастую нерегулируемые рекреационные нагрузки;

- определенное изменение климатических условий, особенно заметное в крупных городах (изменение хода суточной температуры, частота гроз и количество осадков и др.);
- изменение рельефа вследствие его перепланировки и выравнивания поверхности;
- существенное изменение гидрологических условий в результате уничтожения значительной части природной гидрографической сети и нарушения естественных водотоков.

Действие этих факторов распространяется на все компоненты лесных экосистем как естественных, так и искусственных (растительность, животный мир, почву); изучение механизмов этих воздействий и ответных реакций биоты на экосистемном, видовом и организменном уровнях должно быть объектом внимания специалистов в области урболесоведения.

Все древесные растения реагируют на условия урбосреды, которая характеризуется высокой загазованностью, запыленностью воздуха, особым световым режимом, химическими и физическими отличиями свойств почвенного покрова и т. д. Вследствие этого меняется интенсивность роста растений, продолжительность их жизни, конкурентоспособность растений. Влияние неблагоприятных техногенных факторов на древесные растения отражаются и на их устойчивости к неблагоприятным биотическим факторам, в частности — к поражению фитопатогенными организмами — бактериями, низшими и высшими грибами, насекомыми и другими беспозвоночными.

Значительный интерес представляет изучение грибов-макромицетов, поселяющихся на вегетирующих, сухостойных деревьях или валежной древесине в условиях урбосреды. Данные о встречаемости этих грибов в городах позволяют не только оценить устойчивость древесных растений к грибным инфекциям, но и лучше понять закономерности распространения грибов в техногенных условиях и особенности выбора ими заселяемых субстратов, механизмы приспособления грибов к городским условиям. Планомерное изучение антропогенной трансформации микобиоты в городах и промышленных центрах позволяет наиболее четко проследить направления и этапы этого глобального процесса, выявить его возможные последствия [20]. Данному аспекту существования урбосреды уделяли внимание ряд исследователей как в России [1-6, 8, 10, 11, 13, 14 и др.], так и за рубежом [15, 16, 18, 21, 24 и др.], однако на Южном Урале такие исследования ранее не проводились.



## Материалы и методы

Нами были проведены исследования дереворазрушающих грибов, обитающих на валеже, сухостойных и вегетирующих деревьях в зеленых насаждениях г. Оренбурга. Сбор данных производился маршрутным методом. При описании грибов территории была использована система высших базидиальных грибов, опубликованная в книге «Nordic Macromycetes» [22, 23], и основанная на классификации В.Юлиха [17].

## Результаты и обсуждение

Зеленые насаждения в г. Оренбурге распределены достаточно неравномерно. Основными видами древесных растений, используемыми в посадках, являются *Acer negundo* L., *A. Platanoides* L., *A. Tataricum* L., *Betula pendula* Roth., *Fraxinus pennsylvanica* Marsh., *Populus balsamifera* L., *P. canadensis* Moench., *P. italica* (Du Roi) Moench., *Syringa vulgaris* L., *Ulmus laevis* Pall., *U. minor* Mill., *U. pumila* L.; из числа голосеменных растений - *Larix sibirica* Ledeb., *Picea pungens* Engelm., *Pinus sylvestris* L.. В данном случае, мы не включили в список виды-интродуценты, представленные одиночными экземплярами, такие как кипарис, каштан, тамарикс и ряд других.

Большая часть насаждений, при глазомерной оценке жизненности, находится в удовлетворительном состоянии. Уход за насаждениями приводит к перманентному изъятию валежных ветвей разного диаметра, что сокращает количество потенциальных субстратов для заселения дереворазрушающими грибами. Соответственно, основными типами субстрата являются сухостойные и ослабленные вегетирующие деревья, а также пни, остающиеся после рубок ухода.

В результате наших исследований в зеленых насаждениях г. Оренбурга было выявлено 10 видов афиллофороидных грибов: *Bjerkandera adusta* (Willd.: Fr.) P. Karst., *Chondrostereum purpureum* (Pers.: Fr.) Pouzar, *Flammulina velutipes* (Curt.: Fr.) Sing., *Fomes fomentarius* (L.: Fr.) Fr., *Irpex lacteus* (Fr.: Fr.) Fr., *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murrill, *Lentinus cyathiformis* (Schaeff.) Bres., *Lentinus lepideus* (Fr.: Fr.) Fr., *Polyporus squamosus* Huds.: Fr., *Schizophyllum commune* Fr.: Fr., *Spongipellis spumea* (Sowerby: Fr.) Pat.

Половина отмеченных видов — биотрофы, т. е. их базидиомы развиваются на живых, ослабленных деревьях. Наибольшее распространение в городе получил трутовик чешуйчатый (*Polyporus squamosus*), встречающийся в центральной части города на старых

тополях, а также изредка на ясенях. Значительно меньше встречаемость у настоящего трутовика (*Fomes fomentarius*). Ранней весной и поздней осенью (самая ранняя находка — 7 марта, самая поздняя — 23 ноября) на вязах и тополях встречаются плодовые тела зимнего опенка (*Flammulina velutipes*).

Особо следует отметить находки в городе ряда мезофильных видов, которые могут быть отнесены к редким на территории области. К ним относится, в частности, серно-желтый трутовик (*Laetiporus sulphureus*), являющийся горно-таежным реликтом [7]. Этот вид преимущественно обитает в регионе в старовозрастных пойменных и низкогорных дубравах; гораздо реже встречается в приспевающих сыртовых и низкоствольных дубняках [9]. Наиболее характерным субстратом для серно-желтого трутовика (*Laetiporus sulphureus*) в странах Европы считается дуб [26]. В городе Оренбурге вид изредка встречается на старых дубах и один раз был отмечен на стволе ясеня.

Второй вид, который рекомендован для включения в список редких видов грибов Оренбургской области — спонгипеллис пенистый (*Spongipellis spumea*). Это циркумглобальный вид [22, 23]; считается реликтом уральской биоты афиллофоровых грибов [12]. Отнесен к числу редких видов грибов в Дании, Финляндии, Швеции. Норвегии [19, 25]. В 2011 году вид был впервые отмечен на живом клене в центральной части города.

Прочие виды, отмеченные в городских условиях, обитают на пнях и не многочисленной валежной древесине. Многие из них, в частности, *Vjerkandera adusta*, *Schizophyllum commune*, являются достаточно обычными видами для городских местообитаний, устойчивыми в отношении аэрополлютантов, о чем свидетельствуют их находки в зеленых насаждениях разных городов в разных странах [1, 11, 14, 15].

Расселение ксилотрофных грибов в городских лесах, по-видимому, лимитируется количеством доступного субстрата и критически высокой испаряемостью, что связано с ажурностью их древостоев и несформированностью (или очень малым проективным покрытием) травяного покрова. Важным фактором, влияющим на видовой состав ксилотрофных базидиомицетов городских лесов, также является устойчивость видов к промышленному загрязнению среды. Эти условия в совокупности с неблагоприятными в целом климатическими условиями степной зоны жестко ограничивают вхождение многих ксилотрофных грибов в состав сообществ деструкторов древесины городских искусственных насаждений.

Оценка значения ксилотрофных грибов в городских лесах, изучение особенностей их жизненных стратегий должно в перспективе сопровождаться оценкой накопления ими поллютантов, в частности, тяжелых металлов. Подобная всесторонняя оценка роли дереворазрушающих грибов позволит лучше понять особенности функционирования искусственных лесных экосистем в городских условиях.

### **Список литературы:**

1. Арефьев С. П. Консортивная структура сообщества ксилотрофных грибов города Тюмени // Микология и фитопатология. 1997. Т. 31, вып. 5. С. 1–8.
2. Арефьев С. П. Распространение грибов-биоагрессоров при антропогенной трансформации Западно-Сибирской тайги // Междунар. конф. «Фин.-угор. мир: сост-е природы и регион. стратегия защиты окруж. Среды», Сыктывкар, 2-5 июня, 1997: Тез. докл. — Сыктывкар, 1997. С. 7.
3. Арефьев С. П. Грибы города // Тюмень начала XXI века. Тюмень: Изд-во ИПОС СО РАН, 2002. С. 234–240.
4. Арефьев С. П. Системный анализ биоты дереворазрушающих грибов. — Новосибирск: Наука, 2010. — 260 с.
5. Змитрович И. В. Распространение афиллофороидных грибов на территории Санкт-Петербурга // Микология и фитопатология. 1997. Вып. 31, № 1. С. 19–27.
6. Лосицкая В. М., Бондарцева М. А., Крутов В. И. Афиллофоровые грибы, как индикаторы состояния сосновых древостоев промышленной зоны города Костомукши (Карелия) // Микол. и фитопатол., 1999. Т. 33, №5. С. 331-337.
7. Мухин В. А. Биота ксилотрофных базидиомицетов Западно-Сибирской равнины / В. А. Мухин. — Екатеринбург: Наука, 1993. — 231 с.
8. Ноздренко М. В. Агариковые грибы в городских посадках // Водоросли и грибы Сибири и Дальнего Востока. Новосибирск: Наука, 1970. Вып. 1(3). С. 219–223.
9. Редуценты лесов Южного Приуралья: материалы к микобиоте и энтомофауне Оренбургской области. — Екатеринбург: УрО РАН, 2007. 136 с.
10. Руоколайнен А. В. Афиллофороидные грибы г. Петрозаводска и окрестностей // Микология и фитопатология. 2003. Т. 37, вып. 1. С. 62–69.
11. Стасевич Л. И., Крамарец В. А. Патогенные грибы насаждений комплексной зеленой зоны г. Львова // Проблемы лесной фитопатологии и микологии: Тез. докл. — М.: Науч. совет по проблемам леса РАН, Ин-т лесоведения РАН, 1994. — С. 79—81.

12. Степанова-Картавенко Н. Т. Афиллофоровые грибы Урала / Н. Т. Степанова-Картавенко. — Свердловск, 1967. — 293 с.
13. Храмова О. А. Сообщества ксилотрофных базидиомицетов урбанизированных территорий // Вертикаль: вестник молодой науки Урала, Т. III, №2, Оренбург, 1998. С. 53-56.
14. Юпина Г. А. Дереворазрушающие грибы антропогенных территорий. // Микол. и фитопатол. 1987, т. 21, №3. С. 224-225
15. Gaper J. Wood-destroying polypores on asiatic woody plants in the urban environment of Slovenia // Acta fac.ecol., Zvolen. — 1996. —3. — С. 93-97.
16. Gaper J. Drevokazné huby poškodzujúce dreveniny u uličných výsadbách // Vzťahy najdôležit. škodl. činiteľov lesn. drev. a lesn. prostred.: Zb. ref. semin. medzinár. účasť., Zvolen, 17—18 sept., 1985. — Zvolen, 1985. — S. 109—115.
17. Julich W. Kleine Kryptogamenflora. Jena: Gustav Fischer Verlag, 1984. Bd.11, b/1: Die Nichtblatterpilze, Gallerpilze und Bauchpilze. 626 s.
18. Kotiranta H., Mukhin V. A. Aphyllophorales (Basidiomycetes) of Tiksi, Republic of Sakha (Yakutia), Northeast Siberia // Karstenia. 2000. Vol. 40. P. 65–69.
19. Kotiranta H. Uhanalaiset käävät Suomessa. Toinen, uudistettu painos / H.Kotiranta, T.Niemelä. - Helsinki, 1996. – 184 p.
20. Mukhin V. A. Synanthropic species of wood-decaying Aphyllophorales of Greenland // 4th Internat. Symp. on Arctic and Alpine Mycology. "ISAM IV". France; Lauslebourg Val Cenis, 1992. P. 18.
21. Niemela T., Erkillä R. The polypores which decay park and forest trees in Helsinki // Helsinki: Publ. Finnish Dendrol. Soc., 1987. Vol. 4. P. 1–56.
22. Nordic Macromycetes. Vol.2: Polyporales, Boletales, Agaricales, Russulales. Gopenhagen: Nordsvamp, 1992.
23. Nordic Macromycetes. Vol.3: Heterobasidioid, Aphyllophoroid and Gasteromycetoid basidiomycetes. Gopenhagen: Nordsvamp, 1997.
24. Reinartz H. & M. Schlag, Method of assessing fungus damage on street and park trees // Neue Landschaft, — 1988. 33, No.2, 81.
25. Rødeliste 1997. Over planter og dyri Danmark /Udgivet af Miljø- og Energiministerieriet, 1998. — 122 p.
26. Rune F. Sulphur Polypore (*Laetiporus sulphureus*) on oak and other deciduous trees / F. Rune, I. M. Thomsen // Svampe. — 2000. — V.41. — P. 7-12.

## 1.4. ЗООЛОГИЯ

### ЭКОЛОГО-ФАУНИСТИЧЕСКИЕ КОМПЛЕКСЫ ГРЫЗУНОВ И НАСЕКОМОЯДНЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ РЕСПУБЛИКИ МОРДОВИЯ

*Андрейчев Алексей Владимирович*

*преподаватель кафедры зоологии МГУ им. Н. П. Огарева, г. Саранск*

*E-mail: [andreychev1@rambler.ru](mailto:andreychev1@rambler.ru)*

*Кузнецов Вячеслав Александрович*

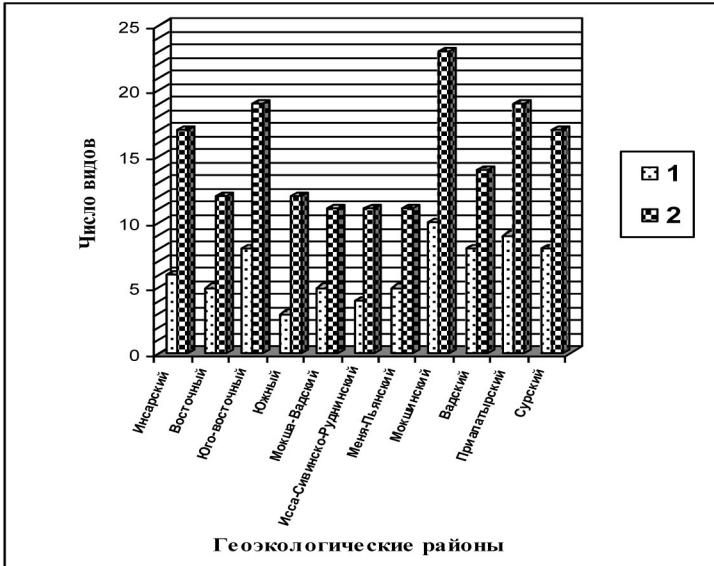
*д-р биол. наук, профессор кафедры зоологии МГУ им. Н.П. Огарева,*

*г. Саранск*

*E-mail: [zoomordovia@gmail.com](mailto:zoomordovia@gmail.com)*

Эколого-фаунистические комплексы грызунов и насекомоядных млекопитающих в Поволжье разнообразны. В Республике Мордовия, территория которой входит в Среднее Поволжье, ранее работ по анализу принадлежности грызунов и насекомоядных к тем или иным комплексам не проводилось, как и не существовало единого аннотированного списка видов данных таксономических групп по региону, в силу малой изученности.

Материалом для данной работы послужили отловы и визуальные регистрации грызунов и насекомоядных млекопитающих, а также сборы погадок хищных птиц в Республике Мордовия. Сбор материала осуществлялся во время экспедиционных и стационарных исследований в разных районах Мордовии в 2006-2011 гг. Сбор и анализ погадок хищных птиц осуществлялся в весенне-осенний периоды 2008-2011 гг. На территории Мордовии нами достоверно зафиксировано 38 видов грызунов и насекомоядных, из них 36 видов регистрируется и в настоящее время. Два следующих вида: *Cricetulus migratorius*, *Myodes rutilus* в Мордовии находятся на границах ареалов и на протяжении последних 40-70 лет о регистрации данных видов в Мордовии нет данных. Видовой состав и встречаемость видов по геоэкологическим районам не одинаковы.



**Рисунок 1. Число видов грызунов и насекомоядных млекопитающих в геоэкологических районах Мордовии (1 — насекомоядные, 2 — грызуны)**

При анализе принадлежности зарегистрированных видов грызунов и насекомоядных млекопитающих использовались классические работы И. Л. Кулика [1, с. 11; 2, с. 38; 3, с. 28], В. В. Кучерука [4, с. 45], Е. А. Шварца [5, с. 115]. На основании данных работ, учитывая ареалы грызунов и насекомоядных, определена представленность различных фаунистических комплексов на территории геоэкологических районов Мордовии (табл. 1).

Анализ видового состава грызунов и насекомоядных млекопитающих Инсарского геоэкологического района на принадлежность к типам фаун показал значительное количество представителей степного фаунистического комплекса (17%) по сравнению с западными районами. Наиболее разнообразными оказались группы видов хвойно-широколиственных лесов и широко распространенных в нескольких природных зонах, составляющие 39 и 40%, соответственно. Таежный фаунистический комплекс в геоэкологическом районе представлен всего одним видом — *Sorex isodon*. Из представителей степного фаунистического комплекса 3 вида (*Marmota bobak*, *Spermophilus suslicus*, *Spalax*

*microphthalmus*) являются редкими не только для района, но и для всей Мордовии.

**Таблица 1.**

**Принадлежность видового состава грызунов и насекомоядных Мордовии к эколого-фаунистическим комплексам**

	Эколого-фаунистические комплексы			
	таежные	хвойно-широколиственных лесов	степные	широко распространенные в нескольких природных зонах
Виды	Бурозубка равнозубая	Крот европейский	Суслик крапчатый	Бурозубка обыкновенная
	Бурозубка средняя	Выхухоль русская	Слепыш обыкновенный	Бурозубка малая
	Бурозубка крошечная	Еж обыкновенный	Сурок-байбак	Кутора обыкновенная
	Полевка красная	Еж белогрудый	Пеструшка степная	Белка обыкновенная
		Белозубка малая	Хомячок серый	Полевка водяная
		Полевка рыжая	Хомяк обыкновенный	Полевка-экономка
		Полевка обыкновенная	Тушканчик большой	Ондатра
		Полевка темная		Мышь-малютка
		Бобр речной		Мышь полевая
		Соня лесная		Мышь домовая
		Соня садовая		Крыса серая
		Соня орешниковая		
		Соня-полчок		
		Мышовка лесная		
		Мышь малая лесная		
	Мышь желтогорлая			

Для Восточного геоэкологического района по представленности фаунистических типов доминирующими являются виды широко распространенные в нескольких природных зонах — 47%. На второй позиции по количеству находятся виды хвойно-широколиственных лесов. Примечательно равное количество представителей двух разнородных по генетической природе фаун — степной и таежной — по 6%.

Состав грызунов и насекомоядных млекопитающих (по количеству видов) Юго-восточного геоэкологического района на принадлежность к типам фаун, как и для Инсарского района, показал значительное количество представителей степного фаунистического комплекса (19%). Виды широко распространенные в нескольких природных зонах и виды хвойно-широколиственных лесов в районе составляют — по 37%. На таежный комплекс приходится 7% и он включает исключительно насекомоядных.

Южный геоэкологический район отличается от предыдущих районов полным отсутствием таежных видов. Наибольшее количество видов района относится к широко распространенным в нескольких природных зонах и обитающим в хвойно-широколиственных лесах. Редких степных видов не отмечено.

В Мокша-Вадском геоэкологическом районе по фаунистическому делению грызунов и насекомоядных преобладают широко распространенные виды (44%). Менее представлены виды хвойно-широколиственных лесов (38%). Отличительной чертой района, в связи с меньшей облесенностью территории, по сравнению с соседними геоэкологическими районами, является присутствие значительной доли видов (13%) таежного комплекса в соотношении с другими типами фаун.

По фаунистическому делению грызунов и насекомоядных Исса-Сивинско-Руднинский геоэкологический район схож с Южным. Различия заключаются лишь в том, что в Исса-Сивинско-Руднинском геоэкологическом районе насекомоядные представлены видами широко распространенными и видами хвойно-широколиственных лесов в равной степени, а в Южном — широко распространенные виды преобладают над видами хвойно-широколиственных лесов. Здесь также отсутствуют представители таежного фаунистического комплекса.

По отношению к фаунистическим комплексам Меня-Пьянский район наиболее схож с Восточным. В Меня-Пьянском районе 4 типа фаун представлены двумя равными группами видов широко распространенных в нескольких природных зонах и обитающих в хвойно-широколиственных лесах (по 44%). Таежный и степной типы фаун составляют по 6%.

Анализ видов грызунов и насекомоядных, зарегистрированных в Мокшинском районе, по принадлежности к типам фаун показал их разнородность. Наибольшее количество приходится на представителей хвойно-широколиственных лесов (43%), причем преобладают виды этого типа фауны, как грызуны (31%), так и насекомоядные (12%). Следует отметить, что именно из данной фаунистической группы



видов в районе наибольшее количество редких — 18%. На представителей трех остальных фаун (широко распространенные виды — 33%, таежной — 12%, степной — 12%) приходится 57%.

Доля таежных видов (10%) в Вадском геоэкологическом районе меньше, чем в Мокшинском (12%) и Мокша-Вадском (13%) районах. В отличие от Мокшинского района в Вадском преобладают широко распространенные виды (46%). Из-за практического отсутствия биотопов для степных видов, их представленность здесь минимальна (4%) и единична. По видовому составу район имеет сходство с Мокша-Вадским.

Для Приалатырского района по принадлежности к типам фаун велико значение комплекса видов хвойно-широколиственных лесов — 50%. Это самая наивысшая представленность этого типа фаун среди всех геоэкологических районов республики. Причем чуть менее половины из них (21%) редки для Мордовии.

Сурский георайон в отличие от других районов — единственный в Мордовии не имеет в своем составе по фаунистической принадлежности грызунов и насекомоядных степного комплекса. В Сурском районе, также как и в Приалатырском, преобладают виды хвойно-широколиственных лесов — 48%. Значительное сходство видового состава, относящегося к широко распространенным в нескольких природных зонах и таежным фаунистическим комплексам, в двух районах обусловлено, по всей видимости, вхождением Приалатырской зоны в бассейн р. Суры.

### **Список литературы:**

1. Кулик И. Л. Таежный фаунистический комплекс млекопитающих Евразии // Бюл. МОИП. Отд. Биол. 1972. Т. 77. Вып. 4. — С. 11-24.
2. Кулик И. Л. Особенности распространения таежных млекопитающих Евразии // Бюл. МОИП. Отд. Биол. 1973. Т. 78. Вып. 2. — С. 38-46.
3. Кулик И. Л. Таежный фаунистический комплекс млекопитающих Северной Америки в сравнении с евразийским таежным комплексом // Вестн. зоол. 1975. №2. — С. 28-34.
4. Кучерук В. В. Степной фаунистический комплекс млекопитающих и его место в фауне Палеарктики // География населения наземных животных и методы его изучения. — М.: Изд-во АН СССР, 1959. — С. 45-87.
5. Шварц Е. А. Формирование фауны мелких грызунов и насекомоядных таежной Евразии // Фауна и экология грызунов. — М.: Изд-во МГУ, 1989. Вып. 17. — С. 115-143.

## **АНАЛИЗ АЛЬФА И БЕТА-РАЗНООБРАЗИЯ ДНЕВНЫХ БУЛАВОУСЫХ ЧЕШУЕКРЫЛЫХ (LEPIDOPTERA, DIURNA) БРЯНСКОЙ ОБЛАСТИ**

***Голощанова Светлана Сергеевна***

*студентка 5 курса Брянского государственного университета имени  
И. Г. Петровского, г. Брянск*

***Исаева Евгения Станиславовна***

*студентка 5 курса Брянского государственного университета имени  
И. Г. Петровского, г. Брянск*

***Ротарь Елена Юрьевна***

*студентка 2 курса Брянского государственного университета имени  
И. Г. Петровского, г. Брянск*

***Прокофьев Игорь Леонидович***

*канд. биол. наук, доцент Брянского государственного университета  
имени И. Г. Петровского, г. Брянск  
E-mail: [bioindication.lab@gmail.com](mailto:bioindication.lab@gmail.com)*

Насекомые, как и многие другие наземные беспозвоночные, представляют собой особенную группу животных, которая характеризуется большим видовым разнообразием и слабой изученностью. Также они являются одним из важных компонентов, составляющих наземные и пресноводные экосистемы, что указывает на необходимость всестороннего изучения этой группы беспозвоночных [9, с. XIII].

Дневные чешуекрылые — наиболее красивая и привлекающая к себе внимание группа насекомых. Эти прекрасные создания не только доставляют эстетическое наслаждение наблюдателю, но, в соответствии с рядом отечественных и зарубежных исследований, являются биоиндикаторами ряда процессов в экосистемах [2, с. 1]. Это обуславливает важность изучения и необходимость проведения мониторинговых исследований на территории Брянской области, в связи с недостаточной изученностью состава и структуры населения дневных чешуекрылых.

Целью данной работы было изучение и сравнение  $\alpha$ - и  $\beta$ -разнообразия дневных чешуекрылых северных и южных районов Брянской области. Достижение данной цели позволит нам принять или отклонить следующие гипотезы. Во-первых, о влиянии растительности

на состав сообществ дневных чешуекрылых, во-вторых, о существовании различий между составом сообществ бабочек в северных и южных районах.

Исследования проводились коллективом авторов в течение вегетационного периода 2011 года в Севском и Дятьковском районах Брянской области с использованием метода учета бабочек на трансектах [8, с. 4-8].

Дятьковский район (север Брянской области), согласно физико-географическому районированию принадлежит к району с долинно-зандровыми с неглубоким залеганием коренных пород с дерново-подзолистыми, супесчаными, песчаными и суглинистыми почвами. Среднегодовая изотерма до 5°C. Среднегодовое количество осадков до 650 мм в год.

Севский район (юг Брянской области) согласно физико-географическому районированию принадлежит к району с эрозивно-лесовыми возвышенными с серыми лесными и темно-серыми почвами. Среднегодовая изотерма до 5,5°C. Среднегодовое количество осадков до 600 мм в год [1, с. 5]. Расстояние между исследуемыми районами составляет около 170 км.

Выделение биотопов происходило традиционно — на основе их физиономического своеобразия. В общей сложности было обследовано 9 физиономически различных биотопов, отличающихся местоположением и составом фитоценозов (табл. 1).

*Таблица 1.*

### Характеристика исследуемых биотопов

Район исследования	Название биотопа	Принятое в тексте сокращение
Севский район	Луг. Узколистномятlikово-тонкополевичное сообщество	УТС
	Опушка широколиственного леса	ОШС
	Луг. Репешково-узколистномятlikое сообщество	РУС
	Луг. Чертополохотимофееволуговое сообщество	ЧТС
	Луг. Полынно-узколистномятlikовое сообщество	ПУС
Дятьковский район	Разнотравный луг	РЛ
	Опушка широколиственного леса	ОШ
	Опушка елового леса	ОЕ
	Суходольный луг	СЛ

Для луговых биотопов в Севском районе были выполнены геоботанические описания травяной растительности (табл. 2) по традиционной методике [3, с. 23]. Латинские названия растений приведены согласно определителю растений Юго-Западного Нечерноземья России [5, с. 35-295].

*Таблица 3.*

**Экологические характеристики луговых сообществ**

Экологические характеристики	УТС	ЧТС	РУС	ПУС
Величина освещенности	7,2	6,8	7,0	7,9
Влажность почвы	4,4	6,3	5,0	4,3
Кислотность почвы	6,4	5,3	6,8	6,4
Обеспеченность почвы минеральным азотом	4,2	4,9	4,5	3,7

$\alpha$ -разнообразие булавоусых чешуекрылых характеризовалось с помощью следующих индексов: Шеннона-Уивера, Бергера-Паркера и Симпсона [6, с. 56 -59]. Значения расчетов представлены в таблице 4.

*Таблица 4.*

**Значение индексов разнообразия**

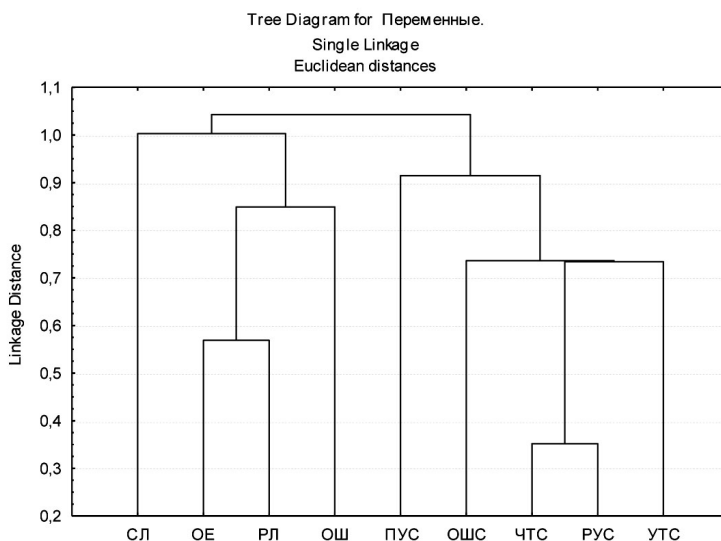
Биотоп / Индексы	УТС	ОШС	РУС	ЧТС	ПУС	РЛ	ОШ	ОЕ	СЛ
Шеннона-Уивера	2,45	2,00	2,56	2,24	2,14	2,66	3,27	2,93	1,78
Бергера-Паркера	0,59	0,68	0,54	0,63	0,53	0,36	0,30	0,33	0,58
Симпсона	0,37	0,48	0,32	0,40	0,32	0,22	0,15	0,18	0,39

Анализ индекса Шеннона-Уивера показывает, что самое большое видовое разнообразие характерно для опушки широколиственного леса в Дятьковском районе, что можно объяснить эффектом экотона, т. е. тенденцией к увеличению разнообразия и плотности организмов на грани биоценозов. Минимальное значение индекса отмечено для суходольного луга в Дятьковском районе, что можно объяснить преобладанием злаков в травяном покрове и рекреационной нагрузкой, которой подвергается фитоценоз. В Севском районе максимальные значения индекса Шеннона-Уивера отмечено для узколистномятликово-тонкополевичного и репешково-узколистномятликового сообществ, что может быть объяснено

флористическим составом данных биотопов. Бабочки предпочитают луговые сообщества с обилием цветущих растений [7, с. 59]. Второе сообщество расположено на южном склоне балки, что также является привлекательными для чешуекрылых из-за благоприятного температурного режима (большее количество солнечной энергии в течение дня и быстрый обогрев утром).

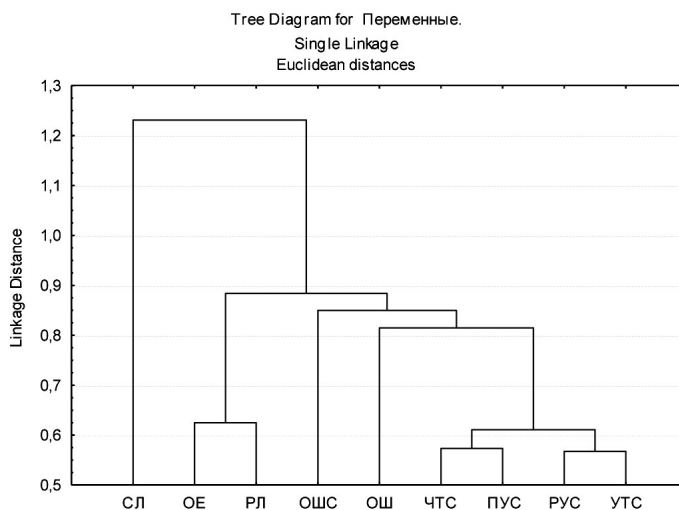
Индекс Симпсона слабо зависит от видового богатства и размера выборки, но он очень чувствителен к присутствию в выборке наиболее обильных видов. Индекс Бергера-Паркера — также слабо зависит от видового богатства, но на него влияет размер выборки. Увеличение значения данных индексов означает уменьшение разнообразия в сообществе. [7, с. 23]

$\beta$ -разнообразие было охарактеризовано при помощи индексов общности по качественным (индекс видового сходства биоценозов Жаккара) и количественным данным (коэффициент Серенсена) [6, с. 70-71]. Для определения сходства сообществ булавоусых чешуекрылых был использован показатель соответствия — евклидово расстояние и применен кластерный метод одиночного присоединения, реализованного в программе Statistica 6. 0. (Рис. 1, 2).



**Рисунок 1. Группировка биотопических групп булавоусых чешуекрылых Брянской области, индекс Жаккара**

На представленной дендрограмме четко выделяются группировки северного и южного районов Брянской области. Наиболее близки в фаунистическом отношении репешково-узколистномятликое сообщество и чертополохо-тимофееволуговое сообщества в Севском районе; опушка елового леса и разнотравный луг в Дятьковском районе, что может объяснить следующая дендрограмма.



**Рисунок 2. Группировка биотопических групп булавоусых чешуекрылых Брянской области, коэффициент Серенсена**

При учете количественных данных наибольшее сходство между узколистномятlikово-тонкополевичным и репешково-узколистномятlikовым сообществами в Севском районе, так как эти сообщества близки к друг другу в флористическом отношении и один является более сухим вариантом второго. В один кластер объединены луговые биотопы ( ЧТС, ПУС, РУС, УТС) и отдельно от них отстоит опушечное сообщество. Как и на предыдущей дендрограмме, сходны между собой опушка елового леса и разнотравный луг в Дятьковском районе. Но здесь четко отделен суходольный луг, так он подвергается рекреационной нагрузке и связанным с ней изменением растительного покрова данного местообитания.

Одним из факторов, определяющих альфа - и бета-разнообразие сообществ булавоусых чешуекрылых, является наличие взаимоотношений между цветковыми растениями и данной группой насекомых.

С одной стороны, высокой трофической специализацией гусениц бабочек и наличием кормовых растений в фитоценозе объясняется присутствие одних видов чешуекрылых и отсутствие других в данном сообществе. Но с другой стороны, имаго кормятся нектаром цветущих растений и, если в сообществе в период лета бабочек мало цветущих растений, то они могут перемещаться для питания в другие фитоценозы с большим обилием цветущих растений.

Поэтому видовой состав бабочек даже в однотипных местообитаниях может существенно различаться, и быть близким в различных сообществах расположенных рядом друг с другом.

Но не только растительность оказывает влияние на сообщества дневных чешуекрылых, природно-климатические условия региона играют в этом одну из ключевых ролей. Разница между северными и южными районами Брянской области по среднегодовой изотерме в 0,5°C уже оказывает влияние на сообщества и видовое разнообразие в исследуемых районах. Поэтому можно предположить, что с изменением климата, даже на незначительные величины, будет меняться состав сообществ беспозвоночных животных, особенно чешуекрылых.

Таким образом, мы можем принять высказанную нами гипотезу о влиянии растительности и природно-климатических условий региона на состав сообществ бабочек.

### **Список литературы:**

1. Атлас Брянской области. Москва, 1976, 48 с.
2. Бондаренко А. В. Дневные бабочки (Lepidoptera, Diurna) засушливых территорий северо-запада Алтае-Саянской горной страны: фауна и население: автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук. Новосибирск, 2011. 44 с.
3. Булохов А. Д. Типология лугов Брянской области. Брянск: Курсив, 2009. 219 с.
4. Булохов А. Д. Экологическая оценка среды методами фитоиндикации. Брянск: Изд-во Брян. гос. пед. ун-та, 1996. 104 с.
5. Булохов А. Д., Величкин Э. М. Определитель растений Юго-Западного Нечерноземья России. (Брянская, Калужская, Смоленская, Орловская области). Брянск: Издательство БГПУ, 1997. 320 с.
6. Лебедева Н. В., Дроздов Н. Н., Кривошук Д. А. Биоразнообразие и методы его оценки: учебное пособие. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1999. 95 с.
7. Татаринов А. Г., Долгин М. М. Видовое разнообразие булавоусых чешуекрылых на европейском Северо-Востоке России. СПб.: Наука, 2001. 244 с.
8. Butterfly monitoring scheme. Institute of terrestrial ecology. 1981. 14 p.
9. Samways Michael J., McGeoch Melodie A., New Tim R. Insect Conservation. Oxford University Press, 2010. 441 p.

## К ИЗУЧЕНИЮ ПРЭСНОВОДНОЙ МАЛАКОФАУНЫ РЕКИ БОЛЬШАЯ ГОЛУБАЯ

*Карпенко Роман Владимирович*

*канд. пед. наук, доцент ВГСПУ, г. Волгоград*

*E-mail: [kry1979@gmail.com](mailto:kry1979@gmail.com)*

Брюхоногие пресноводные моллюски (Gastropoda), представляют собой таксономически разнообразную, экологически пластичную и весьма широко распространенную группу гидробионтов, роль которых в жизни пресноводных экосистем огромна. Без изучения моллюсков невозможно ни комплексное исследование континентальных водоемов, ни решение таких важнейших практических задач, как профилактика трематодозов, оценка рыбохозяйственного значения водоемов, биомониторинг. Нередко Gastropoda составляют основу биомассы в сообществах донных беспозвоночных.

Ранее проводившиеся исследования гидробионтов реки Большая Голубая носили комплексный характер, как следствие, в них освещены общие сведения распределения зообентоса. В то же время, неизученными остаются фауна и экология многих групп животных, к числу которых относятся и брюхоногие моллюски.

Целью настоящей работы является изучение фауны и экологии пресноводных брюхоногих моллюсков реки Большая Голубая. В ходе исследования решались следующие задачи: определение видового состава, а также установление закономерностей распределения пресноводных брюхоногих моллюсков на разнотипных участках р. Большая Голубая.

Исследуемая река представляет собой правобережный приток реки Дон. Длина реки составляет 27 км., течет в юго-восточном направлении. Русло реки на значительном своем протяжении тянется по дну широкой балки, с выступами меловых пород. Условно реку можно разделить на два участка: верхнее и нижнее течение, обладающих различиями гидродинамического режима. В верхнем течении река маловодна с прозрачной, чистой водой, местами с участками шириной не более 1 метра. Дно реки на данном участке может варьировать от илисто-песчаного до выстланного меловым щебнем со сравнительно немногочисленным растительным компонентом.

Нижнее течение исследуемой реки представляет собой расширенные устьевые участки. Здесь, напротив, наблюдается значительное распространение макрофитов, как следствие, на данном



участке наблюдается скопление мертвой растительности и ила, уменьшающегося по мере удаления от места впадения. Таким образом, изучаемая река характеризуется широкой дисперсией экологических условий.

Сбор материала для настоящей работы осуществлялся в апреле-мае 2011 г. Пробы отбирались по стандартной методике сбора количественных бентосных проб при помощи гидробиологического скребка площадью  $0,025 \text{ м}^2$  в четырехкратной повторности до глубины 1,5 м на каждой станции, длина хода составляла 1 м каждый с исследуемого участка (Жадин 1952, Старобогатов и др. 2004). Численность моллюсков определялась площадным методом на площади  $1 \text{ м}^2$ , вручную выбирались все моллюски. Весь материал, за исключением пустых раковин, фиксировался 96%-ным спиртом. При описании факторов среды обитания, влияющих на распространение моллюсков, особое значение уделялось субстрату и гидродинамическому режиму [1, с. 85].

Всего в ходе исследования было обнаружено 15 видов гастропод, принадлежащих к 7 семействам: **Сем. Lymnaeidea:** *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758), *Lymnaea auricularia* (Linnaeus, 1758), *Lymnaea palustris* (Muller, 1774), *Lymnaea ovata* (Draparnaud, 1805), *Lymnaea intermedia* (Lamarck, 1822), *Lymnaea peregra* (Muller, 1774); **Сем. Valvatidae:** *Valvata ambigua* (Westerlund, 1873), *Valvata klinensis* (Milachevitch, 1881), *Valvata pulchella* (Studer, 1820), **Сем. Bithyniidae:** *Bithynia tentaculata* (Linnaeus, 1758); **Сем. Succineidae:** *Succinea putris* (Linnaeus, 1758); **Сем. Viviparidae:** *Viviparus viviparus* (Linnaeus, 1758); **Сем. Physidae:** *Costatella integra* (Haldeman, 1841); **Сем. Planorbidae:** *Planorbarius corneus* (Linnaeus, 1758), *Planorbarius purpura* (Muller, 1774) [4].

В верхнем течении реки средняя численность пресноводных моллюсков сравнительно невелика и равна 8 экз. на  $1 \text{ м}^2$ , что составляет 10,2 % от общей численности пресноводной малакофауны.

Качественная оценка сборов позволила установить, что видовой состав на данном участке представлен 6 видами, относящихся к 2 семействам: **Сем. Lymnaeidea:** *Lymnaea auricularia* (Linnaeus, 1758), *Lymnaea palustris* (Muller, 1774), *Lymnaea ovata* (Draparnaud, 1805), *Lymnaea intermedia* (Lamarck, 1822), *Lymnaea peregra* (Muller, 1774); **Сем. Planorbidae:** *Planorbarius corneus* (Linnaeus, 1758), соответственно, из брюхоногих моллюсков в рассматриваемых местообитаниях доминируют представители семейства Lymnaeidea.

Средняя численность гастропод в нижнем течении реки Большая Голубая, в зарослях макрофитов, составляют 70 экз. на  $1 \text{ м}^2$ , что

составляет 89,8 % от общей численности пресноводных гастропод исследуемой реки. В видовом отношении данный участок реки характеризуется сравнительно большим таксономическим многообразием и представлен 14 видами, таким образом, из общего видового списка нами не были обнаружены только представители вида *Lymnaea intermedia* (Lamarck, 1822). Из обнаруженных видов наиболее многочисленными являются *Valvata klinensis* (Milachevitch, 1881) и *Viviparus viviparus* (Linnaeus, 1758), где на отдельных участках их численность достигала 43 и 80 экз. м<sup>2</sup>. Соответственно [2, с. 41].

Анализ таксономического разнообразия пресноводной малакофауны на обоих исследуемых участках позволил выявить следующие закономерности.

Низкие количественные показатели брюхоногих пресноводных моллюсков в верхнем течении реки Большая Голубая обусловлены особенностями гидродинамического режима водоема и комплексом экологических условий на данном участке. Отметим, что в верхнем течении нами были обнаружены представители моллюсков исключительно с легочным типом дыхания, что, в том числе, указывает на наличие у данных видов адаптаций к обитанию в условиях мелководных водоемов.

Течение, как фактор отбора фауны, проявляется в прямой связи с другими факторами. Дно водоема, состоящее из мягких пород, участки с песчаным субстратом, легко размываемых течением, оказывают существенное влияние на распространение моллюсков, в таких условиях их обитание оказывается весьма затруднительным, поскольку динамический речной поток переносит большое количество песка, органического детрита и т. п. С увеличением скорости потока вес переносимых им частиц значительной величины увеличивается, что может повысить вероятность гибели жаберных моллюсков [3, с. 197].

Еще одним вероятным препятствием к обитанию на исследуемых участках в верховьях реки может являться сравнительно невысокое развитие высшей водной растительности, являющейся основной средой обитания и источником пищи для многих пресноводных моллюсков, а, как следствие, возрастающей конкуренцией со стороны других групп гидробионтов населяющих данный водоем.

Максимальные значения численности и видового разнообразия гастропод наблюдаются в нижнем течении реки. Такое разнообразие пресноводной малакофауны, на наш взгляд, можно объяснить наличием следующих оптимальных условий обитания для данной группы: участок реки окружен деревьями и кустарниками,

защищающими водоем от неблагоприятных воздействий; присутствие многочисленной растительности обеспечивает приемлемую кормовую базу, учитывая, что большинство встреченных видов являются фитофагами, при этом, данное обстоятельство гарантирует насыщение водоема кислородом, требуемое для благоприятного роста и развития моллюсков. Указанные особенности находят подтверждение в том, что доминирующими по численности видами здесь являются представители подкласса Pectinibranchia (Переднежаберные), чувствительные к недостатку растворенного в воде кислорода.

Таким образом, пресноводная малакофауна реки Большая Голубая представлена 15 видами, максимальные значения численности и видового разнообразия гастропод наблюдаются в нижнем течении реки, минимальная - в верхнем. Наиболее многочисленными являются представители подкласса Pectinibranchia, что, очевидно, обусловлено наличием ряда оптимальных условий для их существования.

#### **Список литературы:**

1. Жадин В. И. Пресноводные моллюски СССР. Л.: Ленснабтехиздат, 1933. — 232 с.
2. Кантор Ю. И., Сысоев А. В. Каталог моллюсков России и сопредельных стран. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2005. — 627 с.
3. Старобогатов Я. И. Фауна моллюсков и зоогеографическое районирование континентальных водоемов земного шара. Л.: Наука, 1970. — 372 с.
4. Цаллолихин С. Я. Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий, СПб.: Наука, 2004. — 528 с.

## 1.5. МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ

### КАЧЕСТВО ПРОДОВОЛЬСТВЕННОГО СЫРЬЯ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И ЗДОРОВЬЕ НАСЕЛЕНИЯ ИВАНОВСКОЙ ОБЛАСТИ

*Яковенко Наталия Владимировна*

*канд. геогр. наук, доцент, ФГБОУ ГОУВПО «ШГПУ», г. Шуя*

*Туркина Елена Петровна*

*аспирант ФГБОУ ГОУВПО «ШГПУ», г. Шуя*

*E-mail: [n.v.yakovenko71@gmail.com](mailto:n.v.yakovenko71@gmail.com)*

Обеспечение здоровья населения страны — одно из приоритетных направлений деятельности Государства. Правильное питание способствует профилактике заболеваний, продлению жизни, созданию условий для повышения способности организма противостоять неблагоприятным воздействиям окружающей среды, обеспечивает нормальный рост и развитие детей. Одним из важных факторов, влияющих на состояние здоровья населения области и уровень заболеваемости, является качество питания и, прежде всего, загрязнение продовольственного сырья и продуктов питания потенциально опасными токсическими веществами. Оценка структуры питания, влияния его на состояние здоровья, рационализация питания, контроль за безопасностью продовольственного сырья и пищевых продуктов на этапах производства и оборота для предупреждения инфекционных и массовых неинфекционных заболеваний, связанных с питанием, — приоритетные задачи в работе государственной санитарно-эпидемиологической службы.

Безопасность пищевых продуктов в микробиологическом и радиационном отношении и по содержанию химических загрязнителей определяется их соответствием гигиеническим нормативам, установленным Санитарными правилами [1]. Определение показателей безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов, в том числе биологически активных добавок к пище смешанного состава производится по основному виду сырья как по массовой доле, так и по допустимым уровням нормируемых контаминантов, а для сухих, концентрированных или разведенных пищевых продуктов — в

пересчете на исходный продукт с учетом содержания сухих веществ в сырье и в конечном продукте.

Гигиенические нормативы распространяются на потенциально опасные химические соединения и биологические объекты, присутствие которых в пищевых продуктах не должно превышать допустимых уровней их содержания в заданной массе (объеме) исследуемого продукта.

Во исполнение постановления Правительства Российской Федерации от 22.11.2000 г. № 833 «О мониторинге качества, безопасности пищевых продуктов и здоровья населения», в Ивановской области с 2001 г. осуществляется мониторинг качества, безопасности пищевых продуктов и состояния здоровья населения. За последние годы уровень соответствия продовольственного сырья и пищевых продуктов заданным требованиям [2] в целом относительно стабилизировался.

При исследовании состояния питания различных групп населения Ивановской области установлено избыточное потребление жиров, при дефиците полиненасыщенных жирных кислот. Выявлено недостаточное потребление овощей, фруктов, цельного молока, молочных продуктов, яиц, мясопродуктов — основных источников белка, незаменимых аминокислот, витаминов и минеральных веществ. В структуре питания преобладают картофель, крупяные, макаронные и хлебобулочные изделия.

Таким образом, складывается преимущественно углеводная модель питания при недостатке белков животного происхождения. Кроме того, из-за постоянного роста цен пищевые продукты приобретаются населением без учета их биологической ценности, что приводит к еще большему дефициту белка, витаминов и микроэлементов. В 2009 году в сравнении с 2008 годом заболеваемость взрослого населения Ивановской области снизилась только по анемиям и ожирению.

Повышение заболеваемости взрослого населения отмечается по ишемической болезни сердца, болезням эндокринной системы, расстройствам питания, нарушению обмена веществ, болезням системы пищеварения, в том числе по язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки, гастриту и дуодениту и повышению кровяного давления (табл. 1)

*Таблица 1.*

**Заболеваемость населения Ивановской области по основным группам неинфекционных заболеваний**

Заболевания	Заболеваемость на 100 тыс. населения									
	Взрослые					Дети (0 – 14 лет)				
	2005	2006	2007	2008	2009	2005	2006	2007	2008	2009
Повышенное кровяное давление	6595,8	7280	7280	8762	10317	66,6	50	50	48	72
Ишемическая болезнь сердца, без гипертензии	3956,4	4090	4090	3822	3898	—	—	—	—	—
Анемия	522,4	600	600	652	601	1807,1	1770	1870	1807	1671
Болезни эндокринной системы, расстройства питания, нарушения обмена веществ	4352,7	6830	6830	4922	5212	4627	5020	4580	3948	4292
Болезни системы Пищеварения	5621,1	5530	5530	5228	6663	10422,5	11620	12370	11748	11806
Язва желудка и 12-перстной кишки	1685,9	1360	1360	1197	1256	78,1	70	70	57	58
Ожирение	220	760	760	610	474	640,7	600	610	706	680
Гастрит и дуоденит	1656,1	1680	1680	1599	1605	2301,7	2180	2190	2139	1924

Отрицательная динамика по заболеваемости детского населения в 2009 году отмечается только по анемиям, гастриту, дуодениту и ожирению.

По остальным заболеваниям отмечается повышение заболеваемости детского населения. В целом можно сказать о том, что пищевая и энергетическая ценность рациона на душу населения Ивановской области не соответствует рекомендуемой по низкому содержанию белков, жиров и углеводов, в том числе белков и жиров животного происхождения, что приводит к появлению избыточной массы тела и ожирению, способствует развитию анемии, атеросклероза и таких заболеваний, как ишемическая болезнь сердца, инфаркты миокарда, гипертоническая болезнь, инсульты.

Качество продовольственного сырья и пищевых продуктов по санитарно-химическим показателям в сравнении с 2008 г. ухудшилось, удельный вес неудовлетворительных проб увеличился с 1,8% в 2008 г. до 3,5% в 2009 г. Удельный вес неудовлетворительных проб импортной продукции также возрос с 1,8% в 2008 году до 4,2% в 2009 г. Наибольший удельный вес неудовлетворительных проб по санитарно-химическим показателям отмечается в Заволжском (28%), Кинешемском (16%), Родниковском (7%), Фурмановском (7%) районах и г. г. Кинешма (10%) и Иваново (4%) при среднеобластном показателе 3,5%. Улучшение качества пищевых продуктов по санитарно-химическим показателям отмечается в Ивановском (с 4% до 0%), Комсомольском (с 8% до 0%), Приволжском (с 2% до 1%) и Пучежском (с 9% до 0%) районах. Ухудшение качества пищевых продуктов по санитарно-химическим показателям отмечается в г.г. Кинешма (с 8% до 10%), Иваново (с 1% до 4%), Кинешемском (с 2% до 16%), Заволжском (с 9% до 28%), Юрьевецком (с 2% до 3%), Родниковском (с 5% до 7%) и Фурмановском (с 3% до 7%) районах. При анализе присутствия различных токсикантов в продуктах питания в количествах, превышающих гигиенические нормативы, установлено, что в период с 2001 г. по 2009 г. такие пробы отсутствовали. В 2006 г. удельный вес таких проб составил 0,2% за счет 2 проб вина производства Молдавии, где был обнаружен свинец в количествах, превышающих гигиенические нормативы. Ежегодно регистрируется незначительное число проб, в которых загрязнителем являются нитраты. Удельный вес таких проб в 2009 г., в сравнении с 2008 г., увеличился до 1,7% (табл. 2).

*Таблица 1.*

**Удельный вес проб продуктов питания, не отвечающих гигиеническим нормативам по санитарно-химическим показателям**

<b>Контаминанты</b>	<b>2005</b>	<b>2006</b>	<b>2007</b>	<b>2008</b>	<b>2009</b>
Ртуть	—	—	—	—	—
Микотоксины	—	—	—	—	—
Кадмий	—	—	—	—	—
Свинец	—	0,2	—	—	—
Пестициды	—	—	—	—	—
Токсичные элементы	—	—	—	—	—
Нитрозамины	—	—	—	—	—
Нитраты	—	0,8	0,4	0	1,7
Всего по санитарно-химическим показателям	3	3,7	2,8	1,8	3,5

При лабораторном контроле из года в год отмечается несоответствие гигиеническим нормам полученных показателей йодированной соли на предприятиях торговли и общественного питания, детских и лечебно-профилактических учреждениях. Необходимо отметить, что в 2009 г. эти показатели ухудшились во всех учреждениях. В то время как процент неудовлетворительных проб импортной йодированной соли снизился.

### **Список литературы:**

1. Безопасность продовольственного сырья и пищевых продуктов// Бирюкова М. В., Гернет М. В., Еделев Д. А. и др.- М., 2010. — 27 с.
2. Продовольственное сырье и пищевые продукты. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы. СанПиН 2.3.2.1078-01.



## 1.6. МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

### ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ИНГИБИТОРА СЕРИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ КУНИТЦ-ТИПА INHVJ ИЗ ТРОПИЧЕСКОЙ АКТИНИИ HETERACTIS CRISPA

**Чаусова Виктория Евгеньевна**

*м. н. с. ТИБОХ ДВО РАН, г. Владивосток*

*E-mail: [y.chausova@gmail.com](mailto:y.chausova@gmail.com)*

**Табакмахер Валентин Михайлович**

*аспирант ТИБОХ ДВО РАН, г. Владивосток*

*E-mail: [tabval@yandex.ru](mailto:tabval@yandex.ru)*

*Работа была выполнена в рамках госконтракта №16.512.11.2271 и поддержана грантом РФФИ №11-04-01179.*

Выполнено клонирование и проведена функциональная экспрессия гена, кодирующего ингибитор сериновых протеиназ Кунитц-типа InhVJ, в клетках *E. coli*. Получен рекомбинантный ингибитор rInhVJ идентичный по своим физико-химическим характеристикам природному аналогу.

Ключевые слова: актиния, ингибитор протеиназ Кунитц-типа, функциональная экспрессия, рекомбинантный белок.

Исследование структурно-функциональных взаимосвязей полипептидов, структурно гомологичных ингибиторам протеиназ Кунитц-типа, является бурно развивающимся направлением современной биоорганической химии и ряда смежных наук. Это связано с уникальной ролью ингибиторов протеиназ в белковом обмене живых организмов, осуществляемой на уровне регуляции протеолитической активности протеиназ [3].

Около двадцати лет назад было установлено, что наряду с ингибированием активности сериновых протеиназ некоторые представители полипептидов семейства Кунитца, выделенные из ядовитых секретов пресмыкающихся, насекомых, моллюсков, а также кишечнорастворимых, обладают уникальной способностью модифицировать потенциал-зависимые калиевые Kv1.1, Kv1.2, и

кальциевые  $\text{Ca}^{2+}$ , участвующие во многих важных физиологических процессах организма [2].

Изучение природы полифункциональности полипептидов Кунитц-типа является актуальной задачей, поскольку с их функциями связан огромный потенциал полипептидов и как инструментов исследования биологических мишеней, и как селективных фармакологических препаратов направленного действия. Настоящая работа является частью исследований, проводимых в Тихоокеанском институте биоорганической химии ДВО РАН по изучению структуры и функции биологически активных полипептидов актиний.

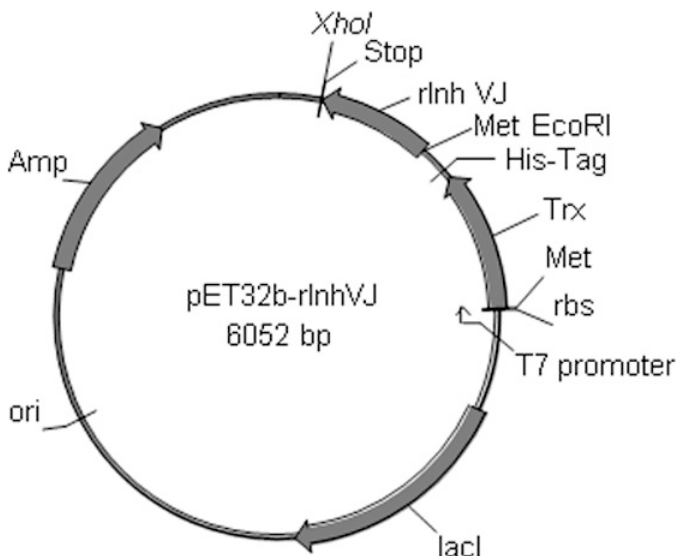
Ранее из тропической актинии *H. crispa* (= *Radianthus macrodactylus*) сотрудниками лаборатории химии пептидов ТИБОУ ДВО РАН был выделен и охарактеризован нативный ингибитор сериновых протеиназ InhVJ, являющийся представителем семейства ингибиторов протеиназ Кунитц-типа [6].

Цель настоящей работы — создать экспрессионную конструкцию для функциональной экспрессии и оптимизировать условия выделения рекомбинантного ингибитора сериновых протеиназ rInhVJ Кунитц-типа.

Природный ингибитор InhVJ не доступен в препаративных количествах, поэтому для дальнейшего исследования была создана экспрессионная конструкция для получения его рекомбинантного аналога. Для создания экспрессионного вектора предпочтение было отдано вектору pET-32b(+), который, как известно, позволяет обеспечить правильную укладку рекомбинантного белка [5]. В качестве белка-партнера был выбран хорошо растворимый тиоредоксин (Trx), который обеспечивает наиболее высокий выход слитного (химерного) белка в растворе и правильность замыкания дисульфидных связей у цистеин-богатых белков [4], поскольку нативный InhVJ содержит в своей структуре 3 дисульфидные связи.

Ранее методами молекулярной биологии с использованием ген-специфичных праймеров была установлена нуклеотидная последовательность, а на ее основе выведена аминокислотная последовательность, кодирующая зрелый полипептид HCGS\_1.27., идентичный нативному ингибитору Inh VJ. Далее нуклеотидная последовательность полипептида HCGS\_1.27. (rInh VJ), содержащая на N-конце сайт для EcoRI рестриктазы, кодон метионина (Met) для последующего расщепления бромцианом (BrCN), а на C-конце - сайт для XhoI рестриктазы и стоп кодон (TAA), была субклонирована по сайтам рестрикции EcoRI и XhoI в составе T7-контролируемого оперона в вектор pET32b(+) (рис. 1). В связи с тем, что

аминокислотная последовательность природного Inh VJ не содержит остатков Met, по которому происходит расщепление BrCN конечного слитного белка (метод химического расщепления пептидной связи бромцианом [1]), этот остаток был добавлен перед последовательностью зрелого rInh VJ.

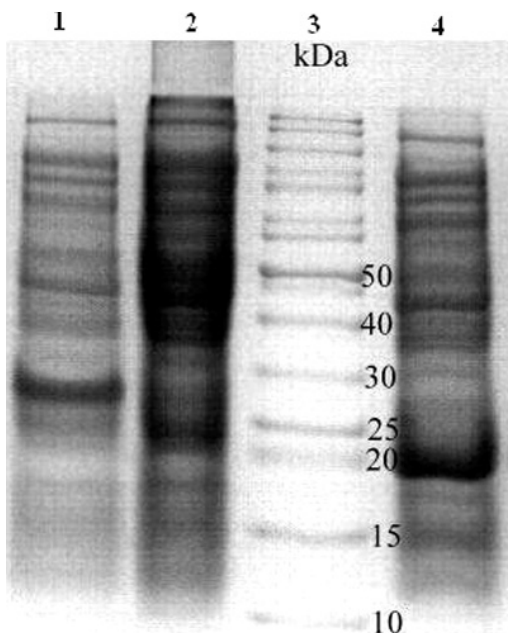


**Рисунок 1. Физическая карта плазмиды pET-32b(+)-rInh VJ.**

Функциональную экспрессию rInhVJ проводили в клетках *E. coli* штамма BL21(DE3) в составе слитного (гибридного) белка, содержащего последовательность Trx и полигистидиновый участок, аффинно связывающийся с Ni<sup>2+</sup>-содержащей смолой, для прокариотической экспрессии в виде растворимого химерного белка. Экспрессию химерного (гибридного, слитного) Trx-rInh VJ белка индуцировали добавлением изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозидом (ИПТГ).

В результате серии экспериментов были подобраны оптимальные условия для экспрессии слитного белка Trx-rInhVJ в растворимом виде и с высоким выходом: концентрация индуктора составила 0.2 мМ, температура инкубации культуры — 25°C, время инкубации — 12-14 часов. Электрофоретическое разделение в ДСН-ПААГ показало, что молекулярная масса продуцировавшегося гибридного белка Trx-rInhVJ составила 26512.6 Да, которая соответствовала расчетным данным (26512.6 Да) (рис. 2). Уровень экспрессии системы pET32b-rInhVJ в

BL21(DE3) (общий выход) составил 16 мг гибридного белка с 1 литра клеточной культуры, что соответствует средней продуктивности рЕТ-системы.



**Рисунок 2. Электрофореграмма результатов экспрессии гибридного белка Trx-rInhVJ. Дорожка 1 — pET32b-rInhVJ; 2 — контроль (pET32b-rInh VJ без добавления ИПТГ); 3 — белки-стандарты молекулярной массы; 4 — контроль pET32b(+)-Trx.**

Гибридный белок Trx-rInh VJ выделяли из растворимой фракции клеточного лизата на  $\text{Ni}^{2+}$ -сорбенте в нативных условиях. Расщепление слитного белка на белок-носитель (Trx) и целевой полипептид (rInhVJ) по Met проводили бромцианом в 0.5 М HCl по стандартной методике [1]. Целевой полипептид rInhVJ выделяли из гидролизата при помощи обращенно-фазовой ВЭЖХ чистоту и молекулярную массу определяли с помощью MALDI-TOF MS масс-спектрометрии. Было установлено, что нативный и рекомбинантный полипептид имеет одинаковую хроматографическую подвижность и значение молекулярной массы (6112.6 Да). Выход целевого rInhVJ, согласно экспериментальным данным, составил 8 мг с 1 литра клеточной культуры. В настоящее время

проводиться наработка рекомбинантного полипептида InhVJ с целью дальнейшего выяснения его биологической (в частности, ингибиторной и канал-модулирующей) активностей.

Таким образом, была получена экспрессионная конструкция гена ингибитора сериновых протеиназ Кунитц-типа, доказана способность системы BL21(DE3) — pET32b-rInh VJ продуцировать гибридный белок Trx-rInh VJ в растворимом виде, подобраны оптимальные условия для его экспрессии и выделен рекомбинантный ингибитор rInh VJ, идентичный по своим физико-химическим характеристикам нативному полипептиду.

### **Список литературы:**

1. Andreev Y. A., Kozlov S. A., Vassilevski A. A., Grishin E. V. Cyanogen bromide cleavage of proteins in salt and buffer solutions // *Anal. Biochem.* 2010. V. 407. P. 144-146.
2. Fry B. G., Roelants K., Champagne D. E., Scheib H., Tyndall J. D., King G. F., Nevalainen T. J., Norman J. A., Lewis R. J., Norton R. S., Renjifo C., de la Vega R. C. The toxicogenomic multiverse: convergent recruitment of proteins into animal venoms // *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 2009. V. 10. P. 483–511.
3. Joanitti G. A., Freitas S. M., Silva L. P. Proteinaceous Protease Inhibitors: Structural Features and Multiple Functional Faces. *Current Enzyme Inhibition* 2006. V. 2. P. 199-217.
4. McCoy J., Lavallie E. Expression and purification of thioredoxin fusion proteins // *Curr. Protoc. Mol. Biol.* 2001 Chapter 16: Unit16.8.
5. pET System Manual, Novagen. 10th Edition Rev. 2003.
6. Sokotun I. N., Leichenko E. V., Vakorina T. I., Es'kov A. A., Il'ina A. P., Monastyrnaia M. M., Kozlovskaja E. P. A serine protease inhibitor from the anemone *Radianthus macrodactylus*: isolation and physicochemical characteristics // *Bioorg. Khim.* 2007. V. 33. P. 448–455.

## 1.7. ФИЗИОЛОГИЯ

### **ВЛИЯНИЕ НИТРАТОВ НА РАЗВИТИЕ НЕВРОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ, ВЫЗВАННЫХ ИШЕМИЕЙ МОЗГА, У КРЫС**

***Кузенков Виктор Сергеевич***

*канд. биол. наук., лаборант-инженер I-категории МГУ, г. Москва  
E-mail: [kouzenkov@mail.ru](mailto:kouzenkov@mail.ru)*

***Крушинский Алексей Леонидович***

*канд. биол. наук., научный сотрудник МГУ, г. Москва  
E-mail: [krushinsky@pochta.ru](mailto:krushinsky@pochta.ru)*

***Реутов Валентин Палледиевич***

*д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник института ВНД и  
нейрофизиологии РАН, г. Москва  
E-mail: [valeninreutov@mail.ru](mailto:valeninreutov@mail.ru)*

***Курилина Татьяна Андреевна***

*Старший лаборант МГУ, г. Москва  
E-mail: [k\\_staty@yahoo.com](mailto:k_staty@yahoo.com)*

*Работа поддержана грантом РФФИ № 09-04-00481.*

Нитраты применяются в медицине несколько тысячелетий. В средние века они применялись для лечения различных заболеваний: они были предписаны как противогрибковое и противовоспалительное средство, применялись как мочевой антисептик и мочегонное средство, для лечения оспы, бубонной чумы и лихорадки, использовались как успокаивающие агенты против конвульсий, для лечения сердечнососудистых заболеваний [22; 23]. Но, несмотря на тысячелетнюю терапевтическую историю применения нитратов, до сих пор в современном обществе существует неоднозначное отношение к нитратам. Это, прежде всего, связано с демонстрацией канцерогенного эффекта этих веществ и случаями метгемоглобинемии, особенно у младенцев [12; 20].

Нитраты могут поступать в организм не только с пищей и водой, но и образовываться эндогенно. Большие концентрации нитратов, нитритов и оксида азота обнаруживается при многих заболеваниях, особенно при различных патологиях мозга, в частности при инсультах [11; 19]. Эти вещества в организме способны участвовать в циклических взаимопревращениях [5; 24]. Оксид азота (NO) может образовываться не только из L-аргинина, но и из ионов  $\text{NO}_2^-$ , которые восстанавливаются в NO при участии металлсодержащих белков (нитритредуктаз.). Ионы  $\text{NO}_2^-$ , в свою очередь, могут образовываться путем восстановления ионов  $\text{NO}_3^-$  под действием нитратредуктаз [15]. В условиях дефицита кислорода, которым сопровождается ишемия мозга, такой ряд трансформации  $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}$  протекает особенно интенсивно [9; 18].

Свои повреждающие и терапевтические свойства нитраты и нитриты реализуют в основном через оксид азота, который также образуется эндогенно из аминокислоты L-аргинина под действием NO-синтаз [10]. Оксид азота важный регулятор разнообразных физиологических функций у человека и животных, как в норме, так и патологии [1; 20]. Оксид азота участвует в синаптической передаче, ингибирует агрегацию тромбоцитов, играет роль активного вазодилататора, что особенно важно при ишемии мозга [2; 14]. В условиях избыточного синтеза NO обладает нейротоксическими свойствами [1; 16].

В предыдущих исследованиях нами было установлено, что в зависимости от дозы NO-генерирующего соединения (нитрит натрия) оксид азота может оказывать как защитный так и ухудшающий эффект на развитие стрессорных повреждений у крыс линии КМ в условиях акустической экспозиции [6]. Выше было отмечено, что интенсивное превращение нитратов в нитриты и NO осуществляется в условиях гипоксии/ишемии, которые активируют нитрат/нитритредуктазы [3; 21]. Но, на активность нитрат/нитритредуктаз влияют также катионы моновалентных и двухвалентных металлов, сопутствующие аниону. Падение нитратредуцирующей активности отмечено в ряду:  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}_2^+$ ,  $\text{Ca}_2^+$ ,  $\text{Ba}_2^+$  [8]. Поэтому можно предположить, что NO-генерирующие соединения (нитриты и нитраты) могут проявлять противоположные эффекты не только от дозы соединения, но и от катиона, сопутствующего аниону.

Целью настоящей работы явилось сравнительное изучение влияния нитрата калия и нитрата натрия минут до окклюзии 2-х сонных артерий, на динамику неврологических нарушений и смертность животных в результате ишемии мозга, вызванной двухсторонней окклюзией общих сонных артерий.

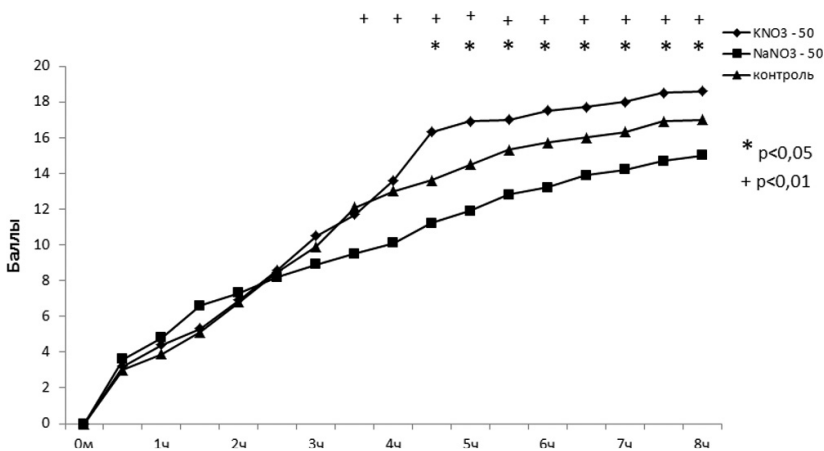
## Материалы и методы исследований

В опытах использовали 75 самцов крыс линии Wistar массой 100-130 г. Все группы животных составляли крысы с неполной глобальной ишемией мозга. Для создания дефицита кровоснабжения мозга применяли классическую модель неполной глобальной ишемии, вызванной одномоментной двусторонней перевязкой общих сонных артерий [13]. Крысам под эфирным наркозом отсепаровывали и перевязывали общие сонные артерии. Первой опытной группе ( $\text{KNO}_3$ -50) вводили нитрат калия ( $\text{KNO}_3$ ) в дозе 50 мг/1000 г внутривентриально за 60 минут перед окклюзией 2-х сонных артерий,  $n=25$ . Второй опытной группе крыс ( $\text{NaNO}_3$ -50) вводили нитрат натрия в дозе 50 мг/1000 г внутривентриально за 60 минут до окклюзии 2-х сонных артерий,  $n=25$ . Третью группу составляли контрольные животные (контроль),  $n=25$ , которым вводили физиологический раствор (0,9% NaCl) в эквивалентном количестве. Длительность операции составляла не более 10 мин., затем крысы быстро восстанавливались после эфирного наркоза. После операции животных помещали в отдельные клетки и визуально оценивали динамику развития неврологического дефицита в баллах по методике бальной оценки неврологического состояния крыс после двухсторонней перевязки общих сонных артерий [7]. Основные признаки неврологических нарушений включали ограничение подвижности животного, птоз, гиперактивное поведение, насильственные движения (вращения, прыжки, судорожные и вращательные припадки), парезы конечностей, кому и смерть. По шкале бальной оценки легкая степень неврологической симптоматики составляет 0—3 баллов (состояние, близкое к норме); средняя степень — 3—6 баллов; тяжелая степень 7—24 балла; 25 баллов — смерть. Неврологический дефицит отдельно взятого животного оценивали через каждые 30 мин в течение 8 часов. Суммарный балл неврологического дефицита по каждому промежутку времени усредняли для всех животных в группе. На основе полученных данных строили графики динамики неврологических нарушений, отложив по оси ординат баллы, по оси абсцисс — время. Оценка летальности проводили по гистограммам, отражающим процент выживших и умерших животных. Для статического анализа полученных данных по динамике неврологического дефицита использовали непараметрический тест Манна-Уитни с использованием компьютерной программы «Statistika 6». Для оценки летальности неврологических проявлений применяли критерий Фишера.



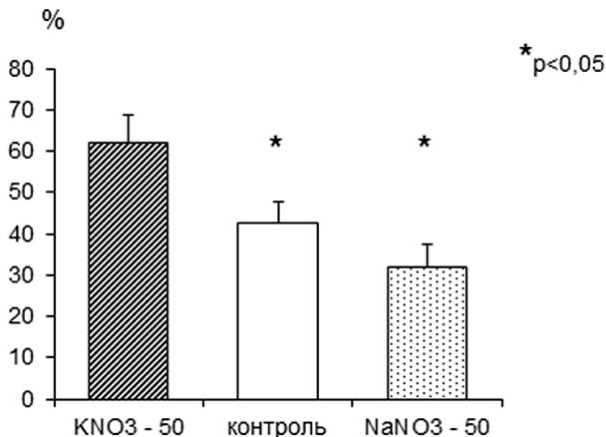
## Результаты исследований и их обсуждение

Нитрат калия и нитрат натрия оказали разнонаправленное воздействие на ишемию мозга крыс линии Вистар. У животных, которым вводили  $KNO_3$  в дозе 50 мг/1000 г, наблюдалось достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение неврологического дефицита по сравнению с контрольными крысами на временном интервале 370 - 480 мин. (рис. 1). Напротив, у крыс, которым вводили  $NaNO_3$  в дозе 50 мг/1000 г, наблюдалось достоверное ( $p < 0,05$ ) уменьшение неврологической симптоматики по сравнению с контрольными крысами на временном интервале 270-480 мин. (рис. 1). Динамика неврологических нарушений у крыс 1-й опытной группы по сравнению с крысами 2-й опытной группы было более интенсивной. Так, на временном интервале 210—480 мин. интенсивность нарастания неврологического дефицита у крыс 1-й опытной группы было достоверно выше ( $p < 0,01$ ), чем у крыс 2-й группы (рис. 1). Смертность во 2-й опытной группе животных была достоверно ниже ( $p < 0,05$ ), чем в контрольной группе и во 2-й опытной группе (рис. 2).



**Рисунок 1. Влияние  $KNO_3$  (50 мг/1000 г) и  $NaNO_3$  (50 мг/1000 г) на развитие неврологических нарушений при неполной глобальной ишемии мозга.**

$KNO_3$ -50 — в дозе 50 мг/1000 г, n=25;  $NaNO_3$ -50 –  $NaNO_3$  в дозе 50 мг/1000 г, n=25; контроль, n=25; \*  $p < 0,05$  — достоверность различий между группами  $KNO_3$ -50 и контроль, +  $p < 0,01$  достоверность различий между группами  $KNO_3$ -50 и  $NaNO_3$ -50.



**Рисунок 2. Влияние  $KNO_3$  (50 мг/1000 г) и  $NaNO_3$  (50 мг/1000 г) на смертность крыс при неполной глобальной ишемии мозга.**

$KNO_3$ -50 — в дозе 50 мг/1000 г, n=25;  $NaNO_3$ -50 –  $NaNO_3$  в дозе 50 мг/1000 г, n=25; контроль, n=25; \* p<0,05 — достоверность различий между группами  $KNO_3$ -50 и контроль и между группами  $KNO_3$ -50 и  $NaNO_3$ -50.

Таким образом, нами было показано разнонаправленное влияние нитрата калия в дозе 50 мг/1000 г и нитрата натрия в дозе 50 мг/1000 г на развитие неврологических нарушений и смертность животных, вызванных одномоментной двусторонней перевязкой общих сонных артерий. Известно, что окклюзия двух сонных артерий вызывает развитие острой церебральной ишемии и запускает каскад патобиохимических реакций в головном мозге, вызывая повреждения нейронов и глии [13]. Протекторное влияние нитрата натрия в дозе 50 мг/1000 г можно объяснить тем, что в условиях гипоксии/ишемии мозга умеренно возрастает ферментативная активность нитратредуктаз и нитритредуктаз, которые осуществляют цепь превращений  $NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO$  [17]. Оксид азота, являясь сильным вазодилататором, способен увеличивать скорость кровотока в мозге, ингибировать агрегацию тромбоцитов [4; 9]. Индуцируется пространственное перераспределение белков из растворимого в мембранно-связанное состояние. При этом может значительно увеличиваться как стабильность этих белков, так и стабильность мембран. Также могут активироваться многие ферментные системы, включая ферменты гликолиза, участвующие в синтезе АТФ [5], что также может снижать последствия ишемии и гипоксии мозга, возникающие в результате перевязки сонных артерий.

Негативное влияние нитрата калия в дозе 50 мг/1000 г вероятно связано с тем, что ионы калия усиливают нитрат/нитритредуктазную активность, приводящую к избыточному синтезу NO, приводящему к усилению образования метгемоглобина, уменьшению кислородной емкости крови [5, 6]. Кроме того усиленное образование оксида азота может способствовать усилению свободно-радикальных процессов и повреждению мембран нервных и эндотелиальных клеток [5]. В результате усиливаются патологические процессы в мозге обусловленные перевязкой сонных артерий.

### Список литературы:

1. Каменский А. А., Савельева К. В. Оксид азота и поведение. — 2002. М. 120 с.
2. Крушинский А. Л., Кузенков В. С., Дьяконова В. Е., Реутов В. П. Влияние ингибиторов индуцибельной и нейрональной NO-синтаз на развитие аудиогенных стрессорных повреждений у крыс линии Крушинского-Молодкиной. // Бюлл. эксп. биол. и мед. — 2010. Т. 150. №7 — С. 38-41.
3. Кузенков В. С., Крушинский А. Л., Реутов В. П. Влияние нитрата натрия на развитие неврологического дефицита у крыс при неполной глобальной ишемии мозга. // Вестн. Моск. Ун-та. — 2011. Сер.16. Биология. №1 — С. 3-6.
4. Марков Х. М. Окись азота и окись углерода — новый класс сигнальных молекул. // Успехи физиол. наук. — 1996. Т. 27. №4 — С. 30-43.
5. Реутов В. П., Сорокина Е. Г. NO-синтазная и нитритредуктазная компоненты цикла оксида азота. // Биохимия. — 1998. Т. 63. №7. — С. 1029-1040.
6. Реутов В. П., Кузенков В. С., Крушинский А. Л., Кошелев В. Б., Рясина Т. В., Левшина И. П., Шуйкин Н. Н., Косицын Н. С., Айрапетянц М. Г. Развитие стрессорных повреждений у крыс линии Крушинского-Молодкиной, генетически предрасположенных к судорожным припадкам, при действии NO-генерирующего соединения и бокатора NO-синтазы. // Известия НАН Беларуси, сер. мед.-биол. Наук. News of Biomedical Sciences. 2002. №1. С. 5-10.
7. Саркисов К. Ю., Опиц Б., Оеме П. Влияние фрагмента субстанции P. (3-4) на течение ишемии мозга у крыс с разным типом поведения. // Бюлл. эксп. биол. и мед. — 1996. Т. 121. №4 — С. 399-403.
8. Храмов В. А., Комарова В. И., Темкин Э. С. Антибиотики как ингибиторы нитратредуктазы ротовой жидкости человека. // Стоматология. — 2000. №2. — С. 4-5.
9. Bolan J. P., Almeida A. Roles of nitric oxide in brain hypoxia-ischemia. Review. // Biochimica et Biophysica Acta. — 1999. №1411 — С. 415-436.
10. Bryan N. S. Nitrite in nitric oxide biology: Cause or consequence? A systems-based review. // Free Radic Biol Med. — 2006. №41 — С. 691-701.
11. Chen S. M., Swilley S., Bell R., Rajanna S., Reddy S. L., Rajanna B.. Lead induced alterations in nitrite and nitrate levels in different regions of the rat brain. // Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. — 2000. Т. 125. № 3 — С. 315-323.

12. Hogg N. Biological chemistry and clinical potential of S-nitrosothiols. // *Free Radic Biol Med.* — 2000. № 28 — C. 1478-1486.
13. Hossmann K. A. Experimental models for the investigation of brain ischemia. // *Cariovasc. Res.* — 1988. № 39 — C. 106-120.
14. Iadecola C. Bright and dark sides of nitric oxide in ischemia brain injury. // *Trend. Neurosci.* — 1997. № 20 — C. 132-139.
15. Jansson E. A., Huang L., Malkey R., Govoni M., Nihlen C., Olsson A., Stensdotter M., Petersson J., Holm L., Weitzberg E., Lundberg J. O.. A mammalian functional nitrate reductase that regulates nitrite and nitric oxide homeostasis. // *Nat Chem Biol.* — 2008. № 4 — C. 411-417.
16. Jung K. H., Chu K., Ko S. Y., Lee S. T., Sinn D. I., Park D. K., Kim J. M., Song E. C., Kim M., Roh J. K. Early intravenous infusion of sodium nitrite protects brain against in vivo ischemia-reperfusion injury. // *Stroke.* — 2006. №37 — C. 2744-2750.
17. Lundberg J. O., Weitzberg E. NO Generation from Nitrite and Its Role in Vascular Control. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2005. № 25 — C. 915-922.
18. Martin H. M., Hancock J. T. Salisbury V. Harrison R. Role of Xantine oxidoreductase as an antimicrobial agent // *Infection and Immunity.* — 2004. T. 72. № 9 — C. 4933-4939.
19. Millar T. M., Stevens C. R., Blake D. R. Xantine oxidase can generate nitric oxide from nitrate in ischemia. // *Biochem. Soc. Trans.* — 1997. T. 25. № 3 — C. 528-531.
20. Mueller B. A., et al. Household water source and the risk of childhood brain tumours: results of the SEARCH. International Brain Tumor Study. // *Int.J.Epidemiol.* — 2004. T. 33. № 6 — C. 1209-1216.
21. Moncada S., Palmer R. M. J., Higgs E. A. Nitric oxide: physiology, patophysiology, and pharmacology. // *Pharmacol. Rev.* — 1992. № 43. — C. 109-142.
22. Rao A. M., Dogan A., Hatcher J. F., Dempsey R. J. Fluorometric assay of nitrite and nitrate in brain tissue after traumatic brain injury and cerebral ischemia. // *Brain Res.* — 1998. T. 18. № 793 (1-2) — C. 265—70.
23. Webb A J, N. Patel, S. Loukogeorgakis, M. Okorie, Z. Aboud, S. Misra, R. Rashid, P. Miall, J. Deanfield, N. Benjamin, R. MacAllister, A. J. Hobbs, A. Ahluwalia. Acute blood pressure lowering, vasoprotective, and antiplatelet properties of dietary nitrate via bioconversion to nitrite. // *Hypertension.* – 2008. № 51. — C. 784-790.
24. Yoshida K, Kasama K., Kitabatake M., Imai M. Biotransformation of nitric oxide, nitrite and nitrate. // *Int Arch Occup Environ Health.* — 1983. № 52. — C. 103-115.

## ВЛИЯНИЕ ГЕПАРИНА НА АНТИНОЦИЦЕПТИВНЫЙ ЭФФЕКТ ФЕНТАНИЛА

*Пурсанов Кузьма Анастасович*

*канд. мед. наук, доцент, НГМА, г. Н. Новгород*

*Хомутов Александр Евгеньевич*

*д-р биол. наук, профессор ННГУ, г. Н. Новгород*

*Перепелюк Зоя Владимировна*

*аспирантка ННГУ, г. Н. Новгород*

*E-mail: [labmouse@pochta.ru](mailto:labmouse@pochta.ru)*

Проблема регуляции болевой чувствительности является одной из сложнейших для фундаментальной физиологии и чрезвычайно важной для практической медицины. Большое значение придается поискам путей целенаправленного изменения болевых и противоболевых механизмов, что невозможно без углубленного изучения процессов, контролирующих интенсивность реакций организма на болевой стимул [1, 2]. Одной из основных систем организма, обладающих анальгезирующим действием является опиоидная система [4].

Опиоиды связываются со специфическими рецепторами, которые широко представлены в ЦНС и в других органах (например, ЖКТ). Выделяют четыре типа опиоидных рецепторов: мю ( $\mu$ ) (подтипы  $\mu$ -1 и  $\mu$ -2), каппа ( $\kappa$ ), дельта ( $\delta$ ) и сигма ( $\sigma$ ) [3]. Опиоиды вызывают незначительную седацию, но в клинике их применяют благодаря мощному анальгетическому эффекту. Фармакодинамические свойства опиоидов зависят от взаимодействия со специфическим рецептором, от степени сродства к рецептору и, наконец, от характера взаимодействия (есть активация или нет). Хотя с опиоидными рецепторами связываются как агонисты, так и антагонисты, активировать рецепторы способны только агонисты [5, 7] «Чистый антагонист» налоксон конкурентным образом связывается с основными типами опиоидных рецепторов, не стимулируя их, тем самым устраняя действие эндогенных опиоидных пептидов и наркотических анальгетиков, в частности, фентанила.

Фентанил — синтетический препарат морфиноподобного действия, агонист  $\mu$ - и  $\delta$ -опиодных рецепторов производное фенилпиперидина, по химической структуре сходен с промедолом. Период полусуществования в фазе распределения короткий (5—20 мин.), имеет низкую молекулярную массу и высокую жирорастворимость, поэтому действует быстро и оказывает кратковременное анальгезирующее действие, после внутривенного введения максимальный эффект

развивается через 1—3 мин. и продолжается 15—30 мин. Конечные продукты метаболизма фентанила неактивны. Применяется в сочетании с нейролептиками, является составной частью таламонала, в котором подобрано соотношение частей фентанила и дроперидола (1:50) с целью взаимной коррекции побочного действия этих препаратов.

Целью данной работы было определение степени влияния гепарина на анальгезию, вызванную фентанилом.

Эксперименты выполнены на беспородных белых крысах-самцах массой  $200 \pm 20$  г. Ноцицептивные реакции оценивали по 2 стандартным тестам, позволяющим до определенной степени судить о характере влияния веществ преимущественно на спинальном (тест отведения хвоста — «tail flick») и супраспинальном уровнях (тест «горячей пластины» — «hot plate»). Опыты проводили на животных, прошедших фоновое тестирование, исходные ноцицептивные пороги (фон) которых в тесте I — не превышал 8 с., в тесте II — 15 с.

Тест отведения хвоста основан на рефлекторной реакции в ответ на нанесение болевого стимула в область верхней трети хвоста. Установка представляет собой следующее. Внутри специального футляра помещался источник теплового излучения (кинопроекционная лампа со встроенным отражателем типа K21-150). Питание осуществлялось от источника постоянного тока с напряжением 4,5 В при токе в 2,7 А. Встроенный отражатель лампы позволяет получить сфокусированный световой поток, диаметр светового пятна составляет 6 мм. Температура в фокусе пучка устанавливалась на значениях, вызывающих у контрольных животных четкую аверсивную реакцию отведения хвоста с латентным периодом 5-8 секунд. Фокус светового пятна совпадал с отверстием на поверхности футляра. Животное (крыса) вручную фиксировалось на операционном поле футляра и на каретке подводилось к области светового пятна. Латентный период реакции отведения хвоста (ЛП РОХ) оценивался по секундомеру.

В тесте «горячей пластины» животное помещали на пластину, нагретую до 57—58 С, температура поверхности пластины регулировалась термостатом. По секундомеру засекалось время от момента помещения животного на пластину до момента первого облизывания лап (задних), что и составляло латентный период реакции облизывания лапок (ЛП РОЛ). Максимальное время нахождения животного на пластине — 25 секунд.

Достоверность различий между группами оценивалась непосредственно по значениям вариант с использованием непараметрического критерия Уилкоксона-Манна-Уитни для независимых совокупностей. Для множественных сравнений применяли критерий Данна.

Предварительно была подобрана доза анальгетика (0,08 мг/кг), при которой развивался непродолжительный минимальный обезболивающий эффект (табл. 1).

При тестировании по реакции отведения хвоста значения латентных периодов достоверно превышали контрольные показатели через 15 и 30 минут после внутрибрюшинного введения фентанила, затем наблюдали резкий спад анальгезии, и в течение последующего времени, до 180 мин. опыта, уровень болевой чувствительности восстанавливался до первоначального (табл. 1).

На фоне гепарина, который вводили за 10 мин. до фентанила в дозах 50, 500 и 5000 МЕ/кг, а также инкубированной смеси гепарина и фентанила в соотношении 0.5:1, 5:1 и 50:1, восстановление порога болевой чувствительности происходило значительно дольше.

Дозозависимый характер проявлялся в длительной и более выраженной анальгезии при высоких дозах гепарина, которая продолжалась до 150 мин. при использовании гепарина в дозе 5000 МЕ/кг, и до 120 мин. при дозах 500 и 50 МЕ/кг, причем в группе с гепарином в наименьшей дозе (50 МЕ/кг) наблюдался разрыв между пиками снижения ноцицепции на 60 мин., и не было зарегистрировано отличий от группы с фентанилом. Статистически значимые различия групп ( $p < 0,05$ ) получили между «фентанилом» и «гепарином 500 МЕ/кг и фентанилом» на 60 мин.; и «фентанилом» и «гепарином 5000 МЕ/кг и фентанилом» на 90 и 120 мин. (табл. 1).

*Таблица 1.*

**Влияние гепарина на ЛП РОХ (с) при действии фентанила**

Условия эксперимента	Время от введения, мин				
	15	30	60	120	180
Физиол. р-р (контроль)	5.2	4.5	4.9	6.9	6.2
Фентанил (0.08 мг/кг)	25.0*	10.4*	9.0*	6.3	6.1
Гепарин + Фентанил (0.5:1)	14.0*	11.6*	9.8*	11.8*	6.0
Гепарин+Фентанил (5:1)	25.0*	13.5*	14.5*	9.4*	6.0
Гепарин+Фентанил (50:1)	21.0*	16.0*▲	15.8*▲	16.2*▲	5.5
Гепарин (50 МЕ/кг) → фентанил	14.0*	9.8*	9.8*	12.2*	6.3
Гепарин (500 МЕ/кг) → фентанил	25.4*	17.5*▲	14.5*▲	9.2*▲	6.4
Гепарин (5000 МЕ/кг) → фентанил	21.1*	14.0*	15.8*▲	23.0*▲	5.5

Различия статистически значимы ( $p < 0,05$ ):

\* —  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой;

▲ —  $p < 0,05$  по сравнению с фентанилом.

Таким образом, очевидным является факт положительного взаимодействия гепарина с фентанилом, которое в данных условиях способствовало пролонгации действия опиоидного анальгетика, с гепарином действие фентанила было более выраженным.

Следующий интересный факт был выявлен в ходе работы с применением фармакологических агентов. Предварительное введение налоксона в дозе 1 мг/кг на 15 мин опыта блокировало обезболивающее действие фентанила как в группе с фентанилом, так и с фентанилом в сочетании с гепарином (табл. 2).

Анальгезирующий эффект проявился уже на 30 мин., и, скорее всего, по причине кратковременности действия антагониста, что объясняет также отсутствие различий в динамике ЛП РОХ в группах с анальгетиком и на фоне налоксона в последующее время. На фоне налоксона и гепарина антиноцицептивное действие фентанила не прекращалось до 120 мин., также как и в опытах с применением гепарина (500 МЕ/кг) и фентанила, хотя в процентном отношении под действием налоксона анальгетическая активность была ослаблена и межгрупповые различия наблюдались на 90 мин. опыта после введения веществ (табл. 2).

**Таблица 2.**

**Влияние гепарина, налоксона и обзидана на ЛП РОХ (с) при действии фентанила**

Условия эксперимента	Время от введения, мин.				
	15	30	60	120	180
Физиол. р-р (контроль)	5.2	4.5	4.9	6.9	6.2
Фентанил (0.08 мг/кг)	25.0*	10.4*	9.0*	6.3	6.1
Налоксон (1 мг/кг) → Фентанил	11.8*▲	9.8*	8.5*	10.6*▲	10.3*▲
Налоксон → Гепарин (500 МЕ/кг) → Фентанил	10.5*▲	11.4*	12.1*▲	12.4*▲	8.9
Обзидан (1 мг/кг) → Фентанил	17.4*▲	14.6*▲	13.0*▲	11.6*▲	10.0*▲
Обзидан → Гепарин (500 МЕ/кг) → Фентанил	15.8*▲	11.2*	10.7*	8.3▲	6.0

Различия статистически значимы ( $p < 0,05$ ):

\* –  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой;

▲ –  $p < 0,05$  по сравнению с фентанилом.



Пролонгирующее действие гепарина отменялось предварительным введением блокатора  $\beta_1$ - и  $\beta_2$ -адренорецепторов — обзиданом в дозе 1 мг/кг, на динамику изменений ЛП РОХ под действием фентанила предварительно введенный обзидан действия не оказывал, отсюда следует, что влияние гепарина происходит и через адренергическую систему (табл. 2).

В следующей серии экспериментов изменение болевой чувствительности оценивали по латентному периоду аверсивной реакции облизывания задних лап (ЛП РОЛ).

Налоксон частично блокировал антиноцицептивный эффект фентанила, возможно, это связано с окончанием действия антагониста. Первая фаза фентанилвызванной анальгезии была полностью заблокирована протамин сульфатом (10 мг/кг), антагонистом гепарина, данное явление вызывает особый интерес и является подтверждением оказываемого влияния, его действие было аналогично применению опиатного антагониста — налоксона, при множественном сравнении отличие от фентанила групп с протамин сульфатом и налоксоном было достоверно ( $p < 0,05$ ) на 45 мин. опыта.

Сравнивая величины латентных периодов РОЛ и РОХ необходимо также отметить, что налоксон в большей степени подавляет анальгезию фентанилом в тесте «горячей пластины», чем при измерении РОХ, эти результаты четко свидетельствуют об участии не только опиоидных систем в механизмах обезболивания анальгетиком на спинальном уровне, так как на супраспинальном уровне вклад эндогенной опиоидной системы в подавлении ноцицепции, вызванной термическим стимулом, более значим.

Интересно отметить, что в динамике изменения болевой чувствительности при анальгезии опиоидами наблюдается два пика: первый — сразу после введения веществ и второй — через 1,5 часа. Известно, что в ответ на стресс, предъявляемый в виде ноцицептивного сигнала, включаются стресс-реализующие и стресс-лимитирующие системы, к стресс-лимитирующим относится и эндогенная опиоидная система. Возможно, второй пик анальгезии связан с выбросом эндогенных опиоидов, который стимулируется введением агонистов опиатных рецепторов по принципу положительной обратной связи. На фоне гепарина такая динамика изменения болевой чувствительности сохраняется.

В отличие от оценки по реакции отведения хвоста, где была более выражена первая фаза обезболивания фентанилом, при измерении ЛП РОЛ значителен был второй пик анальгезии. Представленные данные также показывают зависимость реализации

анальгетического эффекта опиоида от присутствия гепарина, достоверные отличия от контроля при дозе гепарина 50 МЕ/кг отмечены на 25, 45, 150 мин., при дозе гепарина 5000 МЕ/кг — на 25, 45, 150, 180 и 210, при дозе гепарина 500 МЕ/кг — на 25, 60, 150 мин. Обращает на себя внимание пропорциональное сходство в динамике изменения ЛП РОХ под влиянием гепарина в дозах 50 и 5000 МЕ/кг, которая несколько отличалась от кривой изменения ЛП РОХ при дозе 500 МЕ/кг. Возможно, это указывает на однонаправленность действия гепарина при минимальной и максимальной дозах, и на изменения несколько иного характера, происходящие под влиянием гепарина в дозе 500 МЕ/кг, данная особенность была замечена и в тесте «горячей пластины»: на 45 мин. опыта зарегистрированы достоверные отличия группы с использованием фентанила на фоне гепарина 500 МЕ/кг от группы с гепарином 5000 МЕ/кг. Можно предположить, что нестабильный характер связан с использованием нефракционированного гепарина [6].

### **Список литературы**

1. Брагин Е. О. Нейрохимические механизмы регуляции болевой чувствительности. М.: Изд-во УНД, 1991. — 248 с.
2. Дикенсон Э. О локализации и механизмах действия опиоидов // Эксперим. и клин. фармакол. — 1994. — Т. 57, №6. — С. 3-12.
3. Зайцев С. В., Ярыгин К. Н., Варфоломеев С. Д. Наркомания. Нейропептид-морфиновые рецепторы. М.: Изд-во МГУ, 1993. — 245 с.
4. Калюжный Л. В. Физиологические механизмы регуляции боли и анальгезии. М.: Медицина, 1984. — 211 с.
5. Морган Дж. Э., Михаил М. . Клиническая анестезиология. СПб: Питер, 2001. — 396 с.
6. Хлгатян С. В., Умарова В. А., Шапиро Ф. В. Поведение нефракционированного и низкомолекулярного гепарина в организме крысы // Докл. АМН СССР. — 1990. — Т. 313, № 2. — С. 509-511.
7. Чурюканов В. В. Болеутоляющие средства: сравнительная оценка, механизмы действия, перспективы // Анестезиология и реаниматология. — 1998. — С. 4—10.

# ХАРАКТЕР ВЛИЯНИЯ СЕЛЕКТИВНОГО СТИМУЛИРОВАНИЯ АКТИВНОСТИ МОНОАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ МОЗГА НА ПСИХОДИНАМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПОВЕДЕНИЯ САМЦОВ БЕЛЫХ КРЫС

*Фролова Галина Александровна*

*канд. биол. наук, ст. преподаватель ДонНУ, г. Донецк*

*E-mail: [gljukkk@ukr.net](mailto:gljukkk@ukr.net)*

Необходимость исследования механизмов возникновения психической или поведенческой депрессии связано со значительным увеличением количества людей, страдающих депрессивные расстройства. Высокая частота возникновения пограничных нервно-психических расстройств обусловлена ростом эмоционального и информационной нагрузки в условиях ускоренного научно-технического прогресса и темпа жизни в целом. Об актуальности проблемы депрессий свидетельствуют эпидемиологические данные: распространение расстройств депрессивного характера у населения стран Европы и США составляет сегодня не менее 5-10%. Актуальность этой проблемы в общей медицине, где частота возникновения депрессий достигает 22-33% и превышает такое распространенное заболевание, как артериальная гипертензия [13], существенно возрастает.

На сегодня наиболее разработанной является моноаминергических теория патогенеза депрессий, причем большинство исследователей считают, что при различных депрессивных состояниях могут нарушаться преимущественно или адренергические [8, 12], или серотонинергические механизмы [1, 5, 10], или оба вместе [2, 3, 6].

В последнее время появляются работы, результаты которых свидетельствуют о том, что в основе развития тех или иных депрессивных и тревожных расстройств может лежать не только угнетение активности вышеуказанных нейромедиаторных систем, но и их активация. В связи с этим, целью представленного фрагмента комплексной работы является анализ влияния селективной стимуляции активности моноаминергических нейромедиаторных систем на психодинамические показатели самцов белых крыс с исходно разным уровнем поведенческой активности.

**Материалы и методы.** Эксперимент был выполнен на 120 половозрелых беспородных крысах-самцах массой 180-220 г, содержащихся в стандартных условиях вивария. Эксперименты

осуществлялись в светлое время суток. Для определения психодинамических характеристик у исследуемых животных использовали батарею следующих тестов: продырявленное поле, приподнятый крестообразный лабиринт, тест Порсолта.

На начальном этапе исследования исходная группа крыс по результатам тестирования в продырявленном поле была разделена на 3 подгруппы, согласно выраженности поведенческой активности. В последующем, прослеживали, каким образом фармакологические агенты, избирательно стимулирующие активность моноаминергических нейромедиаторных систем мозга влияют на проявления психодинамических характеристик подгрупп крыс (активности, тревожности, депрессивности), сформированных по результатам тестирования в продырявленном поле.

Уровень поведенческой активности устанавливали в продырявленном поле (ПП) согласно выражением исследовательской активности (ИА) [4]. Продырявленное поле представляет собой открытый пластиковый ящик 60×60×40 см., пол которого окрашена в зелено-голубой цвет и разделена линиями на 9 квадратов 20×20 см. По периметру квадратов в полу просверлены 12 отверстий диаметром 3 см. Продолжительность теста составляла 5 мин. Регистрировались такие поведенческие показатели: количество пересеченных квадратов (двигательная активность — ДА), стойки и количество обследованных отверстий (в сумме — исследовательская активность). Отдельно фиксировали количество фекальных болюсов, частоту урикации и количество актов грумिंगа.

Уровень тревожности (УТ) определяли с помощью теста «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), регистрируя время пребывания животных на открытом пространстве лабиринта [7]. Лабиринт состоит из двух закрытых (огражденных с двух сторон) и двух открытых рукавов (10×50 см.), расположенных крестообразно на высоте 80 см. над уровнем пола. Тестирование начиналось с размещения экспериментального животного в центр лабиринта в положении носом в открытый рукав. В течение 5 минут проводилось наблюдение за поведением крысы. Регистрировались такие поведенческие акты: количество повторных выходов на открытую часть ПКЛ (открытые рукава + центральная платформа) и время пребывания в ней, количество визитов из закрытых рукавов, количество стоек на открытом пространстве и частота дефекаций.

В тесте Порсолта («вынужденного плавания», ВП) определяли уровень депрессивности животных [11]. При тестировании крыс на 6 мин. погружали в прозрачный пластиковый цилиндр высотой 60 см. и

диаметром 50 см., наполненный водой (температура 27-28°C), таким образом, чтобы животное не имело возможности опереться задними конечностями или хвостом о дно цилиндра. Поведенческими показателями служили: количество и время периодов полной неподвижности — индекс депрессивности (ИД). Для характеристики временной структуры вынужденного плавания подсчитывали количество и продолжительность периодов неподвижности, группируя их по четырем основным диапазонам: менее 6 секунд, от 6 до 18, от 18 до 36 и более 36 секунд. Учитывалась также количество фекальных болюсов.

По результатам тестирования был составлен поведенческий профиль популяции в исходных (контрольных) условиях. С целью нивелирования сезонных изменений в поведении исходная группа крыс ( $n=120$ ) была разделена случайным образом на 3 подгруппы по 40 животных в каждой так, чтобы профиль каждой подгруппы отвечал исходному общему профилю. Таким образом, были образованы 3 однородных подгруппы, дальнейшая работа с которыми проводилась параллельно.

Выбор фармакологических препаратов осуществлялся согласно поставленным задачам с учетом точек применения их действия так, чтобы ожидаемый эффект был получен путем воздействия или на ферментную систему, участвует в процессе биологического синтеза нейромедиаторов, или на систему MAO, обеспечивающие разрушение моноаминов в синаптической щели.

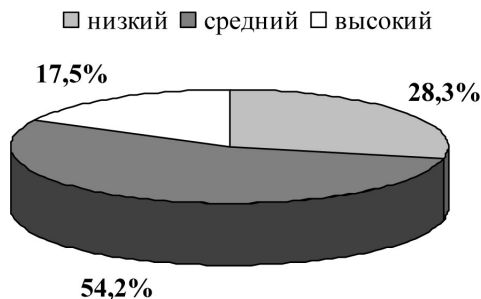
Были использованы внутривенные инъекции таких фармакологических препаратов: предшественника серотонина — L-триптофана («Sigma», США) в дозе 100 мг/кг в течение 14 дней (Neume A. et al., 1999), селективного ингибитора обратного захвата норадреналина мапротилина («Sigma», USA) в дозе 20 мг/кг, в течение 14 дней (Guillem K. et al., 2006); специфического ингибитора MAO-B селегилина (депренил, «Sigma», США) в дозе 3 мг/кг в течение 14 дней [3].

Первичные экспериментальные данные обрабатывались с помощью общепринятых методов математической статистики. Разделение исследуемой популяции животных на группы с разным уровнем поведенческой активности осуществлялось согласно правилу  $\pm 0,67\delta$ . Для оценки достоверности различий между результатами контрольных исследований и для оценки достоверности различий между опытными и контрольными данными использовался U-критерий Манна-Уитни. С помощью корреляционного анализа устанавливали наличие связей между определяемыми психодинамическими показателями животных. Математическая обработка

материала осуществлялась с помощью пакета программ STATISTICA 6.0 и Microsoft Excel.

**Результаты и их обсуждение.** Характер распределения исходной группы крыс на подгруппы по результатам контрольного тестирования в условиях продырявленного поля представлен на рисунке 1.

Психодинамический профиль исходной группы, составленный на основании контрольного тестирования, в условиях используемой батареи тестов отражен в таблице 1.



**Рисунок 1. Распределение исходной группы животных (n=120) на подгруппы с разным уровнем поведенческой активности в условиях продырявленного поля.**

Из таблицы следует, что животные с исходно средним и высоким уровнями выраженности исследовательской активности достоверно не отличались по уровню двигательной активности. Кроме того, исходно низкоактивные животные обладают максимальным уровнем тревожности, а исходно высокоактивные в продырявленном поле — минимальным показателем депрессивности, среднеактивные — минимальной суммой замираний в тесте Порсолта.

Анализ общегрупповых корреляционных связей показал, что исследовательская и двигательная активности связаны между собой корреляционной связью с коэффициентов  $r_{об/кон}=0,822$  ( $p<0,01$ ), кроме того, установлено, что показатель эмоциональности (количество фекальных болюсов), связан положительно с двигательной активностью ( $r_{об/кон}=-0,245$ ,  $p<0,01$ ), временем пребывания на открытых руках ПЛК ( $r_{об/кон}=0,302$ ,  $p<0,01$ ), количеством замираний длительностью менее 6 секунд в тесте Порсолта ( $r_{об/кон}=0,217$ ,  $p<0,05$ ) и отрицательно с общим количеством замираний в ВП ( $r_{об/кон}=-0,446$ ,  $p<0,05$ ). Показатель депрессивности отрицательно связан с двигательной ( $r_{об/кон}=-0,321$ ,  $p<0,01$ ) и исследовательской ( $r_{об/кон}=-0,351$ ,

$p < 0,01$ ) активностями и положительно с общим количеством замираний в тесте Порсолта ( $r_{об/кон} = 0,219$ ,  $p < 0,05$ ). Двигательная активность коррелирует с временем пребывания животных на открытом пространстве ПКЛ ( $r_{об/кон} = 0,187$ ,  $p < 0,05$ ). Отсутствие связей между некоторыми показателями тех или иных психодинамических характеристик указывает на участие в их контроле различных нейроанатомических образований и нейрохимических систем мозга.

**Таблица 1.**

**Психодинамический профиль исследуемой популяции (n=120)  
в контрольных условиях, ( $\bar{X} \pm m$ )**

Показатели поведения	Уровни поведенческой активности		
	низкий (n=34)	средний (n=65)	высокий (n=21)
Результаты тестирования в продырявленном поле			
Исследовательская активность	4,7±0,52**	17,0±0,45	29,4±1,04***
Двигательная активность	7,0±0,89**	25,9±1,10	37,1±1,21#
Результаты тестирования в приподнятом крестообразном лабиринте			
Время пребывания на открытом пространстве лабиринта, с.	103,9±7,77*	150,1±8,09	121,6±11,92
Результаты тестирования в тесте Порсолта			
Суммарное время неподвижности, с.	161,2±13,93	130,2±0,81	97,1±14,75#
Общее количество периодов замираний	13,9±0,74**	7,2±0,60	11,5±1,02*
Количество замираний длительностью менее 6 секунд	8,7±0,65	110,1±0,43	8,7±0,72
Количество фекальных болносов	4,0±0,33*	5,4±0,24	4,4±0,45

Примечание: #, ## — различия статистически значимы ( $p_u < 0,05$ ) и ( $p_u < 0,01$ ) соответственно при сравнении показателей группы с крайними типами выраженности показателей активности.

•, •• — различия статистически значимы ( $p_u < 0,05$ ) и ( $p_u < 0,01$ ) соответственно в сравнении показателей условного контроля (средний уровень активности) с группами высокого и низкого уровня показателей исследовательской активности.

Обращает на себя внимание, что при рассмотрении корреляционных связей показателей внутри каждой из выделенных подгрупп (т. е. с низкой, высокой и средней активностью), направленность некоторых зависимостей отличалась от общегрупповой (табл. 2). Прежде всего, обращает на себя внимание отсутствие корреляционных зависимостей у животных с исходно высоким уровнем активности в тех случаях, когда эти связи присутствовали при проведении анализа у всех животных без разделения на подгруппы. Так, в данной подгруппе крыс отсутствует связь между двигательной активностью такими показателями как: исследовательская активность, эмоциональность и суммарное количество замираний (см. табл. 2). Однако, обратная картина (присутствие зависимости у высокоактивных крыс на фоне ее отсутствия в общей группе животных) наблюдается между показателями коротких замираний в тесте Порсолта и общего их количества.

Селективное стимулирование активности нейромедиаторных систем по-разному повлияло на исследуемые психодинамические показатели белых крыс в пределах выделенных подгрупп.

Во-первых, установлено, что исследовательская и двигательная активность под воздействие выбранных фармакологических агентов изменяются однонаправлено: в случае стимулирования серотонинергической и норадренергической систем L-триптофаном и мапротилином, соответственно, наблюдалось угнетение выраженности данных показателей (рис. 2), а в случае стимуляции дофаминергической системы депренилом у исходно низко- и среднеактивных животных наблюдается рост как ДА (на  $111,0 \pm 2,25$  и  $86,6 \pm 3,67\%$  соответственно), так и ИА (на  $79,1 \pm 2,45$  и  $52,4 \pm 3,97\%$  соответственно), а у исходно высокоактивных — угнетение выраженности этих показателей.

Относительно изменений тревожности, то следует отметить анксиогенное влияния стимулирования норадренергической системы на крыс с исходно средним уровнем активности (рис. 3, А), поскольку суммарное время пребывания на открытом пространстве у этой подгруппы животных сократилось на  $35,8 \pm 2,13\%$  ( $p < 0,05$ ). Депренил и L-триптофан, в основном, оказали анксиолитическое влияние на исследуемых животных (т. е. уровень тревожности снизился).

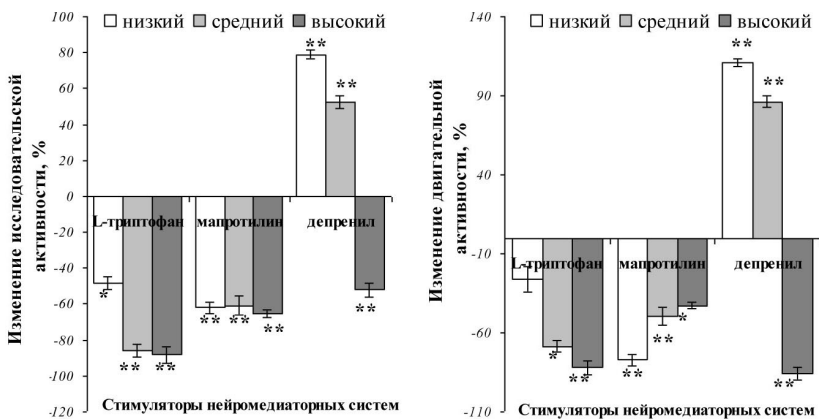


Таблица 2.

**Корреляционные зависимости основных показателей у животных с разным уровнем поведенческой активности**

Показатели	Уровень активности	Продырявленное поле		Приподнятый крестообразный лабиринт	Тест Порсолта		
		Активность			Показатель депрессивности	Количество замираний	
		исследовательская	двигательная	Время пребывания на открытом пространстве		коротких	общее
Двигательная активность	низкий	0,687**					
	средний	0,501**					
	высокий	0,355					
Время пребывания на открытом пространстве	низкий	0,397**	0,310*				
	средний	0,054	0,011				
	высокий	-0,235	-0,069				
Показатель депрессивности	низкий	-0,172	-0,100	0,189			
	средний	-0,190	-0,048	0,211*			
	высокий	-0,058	-0,309	0,020			
Количество замираний	коротких	низкий	0,216	0,383**	-0,099	-0,304*	
		средний	-0,038	0,032	0,146	0,163	
		высокий	-0,123	-0,251	0,158	0,190	
	общее	низкий	-0,511**	-0,499**	-0,255	0,385**	0,014
		средний	0,010	-0,434**	-0,161	-0,214*	0,196
		высокий	-0,053	-0,214	-0,063	0,638**	0,439*
Количество дефекаций	низкий	0,405**	0,535**	0,223	0,089	0,534**	0,003
	средний	-0,109	0,273*	0,219*	0,201	0,032	-0,544**
	высокий	-0,124	-0,073	0,252	-0,085	0,026	-0,365*

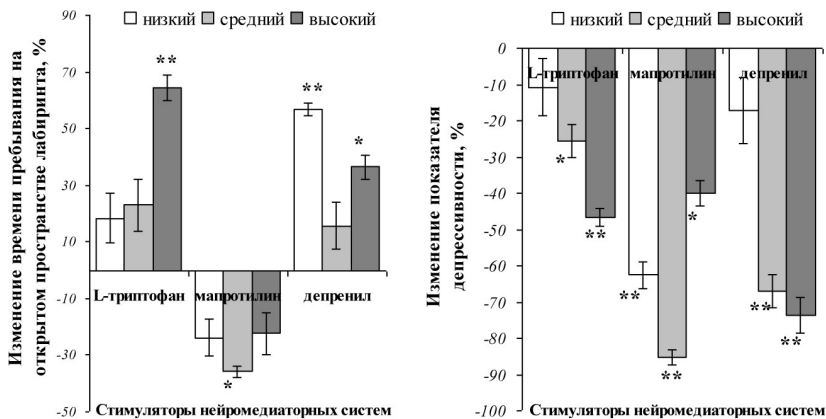
Примечание: \*, \*\* — корреляционная связь статистически значима при  $p < 0,05$  и,  $p < 0,01$  соответственно.



**Рисунок 2. Характер изменения исследовательской (А) и двигательной (Б) активностей в тесте прорытое поле относительно исходных значений (приняты за 0) в подгруппах животных с исходно низким, средним и высоким уровнями активности.**

\*, \*\* — различия статистически значимы при  $p_u < 0,05$  и  $p_u < 0,01$ , соответственно.

Следует отметить, что избирательная стимуляция моноаминергических медиаторных систем мозга снизила индекс депрессивности во всех подгруппах крыс. При этом, в случае изменения активности серотонинергической и дофаминергической систем степень снижения ИД зависела от исходного уровня активности животных (рис. 3, Б): чем выше в исходных условиях был ИА, тем в большей степени снизилась депрессивность. При этом, мапротилин не повлиял на количество коротких периодов неподвижности в тесте Порсолта сократив, при этом, суммарное количество замираний в среднем на 40-25% ( $p_u < 0,01$ ), а стимуляция активности остальные нейромедиаторных систем повлияла на количество замираний длительностью менее 6 секунд, но не затронула общее число замираний. Так, стимуляция дофаминергической системы депренилом привела к увеличению количества коротких замираний в среднем на 30-50% ( $p_u < 0,01$ ), а введение L-триптофана — к сокращению данного показателя поведения в тесте Порсолта на 70-60% ( $p_u < 0,01$ ) у исходно средне- и высокоактивных крыс и увеличению на  $42,9 \pm 3,12\%$  ( $p_u < 0,05$ ) у низкоактивных в контроле крыс.



**Рисунок 3. Характер изменения суммарного времени пребывания на открытом пространстве лабиринта (А) и индекса депрессивности (Б) в тесте Порсолта относительно исходных значений (приняты за 0) в подгруппах животных с исходно низким, средним и высоким уровнями активности.**

\*, \*\* — различия статистически значимы при  $p_u < 0,05$  и  $p_u < 0,01$ , соответственно.

Обращает на себя внимание тот факт, что эмоциональность животных, оцениваемая по количеству фекальных боллусов, возросла у высокоактивных в контроле крыс при стимуляции серотонинергической ( $63,9 \pm 4,65$ ,  $p_u < 0,01$ ) и дофаминергической ( $48,5 \pm 3,66$ ,  $p_u < 0,05$ ) систем, что совпадает с характером изменения тревожности (ее снижения) у данных подгрупп крыс. У остальных самцов достоверных влияний на эмоциональность не выявлено.

При рассмотрении модификаций корреляционных связей на общегрупповом уровне после избирательного стимулирования активности нейромедиаторных систем мозга, обращает на себя внимание неизменность связи ( $p < 0,01$ ) между двигательной и исследовательской активностями ( $r_{об/кон} = 0,822$ ,  $r_{об/L-трип} = 0,713$ ,  $r_{об/мапр} = 0,755$ ,  $r_{об/депр} = 0,512$ ), в то время как по ряду других показателей корреляционные связи были утеряны. Интересным оказался тот факт, что после введение L-триптофана, мапротилина и депренила установились положительные корреляционные зависимости между количеством общих и коротких периодов замираний, в то время как в контроле эти показатели не были связаны между собой ( $r_{об/кон} = 0,097$ ,  $r_{об/L-трип} = 0,940$ ,  $r_{об/мапр} = 0,722$ ,  $r_{об/депр} = 0,541$ ).

Относительно корреляционных связей у животных с исходно разными уровнями исследовательской активности, то характер изменения таковых был настолько разнообразен и сложен, что их анализ выходит за пределы представленного фрагмента работы.

Таким образом, можно сделать выводы о том, что, характер влияния избирательного стимулирования активности серотонинергической и дофаминергической систем на психодинамические показатели самцов лабораторных животных находится в зависимости от исходного уровня поведенческой активности крыс. Эффекты стимуляции норадренергической системы мапротилином оказались более разнонаправленными.

### Список литературы:

1. Августиневич Д. Ф., Липина Т. В., Кудрявцева Н. Н. Особенности реакции серотонергической системы мозга на социальный стресс разной длительности у самцов мышей линий C57BL/6J и CBA/Lac // Рос. физиол. журн. им. И. В. Сеченова. 2001. Т. 87, № 4. С. 532—542.
2. Андрух П. Г. Этиология, нейрохимия и клиника современных форм тревожно-депрессивных расстройств // Медицинские исследования. 2001. Т. 1, вып. 1. С. 109—110.
3. Исмаилова Х. Ю., Агаев Т. М., Семенова Т. П. Индивидуальные особенности поведения (моноаминергические механизмы) Баку: Нурлан, 2007. — 229 с.
4. Калувев А. В. Стресс, тревожность и поведение: актуальные проблемы моделирования тревожного поведения у животных. Киев: CSF, 1998. — 98 с.
5. Левада О. А. Нейробиология депрессии: серотониновая система мозга // Нейронews. 2008. № 1. С. 25—29.
6. Узбеков М. Г. Нейрохимические аспекты взаимодействия моноаминергических и гормональной систем в патогенезе тревожной депрессии // Социал. и клинич. психиатр. 2005. Т. 15, вып. 2. С. 108—110.
7. Dawson G. R., Tricklebank M. D. Use of the elevated plus maze in the search for novel anxiolytic agents // Tr. in Pharmacolog. Sc. 1995. № 16. P. 33—36.
8. Fibiger H. C. Neurobiology of depression: focus on dopamine // Depression and Mania: From Neurobiology to Treatment. N. Y.: Raven Press, 1995. — 216 p.
9. Kapur S., Mann J. J. Role of the dopaminergic system in depression // Biol. Psychiatry. 1992. Vol. 32, № 1. P. 1-17.
10. Mann, J. J., Role of the serotonergic system in the pathogenesis of major depression and suicidal behavior // Neuropsychopharmacology. 1999. № 21. P. 99—105.
11. Porsolt R. D., Pinchon M. L. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments // Nature. 1977. № 266. P. 730—732.
12. Ressler K. J., Nemeroff C. B. Role of serotonergic noradrenergic system in the pathophysiology of depression and anxiety disorders // Depression and Anxiety. 2000. Vol. 12. Supl.1. P. 2—19.
13. Slade T, Andrews G. Generalized Anxiety Disorder and Major Depressive Disorder comorbidity in the National Survey of Mental Health and Well-Being // Depression and Anxiety. 2004. Vol. 20, № 1. P. 23—31.

# СЕЛЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ГЕПАРИНА НА ТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЯДОВ ЖИВОТНЫХ, ОТНОСЯЩИХСЯ К РАЗНЫМ ТАКСОНОМИЧЕСКИМ ГРУППАМ

*Хомутов Александр Евгеньевич*

*д-р биол. наук., профессор ННГУ, г. Н. Новгород*

*Малиновская Светлана Львовна*

*д-р биол. наук., доцент НГМА, г. Н. Новгород*

*E-mail: [sun@gma.nnov.ru](mailto:sun@gma.nnov.ru)*

*Звонкова Мария Борисовна*

*канд. биол. наук, доцент НГПУ, г. Н. Новгород*

*Малиновский Дмитрий Сергеевич*

*аспирант ННГУ, г. Н. Новгород*

Давно исследуется влияние гепарина на физиологические эффекты зоотоксинов. Впервые в 1946 г. гепарин был применен против яда гадюки Рассела [11]. Гепарин нейтрализовал действие на кролика токсических доз, повышая выживаемость, противодействовал гемокоагулирующему эффекту яда *V. russelli*, *Bothrops alternata*, *V. atrox*, *V. jararacussi*, *V. cottiara*, но не эффективен против яда *Crotalus terrificus* и родственной ей австралийской змеи *Nothechis scutatus* [11]. Гепарин нейтрализует *in vitro* и *in vivo* яд среднеазиатской гюрзы, устраняет его гемокоагулирующее действие, нормализует дыхание и артериальное давление [1, 4, 5].

Гепарин снижает токсические эффекты (гипотензию, брадикардию, аритмии, нейтропению, тромбоцитопению, активацию комплемента, гемолиз, отеки и др.) ядов различных видов кобр [5, 7] и блокирует патогенетическое действие его компонентов - фосфолипазы  $A_2$  и кардиотоксина, с которыми связывается с высокой специфичностью [11].

Гепарин предотвращает развитие острого легочного отека, вызванного ядом скорпиона *Tityus serrulatus*, но не снимает гипертензивные эффекты яда. Возможно, это связано со способностью гепарина уменьшать сосудистую проницаемость в легких [6].

Гепарин снижает токсические эффекты пчелиного яда [2], ослабляет действие основных его компонентов: мелиттина, апамина, лецитазы А, с которыми он образует комплексы [8, 9]. Гепарин тормозит гемолиз, обусловленный пчелиным ядом и ядом кобры. Это

антигемолитическое действие объясняют блокированием имеющегося в яде фермента лецитазы А [10].

Ноотропное действие антикоагулянта изучалось на кафедре физиологии в 1972 году. Б. Н. Орлов и Д. Б. Гелашвили [5] показали, что предварительное введение кошкам больших доз гепарина предотвращало угнетение первичных ответов коры при прямой аппликации яда кобры на поверхность соматосенсорной зоны. Этот эффект авторы связывают с защитой гепарином деполяризующих синапсов коры, на которые в условиях прямой аппликации оказывает преимущественное влияние яд кобры.

Тем не менее, сведения об антидотном действии гепарина в отношении зоотоксинов фрагментарны, часто противоречивы и не носят сравнительного характера, в связи с чем была выполнена настоящая работа.

Экспериментальная часть исследования была выполнена на мышах массой 18-20 г. В работе использовались яды животных различных таксономических групп — пчелы медоносной (*Apis mellifera* L.), представителя насекомых (Insecta); скорпиона пестрого (*Butus eupeus* C. Koch), относящегося к классу паукообразных (Arachnida); жабы зеленой (*Bufo viridis* L.), представляющей бесхвостых земноводных (Anura); саламандры пятристой (*Salamandra salamandra* L.), относящейся к отряду хвостатых земноводных (Urodela); кобры среднеазиатской (*Naja oxiana* Eichw.), эфы песчаной (*Echis carinatus* Schneid), гюрзы среднеазиатской (*Vipera lebetina* L.), гадюки обыкновенной (*Vipera berus* L.), щитомордника восточного (*Agkistrodon blomhoffi* Boie), относящихся к классу рептилий (Reptilia).

Исследуемые вещества разводились в изотоническом растворе хлорида натрия и вводились животным в возрастающих количествах.  $DL_{50}$  определяли расчётным путём.  $DL_{100}$  соответствовало дозе яда, при введении которой в течение суток погибали все экспериментальные животные. Влияние гепарина на токсичность ядов животных определяли в аналогичных экспериментах, вводя животным смеси гепарина с зоотоксинами в различных соотношениях, а также яды на фоне предварительной гепаринизации (за 10 минут до введения зоотоксина) и гепарин через 10 минут после интоксикации.

Пчелиный яд в дозе  $7,0 \pm 0,9$  мг/кг вызывал гибель 50% экспериментальных животных ( $DL_{50}$ ). Предварительная инкубация пчелиного яда с гепарином приводила к значительному ослаблению его токсических свойств. Так, при соотношении компонентов смеси яд-гепарин 2:1,  $DL_{50}$  возрастала примерно в 2,5 раза (до  $17,4 \pm 1,8$  мг/кг), а при увеличении количества гепарина в смеси в 10 раз была вдвое выше, чем в контроле —  $14,1 \pm 1,2$  мг/кг (табл. 1).

Таблица 1.

**Влияние экзогенного и эндогенного гепарина на токсические свойства пчелиного яда**

№ п/п	Условия эксперимента	Доза яда, мг/кг
1.	ДЛ <sub>50</sub> яда пчелы	7,0±0,9
2.	ДЛ <sub>50</sub> смеси яд-гепарин (2:1)	17,4±1,8*
3.	ДЛ <sub>50</sub> смеси яд-гепарин (2:10)	14,1±1,2
4.	ДЛ <sub>50</sub> яда на фоне протамин сульфата (10 мг/кг)	5,1±0,3*
5.	ДЛ <sub>100</sub> яда пчелы	13,0
6.	ДЛ <sub>100</sub> смеси яд-гепарин (2:1)	25,0*
7.	ДЛ <sub>100</sub> смеси яд-гепарин (2:10)	19,0*

\* — Различия между контрольными и экспериментальными группами статистически значимы ( $p \leq 0,05$ )

Доза, вызывающая в эксперименте гибель всех мышей (ДЛ<sub>100</sub>), равнялась 13,0 мг/кг для чистого пчелиного яда. При добавлении к зоотоксину гепарина в соотношении яд-гепарин 1:0,5 ДЛ<sub>100</sub> возрастала до 25±3,4 мг/кг, а при соотношении компонентов смеси 1:5 была несколько ниже (19,0±2,1), но, тем не менее, значительно превышала контрольные значения (табл. 1).

Блокирование эндогенного гепарина его антагонистом протамин сульфатом вызывало заметное увеличение токсичности пчелиного яда, ДЛ<sub>50</sub> в этом случае составила 5,1±0,3 мг/кг (табл. 1).

Доза пчелиного яда, вызывающая в эксперименте гибель всех мышей (ДЛ<sub>100</sub>), равнялась 13,0 мг/кг. При добавлении к зоотоксину гепарина в соотношении яд-гепарин 2:1 ДЛ<sub>100</sub> возрастала до 25 мг/кг, а при соотношении компонентов смеси 2:10 была несколько ниже (19,0), но, тем не менее, значительно превышала контрольные значения (табл. 1). Блокирование эндогенного гепарина его антагонистом протамин сульфатом вызывало заметное увеличение токсичности пчелиного яда, ДЛ<sub>50</sub> в этом случае составила 5,1±0,3 мг/кг (табл. 1).

Ввиду отсутствия усиления протекторного действия гепарина с увеличением его дозы была предпринята попытка выяснить оптимальные соотношения компонентов в смеси яд-гепарин. Действительно, при предварительной инкубации с пчелиным ядом гепарин в различных соотношениях вызывал заметное ослабление его токсичности. При введении животным летальной дозы (ДЛ<sub>100</sub>) пчелиного яда в контроле все животные погибали. При инъекции животным смеси яд-гепарин в соотношениях 1:0,05; 1:0,5 и 1:5 выживаемость мышей была соответственно 33, 75 и 50%.

Таким образом, максимальный защитный эффект гепарина проявлялся при определенном соотношении компонентов, тогда как при увеличении и уменьшении количества гепарина в смеси его антидотные свойства ослаблялись.

Антидотное действие гепарина проявлялось не только при моделировании взаимодействия с пчелиным ядом *in vitro* (приготовленные смеси), но и при предварительном инъецировании его лабораторным животным. Введение 5, 50, 500 и 5000 МЕ/кг гепарина мышам за 10 минут до инъекции летальной дозы яда способствовало выживанию соответственно 18, 68, 35 и 26% экспериментальных животных.

Кроме того, гепарин оказывал не менее сильное защитное действие даже при его поступлении в организм на фоне действия яда. При инъекции тех же доз гепарина через 10 минут после введения пчелиного яда в эксперименте выживало 15, 60, 50 и 40% мышей соответственно. Как и в случае введения животным смеси яд-гепарин, максимальный протективный эффект наблюдался при определенной дозе гепарина. В наших экспериментах эта доза была 50 МЕ/кг, при десятикратном увеличении или уменьшении количества гепарина выживаемость животных заметно уменьшалась.

Яд скорпиона в дозе  $0,37 \pm 0,01$  мг/кг вызывал гибель 50% экспериментальных животных ( $ДЛ_{50}$ ). Внутривентриальное введение смеси, полученной *in vitro*, сопровождалось достоверным увеличением  $ДЛ_{50}$  до  $0,85 \pm 0,03$  мг/кг (табл. 2).

**Таблица 2.**

**Влияние экзогенного и эндогенного гепарина на токсические свойства яда скорпиона**

№ п/п	Условия эксперимента	Доза яда, мг/кг
1.	$ДЛ_{50}$ яда скорпиона	$0,37 \pm 0,01$
2.	$ДЛ_{50}$ смеси яд-гепарин (2:1)	$0,85 \pm 0,03^*$
3.	$ДЛ_{50}$ яда на фоне протамин сульфата (10 мг/кг)	$0,21 \pm 0,01^*$
4.	$ДЛ_{100}$ яда скорпиона	0,72
5.	$ДЛ_{100}$ смеси яд-гепарин (2:1)	$1,64 \pm 0,1^*$

\* — Различия между контрольными и экспериментальными группами статистически значимы ( $p \leq 0,05$ )

Введение яда скорпиона в доле 0,72 мг/кг ( $ДЛ_{100}$ ) сопровождалось гибелью всей группы экспериментальных животных в течение суток. Однако инъекция инкубированной смеси яд-гепарин повышало величину  $ДЛ_{100}$  до  $1,64 \pm 0,1$  мг/кг. Иная картина наблюдалась при



предварительном введении протамина сульфата. В этом случае ДЛ<sub>50</sub> снижалась до 0,21±0,01 мг/кг (табл. 2).

Яд кобры в наших экспериментах обладал наибольшей токсичностью, относительно других змеиных ядов. Доза, вызывающая гибель 50% мышей (ДЛ<sub>50</sub>), равнялась 0,6±0,08 мг/кг (табл. 3).

Введение мышам летальной дозы (ДЛ<sub>100</sub>) яда кобры вызывало гибель всех экспериментальных животных. Предварительная инкубация яда с гепарином способствовала выживанию мышей. При инъекции животным смеси яд-гепарин в соотношении 1:0,05; 1:0,5 и 1:5 в эксперименте осталось в живых 66, 41 и 33% мышей соответственно (табл. 3).

Инъекция гепарина мышам в различных дозах, также как и при введении яда пчелы, приводила к уменьшению токсичности яда кобры. Предварительное введение гепарина в дозах 5, 50, 500 и 5000 МЕ/кг способствовало выживаемости соответственно 55, 45, 40 и 25% животных, получивших инъекцию ДЛ<sub>100</sub> яда (табл. 3).

**Таблица 3.**

**Влияние экзогенного и эндогенного гепарина на токсические свойства яда кобры**

№ п/п	Условия эксперимента	Доза яда, мг/кг
1.	ДЛ <sub>50</sub> яда кобры	0,6±0,08
2.	ДЛ <sub>50</sub> смеси яд-гепарин (1:0,05)	1,7±0,2*
3.	ДЛ <sub>50</sub> смеси яд-гепарин (1:0,5)	0,9±0,02*
4.	ДЛ <sub>50</sub> яда на фоне протамина сульфата (10 мг/кг)	0,4±0,003*
5.	ДЛ <sub>100</sub> яда кобры	13,0
6.	ДЛ <sub>100</sub> смеси яд-гепарин (2:1)	25,0*
7.	ДЛ <sub>100</sub> смеси яд-гепарин (2:10)	19,0*

\* — Различия между контрольными и экспериментальными группами статистически значимы (p≤0,05)

Яд гюрзы вызывал гибель 50% белых мышей в дозе 2,8±0,7 мг/кг. Предварительная инкубация яда гюрзы с гепарином приводила к заметному ослаблению его токсических свойств. Гепарин уже в минимальных количествах (соотношение яд-гепарин в смеси 1:0,005) вызывал двукратное увеличение ДЛ<sub>50</sub>, которая составила в этом случае 5,8±0,2 мг/кг. Однако увеличение содержания гепарина в смеси было малоэффективным, и при соотношении компонентов смеси 1:0,05 ДЛ<sub>50</sub> возрастала только до 4,2±0,7 мг/кг по сравнению с контролем (табл. 4).

Таблица 4.

**Влияние экзогенного и эндогенного гепарина на токсические свойства яда гюрзы**

№ п/п	Условия эксперимента	Доза яда, мг/кг
1.	ДЛ <sub>50</sub> яда гюрзы	2,8±0,7
2.	ДЛ <sub>50</sub> смеси яд-гепарин (1:0.005)	5,8±0,2*
3.	ДЛ <sub>50</sub> смеси яд-гепарин (1:0.05)	4,2±0,7*
4.	ДЛ <sub>50</sub> яда на фоне протамин сульфата (10 мг/кг)	1,8±0,4*
5.	ДЛ <sub>100</sub> яда гюрзы	6,0
6.	ДЛ <sub>100</sub> смеси яд-гепарин (1:0.005)	12,3±0,6 *
7.	ДЛ <sub>100</sub> смеси яд-гепарин (1:0.05)	9,4±0,6 *

\* — Различия между контрольными и экспериментальными группами статистически значимы ( $p \leq 0,05$ )

Доза яда, гюрзы вызывающая гибель 100% экспериментальных животных (ДЛ<sub>100</sub>), также зависела от количества гепарина в смеси яд-гепарин. Так, летальная доза чистого яда гюрзы была 6,0 мг/кг, а смеси яд-гепарин возрастала до 12,3±0,6 и 9,4±0,6 мг/кг при соотношении компонентов смеси 1:0,005 и 1:0,05 соответственно. Нейтрализация эндогенного гепарина протамин сульфатом приводила к существенному увеличению токсичности яда гюрзы, ДЛ<sub>50</sub> в этом опыте была 1,8±0,4 мг/кг (табл. 4).

Аналогичная тенденция антидотного действия гепарина наблюдалась и при введении смеси яд эфы-гепарин. Также как и в случае с введением яда гюрзы отмечается оптимум весовых соотношений, при котором регистрируется максимальный эффект. Увеличение или уменьшение концентрации гепарина в смеси сопровождается снижением антидотного действия протеоликана.

Иная картина наблюдается при изучении антидотного действия гепарина при введении яда щитомордника (табл. 5).

Доза яда, соответствующая 50%-ной гибели мышей, равнялась 10.2±1.1 мг/кг. Гепарин, добавленный к яду в различных соотношениях, не оказывал влияния на выживаемость животных. ДЛ<sub>50</sub> смеси яда щитомордника с гепарином при соотношениях 1:0.05, 1:0.5 и 1:5 практически не отличалась от контроля и равнялась 10.4±1.4, 9.8±0.8 и 10.2±2.2 мг/кг соответственно (табл. 5).

Таблица 5.

**Влияние экзогенного и эндогенного гепарина на токсические свойства яда щитомордника**

№ п/п	Условия эксперимента	Доза яда, мг/кг
1.	ДЛ <sub>50</sub> яда щитомордника	10,2±1,1
2.	ДЛ <sub>50</sub> смеси яд-гепарин (1:0,05)	10,4±1,4
3.	ДЛ <sub>50</sub> смеси яд-гепарин (1:0,5)	9,8±0,8
4.	ДЛ <sub>50</sub> смеси яд-гепарин (1:5)	10,2±2,2
5.	ДЛ <sub>50</sub> яда на фоне протамина сульфата (10 мг/кг)	9,9±0,8
6.	ДЛ <sub>100</sub> яда щитомордника	20,0
7.	ДЛ <sub>100</sub> смеси яд-гепарин (1:0,05)	18,6±2,1
8.	ДЛ <sub>100</sub> смеси яд-гепарин (1:0,5)	19,2±1,8
9.	ДЛ <sub>100</sub> смеси яд-гепарин (1:5)	18,2±1,7

\* — Различия между контрольными и экспериментальными группами статистически значимы ( $p \leq 0,05$ )

Доза яда, вызывающая в эксперименте гибель всех мышей (ДЛ<sub>100</sub>), была 20,0 мг/кг. Инъекция животным смеси яд-гепарин не изменяло токсичности яда, и ДЛ<sub>100</sub> оставалась на том же уровне: ее значения в опытах равнялись 18,6±2,1, 19,2±1,8 и 18,2±1,7 мг/кг при соотношении компонентов смеси 1:0,05, 1:0,5 и 1:5 соответственно. Протамин сульфат, инактивирующий эндогенный гепарин, также не влиял на токсичность яда щитомордника, ДЛ<sub>50</sub> в этом случае имела значение 9,9±0,8 мг/кг (табл. 5).

Таким образом, гепарин, в отличие от вышеописанных зоотоксинов, не влияет на токсические свойства яда щитомордника. Сходная картина наблюдается при сочетанном применении жабьего яда и яда саламандры.

Жабий яд в наших экспериментах вызывал гибель 50% животных (ДЛ<sub>50</sub>) в дозе 4,7±0,2 мг/кг. Предварительная инкубация жабьего яда с гепарином не влияла на его токсичность. ДЛ<sub>50</sub> смеси яд-гепарин при соотношении ее компонентов 1:0,05, 1:0,5 и 1:5 оставалась практически на том же уровне и равнялась 4,2±0,3, 4,5±0,4 и 5,0±0,6 мг/кг соответственно.

Доза жабьего яда, приводящая к гибели 100% мышей (ДЛ<sub>100</sub>), была 8,0 мг/кг. ДЛ<sub>100</sub> смеси яд-гепарин в тех же соотношениях не отличалась от контроля и составила 8,0±0,6, 8,1±0,7 и 8,4±0,8 мг/кг соответственно. Жабий яд, введенный на фоне протамина сульфата, не изменял своей активности, его ДЛ<sub>50</sub> соответствовала 4,1±0,2 мг/кг.

Взаимоотношения гепарина и яда саламандры строятся по тому же плану, что и с жабым ядом. Так, ДЛ<sub>50</sub> яда саламандры равна  $24,6 \pm 2,3$  мг/кг, а ДЛ<sub>50</sub> смеси яд-гепарин в весовом соотношении 2:1 соответственно —  $26,4 \pm 3,5$  мг/кг.

Увеличение дозы яда саламандры до 50,0 мг/кг сопровождается гибелью всей группы экспериментальных животных в течение суток (ДЛ<sub>100</sub>). А инъекция смеси яд-гепарин в том же весовом соотношении достоверно не изменяла величины ДЛ<sub>100</sub>. Протамина сульфат, введённый до яда саламандры, достоверно не изменяет величины ДЛ<sub>50</sub>.

Таким образом, гепарин в экспериментах на белых мышах обладал выраженными антидотными свойствами по отношению к большинству зоотоксинов, различных по составу и физиологическому действию. Эффективность гепарина, по-видимому, только отчасти объясняется его антикоагулянтными свойствами, так как его защитное действие проявлялось как при совместном введении с типичными гемокоагулирующими зоотоксинами — ядом гюрзы и ядом эфы, так и с нейротропным ядом кобры, и с мембранолитиком — пчелиным ядом. Кроме того, искусственно вызванная гипергепаринемия также способствовала повышению выживаемости животных, отравленных ядами пчелы и кобры. Характерной особенностью гепарина является то, что его максимальный антидотный эффект проявляется в определенной дозе, либо при соотношении компонентов смеси, оптимальных для данного зоотоксина.

В основе механизма антидотного действия гепарина, на наш взгляд, лежит его способность взаимодействовать с белками [3], в результате чего активность белков снижается. Известно, что основными действующими началами большинства зоотоксинов являются полипептиды. В результате взаимодействия с гепарином пчелиного яда, ядов скорпиона, кобры, гюрзы и эфы они частично теряют свои токсические свойства. Яд щитомордника, а именно основное действующее начало — кротоксин, сам по себе уже представляет естественный комплекс двух противоположно заряженных белковых компонентов, удерживающихся на основе кислотно-щелочного взаимодействия [12]. Яд саламандры и жабий яд имеют не белковую, а стероидную структуру [6], в связи с чем они не взаимодействуют с гепарином, а их токсические свойства не снижаются в присутствии протеогликана.

### Список литературы:

1. Вальцева И. А. Патолофизиологические особенности действия ядов змей, обитающих на территории СССР и некоторые вопросы экспериментальной терапии. М.: Медицина, 1963. — 176 с.
2. Гинойа Р. В., Хомутов А. Е., Лушникова О. В. Продукты пчеловодства и апитерапия. — Н. Новгород: Изд-во ННГУ, 2008. — 648 с.
3. Ляпина Л. А., Пасторова В. Е., Кудряшов Б. А. Комплексные соединения гепарина и их физиологическое значение //Успехи физиол. наук — 1989. — Т.20, №1. — С. 90-105.
4. Орлов Б. Н., Вальцева И. А. Яды змей. Ташкент: Медицина, 1977. — 252 с.
5. Орлов Б. Н., Гелашвили Д. Б. К вопросу о центральных механизмах нейротропного действия яда кобры // Механизмы действия биологически активных веществ. Горький: Изд-во ГГУ, 1972. — С. 20-31.
6. Орлов Б. Н., Гелашвили Д. Б.Ибрагимов А. К. Ядовитые животные и растения СССР. М.: Высшая школа, 1990. — 272 с.
7. Хомутов А. Е., Орлов А. В. Влияние гепарина на электрокардиографические характеристики яда кобры //Фундаментальные науки и прогресс клинической медицины. М.: ММА им. И. М. Сеченова. — 1998. — С. 332-333.
8. Хомутов А. Е., Орлов А. В., Дерюгина А. В. Средство от укусов // Пчеловодство — 1999. — №1. — С. 60-61.
9. Хомутов А. Е., Пурсанов К. А. Биологические и клинические основы апитерапии. Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2011. — 400 с.
10. Хомутов А. Е., Пурсанов К. А., Калашникова Л. М. Пчелы, пчелиный яд, апитоксинотерапия. — Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2006. — 380 с.
11. Ahuja M. L., Brooks A. G. A note of the action of heparin on Russels viper venom //Jud. J. Mtd. Res. — 1946. — V. 34, N 2. — P. 317-322.
12. Sahni A. L., Banerjee R. N. Anticoagulation in hemorrhagic snake venom poisoning // Toxins. — 1976. — V. 2. — P. 497-506.

# ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО СОСТАВА КРОВИ ПРИ СОЧЕТАНОМ ДЕЙСТВИИ ПЧЕЛИНОГО ЯДА И ГИПЕРТЕРМИИ У КРЫС ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ

*Шабалин Михаил Александрович*

*аспирант Нижегородского государственного университета  
им. Н. И. Лобачевского, г. Н. Новгород*

*E-mail: [kfg@bio.unn.ru](mailto:kfg@bio.unn.ru)*

Проблема борьбы со злокачественными новообразованиями является не только одной из наиболее актуальных проблем в медицине и биологии, но и затрагивает многие аспекты социальной жизни общества [6].

Известно, что опухолевые клетки чрезвычайно восприимчивы к высокой температуре [2], а пчелиный яд повышает устойчивость к гипертермии [7]. Представляет интерес изучение совместного применения гипертермии и пчелиного яда у животных опухоленосителей. Учитывая, что наиболее важным интегративным показателем метаболизма при температурных стрессах имеет система крови [3-5], важно установить динамику ее изменения в данных условиях.

Цель исследования — изучение морфологического состава крови у крыс опухоленосителей в условиях теплового стресса (42,5 С, 43,5 С, 44—44,5 С при ректальном измерении) на фоне введения пчелиного яда.

Эксперименты были проведены на 40 самках белых лабораторных нелинейных крыс массой 150—200 г с перевитой опухолью РС-1. Опухоль (0,5 мл 30% взвеси опухолевых клеток в растворе Хенкса) перевивали подкожно в паховую область справа [1]. Использовался яд пчелы медоносной, полученный в полевых условиях сотрудниками кафедры физиологии и биохимии человека и животных ННГУ. Яд вводился внутривентрально в объеме 0,5 мл и дозе 0,1 мг/кг за 10 минут до начала тепловой экспозиции. Опыты состояли из следующих серий экспериментов: 1. контроль с внутривентральным введением 1 мл физиологического раствора (10 крыс); 2. тепловая экспозиция 42,5 С на фоне действия зоотоксина (10 крыс); 3. тепловая экспозиция 43,5 С на фоне действия зоотоксина (10 крыс); 4. тепловая экспозиция 44—44,5 С на фоне действия зоотоксина (10 крыс).

Экспериментальные животные подвергались тепловому стрессу в течение 15 минут в климатической камере с автоматической стабилизацией температуры. Термокамера представляла собой герметичное устройство размером 46×46 см<sup>2</sup>, внутри которой

находился тепловентилятор, с отверстиями в нижней части для вентиляции воздуха. Постоянная температура поддерживалась терморегулятором. Забор крови производился из подъязычной вены через 15 минут после окончания тепловой экспозиции. Исследовались изменение общего числа и формы эритроцитов, а так же общее число лейкоцитов и лейкоцитарная формула. Полученные данные были подвергнуты статистической обработке методом парных сравнений по критерию Стьюдента с поправкой Бонферрони.

Было установлено, что при совместном действии высокой внешней температуры 42,5 С, 43,5 С и пчелиного яда на животных опухоленосителей, различия между группами в количестве эритроцитов статистически не значимы относительно контрольной величины ( $7,93 \pm 0,32 \times 10^{12}/л$  и  $6,83 \pm 0,01 \times 10^{12}/л$ , соответственно) ( $p < 0,05$ ). Однако, при гипертермии 44—44,5°C, на фоне введения пчелиного яда, количество эритроцитов статистически значимо отличалось от контрольной величины в 1,41  $\pm$  0,14 раз и достигало  $9,18 \pm 0,03 \times 10^{12}/л$ . При введении яда пчелы в условиях гипертермии 42,5°C кривая Прайс-Джонса сдвигалась влево, т.е. в сторону микроцитоза. Количество эритроцитов с диаметром 5,7 мкм снижалось с  $47,6 \pm 0,9\%$  в контроле до  $32,3 \pm 1,0\%$ , а количество эритроцитов с диаметром 3,4 мкм увеличивалось почти в 10 раз ( $p < 0,05$ ). Следует отметить, что макроциты с диаметром 8,0 мкм полностью исчезали, а появлялись микроциты с диаметром 2,3 мкм, которые отсутствовали в контроле.

При совместном воздействии яда пчелы и высокой температуры 43,5°C и 44—44,5°C среди эритроцитов наблюдался отчетливо выраженный микроцитоз. Макроциты с диаметром 8,0 мкм полностью отсутствовали. Процентный максимум клеток при температуре 43,5°C находился в области 3,4 мкм, а при температуре 44—44,5 С — распределялся между 3,4 и 4,6 мкм ( $p < 0,05$ ).

Картина пойкилоцитоза резко менялась при температуре 44—44,5 С. В этом случае наблюдался ярко выраженный макроцитоз, кривая Прайс-Джонса резко сдвигалась вправо, а пик процентного соотношения размеров эритроцитов располагался в области 6,9 мкм.

Общее количество лейкоцитов в крови животных опухоленосителей при тепловом стрессе изменялось разнонаправлено в зависимости от температуры экспозиции, однако статистически значимых различий между контролем и опытом не наблюдалось. Однако, в лейкоцитарной формуле отмечалось увеличение количества моноцитов при температурах 42,5 С, 43,5 С, 50 С, соответственно ( $p < 0,05$ ) (табл. 1). Вместе с тем в опытных группах наблюдалось

снижение количества сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов ( $p < 0,05$ ). Во всех группах мы также наблюдали увеличение количества эозинофилов относительно контроля животных при соответствующих температурах. Количество лимфоцитов характеризовалось понижением своего числа у контрольной группы при  $t=42,5$  С,  $43,5$  С ( $p < 0,05$ ). Однако при  $t=44-44,5$  С их количество увеличивалось ( $p < 0,05$ ) (табл. 1.).

**Таблица 1.**

**Изменения в лейкоцитарной формуле при действии гипертермии и пчелиного яда (%)**

Виды лейкоцитов	Группы животных			
	Контроль	Гипертермия 42,5 С	Гипертермия 43,5 С	Гипертермия 44—44,5 С
Эозинофилы	1,25±0,05	3,50±0,34	4,36±0,49	2,60±0,19
Палочкоядерные нейтрофилы	23,79±1,94	20,86±1,02	6,64±0,63	10,60±0,58
Сегментоядерные нейтрофилы	26,50 ±2,12	20,86±1,61	7,71±0,72	11,4±0,61
Моноциты	14,29±1,33	26,31±1,56	54,29±1,89	22,07±1,29
Лимфоциты	34,38±2,61	31,86±2,51	27,50±1,99	53,33±1,50

Таким образом, анализируя данные, полученные при оценке состояния системы крови в контроле и при введении пчелиного яда в условиях гипертермии, можно констатировать, что при сочетанном действии пчелиного яда и гипертермии на опухолевых животных наблюдалось повышение количества эритроцитов относительно контроля. Такое повышение показателей может сопровождаться значительным усилением дыхательной функции крови, что и приводит к увеличению продолжительности жизни экспериментальных животных при действии зоотоксинов в условиях гипертермии.

Зарегистрированные изменения морфологического состава эритроцитов и лейкоцитарной формулы при сочетанном действии пчелиного яда и гипертермии имеют неспецифический характер и свидетельствуют об адапционном ответе организма опухоленосителя в форме стресс-реакции.



Полученные результаты открывают перспективу использования пчелиного яда для повышения устойчивости организма опухоленосителя при терапевтическом применении гипертермии.

### **Список литературы:**

1. Алясова А. В., Конторщикова К. Н. и др. Влияние низких терапевтических концентраций озонированного физиологического раствора на терапевтический патоморфоз опухоли в эксперименте. Современные технологии в медицине. Н. Новгород, 2011; 1:с. 5—7.
2. Андреева Л. И., Горанчук В. В., Шустов Е. Б. Адаптация человека к гипертермии и изменения в лейкоцитах периферической крови. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. — 2001; 9: с. 1208—1216.
3. Гаркави Л. Х., Квакина Е. Б., Кузьменко Т. С. Антистрессорные реакции и активационная терапия. Реакция активации как путь к здоровью через процессы самоорганизации. — М.: Имедис; 1998. — 656 с.
4. Новиков В. С., Зеленина Н. В., Андреева Л. И. Жизнеспособность и термоустойчивость лимфоцитов человека с различной резистентностью к тепловому воздействию. Физиология человека, 1998; 6:с. 91—96
5. Тилис А. Ю. Перегревание. В кн.: Патологическая физиология экстремальных состояний. М.: Медицина; 1973; с. 180—221.
6. Черезов А. Е. Общая теория рака: Тканевой подход. — М.: Изд-во МГУ, 1997; с. 7—8.
7. Ягин В. В.: Автореф. дисс. докт. биол. наук.- Н. Новгород, 2007. — 48 с.

## СЕКЦИЯ 2.

### ХИМИЯ

#### 2.1. АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

##### **ПРЯМОЙ АНАЛИЗ БОЛЬШИХ НАВЕСОК ПРОБ РУДИ ПРОДУКТОВ ИХ ПЕРЕРАБОТКИ НА ДВУХСТРУЙНОМ ДУГОВОМ ПЛАЗМАТРОНЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ ВРЕМЕННОЙ РАЗВЕРТКИ СПЕКТРОВ**

*Тагильцева Елена Александровна*

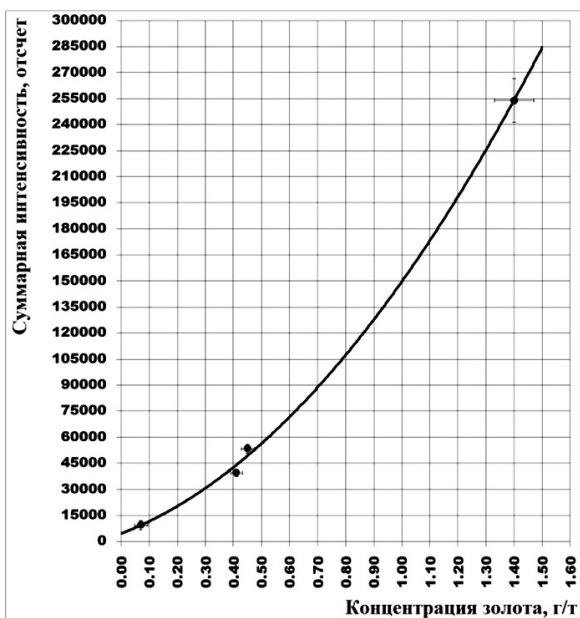
*м. н. с. ГЕОХИ РАН, г. Москва*

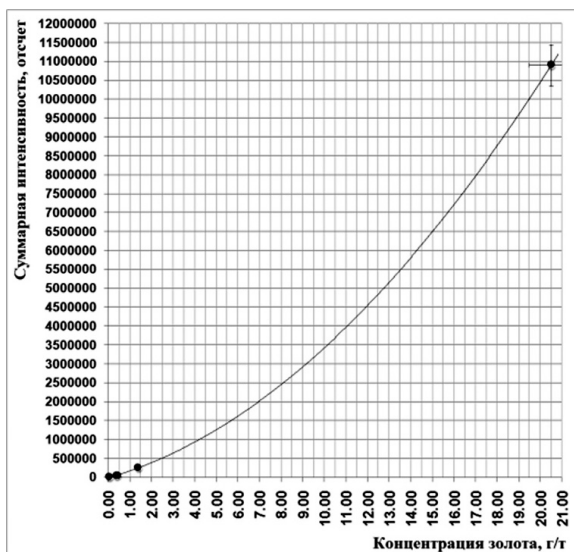
*E-mail: [tagiltseva\\_helen@mail.ru](mailto:tagiltseva_helen@mail.ru)*

Одной из основных проблем определения золота в рудах и продуктах их переработки является неравномерное распределение элемента в пробе, что требует увеличения аналитической навески таких проб. Величина последних достигает порой до 10—50 грамм. Прямой экспрессный анализ таких проб атомно-эмиссионным методом под силу только спектрометру с двухструйным дуговым плазматроном, оснащенный оригинальным устройством ввода порошка и современной системой регистрации на линейных ПЗС.

При регистрации спектра на фотоэлектронную кассету экспозиция дискретна, и состоит из заданного количества кадров, длительность и количество которых задаются оператором. Например, экспозиция в 20 секунд может задаваться оператором как двумя кадрами длительностью по 10 сек ( $20 \text{ сек} = 2 \times 10 \text{ сек}$ ), так и 400 кадрами длительностью по 50 мс ( $20 \text{ сек} = 400 \times 50 \text{ мс}$ ). За время каждого кадра фотоэлектронная кассета регистрирует самостоятельный спектр. Спектр, который программа выводит на монитор по окончании экспозиции - это результат суммирования спектров-кадров. В современном программном обеспечении каждой системы регистрации есть опция временной развертки, которая отдельно выводит на монитор спектры каждого кадра экспозиции. В случае анализа проб с низким содержанием и неравномерным распределением определяемого элемента при длительности кадра порядка 100-200 мс флуктуации спектроскопического фона не позволяют регистрировать

слабые аналитические линии определяемого элемента. Снижение времени длительности кадра приводит к улучшению соотношения сигнал/фон. С уменьшением времени кадра увеличивается не только относительная интенсивность регистрируемых линий, но и количество спектров-кадров, в которых аналитическая линия определяемого элемента присутствует. Производителю системы регистрации МАЭС (г. Новосибирск) удалось снизить это время до 1-4 мс, фирме ООО «МОРС» (г. Троицк) — до 40-50 мс. К сожалению, даже 1 мс не будет достаточно для выполнения варианта сцинтилляционного анализа [2], когда время регистрации (длительность кадра) совпадает с временем пролета частицы (золотины). В настоящей работе показано, что интенсивность аналитических линий в спектрах-кадрах экспозиции можно суммировать и суммарную интенсивность использовать в качестве аналитического сигнала для построения градуировочной кривой. Об этом свидетельствуют ниже представленные графики, построенные по ГСО ХО-1, РВМ-6, РМК-4 и РМО-5 (производства Сибцветмет НИИ проект, г. Красноярск) и ГСО №1121-77, ГСО КН-1, ВТ-1 и РВЗ-8 оказались не пригодны для градуировки, так как концентрации ванадия в этих ГСО, столь высоки, что создают спектральные помехи на месте линии золота.





**Рисунок 1. Зависимости суммарной интенсивности вспышек от концентрации золота в ГСО ХО-1, РВМ-6, РМК-4 и РМО-5 (сверху), в ГСО ХО-1, РВМ-6, РМК-4, РМО-5 и №1121-77 (снизу).**

Работа выполнена на атомно-эмиссионном спектрометре, состоящем из двухструйного дугового плазматрона ДДП-У-100 [3], спектрографа ДФС-8-3 с решеткой 1800 штр/мм и фотоэлектронной кассеты производства ООО МОРС (г. Троицк). Двухструйный дуговой плазматрон [3] в комплексе с оригинальным устройством ввода порошковой пробы [4] позволяет анализировать навески порошковых проб от нескольких миллиграмм до десятков грамм, что дает возможность анализировать прямым методом большие представительные навески проб при анализе минерального сырья с неравномерным распределением определяемого элемента.

Анализировали хвосты обогащения золотосодержащей руды. Образцы сравнения готовили следующим образом. ГСО РМО-5 состава руды медно-никелевой медистой последовательно разбавляли пустой породой в соотношении 1:2. Информация о концентрации золота в образцах сравнения занесена в таблицу 1.

**Таблица 1.**

**Концентрация золота в эталонах (масс. дол. %).**

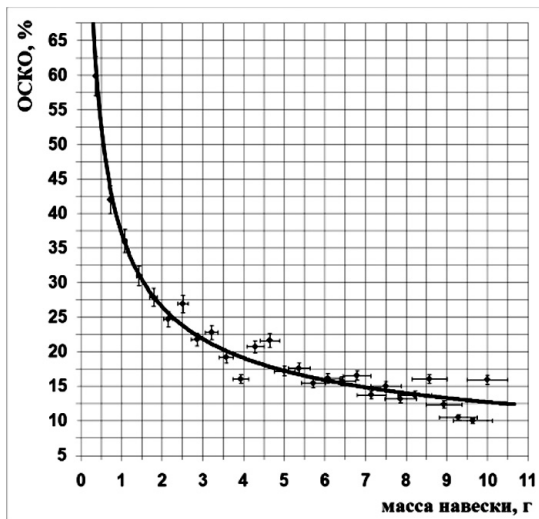
	РМО-5	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5
Au	0,00014	$4,67 \cdot 10^{-5}$	$1,56 \cdot 10^{-5}$	$5,19 \cdot 10^{-6}$	$1,73 \cdot 10^{-6}$	$5,8 \cdot 10^{-7}$

Образцы сравнения и анализируемые пробы истирали в механическом истирателе до крупности 40 мк. В стаканчики устройства ввода порошка насыпали навеску общей массой 20 грамм каждой пробы и эталона. Режим работы плазматрона: расход плазмообразующего газа — 3,5 л/мин, транспортирующего газа — 2 л/мин, ток дуги плазматрона — 80 А, угол между струями плазмы — 65°. Спектры проб снимали в режиме временной развертки при непрерывно поступающем в плазму порошке. Для образцов сравнения и анализируемых проб получали серии по 28000 спектров-кадров длительностью 50 мс каждый.

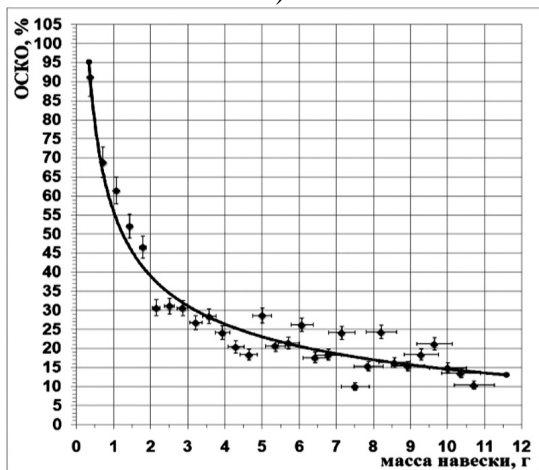
Далее определяли минимальную аналитическую навеску для каждого типа проб. Полученное количество спектров-кадров пробы разбивали на группы (начиная с 500 спектров в каждой группе, и последовательно увеличивали это количество с шагом 500 спектров). Разделив массу навески на число спектров, полученных при ее прожиге, определяли среднюю массу пробы расходуемой на получение одного спектра-кадра  $\sim 0,7$  мг, которую умножали на количество спектров-кадров в группе, получая величину навески, соответствующую данному типу группировки. Таким образом, в случае группировки по 500 спектров в группе мы получали 56 навесок по 350 мг; при группировке по 1000 спектров в группе — 28 навесок по 700 мг и т. д. Следовательно, каждому типу группировки соответствовала определенная аналитическая навеска.

В каждом спектре с помощью программного обеспечения системы регистрации измеряли интенсивность аналитических линий Au 267,595 нм и Pt 265,495 нм. За сигнал-сцинтилляцию принимали тот сигнал, интенсивность которого превышала 3 СКО фона ( $I_{\text{линии}} > 3 \text{ СКО}_{\text{фона}}$ ). Интенсивности сигнала в спектрах-кадрах суммировали для каждой группы отдельно и затем для всех типов группировки определяли относительное стандартное отклонение (ОСКО, %) суммарной интенсивности вспышек в группах. Далее строили кривую зависимости ОСКО суммарной интенсивности вспышек от массы навески (рис. 2). По этой кривой оценивали наименьшую аналитическую навеску для исследуемой пробы согласно той величине ОСКО, которую допускают требования используемой методики. Все вычисления и построение кривых выполняли в приложении Excel. Причем рабочую таблицу с соответствующими введенными в нее формулами создавали единожды. Далее в таблицу-копию экспортировали из программного обеспечения системы регистрации спектров результаты измерения интенсивностей сигнала в спектрах-кадрах новой пробы и для всех типов группировки в

режиме on-line получали суммы интенсивностей сигнала в группах, ОСКО суммарной интенсивности и кривую зависимости этого ОСКО от массы навески.



а)



б)

*Рисунок 2. Кривые зависимости ОСКО от массы навески ГСО ВТ-1 – (а) для Au, и ХО-1 – (б) для Pt*

На рис. 2 для примера приведены кривые зависимости ОСКО суммарной интенсивности от массы навески ГСО ВТ-1 для Au (а) и ГСО ХО-1 для Pt (б). Для проверки правильности оценки массы наименьшей аналитической навески использовали ГСО (таблица 2). В таблице 3 приведено сравнение паспортных данных масс аналитических навесок ГСО и экспериментально полученных по данной методике при заданном ОСКО — 15% для Au и Pt.

*Таблица 2.*

**Государственные стандартные образцы.**

№	Название ГСО	Состав	Масса представительной навески по паспорту, г.	Концентрация золота, ppm	Концентрация платины, ppm
1	ВТ-1	Руда сульфидная медно-никелевая	5	0,26±0,04	2,55±0,34
2	КН-1	Никелевый концентрат	5	0,84±0,09	8,6±0,3
3	ХО-1	Хвосты обогащения	10	0,07±0,01	0,43±0,09

*Таблица 3.*

**Сравнение масс аналитических навесок ГСО по паспорту и экспериментально полученных по данной методике.**

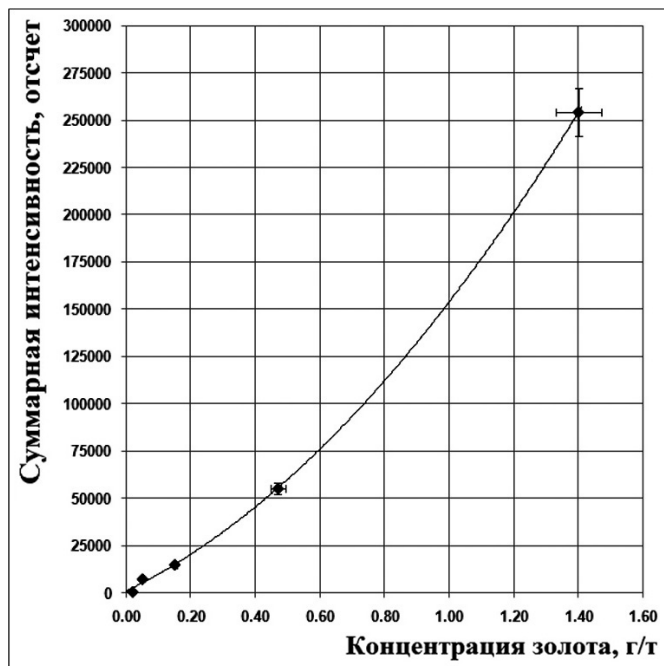
№	Название ГСО	Масса представительной навески по паспорту, г.	Масса представительной навески экспериментально полученная, г.
1	ВТ-1	5	4.5-6.5
2	КН-1	5	5-6
3	ХО-1	10	9-10

Из таблицы 3 видна удовлетворительная сходимость результатов экспериментального определения наименьшей аналитической навески для ГСО с их паспортными данными.

Минимальная аналитическая навеска исследуемых проб в среднем составила 3 грамма, образцов сравнения — 5 граммов, поэтому для выполнения анализа величина аналитической навески была принята равной — 5 грамм. Количество спектров-кадров,

соответствующих измерению минимальной аналитической навески в настоящей работе — 7000.

Интенсивности сигнала в спектрах-кадрах для каждой пробы суммировали, а затем строили кривую зависимости суммарной интенсивности вспышек от концентрации элемента (рис. 3). По этой градуировочной кривой определяли концентрацию золота в исследуемых пробах. За результат измерения принимали среднее арифметическое четырех параллельных измерений.



*Рисунок 3. Градуировочная кривая для определения золота*

В таблице 4 представлены метрологические характеристики методики определения золота в рудах и хвостах обогащения. Правильность методики оценивали путем определения золота в ГСО РМК-4 и РВМ-6. Результаты приведены в таблице 5.



**Таблица 4.**

**Метрологические характеристики методики определения золота в рудах и хвостах обогащения (P=0,95).**

<b>Концентрация золота, % масс.</b>	<b>Стандартное отклонение повторяемости <math>S_p</math>, % масс.</b>	<b>Стандартное отклонение воспроизводимости <math>S_R</math>, % масс.</b>
0,0001	0,000012	0,000014
0,00005	0,0000064	0,0000078
0,00001	0,0000017	0,0000018
0,000005	0,00000087	0,00000089
0,000001	0,00000024	0,00000027

**Таблица 5.**

**Результат определения золота в ГСО состава руд.**

<b>ГСО</b>	<b>Концентрация золота измеренная, % масс.</b>	<b>Концентрация золота по паспорту, % масс.</b>
РМК-4	0,000041 ± 0,000012	0,000045 ± 0,000002
РВМ-6	0,000039 ± 0,000011	0,000041 ± 0,000001

Таким образом, использование в качестве аналитического сигнала суммарной интенсивности аналитической линии в спектрах кадров временной развертки делает возможным применение атомно-эмиссионного метода с двухструйным дуговым плазматроном для прямого анализа проб с крайне неравномерным распределением золота и платиноидов, а также для оценки минимальной аналитической навески анализируемых проб.

### **Список литературы**

1. Карпов Ю. А., Савостин А. П. Методы пробоотбора и пробоподготовки. М.: БИНОМ, Лаборатория знаний, 2003, 243 с.
2. Райхбаум Я. Д. Физические основы спектрального анализа. М.: Наука, 1980, 159 с.
3. Тагильцев А. П., Тагильцева Е. А. Автоматический запуск двухструйного дугового плазматрона // Заводская лаборатория, 2009, № 3, с. 23-25.
4. Тагильцев А. П., Тагильцева Е. А. Устройство подачи порошковых проб при спектральном анализе на двухструйном дуговом плазматроне // Заводская лаборатория, 2009, № 6, с. 22-26.

## 2.2. БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

### НОВЫЕ АКТИНОПОРИНЫ ИЗ АКТИНИИ *HETERACTIS CRISPA*: ВЫДЕЛЕНИЕ И ЧАСТИЧНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

*Меньшов Александр Сергеевич*

*магистрант 1 года обучения, Дальневосточный Федеральный  
Университет, Школа естественных наук, г. Владивосток*

*E-mail: [al-fchb-b117@mail.ru](mailto:al-fchb-b117@mail.ru)*

*Ткачева Екатерина Сергеевна*

*м. н. с., Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН,  
г. Владивосток*

*Монастырная Маргарита Михайловна*

*д-р хим. наук., доцент, Тихоокеанский институт биоорганической  
химии ДВО РАН, г. Владивосток*

*Работа поддержана грантом РФФИ № 10-08-00316-а.*

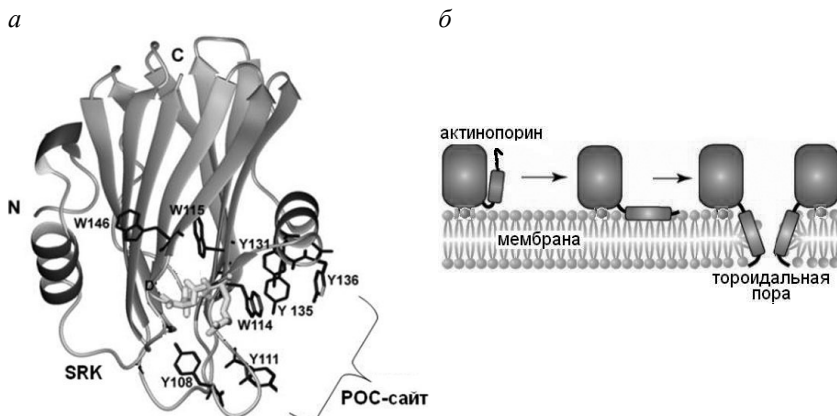
Из тропической актинии *Heteractis crispa* методами ацетонового осаждения, ионообменной хроматографии, гель-фильтрации и обращенно-фазовой ВЭЖХ получен суммарный препарат полипептидов, представляющих собой, согласно данным электрофореза и МАЛДИ ТОФ масс-спектрометрии, изоформы актинопоринов — пороформирующих токсинов.

Ключевые слова: актиния, актинопорины, полипептиды, гемолитическая активность, хроматография, электрофорез, масс-спектрометрия.

Актинопорины являются одной из наиболее широко исследуемых групп мембраноактивных полипептидов, продуцируемых актиниями, ядовитыми морскими кишечноротовыми. В настоящее время эти полипептиды относят к семейству  $\alpha$ -пороформирующих токсинов ( $\alpha$ -ПФТ), их действие связано с образованием в мембранах пор (диаметром 1-2 нм), проницаемых для катионов и небольших молекул [2, 4, 7, 9]. Пространственная структура актинопоринов позволяет им находиться как в водорастворимом состоянии, так и в

мембраносвязанном (рис. 1, а), причем переход в последнее обусловлен конформационными перестройками молекулы при ее включении в мембрану [5, 7]. В настоящее время ПФТ используют в качестве инструментов исследования структурной организации и механизмов функционирования биологических и модельных мембран [9]. Разнообразие проявляемых актинопоринами видов биологической активности (кардиостимулирующая, антиопухолевая, антипаразитарная [2, 4, 8]) дает возможность конструировать на основе их структуры высокоспецифичные фармакологические препараты направленного действия.

Ранее сотрудниками лаборатории химии пептидов ТИБОХ ДВО РАН из тропической актинии *Heteractis crispa* было выделено в индивидуальном состоянии и охарактеризовано четыре нативных актинопорина [2, 8, 9], а методами молекулярной биологии установлено 19 структур генов *H. crispa*, кодирующих 18 высоко гомологичных аминокислотных последовательностей, которые образуют комбинаторную библиотеку актинопоринов [1]. Для трех ее представителей получены рекомбинантные формы, степень идентичности аминокислотных последовательностей которых с известными актинопоринами из тропических актиний *Actinia equina* и *Stichodactyla helianthus*, эквинатоксином II и стихолизином II [4], составляет 84–91% соответственно.



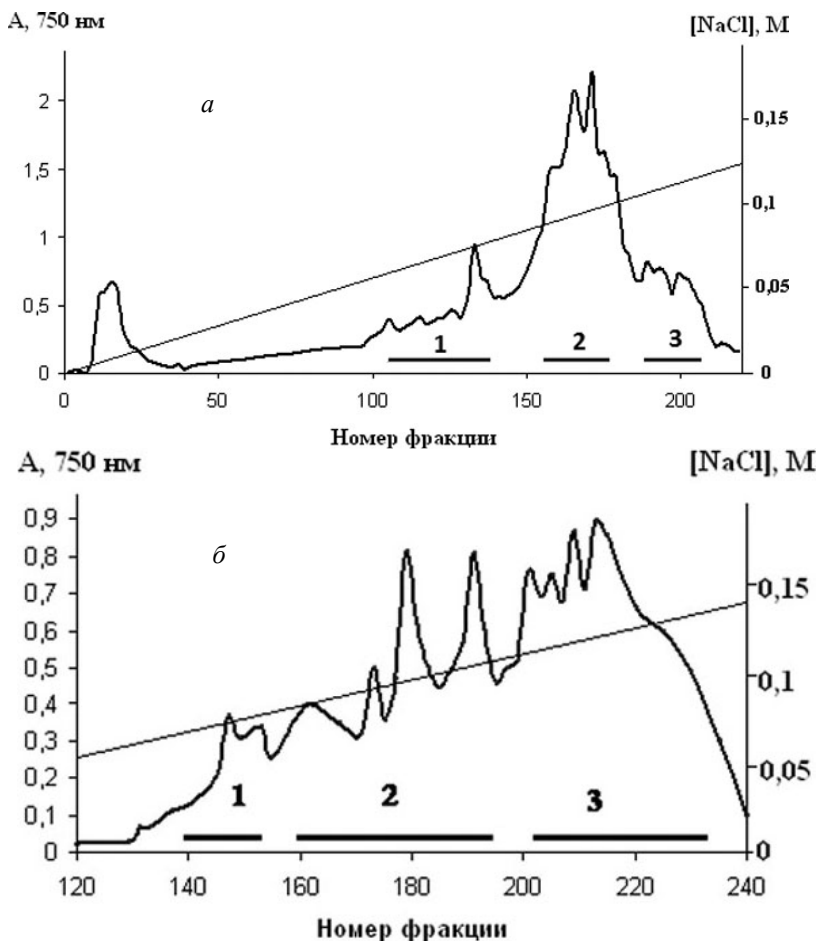
**Рисунок 1. 3D-модель актинопорина *Hct-S6* (а) [1]; схематичная модель порообразования [4] (б).**

Исследование механизма действия актинопоринов позволило установить, что на первом этапе порообразования происходит взаимодействие ароматических аминокислотных остатков так называемого ROC-сайта связывания актинопорина с фосфорилхолиновыми головками мембранного сфингомиелина и/или фосфатидилхолина (в результате образования между молекулами полипептида и фосфолипида прочных гидрофобных контактов, водородных и ионных связей). Конформационные изменения молекулы актинопорина, происходящие при этом, затрагивают высоко заряженную петлю SRK и N-концевой фрагмент, который разворачивается и попадает в водно-липидный интерфейс мембраны. Этот процесс, сопровождаемый удлинением амфифильной  $\alpha$ -спирали N-концевого фрагмента на несколько аминокислотных остатков, завершается ее включением в мембрану (рис. 1, б) [5]. Установлено, что в состав функциональной поры входят N-концевые фрагменты четырех молекул актинопорина, которые, чередуясь с молекулами фосфолипидов, формируют в мембране тороидальную пору [7].

Целью данной работы являлся поиск и идентификация новых нативных актинопоринов из *H. crispata* с целью дальнейшего проведения сравнительного структурно-функционального исследования представителей комбинаторной библиотеки, которые предполагается получить методами молекулярного клонирования.

Для выделения полипептидов использовали актинии *H. crispata*, собранные на литорали Южно-Китайского моря в 2010 году в ходе 38-й научно-исследовательской экспедиции НИС «Академик Опарин». Из водного экстракта актиний методом осаждения 63%-ным ацетоном выделяли суммарный белковый препарат, дальнейшее разделение которого на активные фракции проводили методом катионообменной хроматографии на карбоксиметилцеллюлозе-32 (рис. 2, а) в градиенте концентрации NaCl (0–0,5 М) в 0,01 М аммоний-ацетатном буферном растворе, pH 6,0.

Белковые фракции (границы объединения показаны жирными линиями), собранные под пиком 2, обладали высокой гемолитической активностью, а под пиками 1 и 3 имели более низкую активность. Полипептиды, содержащиеся в объединенных белковых фракциях пика 2 (рис. 2, а), рехроматографировали в тех же условиях (рис. 2, б) и последующую очистку актинопоринов проводили методом гель-фильтрации (рис. 3, а—г).

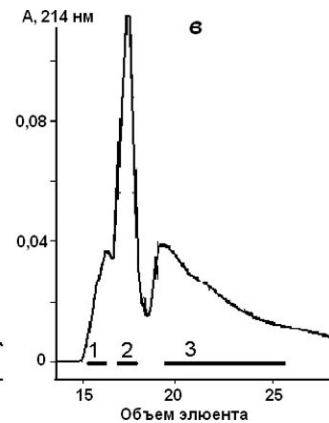
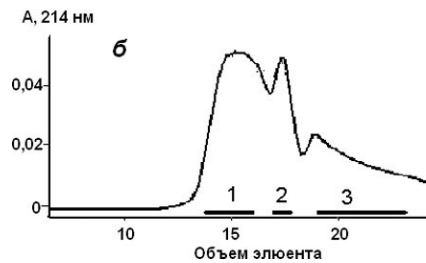
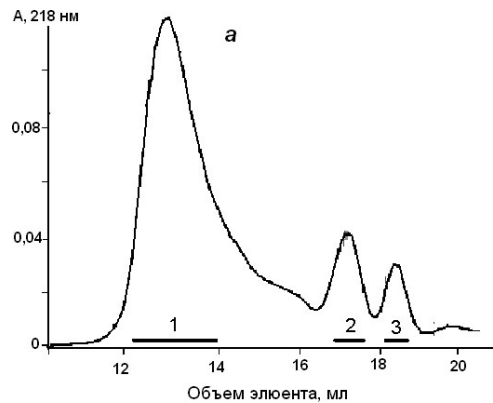


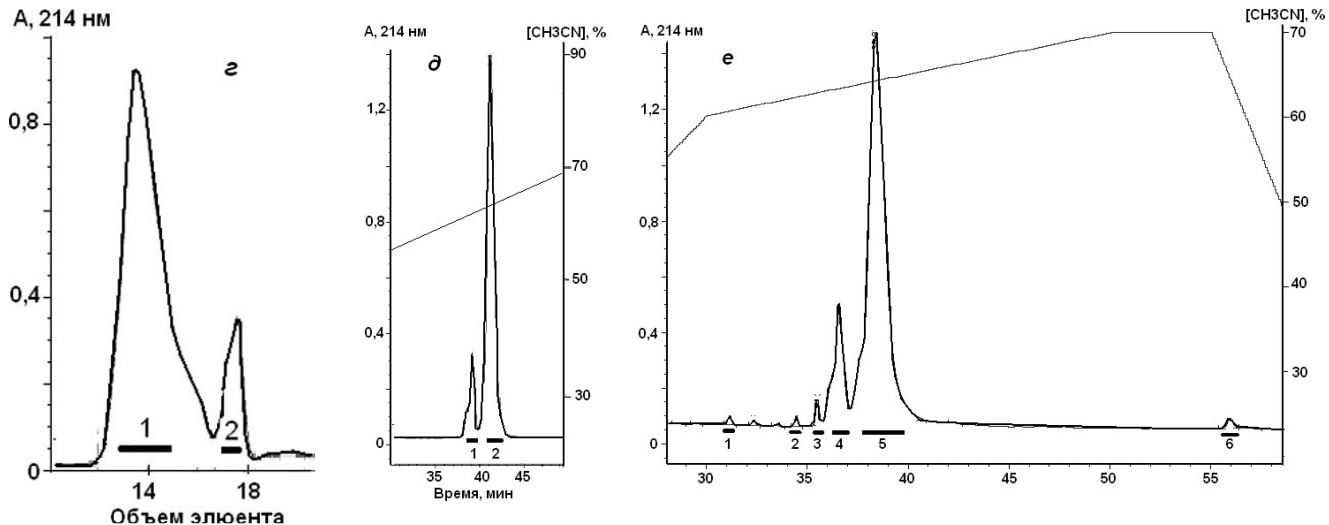
**Рисунок 2. Катионообменная хроматография полипептидов *H. crispa*, осажденных ацетоном, на колонке с КМ-32 целлюлозой (а); рехроматография полипептидов, содержащихся в белковых фракциях пика 2 (рис. 2, а) (б).**

В результате были получены гемолитически активные белковые фракции (пики 1—3), содержащие от 50 до 800 мкг белка. Согласно данным электрофоретического анализа (рис. 4, а) эти фракции содержали полипептиды с молекулярной массой около 19—20 кДа (актинопорины), во фракциях пика 1 (рис. 3, б и рис. 3, в) были идентифицированы примесные полипептиды с молекулярной массой 9

кДа. Полипептиды гемолитически активных белковых фракций, соответствующих пикам 3 (рис. 3, б и рис. 3, в) и 1 (рис. 3, з), объединяли и подвергали обращенно-фазовой ВЭЖХ на колонке Nucleosil C<sub>18</sub> (рис. 3, е и рис. 3, д соответственно).

Масс-спектрометрический анализ полипептидов пика 1 (рис. 3, д) показал, что их молекулярная масса составляет 18996 и 19121 Да (рис. 4, б) и близка таковой ранее выделенных из *H. crispa* нативных актинопоринов RTX-II (19275 Да) и RTX-A [3, 6]. Уширенные пики на профиле элюции полипептидов (рис. 3, д и рис. 3, е) указывают на то, что в белковом препарате содержится несколько изоформ актинопорина. Это согласуется с данными молекулярно-биологического исследования актинопоринов *H. Crispa* [1]. Наличие примесных полипептидов с молекулярной массой более 9 кДа не противоречит ранее обнаруженному факту, что различные виды актиний продуцируют, помимо высокомолекулярных цитолизинов (актинопоринов), также низкомолекулярные цитолизины (6-10 кДа) [2, 4].

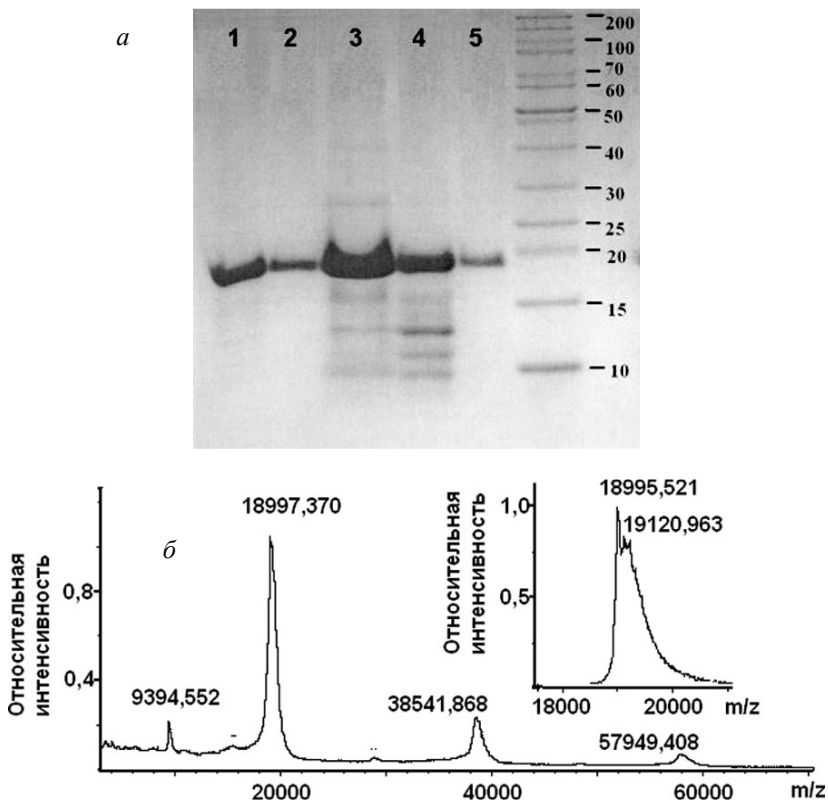




*Рисунок 3. Гель-фильтрация полипептидов белковых фракций пиков 1, 2, 3 (рис. 2, б) (а, б, в и г соответственно); ВЭЖХ полипептидов (д) белковых фракций пика 1 (рис. 3, з); ВЭЖХ полипептидов (е) объединенных белковых фракций пиков 3 (рис. 3, б и в). Жирной линией отмечены границы объединения фракций, проявивших гемолитическую активность.*



Наличие нескольких сигналов меньшей интенсивности (в области 38543 и 57950 m/z) показывает, что в полученном белковом препарате актинопорины существуют в форме димеров и тримеров, что согласуется с данными для стихолизина II [4].



**Рисунок 4.** (а) электрофореграмма полипептидов пиков 1, 2 (рис. 3, в), 3 (рис. 3, б), 1, 3 (рис. 3, з) (цифры на электрофореграмме 1, 2, 3, 4, 5 соответственно). (б) масс-спектр полипептидов пика 1 б с. 3, д).

Таким образом, ввиду большого количества изоформ актинопоринов и чрезвычайно малого их содержания в исходном сырье проведение структурно-функциональных исследований этой чрезвычайно интересной группы ПФТ, представляющих собой мультигенное семейство актинии *H. crispa*, представляет собой очень

непростую задачу. Поэтому с этой целью в дальнейшей работе будут использованы как методы молекулярной биологии, так и молекулярного моделирования.

### Список литературы:

1. Новые актинопорины актинии *Heteractis crispa*: клонирование и функциональная экспрессия / Ткачева Е. С., Лейченко Е. В., Монастырская М. М., Исаева М. П., Зелепуга Е. А., Анастюк С. Д., Дмитренко П. С., Козловская Э. П. // Биохимия. 2011. Т. 76. С. 1387–1397.
2. Actinoporins from the sea anemones, tropical *Radianthus macrodactylus* and northern *Oulactis orientalis*: comparative analysis of structure-function relationships / Monastyrnaya M., Leychenko E., Issaeva M., Likhatskaya G., Zelepuga E., Kostina E., Trifonov E., Nurminski E., Kozlovskaya E. // Toxicon. 2010. V. 56. P. 1299–1314.
3. Amino acid sequence of RTX-A's isoform actinoporin from the sea anemone *Radianthus macrodactylus* / Il'ina A., Lipkin A., Barsova E., Issaeva M., Leychenko E., Guzev K., Monastyrnaya M., Lukyanov S., Kozlovskaya E. // Toxicon. 2006. V. 47, P. 517–520.
4. Anderluh G., Maček P. Cytolytic peptide and protein toxins from sea anemones (Anthozoa: Actiniaria) // Toxicon. 2002. V. 40. P. 111–124.
5. Crystal and electron microscopy structures of sticholysin II actinoporin reveal insights into the mechanism of membrane pore formation / Mancheno J. M., Martin-Benito J., Martinez-Ripol M., Gavilanes J. G., Hermoso J. A. // Structure. 2003. V. 11. P. 1–20.
6. Isolation, properties and partial amino acid sequence of a new actinoporin from the sea anemone *Radianthus macrodactylus* / Klyshko E. V., Issaeva M. P., Monastyrnaya M. M., Il'ina A. P., Guzev K. V., Vakorina T. I., Dmitrenok P. S., Zykova T. A., Kozlovskaya E. P. // Toxicon. 2004. V. 44, P. 315–324.
7. Pore Formation by Equinatoxin, a Eukaryotic Pore-forming Toxin, Requires a Flexible N-terminal Region and a Stable  $\beta$ -Sandwich / Kristan K., Podlesek Z., Hojnik V., Gutierrez-Aguirre I., Gunear G., Turk D., Gonzalez-Manas J. M., Lakey J. H., Macek P., Anderluh G. J. // Biol. Chem. 2004. V. 279. P. 46509–46517.
8. The anticancer effects of actinoporins from the sea anemone *Heteractis crispa* (= *Radianthus macrodactylus*) / Fedorov S., Monastyrnaya M., Dyshlovoy S., Shubina L., Leychenko E., Kozlovskaya E., Jin J.-O., Kwak J.-Young, Bode A. M., Dong Z., Stonik V. // Toxicon. 2010. V. 55. P. 811–817.
9. The interaction of toxin from *Radianthus macrodactylus* with bilayer phospholipid membranes / Chanturiya A. N., Shatursky O. Ja., Lishko V. K., Monastyrnaya M. M., Kozlovskaya E. P. // Biol. Membr. 1990. V. 7. P. 763–769.

# ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ПРОСТРАНСТВЕННЫЕ МОДЕЛИ МОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА ПОЛИПЕПТИДА HCGS-2,23 ИЗ АКТИНИИ HETERACTIS CRISPA С ТРИПСИНОМ

*Табакмахер Валентин Михайлович*  
аспирант, ТИБОХ ДВО РАН, г. Владивосток

*Гладких Ирина Николаевна*  
канд. хим. наук, н. с., ТИБОХ ДВО РАН, г. Владивосток

*Монастырная Маргарита Михайловна*  
д-р хим. наук, в. н. с., ТИБОХ ДВО РАН, г. Владивосток

*Зеленуга Елена Александровна*  
канд. физ.-мат. наук, н. с., ТИБОХ ДВО РАН, г. Владивосток  
E-mail: [zel@pidoc.dvo.ru](mailto:zel@pidoc.dvo.ru)

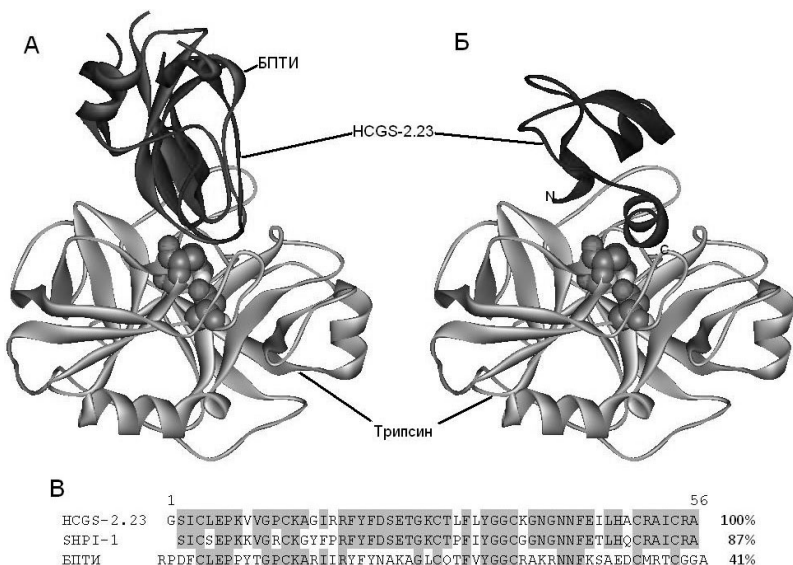
*Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Государственного контракта №16.512.11.2196, гранта РФФИ № 11-04-01179-а, и гранта «Молекулярная и клеточная биология» №09-1-U22-05.*

Протеолитические ферменты (протеиназы) присутствуют во всех организмах и составляют от 2 до 4% всех закодированных продуктов гена. Они играют важную роль в различных биологических процессах, таких, как пищеварение, воспаление, свертывание крови, иммунная защита, защита от патогенных инфекций и вирусной репликации - и это лишь некоторые из них. Поскольку протеиназы вызывают необратимое расщепление белков (протеолиз), их активность должна находиться под жестким контролем. Нарушение регуляции протеолитической активности является причиной нарушений в гомеостатическом балансе биологической системы и может привести к непредсказуемому числу негативных биологических последствий. В результате, природой разработан ряд стратегий для управления протеолизом, в том числе посредством активации зимогена, деградации протеаз, а также путем ингибирования протеиназ макромолекулярными ингибиторами. Удивительно, что существует относительно немного принципов конструирования, комбинация которых лежит в основе механизмов действия огромного спектра

макромолекулярных ингибиторов протеиназ. Огромные усилия исследователей направлены на изменение специфичности и улучшение эффективности действия ингибиторов, и в значительной степени для этих целей использованы те же принципы дизайна, по которым хорошо работают природные ингибиторы протеиназ.

В данной статье с использованием методов компьютерного моделирования проводится исследование механизма действия полипептида HCGS-2,23 на трипсин. HCGS-2,23 является представителем комбинаторной библиотеки ингибиторов протеиназ семейства Кунитца из ядовитой морской актинии *Heteractis crispa* (Тип Кишечнополостные), аминокислотная последовательность которого установлена в нашей лаборатории ранее [8].

Наиболее простым подходом к установлению структурно-функциональных взаимосвязей является сравнение структур новых и уже охарактеризованных соединений. К сожалению, до сих пор пространственная структура ни одного из ингибиторов *H. crispa* не была установлена экспериментально. Поэтому было решено построить модель пространственной структуры полипептида *in silico*. Высокая степень идентичности (87%) HCGS-2,23 и ингибитора сериновых протеиназ SHPI-1 из актинии *Stichodactyla helianthus*, пространственная структура которого установлена методом <sup>1</sup>H-ЯМР-спектроскопии (рис. 1, В) [2], позволила использовать для этой цели метод гомологичного моделирования. Теоретическая модель пространственной структуры полипептида HCGS-2,23 была построена при помощи программы SPDBV [7] и веб-сервера SWISS-MODEL [10] с использованием в качестве шаблона пространственной структуры SHPI-1 (PDB ID 1SHP). Для минимизации энергии модели структуры макромолекулы применили программу SPDBV с потенциалом сил GROMOS 96 [13]. Качество модели оценивали с помощью веб-сервера PROCHECK [12]. Суперпозиция полученной модели ингибитора и прототипа SHPI-1 показала, что величина параметров RMSD для 55 C $\alpha$ -атомов не превышает 0,2 Å. С помощью карты Рамачандрана и сервера PROCHECK полученная модель были проверена на наличие в ней стерических и конформационных затруднений. Было установлено, что 90% аминокислотных остатков имеет благоприятную конформацию, а 10% — допустимую, при этом остатки в неблагоприятной и недопустимой конформациях отсутствовали.



**Рисунок 1.** Теоретические пространственные модели молекулярного комплекса HCGS-2,23-трипсин: (А) Суперпозиция теоретической структуры комплекса HCGS-2,23-трипсин («каноническая» архитектура) с кристаллической структурой комплекса БПТИ-трипсин (PDB ID 2PTC), (Б) Теоретическая структура комплекса HCGS-2,23-трипсин (альтернативная архитектура), (В) Выравнивание аминокислотных последовательностей ингибиторов протеиназ: HCGS-2,23 — ингибитор из актинии *H. crispa*, SHPI-1 — ингибитор из актинии *S. helianthus* и БПТИ — ингибитор трипсина из поджелудочной железы *Bos taurus*. Гомологичные области обозначены серым цветом. Модели молекул представлены в виде ленточных диаграмм. Шаровыми моделями показаны аминокислотные остатки, входящие в активный центр фермента. Визуализация выполнена с помощью программы DS Visualiser 2.5 Accelrys®.

Анализ содержания элементов вторичной структуры в данной модели, проведенный с помощью программы SPDBV, показал, что, подобно структуре наиболее яркого представителя ингибиторов протеиназ семейства Кунитца — БПТИ (бычий панкреатический ингибитор трипсина), она содержит две  $\alpha$ -спирали, расположенные на N- и C-концах молекулы, два антипараллельных  $\beta$ -стренда и две большие петли (неупорядоченная структура). Данные о содержании элементов вторичной структуры, полученные с применением

компьютерных расчетов, близки данными, установленным экспериментально для ингибиторов протениаз исследованных ранее *in vitro* [5, 1]. Таким образом, построенная нами теоретическая модель пространственной структуры полипептида HCGS-2,23 обладает достаточной степенью точности, что позволяет использовать ее для структурно-функциональных исследований.

Теоретические модели комплексов ингибитора с трипсином генерированы с помощью метода молекулярного докинга с использованием ресурсов сервера ClusPro 2.0 [4]. В качестве рецептора использовали структуру трипсина из комплекса БПТИ-трипсин (PDB ID 2PTC). Архитектура большого числа генерированных структурных моделей комплексов HCGS-2,23-трипсин была аналогична таковой, наблюдаемой в кристаллической структуре комплекса БПТИ-трипсин. Однако, по результатам расчетов сервера ClusPro 2.0, ингибитор протениаз HCGS-2,23, кроме комплексов с так называемой «канонической» архитектурой, образует комплексы с альтернативным строением. Так, для комплексов HCGS-2,23-трипсин наблюдается два типа архитектуры, в которых задействованы либо каноническая связывающая петля, подобно БПТИ (рис. 1, А), либо С-концевая  $\alpha$ -спираль ингибитора (рис. 1, Б).

*Таблица.*

**Параметры поверхности контактов теоретических комплексов HCGS-2,23-трипсин с «канонической» и альтернативной архитектурой.**

Характеристики поверхности контактов ( $\Delta$ ASA)	«Каноническая» архитектура		Альтернативная архитектура	
	Трипсин	HCGS-2,23	Трипсин	HCGS-2,23
Количество сегментов	11	11	11	11
Площадь $\Delta$ ASA ( $\text{\AA}^2$ )	716,61	814,43	823,99	953,91
% $\Delta$ ASA	7,97	23,59	9,20	28,66
Количество атомов	136	69	161	75
Количество а.о.	27	18	32	20
% полярных а.о.	70,37	22,22	65,62	25,00
% неполярных а.о.	25,93	55,56	28,12	55,00
% заряженных а.о.	3,70	22,22	6,25	20,00
Планарность ( $\text{\AA}$ )	6,603	2,557	6,148	2,735
Водородные связи	10	10	7	7
Солевые мостики	11	11	6	6
Объем полостей ( $\text{\AA}^3$ )	135,00	135,00	270,00	270,00
Индекс объема полостей ( $\text{\AA}$ )	0,09	0,08	0,16	0,14

Для валидации полученных нами структурных моделей комплекса был проведен анализ поверхностей контактов ( $\Delta$ ASA). Данные о характеристиках интерфейсов структурных моделей комплекса HCGS-2,23-трипсин для «канонического» и альтернативного вариантов архитектуры (см. табл.) соответствуют таковым для экспериментально установленных постоянных белок-белковых комплексов. Кроме того, эти данные свидетельствуют о том, что комплекс с альтернативным строением по большинству характеристик поверхности контактов сопоставим, а по некоторым из них ( $\Delta$ ASA, количество а. о. и атомов на поверхности контактов) превосходит комплекс «канонической» архитектуры.

Как известно, одной из важнейших характеристик белок-белкового взаимодействия является энергия образования комплекса. Программа SEQMOL в 76% случаев позволяет оценить энергию взаимодействия белков, исходя из пространственной структуры их комплекса (экспериментальной или генерированной) с точностью, близкой к экспериментальным данным [9]. Для дискриминации данных структурных моделей комплексов был проведен более глубокий анализ 97 наиболее предпочтительных моделей, полученных после кластеризации результатов геометрического докинга, с целью поиска наиболее энергетически выгодной архитектуры комплекса HCGS-2,23-трипсин. Для этих моделей с использованием программы SEQMOL были рассчитаны значения изменения свободной энергии Гиббса и константы связывания ( $K_d$ ) в системе HCGS-2,23-трипсин. Согласно расчетным данным комплексы с обеими архитектурами, «канонической» и альтернативной (рис. 1, А и Б), соответствуют глобальному минимуму данной системы и имеют близкие значения  $K_d$ . Разница в расчетных значениях изменения свободной энергии Гиббса при образовании комплексов с «каноническим» ( $\Delta G = -15,09$  ккал/моль,  $K_d = 9,78 \cdot 10^{-12}$  М) и альтернативным ( $\Delta G = -15,19$  ккал/моль,  $K_d = 8,26 \cdot 10^{-12}$  М) строением не превышает пределов стандартной погрешности вычислений при использовании экспериментальных методов. Таким образом, полученные результаты компьютерного анализа энергии взаимодействия HCGS-2,23 с трипсином подтверждают наше предположение том, что обе архитектуры комплексов могут быть реализованы и существовать одновременно.

Следует отметить, что интерфейс расчетных комплексов HCGS-2,23-трипсин со стороны фермента включает аминокислотные остатки His57, Gly192, Ser195, принимающие участие в каталитическом действии белка. Очевидно, в комплексно-связанном состоянии трипсин не сможет осуществлять катализ гидролитического расщепления полипептидов, что указывает на конкурентный тип ингибирования трипсина полипептидом

НСГС-2,23. При этом ингибирующее действие фермента действие НСГС-2,23 должно наблюдаться для обоих вариантов архитектуры комплекса.

В то же время, обобщая результаты анализа поверхностей контактов в «каноническом» комплексе ингибитора НСГС-2,23 с трипсином, проведенного с помощью сервера ProtonP [15], можно сделать вывод, что большой вклад в межмолекулярный интерфейс при связывании НСГС-2,23 с сериновой протеиназой вносят остатки Lys14, Gly16, Ile17. Это коррелирует с данными, полученными экспериментально для БПТИ [11]. Кроме того, расчетными методами установлено, что Arg18 вносит наибольший вклад в связывание полипептидов, образуя четверть ΔASA ингибитора и три водородные связи с макромолекулой трипсина. Все это указывает на субстратоподобный механизм действия ингибитора НСГС-2,23 при взаимодействии с классическим сайтом связывания.

В образовании комплекса с альтернативным строением со стороны ингибитора наибольший вклад вносят аминокислотные остатки N- и C-концевых α-спиралей полипептида: Gly1, Ser2, Ile3, His 48, Arg51, Ile53, Ala56, при этом наблюдается увеличение поверхности контактов при уменьшении комплиментарности белковых поверхностей в области интерфейса.

Таким образом, методами молекулярного докинга и биоинформационного анализа были получены теоретические пространственные модели комплекса ингибитора НСГС-2,23 комбинаторной библиотеки *H. crista* с трипсином. Показано, что НСГС-2,23 образует устойчивые комплексы с  $K_d$  порядка  $10^{-12}$  М. При этом наблюдается не только «канонический» тип связывания (с участием канонической петли), но и альтернативный (с участием концевых α-спиралей). Показано, что в «каноническом» связывании ингибитора типа Кунитца НСГС-2,23 с трипсином ключевую роль играют Lys14, Gly16, Ile17, Arg18 и имеет место субстратоподобный механизм действия. Установлено, что в рассмотренных структурных моделях комплексов трипсина с полипептидом НСГС-2,23 со стороны сериновой протеиназы задействованы, по крайней мере, 3 аминокислотных остатка активного центра фермента, что говорит о конкурентном типе ингибирования.

Следует отметить, что, несмотря на множество мишеней и разнообразие механизмов ингибирования, большинство ингибиторов протеиназ связывается именно с активным центром протеиназ. Повидимому, данная стратегия обеспечивает высокую эффективность ингибирования, поскольку родственные протеиназы обычно имеют высокую степень гомологии именно в области активного центра и субстратоподобное взаимодействие обеспечивает возможность



ингибирования целого ряда протеиназ, тем самым оказывая воздействие на множество биологических процессов. Подтверждением данного феномена, является тот факт, что в среднем один ингибитор протеиназ эффективен для 5 различных протеиназ внутри субкласса ферментов [14]. Тем не менее, не всегда имеет место субстратоподобный механизм ингибирования, как, например, в случае взаимодействия цистатина с цистеиновой протеиназой, когда наибольший вклад во взаимодействие вносят аминокислотные остатки фермента, удаленные от активного центра [3], а также имеет место в случае комплекса HCGS-2,23-трипсин альтернативной архитектуры. Это отличает данный механизм ингибирования от так называемого стандартного субстратоподобного механизма, хотя в данном случае также наблюдается экранирование области активного сайта, но нет непосредственного взаимодействия с каталитической триадой фермента. Такая стратегия, вероятно, обеспечивает еще больше расширение специфичности действия ингибитора.

Как известно, многие ингибиторы протеиназ кровососущих паразитов кроме основного сайта связывания имеют вторичный сайт связывания (экзосайт) за пределами активного сайта, который также важен для ингибирования [16]. Данная стратегия имеет несколько преимуществ. Во-первых, она обеспечивает увеличение поверхности контактов белок-белкового взаимодействия, что позволяет увеличить аффинность и, во-вторых, расширяет спектр возможных мишеней, воздействуя на специфичность ингибитора [6]. Вероятно, подобный механизм действия реализуется и в случае исследуемого нами полипептида HCGS-2,23 — одного из представителей комбинаторной библиотеки ингибиторов протеиназ типа Кунитца актинии *H. crispata*. Повидимому, в процессе эволюции полипептид HCGS-2,23, обеспечивая защиту организма-продуцента от широкого разнообразия протеиназ жертв и хищников, использовал преимущества наличия экзосайтов не только для максимального расширения спектра специфичности, но и для сохранения достаточно высокой аффинности, о чем свидетельствуют сравнимые значения изменения свободной энергии Гиббса при образовании комплексов трипсина с классическим и альтернативным сайтами связывания ингибитора. Наличие двух сайтов связывания, взаимодействующих с областью активного центра фермента, но использующих при этом различные механизмы действия, позволяет предполагать, что полипептид HCGS-2,23 может ингибировать активность не только трипсиноподобных протеиназ, но других протеолитических ферментов. Это, безусловно, представляет большой теоретический интерес и требует дальнейших экспериментальных исследований.

## Список литературы:

1. Вакорина Т. И., Гладких И. Н., Монастырская М. М., Козловская Э. П. Конформационная стабильность ингибитора сериновых протеиназ InhVJ из актинии *Heteractis crispa* // Биоорган. химия. 2011. Т. 37. С. 310–318.
2. Antuch W., Berndt D. K., Chavez A. M., Delfin J., Wüthrich K. The NMR solution structure of a Kunitz-type proteinase inhibitor from the sea anemone *Stichodactyla helianthus* // Eur. J. Biochem. 1993. №3(212). P. 675-684.
3. Bode W., Huber R. Structural basis of the endoproteinase-protein inhibitor interaction // Biochim. Biophys. Acta Protein Struct. Mol. Enzymol. 2000. 1477(1-2). P. 241–252.
4. Comeau S. R., Kozakov D., Brenke R., Shen Y., Beglov D., Vajda S. ClusPro: Performance in CAPRI rounds 6-11 and the new server // Proteins. 2007. V. 69. №4. P. 781-785.
5. Delfin J., Martinez I., Antuch W., et. al. Purification, characterization and immobilization of proteinase inhibitors from *Stichodactyla helianthus* // Toxicon. 1996. V. 34. P. 1367—1376.
6. Farady Ch. J., Craik Ch. S. Mechanisms of Macromolecular Protease Inhibitors // Chem.BioChem. 2010. №11, P. 2341–2346.
7. Guex N., Peitsch M. C. SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: An environment for comparative protein modeling // Electrophoresis. 1997. №15(18). P. 2714-2723.
8. Isaeva M. P., Chausova V. E., Zelepuga E. A., Guzev K. V., Tabakmakher V. M., Monastyrnaya M. M., Kozlovskaya E. P. A new multigene superfamily of Kunitz-type protease inhibitors from sea anemone *Heteractis crispa* // Peptides. 2012, In Press.
9. Kastritis P. L., Bonvin A. M. Are scoring functions in protein-protein docking ready to predict interactomes? Clues from a novel binding affinity benchmark. J Proteome Res. 2010 №9(5) 2216-25.
10. Kiefer F., Arnold K., Künzli M., et. al. The SWISS-MODEL Repository and associated resources // Nucleic Acids Res. 2009. V. 37. P. 387-392.
11. Krowarsch D., Zakrzewska M., Smalas A. O., Otlewski J. Structure-function relationships in serine protease-bovine pancreatic trypsin inhibitor interaction // Protein Pept. Lett. 2005. V. 12. №5. P. 403-407.
12. Laskowski R. A., MacArthur M. W., Moss D. S., Thornton J. M. PROCHECK — a program to check the stereochemical quality of protein structures // J. App. Cryst. 1993. № 2(26). P. 283-291.
13. Peitsch M. C. Protein modeling by E-mail // Nature Biotechnology. 1995. V.13. P. 658-660.
14. Rawlings N. D., Barrett A. J., Bateman A. MEROPS: the peptidase database // Nucleic Acids Res. 2010, V. 38, D227–D233.
15. Reynolds C. ProtorP: a protein-protein interaction analysis server // Bioinformatics. 2009. V. 25, №3. P. 413-414.
16. Roussel A., Mathieu M., Dobbs A., et. al. Complexation of two proteic insect inhibitors to the active site of chymotrypsin suggests decoupled roles for binding and selectivity // J. Biol. Chem. 2001. V. 276. P. 38893–38898.

## 2.3. НЕОРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

### ПРОЕКЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ ЛИКВИДУСА СИСТЕМЫ HO-AS-SE

*Ильяслы Теймур Мамед оглы*

*д-р хим. наук, профессор, кафедра Общей и неорганической химии,  
Бакинский Государственный Университет, г. Баку, Азербайджан*

*Садыгов Фуад Микаил оглы*

*д-р хим. наук, профессор, кафедра Общей и неорганической химии,  
Бакинский Государственный Университет, г. Баку, Азербайджан*

*Насибова Лала Элгиз гызы*

*аспирант кафедры Общей и неорганической химии, Бакинский  
Государственный Университет, г. Баку, Азербайджан  
E-mail: [Lala-2201@mail.ru](mailto:Lala-2201@mail.ru)*

Как известно, стекла на основе халькогенидов мышьяка широко применяются в технике как перспективные фоточувствительные материалы.

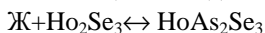
Получение магнитных ионных стекол представляет большой практический интерес. С этой точки зрения изучение тройной системы Ho-As-Se является одной из актуальных задач. Для понимания характера взаимодействия в указанной системе необходимо изучение бинарных граничных систем, а также квази- и неквазибинарных разрезов тройной системы.

**Система As-Se** [1, 5, 6] характеризуется образованием двух конгруэнтно плавящихся соединений:  $As_2Se_3$  (650K) и  $AsSe$  (595K). Между  $As-AsSe$ ,  $AsSe-As_2Se_3$  и  $As_2Se_3-Se$  образуется эвтектика с координатами: 55 ат% As и 520K; 47 ат% As и 545K; 20 ат% As и 425K.

**В системе Ho-Se** [2, 4] образуются три конгруэнтно плавящихся  $HoSe$  (2250K),  $Ho_3Se_4$  (2110K) и  $Ho_2Se_3$  (2073K), а также одно инконгруэнтно плавящееся соединение  $HoSe_2$  (1500K). Координаты соответствующих эвтектик равны: в системе Ho-HoSe — 5 ат% Se и 1700K; в системе  $HoSe-Ho_3Se_4$  — 52 ат% Se и 1900K; в системе  $HoSe_2-Se$  эвтектика вырождена при 493K.

**Система Ho-As** [2] полностью не изучена и характеризуется образованием соединения  $\text{HoAs}$ , плавящегося с открытым максимумом при 1870К.

**Разрез  $\text{As}_2\text{Se}_3$ - $\text{Ho}_2\text{Se}_3$**  [3] квазибинарный. В системе при 1273К образуется инконгруэнтно плавящееся соединение  $\text{HoAs}_2\text{Se}_3$



При 300К и составе 11 мол%  $\text{Ho}_2\text{Se}_3$  в системе кристаллизуется эвтектика



**Разрез  $\text{As}_2\text{Se}_3$ - $\text{HoSe}$**  [3] квазибинарный. При составе 90 мол%  $\text{As}_2\text{Se}_3$  и 570К в системе кристаллизуется эвтектика. Растворимость на основе  $\text{As}_2\text{Se}_3$  достигает 3 мол% при 300К.

**Разрез  $\text{HoAs}$ - $\text{AsSe}$**  [3] квазибинарный. При составе 90 мол%  $\text{AsSe}$  и 500К в системе кристаллизуется эвтектика. Область гомогенности в системе практически не обнаружена.

**Разрез  $\text{HoAs}$ - $\text{HoSe}$**  квазибинарный. Координаты образующейся эвтектики 35 мол%  $\text{HoSe}$  и 1580К.

**Разрез  $\text{HoSe}$ - $\text{AsSe}$**  квазибинарный. В системе при температуре 300К и составе 98 мол%  $\text{AsSe}$  обнаружена область растворимости.

**Разрез  $\text{As}_2\text{Se}_3$ - $\text{Ho}_3\text{Se}_4$**  квазибинарный. В системе при 15 мол%  $\text{Ho}_3\text{Se}_4$  и 550К образуется эвтектика. Область растворимости на основе  $\text{Ho}_3\text{Se}_4$  достигает 5 мол%.

**Разрез  $\text{As}_2\text{Se}_3$ - $\text{Ho}$**  неквазибинарный. Он проходит через три подчиненных треугольника:  $\text{HoAs}$ - $\text{As}$ - $\text{AsSe}$ ,  $\text{HoAs}$ - $\text{AsSe}$ - $\text{HoSe}$  и  $\text{HoSe}$ - $\text{As}_2\text{Se}_3$ - $\text{Se}$ . Ликвидус системы состоит из кривых первичной кристаллизации трех компонентов:  $\text{M} + \text{Ho}$ ,  $\text{M} + \text{HoSe}$  и  $\text{M} + \alpha$  ( $\text{As}_2\text{Se}_3$ ). При 400,450 и 1250К образуются тройные эвтектические равновесия



Образование соединения  $\text{Ho}_3\text{As}_2$  характеризуется четырехфазным равновесием при 1350К:



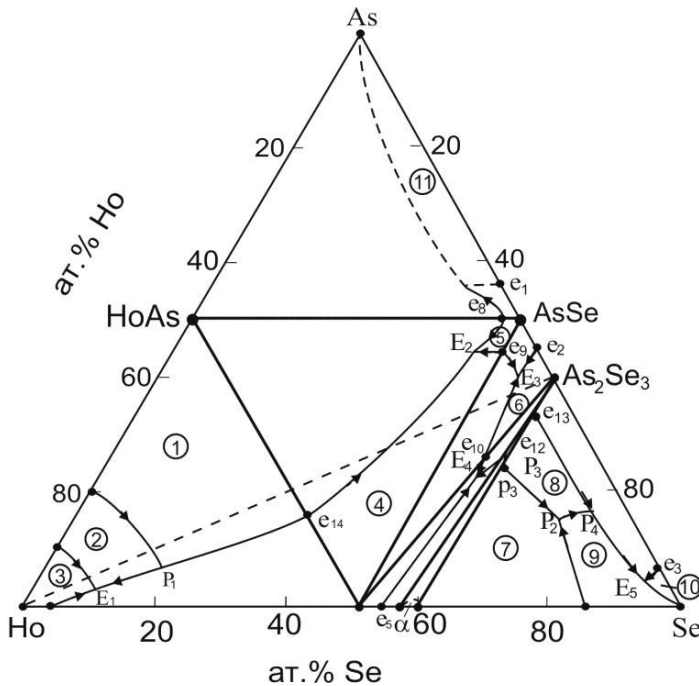
Проекция поверхности ликвидуса тройной системы построена на основе результатов изучения внутренних разрезов  $\text{HoAs}$ - $\text{AsSe}$ ,  $\text{HoAs}$ - $\text{HoSe}$ ,  $\text{AsSe}$ - $\text{HoSe}$ ,  $\text{As}_2\text{Se}_3$ - $\text{HoSe}$ ,  $\text{As}_2\text{Se}_3$ - $\text{Ho}_3\text{Se}_4$ ,  $\text{As}_2\text{Se}_3$ - $\text{Ho}_2\text{Se}_3$  и  $\text{As}_2\text{Se}_3$ - $\text{Ho}$ , а также литературных данных для бинарных разрезов  $\text{As}$ - $\text{Se}$ ,  $\text{Ho}$ - $\text{Se}$  и  $\text{Ho}$ - $\text{As}$ .

Триангуляция системы  $\text{Ho}$ - $\text{As}$ - $\text{Se}$  проведена на основе литературных данных и экспериментальных результатов. Показано, что 6 квазибинарных разрезов делят тройную систему на 7

подчиненных треугольника:  $\text{HoAs-As-AsSe}$ ,  $\text{HoAs-Ho-HoSe}$ ,  $\text{HoAs-AsSe-HoSe}$ ,  $\text{AsSe-As}_2\text{Se}_3\text{-HoSe}$ ,  $\text{As}_2\text{Se}_3\text{-HoSe-Ho}_3\text{Se}_4$ ,  $\text{As}_2\text{Se}_3\text{-Ho}_3\text{Se}_4\text{-Ho}_2\text{Se}_3$  и  $\text{As}_2\text{Se}_3\text{-Ho}_2\text{Se}_3\text{-Se}$ .

Направление моновариантных кривых системы  $\text{Ho-As-Se}$  и составы тройных точек определены на основе изучения неквазибинарного разреза  $\text{As}_2\text{Se}_3\text{-Ho}$  и изучения дополнительных тройных сплавов.

Поверхность ликвидуса тройной системы  $\text{Ho-As-Se}$  состоит из 11 полей первичной кристаллизации фаз:  $\text{As}$ ,  $\text{Ho}$ ,  $\text{Se}$ ,  $\text{HoAs}$ ,  $\text{Ho}_3\text{As}_2$ ,  $\text{HoSe}$ ,  $\text{Ho}_3\text{Se}_4$ ,  $\text{HoSe}_2$ ,  $\text{AsSe}$ ,  $\text{As}_2\text{Se}_3$  и  $\text{HoAsSe}_3$ . Наибольшую протяженность занимают поля кристаллизации фаз  $\text{HoAs}$  и  $\text{HoSe}$  (рис.).



**Рисунок. Проекция поверхности ликвидуса системы  $\text{Ho-As-Se}$ .**

В системе  $\text{Ho-As-Se}$  определены 9 тройных невариантных точек, из которых пять ( $E_1\text{-}E_5$ ) являются тройными невариантными эвтектиками, четыре ( $P_1\text{-}P_4$ ) отражают невариантное перитектическое равновесие. Уравнения реакций невариантных и моновариантных равновесий в тройной системе, а также их температуры приведены в таблице.

Таблица.

Нонвариантные и моновариантные равновесия в системе Ho-As-Se

Точки и кривые	Реакции	Температура, К
$p_1P_1$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{Ho}_3\text{As}_2 + \text{HoAs}$	1570-1350
$e_7E_1$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{Ho}_3\text{As}_2 + \text{Ho}$	1370-1250
$P_1E_1$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{Ho}_3\text{As}_2 + \text{HoSe}$	1350-1250
$e_6E_1$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{Ho} + \text{HoSe}$	1700-1250
$P_1e_{14}E_2$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{HoAs} + \text{HoSe}$	1500-1580-450
$e_8E_2$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{AsSe} + \text{HoAs}$	500-450
$E_2e_9E_3$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{AsSe} + \text{HoSe}$	450-510-400
$e_2E_3$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{AsSe} + \text{As}_2\text{Se}_3$	570-400
$E_4e_{10}E_3$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{As}_2\text{Se}_3 + \text{HoSe}$	525-570-400
$e_{12}E_4$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{Ho}_2\text{Se}_3 + \alpha$	550-525
$E_4e_{12}P_3$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{As}_2\text{Se}_3 + \alpha$ ( $\text{Ho}_3\text{Se}_4 + \text{Ho}_2\text{Se}_3$ )	825-550-510
$e_{13}P_4$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{As}_2\text{Se}_3 + \text{HoAsSe}_3$	573-510
$P_3p_2P_2$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{HoAsSe}_3 + \alpha$	950-1273-940
$P_2P_4$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{HoAsSe}_3 + \text{HoSe}_2$	940-510
$p_2P_2$	$\text{Ж} \leftrightarrow \alpha + \text{HoSe}_2$	1500-940
$P_4E_5$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{As}_2\text{Se}_3 + \text{HoSe}_2$	510-420
$e_3E_5$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{As}_2\text{Se}_3 + \text{Se}$	493-420
$e_4E_5$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{HoSe}_2 + \text{Se}$	493-420
$E_1$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{HoAs} + \text{HoSe} + \text{Ho}$	1250
$E_2$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{HoAs} + \text{HoSe} + \text{AsSe}$	450
$E_3$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{AsSe} + \text{As}_2\text{Se}_3 + \text{HoSe}$	400
$E_4$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{As}_2\text{Se}_3 + \text{HoSe} + \text{Ho}_3\text{Se}_4$	525
$E_5$	$\text{Ж} \leftrightarrow \text{As}_2\text{Se}_3 + \text{HoSe}_2 + \text{Se}$	420
$P_1$	$\text{Ж} + \text{Ho} \leftrightarrow \text{Ho}_3\text{As}_2 + \text{AsSe}$	1350
$P_2$	$\text{Ж} + \text{Ho}_2\text{Se}_3 \leftrightarrow \text{HoAsSe}_3 + \text{As}_2\text{Se}_3$	510
$P_3$	$\text{Ж} + \text{Ho}_2\text{Se}_3 \leftrightarrow \text{HoSe}_2 + \alpha$	520
$P_4$	$\text{Ж} \leftrightarrow$	940

Список литературы:

1. Дембовский С. А., Лужная Н. П. // Ж.Неорг. химии, 1964, т. 8, № 3, с. 66
2. Ильяслы Т. М., Насибова Л. Э., Садыгов Ф.М. Исследование двойных металлических систем Ho-As и Ho-Sb / Тез. докл. IX Межд. Курнак. Сов. по физ.-хим. Анализу, Пермь, 2010, с. 188
3. Садыгов Ф. М., Ильяслы Т. М., Насибова Л. Э. Фазовые равновесия в системе Ho-Se / Тез. докл. XIX Менделеевский съезд по общей и прикладной химии, Волгоград, 2011, с. 164

4. Ярембаш М. Б., Елисеев А. А. Халькогениды редкоземельных элементов: М.: Наука, 1975, с. 258
5. Haria P., Cheney C., Luepke G., Singh A. N. Wave length selective materials modification of bulk  $\text{As}_2\text{S}_3$  au  $\text{As}_2\text{Se}_3$  by free electron laser irradiation // J. of Non-Crystalline Solids, 2000, v. 270, p. 265-268
6. Seema Kandpal and Kushwaha K. R. Photoacoustic spectroscopy of thin films of  $\text{As}_2\text{S}_3$ ;  $\text{As}_2\text{Se}_3$  and  $\text{GeSe}_2$  // Indian Academy of Sciences pramana journal of physics, 2007, v. 69, N 3, pp. 481-484

## 2.4. ОРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

### НЕОБЫЧНАЯ СТАБИЛЬНОСТЬ 1-АЦИЛАМИНО-4,5-БИС(ДИМЕТИЛАМИНО)-8-НИТРОНАФТАЛИНОВ К ДЕЗАЦИЛИРОВАНИЮ

*Власенко Марина Павловна*

*инженер ЮФУ, г. Ростов-на-Дону*

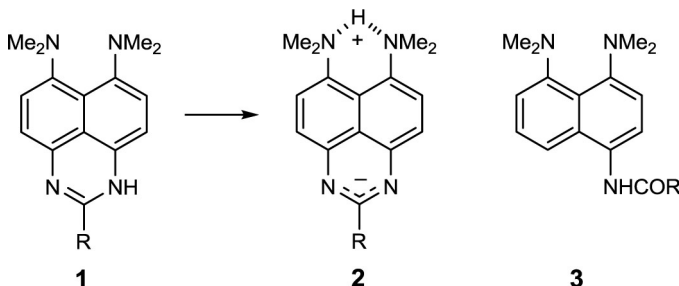
*E-mail: [mylasen@mail.ru](mailto:mylasen@mail.ru)*

*Озерянский Валерий Анатольевич*

*д-р хим. наук, профессор ЮФУ, г. Ростов-на-Дону*

*E-mail: [vv\\_ozzer2@sfedu.ru](mailto:vv_ozzer2@sfedu.ru)*

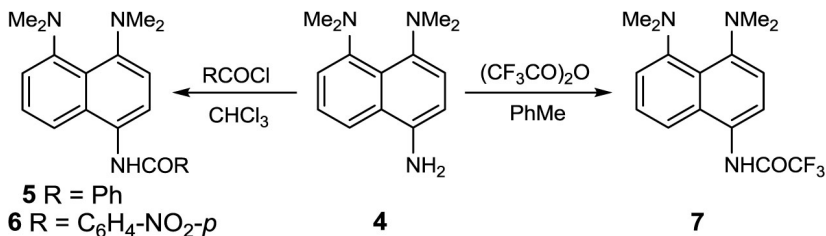
С учетом умеренной (в сравнении с фенолами) NH-кислотности амидов и азотистых гетероциклов мы предположили возможность внутримолекулярной прототропии в ряду до сих пор неизвестных перимидинов **1**, потенциально способных к существованию в цвиттер-ионной форме **2**. В свою очередь, наиболее очевидными предшественниками оснований **1** представляются  $\alpha$ -нафтиламиды типа **3**, заместитель R в которых может обладать различной подкисляющей способностью. В настоящей работе осуществлен синтез амидов **3** и исследована возможность их селективного нитрования, дезацилирования и восстановления комплексными гидридами.



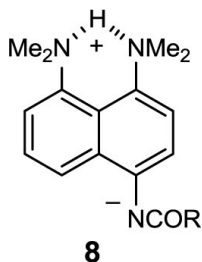
Прямым ацилированием амина **4** нами были получены бензамиды **5**, **6** и трифторацетильное производное **7** с выходом 50–65%. Следует отметить, что введение в реакционную массу вспомогательных



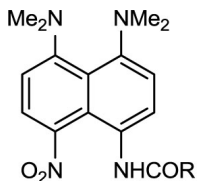
оснований ( $K_2CO_3$ ,  $Et_3N$ , пиридин) мало способствует повышению выхода амидов из-за связывания части исходного амина **4**, обладающего высокоосновными свойствами [1], выделяющейся в реакции кислотой.



Протон группы  $NHCOR$  в синтезированных амидах, как и сама карбонильная группа имеют обычные для ариламидов характеристики [ $\nu_{NH}$  3233–3304,  $\nu_{CO}$  1645–1712  $cm^{-1}$  (ваз. масло),  $\delta_{NH}$  7.23–8.06 м. д. ( $CDCl_3$ )]. В то же время, хелатированный протон  $NH$  в катионах 1,8-бис(диметиламино)-нафталина и его производных проявляется в спектрах ЯМР  $^1H$  при  $\delta_H$  18–20 м. д. [5]. Полученные данные, таким образом, свидетельствует об отсутствии биполярных форм типа **8** и, следовательно, внутримолекулярного протонного переноса в амидах **5–7**.



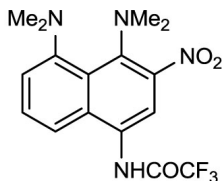
Обработка нафтиламидов **5–7** нитрующей смесью (1 экв.,  $-15^\circ C$ ) с выходом 66–70% дает продукты селективного *пери*-нитрования **9–11**. Лишь в случае трифторацетида **7** удается выделить не более 4–6% изомерного нитропроизводного **12**.



**9** R = Ph

**10** R = C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-NO<sub>2</sub>-*p*

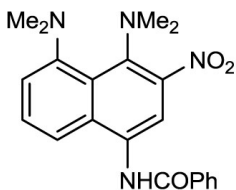
**11** R = CF<sub>3</sub>



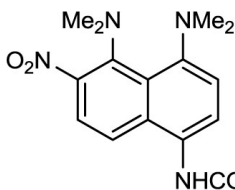
**12**

Введение *peri*-нитрогруппы, как показывает спектроскопия ИК и ЯМР <sup>1</sup>H, почти не меняет геометрические и электронные параметры α-нафтиламидного фрагмента, немного повышая частоты соответствующих валентных колебаний и дезэкранируя *peri*-NH-протон [ $\nu_{\text{NH}}$  3269–3400,  $\nu_{\text{CO}}$  1657–1716 см<sup>-1</sup> (ваз. масло),  $\delta_{\text{NH}}$  7.93–8.87 м. д CDCl<sub>3</sub>].

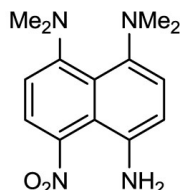
Для сравнения мы провели нитрование бензамида **9** в смеси HNO<sub>3</sub>/AcOH. В этом случае наблюдалось сильное осомление реакционной массы и снижение региоселективности реакции в сравнении с действием смеси HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; в результате были выделены моно-нитропроизводные **9** (9%), **13** (9%) и **14** (12%).



**13**



**14**



**15**

В ходе дальнейших исследований выяснилось, что такая простая реакция, как гидролиз нитроамидов **9–11** (любой из них мог бы привести к до сих пор неизвестному нитроамину **15**) в обычных условиях не протекает. Если исходные амиды **5–7** количественно дезацилируются при кипячении с 10% HCl до амина **4**, то введение *peri*-нитрогруппы удивительным образом ингибирует процесс снятия ацильного заместителя. Представление об этом дают данные таблицы 1, где собраны условия и результаты гидролиза амида **10**.

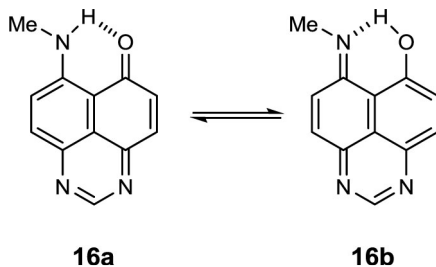
Таблица 1.

## Попытки дезацилирования нитроамида 10

Опыт №	Условия	Результат
1	конц. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /1 д/20 °С	осмоление*
2	конц. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /5 мин/0 °С	осмоление*
3	конц. HCl/2 д/20 °С	исходное
4	10% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /1 ч/кипячение	исходное
5	30% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /1 ч/кипячение	исходное+соединение <b>16</b>
6	20% HCl/3 ч/кипячение	соединение <b>16</b>
7	4% HCl/1 ч/кипячение	исходное
8	AcOH/2 д/20 °С	исходное
9	NH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> /EtOH/1 ч/кипячение	осмоление*
10	HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> /5 мин/кипячение (170 °С)	осмоление
11	Et <sub>3</sub> N/1 ч/кипячение	исходное
12	пиперидин/2 д/20 °С	исходное
13	пиперидин/PhMe/27 ч/кипячение	исходное
14	10% KOH/1 ч/кипячение	исходное
15	MeONa/MeOH/1 д/20 °С	исходное
16	LiOH/H <sub>2</sub> O–MeOH–ТГФ (1:1:1)/2 д/20 °С	исходное
17	LiOH/H <sub>2</sub> O–MeOH–ТГФ (1:1:1)/2 ч/кипячение	исходное+осмоление

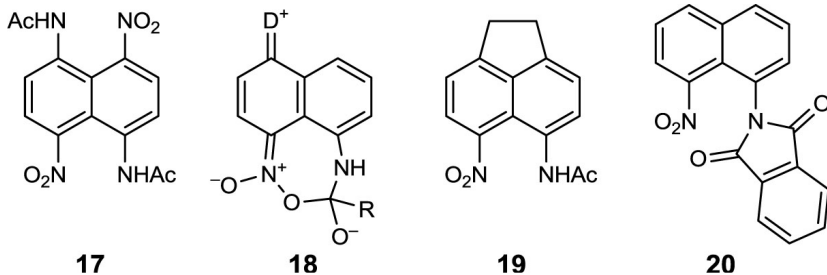
\* Обнаруживается *n*-нитробензойная кислота.

Как видно из таблицы, в большинстве случаев исходный нитроамид **10** остается неизменным; в более жестких условиях наблюдается постепенное осмоление вещества. В этой ситуации трудно сказать, являются ли причиной осмоления агрессивные условия и реагенты, либо неустойчивость нитроамида **15**. Присутствие в продуктах деструкции *n*-нитробензойной кислоты (опыты 1, 2, 9) указывает на то, что гидролиз все же протекает, однако в кислой среде получающийся амин **15** подвергается дальнейшим превращениям. Так, в условиях опытов 5 и 6 удается собрать около 12% вещества, совокупность физических свойств и спектральных характеристик которого позволяют приписать ему структуру перимидин-6-она **16a**, находящегося в подвижном равновесии с имино-формой **16b**.



Компактная и сопряженная система **16** растворяется в кислотах и основаниях, с чем связаны проблемы с ее выделением, дает пик молекулярного иона с интенсивностью 100% и главными направлениями фрагментации вида  $[M-OH]^+$  и  $[M-CO]^+$  (незамещенный 6*H*-перимидин-6-он из-за отсутствия таутомеризации дает только осколочный пик  $[M-CO]^+$  [2]). В ЯМР  $^1H$ -спектре этого вещества, помимо четырех однопротонных дублетов в ароматической области с характерными для хиноидных систем константами  $J=9.8$  Гц и синглета протона Н-2 при 9.35 м. д., проявляются слабополюный ( $\delta_H$  11.7 м. д.) уширенный синглет «кислого» протона, исчезающий при дейтерировании, и сигнал *N*-метильной группы, в виде дублета с константой  $^3J_{NH,NMe}=5.4$  Гц.

В литературе [4] имеется похожий пример, когда в амиде **17** ни в кислой, ни в щелочной среде не удастся осуществить гидролиз *N*-ацетильных групп. Таким образом, невозможность гидролиза *перу*-нитроамидов нафталинового ряда не связана с наличием фрагмента протонной губки в таких соединениях или стерическими препятствиями. Скорее всего, ингибирование происходит только тогда, когда *перу*-NO<sub>2</sub>-заместитель сопряжен с +*M*-группой. В таком случае может возрасти вклад структуры типа **18**, в которой атака нуклеофила на карбонильный атом углерода окажется затруднена. В пользу этого свидетельствует факт успешного гидролиза несопряженных нитроамидов **19** и **20** при действии, соответственно, 10% HCl [3] и гидразина [6].



Интересно, что результат превращения не зависит от *N*-ацильного заместителя в амиде (так, амид **9** тоже дает перимидин **16**). Возможно, нитроамин **15** образуется, однако подвергается дальнейшим трансформациям.

### Список литературы:

1. Озерянский В. А., Пожарский А. Ф. Синтез 1,4,5-трис(диметиламино)нафталина и других 4-аминопроизводных «протонной губки» // Изв. АН Сер. хим. — 1997. — С. 1501-1504.
2. Cameron D. W., Samuel E. L. Synthesis of the Perimidin-4- and -6-one systems // Aust. J. Chem. — 1976. — №29. — P. 2499–2509.
3. Cheeseman G. W. H. Synthesis of pirrolo[1,2-*a*]naphtha[1,8-*ef*][1,4]diazepines // J. Het. Chem. — 1986. — Vol. 23. — P. 65–67.
4. Nielsen A. T., DeFusco A. A., Browne T. E. Nitration of Bis(amido)naphthalenes // J. Org. Chem. — 1985. — Vol. 50. — P. 4211–4218.
5. Pozharskii A. F., Ozeryanskii V. A., Proton sponges, in The Chemistry of Anilines, Ed. Z. Rappoport, J. Wiley & Sons, Chichester, 2007, Part 2, Ch. 17, P. 931–1026.
6. Richter, H. J. 5-Amino-6-nitroacenaphthene // J. Org. Chem. — 1956. — Vol. 21. — P. 619–620.

# СИНТЕЗ, СТРОЕНИЕ И *pH*-ИНДИКАТОРНЫЕ СВОЙСТВА ЭТИЛОВОГО ЭФИРА 3-(4-НИТРОФЕНИЛ)ГИДРАЗОНО-2,4-ДИОКСОПЕНТАНОВОЙ КИСЛОТЫ

*Левенец Татьяна Васильевна*

*аспирант ОГУ, г. Оренбург*

*E-mail: [ltv.2009@yandex.ru](mailto:ltv.2009@yandex.ru)*

*Листопад Екатерина Васильевна*

*студент ОГУ, г. Оренбург*

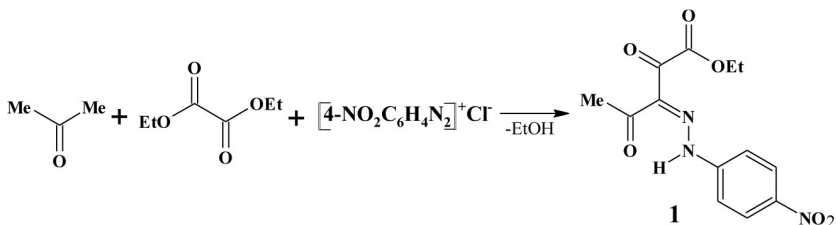
*Козьминых Владислав Олегович*

*д-р хим. наук, профессор ОГУ, г. Оренбург*

*E-mail: [kvoncstu@yahoo.com](mailto:kvoncstu@yahoo.com)*

Ранее было установлено, что конденсация Клайзена арилметилкетонов с диалкилоксалатами приводит к образованию эфиров арилпировиноградных кислот [3], при взаимодействии которых с диазореагентами получены 4-арилпроизводные 3-арилгидразоно-2,4-диоксобутановых кислот [5]. Другие 4-замещенные (например, 4-алкилпроизводные) 3-арилгидразоно-2,4-диоксоалкановые кислоты и их эфиры до наших исследований не были известны [4].

Нами впервые предложена трехкомпонентная одnoreакторная оксалильная конденсация ацетона с диэтилоксалатом с последующим азосочетанием с хлоридом 4-нитрофенилдиазония, приводящая к ранее неизвестному практически значимому этиловому эфиру 3-(4-нитрофенил)гидразоно-2,4-диоксопентановой кислоты **1**.

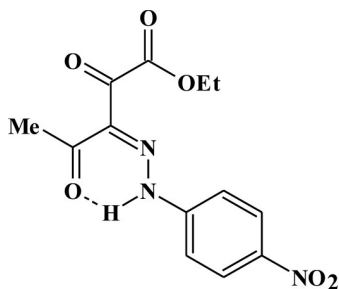


Полученное соединение представляет собой вещество ярко-желтого цвета, которое легко растворяется в обычных органических растворителях и практически не растворимо в воде.

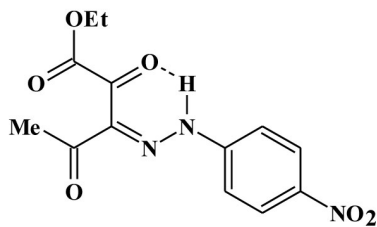
Строение синтезированного соединения установлено на основании данных ИК, ЯМР  $^1\text{H}$  и УФ спектроскопии, спектральные характеристики однозначно согласуются с предложенной структурой.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  соединения **1**, снятый в растворе дейтеро-хлороформа, характеризуется отчетливым рисунком всех сигналов с хорошо сопоставимой интегральной интенсивностью и классическими значениями констант спин-спинового взаимодействия. Существенный сдвиг сигнала протона NH-группы в область слабого поля (14,05—14,84 м.д.) свидетельствует о наличии внутримолекулярной водородной связи группы NH фрагмента гидразона с карбонильной функцией.

Для синтезированного соединения **1** отмечено наличие двух изомеров (*E*- и *Z*-изомеров), обусловленное, по видимому, сильным электроакцепторным влиянием заместителя в ароматическом ядре. Наличие пространственного *Z*- изомера подтверждается в ЯМР  $^1\text{H}$  спектре дублирующимися сигналами протонами содержащих групп преобладающего *E*-изомера. В ИК спектре присутствуют сигналы в области  $3113\text{--}3083\text{ см}^{-1}$ , интерпретируемые валентными колебаниями NH-связей, наличие дополнительной полосы валентных колебаний NH-связей, также подтверждает наличие *Z*-изомера.



*E*-изомер



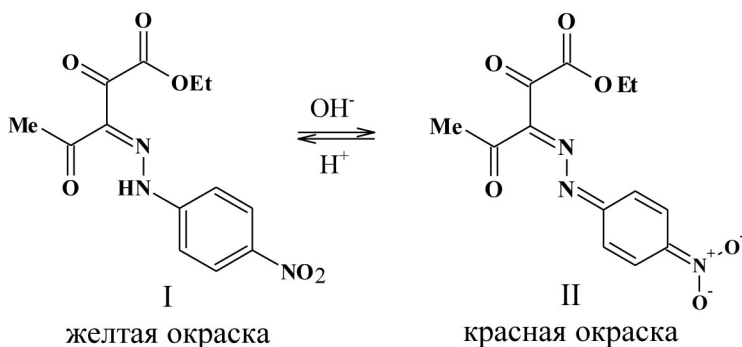
*Z*-изомер

**1**

В УФ спектре соединения **1** в видимой области наблюдается один максимум поглощения при 381 нм ( $\lg \epsilon$  4,46), что согласуется со значениями максимумов поглощения  $\alpha$ -,  $\beta$ -дикарбонильных соединений, содержащих гидразонный фрагмент [2].

Установлено, что раствор соединения **1** в этаноле изменяет цвет в зависимости от pH среды. Так, в кислой среде раствор окрашен в желтый цвет, в основной — в красный. Определение интервала перехода осуществляли визуальным методом с использованием серии буферных

растворов в диапазоне  $pH=8,0\div 10,0$  с  $\Delta pH=0,1$  (буферные системы: соляная кислота — борат натрия; борат натрия — гидроксид натрия) [1]. Результаты определения контролировались данными спектров поглощения в видимой области спектра. Интервал перехода окраски для 1 % водно-спиртового раствора соединения **1** составил 8,7—9,5 при визуальном определении; спектральный анализ в видимой области показал первые изменения в структуре при  $pH=8,3$ , а при  $pH>9,3$  кривые идентичны кривой поглощения при  $pH=9,3$ . При повышении  $pH$  происходит резкое изменение окраски раствора, вызванное, по-видимому, отрывом протона от атома азота гидразонного фрагмента и сопровождающееся образованием хиноидной структуры.



Таким образом, нами предложен простой и удобный метод получения этилового эфира 3-(4-нитрофенил)гидразоно-2,4-диоксопентановой кислоты, установлено строение синтезированного соединения спектральными методами, показана возможность его применения в качестве кислотно-основного индикатора.

### Экспериментальная химическая часть.

ИК спектр полученного соединения записан на спектрофотометре «Инфралом ФТ-02» в пасте твёрдого вещества в вазелиновом масле. Спектр ЯМР  $^1H$  получен на приборе «MERCURYplus-300» (300,05 МГц) в  $CDCl_3$ , внутренний стандарт — ТМС. УФ спектр полученного соединения записан на спектрофлуориметре СМ 2203 в метаноле (концентрация  $10^{-5}$ — $10^{-6}$  моль/дм<sup>3</sup>). Протекание реакции контролируют, а индивидуальность полученного вещества подтверждают методом ТСХ на пластинках Silufol UV-254 в системе бензол — диэтиловый эфир — гексан, 1:2:3, хроматограмму проявляют парами йода. Исходные реактивы перед использованием очищают перегонкой.



**Синтез этилового эфира 3-(4-нитрофенил)гидразоно-2,4-диоксопентановой кислоты I.** К смеси 0,73 мл (10 ммоль) ацетона, 1,36 мл (10 ммоль) диэтилоксалата и 80 мл абсолютного толуола добавляют при перемешивании небольшими кусочками 0,23 г (10 ммоль) натрия и охлаждают до 5 °С и выдерживают в течение 10—12 часов. К образующейся суспензии добавляют смесь 1,38 г (10 ммоль) 4-нитроанилина, 2 мл концентрированной соляной кислоты и 0,69 г (10 ммоль) нитрита натрия (контроль pH=5—7, t=0—5 °С) в 20 мл воды. Через 1—1,5 часа интенсивного перемешивания верхний толуольный слой отделяют, растворитель испаряют, остаток перекристаллизовывают из этанола. Выход 1,28 г (42%), Тпл. 128-130 °С.

ИК спектр,  $\nu$ , см<sup>-1</sup> (вазелиновое масло): 3113, 3083  $\nu_{\text{NH}}$  (E-, Z-изомеры), 1868, 1843, 1827  $\nu_{\text{CH}}$ , 1735  $\nu_{\text{C=O}}$ , 1680  $\nu_{\text{C=O}}$ , 1642  $\nu_{\text{C=O}}$ , 1596, 1538, 1520, 1509  $\nu_{\text{CH}+\nu_{\text{C=N}}}$ , 1338  $\nu_{\text{sNO}_2}$ , 1164, 1099  $\delta_{\text{плоск.СН}}$ , 1100  $\nu_{\text{C-O-C}}$ , 848 ( $\text{NO}_2$ ), 822, 792, 733  $\delta_{\text{неплоск.СН}}$ .

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H,  $\delta$ , м.д. (CDCl<sub>3</sub>): 1,41 т (3H, СН<sub>3</sub>СН<sub>2</sub>О, J 6,9 Гц, E-изомер 90%), 1,41 т (3H, СН<sub>3</sub>СН<sub>2</sub>О, J 6,9 Гц, Z-изомер 10%), 2,52 с (3H, СН<sub>3</sub>, Z-изомер 10%), 2,68 с (3H, СН<sub>3</sub>, E-изомер 90%), 4,44 кв (2H, СН<sub>3</sub>СН<sub>2</sub>О, J 6,9 Гц, E-изомер 90%), 4,46 кв (2H, СН<sub>3</sub>СН<sub>2</sub>О, J 6,9 Гц, Z-изомер 10%), 7,45 д (2H, С<sub>6</sub>Н<sub>4</sub>, J 9,0 Гц, E-изомер 90%), 7,57 д (2H, С<sub>6</sub>Н<sub>4</sub>, J 9,0 Гц, Z-изомер 10%), 8,30 д (2H, С<sub>6</sub>Н<sub>4</sub>, J 9,0 Гц, E-изомер 90%), 8,32 д (2H, С<sub>6</sub>Н<sub>4</sub>, J 9,0 Гц, Z-изомер 10%), 14,05 с (1H, NH, Z-изомер 10%), 14,84 с (1H, NH, E-изомер 90%).

### Список литературы:

1. Бишоп Э. Индикаторы. В 2 ч. Ч. 1, пер. с англ. И. В. Матвеевой. М.: Мир, 1976. 496 с.
2. Казицына Л. А. Применение УФ-, ИК-, ЯМР- и масс-спектропии в органической химии / Л. А. Казицына, Н. Б. Куплетская. — Москва: изд-во Московского гос. ун-та, 1979. — 240 с.
3. Козьминых В. О., Гончаров В. И., Козьминых Е. Н., Ноздрин И. Н. Конденсация Клайзена метилкетонов с диалкилоксалатами в синтезе биологически активных карбонильных соединений (обзор, часть I) // Вестник Оренбургского гос. ун-та. Оренбург, 2007. Вып. 1. С. 124-133.
4. Левенец Т. В., Федосеев С. А., Козьминых В. О. Синтез и особенности строения эфиров 3-арилгидразоно-2,4-диоксоалкановых кислот // XIV молодежная конференция по органической химии. Екатеринбург, 2011. С. 418-419
5. Пименова Е. В., Хаматгалеев Р. А., Воронина Е. В., Андрейчиков Ю. С. Синтез и антимикробная активность замещенных 4-арил-3-фенилгидразоно-2,4-диоксоалкановых кислот // Химико-фармацевтический журнал. — 1999. — Т. 33. — Вып. 8. — С. 22-23.

## 2.5. ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

### СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИСПЫТАНИЯ АРМАТУРНЫХ И ЛЕГИРОВАННЫХ СТАЛЕЙ В СРЕДЕ, МОДЕЛИРУЮЩЕЙ ПОРОВУЮ ЖИДКОСТЬ БЕТОНА

***Матвиенко Мария Александровна***

*аспирант кафедры «Технология электрохимических производств»,  
Ангарская государственная техническая академия, г. Ангарск  
E-mail: [matvienkom@inbox.ru](mailto:matvienkom@inbox.ru)*

***Ковалюк Елена Николаевна***

*канд. хим. наук, доцент кафедры «Технология электрохимических  
производств», Ангарская государственная техническая академия,  
г. Ангарск  
E-mail: [ken.agta@mail.ru](mailto:ken.agta@mail.ru)*

***Макарова Александра Михайловна***

*студент кафедры «Технология электрохимических производств»,  
Ангарская государственная техническая академия, г. Ангарск*

Теоретические исследования в области защиты от коррозии, изучения физико-химических свойств материалов служат базой для снижения металлоемкости конструкций, увеличения их срока службы в жестких условиях эксплуатации.

Железобетон в настоящее время является одним из самых распространенных строительных материалов. По долговечности и надежности его можно сравнить с природными каменными материалами.

Однако опыт эксплуатации конструкций из железобетона показывает, что часто наблюдаются случаи разрушения объектов задолго до окончания проектного срока эксплуатации. Распространенная причина этого — коррозия стальной арматуры. Арматура в железобетоне под действием щелочной среды пассивируется. Выход из пассивного состояния происходит при снижении толщины защитного слоя бетона, появлении трещин и в результате проникновения в поры бетона влаги и паров, имеющих кислую реакцию.

При создании различного вида конструкций, используемых в строительных сооружениях, магистральных трубопроводах, резервуарах, мостах применяют строительные стали. С учетом условий эксплуатации,

материалы должны воспринимать статические и динамические нагрузки при различных температурах, сопротивляться образованию трещин, сохранять структуру и высокие механические свойства, иметь высокие прочность, свариваемость, сопротивление вязкому разрушению. Основным критерием, определяющими марку, является величина предела текучести либо предела прочности. Эти значения признаны определяющими расчетными и эксплуатационными показателями сталей при производстве строительных конструкций [3, с. 18].

В СНГ установлены 7 основных типов прочности, которым соответствуют пределы текучести: не менее 225, 285, 325, 390, 440, 590 и 735 Н/мм<sup>2</sup>. Стали первого типа принято называть сталями нормальной прочности, трех следующих — повышенной прочности. А трех остальных — высокой прочности.

Стальные конструкции обычно бывают сварными, поэтому для них применяют хорошо свариваемые малоуглеродистые низколегированные стали с добавлением дешевых легирующих элементов — кремния и марганца [5, с. 110]. В качестве легирующих используются вещества, упрочняющие материал, такие как кремний, марганец, хром, медь и в меньшей степени элементы, образующие специальные карбиды и нитриды [3, с. 26]. Более высокое легирование сдерживается ухудшением свариваемости, снижением сопротивления хрупкому разрушению и главное, удорожанием материалов.

Легированные стали используют для изготовления тяжело нагруженных деталей ответственного назначения, так как они обладают более высокими механическими характеристиками.

Легированные стали отличаются более высокой коррозионной стойкостью, широким температурным интервалом применения (применимы при температурах от -40 °С до 1000 °С) [2, с. 22].

Целью нашей работы было проведение сравнительных испытаний широко применяемых арматурных сталей А240 и А400 и ряда легированных сталей, в числе которых недавно разработанная немагнитная нержавеющая сталь 12Х15Г9НД.

Объектами исследований были следующие марки сталей:

- А240(сталь 3);
- А400 (25Г2С) 0,29% углерода, 0,90% кремния, 1,2 % марганца, 0,045% серы, 0,040% фосфора.
- 03Х17Н14М3 — 0,03% углерода, 17% хрома, 14% никеля, 3% молибдена;
- 12Х18Н10Т — 0,12% углерода, 18% хрома, 10% никеля, <1% титана
- 12Х15Г9НД 0,12% углерода, 15% хрома, 9% марганца, 1% никеля, 1% меди.

Значения пределов текучести и прочности для изученных сталей представлены в таблице 1.

*Таблица 1.*

**Значения пределов текучести и прочности для изученных сталей**

Марка стали	Предел текучести, $\sigma_T$ , Н/мм <sup>2</sup>	Предел прочности, $\sigma_{пр}$ , Н/мм <sup>2</sup>
12X18H10T	220	550
12X15Г9НД	310	640
03X17H14M3	$\geq 200$	$\geq 500$
A240	235	373
A400	390	590

По сообщениям производителей, немагнитная нержавеющая сталь 12X15Г9НД является весьма перспективным конструкционным материалом. Введение марганца в сталь в основном преследует цель частичной замены никеля и образование аустенитной структуры. По многим параметрам эта сталь близка к стали 12X18H10T и в ряде коррозионных сред успешно заменяет дорогие хромоникелевые стали при цене на 30—40 процентов ниже. [4, с. 2].

Процесс коррозии стали в бетоне имеет электрохимическую природу, что позволяет применять электрохимические методы исследования [1, с. 123]. Эти методы позволяют ускорить коррозионные испытания и оценить устойчивость металлических материалов к локальным видам коррозии.

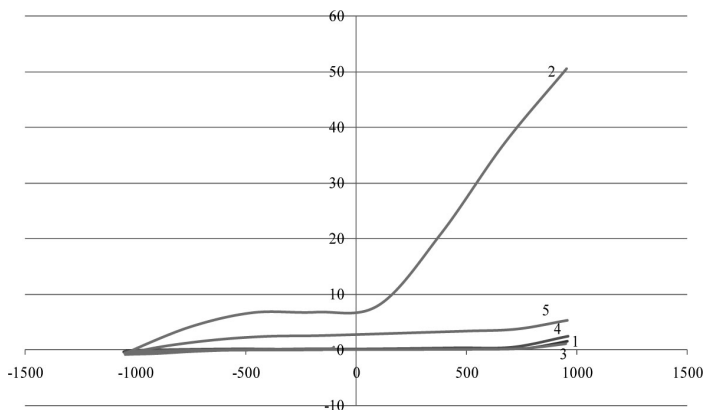
На практике для приготовления бетонных смесей используется техническая вода, которая может быть загрязнена хлоридами или хлориды используют в качестве добавок для повышения морозостойкости бетонов. Поэтому вышперечисленные марки сталей были испытаны в водной вытяжке, приготовленной из образцов бетона двух видов: без добавок и с добавкой хлорида кальция (концентрация 2% от массы цемента). Образцы бетона получали из цемента, песка и воды в соотношении 1:3,5:0,8 (по массе).

Приготовление раствора, моделирующего поровую жидкость бетона (водную вытяжку бетона), проводили в соответствии с п. 3.2. стандарта СЭВ 4421 — 83 «Защитные свойства бетона по отношению к стальной арматуре» [6, с. 2].

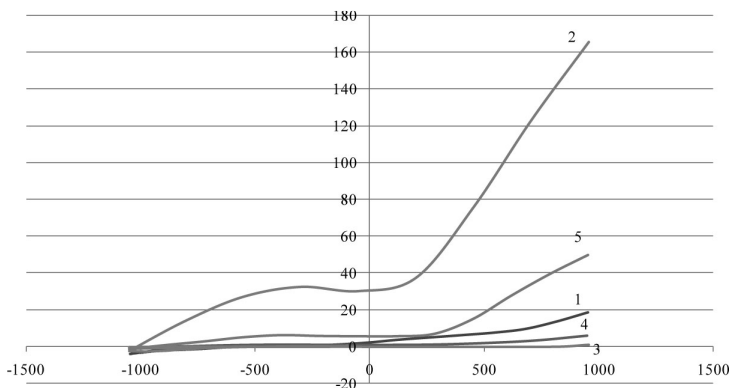
После двукратной фильтрации определяли pH полученной суспензии, и проводили электрохимические исследования. Использовали трехэлектродную ячейку: рабочий электрод из исследуемой марки стали, вспомогательный электрод — из стали 12X18H10T, каломельный электрод сравнения.

Для выявления всех характерных точек кривой пассивации, регистрировали полную поляризационную кривую: предварительно проходили катодный диапазон поляризации от стационарного потенциала до минус 1000 мВ и после этого получали анодную часть поляризационной кривой при поляризации до плюс 1000 мВ. На поляризационной кривой, полученной потенциодинамическим методом, находили характерные точки (установившийся потенциал пассивации, потенциал разрушения и плотность тока пассивации).

Полученные поляризационные кривые представлены на рисунках 1, 2; характерные точки — в таблицах 2 и 3.



**Рисунок 1. Поляризационные кривые, полученные для различных марок сталей в водной вытяжке бетона без хлорида кальция (1 — 12Х18Н10Т, 2 — А240, 3 — 03Х17Н14М3, 4 — 12Х15Г9НД, 5 — А400).**



**Рисунок 2. Поляризационные кривые, полученные для различных марок сталей в водной вытяжке бетона с добавкой хлорида кальция (1 — 12Х18Н10Т, 2 — А240, 3 — 03Х17Н14М3, 4 — 12Х15Г9НД, 5 — А400).**

**Таблица 2.**

**Результаты испытаний различных марок сталей электрохимическим методом в водной вытяжке бетона без хлорида кальция**

Марка стали	Показатели коррозионного состояния стали			
	Установившийся потенциал $E_R$ , мВ	Потенциал пассивации $E_p$ , мВ	Потенциал Разрушения $E_D$ , мВ	Плотность тока пассивации $i_p$ , мА/см <sup>2</sup>
12Х18Н10Т	-233	-380	720	0,037
12Х15Г9НД	-804	-403	707	0,084
03Х17Н14М3	-508	-446	643	0,016
А240 (Сталь 3)	-473	-271	123	6,839
А400 (25Г2С)	-343	-411	587	2,344

**Таблица 3.**

**Результаты испытаний различных марок сталей электрохимическим методом в водной вытяжке бетона с добавкой хлорида кальция**

Марка стали	Показатели коррозионного состояния стали			
	Установившийся потенциал $E_R$ , мВ	Потенциал пассивации $E_p$ , мВ	Потенциал разрушения $E_D$ , мВ	Плотность тока пассивации $i_p$ , мА/см <sup>2</sup>
12Х18Н10Т	-168	-537	300	0,358
12Х15Г9НД	-109	11	771	0,274
03Х17Н14М3	-623	471	815	0,010
А240	-432	-60	106	30,312
А400	-379	-256	304	5,940

Потенциалы электродов в таблицах и при обсуждении результатов приведены относительно насыщенного каломельного электрода.

Выяснено, что все легированные стали в среде, моделирующей поровую жидкость бетона без добавления хлоридов, имеют достаточно протяженную область пассивности. Только арматурная сталь А240 имеет короткую область пассивности, потенциал разрушения ее равен 123 мВ.

Арматурная сталь А240 показала недостаточную коррозионную стойкость. Значения плотности тока, полученные при испытаниях этой стали, свидетельствуют о высокой скорости их коррозии в водной вытяжке бетона содержащей и не содержащей хлориды и опасности применения этой арматурной стали в условиях уменьшения защитного слоя бетона и повышения его влажности.

Присутствие хлорида кальция в бетонной смеси отрицательно сказывается на коррозионной стойкости образцов. В хлоридсодержащей среде только стали, легированные титаном и молибденом имеют область устойчивой пассивности, у остальных сталей выход из пассивного состояния происходит при потенциалах отрицательнее 450 мВ.

Минимальное значение плотности тока пассивации в двух изученных средах имеет сталь 03X17H14M3. Присутствие молибдена в сталях увеличивает устойчивость пассивного состояния и обеспечивает более высокую стойкость в восстановительных средах и средах, содержащих хлор-ион [7, с. 276], что подтвердилось во время лабораторных испытаний.

Стали аустенитного класса 12X18H10T, 12X15G9HD не могут быть рекомендованы в качестве арматурных — они будут подвергаться локальным видам коррозии.

### **Список литературы:**

1. Алексеев С. Н. Коррозия и защита арматуры в бетоне. — М.: Стройиздат, 1968. 281 с.
2. ГОСТ 5632-72. Стали высоколегированные и сплавы коррозионностойкие, жаростойкие и жаропрочные. Марки.
3. Зубченко А. С., Колосков М. М., Каширский Ю. В. Марочник сталей и сплавов. 2-е издание, переработ. и дополн. М.: Машиностроение, 2003 — 782 с.
4. Мельников Д. В. Новые металлические материалы для российской промышленности, «Арматуростроение» № 2/53/8, 2008.
5. Рыбьев И. А. Строительное материаловедение.(3-е изд.) — М.: Высшая школа, 2008. 701 с.

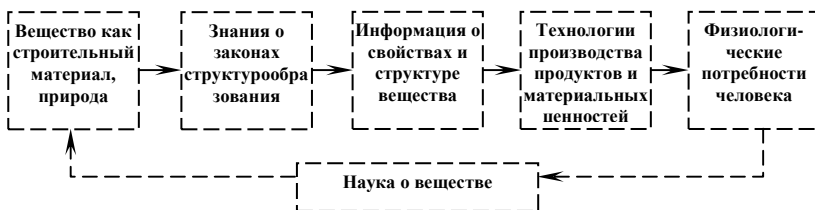
6. Стандарт Совета Экономической Взаимопомощи 4421–83 «Защитные свойства бетона по отношению к стальной арматуре. Электрохимический метод испытаний».
7. Туфанов Д. Г. Коррозионная стойкость нержавеющей сталей, сплавов и чистых металлов. Справочник, 5-е изд. перераб. и дополн. М.: Металлургия, 1990. — 320 с.

## НАУКА О ВЕЩЕСТВЕ: ВЫХОД ИЗ КРИЗИСА

*Потапов Алексей Алексеевич*

*д-р хим. наук., профессор, г. н. с., ИДСТУ СО РАН, г. Иркутск  
E-mail: [aleksey.potapov.icc@gmail.com](mailto:aleksey.potapov.icc@gmail.com)*

История становления науки и техники может служить демонстрацией того факта, что развитие цивилизации в конечном итоге определяется уровнем знаний о строении вещества и законов его структурообразования. По сути, вещество выступает в качестве движущего потенциала цивилизации [7].



Приведенная выше схема дает наглядное представление о причинах возникновения науки о веществе как инструмента технологического постижения вещества с целью удовлетворения все увеличивающихся потребностей человека.

**Наука о веществе** возникла приблизительно в середине XVII века, когда точность весовых измерений была доведена до уровня, при котором стало возможным экспериментирование с относительно небольшими количествами вещества. Благодаря весовым измерениям удалось идентифицировать атомы как структурные единицы более сложных образований (молекул) и тем самым доказать атомистическое строение вещества. За относительно небольшой отрезок времени были открыты несколько десятков элементов. Начаты



экспериментальные исследования свойств химических элементов на основании весовых, объемных, температурных, а затем и оптических измерений. На данном этапе работы велись преимущественно под влиянием идей Х. Лорентца и Д. Максвелла об электромагнитной природе вещества. Становление науки о веществе во многом связано с именем Д. И. Менделеева [9, 11].

Ключевым событием в истории науки о веществе стало открытие электрон-протон-нейтронного строения атомов (конец XIX века). Возникла необходимость в установлении электронного строения атомов. Было предложено ряд моделей, из которых наиболее значимой остается и по настоящее время планетарная модель Резерфорда-Бора (1913 г.). К сожалению, она не получила должного развития на своей начальной стадии становления и была отвергнута, уступив возникшему в 20-ых годах прошлого столетия квантово-волновому учению о веществе. Главным «достижением» данного учения стало утверждение о том, что наука подошла к той границе, за которой человеческое познание становится невозможным в принципе. В результате исследования вещества, направленные на понимание природы и механизмов его структурообразования, фактически были остановлены, а классическая наука о веществе, основанная на законах механики и электродинамики, фактически была законсервирована (и тем самым сохранена) в отдельных разделах физики и химии, которые по большей части стали выполнять функцию важных практических приложений для различных отраслей промышленности [10, 11].

Прошло почти 90 лет с момента провозглашения квантово-волновой парадигмы. Пришло осознание ограниченных возможностей квантовомеханического описания вещества. Назрела необходимость возврата к классической методологии. Признаки кризисного состояния учения о веществе стали очевидными. С одной стороны, старая доктрина продемонстрировала свою полнейшую несостоятельность, а с другой, — все в большей мере стали ощущаться непрерывно растущие потребности практики в создании действенной теории вещества. В этой связи появилась необходимость еще раз вернуться к анализу основ учения о веществе.

Ключевым вопросом здесь остается вопрос о статусе уравнения Шредингера для атома водорода, которое выступает фундаментом всего здания квантовой механики. Уравнение Шредингера описывает движение электрона  $e$  в центральном поле ядра, имеющего заряд  $eZ$ ,

$$-\frac{\hbar^2}{2m}\nabla^2\psi + U\psi = \mathcal{E}\psi, \quad (1)$$

где  $m$  — масса электрона,  $U$  — потенциальная энергия, определяемая законом Кулона  $U(r) = \frac{-Ze^2}{r}$ , где  $r$  — расстояние  $e$  электрона от ядра,  $\nabla^2$  — оператор Лапласа,  $\psi$  — волновая функция,  $\mathcal{E}$  — полная энергия системы,  $\hbar = \frac{h}{2\pi}$ ,  $h$  — постоянная Планка [10, 11].

1. Специфическая особенность уравнения Шредингера проявляется в том, что движение электрона выражено не в координатах, как это обычно принято в классической механике, а в изменениях полной и потенциальной энергий. Фактически в его основание заложены несовместимые понятия частицы и волны [10, 11].

2. Решением уравнения Шредингера, является волновая функция  $\psi$ . Но волновая функция не является физической величиной. Это хорошо понимал и сам Шредингер, который считал, что «волновая функция сама по себе не должна и не может быть непосредственно интерпретирована в трехмерном пространстве, поскольку в общем случае она является функцией в конфигурационном, а не в реальном пространстве» [11]. Поэтому получаемые на ее основе выводы имеют умозрительный и субъективный характер.

Согласно квантовой модели атома, точное положение электрона в атоме в каждый момент времени установить нельзя в силу принципа неопределенности Гейзенберга. Вся информация о строении атома содержится в волновой функции  $\psi$ . Величина  $|\psi|^2$  представляет собой плотность вероятности нахождения электрона в данной точке пространства. Состояние электрона в атоме задается распределением его заряда с распределением электронной плотности  $e|\psi|^2$ . При этом электрон теряет четкое очертание и образует электронное облако. Принятая в квантовой механике вероятностная интерпретация квадрата волновой функции не имеет под собой ни логического, ни методологического обоснования. Нет и экспериментального подтверждения принятой в атомной физике вероятностной гипотезы [10, 11].

3. Входящая в (1) потенциальная энергия представляет собой энергию взаимодействия между точечными зарядами по закону Кулона. Согласно квантово-волновой механике электрон в атоме не является точечным, а представляет собой бесформенное облако [5, 10, 11, 14]; но закон взаимодействия его с ядром не установлен.

4. «... уравнение Шредингера не имеет строгого вывода. Оно не выводится, но устанавливается и правильность его подтверждается согласием с опытом ...» [16, с. 487]. Согласие с опытом строится на сравнении рассчитываемой по (1) энергии связи  $\mathcal{E}_H$  с измеряемой величиной — потенциалом ионизации  $I_H$  атома. Для атома водорода достигнуто согласие между численными значениями этих величин, так что  $\mathcal{E}_H = I_H = -13,6$  эВ. Именно данное обстоятельство в свое время послужило «обоснованием» для утверждения уравнения Шредингера для атома водорода в качестве основополагающего уравнения квантово-волновой механики [10, 11].

При решении уравнения Шредингера его разделяют на 3 части. Радиальная часть  $R_{nl}(r)$  описывает, как волновая функция  $\psi$  изменяется с расстоянием от центра атома [5, 14]. При решении радиальной части уравнения Шредингера была применена подстановка двух взаимно сопряженных величин [14]

$$\mathcal{E}_n = -\frac{2\pi^2 m e^4 Z^2}{h^2 n^2} \quad \text{и} \quad r = \frac{n\hbar^2}{2me^2 Z} x, \quad (2)$$

где  $x = \frac{2rZ}{na_B}$ .

Во-первых, это заведомо известные величины, полученные ранее в теории Бора и получившие на тот момент требуемое согласие с экспериментом. Фактически получилось так, что сначала подбирается «нужное» уравнение, а затем констатируется согласие рассчитываемых с его помощью величин с данными эксперимента. Во-вторых, в стремлении к формальному согласию рассчитываемых и измеряемых величин в процессе решения уравнения была допущена непростительная ошибка, повлекшая за собой цепь умозрительных и непоследовательных шагов, которые привели к тупиковому направлению исследования вещества.

Принятое для доказательства правомерности (1) и (2) сравнение величин  $\mathcal{E}_H$  и  $I_H$  не корректно. Действительно, энергия  $\mathcal{E}_H$  является параметром модели и должна представлять энергию взаимодействия точечного ядра со сферообразным электронным облаком. Согласно квантово-волновым представлениям плотность его максимальна в центре атома (т. е. в месте нахождения ядра!) и экспоненциально спадает по мере удаления от ядра. (Трудно придумать более нефизичную модель атома!). Чтобы преодолеть неопределенность понятия энергии  $\mathcal{E}_H$ , обусловленную неопределенностью понятия

электронного облака, в теорию была введена так называемая функция радиального распределения  $P_{10} = 4\pi r^2 \psi^* \psi = \frac{4r^2}{a_B^3} \exp\left(-\frac{2r}{a_B}\right)$  [10, 14], которая представляет искусственную конструкцию в виде произведения квадрата волновой функции  $\psi$  и показательной функции  $r^2$ . Полученная таким образом функции  $P_{10}$  имеет максимум при  $r = r_{10}$ . Этому расстоянию  $r_{10}$  преднамеренно, но совершенно бесосновательно присвоено название боровского радиуса. Но радиус  $a_B$  по Бору — это радиус окружности, соответствующий круговой орбите электрона атома водорода.

Расстояние  $r_{10}$  не может быть возведено в ранг радиуса в общепринятом смысле. По определению [13], радиус атома это радиус сферы, в которой заключено (90-99)% электронной плотности. Если следовать данному определению, то радиус атома водорода в квантовой модели оказывается равным  $a = (3 \div 4) a_B$ , т. е. много большим боровского радиуса. Величину  $r_{10}$  нельзя измерить, т.к. положение максимума функции  $P_{10}$  (соответствующее  $r_{10}$ ) находится внутри гипотетического электронного облака и оно недоступно для зондирующего внешнего поля в процессе измерения. Произошла элементарная подмена понятий, когда некоему виртуальному параметру теории  $r_{10}$  придан статус реального радиуса атома. Причина, объясняющая данный подлог, вполне понятна: именно расстояние  $r_{10}$  привлекается для расчета энергии  $\mathcal{E}_H$ , которая выступает в качестве критерия в процедуре установления соответствия с ее с потенциалом ионизации  $I_H$ .

В отличие от энергии  $\mathcal{E}_H$  потенциал ионизации  $I_H$  связан с радиусом атома уравнением  $I_H = -\frac{e^2}{2a_B}$ , которое является уравнением метода измерения [8]. В основе измерения потенциала  $I_H$  лежит явление взаимодействия атома с внешним электрическим полем  $E$ , так что  $\mathcal{E}_E = pE$ , где  $p$  дипольный момент атома водорода;  $p = ea_B$ , где  $a_B$  — это расстояние между зарядами ядра  $+e$  и электрона  $e$ . При этом потенциал ионизации выступает в качестве количественной меры связи электрона с ядром. Точность измерения потенциала  $I_H$

достаточно высока (не хуже 0,1%). В силу того, что величины  $I_H$  и  $a_B$  взаимосвязаны и взаимообусловлены, точность определения радиуса атома водорода такая же как у потенциала ионизации.

Здесь  $a_B$  выступает как действительный радиус, определяющий внешнюю границу электронной оболочки атома, поскольку «внешнее поле  $E$  не может проникнуть во внутреннюю область атома. «Толщина» оболочки атома равна диаметру электрона, а положение электрона точно определено по отношению к ядру и характеризуется константой атома — его радиусом  $a_B = 0,53\text{Å}$ .

Принципиальное различие величин  $r_{10}$  и  $a_B$  и соответственно величин  $\mathcal{E}_H$  и  $I_H$  приводит к выводу о том, что выбор волновой функции в виде экспоненциальной функции в качестве решения уравнения Шредингера оказался ошибочным. Нет ни одного эксперимента, подтверждающего экспоненциальный характер волновой функции. А декларируемое «согласие» рассчитываемых величин  $\mathcal{E}_H$  и  $r_{10}$ , с данными эксперимента  $I_H$  и  $a_B$  на проверку оказывается или непреднамеренной, допущенной второпях ошибкой или обычной фальсификацией. Это звучит диссонансом в отношении к широко распространяемому в учебной и монографической литературе утверждению о том, что выводы квантовой механики имеют «превосходное» экспериментальное подтверждение. Приведенный выше анализ ставит под сомнение данное утверждение и показывает, что достигнутое согласование представляется скорее подгонкой под известный результат, полученный ранее в рамках теории Бора (1913 г.).

Приходит понимание бездоказательности еще одного утверждения, также имеющего широкое хождение. Смысл его сводится к тому, что квантовая механика стала необходимым условием для становления и развития ведущих областей знания — химии, электроники, оптики, материаловедения. Квантовая механика как метод теоретического описания вещества здесь не причем. Термин «квантовый» относится сугубо к объекту исследования, характерной особенностью которого выступает признак дискретности (атомная дискретность, дискретность энергетических состояний атомов). Что касается «квантовой» теории как способа описания вещества, то, как показывает анализ, она представляется сегодня не более чем «математика ради математики». Все, что приписывается квантовой механике со ссылкой на практические результаты и достижения — это

не более чем иллюзорные достижения, когда желаемое выдается за действительное [10, 11].

Другие аспекты несостоятельности квантово-волнового описания вещества, вытекающие из предположения о фундаментальной роли уравнения Шредингера, анализируются и обсуждаются в работах [14, 10, 11, 15].

Таким образом, принятую в настоящее время в научной и учебной литературе модель атома водорода и опирающуюся на нее квантовомеханическую теорию нельзя считать корректной и презентабельной; она не отвечает требованиям, которые обычно предъявляются к научным теориям [6, 10]. Более того, принятые в настоящее время квантово-волновые представления фактически исключают саму возможность изучения атома.

Становление квантовой механики сопровождалось острой дискуссией между корифеями науки: Н. Бор, В. Гейзенберг, В. Паули, М. Борн и их сторонники, с одной стороны, и А. Эйнштейн, Э. Шредингер, Луи-де-Бройль, П. Планк и их последователи, с другой. Дискуссия проходила по линии обсуждения полноты квантовомеханического описания и концепции детерминизма и локальности процессов в микромире [10, 11]. Сегодня дискуссия о правомерности квантовомеханического описания явлений и процессов микромира возобновилась с новой силой, в первую очередь в связи с 1) затянувшимися ожиданиями результатов «чрезвычайной эффективности» квантовой механики, продекларированной на этапе революционного переворота, и ее «исторической неизбежности»; 2) появлением новых экспериментальных данных, таких как потенциалы ионизации и поляризуемости атомов и ионов; 3) возросшими потребностями практики, которые в значительной степени стимулированы быстрым развитием высоких технологий; 4) появлением новых атомных моделей и гипотез, нуждающихся в их обсуждении [10, 11].

Конечно же нельзя считать, что предшествующий 100-летний период исследований вещества был полностью потерян. Это период накопления и систематизации экспериментальных данных по физико-химическим свойствам веществ и материалов. В течение этого времени разработана совершенная аппаратура, позволившая получить уникальную, недоступную ранее информацию о свойствах и строении атомов, молекул, конденсированных веществ, которая отражена в соответствующих многочисленных справочных изданиях. В этом отношении данный этап исследований представляется совершенно

необходимым и обязательным, предваряющим завершающий этап – этап создания прогностической теории вещества.

Проблема построения теории вещества заключается в установлении связи наблюдаемых свойств вещества с его структурными элементами. К сожалению, до настоящего времени не создана непротиворечивая теория вещества как основа понимания и единого описания организации вещества во всем его структурном многообразии. Хотя методология исследований вещества в целом достаточно очевидна и сводится к изучению свойств веществ в зависимости от составляющих данное вещество микрочастиц, а также в зависимости от внешних условий и способов воздействия на вещество различными физическими полями (тепловыми, механическими, электромагнитными). Количественным выражением свойства выступает обобщенная восприимчивость  $\chi$  [8, 9]. При заданных условиях эксперимента свойства вещества являются функцией их компонентного состава, т. е.  $\chi = \chi(x_i, x_j, x_k, \dots)$ , где  $x_i, x_j, x_k$  — концентрация соответствующего  $i$ -го,  $j$ -го,  $k$ -го компонентов микрочастиц, образующих вещество. В предельном случае простых веществ, образованных из одного типа  $x$  микрочастиц  $\chi = \chi(x)$ . В этом простейшем случае макроскопические свойства вещества однозначно определяются свойствами отдельных микрочастиц, так что в общем случае имеем  $\chi = \alpha N$ , где  $N$  — плотность микрочастиц,  $\alpha$  — свойство отдельной микрочастицы, именуемой обобщенной поляризуемостью. Это соотношение справедливо в предельном случае невзаимодействующих микрочастиц. При рассмотрении реальных веществ взаимодействием между микрочастицами пренебрегать нельзя. Более того, эти взаимодействия могут быть достаточно сильными, чтобы создавать относительно устойчивые структурные образования. К ним применимо описание с помощью поляризуемости  $\alpha$  [8, 11].

В общем случае вещество представляет сложную систему вложенных структур, из числа которых следует выделить надмолекулярный, молекулярный, атомный и внутриатомный (электронный) уровни. Относительную независимость каждого из иерархических уровней обеспечивает структурная устойчивость микрочастиц, представляющих соответствующий уровень. С другой стороны, все уровни вещества причинно обусловлены электронным

строением атомов, так что искомую величину  $\chi$  можно представить последовательностью зацепляющихся функций:

$$\begin{aligned}\chi &= f(N_K, S_{HM}, U_{MK}) \rightarrow S_{HM} = f(N_M, S_{HM}, U_{MM}) \rightarrow S_M = \\ &= f(N_a, S_a, U_{Ma}) \rightarrow S_a = f(N_a, S_e, \mathcal{E}_{ne})\end{aligned}$$

Здесь  $f(N_K, S_{HM}, U_{MK})$  — функция, представляющая зависимость свойства  $f$  вещества от числа  $N_K$  составляющих его молекулярных комплексов (ассоциатов), которые формируют надмолекулярную структуру  $S_{HM}$  и устойчивость которых характеризуется энергией взаимодействия  $U_{MK}$  между ними. В свою очередь, надмолекулярная структура  $S_{HK}$  является функцией числа  $N_K$  и структуры  $S_M$  молекул, устойчивость и стабильность которых определяется энергией межмолекулярных взаимодействий  $U_{MM}$ . Молекулярная структура  $S_M$  зависит от числа  $N_a$  составляющих ее атомов и их структуры  $S_a$ , связанных между собой совокупностью межатомных (ковалентных) связей  $U_{Ma}$ . И наконец, атомная структура  $S_a$  является функцией числа электронов  $N_e$  и внутриатомной структуры  $S_e$ , устойчивость которой характеризуется энергией связи  $\mathcal{E}_{ne}$  электронов с атомом. В конечном итоге свойства  $\chi$  молекулярных веществ обусловлены свойствами  $\alpha$  и строением  $S_e$  атомов. Генетическая информация о структурообразовании вещества “записана” в электронной структуре атомов и реализуется путем их самоорганизации по механизму межчастичных взаимодействий [10, 11].

Структурная организация других классов веществ (ионных, металлических, ковалентных, протонных) также причинно обусловлена электронным строением составляющих их атомов и ионов. Различия лишь в механизмах структурообразования вещества, которые определяются величиной и размерностью электрического момента исходных атомов и/или ионов и которые выступают первопричиной межатомных и межйонных взаимодействий.

Основополагающая роль атомного уровня объясняется тем, что на этом уровне «состав» (число электронов в атоме) точно задан (порядковым номером атома в таблице Менделеева), а взаимодействие между внутриатомными зарядами (ядра и электронов) описывается фундаментальным законом Кулона. Данное обстоятельство открывает и обеспечивает принципиальную возможность установления



электронной конфигурации атомов, и, соответственно, возможность определения пространственного распределения зарядов. В мультипольном представлении [9 11] заданному распределению зарядов в атоме отвечает электрический момент соответствующей пространственной размерности (монополь, диполь, квадруполь, октуполь и т. д.). Наличие у атома электрического момента делает его электрически активным, способным к взаимодействию с окружающими микрочастицами и, как следствие этого, способным к связыванию атомов и образованию молекул и химических соединений.

Таким образом, исходная информация об организации и структурообразовании вещества содержится в атомной структуре в виде электрического момента, размерность которого предопределяет характер и механизм межатомных взаимодействий, обеспечивающих атомам способность к образованию химической и физической связи. Тем самым электронное строение атомов предопределяет пространственную конфигурацию отдельных молекул и архитектуру вещества в целом. Для построения теории вещества вывод о том, что свойства вещества обусловлены электронным строением составляющих их атомов, представляется исключительно важным. Становятся понятными причины ограниченности известных теорий вещества, у которых это основополагающее звено отсутствует. С другой стороны, исследования в области создания прогностической теории вещества становятся более осознанными и целенаправленными [10, 11].

Молекулярные вещества относятся к классу веществ, строительными элементами которых выступают нейтральные (в электрическом отношении) структурные образования. Отличительной особенностью молекулярных (ван-дер-ваальсовых) является невалентный характер взаимодействия между микрочастицами. Межмолекулярные силы взаимодействия ван-дер-ваальсовых систем имеют чисто электрическую природу и заряд-дипольный механизм образования физических связей, обуславливающих образование молекулярных димеров, кластеров и в целом молекулярных веществ. Носителем межатомных и межмолекулярных взаимодействий являются атомы (молекулы) с их диполь-оболочечным строением. Принципиальные трудности расчета энергии межмолекулярных взаимодействий связаны с неаддитивным характером сложения парных потенциалов. Описание молекулярных веществ достигается с помощью потенциальных функций  $u(r)$ , отличающихся от парных потенциальных функций тем, что в них вводится координационное

число  $\eta$ , которым учитывается кооперативный характер взаимодействия между микрочастицами [10, 11].

**Ковалентные кристаллы.** Тетраэдрическая конфигурация электронов внешней оболочки атомов IV группы предопределяет пространственную структуру кристаллов типа алмаза. Благодаря тетраэдрической симметрии атомов связь между ними осуществляется точно вдоль направлений их электронных орбит. В результате образуется пространственная решетка, структура которой строго соответствует электронной конфигурации атомов в узлах этой решетки. Примером такой решетки может служить кристалл алмаза. У такого рода кристаллов атомы связаны между собой ковалентными связями, которые и определяют структуру и устойчивость кристалла. Энергия связи атома с кристаллом в этом случае сводится к определению энергии химической связи между атомами с учетом их окружения, определяемого координационным числом, равным 4 [10, 11].

**Ионные системы** образуются в результате взаимодействия разных атомов, преимущественно атомов, принадлежащих крайним группам таблицы Менделеева. У атомов металлов ( $Me$ ) поляризуемости имеют высокие значения и низкие энергии связи  $\mathcal{E}_n$ ; у галогенов ( $Hal$ ), наоборот, низкие поляризуемости и достаточно большие энергии связи. При взаимодействии атомов  $Me$  и  $Hal$  валентные электроны  $Me$  диссоциируют и присоединяются к  $Hal$ , образуя в конечном итоге ионную решетку  $MeHal$ . Основой вклад в энергию межионных взаимодействий системы вносит энергия электростатического взаимодействия ионов. Примером может служить модель ионного кристалла типа  $NaCl$  как простой кубической решетки, в узлах которой размещены поочередно ионы  $Me^+$  и  $Hal^-$ , несущие эффективные заряды  $+q$  и  $q$ , соответственно. В равновесном состоянии кристалла силы притяжения разноименных зарядов уравновешены силами отталкивания одноименных зарядов. При этом каждый из ионов участвует в формировании как сил притяжения, так и сил отталкивания, формирующих притягивательную и отталкивательную ветви потенциальной функции  $u(r)$  [10, 11].

При построении теории электронного строения металлов обычно принимается модель свободных электронов, согласно которой валентные электроны атомов покидают свои внешние оболочки и образуют решетку из сферически симметричных катионов, которые погружены в среду из электронного газа. К модели свободных

электронов близка модель энергетических зон, согласно которой валентные электроны делокализованы и в результате их взаимодействия образуют частично заполненную зону проводимости. Но модели свободных электронов не объясняют известный экспериментальный факт, что потенциал ионизации кластеров атомов I группы таблицы Менделеева слабо зависит от числа составляющих его элементов, вплоть до макроскопических объемов [12]. По сути, это означает, что валентные электроны атомов находятся в связанном молекулярном состоянии.

Модель свободных электронов не объясняет преимущественное образование у металлов ОЦК–решетки.

С учетом понимания механизма формирования гомоядерных молекул, в качестве рабочей гипотезы можно предложить модель ОЦК–решетки, образуемую димерами  $Me_2$  в узлах данной решетки. При этом наблюдаемую электропроводность металлов можно объяснить высокой направленностью межмолекулярных связей при относительно высокой плотности вещества и относительно небольшими потенциальными барьерами, разделяющими орбиты близлежащих димеров [11].

Сегодняшний этап исследований в области электронного строения вещества связан с надеждами на восстановление целостностного учения о веществе, исходя из присущего веществу единства свойств, состава, строения и структурной организации вещества. Руководствуясь этой идеей, автором разрабатывается теория электронного строения вещества, основанная на установлении причинно-следственных связей между микро- и макро уровнями вещества. С ее помощью достигается описание связи между микро- и макроскопическими уровнями вещества, а теория вещества принимает статус прогностической теории, т. е. теории, предсказывающей свойства вещества на основании исходных данных о строении атомов и молекул. Она логически и методически выверена и может служить концептуальным основанием для последующего уточнения и более детальных проработок ее отдельных положений. Разрабатываемая теория опирается на законы электростатики и электродинамики и по своей сути является классической. Она выстраивается исходя из логики обусловленности строения вещества электронным строением атомов и ионов и в этом отношении может быть отнесена к категории *ab initio*.

Можно надеяться, что начатые исследования по разработке прогностической теории электронного строения вещества стимулируют обсуждение одной из фундаментальных проблем

современного естествознания и будут способствовать выводу учения о веществе из сегодняшнего кризисного состояния.

### **Список литературы:**

1. Аккарди Л. Диалоги о квантовой механике. Гейзенберг, Фейнман, Академус, Кандидо и Хамелеон на ветке. — Москва–Ижевск: Институт компьютерных исследований; НЦЦ «Регулярная и хаотическая динамика», 2004. — 448 с.
2. Вильф Ф. Ж. Логическая структура квантовой механики. — М.: Эдиториал УРСС, 2003. — 256 с.
3. Ганкин В. Ю., Ганкин Ю. В. Как образуется химическая связь и протекают химические реакции. — М.: Изд-во Граница, 2007. — 320 с.
4. Грининский М. Об атоме точно: Семь лекций по атомной физике. Ред. М. М. Лаврентьев. — Новосибирск: ИМ СО РАН, 2004, 94с..
5. Дикерсон Р., Грей Г., Хейт Дж. Основные законы химии. Т. 1. — М.: Мир, 1982. — 652 с.
6. Мостепаненко М. В. Философия и методы научного познания. Л.: Лениздат, 1972. — 264 с.
7. Потапов А. А. Вещество как движущий потенциал технологических инноваций. Сб. «Инновации и современная наука». — Новосибирск, 2011.
8. Потапов А. А. Деформационная поляризация: поиск оптимальных моделей. — Новосибирск: Наука, 2004. — 511 с.
9. Потапов А. А. Диэлектрический метод исследования вещества. — Иркутск, Изд-во Иркутского госуниверситета, 1986. — 256 с.
10. Потапов А. А. Наука о веществе: состояние и перспективы; электронное строение атома; перспективы построения прогностической теории. Бутлеровские сообщения. — 2011. Т. 24, № 1.С. 1-45.
11. Потапов А. А. Ренессанс классического атома. — М.: Издательский Дом «Наука», 2011. — 444 с.
12. Суздаев И. П. Нанотехнология: физико-химия нанокластеров, наноструктур и наноматериалов. — М.: КомКнига, 2006. — 592 с
13. Физическая энциклопедия / Гл.ред. А.М. Прохоров. М.: Сов. Энциклопедия, — 1988. — Т.1. — 704 с.
14. Флайгер У. Строение и динамика молекул, Т. 1. — М.: Мир, 1982. — 408 с.
15. Хренников А. Ю. Введение в квантовую теорию информации. — М.: ФИЗМАТЛИТ, 2008. — 254 с.
16. Шпольский Э. В. Атомная физика. — М.: Физматгиз, 1963. — Т. 1. — 576 с.

## 2.6. ХИМИЯ ЭЛЕМЕНТООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

### РАСЧЕТ ЭНЕРГИИ ИОНИЗАЦИИ В-ДИКЕТОНАТНЫХ КОМПЛЕКСОВ В МНОГОДЕТЕРМИНАНТНОМ ПРИБЛИЖЕНИИ

*Иванов Юрий Васильевич*

*канд. хим. наук, доцент ДВГТРУ, г. Владивосток*

*E-mail: [iyuv@rambler.ru](mailto:iyuv@rambler.ru)*

Интерпретация экспериментальных спектров фотоионизации комплексов металлов первого переходного ряда сталкивается с трудностями в связи с неоднозначностью отнесения полос. В качестве вероятных объяснений можно назвать ограниченность однодетерминантного приближения и не всегда оправданное применения теоремы Купманса. В случае комплексных соединений отклонения от теоремы Купманса наиболее заметны.

С целью исследования возможности применения многодетерминантных методов для исследований комплексных соединений такого класса нами были проведены расчеты комплексов никеля с использованием стандартных валентно-расщепленных базисных наборов, а также в приближении конфигурационного (КВ) и многоконфигурационного (МКВ) взаимодействия с использованием в качестве базиса орбиталей, полученных в результате расчетов по ограниченному методу Хартри-Фока (RHF) и молекулярных орбиталей, полученных по методу возмущения Мёллера-Плессета второго порядка (MP/2). Во всех однодетерминантных RHF-расчетах проводилась полная оптимизация геометрии в предположении  $D_{2h}$ . Для расчетов применялся программный комплекс GAMESS [2].

Проведенные расчеты в приближении RHF малондальдегината (табл. 1) и ацетилацетоната (табл. 2) Ni показали, что верхними занятыми МО являются  $\pi^{3-}$  и  $\pi^{3+}$  орбитали с симметрией  $B_{2g}$  и  $B_{1u}$  соответственно. Далее следуют n-АО кислорода. Заметно, что расширение базиса приводит к незначительной стабилизации всех валентных уровней. Дестабилизация орбиталей ацетилацетоната по сравнению с комплексом малонового альдегида может быть объяснена незначительным донорным эффектом концевых метильных групп.

Таблица 1.

RHF-расчеты Ni(Mal)<sub>2</sub>.

Базис	3-21G	SBK	TZ/4-31 <sup>*)</sup>	TZ
B <sub>2g</sub> (π <sup>3</sup> )	-8,98	-9,13	-9,08	-9,23
B <sub>1u</sub> (π <sup>3</sup> )	-9,46	-9,50	-9,51	-9,66
B <sub>2u</sub> (n)	-11,42	-11,68	-11,51	-11,67
B <sub>1g</sub> (n)	-11,71	-11,98	-11,87	-12,02
A <sub>g</sub> (d+s)	-11,89	-13,19	-12,93	-13,11
B <sub>3u</sub> (n <sup>+</sup> )	-13,10	-13,32	-13,22	-13,40
B <sub>3g</sub> (π <sup>2</sup> +d)	-12,85	-13,93	-13,63	-13,77
A <sub>u</sub> (π <sup>2</sup> )	-14,20	-14,33	-14,22	-14,34
A <sub>g</sub> (n <sup>+</sup> )	-13,14	-14,88	-14,44	-14,59

<sup>\*)</sup> Трипл-дзета на Ni, STO 4-31G на H, C, O.

Энергетическое положение d-орбиталей металла не столь однозначно и более чувствительно к используемому базису. Так, из табл. 1 видно, что расчет в STO 3-21G базисе показал значительно более высокую энергию B<sub>3g</sub> орбитали с вкладом d-АО металла по сравнению с расчетами в других базисах, в то время, как орбиталь A<sub>u</sub> симметрии π<sub>2</sub> напротив стабилизируется. Так как для атомов металлов первого переходного ряда не предложен базисный набор типа STO 4-31G, то вместо него использовался наиболее близкий к нему базис Стивенса-Боша-Краусса с аппроксимацией внутренних электронов молекулярным потенциалом [3]. Расчеты как Ni(Mal)<sub>2</sub> (табл. 1), так и Ni(АсАс)<sub>2</sub> (табл. 2), показывают качественное соответствие результатов расчетов с использованием молекулярного псевдопотенциала с расчетами в стандартных валентно-расщепленных базисах. Примечательно, что расчеты в DZ-базисе Альрихса [1] воспроизводят орбитальные энергии близкие к получаемым в стандартном TZ-базисе Поппа, тогда как общее количество функций в неконкатенированном DZ-базисе меньше чем, в STO 3-21G. Все расчеты (табл. 2) указывают на достаточно низкие значения энергии МО, имеющие существенный вклад d-АО металла. Между тем как показывают экспериментальные данные фотоэлектронной спектроскопии, ионизация d-орбиталей металла происходит при более низких энергиях, чем это показывают RHF-расчеты.

Таблица 2.

Орбитальные энергии E, эВ и вклад d-АО в MO Ni(АсАс)<sub>2</sub>

Базис	STO 3-21G		STO 4-31 <sup>*)</sup>		SBK		TZ		DZ	
	E	% d	E	% d	E	% d	E	% d	E	% d
B <sub>2g</sub> (π)	-8,61	>0,01	-8,63	>0,01	-8,76	>0,01	-8,87	>0,01	-8,86	>0,01
B <sub>1u</sub> (π)	-9,05	>0,01	-8,95	>0,01	-9,10	>0,01	-9,19	>0,01	-9,10	>0,01
B <sub>2u</sub> (n <sup>-</sup> )	-10,94	>0,01	-11,04	>0,01	-11,20	>0,01	-11,22	>0,01	-11,2	>0,01
B <sub>1g</sub> (n <sup>-</sup> )	-11,21	>0,01	-11,34	>0,01	-11,48	>0,01	-11,53	>0,01	-11,5	>0,01
A <sub>g</sub> (σ)	-11,40	0,70	-14,17	1,22	-12,59	0,14	-12,56	0,24	-14,5	0,78
B <sub>3g</sub> (π)	-12,22	0,37	-12,84	0,11	-13,01	0,11	-13,03	0,11	-13,1	0,12
B <sub>3u</sub> (n <sup>+</sup> )	-12,47	>0,01	-12,49	>0,01	-12,69	>0,01	-12,69	>0,01	-12,7	>0,01
A <sub>g</sub> n <sup>+</sup>	-12,61	0,41	-12,36	0,52	-14,36	0,68	-14,36	0,84	-12,6	0,15
B <sub>2g</sub> π	-12,89	0,45	-13,53	0,12	-13,67	0,11	-13,74	0,12	-13,8	0,11
A <sub>u</sub> π	-13,24	>0,01	-13,15	>0,01	-13,30	>0,01	-13,33	>0,01	-13,38	>0,01
B <sub>1u</sub> π	-14,25	>0,01	-14,10	>0,01	-14,21	>0,01	-14,29	>0,01	-14,24	>0,01
B <sub>3g</sub> π	-14,43	0,32	-15,60	0,25	-15,68	0,21	-15,79	0,28	-15,82	0,25
B <sub>2g</sub> π	-14,63	0,22	-15,73	0,36	-15,84	0,33	-15,92	0,39	-16,00	0,40
A <sub>g</sub> σ	-15,12	0,27	-15,63	0,18	-15,77	0,17	-15,40	0,15	-15,83	0,24
A <sub>g</sub> σ	-16,02	0,52	-17,28	0,53	-17,44	0,43	-15,78	0,18	-17,58	0,48
A <sub>g</sub> π	-16,06	>0,01	-15,93	>0,01	-15,98	>0,01	-16,15	>0,01	-16,12	>0,01
B <sub>3g</sub> π	-16,17	>0,01	-16,40	0,33	-16,57	0,36	-16,60	0,31	-16,71	0,44
B <sub>1u</sub> π	-16,73	>0,01	-16,50	>0,01	-16,62	>0,01	-16,77	>0,01	-16,75	>0,01
B <sub>2g</sub> π	-16,75	>0,01	-16,82	0,21	-17,00	0,23	-17,07	0,19	-16,00	0,40
A <sub>g</sub> σ	–	–	-18,75	0,54	–	–	-17,56	0,52	-19,07	0,63
A <sub>g</sub> σ	–	–	-20,48	0,52	–	–	-19,00	0,47	>0,01	>0,01

\*) — STO 3-21G на атоме Ni.

Согласно данным КВ расчетов энергия ионизации d-АО никеля превышает их хартри-фовковскую энергию на  $\cong 8$  эВ. Это может быть объяснено тем, что d-АО являются гораздо более выраженными вследствие их незначительного включения в молекулярные орбитали. Заметного увеличения энергии d-состояний не наблюдается (табл. 3) ни при расширении базиса КВ, ни при включении двукратного возбуждения. Нами также были проведены расчеты в приближении МКВ (табл. 4). В связи с высокой трудоемкостью подобных расчетов, были включены только однократно-возбужденные конфигурации и

ограниченный набор молекулярных орбиталей (12 занятых и 8 вакантных).

**Таблица 3.**

**Энергии состояний Ni(AsAc)<sub>2</sub> по данным расчетов в STO 3-21G базисе с учетом однократных (CI-1) и двукратных (CI-2) возбуждений.**

	<b>CI-1, 21*20</b>	<b>CI-2, 17*10</b>
B2G	7,731	8,156
B1U	8,285	8,691
B2U	9,487	10,002
B1G	9,697	10,255
AG	9,872	10,495
B3G	10,715	11,324
B3U	10,718	11,204
AG	10,979	11,639
B2G	11,376	11,984
AU	11,712	12,155
B1U	12,891	13,240
B3G	—	13,486
B2G	13,280	13,725
B2U	13,962	14,385
B3U	13,963	14,573
B1G	13,990	14,429
AG	13,869	14,713

Однако как следует из приведенных результатов, использование самосогласованных функций в этом случае привело к дестабилизации всех возбужденных состояний (по сравнению с КВ-расчетами), особенно заметное для состояний, имеющих d-характер. Таким образом в процессе ионизации молекулярные орбитали комплекса в значительной степени меняют свой характер.

Однако использование MC SCF на данном этапе представляет значительные трудности главным образом вследствие крайне низкой сходимости существующих расчетных процедур. Таким образом, наиболее реалистичным путем повышения достоверности получаемых результатов представляется использование в качестве начального приближения вместо согласованных хартри-фокковских молекулярных орбиталей более подходящий молекулярный базис.



Таблица 4.

**Энергия состояний Ni(AsAc)<sub>2</sub> по данным КВ расчетов с использованием орбиталей Меллера-Плессета, и МКВ в базисе STO 3-21G.**

% d			MP2 CI*2 14*10			% d			MCSCF-1 12*8		
<b>Pi3</b>	B2G	8,16	Pi3	B2G	7,10						
<b>Pi3</b>	B1U	8,68	<b>Pi3</b>	B1U	7,94						
<b>0,31</b>	B3G	12,29	<b>0,70</b>	AG	8,12						
<b>n</b>	B1G	12,38	<b>0,37</b>	B3G	8,55						
<b>0,22</b>	B2G	13,12	<b>n</b>	B2U	8,71						
<b>0,37</b>	AG	13,60	<b>n</b>	B1G	8,96						
<b>Pi2</b>	AU	13,67	<b>0,45</b>	B2G	9,46						
<b>n</b>	B3U	14,05	<b>0,41</b>	AG	9,84						
<b>0,44</b>	B2G	14,23	<b>n</b>	B3U	9,84						
<b>Pi2</b>	B1U	14,76	<b>Pi2</b>	AU	11,06						
<b>n</b>	B2U	16,15	<b>0,32</b>	B3G	11,49						
<b>0,76</b>	AG	16,96	<b>Pi2</b>	B1U	12,32						
<b>n</b>	B3U	18,22									

В качестве такого базиса нами были использованы орбитали, полученные по теории возмущения Мёллера-Плессета второго порядка (табл. 4). Общая дестабилизация состояний в этом случае не наблюдается, однако заметно, что d-состояния имеют более высокие энергии и следуют практически сразу за  $\pi^3$ -состояниями комплекса, в отличие от КВ-расчетов и качественно приближающихся к расчетам в многоконфигурационном приближении.

**Список литературы:**

1. Krauss M., Stevens W. J. Ann.Rev.Phys.Chem. 35, 357-385(1985).
2. Schafer A., Horn H. and Ahlrichs R., Chem J. Phys. 97, 2571 (1992).
3. Schmidt M. W., Baldrige K. K., Boatz J. A., Elbert S. T., Gordon M. S., Jensen J. H., Koseki S., Matsunaga N., Nguyen K. A., Su S. J., Windus T. L., together with Dupuis M., Montgomery J. A., Comput J. Chem., 1993, V 14, p. 1347-1363

## СЕКЦИЯ 3.

### ФИЗИКА

#### 3.1. ЛАЗЕРНАЯ ФИЗИКА

##### ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА УЛЬТРАДИСПЕРСНЫЕ МИНЕРАЛЬНЫЕ СРЕДЫ

*Капустина Галина Григорьевна*

*аспирант ИГД ДВО РАН, преподаватель ТОГУ г. Хабаровск*

*E-mail: [g.rapustina@mail.ru](mailto:g.rapustina@mail.ru)*

*Леоненко Нина Александровна*

*канд. техн. наук, ИГД ДВО РАН, г. Хабаровск*

*E-mail: [leonenko@igd.khv.ru](mailto:leonenko@igd.khv.ru)*

*Статья подготовлена в ходе выполнения работ по государственному контракту на выполнение научно-исследовательских работ от 29 апреля 2011 г. № 16.552.11.7027 с Министерством образования и науки России.*

#### **Введение**

Проблемы эффективного и безопасного освоения минерально-сырьевых ресурсов России выходят за рамки горного производства, они могут быть решены только при совместном сотрудничестве геологов, металлургов, физиков, химиков, биологов и других специалистов. За долгие годы активной эксплуатации рассыпные месторождения значительно истощены. Значительный резерв золотодобычи составляют техногенные россыпи. Это россыпи более сложного строения, менее богатые, с содержанием золота в мелкой фракции. Процесс разработки таких месторождений требует поиска новых технологических решений, основанных на результатах фундаментальных и прикладных исследований. В настоящее время широко распространены химические технологии (амальгамация, цианирование, элюирование), биологические технологии (применение бактерий *Thiobacillus ferrooxidans* для выщелачивания меди, никеля, цинка, золота и других металлов), а так же принципиально новые технологии с использованием физических воздействий.

Одним из направлений таких исследований является энергетическое воздействие на тонкодисперсные минеральные среды. К ним относятся электрохимическая обработка, обработка потоком ускоренных электронов, ультразвуком, мощными электромагнитными импульсами, а также сверхвысокочастотная и магнитно-импульсная обработки и др. [8].

Одним из перспективных методов энергетического воздействия является лазерная обработка материалов, которая обеспечивает высокую производительность и точность, экономит энергию.

В основе лазерной обработки материалов лежит способность лазерного излучения создавать на малом участке поверхности высокие плотности теплового потока, достаточные для нагрева, плавления или испарения практически любого материала. Это связано с термическим эффектом поглощения излучения непрозрачными твердыми телами [3, 5].

### Методика эксперимента

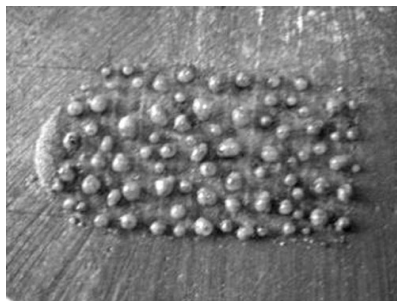
Для исследования были подготовлены минеральные алюмосиликатные среды (высокоглинистые пески), содержащие ультрадисперсное золото, не извлекаемое гравитационными методами.

Источником мощного потока энергии служил иттербиевый волоконный лазер ЛС-06 непрерывного действия, с длиной волны  $\lambda=1070$  нм, [6].

В ходе эксперимента мощность излучения варьировалась от 60 до 270 Вт. В результате лазерного воздействия при мощности излучения 60–90 Вт были получены спеки из глинистых алюмосиликатных частиц в виде цепочечных структур (рис. 1а). При дальнейшем увеличении мощности до 270 Вт (и более) эти структуры трансформировались в крупные оплавленные агломераты (рис. 1б).



а

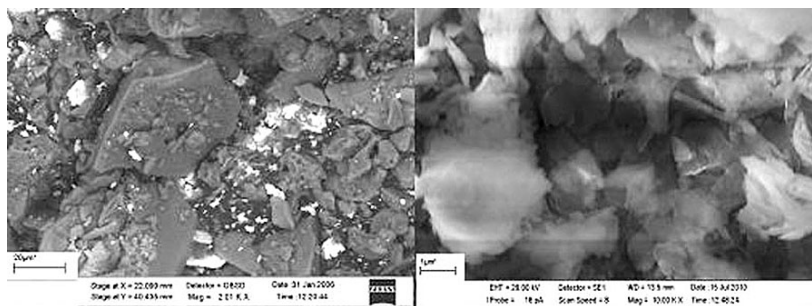


б

**Рисунок 1. Фотографии образцов после лазерной обработки (а) — при мощности 60 Вт, (б) — при мощности 270 Вт.**

Вещественный состав направленного изменения свойств образцов изучен с помощью электронной микроскопии и рентгеноспектрального микроанализа. Образы исследованы до и после лазерной обработки.

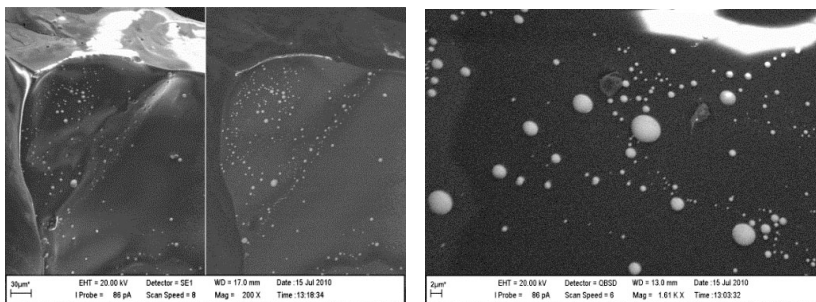
На рис. 2 представлены электронные растровые изображения исходных золотосодержащих алюмосиликатных образцов с ультрадисперсным золотом, полученные с помощью растрового электронного микроскопа «LEO EVO 40HV» (Карл Цейс, Германия), оснащенный энергодисперсионным анализатором «INCA-TNTRGY».



***Рисунок 2. Электронные изображения исходных образцов с ультрадисперсным золотом***

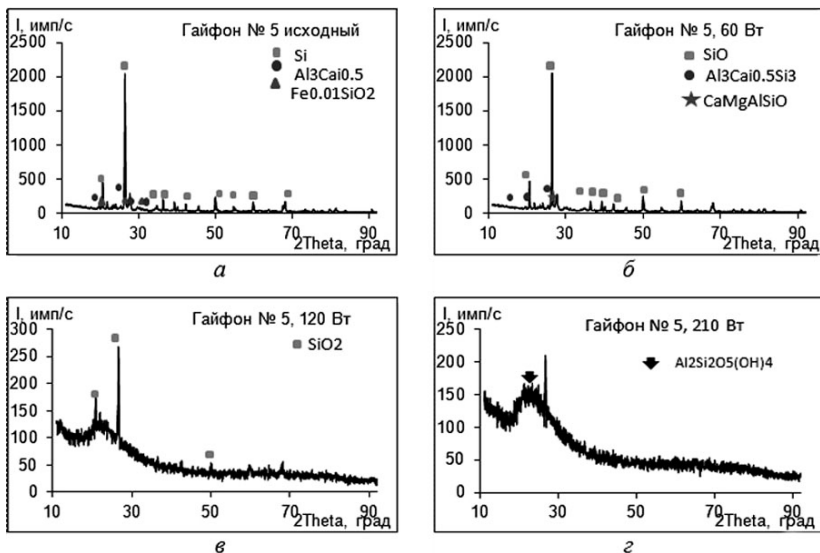
Изображения электронного микроскопа позволяют сделать вывод, что исходный образец имеет разную фазовую микронеоднородность. Фазы с более высоким средним атомным числом выражены в более ярком контрасте по сравнению с фазами с меньшим атомным числом. Исследованиями фазовой микронеоднородности методом растровой электронной микроскопии установлено, что основной структурной составляющей в исходных образцах являются силикаты в виде кварца, цеолита и глины. Присутствуют тонкодисперсные и ультрадисперсные золотосодержащие частицы с размерами от 10 до 400 нм.

В результате лазерного воздействия на данные образцы наблюдается формирование обожженных сфер диаметром от 500 до 3000 мкм. На этих поверхностях наблюдается формирование частиц золота размером до 300 нанометров, что подтверждается электронной микроскопией (рис. 3).



***Рисунок 3. Электронные изображения алюмосиликатных спеков после воздействия лазерного излучения мощностью излучения 60 Вт и 130 Вт.***

Помимо микроскопических методов исследования проведены исследования образцов рентгенофазовым методом при различных мощностях лазерного воздействия. Рентгеноструктурные исследования поверхности образцов проводились с помощью дифрактометра ДРОН-7 (НПП «Буревестник»). На рисунке 4а представлена рентгеновская дифрактограмма для исходного образца. Основные пики исходного материала соответствуют кварцу  $\text{SiO}_2$ . Кроме того, в небольшом количестве присутствуют сложные оксиды алюминия, кальция, железа и кремния. На рентгенограмме после лазерной обработки при мощности излучения 60 Вт, интенсивность пиков уменьшается и часть пиков исчезает, базисная линия становится шире (рис. 4б). С ростом мощности лазерного воздействия на породу (120 Вт) происходит уменьшение интенсивности наиболее выраженных дифракционных отражений, соответствующих кристаллической фазе  $\text{SiO}_2$ . Одновременно образуется область рентгеновского «гало» (рис. 4в). При мощности 210 Вт (рис. 4г) видно, что пики интенсивности становятся более размытыми, главный максимум интенсивности уменьшился почти в 10 раз и соответствует фазе нового вещества  $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ , базисная линия стала более широкой, а оксид кремния и другие элементы исчезли, так как при большой мощности происходит испарение вещества.



**Рисунок 4.** Дифрактограмма образца *а* - исходного; *б* — после воздействия лазерного излучения мощностью 60 Вт; *в* — после воздействия лазерного излучения мощностью 120 Вт; *г* — после воздействия лазерного излучения мощностью 210 Вт.

Наличие выраженного «гало» в области малых и средних углов свидетельствует о высокой степени аморфизации основных составляющих породы. Таким образом, в результате увеличения мощности лазерного воздействия высокоглинистые пески переходят из кристаллической фазы в аморфную [9].

## Результаты и обсуждение

Полученные результаты позволяет сделать вывод, что под воздействием лазерного излучения в минеральных средах возникают быстротекущие процессы, сопровождаемые генерированием механических и электромагнитных волн, которые приводят к изменению физико-механических свойств, деформации и перестройки молекулярно-электронных и кристаллических структур, образуется избыток энергии возбуждения, сконцентрированной, в основном, на границе гетерогенных фаз.

У диэлектриков с большой энергетической щелью в начале лазерного воздействия происходит генерация свободных электронов вследствие многофотонного механизма. Свободные электроны

эффективно поглощают энергию лазерного излучения за счет обратного тормозного рассеяния, в результате чего развивается процесс лавинной ионизации. Появление большого количества электронов в зоне проводимости приводит к металлизации поверхностного слоя диэлектрика, что выражается в увеличении коэффициентов поглощения и отражения. По окончании лазерного импульса с течением времени происходят рекомбинация (захват) электронов в связанное состояние и оже-рекомбинация, что приводит к постепенному возвращению мишени свойств диэлектрика [1, 2, 4].

Для описания динамики нагрева диэлектрика используют следующую форму уравнения теплопроводности с учетом всех каналов баланса лазерной энергии в облучаемом образце [1]:

$$c_p \rho \left( \frac{\partial T}{\partial t} + \frac{J}{en_e} \frac{\partial T}{\partial x} \right) = \frac{\partial}{\partial x} \lambda \frac{\partial T}{\partial x} + \Sigma(x, t)$$

где  $J$  — ток электронов,  $\lambda$  — теплопроводность  $e$  — заряд электрона,  $n_e$  — концентрация электронов,  $\Sigma(x, t)$  — описывает поглощение излучения в образце, выбирается таким образом, чтобы учесть все возможные каналы поглощения лазерной энергии.

Ток электронов может быть представлен в виде суммы дрейфового и диффузионного членов:

$$J = -en_e \mu E - eD \nabla n_e$$

где  $D$  — коэффициент диффузии электронов.

Решение уравнений теплопроводности для компонентов, входящих в состав дисперсных сред, позволяет определить оптимальные условия для варьирования размерами частиц золота, образующихся при лазерном воздействии на минеральные ультрадисперсные среды. Изучение направленного изменения свойств природных дисперсных золотосодержащих минеральных объектов при лазерном воздействии методами электронной, атомно-силовой микроскопии, показало, что по мере увеличения мощности энергетического лазерного воздействия образуются поверхностно неоднородные минеральные структуры. Золото на поверхности алюмосиликатных агломератов находится в виде самоорганизующихся сфероподобных структур [7].

## Выводы

Изменение гранулометрического состава минеральных золотосодержащих сред, происходящее вследствие воздействия лазерного излучения, позволит использовать обычные гравитационные методы для извлечения золота. На основе обнаруженного эффекта

могут быть предложены эффективные и экологически чистые методы для предварительной концентрации благородных металлов и с последующим извлечением их традиционными средствами.

### **Список литературы:**

1. Булгаков Л. В., Булгакова Н. М., Бураков И. М. Синтез наноразмерных материалов при воздействии мощных потоков энергии на вещество. Новосибирск: институт теплофизики СО РАН, 2009, 462 с.
2. Ванина Е. А., Гальцов А. А., Леоненко Н. А., Капустина Г. Г. Исследование процессов лазерной агломерации ультрадисперсного и коллоидно-ионного золота. Перспективные материалы. Спецвыпуск (13) . 2011. Материалы XI Российско-Китайского Симпозиума "Новые материалы и технологии" т.1 - 2011 г. СПб: Интерконтакт Наука, Москва, Россия. С. 144-148.
3. Вейко В. П. Опорный конспект лекций по курсу «Физико-технические основы лазерных технологий» // Раздел: Технологические лазеры и лазерное излучение. СПб: СПбГУ ИТМО, 2007. — 52 с.
4. Гришаев Р. В., Мирзаде Ф. Х., Хоменко М. Д. Численное моделирование нагрева и плавления микрочастицы лазерным излучением // Журнал технической физики, том 75, вып. 12, 2005. — С. 124-143.
5. Лазерные технологии обработки материалов: современные проблемы фундаментальных исследований и прикладных разработок / под редакцией В. Я. Панченко. М.: Физматлит, 2009. — 664 с.
6. Леоненко Н. А., Ванина Е. А., Гальцов А. А., Капустина Г. Г., Швец Н. Л. Воздействие лазерного излучения на золотосодержащие дисперсные среды и моделирование температурного поля процесса лазерной агломерации.// Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии, № 5-2. Орел: Изд-во Орел ГТУ, — 2010. — с. 83-91.
7. Леоненко Н. А., Ванина Е. А., Гальцов А. А., Капустина Г. Г., Силютин И. В. Терморadiационная активация и формирование упорядоченных структур в дисперсных минеральных средах при лазерном воздействии // Физика и химия обработки материалов. — 2011. — № 2. — с. 23-26.
8. Чантурия В. А. Современные проблемы обогащения минерального сырья в России. //Горный журнал, 2005, № 12. С. 56-64.
9. Швец Н. Л., Леоненко Н. А., Силютин И. В. Исследование высокоглинистых песков, подвергнутых лазерной термоактивации./ Проблемы комплексного освоения георесурсов: материалы IV Всероссийской научной конференции. Хабаровск: ИГД ДВО РАН, 2011. Т. 1. — с. 403-408.



## 3.2. ОПТИКА

### МОДЕЛИРОВАНИЕ ВОЛНОВОДНЫХ СТРУКТУР МЕТОДОМ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ЛУЧА FFT-BPM

*Андросик Андрей Борисович*

*канд. техн. наук, доцент, Государственный открытый Университет,  
г. Москва*

*Воробьев Сергей Андреевич*

*канд. техн. наук, доцент, Государственный открытый Университет,  
г. Москва*

*Мировицкая Светлана Дмитриевна*

*канд. техн. наук, доцент, Государственный открытый Университет,  
г. Москва*

*E-mail: [yorsa\\_57@mail.ru](mailto:yorsa_57@mail.ru)*

Одним из фундаментальных аспектов интегральной оптики является анализ и имитация распространения электромагнитной волны в приборах фотоники, основанных на волноводных структурах, включая оптические волноводы. В работе рассматривается метод распространения луча (BPM), который используется для анализа неоднородных волноводных структур.

Решение уравнения Гельмгольца или уравнения Френеля для оптического распространения излучения в волноводах, известно как метод распространения луча (BPM). Для решения уравнения Френеля были предложены два численных алгоритма. В одном из них, оптическое распространение моделируется как спектр плоской волны в пространственной частотной области, а влияние неоднородности среды интерпретируется как изменение фазы на каждом шаге пространственного распространения. Если в пространственной и спектральной областях применяется быстрое преобразование Фурье (БПФ), то метод называется BPM с быстрым преобразованием Фурье (БПФ BPM — **FFT-BPM**) [1, с. 96].

Распространение ЭМ волн в неоднородных средах можно непосредственно описать в пространственной области с помощью конечно — разностной схемы (**FD**). Этот метод позволяет выполнять

имитационное моделирование сильно направляющих структур, а также структур, изменяющихся в направлении распространения. Метод распространения луча, позволяющий получить решение параксиальной формы скалярного волнового уравнения в неоднородной среде, используя метод конечных разностей, называется **FD-BPM**. Методы, дающие решение векторного волнового уравнения и основанные на конечных разностях, называются **FD-VPBM**. Известно промежуточное приближение, которое начинается с волнового уравнения, но не учитывает условие связи между поперечными составляющими полей; такой подход называется **полувекторный (semi-vectorial) (FD-SVBPM)** метод [3, с. 466]. В данной работе рассмотрен метод FFT-BPM, удобный для решения задачи моделирования волноводной структуры.

Скалярное уравнение Гемгольца имеет вид

$$\nabla^2 \psi(x, y, z) + k_0^2 \cdot n^2(x, y, z) \cdot \psi(x, y, z) = 0, \quad (1)$$

где  $\nabla^2$  — лапласиан

$$\nabla^2 = \frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2}, \quad (2)$$

а  $k_0$  — волновое число в вакууме.

Для функции  $\psi(x, y, z)$ , распространяющейся в направлении оси  $+z$ , можно воспользоваться приближением плавного изменения (**slowly varying envelope approximation — SVEA**). При этом функцию  $\psi(x, y, z)$  можно представить виде двух сомножителей: плавно меняющейся функции  $\phi(x, y, z)$  и быстро осциллирующего фазового члена  $\exp(-j \cdot \beta \cdot z)$

$$\psi(x, y, z) = \phi(x, y, z) \cdot \exp(-j \cdot \beta \cdot z). \quad (3)$$

Здесь

$$\beta = n_{\text{eff}} \cdot k_0, \quad (4)$$

где  $n_{\text{eff}}$  — эффективный показатель преломления, связанный с показателем преломления сердцевинки и оболочки.

Вторую производную волновой функции  $\psi(x, y, z)$  по  $z$  можно представить как

$$\begin{aligned} \frac{\partial^2 \psi}{\partial z^2} &= \\ &= \frac{\partial^2 \phi}{\partial z^2} \cdot \exp(-j \cdot \beta \cdot z) - 2 \cdot j \cdot \beta \cdot \frac{\partial \phi}{\partial z} \cdot \exp(-j \cdot \beta \cdot z) - \beta^2 \cdot \phi \cdot \exp(-j \cdot \beta \cdot z) \end{aligned} \quad (5)$$

в (1) и, разделив левую и правую часть на  $\exp(-j \cdot \beta \cdot z)$ , можно записать

$$\frac{\partial^2 \phi}{\partial z^2} - 2 \cdot j \cdot \beta \cdot \frac{\partial \phi}{\partial z} + \nabla_{\perp}^2 \phi + (k_0^2 \cdot n^2 - \beta^2) \cdot \phi = 0, \quad (6)$$

где  $\nabla_{\perp}^2$  — лапласиан в поперечном направлении, который имеет вид

$$\nabla_{\perp}^2 = \frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2}. \quad (7)$$

Использование соотношения

$$k_0^2 \cdot n^2 - \beta^2 = k_0^2 \cdot (n_2^2 - n_{\text{eff}}^2) \quad (8)$$

приводит к

$$2 \cdot j \cdot \beta \cdot \frac{\partial \phi}{\partial z} - \frac{\partial^2 \phi}{\partial z^2} + \nabla_{\perp}^2 \phi + (k_0^2 \cdot n^2 - \beta^2) \cdot \phi = 0. \quad (9)$$

В последнем выражении учитывается вторая производная волновой функции  $\phi(x, y, z)$  по  $z$ , поэтому уравнение (9) является широкоугольной формулировкой. С другой стороны, если

$$\frac{\partial^2 \phi}{\partial z^2} = 0 \quad (10)$$

для уравнения (9) получается

$$2 \cdot j \cdot \beta \cdot \frac{\partial \phi}{\partial z} = \nabla_{\perp}^2 \phi + k_0^2 \cdot (n^2 - n_{\text{eff}}^2) \cdot \phi. \quad (11)$$

Допущение, которое не учитывает вторую производную волновой функции  $\phi(x, y, z)$  по  $z$ , называется *приближением Френеля* или *параксиальным приближением*. Волновая функция  $\phi(x, y, z)$  имеет вид

$$\phi(x, y, z) = A(x, y) \cdot \exp\left(-\frac{j}{2 \cdot \beta} \left\{ \nabla_{\perp}^2 + k_0^2 \cdot (n^2 - n_{\text{eff}}^2) \right\} \cdot z\right). \quad (12)$$

А волновую функцию  $\phi(x, y, z + \Delta z)$ , которая отличается от функции  $\phi(x, y, z)$  на величину  $\Delta z$  в направлении распространения, можно записать как

$$\phi(x, y, z + \Delta z) = \exp\left(-\frac{j}{2 \cdot \beta} \left\{ \nabla_{\perp}^2 + k_0^2 \cdot (n^2 - n_{\text{eff}}^2) \right\} \cdot \Delta z\right) \cdot \phi(x, y, z) \quad (13)$$

Целесообразно использовать соотношение

$$n = n_{\text{eff}} + \Delta n$$

и допущение, что  $\Delta n$  — достаточно малая величина, чтобы не учитывать  $(\Delta n)^2$ .

После преобразований можно записать

$$\begin{aligned} \phi(x, y, z + \Delta z) = \\ = \exp\left(-j \cdot \frac{\Delta z}{4 \cdot \beta} \nabla_{\perp}^2\right) \cdot \exp(-j \cdot \chi) \cdot \exp\left(-j \cdot \frac{\Delta z}{4 \cdot \beta} \nabla_{\perp}^2\right) \cdot \phi(x, y, z) \end{aligned} \quad (14)$$

Уравнение (14) позволяет получить результат с ошибкой порядка  $(\Delta z)^3$ . Это означает, что шаг приращения по направлению распространения  $\Delta z$  в методе FFT-BPM должен быть достаточно малым.

Ниже рассмотрен физический смысл каждого из элементов уравнения (14). Если допустить, что показатель преломления однороден в области анализа, тогда  $\chi$  будет равно нулю. В этом случае, уравнение (14) принимает вид

$$\begin{aligned} \phi(x, y, z + \Delta z) = \exp\left(-j \cdot \frac{\Delta z}{4 \cdot \beta} \nabla_{\perp}^2\right) \cdot 1 \cdot \exp\left(-j \cdot \frac{\Delta z}{4 \cdot \beta} \nabla_{\perp}^2\right) \cdot \phi(x, y, z) \\ = \exp\left(-j \cdot \frac{\Delta z}{4 \cdot \beta} \nabla_{\perp}^2\right) \cdot \phi(x, y, z) \end{aligned} \quad (15)$$

Это означает, что оператор

$$\exp\left(-j \cdot \frac{\Delta z}{2 \cdot \beta} \nabla_{\perp}^2\right) \quad (16)$$

соответствует распространению волновой функции на расстояние  $\Delta z$  в свободном пространстве. Поэтому, первый и третий члены уравнения (14) соответствуют распространению света в свободном пространстве на расстояние  $\Delta z/2$ . Таким образом, уравнение (14) показывает, что волновую функцию в плоскости  $z+\Delta z$  можно получить, сначала перемещая волновую функцию в свободном пространстве на  $\Delta z/2$ , затем задавая фазовый сдвиг  $(-\chi)$ , связанный с фазовым сдвигом линз и, в заключение, смещая волновую функции в свободном пространстве на  $\Delta z/2$ .

Далее получено выражение для оператора распространения свободного пространства (16), и оно применено к волновой функции.

Дискретное преобразование Фурье (т. е. представление волновой функции в спектральной области) имеет вид

$$\tilde{\phi}_{mn}(z) = \sum_{i=0}^{M-1} \sum_{h=0}^{N-1} \phi(x, y, z) \cdot \exp\left[-j \cdot 2 \cdot \pi \cdot \left(\frac{mx}{X} + \frac{ny}{Y}\right)\right], \quad (17)$$

Где

$$\begin{aligned}
x &= \Delta x \cdot i & y &= \Delta y \cdot h & X &= \Delta x \cdot M & Y &= \Delta y \cdot M \\
0 \leq i &\leq M-1 & & & 0 \leq h &\leq N-1 & & \\
-\frac{M}{2} \leq m &\leq \frac{M}{2}-1 & & & -\frac{N}{2} \leq n &\leq \frac{N}{2}-1 & & 
\end{aligned} \tag{18}$$

Здесь,  $X$  и  $Y$  — шаг по оси  $x$  и  $y$ , соответственно. Обратное дискретное преобразование Фурье имеет вид

$$\phi(x, y, z) = \sum_{m=-M/2}^{M/2-1} \sum_{n=-N/2}^{N/2-1} \tilde{\phi}(z) \cdot \exp \left[ j \cdot 2 \cdot \pi \cdot \left( \frac{mx}{X} + \frac{ny}{Y} \right) \right], \tag{19}$$

При использовании оператора (16) и приведенных выше рассуждений, волновая функция на расстоянии  $z+\Delta z/2$  принимает вид

$$\phi \left( x, y, z + \frac{\Delta z}{2} \right) = \exp \left( -j \cdot \frac{\Delta z}{4 \cdot \beta} \nabla_{\perp}^2 \right) \cdot \phi(x, y, z). \tag{20}$$

Волновая функция в плоскости  $z+\Delta z/2$  получена, заменяя  $z$  на  $z+\Delta z/2$  в уравнении (19)

$$\phi \left( x, y, z + \frac{\Delta z}{2} \right) = \sum_{m=-M/2}^{M/2-1} \cdot \sum_{n=-N/2}^{N/2-1} \tilde{\phi}_{mn} \left( z + \frac{\Delta z}{2} \right) \cdot \exp \left[ j \cdot 2 \cdot \pi \cdot \left( \frac{m \cdot x}{X} + \frac{n \cdot y}{Y} \right) \right] \tag{21}$$

С другой стороны, подстановка (19) в (20), приводит к:

$$\begin{aligned}
\phi \left( x, y, z + \frac{\Delta z}{2} \right) &= \exp \left( -j \cdot \frac{\Delta z}{4 \cdot \beta} \cdot \nabla_{\perp}^2 \right) \sum_{m=-M/2}^{M/2-1} \cdot \sum_{n=-N/2}^{N/2-1} \times \\
&\times \exp \left[ j \cdot 2 \cdot \pi \cdot \left( \frac{m \cdot x}{X} + \frac{n \cdot y}{Y} \right) \right]
\end{aligned} \tag{22}$$

После преобразований получается другое выражение для волновой функции в плоскости  $z+\Delta z/2$

$$\begin{aligned}
\phi(x, y, z) &= \sum_{m=-M/2}^{M/2-1} \cdot \sum_{n=-N/2}^{N/2-1} \tilde{\phi}_{mn}(z) \times \\
&\times \exp \left\{ j \cdot \frac{2 \cdot \pi^2}{4 \cdot \beta} \cdot \left[ \left( \frac{m}{X} \right)^2 + \left( \frac{n}{Y} \right)^2 \right] \cdot \Delta z \right\} \times \\
&\times \exp \left[ j \cdot 2 \cdot \pi \cdot \left( \frac{m \cdot x}{X} + \frac{n \cdot y}{Y} \right) \right]
\end{aligned} \tag{23}$$

Поскольку волновые функции  $\phi(x, y, z+\Delta z/2)$ , задаваемые уравнениями (21) и (23) равны, можно записать следующее соотношение:

$$\tilde{\phi}_{mn}\left(z + \frac{\Delta z}{2}\right) = \tilde{\phi}_{mn}(z) \cdot \exp\left\{j \cdot \frac{(2 \cdot \pi)^2}{4 \cdot \beta} \left[\left(\frac{m}{X}\right)^2 + \left(\frac{n}{Y}\right)^2\right] \cdot \Delta z\right\}. \quad (24)$$

Уравнение (24) показывает соотношение между спектральной волновой функцией  $\tilde{\phi}_{mn}(z + \Delta z/2)$  в плоскости  $z + \Delta z/2$  и плоскости  $z$ . Фазовый член уравнения (24)

$$\exp\left\{j \cdot \frac{(2 \cdot \pi)^2}{4 \cdot \beta} \cdot \left[\left(\frac{m}{X}\right)^2 + \left(\frac{n}{Y}\right)^2\right] \cdot \Delta z\right\}$$

учитывает факт распространения на расстояние  $\Delta z/2$  в свободном пространстве. Уравнение (23) является обратным дискретным преобразованием Фурье функции

$$\tilde{\phi}_{mn}(z) \cdot \exp\left\{j \cdot \frac{(2 \cdot \pi)^2}{4 \cdot \beta} \cdot \left[\left(\frac{m}{X}\right)^2 + \left(\frac{n}{Y}\right)^2\right] \cdot \Delta z\right\}$$

Таким образом, получается, что оператор

$$\exp\left(j \cdot \frac{\Delta z}{4 \cdot \beta} \cdot \nabla_{\perp}^2\right) \quad (25)$$

соответствует применению математической операции

$$F^{-1} \exp\left(j \cdot \frac{1}{4 \cdot \beta} \cdot (k_x^2 + k_y^2) \cdot \Delta z\right) F \quad (26)$$

к пространственной функции  $\phi(x, y, z)$ . Здесь символы  $F$  и  $F^{-1}$  соответствуют прямому и обратному дискретному преобразованию Фурье. Переменные  $k_x$  и  $k_y$  можно записать как

$$k_x = \frac{2 \cdot \pi \cdot m}{X} \quad \text{и} \quad k_y = \frac{2 \cdot \pi \cdot n}{Y} \quad (27)$$

Таким образом, процедура расчета методом FFT-BPM включает несколько шагов [2, с. 175, 4, с. 1275]:

1. Вычисляется Фурье-образ волновой функции  $\phi(x, y, z)$ , используя прямое дискретное преобразование Фурье.
2. Формируется Фурье-образ волновой функции, смещенный на расстояние  $\Delta z/2$  путем умножения на коэффициент

$$\exp\left\{j \cdot \frac{(2 \cdot \pi)^2}{4 \cdot \beta} \cdot \left[ \left( \frac{m \cdot x}{X} \right)^2 + \left( \frac{n \cdot y}{Y} \right)^2 \right] \cdot \Delta z \right\} \quad (28)$$

Это умножение соответствует смещению на  $\Delta z/2$  в свободном пространстве.

3. Используется обратное преобразование Фурье и определяется пространственная функция перед фазосдвигающей линзой. Путем умножения волновой функции на фазовый сдвиг, получается волновая функция после фазосдвигающей линзы

$$\exp(-j \cdot \chi) \cdot \phi\left(x, y, z + \frac{\Delta z}{2}\right). \quad (29)$$

Берется прямое преобразование Фурье по отношению к волновой функции и умножается на коэффициент

$$\exp\left\{j \cdot \frac{(2 \cdot \pi)^2}{4 \cdot \beta} \cdot \left[ \left( \frac{m \cdot x}{X} \right)^2 + \left( \frac{n \cdot y}{Y} \right)^2 \right] \cdot \Delta z \right\}, \quad (30)$$

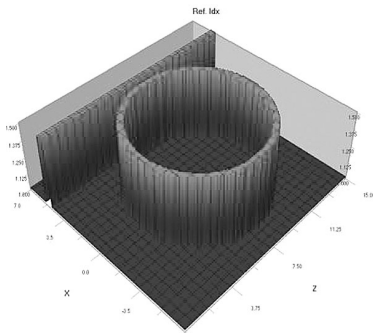
что соответствует смещению на  $\Delta z/2$  в свободном пространстве; получается Фурье-спектр волновой функции в плоскости  $\Delta z$ .

4. Используется обратное преобразование Фурье и вычисляется пространственная волновая функция в плоскости  $\Delta z$ .

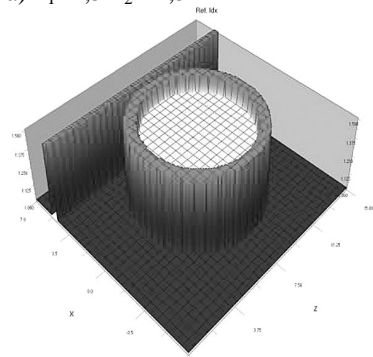
В случае, когда нет необходимости получать пространственную волновую функцию при каждом смещении  $z + \Delta z$ , можно перейти от шага 2 к шагу 4 и повторить шаги 2-4.

Результаты модельных исследований для структуры, состоящей из волновода и кольца, представлены на рис. 1. Исследования проводились для четырех типов резонаторных структур с одинаковыми геометрическими характеристиками и разными показателями преломления.

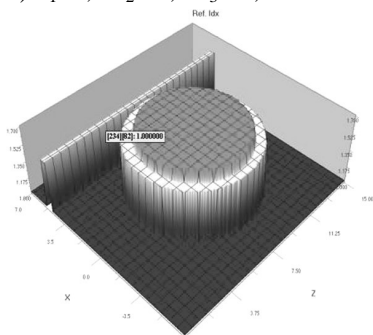
**Рисунок 1. Результаты расчетов резонансных структур**  
 Распределение показателя преломления  
 Дискретное преобразование Фурье спектра в функции длины волн



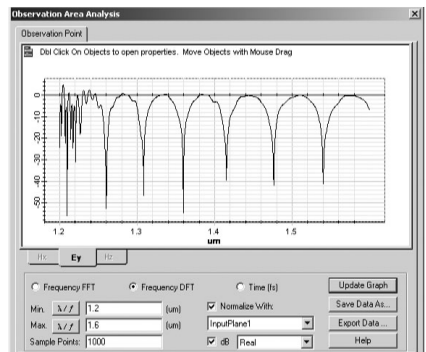
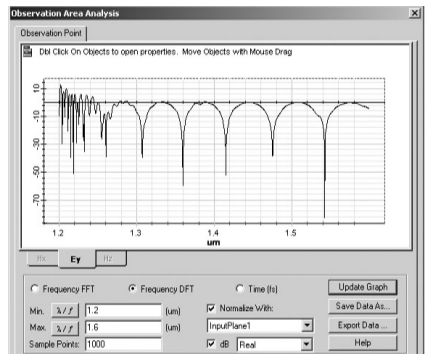
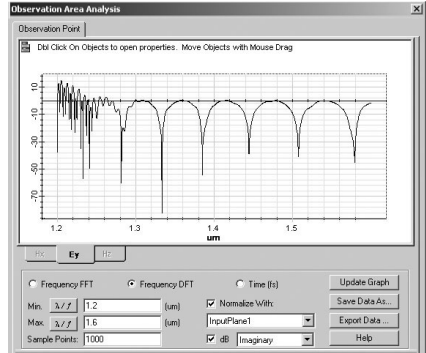
а)  $n_1=1,5$   $n_2=1,3$



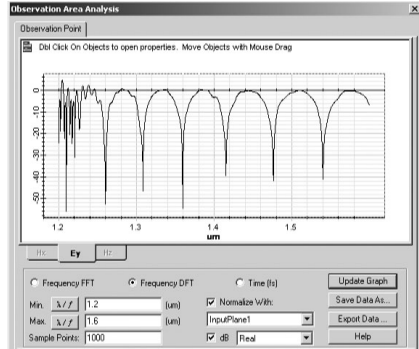
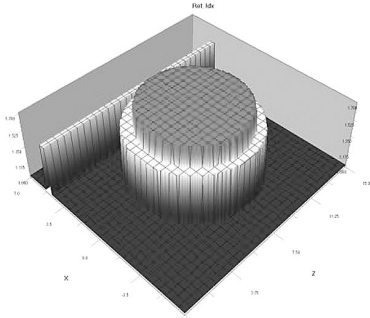
б)  $n_1=1,5$   $n_2=1,3$   $n_3=1,4$



в)  $n_1=1,5$   $n_2=1,3$   $n_3=1,6$







$$\Gamma) n_1=1,5 \quad n_2=1,3 \quad n_3=1,7$$

Дискретное Фурье преобразование спектра имеет периодический характер. В каждой из картин наблюдается один ярко выраженный пик (для первого варианта при  $\lambda=1,27$  мкм, для второго —  $\lambda=1,541$  мкм, для третьего  $\lambda=1,418$  мкм, для четвертого  $\lambda=1,36$  мкм). Для случаев (б-г) можно заметить смещение пика в сторону начала координат, амплитуда пика пропорционально уменьшается по абсолютной величине.

### Список литературы:

1. Андросик А. Б., Воробьев С. А., Мирвицкая С. Д. Волноводная и интегральная фотоника. — М.: МГОУ, 2011, 370 стр.
2. Андросик А. Б., Воробьев С. А., Мирвицкая С. Д. Моделирование фотонных структур методом конечных разностей во временной области. — Наука и современность-2011, Новосибирск, часть 2, с. 175-187.
3. Hadley G.R., Smith R. E. Full-vector waveguide modeling using an iterative finite-difference method with transparent boundary conditions //J. Lightwave Techn., 1995. V. 13. N. 3. P. 465-469.
4. Masoudi H. M., Al-Sunaidi M. and M. Arnold J. Time-domain finite-difference beam propagation method, IEEE Photonics Technology Letters, vol.11, pp. 1274–1276, Oct. 1999.

### 3.3. РАДИОФИЗИКА

#### ОСОБЕННОСТИ ИНТЕРФЕРЕНЦИИ ВОЛН В НЕВЗАИМНЫХ СРЕДАХ

*Глуценко Александр Григорьевич*

*д-р физ.-мат. наук, профессор, Поволжский государственный университет телекоммуникаций и информатики (ПГУТИ), г. Самара*

*Глуценко Евгения Павловна*

*канд. физ.-мат. наук, Поволжский государственный университет телекоммуникаций и информатики (ПГУТИ), г. Самара*

*Иванов Виктор Васильевич*

*д-р техн. наук, профессор, Поволжский государственный университет сервиса, г. Тольятти*

*Устинова Елена Сергеевна*

*старший преподаватель кафедры информационного и электронного сервиса Поволжский государственный университет сервиса, г. Тольятти*

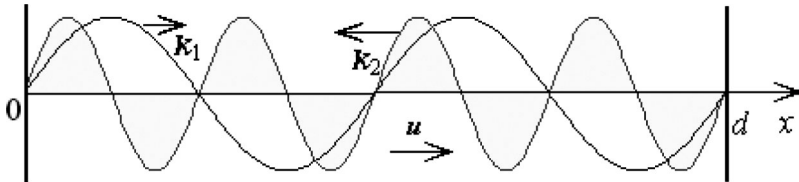
*E-mail: [zep646@yandex.ru](mailto:zep646@yandex.ru)*

При наложении когерентных волн, движущихся во взаимно противоположных направлениях, формируются стоячие волны, которые позволяют накапливать энергию колебательных процессов. В литературе описываются физические свойства стоячих волн в однородных, изотропных средах, резонаторах на основе волноводных структур [1-3]. Стоячие волны в невзаимных структурах и средах не рассматривались. Вместе с тем, анализ показывает, что невзаимность параметров существенно меняет физические свойства стоячих волн. Установлено, что колебательный процесс стоячей волны за счет невзаимных свойств сред носит характер биений. Колебания пространственно разнесенных точек стоячей волны теряют свойство синфазности.

Рассмотрим здесь особенности звуковых стоячих волн в упругой среде, обладающей невзаимными свойствами. На рис. 1 показана модель резонатора в виде экранированной в плоскостях  $x=0$ ,  $d$  среды.

Фазовая скорость распространения волн  $v$  (в неподвижной среде). Если резонатор привести в движение вдоль координатной оси  $Ox$  со скоростью  $u$ , он приобретает свойства невзаимной среды для прямых ( $v_1 = v + u$ ) и обратных ( $v_2 = v - u$ ) упругих волн.

Рисунок 1. Наложение прямой ( $k_1$ ) и отраженной ( $k_2$ ) волн в невзаимной среде ( $d$  — длина,  $u$  — скорость движения среды).



Скорость среды здесь играет роль параметра невзаимности, и при  $u=0$  структура обладает взаимными свойствами. Помимо скоростей различаются волновые числа и длины прямой и обратной волн:

$$k_1 = \frac{\omega}{v+u}, \quad k_2 = \frac{\omega}{v-u}, \quad \lambda_1 = \frac{v+u}{v}, \quad \lambda_2 = \frac{v-u}{v}.$$

Для прямой и отраженной волн сохраняется временная когерентность волн, но физические свойства стоячей волны изменяются и описываются обобщенным уравнением:

$$\begin{aligned} \xi(x,t) &= \xi_1 + \xi_2 = A \cos(\omega t - k_1 x) + A \cos(\omega t + k_2 x) = \\ &= 2A \cos\left(\frac{2\pi}{\lambda_r} x\right) \cdot \cos(\omega t - k_r x), \end{aligned} \quad (1)$$

где длина стоячей волны  $\lambda_r$ , волновое число  $k_r$  и скорость  $v_r$  результирующего волнового процесса определяются соотношениями:

$$\lambda_r = \frac{\lambda_1 \lambda_2}{\lambda_1 + \lambda_2}, \quad k_r = \frac{k_1 - k_2}{2} = \frac{\omega}{v_r}, \quad v_r = \frac{2v_1 v_2}{v_2 - v_1} = \frac{u^2 - v^2}{u}.$$

Обычно, без каких-либо оговорок, принимается, что равны и волновые числа прямой и обратной волн ( $k_1 = k_2 = k$ ). Однако это справедливо только в частном (хотя и наиболее распространенном) случае сред и структур, обладающих взаимными свойствами (одинаковыми параметрами, в частности, одинаковой скоростью распространения прямых и обратных волн  $v_1 = v_2 = v$ ). Уравнение (1) описывает квазистоячую волну — результирующий волновой процесс,

который при устранении невзаимности переходит в обычную стоячую волну. Первый множитель уравнения обобщенной стоячей волны - амплитуда, которая зависит от координаты и от скоростей прямых и обратных волн. Второй множитель показывает (в отличие от обычных стоячих волн) наличие волнового процесса с фазовой скоростью  $v_r$ . Направление распространения результирующего волнового процесса зависит от соотношения скоростей  $u$  и  $v$ : 1) совпадает с осью  $Ox$  при скоростях, удовлетворяющих соотношениям:  $v < u < 0$  или  $u > v$ ; 2) направление распространения противоположно оси  $Ox$  при скоростях, удовлетворяющих соотношениям:  $u < v < 0$  или  $0 < u < v$ . Таким образом, при малых скоростях перемещения среды  $|u| < |v|$  направление волнового процесса противоположно направлению движения этой среды. В отсутствие движения ( $u = 0$ ) среда проявляет свойства взаимности  $k_1 = k_2 = k$  и уравнение (1) сводится к известному уравнению стоячей волны.

В выражении для фазы уравнения стоячей волны во взаимной среде не входит координата и колебательные процессы во всех точках расположенных между ближайшими узлами в областях синфазны по отношению друг к другу. Напротив, из уравнения (1) следует, что в невзаимных средах синфазны только колебания в точках, для которых выполняется соотношение:

$$\omega t - \frac{k_1 - k_2}{2} x = const$$

Характер волнового процесса в результате наложения прямых и обратных волн в средах со взаимными свойствами (а) и в невзаимных средах (б) в зависимости от координаты и времени показан на рис. 2. Невзаимность свойств среды приводит к возникновению пространственных биений.

В точках (узлы), координаты которых удовлетворяют условию:

$$\frac{k_1 + k_2}{2} x = \pm \left( \frac{2m + 1}{2} \right) \pi,$$

$m=0,1,2,\dots$ , суммарная амплитуда колебаний равна нулю. Координаты узлов определяются соотношениями:

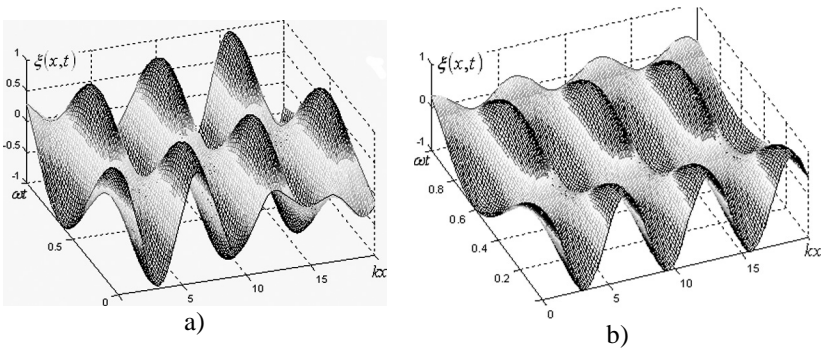
$$x_{\min, m} = \pm \frac{\lambda_1 \lambda_2}{\lambda_1 + \lambda_2} \left( m + \frac{1}{2} \right) \quad (2)$$

В точках, где координаты удовлетворяют условию:

$$\frac{k_1 + k_2}{2} x = \pm m\pi$$

суммарная амплитуда достигает максимальных значений  $2A$ . С течением времени (в отличие от стоячих волн во взаимных средах), амплитуда колебаний во всех точках (кроме узлов) меняется по периодическому закону (рис. 2, б). Координаты пульсирующих пучностей определяются из соотношения:

$$x_{\max, m} = \pm \frac{\lambda_1 \lambda_2}{\lambda_1 + \lambda_2} m \quad (3)$$

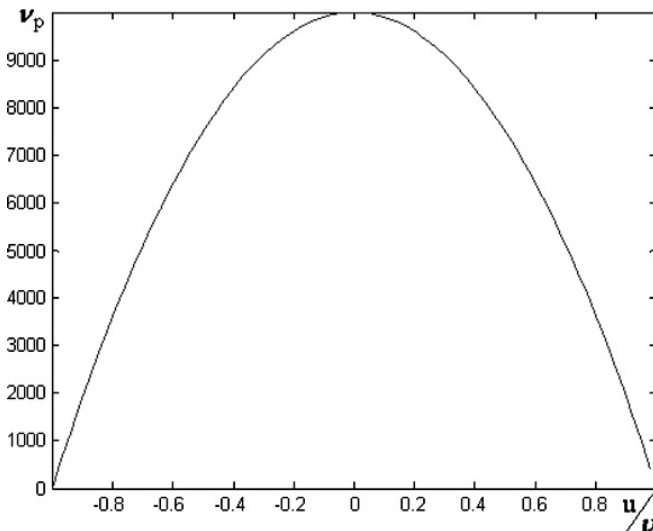


**Рисунок 2. Характер интерференции прямых и обратных волн во взаимных (а — стоячая волна) и невзаимных (б) средах**

Резонансные частоты резонатора с размером  $d$  :

$$v_p = \frac{v_1 v_2}{(v_1 + v_2)d} = \frac{v^2 - u^2}{2vd}$$

При росте скорости среды вплоть до скорости распространения волн ( $u \rightarrow v$ ) резонансная частота  $v_p \rightarrow 0$ , волновой процесс отсутствует (рис. 3).



**Рисунок 3. Зависимость резонансной частоты от скорости стержня ( $\nu/2d = 10^4$ ,  $\varepsilon = 10^{-2}$ )**

Выводы. Интерференция прямых и обратных когерентных волн в невзаимных средах имеет свои особенности. Стоячие волны становятся нестационарными — на распределение поля стоячей волны накладывается волновой процесс, направление которого определяется параметром невзаимности. Колебания соседних точек теряют свойство синфазности. Резонансные частоты зависят от параметра невзаимности среды. Таким образом, введение в резонаторы сред с невзаимными параметрами существенно расширяет возможности резонансных структур в управлении их параметрами и представляет практический интерес.

### Список литературы

1. Горелик Г. С. Колебания и волны. М.: Физматлит, 2008. 656 с.
2. Глущенко А. Г., Захарченко Е. П. Стимулированная прозрачность запредельных структур с активными средами. LAP LAMBERT Academic Publishing, 2011. 186 с.
3. Дубнищев Ю. Н. Колебания и волны. СПб.: Лань, 2011. 384 с.

### **3.4. ФИЗИКА КОНДЕНСИРОВАННОГО СОСТОЯНИЯ**

#### **ТРЕХМЕРНАЯ МОДЕЛЬ АДсорбЦИОННО- ДИФфуЗИОННЫХ ПРОЦЕССОВ С ТРЕМЯ СОСТОЯНИЯМИ**

*Астапков Алексей Александрович*

*аспирант, ЯрГУ им. П. Г. Демидова, г. Ярославль*

*E-mail: [ph4ntom@mail.ru](mailto:ph4ntom@mail.ru)*

*Рудь Николай Алексеевич*

*канд. физ.-мат. наук, доцент ЯрГУ им. П. Г. Демидова, г. Ярославль*

*Морозов Павел Геннадьевич*

*аспирант, Московская авиационная академия, г. Москва*

Структуры с пониженной размерностью проявляют ряд необычных свойств, что связано с особенностями перераспределения энергии в этих структурах. В работе [5] отражено влияние адсорбционных процессов на токопрохождение в пористом кремнии, в частности было обнаружено периодическое изменение динамических характеристик с изменением времени. Адсорбция и десорбция молекул (атомов), способных изменять свое зарядовое состояние, проявляет периодичность развития динамики процесса во времени, подобные автоколебательные эффекты обнаружены при полевой десорбции калия с поверхности, на которой находится смесь адсорбатов калий — золото [1, 2]. Совокупность экспериментальных данных, полученных в различных экспериментах, свидетельствуют о необходимости развития теоретической базы, способной качественно и количественно описать и объяснить их. В реальных экспериментах помимо адсорбционных процессов, проходящих на поверхности твердого тела, в объеме происходят реакционно-диффузионные процессы, для их описания необходима трехмерная модель, которая смогла бы учесть как адсорбционные процессы, происходящие на поверхности, так и реакционно-диффузионные процессы, проходящие в приповерхностных слоях. Однако экспериментов, которые смогли бы качественно показать динамические процессы, проходящие в

приповерхностных слоях, на данный момент не существует. Отсутствие экспериментальных данных создает сложности в построении трехмерной модели адсорбционно-диффузионных процессов. По этой причине в ходе моделирования за основу используются экспериментальные данные, полученные на поверхности твердого тела.

Динамические процессы в активных средах (реакционно-диффузионные процессы в физике, химии) традиционно представляются дифференциальными уравнениями (или системами уравнений) с частными производными вида:

$$\frac{\partial U}{\partial t} = D \frac{\partial^2 U}{\partial x^2} + F(U),$$

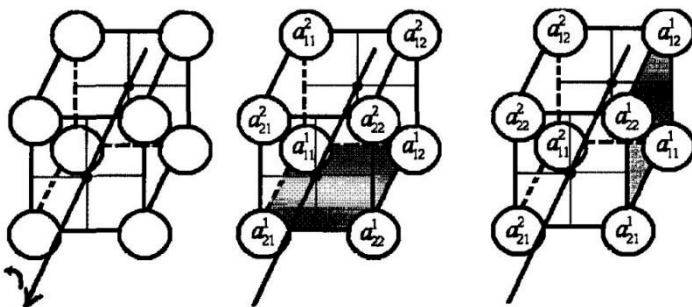
где  $D$  — коэффициент диффузии,  $U$  — функция распределения,  $F(U)$  — дифференцируемая нелинейная функция. Из-за нелинейности реакционной части  $F(U)$  аналитические решения получить крайне сложно, задача усложняется, при переходе к большему количеству частиц, а при переходе к трехмерному пространству задача становится, практически, не решаемой. Численные методы решения либо плохо распараллеливаются, т. е. имеют неявные схемы решений, либо ограничены условиями устойчивости и точности. В свою очередь алгоритмы КА-диффузии подобных ограничений не имеют. Это означает, что подобные задачи можно решать с помощью дискретной модели асинхронного клеточного автомата, рассматривая этот подход как альтернативу классическому описанию динамических процессов. Реакционно-диффузионные процессы есть комбинация диффузионных и реакционных процессов, о которых будет сказано ниже.

Представим моделируемый объем в виде набора монослоев. Каждый монослой представляет собой самостоятельное клеточное множество. Подвергнем клеточное множество разбиению на блоки  $2 \times 2$  двумя различными способами, которые будем называть четным и нечетным. Четное разбиение — это разбиение, в котором элементарные ячейки на главной диагонали блоков имеют четную сумму координат; нечетное — это разбиение, в котором элементарные ячейки на главной диагонали блоков имеют нечетную сумму координат. Каждый из получившихся блоков может совершить поворот вдоль одной из координатных осей на  $\pi/2$ . В случае поставленной задачи оператор перехода  $\Theta$  меняет состояния клеток между собой, разворачивая блоки против или по часовой стрелке вокруг случайной координатной оси. В общем случае на каждой итерации, в каждом блоке, выполняется следующее отображение:



$$\begin{aligned} & \Theta_{3D1} * \Theta_{3D2}: \{rand(1) < P_1\} \\ & * \left\{ \{(A_0^1, [i, j]), (A_1^1, [i, j + 1]), (A_2^1, [i + 1, j + 1]), (A_3^1, [i + 1, j])\} \right\} \\ & * \left\{ \{(A_0^2, [i, j]), (A_1^2, [i, j + 1]), (A_2^2, [i + 1, j + 1]), (A_3^2, [i + 1, j])\} \right\} \Rightarrow \\ & \Rightarrow \left\{ \{(A_0^2, [i, j]), (A_1^1, [i, j + 1]), (A_2^1, [i + 1, j + 1]), (A_3^2, [i + 1, j])\} \right\} \\ & \left\{ \{(A_1^2, [i, j]), (A_2^1, [i, j + 1]), (A_3^1, [i + 1, j + 1]), (A_0^2, [i + 1, j])\} \right\} \end{aligned}$$

где  $rand(1)$  — случайное число (0,1),  $[i, j]$  — имя элементарной ячейки,  $P$  — вероятность, « $\Rightarrow$ » — объединение конфигураций.



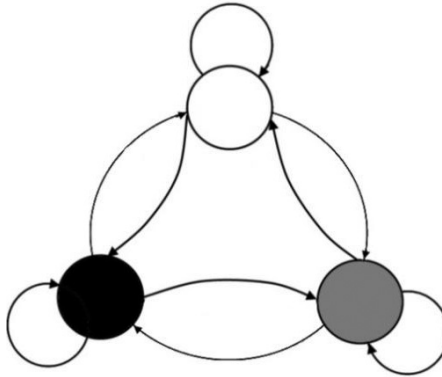
**Рисунок 1. Поворот на  $\pi/2$  по часовой стрелке вокруг координатной оси «x».**

На рис. 1 более наглядно представлен поворот на  $\pi/2$  по часовой стрелке вокруг оси «x».

Представим структуру твердого тела в виде простой кубической сингонии. Связанные с моделью поверхность и объем твердого тела считаются идеальными, это означает, что не учитываются дефекты и неоднородности, отсутствуют дислокации и вакансии. Каждая частица является элементарной ячейкой клеточного автомата (КА) и имеет определенный цвет. Белая клетка — молекула исходного вещества, базы, без адсорбированной молекулы; серая клетка — это молекула исходного вещества, базы, с нейтральной адсорбированной молекулой; черная клетка — молекула исходного вещества с заряженной адсорбированной молекулой. Схема перезарядки состояния элементарной ячейки изображена на рис. 2.

Конечное состояние элементарной ячейки зависит от времен жизни, которое определяет через сколько тактов (итераций) клеточного автомата произойдет перезарядка; вероятности перехода из одного состояния в другое. Так же конечное состояние элементарной ячейки зависит от окружения — 26-ти связной окрестности. Каждая

соседняя клетка находится в одном из трех состояний, в зависимости от этого происходит переход.



**Рисунок 2. Схема перезарядки состояний.**

$A_k(t)$  — состояние  $k$ -ого элемента системы в момент времени  $(t)$ .

$A_k(t+1)$  — состояние  $k$ -ого элемента системы в момент времени  $(t+1)$ .

Каждая элементарная ячейка принимает, как было сказано выше, следующие значения:

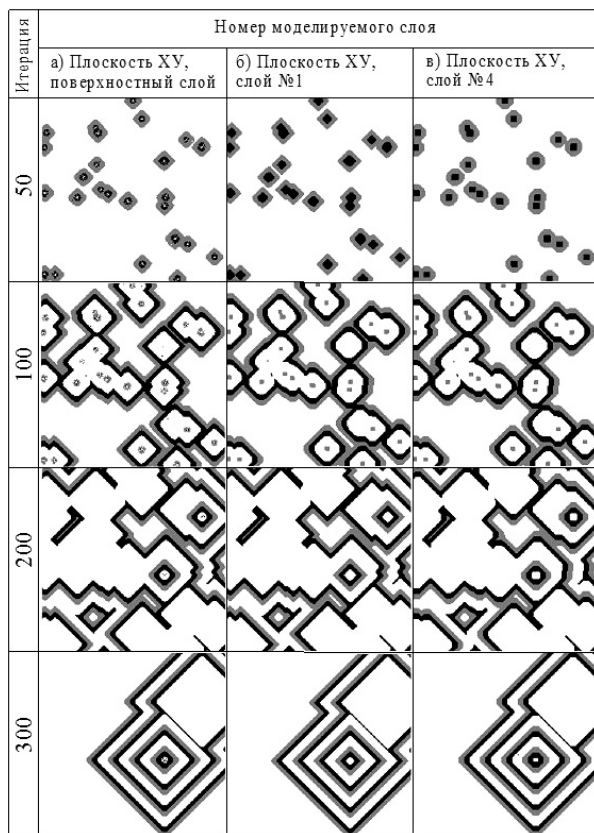
$$A_k(t) = \begin{cases} -1 \\ 0 \\ +1 \end{cases}, \text{ соответственно } A_k(t+1) = \begin{cases} -1 \\ 0 \\ +1 \end{cases}.$$

Состояние, которому присваивается значение «-1» соответствует «белой» элементарной ячейке, «0» соответствует «серой» элементарной ячейке, «+1» соответствует «черной» элементарной ячейке.

Реализация вышеописанного алгоритма позволяет смоделировать обе части уравнений реакционно-диффузионного типа. Обе части алгоритма не разделены, но работают они независимо друг от друга.

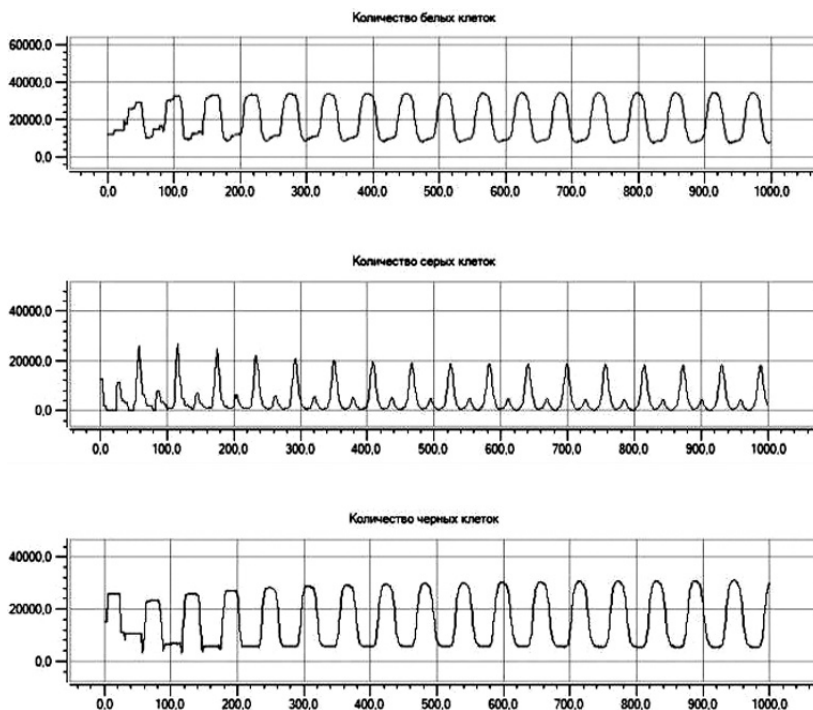
Представим параллелепипед со структурой простой кубической сингонии размером  $200 \times 200 \times 50$  элементарных ячеек, таким образом, обрабатывалось  $2 \times 10^6$  частиц. Адсорбция на поверхность объекта производилась из бесконечного источника, перпендикулярно плоскости «ХУ». Коэффициент диффузии  $D$  изотропный и равный единице. Алгоритм модели произвёл 500 итераций. Заданные времена жизни для элементарных ячеек: для «белой элементарной ячейки» — 10 итераций, для «серой элементарной ячейки» — 5 итераций, для «черной элементарной ячейки» — 5 итераций. Все переходы равновероятны. Условия, для осуществления переходов для «серой элементарной ячейки»

и «черной элементарной ячейки» по 4 и 5 соседей соответствующего цвета. На рис. 3 представлен ряд мгновенных снимков сечений в плоскости «ХУ», отражающих эволюцию системы в различные моменты времени при реализации описанного выше алгоритма. Рис. 3а соответствует поверхностному слою, рис. 3б соответствует приповерхностному слою № 1, рис. 3в соответствует приповерхностному слою №4. На 50 итерации клеточного автомата начинают активно работать несколько ведущих центров, к 100 итерации эти ведущие центры начинают взаимодействовать друг с другом. В результате конкуренции к 200 итерации большая часть ведущих центров либо вырождается, либо поглощается, что приводит к тому, что к 300 итерации из множества ведущих центров остается только один.



*Рисунок 3. Эволюция системы, плоскость ХУ.*

Образовавшиеся ведущие центры в ходе эволюции системы могут вырождаться, быть поглощенными одним из ведущих центров, или продолжать взаимодействие по средствам солитонных волн, в дальнейшем и эти ведущие центры вырождаются и система приходит в начальное состояние, это вырождение является следствием конкуренции нескольких ведущих центров. Подобные мгновенные снимки поверхностных слоев представлены в работах [3, 4], однако они отражают лишь состояние поверхности. Предлагаемая нами модель КА позволяет проводить анализ любого слоя, выбрав необходимую плоскость сечения во взаимно ортогональных направлениях.



**Рисунок 4. Зависимости числа клеток различных цветов от времени для слоя №4.**

Выбирая необходимый слой, можно наблюдать за качественной и количественной картиной динамических процессов. Так на рис. 4 представлены зависимости числа клеток различных цветов от времени для четвертого слоя. Подобные измерения невозможно снять

в реальном эксперименте, но наша модель КА позволяет производить замеры по любому монослою в любой из трех ортогональных плоскостях. Пересчет зависимостей по всему объему позволяет произвести сравнения с экспериментальными данными. Переход из одного состояния в другое определяется временем жизни ячейки, вероятностью перехода из одного состояния в другое и соседями, находящимися в определенном состоянии, достаточном для осуществления перехода. Применение подобной модели позволяет наблюдать динамические процессы как на поверхности, так и в приповерхностных слоях.

Реализация описанного выше достаточно простого алгоритма приводит к большому числу разнообразных динамических режимов. Таким образом, при переходе от хаоса к синхронизации система проходит стадию локальной синхронизации ведущих центров. Это означает, что возникают ведущие центры с определенными частотами колебаний, и дальнейшее развитие системы является результатом конкуренции этих ведущих центров с последующим поглощением, вырождением или переходом в режим испускания автоволн. Несмотря на простоту алгоритма, он очень требователен к вычислительным мощностям, что вызывает массу трудностей в реализации и накладывает искусственные ограничения.

### **Список литературы:**

1. Бернацкий Д. П., Павлов В. Г. Автоколебательные эффекты при полевой десорбции щелочных металлов // Письма в ЖТФ. — 2000. — Т. 26, № 6. — С. 22-26.
2. Бернацкий Д. П., Павлов В. Г. Полевая десорбция пленки калий-золото на вольфраме // ФТТ. — 2004. — Т. 46, № 8. — С. 1494—1497.
3. Каплий С. А., Проказников А. В., Рудь Н. А. Дискретная модель адсорбции с конечным числом состояний // ЖТФ. — 2005.— Т. 75, № 12. — С. 1—9.
4. Каплий С. А., Проказников А. В., Рудь Н. А. Дискретная модель адсорбции с тремя состояниями // Письма в ЖТФ. — 2004. — Т. 30, № 14. — С. 46—52.
5. Лаптев А. Н., Проказников А. В., Рудь Н. А. Автоколебательные процессы в сенсорных структурах на основе низкоразмерных систем // Микро-системная техника. — 2002. — № 6. — С. 31—40.

**«АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ .  
БИОЛОГИИ, ХИМИИ, ФИЗИКИ»**

Материалы международной заочной научно-практической  
конференции

27 декабря 2011 г.

В авторской редакции

Подписано в печать 10.01.12. Формат бумаги 60x84/16.  
Бумага офсет №1. Гарнитура Times. Печать цифровая.  
Усл. печ. л. 11,375. Тираж 550 экз.

Издательство «ЭКОР-книга»  
630004, г. Новосибирск, ул. Вокзальная магистраль, 8б  
E-mail: ecor@ecor-kniga.ru

Отпечатано в полном соответствии с качеством предоставленного  
оригинал-макета в типографии «Априори»  
630099, г. Новосибирск, ул. Романова, 28