

ISSN 1816-9775 (Print)
ISSN 2541-8971 (Online)

ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

Новая серия

Серия: Химия. Биология. Экология

2024

Том 24

Выпуск 2



IZVESTIYA OF SARATOV UNIVERSITY
CHEMISTRY. BIOLOGY. ECOLOGY



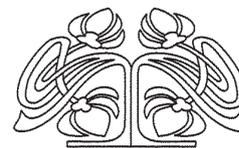
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского»

ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

Новая серия

Серия Химия. Биология. Экология, выпуск 2

Продолжение «Известий Императорского Николаевского Университета» 1910–1918, «Ученых записок СГУ» 1923–1962,
«Известий Саратовского университета. Новая серия» 2001–2004



Научный журнал
2024 Том 24

ISSN 1816-9775 (Print)

ISSN 2541-8971 (Online)

Издается с 2005 года

СОДЕРЖАНИЕ

Научный отдел

Химия

Арязмова Е. М., Егорова А. Ю. Тионирование 4-((4-оксо-4Н-хромен-3-ил)метил)-2-фенилоксазол-5(4Н)-она с применением реагента LAWESSON'S 122

Ляпун Д. В., Кружилин А. А., Шихалиев Х. С. Синтез производных класса 2-алкил-5-фенил-4,5,6,7-тетрагидро-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиримидин-7-ола 129

Емельянов О. Э., Амелин В. Г., Третьяков А. В. Неразрушающий контроль нестероидных противовоспалительных средств методом ИК-спектроскопии в ближней области 135

Бурчаков А. В., Гаркушин И. К., Дворянова Е. М., Емельянова У. А., Замалдинова А. И., Чугунова М. В. Описание и исследование химического взаимодействия в системе $Li^+, Na^+ || F^-, Cl^-, Br^-$ 144

Байбурдов Т. А., Шмаков С. Л. Прививочная полимеризация акриловых мономеров на полиэтиленовую поверхность (обзор) 153

Биология

Абальмов А. А., Ломова М. В., Новоселова М. В., Горин Д. А. Оценка накопления полимерных субмикронных микрокапсул в клеточном и межклеточном пространствах 3D сфероидов 163

Шилова И. В. О распространении *Allium caeruleum* и *A. regelianum* (Alliaceae Borkh.) на территории Саратовской области 172

Гуторова О. В., Зайцев С. А., Шахгелдян Э. С. Комбинационная способность новых дигаметных линий кукурузы в условиях Правобережья Саратовской области 177

Кузнецова В. А., Каневский М. В., Глинская Е. В., Глуховской Е. Г. Формирование монослоев Ленгмюра из нативных фосфолипидов бактерий различных систематических групп 184

Тучина Е. С., Каневский М. В., Эль-Хих Айя Нидаль, Сливина Ю. И. Динамика формирования у *Staphylococcus aureus* толерантности к фиолетовому (405 нм) светодиодному излучению при многократном воздействии 196

Мартыненко А. В., Караваева О. А., Фомин А. С., Гулий О. И. Оптимизация технологии фагового дисплея для получения антител, специфичных к тетрациклину 202

Экология

Anikin V. V. A new host plant for *Cameraria ohridella* Deschka & Dimić, 1986 (Lepidoptera: Gracillariidae) in Volga Region [Аникин В. В. Новое кормовое растение для *Cameraria ohridella* Deschka & Dimić, 1986 (Lepidoptera: Gracillariidae) в Поволжском регионе] 208

Сарбаева Е. В. Оценка экосистемных услуг зеленых насаждений г. Йошкар-Олы 214

Соболева В. А., Голуб В. Б. Динамика численности клопов-щитников родов *Aelia* и *Neottiglossa* (Heteroptera, Pentatomidae) на зарастающих гарях Усманского бора (Воронежская область) 225

Алаева Л. А., Негрובה Е. А., Девятова Т. А., Негрובה С. В. Структура системы действующих и проблемы функционирования будущих особо охраняемых природных территорий Воронежской области 231

Журнал «Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия «Химия. Биология. Экология» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций.

Запись о регистрации СМИ ПИ № ФС77-76649 от 26 августа 2019 г. Учредитель: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского»

Журнал включен в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (категория К2, специальность: 1.4.2; 1.4.3; 1.4.4; 1.5.2; 1.5.9; 1.5.12; 1.5.14; 1.5.15).

Журнал входит в Международную базу данных DOAJ

Подписной индекс издания 36013. Подписку на печатные издания можно оформить в интернет-каталоге ГК «Урал-Пресс» (ural-press.ru). Журнал выходит 4 раза в год. Цена свободная. Электронная версия находится в открытом доступе (ichbe.sgu.ru)

Директор издательства

Бучко Ирина Юрьевна

Редактор

Митенева Елена Анатольевна

Редактор-стилист

Агафонов Андрей Петрович

Верстка

Пермяков Алексей Сергеевич

Технический редактор

Каргин Игорь Анатольевич

Корректор

Трубникова Татьяна Александровна

В оформлении издания использованы работы художника Соколова Дмитрия Валерьевича (13.11.1940–20.11.2023)

Адрес учредителя, издателя и издательства (редакции):

410012, Саратов, ул. Астраханская, 83
Тел.: +7(845-2)51-29-94, 51-45-49, 52-26-89
E-mail: publ@sgu.ru, izdat@sgu.ru

Подписано в печать 22.05.2024.

Подписано в свет 31.05.2024.

Формат 60 × 84 1/8.

Усл. печ. л. 13,72 (14,75).

Тираж 100 экз. Заказ 61-Т

Отпечатано в типографии Саратовского университета.

Адрес типографии:

410012, Саратов, Б. Казачья, 112А

© Саратовский университет, 2024



ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Журнал публикует научные статьи по аналитической химии, органической химии, физической химии, биофизике (биологические науки), ботанике, зоологии, экологии, (по отраслям) (биологические науки), энтомологии.

Объем публикуемой статьи не должен превышать 16 страниц в формате MS Word для Windows.

Статья должна быть оформлена строго в соответствии с требованиями журнала и тщательно отредактирована.

Для публикации статьи автору необходимо представить в редакцию следующие материалы и документы:

- текст статьи в электронном виде;
- два экземпляра подписанного Лицензионного договора на право использования научного произведения.

Структура подачи материала:

- на русском языке: индекс УДК, название статьи, имена, отчества и фамилии авторов, сведения об авторах (ученая степень, должность, место работы/учебы (структурное подразделение, организация, почтовый адрес), город, страна, e-mail), аннотация, ключевые слова, текст статьи, благодарности и источники финансирования работы (если есть), список литературы;

- на английском языке: название статьи, имена (полностью), отчества и фамилии авторов, сведения об авторах (ORCID, место работы/учебы (организация, почтовый адрес организации), e-mail); аннотация, ключевые слова, благодарности и источники финансирования работы (если есть).

Требования к аннотации и библиографическому списку:

- аннотация не должна содержать сложных формул, ссылок на список литературы, по содержанию повторять название статьи, быть насыщена общими словами, не излагающими сути исследования; оптимальный объем 150–200 слов;

- в списке литературы должны быть указаны только процитированные в статье работы; ссылки на неопубликованные работы не допускаются.

Образцы оформления различных источников приведены в правилах для авторов по адресу: <https://www.ichbe.sgu.ru/ru/ru/dlya-avtorov>.

Датой поступления статьи считается дата поступления ее окончательного варианта. Возвращенная на доработку статья должна быть прислана в редакцию не позднее чем через 3 месяца. Возвращение статьи на доработку не означает, что статья будет опубликована, после переработки она вновь будет рецензироваться. Материалы, отклоненные редколлегией, не возвращаются.

Адреса для переписки с редколлегией серии: ichbe-sgu@yandex.ru; 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83, биологический факультет, ответственному секретарю журнала «Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология». Website: <https://ichbe.sgu.ru>

CONTENTS

Scientific Part

Chemistry

Arzyamova E. M., Egorova A. Yu. Thionation of 4-((4-oxo-4H-chromen-3-yl)methylene)-2-phenyloxazol-5(4H)-one using the LAWESSON'S reagent 122

Lyapun D. V., Kruzhilin A. A., Shikhaliev Kh. S. Synthesis of 2-alkyl-5-phenyl-4,5,6,7-tetrahydro-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-ol derivatives 129

Emelyanov O. E., Amelin V. G., Tretyakov A. V. Non-destructive testing of non-steroidal anti-inflammatory drugs using near-field infrared spectroscopy method 135

Burchakov A. V., Garkushin I. K., Dvoryanova E. M., Emelyanova U. A., Zamaldinova A. I., Chugunova M. V. Description and investigation of chemical interaction in the Li⁺, Na⁺ | F⁻, Cl⁻, Br⁻ system 144

Bayburdov T. A., Shmakov S. L. Grafting of acrylic monomers onto polyethylene surface (review) 153

Biology

Abalymov A. A., Lomova M. V., Novoselova M. V., Gorin D. A. Evaluation of polymeric submicron microcapsule accumulation in cellular and intercellular space of 3D spheroids 163

Shilova I. V. On the distribution of *Allium caeruleum* and *A. regelianum* (Alliaceae Borkh.) in the territory of the Saratov region 172

Gutorova O. V., Zaitsev S. A., Shahgeldyan E. S. Combination ability of new dihaploid corn lines in the conditions of the Right Bank of the Saratov region 177

Kuznetsova V. A., Kanevsky M. V., Glinskaya E. V., Glukhovskoy E. G. Formation of Langmuir monolayers from native phospholipids of bacteria of various systematic groups 184

Tuchina E. S., Kanevsky M. V., El-Khih Ayya Nidal, Slivina Yu. I. Dynamics of formation of tolerance to blue (405 nm) led radiation in *Staphylococcus aureus* upon repeated exposure 196

Martynenko A. V., Karavaeva O. A., Fomin A. S., Guliy O. I. Optimization of phage display technology for obtaining antibodies specific to tetracycline 202

Ecology

Anikin V. V. A new host plant for *Cameraria ohridella* Deschka & Dimić, 1986 (Lepidoptera: Gracillariidae) in Volga region 208

Sarbaeva E. V. Assessment of ecosystem services of green spaces in Yoshkar-Ola 214

Soboleva V. A., Golub V. B. Dynamics of the populations of stink bugs of the genera *Aelia* and *Neottiglossa* (Heteroptera, Pentatomidae) in overgrown with vegetation burnt areas of the Usman Forest (Voronezh region) 225

Alaeva L. A., Negrobova E. A., Deviatova T. A., Negrobova S. V. The structure of the existing system and the problems of functioning of the future specially protected natural territories of the Voronezh region 231



**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ ЖУРНАЛА
«ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА. НОВАЯ СЕРИЯ. СЕРИЯ:
ХИМИЯ. БИОЛОГИЯ. ЭКОЛОГИЯ»**

Главный редактор

Горячева Ирина Юрьевна, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия)

Заместитель главного редактора

Коннова Светлана Анатольевна, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Ответственный секретарь

Глинская Елена Владимировна, кандидат биологических наук, доцент (Саратов, Россия)

Члены редакционной коллегии:

Аникин Василий Викторович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Берберова Надежда Титовна, доктор химических наук, профессор (Астрахань, Россия)

Богатырев Владимир Александрович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Гаркушин Иван Кириллович, доктор химических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, действительный член РАЕН (Самара, Россия)

Горбунов Олег Григорьевич, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник (Москва, Россия)

Гулий Ольга Ивановна, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник (Саратов, Россия)

Дубатолов Владимир Викторович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник (Новосибирск, Россия)

Дыкман Лев Абрамович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник (Саратов, Россия)

Егорова Алевтина Юрьевна, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия),

Ерошенко Галина Александровна, доктор биологических наук, старший научный сотрудник (Саратов, Россия)

Захаров Владимир Михайлович, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН (Москва, Россия)

Кашин Александр Степанович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Кулагин Алексей Юрьевич, доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки Республики Башкортостан, академик РАЕН (Уфа, Россия)

Кулиш Елена Ивановна, доктор химических наук, доцент (Уфа, Россия)

Ларионова Дарья Анатольевна, кандидат химических наук (Гент, Бельгия)

Максимов Георгий Владимирович, доктор биологических наук, профессор (Москва, Россия)

Мисра Прадумна Кумар, PhD (Бхопал, Индия)

Монахова Юлия Борисовна, доктор химических наук (Аахен, Германия)

Мостовский Михаил Борисович, доктор биологических наук (Тель-Авив, Израиль; Питермарицбург, ЮАР)

Опарин Михаил Львович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Позднякова Наталия Николаевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник (Саратов, Россия)

Ревин Виктор Васильевич, доктор биологических наук, профессор (Саранск, Россия)

Шанцер Иван Алексеевич, доктор биологических наук, главный научный сотрудник (Москва, Россия)

Шиповская Анна Борисовна, доктор химических наук, доцент (Саратов, Россия)

Шихалиев Хидмет Сафарович, доктор химических наук, профессор (Воронеж, Россия)

Штыков Сергей Николаевич, доктор химических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, действительный член РАЕН (Саратов, Россия)

Щеголев Сергей Юрьевич, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия),

Юдакова Ольга Ивановна, доктор биологических наук, доцент (Саратов, Россия)

**EDITORIAL BOARD OF THE JOURNAL
"IZVESTIYA OF SARATOV UNIVERSITY.
CHEMISTRY. BIOLOGY. ECOLOGY"**

Editor-in-Chief – Irina Yu. Goryacheva (Saratov, Russia)

Deputy Editor-in-Chief – Svetlana A. Konnova (Saratov, Russia)

Executive Secretary – Elena V. Glinskay (Saratov, Russia)

Members of the Editorial Board:

Vasilii V. Anikin (Saratov, Russia)

Nadezhda T. Berberova (Astrakhan, Russia)

Vladimir A. Bogatyrev (Saratov, Russia)

Ivan K. Garkushin (Samara, Russia)

Oleg G. Gorbunov (Moscow, Russia)

Olga I. Guliy (Saratov, Russia)

Vladimir V. Dubatolov (Novosibirsk, Russia)

Lev A. Dykman (Saratov, Russia)

Alevtina Yu. Egorova (Saratov, Russia)

Galina A. Eroshenko (Saratov, Russia)

Alexandr S. Kashin (Saratov, Russia)

Alexey Yu. Kulagin (Ufa, Russia)

Elena I. Kulish (Ufa, Russia)

Dariya A. Larionova (Ghent, Belgium)

Georgiy V. Maksimov (Moscow, Russia)

Pradyumna Kumar Mishra (Bhopal, India)

Yuliya B. Monakhova (Aachen, Germany)

Mikhail B. Mostovski (Tel Aviv, Israel;

Pietermaritzburg, South African Republic)

Michail L. Oparin (Saratov, Russia)

Natalia N. Pozdnyakova (Saratov, Russia)

Viktor V. Revin (Saransk, Russia)

Ivan A. Shanzer (Moscow, Russia)

Anna B. Shipovskaya (Saratov, Russia)

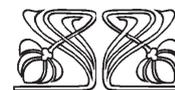
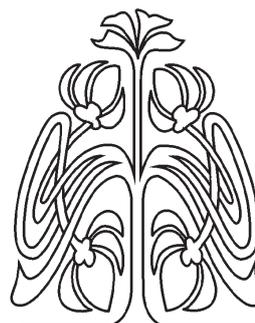
Khidmet S. Shikhaliev (Voronezh, Russia)

Sergey N. Shtykov (Saratov, Russia)

Sergey Ju. Shchyogolev (Saratov, Russia)

Olga I. Yudakova (Saratov, Russia)

Vladimir M. Zakharov (Moscow, Russia)

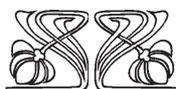
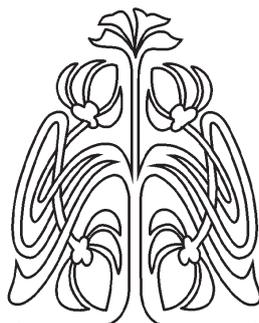


**РЕДАКЦИОННАЯ
КОЛЛЕГИЯ**

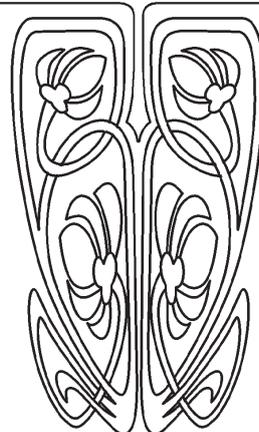




ХИМИЯ



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 122–128
Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 122–128
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-122-128>
EDN: PUTOIP

Научная статья
УДК 547.787.1:547.814.1

Тионирование 4-((4-оксо-4Н-хромен-3-ил)метил)-2-фенилоксазол-5(4Н)-она с применением реагента LAWESSON'S

Е. М. Арязмова[✉], А. Ю. Егорова

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Арязмова Екатерина Михайловна, ассистент кафедры органической и биоорганической химии Института химии, katerina285@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2078-4151>

Егорова Алевтина Юрьевна, доктор химических наук, профессор кафедры органической и биоорганической химии Института химии, yegorovaay@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4368-0021>

Аннотация. Анализ периодической печати показал, что сведений о поведении гибридных гетероциклических систем, содержащих несколько фармакофорных фрагментов, на основе оксазол-5(4Н)-онов и хромен-4(4Н)-онов в реакции с тионирующими реагентами в различных условиях не имеется. Впервые изучено взаимодействие 4-((4-оксо-4Н-хромен-3-ил)метил)-2-фенилоксазол-5(4Н)-она с реагентом Лавессона (LR) (2,4-бис-[п-метоксифенил]-1,3-дифосфетан-2,4- дисульфид) в условиях термической активации реакционной смеси и при использовании реактора закрытого типа в среде неполярных растворителей. Реагент Лавессона использован в качестве мягкого тионирующего агента. Обсуждена схема проведенного взаимодействия. Первоначально предполагается диссоциация молекулы реагента Лавессона (LR) на частицы иллидного строения, далее происходит взаимодействие с карбонильной группой хромен-4-онового фрагмента исходного субстрата, в результате образуется спироциклический интермедиат, при последующем разложении которого образуется конечный продукт. Установлено, что использование реактора закрытого типа позволяет сокращать время протекания превращения, добиваться повышения выхода целевого продукта по сравнению с обычным типом активации реакционной смеси. Показано, что в выбранных условиях превращение протекает с сохранением оксазол-5(4Н)-онового кольца. Состав и строение полученного соединения установлены на основании комплексных данных элементного анализа, ИК-, ЯМР-спектроскопии.
Ключевые слова: оксазол-5(4Н)-оны, хромен-4(4Н)-оны, тиопроизводные хроменилоксазолы, физико-химические методы, реактор герметичных сосудов, гибридные структуры, спектроскопия, реагент Lawesson's (LR)

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия инноваций (договор № 18695ГУ/2023).

Для цитирования: Арязмова Е. М., Егорова А. Ю. Тионирование 4-((4-оксо-4Н-хромен-3-ил)метил)-2-фенилоксазол-5(4Н)-она с применением реагента LAWESSON'S // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 122–128. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-122-128>, EDN: PUTOIP

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)



Article

Thionation of 4-((4-oxo-4H-chromen-3-yl)methylene)-2-phenyloxazol-5(4H)-one using the LAWESSON'S reagent

E. M. Arzhamova , A. Yu. Egorova

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Ekaterina M. Arzhamova, katerina285@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2078-4151>

Alevtina Yu. Egorova, yegorovaay@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4368-0021>

Abstract. Analysis of periodicals has showed that there is no information on the behavior of hybrid heterocyclic systems containing several pharmacophore fragments based on oxazol-5(4H)-ones and chromen-4(4H)-ones in reactions with thionizing reagents under various conditions. The interaction of 4-((4-oxo-4H-chromen-3-yl)methylene)-2-phenyloxazol-5(4H)-one with Lawesson's reagent (LR) (2,4-bis-[p-methoxyphenyl]) has been studied for the first time – 1,3-dithiaphosphetane-2,4-disulfide) under conditions of thermal activation of the reaction mixture and the use of a closed reactor in the environment of non-polar solvents. Lawesson's reagent is used as a mild thionation agent. The scheme of the interaction has been discussed. Initially, it is assumed that the Lawesson reagent (LR) molecule dissociates into the particles of ylide structure, then the interaction with the carbonyl group of the chromen-4-one fragment of the initial substrate takes place, resulting in the formation of a spirocyclic intermediate, the subsequent decomposition of which produces the final product. It has been established that the use of a closed reactor makes it possible to reduce the transformation time and achieve an increase in the yield of the target product compared to the conventional type of activation of the reaction mixture. It has been shown that under the chosen conditions the transformation proceeds with the preservation of the oxazol-5(4H)-one ring. The composition and structure of the resulting compound have been established on the basis of complex data from elemental analysis, IR and NMR spectroscopy.

Keywords: oxazol-5(4H)-ones, chromen-4(4H)-ones, chromenyloxazolone thio derivatives, physicochemical methods, pressurized vessel reactor, hybrid structures, spectroscopy, Lawesson's reagent (LR)

Acknowledgements. This work received financial support from the Foundation for Assistance to Small Innovative Enterprises (FASIE) (contract No. 18695GU/2023).

For citation: Arzhamova E. M., Egorova A. Yu. Thionation of 4-((4-oxo-4H-chromen-3-yl)methylene)-2-phenyloxazol-5(4H)-one using the LAWESSON'S reagent. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 122–128 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-122-128>, EDN: PUTOIP

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Одним из современных подходов к поиску биологически активных препаратов является создание гибридных молекул, включающих несколько фармакофорных фрагментов и групп с разнообразными комбинациями гетероатомов [1–3]. В качестве многообещающих кандидатов, на основе которых могут быть получены подобные гибридные структуры, выступают оксазол-5-оны и хромен-4-оны.

Цикл оксазол-5-она является перспективным билдинг-блоком для получения веществ с широким спектром биологического действия, входя в структуру соединений, обладающих противоопухолевой, антимикробной, антибактериальной и другими видами активности [4–6]. 4Н-хромен-4-оновый фрагмент входит в структуру таких соединений, которые обладают противовирусной, цитотоксической, антибактериальной активностью [7–9].

Сочетание в молекуле структурных фрагментов оксазол-5-она и дополнительного фармакофорного гетероцикла является перспективным вариантом для получения новых биологически активных соединений.

Превращение карбонильной группы в тиокарбонильную группу может значительно изменить физические, химические и биологические свойства органических соединений [10]. Тиокарбонильная группа широко представлена в большом количестве органических соединений. Тиоаналоги лактонов, сложных эфиров и кетонов являются важными биологическими молекулами и широко используются в медицине в качестве терапевтических средств с широким спектром биологической активности [11]. Наличие в одной гибридной молекуле трех различных гетероатомов – азота, кислорода и серы, позволит значительно увеличить потенциал биологического действия подобных структур.

Таким образом, целью данной работы является изучение поведения 4-((4-оксо-4Н-хромен-3-ил)метилена)-2-фенилоксазол-5(4Н)-она в реакции с селективным тионирующим реагентом Lawesson's (LR).

Материалы и методы

Элементный анализ проводился на CHNS анализаторе Elementar Vario Micro cube (Elementar Analysensysteme GmbH, Германия). ИК-спектры



снимали на ИК-фурье-спектрометре Nicolet 6700 (Thermo Scientific, США) в таблетках KBr. Спектры ЯМР ^1H (400 МГц) и ^{13}C (100 МГц) регистрировались на спектрометре Varian 400 (Varian (Agilent), США) в CDCl_3 , внутренний стандарт – ТМС. Однородность соединений подтверждали методом ТСХ на пластинках Alugram® Sil G UV254 (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Германия), элюент – этилацетат–гексан–ацетон (1:3:1); проявляли в УФ (длина волны 254, 365 нм).

Z-4-((4-Оксо-4Н-хромен-3-ил)метилден)-2-фенилоксазол-5(4Н)-он (**3**) получен по известной методике [12]. ИК-спектр (KBr) ν , cm^{-1} : 1793 (O=C=O), 1649 (C=O), 1613 (C=N), 1562 (C=C). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 9.73 (с, 1H, $\text{CH}_{\text{хромон}}$), 8.32 (д, 1H, $\text{H}_{\text{аром}}$), 8.17 (д, 2H, $\text{H}_{\text{аром}}$), 7.76 (с, 1H, $\text{CH}_{\text{экз}}$), 7.46–7.74 (м, 6H, $\text{H}_{\text{аром}}$). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 174.95 (C=O $_{\text{хромон}}$), 166.01 (O=C=O), 164.07, 161.16, 155.87, 134.44, 133.61, 133.18, 131.31, 129.13, 128.46, 126.64, 126.14, 126.05, 125.35, 123.80, 121.49, 119.30, 118.33.

2-Фенил-4-((4-тиоксо-4Н-хромен-3-ил)метилден)оксазол-5(4Н)-он (**5**)

Метод А. В коническую колбу объемом 50 мл, снабженную воздушным холодильником, помещают 10 мл абсолютизированного толуола (бензола), 0,1 г (0,3 ммоль) 4-((4-оксо-4Н-хромен-3-ил)метилден)-2-фенилоксазол-5(4Н)-она (**3**), 0,12 г (0,3 ммоль) реагента Лавессона (LR) (**4**). Реакционную смесь нагревают при постоянном перемешивании. Выпавшие оранжевые кристаллы 2-фенил-4-((4-тиоксо-4Н-хромен-3-ил)метилден)оксазол-5(4Н)-она (**5**) отфильтровывают, перекристаллизовывают из толуола (бензола), сушат.

Метод Б. Смесь 0,3 ммоль 4-((4-оксо-4Н-хромен-3-ил)метилден)-2-фенилоксазол-5(4Н)-она (**3**), 0,3 ммоль реагента Лавессона (LR) (**4**) помещают в виалу, добавляют 4 мл абсолютизированного толуола (бензола) и подвергают нагреванию с помощью реактора герметичных сосудов при температуре 90°C. Полученные оранжевые кристаллы 2-фенил-4-((4-тиоксо-4Н-хромен-3-ил)метилден)оксазол-5(4Н)-она (**5**) отфильтровывают, перекристаллизовывают из толуола (бензола), сушат.

Метод А: выход 0.04 г (40%) (толуол), выход 0.03 г (30%) (бензол).

Метод Б: выход 0.08 г (80%) (толуол), выход 0.07 г (70%) (бензол), оранжевые кристаллы, $T_{\text{пл}}$ 225–227°C. ИК-спектр (KBr) ν , cm^{-1} : 1746 (O=C=O), 1634 (C=N), 1612 (C=C), 1071 (C=S). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 10.45 (с, 1H, $\text{CH}_{\text{хромон}}$), 8.70 (с, 1H, $\text{CH}_{\text{экз}}$), 7.96 (д, 2H, $\text{H}_{\text{аром}}$), 7.33–7.57 (м, 6H, $\text{H}_{\text{аром}}$), 6.89 (д, 1H, $\text{H}_{\text{аром}}$). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 191.40 (C=S), 165.70 (O=C=O), 164.10, 161.19, 155.88, 134.24, 133.60, 133.19, 132.54, 129.05, 128.97, 127.32, 126.06, 125.37, 123.81, 121.43, 119.28, 118.30. $\text{C}_{19}\text{H}_{11}\text{NO}_3\text{S}$. Вычислено: С 68.46%, Н 3.33%, N 4.20%, S 9.62%. Найдено: С 68.52%, Н 3.28%, N 4.31%, S 9.70%.

Результаты и их обсуждение

Ранее нами были разработаны и описаны методы и условия синтеза 5-*R*-3-арилметилден-3Н-фуран-2-тионов на основе двухкомпонентной реакции арилметилденных производных фуран-2-она с селективно тионирующим реагентом Лавессона. На основе совокупности данных ЯМР спектроскопии было установлено строение 5-*R*-3-арилметилден-3Н-фуран-2-тионов, а также исключалась реализация альтернативных направлений реакции [13].

С целью расширения методов конструирования сложных гибридных гетероциклов, содержащих в своем составе несколько билдинг-блоков с разнообразными комбинациями гетероатомов, которые могут применяться в качестве предшественников ветеринарных препаратов и препаратов медицинского назначения, нами в реакцию тионирования введен изоструктурный аналог фуран-2(3Н)-она – 4-((4-оксо-4Н-хромен-3-ил)метилден)-2-фенилоксазол-5(4Н)-он.

Z-4-((4-Оксо-4Н-хромен-3-ил)метилден)-2-фенилоксазол-5(4Н)-он (**3**) получен по классической методике, взаимодействием гиппуровой кислоты (**1**) с 4-оксо-4Н-хромен-3-карбальдегидом (**2**) в присутствии пропионового ангидрида и ацетата натрия (рис. 1) с выходом 85% [12].

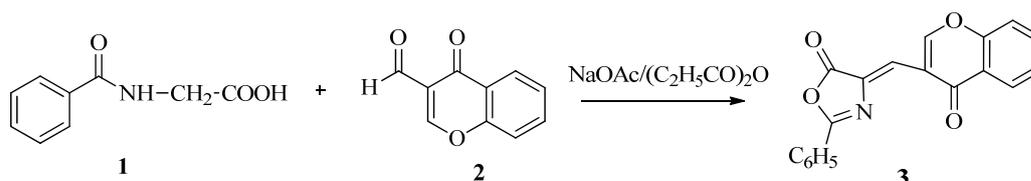


Рис. 1. Синтез 4-((4-Оксо-4Н-хромен-3-ил)метилден)-2-фенилоксазол-5(4Н)-она **3**
Fig. 1. Synthesis of 4-((4-Oxo-4H-chromen-3-yl)methylene)-2-phenyloxazol-5(4H)-one **3**



Нами разработан оптимальный способ получения гибридной гетероциклической системы **5**, основанный на реакции эквимольных количеств 4-((4-оксо-4Н-хромен-3-ил)метил)ен-2-фенилоксазол-5(4Н)-она (**3**) с реагентом Лавессона (LR) (**4**) в абсолютизированном толуоле (бензоле) при термической активации реакционной смеси и использова-

нии реактора закрытого типа с различными выходами (таблица). Использование реагента Лавессона (LR) в качестве сульфидирующего агента обусловлено его высокой растворимостью в органических растворителях, что в результате позволяет достичь существенного увеличения выхода продукта реакции (рис. 2).

Условия синтеза 2-фенил-4-((4-тиоксо-4Н-хромен-3-ил)метил)ен)оксазол-5(4Н)-она

Table. Conditions for the synthesis of 2-phenyl-4-((4-thioxo-4H-chromen-3-yl)methylene)oxazol-5(4H)-one

Опыт / Entry	Растворитель / Solvent	Условия / Conditions	Давление, бар / Pressure, bar	Время, мин / Time, min	Выход, % / Yield, %
1	Толуол / Toluene	Реактор / Reactor	3	15	80
2	Толуол / Toluene	Δ	1	60	40
3	Бензол / Benzene	Реактор / Reactor	3	45	70
4	Бензол / Benzene	Δ	1	180	30

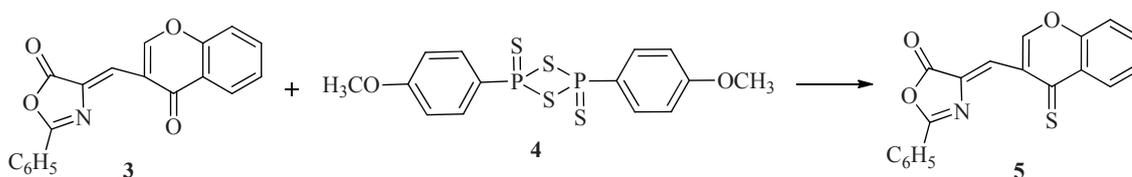


Рис. 2. Синтез 2-фенил-4-((4-тиоксо-4Н-хромен-3-ил)метил)ен)оксазол-5(4Н)-она **5**
Fig. 2. Synthesis of 2-phenyl-4-((4-thioxo-4H-chromen-3-yl)methylene)oxazol-5(4H)-one **5**

При проведении взаимодействия в классических условиях при использовании бензола в качестве растворителя, время реакции максимально. Последующие попытки сократить время превращения и повысить выход целевого продукта достигались с применением реактора герметичных сосудов. Использование реактора позволило увеличить выход продукта в 2 раза, а также значительно повысить эффективность взаимодействия, что выражается в существенном уменьшении времени реакции по сравнению с классическими условиями (см. таблицу).

Строение 2-фенил-4-((4-тиоксо-4Н-хромен-3-ил)метил)ен)оксазол-5(4Н)-она (**5**) установлено комплексными данными элементного анализа, ИК- и ЯМР-спектроскопии. В ИК-спектре ключевыми полосами поглощения являются полоса поглощения лактонного карбонила (1746 см⁻¹) и тиокарбонильной функции (1071 см⁻¹). Основными сигналами в ЯМР ¹H спектре гибридной структуры **5**, зарегистрированного в CDCl₃, являются синглет протона хромен-4-онового фрагмента при 10.45 м.д. и синглет винилового

протона экзоциклической связи при 8.70 м.д. В слабopольной области спектра ЯМР ¹³C соединения **5** зарегистрированы сигналы лактонного атома углерода при 165.70 м.д. и тиокарбонильного атома углерода хромен-4-онового фрагмента при 191.40 м.д.

Схему процесса можно представить следующим образом, первоначально предполагается диссоциация молекулы «димера» реагента Лавессона (LR) (**4**) на две частицы илидного строения MeO-C₆H₄-P⁺(S)S⁻ – дисульфида (4-метоксифенил)фосфина **6**, далее происходит взаимодействие частицы **6** с карбонильной группой хромен-4-онового фрагмента 4-((4-оксо-4Н-хромен-3-ил)метил)ен-2-фенилоксазол-5(4Н)-она (**3**), в результате чего образуется соответствующий спироциклический интермедиат **7**. При последующем разложении последнего образуется продукт **5** (рис. 3).

Наличие нескольких реакционных центров в молекуле исходного соединения **3** дает возможность предположить образование разнообразных продуктов реакций (рис. 4).

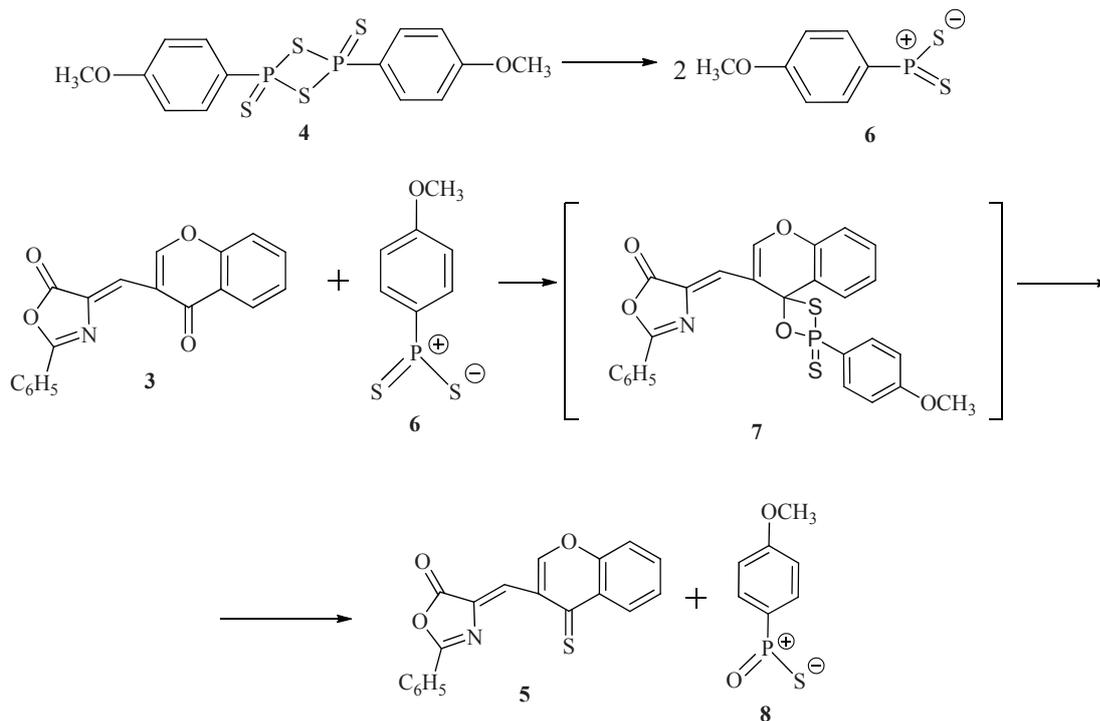


Рис. 3. Схема образования целевой гибридной системы 5

Fig. 3. Scheme of formation of the target hybrid system 5

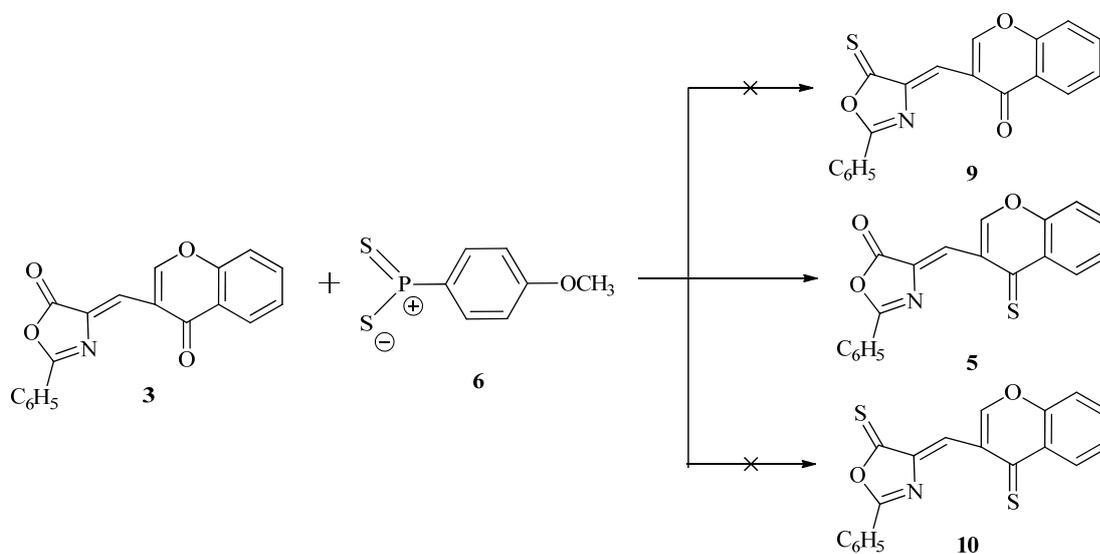


Рис. 4. Возможные продукты реакции тионирования 4-((4-оксо-4H-хромен-3-ил)метилена)-2-фенилоксазол-5(4H)-она 3

Fig. 4. Possible products of the thionation reaction of 4-((4-oxo-4H-chromen-3-yl)methylene)-2-phenyloxazol-5(4H)-one 3

Не исключалась реализация протекания реакции тионирования по оксазол-5-оновому фрагменту 4-((4-оксо-4H-хромен-3-ил)метилена)-2-фенилоксазол-5(4H)-она (3) с возможностью образования хроменилоксазолтиона 9, либо про-

дукта тионирования по обоим фармакофорным фрагментам с получением тиоксохроменилоксазолтиона 10. Однако получить продукты 9 и 10 не удалось. Наибольший дефицит электронной плотности на оксогруппе хромен-4-онового



фрагмента 4-((4-оксо-4Н-хромен-3-ил)метил)-2-фенилоксазол-5(4Н)-она (**3**) и его стерический объем, вероятно, не позволяют реализовать реакцию по оксазол-5-оновому фрагменту. Согласно спектральным данным единственным продуктом реакции тионирования соединения **3** является тиюксохроменилоксазолон **5**.

Заключение

Таким образом, нами разработан способ синтеза гибридной гетероциклической структуры с несколькими фармакофорными фрагментами – 2-фенил-4-((4-тиоксо-4Н-хромен-3-ил)метил)оксазол-5(4Н)-она реакцией тионирования 4-((4-оксо-4Н-хромен-3-ил)метил)-2-фенилоксазол-5(4Н)-она селективным тионирующим реагентом Лавессона (LR). Показана реализация протекания реакции только по одному направлению, а именно по хромен-4-оновому фрагменту.

Список литературы

1. Parveen M., Ahmad F., Malla A. M., Azaz S., Silva M. R., Silva P. S. P. [Et₃NH][HSO₄]-mediated functionalization of hippuric acid: An unprecedented approach to 4-arylidene-2-phenyl-5(4H)-oxazolones // RSC Adv. 2015. Vol. 46, iss. 43. P. 52330–52346. <https://doi.org/10.1002/chin.201543140>
2. Arzyamova E. M., Tarasov D. O., Yegorova A. Yu. Synthesis and characterization of hybrid structures based on furan-2(3h)-ones and chromen-4(4h)-ones – potential antibacterial activity // Chemistry Proceedings. 2023. Vol. 14, № 1. <https://doi.org/10.3390/ecsoc-27-16062>
3. Salema M. S., El-Helwa E. A. E., Derbala H. A. Y. Development of chromone–pyrazole-based anticancer agents // Russ. J. Bioorganic Chem. 2020. Vol. 46, № 1. P. 77–84. <https://doi.org/10.1134/S1068162020010094>
4. Savariz F. C., Foglio M. A., De Carvalho J. E., Ruiz A. L. T. G., Duarte M. C. T., Da Rosa M. F., Meyer E., Sarragiotto M. H. Synthesis and evaluation of new β-carboline-3-(4-benzylidene)-4H-oxazol-5-one derivatives as antitumor agents // Molecules. 2012. Vol. 17, № 5. P. 6100–6113. <https://doi.org/10.3390/molecules17056100>
5. Rambabu B., Priyanka B., Rao Dr. N. K. Design, synthesis and biological evaluation of a novel series of oxazolones promoted by K₃PO₄ as catalyst // World J. Pharm. Res. 2023. Vol. 12, iss. 6. P. 916–928. <https://doi.org/10.20959/wjpr20236-27858>
6. Apostol T-V., Chifriuc M. C., Nitulescu G. M., Olaru O. T., Barbuceanu S-F., Socea L-I., Pahontu E. M., Karmezan C. M., Marutescu L. G. In silico and in vitro assessment of antimicrobial and antibiofilm activity of

some 1,3-oxazole-based compounds and their isosteric analogues // Appl. Sci. 2022. Vol. 12, № 11. <https://doi.org/10.3390/app12115571>

7. Peng F., Liu T., Wang Q., Liu F., Cao X., Yang J., Liu L., Xie C., Xue W. Antibacterial and antiviral activities of 1,3,4-oxadiazole thioether 4 H-chromen-4-one derivatives // J. Agric. Food Chem. 2021. Vol. 69, № 37. P. 11085–11094. <https://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.1c03755>
8. Jiang S., Su S., Chen M., Peng F., Zhou Q., Liu T., Liu L., Xue W. Antibacterial activities of novel dithiocarbamate-containing 4H-chromen-4-one derivatives // J. Agric. Food Chem. 2020. Vol. 68, № 20. P. 5641–5647. <https://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.0c01652>
9. Kurt-Kızıldoğan A., Akarsu N., Otur Ç., Kivrak A., Aslan-Ertas N., Arslan S., Mutlu D., Konus, M., Yilmaz C., Cetin D., Topal T., Şahin N. A novel 4H-chromen-4-one derivative from marine *Streptomyces ovatisporus* S4702T as potential antibacterial and anti-cancer agent // Anticancer Agents Med. Chem. 2022. Vol. 22, № 2. P. 362–370. <https://dx.doi.org/10.2174/1871520621666210311085748>
10. Cava M. P., Levinson M. I. Thionation reactions of Lawessons reagent // Tetrahedron. 1985. Vol. 41, № 22. P. 5061–5087. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)96753-5](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)96753-5)
11. Abou-Elmagd W. S. I., Hashem A. I. Synthesis and antitumor activity evaluation of some novel-fused and spiro heterocycles derived from a 2(3H)-furanone derivative // J. Heterocyclic Chem. 2016. Vol. 53, № 1. P. 202–208. <https://doi.org/10.1002/jhet.2401>
12. Fitton A. O., Frost J. R., Suschitzky H., Houghton P. G. Conversion of 3-formylchomons into pyrrole and thiophene derivatives // Synthesis. 1977. № 2. P. 133–135. <https://doi.org/10.1055/s-1977-24298>
13. Аниськова Т. В., Стулова Е. Г., Бабкина Н. В., Егорова А. Ю. Взаимодействие 5-R-3-арилметилен-3Н-фуран-2-онов с реактивом Лавессона // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. № 8-4. С. 512–515. ID: 26725847. EDN: WMVWTX

References

1. Parveen M., Ahmad F., Malla A. M., Azaz S., Silva M. R., Silva P. S. P. [Et₃NH][HSO₄]-mediated functionalization of hippuric acid: An unprecedented approach to 4-arylidene-2-phenyl-5(4H)-oxazolones. RSC Adv., 2015, vol. 46, iss. 43, pp. 52330–52346. <https://doi.org/10.1002/chin.201543140>
2. Arzyamova E. M., Tarasov D. O., Yegorova A. Yu. Synthesis and characterization of hybrid structures based on furan-2(3H)-ones and chromen-4(4H)-ones – potential antibacterial activity. Chemistry Proceedings., 2023, vol. 14, no. 1. <https://doi.org/10.3390/ecsoc-27-16062>
3. Salema M. S., El-Helwa E. A. E., Derbala H. A. Y. Development of chromone–pyrazole-based anticancer



- agents. *Russ. J. Bioorganic Chem.*, 2020, vol. 46, no. 1, pp. 77–84. <https://doi.org/10.1134/S1068162020010094>
4. Savariz F. C., Foglio M. A., De Carvalho J. E., Ruiz A. L. T. G., Duarte M. C. T., Da Rosa M. F., Meyer E., Sarragiotto M. H. Synthesis and evaluation of new β -carboline-3-(4-benzylidene)-4H-oxazol-5-one derivatives as antitumor agents. *Molecules*, 2012, vol. 17, no. 5, pp. 6100–6113. <https://doi.org/10.3390/molecules17056100>
 5. Rambabu B., Priyanka B., Rao Dr. N. K. Design, synthesis and biological evaluation of a novel series of oxazolones promoted by K_3PO_4 as catalyst. *World J. Pharm. Res.*, 2023, vol. 12, iss. 6, pp. 916–928. <https://doi.org/10.20959/wjpr20236-27858>
 6. Apostol T-V., Chifiriuc M. C., Nitulescu G. M., Olaru O. T., Barbuceanu S-F., Socea L-I., Pahontu E. M., Karnezan C. M., Marutescu L. G. In silico and in vitro assessment of antimicrobial and antibiofilm activity of some 1,3-oxazole-based compounds and their isosteric analogues. *Appl. Sci.*, 2022, vol. 12, no. 11. <https://doi.org/10.3390/app12115571>
 7. Peng F., Liu T., Wang Q., Liu F., Cao X., Yang J., Liu L., Xie C., Xue W. Antibacterial and antiviral activities of 1,3,4-oxadiazole thioether 4-H-chromen-4-one derivatives. *J. Agric. Food Chem.*, 2021, vol. 69, no. 37, pp. 11085–11094. <https://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.1c03755>
 8. Jiang S., Su S., Chen M., Peng F., Zhou Q., Liu T., Liu L., Xue W. Antibacterial activities of novel dithiocarbamate-containing 4H-chromen-4-one derivatives. *J. Agric. Food Chem.*, 2020, vol. 68, no. 20, pp. 5641–5647. <https://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.0c01652>
 9. Kurt-Kızıldoğan A., Akarsu N., Otur Ç., Kivrak A., Aslan-Ertas N., Arslan S., Mutlu D., Konus, M., Yılmaz C., Cetin D., Topal T., Şahin N. A novel 4H-chromen-4-one derivative from marine *Streptomyces ovatisporus* S4702T as potential antibacterial and anti-cancer agent. *Anticancer Agents Med. Chem.*, 2022, vol. 22, no. 2, pp. 362–370. <https://dx.doi.org/10.2174/1871520621666210311085748>
 10. Cava M. P., Levinson M. I. Thionation reactions of Lawessons reagent. *Tetrahedron*, 1985, vol. 41, no. 22, pp. 5061–5087. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)96753-5](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)96753-5)
 11. Abou-Elmagd W. S. I., Hashem A. I. Synthesis and antitumor activity evaluation of some novel-fused and spiro heterocycles derived from a 2(3H)-furanone derivative. *J. Heterocyclic Chem.*, 2016, vol. 53, no. 1, pp. 202–208. <https://doi.org/10.1002/jhet.2401>
 12. Fitton A. O., Frost J. R., Suschitzky H., Houghton P. G. Conversion of 3-formylchomons into pyrrole and thiophene derivatives. *Synthesis*, 1977, no. 2, pp. 133–135. <https://doi.org/10.1055/s-1977-24298>
 13. Aniskova T. V., Stulova E. G., Babkina N. V., Egorova A. Yu. Reaction of 5-R-3-arylmethylidene-3H-furan-2-ones with Lawesson's reagent. *International Journal of Applied and Basic Research*, 2016, no. 8-4, pp. 512–515 (in Russian). ID: 26725847. EDN: WMVWTX

Поступила в редакцию 09.12.2023; одобрена после рецензирования 16.02.2024; принята к публикации 19.02.2024
The article was submitted 09.12.2023; approved after reviewing 16.02.2024; accepted for publication 19.02.2024



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 129–134
Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 129–134
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-129-134>, EDN: QVPMHA

Научная статья
УДК 547.792+547.859+620.193

Синтез производных класса 2-алкил-5-фенил-4,5,6,7-тетрагидро-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиримидин-7-ола



Д. В. Ляпун , А. А. Кружилин, Х. С. Шихалиев

Воронежский государственный университет, Россия, 394018, г. Воронеж, Университетская пл., д. 1

Ляпун Денис Викторович, руководитель проектов ООО НИОСТ ПАО Сибур, dshef@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5187-124X>

Кружилин Алексей Александрович, научный сотрудник кафедры органической химии, kruzhilin.alexey@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2262-0131>

Шихалиев Хидмет Сафарович, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой органической химии, shikh1961@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6576-0305>

Аннотация. Проблема кислотной коррозии стали имеет большое значение, особенно в контексте нефтедобывающей промышленности, где широко используется процедура кислотной обработки скважин и околоскважинных пространств. В данной исследовательской статье освещается синтез и изучение ранее не изученных производных класса 2-алкил-5-фенил-4,5,6,7-тетрагидро-[1,2,4] триазоло[1,5-а]пиримидин-7-олов – органических соединений, представляющих потенциально высокую эффективность в качестве ингибиторов кислотной коррозии стали. Метод синтеза предложенных соединений включает в себя конденсацию 3-алкил-5-амино-1Н-1,2,4-триазолов с коричневым альдегидом. Структура синтезированных соединений была подтверждена с применением методов ЯМР ¹Н и LCMS. Выявлено, что разработанные условия синтеза обеспечивают получение целевых тетрагидротриазолопиримидинов с алкильными заместителями, содержащими до трех атомов углерода включительно. При увеличении же длины алкильных заместителей наблюдается интенсификация побочных процессов, что делает выделение целевых соединений затруднительным. Полученные результаты исследования представляют важность для разработки эффективных органических ингибиторов кислотной коррозии стали нового класса. Эти данные могут служить основой для последующих исследований в данной области, способствуя развитию новых методов предотвращения коррозии и повышению устойчивости материалов, используемых в нефтяной промышленности. Таким образом, представленное исследование не только описывает новый препаративный подход к получению ингибиторов коррозии класса тетрагидротриазолопиримидинов, но также в перспективе имеет практическое значение в области промышленных технологий и материаловедения.

Ключевые слова: коррозия, сталь, ингибиторы коррозии, гетероциклические соединения, аминотриазолы, тетрагидротриазолопиримидинолы, буровое оборудование

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 24-23-00457, <https://rscf.ru/project/24-23-00457/>).

Для цитирования: Ляпун Д. В., Кружилин А. А., Шихалиев Х. С. Синтез производных класса 2-алкил-5-фенил-4,5,6,7-тетрагидро-[1,2,4] триазоло[1,5-а]пиримидин-7-ола // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 129–134. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-129-134>, EDN: QVPMHA

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Synthesis of 2-alkyl-5-phenyl-4,5,6,7-tetrahydro-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-ol derivatives

Д. В. Ляпун , А. А. Кружилин, Х. С. Шихалиев

Voronezh State University, 1 Universitetskaya Sq., Voronezh 394018, Russia

Denis V. Lyapun, dshef@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5187-124X>

Alexey A. Kuzhilin, kuzhilin.alexey@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2262-0131>

Khidmet S. Shikhaliev, shikh1961@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6576-0305>

Abstract. The problem of acid corrosion of steel is of significant importance, particularly in the context of the oil extraction industry, where acid treatment of wells and surrounding spaces is widely employed. This research article focuses on the synthesis and investigation of previously unstudied derivatives of the class of 2-alkyl-5-phenyl-4,5,6,7-tetrahydro-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-ols – organic compounds potentially highly effective as inhibitors of acid corrosion of steel. The method for synthesizing the proposed compounds involves the condensation of 3-alkyl-



5-amino-1H-1,2,4-triazoles with cinnamaldehyde. The structure of the synthesized compounds has been confirmed using ¹H NMR and LCMS methods. The study has revealed that the developed synthesis conditions yield the target tetrahydrotriazolopyrimidinols with alkyl substituents containing up to three carbon atoms. However, an increase in the length of alkyl substituents intensifies side reactions, making the isolation of the target compounds challenging. The obtained research results are significant for the development of effective organic inhibitors of acid corrosion of steel of a new class. These findings can serve as a basis for further research in this area, contributing to the development of new methods for corrosion prevention and improving the resistance of materials used in the oil industry. Thus, this study not only describes a new synthetic approach to obtaining inhibitors of corrosion in the tetrahydrotriazolopyrimidinol class but also holds prospective practical value in the field of industrial technologies and materials science.

Keywords: corrosion, steel, corrosion inhibitors, heterocyclic compounds, aminotriazoles, tetrahydrotriazolopyrimidinols, drilling equipment

Acknowledgements. This work was supported by the Russian Science Foundation (project No. 24-23-00457, <https://rscf.ru/en/project/24-23-00457/>).

For citation: Lyapun D. V., Kruzhillin A. A., Shikhaliyev Kh. S. Synthesis of 2-alkyl-5-phenyl-4,5,6,7-tetrahydro-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-ol derivatives. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 129–134 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-129-134>, EDN: QVPMHA

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Кислотные обработки нефтяных и газовых скважин, как правило, используются для создания искусственных каналов в карбонатных пластах и увеличения их проницаемости, что достигается путем растворения глины и других материалов, в том числе карбонатов металлов, которые могут забивать поры вокруг ствола скважины. Для этой цели чаще всего используются уксусная кислота, соляная кислота или комбинация плавиковой и соляной кислот [1].

Поскольку эти растворы могут вызвать значительную коррозию как внутри обсадных труб, так и внутри колонн гибких насосно-компрессорных труб, необходимо использовать так называемые ингибированные кислоты, которые создаются путем добавления ингибиторов коррозии в упомянутые кислотные растворы. На сегодняшний день существует широкий спектр органических ингибиторов коррозии, которые могут быть использованы в этом процессе [2, 3].

В одном из наших предыдущих исследований [4] было найдено неожиданное ингибирующее действие, проявляемое смесями 3-алкил-5-амино-1H-1,2,4-триазолов с коричным альдегидом. В результате комплексного исследования состава смесей было установлено, что они содержали новый класс ранее не изученных ингибиторов кислотной коррозии стали – 4,5,6,7-тетрагидро-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиримидин-7-олы. Публикации, посвященные исследованию подходов к получению производных данного класса, практически отсутствуют в научной литературе. Немногочисленные публикации, касающиеся этой тематики, охватывают лишь единичные примеры данного превращения [5, 6].

Вероятно, существенный защитный эффект этих веществ обусловлен наличием триазолопиримидиновой матрицы в их структуре, так как существенные защитные свойства отсутствовали у исходных 3-алкил-5-амино-1H-1,2,4-триазолов, из которых были получены исследованные в настоящей статье соединения, также и сам коричный альдегид в чистом виде не проявляет столь высоких защитных свойств. Очевидно, что важным структурным аспектом, обуславливающим достаточно хорошие защитные свойства данного класса веществ, является высокая степень гидрированности пиримидинового цикла, так как ранее изученные нами производные [1,2,4]триазоло[1,5-а]пиримидина с ароматическим (негидрированным) пиримидиновым циклом не обладали столь высоким защитным эффектом [7].

Целью настоящей работы стало исследование особенностей препаративного синтеза производных класса 2-R-5-фенил-4,5,6,7-тетрагидро-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиримидин-7-олов как потенциально высокоэффективных ингибиторов кислотной коррозии стали.

Материалы и методы

Чистоту синтезированных соединений контролировали методом ТСХ на пластинках с силикагелем 60 F254 (Merck), используя в качестве элюента хлороформ, метанол или их смеси. Хроматограммы проявляли с помощью УФ-облучения, парами йода и прокаливанием при температурах >200°C. Температуры плавления полученных соединений определяли на приборе Stuart SMP30. ВЭЖХ-анализ проводили с использованием жидкостного хроматографа Agilent



1260 Infinity, оснащенного УФ-детектором в сочетании с детектором Agilent 6230 TOF LC/MS. Спектры ЯМР ^1H записаны на спектрометре «Bruker AV600» с рабочей частотой 500,13 МГц, внутренний стандарт – тетраметилсилан. Спектры записывали при 27°C, используя ДМСО-d6 в качестве растворителя. Для синтетических целей использовали коммерчески доступные растворители и реагенты (SigmaAldrich, Merck, Acros Organics).

Общая методика синтеза 3-алкил-5-амино-1H-1,2,4-триазолов (1a-d).

Синтез проводили в колбе, снабженной мешалкой, ловушкой для воды с обратным холодильником. К 60 мл бутанола при перемешивании добавляли 1 ммоль бикарбоната амингуанидина, а затем 1,1 ммоль соответствующей кислоты. Продолжая перемешивать, осторожно нагревали смесь не выше 90–95°C до прекращения выделения углекислого газа (визуально до прекращения вспенивания). Затем смесь кипятили 3–15 ч и собирали воду в ловушке (нижний слой). Смесь охлаждали до прекращения кипения реакционной массы. Ловушку для воды заменяли насадкой Вюрца с термометром и нисходящим холодильником и отгоняли бутанол при атмосферном давлении. Остаток перекристаллизовывали из смеси изопропанол–петролейный эфир.

Общая методика синтеза 2-алкил-5-фенил-4,5,6,7-тетрагидро-[1,2,4]триазоло[1,5-a]пиримидин-7-олов (2a-d).

1 ммоль **1a–d** и 1 ммоль коричневого альдегида в 5 мл смеси ацетона с пиперидином (9:1) кипятили в течение 0,5–6 ч. После охлаждения выпавший осадок отфильтровывали, промывали ацетоном и высушивали.

5-фенил-4,5,6,7-тетрагидро-[1,2,4]триазоло[1,5-a]пиримидин-7-ол (2a). Выход: 87%, $T_{\text{пл}} = 201–203$ °C. Спектр ЯМР ^1H (500 MHz, DMSO-d6, 27 °C, δ , м.д.) 1.35–1.49 (м., 1H, CH_{пиримид}); 1.98–2.09+2.41–2.52 (м., 1H, CH_{пиримид}); 3.45–3.61 (м., 1H, CH_{пиримид}); 4.43–4.60+5.07–5.13 (м., 1H, OH); 7.15–7.21 (м., 1H, NH); 7.23–7.50 (м., 5H, CH_{аром}), 7.55–7.65 (м., 1H, CH_{триаз}). Найдено, m/z: 217.2547 [M+H]⁺. C₁₁H₁₂N₄O+H⁺. Вычислено: m/z: 217.2440

2-метил-5-фенил-4,5,6,7-тетрагидро-[1,2,4]триазоло[1,5-a]пиримидин-7-ол (2b). Выход: 68.5%, $T_{\text{пл}} = 204–207$ °C. Спектр ЯМР ^1H (500 MHz, DMSO-d6, 27 °C, δ , м.д.) 1.60 (с., 3H, CH₃); 1.97 (с., 1H, CH_{пиримид}); 2.30 (с., 1H, CH_{пиримид}); 3.80 (с., 1H, CH_{пиримид}); 5.41 (с., 1H, OH); 6.70 (д.,

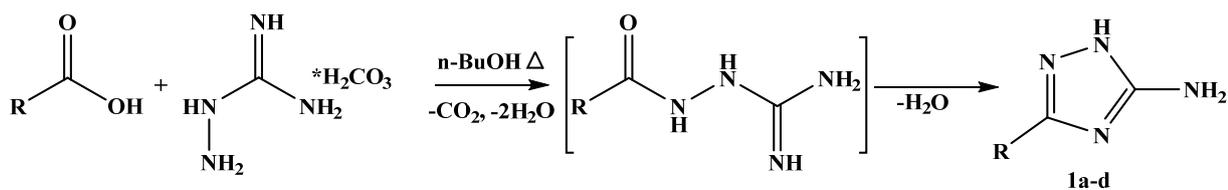
2H, CH_{аром}); 7.05 (т., 2H, CH_{аром}), 7.20 (т., J=7.0, 1H, CH_{аром}), 13.5 (уш.с., 1H, NH). Найдено, m/z: 231.3057 [M+H]⁺. C₁₂H₁₄N₄O+H⁺. Вычислено: m/z: 231.2710

2-этил-5-фенил-4,5,6,7-тетрагидро-[1,2,4]триазоло[1,5-a]пиримидин-7-ол (2c). Выход: 57.9%, $T_{\text{пл}} = 208–212$ °C. ЯМР ^1H (500 MHz, DMSO-d6, 27°C, δ , м.д.) 1.27 (т., J = 6.4, 3H, CH₃); 1.35–1.51 (м. 1H, CH_{пиримид}); 1.98–2.09+2.41–2.52 (м., 1H, CH_{пиримид}); 2.48 (м., 2H, CH₂); 2.88–3.35 (м., 1H, CH_{пиримид}); 4.43–4.60+5.07–5.13 (м., 1H, OH); 6.96–7.01 (с., 1H, NH); 7.25–7.44 (м., 5H, CH_{аром}). Найдено, m/z: 244.3057 [M+H]⁺. C₁₃H₁₆N₄O+H⁺. Вычислено: m/z: 245.2710

2-пропил-5-фенил-4,5,6,7-тетрагидро-[1,2,4]триазоло[1,5-a]пиримидин-7-ол (2d). Выход: 53.7%, $T_{\text{пл}} = 214–217$ °C. ЯМР ^1H (500 MHz, DMSO-d6, 27 °C, δ , м.д.) 0.83 (т., J = 6.5, 3H, CH₃), 1.35–1.48 (м., 1H, CH_{пиримид}); 1.51–1.64 (м., 2H, CH₂); 1.92–2.10 (м., 1H, CH_{пиримид}); 2.32–2.42 (м., 2H, CH₂); 2.80–3.5 (м., 1H, CH_{пиримид}); 4.43–4.60+5.07–5.13 (м., 1H, OH); 6.95–6.99 (с., 1H, NH); 7.25–7.45 (м., 5H, CH_{аром}). Найдено, m/z: 259.3057 [M+H]⁺. C₁₄H₁₈N₄O+H⁺. Вычислено: m/z: 259.2710

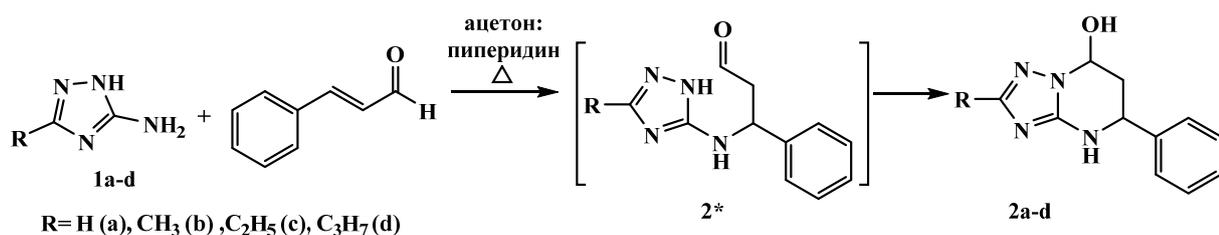
Результаты и их обсуждение

В соответствии с поставленной целью и задачами на первом этапе исследования были получены исходные 3-алкил-5-амино-1H-1,2,4-триазолы по известной методике [8] взаимодействия амингуанидина с карбоновыми кислотами, которая нами была препаративно модифицирована. Нами установлено, что данная реакция протекает с наиболее высокими выходами при кипячении исходных веществ в бутаноле в течение 3–15 ч с одновременной азеотропной отгонкой воды. Завершение протекания реакции фиксировали по количеству отделившейся воды в ловушке Дина–Старка. По завершении процесса реакционную массу упаривали до полного удаления растворителя, целевые 3-алкил-5-аминотриазолы выделяли перекристаллизацией из смеси петролейный эфир – изопропиловый спирт. В результате выходы целевых продуктов 3-алкил-5-амино-1H-1,2,4-триазолов удалось повысить до 70–85%. Полученные соединения представляют собой кристаллические осадки от бесцветного до светло-желтого или желтого цветов, хорошо растворимые в большинстве органических растворителей.



Далее была изучена реакция аннелирования пиримидинового цикла к полученным 5-амино-1H-1,2,4-триазиолам посредством их взаимодействия с коричным аль-

дегидом. В результате данного превращения были получены 5-фенил-4,5,6,7-тетрагидро-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиримидин-7-олы **2a-d**.



Были исследованы различные условия проведения данной реакции, в том числе основанные на литературных данных [5]. Полученные результаты мониторинга реакции представлены в таблице. Установлено, что оптимальным условием проведения данного процесса является нагревание реагентов в смеси ацетона и пиперидина (9:1) в течение 0,5–6 ч в зависимости от заместителя (см.

таблицу). При использовании прочих условий наблюдалось образование значительного количества побочных продуктов реакции, что негативно сказывалось на выходах конечных тетрагидропиримидинов и затрудняло процедуру их выделения. В ряде условий наблюдалась неполная конверсия исходного триазола даже при длительном кипячении реагентов (более 15 ч).

Мониторинг условий проведения реакции
Table. Monitoring reaction conditions

Условия Conditions	Конверсия, % / Выход, % / Время, ч Conversion, % / Yield, % / Time, h			
	2a	2b	2c	2d
Ацетон–пиперидин (9:1), кипячение	100/87.0/0.5	100/68.5/1	100/57.9/2.5	100/53.7/6
Ацетон–пиперидин (9:1), 2-кратный избыток альдегида, кипячение	100/88.2/0.5	100/70.0/1	100/58.8/2.5	100/52.7/6
Ацетон–морфолин (9:1), кипячение	100/72.1/4	100/60.3/6	100/42.3/8	100/32.2/10
Ацетон–уксусная кислота (9:1)	80.4/45.1/6	75.9/25.3/8	78.9/18.6/12	77.6/9.6/16
ИПС–морфолин (9:1), кипячение	75.1/56.8/0.6	70.3/52.2/8	68.9/47.1/12	60.4/43.0/16
ИПС, 1 мас.% p-TSA, кипячение	66.1/28.2/6	60.9/19.6/8	61.3/19.5/12	54.3/10.5/16
Этанол, NaOH, кипячение	71.2/67.0/10	70.3/68.5/10	62.6/57.9/12	49.9/53.7/12
ДМФА, кипячение	>90/~10/1	>90/~10/1	–	–
ДМФА–триэтиламин, кипячение	>90/~10/1	>90/~10/1	–	–
ДМФА, 60–70°C	24.2/13.6/8	22.3/12.7/8	–	–
ДМФА, 60–70°C, NaHCO ₃	27.1/17.2/8	27.8/15.2/8	–	–
Ксилол–пиперидин (9:1), кипячение	96.2/57.9/2	88.1/38.2/4	95.1/27.3/6	92.5/16.2/10



Наиболее вероятным маршрутом исследуемого процесса, очевидно, является двухстадийный процесс: на первой стадии осуществляется реакция присоединения аминогруппы по кратной связи и на второй стадии последующая внутримолекулярная циклизация за счет реакции нуклеофильного замещения с участием эндоциклической аминогруппы и карбонильной группы интермедиатов **2***.

Таким образом, нами была получена серия новых 2-алкил-5-фенил-4,5,6,7-тетрагидро-[1,2,4] триазоло[1,5-а]пиримидин-7-олов **2a–d**. Полученные соединения представляют собой кристаллические осадки от бесцветного до светло-желтого или желтого цветов, хорошо растворимые в большинстве органических растворителей. Их структура подтверждена данными LCMS-спектрометрии и ЯМР¹H спектроскопии. В разделе «Материалы и методы» описаны сигналы протонов данных веществ. Сдвоенные и расщепленные пики в ЯМР¹H-спектрах полученных соединений наиболее вероятно свидетельствуют об их существовании в форме смеси их диастереотопов в растворе DMSO-d₆ за исключением СН₃-производного **2b**. Спектры содержат характерные сигналы 4 СН-протонов пиримидинового цикла в областях 1.9–4.0 м.д. Помимо этого в спектрах присутствуют сигналы алифатических фрагментов в районе 1.2–2.5 м.д., сигналы ОН-протонов в области 5.0–5.4, набор сигналов протонов фенильного заместителя в области ~7.5 м.д. Согласно результатам LCMS-анализа образцы соответствуют заявленным структурам, при этом в большинстве случаев содержат минорную примесь изомера (диастереомера), составляющую менее 5%.

Важно отметить, что с триазолами **1** с длинной углеводородных заместителей от 4 и выше атомов углерода, а также гетарил- и арил-производными данного класса в описанных выше условиях добиться аналогичного превращения с образованием единственного продукта не удалось. С ростом длины алифатического заместителя существенно снижалась конверсия исходных триазолов, возрастало число побочных продуктов реакции, а содержание целевых 4,5,6,7-тетрагидро-[1,2,4] триазоло [1,5-а]пиримидин-7-олов оказывалось слишком низким для их выделения в приемлемых количествах. Во всех случаях получения сложносоставных продуктов взаимодействия последующие попытки выделения индивидуальных компонентов смесей с целью точного анализа их структуры не производились.

Таким образом, можно утверждать, что выбранные условия реакции позволяют получать короткоцепочечные производные класса 4,5,6,7-тетрагидротриазолопиримидинола с приемлемыми выходами, в то время как для синтеза производных с более длинным алкильным заместителем (либо иными заместителями) во втором положении триазолопиримидиновой матрицы требуется разработка других более специфических условий или методов синтеза. В рамках наших исследований это является важной задачей будущих работ ввиду высокого потенциала соединений класса 4,5,6,7-тетрагидротриазолопиримидинола в качестве ингибиторов коррозии металлов, а также с точки зрения их синтетического потенциала для дальнейших химических модификаций.

Заключение

Таким образом, был разработан препаративный метод синтеза четырех новых производных класса 2-алкил-5-фенил-4,5,6,7-тетрагидро-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиримидин-7-олов. Синтез был основан на двухстадийном взаимодействии 3-алкил-5-амино-1H-1,2,4-триазолов с коричневым альдегидом в смеси ацетона и пиперидина (9:1). Найдено, что возможность протекания данной реакции снижается с ростом длины алифатического заместителя исходного субстрата, а также при использовании в качестве сырья ароматических 3-фенил- или 3-(пиримидин-3-ил)- 5-амино-1H-1,2,4-триазолов.

Список литературы

1. *Fredd C. N., Fogler H. S.* Alternative stimulation fluids and their impact on carbonate acidizing // *SPE Journal*. March 1998. Vol. 3, № 1. P. 34–41. <https://doi.org/10.2118/31074-PA>
2. *Barmatov E., Geddes J., Hughes T., Nagl M.* Research on corrosion inhibitors for acid stimulation // *NACE CORROSION*. 2012. NACE-2012-1573.
3. *Авдеев Я. Г., Кузнецов Ю. И.* Физико-химические аспекты ингибирования кислотной коррозии металлов ненасыщенными органическими соединениями // *Успехи химии*. 2012. Т. 81, № 12. С. 1133–1145. <https://doi.org/10.1070/RC2012v081n12ABEH004292>
4. *Kruzhillin A. A., Shevtsov D. S., Potapov A. Yu., Shikhaliyev Kh. S., Kozaderov O. A., Prabhakar Ch., Kasatkina V. E.* Novel inhibitory compositions based on 4,5,6,7-tetrahydro-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-ol derivatives for steel acid corrosion protection // *Int. J. Corros. Scale Inhib.* 2022. Vol. 11, № 2. P. 774–795. <https://doi.org/10.17675/2305-6894-2022-11-2-22>



5. Zemlyanaya N. I., Karnozhitskaya T. M., Musatov V. I., Konovalova I. S., Shishkina S. V., Lipson V. V. Synthesis and chemical transformations of 5-alkyl (phenyl)-4, 5, 6, 7-tetrahydro [1, 2, 4] triazolo [1, 5-a] pyrimidin-7-oles // *Russ. J. Org. Chem.* 2018. Vol. 54. P. 1241–1249. <https://doi.org/10.1134/S1070428018080201>
6. Lipson V. V., Karnozhitskaya T. M., Shishkina S. V., Shishkin O. V., Turov A. V. Reactions of 3-amino-1, 2, 4-triazoles with cinnamic aldehydes // *Russ. Chem. Bull.* 2009. Vol. 58. P. 1441–1444. <https://doi.org/10.1007/s11172-009-0193-1>
7. Kruzhilin A. A., Lyapun D. V., Shevtsov D. S., Kozaderov O. A., Potapov A. Yu., Zartsyn I. D., Prabhakar Ch., Shikhaliev Kh. S. New [1, 2, 4] triazolo [1, 5-a] pyrimidine-7-one corrosion inhibitors for copper in chloride environments // *Int. J. Corros. Scale Inhib.* 2021. Vol. 10, № 4. P. 1474–1492. <https://doi.org/10.17675/2305-6894-2021-10-4-7>
8. Десенко С. М., Орлов В. Д. Азагетероциклы на основе ароматических непредельных кетонов. Харьков : Фолио, 1998. 148 с.
9. saturated organic compounds. *Russ. Chem. Rev.*, 2012, vol. 81, no. 12, pp. 1133–1145. <https://doi.org/10.1070/RC2012v081n12ABEH004292>
4. Kruzhilin A. A., Shevtsov D. S., Potapov A. Yu., Shikhaliev Kh. S., Kozaderov O. A., Prabhakar Ch., Kasatkin V. E. Novel inhibitory compositions based on 4,5,6,7-tetrahydro-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-ol derivatives for steel acid corrosion protection. *Int. J. Corros. Scale Inhib.*, 2022, vol. 11, no. 2, pp. 774–795. <https://doi.org/10.17675/2305-6894-2022-11-2-22>
5. Zemlyanaya N. I., Karnozhitskaya T. M., Musatov V. I., Konovalova I. S., Shishkina S. V., Lipson V. V. Synthesis and chemical transformations of 5-alkyl (phenyl)-4, 5, 6, 7-tetrahydro [1, 2, 4] triazolo [1, 5-a] pyrimidin-7-oles. *Russ. J. Org. Chem.*, 2018, vol. 54, pp. 1241–1249. <https://doi.org/10.1134/S1070428018080201>
6. Lipson V. V., Karnozhitskaya T. M., Shishkina S. V., Shishkin O. V., Turov A. V. Reactions of 3-amino-1, 2, 4-triazoles with cinnamic aldehydes. *Russ. Chem. Bull.*, 2009, vol. 58, pp. 1441–1444. <https://doi.org/10.1007/s11172-009-0193-1>
7. Kruzhilin A. A., Lyapun D. V., Shevtsov D. S., Kozaderov O. A., Potapov A. Yu., Zartsyn I. D., Prabhakar Ch., Shikhaliev Kh. S. New [1, 2, 4] triazolo [1, 5-a] pyrimidine-7-one corrosion inhibitors for copper in chloride environments. *Int. J. Corros. Scale Inhib.*, 2021, vol. 10, no. 4, pp. 1474–1492. <https://doi.org/10.17675/2305-6894-2021-10-4-7>
8. Desenko S. M., Orlov V. D. *Azageterotsikly na osnove aromaticeskikh nepredel'nykh ketonov* [Azaheterocycles based an aromatic unsaturated ketons]. Khar'kov, Folio, 1998. 148 p. (in Russian).

References

1. Fredd C. N., Fogler H. S. Alternative stimulation fluids and their impact on carbonate acidizing. *SPE Journal*, March 1998, vol. 3, no. 1, pp. 34–41. <https://doi.org/10.2118/31074-PA>
2. Barmatov E., Geddes J., Hughes T., Nagl M. Research on corrosion inhibitors for acid stimulation. *NACE CORROSION*. 2012. NACE-2012-1573.
3. Avdeev Ya. G., Kuznetsov Yu. I. Physicochemical aspects of inhibition of acid corrosion of metals by un-

Поступила в редакцию 14.02.2024; одобрена после рецензирования 27.02.2024; принята к публикации 05.03.2024
The article was submitted 14.02.2024; approved after reviewing 27.02.2024; accepted for publication 05.03.2024



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 135–143
Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 135–143
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-135-143>, EDN: LIZBKL

Научная статья
УДК 615.07.543.067.3

Неразрушающий контроль нестероидных противовоспалительных средств методом ИК-спектроскопии в ближней области



О. Э. Емельянов¹, В. Г. Амелин^{1,2}✉, А. В. Третьяков²

¹Владимирский государственный университет имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых, Россия, 600000, г. Владимир, ул. Горького, д. 87

²Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов, Россия, 123022, г. Москва, Звенигородское шоссе, д. 5

Емельянов Олег Эдуардович, магистрант кафедры химии Института биологии и экологии, mail_e_oleg@bk.ru

Амелин Василий Григорьевич, доктор химических наук, профессор, профессор кафедры химии Института биологии и экологии, amelinvg@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7477-7398>

Третьяков Алексей Викторович, кандидат химических наук, заместитель директора, tretyakov81@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4984-9502>

Аннотация. Показано использование ИК-спектроскопии в ближней области для контроля качества нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) в блистерной упаковке. Исследованы НПВС с действующими веществами ибупрофен, диклофенак, напроксен, эторикоксиб, ацетилсалициловая кислота и мелоксикам. ИК-спектры регистрировали ИК-фурье-спектрометром Frontier с приставкой NIRA, применяемой для сбора спектров диффузного отражения твердых тел. Обработку и визуализацию результатов исследования проводили с использованием хемометрических алгоритмов – метода главных компонент (PCA), иерархического кластерного анализа (НКА) и частичной регрессии метода наименьших квадратов (PLS). Показано, что с помощью данных алгоритмов можно провести идентификацию препаратов по их производителю и определить концентрацию действующих веществ. В методе PCA точки, соответствующие образцам анализируемых таблеток, находятся в отдельных квадрантах в зависимости от их производителя. Применение иерархического кластерного анализа (НКА) позволило не только дифференцировать анализируемые таблетки по производителю, но и определить в них содержание действующих веществ. Построены градуировочные модели «измерено–предсказано», значения среднеквадратичного остатка калибровки (RMSEC) которых не превышали 6,28 мг. Относительные расхождения полученных в ходе анализа значений от приписанных соответствуют допустимым отклонениям, установленным приказом Министерства здравоохранения РФ от 26 октября 2015 г. № 751н. Продолжительность анализа составила 7–10 мин.

Ключевые слова: нестероидные противовоспалительные средства, ИК-спектроскопия в ближней области, хемометрический анализ

Для цитирования: Емельянов О. Э., Амелин В. Г., Третьяков А. В. Неразрушающий контроль нестероидных противовоспалительных средств методом ИК-спектроскопии в ближней области // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 135–143. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-135-143>, EDN: LIZBKL

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Non-destructive testing of non-steroidal anti-inflammatory drugs using near-field infrared spectroscopy method

O. E. Emelyanov¹, V. G. Amelin^{1,2}✉, A. V. Tretyakov²

¹Vladimir State University named after Alexander and Nikolay Stoletovs, 87 Gor'kogo St., Vladimir 600000, Russia

²The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality, Zvenigorodskoye Shosse, 5, Moscow 123022, Russia,

Oleg E. Emelyanov, mail_e_oleg@bk.ru

Vasily G. Amelin, amelinvg@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7477-7398>

Aleksey V. Tretyakov, tretyakov81@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4984-9502>

Abstract. The use of near-infrared spectroscopy for quality control of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in blister packs is demonstrated. NSAIDs with the active ingredients ibuprofen, diclofenac, naproxen, etoricoxib, acetylsalicylic acid and meloxicam have been studied. IR spectra have been recorded using a Frontier FTIR spectrometer with a NIRA attachment, used to collect diffuse reflectance spectra of solids. Process-



ing and visualization of the study results has been carried out using chemometric algorithms – principal component analysis (PCA), hierarchical cluster analysis (HCA) and partial least squares regression (PLS). It is shown that using these algorithms it is possible to identify drugs by their manufacturer and determine the concentration of active substances. In the PCA method, the points corresponding to the samples of the analyzed tablets are located in separate quadrants depending on their manufacturer. The use of hierarchical cluster analysis (HCA) made it possible not only to differentiate the analyzed tablets by manufacturer, but also to determine the content of the active substance in them. “Measured-predicted” calibration models have been constructed, the values of the root mean square residual of calibration (RMSEC) did not exceed 6.28 mg. The relative discrepancies between the values obtained during the analysis and those assigned correspond to the permissible deviations established by order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated October 26, 2015 no. 751n. The duration of the analysis was 7–10 min.

Keywords: nonsteroidal anti-inflammatory drugs, near-field IR spectroscopy, chemometric analysis

For citation: Emelyanov O. E., Amelin V. G., Tretyakov A. V. Non-destructive testing of non-steroidal anti-inflammatory drugs using near-field infrared spectroscopy method. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 135–143 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-135-143>, EDN: LIZBKL

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Нестероидные противовоспалительные препараты – группа лекарственных средств с противовоспалительным, жаропонижающим и анальгирующим эффектом. Механизм действия препаратов группы НПВС связан с ингибированием превращения арахидоновой кислоты в простагландины, которые являются медиаторами воспалительного процесса.

На рис. 1 приведены структурные формулы рассматриваемых в данной работе действующих веществ НПВС.

Следует отметить, что нестероидные противовоспалительные средства, как и многие другие лекарственные препараты, зачастую подвергаются фальсификации. Принимая во внимание тот факт, что любые недоброкачественные лекарственные средства создают прямую угрозу

жизни и здоровью человека, актуальной является задача постоянного мониторинга качества производимых лекарственных препаратов, в том числе контроля подлинности и содержания в них действующего вещества. Основным нормативным документом, регламентирующим качество лекарственных средств, является Государственная фармакопея Российской Федерации [1]. Так, согласно данному документу, для идентификации и оценки содержания действующих веществ НПВС используют УФ- спектроскопию [2], спектроскопию в средней ИК-области [3], а также высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) [4].

В работе [5] рассматривается способ выявления потенциальной фальсификации лекарственных препаратов на примере ацетилсалициловой кислоты и парацетамола, методами ИК- и/или спектроскопии комбинационного рассеивания

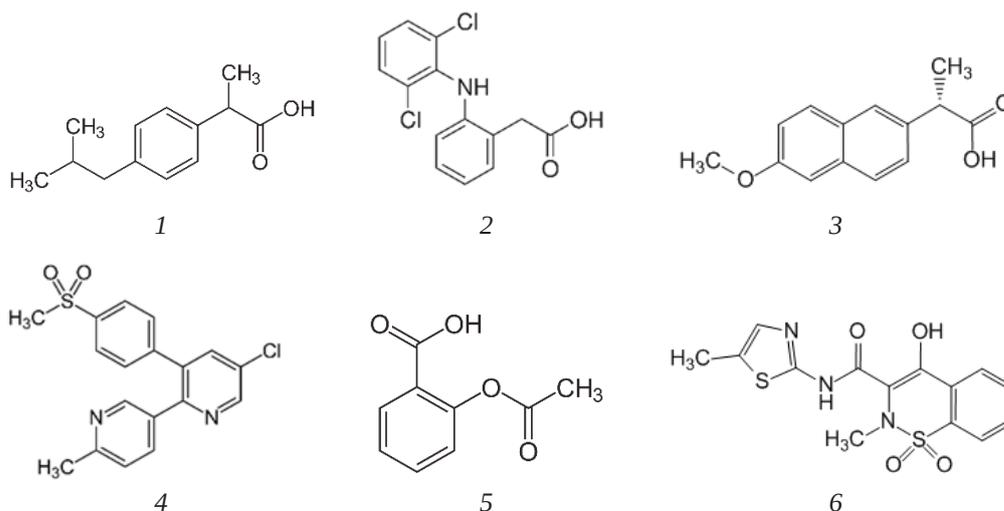


Рис. 1. Структурные формулы действующих веществ НПВС: 1 – ибупрофен, 2 – диклофенак, 3 – напроксен, 4 – эторикокиб, 5 – ацетилсалициловая кислота, 6 – мелоксикам

Fig. 1. Structural formulas of the active ingredients of NSAIDs: 1 – ibuprofen, 2 – diclofenac, 3 – naproxen, 4 – etoricoxib, 5 – acetylsalicylic acid, 6 – meloxicam



(КР). При обработке КР-спектров методом РСА установлено, что две первые главные компоненты описывают 99% суммарной дисперсии. При этом образцы таблеток сгруппировались в два кластера по торговому наименованию.

Идентификация производителей лекарственных средств, содержащих парацетамол и кофеин, с применением ИК-спектроскопии в диапазоне $600 - 4000 \text{ см}^{-1}$ рассмотрена в работе [6]. В результате обработки ИК-спектров хемометрическими алгоритмами удалось разделить лекарственные препараты на отдельные кластеры в соответствии с действующими веществами, а для одного состава действующих веществ – в соответствии с производителем.

Предложено применение обращенно-фазовой ВЭЖХ с УФ-детектированием ($\lambda = 260 \text{ нм}$) [7]. Показано использование ацетонитрилфосфатного буфера для разделения смеси действующих веществ, содержащихся в анализируемых препаратах (парацетамол и ибупрофен), а также внутреннего стандарта – ацеклофенака. Установлено, что времена удерживания ибупрофена, парацетамола и ацеклофенака составили 2,48, 4,45 и 6,34 мин соответственно.

В работе [8] предложено использование проточно-инжекционного определения ибупрофена в фармацевтических препаратах с использованием метода производной спектрофотометрии. В данном исследовании использовали проточную ячейку, расположенную в УФ-спектрофотометре, и перистальтический насос, обеспечивающий подачу $0,1 \text{ M NaOH}$. Полученная градуировочная зависимость линейна в диапазоне концентраций $400 - 1200 \text{ мкг/мл}$.

Описанные выше методы определения качества лекарственных препаратов группы НПВС не позволяют проводить экспресс-анализ данных соединений. Перспективным в данном направлении является ИК-спектроскопия в ближней области. Указанный метод включён во все ведущие фармакопеи и используется в системе государственного контроля качества лекарственных средств для выявления недоброкачественных и фальсифицированных препаратов [9, 10]. Так, авторами работы [11] проведен анализ ацетилсалициловой кислоты методом ИК-спектроскопии в ближней области ($4000 - 12500 \text{ см}^{-1}$). Обработку ИК-спектров проводили с помощью хемометрических методов главных компонент (РСА) и классификации (SIMCA). Применение алгоритмов РСА и SIMCA позволило наиболее

полно разделить препараты по их производителю и дало возможность выявить фальсификаты. Следует отметить, что авторы указанной работы использовали БИК-спектроскопию только для идентификации производителя лекарственных препаратов, без оценки содержания действующих веществ.

Цель работы – продемонстрировать использование ИК-спектроскопии в ближней области для экспресс-контроля препаратов группы НПВС.

Материалы и методы

Регистрацию ИК-спектров в ближней области инфракрасного диапазона ($4000 - 10000 \text{ см}^{-1}$) проводили с использованием ИК-фурье-спектрометра Frontier компании PerkinElmer (США), с интегрирующей сферой NIRA (PerkinElmer, США). Разрешение составляло 4 см^{-1} , число сканирований – 32 для каждого образца. Для получения инфракрасных спектров лекарственные средства, находящиеся в блистерной упаковке, поочередно помещали на сапфировое окно для образцов и сканировали заданную область спектра. Измерение для каждой пробы проводили три раза. Обработку результатов анализа осуществляли с помощью специализированных программных пакетов: TQ Analyst 9 (v. 9.7.179) и The Unscrambler X (v. 10. 4).

Апробацию метода БИК-спектроскопии проводили на лекарственных препаратах, приобретенных в аптеках г. Владимира. Анализировали лекарственные препараты следующих наименований и производителей: «Ибупрофен» (ибупрофен 200 и 400 мг), «Диклофенак» (диклофенак 50 и 100 мг), «Мелоксикам» (7,5 и 15 мг) – ООО «Озон», Россия; «Ибупрофен Велфарм» (ибупрофен 200 и 400 мг) – ООО «Велфарм», Россия; «Диклофенак Реневал» (диклофенак 50 и 100 мг), «Ацетилсалициловая кислота Кардио» (ацетилсалициловая кислота 50 и 100 мг) – АО ПФК «Обновление», Россия; «Диклофенак» (диклофенак 50 и 100 мг) – «Nemofarm», Россия; «Налгезин» (напроксен 275 и 550 мг) – «KRKA», Словения; «Нексе-мезин» (напроксен 275 и 550 мг), «Эторелекс» (эторикоксиб 30, 60, 90 и 120 мг) – АО «Фарма-синтез», Россия; «Аспирин» (ацетилсалициловая кислота 100 и 300 мг) – «Байер Биттерфельд ГмБХ», Германия; «Мелоксикам» (мелоксикам 7,5 и 15 мг) – АО «Вертекс», Россия.



При изучении инструкций исследуемых препаратов выявлено, что для одних и тех же лекарственных средств производителями используются различные вспомогательные вещества.

Результаты и их обсуждение

ИК-спектры НПВС в ближней области показаны на рис 2.

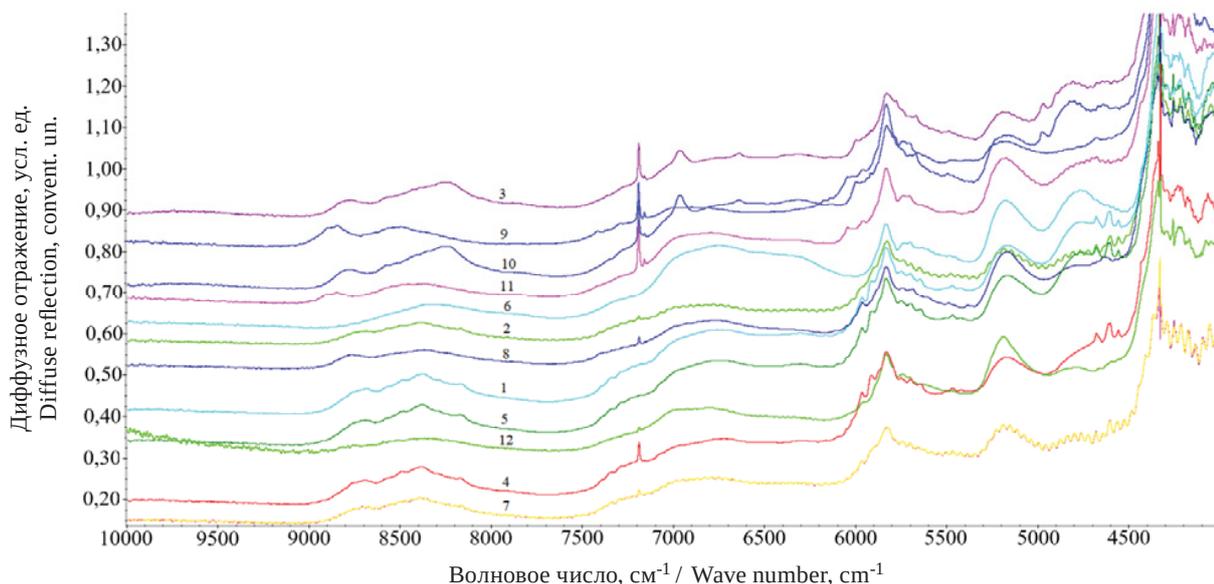


Рис. 2. ИК-спектры анализируемых препаратов НПВС: 1 – Ибупрофен, «Озон» (400 мг); 2 – Ибупрофен Велфарм, «Велфарм» (400 мг); 3 – Налгезин, «КРКА» (550 мг); 4 – Нексемезин, «Фармасинтез» (550 мг); 5 – Диклофенак Реневал, «Обновление ПФК» (100 мг); 6 – Диклофенак, «Озон» (100 мг); 7 – Диклофенак, «Хемофарм/Стада» (100 мг); 8 – Эторелекс, «Фармасинтез» (120 мг); 9 – Аспирин, «Байер Биттерфельд ГмбХ» (300 мг); 10 – Ацетилсалициловая кислота Кардио, «Обновление» (100 мг); 11 – Мелоксикам, «Озон» (15 мг); 12 – Мелоксикам, «Вертекс» (15 мг) (цвет онлайн)

Fig. 2. IR spectra of the analyzed NSAID drugs: 1 – Ibuprofen, «Ozone» (400 mg); 2 – Ibuprofen Welfarm, «Welfarm» (400 mg); 3 – Nalgesin, «KRKA» (550 mg); 4 – Nexemezin, «Pharmasyntesis» (550 mg); 5 – Diclofenac Renewal, «PFC renewal» (100 mg); 6 – Diclofenac, «Ozone» (100 mg); 7 – Diclofenac, «Hemofarm/Stada» (100 mg); 8 – Etoreslex, «Pharmasyntez» (120 mg); 9 – Aspirin, «Bayer Bitterfeld GmbH» (300 mg); 10 – Acetylsalicylic acid Cardio, «Renewal» (100 mg); 11 – Meloxicam, «Ozone» (15 mg); 12 – Meloxicam, «Vertex» (15 mg) (color online)

Из рис. 2 видно, что спектры, используемые для идентификации производителя лекарственных средств, уникальны. С помощью методов многомерного анализа – метода главных компонент (РСА) и иерархического кластерного анализа (НСА) нам удалось провести дифференциацию анализируемых образцов таблеток по их производителю. Так, точки, относящиеся к различным производителям, располагаются в разных квадрантах и образуют отдельные кластеры на дендрограммах (рис. 3).

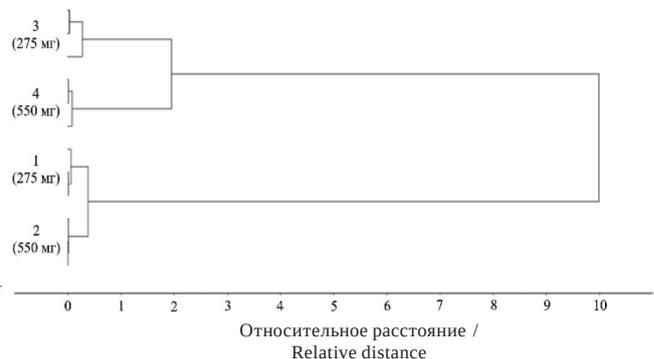
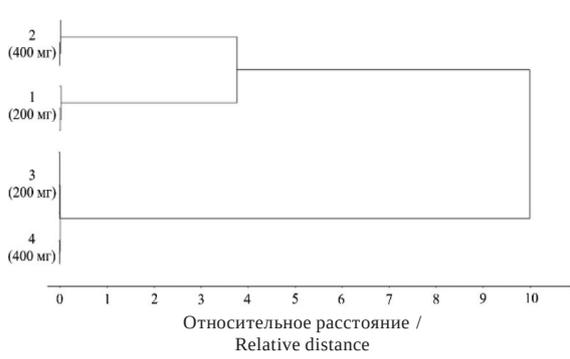
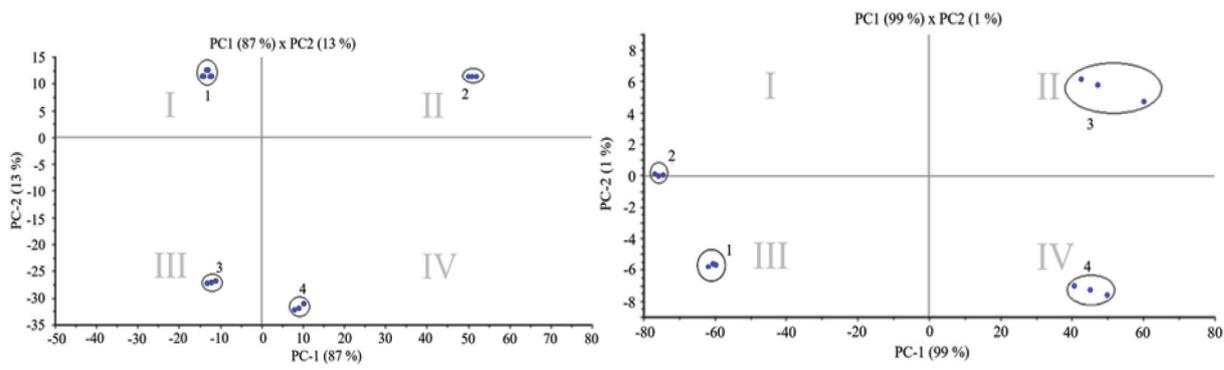
Применение алгоритмов РСА и НСА рассмотрим на примере таблеток «Ибупрофен» разных производителей с содержанием действующего вещества 200 и 400 мг. При использовании метода главных компонент установлено, что четкое различие данных лекарственных препаратов получено для первых двух главных компонент:

ибупрофен фирмы «Озон» располагается в I и II квадрантах, а фирмы «Велфарм» – в III и IV.

Метод иерархического кластерного анализа, кроме дифференциации препаратов по производителю, также позволил установить содержание действующего вещества по тому, в какой кластер-содержание попадет исследуемое лекарственное средство.

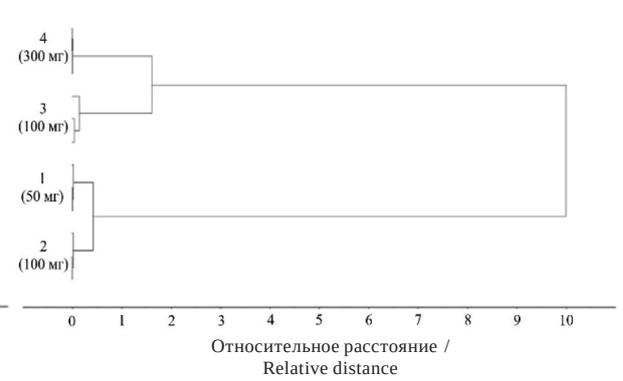
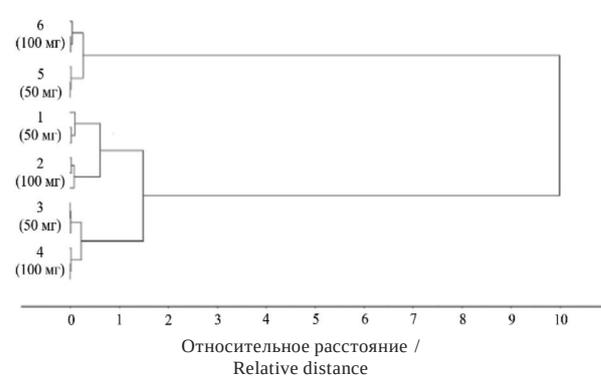
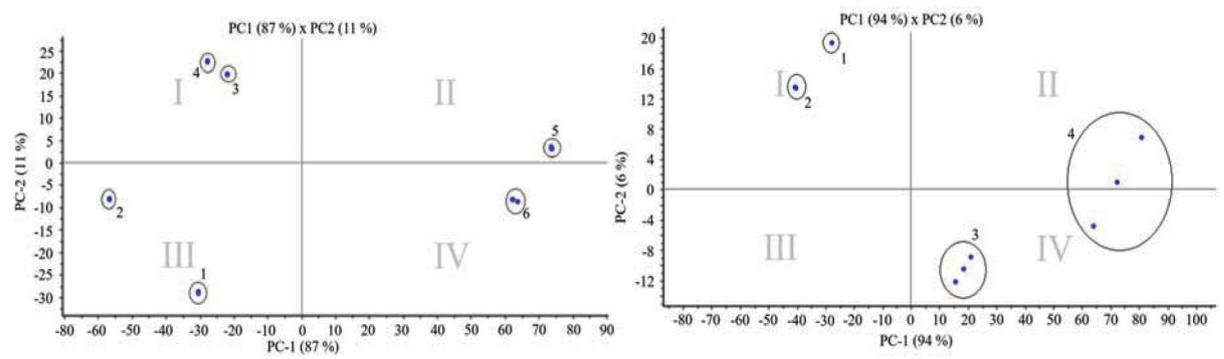
Аналогичные результаты получены для других лекарственных препаратов.

Количественный анализ действующих веществ в анализируемых образцах проводили с использованием алгоритма частичной регрессии метода наименьших квадратов (алгоритм PLS). На основе ИК-спектров образцов сравнения таблетированных форм НПВС в блистерной упаковке строили модели «измерено–предсказано» (рис. 4).



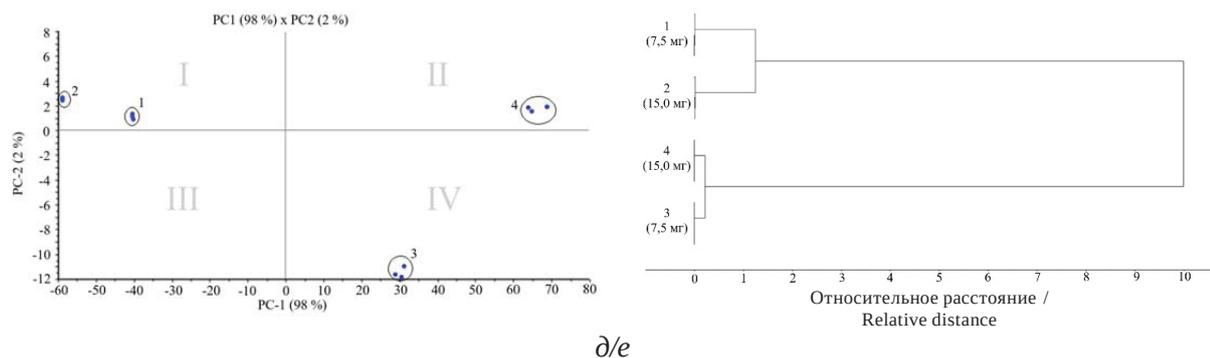
a/a

b/b



c/c

d/d



д/е

Рис 3. Графики PCA и HCA, полученные на основе ИК-спектров. Ибупрофен (а): 1, 2 – Ибупрофен, «Озон»; 3, 4 – Ибупрофен, «Велфарм»; Напроксен (б): 1 – Нексемезин, «Фармасинтез»; 2 – Налгезин, «KRKA»; Диклофенак (в): 1, 2 – Диклофенак, «Озон»; 3, 4 – Диклофенак, «Хемофарм»; 5, 6 – Диклофенак, «Обновление ПФК»; Ацетилсалициловая кислота (г): 1, 2 – Аспирин, «Байер Биттерфельд ГмбХ», 3, 4 – Ацетилсалициловая кислота Кардио, «Обновление»; Мелоксикам (д): 1, 2 – Мелоксикам, «Озон», 3, 4 – Мелоксикам, «Вертекс»

Fig. 3. PCA and HCA plots obtained from IR spectra. Ibuprofen (a): 1, 2 – Ibuprofen, «Ozone»; 3, 4 – Ibuprofen, «Welfarm»; Naproxen (b): 1 – Nexemesin, «Pharmasyntesis»; 2 – Nalgesin, «KRKA»; Diclofenac (c): 1, 2 – Diclofenac, «Ozone»; 3, 4 – Diclofenac, «Hemofarm»; 5, 6 – Diclofenac, «PFC renewal»; Acetylsalicylic acid (d): 1, 2 – Aspirin, «Bayer Bitterfeld GmbH», 3, 4 – Acetylsalicylic acid Cardio, «Renewal»; Meloxicam (e): 1, 2 – Meloxicam, «Ozone», 3, 4 – Meloxicam, «Vertex»

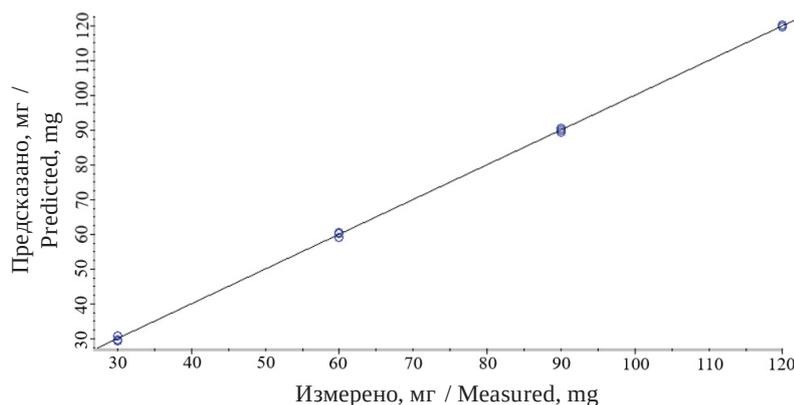


Рис. 4. Зависимость «измерено–предсказано» для определения эторикоксиба в таблетках Эторелекс методом БИК-спектроскопии

Fig. 4. “Measured–predicted” relationships for the determination of etoricoxib in Etoreslex tablets by NIR spectroscopy

Критериями качества калибровочных моделей были выбраны среднеквадратические остатки калибровки (RMSEC, root-mean square error of calibration), проверки (RMSEP, root-mean square error of prediction) и коэффициент корреляции (R^2). При этом чем меньше значения RMSEC и RMSEP, тем точнее построена калибровочная модель. Также точность калибровки (RMSEC) и точность проверки (RMSEP) связаны между собой: улучшение RMSEC неминуемо влечёт ухудшение RMSEP. Кроме этого, чем ближе значение коэффициента корреляции R^2 к единице, тем более точной является модель.

При анализе НПВС методом БИК-спектроскопии значения RMSEC и RMSEP со-

ставляли не более 6,28 мг и 7,38 мг соответственно, значение $R^2 \geq 0,999$ (таблица). В качестве поверочного набора использовали таблетки того же производителя, но другой серии.

В таблице представлены результаты определения действующих веществ в лекарственных препаратах с применением метода PLS. Как видно из таблицы, содержание действующих веществ НПВС, заявленное производителем, совпадает с результатами исследования (с учетом погрешности). Относительные расхождения полученных в ходе анализа значений от приписанных соответствуют допустимым отклонениям, установленным приказом Министерства здравоохранения РФ от 26 октября 2015 г. № 751н.



Результаты анализа лекарственных препаратов с использованием алгоритма PLS ($n = 3, P = 0,95$)

Table. Results of drug analysis using the PLS algorithm ($n = 3, P = 0,95$)

Наименование препарата (действующее вещество) / Name of the drug (active substance)	Заявленное содержание действующего вещества, мг (допустимые отклонения*) / Declared content of active substance, mg (permissible deviations*)	Зависимость «измерено–предсказано» (R^2) / Measured–predicted relationship (R^2)	RMSEC, мг	Найдено, мг в таблетке / Found, mg per tablet	RMSEP, мг	s_r	Относительное отклонение, % / Relative deviation, %
1	2	3	4	5	6	7	8
Ибупрофен, «Озон» (ибупрофен) Ibuprofen, “Ozone” (ibuprofen)	200, 400 ($\pm 8, \pm 6\%$)	$y = 1,000x + 0,183$ (1,000)	0,194	199 \pm 3 401 \pm 7	0,200 0,102	0,01 0,01	-0,4 +0,3
Ибупрофен Велфарм, «Велфарм» (ибупрофен) Ibuprofen Welfarm, “Welfarm” (ibuprofen)	200, 400 ($\pm 8, \pm 6\%$)	$y = 1,000x - 0,491$ (1,000)	0,907	201 \pm 5 400 \pm 7	1,01 0,419	0,01 0,01	+0,4 -0,1
Налгезин, «KRKA» (напроксен) Nalgesin, “KRKA” (naproxen)	275, 550 ($\pm 8, \pm 5\%$)	$y = 1,000x + 0,905$ (1,000)	1,71	275 \pm 5 551 \pm 11	1,06 1,21	0,01 0,01	+0,1 +0,2
Нексебезин, «Фармасинтез» (напроксен) Nexemezin, “Pharmasyntez” (naproxen)	275, 550 ($\pm 8, \pm 5\%$)	$y = 1,000x + 0,014$ (1,000)	6,28	272 \pm 4 543 \pm 8	2,74 7,38	0,01 0,01	-1,2 -1,3
Диклофенак Реневал, «Обновление ПФК» (диклофенак) Diclofenac Renewal, “PFK update” (diclofenac)	50, 100 ($\pm 15, \pm 10\%$)	$y = 1,000x - 0,593$ (1,000)	0,690	51 \pm 2 99 \pm 2	0,513 1,01	0,01 0,01	+1,6 -0,7
Диклофенак, «Озон» (диклофенак) Diclofenac, “Ozone» (diclofenac)	50, 100 ($\pm 15, \pm 10\%$)	$y = 1,000x - 0,028$ (1,000)	0,0574	50 \pm 3 99 \pm 3	0,0193 0,154	0,03 0,01	-0,9 -0,7
Диклофенак, «Хемофарм/Стада» (диклофенак) Diclofenac, “Nemofarm / Herd” (diclofenac)	50, 100 ($\pm 15, \pm 10\%$)	$y = 1,000x + 0,203$ (1,000)	0,420	49 \pm 3 100 \pm 2	0,116 0,547	0,02 0,01	-1,4 +0,5



Окончание таблицы / Continuation of the Table

1	2	3	4	5	6	7	8
Эторелекс, «Фармасинтез» (эторикоксиб) Etoorex, “Pharmasintez” (etoricoxib)	30, 60, 90, 120 (± 15 , ± 10 , ± 10 , $\pm 10\%$)	$y = 1,000x + 0,013$ (1,000)	0,521	29 \pm 5 65 \pm 2 87 \pm 8 122 \pm 2	3,27 4,87 4,43 2,06	0,08 0,01 0,04 0,01	-4,1 +8,4 -3,9 +1,6
Аспирин, «Байер Биттерфельд ГмбХ» (ацетилсалициловая кислота) Aspirin, “Bayer Bitterfeld GmbH” (acetylsalicylic acid)	100, 300 (± 10 , $\pm 8\%$)	$y = 1,000x - 0,166$ (1,000)	0,258	101 \pm 1 300 \pm 6	0,171 0,138	0,01 0,01	+0,5 -0,1
Ацетилсалициловая кислота Кардио, «Обновление ПВК» (ацетилсалициловая кислота) Acetylsalicylic acid Cardio, “PFK update” (acetylsalicylic acid)	50, 100 (± 15 , $\pm 10\%$)	$y = 1,000x - 0,095$ (1,000)	0,197	53 \pm 2 100 \pm 4	0,647 0,347	0,02 0,02	+5,2 -0,4
Мелоксикам, «Озон» (мелоксикам) Meloxicam, “Ozone” (meloxicam)	7,5, 15,0 ($\pm 20\%$)	$y = 0,999x + 0,069$ (0,999)	0,182	7,3 \pm 0,5 15,0 \pm 0,2	0,111 0,0805	0,03 0,01	-2,7 -0,3
Мелоксикам, «Вертекс» (мелоксикам) Meloxicam, “Vertex” (meloxicam)	7,5, 15,0 ($\pm 20\%$)	$y = 1,000x + 0,014$ (1,000)	0,253	7,6 \pm 0,2 15,1 \pm 0,6	0,129 0,329	0,01 0,02	+1,3 +0,4

*Приказ Министерства здравоохранения РФ от 26 октября 2015 г. № 751н.

*The order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated October 26, 2015 no. 751n.

Заключение

В работе представлен экспресс-метод анализа лекарственных препаратов группы НПВС методом БИК-спектроскопии. Обработку ИК-спектров с целью установления производителя и определения концентрации действующего вещества осуществляли с помощью хемометрических алгоритмов – метода главных компонент (РСА), иерархического кластерного анализа (НСА) и частичной регрессии метода наименьших квадратов (PLS). Результаты определения концентрации действующих веществ НПВС с учётом погрешности совпадают с содержанием, заявленным производителем.

Список литературы

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. III. М. : ФЭМБ, 2018. 1926 с.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. ОФС.1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях». 15-е изд. М., 2023. 10 с.
3. Государственная фармакопея Российской Федерации. ОФС.1.2.1.1.0002 «Спектрометрия в средней инфракрасной области». 15-е изд. М., 2023. 10 с.
4. Государственная фармакопея Российской Федерации. ОФС.1.2.1.2.0005.15 «Высокоэффективная жидкостная хроматография». 15-е изд. М., 2023. 17 с.
5. Басова Е. М., Полотнянко Н. А. Стратегия выявления возможной фальсификации лекарственных препаратов на примере таблеток «Ацетилсалициловая



- кислота» и «Парацетамол» // Вестник Международного университета природы, общества и человека «Дубна». Серия: Естественные и инженерные науки. 2020. № 4 (49). С. 3–13.
- Басова Е. М., Литвиненко Ю. Н., Полотнянко Н. А. Определение производителей лекарственных препаратов с применением ИК-спектроскопии и метода главных компонент // Вестник Международного университета природы, общества и человека «Дубна». Серия: Естественные и инженерные науки. 2019. № 2 (43). С. 7–15.
 - Gosavi S. A., Nanaware R. D. An updated review article on simultaneous determination of paracetamol and ibuprofen in tablets RP-HPLC Method // J. In. Res. Techn. 2023. Vol. 9, № 11. P. 145–150.
 - Türk S. C., Kara H. E. S., Basan H., Göğçer N. G. Determination of ibuprofen and paraben in pharmaceutical formulations using flow-injection and derivative spectrophotometry // J. Anal. Chem. 2015. Vol. 70, № 1. P. 50–54.
 - Государственная фармакопея Российской Федерации. ОФС.1.2.1.1.0001 «Спектрометрия в ближней инфракрасной области». 15-е изд. М., 2023. 19 с.
 - Кузьмина Н. Е., Моисеев С. В., Романов Б. К. Проблемы использования метода БИК-спектроскопии для установления подлинности действующего вещества в лекарственных препаратах // Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2021. Т. 11, № 1. С. 49–54.
 - Балыклова К. С., Титова А. В., Садчикова Н. П., Родионова О. Е., Шишова Е. Ю., Скударева Е. Г., Горпинченко Н. В. Анализ таблеток ацетилсалициловой кислоты методом ИК-спектроскопии в ближней области // Вестник Росздравнадзора. 2013. № 2. С. 62–65.
 - Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. OFS.1.2.1.1.0002 «Spektrometriya v sredney infrakrasnoy oblasti» [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. OFS.1.2.1.1.0002 “Mid-infrared spectrometry”]. 15th ed. Moscow, 2023. 10 p. (in Russian).
 - Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. OFS.1.2.1.2.0005.15 «Vysokoeffektivnaya zhidkostnaya khromatografiya» [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. OFS.1.2.1.2.0005.15 “High-performance liquid chromatography”]. 15th. Moscow, 2023. 17 p. (in Russian).
 - Basova E. M., Polotnyanko N. A. Strategy for identifying possible falsification of drugs using the example of Acetylsalicylic acid and Paracetamol tablets. *Bulletin of the International University of Nature, Society and Man “Dubna”*. Series: Natural and Engineering Sciences, 2020, no. 4 (49), pp. 3–13 (in Russian).
 - Basova E. M., Litvinenko Yu. N., Polotnyanko N. A. Identification of manufacturers of drugs using IR spectroscopy and the principal component method. *Journal of the International University of Nature, Society and Man “Dubna”*. Series: Natural and Engineering Sciences, 2019, no. 2 (43), pp. 7–15 (in Russian).
 - Gosavi S. A., Nanaware R. D. An updated review article on simultaneous determination of paracetamol and ibuprofen in tablets RP-HPLC Method. *J. In. Res. Techn.*, 2023, vol. 9, no. 11, pp. 145–150.
 - Türk S. C., Kara H. E. S., Basan H., Göğçer N. G. Determination of ibuprofen and paraben in pharmaceutical formulations using flow-injection and derivative spectrophotometry. *J. Anal. Chem.*, 2015, vol. 70, no. 1, pp. 50–54.
 - Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. OFS.1.2.1.1.0001 «Spektrometriya v blizhney infrakrasnoy oblasti» [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. OFS.1.2.1.1.0001 “Near-infrared spectrometry”]. 15th ed. Moscow, 2023. 19 p. (in Russian).
 - Kuzmina N. E., Moiseev S. V., Romanov B. K. Problems of using the NIR spectrometry method to establish the authenticity of the active substance in drugs. *Bulletin of the Scientific Center for Expertise of Medical Products. Regulatory Research and Examination of Medicines*, 2021, vol. 11, no. 1, pp. 49–54 (in Russian).
 - Balyklova K. S., Titova A. V., Sadchikova N. P., Rodionova O. E., Shishova E. Yu., Skudareva E. G., Gorpinchenko N. V. Analysis of acetylsalicylic acid tablets by IR spectroscopy in near region. *Bulletin of Roszdravnadzor*, 2013, no. 2, pp. 62–65 (in Russian).

References

- Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii [State Pharmacopoeia of the Russian Federation]. 15th ed. Vol. III. Moscow, FEML, 2018. 1926 p. (in Russian).
- Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. OFS.1.2.1.1.0003.15 «Spektrofotometriya v ul'trafiol'etovoy i vidimoy oblastiakh» [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. OFS.1.2.1.1.0003.15 “Ultraviolet-visible spectrophotometry”]. 15th ed. Moscow, 2023. 10 p. (in Russian).

Поступила в редакцию 10.02.2024; одобрена после рецензирования 18.02.2024; принята к публикации 22.02.2024
 The article was submitted 10.02.2024; approved after reviewing 18.02.2024; accepted for publication 22.02.2024



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 144–152

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 144–152

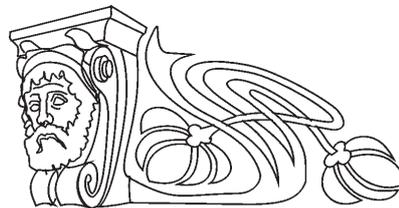
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-144-152>, EDN: IRNGCW

Научная статья

УДК 544.1+544.015.3+544.018.4

Описание и исследование химического взаимодействия в системе $\text{Li}^+, \text{Na}^+ || \text{F}^-, \text{Cl}^-, \text{Br}^-$



А. В. Бурчаков¹✉, И. К. Гаркушин¹, Е. М. Дворянова¹,
У. А. Емельянова¹, А. И. Замалдинова¹, М. В. Чугунова²

¹Самарский государственный технический университет, Россия, 443100, г. Самара, ул. Молодогвардейская, д. 244

²Институт «РЕАВИЗ», Россия, 443030, г. Самара, ул. Чкалова, д. 100

Бурчаков Александр Владимирович, кандидат химических наук, доцент кафедры «Общая и неорганическая химия», av-burchakov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3202-3405>

Гаркушин Иван Кириллович, доктор химических наук, профессор кафедры «Общая и неорганическая химия», gik49@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6038-8519>

Дворянова Екатерина Михайловна, кандидат химических наук, доцент кафедры «Общая и неорганическая химия», dvoryanova_kat@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4370-0990>

Емельянова Ульяна Александровна, аспирант кафедры «Общая и неорганическая химия», uliana_sergeeva@bk.ru, <https://orcid.org/0009-0003-6137-249X>

Замалдинова Алёна Игоревна, студент 4-го курса, alenazamzam11@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0008-4950-9752>

Чугунова Марина Владимировна, кандидат химических наук, доцент, zave-marina@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0000-2511-4539>

Аннотация. Применение расплавов в различных областях промышленности и научных исследованиях основано на изучении свойств расплавов и химических процессов, протекающих в них. В современной технике и технологии значительное количество процессов связано с применением смесей галогенидов лития, натрия в качестве смесей, аккумулирующих тепло, в качестве электролитов для среднетемпературных химических источников тока. Интерес к исследованию с участием таких систем непрерывно возрастает. Рассчитаны тепловые эффекты реакций обмена и энергии Гиббса в тройных взаимных системах четырехкомпонентной взаимной системы $\text{Li}^+, \text{Na}^+ || \text{F}^-, \text{Cl}^-, \text{Br}^-$, а также для смеси, отвечающей центральной точке линии конверсии. Линия конверсии получается в результате пересечения нестабильного и стабильного треугольников. В соответствии с данными расчетов показано, что линии конверсии в остове составов пересекаются в точке конверсии K_3 с максимальным тепловым эффектом реакции, равным сумме тепловых эффектов реакций (а также энергий Гиббса) для смесей, отвечающих точкам конверсии K_1 и K_2 . Для подтверждения стабильности треугольника LiF-NaCl-NaBr , связывающего стабильный тетраэдр LiF-NaCl-NaBr-NaF и стабильный пентагон $\text{LiF-LiCl-LiBr-NaCl-NaBr}$, изучено взаимодействие исходной смеси порошков 50 мол.% $\text{NaF}+25$ мол.% $\text{LiCl}+25$ мол.% LiBr методом термогравиметрии. Проведено отнесение температур фазовых переходов на кривой нагревания смеси. При нагревании со скоростью 20 К/мин экзотермический эффект начинается с 463 °С и завершается при 504 °С. Для стабильного треугольника показана схема кристаллизации расплава состава центральной точки линии конверсии. Стабильные кристаллизующиеся фазы подтверждены рентгенофазовым анализом.

Ключевые слова: четырехкомпонентная взаимная система, галогениды щелочных металлов, стабильный треугольник, термогравиметрия, реакции обмена, линия конверсии, точка конверсии, рентгенофазовый анализ

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № FSSE-2023-0003) в рамках государственного задания Самарского государственного технического университета.

Для цитирования: Бурчаков А. В., Гаркушин И. К., Дворянова Е. М., Емельянова У. А., Замалдинова А. И., Чугунова М. В. Описание и исследование химического взаимодействия в системе $\text{Li}^+, \text{Na}^+ || \text{F}^-, \text{Cl}^-, \text{Br}^-$ // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 144–152. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-144-152>, EDN: IRNGCW

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Description and investigation of chemical interaction in the $\text{Li}^+, \text{Na}^+ || \text{F}^-, \text{Cl}^-, \text{Br}^-$ system

A. V. Burchakov¹✉, I. K. Garkushin¹, E. M. Dvoryanova¹,
U. A. Emelyanova¹, A. I. Zamaldinova¹, M. V. Chugunova²

¹Samara State Technical University, 244 Molodogvardeyskaya St., Samara 443100, Russia

²Institute "REAVIZ", 100 Chkalova St., Samara 443030, Russia

© Бурчаков А. В., Гаркушин И. К., Дворянова Е. М.,
Емельянова У. А., Замалдинова А. И., Чугунова М. В., 2024



Alexander V. Burchakov, av-burchakov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3202-3405>

Ivan K. Garkushin, gik49@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6038-8519>

Ekaterina M. Dvoryanova, dvoryanova_kat@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4370-0990>

Ulyana A. Emelyanova, uliana_sergeeva@bk.ru, <https://orcid.org/0009-0003-6137-249X>

Alena I. Zamaldinova, alenazamzam11@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0008-4950-9752>

Marina V. Chugunova, zave-marina@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0000-2511-4539>

Abstract. The use of melts in various fields of industry and scientific research is based on the study of the properties of melts and the chemical processes occurring in them. In modern engineering and technology, a significant number of processes are associated with the use of mixtures of lithium and sodium halides as mixtures that accumulate heat, as electrolytes for medium-temperature chemical current sources. Therefore, the interest in the study of systems involving such systems is continuously increasing. The paper calculates the thermal effects of exchange reactions and Gibbs energy in ternary reciprocal systems of a quaternary reciprocal system $\text{Li}^+, \text{Na}^+ || \text{F}^-, \text{Cl}^-, \text{Br}^-$, as well as for a mixture corresponding to the central point of the conversion line. The conversion line is obtained as a result of the intersection of unstable and stable triangles. In accordance with the calculation data, it is shown that the conversion lines in the skeleton of the compositions intersect at the conversion point K_3 with the maximum thermal effect of the reaction equal to the sum of the thermal effects of the reactions (as well as the Gibbs energies) for mixtures corresponding to the conversion points K_1 and K_2 . To confirm the stability of the LiF-NaCl-NaBr triangle linking the stable tetrahedron LiF-NaCl-NaBr-NaF and the stable pentatope $\text{LiF-LiCl-LiBr-NaCl-NaBr}$, the interaction of the initial powder mixture of 50 mol % $\text{NaF} + 25 \text{ mol. \% LiCl} + 25 \text{ mol. \% LiBr}$ has been studied by thermogravimetry. The phase transition temperatures are assigned to the heating curve of the mixture. When heated at a rate of 20 K/min, the exothermic effect begins at 463 °C and ends at 504 °C. For a stable triangle, a melt crystallization scheme of the composition of the central point of the conversion line is shown. Stable crystallizing phases have been confirmed by X-ray phase analysis.

Keywords: quaternary reciprocal system, alkali metal halides, stable triangle, thermogravimetry, exchange reactions, conversion line, conversion point, X-ray phase analysis

Acknowledgements. The work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (theme No. FSSE-2023-0003) as part of the state task of the Samara State Technical University.

For citation: Burchakov A. V., Garkushin I. K., Dvoryanova E. M., Emelyanova U. A., Zamaldinova A. I., Chugunova M. V. Description and investigation of chemical interaction in the $\text{Li}^+, \text{Na}^+ || \text{F}^-, \text{Cl}^-, \text{Br}^-$ system. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 144–152 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-144-152>, EDN: IRNGCW

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Применение расплавов в различных областях промышленности и научных исследованиях основано на изучении свойств расплавов и химических процессов, протекающих в них [1–9]. В современной технике и технологии значительное количество процессов связано с применением смесей галогенидов лития, натрия в качестве смесей, аккумулирующих тепло [10, 11], в качестве электролитов для среднетемпературных химических источников тока [12–14]. Применяемые солевые смеси галогенидов включают преимущественно два или три компонента. Это связано со сложностью исследования систем с числом компонентов четыре и более. Для выявления перспективных в прикладном отношении сплавов необходимы данные о фазовых равновесиях и химических превращениях с участием указанных галогенидов [15].

Целью настоящей работы является описание химического взаимодействия в тройных взаимных системах, входящих в четырехкомпонентную взаимную систему $\text{Li}^+, \text{Na}^+ || \text{F}^-, \text{Cl}^-, \text{Br}^-$, описание и исследование химического взаимодействия в четырехкомпонентной взаимной системе.

Теоретическая часть

Описание химического взаимодействия на основе термодинамических расчетов. Развертка призмы составов четырехкомпонентной взаимной системы $\text{Li}^+, \text{Na}^+ || \text{F}^-, \text{Cl}^-, \text{Br}^-$, построенная по данным [16–20], приведена на рис. 1. С использованием данных по стандартным значениям энтальпий и энергий Гиббса исходных солей [21, 22] проведены расчеты энтальпий и энергий Гиббса реакций обмена в тройных взаимных системах, ограничивающих призму составов четырехкомпонентной взаимной системы (табл. 1, 2). В соответствии с данными расчетов показано, что линии конверсии в остове составов пересекаются в точке конверсии K_3 с максимальным тепловым эффектом реакции, равным сумме тепловых эффектов реакций (а также энергий Гиббса) для смесей, отвечающих точкам конверсии K_1 и K_2 [23–27]. Две системы $\text{Li}^+, \text{Na}^+ || \text{F}^-, \text{Cl}^-$ и $\text{Li}^+, \text{Na}^+ || \text{F}^-, \text{Br}^-$ по классификации А. Г. Бергмана и Н. С. Домбровской относятся к необратимо-взаимным, а система $\text{Li}^+, \text{Na}^+ || \text{Cl}^-, \text{Br}^-$ является обратимо-взаимной [28].

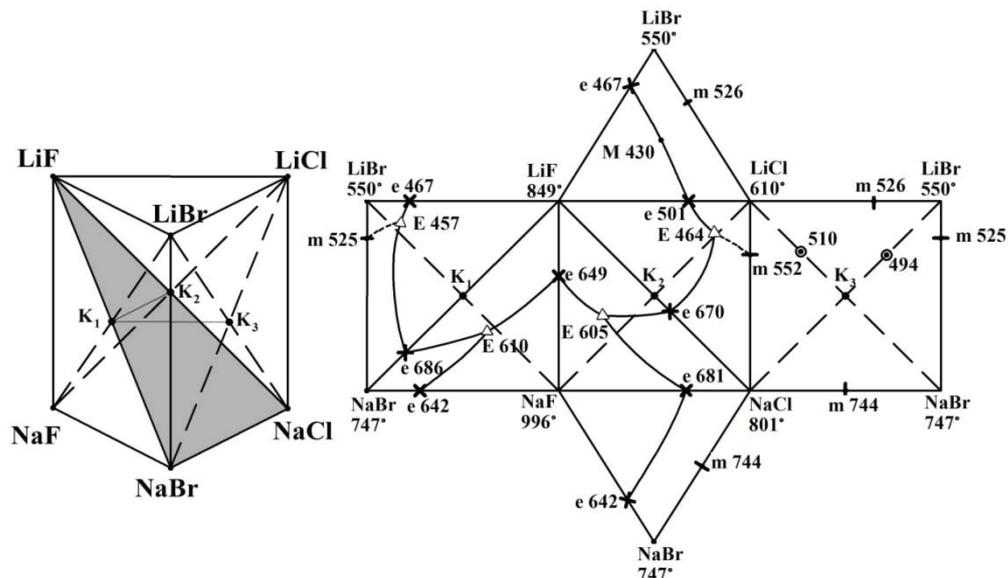


Рис. 1. Расположение линии конверсии K_1 - K_2 в пересечении нестабильного треугольника NaF-LiCl-LiBr со стабильным LiF-NaCl-NaBr в призме составов системы $Li^+, Na^+ || F^-, Cl^-, Br^-$ [28]
 Fig. 1. The location of the K_1 - K_2 conversion line at the intersection of the unstable triangle NaF-LiCl-LiBr with stable LiF-NaCl-NaBr in the prism of the compositions of the system $Li^+, Na^+ || F^-, Cl^-, Br^-$ [28]

Таблица 1 / Table 1

Энтальпии и энергии Гиббса реакций обмена в смесях, отвечающих точкам полной конверсии тройных взаимных систем [28]
Enthalpy and Gibbs energies of exchange reactions in mixtures corresponding to the points of complete conversion of ternary reciprocal systems [28]

Система System	Реакция в точке конверсии Reaction at the point of conversion	Энтальпия реакции $-\Delta_1 H_{298}^0$, кДж Enthalpy of the reaction $-\Delta_1 H_{298}^0$, kJ	Энергия Гиббса $-\Delta_1 G_{298}^0$, кДж Gibbs Energy $-\Delta_1 G_{298}^0$, kJ
$Li^+, Na^+ F^-, Cl^-$	$K_1 \text{ NaF} + \text{LiCl} = \text{LiF} + \text{NaCl}$	44,894	44,10
$Li^+, Na^+ F^-, Br^-$	$K_3 \text{ NaF} + \text{LiBr} = \text{LiF} + \text{NaBr}$	51,995	51,225
$Li^+, Na^+ Cl^-, Br^-$	$K_2 \text{ NaCl} + \text{LiBr} = \text{LiCl} + \text{NaBr}$	7,101	7,125

Таблица 2 / Table 2

Энтальпии и энергии Гиббса реакций обмена в тройных взаимных системах четырехкомпонентной взаимной системы $Li^+, Na^+ || F^-, Cl^-, Br^-$
Enthalpy and Gibbs energies of exchange reactions in ternary reciprocal systems of a quaternary reciprocal system $Li^+, Na^+ || F^-, Cl^-, Br^-$

Система System	Реакции в смесях, отвечающих точкам полной конверсии Reactions in mixtures corresponding to full conversion points	Температура, К Temperature, K	Энтальпия реакции $-\Delta_1 H_{298}^0$, кДж Enthalpy of the reaction $-\Delta_1 H_{298}^0$, kJ	Энергия Гиббса $-\Delta_1 G_{298}^0$, кДж Gibbs Energy $-\Delta_1 G_{298}^0$, kJ
$Li^+, Na^+ F^-, Cl^-$	$K_1 \text{ NaF} + \text{LiCl} = \text{LiF} + \text{NaCl}$	400	44,618	43,278
		600	44,908	42,539
		800	45,079	41,720
		1000	65,084	38,232
$Li^+, Na^+ F^-, Br^-$	$K_3 \text{ NaF} + \text{LiBr} = \text{LiF} + \text{NaBr}$	400	52,205	50,907
		600	52,397	50,214
		800	53,010	49,419
		1000	71,700	44,595



Данные по разбиению тройных взаимных систем позволили провести разбиение на симплексы четырехкомпонентной взаимной системы. Древо фаз, включающее стабильный тетраэдр LiF-NaCl-NaBr- NaF и стабильный пентаэдр LiF- LiCl- LiBr -NaCl-NaBr, соединяющиеся между собой стабильным треугольником LiF-NaCl-NaBr (рис. 2), получены в работе [28].

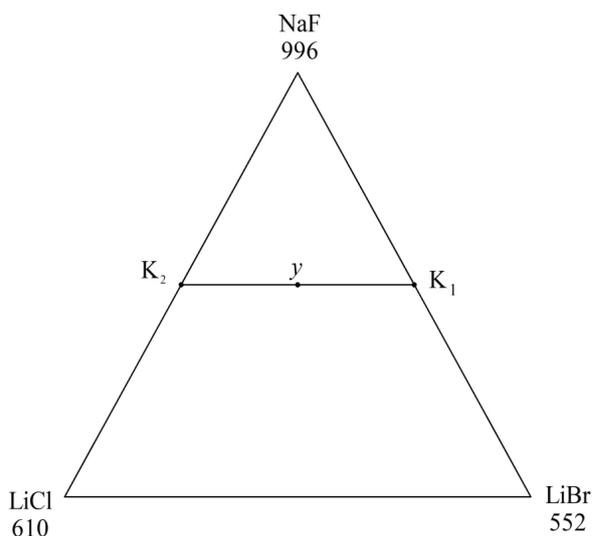


Рис. 2. Расположение смеси у на линии конверсии K_1-K_2 в нестабильном треугольнике NaF-LiCl-LiBr

Fig. 2. The location of the y mixture on the K_1-K_2 conversion line in the unstable triangle NaF-LiCl-LiBr

Экзотермический характер реакции, приведенной в табл. 3, подтвердим экспериментально проведением химического взаимодействия смесей порошков исходных солей. Методика эксперимента описана ранее в работе [29].

Результаты и их обсуждение

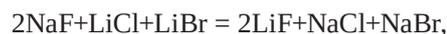
Взаимодействие смесей из порошков, отвечающих центральной точке линии конверсии K_1-K_2 системы $Li^+, Na^+ || F^-, Cl^-, Br^-$.

На кривой ДТА нагрева смеси 50 мол.% NaF+25 мол.% LiCl+25 мол.% LiBr (центральная точка у линии конверсии K_1-K_2 , см. рис. 1, 2) отмечен экзотермический эффект при 463 °С и четыре эндоэффекта при 428, 644 и 725 °С (рис. 3). На кривой охлаждения расплавленной смеси отмечено три экзотэффекта при 726, 666 и 593 °С (рис. 4).

Для центральной точки у линии конверсии K_1-K_2 расчет энтальпии реакции и энергии Гиббса приведен в табл. 3.

Расчет энтальпий и энергий Гиббса реакций обмена в смесях, отвечающих точкам конверсии тройных взаимных систем и центральной точке у линии конверсии K_1-K_2 для температур 298, 400, 600, 800 и 1000 К (см. рис. 1, табл. 1, 2) показал незначительные абсолютные и относительные отклонения в определении направления реакций обмена. Только для $T = 1000$ К имеются отклонения ~ до 20% по сравнению со стандартными энтальпиями и энергиями Гиббса реакций обмена.

Анализ кривой ДТА нагревания смеси, отвечающей точке у (50 мол.% NaF+25 мол.% LiCl+25 мол.% LiBr) (см. рис. 3), показывает, что появление жидкой фазы в образце начинается при 428 °С и при достаточном ее накоплении протекает реакция обмена



начало которой осуществляется при 463 °С и заканчивается при 504 °С. Начало реакции

Таблица 3 / Table 3

Энтальпии и энергии Гиббса, отвечающие смеси центральной точки линии конверсии K_1-K_2 системы $Li^+, Na^+ || F^-, Cl^-, Br^-$

Enthalpy and Gibbs energies corresponding to mixtures of the central point of the K_1-K_2 conversion line of the $Li^+, Na^+ || F^-, Cl^-, Br^-$ system-

Центральная точка линии конверсии Central point of the conversion line	Реакция Reaction	Температура, К Temperature, K	Энтальпия реакции $-\Delta_1 H_{298}^0$, кДж Enthalpy of the reaction $-\Delta_1 H_{298}^0$, kJ	Энергия Гиббса $-\Delta_1 G_{298}^0$, кДж Gibbs Energy $-\Delta_1 G_{298}^0$, kJ
у (K_1-K_2)	$2NaF + LiCl + LiBr = 2LiF + NaCl + NaBr$	400	96,821	94,185
		600	97,305	92,753
		800	98,089	91,139
		1000	136,784	82,827

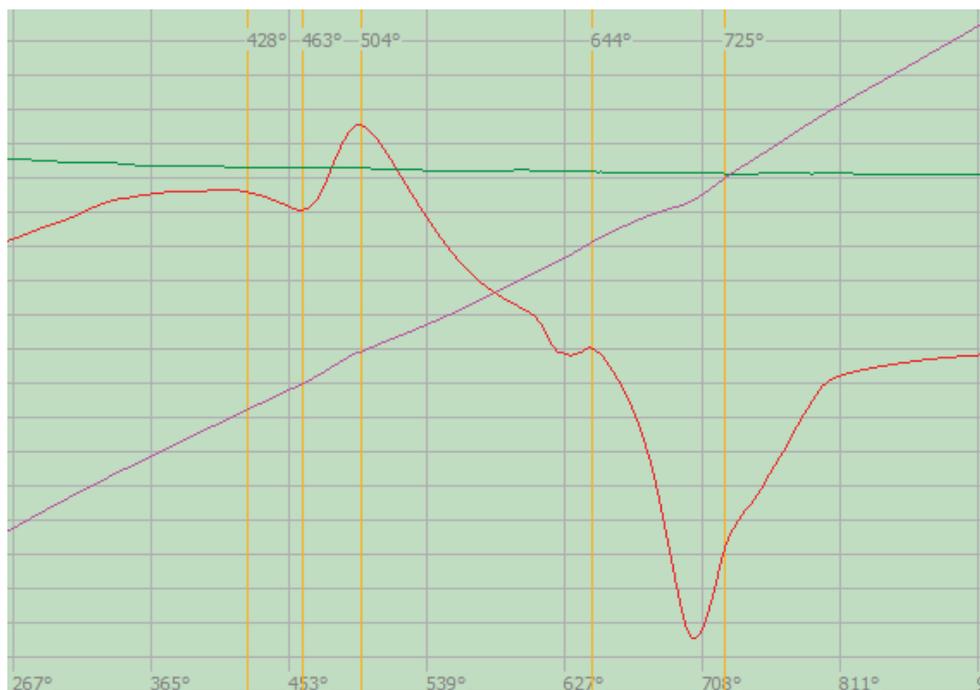


Рис. 3. Дериватограмма нагревания смеси порошков 50% мол. NaF + 25% мол. LiCl + 25% мол. LiBr (цвет онлайн)

Fig. 3. Derivatogram of heating a mixture of powders of 50% mol. NaF + 25% mol. LiCl + 25% mol. LiBr (color online)

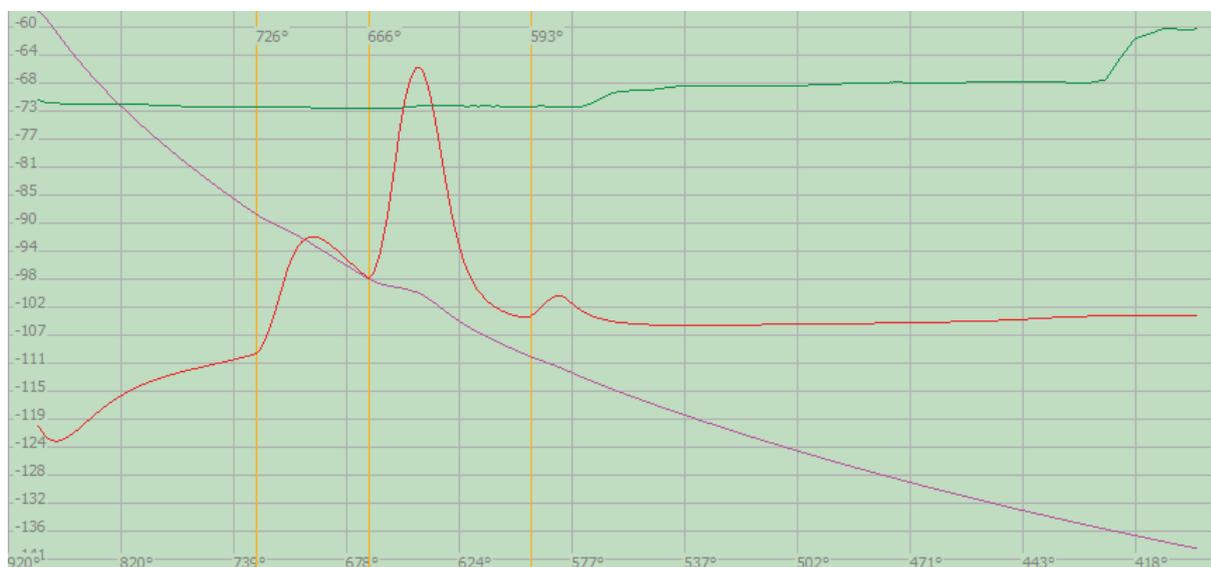


Рис. 4. Дериватограмма охлаждения смеси порошков 50% мол. NaF + 25% мол. LiCl + 25% мол. LiBr (цвет онлайн)

Fig. 4. Derivatogram of cooling a mixture of powders of 50% mol. NaF + 25% mol. LiCl + 25% mol. LiBr (color online)

близко к температуре смеси на моновариантной кривой, соединяющей низкоплавкие эвтектики E 457 (система $\text{Li}^+, \text{Na}^+ \parallel \text{F}^-, \text{Br}^-$) и 464°C (система $\text{Li}^+, \text{Na}^+ \parallel \text{F}^-, \text{Cl}^-$). Второй эндоэффект на нагревании отвечает началу плавления

смеси после реакции, а третий эндоэффект – полному плавлению стабильных продуктов реакции смеси $2\text{LiF} + \text{NaCl} + \text{NaBr}$, т.е. температуре ликвидуса. Схема кристаллизации смеси у показана на рис. 5.

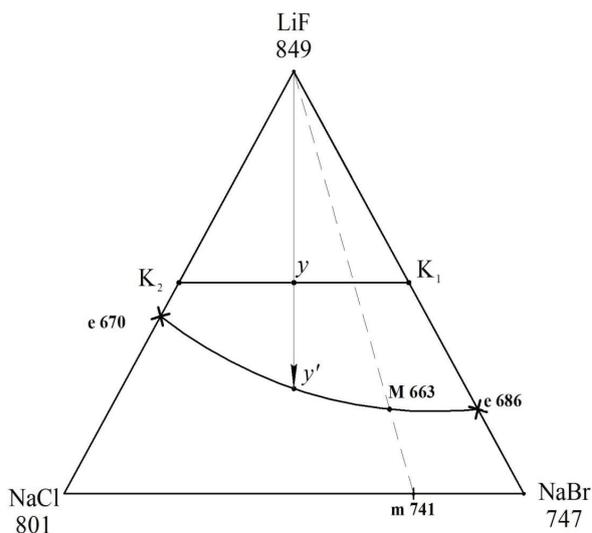


Рис. 5. Схема кристаллизации смеси y на линии конверсии K_1 - K_2 в стабильном треугольнике LiF-NaCl-NaBr
Fig. 5. Scheme of crystallization of the y mixture on the K_1 - K_2 conversion line in a stable LiF-NaCl-NaBr triangle

Первичной кристаллизации из расплава в стабильном треугольнике LiF-NaCl-NaBr отвечает фаза LiF (первый экзоэффект на кривой охлаждения смеси y (см. рис. 4, 5) при 726 °С, температура ликвидуса. Вторичной кристаллизации смеси $\text{LiF} + \text{NaCl}_x\text{Br}_{1-x}$ отвечает экзоэффект при 666 °С (на кривой, соединяющей перевальные точки e 686 и e 670 систем $\text{Li}^+, \text{Na}^+ \parallel \text{F}^-, \text{Br}^-$ и $\text{Li}^+, \text{Na}^+ \parallel \text{F}^-, \text{Cl}^-$ соответственно).

Третий экзоэффект отвечает кристаллизации $\text{LiF} + \text{NaCl}_x\text{Br}_{1-x} + \text{NaF}$ (ОТР-границный твердый раствор между LiF и NaF) на линии, соединяющей тройные эвтектики E 610 (система $\text{Li}^+, \text{Na}^+ \parallel \text{F}^-, \text{Br}^-$) и E 605 (система $\text{Li}^+, \text{Na}^+ \parallel \text{F}^-, \text{Cl}^-$) вследствие дивергенции, т.е. несовпадения состава максимума в ликвидусе (состава жидкой фазы) и состава твердой фазы. Смесь, состав которой соответствует минимуму M 663, подвергли дополнительному изучению на образующиеся фазы после сплавления и дальнейшей кристаллизации методом рентгенофазового анализа. Дифрактограмма образца (рис. 6) указывает на образование фаз твердого LiF и непрерывных рядов твердых растворов состава $\text{NaCl}_{0,3}\text{Br}_{0,7}$. Для подтверждения формирования фазы $\text{NaCl}_{0,3}\text{Br}_{0,7}$ дополнительно провели синтез данной фазы и получили дифрактограмму (рис. 7). Сравнение рефлексов на рис. 6 и 7 указывает на формирование фазы твердых растворов в исследуемом образце.

Заключение

1. Проведены термодинамические расчеты направления реакций обмена в тройных взаимных системах четырехкомпонентной взаимной системы из фторидов, хлоридов, бромидов лития и натрия для температур 400, 600, 800, 1000 °С.

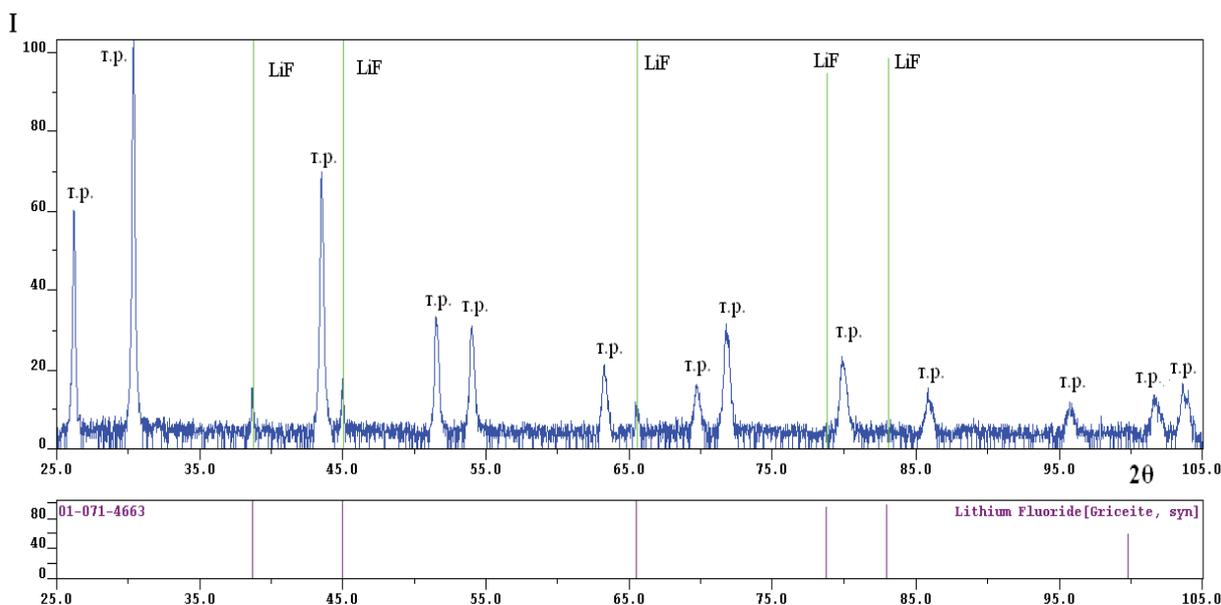


Рис. 6. Дифрактограмма образца смеси минимума M 663 20% LiF + 24% NaCl + 56% NaBr (цвет онлайн)
Fig. 6. Diffractogram of a sample of a mixture of minimum M 663 20% LiF + 24% NaCl + 56% NaBr (color online)

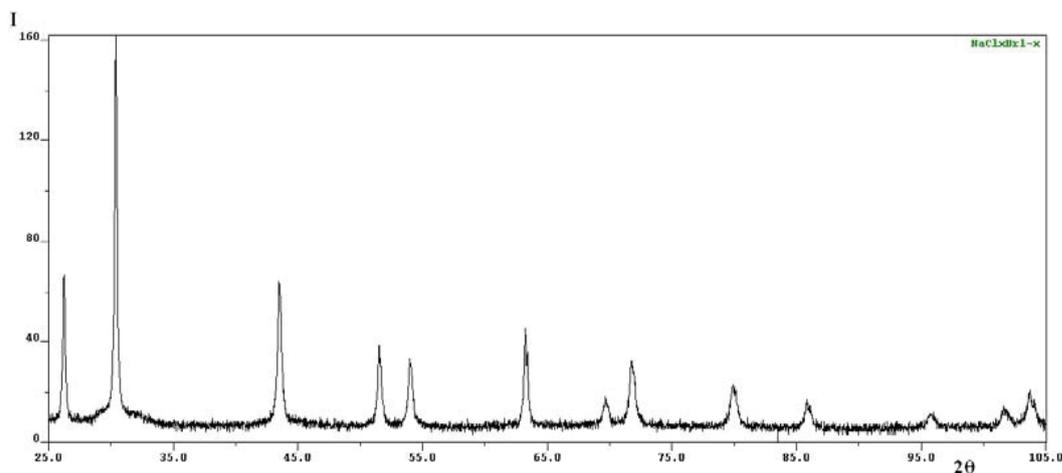


Рис. 7. Дифрактограмма образца смеси 30% NaCl + 70% NaBr
Fig. 7. Diffractogram in the form of a mixture of 30% NaCl + 70% NaBr

2. Необратимость реакции обмена $2\text{NaF} + \text{LiCl} + \text{LiBr} = 2\text{LiF} + \text{NaCl} + \text{NaBr}$ подтверждена исследованием исходной порошкообразной гомогенизированной смеси методом ТГА, на кривой нагревания которой отмечено наличие экзоэффекта при 463 °С.

3. В стабильном треугольнике LiF-NaCl-NaBr смесь, отвечающая центральной точке линии конверсии $\text{K}_1\text{-K}_2$ после расплавления и кристаллизации содержит две фазы – $\text{LiF} + \text{NaCl}_x\text{Br}_{1-x}$, что подтверждено и исследованиями в работе [28, 29].

Список литературы

1. Делимарский Ю. К., Барчук Л. П. Прикладная химия ионных расплавов. Киев : Наук. думка, 1988. 192 с.
2. Гаркушин И. К. Применение солевых, оксидно-солевых и оксидных составов в технологии // Термический анализ и фазовые равновесия. Пермь : Перм. гос. ун-т, 1984. С. 101–111.
3. Делимарский Ю. К. Химия ионных расплавов. Киев : Наук. думка, 1980. 323 с.
4. Присяжный В. Д., Кириллов С. А. Химические процессы в расплавленных солевых средах // Ионные расплавы. 1975. № 3. С. 82–90.
5. Khokhlov V., Ignatiev V., Afonichkin V. Evaluating physical properties of molten salt reactor fluoride mixtures // Journal of Fluorine Chemistry. 2009. Vol. 130, № 1. P. 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2008.07.018>
6. Sangster J., Pelton A. D. Thermodynamic calculation of phase diagrams of 60 common-ion ternary systems with ordinary ions containing cations Li, Na, K, Rb, Cs and anions F, Cl, Br, I // J. of Phase Equilibria. 1991. Vol. 12, № 5. P. 511–537. <https://doi.org/10.1007/BF02645064>
7. Sangster J., Pelton A. D. Phase diagrams and thermodynamic properties of 70 binary alkaline-halide systems containing common ions // J. Phys. Chem. Ref. Data. 1987. Vol. 16, № 3. P. 509–561. <https://doi.org/10.1063/1.555803>
8. Минченко В. И., Степанов В. П. Ионные расплавы: упругие и калориметрические свойства. Екатеринбург : УрО РАН, 2008. 340 с.
9. Janz G. J. Thermodynamic and Transport Properties for Molten Salts // J. of Physical and Chemical Reference Data. 1988. Vol. 17, № 2. 319 p.
10. Васина Н. А., Грызлова Е. С., Шапошникова С. Г. Теплофизические свойства многокомпонентных солевых систем. М. : Химия, 1984. 112 с.
11. Чернеева Л. И., Родионова Е. К., Мартынова Н. М. Энтальпия плавления солевых эвтектик. Обзоры по теплофизическим свойствам веществ. М. : Ин-т высоких температур АН СССР, 1980. № 3 (23). 56 с.
12. Химические источники тока : справочник / под ред. Н. В. Коровина, А. М. Скундина. М. : Издательство МЭИ, 2003. 740 с.
13. Коровин Н. В. Электрохимическая энергетика. М. : Энергоатомиздат, 1991. 264 с.
14. Баталов Н. Н. Высокотемпературная электрохимическая энергетика. Успехи и проблемы // XI Междунар. конф. по физ. химии и электрохимии расплавленных и твердых электролитов : тез. докл. Екатеринбург : ИВТЭ, 1998. Т. 1. С. 3–4.
15. Гаркушин И. К., Кондратюк И. М., Дворянова Е. М., Данилушкина Е. Г. Анализ, прогнозирование и экспериментальное исследование рядов систем из галогенидов щелочных и щелочноземельных элементов. Самара : Самар. гос. техн. ун-т, 2007. 148 с.
16. Посыпайко В. И. Диаграммы плавкости солевых систем. Ч. I. Двойные системы с общим анионом / под ред. В. И. Посыпайко, Е. А. Алексеевой. М. : Металлургия, 1977. 216 с.
17. Посыпайко В. И. Диаграммы плавкости солевых систем. Ч. II. Двойные системы с общим анионом / под ред. В. И. Посыпайко, Е. А. Алексеевой. М. : Металлургия, 1977. 304 с.



18. Посыпайко В. И. Диаграммы плавкости солевых систем. Ч. III. Двойные системы с общим катионом / под ред. В. И. Посыпайко, Е. А. Алексеевой. М. : Металлургия. 1979. 204 с.
19. Посыпайко В. И., Алексеева Е. А. Диаграммы плавкости солевых систем. Тройные системы. М. : Химия, 1977. 328 с.
20. Диаграммы плавкости солевых систем. Тройные взаимные системы / под ред. В. И. Посыпайко, Е. А. Алексеевой. М. : Химия, 1977. 392 с.
21. Термические константы веществ. Справочник / под ред. В. П. Глушко. М. : ВИНТИ, 1981. Вып. X, ч. 1. 300 с.
22. Barin I. Thermochemical data of pure substances // VCH Verlagsgesellschaft mbH, D – 69451. Weinheim, 1995. 1117 p.
23. Радищев В. П. Многокомпонентные системы. М. : Деп. в ВИНТИ АН СССР, 1963. № 1516-63. С. 502.
24. Посыпайко В. И. Методы исследования многокомпонентных систем. М. : Наука, 1978. 255 с.
25. Посыпайко В. И., Васина Н. А., Грызлова Е. С. Конверсионный метод исследования многокомпонентных взаимных солевых систем // Докл. АН СССР. 1975. Т. 23, № 5. С. 1191–1194.
26. Козырева Н. А. Матрицы фигур конверсии пятикомпонентных взаимных систем из 9 солей // Докл. РАН. 1992. Т. 325, № 3. С. 530–535.
27. Трунин А. С. Комплексная методология исследования многокомпонентных систем. Самара : СамГТУ, 1997. 308 с.
28. Гаркушин И. К., Чугунова М. В., Милов С. Н. Образование непрерывных рядов твердых растворов в тройных и многокомпонентных солевых системах. Екатеринбург : УрО РАН, 2011. 140 с.
29. Гаркушин И. К., Истомова М. А., Гаркушин А. И., Егорцев Г. Е. Химическое взаимодействие эквивалентных количеств MF и NaBr (M – K, Rb, Cs) при термическом активировании и кристаллизация из расплава // Изв. вузов. Химия и хим. технология. 2020. Т. 63, вып. 4. С. 55–62. <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20206304.6159>
5. Khokhlov V., Ignatiev V., Afonichkin V. Evaluating physical properties of molten salt reactor fluoride mixtures. *Journal of Fluorine Chemistry*, 2009, vol. 130, no. 1, pp. 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2008.07.018>
6. Sangster J., Pelton A. D. Thermodynamic calculation of phase diagrams of 60 common-ion ternary systems with ordinary ions containing cations Li, Na, K, Rb, Cs and anions F, Cl, Br, I. *J. of Phase Equilibria*, 1991, vol. 12, no. 5, pp. 511–537. <https://doi.org/10.1007/BF02645064>
7. Sangster J., Pelton A. D. Phase diagrams and thermodynamic properties of 70 binary alkaline-halide systems containing common ions. *J. Phys. Chem. Ref. Data*, 1987, vol. 16, no. 3, pp. 509–561. <https://doi.org/10.1063/1.555803>
8. Minchenko V. I., Stepanov V. P. *Ionnye rasplavy: uprugie i kalorimetricheskie svoistva* [Ionic melts: Elastic and calorimetric properties]. Ekaterinburg, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences Publ., 2008. 340 p. (in Russian).
9. Janz G. J. Thermodynamic and transport properties for molten salts. *J. of Physical and Chemical Reference Data*, 1988, vol. 17, no. 2. 319 p.
10. Vasina N. A., Gryzlova E. S., Shaposhnikova S. G. *Teplofizicheskie svoistva mnogokomponentnykh solevykh sistem* [Thermophysical properties of multicomponent salt systems]. Moscow, Khimiya, 1984. 112 p. (in Russian).
11. Cherneeva L. I., Rodionova E. K., Martynova N. M. *Ental'piia plavleniia solevykh evtektik. Obzory po teplofizicheskim svoistvam veshchestv* [Melting enthalpy of salt eutectics. Reviews on the thermophysical properties of substances]. Moscow, Institute of High Temperatures of the USSR Academy of Sciences Publ., 1980, no. 3 (23). 56 p. (in Russian).
12. Korovina N. V., Skundina A. M., eds. *Khimicheskie istochniki toka: spravochnik* [Chemical current sources: Handbook]. Moscow, MPEI Publishing House, 2003. 740 p. (in Russian).
13. Korovin N. V. *Elektrokhimicheskaya energetika* [Electrochemical energetics]. Moscow, Energoatomizdat, 1991. 264 p. (in Russian).
14. Batalov N. N. High-temperature electrochemical energy. Successes and problems. *XI Mezhdunar. konf. po fiz. khimii i elektrokhemii rasplavlennykh i tverdykh elektrolitov: Tez. dokl.* [XI Int. conf. in physics chemistry and electrochemistry of molten and solid electrolytes: Proc. report]. Ekaterinburg, Institute of High Temperature Electrochemistry Publ., 1998, vol. 1, pp. 3–4 (in Russian).
15. Garkushin I. K., Kondratyuk I. M., Dvoryanova E. M., Danilushkina E. G. *Analiz, prognozirovaniye i eksperimental'noye issledovaniye riadov sistem iz galogenidov shchelochnykh i shchelochnozemel'nykh elementov* [Analysis, prediction and experimental study of a series of systems of halides of alkali and alkaline earth elements]. Samara, Samara State Technical University Publ., 2007. 148 p. (in Russian).
16. Posypaiko V. I. *Digrammy plavkosti solevykh sistem. Pod red. V. I. Posypaiko, E. A. Alekseevoy. Ch. I. Dvoynye sistemy s obshchim anionom* [Posypaiko V. I., Alekseeva E. A., eds. Fusibility diagrams of salt systems. Part I. Binary systems with a common anion]. Moscow, Metallurgiya, 1977. 216 p. (in Russian).

References

1. Delimarsky Yu. K., Barchuk L. P. *Prikladnaia khimiia ionnykh rasplavov* [Applied chemistry of ionic melts]. Kyiv, Nauk. dumka, 1988. 192 p. (in Russian).
2. Garkushin I. K. Application of salt, oxide-salt and oxide compositions in technology. In: *Termicheskii analiz i fazovye ravnovesiia* [Thermal analysis and phase equilibria]. Perm, Perm State University Publ., 1984, pp. 101–111 (in Russian).
3. Delimarsky Yu. K. *Khimiia ionnykh rasplavov* [Chemistry of ionic melts]. Kyiv, Nauk. dumka, 1980. 323 p. (in Russian).
4. Prisyazhny V. D., Kirillov S. A. Chemical processes in molten salt media. *Ionnye rasplavy* [Ionic melts], 1975, no. 3, pp. 82–90 (in Russian).



17. Posypaiko V. I. *Diagrammy plavkosti solevykh sistem. Ch. II. Dvoynye sistemy s obshchim anionom. Pod red. V. I. Posypaiko, E. A. Alekseevoy* [Posypaiko V. I., Alekseeva E. A., eds. Fusibility diagrams of salt systems. Part II. Binary systems with a common anion]. Moscow, Metallurgiya, 1977. 304 p. (in Russian).
18. Posypaiko V. I. *Diagrammy plavkosti solevykh sistem. Ch. III. Dvoynye sistemy s obshchim kationom. Pod red. V. I. Posypaiko, E. A. Alekseevoy* [Posypaiko V. I., Alekseeva E. A., eds. Fusibility diagrams of salt systems. Part III. Binary systems with a common cation]. Moscow, Metallurgiya, 1979. 204 p. (in Russian).
19. Posypaiko V. I., Alekseeva E. A. *Diagrammy plavkosti solevykh sistem. Troinye sistemy* [Fusibility diagrams of salt systems. Triple systems]. Moscow, Khimiia, 1977. 328 p. (in Russian).
20. *Diagrammy plavkosti solevykh sistem. Troinye vzaimnye sistemy. Pod red. V. I. Posypaiko, E. A. Alekseevoy* [Posypaiko V. I., Alekseeva E. A., eds. Fusibility diagrams of salt systems. Triple reciprocal systems]. Moscow, Khimiia, 1977. 392 p. (in Russian).
21. *Termicheskie konstanty veshchestv. Spravochnik. Pod red. V. P. Glushko* [Glushko V. P., ed. Thermal constants of substances. Directory]. Moscow, VINITI, 1981, iss. X, part 1. 300 p. (in Russian).
22. Barin I. *Thermochemical data of pure substances*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, D – 69451. Weinheim, 1995. 1117 p.
23. Radishchev V. P. *Mnogokomponentnye sistemy* [Multicomponent systems]. Moscow, Dep. in VINITI AN USSR, 1963, no. 1516-63, pp. 502 (in Russian).
24. Posypaiko V. I. *Metody issledovaniia mnogokomponentnykh sistem* [Methods for studying multicomponent systems]. Moscow, Nauka, 1978. 255 p. (in Russian).
25. Posypaiko V. I., Vasina N. A., Gryzlova E. S. Conversion method for studying multicomponent mutual salt systems. *Reports of Academy of Sciences of the USSR*, 1975, vol. 23, no. 5, pp. 1191–1194 (in Russian).
26. Kozyreva N. A. Matrices of conversion figures of five-component reciprocal systems of 9 salts. *Reports of RAS*, 1992, vol. 325, no. 3, pp. 530–535 (in Russian).
27. Trunin A. S. *Kompleksnaia metodologiya issledovaniia mnogokomponentnykh sistem* [Complex methodology for studying multicomponent systems]. Samara, SamSTU Publ., 1997. 308 p. (in Russian).
28. Garkushin I. K., Chugunova M. V., Milov S. N. *Obrazovanie nepreryvnykh riadov tverdykh rastvorov v troinykh i mnogokomponentnykh solevykh sistemakh* [Formation of continuous series of solid solutions in ternary and multicomponent salt systems]. Ekaterinburg, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences Publ., 2011. 140 p. (in Russian).
29. Garkushin I. K., Istomova M. A., Garkushin A. I., Egor'tsev G. E. Chemical interaction of equivalent amounts of MF and NaBr (M – K, Rb, Cs) during thermal activation and crystallization from the melt. *Izv. Universities Chemistry and Chem. Technology*, 2020, vol. 63, iss. 4, pp. 55–62 (in Russian). <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20206304.6159>

Поступила в редакцию 10.02.2024; одобрена после рецензирования 17.02.2024; принята к публикации 19.02.2024
The article was submitted 10.02.2024; approved after reviewing 17.02.2024; accepted for publication 19.02.2024



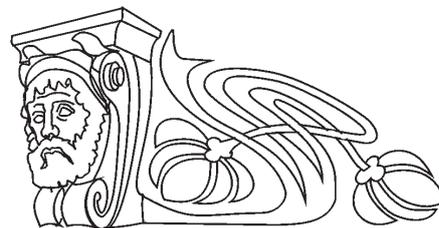
Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 153–162
Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 153–162
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-153-162>, EDN: HNDEYE

Обзор

УДК 66.095.26-922.3:678.744.32:678.742.2

Прививочная полимеризация акриловых мономеров на полиэтиленовую поверхность (обзор)



Т. А. Байбурдов^{1,2}, С. Л. Шмаков^{1,2} ✉

¹ООО «АКРИПОЛ», Россия, 410059, г. Саратов, ул. Советско-Чехословацкой дружбы, д. 1

²Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Байбурдов Тельман Андреевич, кандидат химических наук, ¹директор, ²доцент кафедры полимеров на базе ООО «АКРИПОЛ» Института химии, bta@acrypol.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1734-5323>

Шмаков Сергей Львович, кандидат химических наук, доцент кафедры полимеров на базе ООО «АКРИПОЛ» Института химии, shmakovsl@info.sgu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8019-0083>

Аннотация. Осуществлён поиск и обзор англоязычной научной литературы, посвящённой прививочной сополимеризации акриловых мономеров на полимерную твердофазную поверхность. Рассматривалась прививка на пластины и плёнки полиэтилена высокого и низкого давления. Из мономеров применялись акриловая и метакриловая кислоты, глицидилакрилат и глицидилметакрилат и др., а основным методом служила фотополимеризация под УФ-лучами с инициатором – бензофеноном и т.п. Затронуты задачи прививочной полимеризации в плане модификации поверхности полимерных материалов, указываются возможные сферы их применения.

Ключевые слова: прививочная сополимеризация, акриловые мономеры, модификация поверхности, УФ-фотополимеризация, плёнки, пластины

Благодарности. Работа выполнена в рамках договора между Саратовским национальным исследовательским государственным университетом имени Н. Г. Чернышевского и ООО НПП «ГЕЛЬ ПЛЮС» в 2023 г.

Для цитирования: Байбурдов Т. А., Шмаков С. Л. Прививочная полимеризация акриловых мономеров на полиэтиленовую поверхность (обзор) // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 153–162. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-153-162>, EDN: HNDEYE

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Review

Grafting of acrylic monomers onto polyethylene surface (review)

Т. А. Bayburdov^{1,2}, S. L. Shmakov^{1,2} ✉

¹ACRYPOL Ltd., 1 Sovetsko-Chekhoslovatskoy Druzhby Sq., Saratov 410059, Russia

²Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Telman A. Bayburdov, bta@acrypol.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1734-5323>

Sergei L. Shmakov, shmakovsl@info.sgu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8019-0083>

Abstract. A search and review of English-language scientific literature about the graft copolymerization of acrylic monomers onto a solid-phase polymeric surface has been carried out. Grafting onto plates and films of high- and low-density polyethylene is considered. The monomers used were acrylic and methacrylic acids, glycidyl acrylate and glycidyl methacrylate, etc., and the main method was UV photopolymerization with an initiator – benzophenone, etc. Problems of graft polymerization in terms of surface modification of polymeric materials are touched upon, and possible areas of their application are outlined.

Keywords: graft copolymerization, acrylic monomer, surface modification, UV photopolymerization, film, plate

Acknowledgements. The work was carried out in the framework of Contract between Saratov State University and Gel Plus Ltd. in 2023.

For citation: Bayburdov T. A., Shmakov S. L. Grafting of acrylic monomers onto polyethylene surface (review). *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 153–162 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-153-162>, EDN: HNDEYE

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)



Введение

Привитые сополимеры перспективны в технологии полимерных материалов, поскольку объединяют свойства от разных мономеров в одном материале. Обычно модификации подвергаются все макромолекулы в объеме, но существует также прививочная полимеризация («прививка») только к поверхности, макромолекулам субстрата на поверхности для модификации, прежде всего, его поверхностных свойств – при сохранении объёмных свойств. Для этого широко используются акриловые мономеры. Прививочной полимеризации посвящён ряд обзоров.

Обзор [1] охватывает 381 публикацию по полимерным поверхностям с привитыми цепочками, основное внимание уделяется методам прививки, а также структуре и функциональности привитых поверхностей. Из акриловых мономеров перечисляются следующие: акриловая кислота (АК), акриламид (АА), 2-акриламидо-2-метилпропансульфокислота (АМПС), диэтиленгликоль метакрилат (ДЭГМА), N,N-диметилакриламид (ДМАА), N,N-диметиламинопропил акриламид (ДМАПАА), 2-этилгексил акрилат (ЭГА), этил метакрилат (ЭМА), глицидилакрилат (ГА), глицидил метакрилат (ГМА), 2-гидроксиэтил метакрилат (ГЭМА), метил метакрилат (ММА), метакриловая кислота (МАК), N-изопропилакриламид (N-иПАА).

В работе [2] обобщается прогресс в области ультрафиолетовой (УФ) фотоиницируемой прививочной полимеризации для улучшения адгезионных свойств полиэтилена (ПЭ). Первая часть посвящена прогрессу в фундаментальном изучении УФ-прививки, включая методы, фотоинициаторы и самоиницируемую прививку; во второй части основное внимание уделяется прогрессу в улучшении адгезии ПЭ с помощью УФ-прививки, включая аутоадгезию, фотоламинирование и прививку реактивных функциональных мономеров. Также обсуждаются факторы, влияющие на адгезию привитого ПЭ. Обозреваются достаточно старые работы. Библиография насчитывает 51 ссылку.

Авторы [3] представляют обзор разработок в области модификации поверхности полимерных мембран посредством привитой полимеризации и плазмообработки для уменьшения загрязнения органическими соединениями и микроорганизмами в мембранных процессах под давлением. Обсуждаются факторы, влияющие на загрязне-

ние мембраны (гидрофильность мембраны, заряд и шероховатость поверхности). Целью является снижение органического и биологического обрастания путём модификации поверхности мембраны с помощью УФ-иницируемой или окислительно-восстановительной поверхностной прививки гидрофильных полимеров и обработки низкотемпературной плазмой. Список литературы содержит 88 публикаций.

В обзоре [4] (101 публикация) всесторонне рассмотрен прогресс в области поверхностно-привитых полимеров, включая процесс их формирования и использование поверхностно-привитых полимеров в качестве функциональных материалов изоляторов, проводников и полупроводников в универсальных органических электронных устройствах.

Из перечисленных обзоров видно, что наиболее популярным субстратом для прививки является полиэтилен высокой и низкой плотности (ПЭВП и ПЭНП). Из модифицируемых свойств поверхности можно назвать смачиваемость, водопоглощение, гидрофобность/гидрофильность, адгезию, окрашиваемость, термочувствительность и pH-чувствительность, а также биомедицинские свойства.

Наиболее используемыми мономерами для прививки на ПЭВП и ПЭНП являются акриловая и метакриловая кислоты, глицидилметакрилат (для последующего прикрепления других фрагментов через раскрытие эпоксидного цикла), 2-гидроксиэтилметакрилат и метилметакрилат. Обычно используют фотополимеризацию под действием УФ-излучения в ближней области (не поглощается полимером), в качестве фотоинициатора (сенсibilизатора) чаще всего берут бензофенон (БФ) или его производные.

Прививка акриловой и метакриловой кислот

В ранних работах исследователи облучали поверхность полимера, погружённого в раствор мономера и инициатора [5], или же сначала инициатор внедряли в приповерхностный слой полимера, а затем приводили в контакт с мономером и облучали [6]. Прививочную полимеризацию в паровой фазе начали проводить авторы [7], когда на поверхность наносилась тонкожидкостная плёнка с мономером и инициатором, после чего следовало УФ-облучение.

В работе [8] на поверхность ПЭ прививали АК в паровой фазе при УФ-облучении. В качестве растворителей мономера и инициатора использовали ацетон или этанол. На поверх-



ности образовывался тонкий привитый слой, повышающий смачиваемость полимера. После 5 мин облучения происходило 63%-ное покрытие поверхности полиакриловой кислотой для ПЭНП и 56% – для ПЭВП, а краевой угол для воды уменьшился до 50°. При нагревании материала на воздухе поверхность становилась гидрофобной, но процесс оказался обратим: в водной среде при повышенных температурах гидрофильность поверхности восстанавливалась. Основным недостатком метода является необходимость инертной атмосферы при прививке.

Далее учёные обратили внимание на непрерывность процесса прививки. В статье [9] разработан процесс непрерывной фотоиницированной привитой сополимеризации АА и АК на поверхность ленты из ПЭВП, предварительно пропитанной раствором, содержащим мономер и инициатор (для сокращения времени облучения до 5–10 с), в атмосфере азота. В качестве инициатора использовали БФ. Гидрофильность, смачиваемость и окрашиваемость поверхности плёнки повышались. Преимущество метода заключается в непрерывности процесса и коротком времени облучения без вакуума, а также в низкой стоимости оборудования. Однако при парофазном переносе мономера и инициатора поверхностная прививка происходит медленно и требует нескольких минут для образования сплошного слоя.

Исследователи варьировали природу инициатора в поисках лучшего. Авторы [10] проводили фотопрививку МАК на плёнку ПЭНП с нанесением фотоинициатора ксантона в присутствии полифункциональных мономеров: N,N'-метиленабисакриламида (МБАА) и триметилпропантриакрилата (ТМПТА). Добавление к системе полифункциональных мономеров (0,01 и 0,1 мас.%) в значительной степени ускоряло фотопрививку, эффект был сильнее выражен для ТМПТА, чем для МБАА. Добавление МБАА не влияло на смачиваемость полиэтиленовой плёнки с привитой МАК, а её водопоглощение снижалось.

Фотоиницирующие характеристики кетонов четырёх видов (алкил-, алкилфенил-, фенил- и дикетонов) и двух альдегидов (формальдегида и ацетальдегида) были предметом изучения в статье [11]. Оценивали их полимеризационную реакционную способность и эффективность прививки. Проводили межслойную фотополимеризацию АК на ПЭНП под УФ-лампой НРМ-15 (2 кВт). БФ, ксантон, ацетофенон и 9-фторенон оказались эффективными инициаторами фото-

прививки для получения толстых привитых слоёв, тогда как антрахинон, 4,4-дихлорбензофенон, 4-бензилбензофенон, бензоилмуравьиная кислота и биацетил подходят для получения тонких привитых слоёв. Основными факторами эффективности фотопрививки для кетонов являются высокая энергия триплетного состояния, сильное УФ-поглощение, стабильная молекулярная структура и низкая реакционная способность образующегося кетильного свободного радикала.

Водный раствор формальдегида оказался эффективной иницирующей системой для фотопрививки в водной среде [12]. Фотопрививали АК и МАК на ПЭВП и ПЭНП. Для системы АК+ПЭВП степень прививки увеличивалась с содержанием формальдегида в растворе, а вот концентрация мономера влияла на прививку слабо. Для системы МАК+ПЭВП реакция в 8% водном растворе формальдегида привела к наибольшей степени прививки, которая росла с концентрацией мономера до 2,5 моль/л. МАК легче прививалась к полиолефинам, чем АК, но плёнки ПЭ, привитые АК, поглощали больше воды, чем плёнки, привитые МАК. Водопоглощение привитых образцов почти линейно увеличивалось со степенью прививки. На реакцию прививки, иницируемую водным раствором формальдегида, влияет ряд факторов: содержание формальдегида в растворе, тип мономера и концентрация мономера.

Эффективным фотоинициатором для водной фотопрививки может являться и ацетальдегид [13]. Фотопрививали МАК на ПЭ. Ацетальдегид обладал более высокой эффективностью фотоиницирования, чем ацетон и формальдегид. Степень прививки варьировала в зависимости от содержания ацетальдегида в растворе и достигала максимума при ~10 мас.%. Степень прививки сначала увеличивалась с концентрацией мономера до 2 моль/л, а затем оставалась постоянной или даже несколько уменьшалась. Водопоглощение привитых образцов почти линейно росло со степенью прививки. Привитая полиМАК поглощала ~15–20 мас.% воды.

Задействовали также несколько мономеров. В статье [14] испытано два метода введения привитых цепочек, состоящих из мономерных звеньев двух типов, АК и N-изопропилакриламида (N-иПАА), в плёнку ПЭНП (толщина 25 мкм) с использованием ксантонового фотоинициатора. В первом (однотайном) методе смесь мономеров АК и N-иПАА прививали на полиэтиленовую плёнку. Во втором (двухэтапном) методе



фотопрививали сначала АК, а затем N-иПАА. Водопоглощение привитых плёнок уменьшалось в ряду: плёнка с одной АК > одноэтапный образец > двухэтапный образец > плёнка, привитая N-иППА. Термочувствительность (отношение водопоглощений привитых образцов при 5 и 60°C) была выше для одностадийного образца, чем для двухстадийного.

Некоторые акриловые мономеры могут фотопрививаться к ПЭВП методом самоиницирования – это акриловая кислота, глицидилакрилат и др. [15]. Механизм самоиницирования состоит в возбуждении мономера до триплетного состояния с энергией, достаточной для отщепления водорода от полимерной подложки и инициирования прививки. ГА имел самую высокую степень прививки (C_g) среди всех использованных мономеров. Однако эффективность прививки АК путём самоиницирования не так высока, как при использовании фотоинициатора БФ.

Для большинства мономеров обнаружен период ускорения конверсии прививки. Например, C_g для ГА с 10 до 30 с подскочила с 14 до 77%. Возможное объяснение такого ускорения – прививка мономеров или образующихся гомо(олиго)полимерных цепей на уже привитые цепочки. Так, после 30-секундного облучения степень полимеризации ПЭГМА достигает 100%, и непрореагировавшего мономера не остаётся. Хотя C_g в этот момент составляет всего 10,5%, она возрастает до 68% после 50-секундного облучения. Единственной возможной причиной этого является прививка на привитые цепочки гомополимеров.

Далее наступил черёд применения смешанного растворителя с переменным составом. В работе [16] исследовали влияние содержания ацетона в водном растворе на фотопрививку МАК на плёнку ПЭВП при 60°C. Максимальный процент прививки достигался при определённой концентрации ацетона, тогда как процент гомополимера и общая конверсия монотонно уменьшались с увеличением концентрации ацетона (3–40 об.%). Эффективность прививки составила менее 35%, что свидетельствует о лёгком образовании гомополимера. Предположили, что ацетон в системе действует как фотоинициатор и экранирующий агент. Полученная привитая плёнка характеризовалась однородным распределением привитых цепочек и более высокой рН-чувствительностью по сравнению с плёнкой, полученной фотопрививкой с использованием ксантонового фотоинициатора.

В статье [17] проводили фотопрививку МАК на плёнку ПЭВП (толщиной 30 мкм) при 60°C в смешанных водно-органических растворителях (ацетон, метанол, тетрагидрофуран и диоксан), с использованием ксантона в качестве фотоинициатора. На распределение привитых цепей в полученной привитой МАК плёнке в значительной степени влияло использование смешанного растворителя. Привитые образцы набухали в щелочной среде и сжимались в кислой, демонстрируя рН-чувствительность. Степень рН-зависимости тесно связана с расположением привитых цепочек, которое можно контролировать путём подбора состава органического компонента смешанного растворителя.

В серии работ Н. Wang с соавторами фотопрививали акриловые мономеры на ПЭВП, варьируя растворитель и инициатор. В статье [18] они использовали МАК и АК. Прививка шла быстрее в алифатических растворителях, чем в полярных или ароматических, поглощающих УФ-излучение. При использовании ацетона в качестве растворителя МАК легче прививалась к ПЭ при предварительном нанесении фотоинициатора бензофенона на подложку, чем при его растворении в растворе мономера. Ацетон мог инициировать фотопрививку МАК и АК на ПЭ при смешении с водой, и степень прививки МАК на ПЭ была максимальна при содержании в смеси ~40% ацетона. Когда концентрация ацетона составляла 10%, степень прививки АК быстро увеличивалась со временем облучения, но при более высоких концентрациях ацетона степень прививки была низкой.

Поскольку ацетон положительно себя проявил, то далее авторы [19], оставив МАК, взяли алифатические кетоны: бутанон, пентанон, гептанон и т.д. Когда последние использовались отдельно или в смеси с этанолом, прививки не происходило. Однако положение менялось при использовании смешанного растворителя бутанон/вода/этанол. Прививка МАК на ПЭВП происходила быстрее при уменьшении объёмной доли бутанона, а при её фиксации – с увеличением объёмного содержания воды. Природа спирта также влияла на самоиницирование алифатическим кетоном: этанол превосходил метанол. Водопоглощение привитых образцов росло почти линейно со степенью прививки, как на воздухе, так и в воде. Плёнки ПЭ, привитые в растворителе бутанон/вода/этанол, адсорбировали примерно 30–40 мас.% воды в расчёте на полиМАК.



Разнообразно применение поверхностной фотопрививки. Авторы [20] применяли её для фотоламинирования ПЭВП. Последний легко фотоламинируется тонким слоем ПАК (фотополимеризована из АК) с весьма сильной адгезией, после короткого времени УФ-облучения. Это эффективный и быстрый способ соединения тонких листов ПЭВП, а более толстые листы требуют более длительного времени облучения для прочной адгезии. МАК и ГЭМА не обеспечивают должной адгезии к ПЭВП после облучения. Когда между листами ПЭВП используется только ГА, прочность на отрыв фотоламинированного ПЭ составляет лишь ~ 320 Н/м, но когда ГА или гидроксиэтилметакрилат привит акриловой кислотой, достигается очень хорошая адгезия.

Функциональные группы привитых цепочек можно использовать для полимераналогичных превращений или нековалентной иммобилизации реагентов. В статье [21] описана УФ-индуцированная привитая сополимеризация АК на плёнке ПЭ с БФ в качестве инициатора. Во всех образцах выход прививки увеличивался со временем воздействия ультрафиолета. Высокие уровни прививки были получены при комнатной температуре. Привитые боковые функциональные группы затем использовали для связывания противогрибковых агентов (натамицин и кристаллический фиолетовый), и были выявлены противогрибковые свойства таких плёнок.

Отдельные работы не лишены парадоксов. Так, авторы [22] получали супергидрофобную полимерную поверхность с помощью прививки высокогидрофильного мономера – акриловой кислоты. Между двумя листами ПЭВП помещали тонкий слой АК с последующим кратковременным УФ-облучением, а затем листы разделяли и сушили. Контактные углы на привитых поверхностях быстро уменьшались со временем облучения в течение первых нескольких секунд, а затем увеличивались до уровня выше, чем на исходной поверхности ПЭВП. При использовании зачищенной нижней поверхности ПЭ она проявляла супергидрофобность после 35-секундного облучения. РФЭС показала, что на обеих поверхностях (особенно на нижней) произошла сильная перегруппировка молекул ПАК, обеспечивая низкую свободную поверхностную энергию. Процесс зачистки и прививки привёл к формированию на поверхности уникальной микро- и наноструктуры. Всё это приводит к супергидрофобности поверхности в широком диапазоне значений рН и низкой или очень высокой адгезии в различных ситуациях.

Прививка глицидилакрилата и глицидилметакрилата

Такие мономеры обычно прививают для дальнейшего присоединения каких-либо органических молекул с раскрытием эпоксидных циклов. С помощью этого метода к полиэтиленовым поверхностям могут быть присоединены амины, причём реакция идёт почти до конца.

Авторы [23] прививали глицидилакрилат и глицидилметакрилат на поверхность ПЭВП с фотоиницированием при поступлении БФ и мономеров из паровой фазы. Достигнуто 72%-ное покрытие для ГА и 52% – для ГМА после 10 мин прививки. В качестве растворителей использовали ацетон и этанол: ацетон обеспечивал несколько большую степень прививки. Привитые к поверхности эпоксидные группы реагировали с 2 М растворами анилина и пропиламина в этаноле. После 4-часовой реакции с анилином при 60°C израсходовалось 52% эпоксидных групп, а для пропиламина – 96%.

В работе [24] фотопрививали ГА и ГМА на ПЭ. ГМА прививался более тонким слоем, чем ГА. К поверхности ПЭВП с привитым ГА присоединяли фотостабилизаторы с амино- или гидроксильными группами: 2,4-дигидроксибензофенон (ДГБФ), фенил-4-аминосалицилат (ФАС) и 4-амино-2,2,6,6-тетраметилпиперидин (АТМП) с раскрытием эпоксидного цикла, чтобы экранировать полимер от большей части УФ-излучения. Степень и глубину прививки можно контролировать, варьируя природу полимерной подложки, время облучения и природу глицидила.

Более подробно названные фотостабилизаторы изучались в работе [25]. На полиэтиленовые плёнки прививали ГМА, а к его эпоксигруппам присоединяли три УФ-стабилизатора. Количество привитого стабилизатора варьировало от 25 до 40 нмоль/см² в зависимости от природы полимерной подложки. ДГБФ оказался эффективным стабилизатором ПЭ, скорость окисления привитого образца падала в 2–3 раза. ФАС претерпевал реакцию перегруппировки при облучении УФ-светом и оказывал лишь незначительное стабилизирующее действие. Для защиты от УФ-излучения путём прививки на поверхности ПЭВП фотопоглотителя наилучшие результаты давал ДГБФ, тогда как стерически затруднённый АТМП не давал никакого эффекта.

В статье [26] к эпоксидным группам не просто присоединяли молекулы, а прививали макромолекулы. На плёнки ПЭ прививали ГМА под УФ-облучением в течение 5 мин (фотоини-



циатор – БФ), а к привитой поверхности прививали полиэтиленгликоль (ПЭГ) реакцией с эпоксидными группами. Получили поверхность, покрытую ПЭГ на 95%. Тем самым показано, что к поверхности полимера могут быть ковалентно привиты макромолекулы, при этом сохраняя свои свойства. Привитые глицидилметакрилатом полиэтиленовые поверхности дополнительно модифицировали для применения в биоматериалах.

Особенностью работы [27] является предварительная обработка листов ПЭВП коронным разрядом для внедрения на поверхность пероксидов и дальнейшей поверхностно-прививочной фотополимеризации глицидилметакрилата. Прививочную полимеризацию проводили в растворе мономера без фотосенсибилизатора. Эпоксидные группы, введённые на поверхность ПЭ, реагировали с водой (в присутствии HCl) и аминами. Полиэтилен с привитым ГМА продемонстрировал сильную межфазную адгезию с эпоксидной смолой по сравнению с исходным ПЭ и ПЭ, обработанным коронным разрядом. Адгезионная прочность ПЭ, привитого ГМА, была почти вдвое выше, чем у ПЭ, лишь обработанного коронным разрядом.

Авторы статей [28] и [29] изучали влияние смешанного водно-органического растворителя (вода + ацетон или метанол) на фотопрививку N-изопропилакриламида и глицидилметакрилата соответственно на плёнку ПЭВП (толщина 30 мкм) при 30 и 60°C. В качестве фотоинициатора наносили ксантон. Фотопрививка при длительном времени облучения протекала даже при 30°C. Максимальный процент прививки достигался при определённой концентрации органического компонента (5 об.% метанола и 15 об.% ацетона) в смешанном растворителе, которая смещалась в сторону меньшей концентрации органики при 60°C по сравнению с 30°C. Плёнки с привитым N-иПАА имели температурную чувствительность: набухание и усадку/сжатие в воде при 0 и 50°C соответственно, что связано с расположением привитых цепочек в плёночной подложке.

Привитые цепочки полиГМА аминировали этилендиамином в N,N'-диметилформамиде при 70°C в течение 3 ч [29]. Аминированный образец адсорбировал ионы двухвалентной меди, причём адсорбция была выше для образца из смешанного растворителя, чем для образца из водного раствора. Комплексы аминированных ГМА-привитых цепей с Cu^{2+} проявляли каталитическую активность для разложения пероксида водорода при 50°C.

Далее [30] настала очередь внедрения флуоресцентного зонда для изучения конформационных изменений аминокислотных привитых цепочек в различных растворителях. На поверхность полиэтиленовой мембраны прививали полиглицидилметакрилат (ПГМА), а затем эпоксид подвергали реакции со смесью этилендиамин/дансилхлорид для введения как аминогруппы, так и дансилового зонда.

Работа [31] отличается от работы тех же авторов [29] тем, что одновременно с ГМА на плёнку ПЭВП толщиной 30 мкм фотопрививали ещё и N-иПАА при 60°C с использованием смешанного водно-органического (ацетон) растворителя и ксантона в качестве фотоинициатора. Эпоксидные группы в привитых цепочках поли-N-иПАА/ГМА аминировали этилендиамином в N,N'-диметилформамиде при 70°C в течение 3 ч. Комплексы аминированных цепочек с Cu^{2+} проявляли каталитическую активность при разложении пероксида водорода при температурах 20–50°C, причём каталитическая активность была выше, чем у свободных Cu^{2+} .

Авторы [32] сделали упор на исследовании микроструктуры привитых цепочек ГМА с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ). Растворителями служили ацетон, дихлорметан и тетрагидрофуран (ТГФ), а также прививку проводили без растворителя. На поверхности образцов, привитых в растворителях, обнаружены зернистые структуры. Каждое зерно представляло собой единичную привитую цепочку с сильно разветвлённой (или даже сверхразветвлённой) микроструктурой. Привитые цепочки были более разветвлёнными при прививке в ТГФ, чем в ацетоне и дихлорметане, но плотность прививки на ПЭВП была довольно низкой, когда реакцию проводили в растворителе. Прививка ГМА на ПЭВП без растворителя происходила намного быстрее и равномернее, чем в растворителе.

Задачей фотопрививки ГМА на пластины из ПЭВП и ПЭВП [33] было придание поверхности аутогезивных и адгезивных свойств. В качестве растворителя ПГМА использовали 1,4-диоксан. Аутогезионная прочность увеличивалась с ростом количества привитого материала, а разрушение субстрата наблюдали при количестве привитого материала 117 ммоль/см². Адгезионная прочность эффективно повышалась за счёт использования многофункциональных аминокислотных соединений из-за усиления реакции между первичными или вторичными аминогруппами и эпоксидными группами, присоединёнными к привитым цепям ПГМА.



Прививка других мономеров

В статье [34] описана фотохимическая прививка ГЭМА на плёнку ПЭНП. Метод состоял в УФ-облучении ацетонового раствора ГЭМА и БФ, помещённого между плёнкой из ПЭТФ или стекла и плёнкой ПЭНП. Использование ацетона в качестве растворителя предотвращало прилипание плёнки к подложке. После облучения в течение 2 мин угол смачивания плёнок водой уменьшился с 97 до 50°. Применение стекла пирекс позволяло формировать стабильные цепочки полиГЭМА при длительном облучении, тогда как кварцевое окно приводило к образованию привитого полиГЭМА, содержащего перепутанный гомополимер. Прививка на воздухе с использованием пирекса возможна, но протекает с меньшей скоростью, вероятно, из-за частичного ингибирования процесса инициирования.

Поли-2-метакрилоилоксиэтиленфосфат, фосфатсодержащий метакрилатный полимер, обладает высоким сродством к ионам кальция, что было использовано для нанесения прочного тонкого слоя гидроксиапатита ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) (ГАп) на поверхность плёнок из ПЭ [35]. Данный полимер прививали на поверхность, а затем привитые поверхности подвергали воздействию раствора, содержащего ионы кальция и фосфата при их насыщенных концентрациях по отношению к ГАп. В ходе этого процесса на привитой поверхности осаждался тонкий слой ГАп с относительно низкой кристалличностью за счёт захвата кальция привитыми цепочками.

Особенностью работы [36] является использование высокоориентированного ПЭ. Образцы сначала покрывали фотоинициатором, а затем подвергали воздействию паров ММА в УФ-свете (290 нм) при 60°C. Гравиметрические измерения и измерения ослабленного полного отражения в ИК-диапазоне показали, что реакция прививки может происходить и под поверхностью образца (внутренняя прививка).

Авторы [37] взяли нетрадиционные фотоинициаторы – антрахинон-2-сульфонат-хлорид натрия (АХС) и 4-бензоилбензилтриметиламмоний (ББТМА), которые адсорбируются из водных растворов на поверхности ПЭ и частично десорбируются в присутствии чистой воды. После адсорбции такого фотоинициатора прививка на поверхности ПЭ происходит легко, если полимер, находящийся в контакте с тонким

слоем раствора АА, подвергается облучению с длиной волны 350 нм. Из двух фотоинициаторов лучшим является АХС, который сильнее адсорбируется и имеет более высокий коэффициент поглощения в ближнем ультрафиолете.

В работе [38] проводили модификацию поверхности плёнок ПЭНП, предварительно обработанных озоном, с помощью нового метода прививочной сополимеризации под действием УФ-излучения. Мономерами служили АА, стиролсульфонат натрия (NaСС), 3-диметил(метакрилоилэтил)аммоний пропансульфонат (ДМАПС), АК, N,N-диметилакриламид (ДМАА) и 2-(диметиламино)этилметакрилат (ДМАЭМА) в отсутствие инициатора и поглотителя кислорода. Фотопрививку совмещали с фотоламинированием в сборках, содержащих слой раствора мономера между двумя плёнками ПЭНП. Для плёнок ПЭНП с высокой концентрацией привитого материала (АА, ДМАА и ДМАЭМА) наблюдалась перегруппировка поверхностных цепочек с образованием многослойной поверхностной микроструктуры с более высоким отношением субстрата к привитым цепочкам на внешней поверхности, чем в подповерхностном слое.

В серии исследований совместимых с кровью поверхностей авторы [39] фотопривили поли-2-метакрилоилоксиэтиленфосфорилхол ин (ПМФХ) на ПЭ мембрану. При иммунологическом анализе адсорбция белков плазмы и адгезия тромбоцитов снижались за счёт прививки в большей степени, чем для ПАА и ПЭГ-содержащего метакрилатного полимера.

Метод прямой прививки использовали для введения флуоресцентно-активной пиренильной группы [40]. Поверхность плёнки ПЭВП модифицировали привитой УФ-сополимеризацией пиренсодержащего мономера, пиренил-метилметакрилата (Ру)ММА. РФЭС показала, что пиренильные группы локализованы на внешней поверхности плёнки ПЭВП. Плёнка Ру-ММА-прив-ПЭВП сильно флуоресцирует под действием УФ-облучения, в то время как в результате эксимерного образования пиренильных групп цепочек привитого Ру-ММА наблюдалась широкая полоса излучения в более длинноволновой области. Флуоресцентный мономер может быть полезен для исследования микроокружения привитых цепочек.

В работе [41] полиэтиленовые плёнки, фотопривитые 2-диметиламиноэтилметакрилатом, предназначали для электротранс-



портного концентрирования органических электролитов с анионными функциональными группами, таких как бензойная кислота (БК, слабая), бензолсульфокислота (БСК, сильная) и п-аминобензойная кислота (п-АБК, амфолит). Проницаемость плёнок ПЭ с привитым ДМАЭМА (ПЭ-прив-ПДМАЭМА) для БК и БСК значительно повышалась на протяжении постоянного тока при рН 6. БК и БСК селективно проникали из бинарных смесей БК/фенил-1,2-этанediол (ФЭД, нейтральный) и БСК/ФЭД из-за разницы в проницаемости. Кроме того, БСК избирательно проникала из бинарных смесей БСК/БК. Названные органические электролиты транспортировались против градиента концентрации к аноду, и их степень концентрации достигала 90% при непрерывном приложении постоянного тока. Электротранспорт через плёнки ПЭ-прив-ПДМАЭМА представляется одним из эффективных способов селективного разделения/концентрирования органических электролитов с анионными функциональными группами.

В работе [42] ПЭВП нагревали и прессовали в плёнки толщиной около 500 мкм, которые замачивали в ацетоновом растворе БФ с концентрацией 2,0 мас.% в течение 24 ч. Плёнки сушили и помещали в ампулу с гексилметакрилатом. После дегазации методом замораживания–накачки–оттаивания ампулу запаивали в вакууме и облучали УФ-светом ртутной лампы высокого давления при 65°C. Возбужденный БФ отрывал водород от ПЭ, и возникающие свободные радикалы инициировали привитую сополимеризацию. Коэффициент прививки возрастал со временем облучения.

Авторы [43] обнаружили, что даже без фотоинициатора ММА, растворённый в N,N-диметилформамиде (ДМФА), может фотопрививаться на поверхность плёнки из ПЭВП. За короткое время УФ-облучения (4 мин) при комнатной температуре была достигнута высокая эффективность прививки (\rightarrow 100%) и значительное количество привитого полимера (процент прививки \sim 4,6%). Предположена фоточувствительность растворителя (ДМФА), который индуцировал фотопрививочную полимеризацию, что полезно для дальнейших разработок систем прививки или фотополимеризации без фотоинициаторов. С помощью СЭМ обнаружили особую дискретную глобулярную структуру на поверхности плёнки ПЭВП, привитой ММА, и предложили возможную модель для её интерпретации.

В работе [44] использовали полифункциональный мономер – триметилпропантриакрилат (ТМФТА), поверхностную фотопрививочную полимеризацию которого проводили с БФ в качестве фотоинициатора и ПЭВП в качестве субстрата в смешанном растворителе тетрагидрофуран (ТГФ) + вода. Под действием УФ-облучения (300 нм) быстро образовывался сильно сшитый привитой слой. Также добавляли второй мономер, ММА. Когда фотопрививку проводили только в ТГФ, образовывался относительно плоский привитой слой (прозрачная и достаточно плоская топология поверхности); добавление небольшого количества воды в реакционную систему вызывало образование «кратеров» в привитом слое.

Список литературы / References

1. Kato K., Uchida E., Kang E.-T., Uyama Y., Ikada Y. Polymer surface with graft chains. *Prog. Polym. Sci.*, 2003, vol. 28, pp. 209–259.
2. Wang H. Improving the Adhesion of Polyethylene by UV Grafting. *The Journal of Adhesion*, 2006, vol. 82, pp. 731–745. <https://doi.org/10.1080/00218460600775815>
3. Kochkodan V. M., Sharma V. K. Graft polymerization and plasma treatment of polymer membranes for fouling reduction: A review. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 2012, vol. 47, pp. 1713–1727.
4. Wang S., Wang Z., Li J., Li L., Hu W. Surface-grafting polymers: From chemistry to organic electronics. *Mater. Chem. Front.*, 2020, vol. 4, pp. 692–714. <https://doi.org/10.1039/c9qm00450e>
5. Tazuke S., Matoba T., Kimura H., Okada T. A Novel modification of polymer surfaces by photografting. *ACS Symp. Ser.*, 1980, vol. 121, pp. 217–241.
6. Ogiwara Y., Torikmhi K., Kubota H. Vapor phase photografting of acrylic acid on polymer films: Effects of solvent mixed with monomer. *J. Polym. Sci. Polym. Lett. Ed.*, 1982, vol. 20, pp. 17–21.
7. Rånby B., Gao Z. M., Hult A., Zhang P. Y. Modification of polymer surfaces by photoinduced graft copolymerization. *ACS Symp. Ser., Chemical Reactions on Polymers*, 1988, chapter 13, pp. 168–186.
8. Allmér K., Hult A., Rånby B. Surface Modification of polymers. I. Vapour phase photografting with acrylic acid. *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, 1988, vol. 26, pp. 2099–2111.
9. Zhang P. Y., Rånby B. Surface modification by continuous graft copolymerization. I. Photoinitiated graft copolymerization onto polyethylene tape film surface. *Journal of Applied Polymer Science*, 1990, vol. 40, pp. 1647–1661.
10. Kubota H., Koyama M. Photografting of methacrylic acid on low-density polyethylene film in presence of polyfunctional monomers. *J. Appl. Polym. Sci.*, 1997, vol. 63, pp. 1635–1641.



11. Yang W. T., Renby B. Photoinitiation performance of some ketones in the LDPE-acrylic acid surface photografting system. *Eur. Polym. J.*, 1999, vol. 35, pp. 1557–1568.
12. Han J., Wang H. Photografting of acrylic acid and methacrylic acid onto polyolefines initiated by formaldehyde in aqueous solutions. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2009, vol. 113, pp. 2062–2071. <https://doi.org/10.1002/app.29938>
13. Song A., Zhao D., Rong R., Zhang L., Wang H. Photografting of methacrylic acid onto HDPE initiated by acetaldehyde in aqueous solutions. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2011, vol. 119, pp. 629–635. <https://doi.org/10.1002/app.32683>
14. Kondo T., Koyama M., Kubota H., Katakai R. Characteristics of acrylic acid and N-isopropylacrylamide binary monomers-grafted polyethylene film synthesized by photografting. *J. Appl. Polym. Sci.*, 1998, vol. 67, pp. 2057–2064.
15. Wang H., Brown H. R. Self-initiated photopolymerization and photografting of acrylic monomers. *Macromol. Rapid Commun.*, 2004, vol. 25, pp. 1095–1099. <https://doi.org/10.1002/marc.200400010>
16. Liqun Z., Irwan G. S., Kondo T., Kutota H. Acetone-initiated photografting of methacrylic acid on low-density polyethylene film in water solvent. *Eur. Polym. J.*, 2000, vol. 36, pp. 1591–1595.
17. Irwan G. S., Kuroda S.-I., Kubota H., Kondo T. Examination of the role of oxygen in the photografting of methacrylic acid on a polyethylene film with a mixed solvent consisting of water and organic solvents. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2003, vol. 89, pp. 992–998.
18. Wang H., Brown H.R. Ultraviolet grafting of methacrylic acid and acrylic acid on high-density polyethylene in different solvents and the wettability of grafted high-density polyethylene. I. Grafting. II. Wettability. *J. Polym. Sci.: Part A: Polym. Chem.*, 2004, vol. 42, pp. 253–262, 263–270.
19. Wang H., Brown H. R., Li Z. Aliphatic ketones/water/alcohol as a new photoinitiating system for the photografting of methacrylic acid onto high-density polyethylene. *Polymer*, 2007, vol. 48, pp. 939–948.
20. Wang H.L., Brown H.R. Lamination of High-Density Polyethylene by Bulk Photografting and the Mechanism of Adhesion. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2005, vol. 97, pp. 1097–1106.
21. Costamagna V., Wunderlin D., Larran˜aga M., Mondragon I., Strumia M. Surface functionalization of polyolefin films via the ultraviolet-induced photografting of acrylic acid: Topographical characterization and ability for binding antifungal agents. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2006, vol. 102, pp. 2254–2263.
22. Han J., Wang X., Wang H. Superhydrophobic surface fabricated by bulk photografting of acrylic acid onto high-density polyethylene. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2008, vol. 326, pp. 360–365. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2008.06.023>
23. Allm er K., Hult A., R nby B. Surface Modification of Polymers. II. Grafting with Glycidyl Acrylates and the Reactions of the Grafted Surfaces with Amines. *J. Polym. Sci.: Part A: Polym. Chem.*, 1989, vol. 27, pp. 1641–1652.
24. Allm er K., Hult A., R nby B. Surface Modification of Polymers. III. Grafting of Stabilizers onto Polymer Films. *J. Polym. Sci.: Part A: Polym. Chem.*, 1989, vol. 27, pp. 3405–3417.
25. Allm er K., Hult A., R nby B. Surface Modification of Polymers. IV. UV Initiated Degradation of Polymers with Stabilizers Grafted onto the Surface. *J. Polym. Sci.: Part A: Polym. Chem.*, 1989, vol. 27, pp. 3419–3427.
26. Allm er K., Hilborn J., Larsson P. H., Hult A., R nby B. Surface Modification of Polymers. V. Biomaterial Applications. *J. Polym. Sci.: Part A: Polym. Chem.*, 1990, vol. 28, pp. 173–183.
27. Zhang J., Kato K., Uyama Y., Ikada Y. Surface graft polymerization of glycidyl methacrylate onto polyethylene and the adhesion with epoxy resin. *J. Polym. Sci.: Part A: Polym. Chem.*, 1995, vol. 33, pp. 2629–2638.
28. Irwan G.S., Kuroda S.-I., Kubota H., Kondo T. Photografting of N-isopropylacrylamide on polyethylene film in mixed solvents composed of water and organic solvent. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2003, vol. 87, pp. 458–463.
29. Irwan G. S., Kuroda S.-I., Kubota H., Kondo T. Effect of mixed solvent consisting of water and organic solvent on photografting of glycidyl methacrylate on polyethylene film. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2004, vol. 93, pp. 994–1000.
30. Tsuneda S., Endo T., Saito K., Sugita K., Horie K., Yamashita T., Sugo T. Fluorescence study on the conformational change of an amino group-containing polymer chain grafted onto a polyethylene microfiltration membrane. *Macromolecules*, 1998, vol. 31, pp. 366–370.
31. Irwan G. S., Aoyama Y., Kuroda S.-I., Kubota H., Kondo T. Photografting of N-isopropylacrylamide and glycidyl methacrylate binary monomers on polyethylene film: Effect of mixed solvent consisting of water and organic solvent. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2005, vol. 97, pp. 2469–2475.
32. Wang H., Brown H. R. Atomic force microscopy study of the photografting of glycidyl methacrylate onto HDPE and the microstructure of the grafted chains. *Polymer*, 2007, vol. 48, pp. 477–487.
33. Yamada K., Takeda S., Hirata M. Improvement of Autohesive and Adhesive Properties of Polyethylene Plates by Photografting with Glycidyl Methacrylate. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2007, vol. 103, pp. 493–500. <https://doi.org/10.1002/app.25076>
34. Edge S., Walker S., Feast W. J., Pacynko W. F. Surface modification of polyethylene by photochemical grafting with 2-hydroxyethyl-methacrylate. *J. Appl. Polym. Sci.*, 1993, vol. 47, pp. 1075–1082.
35. Tretinnikov O.N., Kato K., Ikada Y. In vitro hydroxyapatite deposition onto a film surface-grafted with organophosphate polymer. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1994, vol. 28, pp. 1365–1373.



36. Amornsakchai T., Kubota H. Photoinitiated grafting of methylmethacrylate on highly oriented polyethylene: Effect of draw ratio on grafting. *J. Appl. Polym. Sci.*, 1998, vol. 70, pp. 465–470.
37. Geuskens G., Etoc A., Michele P. D. Surface modification of polymers. VII. Photochemical grafting of acrylamide and N-isopropylacrylamide onto polyethylene initiated by anthraquinone-2-sulfonate adsorbed at the surface of the polymer. *Eur. Polym. J.*, 2000, vol. 36, pp. 265–271.
38. Wang T., Kang E. T., Neoh K. G., Tan K. L., Liaw D. J. Surface modification of low-density polyethylene films by UV-induced graft copolymerization and its relevance to photolamination. *Langmuir*, 1998, vol. 14, no. 4, pp. 921–927.
39. Ishihara K., Lee I. Y., Ebihara S., Shindo Y., Nakabayashi N. Photoinduced graft polymerization of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine on polyethylene membrane surface for obtaining blood cell adhesion resistance. *Colloids Surf. B Biointerf.*, 2000, vol. 18, pp. 325–335.
40. Wu J. Z., Kang E. T., Neoh K. G., Wu P.-L., Liaw D. J. Surface modification of low-density polyethylene films by UV-induced graft copolymerization with a fluorescent monomer. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2001, vol. 80, pp. 1526–1534.
41. Yamada K., Taki T., Sato K., Hirata M. Electrotransport of organic electrolytes through 2-(dimethylamino) ethylmethacrylate-grafted polyethylene films and their separation and concentration. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2003, vol. 89, pp. 2535–2544.
42. Shimada S., Takahashi Y., Sugino Y., Hara S., Yamamoto K. Autonomic healing of a pinhole in polyethylene and photografted polyethylene-g-poly(hexyl methacrylate) films. *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys.*, 2004, vol. 42, pp. 1705–1714.
43. Yang P., Deng J. Y., Yang W. T. Surface photografting polymerization of methyl methacrylate in N,N-dimethylformamide on low density polyethylene film. *Macromol. Chem. Phys.*, 2004, vol. 205, pp. 1096–1102.
44. Wang L. F., Yu Y. B., Liu L. Y., Yang W. T. Surface photografting polymerization of trimethylolpropane triacrylate onto ПЭНП substrate in tetrahydrofuran/water mixtures. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2007, vol. 106, pp. 621–629.

Поступила в редакцию 06.03.2024; одобрена после рецензирования 18.03.2024; принята к публикации 18.03.2024
The article was submitted 06.03.2024; approved after reviewing 18.03.2024; accepted for publication 18.03.2024

БИОЛОГИЯ

Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 163–171

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 163–171
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-163-171>

EDN: BWUINF

Научная статья
УДК 577.359

Оценка накопления полимерных субмикронных микрокапсул в клеточном и межклеточном пространствах 3D сфероидов

А. А. Абалымов¹, М. В. Ломова¹✉, М. В. Новоселова², Д. А. Горин²

¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

²Сколковский институт науки и технологий, Россия, 121205, г. Москва, ул. Нобеля, д. 3

Абалымов Анатолий Анатольевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Научного медицинского центра, anatolii.abalymov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3957-2706>

Ломова Мария Владимировна, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры материаловедения, технологии и управления качеством, Lomovamv85@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7464-1754>

Новоселова Марина Владимировна, научный сотрудник, novoselovama2310@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6268-5058>

Горин Дмитрий Александрович, доктор химических наук, профессор, D.Gorin@skoltech.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8760-615X>

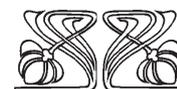
Аннотация. Многоклеточные сфероиды представляют собой трехмерные *in vitro* модели органов и тканей. Многоклеточные сфероиды приобрели большой интерес в области биотехнологий, так как они являются воспроизводимыми и имитирующими реальные органы и ткани тест-системами для новых форм лекарственных средств, позволяя минимизировать использование животных моделей *in vivo*. Для описания накопления субмикронных полимерных микрокапсул в клеточных сфероидах использовали метод проточной цитометрии, позволивший выявить основные аспекты взаимодействия носителей лекарств и клеток внутри сфероида. Сфероиды были получены с помощью клеток рака молочной железы мыши 4T1 и здоровых клеток фибробластов мыши L929. Расположение микрокапсул с диаметром 300, 500, 1000 нм с биосовместимыми оболочками в клеточных сфероидах было оценено в их межклеточном и внутриклеточном пространствах.

Ключевые слова: сфероиды, проточная цитометрия, микрокапсулы, доставка лекарств, тераностика

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для молодых ученых – кандидатов и докторов наук (МК-933.2022.3).

Для цитирования: Абалымов А. А., Ломова М. В., Новоселова М. В., Горин Д. А. Оценка накопления полимерных субмикронных микрокапсул в клеточном и межклеточном пространствах 3D сфероидов // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 163–171. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-163-171>, EDN: BWUINF

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ





Article

Evaluation of polymeric submicron microcapsule accumulation in cellular and intercellular space of 3D spheroids

A. A. Abalymov¹, M. V. Lomova^{1✉}, M. V. Novoselova², D. A. Gorin²

¹ Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

²Skolkovo Institute of Science and Technology, 3 Nobel St., 121205 Moscow, Russia

Anatolii A. Abalymov, anatolii.abalymov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3957-2706>

Maria V. Lomova, lomovamv85@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7464-1754>

Marina V. Novoselova, novoselovama2310@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6268-5058>

Dmitry A. Gorin, D.Gorin@skoltech.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8760-615X>

Abstract. Multicellular spheroids are three-dimensional *in vitro* models of organs and tissues. Multicellular spheroids have gained great interest in the field of biotechnology as they are reproducible and mimic real organs and tissues so can be used as test systems for new forms of drugs, allowing minimizing the use of *in vivo* animal models. Flow cytometry was used to describe the accumulation of submicron polymeric microcapsules in cellular spheroids, which allowed us to identify the main aspects of drug carrier-cell interactions within the spheroid. Spheroids were generated using 4T1 mouse breast cancer cells and healthy L929 mouse fibroblast cells. The arrangement of microcapsules with 300, 500, 1000 nm diameter with biocompatible shells in cell spheroids was evaluated in their intercellular and intracellular spaces.

Keywords: spheroids, flow cytometry, microcapsules, drug delivery, theranostics

Acknowledgements. The work was carried out with the financial support of a grant from the President of the Russian Federation for young scientists – candidates of sciences and doctors of sciences (MK-933.2022.3).

For citation: Abalymov A. A., Lomova M. V., Novoselova M. V., Gorin D. A. Evaluation of polymeric submicron microcapsule accumulation in cellular and intercellular space of 3D spheroids. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 163–171 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-163-171>, EDN: BWUINF

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Контролируемая дистанционно управляемая доставка лекарств с использованием полимерных субмикронных носителей представляет собой область активных научных исследований, обладающую огромным потенциалом для лечения различных заболеваний, в том числе онкологических [1]. Точное направленное терапевтическое воздействие на пораженные ткани становится возможным благодаря эффективной доставке терапевтических молекул. В этом контексте актуальным становится исследование влияния различных параметров полимерных микрокапсул на их взаимодействие со сфероидом, имитирующими ткань или орган, что предоставляет ценную информацию для усовершенствования терапевтических стратегий [2].

Полимерные субмикронные капсулы, получаемые для доставки терапевтических агентов, играют важную роль в современной наномедицине [3]. Большим преимуществом полимерных капсул является их многослойность, что позволяет широко варьировать их физико-химические свойства, а именно поверхностный заряд [4], гидродинамический диаметр [5], жесткость [6], противобактериальную активность [7], способность к активной доставке и управляемому высвобождению лекарственных средств [8–10] и др.

Разнообразие варьируемых свойств носителей позволяет подбирать требуемую конфигурацию носителей в зависимости от цели исследования и последующей стратегии терапии.

Однако исследования, производимые большинством групп, направленные на изучение интернализации полимерных микрокапсул в клетки, связаны с классическими 2D клеточными культурами, которые не позволяют объективно оценивать эффективность используемых капсул в трехмерных биологических матрицах [11]. Одной из важных задач использования систем тестирования клеток *in vitro* является воссоздание микросреды *in vivo* [12]. Клетки в тканях окружены микросредой, состоящей из соседних клеток и внеклеточных матриц (ВМ), которые связаны с клетками сигнальными путями, например, каскадом биохимических и механических сигналов. 3D клеточный сфероид, полученный на основе взаимодействия клетка–клетка и клетка–внеклеточный матрикс, поддерживает специфичность и гомеостаз ткани, из которой взяты клетки для его формирования. Клетки, выращенные в 2D монослоях, часто теряют свойства тканей. 3D клеточные модели могут имитировать специфику природных тканей, в отличие от клеток, выращенных в монослоях [13]. В настоящее время 3D клеточные культуры в виде многоклеточных сфероидов используют



ся в широком спектре исследований, включая клеточную биологию, изучение опухолей, морфогенез эпителия, скрининг лекарств и оценку наночастиц [14]. Сложная 3D сеть микросреды опухоли влияет не только на проникновение и распределение терапевтических агентов, но и на ее функционирование. Кроме того, традиционные животные тесты часто не способны предсказать фактические результаты из-за сложности их моделей [15].

В нашем исследовании мы сформировали полимерные капсулы со средними диаметрами 300, 500 и 1000 нм (средняя погрешность в распределении диаметров капсул не превышала 10%), которые состояли из компонентов, таких как дубильная кислота (ДК), бычий сывороточный альбумин (БСА) и полиаргинин (ПАРГ). Заряд на поверхности капсул у одной группы был положительный, у другой – отрицательный. Для оценки проникновения данных микрокапсул мы использовали сфероиды культур 4T1 (раковая культура клеток мыши) и L929 (культура клеток фибробластов мыши). Модель предоставит нам данные о взаимодействии капсул с опухолевыми и нормальными тканями. Наша работа представляет возможность понять, как размер и заряд на поверхности капсул влияют на их распределение во внутриклеточной и внеклеточной средах сфероидов, полученных из раковых и здоровых клеток, что необходимо для расширения знаний в области доставки лекарств с использованием полимерных субмикронных капсул и развития прецизионных методов лечения рака.

Материалы и методы

Получение субмикронных полимерных капсул

Протокол получения частиц CaCO₃

Формирование капсул происходит путем послойной адсорбции полимеров, белков на поверхность экстрагируемого ядра, которое и определяет финальный диаметр частиц. Субмикронные частицы ватерита, являющиеся ядрами для получения микрокапсул размером 300 нм (средняя погрешность в распределении диаметров ядер не превышала 10%), синтезировали с использованием следующей процедуры: раствор 10 мл 5 мМ CaCl₂ (в 85% водном растворе этиленгликоля) смешивали с раствором 10 мл 25 мМ NaHCO₃ (в 85% водном растворе этиленгликоля) на магнитной мешалке (700 об/мин, комнатная температура). Через 15 мин раствор становился мутным, что указывало на осаждение

CaCO₃. Затем суспензию центрифугировали при 6000 об/мин, а полученный осадок несколько раз промывали этиловым спиртом для удаления этиленгликоля и высушивали.

Для получения субмикронных частиц ватерита с диаметром 500 нм (средняя погрешность в распределении диаметров ядер не превышала 10%) выполняли следующие шаги: глицерин (4 г) смешивали с эквимолярными концентрациями (0,5 М) водных растворов CaCl₂ (0,4 мл) и Na₂CO₃ (0,4 мл) в водных растворах. Смесь интенсивно перемешивали на магнитной мешалке (700 об/мин, комнатная температура). Через 60 мин раствор становился мутным, указывая на осаждение CaCO₃. После 60 мин непрерывного перемешивания полученную суспензию подвергали центрифугированию при 6000 об/мин, а осадок промывали пять раз дистиллированной водой для удаления глицерина.

Для приготовления частиц ватерита размером 1 мкм (средняя погрешность в распределении диаметров ядер не превышала 10%) эквимолярные концентрации (0,33 М) водных растворов солей CaCl₂ (2 мл) и Na₂CO₃ (2 мл) смешивали с 10 мл этиленгликоля. Затем полученную реакционную смесь перемешивали с использованием магнитной мешалки со скоростью 700 об/мин в течение 3 ч. Образовавшиеся частицы осаждали центрифугированием при 6000 об/мин, затем промывали три раза водой и один раз этанолом.

Протокол получения полимерных субмикронных капсул

Капсулы формировали на полученных ранее ядрах ватерита путем последовательной адсорбции БСА и ДК, или ПАРГ (2 мг/мл, водный раствор, ПАРГ был приготовлен в водном растворе 0,15 М NaCl). После формирования оболочек ядра капсул экстрагировали с помощью инкубирования в растворе 0,1 М HCl с последующей промывкой дистиллированной водой.

Характеризация полимерных микрокапсул

Концентрацию капсул измеряли с использованием NTA (анализ частиц наноразмера) NanoSight (MalvernIns. Ltd., Worcestershire, UK). Получение изображений капсул методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) проводили с использованием сканирующего электронного микроскопа (Helios G4 Plasma FIB Uxe). Образцы подготавливали, нанося каплю суспензии капсул на кремниевую подложку и давая им высохнуть при комнатной температуре. На сухие образцы с помощью вакуумного распыления наносили золотое покрытие (5 нм, комплекс Denton). Для измерения дзета-потен-



циала и диаметра капсул использовали Zetasizer Nano ZS (MalvernIns. Ltd., Worcestershire, UK).

Культивирование клеток

Клетки 4T1 и L929 культивировали в DMEM (ThermoFisher, кат. # 10564011, США) и RPMI 1640 (ThermoFisher, кат. # 11875093, США), дополненных 10% FBS (ThermoFisher, кат. # A4766801, США), и 100 $\mu\text{g}/\text{мл}$ пенициллин/стрептомицин (ThermoFisher, кат. # 15140148, США) соответственно. Среду меняли каждые 3 дня, и клетки поддерживали при влажности в инкубаторе при 5% CO_2 и 37 $^\circ\text{C}$ (Innova CO-170, New Brunswick Scientific, Edison, NJ, США).

Формирование сфероидов

Клеточные сфероиды были созданы из клеток 4T1 и L929 с использованием 96-луночных микропланшетов для сфероидов с ультранизкой адгезией Corning (Corning, кат. # 4520, США). Монослой клеток с конфлюэнтностью 95% промывали раствором PBS, затем клетки собирали из культурных флаконов с помощью 0,25% трипсина/0,53 мМ ЭДТА (ThermoFisher, кат. # 25300062, США) и затем суспендировали в среде для культивирования клеток. Концентрация клеток составляла 1×10^6 клеток/мл. 10 мкл суспензии клеток наносили в ячейки микроплашек для сфероидов Corning, добавляя 90 мкл среды для культивирования. Микроплашки для сфероидов Corning инкубировали при 37 $^\circ\text{C}$ во влажной атмосфере с 5% CO_2 в течение 3 дней.

Проточная цитометрия

Сфероиды формировали в течение 3 дней, после чего полимерные капсулы добавляли к сфероидам с концентрацией 100 носителей на клетку. Сфероиды инкубировали вместе с носителями в течение 24 ч, после чего сфероиды промывали трижды в растворе фосфатного буфера. Далее сфероид помещали в пробирку с раствором трипсина, которую ставили на мешалку. Пробирку с клетками перемешивали в течение 20 мин, чтобы разделить клетки друг от друга внутри сфероида. Затем клетки центрифугировали при 1000 об/мин в течение 5 мин, после чего раствор трипсина заменяли снова на PBS. Клетки окрашивали при помощи Hoechst (ThermoFisher, кат. # 62249, США). Проточная цитометрия проводилась с использованием проточного цитометра Cytotflex (BekmanCoulter, США). Для получения статистически значимых результатов было записано 50 000 событий (объектов), включая клетки (только флуоресценция Хоэста, (450/45)), живые клетки с носителями (флуоресценция Хоэста и Су5, (690/50)), носители (флуоресценция Су5(646/662)).

Флуоресцентная микроскопия

Для визуализации сфероидов мы использовали флуоресцентную микроскопию. Флуоресцентные изображения получали с помощью микроскопа Operetta CLS (PerkinElmer, США) с объективами 2 \times , 20 \times и 60 \times , а также с соответствующими фильтрами. Сфероиды 4T1 и L929 окрашивали с использованием CalceinAM (ThermoFisher; кат. # C1430, США), Propidium iodide (ThermoFisher, кат. # P1304MP, США), Alexa Fluor 488 (ThermoFisher, кат. # C11252, США) и Hoechst (ThermoFisher, кат. # 62249, США). Для этой цели в 2 мл среды для клеток добавляли 0,5 мкг красителей CalceinAM и Propidium iodide вместе с тремя сфероидами с одним из типов носителей. Клетки инкубировали в термостате в течение 15 мин, а затем дважды промывали с помощью фосфатного буфера, после чего сфероиды помещались в новую культуральную среду. Для получения трехмерных стеков было сделано 50 фотографий сфероидов L929 и 4T1 вдоль оси z с шагом 10 мкм.

Результаты и их обсуждение

Варьирование диаметра и поверхностного заряда капсул

Для проведения работы по исследованию прохождения субмикронных полимерных капсул в клеточные сфероиды наиболее оптимально использовать ряд частиц с различным диаметром и поверхностным зарядом. В качестве матрицы для послойной сборки полимерных микрокапсул мы выбрали частицы ватерита, диаметр которых можно варьировать от 50 нм до 15 мкм при одновременном уровне пористости, что позволяет их дополнительно допировать лекарственными веществами или наночастицами.

На первом этапе частицы ватерита синтезировали методом минерализации путем смешивания солей CaCl_2 и Na_2CO_3 в глицероле для частиц размером 500 нм, и CaCl_2 и NaHCO_3 в этиленгликоле для частиц размером 1000 и 300 нм (рис. 1, а–г). Диаметры частиц исследовали с использованием дзета-сайзера Malvern. Изображение сформированных частиц, полученное с помощью СЭМ, представлено на рис. 1, б–г. Частицы имеют чрезвычайно развитую морфологию поверхности и высокую пористость. Для формирования носителей использовался метод послойной адсорбции молекул полимеров, белков и т.д. (Layer-by-layer, LbL) (см. рис. 1, д). Для формирования оболочки на поверхности полученных частиц использовали

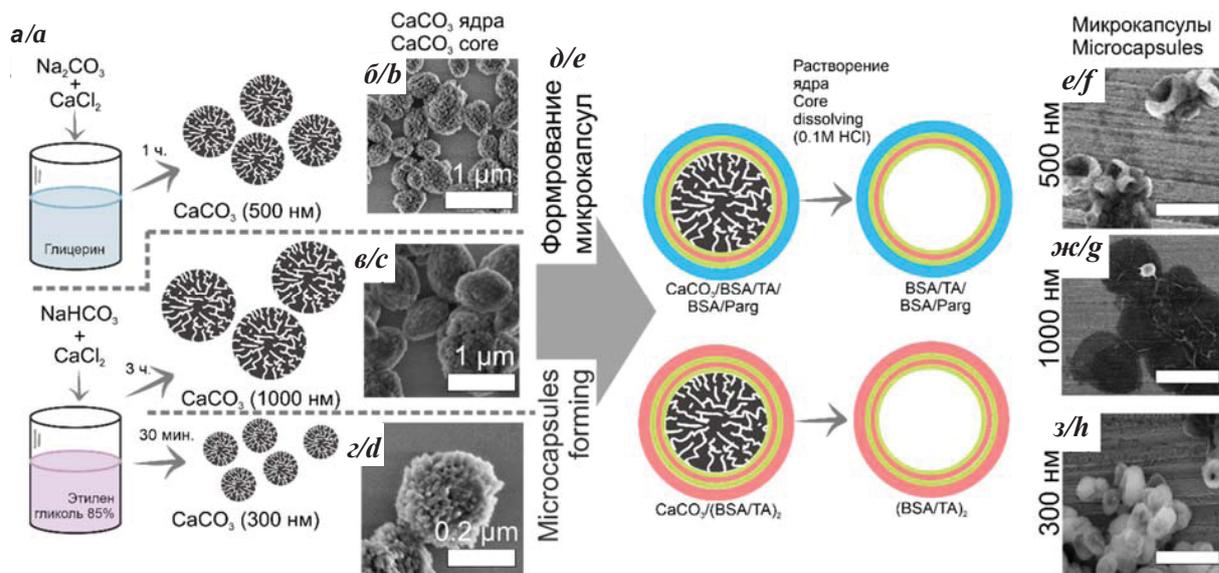


Рис. 1. Схема синтеза частиц ватерита (а). Микрофотографии частиц ватерита разного диаметра (нм), полученные с помощью сканирующей электронной микроскопии: б – 500, в – 1000 и з – 300. Схема формирования полимерных микрокапсул с различным зарядом на их поверхности (д). Микрофотографии полимерных микрокапсул разного диаметра (нм), полученные с помощью сканирующей электронной микроскопии: е – 500, ж – 1000 и з – 300

Fig. 1. Scheme of synthesis of vaterite particles (a). Microphotographs of vaterite particles of different diameters (nm) obtained by scanning electron microscopy: b – 500, c – 1000 and d – 300. Schematic of the formation of polymer microcapsules with different charge on their surface (e). Scanning electron microscopy micrographs of polymer microcapsules with different diameters (nm): f – 500 nm, g – 1000 and h – 300

водные растворы БСА и ДК, при этом основой взаимодействия альбумина и танната являются водородные связи. Внешний слой капсул определяя заряд частиц. В случае, если последним слоем адсорбировали таниновую кислоту, то заряд был отрицательным, при этом последующая адсорбция ПАРГ приводила к смене заряда на положительный (вид взаимодействия между ДК и ПАРГ менялся на электростатический). В результате частицы получили заряд, соответствующий последнему полимерному слою – частицы с внешним слоем ПАРГ имеют заряд +24 мВ, частицы с внешним слоем ДК имеют заряд –19–21 мВ. На микрофотографиях (см. рис. 1, е–з) отчетливо видно, что после воздействия 0,1М НСl ядра полностью экстрагировали, и полимерные слои сформировали полые капсулы.

Морфология сфероидов и определение их специфических зон

Следующим этапом нашего исследования было изучение сфероидов с использованием флуоресцентной микроскопии. На микрофотографиях показано, что сфероиды обеих культур имеют яркую и стабильную зеленую флуоресценцию (рис. 2, а, верхний ряд), которая говорит об активном метаболизме клеток и их высокой жизнеспособности после формирования сфероидов. Красный флуоресцентный сигнал (окраска

клеток с помощью propidiumiodide) говорит о наличии небольшого числа мертвых клеток, что является нормой в сфероидах, так как часть клеток в центре сфероида погибает от гипоксии и недостатка питательных веществ. Данная особенность делает многоклеточные сфероиды еще более приближенными к реальным тканям и органам *in vivo*. Также на флуоресцентных микрофотографиях видно четкую флуоресценцию актина (красная флуоресценция) (см. рис. 2, а, нижний ряд) у обеих культур, что говорит о хорошей клеточной адгезии и успешном формировании сфероида.

Сферичность сфероидов была оценена. Как видно из рис. 2, б, в статистическое различие в сферичности двух видов сфероидов крайне незначительно. Сферичность сфероидов может повлиять на проникновение лекарств, наночастиц или лечебных агентов. Сфероиды с менее сферической формой имеют тенденцию к более равномерному распределению лекарств за счет более поверхностного слоя клеток с большей пористостью, что может повлиять на их общую эффективность. Сфероиды с правильной формой обладают компактностью за счет активной выработки внеклеточной матрицы, что делает их менее проницаемыми для частиц нано и микрометрового размера. Также мы оценили



размер сфероидов (см. рис. 2, *г*). Конкретно для сфероидов, полученных из клеточных линий L929, средний диаметр равен 619 мкм, а для

4T1 – 387 мкм, при одинаковом количестве клеток, составляющих сфероид – 10^4 клеток/сфероид.

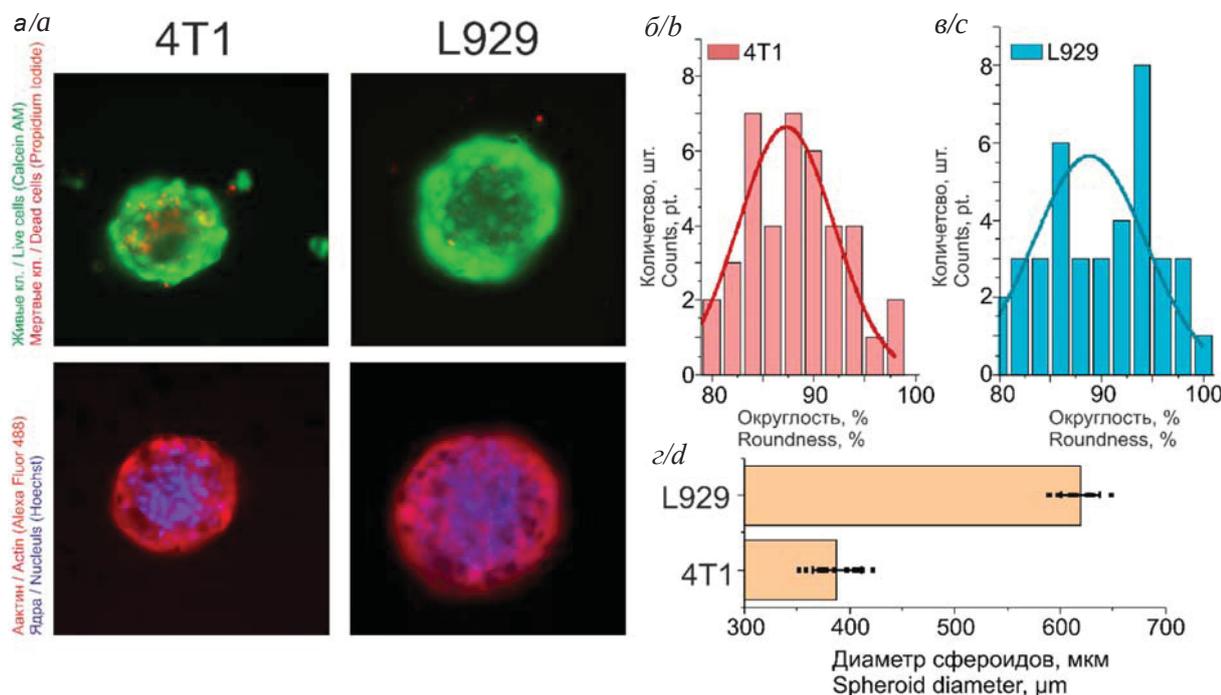


Рис. 2. Флуоресцентные микрофотографии многоклеточных сфероидов культур 4T1 и L929 (*а*), полученные с помощью флуоресцентной микроскопии. Гистограмма (*б*, *в*), описывающая сферичность клеточных сфероидов, полученных из клеток линий: *б* – 4T1 и *в* – L929. Гистограмма (*г*), показывающая диаметр клеточных сфероидов, сформированных из клеток линий 4T1 и L929 (цвет онлайн)

Fig. 2. Fluorescence micrographs of multicellular spheroids of 4T1 and L929 cultures (*a*) obtained by fluorescence microscopy. Histogram describing the sphericity of cell spheroids derived from cell lines: *b* – 4T1 and *c* – L929. Histogram (*d*) showing the diameter of cell spheroids formed from cell lines 4T1 and L929 (color online)

Исследование проникновения полимерных капсул в клеточные сфероиды с помощью проточной цитометрии

Для определения количества носителей, проникших в сфероид, мы использовали метод проточной цитометрии (рис. 3). Для этого сфероид инкубировали с полимерными микрокапсулами в течение 24 ч, после чего трижды промывали в растворе фосфатного буфера, затем подвергали процессу трипсинизации, чтобы разделить его на отдельные клетки. Далее эту суспензию клеток и носителей анализировали с помощью проточной цитометрии. Все полученные данные делили на 3 группы событий: первая группа – события, имеющие только сигнал красителя Hoechst (клетки без капсул), вторая группа – события, имеющие сигнал Hoechst Cy5 (клетки имеющие капсулы во внутриклеточном пространстве) и третья группа – события, имеющие сигнал только Cy5 (капсулы из межклеточного пространства). Для определения наиболее успешного сочетания

размера и заряда полимерных микрокапсул на прохождение в многоклеточные сфероиды мы определяли процент событий, относящийся к клеткам с капсулами во внутриклеточном пространстве, и процент капсул из межклеточного пространства.

Прежде всего мы подтвердили с помощью метода флуоресцентной микроскопии, что полимерные микрокапсулы успешно интернализировались в клеточные сфероиды (рис. 4, *а*, *г*). На ортогональных проекциях флуоресцентных микрофотографий отчетливо видна красная флуоресценция микрокапсул внутри зеленой флуоресценции клеток, что говорит о том, что капсулы успешно вошли в клеточный сфероид.

Данные проточной цитометрии, представленные на рис. 4, *б*, показывают, что среди всех капсул капсулы размером 500 нм положительно заряда имеют наибольший процент вхождения в клетки внутри сфероида (8,14%), результат

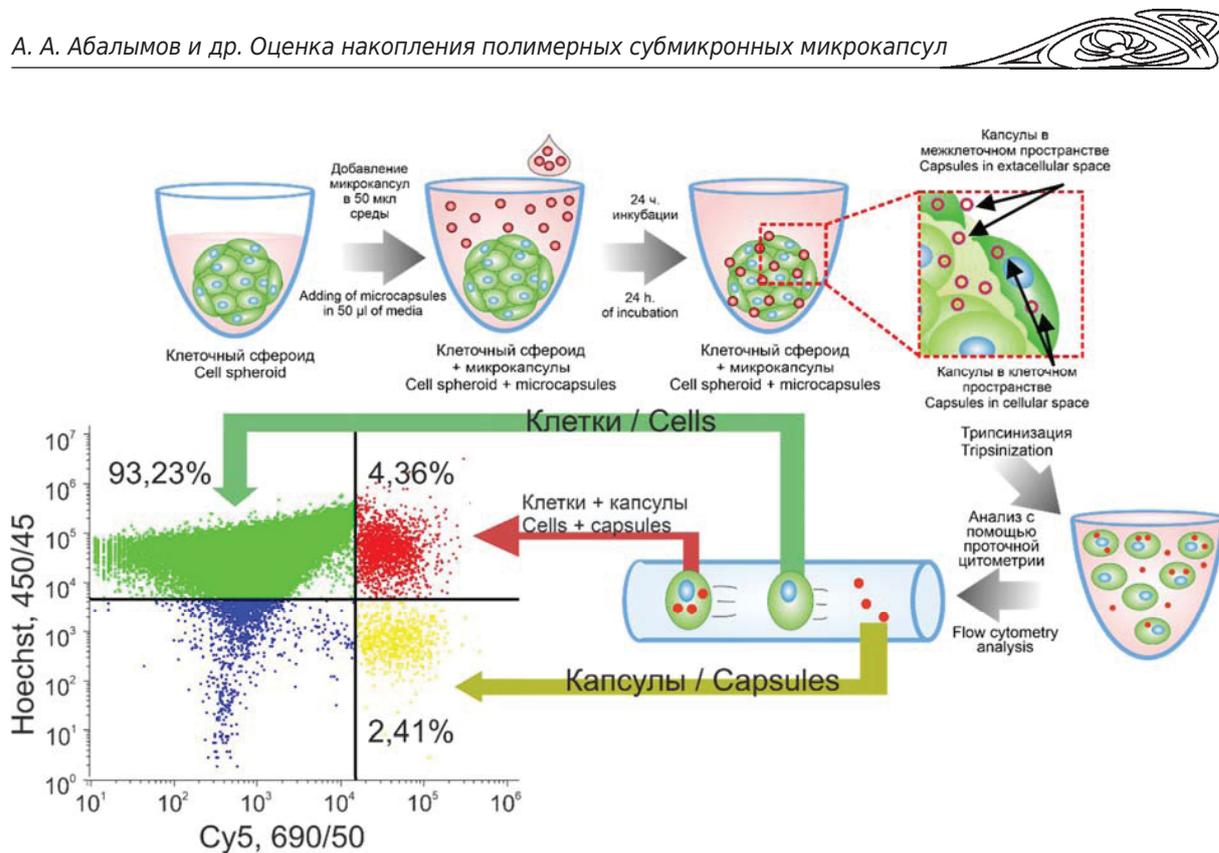


Рис. 3. Схематическое изображение эксперимента по определению % носителей в межклеточном и внутриклеточном пространствах (цвет онлайн)

Fig. 3. Schematic representation of the experiment to determine the % of carriers in the intercellular and intracellular space (color online)

имеет статистически достоверное различие с частицами 500 нм отрицательного заряда (2,46%). Капсулы размером 300 нм обоих зарядов имеют результат прохождения в клетки немного хуже и не имеют различия в зависимости от заряда: 4,36% для положительно заряженных и 4,97% для отрицательно заряженных. Худший результат по прохождению в клетки имеют капсулы размером 1000 нм: 1,37% для положительно заряженных капсул и 1,75% для отрицательно заряженных капсул. По данным результатам отчетливо видно, что с уменьшением размера капсул до 300 нм и увеличением до 1000 нм заряд поверхности капсул перестает играть роль в поглощении клетками сфероидов 4Т1. Подобное улучшенное поглощение частиц размером 500 нм положительного заряда может зависеть от отрицательного заряда клеточной мембраны. В случае контакта с положительными микрокапсулами электростатическое взаимодействие будет намного сильнее. Также отчетливо видна разница между поглощением капсул в зависимости от их размера. Эксперименты подтверждаются литературными данными, где похожие результаты были получены на двухмерных клеточных системах [16].

Капсулы, которые инкубировали со сфероидом культуры L929, имеют уровень поглощения клетками от 2,93 до 1,02% для всех типов капсул (см. рис. 4, д). Определенно можно наблюдать прямую зависимость поглощения капсул клетками от их размера. В данном случае мы видим, что с увеличением размера капсул количество клеток с капсулами внутри сфероидов снижается.

Также нами оценивалось количество капсул в межклеточном пространстве сфероидов (см. рис. 4, в, е). Для этого мы рассчитали количество объектов, обладающих флуоресценцией красителя Cy5, которым были отмечены полимерные микрокапсулы. Для сфероидов 4Т1 мы можем наблюдать результаты схожие с результатами для внутриклеточных капсул (см. рис. 4, в). Наибольший процент носителей, которые располагались в межклеточном пространстве, наблюдается для 500 нм: положительно заряженных капсул – 7,99%, а отрицательно заряженные капсулы находятся на втором месте среди всех образцов (4,37%). Процент остальных капсул не является высоким и составляет от 2,41 (для 300 нм положительных) до 1,06% (для 1000 нм отрицательных).

Интерес вызывает тот факт, что процент капсул в межклеточном пространстве для сфе-

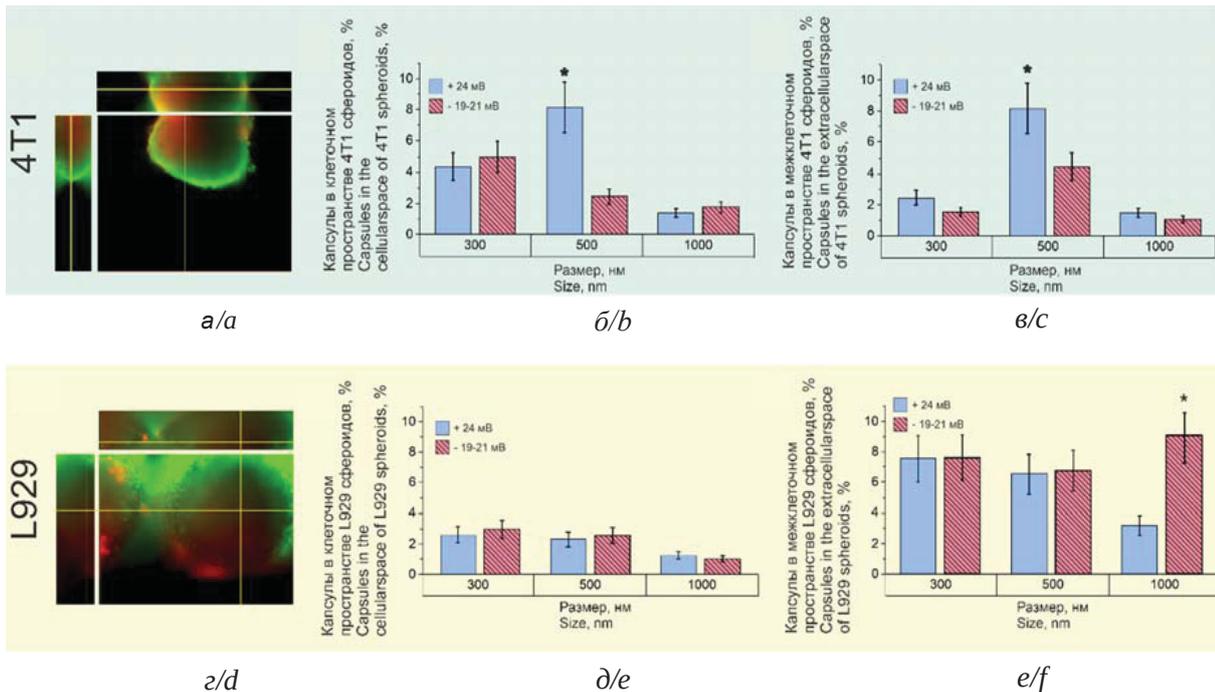


Рис. 4. Ортогональная флуоресцентная микрофотография клеточных сфероидов 4Т1 (а) (CalceinAM, зеленая флуоресценция) с частицами внутри (Су5, красная флуоресценция); б – гистограмма, описывающая процент носителей в межклеточном пространстве сфероидов 4Т1; в – гистограмма, описывающая процент клеток с носителями в сфероиде 4Т1; г – ортогональная флуоресцентная микрофотография клеточных сфероидов L929 (CalceinAM, зеленая флуоресценция) с частицами внутри (Су5, красная флуоресценция); д – гистограмма, описывающая процент носителей в межклеточном пространстве сфероидов L929; е – гистограмма, описывающая процент клеток с носителями в сфероиде L929. * указывает на статистически достоверную разницу для капсул различного заряда ($p < 0.05$) (цвет онлайн)

Fig. 4. Orthogonal fluorescence micrograph of 4T1 cell spheroids (a) (CalceinAM, green fluorescence) with particles inside (Su5, red fluorescence); b – histogram describing the percentage of carriers in the intercellular space of 4T1 spheroids; c – histogram describing the percentage of cells with carriers in 4T1 spheroids; d – orthogonal fluorescence micrograph of L929 cell spheroids (Calcein AM, green fluorescence) with particles inside (Su5, red fluorescence); e – histogram describing the percentage of carriers in the intercellular space of L929 spheroids; f – Histogram describing the percentage of cells with carriers in L929 spheroids; * indicates a statistically significant difference for capsules of different charge ($p < 0.05$) (color online)

роидов культуры L929 является достаточно высоким, (см. рис. 4, е). Сфероиды L929 состоят из клеток фибробластов, которые имеют наиболее развитый внеклеточный матрикс, что в теории должно затруднять прохождение микрокапсул внутрь. Однако по флуоресцентным микрофотографиям видно, что частицы накапливаются в основном на периферии сфероидов. Наибольший процент количества капсул, находящихся в межклеточном пространстве, относится к 1000-нанометровым отрицательно заряженным частицам (8,64%), что является наиболее интересным, эти данные показывают статистическую разницу с 1000-нанометровыми положительно заряженными капсулами (3,02%).

Таким образом, можно отметить, что наиболее важным фактором, влияющим на прохождение частиц как в клеточное пространство, так и в межклеточное, является размер носителей, что

наблюдается для обоих видов сфероидов и всех типов частиц. Заряд капсул на поверхности имеет менее важное значение по сравнению с их размерами при проникновении капсул в сфероиды, образованные раковыми и здоровыми клетками. Положительный заряд капсулы в сочетании с размером 500 нм может обеспечить наибольшее накопление капсул как во внутриклеточном, так и во внеклеточном пространствах опухолевых сфероидов культуры 4Т1.

Заключение

Нами были исследованы сформированные субмикронные и микронные полимерные капсулы с различным зарядом на поверхности, которые использовали для прохождения внутрь многоклеточных сфероидов. Данные частицы были охарактеризованы с помощью различных



методик, подтверждающих размер капсул и их поверхностный заряд. Клеточные сфероиды, которые мы использовали в данной работе, были приготовлены из клеточных культур 4T1 и L929 и качественно охарактеризованы методом флуоресцентной микроскопии. Интернализацию полимерных микрокапсул внутрь клеточных сфероидов оценивали с помощью метода проточной цитометрии, благодаря которому мы могли определить процент клеток сфероида с капсулами внутри, а также процент капсул из межклеточного пространства сфероида. Наилучшие результаты для опухолевого сфероида 4T1 продемонстрировали микрокапсулы размером 500 нм, с положительным зарядом на поверхности, имея самый высокий результат как накопления в клетках (8,14%), так и в межклеточном пространстве (7,99%), в отличие от сфероидов L929. Полученные результаты демонстрируют важность тестирования нано- и микрогабаритных лекарственных носителей на трехмерных клеточных культурах при подборе терапевтической стратегии.

Список литературы / References

- Voronin D. V., Abalymov A. A., Svenskaya Y. I., Lomova M. V. Key points in remote – controlled drug delivery: From the carrier design to clinical trials. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 22, article number 9149. <https://doi.org/10.3390/ijms22179149>
- Saveleva M. S., Eftekhari K., Abalymov A., Douglas T. E. L., Volodkin D., Parakhonskiy B. V., Skirtach A. G. Hierarchy of hybrid materials-the place of inorganics-in-organics in it, their composition and applications. *Front. Chem.*, 2019, vol. 7, pp. 1–21. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00179>
- De Koker S., Hoogenboom R., De Geest B. G. Polymeric multilayer capsules for drug delivery. *Chem. Soc. Rev.*, 2012, vol. 41, article number 2867. <https://doi.org/10.1039/c2cs15296g>
- Tong W., Dong W., Gao C., Möhwald H. Charge-controlled permeability of polyelectrolyte microcapsules. *J. Phys. Chem. B*, 2005, vol. 109, pp. 13159–13165. <https://doi.org/10.1021/jp0511092>
- Van der Meeren L., Li J., Konrad M., Skirtach A. G., Volodkin D., Parakhonskiy B. V. Temperature window for encapsulation of an enzyme into thermally shrunk, CaCO₃ templated polyelectrolyte multilayer capsules. *Macromol. Biosci.*, 2020, vol. 20. <https://doi.org/10.1002/mabi.202000081>
- Ejima H., Yanai N., Best J. P., Sindoro M., Granick S., Caruso F. Near-incompressible faceted polymer microcapsules from metal – organic framework templates. *Adv. Mater.*, 2013, vol. 25, pp. 5767–5771. <https://doi.org/10.1002/adma.201302442>
- Li J., Khalenkow D., Volodkin D., Lapanje A., Skirtach A. G., Parakhonskiy B. V. Surface enhanced Raman scattering (SERS)-active bacterial detection by Layer-by-Layer (LbL) assembly all-nanoparticle microcapsules. *Colloids* <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.129547>
- Vidiashva I. V., Abalymov A. A., Kurochkin M. A., Mayorova O. A., Lomova M. V., German S. V., Khalenkow D. N., Zharkov M. N., Gorin D. A., Skirtach A. G. Transfer of cells with uptaken nanocomposite, magnetite-nanoparticle functionalized capsules with electromagnetic tweezers. *Biomater. Sci.*, 2018, vol. 6, pp. 2219–2229. <https://doi.org/10.1039/c8bm00479j>
- Demina P. A., Abalymov A. A., Voronin D. V., Sadovnikov A. V., Lomova M. V. Highly-magnetic mineral protein-tannin vehicles with anti-breast cancer activity. *Mater. Chem. Front.*, 2021, vol. 5, pp. 2007–2018. <https://doi.org/10.1039/d0qm00732c>
- Lengert E., Saveleva M., Abalymov A., Atkin V., Wuytens P. C., Kamyshinsky R., Vasiliev A. L., Gorin D. A., Sukhorukov G. B., Skirtach A. G. Silver alginate hydrogel micro- and nanocontainers for theranostics: synthesis, encapsulation, remote release, and detection. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2017, vol. 9, pp. 21949–21958. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b08147>
- Abalymov A. A., Verkhovskii R. A., Novoselova M. V., Parakhonskiy B. V., Gorin D. A., Yashchenok A. M., Sukhorukov G. B. Live-cell imaging by confocal raman and fluorescence microscopy recognizes the crystal structure of calcium carbonate particles in hela cells. *Biotechnol. J.*, 2018, vol. 13, article number 1800071. <https://doi.org/10.1002/biot.201800071>
- German S. V., Abalymov A. A., Kurochkin M. A., Kan Y., Gorin D. A., Novoselova M. V. Plug-and-play lymph node-on-chip: secondary tumor modeling by the combination of cell spheroid, collagen sponge and T-cells. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, vol. 24, article number 3183. <https://doi.org/10.3390/ijms24043183>
- Anisimov R. A., Gorin D. A., Abalymov A. A. 3D Cell spheroids as a tool for evaluating the effectiveness of carbon nanotubes as a drug delivery and photothermal therapy agents. *J. Carbon Res. C*, 2022, vol. 8, pp. 56. <https://doi.org/10.3390/c8040056>
- Lu H., Stenzel M. H. Multicellular tumor spheroids (MCTS) as a 3D *in vitro* evaluation tool of nanoparticles. *Small*, 2018, vol. 14, article number 1702858. <https://doi.org/10.1002/sml.201702858>
- Moshksayan K., Kashaninejad N., Warkiani M. E., Lock J. G., Moghadas H., Firoozabadi B., Saidi M. S., Nguyen N. T. Spheroids-on-a-chip: Recent advances and design considerations in microfluidic platforms for spheroid formation and culture. *Sensors Actuators, B Chem.*, 2018, vol. 263, pp. 151–176. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.01.223>
- Parakhonskiy B., Zyuzin M. V., Yashchenok A., Carregal-Romero S., Rejman J., Möhwald H., Parak W. J., Skirtach A. G. The influence of the size and aspect ratio of anisotropic, porous CaCO₃ particles on their uptake by cells. *J. Nanobiotechnology*, 2015, vol. 13, iss. 1, pp. 53. <https://doi.org/10.1186/s12951-015-0111-7>

Поступила в редакцию 18.11.2023; одобрена после рецензирования 20.11.2023; принята к публикации 28.11.2023
The article was submitted 18.11.2023; approved after reviewing 20.11.2023; accepted for publication 28.11.2023



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 172–176

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 172–176

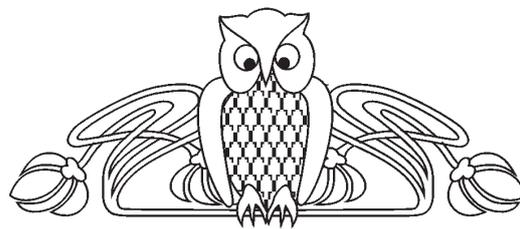
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-172-176>, EDN: BNLYPI

Научная статья

УДК 581.95

О распространении *Allium caeruleum* и *A. regelianum* (Alliaceae Borkh.) на территории Саратовской области



И. В. Шилова

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Шилова Ирина Васильевна, кандидат биологических наук, ведущий биолог УНЦ «Ботанический сад», schiva1952@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9828-4229>

Аннотация. О распространении *Allium caeruleum* Pall. и *A. regelianum* A. K. Becker в литературных источниках приводятся противоречивые сведения. На основании данных докторской диссертации А. О. Тарасова, результатов экспедиционных исследований и собственных гербарных сборов установлено, что *Allium caeruleum* распространён на территории Озинского (по меньшей мере, в окрестностях с. Непрякина) и Александрово-Гайского (по меньшей мере, в окрестностях с. Камышки) районов Саратовской области. Присутствие *A. regelianum* на территории Саратовской области маловероятно. Опубликованный ключ для определения видов рода *Allium* (Буланый и др., 2023) некорректен, поскольку не учитывает наличие луковичек (бульбочек) в соцветии *A. caeruleum*. Предложено внести изменения в ключ для определения луков, учитывая наличие луковичек (бульбочек) в соцветии *A. caeruleum*.

Ключевые слова: *Allium caeruleum* Pall., *A. regelianum* A. K. Becker, распространение, Саратовская область

Для цитирования: Шилова И. В. О распространении *Allium caeruleum* и *A. regelianum* (Alliaceae Borkh.) на территории Саратовской области // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 172–176. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-172-176>, EDN: BNLYPI

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

On the distribution of *Allium caeruleum* and *A. regelianum* (Alliaceae Borkh.) in the territory of the Saratov region

I. V. Shilova

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Irina V. Shilova, schiva1952@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9828-4229>

Abstract. Concerning the distribution of *Allium caeruleum* Pall. and *A. regelianum* A. K. Becker, recent literary sources provide conflicting information. Based on the data from the doctoral dissertation of A. O. Tarasov, the results of expeditionary research and our own herbarium collections, it is stated that *Allium caeruleum* is distributed in the Ozinsky (at least in the vicinity of the village of Nepryakin) and in the Aleksandrovo-Gaisky (at least in the vicinity of the village of Kamyski) districts of the Saratov region. The presence of *A. regelianum* in the Saratov region is, however, unlikely. The published key for identifying species of the genus *Allium* (Bulany et al., 2023) is incorrect, since it does not take into account the presence of bulblets in the inflorescence of *A. caeruleum*. It is proposed to make changes to the key for identifying onions, taking into account the presence of onions in the inflorescence of *A. caeruleum*.

Keywords: *Allium caeruleum* Pall., *A. regelianum* A. K. Becker, distribution, Saratov region

For citation: Shilova I. V. On the distribution of *Allium caeruleum* and *A. regelianum* (Alliaceae Borkh.) in the territory of the Saratov region. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 172–176 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-172-176>, EDN: BNLYPI

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

О распространении *Allium caeruleum* Pall. и *A. regelianum* A. K. Becker в литературных и рукописных источниках приводятся противоречивые сведения.

Впервые для Южного Заволжья *Allium caeruleum* Pall. был указан А. О. Тарасовым в Конспекте флоры Южного Заволжья [1] – для Озинского района, окрестностей п. Непряхин. В докторской диссертации Тарасова [2] ещё дважды упомянут этот вид: в Списке видов Южного Заволжья,



пропущенных во «Флоре Юго-Востока», и в Списке видов, которые следовало бы испытать в культуре в качестве декоративных [2, с. 76, 131]. Позже *A. caeruleum* для Саратовской области, без конкретизации районов, приводят В. А. Сагалаев [3] и, ссылаясь на него, А. П. Серёгин [4].

A. caeruleum был включён в «Конспект флоры Саратовской области» [5] для Озинского р-на, со ссылкой на обработку луков В. А. Сагалаева во Флоре Нижнего Поволжья [6]. В «Определителе сосудистых растений Саратовской области» [7] *A. caeruleum* приведён для Озинского р-на, но уже без ссылки на работу В. А. Сагалаева.

В статье [8] рассмотрены особенности распространения луков по территории Саратовской области на основе, как позиционируют авторы, достоверных литературных данных [5] и материалов гербариев SARP, MOSP, SARAT. При этом в список не включён *A. caeruleum*. В следующей статье тех же авторов [9] приведён ключ для определения видов рода *Allium* и затрагивается распространение луков на территории Саратовской области. Здесь *A. caeruleum* (как *A. coeruleum*) указан для Озинского р-на со ссылкой на «Конспект» [5].

A. regelianum А.К. Веcker В.А. Сагалаевым в работе [3] приведён для территории Саратовской области без конкретизации районов.

Во «Флоре Нижнего Поволжья» В. А. Сагалаевым [6] *A. regelianum*, кроме района Флоры – С5 (Саратовского Заволжья южнее р. Б. Иргиз), указан и для района Флоры – С3 (северных правобережных приволжских районов – Хвалынского, Воскресенского и восточной части Вольского). К сожалению, В. А. Сагалаевым указания даны без ссылки на источники.

А. П. Серёгин [4] указывает распространение *A. regelianum* на территории Саратовской области, давая ссылку на публикацию В. А. Сагалаева [3], со знаком вопроса.

A. regelianum в «Конспекте» и «Определителе» [5, 7] отмечен лишь для Озинского и Перелюбского р-нов, в то время как в публикациях [8, 9] указано на распространение данного вида по всей области. Этот, один из редчайших видов саратовской флоры, занесён в Красную книгу Саратовской области (КК СО) [10] со статусом 1 – вид, находящийся под угрозой исчезновения. При этом в очерке [11] при указании распространения *A. regelianum* приведены всё те же Озинский и Перелюбский р-ны.

Мы считаем целесообразным высказать свои соображения по поводу распространения *A. caeruleum* и *A. regelianum* на территории Саратовской области.

Материал

Материалом для прояснения ситуации с распространением *A. caeruleum* и *A. regelianum* на территории Саратовской области послужили указанные рукописи А. О. Тарасова [1, 2], вышеупомянутые публикации, результаты экспедиционных исследований сотрудников УНЦ «Ботанический сад» СГУ им. Н. Г. Чернышевского, собственные гербарные сборы, хранящиеся в SARBG.

Результаты и их обсуждение

Из текста диссертации А. О. Тарасова [2] видно, что Александр Осипович тщательно обследовал растительность в окр. с. Непряхина: там им сделан целый ряд геоботанических описаний. В «Конспекте флоры Южного Заволжья» [1] при указании распространения в окр. п. Непряхин сделана пометка, что имеются гербарные экземпляры. Это свидетельствует о том, что *Allium caeruleum* включён им в Список видов Южного Заволжья, пропущенных во «Флоре Юго-Востока», и в Список видов, которые следовало бы испытать в культуре в качестве декоративных [1, 2] не голословно. Гербарий А. О. Тарасова, включающий с большой долей вероятности гербарные листы с *Allium caeruleum*, поступил на хранение в SARAT. Просмотрены ли эти сборы авторами статей [8, 9]?

Вызывает вопрос исключение из списка видов *Allium caeruleum* в работе [8] авторами, опирающимися на «Конспект флоры Саратовской области» [5], где вид указан для Озинского района. В следующей статье [9] авторы работы [8] уже указывают *Allium caeruleum* для Озинского района, ссылаясь на [5]. Однако в «Конспекте флоры Саратовской области» [5] распространение *Allium caeruleum* в Озинском районе дано со ссылкой на обработку луков В. А. Сагалаева во Флоре Нижнего Поволжья [6], где В. А. Сагалаев сообщает, что указанный вид встречается в восточной части Заволжья и достоверно известен только из окрестностей оз. Эльтон. В. А. Сагалаев не упоминает Озинский район. Однако в более ранней публикации [3] В. А. Сагалаев указывал *A. caeruleum* для территории Саратовской области, не конкретизируя Право- или Левобережье. То есть в работе [5] могла произойти техническая (?) ошибка с указанием распространения *A. caeruleum* в Озинском районе по данным В. А. Сагалаева.

A. caeruleum, на основании публикации [12] и сборов из Александрово-Гайского р-на,



хранящихся в SARBG (Алгайский р-н, окр. с. Камышки, урочище Харламов сад. 23.VI. 2007. Панин, Шилова; Алгайский р-н, окр. с. Камышки, урочище Харламов сад. Среди кустарника вдоль р. Б. Узень. 21.06.2014. Шилова) (рис. 1), был предложен для внесения в 3-е издание КК СО [10] на заседании Комиссии по КК СО. Председатель Комиссии – В. А. Болдырев, участниками обсуждения о предлагаемых к внесению в КК СО видов были соавторы КК СО Ю. И. Буланый, Е. А. Нющенко (Архипова), М. В. Степанов. В результате *A. caeruleum* был внесён в 3-е издание КК СО. Получается, что авторы статей об особенностях распространения луков по территории Саратовской области не доверяют сами себе: утвердили внесение вида в КК СО, тем самым признав его существование на территории области, в частности

Александрово-Гайского р-на, и тут же забыли об этом. Или не доверяют сборам, хранящимся в SARBG? Кстати, в очерке об *A. caeruleum* в КК СО [14] указано, что в соцветии присутствуют луковички. Во всяком случае, в популяции из Александрово-Гайского р-на у большинства генеративных особей такая особенность отмечалась постоянно. Как В. А. Сагалаев [3, 6], так и А. П. Серёгин [4] в своих ключах руководствуются данным признаком. В ключе же, составленном саратовскими коллегами [9], этот факт не учтён. Зонтик с луковичками дан лишь для *A. sativum*, что затрудняет определение *A. caeruleum* с территории Саратовской области. К тому же стоит напомнить, что по современной номенклатуре [13] латинское название лука голубого пишется не через «о» – *Allium coeruleum* как в работе [9], а через «а» – *Allium caeruleum*.



а/а



б/б

Рис. 1. *Allium coeruleum* с территории Саратовской области: а – гербарный образец из SARBG; б – в природе – Саратовская область, Александрово-Гайский район, окр. с. Камышки. 21.06.2014. Фото И. В. Шиловой
Fig. 1. *Allium coeruleum* from the territory of the Saratov region: а – herbarium specimen from SARBG; б – in nature – Saratov region, Aleksandrovo-Gaisky district, env. With. Reeds. 06.21.2014. Photo by I. V. Shilova

С сожалением нужно признать, что авторы очерка об *A. caeruleum* в КК СО, И. В. Шилова и А. В. Панин [14], при указании распространения вида в Озинском районе сослались на

«Конспект флоры Саратовской области» [5], как более новый источник, но который ошибочно отсылает к работе В. А. Сагалаева, а не А. О. Тарасова.



Для выяснения распространения *A. regelianum* на территории Саратовской области сотрудниками Ботанического сада СГУ неоднократно предпринимались попытки обнаружить данный вид в левобережных Ровенском, Краснокутском, Питерском, Новоузенском, Александрово-Гайском, Озинском, Перелюбском, Пугачёвском районах Саратовской области, в том числе в местах, указанных в «Конспекте» [5]. Поиски успехом не увенчались. В то же время на территории Волгоградской области *A. regelianum* нами был найден как в Правобережье, так и в Левобережье (рис. 2). Совместно

с сотрудниками Волгоградского регионального ботанического сада в 2011 г. были изучены 23 его ценопопуляции в шести р-нах Волгоградской обл. Данное обстоятельство означает, что в случае обнаружения вида на территории Саратовской области он был бы нами опознан и зафиксирован. Нам кажется невозможным произрастание *A. regelianum* в указанных В. А. Сагалаевым [6] районах Саратовского Правобережья, поскольку здесь нет подходящих для его существования местообитаний. Указание [8, 9] на распространение вида по территории всей Саратовской области не имеет подтверждений.



а/а



б/б

Рис. 2. *Allium regelianum*: а – отдельное растение; б – популяция в лимане Хреноватом, Волгоградская область, Николаевский район, окрестности пос. Красный Мелиоратор

Fig. 2. *Allium regelianum*: а – separate plant; б – population in the Khrenovaty estuary, Volgograd region, Nikolaevsky district, vicinity of the village of Krasny Meliorator

Заключение

Итак, руководствуясь данными А. О. Тарасова и собственными сборами, считаем, что *A. caeruleum* распространён на территории Озинского (по меньшей мере, в окр. п. Непряхин) и Александрово-Гайского (по меньшей мере, в окр. с. Камышки) районов Саратовской области. Присутствие *A. regelianum* на территории Саратовской области маловероятно. Предлагаем внести изменения в составленный саратовскими коллегами ключ для определения луков, учитывая наличие луковичек (бульбочек) в соцветии *A. caeruleum*.

Список литературы

1. Тарасов А. О. Генезис флоры и зональной растительности Южного Заволжья: дис. ... д-ра биол. наук. Т. II. Приложение № 1 : Конспект флоры Южного Заволжья. Polytrichaceae – Rosaceae. Саратов, 1969. 258 с.
2. Тарасов А. О. Генезис флоры и зональной растительности Южного Заволжья: дис. ... д-ра биол. наук. Т. I. Саратов, 1971. 387 с.
3. Сагалаев В. А. Луки флоры Нижнего Поволжья // Бюл. ГБС. М. : Наука, 1997. Вып. 174. С. 41–47.
4. Серегин А. П. Флористические материалы и ключ по лукам (*Allium* L., Alliaceae) Европейской России // Бюл. Моск. о-ва испытателей природы. Отд. Биол. 2005. Т. 110, вып. 1. С. 45–50.



5. Еленевский А. Г., Буланый Ю. И., Радыгина В. И. Конспект флоры Саратовской области. Саратов : ИЦ «Наука», 2008. 232 с.
6. Сагалаев В. А. Сем. 38. Alliaceae Borkh. – Луковые // Флора Нижнего Поволжья. Т. 1. М. : Т-во науч. изд. КМК, 2006. С. 335–355.
7. Еленевский А. Г., Буланый Ю. И., Радыгина В. И. Определитель сосудистых растений Саратовской области. Саратов : ИП Баженов, 2009. 248 с.
8. Буланый Ю. И., Ньющенко Е. А., Болдырев В. А., Соляников В. В., Степанов М. В. Род *Allium* во флоре Саратовской области // Систематические и флористические исследования Северной Евразии: материалы III Всерос. конф. с междунар. уч. (к 95-летию со дня рождения проф. А. Г. Еленевского). М. : МПГУ, 2023. С. 78–81.
9. Буланый Ю. И., Ньющенко Е. А., Соляников В. В. Род *Allium* во флоре Саратовской области : ключ для определения и некоторые особенности распространения видов // Живые системы – 2023 : сб. науч. ст. / под ред. А. С. Пархоменко, О. И. Юдаковой. Саратов : СГУ имени Н. Г. Чернышевского, 2023. С. 22–24.
10. Красная книга Саратовской области: Грибы. Лишайники. Растения. Животные. Саратов : Папирус, 2021. 496 с.
11. Буланый Ю. И. Лук Регеля – *Allium regelianum* A. Beck. // Красная книга Саратовской области : Грибы. Лишайники. Растения. Животные. Саратов : Папирус, 2021. С. 67.
12. Шилова И. В., Панин А. В., Петрова Н. А. О некоторых интересных в ботаническом отношении участках Левобережья Саратовской области, предлагаемых к включению в региональную сеть особо охраняемых природных территорий // Бюл. Бот. сада Саратов. ун-та. 2013. Вып. 11. С. 41–46.
13. POWO (2023). «Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet». URL : <http://www.plantsoftheworldonline.org> (дата обращения 14.11.2023)
14. Шилова И. В., Панин А. В. Лук голубой – *Allium caeruleum* Pall. // Красная книга Саратовской области: Грибы. Лишайники. Растения. Животные. Саратов : Папирус, 2021. С. 65–66.
4. Seregin A. P. Floristic materials and key to onions (*Allium* L., Alliaceae) of European Russia. *Bulletin of the Moscow Society of Naturalists. Dept. Biol.*, 2005, vol. 110, iss. 1, pp. 45–50 (in Russian).
5. Elenevsky A. G., Bulany Yu. I., Radygina V. I. *Konspekt flory Saratovskoy oblasti* [List of the flora of the Saratov region]. Saratov, ITs “Nauka”, 2008. 232 p. (in Russian).
6. Sagalaev V. A. Gen. 38. Alliaceae Borkh. *Flora Nizhnego Povolzh'ya. T. 1* [Flora of the Lower Volga region. Vol. 1]. Moscow, KMK Sci. Press, 2006, pp. 335–355 (in Russian).
7. Elenevsky A. G., Bulany Yu. I., Radygina V. I. *Opre-delitel' sosudistykh rasteniy Saratovskoy oblasti* [Key to vascular plants of the Saratov region]. Saratov, “IP Bazhenov”, 2009. 248 p. (in Russian).
8. Bulany Yu. I., Nyushchenko E. A., Boldyrev V. A., Solyannikov V. V., Stepanov M. V. The genus *Allium* in the flora of the Saratov region. In: *Rod Allium vo flore Saratovskoy oblasti. Sistematischekiye i floristicheskiye issledovaniya Severnoy Yevrazii: materialy III Vserossiyskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiyem (k 95-letiyu so dnya rozhdeniya prof. A. G. Yelenevskogo* [Systematic and floristic studies of Northern Eurasia: Materials of the III All-Russian conference with international participation (to the 95 th anniversary of the birth of Professor A. G. Elenevsky)]. Moscow, MPGU Publ., 2023, pp. 78–81 (in Russian).
9. Bulany Yu. I., Nyushchenko E. A., Solyannikov V. V. Genus *Allium* in the flora of the Saratov region: Key for identification and some features of species distribution. In: Parkhonenko A. S., Yudakova O. I., eds. *Living systems – 2023: Coll. of sci. articles*. Saratov, Saratov State University Publ., 2023, pp. 22–24 (in Russian).
10. *Krasnaya kniga Saratovskoy oblasti : Griby. Lishayniki. Rasteniya. Zhivotnyye* [Red Book of the Saratov Region: Mushrooms. Lichens. Plants. Animals]. Saratov, Papyrus, 2021. 496 p. (in Russian).
11. Bulany Yu. I. *Allium regelianum* A. Beck. In: *Krasnaya kniga Saratovskoy oblasti : Griby. Lishayniki. Rasteniya. Zhivotnyye* [Red Book of the Saratov Region: Mushrooms. Lichens. Plants. Animals]. Saratov, Papyrus, 2021. p. 67 (in Russian).
12. Shilova I. V., Panin A. V., Petrova N. A. About some botanically interesting areas of the Left Bank of the Saratov region, proposed for inclusion in the regional network of specially protected natural areas. *Bulletin of Botanical Garden of Saratov State University*, 2013, vol. 11, pp. 41–46 (in Russian).
13. POWO (2023). “Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet”. Available at: <http://www.plantsoftheworldonline.org> (accessed November 14, 2023).
14. Shilova I. V., Panin A. V. *Allium caeruleum* Pall. In: *Krasnaya kniga Saratovskoy oblasti: Griby. Lishayniki. Rasteniya. Zhivotnyye* [Red Book of the Saratov Region: Mushrooms. Lichens. Plants. Animals]. Saratov, Papyrus, 2021, pp. 65–66 (in Russian).

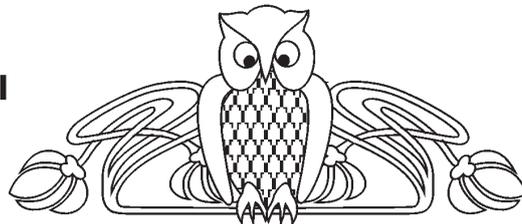
Поступила в редакцию 28.11.2023; одобрена после рецензирования 04.12.2023; принята к публикации 04.12.2023
The article was submitted 28.11.2023; approved after reviewing 04.12.2023; accepted for publication 04.12.2023



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 177–183
Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 177–183
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-177-183>, EDN: AYVOCP

Научная статья
УДК 633.15

Комбинационная способность новых дигаплоидных линий кукурузы в условиях Правобережья Саратовской области



О. В. Гуторова¹✉, С. А. Зайцев², Э. С. Шахгелдян¹

¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83.

²Российский научно-исследовательский и проектно-технологический институт сорго и кукурузы «Россорго», Россия, 410050, г. Саратов, 1-й Институтский проезд, д. 4

Гуторова Ольга Валентиновна, старший преподаватель кафедры генетики, olga.gutorova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6975-8675>

Зайцев Сергей Александрович, кандидат сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудник, zea_mays@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6829-1970>

Шахгелдян Элада Самвеловна, магистрант кафедры генетики, shahgeldyanelada@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0004-4076-1258>

Аннотация. Дигаплоидные линии, или линии, полученные на основе удвоенных гаплоидов, являются ценным материалом для создания высокогетерозисных гибридов кукурузы. Наиболее эффективным методом оценки исходного материала при подборе родительских пар для получения гибридов является диаллельный анализ. Представлены результаты анализа показателей 6 линий кукурузы гаплоидного происхождения и 30 гибридов кукурузы диаллельной схемы. Изучена комбинационная способность линий по длине стебля, высоте заложения початка, длине метелки. Выявлены эффекты ОКС и дисперсии СКС, а также компоненты генетической дисперсии по вышеуказанным характеристикам. Выделены линии с высокими показателями ОКС и СКС. Варьирование показателей комбинационной способности в годы исследования указывает на то, что степень силы проявления эффектов ОКС и дисперсии СКС морфометрических параметров у определенных линий некоторым образом изменяется под воздействием условий выращивания. Анализ компонентов генетической дисперсии показал, что в зависимости от условий выращивания длины стебля оказывали влияние от 1 до 3, высоты заложения початка – от 1 до 3, длины метелки – от 1 до 2 генов или групп генов. Выявлена закономерность: в более благоприятных условиях 2021 и 2023 гг. по длине стебля и длине метелки увеличивается количество генов, контролирующих проявление признаков. Установлено существенное влияние компонентов доминирования (H_1 , H_2). Доминирование по длине стебля, высоте заложения початка и длине метелки направлено в сторону родительских форм с большей выраженностью признака.

Ключевые слова: кукуруза, линия, гибриды, изменчивость, ОКС, СКС, диаллельный анализ

Для цитирования: Гуторова О. В., Зайцев С. А., Шахгелдян Э. С. Комбинационная способность новых дигаплоидных линий кукурузы в условиях Правобережья Саратовской области // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 177–183. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-177-183>, EDN: AYVOCP

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Combination ability of new dihaploid corn lines in the conditions of the Right Bank of the Saratov region

O. V. Gutorova¹✉, S. A. Zaitsev², E. S. Shahgeldyan¹

¹Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

²Russian Research Institute for Sorghum and Maize «Rossorgo», 4 1st Institute Passage St., Saratov 410050, Russia

Olga V. Gutorova, olga.gutorova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6975-8675>

Sergey A. Zaitsev, zea_mays@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6829-1970>

Elada S. Shahgeldyan, shahgeldyanelada@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0004-4076-1258>

Abstract. Dihaploid lines, or lines obtained on the basis of doubled haploids, are a valuable material for the creation of high-heterosis corn hybrids. The most effective method of evaluating the starting material when selecting parental couples for obtaining hybrids is diallel analysis. The article presents the results of the analysis of indicators of 6 dihaploid corn lines and 30 simple corn hybrids of the diallel scheme. The combinative



ability of lines along the stem length, the cob attachment height, and the panicle length was studied. The effects of the GCA and SCA dispersion, as well as the components of genetic dispersion for the above characteristics were revealed. Lines with high GCA and SCA rates were identified. The variation of the indicators of combinative ability during the years of the study indicates that the degree of strength of the effects of GCA and the dispersion of SCA morphometric parameters in certain lines varies to some extent under the influence of growing conditions. The analysis of the components of genetic dispersion showed that, depending on the growing conditions, the formation of stem length was influenced by 1 to 3, cob height by 1 to 3, and panicle length by 1 to 2 genes or groups of genes. A pattern has been revealed: in more favorable conditions in 2021 and 2023, the number of genes that control the manifestation of the stem length and the panicle length traits increases. A significant impact of dominance components (H_1 , H_2) has been established. Dominance in stem length, ear height and panicle length is directed towards the parental forms with greater expression of the trait.

Key words: corn, line, hybrids, GCA, SCA, diallel analysis

For citation: Gutorova O. V., Zaitsev S. A., Shahgeldyan E. S. Combination ability of new dihaploid corn lines in the conditions of the Right Bank of the Saratov region. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 177–183 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-177-183>, EDN: AYWOCР

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

В настоящее время работа селекционеров направлена на ускорение селекционного процесса и повышение урожайности гибридов. Использование в селекции кукурузы дигаплоидных (полученных на основе гаплоидных растений) линий в несколько раз сокращает процесс создания новых инбредных линий и на их основе высокогетерозисных гибридов [1, 2]. Введение в селекционный процесс гаплоиндукторов значительно ускоряет время создания инбредных линий со 100% гомозиготностью по всем локусам генов [3]. Однако, чтобы найти наиболее пригодный исходный материал для получения лучших гибридов, селекционерам необходимо испытать линии на комбинационную способность по необходимым селекционным параметрам [4]. Одним из способов является использование диаллельных скрещиваний, т.е. получение гибридов F_1 во всех возможных комбинациях между исследуемыми линиями. Затем по растениям F_1 оценивается комбинационная способность родительских форм. С помощью общей комбинационной способности (ОКС) выявляют линии, давшие наиболее урожайные гибриды [5]. Специфическая комбинационная способность (СКС) показывает, какие именно комбинации двух линий дают гибриды F_1 с наилучшими показателями [6]. Длина стебля, высота заложения початка и длина метелки являются важными морфологическими признаками, которые учитываются при выращивании кукурузы [7, 8]. При возделывании кукурузы на силос используются высокорослые формы, при возделывании на зерно – низкорослые; высота заложения початка определяет возможность уборки урожая с помощью техники; длина метелки является значимой при механизированном удалении метелок при получении гибридов [9].

Целью исследований было оценить комбинационную способность 6 новых дигаплоидных линий кукурузы по вышеуказанным морфологическим признакам на основе испытания их гибридов F_1 .

Материалы и методы

Работа по анализу комбинационной способности линий проводилась в 2021–2023 гг. на экспериментальном поле ФГБНУ РосНИИСК «Россорго» в условиях Правобережья Саратовской области. Изучали 6 дигаплоидных линий и полученные от них по полной диаллельной схеме 30 гибридов F_1 (метод 1 по Гриффингу) [10, 11]. Повторность трехкратная. Площадь делянки составляла 7,7 м², густота стояния растений – 55 тыс. растений/га. Линии были созданы с применением технологии удвоенных гаплоидов. Технология включала в себя: получение с помощью линии-гаплоиндуктора ЗМС-П матроклинных гаплоидов, обработку их колхицином на стадии 3–5-х листьев для диплоидизации, и самоопыление растений, сформировавших фертильные женские и мужские соцветия [12]. Анализ компонентов генетической дисперсии проводили по Хейману [13].

Результаты и их обсуждение

Анализ данных 2021–2023 гг. по длине стебля, высоте заложения початка и длине метелки показал, что дигаплоидные линии имеют меньшие значения по данному показателю по сравнению с гибридами. Длина стебля у линий меньше, чем среднегрупповые значения гибридов (табл. 1). В 2021 г. среднее значение длины стебля у линий составило 163, в 2022 г. – 180,8, в 2023 г. – 149,4 см. В 2021 г. среднее значение длины стебля у гибридов составило 196,1, в 2022 г. – 188,5,



Таблица 1 / Table 1

Морфометрические параметры дигаплоидных линий кукурузы и среднегрупповые значения гибридов, 2021–2023 гг.

Morphometric parameters of dihaploid maize lines and average group values of hybrids, 2021–2023

Линия / Line	2021		2022		2023	
	P	F	P	F	P	F
Длина стебля, см / Sstem length, sm						
ОГ 1 / OG 1	126,6	176,9	137,4	147,0	127,0	165,3
ОГ 2 / OG 2	165,6	204,0	183,7	172,7	143,2	190,7
ОГ 3 / OG 3	186,0	198,5	203,1	212,0	154,3	182,9
ОГ 4 / OG 4	158,0	202,6	206,6	192,9	158,7	196,5
ОГ 5 / OG 5	167,0	203,4	168,6	221,8	162,1	192,7
ОГ 6 / OG 6	178,2	191,1	185,3	184,2	151,3	186,4
Среднее значение / Average	163,6	196,1	180,8	188,5	149,4	185,8
Высота заложения початка, см / Cob height, sm						
ОГ 1 / OG 1	34,0	67,5	31,0	50,3	27,0	55,6
ОГ 2 / OG 2	74,0	88,2	51,8	60,5	41,7	76,8
ОГ 3 / OG 3	76,4	86,1	74,1	88,5	55,7	67,2
ОГ 4 / OG 4	84,0	88,3	87,9	81,1	59,9	80,8
ОГ 5 / OG 5	59,2	80,6	54,3	84,7	61,3	73,2
ОГ 6 / OG 6	62,8	71,4	63,3	65,6	56,5	72,1
Среднее значение / Average	65,1	80,3	60,4	71,8	50,4	70,9
Длина метелки, см / Panicle length, sm						
ОГ 1 / OG 1	45,9	51,8	40,5	44,6	43,0	45,6
ОГ 2 / OG 2	48,4	53,4	45,4	47,9	41,7	47,3
ОГ 3 / OG 3	42,5	46,3	42,4	47,4	37,7	45,9
ОГ 4 / OG 4	31,7	48,5	27,8	45,4	23,4	45,8
ОГ 5 / OG 5	38,0	49,3	38,8	49,7	35,6	43,6
ОГ 6 / OG 6	52,0	56,1	36,5	49,6	43,6	47,8
Среднее значение / Average	43,1	50,9	38,6	47,5	37,5	45,9

Примечание. P – среднее значение линии, F – среднегрупповое значение гибридов.

Note. P – is the average value of the line, F – is the average group value of hybrids.

в 2023 г. – 185,8 см. Наименьшее значение длины стебля отмечено у линии ОГ 1 (126,6–137,4 см), наибольшее у линий ОГ 4 (158,7–206,6 см) и ОГ 3 (154,3–203,1 см).

В 2021 г. среднее значение высоты заложения початка у линий составило 65,1, в 2022 г. – 60,4, в 2023 г. – 50,4 см. У гибридов среднее значение высоты заложения початка в 2021 г. составило 80,3, в 2022 г. – 71,8, в 2023 г. – 70,9 см. Наименьшая высота заложения початка отмечена у линии ОГ 1 (27,0–34,0 см), наибольшая – у линии ОГ 4 (59,9–87,9 см).

В 2021 г. среднее значение длины метелки у линий составило 43,1, в 2022 г. – 38,6, в 2023 г. – 37,5 см. У гибридов среднее значение длины

метелки составило в 2021 г. 50,9, в 2022 г. – 47,5, в 2023 г. – 45,9 см. Наименьшая длина метелки отмечена у линии ОГ 4 (23,4–31,7 см), наибольшая – у линии ОГ 6 (36,5–52 см).

Общая комбинационная способность выражает среднюю ценность линии в гибридных комбинациях с ее использованием и измеряется средним значением отклонения признака у всех ее гибридов F₁ от общего среднего по всем формам диаллельной схемы [14].

Анализ эффекта ОКС по длине стебля, высоте заложения початка и длине метелки линий кукурузы по годам показал следующие результаты, представленные в табл. 2. Высокий эффект ОКС по длине стебля в 2021 г. наблюдался у линий



Таблица 2 / Table 2

Эффекты ОКС по морфометрическим показателям дигиплоидных линий кукурузы
Effects of GCA by morphometric parameters of dihaploid maize lines

Линия / Line	Длина стебля / Stem length			Высота заложения початка / Cob height			Длина метелки / Panicle length		
	2021	2022	2023	2021	2022	2023	2021	2022	2023
ОГ 1 / OG 1	-16,3	-27,7	-20,1	-14,0	-16,7	-16,7	2,4	-0,2	0,5
ОГ 2 / OG 2	3,7	-7,6	2,8	6,8	-6,9	3,5	2,4	1,7	1,7
ОГ 3 / OG 3	6,9	15,1	-1,81	5,6	10,7	-2,3	-3,2	-0,5	-0,1
ОГ 4 / OG 4	4,1	6,8	10,2	9,5	10,9	9,8	-3,8	-3,9	-3,3
ОГ 5 / OG 5	7,3	14,6	8,4	-0,6	5,2	3,7	-2,6	1,2	-1,3
ОГ 6 / OG 6	-5,7	-1,3	0,5	-7,3	-3,2	2,0	4,7	1,7	2,4
F	140,9	55,5	122,9	396,9	102,1	191,1	44,5	38,8	14,5
НСР _{0,05} / LSD _{0,05}	3,10	8,67	3,9	1,82	4,31	2,6	2,16	1,4	2,2

Примечание. F – среднегрупповое значение гибридов.

Note. F – the average group value of hybrids.

ОГ 2, ОГ 3, ОГ 4 и ОГ 5. В 2022 г. высокий эффект ОКС по данной характеристике отмечен у линий ОГ 3, ОГ 4 и ОГ 5. В 2023 г. высокие показатели были у линий ОГ 2, ОГ 4, ОГ 5. Таким образом, наиболее стабильными по данному показателю оказались линии ОГ 4 и ОГ 5.

По высоте заложения початка высокий эффект ОКС наблюдался в 2021 г. у линий ОГ 2, ОГ 3, ОГ 4; в 2022 г. – у линий ОГ 3, ОГ 4 и ОГ 5; в 2023 г. – ОГ 2, ОГ 4, ОГ 5. Наиболее стабильным оказался эффект ОКС у линии ОГ 4, относительно стабильным – у линий ОГ 2, ОГ 3 и ОГ 5.

По длине метелки высокий эффект ОКС наблюдался в 2021 г. у линий ОГ 1, ОГ 2, ОГ 6; в 2022 г. – у линий ОГ 2, ОГ 5, ОГ 6; в 2023 г. – у

линий ОГ 1, ОГ 2, ОГ 6. Таким образом, наиболее стабильной по данному показателю оказалась линия ОГ 2 и ОГ 6, относительно стабильной – линия ОГ 1.

В 2021 г. относительно низкие показатели дисперсии СКС по длине стебля отмечались у линий ОГ 5 и ОГ 6, а высокие показатели – у линий ОГ 1, ОГ 2, ОГ 4 (табл. 3). В 2022 г. относительно низкие показатели выявлены у линии ОГ 1 и ОГ 4, высокие – у линий ОГ 5, ОГ 6, ОГ 3. В 2023 г. низкие показатели дисперсии СКС по длине стебля выявлены у линий ОГ 3 и ОГ 6, высокие – у линий ОГ 2, ОГ 4 и ОГ 5. Наиболее стабильными по данному показателю оказались линии ОГ 2, ОГ 4 и ОГ 5.

Таблица 3 / Table 3

Дисперсия СКС по морфометрическим показателям дигиплоидных линий кукурузы
Dispersion of SCA by morphometric parameters of dihaploid maize lines

Линия / Line	Длина стебля / Stem length			Высота заложения початка / Cob height			Длина метелки / Panicle length		
	2021	2022	2023	2021	2022	2023	2021	2022	2023
ОГ 1 / OG 1	156,4	110,2	100,6	14,0	20,7	114,9	5,5	5,9	12,2
ОГ 2 / OG 2	155,2	163,2	201,8	46,6	31,5	175,5	22,5	7,5	6,7
ОГ 3 / OG 3	110,2	184,3	41,7	59,7	46,9	19,1	12,7	13,8	9,0
ОГ 4 / OG 4	244,0	129,9	195,7	24,1	32,8	134,8	6,8	16,8	15,3
ОГ 5 / OG 5	96,0	240,8	151,4	13,3	39,3	94,6	10,0	6,5	10,8
ОГ 6 / OG 6	103,3	227,3	54,6	23,4	16,4	24,8	17,7	7,2	7,1
F	89,8	10,1	57,9	55,2	10,1	66,9	13,0	27,6	12,9

Примечание. См. табл. 2.

Note. See Table 2.



Показатели дисперсии СКС по высоте заложения початка по годам были следующими (см. табл. 3). В 2021 г. относительно низкие показатели были у линий ОГ 1 и ОГ 5, высокие – у линий ОГ 2 и ОГ 3. В 2022 г. относительно низкой дисперсией характеризовалась линия ОГ 6, высокой – ОГ 3, ОГ 5. В 2023 г. низкая дисперсия была у линий ОГ 3 и ОГ 6, высокая – у линий ОГ 1, ОГ 2, ОГ 4. Наиболее стабильными по данному показателю по годам оказались линии ОГ 2, ОГ 3 и ОГ 4.

Показатели дисперсии СКС по длине метелки также отличались по годам (см. табл. 3). В 2021 г. относительно низкие показатели были у линий ОГ 1 и ОГ 4, высокие – у линий ОГ 2, ОГ 3 и ОГ 6. В 2022 г. относительно низкой дисперсией характеризовалась линия ОГ 1, относительно высокой – ОГ 3, ОГ 4. В 2023 г. низкая дисперсия была у линий ОГ 2 и ОГ 6, относительно высокая – у линий ОГ 1, ОГ 4, ОГ 5. Наиболее стабильными по данному показателю по годам оказались линии ОГ 3 и ОГ 4.

Варьирование показателей комбинационной способности в годы исследования указывает на то, что степень силы проявления эффектов ОКС и дисперсии СКС морфометрических параметров у определенных линий несколько изменяется под воздействием условий выращивания.

Метод диаллельных скрещиваний также позволяет установить характер наследования количественных признаков, получить информацию о других генетических свойствах анализируемых форм (табл. 4). В опыте отмечается отрицательная корреляция (r) между значением изучаемых признаков и доминированием у родительских линий: $-0,28 \dots -0,84$ (длина стебля), $-0,04 \dots -0,90$ (высота заложения початка), $-0,32 \dots -0,96$ (длина метелки). Эти показатели, а также тот факт, что разности между общей средней признака у всего потомства (m_{11}) и средней родительских форм (m_{10}) имеют положительные значения, указывают на то, что доминирование в исследуемой выборке было направлено в сторону родительских форм с большей выраженностью признака.

Таблица 4 / Table 4

Компоненты генетической дисперсии по морфометрическим параметрам дигаплоидных линий кукурузы, 2021–2023 гг.
Components of genetic dispersion by morphometric parameters of dihaploid maize lines, 2021–2023

Компонент / Component	Длина стебля / Stem length			Высота заложения початка / Cob height			Длина метелки / Panicle length		
	2021	2022	2023	2021	2022	2023	2021	2022	2023
D	73,5	379,0	187,3*	365,1*	362,9*	-2,5	49,8*	72,2*	53,2*
F	177,1	162,0	-172,0	85,0	281,6	-35,7	17,1	53,6*	64,1*
H ₁	2008,4*	2752,7*	1462,6*	307,3*	535,9*	748,8*	110,1*	115,0*	164,6*
H ₂	1612,1*	2117,9*	1354,8*	253,6*	457,6*	627,0*	96,6*	104,3*	133,9*
h	1949,5*	866,8	2772,8*	561,7*	229,7	574,7*	165,2*	77,2*	200,7*
E	19,3*	245,3	32,3	7,4*	111,5*	18,9	9,1*	4,0	6,3
m ₁₁ -m ₁₀	22,2	16,0	26,4	11,9	8,5	12,1	6,5	4,5	7,1
$\sqrt{H_1}/D$	5,2	2,7	2,8	0,9	1,2	17,4	1,5	1,2	1,8
$H_2/4H_1$	0,20	0,19	0,23	0,21	0,21	0,21	0,22	0,23	0,20
h/H_2	1,2	0,4	2,1	2,2	0,5	0,9	1,7	0,7	1,5
r	-0,84	-0,28	-0,45	-0,90	-0,04	-0,36	-0,32	-0,70	-0,96

Примечание. * – значимый параметр.

Note. * – significant parameter.

По длине стебля, высоте заложения початка, длине метелки выявлены существенно значимые показатели компонентов доминирования (H₁, H₂) во все годы исследования. По абсолютной величине компоненты доминирования превысили значения компонента D, характеризующего аддитивное действие генов по длине стебля в 2021–2023 гг., высоте заложения

початка в 2022 г., длине метелки в 2021–2023 гг. Отношение $\sqrt{H_1}/D$, превышающее единицу, свидетельствует о положительном влиянии сверхдоминирования по длине стебля в 2021–2023 гг. (2,7–5,2), длине метелки в 2021–2023 гг. (1,2–1,8) и высоте заложения початка в 2022 г. (1,2). Значение $\sqrt{H_1}/D$ равно 0,9 указывает на неполное доминирование в 2021 г. по высоте заложения



початка, а несущественные значения компонента D в 2023 г. не позволяют достоверно оценить параметр в 2023 г.

Значения отношения $H_2/4H_1$ в 2021–2023 гг. меньше теоретического значения (0,25), что указывает на неравномерное распределение аллелей с положительными и отрицательными эффектами в исследуемой выборке по морфометрическим параметрам. Анализ компонентов указывает на то, что в зависимости от условий выращивания на формирование длины стебля оказывали влияние от 1 до 3, высоты заложения початка – от 1 до 3, длины метелки – от 1 до 2 генов или групп генов. Варьирование компонентов генетической дисперсии и количества генов соответствует модели эколого-генетического контроля количественных признаков, когда при смене лимитирующего рост растений фактора внешней среды меняются спектр и число генов, детерминирующих один и тот же количественный признак [15]. Проявляется определенная закономерность: в более благоприятных условиях 2021 и 2023 гг. по длине стебля и длине метелки увеличивается количество генов, контролирующих проявление признаков.

Выводы

Использование диаллельного анализа позволяет определить компоненты генетической дисперсии и провести оценку новых гомозиготных линий кукурузы. Результаты анализа ОКС дигаплоидных линий указывают на высокие показатели по длине стебля у линий ОГ 4 и ОГ 5, по высоте заложения початка у линий – у линий ОГ 2, ОГ 3 и ОГ 5, по длине метелки – у линий ОГ 1, ОГ 2 и ОГ 6, что позволяет использовать данные линии в селекции на повышение признаков. Относительно стабильными высокими показателями дисперсии СКС по длине стебля обладают линии ОГ 2, ОГ 4 и ОГ 5; по высоте заложения початка – линии ОГ 2, ОГ 3 и ОГ 4; по длине метелки – линии ОГ 3 и ОГ 4. Установлены существенное влияние компонентов доминирования (H_1 , H_2), а также направленность доминирования в сторону родительских форм с большей выраженностью признака.

Список литературы

1. *Werkissa Yali*. Haploids and doubled haploid technology application in modern plant breeding // Journal of Plant Sciences. 2022. Vol. 10, № 2. P. 71–75. <https://doi.org/10.11648/jps.20221002.14>
2. *Ульянов А. В., Карлов А. В., Хатевов Э. Б.* Использование гаплоиндукторов кукурузы как инструмента в биотехнологии сельскохозяйственных растений // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2022. Т. 26, № 7. С. 704–713. <https://doi.org/10.18699/VJGB-22-85>
3. *Асадова Г. М., Ульянов А. В., Карлов М. В., Хатевов Э. Б.* Перспективы использования гаплоиндукторов в селекции кукурузы // Биотехнология и селекция растений. 2020. Т. 3, № 2. С. 16–29. <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2020-2-03>
4. *Zaitsev S. A., Volkov D. P., Guseva S. A., Babushkin D. D.* Genetic control of the number of grains on corn cob // E3S Web of Conferences. Ser. International Scientific and Practical Conference “Fundamental and Applied Research in Biology and Agriculture: Current Issues, Achievements and Innovations”, “FARBA 2021”. 2021. Vol. 254. P. 01031. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202125401031>
5. *Турбин Н. В., Хотылева Л. В., Тарутина Л. А.* Диаллельный анализ в селекции растений. Минск : Наука и техника, 1974. 184 с.
6. *Орлянская Н. А., Орлянский Н. А., Чеботарёв Д. С.* Оценка комбинационной способности самоопыленных семей кукурузы (S5) смешанной генетической плазмы // Вестник Казанского государственного аграрного университета. 2022. № 2 (66). С. 28–35. <https://doi.org/10.12737/2073-0462-2022-28-35>
7. *Зезин Н. Н., Панфилов А. Э., Казакова Н. И., Намятов М. А., Цымбаленко И. Н., Гридин В. Ф., Иванова Е. С., Салтанова Р. Д.* Кукуруза на Урале. Екатеринбург : Уральский НИИСХ, Уральское изд-во, 2017. 204 с.
8. *Гужов Ю. Л., Фукс А., Валичек П.* Селекция и семеноводство культивируемых растений : учебник / под ред. Ю. Л. Гужова. М. : Изд-во РУДН, 1999. 536 с.
9. *Богдан П. М., Красковская Н. А., Даниленко И. Н.* Оценка коллекции инбредных линий кукурузы Приморской селекции // Аграрная наука. 2023. № 9. С. 133–138. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-374-9-133-138>
10. *Griffing V.* Concept of general and combining ability in relation to diallel crossing systems // J. Biol. Sci. 1956. № 9. P. 463–493.
11. *Федин М. А., Силис Д. Я., Смирязев А. В.* Статистические методы генетического анализа. М. : Колос, 1980. 208 с.
12. *Гуторова О. В., Юдакова О. И., Зайцев С. А.* Оценка эффективности гаплоиндуктора кукурузы ЗМС-П // Аграрный научный журнал. 2019. № 7. С. 14–18. <https://doi.org/10.28983/asj.y2019i7pp14-18>
13. *Hayman V. I.* The theory and analysis of diallel crosses // Genetics. 1954. Vol. 10. P. 235–244.
14. *Смирязев А. В., Кильчевский А. В.* Генетика популяций и количественных признаков. М. : Колос, 2007. 272 с.
15. *Драгавцев В. А., Литун П. П., Шкель Н. М., Нечипоренко Н. Н.* Модель эколого-генетического контроля количественных признаков растений // Доклады АН СССР. 1984. Т. 274, № 3. С. 720–723.



References

1. Werkissa Yali. Haploids and doubled haploid technology application in modern plant breeding. *Journal of Plant Sciences*, 2022, vol. 10, no. 2, pp. 71–75. <https://doi.org/10.11648/j.jps.20221002.14>
2. Ulyanov A. V., Karlov A. V., Xatefov E. B. The use of maize haploidy inducers as a tool in agricultural plant biotechnology. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 2022, vol. 26, no. 7, pp. 704–713 (in Russian). <https://doi.org/10.18699/VJGB-22-85>
3. Asadova G. M., Ulyanov A. V., Karlov M. V., Xatefov E. B. Prospects for the use of haploinductors in corn breeding. *Plant Biotechnology and Breeding*, 2020, vol. 3, no. 2, pp. 16–29 (in Russian). <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2020-2-03>
4. Zaitsev S. A., Volkov D. P., Guseva S. A., Babushkin D. D. Genetic control of the number of grains on corn cob. *E3S Web of Conferences. International Scientific and Practical Conference "Fundamental and Applied Research in Biology and Agriculture: Current Issues, Achievements and Innovations", "FARBA 2021"*, 2021, vol. 254, pp. 01031. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202125401031>
5. Turbin N. V., Xotyleva L. V., Tarutina L. A. *Diallel'nyj analiz v selektsii rastenij* [Diallel analysis in plant breeding]. Minsk, Nauka i tekhnika, 1974. 184 p. (in Russian).
6. Orlyanskaya N. A., Orlyanskij N. A., Chebotaryov D. S. Evaluation of combining ability of corn inbreds (S5) developed from genetically diverse germplasm. *Vestnik of Kazan State Agrarian University*, 2022, vol. 17, no. 2 (66), pp. 28–35 (in Russian). <https://doi.org/10.12737/2073-0462-2022-28-35>
7. Zezin N. N., Panfilov A. E., Kazakova N. I., Namyatov M. A., Tsymbalenko I. N., Gridin V. F., Ivanova E. S., Saltanova R. D. *Kukuruz na Urale* [Corn in the Urals]. Ekaterinburg, Ural Research Institute of Agriculture Publ., 2017. 204 p. (in Russian).
8. Guzhov Yu. L., Fuks A., Valichek P. *Selektsiya i semenovodstvo kul'tiviruemykh rasteniy: uchebnik. Pod red. Yu. L. Guzhova* [Guzhov Yu. L., ed. Breeding and seed production of cultivated plants. Textbook]. Moscow, RUDN Publ., 1999. 536 p. (in Russian).
9. Bogdan P. M., Kraskovskaya N. A., Danilenko I. N. Evaluating the collection of maize inbred lines originating from Primorsky Krai. *Agrarian Science*, 2023, no. 9, pp. 133–138 (in Russian). <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-374-9-133-138>
10. Griffing B. Concept of general and combining ability in relation to diallel crossing systems. *J. Biol. Sci.*, 1956, no. 9, pp. 463–493.
11. Fedin M. A., Silis D. Ya., Smiryayev A. V. *Statisticheskie metody geneticheskogo analiza* [Statistical methods of genetic analysis]. Moscow, Kolos, 1980. 208 p. (in Russian).
12. Gutorova O. V., Yudakova O. I., Zajcev S. A. The effectiveness evaluation of the haploid inducer of maize line ZMS-P. *The Agrarian Scientific Journal*, 2019, no. 7, pp. 14–18 (in Russian). <https://doi.org/10.28983/asj.y2019i7pp14-18>
13. Hayman B. I. The theory and analysis of diallel crosses. *Genetics*, 1954, vol. 10, pp. 235–244.
14. Smiryayev A. V., Kilchevskij A. V. *Genetika populyatsiy i kolichestvennykh priznakov* [Genetics of populations and quantitative traits]. Moscow, Kolos, 2007. 272 p. (in Russian).
15. Dragavcev V. A., Litun P. P., Shkel' N. M., Nechiporenko N. N. Model of ecological-genetic control of quantitative traits of plants. *Doklady AN SSSR*, 1984, vol. 274, no. 3, pp. 720–723 (in Russian).

Поступила в редакцию: 20.12.2023; одобрена после рецензирования 18.01.2024; принята к публикации 18.01.2024
The article was submitted 20.12.2023; approved after reviewing 18.01.2024; accepted for publication 18.01.2024



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 184–195

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 184–195

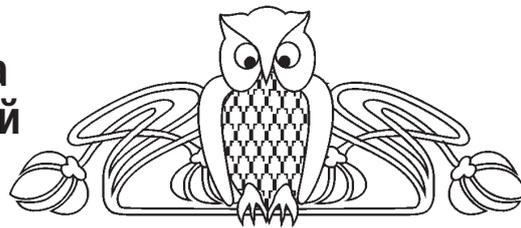
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-184-195>, EDN: BIMGSY

Научная статья

УДК [579.8:547]:544.023

Формирование монослоев Ленгмюра из нативных фосфолипидов бактерий различных систематических групп



В. А. Кузнецова , М. В. Каневский, Е. В. Глинская, Е. Г. Глуховской

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Кузнецова Виктория Александровна, магистрант кафедры микробиологии и физиологии растений, viktoriakuznecova807@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6329-1587>

Каневский Матвей Владимирович, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и биофизики, заведующий учебно-научной лабораторией молекулярной биологии, matvejkanev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5932-6748>

Глинская Елена Владимировна, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии и физиологии растений, elenavg-2007@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1675-5438>

Глуховской Евгений Геннадьевич, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией Образовательно-научного института наноструктур и биосистем, glukhovskoy@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8282-3638>

Аннотация. Фосфолипиды являются важнейшими структурными элементами клеточной стенки бактерий, участвуют в адаптации микроорганизмов к среде обитания и могут выступать в качестве биомаркеров на изменение окружающей среды и одним из компонентов экологического или природоохранного мониторинга. Нативные фосфолипиды используются для формирования моделей клеточных мембран, биофизические свойства которых можно исследовать методом Ленгмюра – Блоджетт. Целью настоящей работы являлось выделение и характеристика фосфолипидов клеточных мембран бактерий *Staphylococcus aureus* 209-Р и *Bacillus cereus* 8035 и формирование на их основе монослоев Ленгмюра. В составе экстракта фосфолипидов *S. aureus* 209-Р и *B. cereus* 8035 обнаружены жирные кислоты: гексадекановая, транс-9-октадеценановая, октадекановая, тетрадекановая, 13-метилтетрадекановая, 14-метилпентадекановая, 15-метилгексадекановая, цис-9-октадекановая. Для формирования монослоя использовали рабочий раствор нативных фосфолипидов в хлороформе с концентрацией $C = 10^{-3}$ М. Монослой, сформированный при внесении на поверхность 50 мкл раствора смеси фосфолипидов, имеет более совершенную структуру, что проявляется в постоянстве его механических свойств. При анализе полученных данных четко выраженной зависимости изменения параметров монослоев от температуры выявлено не было. Изменения модуля сжатия и сжимаемости были очень незначительные. При повышении концентрации хлорида натрия в субфазе наблюдаются изменения модуля сжатия, а, следовательно, и жесткости монослоя.

Ключевые слова: фосфолипиды, жирные кислоты, монослои Ленгмюра, *Staphylococcus aureus* 209-Р, *Bacillus cereus* 8035

Благодарности. Авторы выражают глубокую благодарность сотрудникам Центра коллективного пользования научным оборудованием в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии «Симбиоз» Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук» за проведение анализа состава фосфолипидов экстрактов бактерий.

Для цитирования: Кузнецова В. А., Каневский М. В., Глинская Е. В., Глуховской Е. Г. Формирование монослоев Ленгмюра из нативных фосфолипидов бактерий различных систематических групп // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 184–195. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-184-195>, EDN: BIMGSY

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Formation of Langmuir monolayers from native phospholipids of bacteria of various systematic groups

V. A. Kuznetsova , M. V. Kanevsky, E. V. Glinskaya, E. G. Glukhovskoy

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Viktoria A. Kuznetsova, viktoriakuznecova807@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6329-1587>

Matvey V. Kanevsky, matvejkanev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5932-6748>

Elena V. Glinskaya, elenavg-2007@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1675-5438>

Evgeny G. Glukhovskoy, glukhovskoy@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8282-3638>



Abstract. Phospholipids are the most important structural elements of the bacterial cell wall, participate in the adaptation of microorganisms to the environment and can act as biomarkers for environmental changes and one of the components of environmental monitoring. Native phospholipids are used to form models of cell membranes, the biophysical properties of which can be studied by the Langmuir-Blodgett method. The aim of this work was to isolate and characterize the phospholipids of the cell membranes of the bacteria *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* and the formation of Langmuir monolayers based on them. The composition and ratio of fatty acids were determined by gas-liquid chromatography of fatty acid methyl esters. Fatty acids, found in the extract of the bacteria *S. aureus* 209-P and *B. cereus* 8035, are: hexadecanoic, trans-9-octadecenoic, octadecanoic, tetradecanoic, 13-methyltetradecanoic, 14-methylpentadecanoic, 15-methylhexadecanoic, cis-9-octadecanoic. To form a monolayer, a working solution of native phospholipids in chloroform with a concentration of $C = 10^{-3}$ M was used. The monolayer formed when a 50 μ l solution of a phospholipid mixture is applied to the surface has a more perfect structure, which is manifested in the constancy of its mechanical properties. The analysis of the obtained data has not yet revealed a clear dependence of the monolayer parameters on temperature. The changes in the compression modulus and compressibility were very minor. With an increase in the salt concentration, both an increase and a decrease in the compression modulus, and, consequently, the rigidity of the monolayer, is observed.

Keywords: phospholipids, Langmuir monolayers, tight packaging, *Staphylococcus aureus* 209-P, *Bacillus cereus* 8035

Acknowledgements. The authors express their deep gratitude to the staff of Symbiosis, the centre where the collective use of scientific equipment in the field of physical-chemical biology and nanobiotechnology is carried out, and to the Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, a separate structural unit of the Federal State Budgetary Institution of Science, and to the Saratov Centre of the Russian Academy of Sciences for conducting the analysis of the phospholipid composition of bacterial extracts.

For citation: Kuznetsova V. A., Kanevsky M. V., Glinskaya E. V., Glukhovskoy E. G. Formation of Langmuir monolayers from native phospholipids of bacteria of various systematic groups. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 184–195 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-184-195>, EDN: BIMGSY

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Клеточные мембраны представлены в основном двойным слоем липидов, главным компонентом которых являются фосфолипиды. Бимолекулярная природа и амфипатический характер позволяют клеточным мембранам формировать двуслойную структуру, которая защищает бактерии от воздействия негативных факторов среды, но не нарушает обмен веществ, который необходим для роста и развития организма [1]. Несмотря на огромное количество вариантов фосфолипидных структур в клетках прокариот, большинство из них представлены глицеролипидами, которые включают в себя две цепи жирных кислот. Типичные молекулы фосфолипидов состоят из полярной головной части, в состав которой входит остаток фосфорной кислоты и связанный с ним многоатомный спирт, и двух цепочек-хвостов из остатков жирных кислот. Особенность молекул заключается в их амфифильности: головная часть гидрофильна, а хвостовые цепочки гидрофобны. Такая структура фосфолипидов гарантирует образование плотной физико-химической мембранной структуры, которая будет непроницаема для водорастворимых веществ внеклеточной среды и будет поддерживать нужную концентрацию молекул в цитоплазме, необходимую для нормальной жизнедеятельности клетки. К тому же длина цепи и степень насыщенности жирных кислот, входящих в состав фосфолипидов, опосредуют

толщину и текучесть биомембран [2]. Бактерии синтезируют широкий спектр фосфолипидов, такие как фосфатидилэтаноламин, фосфатидилглицерин, дифосфатидилглицерин. Они отличаются друг от друга количеством и длиной ацильных цепей, числом, положением и геометрией ненасыщенных связей, а также структурой, полярностью и зарядом гидрофильных головок [3].

Большое разнообразие компонентов, из которых построены биологические мембраны, делают их сложными уникальными объектами для исследования. В фосфолипидную матрицу, которая является основой таких мембран, встроены различные молекулы, обеспечивающие выполнение различных функций (транспорт, селективная проницаемость, проведение электрических импульсов и др.). Следует отметить, что не только инкрустированные в мембрану молекулы несут функциональную активность, но также и сами фосфолипиды, которые образуют липидную матрицу мембраны. От состава и соотношения жирных кислот зависит стабильность этой структуры. От этого, в свою очередь, зависит жизнеспособность клетки в целом.

Также есть бактерии, которые существуют в экстремальных условиях среды, например, бактерии, обитающие в неполярных ледниках, подвержены значительным колебаниям температуры, что существенно влияет на текучесть мембран бактериальных клеток. Для поддержания нормальных функций клеточных мембран психрофильные бактерии адаптируются путем



изменения состава жирных кислот клеточных мембран [4]. У термофильных бактерий была выявлена необычная внутрицитоплазматическая мембрана, которая была подобна пирелуллосоме [5]. Для некоторых галофильных бактерий установлен факт активного выделения наноразмерных везикул, которые содержат белки, липиды и нуклеиновые кислоты, во внеклеточную среду. Благодаря этим везикулам бактерии способны выживать в среде с высокой солёностью [6].

Свойства природных мембран исследуют на модельных системах, таких как мицеллы, липосомы. Также для этих целей применим метод монослоёв Ленгмюра [2].

Метод Ленгмюра-Блоджетт (ЛБ) является одним из методов получения тонких плёнок и покрытий. Сжатие барьеров позволяет анализировать фазовые состояния мономолекулярных слоёв (МС) и характеризовать их с помощью функционально связанных параметров поверхностного давления и площади поверхности [7]. Все этапы формирования монослоя и его структуру можно наблюдать на изотерме сжатия. Основными параметрами, определяемыми по изотерме сжатия монослоев, являются удельная площадь (A_0), модуль сжатия монослоя ($C_0^{-1} = -A_0 \cdot (d\pi / dA)$), и обратная ему величина – сжимаемость (C_0) [8]. Применение монослоёв Ленгмюра – Блоджетт позволяет получить модель, которая даёт возможность исследовать физические особенности взаимодействия амфифильных молекул в ходе формирования жидкокристаллической структуры. Также немаловажен тот факт, что метод позволяет наблюдать за поведением фосфолипидов в монослое для конкретного агрегатного состояния плёнки при изменяющихся внешних условиях – температуре, составе субфазы и др. [9].

Обычно для получения монослоев используют высокоочищенные вещества с содержанием основного компонента 99% и более. Однако использование индивидуальных веществ исключает синергизм, который может наблюдаться в монослоях сложных смесей, близких по составу к природным [1].

Несмотря на то что сведения по составу фосфолипидов мембран представлены в литературе широко, до сих пор малоизученным остаётся вопрос зависимости состояния и стабильности мембраны в разных условиях от качественного и количественного состава её компонентов. Целью настоящей работы являлось выделение и характеристика фосфолипидов клеточных мембран бактерий *Staphylococcus aureus* 209-Р и

Bacillus cereus 8035, формирование на их основе монослоев Ленгмюра и оценка их термодинамических характеристик.

Материалы и методы

Работа выполнена на базе кафедры микробиологии и физиологии растений биологического факультета, лаборатории пленочных наноструктурированных материалов ОНИ наноструктур и биосистем СГУ имени Н. Г. Чернышевского, Центра коллективного пользования научным оборудованием в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии «Симбиоз» Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук».

Для выделения нативных фосфолипидов использовали тест-культуры грамположительных бактерий, относящихся к филуму Firmicutes, классу Bacilli: *Staphylococcus aureus* 209-Р (семейство Staphylococcaceae, ГИСК имени Л. А. Тарасевича, Москва) и *Bacillus cereus* 8035 (семейство Bacillaceae, ГИСК имени Л. А. Тарасевича, Москва).

Бактерии культивировали в стерильном режиме на термостатируемой качалке в колбах с жидкой питательной средой (ГРМ-бульон (Россия, Оболенск), 2% глюкозы) при температуре 37°C в течение 48 ч до окончания экспоненциальной фазы роста. Далее клетки отделяли от культуральной жидкости при 10000×g в течение 20 мин. Полученные образцы биомассы трёхкратно отмывали 0,15 М раствором NaCl, центрифугируя каждый раз 15 мин при 10000×g.

Для выделения фосфолипидов к осадку клеток добавляли смесь хлороформа и метанола в соотношении 1:2, образец выдерживали в холодильнике ($t = 4^\circ\text{C}$) в течение 1 ч, периодически перемешивая. Полученную смесь центрифугировали 5 мин при 10000×g, добавляли к осадку смесь хлороформа и метанола (1:2) для повторной экстракции. После центрифугирования (10000×g, 5 мин) к супернатанту добавляли смесь воды и хлороформа в соотношении 1:1, центрифугировали 15 мин при 5000×g. Отбирали нижний слой фосфолипидов [10].

Определение общего фосфора проводили по стандартной методике Беренблум и Чейн [11].

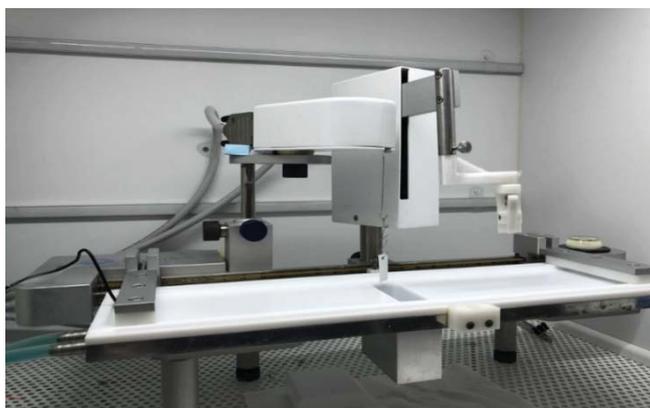
Определение состава и соотношения жирных кислот липида А осуществляли методом газовой-жидкостной хроматографии (ГЖХ)



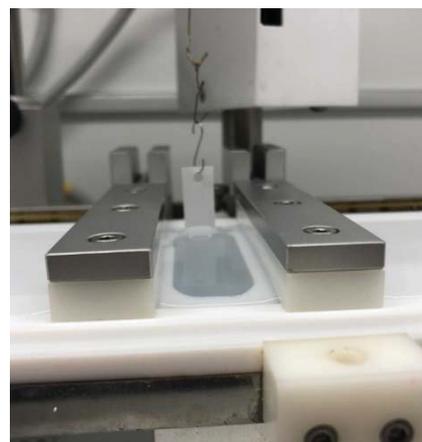
метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК). Метилирование жирных кислот липида А выполняли согласно методике, описанной в работе Mayeretal [12]. Идентификацию жирных кислот липида А проводили по эталонным образцам фирмы Sigma (США) в процентах от суммы всех МЭЖК. Программирование температурного режима осуществляли в интервале от 130 до 250 °С со скоростью нагрева 4 °С/мин. Температура испарителя – 250 °С, температура детектора – 270 °С, скорость газа-носителя (He) 1,3 см³/мин; сброс 1:50.

Идентификацию метиловых эфиров жирных кислот выполняли на газовом хроматографе GC-2010 (Shimadzu, Япония), снабженном капиллярными колонками DB-5 (Hewlett-Packard, США) и EQUITY-1 (Supelco, США).

Исследование плавающих монослоев Ленгмюра проводили с использованием раствора выделенных из тест-культур бактерий фосфолипидов в хлороформе в концентрации 10⁻³ М. Для формирования монослоев использовали установку KSV Nima LB Trough KN2002 (рис. 1, а, б).



а/а



б/б

Рис. 1. Ванна Ленгмюра – Блэдджетт KSV Nima LB Trough KN2002 в начале (а) и в конце (б) сжатия монослоя подвижными барьерами

Fig. 1. Langmuir – Blodgett bath KSV Nima LB Trough KN2002 at the beginning (a) and at the end (b) of compression of the monolayer by movable barriers

В качестве водной субфазы использовалась деионизованная вода. Для формирования монослоя на поверхность наносили раствор фосфолипидов в хлороформе. После испарения хлороформа монослой сжимали подвижными барьерами со скоростью 15 мм/мин [13].

Для изучения влияния температурного фактора на параметры монослоев водную субфазу и желоб ванны нагревали с помощью термостата до температуры 28, 30, 33, 37, 41, 44 °С. После достижения нужной температуры на поверхность субфазы наносили раствор фосфолипидов. После испарения хлороформа монослой сжимали подвижными барьерами со скоростью 15 мм/мин.

Для исследования влияния концентрации раствора соли на параметры монослоев в качестве водной субфазы использовали раствор соли NaCl (0,9; 3; 5%). На поверхность также наносили 50 мкл раствора фосфолипидов. После испарения хлороформа монослой сжимали подвижными барьерами со скоростью 15 мм/мин.

Результаты и их обсуждение

Ранее были охарактеризованы монослои Ленгмюра из фосфолипидов, выделенных из граммотрицательной *E. coli* [8]. Однако интерес представляют также фосфолипиды грамположительных бактерий, поэтому в качестве объекта исследования нами были выбраны *S. aureus* 209-Р и *B. cereus* 8035.

Выделение было проведено в соответствии с методикой [10].

В результате исследований по определению состава жирных кислот экстракта, полученного из исследуемых микроорганизмов с использованием метода газовой-жидкостной хроматографии [12], было установлено наличие семи жирных кислот в экстракте бактерий *B. cereus* 8035: гексадекановая, транс-9-октадеценановая, октадекановая, тетрадекановая, 13-метилтетрадекановая, 14-метилпентадекановая, 15-метилгексадекановая (табл. 1).



Таблица 1 / Table 1

**Встречаемость метиловых эфиров жирных кислот в образцах, выделенных из культур
B. cereus 8035 и *S. aureus* 209-P****The occurrence of fatty acid methyl esters in samples isolated from cultures of *B. cereus* 8035 and *S. aureus* 209-P**

Жирные кислоты / Fatty acids	Содержание в образцах, % / Content in samples, %	
	<i>S. aureus</i> 209-P	<i>B. cereus</i> 8035
Октадекановая / Octadecane	37 ± 2	50 ± 3
Гексадекановая / Hexadecane	38 ± 3	40 ± 1
14-метилпентадекановая / 14-methylpentadecane	3 ± 1	3,6 ± 1
Тетрадекановая / Tetradecane	1 ± 0,5	2 ± 0,2
13-метилтетрадекановая / 13-methyltetradecane	8 ± 0,6	1,8 ± 0,3
Транс-9-октадеценная / Trans-9-octadecene	1 ± 0,6	1,6 ± 0,1
15-метилгексадекановая / 15-methylhexadecane	5 ± 1	1 ± 0,1
Цис-9-октадеценная / Cis-9-octadecene	7 ± 1	–

В экстракте фосфолипидов *S. aureus* 209-P обнаружены восемь жирных кислот: гексадекановая, транс-9-октадекановая, октадекановая, тетрадекановая, 13-метилтетрадекановая, 14-метилпентадекановая, 15-метилгексадекановая, цис-9-октадекановая (см. табл. 1).

Количественный состав жирных кислот экстрактов рассматриваемых бактерий отличается незначительно. В обоих экстрактах преобладают насыщенные жирные кислоты. Мажорными являются гексадекановая и октадекановая кислоты. Их количество в экстракте *S. aureus* 209P составляет 76%, в то время как для *B. cereus* 8035 этот показатель достигает 92%. В экстрактах также обнаружены ненасыщенные жирные кислоты и насыщенные жирные кислоты с разветвленными цепями. Полученные результаты согласуются с литературными данными о встречаемости жирных кислот в мембранах *S. aureus* и *B. cereus* [14, 15]. Состав экстракта фосфолипидов *B. cereus* 8035 отличался качественно и количественно: в нём не было обнаружено октадеценной кислоты, была выше доля октадекановой и гексадекановой кислот, а также обнаружено меньше 14-метилпентадекановой, 13-метилтетрадекановой и 15-метилгексадекановой кислот (см. табл. 1).

Известно, что спектр жирных кислот у микроорганизмов, выращенных при заданных условиях, является наиболее консервативной характеристикой, которая может быть использована в видовой хемодифференциации и таксономической классификации микроорганизмов [16].

Для количественной оценки содержания фосфолипидов в экстрактах, мы проанализи-

зировали количество фосфора в образце [11]. Установили, что концентрация фосфора составляет $14,4 \pm 0,4$ мкг/мл для *B. cereus* 8035, $15,5 \pm 0,3$ мкг/мл для *S. aureus* 209-P. Исходя из строения фосфолипидов (на 1 остаток фосфорной кислоты приходится 2 остатка жирных кислот), концентрации фосфора и средневзвешенной массы жирных кислот, было установлено, что концентрация фосфолипидов в растворе составила $3,2 \times 10^{-3}$ М для *B. cereus* 8035, и 3×10^{-3} М – для *S. aureus* 209-P.

Далее по методике проводили исследование плавающих монслоёв Ленгмюра с использованием раствора выделенных из тест-культур бактерий фосфолипидов в хлороформе в концентрации 1×10^{-3} М [17]. На полученных экспериментальных зависимостях поверхностного натяжения от удельной площади (средней площади, приходящейся на одну молекулу) определяли участки, соответствующие состояниям молекул с плотной упаковкой (рис. 2).

На каждой изотерме легко просматривается участок, на котором поверхностное давление увеличивается по мере сжатия монслоя. На соответствующих участках зависимостей модуля сжатия от удельной площади это проявляется как локальные максимумы. Хорошо видно, что МС, сформированный при внесении на поверхность 50 мкл раствора смеси фосфолипидов, демонстрирует постоянство модуля сжатия на участке подъёма изотермы. Такое постоянство при сжатии его механических свойств (в данном случае модуля сжатия) может говорить о том, что МС при таких условиях имеет наиболее совершенную структуру.

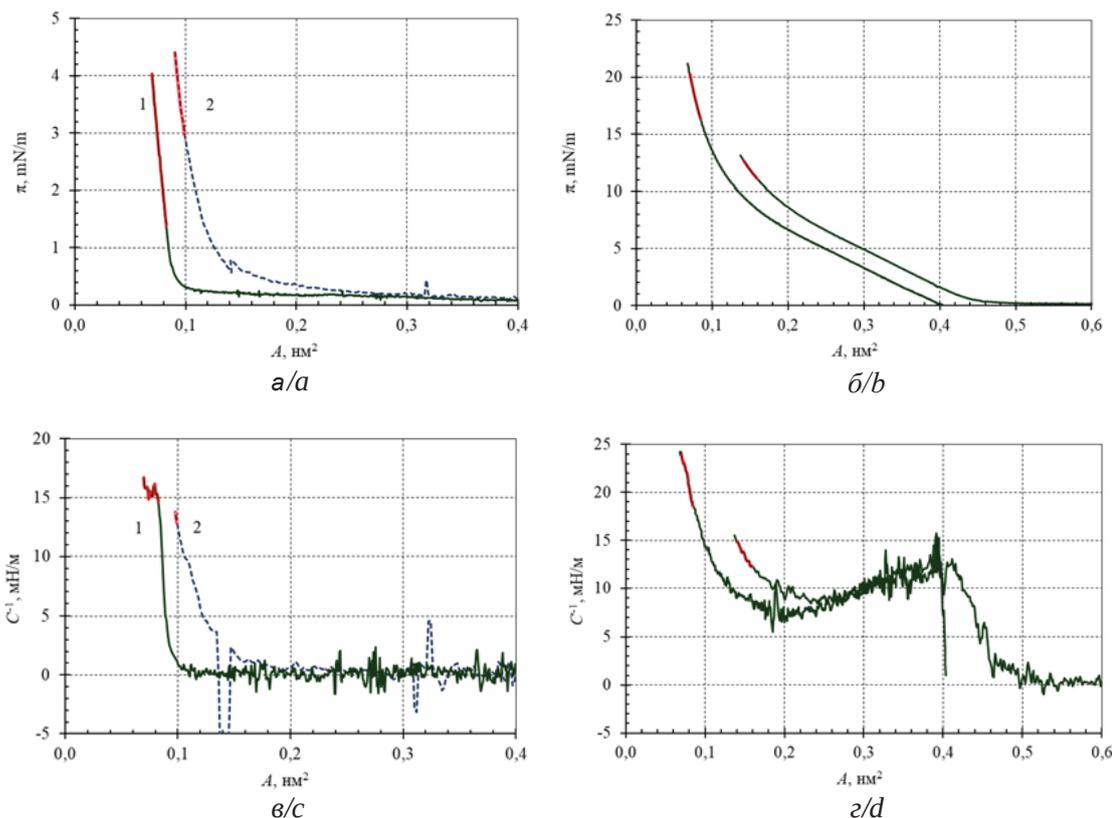


Рис. 2. Изотермы (а, б) и модуль сжатия (в, г) монослоев, сформированных из растворов *Staphylococcus aureus* 209-Р (а, в) и *Bacillus cereus* 8035 (б, г) двух различных объемов, внесенных на поверхность воды: 100 и 50 мкл – кривые 1 и 2 соответственно

Fig. 2. Isotherms (a, b) and compression modulus (c, d) of monolayers formed from solutions of *Staphylococcus aureus* 209-P (a, c) and *Bacillus cereus* 8035 (b, d) of two different volumes deposited on the water surface: 100 and 50 μl – curves 1 and 2 respectively

Нужно отметить, что изотермы монослоев отличаются, что, вероятно, может быть связано с разницей качественного и количественного состава экстрактов. Установлено, что монослой, построенный из фосфолипидов *B. cereus* 8035, имеет более плавный переход между состояниями «газ» и «жидкость». Для этого экстракта характерно содержание 1,6% непредельных жирных кислот, в то

время как в экстракте *S. aureus* 209-Р идентифицировано 8% непредельных жирных кислот. Поэтому наблюдаемый результат может быть обусловлен особенностями стерического взаимодействия.

Рассчитанные для выделенных участков (в диапазонах от A_{\min} до A_{\max}) величины удельной площади A_0 и модуля сжатия C_0^{-1} представлены в табл. 2.

Таблица 2 / Table 2

Параметры монослоев нативных фосфолипидов *Staphylococcus aureus* 209-Р и *Bacillus cereus* 8035
Parameters of monolayers of native phospholipids *Staphylococcus aureus* 209-P and *Bacillus cereus* 8035

Параметр / Parameter	<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P		<i>Bacillus cereus</i> 8035	
	V, μl		V, μl	
	50	100	50	100
A_{\min} , нм^2	0,08	0,06	0,14	0,07
A_{\max} , нм^2	0,1	0,08	0,16	0,085
A_0 , нм^2	0,117	0,089	0,284	0,143
C_0 , м/МН	0,064	0,068	0,00385	0,000516
C_0^{-1} , МН/м	14,8	15,6	259	1938

Примечание. A – удельная площадь молекул монослоя, C_0 – сжимаемость монослоя, C_0^{-1} – модуль сжатия монослоя.

Note. A is the specific area of the monolayer molecules, C_0 – is the compressibility of the monolayer, C_0^{-1} is the compression modulus of the monolayer.



При анализе полученных результатов было обнаружено, что с увеличением количества вносимого на поверхность вещества (V) величина модуля сжатия увеличивается, а сжимаемость уменьшается. С одной стороны, это может свидетельствовать о достижении более плотной упаковки молекул в монослоях при внесении большего объема на поверхность водной субфазы. Однако можно видеть, что именно при меньших объемах вносимого раствора плотная упаковка начинает формироваться немного раньше (при больших величинах удельных площадей), чем при больших объемах. Такое проявление влияния объема раствора (смещение или растяжение изотерм параллельно шкале A) типично для поверхностно-активных веществ, молекулы которых склонны к образованию агрегатов, или в тех случаях, когда для формирования истинного МС недостаточно свободной площади. Исходя из этих соображений для формирования МС во всех последующих экспериментах на поверхность

воды вносилось 50 мкл рабочего раствора.

От параметров внешней среды зависят физико-химические свойства мембраны, такие как текучесть, вязкость [18]. Изменение этих параметров влечёт за собой изменение функционального статуса мембран клеток, что может привести к серьёзным нарушениям в работе систем поддержания гомеостаза. Среди абиотических факторов внешней среды, с которыми бактериальным клеткам приходится сталкиваться, основными являются температура и осмолярность. Поэтому следующим этапом было исследование влияния температуры на особенности формирования плавающих монослоев нативных фосфолипидов *S. aureus* 209-Р и *B. cereus* 8035. Исходя из возможных условий роста обеих исследуемых культур [19, 20], изотермы сжатия и зависимости модуля сжатия от удельной площади таких МС, сформированных при температурах 28, 30, 33, 37, 41 и 44°C, представлены на рис. 3.

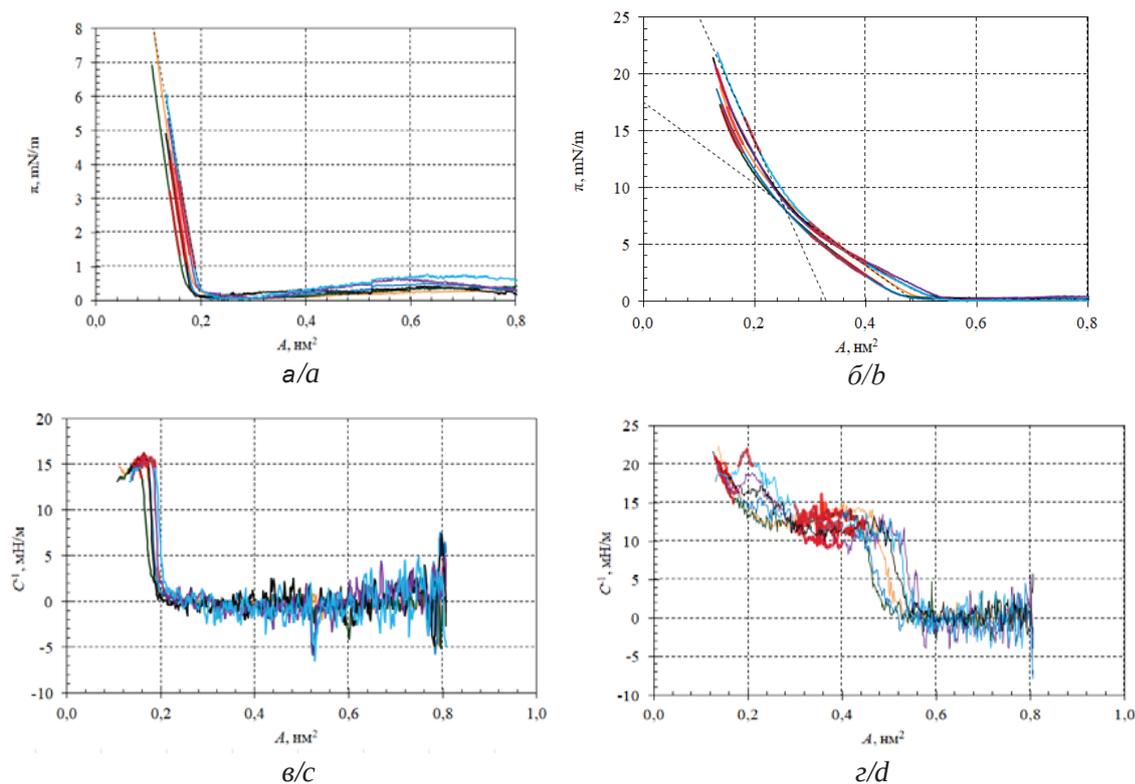


Рис. 3. Изотермы (а, б) и модуль сжатия (в, г) монослоев, сформированных при разных температурах *Staphylococcus aureus* 209-Р (а, в) и *Bacillus cereus* 8035 (б, г). Соответствие цветов линий на графиках: 28°C – оранжевая, 30°C – зеленая, 33°C – синяя, 37°C – черная, 41°C – фиолетовая, 44°C – голубая (цвет онлайн)

Fig. 3. Isotherms (a, b) and compression modulus (c, d) of monolayers formed at different temperatures of *Staphylococcus aureus* 209-P (a, c) and *Bacillus cereus* 8035 (b, d). Line color matching on graphs: 28°C – orange, 30°C – green, 33°C – blue, 37°C – black, 41°C – purple, 44°C – blue (color online)



На полученных экспериментальных зависимостях поверхностного натяжения от удельной площади (средней площади, приходящейся на

одну молекулу) также определяли участки, соответствующие состояниям молекул с плотной упаковкой (табл. 3, 4).

Таблица 3 / Table 3

Параметры монослоев нативных фосфолипидов *Staphylococcus aureus* 209-P при разных температурах
Parameters of monolayers of native phospholipids of *Staphylococcus aureus* 209-P at different temperatures

Параметр / Parameter	Температура субфазы, °C / Subphase temperature, °C					
	28	30	33	37	41	44
A_{\min} , нм ²	0,14	0,14	0,15	0,14	0,15	0,16
A_{\max} , нм ²	0,17	0,16	0,175	0,17	0,18	0,19
A_0 , нм ²	0,184	0,172	0,184	0,181	0,193	0,2
$C_0 = K_0$, м/мН	0,0018	0,0017	0,0019	0,0018	0,002	0,002
$C_0^{-1} = \chi$ мН/м	545	575,9	508,8	556,2	480,7	439,8

Примечание. См. табл. 2 / Note. See Table 2.

Таблица 4 / Table 4

Параметры монослоев нативных фосфолипидов *Bacillus cereus* 8035 при разных температурах
Parameters of monolayers of native phospholipids *Bacillus cereus* 8035 at different temperatures

Параметр / Parameter	Температура субфазы, °C / Subphase temperature, °C					
	28	30	33	37	41	44
A_{\min} , нм ²	0,15	0,14	0,14	0,16	0,13	0,18
A_{\max} , нм ²	0,18	0,17	0,18	0,19	0,15	0,21
A_0 , нм ²	0,305	0,291	0,303	0,283	0,277	0,329
$C_0 = K_0$, м/мН	0,0028	0,0026	0,0029	0,0021	0,002	0,003
$C_0^{-1} = \chi$ мН/м	356,9	382,7	349,1	474,1	496,2	331,6

Примечание. См. табл. 2 / Note. See Table 2.

Как видно полученных данных, четко выраженной зависимости параметров монослоев от температуры не выявлено. Изменения модуля сжатия и сжимаемости также были очень незначительны. Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что монослои экстрактов поддерживают стабильность структуры в исследуемом диапазоне температур. Это хорошо соотносится с литературными данными о росте бактерий в указанных условиях [19, 20].

Основываясь на способности исследуемых бактерий расти на средах с разной концентрацией NaCl [21, 22], для исследования влияния солёности на свойства плавающих монослоев в качестве водной субфазы использовали водные растворы с различным содержанием NaCl – 0,9; 3 и 5%. Результаты этих исследований представлены на рис. 4 и в табл. 5 и 6.

Вид изотерм сжатия и рассчитанные параметры зависят от концентрации раствора NaCl. При повышении концентрации соли в субфазе

наблюдается увеличение модуля сжатия, а следовательно, и жесткости монослоя. На всех экспериментальных зависимостях не просматривается четких границ для разных состояний плёнки – газ, газ–жидкость, жидкость и твёрдое состояние – как это показано для индивидуальных фосфолипидов [23], что может быть связано с гетерогенностью состава экстракта.

Как известно, внесение неорганических солей приводит к изменению зарядового состояния головной группы поверхностно-активных веществ (ПАВ) в составе МС Ленгмюра [24]. Мы можем констатировать факт довольно сильного влияния натриевой соли на плотность упаковки молекул в монослоях обеих культур: при повышении концентрации наблюдается увеличение удельной площади и уменьшение модуля сжатия. Другими словами, монослои при добавлении соли становятся более разреженными («рыхлыми»). Все это является внешним проявлением изменения заряда гидрофильных головок молекул

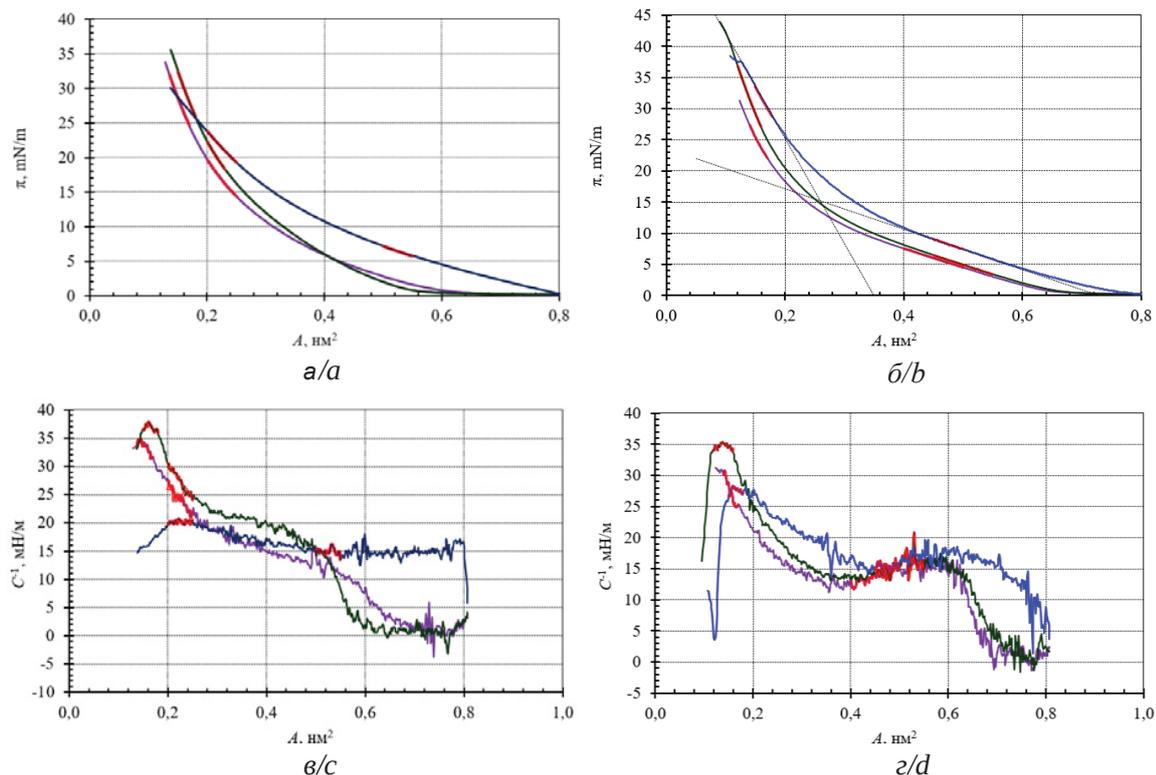


Рис. 4. Изотермы (а, б) и модуль сжатия (в, г) монослоев, сформированных при разном содержании NaCl в водной субфазе *Staphylococcus aureus* 209-P (а, в) и *Bacillus cereus* 8035 (б, г). Соответствие цветов линий на графиках: 0,9% – фиолетовая, 3% – зеленая, 5% – синяя (цвет онлайн)

Fig. 4. Isotherms (a, b) and compression modulus (c, d) of monolayers formed with different NaCl content in the aqueous subphase of *Staphylococcus aureus* 209-P (a, c) and *Bacillus cereus* 8035 (b, d). Color matching of the lines on the charts: 0.9% – purple, 3% – green, 5% – blue (color online)

Таблица 5 / Table 5

Параметры монослоев нативных фосфолипидов *Staphylococcus aureus* 209-P
Parameters of monolayers of native phospholipids of *Staphylococcus aureus* 209-P

Параметр / Parameter	Содержание NaCl, % / NaCl Content, %		
	0,9	3	5
A_{\min} , нм ²	0,135	0,15	0,2
A_{\max} , нм ²	0,17	0,18	0,25
A_0 , нм ²	0,280	0,295	0,464
$C_0 = K_0$, м/мН	0,0012	0,0013	0,005
$C_0^{-1} = \chi$ мН/м	787,5	761,9	193,3

Примечание. См. табл. 2 / Note. See Table 2.

Таблица 6 / Table 6

Параметры монослоев нативных фосфолипидов *Bacillus cereus* 8035
Parameters of monolayers of native phospholipids of *Bacillus cereus* 8035

Параметры / Parameters	Содержание NaCl, % / NaCl Content, %		
	0,9	3	5
A_{\min} , нм ²	0,14	0,12	0,15
A_{\max} , нм ²	0,17	0,16	0,18
A_0 , нм ²	0,295	0,267	0,349
$C_0 = K_0$, м/мН	0,0016	0,0011	0,002
$C_0^{-1} = \chi$ мН/м	592,4	938,3	482,7

Примечание. См. табл. 2 / Note. See Table 2.



фосфолипидов. Вместе с этим есть вероятность, что при изменении зарядового состояния ухудшается структурное совершенство молекул МС, они становятся менее упорядоченными.

Интересно отметить еще два факта. Во-первых, монослой *S. aureus* 209-Р оказался более чувствительным к концентрации NaCl, чем монослой *B. cereus* 8035 – для него увеличение удельной площади и уменьшение модуля сжатия при увеличении концентрации соли было больше. Во-вторых, можно видеть некоторый порог (при увеличении концентрации от 3 до 5%), когда изменения в МС происходят довольно интенсивно. Такое поведение представляет интерес для дальнейшего изучения термодинамических характеристик монослоев Ленгмюра, полученных для смеси фосфолипидов, выделенных из мембран бактериальных клеток с привлечением других методов, как уже отмечалось выше. Возможно, что причиной является отличие в соотношении жирных кислот, входящих в состав мембран. В экстракте *S. aureus* 209-Р на 26% меньше насыщенных и на 6% больше ненасыщенных жирных кислот, чем в экстракте *B. cereus* 8035. Это может обуславливать изменение интенсивности стерических взаимодействий под влиянием различных концентраций NaCl в субфазе.

Заключение

Анализ метиловых эфиров жирных кислот показал, что фосфолипидный состав у бактерий *S. aureus* 209-Р и *B. cereus* 8035 различается на одну жирную кислоту. Результаты показали, что спектр жирных кислот, входящих в состав мембран бактерий *B. cereus* 8035, представлен семью жирными кислотами. Для бактерий *S. aureus* 209-Р характерно наличие восьми жирных кислот в составе экстракта. В обоих образцах идентифицированы насыщенные, мононенасыщенные и насыщенные с разветвленной цепью жирные кислоты, среди которых преобладают гексадекановая и октадекановая. Установлено, что с увеличением количества наносимых фосфолипидов величина модуля сжатия увеличивается, а сжимаемость уменьшается. При анализе полученных данных четко выраженной зависимости параметров монослоев от температуры не выявлено. Изменения модуля сжатия и сжимаемости незначительны. При повышении концентрации соли отсутствует зависимость модуля сжатия и жесткости монослоя. Это свидетельствует о том, что монослой более чувствителен к изменению концентрации соли в субфазе, чем температуры.

Качественный и количественный состав фосфолипидов обуславливает способность мембран к поддержанию постоянства физических параметров в широком диапазоне температур и концентрации солей. Это можно рассматривать как аспект адаптации бактериальных клеток к изменяющимся внешним воздействиям.

Список литературы

1. *Sastre D. E., Basso L. G. M.* Membrane fluidity adjusts the insertion of the transacylase PlsX to regulate phospholipid biosynthesis in Gram-positive bacteria // *J. Biol. Chem.* 2020. Vol. 295, № 7. P. 36–47. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.011122>
2. *Shrivastava R., Jiang X., Chng S. S.* Outer membrane lipid homeostasis via retrograde phospholipid transport in *Escherichia coli* // *Mol. Microbiol.* 2017. Vol. 106, № 3. P. 395–408. <https://doi.org/10.1111/mmi.13772>
3. *Андрюков Б. Г., Ляпун И. Н.* Значение мембранных фосфолипидов в реализации защитных стратегий бактерий // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.* 2020. Т. 97, № 6. С. 594–603. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-6-10>
4. *Hassan N., Anesio A. M., Rafiq M., Holtvoeth J., Bull I., Haleem A., Shah A. A., Hasan F.* Temperature driven membrane lipid adaptation in glacial psychrophilic bacteria // *Front Microbiol.* 2020. Vol. 11. P. 824. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00824>
5. *Anders H., Power J. F., MacKenzie A. D., Lagutin K., Vyssotski M., Hanssen E., Moreau J. W., Stott M. B.* *Limisphaera ngatamarikiensis* gen. nov., sp. nov., a thermophilic, pink-pigmented coccus isolated from subaqueous mud of a geothermal hot spring // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2015. Vol. 65, № 4. P. 1114–1121. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.000063>
6. *Barut D., Enuh B. M., Derkuş B., Güler Ü., Salih B., Aytar Çelik P.* The relationship between bacterial outer membrane vesicles and halophilic adaptation // *Mol. Omics.* 2023. Vol. 19, № 2. P. 174–181. <https://doi.org/10.1039/d2mo00259k>
7. *Суходолов Н. Г., Иванов Н. С., Подольская Е. П.* Новые материалы, полученные методом Ленгмюра-Блоджетт, и их применение в нанотехнологии и приборостроении (гибридные материалы) // *Научное приборостроение.* 2013. Т. 23, № 1. С. 86–105.
8. *Зубова К. В., Кузнецова В. А., Аль-Альвани А. Ж., Глинская Е. В., Каневский М. В., Глуховской Е. Г.* Исследования ленгмюровских монослоев фосфолипидов, выделенных из мембран тест-культуры *E. coli* K-12 // *Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ.* 2021. Т. 6, № 2. С. 68–69.
9. *Brezesinski G., Möhwald H.* Langmuir monolayers to study interactions at model membrane surfaces // *Advances in colloid and interface science.* 2003. Vol. 100. P. 563–584. [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(02\)00071-4](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(02)00071-4)



10. Кузнецова В. А., Зубова К. В., Глинская Е. В., Глуховской Е. Г. Выделение нативных фосфолипидов бактерий *E. coli* K-12 и апробация их при формировании монослоев Ленгмюра // Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине. 2021. Т. 3. С. 57–61.
11. Berenblum I., Chain E. An improved method for the colorimetric determination of phosphate // *Biochem J.* 1938. Vol. 32, № 2. P. 295–298.
12. Mayer H., Tharanathan R. N., Weckesser J. Analysis of lipopolysaccharide of Gram-negative bacteria // *Meth. Microbiol.* 1985. Vol. 18. P. 157–207. [https://doi.org/10.1016/S0580-9517\(08\)70475-6](https://doi.org/10.1016/S0580-9517(08)70475-6)
13. Smirnova A. I., Giricheva N. I., Soldatova K. M., Ezhov A. V., Glukhovskoy E. G., Usoltseva N. V. Phthalocyanine and porphyrin derivatives of A3B-type: Quantum-chemical modeling of dimmers // *Liq. Cryst. and their Appl.* 2021. Vol. 21, №1. P. 50–60. <https://doi.org/10.18083/LCAppl.2021.1.50>
14. Wang Y., Shen J., Meng F., Lu Z., Lv F., Zhou L., Zhao H. Effects of monolauryl-galactosylglycerol on membrane fatty acids and properties of *Bacillus cereus* // *Applied Microbiology and Biotechnology.* 2023. Vol. 107. P. 1–13. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12567-4>
15. Boudjema R., Cabriel C., Dubois-Brissonnet F., Bourg N., Dupuis G., Gruss A., Sandrine L.-F., Romain B., Marie-Pierre F.-A., Steenkeste K. Impact of bacterial membrane fatty acid composition on the failure of daptomycin to kill *Staphylococcus aureus* // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2018. Vol. 62, № 7. P. 10. <https://doi.org/10.1128/aac.00023-18>
16. Андрюков Б. Г., Сомонова Л. М., Тимченко Н. Ф. Жирные кислоты как объект исследования температурных адаптационных стратегий микроорганизмов-психрофилов // *Здоровье. Медицинская экология. Наука.* 2015. Т. 3, № 61. С. 43–49.
17. Begletsova N. N., Mironyuk V. N., Ezhov A. V., Smirnova A. I., Usoltseva N. V., Glukhovskoy E. G. Features of formation of Langmuir monolayers of porphyrin derivatives on the surface of aqueous solutions of copper nanoparticles // *J. Phys.: Conf. Ser.* 2020. Vol. 1697. P. 012118. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1697/1/012118>
18. Шупко Е. С., Дуванова О. В. Изменение спектра жирных кислот как один из механизмов адаптации/персистенции микроорганизмов // *Журн. микробиол.* 2019. Т. 5. С. 109–118.
19. Choma C., Clavel T., Dominguez H., Razafindramboana N., Soumille H., Nguyen-the C., Schmitt P. Effect of temperature on growth characteristics of *Bacillus cereus* TZ415 // *International Journal of Food Microbiology.* 2000. Vol. 55, № 1-3. P. 73–77. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00197-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00197-5)
20. Valero A., Pérez-Rodríguez F., Carrasco E., Fuentes-Alventosa J. M., García-Gimeno R. M., Zurera G. Modelling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus*: Effect of temperature, pH and water activity // *International Journal of Food Microbiology.* 2009. Vol. 133, № 1–2. P. 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.023>
21. Lee S., Choi K. H., Yoon Y. Effect of NaCl on biofilm formation of the isolate from *Staphylococcus aureus* outbreak linked to ham // *Korean Journal for Food Science of Animal Resources.* 2014. Vol. 34, № 2. P. 257. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2014.34.2.257>
22. Raevuori M., Genigeorgis C. Effect of pH and sodium chloride on growth of *Bacillus cereus* in laboratory media and certain foods // *Applied Microbiology.* 1975. Vol. 29, № 1. P. 68–73. <https://doi.org/10.1128/am.29.1.68-73.1975>
23. Qassime M. M., Goryacheva V. A., Al-Alwani A. J., Lugovitskaya T. N., Shipovskaya A. B., Glukhovskoy E. G. A studying of subphase temperature and dissolved ascorbic acid concentration influence on the process of Langmuir monolayer formation // *Journal of Physics: Conference Series.* IOP Publishing, 2018. Vol. 1124, № 3. P. 031010. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1124/3/031010>
24. Naveen K., Lei W., Igor S., Michel D., Frieder M. Salt dependent stability of stearic acid Langmuir–Blodgett films exposed to aqueous electrolytes // *Langmuir.* 2013. Т. 29, № 17. С. 5150–5159. <https://doi.org/10.1021/la400615j>

Reference

1. Sastre D. E., Basso L. G. M. Membrane fluidity adjusts the insertion of the transacylasePlsX to regulate phospholipid biosynthesis in Gram-positive bacteria. *J. Biol. Chem.*, 2020, vol. 295, no. 7, pp. 36–47. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.011122>
2. Shrivastava R., Jiang X., Chng S. S. Outer membrane lipid homeostasis via retrograde phospholipid transport in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.*, 2017, vol. 106, no. 3, pp. 395–408. <https://doi.org/10.1111/mmi.13772>
3. Andriukov B. G., Lyapun I. N. The significance of membrane phospholipids in the implementation of protective strategies of bacteria. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology*, 2020, vol. 97, no. 6, pp. 594–603 (in Russian). <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-6-10>
4. Hassan N., Anesio A. M., Rafiq M., Holtvoeth J., Bull I., Haleem A., Shah A. A., Hasan F. Temperature driven membrane lipid adaptation in glacial psychrophilic bacteria. *Front Microbiol.*, 2020, vol. 11, pp. 824. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00824>
5. Anders H., Power J. F., MacKenzie A. D., Lagutin K., Vyssotski M., Hanssen E., Moreau J. W., Stott M. B. *Limisphaera ngatamarikiensis* gen. nov., sp. nov., a thermophilic, pink-pigmented coccus isolated from subaqueous mud of a geothermal hot spring. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2015, vol. 65, no. 4, pp. 1114–1121. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.000063>
6. Barut D., Enuh B. M., Derkuş B., Güler Ü., Salih B., Aytar Çelik P. The relationship between bacterial outer membrane vesicles and halophilic adaptation. *Mol. Omics*, 2023, vol. 19, no. 2, pp. 174–181. <https://doi.org/10.1039/d2mo00259k>
7. Sukhodolov N. G., Ivanov N. S., Podolskaya E. P. New materials obtained by the Langmuir-Blodgett method



- and their application in nanotechnology and instrumentation (hybrid materials). *Scientific Instrumentation*, 2013, vol. 23, no. 1, pp. 86–105 (in Russian).
8. Zubova K. V., Kuznetsova V. A., Al-Alvani A. Zh., Glinskaya E. V., Kanevsky M. V., Glukhovskoy E. G. Studies of Langmuir monolayers of phospholipids isolated from *E. coli* K-12 test culture membranes. *Actual Issues of Biological Physics and Chemistry. BFFH*, 2021, vol. 6, no. 2, pp. 68–69 (in Russian).
 9. Brezesinski G., Möhwald H. Langmuir monolayers to study interactions at model membrane surfaces. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2003, vol. 100, pp. 563–584. [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(02\)00071-4](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(02)00071-4)
 10. Kuznetsova V. A., Zubova K. V., Glinskaya E. V., Glukhovskaya E. G. Isolation of native phospholipids of *E. coli* K-12 bacteria and their approbation in the formation of Langmuir monolayers. *Methods of Computer Diagnostics in Biology and Medicine*, 2021, vol. 3, pp. 57–61 (in Russian).
 11. Berenblum I., Chain E. An improved method for the colorimetric determination of phosphate. *Biochem J.*, 1938, vol. 32, no. 2, pp. 295–298.
 12. Mayer H., Tharanathan R. N., Weckesser J. Analysis of lipopolysaccharide of Gram-negative bacteria. *Meth. Microbiol.*, 1985, vol. 18, pp. 157–207. [https://doi.org/10.1016/S0580-9517\(08\)70475-6](https://doi.org/10.1016/S0580-9517(08)70475-6)
 13. Smirnova A. I., Giricheva N. I., Soldatova K. M., Ezhov A. V., Glukhovskoy E. G., Usol'tseva N. V. Phthalocyanine and porphyrin derivatives of A3B-type: Quantum-chemical modeling of dimmers. *Liq. Cryst. and their Appl.*, 2021, vol. 21, no. 1, pp. 50–60. <https://doi.org/10.18083/LCAppl.2021.1.50>
 14. Wang Y., Shen J., Meng F., Lu Z., Lv F., Zhou L., Zhao H. Effects of monolauroyl-galactosylglycerol on membrane fatty acids and properties of *Bacillus cereus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2023, vol. 107, pp. 1–13. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12567-4>
 15. Boudjemaa R., Cabriel C., Dubois-Brissonnet F., Bourg N., Dupuis G., Gruss A., Sandrine L.-F., Romain B., Marie-Pierre F.-A., Steenkeste K. Impact of bacterial membrane fatty acid composition on the failure of daptomycin to kill *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2018, vol. 62, no. 7, pp. 10. <https://doi.org/10.1128/aac.00023-18>
 16. Andriukov B. G., Simonova L. M., Timchenko N. F. Fatty acids as an object of research of temperature adaptation strategies of microorganisms-psychrophiles. *Health. Medical Ecology. The Science*, 2015, vol. 3, no. 61, pp. 43–49 (in Russian).
 17. Begletsova N. N., Mironyuk V. N., Ezhov A. V., Smirnova A. I., Usoltseva N. V., Glukhovskoy E. G. Features of formation of Langmuir monolayers of porphyrin derivatives on the surface of aqueous solutions of copper nanoparticulates. *J. Phys.: Conf. Ser.*, 2020, vol. 1697, pp. 012118. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1697/1/012118>
 18. Shipko E. S., Duvanova O. V. Changing the spectrum of fatty acids as one of the mechanisms of adaptation/persistence of microorganisms. *Journal Microbiol.*, 2019, vol. 5, pp. 109–118 (in Russian).
 19. Choma C., Clavel T., Dominguez H., Razafindramboa N., Soumille H., Nguyen-the C., Schmitt P. Effect of temperature on growth characteristics of *Bacillus cereus* TZ415. *International Journal of Food Microbiology*, 2000, vol. 55, no. 1–3, pp. 73–77. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00197-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00197-5)
 20. Valero A., Pérez-Rodríguez F., Carrasco E., Fuentes-Alventosa J. M., García-Gimeno R. M., Zurera G. Modelling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus*: Effect of temperature, pH and water activity. *International Journal of Food Microbiology*, 2009, vol. 133, no. 1–2, pp. 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.023>
 21. Lee S., Choi K. H., Yoon Y. Effect of NaCl on biofilm formation of the isolate from *Staphylococcus aureus* outbreak linked to ham. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 2014, vol. 34, no. 2, pp. 257. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2014.34.2.257>
 22. Raevuori M., Genigeorgis C. Effect of pH and sodium chloride on growth of *Bacillus cereus* in laboratory media and certain foods. *Applied Microbiology*, 1975, vol. 29, no. 1, pp. 68–73. <https://doi.org/10.1128/am.29.1.68-73.1975>
 23. Qassime M. M., Goryacheva V. A., Al-Alwani A. J., Lugovitskaya T. N., Shipovskaya A. B., Glukhovskoy E. G. A studying of subphase temperature and dissolved ascorbic acid concentration influence on the process of Langmuir monolayer formation. *Journal of Physics: Conference Series. IOP Publishing*, 2018, vol. 1124, no. 3, pp. 031010. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1124/3/031010>
 24. Naveen K., Lei W., Igor S., Michel D., Frieder M. Salt dependent stability of stearic acid Langmuir–Blodgett films exposed to aqueous electrolytes. *Langmuir*, 2013, vol. 29, no. 17, pp. 5150–5159. <https://doi.org/10.1021/la400615j>

Поступила в редакцию: 22.11.2023; одобрена после рецензирования 04.12.2023; принята к публикации 02.02.2024
 The article was submitted 22.11.2023; approved after reviewing 04.12.2023; accepted for publication 02.02.2024



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 196–201

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 196–201

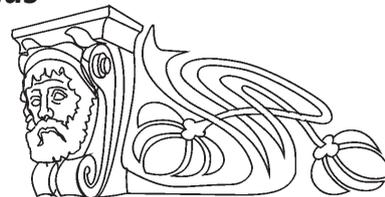
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-196-201>, EDN: EUHPDP

Научная статья

УДК 577.344.3. 57.033

Динамика формирования у *Staphylococcus aureus* толерантности к фиолетовому (405 нм) светодиодному излучению при многократном воздействии



Е. С. Тучина , М. В. Каневский, Эль-Хих Айя Нидаль, Ю. И. Сливина

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Тучина Елена Святославна, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и биофизики, kliany@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4498-2846>

Каневский Матвей Владимирович, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и биофизики, matvejkanev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5932-6748>

Эль-Хих Айя Нидаль, студент кафедры биохимии и биофизики, ayya0022@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1149-3966>

Сливина Юлия Игоревна, студент кафедры биохимии и биофизики, slivina_yulya08@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0003-1531-5451>

Аннотация. Проведено исследование формирования толерантности к низкоинтенсивному фиолетовому (405 нм, 80 мВт/см², 72 Дж/см²) светодиодному излучению у клинического антибиотико-устойчивого штамма *Staphylococcus aureus* 2a. Изучено изменение численности в ходе 20 циклов облучения, исследована реакция бактериальных клеток на окислительный стресс – чувствительность к присутствию в среде перекиси водорода и активность каталазы. Показано, что с 1-го по 5-й цикл происходило достоверно незначительное сокращение выживаемости – с 85 до 82%, с 5-го по 10-й цикл облучения снижение числа клеток приобретало более выраженный характер – с 82 до 63%, затем, с 10-го по 15-й цикл отмечено восстановление численности до более высоких значений (65–76%), с 15-го по 20-й цикл значения выживаемости после облучения сохранялись на одном уровне (80%). Установлено, что, начиная с 15-го цикла облучения культура становится в 2 раза устойчивее к действию окислительных факторов. Полученные результаты показали, что к использованию метода фотодинамической терапии на практике необходимо подходить с осторожностью, поскольку формирование у тагетного микроорганизма толерантности к воздействию происходит к 15-му циклу облучения и может существенно ухудшить результаты лечения.

Ключевые слова: фиолетовое излучение, 405 нм, фотодинамическая терапия, антибиотико-устойчивые *Staphylococcus aureus*, каталаза, H₂O₂, толерантность к излучению

Для цитирования: Тучина Е. С., Каневский М. В., Эль-Хих Айя Нидаль, Сливина Ю. И. Динамика формирования у *Staphylococcus aureus* толерантности к фиолетовому (405 нм) светодиодному излучению при многократном воздействии // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 196–201. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-196-201>, EDN: EUHPDP

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Dynamics of formation of tolerance to blue (405 nm) led radiation in *Staphylococcus aureus* upon repeated exposure

E. S. Tuchina , M. V. Kanevsky, El-Khiah Ayya Nidal, Yu. I. Slivina

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Elena S. Tuchina, kliany@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4498-2846>

Matvey V. Kanevsky, matvejkanev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5932-6748>

El-Khiah Ayya Nidal, ayya0022@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1149-3966>

Yulia I. Slivina, slivina_yulya08@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0003-1531-5451>

Abstract. In this work, we studied the development of tolerance to low-intensity violet (405 nm, 80 mW/cm², 72 J/cm²) LED radiation in a clinical antibiotic-resistant strain of *Staphylococcus aureus* 2a. The change in numbers during 20 cycles of irradiation was studied, the reaction of bacterial cells to oxidative stress was studied – sensitivity to the presence of hydrogen peroxide in the environment and catalase activity. It was shown



that from cycles 1 to 5 there was a significantly insignificant reduction in survival rate – from 85% to 82%, from cycles 5 to 10 of irradiation the decrease in the number of cells became more pronounced – from 82 to 63%, then, from cycles 10 to 15, recovery was noted, showing numbers to higher values (65–76%), from cycle 15 to 20, the survival value after irradiation remained at the same level (80%). It has been established that, starting from the 15th irradiation cycle, the culture becomes 2 times more resistant to the action of oxidative factors. The results obtained showed that the use of the photodynamic therapy method in practice must be approached with caution, since the formation of tolerance to the effects in the target microorganism occurs by the 15th irradiation cycle and can significantly worsen the treatment results.

Keywords: violet radiation, 405 nm, photodynamic therapy, antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*, catalase, H₂O₂ radiation tolerance

For citation: Tuchina E. S., Kanevsky M. V., El-Khih Ayya Nidal, Slivina Yu. I. Dynamics of formation of tolerance to blue (405 nm) led radiation in *Staphylococcus aureus* upon repeated exposure. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 196–201 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-196-201>, EDN: EUHPDP

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Способность бактерий с экспоненциально возрастающей скоростью развивать устойчивость к антибиотикам в последнее десятилетие приобрела угрожающие масштабы [1]. Во всем мире разрабатываются подходы по предотвращению появления полностью резистентных и неизлечимых антибиотиками инфекций. Одной из многообещающих альтернатив является антимикробная фотодинамическая терапия (АФДТ) – метод, который основан на генерации активных форм кислорода (АФК) при взаимодействии красителей и света [2].

АФДТ демонстрирует антимикробный эффект для клеток большинства клинически значимых микроорганизмов, а также обладает иммуномодулирующим и регенеративным потенциалом при воздействии на ткани макроорганизма. Важным достоинством метода является его низкая себестоимость, окупаемость и удобство проведения процедуры [3, 4].

Повреждающий эффект АФДТ связан с многоточечным воздействием АФК на компоненты бактериальных клеток (клеточную стенку, белки, липиды и генетический материал), и долгое время считалось, что лечение на основе света имеет низкий риск развития толерантности и/или резистентности. Тем не менее, самые последние исследования [3] показывают, что повторяющаяся сублетальная фотообработка может спровоцировать развитие толерантности у патогенных микроорганизмов.

В связи с этим целью настоящего исследования являлось изучение возможных механизмов формирования толерантности/резистентности у микроорганизмов *Staphylococcus aureus* к действию фиолетового (405 нм, 80 мВт/см², 72 Дж/см²) излучения *in vitro*.

Материалы и методы

В качестве тест-культуры для проведения исследований использовали клинический штамм *S. aureus* 2a, предоставленный музеем кафедры микробиологии и вирусологии СГМУ им. В. И. Разумовского. Данный штамм характеризовался способностью продуцировать плазмокоагулазу, гемолизин и летициназу, при этом обладал устойчивостью к таким антибиотикам, как амоксициллин и ванкомицин.

Источником излучения служил светодиодный прибор с максимумом спектра испускания $\lambda = 405 \pm 30$ нм, плотностью мощности 80 мВт/см². За один цикл облучения принимали однократное облучение бактериальной суспензии в течение 15 мин, сообщаемая доза излучения 72 Дж/см².

Облучение бактериальных взвесей проводили в черных полистирольных планшетах. При постановке опытов использовали суточную бактериальную культуру, выращенную при температуре 37°C на ГРМ-агаре. Бактериальную взвесь готовили в стерильном физиологическом растворе, рабочая концентрация составляла 10³ микробных клеток (м.к.) в 1 мл. Контрольные и облученные взвеси бактерий помещали на поверхность плотной питательной среды для дальнейшего культивирования в течение 24 ч.

Выжившие (опытные) колонии использовали для подготовки инокулята для следующего экспериментального цикла (рис. 1).

Учет изменения численности (КОЕ, %) бактериальных популяций проводили в каждом цикле облучения, определение минимальной ингибирующей концентрации (МИК) H₂O₂ и активности каталазы (АК) в 0-м, 10-м, 15-м и 20-м циклах. В ходе данных исследований работали с суточной культурой, предварительно выращенной из изолированной колонии.

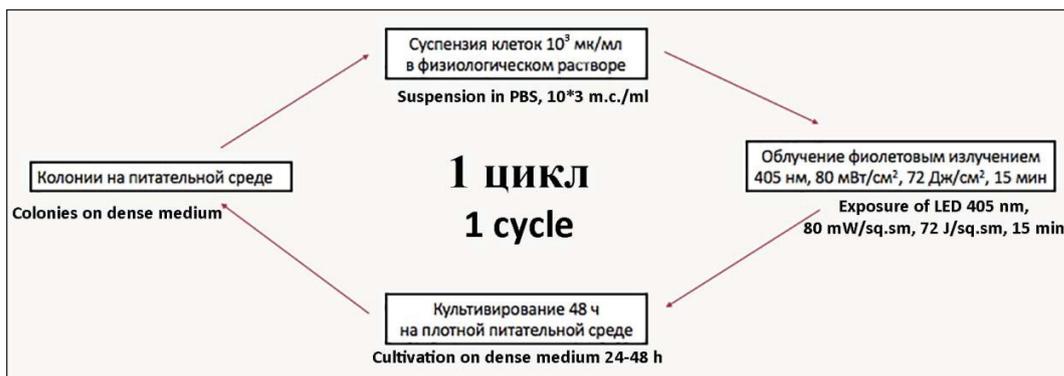


Рис. 1. Схема проведения одного цикла облучения, включающая в себя: выращивание бактерий на питательной среде; приготовление суспензии, облучение светом с выбранными параметрами; дальнейший высев на питательную среду для подсчета колоний, оценки оксидативного стресса и последующего использования выросших колоний в новых циклах эксперимента

Fig. 1. Scheme of carrying out 1 cycle of irradiation, including: growing bacteria on a nutrient medium; preparing a suspension; irradiation with light with selected parameters; further seeding on a nutrient medium to count colonies, assess oxidative stress and subsequent use of the grown colonies in new cycles of the experiment

МИК H_2O_2 определяли методом двукратных последовательных разведений, при этом для засева использовали бактериальную суспензию с концентрацией 10^7 м.к./мл. Формирование толерантности к H_2O_2 проводили по методике, описанной у Lipovsky [4], для этого тест-культуры инкубировали в течение 1 ч с субингибирующей концентрацией H_2O_2 , а затем повторно определяли МИК.

Уровень каталазной активности в клетках трех исследуемых штаммов определяли спектрофотометрически по методике О. В. Бухарина с соавт. [5]. Каталазную активность (отн. ед.) оценивали для необлученных и облученных светодиодным излучением (СИ) в течение 15 мин тест-культур.

Эксперименты проводились в пятикратной повторности, данные обрабатывали с помощью пакета программ Statistica base (StatSoft, США).

Результаты и их обсуждение

Изучение динамики численности бактериальной популяции *S. aureus* 2a при последовательном повторном облучении СИ показало следующее. С 1-го по 5-й цикл происходило незначительное сокращение выживаемости – с 85 до 82%, с 5-го по 10-й цикл снижение числа клеток приобретало более выраженный характер – с 82 до 63%, затем, с 10-го по 15-й цикл отмечено восстановление численности до более высоких значений (65-76%), с 15 по 20 цикл значения выживаемости после облучения сохранялся на том же уровне (80%) (рис. 2).

При определении минимальной ингибирующей концентрации перекиси водорода было установлено, что с увеличением цикла

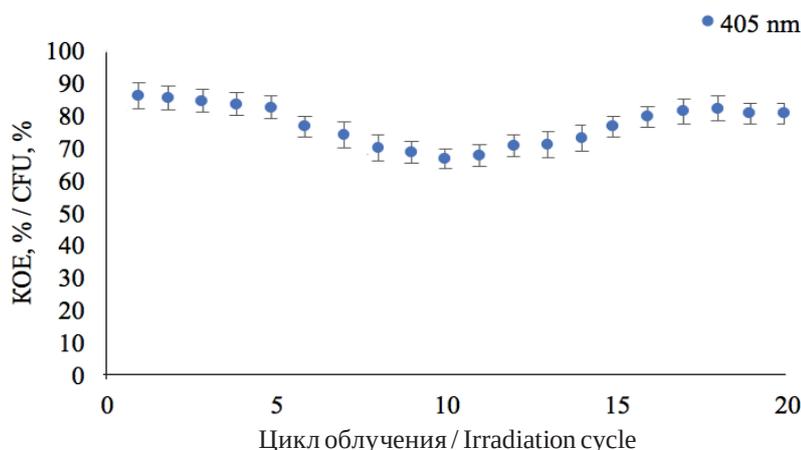


Рис. 2. Влияние светодиодного излучения (405 нм, 80 мВт/см², 72 Дж/см²) и цикла облучения на выживаемость *S. aureus* 2a

Fig. 2. Effect of LED (405 nm, 80 mW/cm², 72 J/cm²) and cycle of irradiation on survival rate of *S. aureus* 2a



облучения растет и МИК. Если для исходной культуры значение МИК составляло 0,000088 М, то уже к 10-му циклу облучения значение

МИК было равно 0,000176 М, а к 20-му циклу возрастало в 3 раза и составляло 0,000264 М (таблица).

Чувствительность клеток *S. aureus* 2a к оксидативному стрессу

Table. Sensitivity of *S. aureus* 2a cells to oxidative stress

Цикл облучения Irradiation cycle	МИК H ₂ O ₂ , М MIC H ₂ O ₂ , М		Активность каталазы, отн. ед. Catalase activity, rel. units	
	Исходная Initial	Через 1 час инкубации After 1 h incubation	До облучения Before radiation	После облучения After radiation
0	0,000088	0,000088	0,55	0,57
10-й	0,000176	0,000176	0,63	0,76
15-й	0,000176	0,000352	0,68	1,32
20-й	0,000264	0,000528	0,87	1,65

В дальнейшем изучали способность клеток *S. aureus* 2a формировать толерантность к H₂O₂. При этом показано, что ни исходная культура, ни прошедшая 10 циклов облучения не обладали такой способностью, значения МИК оставались на одном уровне. Инкубация в течение 1 ч в присутствии сублетальной концентрации H₂O₂ приводила к формированию устойчивости только у культур, прошедших от 15 до 20 циклов облучения, МИК возрастала в 2 раза (см. таблицу).

При изучении уровня активности каталазы после воздействия на бактериальные суспензии СИ в течение 15 мин также заметны различия в зависимости от цикла облучения. Значение показателя АК у исходного штамма после действия СИ достоверно не отличалось от контрольного. 10-й цикл облучения характеризовался незначительным повышением данного показателя – 0,76 отн. ед. против 0,63 отн. ед. в контроле. Выраженное повышение АК в контроле отмечено после 15-го цикла облучения, при этом после воздействия СИ данный показатель возрастал в 1,89 раза (см. таблицу).

Таким образом, адаптация к окислительно-му стрессу у штамма *S. aureus* 2a начинает формироваться только после 10-го цикла облучения, что проявляется в том числе в восстановлении численности бактериальной популяции близкой к контрольным значениям.

Использование методов фотодинамического, фототермического, фотокаталитического воздействия является весьма перспективным, поскольку, как считалось ранее, основано на процессах, к которым микроорганизмы не способны сформировать резистентность. К этим механизмам относятся: генерация активных форм кислорода и свободных радикалов и/или

локальный нагрев микроокружения клетки, деградация клеточной стенки и мембраны за счет перекисного окисления липидов [7–10].

Золотистый стафилококк ответственен за множество хронических и рецидивирующих инфекций, что зачастую связано с его резистентностью к антибиотикам [1, 7]. В ответ на действие излучения и АФК в бактериальных клетках активизируются защитные механизмы, которые включают: каталазу (KatA), супероксиддисмутазы (SodA/M) и золотой пигмент стафилоксантин. Известна способность бактерий временно увеличивать частоту мутаций в ответ на стресс окружающей среды, что увеличивает вероятность полезных (адаптивных) мутаций, которые повышают выживаемость. Имеются данные [6–8], что частота этих мутаций увеличивается в ответ на H₂O₂ посредством SOS-ответа. Нейтрализация других АФК возможна путем повышения экспрессии генов антиоксидантных ферментов, активации репаративных механизмов нуклеиновых кислот [7–11].

Однако в литературе существуют неоднозначные мнения в отношении развития резистентности к АФДТ. Лишь некоторые исследования смогли продемонстрировать увеличение выживаемости в летальных условиях облучения. Критические расхождения возникают из-за различий в методологии, различий используемых комбинаций света и фотосенсибилизатора, а также того, что исследуются многие виды и штаммы микроорганизмов.

J. S. Guffey с соавторами предположили, что *S. aureus* может быть способен адаптироваться к облучению синим светом. В результате этих экспериментов было показано, что начиная с 5-го цикла облучения клетки бактерий снизили



чувствительность к АФДТ [11]. В исследованиях R. M. Amin с соавторами клетки возбудителя гнойно-воспалительных заболеваний *Pseudomonas aeruginosa* демонстрировали снижение чувствительности к сублетальному АФДТ после 9 циклов фотоинактивации [12]. В ряде работ других авторов [14–16] для достижения толерантности/резистентности требовалось до 15–17 циклов облучения, в этих исследованиях были использованы такие условно-патогенные микроорганизмы, как метициллин-чувствительный и метициллин-резистентный *S. aureus*, *Enterococcus faecium* и *Streptococcus agalactiae*.

В данном исследовании показано, что до 10-го цикла облучения происходит снижение числа колоний *S. aureus* 2а, при этом культура характеризуется чувствительностью к перекиси и низкими значениями активности каталазы. Рост устойчивости к оксидативному стрессу сопровождается менее выраженным снижением численности бактериальных популяций, что отмечено после 15-го цикла облучения.

Заключение

Немалой проблемой в принятии новых научных фактов, в частности, в вопросе возможного развития толерантности/резистентности микроорганизмов к оптическому излучению, является авторитет крупных исследователей из зарубежных научных групп. Так, в недавних обзорах, посвященных механизмам повреждающего действия АФДТ [17, 18], постулируется невозможность развития подобного процесса. К мнению этих ученых присоединяется большинство авторов, не столкнувшихся в эксперименте с явлением снижения восприимчивости бактериальной культуры к сублетальным дозам облучения.

Полученные в ходе работы результаты показали, что к использованию метода фотодинамической терапии на практике необходимо подходить с осторожностью, поскольку формирование у тагетного микроорганизма толерантности к воздействию происходит к 15-му циклу облучения и может существенно ухудшить результаты лечения. Тем не менее, проведенное исследование может стать основой для реализации комплексного подхода по решению проблемы толерантности/резистентности микроорганизмов к действию оптического излучения, призванного обеспечить как эффективное уничтожение бактерий, так и отсутствие у них резистентности к методу.

Список литературы

1. Kussell E, Kishony R, Balaban N. Q., Leibler S. Bacterial persistence: A model of survival in changing environments // *Genetics*. 2005. Vol. 169. P. 1807–1814.
2. Mahmoudi H., Bahador A., Pourhajabagher M., Alikhani M. Y. Antimicrobial photodynamic therapy: An effective alternative approach to control bacterial infections // *J. Lasers Med. Sci.* 2018. Vol. 9. P. 154–162. <https://doi.org/10.15171/jlms.2018.29>
3. Youf R., Müller M., Balasini A., Thétiot F., Müller M., Hascoët A., Jonas U., Schönherr H., Lemerrier G., Montier T. Antimicrobial photodynamic therapy: Latest developments with a focus on combinatory strategies // *Pharmaceutics*. 2021. Vol. 13. P. 1995–2016. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13121995>
4. Lipovsky A., Nitzan Y., Friedmann H., Lubart R. Sensitivity of *Staphylococcus aureus* strains to broadband visible light // *Photochemistry and Photobiology*. 2009. Vol. 85. P. 255–260.
5. Бухарин О. В., Сгибнев А. В., Черкасов С. В., Иванов Ю. Б. Способ выявления у бактерий ингибиторов каталазы микроорганизмов. Патент РФ на изобретение № 2180353 от 10.03.2002.
6. McKenzie G. J., Harris R. S., Lee P. L., Rosenberg S. M. The SOS response regulates adaptive mutation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2000. Vol. 97. P. 6646–6651.
7. Anderson K. L., Roberts C., Disz T., Vonstein V., Hwang K., Overbeek R., Olson P. D., Projan S. J., Dunman P. M. Characterization of the *Staphylococcus aureus* heat shock, cold shock, stringent, and SOS responses and their effects on log-phase mRNA turnover // *J. Bacteriol.* 2006. Vol. 188. P. 6739–6756.
8. Galhardo R. S., Hastings P. J., Rosenberg S. M. Mutation as a stress response and the regulation of evolvability // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2007. Vol. 42. P. 399–435.
9. Kwiatkowski S., Knap B., Przystupski D., Saczko J., Kędzierska E., Knap-Czop K., Kotlinska J., Michel O., Kotowski K., Kulbacka J. Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations // *Biomed. Pharmacother.* 2018. Vol. 106. P. 1098–1107.
10. Pieranski M., Sitkiewicz I., Grinholc M. Increased photoinactivation stress tolerance of *Streptococcus agalactiae* upon consecutive sublethal phototreatments // *Free Radic. Biol. Med.* 2020. Vol. 160. P. 657–669.
11. Guffey J. S., Payne W., Jones T., Martin K. Evidence of resistance development by *Staphylococcus aureus* to an *in vitro*, multiple stage application of 405 nm light from a supraluminous diode array // *Photomed. Laser Surg.* 2013. Vol. 31. P. 179–182.
12. Amin R. M., Bhayana B., Hamblin M. R., Dai T. Antimicrobial blue light inactivation of *Pseudomonas aeruginosa* by photo-excitation of endogenous porphyrins: *In vitro* and *in vivo* studies // *Lasers Surg. Med.* 2016. Vol. 48. P. 562–568.
13. Massier S., Rince A., Maillot O., Feuilloley M. G., Orange N., Chevalier S. Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to a pulsed light-induced stress // *J. Appl. Microbiol.* 2012. Vol. 112. P. 502–511.



14. Grinholc M., Rodziewicz A., Forys K., Rapacka-Zdonczyk A., Kawiak A., Domachowska A., Golunski G., Wolz C., Mesak L., Becker K. Antimicrobial photodynamic therapy with fulleropyrrolidine: Photoinactivation mechanism of *Staphylococcus aureus*, *in vitro* and *in vivo* studies // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2015. Vol. 99. P. 4031–4043.
15. Cieplik F., Späth A., Regensburger J., Gollmer A., Tabenski L., Hiller K. A., Bäuml W., Maisch T., Schmalz G. Photodynamic biofilm inactivation by SAPYR – an exclusive singlet oxygen photosensitizer // *Free Radic. Biol. Med.* 2013. Vol. 65. P. 477–487.
16. Paronyan M. H., Koloyan H. O., Avetisyan S. V., Aganyants H. A., Hovsepyan A. S. Study of the possible development of bacterial resistance to photodynamic inactivation // *Biol. J. Armen.* 2019. Vol. 71. P. 17–22.
17. Kashef N., Hamblin M. R. Can microbial cells develop resistance to oxidative stress in antimicrobial photodynamic inactivation? // *Drug Resist. Updat.* 2017. Vol. 31. P. 31–42.
18. Al-Mutairi R., Tovmasyan A., Batinic-Haberle I., Benov L. Sublethal photodynamic treatment does not lead to development of resistance // *Front. Microbiol.* 2018. Vol. 9. P. 1699.
- man P. M. Characterization of the *Staphylococcus aureus* heat shock, cold shock, stringent, and SOS responses and their effects on log-phase mRNA turnover. *J. Bacteriol.*, 2006, vol. 188, pp. 6739–6756.
8. Galhardo R. S., Hastings P. J., Rosenberg S. M. Mutation as a stress response and the regulation of evolvability. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 2007, vol. 42, pp. 399–435.
9. Kwiatkowski S., Knap B., Przystupski D., Saczko J., Kędzierska E., Knap-Czop K., Kotlinska J., Michel O., Kotowski K., Kulbacka J. Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations. *Biomed. Pharmacother.* 2018, vol. 106, pp. 1098–1107.
10. Pieranski M., Sitkiewicz I., Grinholc M. Increased photoinactivation stress tolerance of *Streptococcus agalactiae* upon consecutive sublethal phototreatments. *Free Radic. Biol. Med.*, 2020, vol. 160, pp. 657–669.
11. Guffey J. S., Payne W., Jones T., Martin K. Evidence of resistance development by *Staphylococcus aureus* to an *in vitro*, multiple stage application of 405 nm light from a supraluminous diode array. *Photomed. Laser Surg.*, 2013, vol. 31, pp. 179–182.
12. Amin R. M., Bhayana B., Hamblin M. R., Dai T. Antimicrobial blue light inactivation of *Pseudomonas aeruginosa* by photo- excitation of endogenous porphyrins: *In vitro* and *in vivo* studies. *Lasers Surg. Med.*, 2016, vol. 48, pp. 562–568.
13. Massier S., Rince A., Maillot O., Feuilloley M. G., Orange N., Chevalier S. Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to a pulsed light-induced stress. *J. Appl. Microbiol.*, 2012, vol. 112, pp. 502–511.
14. Grinholc M., Rodziewicz A., Forys K., Rapacka-Zdonczyk A., Kawiak A., Domachowska A., Golunski G., Wolz C., Mesak L., Becker K. Antimicrobial photodynamic therapy with fulleropyrrolidine: Photoinactivation mechanism of *Staphylococcus aureus*, *in vitro* and *in vivo* studies. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2015, vol. 99, pp. 4031–4043.
15. Cieplik F., Späth A., Regensburger J., Gollmer A., Tabenski L., Hiller K. A., Bäuml W., Maisch T., Schmalz G. Photodynamic biofilm inactivation by SAPYR – an exclusive singlet oxygen photosensitizer. *Free Radic. Biol. Med.*, 2013, vol. 65, pp. 477–487.
16. Paronyan M. H., Koloyan H. O., Avetisyan S. V., Aganyants H. A., Hovsepyan A. S. Study of the possible development of bacterial resistance to photodynamic inactivation. *Biol. J. Armen.*, 2019, vol. 71, pp. 17–22.
17. Kashef N., Hamblin M. R. Can microbial cells develop resistance to oxidative stress in antimicrobial photodynamic inactivation? *Drug Resist. Updat.*, 2017, vol. 31, pp. 31–42.
18. Al-Mutairi R., Tovmasyan A., Batinic-Haberle I., Benov L. Sublethal photodynamic treatment does not lead to development of resistance. *Front. Microbiol.*, 2018, vol. 9, pp. 1699.

References

1. Kussell E, Kishony R, Balaban N. Q., Leibler S. Bacterial persistence: A model of survival in changing environments. *Genetics*, 2005, vol. 169, pp. 1807–1814.
2. Mahmoudi H., Bahador A., Pourhajibagher M., Alikhani M. Y. Antimicrobial photodynamic therapy: An effective alternative approach to control bacterial infections. *J. Lasers Med. Sci.*, 2018, vol. 9, pp. 154–162. <https://doi.org/10.15171/jlms.2018.29>
3. Youf R., Müller M., Balasini A., Thétiot F., Müller M., Hascoët A., Jonas U., Schönherr H., Lemercier G., Montier T. Antimicrobial photodynamic therapy: Latest developments with a focus on combinatory strategies. *Pharmaceutics*, 2021, vol. 13, pp. 1995–2016. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13121995>
4. Lipovsky A., Nitzan Y., Friedmann H., Lubart R. Sensitivity of *Staphylococcus aureus* strains to broadband visible light. *Photochemistry and Photobiology*, 2009, vol. 85, pp. 255–260.
5. Bukharin O. V., Sgibnev A. V., Cherkasov S. V., Ivanov Yu. B. A method for identifying microbial catalase inhibitors in bacteria. RF patent for invention No. 2180353 dated March 10, 2002 (in Russian).
6. McKenzie G. J., Harris R. S., Lee P. L., Rosenberg S. M. The SOS response regulates adaptive mutation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, vol. 97, pp. 6646–6651.
7. Anderson K. L., Roberts C., Disz T., Vonstein V., Hwang K., Overbeek R., Olson P. D., Projan S. J., Dun-

Поступила в редакцию: 20.01.2024; одобрена после рецензирования 25.01.2024; принята к публикации 03.02.2024
The article was submitted 20.01.2024; approved after reviewing 25.01.2024; accepted for publication 03.02.2024



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 202–207

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 202–207

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-202-207>, EDN: XXJNWQ

Научная статья

УДК 579.6



Оптимизация технологии фагового дисплея для получения антител, специфичных к тетрациклину

А. В. Мартыненко¹, О. А. Караваева², А. С. Фомин², О. И. Гулий² ✉

¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

²Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, ФИЦ «Саратовский научный центр», Россия, 410049, г. Саратов, пр. Энтузиастов, д. 13

Мартыненко Анжелика Викторовна, студент кафедры биохимии и биофизики, lika_martynenko2002@mail.ru

Караваева Ольга Александровна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биохимии, helga1121@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0665-1846>

Фомин Александр Сергеевич, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории иммунохимии, strazth87@bk.ru

Гулий Ольга Ивановна, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии, guliy_olga@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0541-0020>

Аннотация. Масштабное производство и использование противомикробных препаратов в медицине, ветеринарии и сельском хозяйстве привело к загрязнению антибиотиками водных ресурсов, поэтому актуальным является развитие методов мониторинга содержания антибиотиков, особенно в водных ресурсах. Успешными для анализа антибиотиков являются биосенсорные методы. Одним из основных составляющих биосенсорной системы является подбор элемента распознавания. Альтернативным инструментом для подбора чувствительного элемента (элемента распознавания) является фаговый дисплей, позволяющий получать антитела к низкомолекулярным антигенам. Цель работы заключалась в проведении исследований по отработке и оптимизации методики получения антител, специфичных к тетрациклину, с использованием технологии фагового дисплея, и оценке возможности их применения для индикации тетрациклина. Проведены исследования оптимизации условий по наработке фаговых антител, специфичных к тетрациклину, а также сохранению их активности в процессе хранения. Показана перспективность применения технологии фагового дисплея для получения антитетрациклиновых антител. С помощью метода дот-иммуноанализа показана возможность применения полученных фаговых антител для определения тетрациклина.

Ключевые слова: технология фагового дисплея, антитела, антибиотики

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 24-24-00309).

Для цитирования: Мартыненко А. В., Караваева О. А., Фомин А. С., Гулий О. И. Оптимизация технологии фагового дисплея для получения антител, специфичных к тетрациклину // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 202–207. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-202-207>, EDN: XXJNWQ

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Optimization of phage display technology for obtaining antibodies specific to tetracycline

A. V. Martynenko¹, O. A. Karavaeva², A. S. Fomin², O. I. Guliy² ✉

¹Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

²Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Saratov Federal Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences, 13 Entuziastov Prospekt, Saratov 410049, Russia

Anzhelika V. Martynenko, lika_martynenko2002@mail.ru

Olga A. Karavaeva, helga1121@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0665-1846>

Alexander S. Fomin, strazth87@bk.ru

Olga I. Guliy, guliy_olga@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0541-0020>

Abstract. Large-scale production and use of antimicrobials in human, veterinary and agricultural applications has led to antibiotic contamination of water resources. Therefore, it is relevant to develop methods for monitoring the content of antibiotics, especially in water resources.



Biosensor methods are successful for the analysis of antibiotics. One of the main elements of a biosensor system is the selection of a recognition element. An alternative tool for selecting a sensitive element (recognition element) is phage display of antibodies, which makes it possible to obtain antibodies to low molecular weight antigens. The purpose of the work was to conduct research to develop and optimize the methodology for obtaining antibodies specific to tetracycline by using phage display technology, and to evaluate the possibility of their use for the indication of tetracycline. The work included studies of optimization of conditions for the production of phage antibodies specific to tetracycline, as well as the preservation of their activity during storage. The promise of using phage display technology for the production of anti-tetracycline antibodies has been shown. Using the dot immunoassay method, the possibility of using the obtained phage antibodies for tetracycline detection was shown.

Key words: phage display technology, antibodies, antibiotics

Acknowledgements: This work was supported by the Russian Science Foundation (project No. 24-24-00309).

For citation: Martynenko A. V., Karavaeva O. A., Fomin A. S., Guliy O. I. Optimization of phage display technology for obtaining antibodies specific to tetracycline. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 202–207 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-202-207>, EDN: XXJNWQ

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Интенсивное производство и применение антибиотиков в медицине, ветеринарии и сельском хозяйстве привело к загрязнению различных компонентов окружающей среды: поверхностных и грунтовых вод, питьевой воды, городских сточных вод, почвы, ила и т.д., что создает экологические проблемы для человечества. Важно отметить, что количественные показатели применения антибиотиков в животноводстве во всем мире превышают уровни потребления антибиотиков в медицине [1]. Ожидается, что к 2030 г. увеличение потребления антибактериальных препаратов достигнет более чем 100 000 т в год [2]. Ежегодное увеличение потребления антибиотиков приводит к их накоплению в окружающей среде и развитию антибактериальной резистентности. Загрязнение антибактериальными препаратами, попадающими в сточные воды, объединяет проблему загрязнения не только антибиотиками, но и различными биологически активными соединениями в целом (лекарства, метаболиты лекарств или эндокринные разрушители). Большинство неиспользованных антибиотиков, их метаболитов и остатков попадают в окружающую среду различными путями, что влияет на природные экосистемы. Вред, наносимый противомикробными препаратами, попавшими в сточные воды, представлен на рис. 1. Для предотвращения экологической катастрофы необходим постоянный мониторинг источников воды на содержание антибиотиков, поэтому важно разрабатывать быстрые и эффективные методы для контроля антибиотиков в водных ресурсах. В этом направлении большой потенциал принадлежит сенсорным системам анализа. Необходимым составляющим любой сенсорной системы является подбор чувстви-

тельного компонента (элемента распознавания). В качестве сенсорного составляющего датчика могут быть использованы антитела, микробные клетки, аптомеры, ферменты и др. [3, 4]. Антитела являются классическим инструментом распознавания, а специфичное взаимодействие антитело–антиген может применяться в сенсорных системах при определении антибиотиков.

Альтернативным способом получения специфичных антител является фаговый дисплей, позволяющий получать антитела к низкомолекулярным антигенам (гаптенам). Суть технологии фагового дисплея антител состоит в получении высокоаффинных фаговых антител, т.е. фагов, экспонирующих в составе своей оболочки антитела или их фрагменты, обладающих высокой специфичностью к целевому антигену. Основными этапами данной технологии являются: конструирование фаговой библиотеки или выбор из уже имеющихся; процедура биопэннинга – обогащение фаговой библиотеки при помощи аффинной селекции [5–8]. Общая схема конструирования фрагментов антител фаговой библиотеки представлена на рис. 2 [5].

Многочисленные исследования подтверждают высокую чувствительность детекции анализа с помощью фаговых антител в отличие от других типов антител. Так, например, описана возможность применения фаговых антител при определении бактерий [9], вирусов [10], диагностически важных антигенов: ферритина [11], силимарина [12], диминазина [13] и др.

Успех в применении фаговых антител в качестве сенсорного элемента датчика зависит от предварительной отработки метода их наработки и тестирования. Цель данной работы заключалась в проведении исследований по отработке и оптимизации методики получения антител, специфичных к антибиотикам, с использованием технологии фагового дисплея.

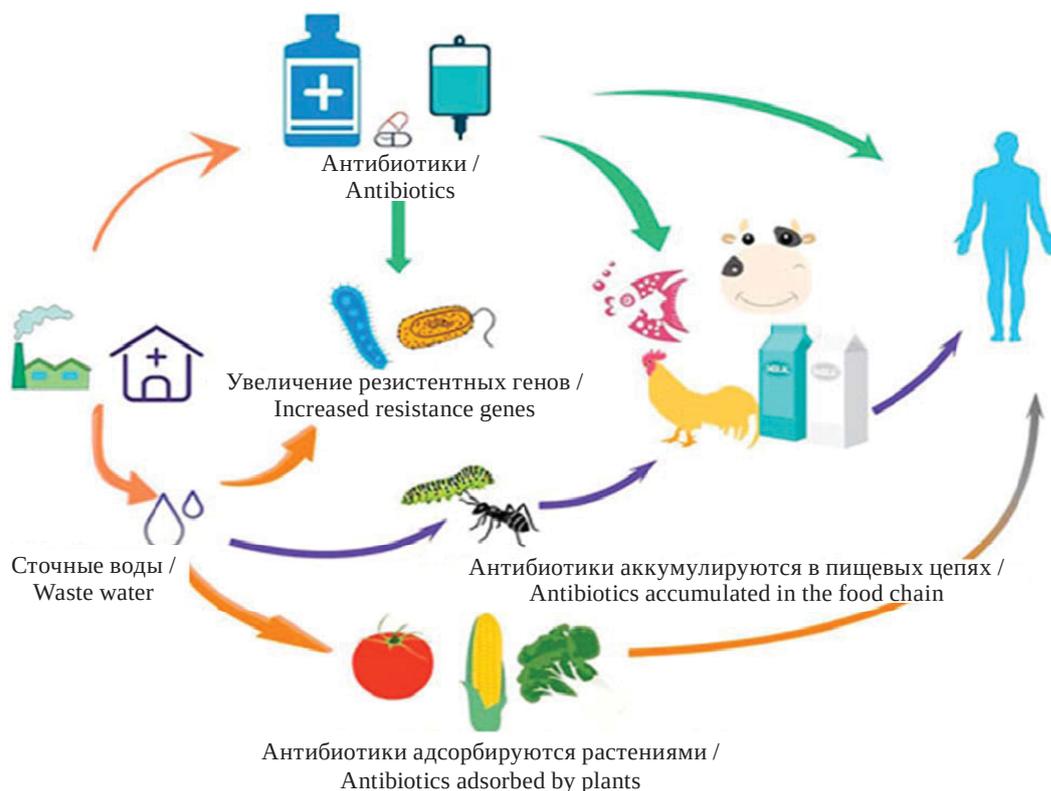


Рис. 1. Вред, наносимый противомикробными препаратами, попавшими в сточные воды
 Fig. 1. Harm caused by antimicrobials released into wastewater

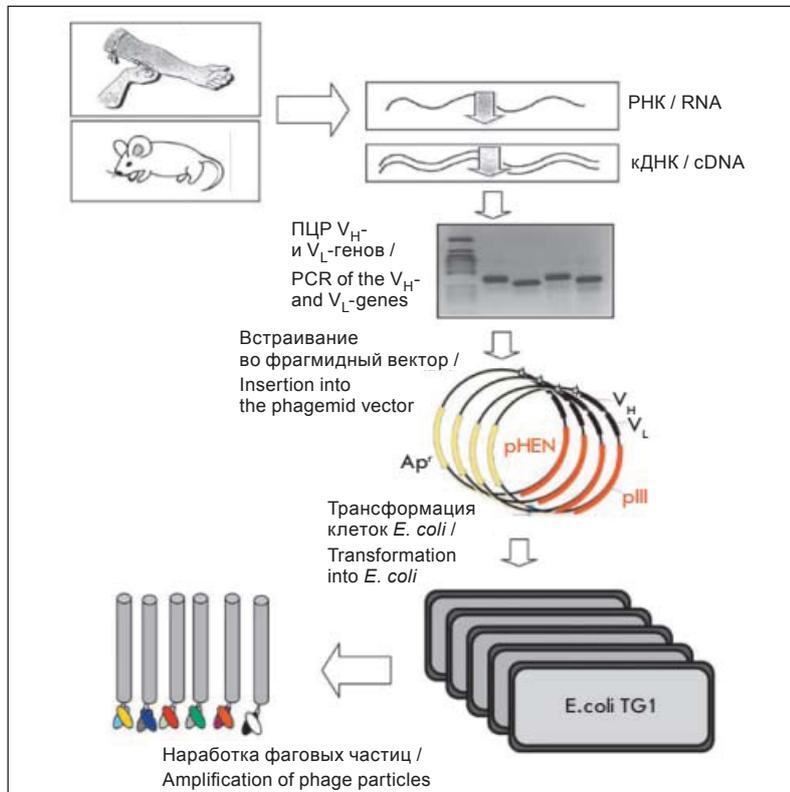


Рис. 2. Схема конструирования фрагментов антител фаговой библиотеки [5]
 Fig. 2. Scheme for constructing antibody fragments of a phage library [5]



Материалы и методы

В работе использованы бактерии *Escherichia coli* штамма TG1, полученные из коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН (Россия) (<http://collection.ibppm.ru>) и выращивали на жидкой питательной среде 2xTY, как описано в работе [14].

Для отбора фаговых антител в качестве антигена использовали антибиотик тетрациклин (Sigma, США).

Фаговая библиотека антител овцы представлена профессором Университета г. Абердин (Великобритания) Уильямом Харрисом [15]. В работе использовали хелперный бактериофаг M13K07 (Stratagene, Швеция).

Методика получения фаговых антител подробно описана в работе [14].

Концентрацию фаговых частиц определяли спектрофотометрически, как описано в [7], на спектрофотометре UV-VIS Specord BS 250 (Analytik Jena, Германия) в Центре коллективного пользования (ЦКП) научным оборудованием в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии «Симбиоз» ИБФРМ РАН.

Метод дот-иммуноанализа применяли для оценки специфичности антител, титр определяли по методике [16].

Наночастицы золота получали по методу Frens [17], с использованием реакции восстановления золотохлористоводородной кислоты (Aldrich, США) цитратом натрия (Fluka, Швейцария). Наночастицы контролировали по фотометрической калибровке, с помощью трансмиссионной электронной микроскопии и регистрации динамического рассеяния света, как описано [18], в ЦКП «Симбиоз» ИБФРМ РАН.

Методика дот-иммуноанализа подробно описана в работе [14]. Антибиотик наносили на мембрану (0,5; 1; 2; 4, 6, 12, 25, 50 и 100 мкг/мл) и блокировку мембраны проводили в течение 1 ч 2% сухим молоком, разведенным в фосфатном буферном растворе (pH 7.0). После окрашивания мембрану промывали в фосфатном буфере и высушивали.

Результаты и их обсуждение

В 1999 г. в ИБФРМ РАН был передан фаговый дисплей антител овцы, протоколы и методические рекомендации по применению данной технологии [15].

В качестве антибактериального препарата использовали тетрациклин (представитель те-

трациклинов). Выбор тетрациклина обусловлен тем, что объем его продаж занимает 1-е место от всех реализуемых антибактериальных препаратов (в соответствии с данными на 2021 г.) [19], поэтому весьма актуальным является развитие методов контроля тетрациклина в окружающей среде, особенно в водных ресурсах.

В результате проведенных исследований подобраны оптимальные условия для проведения отбора антител, специфичных к тетрациклину, а именно:

- мембрана для иммобилизации антибиотика;
- концентрация антибиотика для обеспечения его максимальной иммобилизации на мембране;
- температура при иммобилизации препарата на мембране;
- время диализа фаговой суспензии;
- pH буферного раствора при проведении диализа фаговой суспензии;
- анализ сохранения активности полученных фаговых антител в процессе хранения;
- проверка специфичности фаговых антител методом дот- иммуноанализа.

Полученные в работе антитетрациклиновые фаговые антитела использовали для определения тетрациклина в водных растворах. Установлено, что фаговые антитела позволяют определять тетрациклин в водных растворах методом дот-иммуноанализа (нижний предел детекции составляет 1 мкг/мл). Антитетрациклиновые фаговые антитела сохраняют свою активность в отношении тетрациклина в процессе хранения в течение 5 месяцев. С помощью метода дот-иммуноанализа показана специфичность антитетрациклиновых фаговых антител к определяемому антибиотику.

Заключение

Технология фагового дисплея является предпочтительным выбором для производства рекомбинантных антител в большинстве лабораторий, поскольку обеспечивает быструю и экономичную наработку антител с использованием нитевидного бактериофага. Как уже было сказано, производство рекомбинантных антител включает несколько этапов, но все они проводятся *in vitro*, и отсутствует необходимость проведения экспериментов с привлечением животных. Это основное и важное преимущество данной технологии по сравнению с традиционными методами получения антител.



Еще одним преимуществом фагового дисплея является меньшее время, необходимое для продукции антител. Обычные методы требуют иммунизации, которая может занять несколько недель или месяцев, чтобы вызвать достаточный иммунный ответ для выработки антител, что делает фаговый дисплей эффективным в долгосрочной перспективе. В представленном исследовании отработаны технические приемы применения технологии фагового дисплея для получения антител, специфичных к тетрациклину, изучены условия сохранения их активности и установлена возможность их применения для определения тетрациклина методом дот-иммуноанализа.

Список литературы

1. Lu M. Y., Kao W. C., Belkin S., Cheng J. Y. A smartphone-based whole-cell array sensor for detection of antibiotics in milk // *Sensors (Basel)*. 2019. Vol. 19. P. 3882. <https://doi.org/10.3390/s19183882>
2. Van Boeckel T. P., Brower C., Gilbert M., Grenfell B. T., Levin S. A., Robinson T. P., Teillant A., Laxminarayan R. Global trends in antimicrobial use in food animals // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2015. Vol. 112, № 18. P. 5649–5654. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>
3. Purohit B., Vernekar P. R., Shetti N. P., Chandra P. Biosensor nanoengineering: Design, operation, and implementation for biomolecular analysis // *Sens. Int.* 2020. Vol. 1. P. 100040. <https://doi.org/10.1016/j.sintl.2020.100040>
4. Guliy O. I., Bunin V. D. Electrooptical analysis as sensing system for detection and diagnostics bacterial cells, in the book, biointerface engineering: Prospects in medical diagnostics and drug delivery // Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2020. Vol. 11. P. 233–254. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4790-4_11
5. Тукунова Н. В., Морозова В. В. Фаговый дисплей на основе нитчатых бактериофагов: применение для отбора рекомбинантных антител // *Acta Naturae (русскаяязычная версия)*. 2009. Т. 1, № 3. С. 22–31.
6. Smith G. P. Filamentous fusion phage: Novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface // *Science*. 1985. Vol. 228. P. 1315–1317. <https://doi.org/10.1126/science.4001944>
7. Smith G. P., Scott J. K. Libraries of peptides and proteins displayed on filamentous phage // *Methods in enzymology*. 1993. Vol. 217. P. 228–257. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(93\)17065-d](https://doi.org/10.1016/0076-6879(93)17065-d)
8. McCafferty J., Griffiths A. D., Winter G., Chiswell D. J. Phage antibodies: Filamentous phage displaying antibody variable domains // *Nature*. 1990. Vol. 348. P. 552–554. <https://doi.org/10.1038/348552a0>
9. Гулий О. И., Евстигнеева С. С., Дыкман Л. А. Использование фаговых антител для определения микробных клеток (обзор) // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2023. Т. 59, № 2. С. 150–166. <https://doi.org/10.31857/S0555109923020083>
10. Guliy O. I., Evstigneeva S. S., Khanadeev V. A., Dykman L. A. Antibody phage display technology for sensor-based virus detection: Current status and future prospects // *Biosensors*. 2023. Vol. 13. P. 640. <https://doi.org/10.3390/bios13060640>
11. Staroverov S. A., Volkov A. A., Fomin A. S., Laskavuy V. N., Mezhenyuy P. V., Kozlov S. V., Larionov S. V., Fedorov M. V., Dykman L. A., Guliy O. I. The usage of phage mini-antibodies as a means of detecting ferritin concentration in animal blood serum // *J. Immunoassay Immunochem*. 2015. Vol. 36. P. 100–110. <https://doi.org/10.1080/15321819.2014.899257>
12. Staroverov S. A., Kozlov S. V., Fomin A. S., Gabalov K. P., Khanadeev V. A., Soldatov D. A., Domnitsky I. Y., Dykman L. A., Akchurin S. V., Guliy O. I. Synthesis of silymarin-selenium nanoparticle conjugate and examination of its biological activity *in vitro* // *ADMET DMPK*. 2021. Vol. 9. P. 255–266. <https://doi.org/10.5599/admet.1023>. eCollection 2021.
13. Staroverov S. A., Sidorkin V. A., Fomin A. S., Shchyogolev S. Y., Dykman L. A. Biodynamic parameters of micellar diminazene in sheep erythrocytes and blood plasma // *J. Vet. Sci.* 2011. Vol. 12. P. 303–307. <https://doi.org/10.4142/jvs.2011.12.4.303>
14. Гулий О. И., Алсовэйдю А. К. М., Фомин А. С., Габалов К. П., Староверов С. А., Караваяева О. А. Фаговые антитела как биорецепторы для определения ампициллина // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2022. Т. 58. С. 513–519. <https://doi.org/10.31857/S0555109922050087>
15. Charlton K. A., Moyle S., Porter A. J., Harris W. J. The isolation of super-sensitive anti-hapten antibodies from combinatorial antibody libraries derived from sheep // *The Journal of Immunology*. 2000. Vol. 164. P. 6221–6229. [https://doi.org/10.1016/s0956-5663\(01\)00192-0](https://doi.org/10.1016/s0956-5663(01)00192-0)
16. Shah K., Maghsoudlou P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): The basics // *Br. J. Hosp. Med. (Lond)*. 2016. Vol. 77, № 7. P. 98–101. <https://doi.org/10.12968/hmed.2016.77.7.C98>
17. Frens G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions // *Nat. Phys. Sci.* 1973. Vol. 241. P. 20–22. <https://doi.org/10.1038/physci241020a0>
18. Guliy O. I., Zaitsev B. D., Burygin G. L., Karavaeva O. A., Fomin A. S., Staroverov S. A., Borodina I. A. Prospects for the use of gold nanoparticles to increase the sensitivity of an acoustic sensor in the detection of microbial cells // *Ultrasound Med. Biol.* 2020. Vol. 46. P. 1727–1737. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2020.03.014>
19. Sales of veterinary antimicrobial agents in 31 European countries in 2018 Trends from 2010 to 2018. Tenth



ESVAC report. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/sales-veterinary-antimicrobial-agents-31-european-countries-2018-trends-2010-2018-tenth-esvac-report_en.pdf. (дата обращения: 19.03.2023).

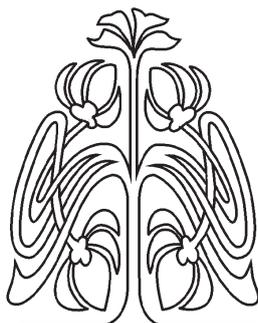
References

- Lu M. Y., Kao W. C., Belkin S., Cheng J. Y. A smart-phone-based whole-cell array sensor for detection of antibiotics in milk. *Sensors (Basel)*, 2019, vol. 19, pp. 3882. <https://doi.org/10.3390/s19183882>
- Van Boeckel T. P., Brower C., Gilbert M., Grenfell B. T., Levin S. A., Robinson T. P., Teillant A., Laxminarayan R. Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2015, vol. 112, no. 18, pp. 5649–5654. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>
- Purohit B., Vernekar P. R., Shetti N. P., Chandra P. Biosensor nanoengineering: Design, operation, and implementation for biomolecular analysis. *Sens. Int.*, 2020, vol. 1, pp. 100040. <https://doi.org/10.1016/j.sintl.2020.100040>
- Guliy O. I., Bunin V. D. Electrooptical analysis as sensing system for detection and diagnostics bacterial cells, in the book, biointerface engineering: Prospects in medical diagnostics and drug delivery. *Springer Nature Singapore Pte Ltd.*, 2020, vol. 11, pp. 233–254. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4790-4_11
- Tikunova N. V., Morozova V. V. Phage Display on the base of filamentous bacteriophages: Application for recombinant antibodies selection. *Acta Nat.*, 2009, vol. 1, pp. 20–28 (in Russian).
- Smith G. P. Filamentous fusion phage: Novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface. *Science*, 1985, vol. 228, pp. 1315–1317. <https://doi.org/10.1126/science.4001944>
- Smith G. P., Scott J. K. Libraries of peptides and proteins displayed on filamentous phage. *Methods in Enzymology*, 1993, vol. 217, pp. 228–257. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(93\)17065-d](https://doi.org/10.1016/0076-6879(93)17065-d)
- McCafferty J., Griffiths A. D., Winter G., Chiswell D. J. Phage antibodies: Filamentous phage displaying antibody variable domains. *Nature*, 1990, vol. 348, pp. 552–554. <https://doi.org/10.1038/348552a0>
- Guliy O. I., Evstigneeva S. S., Dykman L. A. The use of phage antibodies for microbial cell detection. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2022, vol. 58, no. 1, pp. 32–46 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S0555109923020083>
- Guliy O. I., Evstigneeva S. S., Khanadeev V. A., Dykman L. A. Antibody phage display technology for sensor-based virus detection: Current status and future prospects. *Biosensors*, 2023, vol. 13, pp. 640. <https://doi.org/10.3390/bios13060640>
- Staroverov S. A., Volkov A. A., Fomin A. S., Laskavuy V. N., Mezhenyy P. V., Kozlov S. V., Larionov S. V., Fedorov M. V., Dykman L. A., Guliy O. I. The usage of phage mini-antibodies as a means of detecting ferritin concentration in animal blood serum. *J. Immunoassay Immunochem.*, 2015, vol. 36, pp. 100–110. <https://doi.org/10.1080/15321819.2014.899257>
- Staroverov S. A., Kozlov S. V., Fomin A. S., Gabalov K. P., Khanadeev V. A., Soldatov D. A., Domnitsky I. Y., Dykman L. A., Akchurin S. V., Guliy O. I. Synthesis of silymarin-selenium nanoparticle conjugate and examination of its biological activity *in vitro*. *ADMET DMPK*, 2021, vol. 9, pp. 255–266. <https://doi.org/10.5599/admet.1023>. eCollection 2021.
- Staroverov S. A., Sidorkin V. A., Fomin A. S., Shchyogolev S. Y., Dykman L. A. Biodynamic parameters of micellar diminazene in sheep erythrocytes and blood plasma. *J. Vet. Sci.*, 2011, vol. 12, pp. 303–307. <https://doi.org/10.4142/jvs.2011.12.4.303>
- Guliy O. I., Alsowaidi A. K., Fomin A. S., Gabalov K. P., Staroverov S. A., Karavaeva O. A. Phage antibodies as bioreceptors for ampicillin detection. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2022, vol. 58, pp. 646–651 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S0555109922050087>
- Charlton K. A., Moyle S., Porter A. J., Harris W. J. The isolation of super-sensitive anti-hapten antibodies from combinatorial antibody libraries derived from sheep. *The Journal of Immunology*, 2000, vol. 164, pp. 6221–6229. [https://doi.org/10.1016/s0956-5663\(01\)00192-0](https://doi.org/10.1016/s0956-5663(01)00192-0)
- Shah K., Maghsoudlou P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): The basics. *Br. J. Hosp. Med. (Lond.)*, 2016, vol. 77, no. 7, pp. 98–101. <https://doi.org/10.12968/hmed.2016.77.7.C98>
- Frens G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions. *Nat. Phys. Sci.*, 1973, vol. 241, pp. 20–22. <https://doi.org/10.1038/physci241020a0>
- Guliy O. I., Zaitsev B. D., Burygin G. L., Karavaeva O. A., Fomin A. S., Staroverov S. A., Borodina I. A. Prospects for the use of gold nanoparticles to increase the sensitivity of an acoustic sensor in the detection of microbial cells. *Ultrasound Med. Biol.*, 2020, vol. 46, pp. 1727–1737. <https://doi.org/10.1016/j.ultras-medbio.2020.03.014>
- Sales of veterinary antimicrobial agents in 31 European countries in 2018 Trends from 2010 to 2018. *Tenth ESVAC report*. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/sales-veterinary-antimicrobial-agents-31-european-countries-2018-trends-2010-2018-tenth-esvac-report_en.pdf (accessed Mach 15, 2023).

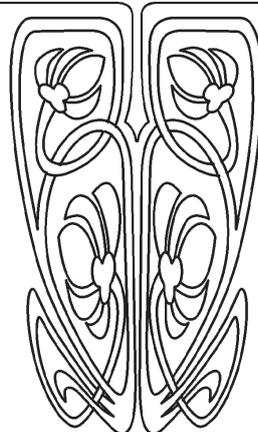
Поступила в редакцию: 02.12.2023; одобрена после рецензирования 12.02.2024; принята к публикации 13.02.2024
The article was submitted 02.12.2023; approved after reviewing 12.02.2024; accepted for publication 13.02.2024



ЭКОЛОГИЯ



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 208–213

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 208–213

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-208-213>

EDN: WERUOG

Article

A new host plant for *Cameraria ohridella* Deschka & Dimić, 1986 (Lepidoptera: Gracillariidae) in Volga region

V. V. Anikin

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Vasily V. Anikin, anikinvasiliiv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8575-5418>

Abstract. Six years have passed since, in 2018, an invasive species from Europe – the Ohrid miner *Cameraria ohridella* (Lepidoptera: Gracillariidae) penetrated into the Lower and Middle Volga region and began to actively populate urban landscapes planted with horse chestnut. Using the example of the regional center of Saratov, the temporary aspects of settlement and damage to horse chestnut trees over the specified period are considered. As a result of the settlement of the species and the annual increase in its population density, the degree of damage to the leaves of horse chestnut in parks and alleys of the regional center – showed a massive drying and leaf fall in *Aesculus hippocastanum* in early August 2023. The total output of the imago of the 3rd generation of the occupier completed the process of withering and shrinking of the trees by switching to another type of urban tree – walnut. This is the first case of such a choice of a new host object for this type of invader in the Volga region.

Keywords: chestnut moth, distribution, *Aesculus hippocastanum*, *Juglans regia*, Saratov city, Russia

For citation: Anikin V. V. A new host plant for *Cameraria ohridella* Deschka & Dimić, 1986 (Lepidoptera: Gracillariidae) in Volga region. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 208–213 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-208-213>, EDN: WERUOG

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Научная статья

УДК 595.782

Новое кормовое растение для *Cameraria ohridella* Deschka & Dimić, 1986 (Lepidoptera: Gracillariidae) в Поволжском регионе

В. В. Аникин

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Аникин Василий Викторович, доктор биологических наук, профессор кафедры морфологии и экологии животных, anikinvasiliiv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8575-5418>

Аннотация. С 2018 г. прошло 6 лет как инвазивный вид из Европы – охридский минер *Cameraria ohridella* (Lepidoptera: Gracillariidae) проник в Нижнее и Среднее Поволжье и начал активно заселять городские ландшафты с посадками конского каштана. На примере областного центра Саратова рассмотрены временные аспекты заселения и повреждения деревьев конского каштана за указанный период. Как итог расселения вида и ежегодного



увеличения его плотности заселения и степени повреждения листьев конского каштана в парках и аллеях областного центра – массовое усыхание и опадание листьев у *Aesculus hippocastanum* в начале августа 2023 г. Тотальный выход имаго 3-го поколения каштановой моли завершил процесс увядания и усыхания деревьев переходом на другой вид городских древесных интродуцентов – грецкий орех. Это первый случай такого выбора нового кормового объекта у данного вида инвайдера в Поволжье.

Ключевые слова: каштановая моль, распространение, *Aesculus hippocastanum*, *Juglans regia*, город Саратов, Россия

Для цитирования: Anikin V. V. A new host plant for *Cameraria ohridella* Deschka & Dimić, 1986 (Lepidoptera: Gracillariidae) in Volga region [Аникин В. В. Новое кормовое растение для *Cameraria ohridella* Deschka & Dimić, 1986 (Lepidoptera: Gracillariidae) в Поволжском регионе] // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 208–213. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-208-213>, EDN: WERUOG

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Introduction

Studies of herbarium collections of horse chestnut from the Balkan Peninsula, collected since 1737, have shown that the chestnut moth has been “living” in Europe since at least 1879 [1]. After the description of the species, the moth was discovered in 1989 in Austria [2] and Croatia [3]. Then the species began to actively settle and form a secondary habitat in other European countries [4]. The successful invasion of the horse chestnut leaf miner was the successful introduction of *Aesculus hippocastanum* into the urban and park landscapes of European countries in the XVI–XIX centuries [5–8].

On the territory of the Lower and Middle Volga region, this species was not observed until 2018, when it was first discovered in the cities of Saratov and Samara [9]. Already in 2019, the leaf miner was noted in other cities of Volga region – Volgograd, Ulyanovsk, Penza. Observations of the spread of the Ohrid miner showed its rapid invasion in 2019–2021 of all major cities of the Saratov region – Balakovo, Volsk, Engels, Krasnoarmeysk [10–12, etc.]. A similar situation developed in other regions – Dimitrovgrad, Karsun, Inza [13] were settled in the Ulyanovsk region, from 2021 the miner was noted in Tatarstan [14], in the parks of Nizhny Novgorod [15], completely occupied Samara in 2022 [16] and Chuvashia [17].

A study of the chestnut miner haplotypes of the European part of the Russian Federation and the Volga region [18] showed their low diversity in the secondary species distribution compared to the natural species distribution in Western Europe. It was found that only two of the 44 known *C. ohridella* haplotypes (8% of all known haplotypes) have an “invasive” trait, i.e. they can spread quickly and effectively consolidate in new regions, which happened in the Lower and Middle Volga over the past 5–6 years. This fits into the framework of the “bottleneck” hypothesis, which assumes that during the invasion process only a few hap-

lotypes can have a stimulus to spread, while most other haplotypes that do not have such properties remain “locked” in their primary distribution.

In addition to the rapid spread in Saratov, the species also has a fast rate of reproduction, the species gives in the region 3 generations per season, and in some seasons the 4th [19], while each female can lay from 20 to 90 eggs. Such features of the biology of the species make it possible to quickly increase the population density of the forage plant (horse chestnut) in the “captured” territories.

Horse chestnut is the main food plant for *C. ohridella* caterpillars [20]. However, in the conditions of the secondary range, miner caterpillars were recorded on other species of the chestnut genus [21, 22], as well as on other plants of other families: *Acer pseudoplatanus* L., *A. campestre* L., *A. platanoides* L., *Fraxinus excelsior* L., *Prunus avium* L., *Ligustrum vulgare* L., *Euonymus europaeus* L., *Carpinus betulus* L., *Fagus sylvatica* L., *Cornus sanguinea* L., *Tilia platyphyllos* Scop., *Lonicera xylosteum* L., *Corylus avellana* L. [23]. In Belarus, since 2021, the species has been observed on silver maple *Acer saccharinum* [24]. In the southern region of Russia, a miner species was recorded on *Acer pseudoplatanus* L. [18], other plants were not noted as host for miner larvae before the author’s research.

The transition of the chestnut moth to other plants is a forced course of events, because with the full settlement of the main forage plant and its “consumption” there is only one way out – to look for other food sources suitable for assimilation by the caterpillar.

Material and methods

Our study is based on collected material of mines with larvae and adults (emerged ex larvae after overwintering) of *C. ohridella* from the territory of Saratov city until 2018 up to 2023. All material deposited in the collections of the Zoological



Museum Saratov State University, Saratov, Russia. Photos of trees with mines on leaves, larvae were taken with an Olympus Tough TG-5.

Results and discussion

From the 2020 the number of inhabited chestnuts in Saratov increased by 6 times compared to the year of invasion, then by the end of August 2021, as the monitoring of green urban plantings showed, the Ohrid miner completely “mastered” all the trees of the horse chestnut of Saratov. It was from 2021 that the entire area of the regional center could be marked with solid hatching, showing the complete settlement of all growing chestnuts on its territory.

During the 4-year period of the spread of the miner in the city, there was a gradual settlement of all trees (of all ages), the fodder plant of caterpillars – horse chestnut. If in the first “foci” of the spread in 2018, the mines were located on the lower branches of trees, less often on the middle tier of a tree, mines on a leaf were single and only 3–8 affected leaves per tree [9], then by the end of the 2020 season there was a tendency for the trees to be completely populated by the miner, starting from the bottom tiers and ending with the top. The number of mines on the leaves increased

to 6–11 per individual leaf, and the total design coverage of damaged leaves began to range from 50 to 70% [19].

In the spring of 2022, the first dead trees in the city began to appear. In addition, severely damaged trees became targets for the development of fungal infections and bacterial necrosis, which accelerated the death of especially young trees (up to 3 m tall). Microbiological studies of colleagues in 2020 showed the presence of bacteria and fungi that “accompany” the Ohrid miner in Saratov [25– 29].

After 2 years in 2023, the picture of the occupation of urban landscapes with horse chestnut turned into a catastrophic phenomenon. The peculiarities of early spring and rapid warming of the soil cover with good moisture led to the appearance of the first generation of the Ohrid miner already in mid-May. The shift of the usual release dates of butterflies in Saratov after wintering for 1 month ahead (!) was reflected in the end of the development of the 3rd generation in early August, i.e. a very early end of the entire species cycle before the horse chestnut proceeds to the autumn-winter period. Unlike the 2021 season, when the damage caused by the caterpillars led to premature drying and twisting of leaves in 90–99% of damaged horse chestnut trees in the city (Fig. 1).

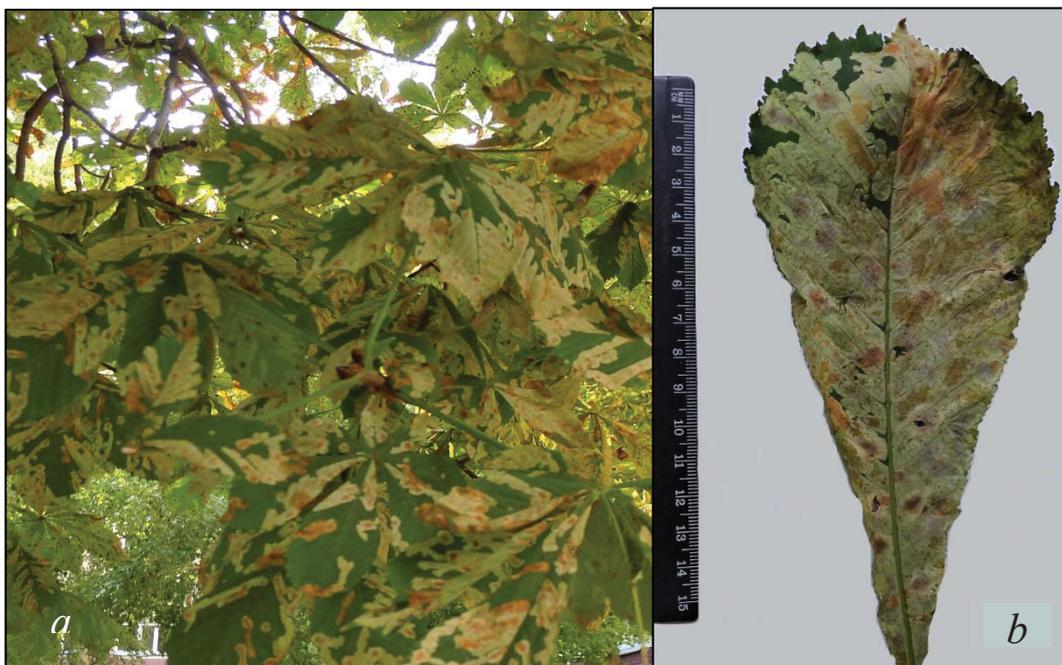


Fig. 1. Damaged leaves of horse chestnut: *a* – 2nd miner generation, 40–65% of the leaf surface was damaged (06.08.2021, chestnut alley of the Technical University); *b* – 3rd miner generation, 90–99% of the leaf surface was damaged (21.09.2021, there)



In 2023, the population of the regional center was perplexed by the yellowing and falling of the leaves of chestnuts in parks and on the Volga embankment already in early August, and by the early “ripening” of fruits at the end of August, swinging alone at chestnuts on branches without leaves.

The total output of the imago of the 3rd generation of the “occupier” in August 2023 completed the process of withering and shrinking of trees by switching to another type of urban tree introducers – walnut (*Juglans regia* L.). This is the first case of such a choice of a new feeding object for this type of invader in the Volga region (Fig. 2).

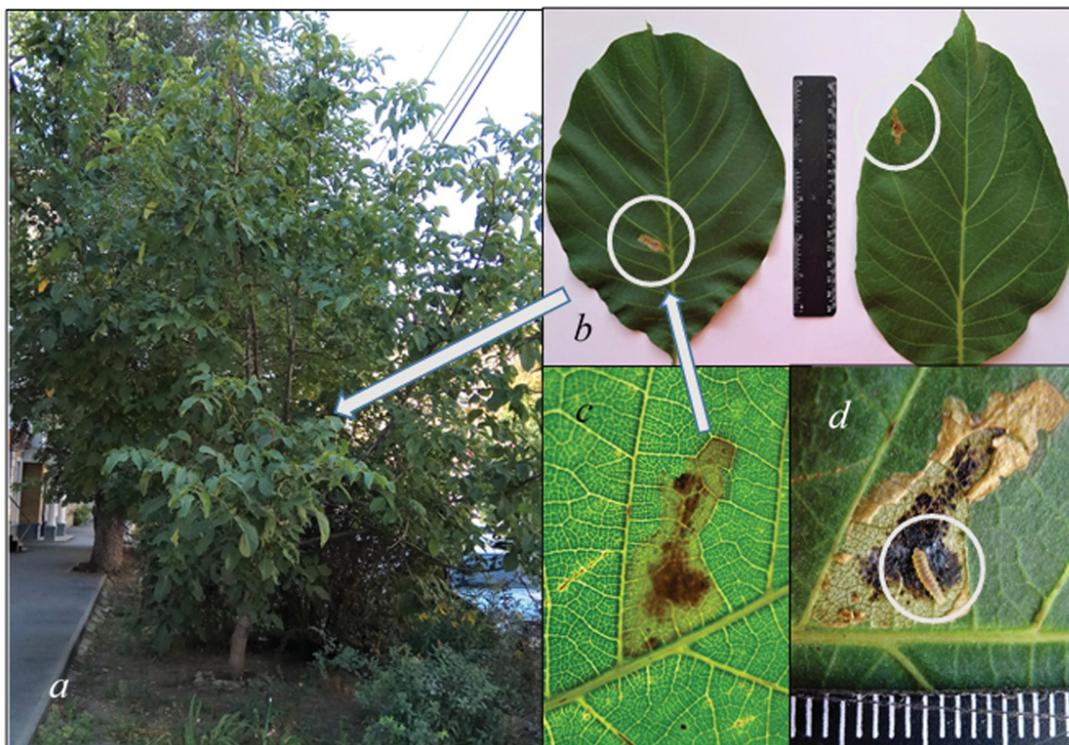


Fig. 2. Walnut leaves with mines of the Ohrid miner: *a* – the lower tier of a tree with damaged leaves (Saratov, intersection of Zheleznodorozhnaya and Bolshaya Kazachya streets, lawn with a tree); *b* – single mines on walnut leaves; *c* – mine with traces of the caterpillar’s vital activity; *d* – a caterpillar of a chestnut moth from an open mine

It can be assumed that such a transition is due to the lack of feed resources for the caterpillars of the new generation. Almost 100% death of horse chestnut leaves on the territory of Saratov left no chance for the formation and normal development of the next generation of the invader, even while maintaining normal summer-autumn conditions in urban biotopes for the Ohrid miner himself. There remains the search for a new source of food for the occupier – these are trees located in relative proximity, on the leaves of which a butterfly can lay eggs. Despite the large range of urban tree species (elm, linden, birch, oak, maple, ash, etc.), walnut leaves were selected by butterflies, whose leaves have a large area, which cannot be the main factor for choosing a site for settlement and nutrition.

Most likely, the higher content of “toxic” tannins in walnut leaves attract the invader, they are the basis of the substance content in horse chestnut leaves.

The result of the 2023 season for the chestnuts of the city of Saratov turned out to be terrible. The trees were left without a crown at the beginning of August, weakened, and will not be able to properly prepare for the winter period. Unlike the previous year 2022, when the leaves were also heavily populated with chestnut moth, but their death from the caterpillars of the 3rd generation occurred then in the autumn period (September-October) and the effect of rapid yellowing, drying and falling was smoothed by the departure of trees for winter rest.

It can be stated that what the author was discussing at the beginning of 2021, did happen [19].



This small butterfly 5–7 mm in wingspan caused such massive damage to chestnuts not only in Europe, but also in Russia on the banks of the river Volga. This is an early fall of foliage, the tree loses its decorative effect, turns yellow and dries up by the end of July – early August. And now the city authorities will have to deal with the sawing and complete replacement of horse chestnuts in the urban cultures of the regional center next season in 2024. There was no need to wait until the chestnuts of Saratov died, they had to be saved or to start replacing this culture in the urban landscapes of the regional center 3 years ago.

References

1. Lees D. C., Lack H. W., Rougerie R., Hernandez-Lopez A., Raus T., Avtzis N. D., Augustin S., Lopez-Vaamonde C. Tracking origins of invasive herbivores through herbaria and archival DNA: The case of the horse-chestnut leaf miner. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2011, vol. 9, iss. 6, pp. 322–328. <https://doi.org/10.1890/100098>
2. Puchberger K. *Cameraria ohridella*, Deschka / Dimic (Lepidoptera – Lithocolletidae) in Oberösterreich. *Steyrer Entomologenrunde*, 1990, vol. 24, iss. 5, pp. 79–81.
3. Maceljiski M., Bertie D. Kestenovmoljac miner *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic (Lepidoptera, Gracillariidae) noviopasnistetnik u Hrovatskoj. *Fragmenta Phytomedica et Herbologia*, 1995, vol. 23, iss. 2, pp. 9–18.
4. De Prins J., De Prins W. *Global Taxonomic Database of Gracillariidae (Lepidoptera)*. 2006–2022. <https://doi.org/10.1163/9789004475397>
5. Kosayev M. N. Introduction of horse chestnut. *Proceedings of the Academy of Sciences of the Kazakh USSR*, 1973, vol. 5, pp. 15–19 (in Russian).
6. Prada D., Vellozo T. M., Toorop P. E., Pritchard H. W. Genetic population structure in horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.): Effects of human-mediated expansion across Europe. *Plant Species Biology*, 2010, vol. 26, iss. 1, pp. 43–50. <https://doi.org/10.1111/j.1442-1984.2010.00304.x>
7. Ravazzi C., Caudullo G. *Aesculus hippocastanum* in Europe: Distribution, habitat, usage and threats. In: *European Atlas of Forest Tree Species*. Luxembourg, Publ. Office of the Europ. Union, 2016, pp. 60.
8. Walas L. Niezwykya historia zwyczajnego kasztanowca. *Kosmos. Seria A, Biologia*, 2021, vol. 70, iss. 1, pp. 27–34. https://doi.org/10.36921/kos.2021_2670
9. Anikin V. V. Present day bio-invasions in the Volga-Ural Region: From the South to the North or from the East to the West? *Cameraria ohridella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in the Lower and Middle Volga. *Zootaxa*, 2019, vol. 4624, no. 4, pp. 583–588. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4624.4.9>
10. Melnikov E. Yu. Horse-chestnut leafminer *Cameraria ohridella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in Engels city. *Entomological and Parasitological Investigations in Volga region*, 2020, iss. 17, pp. 94–97 (in Russian).
11. Mosolova E. Yu., Moshkova M. S., Leont'ev M. D. The first record of the chestnut leaf miner moth *Cameraria ohridella* on the territory of Volsk (Saratov Province). *Entomological and Parasitological Investigations in Volga region*, 2020, iss. 17, pp. 148–150 (in Russian).
12. Melnikov E. Yu., Kondratyev E. N. The distribution of chestnut mining moth *Cameraria ohridella* on the Left bank of the Saratov Province in 2021. *Entomological and Parasitological Investigations in Volga region*, 2021, iss. 18, pp. 116–120 (in Russian).
13. Zolotuhin V. V. To the distribution of the Ohrid miner *Cameraria ohridella* in the Ulyanovsk province in 2020. In: *Priroda Simbirskogo Povolzh'ya* [Nature of the Simbirsk Volga region]. Ulyanovsk, Publishing House “Corporation of Promotion Technologies”, 2020, vol. 21, pp. 91–93 (in Russian).
14. Shylaev N. V. The beginning of colonization by the ohrid miner *Cameraria ohridella* chestnuts in Kazan city. *Entomological and Parasitological Investigations in Volga region*, 2023, iss. 20, pp. 140–142 (in Russian).
15. Anikin V. V., Sazhnev A. S. The First Record of Chestnut Leaf Miner Moth *Cameraria ohridella* Deschka er Dimic, 1986 (Lepidoptera: Gracillariidae) on territory of Nizhniy Novgorod (Russia). *Field Biologist Journal*, 2021, vol. 3, iss. 4, pp. 332–338 (in Russian). <https://doi.org/10.52575/2712-9047-2021-3-4-332-338>
16. Anikin V. V., Sachkov S. A. Monitoring of the distribution of the invasive species *Cameraria ohridella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in Samar in September 2022. *Scientific Proceedings of the Priskursky State Nature Reserve*, 2022, vol. 37, pp. 34–38 (in Russian).
17. Egorov L. V., Anikin V. V., Borisova N. V., Aleksandrov A. N. The first record of the chestnut moth *Cameraria ohridella* Deschka et Dimic, 1986 (Lepidoptera: Gracillariidae) in the Chuvash Republic. *Scientific Proceedings of the Priskursky State Nature Reserve*, 2023, vol. 38, pp. 86–90 (in Russian).
18. Kirichenko N. I., Karpun N. N., Zhuravleva E. N., Shoshina E. I., Anikin V. V., Musolin D. L. Invasion Genetics of the Horse-Chestnut Leaf Miner, *Cameraria ohridella* (Lepidoptera: Gracillariidae), in European Russia: A Case of Successful Involvement of Citizen Science in Studying an Alien Insect Pest. *Insects*, 2023, vol. 14, no. 2 (117). <https://doi.org/10.3390/insects14020117>
19. Anikin V. V. Life or death? What will happen with the chestnuts of Saratov city in 5 years? In: *The 10th International Scientific and Practical Conference “Environmental problems of industrial cities”*. Book of abstracts. Saratov, Amirit, 2021, pp. 298–302 (in Russian).
20. Walczak U., Baraniak E., Zduniak P. Survival, body mass and potential fecundity of the invasive moth *Cameraria ohridella* (Lepidoptera: Gracillariidae) on its original host plant *Aesculus hippocastanum* and *Aesculus glabra*. *European Journal of Entomology*, 2017,



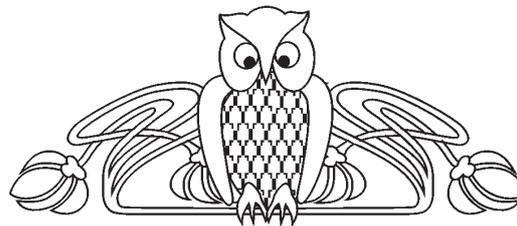
- vol. 114, pp. 295–300. <https://doi.org/10.14411/eje.2017.036>
21. Heitland W., Freise J. F., Sturm A., Lenz N. Die Rosskastanien-Miniermotte *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic, 1986 (Lepidoptera, Gracillariidae): Gründe ihres Erfolgs als Blattschädling an der weiß blühenden Gewöhnlichen Rosskastanie *Aesculus hippocastanum* (Hippocastanaceae) und Möglichkeiten zur Bekämpfung. *Entomologie Beute*, 2005, vol. 17, pp. 157–172 (in German).
 22. D'Costa L., Koricheva J., Straw N., Simmonds M. J. Oviposition patterns and larval damage by the invasive horse-chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* on different species of *Aesculus*. *Ecological Entomology*, 2013, vol. 38 (5), pp. 456–462. <https://doi.org/10.1111/een.12037>
 23. Péré C., Augustin S., Turlings T. C. J., Kenis M. The invasive alien leaf miner *Cameraria ohridella* and the native tree *Acer pseudoplatanus*: A fatal attraction? *Agricultural and Forest Entomology*, 2010, vol. 12, iss. 2, pp. 151–159. <https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2009.00462.x>
 24. Sinchuk A. V., Sinchuk N. V., Baryshnikova S. V., Kolbas A. P. A new host plant for *Cameraria ohridella* Deschka & Dimić, 1986 (Lepidoptera: Gracillariidae). *SHILAP Revista de lepidopterología*, 2023, vol. 51 (203), pp. 539–547. <https://doi.org/10.57065/shilap.539>
 25. Elkafori A. B. A. I., Glinskay E. V., Dymnich A. S. Associative microorganisms of the trophic chain horse chestnut *Aesculus hippocastanum* L., 1753 – chestnut mining moth *Cameraria ohridella* Deschka et Dimić, 1986. In: *Research by young scientists in biology and ecology – 2021: Coll. of sci. arts.* Saratov, Amirit, 2021, pp. 160–161 (in Russian).
 26. Eremakina A. V., Tarasova A. V., Elkafori A. B. A. I. Associative fungi of the trophic cascade chestnut mining moth *Cameraria ohridella* Deschka et Dimic, 1986 (Lepidoptera: Gracillariidae) – horse chestnut *Aesculus hippocastanum* L., 1753 (Sapindaceae: Hippocastanoideae). *Entomological and Parasitological Investigations in Volga region*, 2021, iss. 18, pp. 124–126 (in Russian).
 27. Eremakina A. V., Tarasova A. V., Glinskay E. V. Species composition of bacteria and fungi of the trophic chain horse chestnut (*Aesculus hippocastanum*) – chestnut mining moth (*Cameraria ohridella*) on the territory of Samara and Penza. *Entomological and Parasitological Investigations in Volga region*, 2023, iss. 20, pp. 124–127 (in Russian).
 28. Tarasova A. V., Eremakina A. V., Elkafori A. B. A. I. Associative bacteria of the trophic cascade chestnut mining moth *Cameraria ohridella* Deschka et Dimic, 1986 (Lepidoptera: Gracillariidae) – horse chestnut *Aesculus hippocastanum* L., 1753 (Sapindaceae: Hippocastanoideae). *Entomological and Parasitological Investigations in Volga region*, 2021, iss. 18, pp. 120–123 (in Russian).
 29. Eremakina A. V., Glinskay E. V. Associative microorganisms of the trophic chain horse chestnut *Aesculus hippocastanum* – chestnut miner moth *Cameraria ohridella* in Khvalynsk and Saratov in 2021–2022. *Entomological and Parasitological Investigations in Volga region*, 2022, iss. 19, pp. 111–115 (in Russian).

Поступила в редакцию: 28.11.2023; одобрена после рецензирования 29.11.2023; принята к публикации 01.12.2023
The article was submitted 28.11.2023; approved after reviewing 29.11.2023; accepted for publication 01.12.2023



Научная статья
УДК 574.4:502.3

Оценка экосистемных услуг зеленых насаждений г. Йошкар-Олы



Е. В. Сарбаева

Марийский государственный университет, Россия, 424000, Республика Марий Эл, г. Йошкар-Ола, пл. Ленина, д. 1

Сарбаева Елена Витальевна, кандидат биологических наук, доцент, заведующий кафедрой экологии, sarbaevaev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7274-0938>

Аннотация. Во многих странах мира зеленые насаждения городов исследуются в качестве источника экосистемных благ. Рассматривается их роль в оказании обеспечивающих, регулирующих, поддерживающих и даже культурных услуг. При этом все более актуальным становится оценка видового состава и жизненного состояния деревьев, предоставляющих экосистемные услуги в урбанизированной среде. Целью данного исследования стало изучение вклада наиболее распространенных в озеленении городов видов древесных растений в оказание экосистемных услуг. Исследования проводились в г. Йошкар-Оле, в разных функциональных зонах города: селитебной, рекреационной и промышленной, где изучался ассортимент деревьев и оценивалось их жизненное состояние. У самых распространенных видов древесных растений определяли потенциальное предложение экосистемных услуг по десятибалльной шкале с учетом неблагоприятных эффектов (т.н. «экосистемных медвежьих услуг»). Установлено, что преобладающими в озеленении города видами были *Betula pendula*, *Tilia cordata*, *Sorbus aucuparia*, их доля в изученных посадках достигала 36–64%. Из интродуцированных видов наиболее распространены в озеленении города *Acer negundo*, *Picea pungens*, *Thuja occidentalis*. Большинство деревьев разных функциональных зон относились к 1-й и 2-й категориям жизненного состояния (здоровые и имеющие признаки незначительного угнетения). Сильно ослабленные деревья составляли в общей численности не более 12%, а отмирающие растения были единичны. Значительный вклад в оказание экосистемных услуг в г. Йошкар-Оле вносят *Betula pendula*, *Tilia cordata*, *Picea pungens* и *Sorbus aucuparia* – преимущественно за счет их высокой способности к депонированию углерода, фитонцидности и эстетической ценности. *Acer negundo* рассмотрен как опасный городской эксплорент и, несмотря на выполняемые им регулирующие и поддерживающие экосистемные услуги, его распространение в городской среде следует ограничивать.

Ключевые слова: урбанизированная среда, зеленые насаждения, древесные растения, жизненное состояние, экосистемные услуги, функциональные зоны, г. Йошкар-Ола

Для цитирования: Сарбаева Е. В. Оценка экосистемных услуг зеленых насаждений г. Йошкар-Олы // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 214–224. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-214-224>, EDN: XAJNID

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Assessment of ecosystem services of green spaces in Yoshkar-Ola

E. V. Sarbaeva

Mari State University, 1 Lenina Sq., Yoshkar-Ola 424000, Republic of Mari El, Russia

Elena V. Sarbaeva, sarbaevaev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7274-0938>

Abstract. In many parts of the world, urban green spaces are being explored as a source of ecosystem services. Their role in the provision of regulation of and, support of ecosystem services and even in the provision of cultural services is considered. At the same time, species assessment of the composition and vital condition of trees that provide ecosystem benefits in an urbanized environment is becoming increasingly relevant. The purpose of this study was to assess the contribution of the most common species of woody plants in urban greening to the provision of ecosystem services. The research was carried out in Yoshkar-Ola, in different functional areas of the city: residential, recreational and industrial, where the assortment of trees was studied and their vital condition was assessed. For the most common tree species, the potential supply of providing ecosystem services was determined on a ten-point scale, taking into account adverse effects (so-called «ecosystem disservices»). It was established that *Betula pendula*, *Tilia cordata*, *Sorbus aucuparia* were the predominant species in the landscaping of the city, their share in the studied plantings reached 36–64%. Of the introduced species, *Acer negundo*, *Picea pungens*, and *Thuja occidentalis* are the most common in the landscaping of the city. Most of the trees of different functional zones belonged to the 1st and 2nd categories of life condition (healthy and with signs of slight oppression). Strongly weakened trees



accounted for no more than 12% of the total number, and dying plants were rare. *Betula pendula* makes a significant contribution to the provision of ecosystem services in Yoshkar-Ola. *Tilia cordata*, *Picea pungens* and *Sorbus aucuparia* – do so mainly due to their high carbon storage capacity, phytoncide and aesthetic value. *Acer negundo* is considered to be a dangerous urban explerent and, despite its regulating and maintaining ecosystem services, its distribution in the urban environment should be limited.

Keywords: urbanized environment, green spaces, woody plants, life state, ecosystem services, functional zones, Yoshkar-Ola

For citation: Sarbaeva E. V. Assessment of ecosystem services of green spaces in Yoshkar-Ola. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 214–224 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-214-224>, EDN: XAJNID

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

В России 1117 городов, в которых проживают более 110 млн человек, при этом и площадь городских земель, согласно данным Росреестра, составляет менее 1% от всего земельного фонда страны. Именно в городах сосредоточены крупнейшие промышленные предприятия, активно функционирует транспортная система, отмечается существенный рост антропогенного воздействия на среду обитания человека. Йошкар-Ола – стремительно разрастающийся в последние десятилетия город, численность населения которого превысила 280 тыс. человек; активно застраиваются периферийные районы города, развивается промышленность (особенно после ужесточения санкционного режима в стране), появляются новые объекты инфраструктуры, меняется облик города. Еще около двух десятилетий назад город считался одним из самых зеленых в европейской части России, но расширение застройки и ускоренное (по сравнению естественными условиями) старение древесных насаждений в городской среде приводит к необходимости развития зеленой инфраструктуры.

Исследования в области экосистемных услуг озелененных территорий городов в мировой и отечественной науке ведутся достаточно интенсивно. Их основой стали экспериментальные данные об экологических функциях зеленых насаждений – поглощение парниковых газов и загрязняющих веществ, производство кислорода, формирование микроклимата, шумопоглощение, выделение фитонцидов, поддержание биологического разнообразия, экологическое равновесие урбоэкосистем и т.д.; в связи с этим растет интерес к лучшему пониманию предоставления экосистемных услуг городскими фитоценозами, особенно в контексте развития городской зеленой инфраструктуры [1–5].

Как отмечали С. Н. Бобылев, В. М. Захаров, в самом широком смысле под экосистемными услугами понимается все то, что человек полу-

чает от экосистем, от природы (природное богатство, природные блага, природный капитал, вся система жизнеобеспечения) [6]. Из-за латентного характера многих выгод от экосистемных услуг, их «рассеянности» они преимущественно признаются бесплатными, а важность их значительно недооценивается. Экосистемные услуги влияют на благосостояние человека и все его компоненты, включая основные материальные потребности, такие как пища и кров, индивидуальное здоровье, безопасность, хорошие социальные отношения [7]. Различные комбинации услуг предоставляются людям в зависимости от сложных биологических, химических и физических взаимодействий, на которые, в свою очередь, влияет деятельность человека [8, 9]. При этом выделяют четыре основных вида экосистемных услуг:

- обеспечивающие услуги – продукты, получаемые от экосистем (например, пресная вода, топливо, генетические ресурсы);
- регулирующие услуги – выгоды, получаемые от поддержки баланса экосистемных процессов (регулирование климата, эрозии, качества воздуха, очистка воды и сточных вод);
- культурные услуги – нематериальные выгоды, которые люди получают от экосистем посредством духовного обогащения, развития познавательной деятельности, рекреации, эстетического опыта, рефлексии (духовные и религиозные ценности, культурное разнообразие, образовательные ценности, рекреация и экотуризм и др.);
- поддерживающие услуги – услуги, необходимые для поддержки всех других экосистемных услуг (такие, как почвообразование, фотосинтез, круговорот питательных веществ, воды).

В своих исследованиях Д. Е. Румянцев, В. А. Фролова показали, что формирование интегрального ресурса экосистем – общепризнанные на международном уровне экосистемные функции озелененных территорий [9]. К таким функциям относят снижение загрязнения воздушного бассейна, регулирование микрокли-



мата, защиту от шума, снижение загрязнения водного бассейна, защиту от эрозии, сохранение местной флоры и фауны, приобщение населения к природе. В связи с этим улучшение городской зеленой инфраструктуры может уменьшить экологический след городов и улучшить качество жизни горожан.

Многие исследователи (M. Jumaah, Z. M. Abdulrazzaq, H. Atheer, Г. Ю. Морозова, И. Д. Дебелая, И. Л. Бухарина, А. Н. Журавлева, О. Г. Большова и др.) отмечают, что роль растений в городах незаменима: зеленые насаждения позволяют снижать концентрацию пыли и других взвешенных частиц в воздухе городов, при этом процесс транспирации способствует задержанию даже мелких частиц пыли; растения способны очищать воздушный бассейн от вредных выбросов и в рамках собственного метаболизма трансформировать ряд поллютантов до безвредных веществ; улавливая и трансформируя часть загрязняющих атмосферу веществ, озелененные территории ограничивают их проникновение в почву, что позволяет им сохранить в городе функции самоочищения почвы от дождевых стоков, несущих с собой загрязненные вещества, вследствие этого снижается уровень загрязнения вод в канализационной системе и местные водоемы меньше страдают от загрязнения. Древесные растения в массивах способны снижать температуру воздуха в жаркий период, увеличивать влажность воздуха, снижать уровень шума [8; 10–12].

Однако в последнее время все чаще речь заходит и о дополнительных экосистемных услугах озелененных территорий [9]. К ним, по мнению Д. Е. Румянцева и В. А. Фроловой, относят например, депонирование углерода деревьями, продуцирование ими кислорода, получение технического сырья, рекультивацию полигонов по захоронению твердых бытовых отходов, биологические методы борьбы с вредными в урбанизированной среде организмами, стимуляцию творческой активности, а также социокультурную роль зеленых насаждений.

Растения выполняют в городах важнейшие средообразующие, средозащитные и санитарно-гигиенические функции, однако урбофитоценозы, как источники обеспечения экосистемных благ, остаются недостаточно изученными, а видовой состав городских насаждений, хотя признается основой фактических и потенциальных экосистемных услуг, далеко не всегда рассматривается в данном контексте. В связи

с этим целью данного исследования стало выявление вклада наиболее распространенных в озеленении городов видов древесных растений в оказание экосистемных услуг.

Материалы и методы

Исследования проводились в г. Йошкар-Оле, в разных функциональных зонах города (рис. 1): селитебной (ул. Красноармейская, ул. Анциферова), рекреационной (Центральный парк культуры и отдыха им. 30-летия ВЛКСМ) и промышленной (ул. Строителей, ул. Крылова). В пределах указанных районов изучали ассортимент деревьев (взрослые растения генеративного периода онтогенеза), оценивали их жизненное состояние с учетом формы кроны, числа живых и отмерших побегов, характеристики покровных тканей и т.д. [13–14]. Материалы, полученные в ходе морфологической оценки растений, обработали с помощью Microsoft Office Excel 2019.

Далее определяли потенциальное предложение экосистемных услуг в городских насаждениях города, для чего проводили балловую, не денежную оценку экосистемных услуг [4, 15–17], с учетом неблагоприятных эффектов, вызываемых ошибками в проектировании озелененных территорий [9], называемых также «экосистемные медвежьи услуги» (EDS) [18].

По каждой группе экосистемных услуг, оказываемых древесными растениями в урбанизированной среде, разработали балльную шкалу, с максимумом в 10 баллов. В группе обеспечивающих услуг учитывали возможность получения продуктов питания из растений, использование их как источник для создания биофармацевтических препаратов, строительного материала, получение технического сырья из сухостойных и аварийных деревьев, получение из них биотоплива. Рассматривая регулирующие услуги, оценивали вклад растений в регулирование микроклимата, продуцирование кислорода, выделение фитонцидов, обеспечение снегозадержания, защиту от шума, эрозии почв, в снижение загрязнения воздуха и водного бассейна. При оценке вклада зеленых насаждений в культурные услуги оценивали их роль в научных исследованиях, образовании, рекреации, экотуризме, учитывали их эстетическую ценность, стимуляцию творческой активности, вклад в сохранение традиционных религиозных и культурных ценностей,

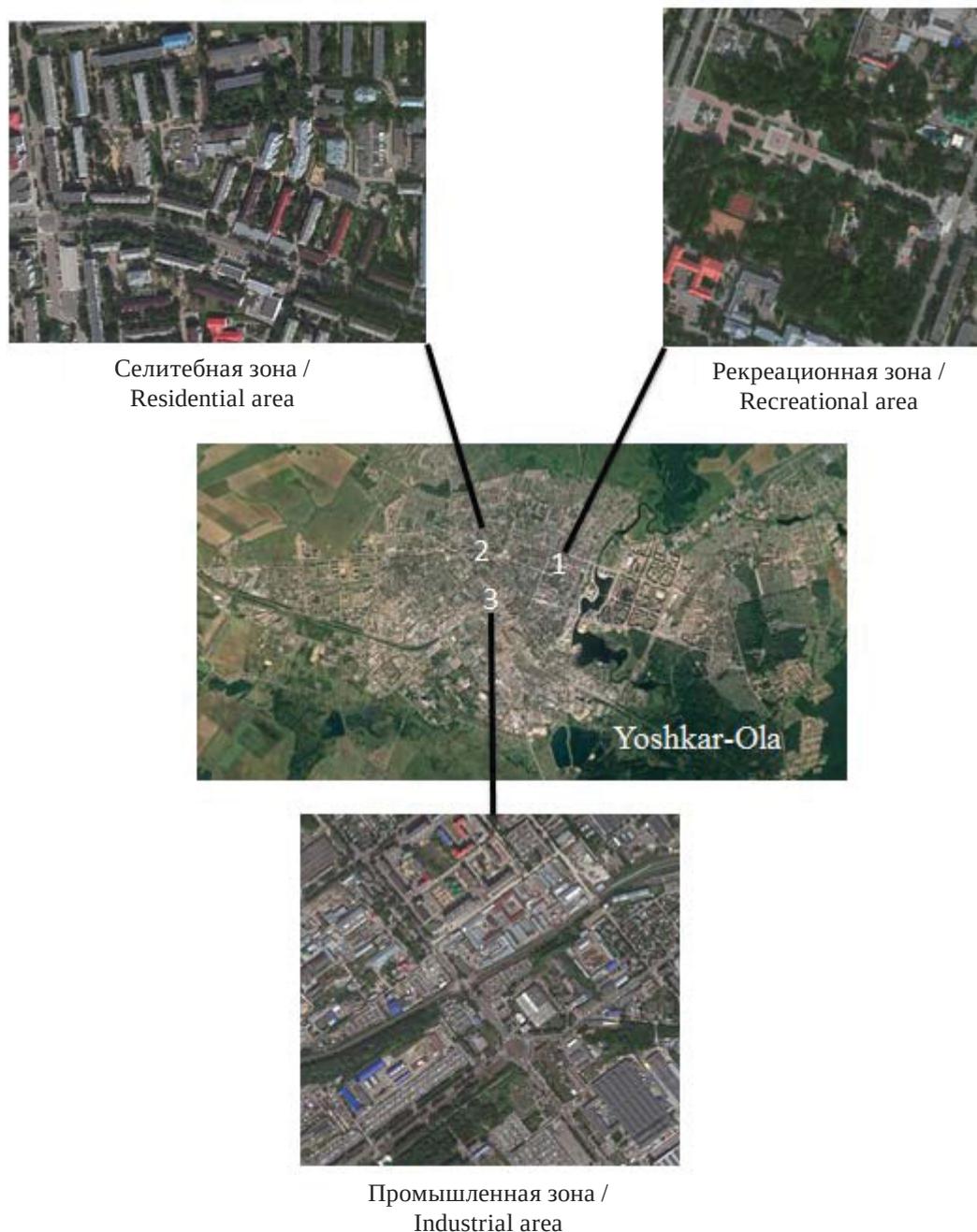


Рис. 1. Районы исследования на карте г. Йошкар-Олы
Fig. 2. Study areas on the map of Yoshkar-Ola

формирование экологической культуры населения. Поддерживающие услуги, влияющие на условия жизни людей косвенно, в течение продолжительного времени, оценивались по вкладу исследованных компонентов экосистем в почвообразование, фотосинтез, круговорот питательных веществ, воды, сохранение флоры и фауны, депонирование углерода.

Также учитывали неблагоприятные эффекты, вызываемые древесными насаждения-

ми в городской среде. К ним отнесли аллергенность растений, аварийность деревьев, наличие сухостоя, способность вызывать пищевые отравления, эксплерентность вида (для интродуцентов), повреждение почвенных покрытий, фундаментов зданий, коммуникаций, нарушение светового режима в жилых помещениях при неправильной посадке, иссушение почвы газонов, создание благоприятных условий для развития фитопатогенов.



Результаты и их обсуждение

В процессе изучения видового состава деревьев различных по функциональному назначению районов г. Йошкар-Олы было установлено, что в рекреационной зоне города ассортимент древесных растений был самым разнообразным, насчитывалось более 20 видов деревьев, 16 из которых встречались и в других районах исследований (таблица). В жилитебной и промышленной зонах города ассортимент древесных растений был примерно на треть ниже, чем в рекреационной зоне. Преобладающими

видами были *Betula pendula*, *Tilia cordata*, *Sorbus aucuparia* – эти деревья составляют основной ассортимент, они наиболее устойчивы в местных экологических условиях (их доля в изученных посадках достигала 36–64%). Из интродуцированных видов наиболее распространены в озеленении города *Acer negundo*, *Picea pungens*, *Thuja occidentalis*. В центральном парке культуры и отдыха (рекреационная зона) отмечен самый большой ассортимент интродуцентов, которые крайне редко встречаются в других частях города (*Juglans mandshurica* Maxim., *Prunus maackii* Rupr., *Cotinus coggygia* Scop. и др.).

Ассортимент деревьев, преобладающих в озеленении исследованных функциональных зон г. Йошкар-Олы, %

Table. Assortment of trees prevailing in the landscaping of the studied functional areas of Yoshkar-Ola, %

Вид / Species	Зона / Area		
	Рекреационная / Recreational	Селитебная / Residential	Промышленная / Industrial
<i>Betula pendula</i> Roth.	13,2	26,8	32,1
<i>Picea pungens</i> Engelm.	8,6	5,9	8,2
<i>Tilia cordata</i> Mill.	13,5	22,6	20,4
<i>Sorbus aucuparia</i> L.	9,3	16,8	11,6
<i>Thuja occidentalis</i> L.	6,3	8,1	7,2
<i>Acer negundo</i> L.	5,0	5,2	12,1
<i>Quercus robur</i> L.	5,1	0,6	0,6
<i>Picea abies</i> (L.) Karst.	5,0	–	0,3
<i>Aesculus hippocastanum</i> L.	5,2	–	–
<i>Acer platanoides</i> L.	7,3	0,3	0,6
<i>Larix sibirica</i> Ledeb.	5,0	–	–
<i>Pinus sylvestris</i> L.	5,0	0,2	1,2
<i>Padus avium</i> Mill.	5,2	0,6	–
<i>Acer platanoides</i> L.	1,2	5,2	0,2
<i>Malus baccata</i> (L.) Borkh.	1,1	5,1	0,6
<i>Populus x sowietica pyramidalis</i> Jabl.	0,6	–	4,2
Остальные виды / Остальные species	3,4	2,8	0,7

Особую ценность в озеленении городов представляют хвойные растения, обладающие высокими эстетическими качествами, способные выполнять санитарно-гигиенические функции и представляющие эстетическую ценность даже в зимний период [19]. Они произрастают во всех районах исследований, но их суммарная доля в жилитебной и промышленной зонах города не велика – 14–15,4%, в то время как в рекреационной достигает 29,9%. Чаще всего в состав городских насаждений входят *Picea pungens*, *Thuja occidentalis*, *Picea abies*, *Larix sibirica*, *Pinus sylvestris*.

Однако следует отметить, что хвойные растения местной флоры (*Picea abies* и *Pinus sylvestris*), которые встречались в озеленении города, характеризовались пониженной жизненностью, по-видимому, вследствие угнетения их более быстрорастущими лиственными деревьями.

В городской среде растения постоянно испытывают интенсивную нагрузку. Она может быть вызвана как антропогенными факторами (загрязнение окружающей среды, высокое рекреационное воздействие и т.п.), так и биотическими (вредители, болезни, угнетение другими



видами). Качество оказываемых экосистемных услуг будет во многом определяться жизненным состоянием того или иного экземпляра растения и насаждений в целом. Если растения будут существенно угнетены и ослаблены, значит,

они не смогут в полной мере реализовать свой потенциал возможных экосистемных услуг. Как показано на рис. 2, подавляющее большинство растений разных функциональных зон относилось к 1-й и 2-й категориям жизненного состо-

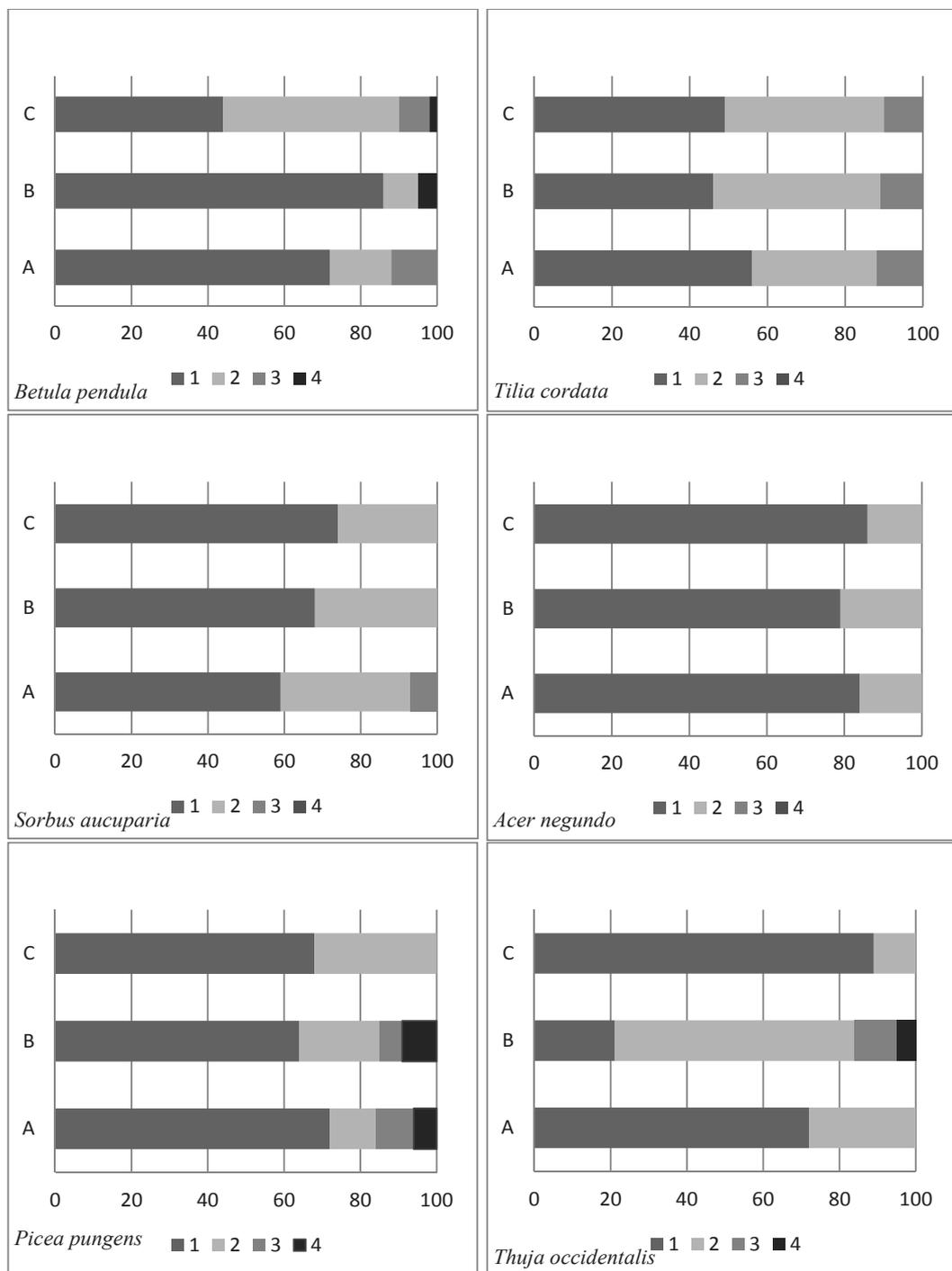


Рис. 2. Жизненное состояние деревьев разных функциональных зон г. Йошкар-Олы (А – рекреационная, В – селитебная, С – промышленная): 1 – здоровые, 2 – ослабленные, 3 – сильно ослабленные, 4 – умирающие

Fig. 2. Life condition of trees in different functional areas of Yoshkar-Ola (A – Recreational, B – Residential, C – Industrial): 1 – healthy, 2 – weakened, 3 – severely weakened, 4 – dying



яния – это растения здоровые и имеющие признаки незначительного угнетения, ослабленные действием факторов урбанизированной среды. Сильно ослабленные деревья составляли в общей численности не более 12%, а отмирающие растения были единичны и встречались только у *Betula pendula* (старые генеративные деревья с признаками суховершинности), а также у особей *Picea pungens* и *Thuja occidentalis*, имевших значительные механические повреждения кроны, к которым хвойные весьма восприимчивы.

При исследовании древесных насаждений г. Самары А. С. Заика, Л. М. Кавеленова отмечали, что в городских условиях потенциал возможных экосистемных услуг могут показать только виды, обладающие наибольшей устойчивостью к городским условиям и имеющие наибольший процент здоровых экземпляров [5]. В наших исследованиях высокой жизненностью характеризовались особи *Acer negundo*, *Betula pendula*, *Picea pungens*, *Sorbus aucuparia*. Снижение жизненности деревьев в городских условиях преимущественно обусловлено неправильной посадкой растений, например, медленно растущие хвойные находятся в составе насаждений с быстрорастущими лиственными деревьями. Это обычно вызывает быстрое

угнетение хвойных, особенно в сочетании с механическими повреждениями кроны. Также в городской среде встречается чрезмерно загущенная посадка лиственных деревьев, наблюдается сокращение продолжительности жизни древесных растений, увеличивается их чувствительность к температурным аномалиям. Например, на следующий год после жаркого, засушливого лета 2010 г. в г. Йошкар-Оле наблюдалось повышение числа деревьев с суховершинностью. Все эти факторы требуют пристального внимания к зеленым насаждениям городов, обеспечение грамотной реконструкции и правильного ухода за ними в целях обеспечения наиболее эффективного выполнения ими всех функций.

Балльная оценка экосистемных услуг деревьев в г. Йошкар-Оле показала, что максимальный суммарный балл был рассчитан для *Betula pendula* (рис. 3). Это вызвано не только значимой ролью в обеспечении регулирующих и поддерживающих услуг, но и лидирующим вкладом данного вида в культурные услуги, что обусловлено спецификой региона – для народа мари, проживающего на территории Республики Марий Эл, в г. Йошкар-Оле, это дерево является культовым. Хотя священных

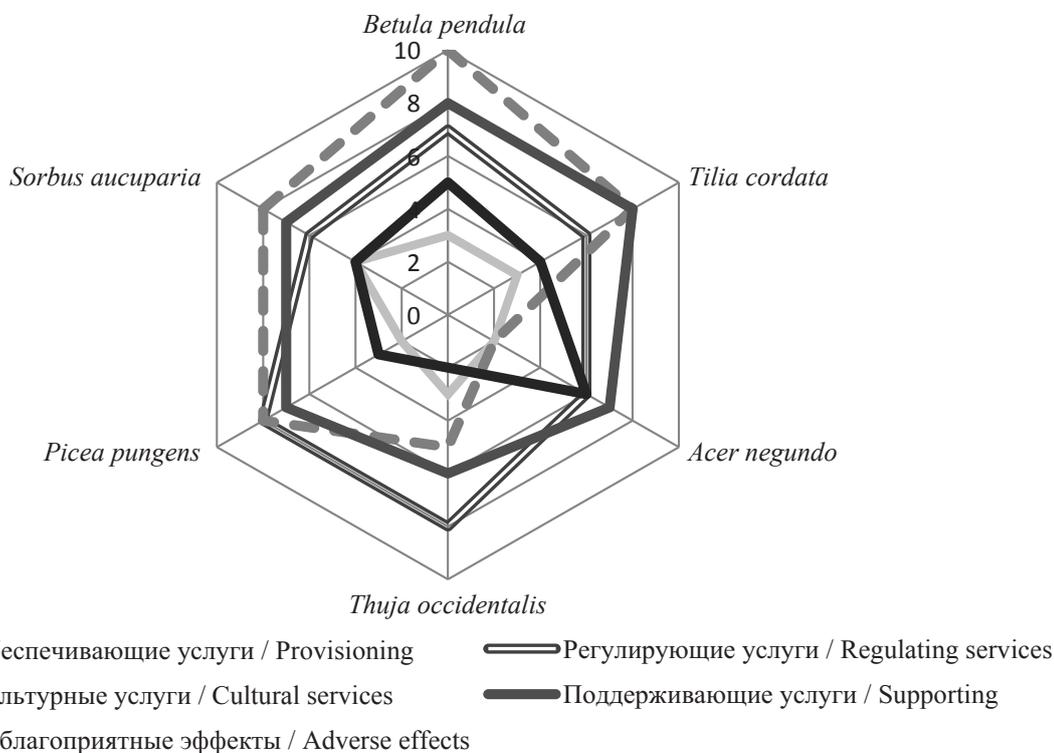


Рис. 3. Балльная оценка древесных растений по оказываемым экосистемным услугам

Fig. 3. Scoring woody plants for ecosystem services provided



березовых рощ в республике не много, и далеко не все жители придерживаются старых религиозных традиций, марийское население относится к березам с особым трепетом, оберегает и почитает их. В городских условиях эти растения выполняют важнейшую социокультурную функцию, связанную с сохранением национальных традиций взаимодействия с лесными ландшафтами, способствуют воспитанию межнациональной толерантности среди жителей города. Тем не менее, от данного вида исходят и негативные эффекты; известно, что большая часть аллергенной пыльцы деревьев в Европе производится деревьями рода *Betula*, а так как именно березы наиболее популярны в декоративных посадках урбанизированной среды, то и повышение заболеваемости аллергией в городах связывают именно с данным фактором [16].

Достаточно высокими суммарными баллами по оказываемым экосистемным услугам характеризовались в исследованных посадках *Tilia cordata*, *Picea pungens* и *Sorbus aucuparia* (преимущественно за счет их высокой способности к депонированию углерода, фитонцидности и эстетической ценности) (см. рис. 3). Тем не менее, следует отметить, что, несмотря на использование рябины в качестве источника лекарственного растительного

сырья (*Sorbi aucupariae fructus*), в городских условиях такое применение недопустимо из-за возможной аккумуляции загрязняющих веществ, при этом плоды рябины служат пищей для многих видов городских птиц. У *Thuja occidentalis* баллы были несколько ниже, преимущественно из-за того, что данный вид обеспечивает меньший вклад в хранение и секвестрацию углерода.

Минимальными суммарными баллами оценивались в исследованных районах особи *Acer negundo*, которые, несмотря на устойчивость к факторам урбанизированной среды, обладали самым значительным негативным эффектом (рис. 4). Данный интродуцированный из Северной Америки вид за пределами естественного ареала за счет эксплерентности усилил свои адаптивные свойства, что привело к конкуренции с аборигенными видами. Из-за неконтролируемого расселения этот вид участвует в формировании фитоценозов с низким уровнем биологического разнообразия, с пониженной устойчивостью. Самый незначительный негативный эффект характерен *Thuja occidentalis* – этот вид реже остальных замечен при создании неблагоприятных условий, что, по-видимому, обусловлено грамотной посадкой данного интродуцента в процессе озеленения урбанизированной среды.

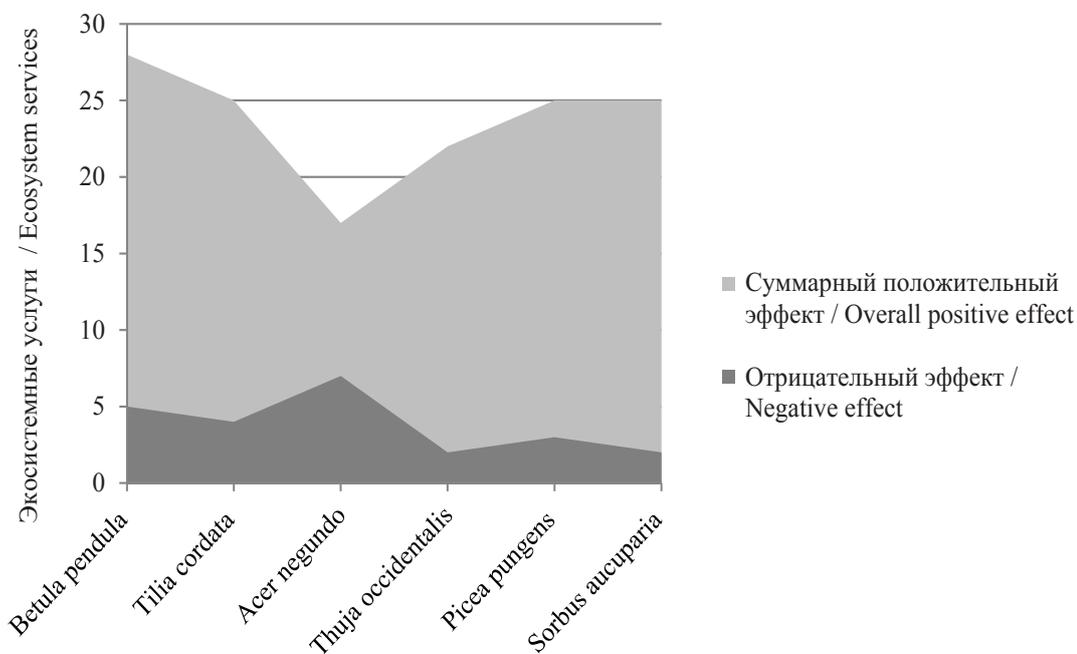


Рис. 4. Соотношение положительных и отрицательных экосистемных услуг древесных растений г. Йошкар-Олы

Fig. 4. Ratio of positive and negative ecosystem services woody plants of Yoshkar-Ola



Таким образом, оказание экосистемных услуг становится важной ролью городских насаждений, но произвести их оценку непросто, так как нематериальные характеристики трудно поддаются количественной оценке. Значительная часть экосистемных услуг городских зеленых насаждений связана с удовлетворением духовных потребностей населения, эстетического восприятия, их рекреационного использования. Востребована их регулирующая функция, улучшающая микроклимат, поддерживающая чистоту воздуха, обеспечивающая благоприятную акустическую среду. При этом все большее внимание уделяется глобальным процессам, в которых участвуют урбофитоценозы (вклад в биогенный круговорот веществ, сохранение биоразнообразия и др.), из которых важнейшим процессом становится секвестрация и хранение углерода деревьями, а следовательно, возрастает роль городских насаждений в сокращении выбросов двуокиси углерода в атмосферу [20–23].

Заключение

Наши исследования показали, что у деревьев, произрастающих в городской среде, есть значительный потенциал в оказании экосистемных услуг. Увеличение площади озелененных пространств общего пользования и улучшение качества насаждений являются наиболее актуальными задачами развития зеленой инфраструктуры города. Необходимо уделить больше внимания ассортименту древесных растений, проводить реконструкцию имеющихся и создание новых насаждений с учетом перспектив в оказании регулирующих, культурных и поддерживающих услуг урбанизированной среде. Самыми высокими перспективами обеспечения устойчивого развития городской среды обладают быстрорастущие деревья, способные длительно произрастать в урбанизированной среде, депонируя углерод, и выполнять важнейшие социальные, экологические, санитарно-гигиенические и эстетические функции. К таким видам относятся как распространенные в озеленении г. Йошкар-Олы деревья (*Betula*, *Tilia*, *Picea*), так и встречающиеся реже, но имеющие при этом существенный для урбофитоценозов потенциал растения (*Pinus*, *Quercus*, *Larix*). Также необходимо разрабатывать меры борьбы с видами, имеющими существенные неблагоприятные

эффекты, ставшие опасными городскими эксплерентами (*Acer negundo*), снижающими биоразнообразие и, следовательно, устойчивость урбоэкосистем, даже несмотря на выполняемые ими регулирующие и поддерживающие экосистемные услуги.

Список литературы

1. Gomez-Baggethun E., Barton D. N. Classifying and valuing ecosystem services for urban planning // Ecological Economics. 2013. Vol. 86. P. 235–245. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2012.08.019>
2. Gill S. E., Handley J. F., Ennos A. R., Pauleit S. Adapting cities for climate change: The role of the green infrastructure // Built Environment. 2007. Vol. 33, iss. 1. P. 115–133. <https://doi.org/10.2148/benv.33.1.115>
3. Kremer P., Andersson E., McPhearson T., Elmqvist T. Advancing the frontier of urban ecosystem services research // Ecosystem Services 12. 2015. April. P. 149–151. <https://doi.org/10.1016/J.ECOSER.2015.01.008>
4. Mao Q., Wang L., Guo Q., Li Y., Liu M., Xu G. Evaluating cultural ecosystem services of urban residential green spaces from the perspective of residents' satisfaction with green space // Frontiers in Public Health. 2020. Vol. 8. Article 226. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00226>
5. Заика А. С., Кавеленова Л. М. Особенности баланса экосистемных услуг и рисков для древесных растений в насаждениях г. Самары // Самарский научный вестник. 2022. Т. 11, № 3. С. 41–47. <https://doi.org/10.55355/snv2022113104>
6. Бобылев С. Н., Захаров В. М. Экосистемные услуги. Человек и природа. М. : Департамент природопользования и охраны окружающей среды г. Москвы ; Центр устойчивого развития и здоровья среды ИБР РАН ; Центр экологической политики России, 2015. 100 с.
7. Бобылев С. Н., Горячева А. А. Идентификация и оценка экосистемных услуг: международный контекст // Вестник международных организаций. 2019. Т. 14, № 1. С. 225–236. <https://doi.org/10.17323/1996-7845-2019-01-13>
8. Millennium Ecosystem Assessment. Ecosystems and human well-being: Biodiversity synthesis. Washington : Island Press, 2005. 156 p.
9. Румянцев Д. Е., Фролова В. А. Методологические подходы к изучению разнообразия экосистемных услуг зеленых насаждений в мегаполисе // Международный научно-исследовательский журнал. 2019. № 10 (88), ч. 2. С. 28–34. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2019.88.10.028>
10. Jumaah M., Abdulrazzaq Z. M., Atheer H. Role of green spaces and their impact on climate design and ecosystem efficiency // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 2021. № 761. P. 012055. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/761/1/012055>



11. Морозова Г. Ю., Дебелая И. Д. Зеленая инфраструктура как фактор обеспечения устойчивого развития Хабаровска // Экономика региона. 2018. Т. 14, вып. 2. С. 562–574. <https://doi.org/10.17059/2018-2-18>
12. Бухарина И. Л., Журавлева А. Н., Большова О. Г. Городские насаждения: экологический аспект. Ижевск : Удмуртский университет, 2012. 206 с.
13. Алексеев В. А. Диагностика жизненного состояния деревьев и древостоев // Лесоведение. 1989. № 4. С. 51–57.
14. Бебия С. М. Дифференциация деревьев в лесу, их классификация и определение жизненного состояния древостоев // Лесоведение. 2000. № 4. С. 35–43.
15. Hurley P. T., Emery M. R. Locating provisioning ecosystem services in urban forests: Forageable woody species in New York City, USA // Landscape and Urban Planning. 2018. Vol. 170. P. 266–275. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2017.09.025>
16. Salmond J. A., Tadaki M., Vardoulakis S., Arbuthnott K., Coutts A., Demuzere M., Dirks K. N., Heaviside C., Lim S., Macintyre H., McInnes R. N., Wheeler B. W. Health and climate related ecosystem services provided by street trees in the urban environment // Environ. Health. 2016. 15 (Suppl. 1). P. 95–111. <https://doi.org/10.1186/s12940-016-0103-6>
17. Kenter J. Deliberative and Non Monetary Valuation of Ecosystem Services. Les services ecosystemiques dans les espaces agricoles // Les services ecosystemiques dans les espaces agricoles. Paroles de chercheur(e)s. Institut National de la Recherche Agronomique, 2020. P. 127–138. https://doi.org/10.15454/nwq9-zk60_book_ch14
18. Vaz A. S., Kueffer C., Kull C. A., Richardson D. M., Vicente J. R., Kuhn I., Schroter M., Hauck J., Bonn A., Honrado J. P. Integrating ecosystem services and disservices: Insights from invasive plants // Ecosystem Services. 2017. Vol. 23. P. 94–107.
19. Воскресенская О. Л., Сарбаева Е. В. Эколого-физиологические адаптации туи западной (*Thuja occidentalis* L.) в городских условиях. Йошкар-Ола : Марийский гос. ун-т, 2006. 130 с.
20. Экосистемные услуги России: Прототип национального доклада. Т. 3. Зелёная инфраструктура и экосистемные услуги крупнейших городов России / ред. О. А. Климанова. М. : Центр охраны дикой природы, 2021. 112 с.
21. A catalogue of ecosystem services in Slovakia: Benefits to society / eds. P. Mederly, J. Cernecky. Cham : Springer, 2020. 259 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-46508-7>
22. Thaweeproradej P., Evans K. L. Species richness and ecosystem services of tree assemblages along an urbanisation gradient in a tropical mega-city: Consequences for urban design // Urban Forestry & Urban Greening. 2022. Vol. 70. 14 p. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2022.127527>
23. Linden L., Riikonen A., Setälä H., Yli-Pelkonen V. Quantifying carbon stocks in urban parks under cold climate conditions // Urban Forestry & Urban Greening. 2020. Vol. 49. 9 p. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2020.126633>

References

1. Gomez-Baggethun E., Barton D. N. Classifying and valuing ecosystem services for urban planning. *Ecological Economics*, 2013, vol. 86, pp. 235–245. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2012.08.019>
2. Gill S. E., Handley J. F., Ennos A. R., Pauleit S. Adapting cities for climate change: The role of the green infrastructure. *Built Environment*, 2007, vol. 33, iss. 1, pp. 115–133. <https://doi.org/10.2148/benv.33.1.115>
3. Kremer P., Andersson E., McPhearson T., Elmqvist T. Advancing the frontier of urban ecosystem services research. *Ecosystem Services* 12, 2015, April, pp. 149–151. <https://doi.org/10.1016/J.ECOSER.2015.01.008>
4. Mao Q., Wang L., Guo Q., Li Y., Liu M., Xu G. Evaluating cultural ecosystem services of urban residential green spaces from the perspective of residents' satisfaction with green space. *Frontiers in Public Health*, 2020, vol. 8, article 226. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00226>
5. Zaika A. S., Kavelenova L. M. Features of the balance of ecosystem services and risks for woody plants in the samara region. *Samara Journal of Science*, 2022, vol. 11, iss. 3, pp. 41–47 (in Russian). <https://doi.org/10.55355/snv2022113104>
6. Bobylev S. N., Zaharov V. M. *Ekosistemnye uslugi. Chelovek i pripoda* [Ecosystem Services. Human and nature]. Moscow, Department of Natural Resources Management and Environmental Protection of the City Moscow, Center for Sustainable Development and Environmental Health of the Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences, 2015. 100 p. (in Russian).
7. Bobylev S., Goryacheva A. Identification and assessment of ecosystem services: The International Context. *International Organisations Research Journal*, 2019, vol. 14, no. 1, pp. 225–236 (in Russian). <https://doi.org/10.17323/1996-7845-2019-01-13>
8. *Millennium Ecosystem Assessment. Ecosystems and human well-being: Biodiversity synthesis*. Washington, Island Press, 2005. 156 p.
9. Rumyantsev D. E., Frolova V. A. Methodological approaches to studying diversity of ecosystem services of greeneries in metropolitan city. *International Research Journal*, 2019, no. 10 (88), part 2, pp. 28–34. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2019.88.10.028>
10. Jumaah M., Abdulrazzaq Z. M., Atheer H. Role of green spaces and their impact on climate design and ecosystem efficiency. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2021, no. 761, pp. 012055. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/761/1/012055>



11. Morozova G. Yu., Debelaya I. D. Green infrastructure as a factor for sustainable development of Khabarovsk. *Economy of Region*, 2018, vol. 14, iss. 2, pp. 562–574. <https://doi.org/10.17059/2018-2-18>
12. Buharina I. L., Zhuravleva A. N., Bolyshova O. G. *Gorodskie nasazhdeniya: ekologicheskij aspekt* [Urban plantations: Ecological aspect]. Izhevsk, Udmurt State University Publ., 2012. 206 p. (in Russian).
13. Alekseev V. A. Diagnostics of the vital state of trees and forest stands. *Russian Journal of Forest Science*, 1989, no. 4, pp. 51–57 (in Russian).
14. Bebiya S. M. Differentiation of trees in the forest, their classification and determination of the vital state of forest stands. *Russian Journal of Forest Science*, 2000, no. 4, pp. 35–43 (in Russian).
15. Hurley P. T., Emery M. R. Locating provisioning ecosystem services in urban forests: Forageable woody species in New York City, USA. *Landscape and Urban Planning*, 2018, vol. 170, pp. 266–275. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2017.09.025>
16. Salmond J. A., Tadaki M., Vardoulakis S., Arbuthnott K., Coutts A., Demuzere M., Dirks K. N., Heaviside C., Lim S., Macintyre H., McInnes R. N., Wheeler B. W. Health and climate related ecosystem services provided by street trees in the urban environment. *Environ. Health*, 2016, 15 (Suppl. 1), pp. 95–111. <https://doi.org/10.1186/s12940-016-0103-6>
17. Kenter J. Deliberative and Non Monetary Valuation of Ecosystem Services. Les services ecosystemiques dans les espaces agricoles. *Les services ecosystemiques dans les espaces agricoles. Paroles de chercheur(es)*. Institut National de la Recherche Agronomique, 2020, pp. 127–138. https://doi.org/10.15454/nwq9-zk60_book_ch14
18. Vaz A. S., Kueffer C., Kull C. A., Richardson D. M., Vicente J. R., Kuhn I., Schroter M., Hauck J., Bonn A., Honrado J. P. Integrating ecosystem services and dis-services: Insights from invasive plants. *Ecosystem Services*, 2017, vol. 23, pp. 94–107.
19. Voskresenskaya O. L., Sarbaeva E. V. *Ekologo-fiziologicheskie adaptatsii tui zapadnoy (Thuja occidentalis L.) v gorodskih usloviyah* [Ecological and physiological adaptations of the western thuja (*Thuja occidentalis* L.) in urban conditions]. Yoshkar-Ola, Mari State University Publ., 2006. 130 p. (in Russian).
20. Klimanova, O. A., ed. *Ecosystem services of Russia: Prototype National Report. Vol. 3. Green infrastructure and ecosystem services of Russia's largest cities*. Moscow, BCC Press, 2021. 112 p. (in Russian).
21. Mederly P., Cernecky J., eds. *A catalogue of ecosystem services in Slovakia: Benefits to society*. Cham, Springer, 2020. 259 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-46508-7>
22. Thaweeppworadej P., Evans K. L. Species richness and ecosystem services of tree assemblages along an urbanisation gradient in a tropical mega-city: Consequences for urban design. *Urban Forestry & Urban Greening*, 2022, vol. 70. 14 p. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2022.127527>
23. Linden L., Riikonen A., Setälä H., Yli-Pelkonen V. Quantifying carbon stocks in urban parks under cold climate conditions. *Urban Forestry & Urban Greening*, 2020, vol. 49. 9 p. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2020.126633>

Поступила в редакцию: 15.03.2023; одобрена после рецензирования 13.02.2024; принята к публикации 19.02.2024
The article was submitted 15.03.2023; approved after reviewing 13.02.2024; accepted for publication 19.02.2024



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 225–230
Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 225–230
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-225-230>, EDN: SCYJFQ

Научная статья
УДК 595.754 (470.324)

Динамика численности клопов-щитников родов *Aelia* и *Neottiglossa* (Heteroptera, Pentatomidae) на зарастающих гарях Усманского бора (Воронежская область)



В. А. Соболева ✉, В. Б. Голуб

Воронежский государственный университет, Россия, 394006, г. Воронеж, Университетская пл., д. 1

Соболева Виктория Александровна, преподаватель кафедры зоологии и паразитологии, strekoza_vrn@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9971-2766>

Голуб Виктор Борисович, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой зоологии и паразитологии, v.golub@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7390-9536>

Аннотация. На основе количественных учетов численности четырех видов родов *Aelia* и *Neottiglossa* (Heteroptera, Pentatomidae) смоделирован процесс формирования их популяций на зарастающих гарях Усманского бора (Воронежская область) после пожара 2010 г. Установлено, что мезоксерофильные *Ae. acuminata* и *N. leporina* появились на бывших гарях через 5–6 лет после пожара. Мезофильный вид *N. pusilla* является перманентным обитателем экотонных биотопов и не проявил тенденцию к колонизации бывшей гари. Ксерофильный *Ae. rostrata* заселил зарастающую гать через десять лет после пожара, отражая процесс ксерофилизации постпирогенной экосистемы в условиях лесостепи.

Ключевые слова: полужесткокрылые, Heteroptera, гаревые участки, пожары, Усманский бор

Благодарности. Авторы выражают благодарность профессору В. Б. Голубу (Институт экологии Волжского бассейна РАН, г. Тольятти) за помощь в оценке современного состояния растительного сообщества на модельном участке бывшей гари.

Для цитирования: Соболева В. А., Голуб В. Б. Динамика численности клопов-щитников родов *Aelia* и *Neottiglossa* (Heteroptera, Pentatomidae) на зарастающих гарях Усманского бора (Воронежская область) // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 225–230. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-225-230>, EDN: SCYJFQ

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Dynamics of the populations of stink bugs of the genera *Aelia* and *Neottiglossa* (Heteroptera, Pentatomidae) in overgrown with vegetation burnt areas of the Usman Forest (Voronezh region)

V. A. Soboleva ✉, V. B. Golub

Voronezh State University, 1 University Sq., Voronezh 394006, Russia

Viktoria A. Soboleva, strekoza_vrn@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9971-2766>

Viktor B. Golub, v.golub@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7390-9536>

Abstract. Based on quantitative counts of the abundance of four species of the genera *Aelia* and *Neottiglossa* (Heteroptera, Pentatomidae), the process of formation of their populations in the overgrown burnt areas of the Usman Forest (Voronezh region) after a fire in 2010 was modeled. It has been established that mesoxerophilic species *Ae. acuminata* and *N. leporina* appeared in the formerly burnt areas 5–6 years after the fire. The mesophilic species *N. pusilla* is a permanent inhabitant of ecotone biotopes and has not shown a tendency to colonize the formerly burnt areas. Xerophilic *Ae. rostrata* colonized the overgrown burnt area ten years after the fire, reflecting the process of xerophylyzation of the post-pyrogenic ecosystem in forest-steppe conditions.

Keywords: hemiptera insects, Heteroptera, burnt areas, fires, Usman forest

Acknowledgments. The authors express their gratitude to Professor Viktor B. Golub (Institute of Ecology of the Volga Basin RAS, Tolyatti) for assistance in assessing the current state of the plant community in the model area of the former burnt area.

For citation: Soboleva V. A., Golub V. B. Dynamics of the populations of stink bugs of the genera *Aelia* and *Neottiglossa* (Heteroptera, Pentatomidae) in overgrown with vegetation burnt areas of the Usman Forest (Voronezh region). *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 225–230 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-225-230>, EDN: SCYJFQ

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)



Введение

Лесные пожары являются одним из определяющих факторов функционирования экосистем. Воздействие пожаров на биоценозы и установившиеся в них связи зависят в основном от характера распространения, интенсивности горения, продолжительности и площади охвата территории. Последние десятилетия изменение климата и антропогенная деятельность увеличивают частоту и количество пожаров во всем мире, создавая значительную угрозу биоразнообразию [1, 2]. После губительного воздействия пламени меняется не только состав и структура растительных ассоциаций, структура почв и их население, но и, в значительной степени, изменяются компоненты беспозвоночной биоты.

Низовые пожары характеризуются распространением огня по напочвенному покрову и нижнему ярусу леса. Они приводят к гибели макробеспозвоночных ввиду прямого воздействия пламени, а также из-за потери необходимых пищевых ресурсов и естественных укрытий [3, 4].

Прохождение верхового пламени, особенно в хвойных лесах, оказывает наиболее разрушительное воздействие на сложившуюся экосистему. При верховых пожарах гибнут все лесные ярусы. Кроме того, часто на фоне резких порывов ветра впереди верхового пламени разлетаются массы горящих ветвей, которые создают вторичные низовые пожары за десятки метров от основного очага возгорания.

На подобных сильно нарушенных постпирогенных участках видовое разнообразие и обилие видов длительное время значительно снижено. Постепенно за счёт перфугиумов и экотонных как стадий переживания неблагоприятных условий происходит восстановление утраченного видового богатства [5]. Однако вновь образованные после пожаров биоценозы зачастую имеют иной, отличный от исходного, облик растительности и характер фауны беспозвоночных животных.

Материалы и методы

Исследования проводились в юго-западной части Усманского бора. В зональном отношении обследованная территория располагается в лесостепной природной зоне. Основной состав лесообразующих видов представляет собой сочетание сосны и широколиственных

пород – преимущественно дуба, осины, березы и черной ольхи. В целом для обследованного района характерен умеренно-континентальный климат, относительный дефицит и неравномерный характер атмосферного увлажнения. Земная поверхность находится на высоте 200–260 м над уровнем моря [6].

В 2010 г. в условиях аномально жаркой погоды на значительной части Усманского бора прошла череда природных пожаров. Стихийное бедствие затронуло несколько лесных кварталов, прилегающих непосредственно к биологическому центру Воронежского государственного университета «Веневитиново» (20 км СВ Воронежа; 51°48'43.8" с.ш., 39°23'40.9" в.д.). На большей части территории пройденной пожаром, в результате восстановительных работ сформировались молодые лесные насаждения сосны и березы. Однако в некоторых лесных кварталах такие работы не были проведены. Здесь последовательно прошло несколько фаз становления современного облика постпирогенной экосистемы.

В первый год после пожара на стадии «черной гари» проходило интенсивное зарастание канадским мелколепестником (*Erigeron canadensis*), а также пятнами разрастались злаки и полыни. Через 3 года проективное покрытие мелколепестника резко уменьшилось, и в составе растительных ассоциаций начали отчетливо доминировать злаки – овсяница валлийская (*Festuca valesiaca*), вейник наземный (*Calamagrostis epigejos*) и др. В это же время началось зарастание гари многолетним кустарником – дроком красильным (*Genista tinctoria*). Спустя 13 лет после пожара на супесчаной и песчаной почве сформировалась преимущественно травянистая и разреженная кустарниковая растительность, характерная для открытых, хорошо инсолируемых биотопов с преобладанием ксерофитной растительности. Пониженные участки, до пожара – заболоченные, заросли березой и осиной. На отдельных возвышенных участках появились одиночные деревья дуба черешчатого и березы повислой.

Наблюдения за появлением растительного покрова на гарях, его изменениями и насекомыми-пионерами начали проводиться нами на следующий год после пожара, в 2011 г. Начало изучению постпирогенной сукцессии на основе модельной таксономической группы насекомых, отряда полужесткокрылых (Heteroptera), было



положено в 2013 г., когда уже наблюдались очень малочисленные особи некоторых видов клопов-фитофагов, включая клопов-щитников (Pentatomidae). Проводились эпизодические сборы полужесткокрылых, без учетов их численности. При этом обращалось внимание на появление на бывших гарях видов-индикаторов лесных и степных условий обитания. Такие виды представлены в ряде семейств отряда Heteroptera. В качестве индикаторов ксерофитных и мезоксерофитных условий нами были использованы представители из семейства щитников: *Aelia acuminata* (Linnaeus, 1758) (элия остроголовая), *Ae. rostrata* Boheman, 1852 (элия носатая), *Neottiglossa leporina* (Herrich-Schäffer, 1830) и, в меньшей степени, – *N. pusilla* (Gmelin, 1790). Начиная с 2021 г., численность группировок указанных видов уже стала пригодной для статистической обработки. В связи с этим обстоятельством количественные учеты видов-индикаторов были проведены нами на территории модельного 22-го квартала Сомовского лесничества вблизи биоцентра «Веневиатиново» в Усманском бору в 2021–2023 гг. (с мая по октябрь).

Результаты и их обсуждение

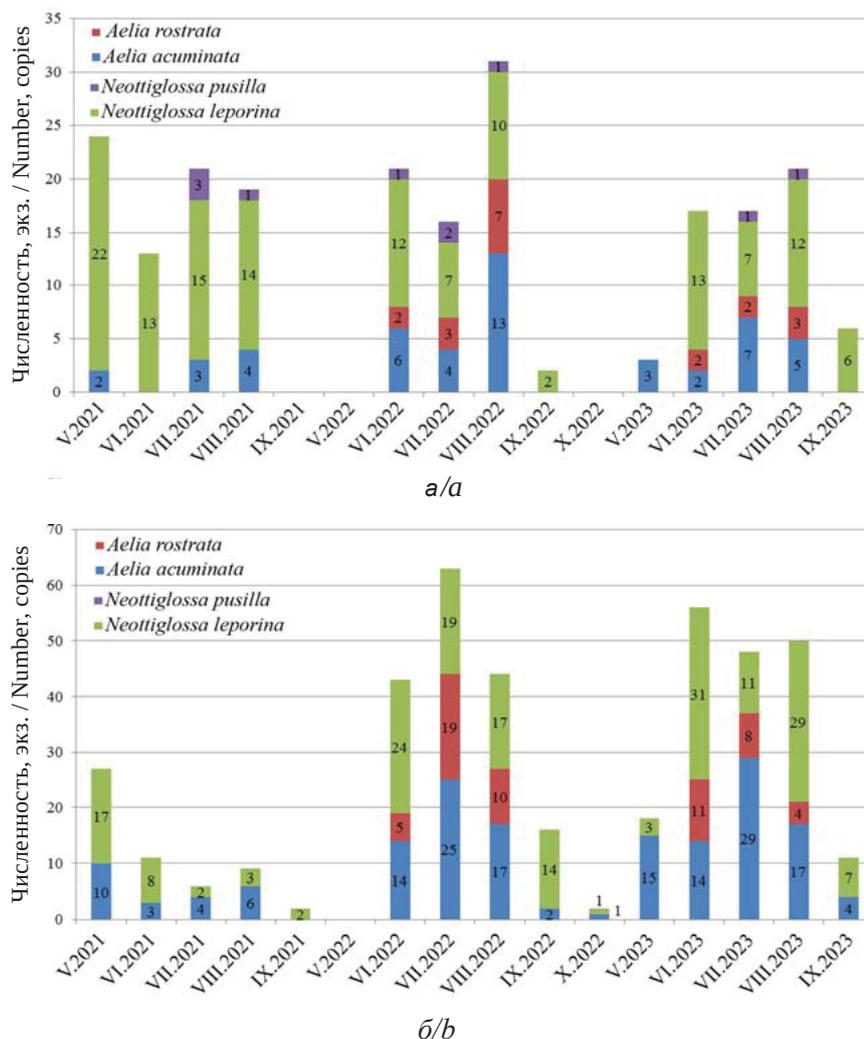
В России, включая ее европейскую часть, все четыре исследованных вида (*Aelia acuminata*, *Ae. rostrata*, *Neottiglossa leporina*, *N. pusilla*) распространены достаточно широко, имеют сходные, хотя и не полностью совпадающие ареалы. Элия остроголовая – транспалеарктический вид, в европейской части России распространен от таежной зоны до полупустынь. Ареал элии носатой – западнопалеарктический и, в целом, более южный, чем ареал *Ae. acuminata*; в европейской части России его северная граница проходит по зоне смешанных лесов – Московской, Нижегородской и Пензенской областям. *N. leporina* и *N. pusilla* – транспалеаркты. При этом северная граница ареала первого вида в европейской части России проходит по Воронежской, Орловской и Саратовской областям, а северная граница ареала второго – достигает Карелии, Вологодской и Кировской областей [7]. В Западной Европе ареал *N. pusilla* достигает Финляндии и Норвегии [8]. В Воронежской области представлены все четыре вида [9].

У всех четырех видов сходны и экологические требования, особенно у *Ae. acuminata*,

Ae. rostrata и *N. leporina*. Все они трофически связаны со злаками. *Ae. acuminata* – мезоксерофильный, почти эвритопный вид, по нашим многолетним наблюдениям обитающий как на широко открытых участках, так и в лесных массивах и на лугах. *Ae. rostrata* и *N. leporina* – умеренно ксерофильные и отчетливо гелиофильные виды. *Ae. rostrata* в своем обитании приурочен только к открытым биотопам степного типа [7]. *N. leporina*, по нашим многолетним наблюдениям, не требователен к объему открытого пространства. Заселяя открытые участки леса, разные по площадям поляны и опушки, по крайней мере последние 50 лет, он присутствовал в Усманском бору как фоновый и многочисленный вид, даже в глубине лесного массива. *N. pusilla* – мезофильный вид, и встречается главным образом на опушках и пойменных лугах, не сильно инсолируемых и даже в тени деревьев. Его присутствие в указанных биотопах фиксировалась в Усманском бору, как и *N. leporina*, в течение последних 50 лет. Его численность в пригодных условиях стабильно составляла 2–3 особи на 100 взмахом сачком.

Наблюдения за появлением в процессе постпирогенной сукцессии индикаторных видов полужесткокрылых на гарях Усманского бора показали, что единичные особи *Ae. acuminata* и *N. leporina* стали на них появляться через 2–3 года после пожара. Устойчивые же группировки этих видов в модельном квартале № 22 сформировались через 6–7 лет после пожара, одновременно с формированием на бывших гарях разнотравно-злаковых ассоциаций. Стабильно более высокая численность *A. acuminata* и *N. leporina* в течение трех последних лет на бывшей, плохо зарастающей гари, по сравнению с их численностью на опушке леса (рисунки а, б), объективно указывает на предпочтительность ими ксерофитных условий обитания. *N. pusilla*, напротив, как мезофильный вид, встречался только на опушке в постоянно низкой численности.

Появление на бывших гарях единичных особей наиболее ксерофильного вида (из анализируемых четырех видов) *Ae. rostrata* было установлено нами лишь в 2021 г., т.е. на одиннадцатый год после пожара. К этому времени на обширных участках бывших гарей, включая квартал № 22, стали преобладать сухолуговые растительные сообщества с доминированием в них *Calamagrostis epigejos* и других злаков.



Сезонная динамика численности видов *Aelia* и *Neottiglossa* (Heteroptera, Pentatomidae) в Усманском лесу (20 км северо-восточнее Воронежа) в 2021–2023 гг. по результатам учетов: а – на лесных опушках, прилегающих к модельному лесному кварталу, б – в модельном лесном квартале, зарастающем растительностью после пожара 2010 г. (цвет онлайн)

Figure. Seasonal dynamics of the number of species of *Aelia* and *Neottiglossa* (Heteroptera, Pentatomidae) in the Usmansky forest (20 km northeast of Voronezh) in 2021–2023 according to the results of surveys: а – on forest edges adjacent to the model forest, б – in the model forest area, overgrown with vegetation after a fire in 2010 (color online)

При этом в 2022 г. численность *Ae. rostrata* значительно приблизилась к таковой мезоксерофильных *Ae. acuminata* и *N. leporina* (см. рисунок а, б). Повышению численности *Ae. rostrata* в 2022 г. способствовали также высокие среднесуточные температуры в течение вегетационного периода.

Обращают на себя внимание факты почти синхронного развития *Ae. acuminata*, *Ae. rostrata* и *N. leporina* в одних и тех же ксерофитных условиях, на одних и тех же кормовых растениях и почти равной численности имаго двух видов *Aelia* в середине июля. Они свидетельствуют о

соответствии в 2022 г. комплекса абиотических и биотических факторов экологическим требованиям этих трех видов. При этом на прилегающих небольших открытых участках лесного массива в разные сроки встречались личинки и имаго *Ae. acuminata*, *N. pusilla* и *N. leporina*, при полном отсутствии *Ae. rostrata*.

Следует отметить, что *Ae. rostrata*, как показали учеты встречаемости и численности, фиксировалась более или менее равномерно на большей части модельного квартала № 22, кроме нескольких заболоченных понижений в нем.



Резкое снижение численности *Ae. rostrata* в 2023 г. при возрастании численности *Ae. acuminata* и, особенно, *N. leporina* связано, очевидно, с более низкими среднесуточными температурами весной и в начале лета, по сравнению с таковыми 2022 г. Именно в первой половине лета происходит развитие личинок обоих видов. Для личинок *Ae. acuminata* и *N. leporina* эти условия оказались соответствующими их экологическим требованиям.

Существование на зарастающей гари в течение не менее чем двух лет популяционной группировки ксерофильного вида *Ae. rostrata* и длительное существование мезоксерофильных *Ae. acuminata* и *N. leporina* свидетельствуют о формировании на бывших горях в лесостепной зоне биоценоза ксерофитного характера при отсутствии полноценного процесса восстановления прежней лесной экосистемы. С учетом наших наблюдений в отношении других представителей этого же отряда [10, 11], можно констатировать, что в целом фауна полужесткокрылых насекомых лесного массива в процессе постпирогенной сукцессии несколько обогатилась видами, приуроченными к открытым, хорошо инсолируемым биотопам.

Заключение

Изучение процессов постпирогенной сукцессии имеет существенное значение в понимании механизмов восстановления и изменений естественной растительности после природных и антропогенных пожаров. Эти процессы традиционно изучаются, преимущественно в лесных и степных зонах Северного полушария, где уже выявлен ряд закономерностей восстановления и трансформации соответствующих экосистем [3, 12]. О постпирогенных же сукцессиях в лесостепной зоне известно очень мало. Результаты проведенного нами исследования с использованием в качестве модельной группы фитофагов полужесткокрылых насекомых свидетельствуют о возможности замещения в процессе постпирогенной сукцессии лесной экосистемы открытой, заселяемой ксерофильными и мезоксерофильными комплексами насекомых.

Список литературы

1. He T., Lamont B. B., Pausas J. G. Fire as a key driver of Earth's biodiversity // *Biological Reviews*. 2019. Vol. 94, iss. 6. P. 1983–2010.

2. Zaitsev A. S., Gongalsky K. B., Malmström A., Persson T., Bengtsson J. Why are forest fires generally neglected in soil fauna research? A mini-review // *Applied Soil Ecology*. 2016. Vol. 98. P. 261–271. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.10.012>
3. Гонгальский К. Б. Лесные пожары и почвенная фауна. М. : Т-во науч. изд. КМК, 2014. 169 с.
4. Gongalsky K. B., Persson T. Recovery of soil macrofauna after wildfires in boreal forests // *Soil Biology and Biochemistry*. 2013. Vol. 57. P. 182–191. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.07.005>
5. Гонгальский К. Б. Перфугиумы как механизм восстановления почвенной фауны после нарушений экосистем // *Russian Journal of Ecosystem Ecology*. 2017. Vol. 2, iss. 4. P. 1–12. <https://doi.org/10.21685/2500-0578-2017-4-3>
6. Мильков Ф. Н., Гвоздецкий Н. А. Физическая география СССР. Общий обзор. Европейская часть. Кавказ. М. : Высшая школа, 1986. 376 с.
7. Пучков В. Г. Щитники // Фауна Украины. Вып. 21, № 1. Київ : Видавництво Академії наук Української РСР, 1961. 340 с.
8. Catalogue of the Heteroptera of the Palaearctic Region. Vol. 5. Pentatomomorpha II / eds. B. Aukema, Chr. Rieger. Amsterdam : The Netherlands Entomological Society, 2006. 550 p.
9. Коринек В. В. Фауна настоящих полужесткокрылых насекомых (Hemiptera – Heteroptera) Хоперского государственного заповедника // Труды Хоперского заповедника. 1940. Вып. 1. С. 174–218.
10. Соболева В. А., Голуб В. Б. Сезонная динамика численности клопа *Chorosoma schillingii* (Schilling, 1829) Heteroptera, Rhopalidae) на участке бывшего пожара в Усманском бору // Состояние и проблемы экосистем среднерусской лесостепи. Воронеж : Истоки, 2022. Вып. 34. С. 91–96.
11. Соболева В. А., Голуб В. Б. Специфика заселения полужесткокрылыми насекомыми (Heteroptera) гарей в лесостепи на примере Усманского бора Воронежской области // Состояние и проблемы экосистем среднерусской лесостепи. 2023. Вып. 35. С. 52–57.
12. Flannigan M. D., Stocs B. J., Wotton B. M. Climate change and forest fires // *Science of The Total Environment*. 2000. Vol. 262, iss. 3. P. 221–229.

References

1. He T., Lamont B. B., Pausas J. G. Fire as a key driver of Earth's biodiversity. *Biological Reviews*, 2019, vol. 94, iss. 6, pp. 1983–2010.
2. Zaitsev A. S., Gongalsky K. B., Malmström A., Persson T., Bengtsson J. Why are forest fires generally neglected in soil fauna research? A mini-review. *Applied Soil Ecology*, 2016, vol. 98, pp. 261–271. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.10.012>
3. Gongal'skiy K. B. *Lesnye pozhary i pochvennaya fauna* [Forest fires and soil fauna]. Moscow, KMK Scientific Press, 2014. 169 p. (in Russian).



4. Gongalsky K. B., Persson T. Recovery of soil macrofauna after wildfires in boreal forests. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, vol. 57, pp. 182–191. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.07.005>
5. Gongalsky K. B. Perfusion as a mechanism for the recovery of soil fauna after ecosystem disturbances. *Russian Journal of Ecosystem Ecology*, 2017, vol. 2, iss. 4, pp. 1–12 (in Russian) <https://doi.org/10.21685/2500-0578-2017-4-3>
6. Mil'kov F. N., Gvozdeckij N. A. *Fizicheskaya geografiya SSSR. Obschii obzor. Evropeyskaya chast. Kavkaz* [Physical geography of the USSR. Overall review. European part of the USSR. Caucasus]. Moscow, Vysshaya Shkola, 1986. 376 p. (in Russian)
7. Puchkov V. G. Shieldbugs. *Fauna of Ukraine*, vol. 21, no 1. Kyiv, Vidavnicztvo Akademii nauk Ukrainiis'koï RSR Publ., 1961. 338 p. (in Ukrainian).
8. Aukema B., Rieger Chr., eds. *Catalogue of the Heteroptera of the Palaearctic Region*. Vol. 5. Pentatomomorpha II. Amsterdam, The Netherlands Entomological Society, 2006. 550 p.
9. Korinek V. V. Fauna of hemipteran insects (Hemiptera–Heteroptera) of the Kholer State Reserve. *Trudy Kholerskogo Zapovednika*, 1940, vol. 1, pp. 174–218 (in Russian).
10. Soboleva V. A., Golub V. B. Seasonal dynamics of the number of the bug *Chorosoma schillingii* (Schilling, 1829) Heteroptera, Rhopalidae) at the site of a former fire in the Usmansky forest. *Condition and problems of Middle Russian forest-steppe ecosystems*. Voronezh, Istoki, 2022, iss. 34, pp. 91–96 (in Russian).
11. Soboleva V. A., Golub V. B. The specifics of the settlement of true bugs (Heteroptera) of harems in the forest-steppe on the example of the Usmansky forest (Voronezh region). *Condition and Problems of Middle Russian Forest-steppe Ecosystems*, 2023, iss. 35, pp. 52–57 (in Russian).
12. Flannigan M. D., Stocs B. J., Wotton B. M. Climate change and forest fires. *Science of The Total Environment*, 2000, vol. 1, iss. 3, pp. 221–229.

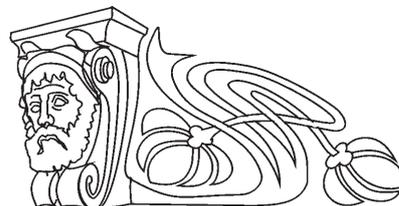
Поступила в редакцию: 14.12.2023; одобрена после рецензирования 21.02.2024; принята к публикации 22.02.2024
The article was submitted 14.12.2023; approved after reviewing 21.02.2024; accepted for publication 22.02.2024



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 231–236
Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 231–236
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-231-236>, EDN: RXAARI

Научная статья
УДК 502.3:911.52

Структура системы действующих и проблемы функционирования будущих особо охраняемых природных территорий Воронежской области



Л. А. Алаева ✉, Е. А. Негрובה, Т. А. Девятова, С. В. Негрובה

Воронежский государственный университет, Россия, 394018, г. Воронеж, Университетская пл., д. 1

Алаева Лилия Алексеевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры экологии и земельных ресурсов, liliya-250477@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0004-3187-6790>

Негрובה Елена Андреевна, ассистент кафедры экологии и земельных ресурсов, elena-negrobova@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0002-5304-2186>

Девятова Татьяна Анатольевна, доктор биологических наук, заведующий кафедрой экологии и земельных ресурсов, devyatova@bio.vsu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8722-1126>

Негрובה Софья Владимировна, магистр кафедры экологии и земельных ресурсов, negrobovas@mail.ru

Аннотация. Конвенция о биологическом разнообразии и Национальная Стратегия сохранения биоразнообразия в России стали базой для реализации масштабных научно-практических исследований в области эффективного решения данной проблемы. Создание сети особо охраняемых природных территорий (ООПТ) федерального, регионального и местного значения является одним из перспективных направлений сохранения, поддержания и воспроизводства биоразнообразия на всех его уровнях. Воронежская область расположена на стыке лесостепной и степной зон, что предопределило ее сложные флористический, фаунистический комплексы и уникальный почвенный покров с преобладанием черноземов. Многолетнее сельскохозяйственное использование почв региона привело к сокращению территорий с естественными экосистемами. Все это создало предпосылки к созданию сложной, разветвленной сети ООПТ на территории области. Создание ООПТ опирается на сложную нормативно-правовую базу, которая включает федеральные законы РФ, постановления Правительства Воронежской области, законы Воронежской области, приказы Министерства природных ресурсов и экологии Воронежской области и др. На сегодняшний день сеть включает 256 ООПТ, из них 4 федерального значения, 211 областного значения, 41 местного значения. Такая структура ООПТ позволила Воронежской области занять одно из ведущих мест по данным показателям среди областей ЦЧР. Наибольшее количество создано в Белгородской области – 332 объекта, что составило 11,2% от ее территории, Воронежская область занимает второе место по количеству объектов и третье по доли ООПТ от общей площади. Функционирование действующих и создание новых ООПТ сталкивается с рядом проблем, среди которых важное место занимает недостаточное информирование населения о необходимости создания ООПТ как инструмента сохранения природы и ее биологического разнообразия.

Ключевые слова: биоразнообразие, особо охраняемые природные территории (ООПТ), устойчивое развитие, заповедник, заказник

Для цитирования: Алаева Л. А., Негрובה Е. А., Девятова Т. А., Негрובה С. В. Структура системы действующих и проблемы функционирования будущих особо охраняемых природных территорий Воронежской области // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 231–236. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-231-236>, EDN: RXAARI

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

The structure of the existing system and the problems of functioning of the future specially protected natural territories of the Voronezh region

L. A. Alaeva ✉, E. A. Negrobova, T. A. Deviatova, S. V. Negrobova

Voronezh State University, 1 University Sq., Voronezh 394018, Russia

Liliia A. Alaeva, liliya-250477@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0004-3187-6790>

Elena A. Negrobova, elena-negrobova@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0002-5304-2186>

Tatiana A. Deviatova, devyatova@bio.vsu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8722-1126>

Sofia V. Negrobova, negrobovas@mail.ru



Abstract. The Biological Diversity Convention and the National Strategy for the Conservation of Biodiversity in Russia have laid the basis for the implementation of large-scale scientific and practical research aimed at finding effective solutions to this issue. The creation of the SPNA network which includes federal, regional and local significance is one of the promising directions for the conservation, maintenance and reproduction of biodiversity at all levels. The Voronezh Region situated at the junction of forest-steppe and steppe zones, features complex floral, faunal complexes and a unique soil cover dominated by chernozems. The long-term agricultural use of the region's soils has led to a reduction in areas with natural ecosystems. This has created the prerequisites for establishing a complex, extensive SPNA network in the Voronezh region. The establishment SPNA network is based on a comprehensive regulatory framework, which includes federal laws of the Russian Federation, resolutions of the Voronezh Region Government, the law of the Voronezh Region, orders of the Ministry of Natural Resources and Ecology of the Voronezh Region, etc. To date, the SPNA network comprises 256 protected areas, of which 4 are of federal significance, 211 are of regional significance, and 41 are of local significance. This structure of protected areas has positioned the Voronezh region as one of the leaders in these indicators among the Central Chernozem Regions (CCR). The largest number was created in the Belgorod region – 332 objects, objects, accounting for 11.2% of its territory, the Voronezh region ranks second in terms of the number of objects and the third in terms of the share of protected areas relative to the total area. The functioning of existing and the creation of the new ones face several challenges, among which an important place is occupied by insufficient public awareness of the need to create protected areas as a tool for the conservation of nature and its biological diversity holds a significant place.

Keywords: biodiversity, specially protected natural areas (SPNA), sustainable development, nature reserve, nature sanctuary

For citation: Alaeva L. A., Negrobova E. A., Deviatova T. A., Negrobova S. V. The structure of the existing system and the problems of functioning of the future specially protected natural territories of the Voronezh region. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 231–236 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-231-236>, EDN: RXAARI

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Биологическое разнообразие на всех уровнях – залог устойчивого существования биосферы и человечества как ее части. Подтверждением необходимости решения проблемы сохранения биоразнообразия на межгосударственном уровне стала Конвенция о биологическом разнообразии, подписанная 5 июля 1992 г. в Рио-де-Жанейро. Россия ратифицировала конвенцию в 1996 г., что стало началом реализации ряда экологических проектов. Важным результатом данной работы стала разработка и принятие в 2001 г. Национальной стратегии сохранения биоразнообразия в России. Основная цель стратегии – это сохранение разнообразия природных биосистем на уровне, обеспечивающем их устойчивое существование и неистощительное использование, а также сохранение разнообразия одомашненных и культивируемых форм живых организмов и созданных человеком экологически сбалансированных природно-культурных комплексов на уровне, обеспечивающем развитие эффективного хозяйства и формирование оптимальной среды для жизни человека [1].

Сохранение биологического разнообразия также является одним из индикаторов устойчивого развития, при котором индикатором текущего состояния является число видов в угрожаемом состоянии и исчезнувших, а индикатором реагирования – площадь заповедных территорий, в % от общей площади территории [2].

Несмотря на относительное благополучие общего состояния биоразнообразия России, ряд

типов экосистем и видов живых организмов находятся на грани исчезновения. В частности, биомы европейских степей и широколиственных лесов практически исчезли и в настоящее время представлены мелкими фрагментами экосистем, сохранившихся в пределах особо охраняемых природных территорий. Поэтому важным направлением поддержания биологического разнообразия на федеральном и региональном уровнях является создание разветвленной системы ООПТ, состоящей из объектов различных категорий.

Результаты и их обсуждение

Воронежская область входит в состав Центрально-Черноземного региона (ЦЧР), в котором фоновым компонентом почвенного покрова являются черноземы – основное средство производства сельскохозяйственной продукции. Этим фактором обусловлена высокая степень преобразования естественных экосистем в агроценозы.

Северная часть Воронежской области расположена в лесостепной зоне с преобладанием степных ландшафтов и островным распространением лесных экосистем. Южная часть области относится к степной зоне, где гидротермический коэффициент меньше 1, поэтому лесные экосистемы на фоне степных ландшафтов представлены байрачными дубравами по овражно-балочной сети. Уникальное сочетание разнообразных экологических условий, нарастающее антропогенное освоение естественных ландшафтов предопределили создание сложной сети ООПТ в пределах Воронежской области.



Создание ООПТ опирается на нормативно-правовую базу, основу которой составляют Конституция Российской Федерации, Федеральный закон от 14.03.1995 № 33-ФЗ «Об особо охраняемых природных территориях», Земельный кодекс Российской Федерации, Водный кодекс Российской Федерации и Лесной кодекс Российской Федерации. Приказом Минприроды России от 19.03.2012 № 69 утвержден порядок ведения Государственного кадастра особо охраняемых природных территорий. Создание и функционирование сети ООПТ регламентируется и на региональном уровне, в частности, такими нормативными документами, как закон Воронежской области от 27.05.2014 № 68-ОЗ «О регулировании отдельных отношений в сфере особо охраняемых природных территорий в Воронежской области и признании утратившими силу некоторых законодательных актов (положений некоторых законодательных актов) Воронежской области», постановление администрации Воронежской области от 16.01.1996 № 41 «Об утверждении Положения о памятниках природы Воронежской области», постановление правительства

Воронежской области от 30.09.2021 № 568 «О региональном государственном контроле (надзоре) в области охраны и использования особо охраняемых природных территорий Воронежской области».

В настоящее время общая площадь ООПТ Воронежской области насчитывает 230857,4401 га, что составляет 4,4% от общей площади области (5221600 га). Общая площадь ООПТ федерального значения – 76042,8048 га (32,94% от общей площади ООПТ), общая площадь ООПТ областного значения – 154626,2826 га (66,98%), общая площадь ООПТ местного значения – 188,3527 га (0,08%) [3].

На территории Воронежской области создана сеть из 256 ООПТ, из них 4 федерального значения, 211 областного значения, 41 местного значения (табл. 1). Исходными данными для расчета количественных показателей, представленных в таблице, послужили сведения из перечня особо охраняемых природных территорий областного и местного значения на территории Воронежской области по состоянию на 01.01.2023 г. [4].

Таблица 1 / Table 1

Структура системы ООПТ Воронежской области
The structure of the Voronezh region SPNA System

Категория ООПТ / SPNA Category	Количество, шт. / Quantity, pcs	Доля от общего количества ООПТ, % / Share of the total SPNAs number, %	Площадь*, га / Area*, ha	Доля от общей площади ООПТ, % / Share of the total SPNAs area, %
Федерального значения (1,56 % от общего количества ООПТ) / Of Federal significance (1,56 % of the total SPNAs)				
Заповедники / Reserves	2	50	47811,1	62,88
Заказники / Preserves	2	50	28231,7	37,12
Областного значения (82,42% от общего количества ООПТ) / Of regional significance (82,42% of the total SPNAs)				
Заказники / Preserves	20	9,48	129891,2	84,00
Памятники природы / Natural Monuments	186	88,15	19354,2	12,52
Природные парки / Natural Parks	4	1,90	2654,0	1,72
Дендрологический парк / Arboretum Park	1	0,47	1,0	0,0006
Местного значения (16,02% от общего количества ООПТ) / Of local importance (16,02% of the total SPNAs)				
Садово-парковые ландшафты / Garden Park Landscapes	36	87,80	103,5	54,94
Ландшафтные памятники / Landscape Monuments	5	12,20	84,9	45,06

Примечание. *Площадь, га – данные сокращены до десятых долей.
Note. *Area, ha – the data has been reduced to tenths.



В целях расширения сети ООПТ и сохранения биоразнообразия экосистем лесостепных и степных ландшафтов Воронежской области планируется к выделению 323 новых ООПТ, из них 275 памятников природы, 45 заказников и 3 природных парка.

Охраняемые территории выступают «зелеными коридорами» на пути миграции диких видов животного мира и расселения растений, поэтому создание сети ООПТ на территориях соседних областей, особенно в пределах ЦЧР, имеет

особо важное значение. Обобщенный анализ опубликованных сведений данных территорий позволил провести сравнительный количественный анализ ООПТ (табл. 2). Полученные данные свидетельствуют о том, что во всех областях ЦЧР функционирует сложная сеть ООПТ. Наибольшее количество создано в Белгородской области – 332 объекта, что составило 11,2% от ее территории, Воронежская область занимает второе место по количеству объектов и третья – по доли ООПТ от общей площади среди областей ЦЧР.

Таблица 2 / Table 2

Характеристика системы ООПТ областей ЦЧР
Characteristics of the Central Chernozem Region SPNA system

Область ЦЧР / CCR Region	Общая площадь области, га / Region total area, ha	Общая площадь ООПТ, га / SPNA total area, ha	Общее количество ООПТ, шт. / SPNA total quantity, pcs	Доля ООПТ от территории области, % / SPNA share of the region area, %
Воронежская / Voronezh	5221600	230857,44	256	4,4
Липецкая / Lipetsk	2404700	158217,40	187	6,6
Белгородская / Belgorod	2713400	303339,12	332	11,2
Курская / Kursk	2999700	19441,26	66	0,7
Тамбовская / Tambov	3430000	151481,00	110	4,4
ЦЧР / CCR	16769400	863336,20	951	5,2

Для сети ООПТ важное значение имеет не только их количественные характеристики, но и их статус (табл. 3). Так, ООПТ федерального значения являются федеральной собственностью и находятся в ведении федеральных органов

государственной власти (за исключением земельных участков, которые находятся в границах курортов федерального значения и могут быть отнесены к собственности субъектов Российской Федерации или муниципальной собственности).

Таблица 3 / Table 3

Структура системы ООПТ ЦЧР
The structure of the Central Chernozem Region SPNA system

Область ЦЧР / Region	Статус ООПТ/SPNA Status					
	Федерального значения / Of Federal significance		Областного значения / Of regional significance		Местного значения / Of local importance	
	Площадь, га / Area, ha	Кол-во, шт. / Quantity, pcs	Площадь, га / Area, ha	Кол-во, шт. / Quantity, pcs	Площадь, га / Area, ha	Кол-во, шт. / Quantity, pcs
Воронежская / Voronezh	76042	4	154626,2	211	188,3	41
Липецкая / Lipetsk	231	1	157798,7	166	187,8	20
Белгородская / Belgorod	2143	1	301106,9	314	89,2	17
Курская / Kursk	5288	1	14153,2	65	0	0
Тамбовская / Tambov	10320	1	127878,0	107	13283,0	2
ЦЧР / CCR	94024	8	755503,0	863	13748,3	80



Распоряжением Правительства РФ от 22 декабря 2011 г. № 2322-р утверждена Концепция развития системы ООПТ федерального значения на период до 2020 года. Основная цель Концепции заключалась в развитии системы ООПТ путем повышения эффективности государственного управления в сфере организации и функционирования системы ООПТ в интересах устойчивого развития Российской Федерации, обеспечения экологической безопасности, охраны биологического и ландшафтного разнообразия, сохранения и рационального использования природного и культурного наследия. По количеству ООПТ федерального значения Воронежская область занимает первое место – 4 объекта общей площадью 154626,2 га.

Основная доля (90,7%) приходится на памятники областного значения – 863 объекта по ЦЧР, в числе которых 24,4% приходится на Воронежскую область.

Создание новых особо охраняемых природных территорий и функционирование уже созданных сталкивается с рядом проблем, среди которых можно выделить основные:

1) ограничение природопользования на территории ООПТ приводит к возмущению местного населения, что требует дополнительных разъяснений в ходе проведения общественных обсуждений;

2) все особо охраняемые природные территории Воронежской области рассматриваются как независимые друг от друга объекты, и степень их объединения в единую систему не является предметом нормативно-правового регулирования;

3) территории областных ООПТ не имеют ограждений по периметру, что приводит к нарушениям режима охраны, которые сложно поддаются фиксации и часто остаются безнаказанными;

4) недостаточное информирование населения о необходимости создания ООПТ как инструмента сохранения природы и ее биологического разнообразия, тогда как успешное сохранение природы на таких территориях возможно только при непосредственной заинтересованности местного населения;

5) ООПТ Воронежской области подчинены разным ведомствам (федерального значения – Министерству природных ресурсов и экологии РФ, областного – Министерству природных

ресурсов и экологии Воронежской области, местного – районным администрациям), что затрудняет принятие решений, определяющих развитие единой сети ООПТ;

6) отсутствует единая система показателей, отражающих эффективность деятельности ООПТ по степени сохранности самой территории и по тенденциям её изменения;

7) длительность процесса согласования создания ООПТ в ряде случаев приводит к тому, что объект охраны за это время деградирует в результате интенсивной эксплуатации.

Заключение

Таким образом, для поддержания эффективного функционирования сети ООПТ необходима разработка программ экологического мониторинга, включающих систему определяемых показателей, с целью дальнейшего прогнозирования состояния ООПТ. Особое значение имеет экологический мониторинг ООПТ, расположенных в пределах городов, так как они выступают экологически эффективными территориями, выполняющими ряд экологических функций. Организация системного мониторинга на данных территориях будет способствовать более эффективному поддержанию их устойчивого функционирования.

Список литературы

1. Национальная Стратегия сохранения биоразнообразия России / [А. А. Алимов и др.]. Российская акад. наук, М-во природных ресурсов Российской Федерации. М. : [б. и.], 2001. 75 с.
2. Тарасова Н. П., Кручина Е. Б. Индексы и индикаторы устойчивого развития // Устойчивое развитие: ресурсы России / под общ. ред. академика РАН Н. П. Лаверова. М. : Издательский центр РХТУ им. Д. И. Менделеева, 2004. С. 43–76.
3. Алаева Л. А., Негрובה Е. А., Негрובה О. И. Система особо охраняемых природных территорий (ООПТ) Воронежской области // Живые системы – 2023 : сб. науч. ст. / под ред. А. С. Пархоменко, О. И. Юдаковой [Электронное издание сетевого распространения]. Саратов : СГУ имени Н. Г. Чернышевского, 2023. С. 133–136.
4. Перечень особо охраняемых природных территорий областного и местного значения на территории Воронежской области по состоянию на 01.01.2023. URL: http://www.oopt.aari.ru/system/files/documents/departament-prirodnih-resursov-i-ekologii-Voronezhskoy-oblasti/N2_10-01-2020.pdf (дата обращения: 29.09.2023).



References

1. Alimov A. A. i dr. *Natsional'naya Strategiya sokhraneniya bioraznoobraziya Rossii* [Alimov A. A. et al. The National Strategy for the Conservation of Biodiversity in Russia]. Russian Academy of Sciences, Ministry of Natural Resources of the Russian Federation. Moscow, 2001. 75 p. (in Russian).
2. Tarasova N. P., Kruchina E. B. Indices and indicators of sustainable development. In: *Ustoychivoye razvitiye: resursy Rossii. Pod red. N. A. Laverova* [Laverov N. A., ed. Sustainable development: Resources of Russia]. Moscow, Publishing Center of the D. I. Mendeleev Russian State Technical University Publ., 2004, pp. 43–76 (in Russian).
3. Alaeva L. A., Negrobova E. A., Negrobova O. I. The system of specially protected natural areas (SPNA) Voronezh Region. In: *Zhivyye sistemy – 2023: sb. nauch. st. Pod red. A. S. Parkhomenko, O. I. Yudakovoy* [Parkhomenko A. S., Yudakova O. I., eds. Living Systems – 2023: Coll. of sci. arts. Electronic edition of online distribution]. Saratov, Saratov State University Publ., 2023, pp. 133–136 (in Russian).
4. *The list of specially protected natural territories of regional and local significance in the territory of the Voronezh region as of 01.01.2023*. Available at: http://www.oopt.aari.ru/system/files/documents/departament-prirodnih-resursov-i-ekologii-Voronezhskoy-oblasti/N2_10-01-2020.pdf (accessed September 29, 2023) (in Russian).

Поступила в редакцию: 14.12.2023; одобрена после рецензирования 27.02.2024; принята к публикации 27.02.2024
The article was submitted 14.12.2023; approved after reviewing 27.02.2024; accepted for publication 27.02.2024

ISSN 1816-9775



24002

9 771816 977503

ISSN 1816-9775 (Print). ISSN 2541-8971 (Online)
Известия Саратовского университета. Новая серия.
Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Том 24, выпуск 2

ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА Новая серия

Серия: Акмеология образования. Психология развития
Серия: История. Международные отношения
Серия: Математика. Механика. Информатика
Серия: Науки о Земле
Серия: Социология. Политология
Серия: Физика
Серия: Филология. Журналистика
Серия: Философия. Психология. Педагогика
Серия: Химия. Биология. Экология
Серия: Экономика. Управление. Право

