

Сар. 2139  
278

ISSN 1814-733X

ISSN 1816-9775

# ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

Новая серия



2007

Том 7

Серия Химия. Биология. Экология  
Выпуск 1





САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО

# ИЗВЕСТИЯ

САРАТОВСКОГО  
УНИВЕРСИТЕТА  
Новая серия



Научный журнал  
2007 Том 7

Серия Химия. Биология. Экология, выпуск 1

Издается с 2001 года

Продолжение «Известий Императорского Николаевского Университета» 1901–1918 и «Ученых записок СГУ» 1923–1962

## СОДЕРЖАНИЕ

### Научный отдел

#### Химия

Ромадёнкина С.Б., Решетов В.А. Физико-химические основы получения топливных композиционных материалов из горючих сланцев 3

Адамова Е.М., Чернова Р.К. Некоторые подходы к экстракционно-фотометрическому определению местноанестезирующих веществ 7

Бурмистрова А.А., Доронин С.Ю. Реакция взаимодействия некоторых хинонов с 2,4-динитрофенилгидразином в мицеллярных средах катионных пав 10

Иноземцева О.А., Сипин С.В., Штыков С.Н., Курочкина Г.И., Грачев М.К., Панкин К.Е. Синтез амфифильных бромпроизводных β-циклодекстрина как потенциальных молекул-рецепторов для флуоресценции при комнатной температуре 15

Цивилева О.М., Панкратов А.Н., Никитина В.Е., Бычков Н.А., Лощина Е.А. Влияние некоторых неорганических соединений на активность внеклеточных лектинов гриба *Lentinus edodes* 21

Григорьева Э.А., Кривенько А.П. N,O-содержащие гетероциклы на основе алифатикоалициклических 1,3-дикарбонильных соединений. Синтез, строение, свойства 28

Голиков А.Г., Бугаев А.А. Синтез, стереохимия и реакции сопряженных циклогексаноидов с N-нуклеофильными реагентами 33

Сорокин В.В. Синтез, строение, реакции поликарбонилзамещенных соединений циклогексанового ряда 42

Федусенко И.В., Кленин В.И., Клохтина Ю.И., Максименко Б.Н., Перовский Э.В. Влияние электромагнитного поля СВЧ-диапазона на морфологию водных растворов поливинилового спирта 48

#### Биология

Плешакова Е.В., Голубев С.Н., Турковская О.В. Биodeградация нефтяных углеводов штаммом *Dietzia Maris*, ее генетические особенности 54

Стеланова Е.В., Игнатов В.В. Влияние ионов кадмия на активность аминотрансфераз у потомства самок белых крыс 57

Бойко А.С., Коннова О.Н., Коннова С.А., Федоненко Ю.П., Игнатов В.В. Характеристика липополисахарида диазотрофных ризобактерий *Azospirillum Brasilense* sr 55 60

Завьялов Е.В., Шляхтин Г.В. Основные тенденции в динамике распространения птиц на севере Нижнего Поволжья в условиях изменения климата 63

#### Экология

Пискунов В.В., Давиденко Т.Н. Изменение экологической емкости лесных местообитаний под воздействием рекреации (на примере сообществ птиц) 71

Кожевникова Н.И., Кожевников Н.В., Гольдфейн М.Д. Экологическое мировоззрение как составная часть культуры человеческого общества 74

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор  
Коссович Леонид Юрьевич

Заместитель главного редактора  
Усанов Дмитрий Александрович

Ответственный секретарь  
Клоков Василий Тихонович

### Члены редакционной коллегии

Аврус Анатолий Ильич  
Белов Владимир Николаевич  
Бучко Ирина Юрьевна  
Вениг Сергей Борисович  
Дыльников Геннадий Васильевич  
Захаров Андрей Михайлович  
Зимняков Дмитрий Александрович  
Кабанин Вячеслав Кузьмич  
Комкова Галина Николаевна  
Лебедева Ирина Владимировна  
Левин Юрий Иванович  
Мирзеханов Велихан Салманханович  
Монахов Сергей Юрьевич  
Первушов Евгений Михайлович  
Прозоров Валерий Владимирович  
Прохоров Дмитрий Валентинович  
Смирнов Анатолий Константинович  
Сперанский Дмитрий Васильевич  
Федотова Ольга Васильевна  
Худяков Глеб Иванович  
Чумаченко Алексей Николаевич  
Шляхтин Геннадий Викторович

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ СЕРИИ

Главный редактор  
Шляхтин Геннадий Викторович

Заместитель главного редактора  
Федотова Ольга Васильевна

Ответственный секретарь  
Шиповская Анна Борисовна

### Члены редакционной коллегии

Аникин Василий Викторович  
Болдырев Владимир Александрович  
Казаринов Иван Алексеевич  
Кленин Виталий Иосифович  
Кривенько Адели Павловна  
Кузьмина Раиса Ивановна  
Муштакова Светлана Петровна  
Стеланов Сергей Александрович  
Чернова Римма Кузьминична

### Зарегистрировано

в Министерстве Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций. Свидетельство о регистрации СМИ ПИ № 77-7185 от 30 января 2001 года







## ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСЕЙ

Журнал принимает к публикации общетеоретические, методические, дискуссионные, критические статьи, результаты исследований по всем научным направлениям.

К статье прилагаются сопроводительное письмо, внешняя рецензия и сведения об авторах: фамилии, имена и отчества (полностью), рабочий адрес, телефоны, e-mail.

1. Рукописи объемом не более 1 печ. листа, не более 8 рисунков принимаются в редакцию в бумажном и электронном вариантах в 1 экз.:

а) бумажный вариант должен быть напечатан через один интервал шрифтом 14 пунктов. Рисунки выполняются на отдельных листах. Под рисунком указывается его номер, а внизу страницы – Ф.И.О. автора и название статьи. Подписанные подписи печатаются на отдельном листе и должны быть самодостаточными.

б) электронный вариант в формате Word представляется на дискете 3,5 или пересылается по электронной почте. Рисунки представляются в виде отдельных файлов в формате PCX, TIFF или GIF.

2. Требования к оформлению текста.

Последовательность предоставления материала: индекс УДК; название статьи; инициалы и фамилии авторов, аннотация (на русском и английском языках); текст статьи; библиографический список; таблицы; рисунки; подписи к рисункам.

В библиографическом списке нумерация источников должна соответствовать очередности ссылок на них в тексте.

Ведущий редактор

Бучко Ирина Юрьевна

Редактор

Трушина Валентина Александровна

Технический редактор

Агальцова Людмила Владимировна

Художник

Соколов Дмитрий Валерьевич

Верстка

Щербачева Ирина Викторовна

Корректор

Васильева Наталья Юрьевна

Адрес редакции

410012, Саратов, ул. Астраханская, 83  
Издательство Саратовского университета

Тел.: (845-2) 52-26-89, 52-26-85

E-mail: izdat@sgu.ru

Подписано в печать 20.03.2007.

Формат 60x84 1/8.

Усл. печ. л. 9,76(10,5). Уч.-изд. л. 8,2.

Тираж 500 экз. Заказ 68.

Отпечатано в типографии

Издательства Саратовского университета

© Саратовский государственный  
университет, 2007

## CONTENTS

### Scientific Part

#### Chemistry

- Romadyonkina S.B., Reshetov V.A. Physicochemical Principles of Obtaining Fuel Composite Materials from Oil-Shales 3

- Adamova E.M., Chernova R.K. Some Approaches to Extraction-Photometric Detection of Local Anesthetics Substances 7

- Burmistrova A.A., Doronin S.U. Reaction of Interaction of Some Quinones with 2,4-Dinitro-phenylhydrazine in the Cation Surfactants Micellar Media 10

- Inozemtseva O.A., Sipin S.V., Shtykov S.N., Kurochkina G.I., Gratchev M.K., Pankin K.E. Synthesis of Amphiphilic  $\beta$ -Cyclodextrin Bromoderivatives as Potential Receptor Molecules for Room Temperature Phosphorescence 15

- Tsivileva O.M., Pankratov A.N., Nikitina V.E., Bychkov N.A., Loshchinina E.A. Effect of the Selected Inorganic Compounds on the Lectin Activity and Morphogenesis of the Basidiomycete *Lentinus edodes* 21

- Grigoreva E.A., Kriven'ko A.P. N,O-Containing Heterocycles Based on Aliphatico-Alicyclic 1,3-Dicarbonyl Compounds: Their Synthesis, Structure and Properties 28

- Golikov A.G., Bugaev A.A. The Synthesis, Stereochemistry and Reactions of Conjugated Cyclohexadienones with N-Nucleophilic Reagents 33

- Sorokin V.V. Synthesis, Structure, Reactions of Polycarbonyl Substituted Cyclohexanes 42

- Fedusenko I.V., Klenin V.J., Klokhtina Yu.I., Maximenko B.N., Perovsky E.V. Influence of Microwaves on the Morphology of Aqueous Solutions of Polyvinyl Alcohol 48

#### Biology

- Pleshakova E.V., Golubev S.N., Turkovskaya O.V. Biodegradation of Petroleum Hydrocarbons by Strain *Dietzia Maris* and Its Genetic Peculiarities 54

- Stepanova E.V., Ignatov V.V. Influence of Cadmium Ions on Aminotransferase Activity in the Offspring of White Female Rats 57

- Boyko A.S., Konnova O.N., Konnova S.A., Fedonenko Yu.P., Ignatov V.V. Characterization of the Lipopolysaccharide of the Diazotrophic Rhizobacterium *Azospirillum Brasilense* Sr55 60

- Zavialov E.V., Shlyakhtin G.V. Main Trends in Bird Propagation Dynamics in the Northern Lower-Volga Region under Varying Climate Conditions 63

#### Ecology

- Piskunov V.V., Davidenko T.N. Recreation Changing of Forest Habitat Ecological Capacity (on Bird's Community Example) 71

- Kozhevnikova N.I., Kozhevnikov N.V., Goldfein M.D. Ecological World Outlook as a Component of Culture of Human Society 74

## ХИМИЯ

УДК 541.1

### ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПОЛУЧЕНИЯ ТОПЛИВНЫХ КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ ИЗ ГОРЮЧИХ СЛАНЦЕВ

С.Б. Ромадёнкина, В.А. Решетов

Саратовский государственный университет,  
кафедра физической химии  
E-mail: ReshetovVA@chem.sgu.ru

Экспериментально доказано, что горючие сланцы и продукты их переработки могут быть использованы в качестве органоминеральных наполнителей топливных композиционных материалов с горючими матрицами для получения брикетов (прессматериалов). Удельная теплота сгорания сланцевых композиционных материалов находится на уровне теплоты сгорания традиционных видов твердого топлива (каменного угля, древесины и торфа). В качестве матриц топливных композиционных материалов рекомендовано использовать твердые нефтешламы – горючие отходы переработки и транспортировки нефти. Наилучшими модифицирующими агентами нефтешламов для повышения теплотворной способности являются органические и минеральные окислители. Самым сильным активирующим эффектом обладают органические пероксиды: гидропероксид кумола и перекись бензоила.

#### Physicochemical Principles of Obtaining Fuel Composite Materials from Oil-Shales

S.B. Romadyonkina, V.A. Reshetov

The goal of the work was to develop the physicochemical principles of producing solid composite fuel from oil-shales.

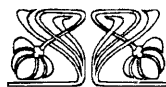
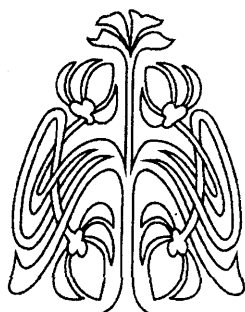
It has been experimentally proven that oil-shales and their derivatives can be used as organo-mineral fillers for fuel composite materials with combustible matrices for producing briquettes (press materials). The specific combustion heat of oil-shale composite materials is comparable with that of the traditional kinds of solid fuel (bituminous coal, wood, and peat).

Solid oil-slimes (combustible wastes of oil processing and transporting) are recommended to be used as matrices of fuel composite materials. Organic and mineral oxidants are the best modifying agents for oil-slimes, they enhance their heat of combustion. Organic peroxides such as cumol hydroperoxide and benzoi peroxide possess the strongest activating effect.

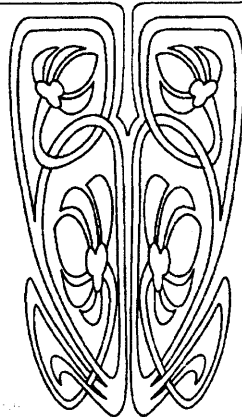
Oil-shales contacts with oils in various oil-fields lead to a substantial enhancement of their heat properties and a decrease of their ash content.

Разработка новых энергетически выгодных и экологически безопасных технологий комплексного использования горючих сланцев представляет собой актуальную задачу. Экономическая целесообразность обусловлена доступностью и низкой стоимостью сланцев. Общие запасы горючих сланцев в России оцениваются сотнями миллиардов тонн, в том числе в Поволжье – 10 млрд т. В Российской Федерации действуют крупные предприятия по комплексной переработке сланцев (ООО «Ленинградсланец», ООО «Сызранский сланцехимический завод» и др.) с получением тепловой энергии и различных химических продуктов: битума, бензола, тиофена, толуола и ксилола, серы, альбихтола, керогена.

Целью работы являлась разработка физико-химических основ получения твердого композиционного топлива из горючих сланцев.



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ







Определение теплотворной способности сланцев и других видов твердого топлива проводилось путем измерения площади интегрального теплового эффекта (град·с/г) процесса их термоокислительной деструкции (ТОД) методом дифференциального термического анализа (ДТА) и перевода этого процесса в удельные энергетические единицы (кДж/г) [1]. Перевод площади теплового эффекта в теплоту процесса ТОД осуществлялся по специально построенной калибровочной кривой, изображенной на рис.1, на которой приведены значения удельных тепловых процессов химических реакций, фазовых переходов и других процессов реперных веществ (коэффициент пересчета равен 0,56 Дж/град·с). Результаты исследования взаимосвязи удельной теплоты сгорания топлива  $Q_{\text{сгор}}$  (Дж/г) и интегрального теплового эффекта процесса термоокислительной деструкции  $Q_{\text{тод}}$  в энергетических единицах Дж/г представлены на рис.2.

Как видно из рис.2, между теплотой сгорания различных видов топлива и удельным тепловым эффектом процессов их термоокислительной деструкции наблюдается линейная зависимость. При этом совершенно естественным выглядят более низкие значения  $Q_{\text{тод}}$  топлива по сравнению с его удельной теплотворной способностью  $Q_{\text{сгор}}$ . Это означает, что термогравиметрический метод вполне может быть применен для оценки теплотворной способности исследуемых объектов. Из рис.2 следует, что сланцы исследуемых месторождений обладают весьма низкой теплотворной способностью по сравнению с другими видами твердого топлива: антрацитом; древесным, каменным и бурым

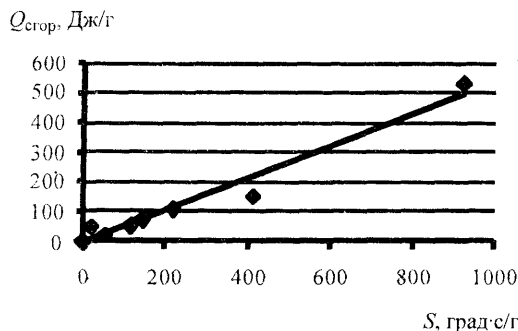


Рис.1. Зависимость удельного теплового эффекта физико-химических процессов  $Q_p$  (Дж/г), происходящих в реперных веществах, от их площади, определяемой методом ДТА

углями; древесиной. Низкая теплота сгорания сланцев обусловлена их высокой зольностью и равновесной влажностью. Отсюда следует вывод, что сланцы сами по себе не могут быть рекомендованы в качестве высококалорийного твердого топлива. Для повышения теплотворной способности сланцев их необходимо компаундировать с матрицами, обладающими высокой теплотой сгорания.

Эффективным путем повышения теплоты сгорания сланцев и экологической безопасности сланцеперерабатывающих предприятий является введение их в качестве наполнителя в органические матрицы с высокой теплотворной способностью, например: в нефтешламы, сливные отходы, твердые остатки (отходы стеаринового производства) и т.п. Конечный продукт модифицирования сланцев – композиционный топливный материал.

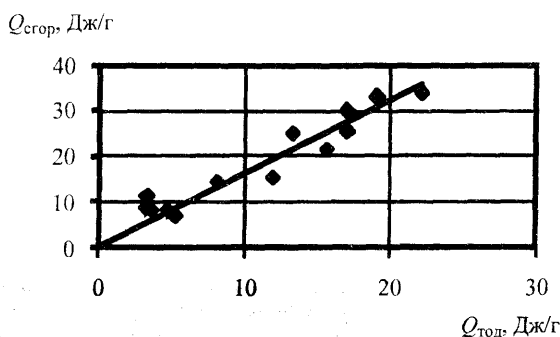


Рис.2. Зависимость удельной теплоты сгорания различных видов твердого топлива  $Q_{\text{сгор}}$  от удельного теплового эффекта  $Q_{\text{тод}}$ , определяемого методом ДТА

Нефтешламы – отдельная группа отходов химических отраслей промышленности – остатки, содержащие твердую и жидкую фазы (осадки после фильтрования, седиментации, нейтрализации). Нефтешламы образуются при перегонке, транспортировке и хранении нефти и могут быть применены в нефтеперерабатывающей промышленности для получения разнообразных композиционных материалов с необходимыми свойствами [2].

Представленные в табл. 1–2 экспериментальные результаты показывают, что пиролиз различных видов сырья протекает преимущественно в две стадии, причем их энергия активации практически не изменяется, а лишь отличаются по порядку реакции. Следовательно, процессы протекают по одной и той же кинетической схеме.





Экспериментально показано, что из числа матриц наиболее высоким удельным тепловым эффектом процессов термоокислительной деструкции обладают нефтяной шлам (ОАО «Российские железные дороги») и отходы стеаринового производства (ООО «Жировой комбинат», г. Саратов).

Изучено влияние органических и неорганических окислителей на теплотворную способность матриц. Установлено, что при одинаковых количествах (10%) введенных окислителей наибольшим положительным эффектом по повышению теплотворной способности обладают органические пероксиды: пероксид бензоила (ПБ) и гидропероксид кумола (ГПК). К внедрению в практике рекомендованы следующие композиции для получения композиционных материалов топливного назначения: матрица (НШ + окислитель или ОСП + окислитель) – 50–60%; сланцевый наполнитель – 50–40%.

В связи с низкой теплотворной способностью и экологической опасностью сланцевые прессованные материалы в самостоятельном варианте не могут быть рекомендованы к внедрению в качестве топлива. Однако в сочетании с органическими матрицами (нефтешламами, отходами стеаринового производства и др.) в присутствии окислителей, а также других горючих наполнителей сланцы могут служить активными компонентами для получения композиционных материалов топливного назначения с удельной теплотворной способностью на уровне известных видов твердого топлива (древесины, бурого угля, торфа).

Таким образом, исследована принципиальная возможность получения альтернативных топливных композиционных материалов на основе сланцев и природных многокомпонентных матриц, обладающих высокой теплотворной способностью, разработаны составы этих материалов.

Одним из эффективных путей повышения теплотворной способности низкосортных видов топлива является обогащение их по органической составляющей (снижение зольности). Это достигается не только соединением низкосортного топлива с различными органическими матрицами, но и извлечением тяжелых (битумных, парафиноцерезиновых) фракций из жидких органиче-

ских природных (нефть) и техногенных (нефтешламы, сливные отходы) сред.

Было показано [3–4], что при взаимодействии натуральных сланцев с нефтью различных месторождений происходит их взаимное обогащение (сланцев – тяжелыми фракциями, нефти – легкими и средними фракциями) с одновременным улучшением топливных кондиций сланцев и ректификационных свойств нефти. В развитие этих исследований были проведены эксперименты по изучению процесса контактирования перелюбского сланца и якушкинской нефти в непосредственной близости их территориального расположения.

Контактирование двух природных объектов производилось преимущественно в режиме естественной фильтрации нефти через слой сланца при комнатной температуре. Исследованию подвергались сланцы и нефти других месторождений. Результаты представлены в табл.3. Как видно из табл.3, после контактирования с нефтью сланец Перелюбо-Благодатовского месторождения обогащается органическими фракциями нефти с 33 до 66% с одновременным снижением зольности с 62 до 30%. Получены доказательства увеличения теплотворной способности сланца, обогащенного нефтепродуктами, на 20–32% по сравнению с исходным сланцем.

#### Выводы

1. Экспериментально доказано, что горючие сланцы и продукты их переработки могут быть использованы в качестве органических наполнителей топливных композиционных материалов с горючими матрицами для получения брикетов (прессматериалов). Удельная теплота сгорания сланцевых композиционных материалов находится на уровне теплоты сгорания традиционных видов твердого топлива (каменного угля, древесины и торфа).

2. В качестве матриц топливных композиционных материалов рекомендовано использовать твердые нефтешламы – горючие отходы переработки и транспортировки нефти. Наилучшими модифицирующими агентами нефтешламов для повышения теплотворной способности являются органические и минеральные окислители. Самым сильным





Таблица 1

Физико-химические характеристики многокомпонентных сырьевых продуктов – матриц топливных композиционных материалов на основе сланцев

| №  | Вид многокомпонентного сырья        | $t_{\text{тод}}, ^\circ\text{C}$ | $E_1, \text{кДж/моль}$ | $n_1$ | $t_{2\text{тод}}, ^\circ\text{C}$ | $E_2, \text{кДж/моль}$ | $n_2$ | $W, \%$ | $Z, \%$ | $Q_{\text{тод}}, \text{кДж/г}$ |
|----|-------------------------------------|----------------------------------|------------------------|-------|-----------------------------------|------------------------|-------|---------|---------|--------------------------------|
| 1  | НШ обезвоженный (ст.Аксарайск)      | 240                              | 9,5                    | 2,4   | 450                               | 10,3                   | 2,2   | 2       | 1       | 6,0                            |
| 2  | НШ + $\text{KNO}_3$ (10%)           | 270                              | 9,8                    | 1,7   | 460                               | 10,3                   | 1,6   | 2       | 3–4     | 8,3                            |
| 3  | НШ + $\text{NH}_4\text{NO}_3$ (10%) | 260                              | 9,8                    | 1,8   | 450                               | 10,0                   | 1,9   | 2       | 2       | 7,2                            |
| 4  | НШ + $\text{Fe}_2\text{O}_3$ (10%)  | 275                              | 9,6                    | 2,9   | 460                               | 10,2                   | 1,7   | 2       | 4       | 6,5                            |
| 5  | НШ + ПБ (10%)                       | 260                              | 9,8                    | 2,1   | 460                               | 10,2                   | 2,2   | 5       | 1–2     | 10,2                           |
| 6  | НШ + ГПК (10%)                      | 260                              | 9,9                    | 2,0   | 450                               | 9,9                    | 2,0   | 4       | 2–3     | 10,8                           |
| 7  | НШ (ст. Татьяна)                    | 270                              | 10,2                   | 1,4   | 440                               | 10,0                   | 0,7   | 18      | 5       | 8,1                            |
| 8  | НШ (ст. Нефтяная)                   | 250                              | 10,8                   | 1,99  | 420                               | 9,7                    | 1,1   | 3       | 5       | 10,7                           |
| 9  | Отход стеаринового производства     | 280                              | 9,7                    | 2,7   | 440                               | 10,3                   | 1,1   | 5       | 1       | 5,5                            |
| 10 | Нефть Саратовская                   | 270                              | 9,4                    | 2,0   | 470                               | 10,1                   | 1,3   | 0       | 0       | 7,7                            |
| 11 | Нефть Жирновская                    | 290                              | 10,1                   | 2,9   | 470                               | 10,1                   | 1,2   | 0       | 0       | 7,7                            |
| 12 | Нефть Якушкинская                   | 290                              | 10,0                   | 2,7   | 470                               | 10,1                   | 1,2   | 0       | 0       | 7,3                            |
| 13 | Битум аккумуляторный                | 230                              | 9,5                    | 1,1   | 470                               | 10,1                   | 1,8   | 0       | 0       | 8,1                            |

Примечание. НШ – нефтешлам.

Таблица 2

Физико-химические характеристики многокомпонентного сырья – наполнителей топливных композиционных материалов

| №  | Вид многокомпонентного сырья   | $t_{\text{тод}}, ^\circ\text{C}$ | $\tau_{\text{тод}}, \text{мин}$ | $E_1, \text{кДж/моль}$ | $n_1$ | $W, \%$ | $Z, \%$ | $Q_{\text{тод}}, \text{кДж/г}$ |
|----|--------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|------------------------|-------|---------|---------|--------------------------------|
| 1  | Перелюбо-Благодатовский сланец | 190                              | 17                              | 10,9                   | 2,3   | 5       | 59      | 4,7                            |
| 2  | Коцебинский сланец             | 180                              | 9,2                             | 9,2                    | 1,31  | 5       | 60      | 3,5                            |
| 3  | Кашпирский сланец              | 180                              | 9,2                             | 9,2                    | 1,7   | 5       | 46      | 3,4                            |
| 4  | Вурнарский сланец              | 160                              | 9,3                             | 9,3                    | 1,58  | 1,5     | 30      | 5,0                            |
| 5  | Ленинградский сланец           | 230                              | 15                              | 10,4                   | 2,4   | 3       | 50      | 3,4                            |
| 7  | Антрацит                       | 220                              | 20                              | 9,3                    | 2,6   | 5       | 0       | 22,0                           |
| 8  | Каменный уголь ПЖД             | 240                              | 21                              | 10,4                   | 2,5   | 0       | 65      | 17,3                           |
| 9  | Древесный уголь                | 220                              | 20                              | 9,3                    | 2,5   | 55      | 1–2     | 14,7                           |
| 10 | Древесные опилки               | 240                              | 22                              | 9,9                    | 1,7   | 8       | 3       | 17,6                           |
| 11 | Торф                           | 200                              | 18                              | 10,3                   | 1,1   | 9       | 5       | 11,9                           |
| 12 | Отход производства гречихи     | 230                              | 21                              | 10,0                   | 1,7   | 10–12   | 2       | 15,6                           |
| 13 | Кокосовая стружка              | 140                              | 12                              | 11,0                   | 1,2   | 4       | 6       | 17,9                           |
| 14 | Осадок сточных вод             | 200                              | 18                              | 10,3                   | 2,2   | 1       | 58      | 8,8                            |
| 15 | НШ + ГПК + ДО                  | 230                              | 23                              | 9,3                    | -     | 1       | 2       | 9,5                            |
| 16 | НШ + ГПК + кокосовая стружка   | 220                              | 20                              | 9,2                    | -     | 2       | 13      | 8,8                            |
| 17 | НШ + ГПК + НГС                 | 200                              | 19                              | 9,0                    | -     | 0       | 16      | 7,2                            |

Таблица 3

Основные характеристики сланцев до и после обработки их нефтями различных месторождений (по термогравиметрическим данным)

| Месторождение сланца и нефти                       | Кероген, мас. % | Зольность, мас. % | Влажность, мас. % | Карбонаты, мас. % | Тепловой эффект процесса ТОД сланца, кДж/г |
|----------------------------------------------------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------------------|
| Перелюбо-Благодатовский сланец                     | 33,0            | 62,0              | 2,0               | 3,0               | 4,7                                        |
| Перелюбо-Благодатовский сланец / Саратовская нефть | 60,0            | 35,0              | 3,0               | 2,0               | 5,9                                        |
| Перелюбо-Благодатовский сланец / Якушкинская нефть | 66,0            | 30,0              | 3,0               | 1,0               | 6,2                                        |
| Коцебинский сланец                                 | 27,5            | 59,0              | 4,5               | 9,0               | 3,5                                        |
| Коцебинский сланец / Саратовская нефть             | 44,0            | 47,0              | 3,0               | 6,0               | 4,2                                        |
| Ленинградский сланец                               | 32,0            | 52,0              | 0                 | 16,0              | 3,4                                        |
| Ленинградский сланец / Жирновская нефть            | 54,0            | 33,0              | 1,0               | 12,0              | 4,4                                        |





активирующим эффектом обладают органические пероксиды: гидропероксид кумола и перекись бензоила.

Контактирование сланцев с нефтями различных месторождений приводит к существенному повышению их топливных кондиций и снижению зольности.

#### Библиографический список

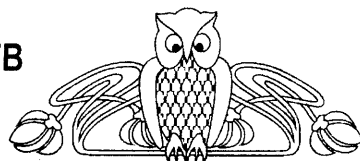
1. Солнцев Ю.П. и др. Материаловедение. М.: МИСИС, 1999. 600 с.
2. Ромаденкина С.Б., Овчинникова И.В., Решетов В.А. и др. Калориметрические исследования процессов получения эпоксидно-сланцевых композиционных материалов в динамическом режиме // Новые химические технологии: производство и применение: Сб. ст. IV Всерос. науч.-техн. конф. Пенза: ПДЗ, 2002. С.110–113.
3. Пат. № 2125065 РФ. МКИ 6С08L9/00, 23/22. Композиции для изготовления резинотехнических изделий / В.Г. Каширский, В.А. Решетов, В.С. Мартынов и др. Оpubл. 20.02.97. Бюл. № 2.
4. Принципы создания композиционных материалов / А.А. Берлин и др. М.: Химия, 1990. 240 с.

УДК 543.422.3:543.4

## НЕКОТОРЫЕ ПОДХОДЫ К ЭКСТРАКЦИОННО-ФОТОМЕТРИЧЕСКОМУ ОПРЕДЕЛЕНИЮ МЕСТНОАНЕСТЕЗИРУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ

Е.М. Адамова, Р.К. Чернова

Саратовский государственный университет,  
кафедра аналитической химии и химической экологии  
E-mail: Chernova RK@info.sgu.ru

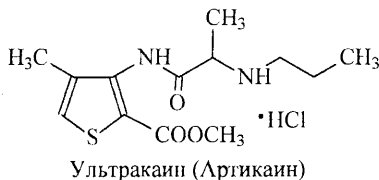


Сформулированы подходы к поиску цветных реакций на некоторые местные анестетики. Исследована реакция взаимодействия лидокаина с метиловым оранжевым. Установлен состав ассоциата и оценена возможность применения данной реакции для экстракционно-фотометрического определения лидокаина.

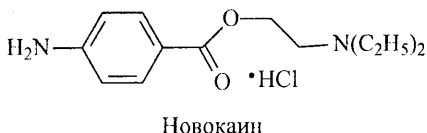
### Some Approaches to Extraction-Photometric Detection of Local Anesthetics Substances

E.M. Adamova, R.K. Chernova

Approaches to search of color reaction on local anesthetics are formulated. Reaction of interaction of lidocaine with methyl orange is investigated. The structure is established and the opportunity of application of the given reaction for extraction-photometric definition of lidocaine is appreciated.



К местноанестезирующим веществам относится группа соединений:



Все они в настоящее время активно применяются в медицинской практике. Механизм действия местных анестезирующих веществ заключается в нарушении электрохимических процессов в нервных волокнах. Накапливаясь внутри клетки, они блокируют прохождение болевого импульса с периферии к ЦНС – отсюда обезболивание.

Фотометрическое определение новокаина и анестезина в биологических средах и лекарственных формах не представляет больших затруднений, так как благодаря наличию первичной аминогруппы эти соединения вступают в реакции конденсации, диазотирования и азосочетания, образуя интенсивно окрашенные продукты реакции.





Наибольшую трудность для определения представляют местноанестезирующие вещества, не содержащие первичной аминогруппы. Фотометрические методы определения для них практически не разработаны. В фармацевтической практике их определяют, как правило, либо титрованием по  $\text{NH}$ -группе в спиртовой среде раствором  $\text{NaOH}$  с тимолфталейном, или титрованием в ДМФА, по образованию комплексных соединений с двухвалентными ионами d-металлов ( $\text{Co (II)}$ ,  $\text{Cu (II)}$ ), нитрованием концентрированной  $\text{HNO}_3$  с последующей обработкой  $\text{KOH}$ .

Такие реакции малоэффективны, так как с их помощью можно количественно определить лишь содержание основного вещества в лекарственных средствах. Для биологических сред и других сложных объектов они не применимы.

Цель настоящего исследования состояла в изыскании реакций других типов, пригодных для фотометрического определения малых концентраций всей группы местноанестезирующих веществ.

В связи с этим нами был сформулирован ряд принципов, положенных в основу поиска новых цветных реакций на указанную группу анестетиков:

1. Рассматриваемые соединения способны протонироваться по азоту аминогруппы, и, следовательно, в кислых средах они находятся преимущественно в виде катионов.

2. Цветные реакции возможны в том случае, если существуют окрашенные (с хорошо выраженной хромофорной системой) анионы, способные образовывать достаточно устойчивые ионные ассоциаты с катионами местных анестетиков (кислые среды).

3. Такие ассоциаты должны быть способны экстрагироваться в фазу органического растворителя, в то время как сам анион не должен обладать такой способностью.

Для реализации указанных принципов нами исследовался ряд специально подобранных хромофорных органических реагентов, содержащих сульфогруппу, способную диссоциировать в достаточно кислых средах [1] и таким образом обеспечивать отрицательный заряд реагенту-противоиону. Исследованные реагенты приведены в таблице.

Экстракционная способность органических реагентов и их ассоциатов с лидокаином (экстрагент хлороформ,  $\text{pH} = 4,2$ )

| №  | Реагент                  | Экстрагируемость в хлороформ |          |
|----|--------------------------|------------------------------|----------|
|    |                          | реагент                      | ассоциат |
| 1  | Арсеназо I               | —                            | —        |
| 2  | Арсеназо III             | —                            | —        |
| 3  | Бериллон II              | —                            | —        |
| 4  | Бромкрезоловый зелёный   | +                            | +        |
| 5  | Бромкрезоловый пурпурный | +                            | +        |
| 6  | Бромпирогаловый красный  | —                            | —        |
| 7  | Индигокармин             | +                            | +        |
| 8  | Нитрозо-R-соль           | —                            | +        |
| 9  | Стильбазо                | —                            | —        |
| 10 | Хромазурол S             | +                            | +        |
| 11 | Цинкон                   | +                            | +        |
| 12 | Бромфеноловый синий      | —                            | +        |
| 13 | Метилловый оранжевый     | —                            | +        |
| 14 | Тропеолин O              | +                            | +        |
| 15 | Тропеолин OO             | +                            | +        |
| 16 | Тропеолин OOO            | +                            | +        |
| 17 | Эриохром чёрный T        | +                            | +        |

Примечание. «+» — экстрагируется в хлороформ, «—» — не экстрагируется в хлороформ.

#### Экспериментальная часть

При выполнении работы были использованы следующие реагенты и их растворы:

1. 2% ( $7 \cdot 10^{-2}$  М) раствор лидокаина медицинского назначения (исходный раствор). Рабочий раствор с концентрацией  $7 \cdot 10^{-3}$  М готовили последовательным разбавлением исходного раствора в день использования.

2. Бромфеноловый синий (ч.д.а.) (концентрация рабочего раствора  $4 \cdot 10^{-3}$  М).

3. Метилловый оранжевый (МО) (ч.д.а.) (концентрация рабочего раствора  $9 \cdot 10^{-3}$  М).

4. Тропеолин O (ч.д.а.) (концентрация рабочего раствора  $10 \cdot 10^{-3}$  М).

5. Тропеолин OO (ч.д.а.) (концентрация рабочего раствора  $8 \cdot 10^{-3}$  М).

6. Тропеолин OOO (ч.д.а.) (концентрация рабочего раствора  $8 \cdot 10^{-3}$  М).

7. Эриохром чёрный T (ч.д.а.) (концентрация рабочего раствора  $6 \cdot 10^{-3}$  М).

8. Реагенты, представленные в таблице с №1–12, — индикаторы.

9. Хлорид калия (х.ч.) (концентрация рабочего раствора 0,5 М).

10. Сульфат калия (х.ч.) (концентрация рабочего раствора 0,5 М).

11. Нитрат калия (х.ч.) (концентрация рабочего раствора 0,5 М).

12. Буфер ацетатный. Буферные растворы готовили согласно [2].

Примечание: Все используемые в данной работе растворы водные.

#### Аппаратура

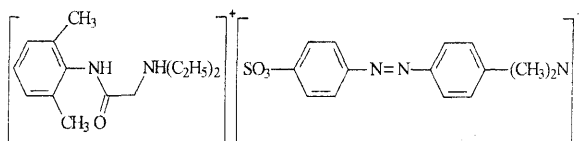
Электронные спектры поглощения снимали на спектрофотометре СФ-26. Значения рН измеряли на рН-метре/ милливольтметре рН-121 со стеклянным электродом.

Электрофореграммы снимали на бумажном носителе ( $t = 60$  мин,  $U = 500$  В).

Как видно из таблицы, вышеперечисленным требованиям соответствуют бромфеноловый синий (БФС), метиловый оранжевый (МО).

Дальнейшие исследования проводились в системе *лидокаин – метиловый оранжевый – хлороформ*.

Установлено, что при рН = 4,2 метиловый оранжевый в хлороформ не экстрагируется, однако в присутствии протонированного лидокаина наблюдается экстракция ассоциата метилового оранжевого с лидокаином в хлороформ:



Для доказательства формы существования МО в кислых средах проводились электрофоретические исследования. Было установлено, что при рН > 3 происходит диссоциация сульфогруппы, и метиловый оранжевый существует в форме аниона [1].

Для нахождения оптимального значения рН образования ионного ассоциата нами исследовалась зависимость оптической плотности ассоциата А от рН ацетатного буферного раствора (рис. 1).

Как видно, значение оптической плотности экстракта практически не изменяется в интервале рН = 4,0–4,6. Уменьшение оптической плотности при рН < 4 может быть связано с отсутствием диссоциации сульфогруппы МО, а уменьшение оптической плотности при рН > 4,6 – с уменьшением содержания протонированной формы лидокаина.

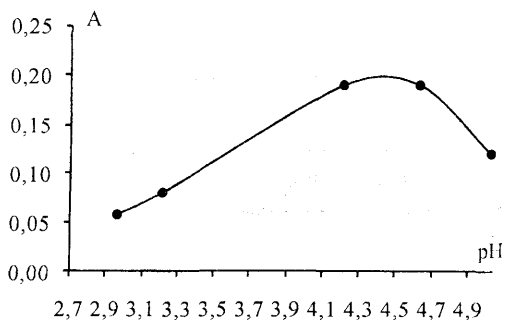


Рис. 1. Зависимость оптической плотности экстракта от рН ацетатного буферного раствора

В связи с этим оптимальным было выбрано значение рН = 4,2 (МО диссоциирован [1], лидокаин протонирован, рКа = 7,8 [3]).

Как указывалось, МО растворим в воде, но не растворим в хлороформе, а ассоциат его с лидокаином растворим в хлороформе.

Методом изомольярных серий [4] в хлороформном экстракте было установлено молярное соотношение компонентов в ионном ассоциате. Для этого исследовали стехиометрические соотношения компонентов С (лидокаин) : С (метиловый оранжевый) = 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4. Полученные значения оптической плотности, измеренные при  $\lambda = 430$  нм, представлены на рис. 2.

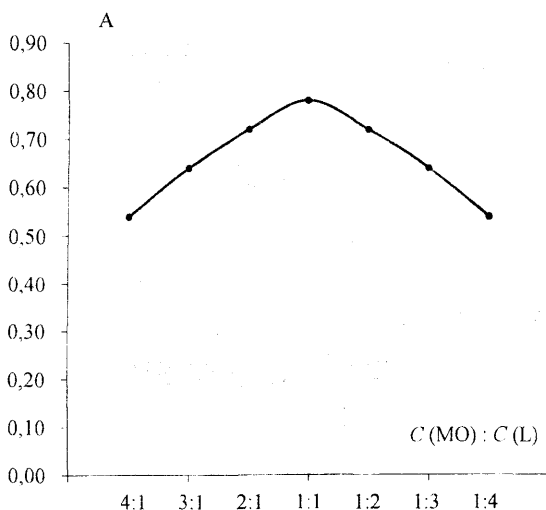


Рис. 2. Молярное соотношение компонентов в ассоциате МО с лидокаином

Кратность экстрагирования ассоциата равна 3, так как после трёхкратной экстракции оптическая плотность ассоциата не изменяется (общий объём хлороформа 15 мл).





Исследовалось также влияние электролитов ( $KCl$ ,  $KNO_3$ ) на экстракцию ионного ассоциата в хлороформ – «эффект высаливания». Оптическая плотность экстракта возрастает при добавлении электролита. Наибольшее высаливающее действие оказывает  $KNO_3$  при оптимальном добавляемом объёме 0,5 мл. Добавление  $KCl$  уменьшает оптическую плотность экстракта, так как подавляет диссоциацию лидокаина.

Для прикладных целей важен интервал линейной зависимости концентрации лидокаина от величины оптической плотности ассоциата. Для построения градуировочной зависимости смешивали 5 мл раствора лидокаина с 5 мл ацетатного буферного раствора ( $pH = 4,2$ ), добавляли 4 мл раствора метилового оранжевого и экстрагировали хлороформом 3 раза по 5 мл. Жёлтые экстракты переносили в колбу на 25,0 мл и разбавляли хлороформом до метки. Экстракты фотометрировали при  $\lambda_{max} = 430$  нм. Полученная зависимость представлена на рис.3.

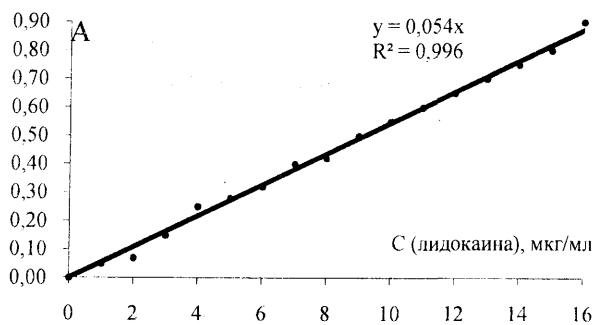


Рис.3. Градуировочная зависимость для определения концентрации лидокаина

Нижняя граница определяемых содержаний составляет 4,0 мкг/мл.

#### Выводы

Сформулированы принципы поиска цветных реакций на лидокаин как на представитель местных анестетиков, не содержащих первичной аминогруппы.

Найден путь подбора экстракционно-фотометрических реагентов на лидокаин; исследована модельная реакция взаимодействия лидокаина с метиловым оранжевым.

Установлено молярное соотношение компонентов в ионном ассоциате – 1:1.

Получена линейная зависимость оптической плотности ассоциата от концентрации лидокаина в экстракте (мкг/мл). Нижняя граница определяемых содержаний составляет 4,0 мкг/мл.

#### Библиографический список

1. Невердаускене З.П., Раманаускас Э.П. Константы диссоциации сульфогруппы трифенилметановых красителей: Науч. тр. вузов Литовской ССР // Химия и химическая технология. 1973. Т.15. С.23–27.
2. Рабинович В.А., Хавин З.Я. Краткий химический справочник. Л.: Химик, 1978. С.247–253.
3. Граник В.Г. Лекарства. Фармакологический, биохимический и химический аспекты. М.: Вузовская книга, 2001. С.194–195.
4. Булатов М.И., Калинин И.П. Практическое руководство по фотоколориметрическим и спектрофотометрическим методам анализа. 3-е изд., испр. и доп. Л.: Химия, 1972. С.228–229.

УДК 543.42.063:544.77.022.532.

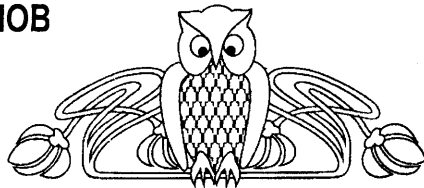
## РЕАКЦИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ ХИНОНОВ С 2,4-ДИНИТРОФЕНИЛГИДРАЗИНОМ В МИЦЕЛЛЯРНЫХ СРЕДАХ КАТИОННЫХ ПАВ

А.А. Бурмистрова, С.Ю. Доронин

Саратовский государственный университет,  
кафедра аналитической химии и химической экологии  
E-mail: DoroninSU@mail.ru

Изучено влияние катионных ПАВ (КПАВ) на реакцию взаимодействия хинонов с 2,4-динитрофенилгидразином (ДНФГ). Найдены оптимальные условия таких реакций с учетом состояния исходных реактантов в среде HCl. Показана возможность существен-

ного улучшения спектральных и аналитических характеристик системы *хинон – ДНФГ в мицеллярной среде КПАВ*: образование диконденсированных форм гидразонов (гипер- и батохромные эффекты) и стабилизация растворов в течение 1,5–2 суток.





## Reaction of Interaction of Some Quinones with 2,4-Dinitrophenylhydrazine in the Cation Surfactants Micellar Media

A.A. Burmistrova, S.U. Doronin

Influence of the cation surface-active materials (CSAM) on the reaction of interaction of quinones with 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) has been investigated. Optimal conditions for such reactions subject to the states of initial reactants in the HCl media were found. Possibility of considerable improvement of spectral and analytical characteristics of the quinone-DNPH system in the CSAM micellar media were demonstrated: generation of dicondensed forms of hydrazones (hyper- and bathochromic effects) and stabilization of the solutions within 36-48 hours.

Циклические дикетоны (хиноны) применяют в синтезе антрахиноновых красителей, органических пигментов, витаминов К<sub>1</sub> и К<sub>3</sub>, пестицидных препаратов как катализаторы синтеза каучука и полиакрилатов, окислительного дегидрирования [1–4]. При использовании кетонов необходим аналитический контроль за их содержанием в промышленных и природных объектах.

Простой и доступный фотометрический метод, основанный на реакции с 2,4-динитрофенилгидразином, широко применяется для определения кетонов. Сам реагент-основание неспособен существовать в аци-форме, но соответствующие гидразоны в щелочной среде превращаются в окрашенные аци-соли, по интенсивности окраски которых фотометрически определяют концентрацию исходного кетона [5].

Однако 2,4-динитрофенилгидразоны большинства кетонов или малорастворимы в воде [6], и поэтому не применимы в фотометрии, или имеют низкий выход их аналитической формы. Для увеличения растворимости 2,4-динитрофенилгидразонов и их выхода применяют органические растворители, а затем переводят их в соответствующие аци-соли раствором щелочи в этаноле [5]. В связи с этим методики фотометрического определения кетонов с данным реагентом имеют ряд существенных недостатков: работа с токсичными органическими растворителями (бензол, метанол, уксусная кислота и др.); 2-кратное экстрагирование (бутилацетат, н-гексан, циклогексан, петролейный эфир, хлороформ и др.), что увеличивает время анализа; нагревание реакционной смеси, в ряде случаев в течение 1 ч при 20–80°C.

Вышесказанное свидетельствует об актуальности поиска путей улучшения анали-

тических характеристик реакций фотометрического определения хинонов с ДНФГ. Одним из таких способов может быть применение мицеллярных сред поверхностно-активных веществ [7].

Целью настоящей работы явилось исследование влияния катионных ПАВ на реакцию взаимодействия ДНФГ с некоторыми хинонами и образование аци-солей соответствующих гидразонов. Объектами исследования выбраны: бензохинон (БХ) – простейший представитель циклических дикетонов (система а) и о-толухинон (о-ТХ), отличающийся пространственным расположением  $\text{C}=\text{O}$  групп и наличием  $\text{—CH}_3$  заместителя (система б).

*Экспериментальная часть.* В работе применяли  $1 \cdot 10^{-2}$  М этанольный раствор 2,4-динитрофенилгидразина, ч. (очищенный перекристаллизацией из н-бутанола) с добавлением 0,4–2,0 моль/л HCl. Бензохинон, о-толухинон, ч., очищали перекристаллизацией из этанола. Исходные этанольные растворы ( $1 \cdot 10^{-2}$  М) разбавляли этиловым спиртом до рабочей концентрации  $1 \cdot 10^{-3}$  М непосредственно перед употреблением. В качестве катионного ПАВ применяли моногидрат цетилпиридиния хлорида (ЦПХ), чда,  $\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{NCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ , ТУ–6–09–15–121–74.

Электронные спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре СФ-46 ( $\ell = 1$  и 5 см).

Реакция взаимодействия ДНФГ с хинонами в общем виде может быть представлена схемой 1.

Как видно из схемы 1, реакция протекает в две основные стадии. На первой стадии осуществляется конденсация реагента с хиноном в кислой среде с образованием либо моноконденсированного гидразона (III), либо диконденсированного гидразона – оазона (IV). На второй стадии реакции в щелочной среде образуется соль аци-формы соответствующего гидразона (V) или (VI). Оазоны (IV) и их аци-соли (VI) отличаются более длинной цепью сопряжения и как следствие интенсивностью окраски, что важно в фотометрии.

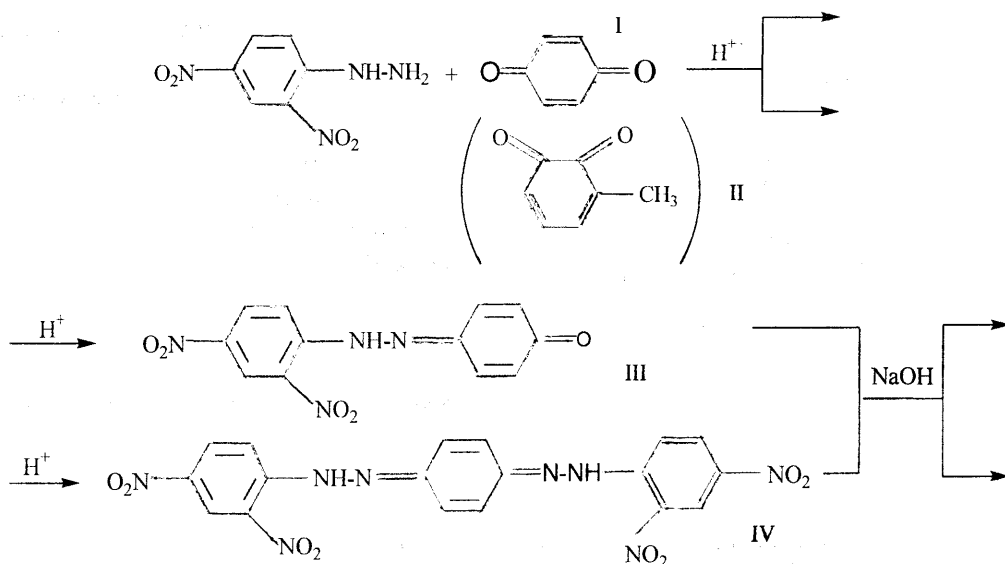
Спектрофотометрически исследованы реакции взаимодействия выбранных хинонов с 2,4-динитрофенилгидразином в водной и мицеллярной средах. В водной среде (рис. 1,



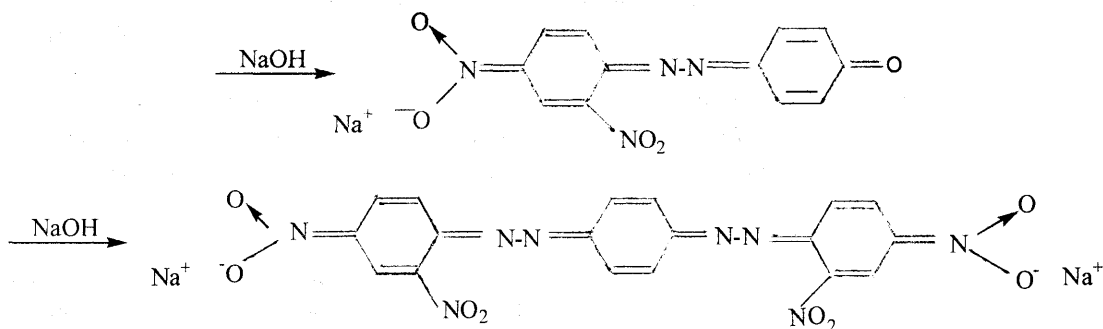


Схема 1

I стадия – конденсация реагентов с образованием гидразона:



II стадия – переход гидразона (озазона) в аци-форму:



кривые 1) как для системы (а), так и для системы (б) в электронных спектрах поглощения фиксируются размытые малоинтенсивные полосы с  $\lambda_{\text{макс}} = 520$  нм, отвечающие образованию в растворе преимущественно моноконденсированных аци-форм гидразонов, аналогичных V.

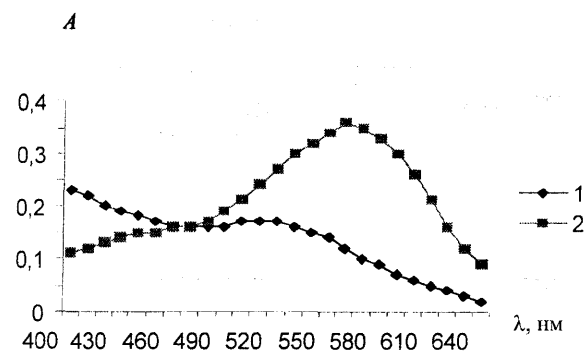
Растворы исследуемых систем (рис.1, а, б) в водной среде гомогенны и устойчивы в течение нескольких часов. Однако выход аци-формы гидразона V недостаточен для чувствительного определения исходных хинонов в этих условиях, о чем свидетельствуют размытые малоинтенсивные максимумы поглощения аци-форм их гидразонов.

Установлено, что применение мицелл ЦПХ существенно влияет на аналитические характеристики реакций: аци-соли озазонов, аналогичных VI, имеют более интенсивную

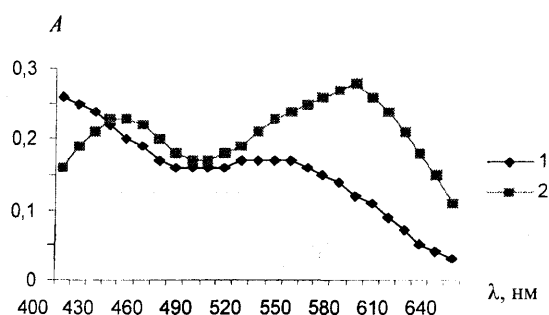
окраску (батохромное и гиперхромное смещение полосы поглощения при 520 нм (характерной для водной среды) до 560 и 580 нм для систем а и б соответственно (рис.1, кривые 2); устойчивость систем повышается до 1,5–2 суток.

Важнейшим фактором, определяющим выход гидразона III или озазона IV на первой стадии реакции, является кислотность среды (схема 1). Поэтому нами было исследовано состояние исходных реагентов в водной и мицеллярной средах при различной концентрации (0,01–2,0 моль/л) соляной кислоты. При этом происходит протонирование ДНФГ согласно схеме 2.

Реакционноспособной является в этой схеме непротонированная форма (а), электронный спектр поглощения которой характеризуется двумя максимумами: при 260 и



а



б

Рис.1. Спектры поглощения систем ДНФГ – БХ (а) и ДНФГ – о-ТХ (б): 1 –  $H_2O$ ; 2 – мицеллы ЦПХ;  $C_{\text{ДНФГ}} = 1 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{хинон}} = 1 \cdot 10^{-5}$  М;  $C_{\text{ЦПХ}} = 4 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{NaOH}} = 5 \cdot 10^{-2}$  М

360 нм (рис.2, кривая 1). В спектре поглощения протонированной формы (б) наблюдается гипсохромный и гипсохромный сдвиги полосы 360 нм на 40 нм (рис.2, кривая 3).

В оптимальных условиях реакции, определенных при варьировании концентраций  $HCl$  – для первой стадии реакции (рис.3),  $NaOH$  – для второй стадии (рис.4), реагентов и порядка их смешивания, времени установления равновесия и температуры (табл.1), в растворе ДНФГ ( $C_{HCl} = 0,03$  М) преобладает непротонированная реакционноспособная форма реагента (схема 2, а).

Спектр поглощения ДНФГ в присутствии мицелл ЦПХ (см. рис.2, кривая 4) аналогичен его спектру в водной среде, что свидетельствует об отсутствии влияния КПАВ на протолитические свойства реагента в указанных условиях. В растворе можно констатировать наличие формы ДНФГ (схема 2, а), что благоприятно для стадии его конденсации с хиноном.

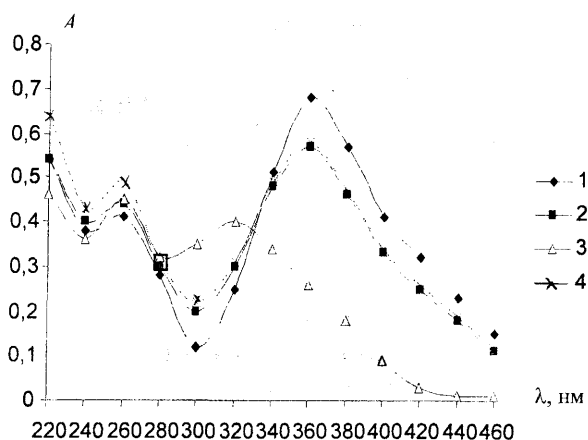


Рис.2. Электронные спектры поглощения ДНФГ: 1 –  $H_2O$ ; 2 – 0,01 М  $HCl$ ; 3 – 1 М  $HCl$ ; 4 – ЦПХ ( $C_{HCl} = 0,01$  М);  $C_{\text{ДНФГ}} = 5 \cdot 10^{-5}$  М;  $C_{\text{ЦПХ}} = 6 \cdot 10^{-4}$  М

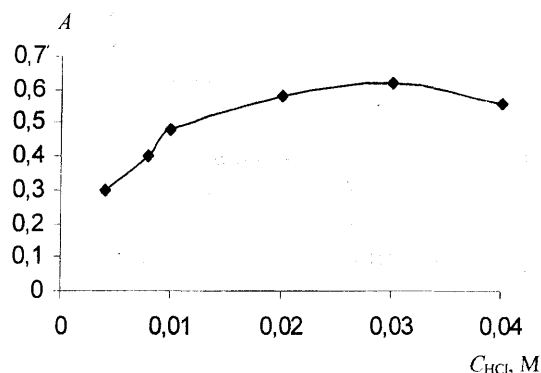


Рис.3. Зависимость  $A - C_{HCl}$  в системе ДНФГ ( $1 \cdot 10^{-4}$  М) – БХ ( $1 \cdot 10^{-5}$  М) – ЦПХ ( $4 \cdot 10^{-4}$  М);  $\lambda_{\text{макс}} = 560$  нм

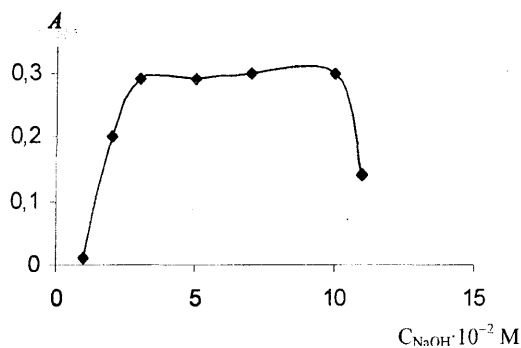
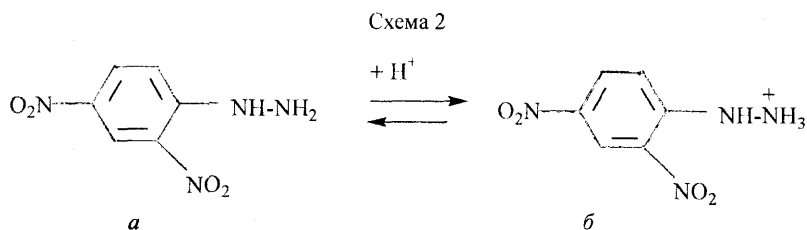


Рис.4. Зависимость  $A - C_{NaOH}$  в системе ДНФГ ( $1 \cdot 10^{-4}$  М) – БХ ( $1 \cdot 10^{-5}$  М) – ЦПХ ( $4 \cdot 10^{-4}$  М);  $\lambda_{\text{макс}} = 560$  нм

Таблица 1

Оптимальные условия для исследуемых систем (20–25°C)

| БХ                                                                                                                                 | о – ТХ                                         |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| $C_{\text{ДНФГ}} = 1 \cdot 10^{-4}$ М; $C_{HCl} = 0,03$ М;<br>$C_{\text{ЦПХ}} = 4 \cdot 10^{-4}$ М; $C_{NaOH} = 5 \cdot 10^{-2}$ М |                                                |
| $\lambda_{\text{макс}} = 560$ нм; $t \sim 0$ мин                                                                                   | $\lambda_{\text{макс}} = 580$ нм; $t = 15$ мин |



Исследование состояния хинонов в кислой среде показал, что они частично протонируются с разрывлением  $-C=O$  связи в их молекулах. Это подтверждается, например, для бензохинона (рис.5) гиперхромным эффектом полосы поглощения при  $\lambda_{\text{макс}} = 240$  нм (рис.5, кривая 2). Мицеллы ЦПХ не приводят к изменению характера спектров поглощения БХ (рис.5, кривая 3) и, следовательно, не оказывают влияния на его состояние.

Присутствие в растворе ЦПХ частично протонированной формы хинона также благоприятно для I стадии реакции – образование 2,4-динитрофенилгидразона III или озона IV (схема 1).

Таким образом, мицеллы ЦПХ не оказывают влияния на состояние исходных реактантов, но способствуют образованию диконденсированной формы гидразона – озона (IV) и увеличивают его растворимость вследствие солюбилизации в мицеллярную псевдофазу.

Электростатическое взаимодействие положительно заряженной поверхности мицеллы ЦПХ и отрицательно заряженной ацифор-

мы озона (VI) с последующей ее солюбилизацией в псевдофазу мицелл и приводит к гипер- и батохромным эффектам в электронных спектрах поглощения исследуемых систем *a* и *б* (см. рис.1, кривые 2). Увеличение растворимости аци-форм озона (VI) приводит к увеличению устойчивости систем *a* и *б* в мицеллах ЦПХ.

Для сравнительной оценки некоторых аналитических характеристик систем *a* и *б* в мицеллярной среде ЦПХ построены градуировочные графики вида  $A = f(C)$ :  $A = 0,03 + 7,00 \cdot 10^4 C$  (рис.1, *a*);  $A = 0,04 + 7,41 \cdot 10^4 C$  (рис.1, *б*), линейные в интервале концентраций хинонов  $1 \cdot 10^{-6} - 2 \cdot 10^{-5}$  М. На основании градуировочных зависимостей определены молярные коэффициенты поглощения, пределы обнаружения и диапазоны определяемых содержаний (табл.2).

Таблица 2

Некоторые аналитические характеристики систем  
ДНФГ – хинон – ЦПХ

| Система  | $\lambda_{\text{макс}}, \text{нм}$ | $\epsilon, \text{М}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ | ПрО, М              | ДОС, мкг/мл |
|----------|------------------------------------|------------------------------------------------|---------------------|-------------|
| <i>A</i> | 560                                | $7,41 \cdot 10^4$                              | $5,3 \cdot 10^{-8}$ | 0,11–2,16   |
| <i>Б</i> | 580                                | $7,00 \cdot 10^4$                              | $5,6 \cdot 10^{-8}$ | 0,12–2,44   |

Данные табл.2 позволяют сделать вывод о том, что введение  $-CH_3$  группы в боковую цепь хинона, а также различное пространственное расположение  $-C=O$  групп практически не изменяет аналитические характеристики систем *a* и *б* в мицеллярной среде КПАВ.

Эффекты, вызываемые мицеллами КПАВ (ЦПХ) в исследуемых системах *a* и *б*, могут быть положены в основу разработки методик фотометрического определения хинонов с улучшенными аналитическими характеристиками (отсутствие необходимости применения органических растворителей, стадии экстракции, получение аналитической формы озонов при комнатной температуре) в различных объектах.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 04-03-33077).

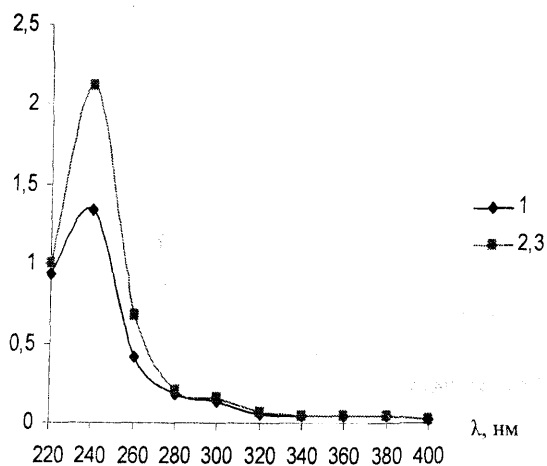


Рис.5. Спектры поглощения БХ:  $C_{\text{БХ}} = 2 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{ЦПХ}} = 4 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{HCl}} = 0,1-2$  М; 1 –  $H_2O$ ; 2 –  $HCl$ ; 3 –  $HCl$  + ЦПХ





#### Библиографический список

1. Химическая энциклопедия. М.: Большая Рос. энцикл., 1999. С.796, 1042.
2. Общая органическая химия. М.: Наука, 1982. С.830–847.
3. Химическая энциклопедия. М.: Сов. энцикл., 1990. С.432.
4. Кутырев А.А., Москва В.В. Нуклеофильные реакции хи-  
нонов // Успехи химии. 1991. Т.60, вып.1. С.134–168.
5. Коренман И.М. Фотометрический анализ. Методы опре-  
деления органических соединений. М.: Химия, 1970. С.343.
6. Китаев Ю.П., Бузыкин Б.П. Химия гидразонов. М.: На-  
ука, 1974. С.415.
7. Бурмистрова А.А., Вобликова В.В., Доронин С.Ю., Чер-  
нова Р.К. Влияние ПАВ на аналитическую реакцию неко-  
торых кетонов с 2,4-динитрофенилгидразином // Вопросы  
биологии, экологии, химии и методики обучения. Сб. на-  
уч. ст. Саратов, 2004. Вып.7. С.46–49.

## СИНТЕЗ АМФИФИЛЬНЫХ БРОМПРОИЗВОДНЫХ $\beta$ -ЦИКЛОДЕКСТРИНА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ-РЕЦЕПТОРОВ ДЛЯ ФОСФОРЕСЦЕНЦИИ ПРИ КОМНАТНОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ

О.А. Иноземцева, С.В. Сипин\*, С.Н. Штыков, Г.И. Курочкина\*,  
М.К. Грачев\*, К.Е. Панкин

Саратовский государственный университет,  
кафедра аналитической химии и химической экологии  
E-mail: ShtykovSN@info.sgu.ru

\* Московский государственный педагогический университет,  
кафедра химии фосфорорганических соединений  
E-mail: chemdept@mtu-net.ru

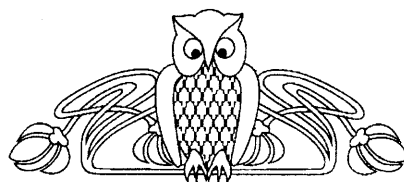
Показаны различные возможности получения амфифильных бромированных производных  $\beta$ -циклодекстрина, содержащих различное количество атомов брома на молекулу.

### Synthesis of Amphiphilic $\beta$ -Cyclodextrin Bromoderivatives as Potential Receptor Molecules for Room Temperature Phosphorescence

O.A. Inozemtseva, S.V. Sipin, S.N. Shtykov, G.I. Kurochkina,  
M.K. Gratchev, K.E. Pankin

The different possibilities of synthesis of amphiphilic  $\beta$ -cyclodextrin bromoderivatives containing various number of bromine atoms in cyclodextrin molecule have been demonstrated.

Циклодекстрины (ЦД) являются природными олигосахаридами, молекулы которых построены из регулярно расположенных глюкопиранозных единиц, соединенных между собой 1,4- $\alpha$ -гликозидными связями [1, 2]. Наиболее распространены  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -циклодекстрины, которые состоят из шести ( $n = 1$ ), семи ( $n = 2$ ) и восьми ( $n = 3$ ) глюкопиранозных остатков соответственно (рис.1). Каждое звено молекулы ЦД содержит вторичные гидроксильные группы при углеродных атомах  $C_2$  и  $C_3$  и первичную ОН-группу при  $C_6$ .



Одной из областей применения циклодекстринов является фосфоресценция при комнатной температуре (ФКТ), используемая для определения ряда токсикантов, содержащих ароматические кольца [3]. Определение токсикантов основано на образовании комплексов включения «гость–хозяин» в присутствии «тяжелого» атома [4]. В качестве соединения, содержащего «тяжелый» атом, в раствор вводят, например, 1,2-дибромэтан, который вместе с аналитом входит в полость циклодекстрина. Явление ФКТ возможно наблюдать не только в растворе, но и на твер-

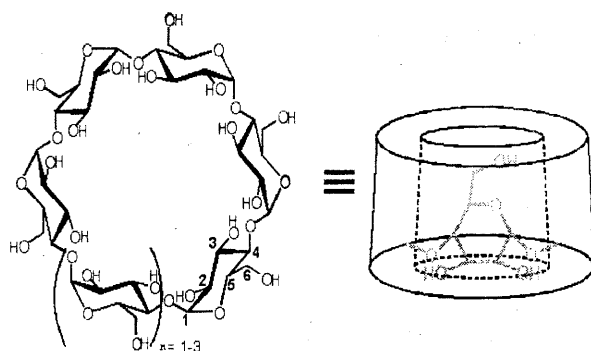


Рис.1. Строение циклодекстринов и образуемых комплексов включения



дой поверхности [5]. Наиболее интересной была бы реализация ФКТ в наноразмерных организованных пленках Ленгмюра–Блоджетт, формируемых из молекул дифильной природы в результате переноса монослоев с поверхности водной субфазы. В связи с этим необходим синтез циклодекстринов, содер-

жащих как углеводородный радикал, так и «тяжелый» атом в самой молекуле циклодекстрина, что и явилось целью настоящей работы.

Известно несколько основных подходов к синтезу бромпроизводных  $\beta$ -циклодекстрина (рис.2).

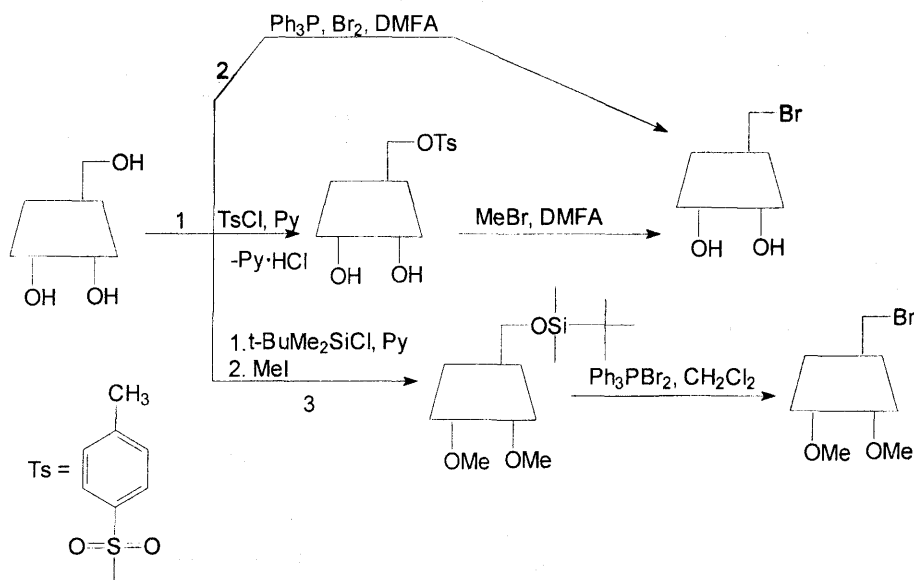


Рис.2. Схема основных подходов к получению бромдезоксипроизводных циклодекстринов

1. 6-Дезокси-6-бромпроизводные ЦД могут быть получены замещением 6-сульфонатной (тозилной) группы на подходящую нуклеофильную функциональную группу, содержащую галоген. Обычно в качестве бромлирующих агентов используют бромиды щелочных металлов в ДМФА [6].

2. Надежный способ получения гептакис-6-дезоксигепта-6-бромпроизводного ЦД предложен Дефайе с использованием брома и трифенилфосфина в атмосфере сухого азота в среде ДМФА [7].

3. Возможен подход к синтезу производных ЦД, состоящий во взаимодействии пер-6-О-*трет*-бутилдиметилсилилированного  $\beta$ -циклодекстрина с йодистым метилом в безводных условиях с образованием пер-(2,3-диметил-6-О-*трет*-бутилдиметилсил)-производного. Данный продукт в дальнейшем десилилируют и бромруют одновременно путем взаимодействия с трифенилфосфиндибромидом в ДМФА, получая пер-(2,3-диметил-6-дезоксигепта-6-бром)- $\beta$ -циклодекстрин [8].

Для получения гептакис-6-дезоксигепта-6-бром- $\beta$ -циклодекстрина нами был выбран последний подход, за исключением того, что промежуточное персилилированное производное было сразу бромировано без предварительного метилирования вторичных гидроксильных групп.

#### Получение гептакис-6-дезоксигепта-6-бром- $\beta$ -циклодекстрина

Синтез силильных производных циклодекстринов имеет ряд достоинств, среди которых простота и надежность получения, а также легкость выделения и очистки. Особый интерес представляет регионаправленное силилирование циклодекстринов, так как последующее удаление силильных защит дает возможность получать соединения, прямой синтез которых, как правило, затруднен. В этом отношении *трет*-бутилдиметилсилильная группа является одной из наиболее перспективных в качественном отношении и легко удаляемых защит первичных гидроксильных групп в присутствии вторичных.



Для синтеза гептакис-(6-О-(*трет*-бутилдиметилсилил))- $\beta$ -циклодекстрина за основу была взята методика силилирования, базирующаяся на взаимодействии сухого  $\beta$ -циклодекстрина в абсолютном пиридине с 10%-ным

молярным избытком *трет*-бутилдиметил-хлорсилана при 0°C в течение трех часов с последующим 12–15-часовым выдерживанием при комнатной температуре [9] (рис.3).

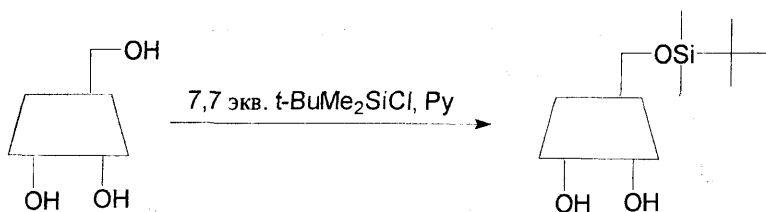


Рис.3. Схема получения гептакис-(6-О-*трет*-бутилдиметилсилил)- $\beta$ -циклодекстрина

Необходимым условием для получения надежных результатов по данной методике является тщательное обезвоживание  $\beta$ -циклодекстрина, так как наличие воды приводит к частичному гидролизу хлорсилана и, следовательно, неполному силилированию. Для осушки образца  $\beta$ -циклодекстрина нами был использован метод, основанный на отгонке азеотропной смеси толуола и воды из раствора  $\beta$ -циклодекстрина в ДМФА при определенном соотношении ЦД : ДМФА : толуол\*, который приводит к получению абсолютно сухого  $\beta$ -ЦД. Контроль осушки проводили методом ИК-спектроскопии (рис. 4). Как видно, в процессе осушки происходит постепенное сужение пиков ОН-групп (область валентных колебаний ОН группы 3600–3300  $\text{см}^{-1}$ ) от уширенного «горба» до двух узких пиков, возможно, соответствующих различным типам ОН-групп – первичным и вторичным – самого  $\beta$ -ЦД.

Персилилированный продукт синтеза выделяли ледяной водой, экстрагировали хлористым метилом, промывали разбавленной соляной кислотой, раствором гидрокарбоната натрия, после чего органический слой отделяли и упаривали досуха. Кристаллы продукта растворяли в сухом бензоле и кипятили с насадкой Дина–Старка до прекращения выделения воды в насадке, остаток упаривали и сушили под вакуумом. Выход гептакис-(6-О-*трет*-бутилдиметилсилил)- $\beta$ -циклодекстрина составил 83%. Контроль за

ходом силилирования проводили методом спектроскопии ЯМР  $^1\text{H}$ . В спектре отсутствуют сигналы протонов первичных гидроксильных групп, имеются сигналы протонов  $\text{C}_2(\text{OH})$  и  $\text{C}_3(\text{OH})$  в области 5.25 м.д. (уш.с) и 6.75 м.д. (уш.с) соответственно.

О степени силилирования судили по соотношению интегральных интенсивностей протонов *трет*-бутильных групп (0.88–0.92 м.д.) и протонов циклодекстринового каркаса  $\text{C}^2\text{H}-\text{C}^3\text{H}; \text{C}^6\text{H}_2$  (3.56–4.04 м.д.). Следует отметить, что невозможно определить степень силилирования по соотношению протонов циклодекстринового каркаса и протонов метильных групп при атоме кремния (0.11–0.23 м.д.) из-за различного времени релаксации этих протонов. При расчете же интегральных интенсивностей циклодекстринового каркаса следует вычитать из суммарного интеграла интеграл аномерного протона  $\text{C}^1\text{H}$  (4.89–4.90 м.д.) из-за большого времени накопления последнего.

Далее было проведено одновременное десилилирование и бромирование полученного персилильного производного по схеме, представленной на рис.5.

Трифенилфосфиндибромид готовили предварительно путем взаимодействия сухого трифенилфосфина с бромом в абсолютном бензоле при охлаждении льдом в атмосфере аргона. В процессе реакции образуется большое количество осадка, и происходит разогрев реакционной смеси, поэтому во избежание местного перегрева и участия в реакции максимального количества брома необходимо активное перемешивание. Выпавший осадок трифенилфосфиндибромид отфильтро-

\* Метод осушки циклодекстрина разработан на кафедре химии фосфорорганических соединений Московского педагогического государственного университета.



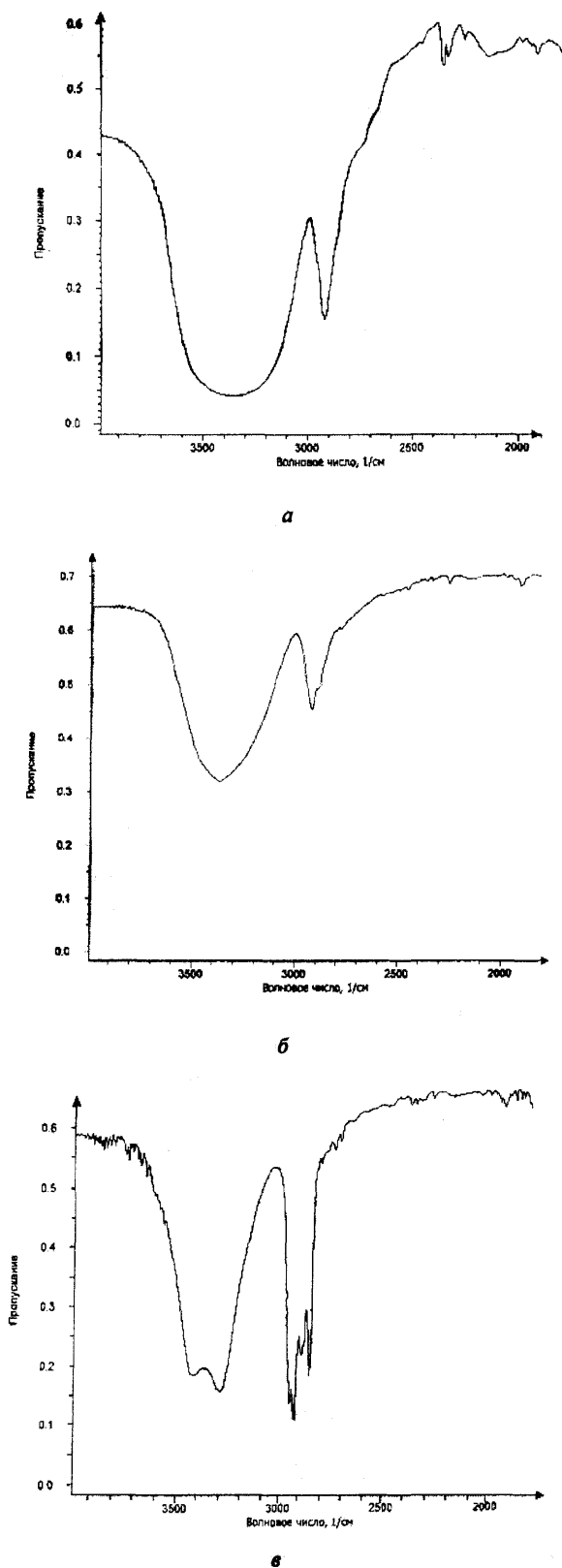


Рис.4. ИК-спектры образца  $\beta$ -циклодекстрина в процессе сушки: а – ИК-спектр исходного ЦД (уширенная полоса валентных колебаний ОН-групп в области  $3600\text{--}3300\text{ см}^{-1}$ ); б – ИК-спектр осушенного ЦД (время сушки 4 часа); в – ИК-спектр осушенного ЦД (время сушки 6 часов)

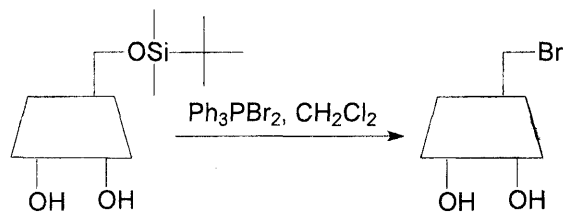


Рис.5. Схема получения гептакис-6-дезоксигепта-6-бром- $\beta$ -циклодекстрина

вывали под азотом, многократно промывали бензолом для удаления остатков брома и хранили под вакуумом.

Следующий этап состоял во взаимодействии полученного трифенилфосфиндибромида (14-кратный избыток) с сухим персилилированным циклодекстрином в среде абсолютного хлористого метилена в атмосфере аргона при перемешивании в течение суток при комнатной температуре. Гептакис-6-дезоксигепта-6-бромпроизводное  $\beta$ -циклодекстрина выделяли из реакционной массы центрифугированием и многократным промыванием ацетоном, затем пересаждали из диметилформамида хлороформом, при этом продукт очищался от примеси побочного трифенилфосфиноксида, образующего прочное соединение включения с полостью  $\beta$ -ЦД.

О полноте замещения силильной защиты судили по исчезновению в спектрах ЯМР на ядрах  $^1\text{H}$  сигналов протонов *трет*-бутильной и метильных групп при атоме кремния. Выход продукта составил 68–70 %.

#### Получение производных $\beta$ -ЦД, содержащих силильные группы и атомы брома

Представлялось также интересным получить промежуточный продукт замещения, содержащий определенное соотношение силильных групп и атомов брома. Следуя этой цели, нами было проведено взаимодействие по аналогичной методике [8] персилилированного  $\beta$ -циклодекстрина с 1,5 эквивалентами трифенилфосфиндибромида. Продукт синтеза выделяли полным упариванием хлористого метилена, полученный осадок промывали гексаном, растворяли в минимальном количестве диметилформамида, пересаждали водой, экстрагировали из воды бензолом, органический слой отделяли и упаривали досуха. Полученное соединение



идентифицировали по спектрам ЯМР  $^1\text{H}$ , из которых следовало, что из 7 силильных защит произошло замещение на атом брома только одной. Выход продукта составил примерно 60–64%.

Получение производного, содержащего в своем составе большее количество атомов брома наряду с силановыми фрагментами, сопряжено с трудностями его выделения и очистки, поскольку для проведения реакции необходимо использовать большой избыток трифенилфосфиндибромида, что может повлиять на результаты последующего аналитического применения.

В связи с этим подобные производные циклодекстринов было решено получать об-

ратным методом – путем силилирования готового производного  $\beta$ -циклодекстрина, уже содержащего нужное количество атомов брома в своем составе, по схеме, представленной на рис.6, через тозилные производные  $\beta$ -ЦД.

Тозильные производные циклодекстринов наиболее часто используются в качестве основных промежуточных соединений в региональном синтезе большого количества модифицированных продуктов, благодаря достаточной легкости замещения тозилного остатка на нуклеофильные агенты, доступности тозилирующих агентов, а также легкости введения тозилного фрагмента в молекулу циклодекстрина.

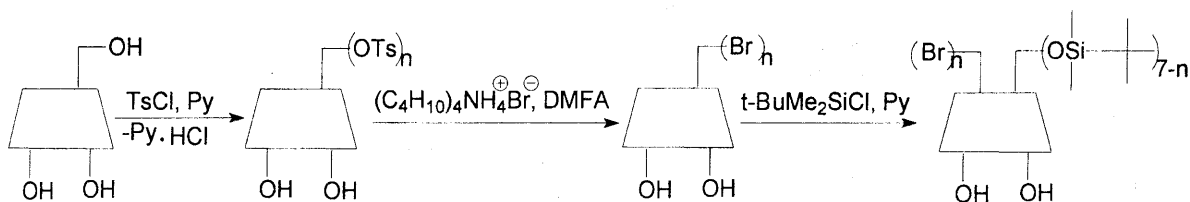


Рис.6. Поставленная схема получения производного  $\beta$ -циклодекстрина, содержащего в своем составе смешанные функциональные группы

Тозилат  $\beta$ -циклодекстрина со степенью замещения 3,2 был получен взаимодействием сухого  $\beta$ -циклодекстрина с соответствующим избытком *p*-толуолсульфохлорида (тозилхлорида) в абсолютном пиридине при комнатной температуре в течение суток [10]. Реакционную смесь выливали небольшими порциями в ацетон, осадок центрифугировали, многократно промывая ацетоном и хлороформом, сушили под вакуумом. В спектре ЯМР  $^1\text{H}$  определяли степень замещения OH-групп по соотношению протонов метильной группы заместителя ароматического кольца (2.29–2.30 м.д.) и протонов циклодекстринового каркаса C<sup>2</sup>H–C<sup>5</sup>H; C<sup>6</sup>H<sub>2</sub> (3.56–4.04 м.д.). Выход продукта составил примерно 75%.

Как уже отмечалось, 6-дезоксид-6-бромпроизводные ЦД легко могут быть получены путем замещения 6-сульфонатной группы на подходящую нуклеофильную функцию, содержащую галоген. В качестве бромлирующего агента нами был выбран бромид тетрабутиламмония, что связано с хорошей растворимостью данного реагента в ДМФА и, сле-

довательно, гомогенизацией реакционной массы, что, несомненно, должно было улучшить протекание реакции. Таким образом полученный тозилат  $\beta$ -циклодекстрина вводили в реакцию с 10%-ным избытком бромида тетрабутиламмония в сухом диметилформамиде при перемешивании и нагревании до 70–75°C в течение суток. Реакционную массу упаривали, к остатку добавляли ацетон, полученный осадок затирали и отфильтровывали, многократно промывая ацетоном.

Строение продукта реакции определяли методом ЯМР  $^1\text{H}$ -спектроскопии. Установлено, что в спектре отсутствуют сигналы метильного заместителя в ароматическом кольце тозилхлорида (2.29–2.30 м.д.). Выход продукта составил 63%.

Полученное бромпроизводное  $\beta$ -циклодекстрина со степенью замещения 3,2 силилировали по методике [9] в пиридине при комнатной температуре в течение суток. Из литературных источников следует, что использование данного растворителя в этом случае безопасно, так как для того чтобы



прошел процесс алкилирования с образованием четвертичной соли, необходимо достаточно жесткое нагревание. Реакционную смесь выливали в ледяную воду, осадок центрифугировали, многократно промывая водой. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  продукта позволил сделать вывод о примерно равном соотношении атомов брома и силильных групп в составе молекулы  $\beta$ -циклодекстрина. Выход продукта составил 58%.

ИК-спектры записывались на спектрометре Spesord M-80 в вазелиновом масле и гексахлорбутадиене (в виде суспензии). Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  записывались на приборе Bruker AC-200 с резонансной частотой 250 МГц при температуре 25°C. Использовались 10–20%–ные растворы веществ в дейтерированном хлороформе и в дейтерированном диметилсульфоксиде. Внутренний стандарт – тетраметилсилан.

#### Выводы

1. Показана возможность получения гептакис-6-дезоксис-6-бромпроизводного  $\beta$ -циклодекстрина с незамещенными вторичными гидроксильными группами из гептакис-6-О-*трет*-бутилдиметилсилильного производного  $\beta$ -циклодекстрина.

2. Показано, что многостадийный подход, исходя из тозилатов циклодекстринов, позволяет получать производные с различным содержанием атомов брома. Недостатком этого подхода является меньшая селективность тозилирующих агентов по сравнению с более объемными *трет*-бутилдиметилсилильными группами, что и является причиной сложности получения индивидуальных исходных соединений.

3. Показаны различные возможности синтеза бромированных производных  $\beta$ -циклодекстрина, содержащих различное количество атомов брома на молекулу.

Работа выполнена при финансовой поддержке Госконтракта № 02.513.11.3028.

#### Библиографический список

1. Штейнман А.А. Циклодекстрины // Журн. Всерос. хим. о-ва. 1985. Т.30, №5. С.514–518.
2. Szejtli J. Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry // Chem. Rev. 1998. V.98, №5. P.1743–1753.
3. Cline Love L. J., Scypinski S. Room-temperature phosphorescence of polynuclear aromatic hydrocarbons in cyclodextrins // Anal. Chem. 1984. V.56, №3. P.322–327.
4. Jin W., Wei Y., Xu A. et al. Cyclodextrin induced room temperature phosphorescence of some polyaromatic hydrocarbons and nitrogen heterocycles in the presence of cyclohexane // Spectrochim. Acta Pt. A: Molec. Spectrosc. 1994. V.50, №10. P.1687–1809.
5. Masaki T., Kazue T., Hitoshi K., Nobutoshi K. Measurements of Room-Temperature Phosphorescence Spectra of Polycyclic Aromatic Compounds Using Pullulan Films Containing  $\beta$ -Cyclodextrin and 2-Bromoethanol // J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem. 2000. V.37, №1–4. P.209–218.
6. Takeo K., Mitoh H., Uemura K. Selective chemical modification of cyclomalto-oligosaccharides via *tert*-butyldimethylsilylation // Carbohydr. Res. 1989. V.187, №2. P.203–221.
7. Gadelle A., Defaye J. Inclusion properties induced by selective modification at primary hydroxyl positions in cyclomalto-oligosaccharides // Angew. Chem. 1991. V.103, №1. P.94–95.
8. Alker D., Ashton P.R., Harding D., Koniger R. Per-6-bromoper-2,3-dimethyl- $\beta$ -cyclodextrin // Tetrahedron Lett. 1994. V.35, №48. P.9091–9094.
9. Fügedi P. Synthesis of heptakis-(6-O-*tert*-butyldimethylsilyl)-cyclomaltoheptaose and oktakis-(6-O-*tert*-butyldimethylsilyl)-cyclomaltooctaose // Carbohydr. Res. 1989. V.192. P.366–369.
10. Gao X.M., Tong L.H., Inoue Y., Tai A. Synthesis and characterization of novel multifunctional host compounds. Cyclodextrin derivatives bearing chromophores // Synth. Commun. 1995. V.25, №5. P.703–713.



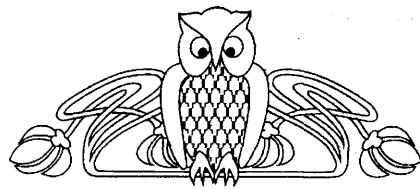
УДК 582.28:57.083

## ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ НЕОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА АКТИВНОСТЬ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛЕКТИНОВ ГРИБА *LENTINUS EDODES*

О.М. Цивилева, А.Н. Панкратов\*, В.Е. Никитина, Н.А. Бычков, Е.А. Лощина

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,  
лаборатория микробиологии и микологии  
E-mail: tsivileva@ibppm.sgu.ru

\* Саратовский государственный университет,  
кафедра аналитической химии и химической экологии  
E-mail: PankratovAN@chem.sgu.ru



Показана возможность регулирования лектиновой активности высшего гриба-базидиомицета *Lentinus edodes* с помощью неорганических компонентов жидкой питательной среды. Выяснено, что одним из факторов, влияющих на активность внеклеточных лектинов *L. edodes*, является присутствие в среде культивирования солей металлов в степени окисления +2. Влияние двухзарядных катионов железа, кобальта, никеля на лектиновую активность изменяется симбатно с энергиями (UHF/3-21G(d,p), MP2/3-21G(d,p)/UHF/3-21G(d,p)) реакций хелатообразования гексааква-комплексов металлов с модельным бидентатным лигандом.

### Effect of the Selected Inorganic Compounds on the Lectin Activity and Morphogenesis of the Basidiomycete *Lentinus edodes*

О.М. Tsivileva, A.N. Pankratov, V.E. Nikitina,  
N.A. Bychkov, E.A. Loshchinina

The possibility of interfering the lectin activity of the higher fungus, basidiomycete *Lentinus edodes* by means of the inorganic components of liquid nutrient medium has been shown. A relationship between the presence of double-charged metal cations in the culture medium and the activity of extracellular lectins of *L. edodes* has been found. The effect of  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  on the lectin activity has been demonstrated to change with a symbate character in respect to the energies of chelating reactions of metals hexaaqua complexes with the model ligand ethylene glycol, computed at the UHF/3-21G(d,p), MP2/3-21G(d,p)/UHF/3-21G(d,p) levels of theory.

Исследование влияния низкомолекулярных соединений на рост и развитие съедобных грибов представляет одну из важных областей биохимии и физиологии высших грибов. В рамках изучения биохимических аспектов развития *Lentinus edodes*, или шиитаке, одним из наименее исследованных классов белков являются лектины, упоминание о которых для этого базидиомицета в литературе ограничивалось работами [1, 2], касающимися выделения лектина из плодового тела. Изучение лектиновой активности *L. edodes* во взаимосвязи с различными физико-химическими факторами, в том числе химическим составом среды культивирования, представляет особый интерес. Настоя-

щая работа посвящена дальнейшему исследованию в этом аспекте внеклеточных лектинов шиитаке, начатому нами ранее [3].

### Материалы и методы исследования

В работе использован штамм *L. edodes* F-249 из коллекции высших базидиальных грибов кафедры микологии и альгологии Московского государственного университета. Культуры грибов поддерживали на сусло-агаре при 4°C. При глубинном культивировании *L. edodes* использовали синтетические среды с источником углерода (концентрация 300 ммоль/л по углероду): *D*-глюкоза, *L*-арабиноза, сахароза; с источниками азота: хлорид аммония или нитрат натрия (соотношение *углерод:азот* в среде составляло от 7.5:1 до 150:1); эссенциальные аминокислоты (20 ммоль/л по азоту). В качестве компонентов-добавок к среде выращивания использовали соли металлов (концентрации 0–10 ммоль/л):  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Синтетическая среда для изучения процессов хелатообразования состояла из глюкозы (50 ммоль/л), аспарагина (10 ммоль/л), включала добавки  $\text{Fe(II)}$ ,  $\text{Co(II)}$ ,  $\text{Ni(II)}$  (4 ммоль/л) и этиленгликоля (EG) (2 ммоль/л или 4 ммоль/л).

Оптимальная температура роста мицелия для данного вида 26°C [4].

Инокуляцию жидких сред осуществляли стандартными блоками, вырезанными из зоны роста колонии штамма на агаризованном пивном сусле [5], из расчета 3 диска диаметром 5 мм на 50 мл среды.





Гемагглютинирующую активность жидких сред определяли реакцией гемагглютинации с самопроизвольным оседанием эритроцитов, используя 2%-ную суспензию трипсинизированных кроличьих эритроцитов в серии последовательных разведений лектина [6]. Титр гемагглютинации (ТГА) выражали как наибольшее разведение раствора, вызывающее агглютинацию эритроцитов. Удельную активность лектинов выражали как отношение титра гемагглютинации к концентрации белка (мкг/мл) [7–9].

Квантовохимические *ab initio* расчеты осуществляли неограниченным методом Хартри–Фока (UHF) в базисе 3–21G(d,p) (UHF/3-21G(d,p)) [10, 11] с использованием программ из пакета *HyperChem* [HyperChem (TM), Hypercube, Inc., 1115 NW 4th Street, Gainesville, Florida 32601, USA]. Полную оптимизацию геометрии проводили посредством алгоритма Полака–Рибера (Polak–Ribiere conjugate gradient algorithm) [12]. Предварительную оптимизацию геометрии осуществляли методом РМЗ [13, 14] с помощью программы из того же пакета. При квантовохимических расчетах задавали условие, чтобы норма градиента не превышала 0.02 ккал/(моль·Å). Корреляционные поправки к хартри-фовским энергиям рассчитывали для оптимизированной геометрии (Single Point) в рамках теории возмущений Меллера–Плессе второго порядка (MP2) [10, 11] в том же базисе (подход MP2/3-21G(d,p)//UHF/3-21G(d,p)).

## Результаты

Влияние химического состава синтетической среды выращивания на активность внеклеточных лектинов *L. edodes* подтверждается рядом экспериментов, проведенных нами ранее [3].

Затем были предприняты попытки оптимизировать среду выращивания в отношении лектиновой активности. Для этого определяли в динамике величины ТГА культуральной жидкости при использовании источников азота разной природы. В табл. 1 и 2 приведены соответствующие данные для различных мольных соотношений углерода и неорганического азота в среде культивирования. Из табл. 1, 2 видно, что лектиновая

активность наиболее высока в случае аммонийного азота при соотношении С : N, равном 150 : 1. Данные табл. 3 характеризуют лектиновую активность жидкой культуры при использовании аминокислотного источника азота для различных мольных соотношений углерод : азот в среде культивирования. Как видно из табл. 3, активность внеклеточных лектинов *L. edodes* F-249 высока для сред с органическим азотом (ТГА достигает значения 4096 при соотношении С : N, равном 17 : 1).

Таблица 1

Максимальные значения ТГА  
в зависимости от соотношения углерод : азот  
в среде культивирования *L. edodes* F-249 с  $\text{NH}_4\text{Cl}$

| С : N        |                 |                  |               |               |
|--------------|-----------------|------------------|---------------|---------------|
| 150 : 1      | 75 : 1          | 30 : 1           | 12.5 : 1      | 7.5 : 1       |
| 1024<br>(13) | 64<br>(1, 9–27) | 64<br>(1, 13–27) | 64<br>(13–27) | 64<br>(13–27) |

Примечание. В скобках указан возраст глубинной культуры, сут.

Таблица 2

Максимальные значения ТГА  
в зависимости от соотношения углерод : азот  
в среде культивирования *L. edodes* F-249 с  $\text{NaNO}_3$

| С : N                     |                |                       |                           |            |            |
|---------------------------|----------------|-----------------------|---------------------------|------------|------------|
| 150 : 1                   | 75 : 1         | 30 : 1                | 15 : 1                    | 10 : 1     | 7.5 : 1    |
| 512<br>(1–3, 7,<br>11–14) | 512<br>(7, 11) | 128<br>(1–3,<br>7–17) | 128<br>(1–3, 7,<br>11–17) | 512<br>(3) | 256<br>(3) |

Примечание. См. табл. 1.

Таблица 3

Максимальные значения ТГА  
в зависимости от соотношения углерод : азот  
в среде культивирования *L. edodes* F-249 с *L*-аспарагином

| С : N        |               |               |               |               |               |
|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 152 : 1      | 77 : 1        | 32 : 1        | 17 : 1        | 12 : 1        | 9.5 : 1       |
| 128<br>(1–9) | 1024<br>(3–7) | 1024<br>(1–7) | 4096<br>(3–7) | 1024<br>(3–7) | 1024<br>(1–7) |

Примечание. См. табл. 1.

Оптимизацию состава питательной среды в отношении лектиновой активности продолжали при использовании солей некоторых металлов в степени окисления +2. Определяли лектиновую активность культуральной жидкости *L. edodes* F-249 в динамике, изучая зависимости титра гемагглютинации от продолжительности выращивания. Источником азота служил *L*-аспарагин.



Среды выращивания с кальцием (источник углерода – глюкоза, сахароза, арабиноза) различаются как величинами титров гемагглютинации (максимальные значения составляют 1024 для глюкозы и арабинозы, 256 для сахарозы), так и периодами проявления наибольшей лектиновой активности. Так, титр 1024 наблюдается при содержании  $\text{Ca}^{2+}$  1 ммоль/л на 9-е сут и в период 16–28 сут культивирования в случае глюкозы, но только в интервале 21–28 сут в случае арабинозы. Максимальная лектиновая активность (титр 256) на среде с сахарозой наблюдается лишь на 3-и и 5-е сут, причем при той же 1 мМ концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ .

Более высокое содержание магния (2 мМ) способствует проявлению наибольшей для среды с этим катионом активности внеклеточных лектинов *L. edodes* F-249 с титром гемагглютинации культуральной жидкости 1024 в течение самого длительного из вышеупомянутых периода выращивания – 13–28 сут.

В случае марганца, аналогично кальцию, более благоприятна для проявления лектиновой активности 1 мМ концентрация катиона. Возраст культуры 21–28 сут; титр не превышает 512. В единственном случае, на 5-е сутки, эта величина титра соответствует 2 ммоль/л  $\text{Mn}^{2+}$ .

Интересно, что при использовании в качестве добавки к синтетической среде культивирования *L. edodes* F-249 двухзарядных катионов меди имела место зависимость «лектиновая активность – концентрация катиона», противоположная наблюдаемой для других металлов в настоящей работе. Наибольшая активность внеклеточных лектинов проявлялась на среде с максимальным содержанием меди; титр гемагглютинации 1024 при возрасте культуры 5 и 21–28 суток. И если до 3 суток выращивания оптимальна концентрация 6–8 ммоль/л  $\text{Cu}^{2+}$  (титр 256 по сравнению с 128 для 10 ммоль/л  $\text{Cu}^{2+}$ ), то в течение всего периода культивирования 5–28 сут титр гемагглютинации жидкой среды наиболее высок при 8–10 мМ  $\text{Cu}^{2+}$ . Обсуждаемые выше для других металлов концентрации 1 и 2 мМ в случае  $\text{Cu}^{2+}$  способствуют проявлению максимальной для этих концентраций лектиновой активности с титром 256 и 512 соответственно при возрасте культуры 21–28 суток.

Более подробное исследование в динамике внеклеточной лектиновой активности шиитаке при выращивании на синтетических средах с разными концентрациями  $\text{Cu}^{2+}$  (в интервале концентраций катиона от  $2 \cdot 10^{-4}$  до  $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л) проводили, определяя один из важнейших параметров – удельную лектиновую активность, достигаемую в культуральной жидкости при используемых концентрациях компонентов среды. Наилучший результат получался при концентрации ионов меди (II) в синтетической среде культивирования *Lentinus edodes* – 1 мМ, D-глюкозы – 300 мМ по углероду, L-аспарагина – 20 мМ по азоту. При возрасте глубинной культуры 14 сут достигалось более чем 8-кратное увеличение удельной лектиновой активности при указанной концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  по сравнению с более низкими концентрациями меди из приведенного выше интервала значений. Результаты иллюстрирует рис. 1.

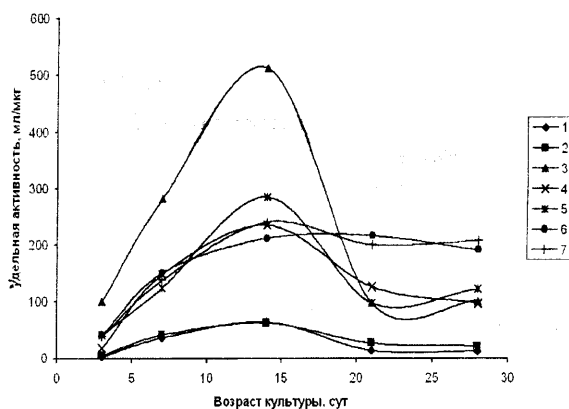


Рис. 1. Зависимость удельной лектиновой активности (ТГА/(белок, мкг/мл)) культуральной жидкости *L. edodes* F-249 с добавкой меди (II) от времени культивирования. Концентрация  $\text{Cu}^{2+}$ , (моль/л)  $10^4$ : 1 – 2; 2 – 5; 3 – 10; 4 – 20; 5 – 50; 6 – 100; 7 – 0

Максимальная лектиновая активность в случае и железа, и цинка характеризуется титром 128, за единственным исключением (14-суточная культура, концентрация  $\text{M}^{2+}$  – 10 мМ). Активность выше с компонентом среды  $\text{Fe}^{2+}$  по сравнению с  $\text{Zn}^{2+}$ . Увеличение концентрации катиона от 4 до 10 ммоль/л после 3 сут выращивания не сказывается на величине титра гемагглютинации в случае  $\text{Zn}^{2+}$ , однако оно приводит к снижению титра в 2 раза при возрасте культуры 14 сут на среде с железом.



При увеличении концентрации катиона металла лектиновая активность снижается. Небольшое возрастание титра (в 2 раза) можно отметить только в случае  $\text{Sn}^{2+}$  после 10 сут выращивания. С добавками кобальта в степени окисления +2 титр гемагглютинации культуральной жидкости ниже в 4 раза при концентрации  $\text{Co}^{2+}$  10 мМ по сравнению с 4 мМ. Наибольший отрицательный эффект добавки в среду культивирования двухзарядных катионов имеет место в случае никеля: лектиновая активность проходит через максимум на 10-е сутки культивирования (титр 32) при 4 мМ  $\text{Ni}^{2+}$  и не проявляется совсем при 10 мМ.

Принимая во внимание величины титров гемагглютинации и продолжительность периода их существования, на основе полученных данных можно сделать вывод, что активность внеклеточных лектинов *Lentinus edodes* F-249 в зависимости от присутствия в синтетической жидкой среде культивирования двухзарядных катионов металлов изменяется в ряду:



Интерес представляет объяснение влияния катионов металлов на лектиновую активность с позиций квантовой химии. Вероятный механизм положительного влияния катионов металлов на лектиновую активность состоит в том, что они образуют смешаннолигандные комплексы с гидроксильными группами лектинов и гликоконъюгатов, способствуя обратимому связыванию гликоконъюгатов лектинами. Почему же двухзарядные ионы железа, кобальта и никеля, составляющие ряд близких по важнейшим характеристикам катионов металлов со сходной электронной конфигурацией, так сильно различаются по своему влиянию на лектиновую активность? Скорее всего, различия в гораздо большей степени определяются термодинамикой реакций комплексообразования, прочностью связи металл–кислород, чем электростатическими предпосылками комплексообразования  $\text{M}^{2+}$  с кислородсодержащими лигандами.

Для проверки этого предположения мы провели квантовохимическое *ab initio* исследование термодинамики реакций гексааквакомплексов железа (II), кобальта (II) и нике-

ля (II) с модельной системой – этиленгликолем как типичным хелатообразующим реагентом и простым аналогом углеводов. Трактовка катионов  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Ni}^{2+}$  и комплексов с этиленгликолем как аддуктов, содержащих молекулы воды во внутренней координационной сфере, позволяет достаточно адекватно учесть гидратацию. При расчетах принимали во внимание то, что молекулы воды и органического реагента как лиганды создают достаточно слабое поле [15]. Спиновая мультиплетность смешаннолигандных комплексов – такая же, как у акваионов [16]: 5, 4 и 3 для соединений Fe(II), Co(II) и Ni(II) соответственно. В качестве примеров приведены графические образы молекулы этиленгликоля (рис. 2, а), гексааквакомплекса никеля (II) (рис. 2, б) и смешаннолигандного комплекса никеля (II) с водой и этиленгликолем (рис. 2, в) с геометрией, оптимизированной методом UHF/3-21G(d,p).

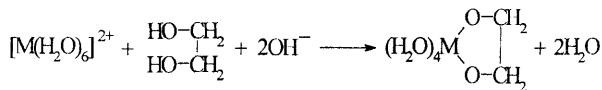
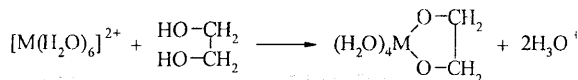
Возможны варианты комплексообразования с участием как ионов гидроксония, так и гидроксид-ионов. Чтобы отразить тенденцию изменения ( $\Delta E$ ) значений полной энергии молекулярных систем в ряду металлов независимо от того, по какому брутто-уравнению протекает реакция, целесообразно представить энергетические эффекты в виде относительных величин (табл. 4). Величина  $\Delta E$  является аналогом свободной энергии ( $\Delta G$ ) реакции без учета энтропии. Использование величины  $\Delta E$  или энтальпии реакции  $\Delta H$  вместо  $\Delta G$  корректно (см., например, [17–30]). Учет электронной корреляции сглаживает, делает более реалистичными различия в  $\Delta E$  для разных катионов металлов. Ряд уменьшения склонности катионов к комплексообразованию с этиленгликолем  $\text{Fe}^{2+} > \text{Co}^{2+} \gg \text{Ni}^{2+}$ , полученный из квантовохимических расчетов, согласуется с рядом уменьшения влияния этих катионов на лектиновую активность:  $\text{Fe}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Ni}^{2+}$ .

Наряду с описанным выше квантовохимическим *ab initio* исследованием термодинамики реакций гексааквакомплексов Fe(II), Co(II) и Ni(II) с этиленгликолем мы провели экспериментальное исследование поведения моделируемой системы. Для этого определяли в динамике лектиновую активность культуральной жидкости *L. edodes* в разных вари-



Таблица 4

Значения  $\Delta E$  реакции по отношению к  $M = Fe$

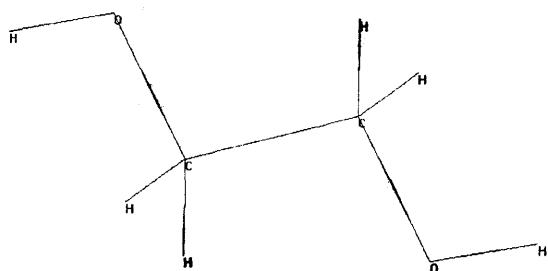


| M  | $\Delta E$ , ккал/моль |                               |
|----|------------------------|-------------------------------|
|    | UHF/3-21G(d,p)         | MP2/3-21G(d,p)/UHF/3-21G(d,p) |
| Fe | 0                      | 0                             |
| Co | 6                      | 33                            |
| Ni | 261                    | 185                           |

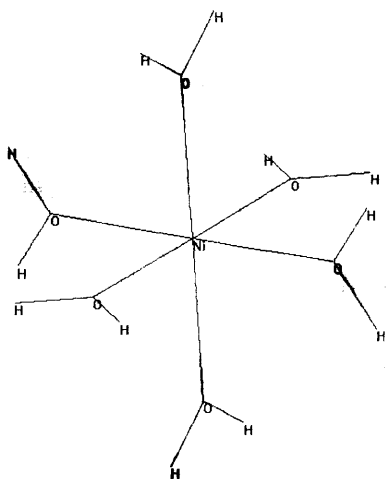
антах опыта. Во-первых, соли перечисленных металлов и этиленгликоль вводили в состав стерильных питательных сред перед их засевом мицелием. Во-вторых, изучаемые химические добавки, стерилизованные в тонком слое, вводили в состав бесклеточной культуральной жидкости, асептически отобранной из среды выращивания *L. edodes* при возрасте культуры, характеризующемся высоким титром гемагглютинации. По-нашему мнению, активность внеклеточных лектинов шиитакэ в описанных экспериментальных условиях позволила бы судить о степени участия катионов железа, кобальта, никеля в процессах биосинтеза лектинов, предположительно опосредованных хелатообразованием с соединениями – носителями гидроксильных групп.

Удобно представить полученные данные в виде отношения  $TGA_{add}/TGA$ , где  $TGA_{add}$  – титр гемагглютинации в присутствии  $Fe^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  или этиленгликоля как компонентов питательной среды,  $TGA$  – титр гемагглютинации в отсутствие этих добавок. Результаты показаны в табл. 5. Прежде всего отметим, что величины  $TGA_{add}/TGA$  равны единице для всех возрастов культуры и вариантов опыта, когда к среде добавлен только этиленгликоль, что говорит об отсутствии заметного влияния последнего на лектиновую активность и правомерности использования этого соединения в качестве модельного хелатообразующего реагента для целей настоящей работы.

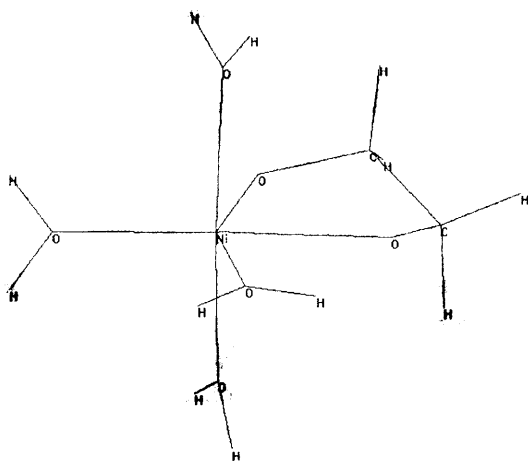
Данные, представленные в табл. 5 для разной продолжительности инкубирования бесклеточной жидкости с добавками  $M^{2+}$ , по-



a



b



в

Рис.2. Графический образ: а – молекулы этиленгликоля, б – молекулы и акваиона  $[Ni(H_2O)_6]^{2+}$ , в – молекулы смешаннолигандного комплекса никеля (II) с водой и этиленгликолем  $[Ni(H_2O)_4(OC_2H_4O)]$  с геометрией, оптимизированной методом UHF/3-21G(d,p)



Таблица 5

Влияние добавок к среде культивирования  
на лектиновую активность культуральной жидкости  
*L. edodes* F-249 ( $TGA_{add}/TGA$ )

| Добавка<br>к среде <sup>b</sup> | Продолжительность инкубирования<br>с добавкой <sup>a</sup> , сут |                |                 |                |      |      |      |
|---------------------------------|------------------------------------------------------------------|----------------|-----------------|----------------|------|------|------|
|                                 | 3                                                                | 7              | 10              | 14             | 17   | 21   | 25   |
| Fe(II)                          | 1<br>[1]                                                         | 1<br>[1]       | 1<br>[1]        | 1<br>[1]       | 1/2  | 1/4  | 1/4  |
| Fe(II)+EG <sup>c</sup>          | 1<br>[1]                                                         | 2<br>[1]       | 1<br>[1]        | 1<br>[1]       | 1/2  | 1/4  | 1/4  |
| Fe(II)+2EG <sup>d</sup>         | 2<br>[1]                                                         | 4<br>[1]       | 1<br>[1]        | 1<br>[1]       | 1    | 1/2  | 1/2  |
| Co(II)                          | 1/8<br>[1]                                                       | 1/8<br>[1/8]   | 1/16<br>[1/2]   | 1/16<br>[1]    | 1/16 | 1/32 | 1/32 |
| Co(II)+EG                       | 1/2<br>[1]                                                       | 1/4<br>[1]     | 1/16<br>[1]     | 1/16<br>[1]    | 1/16 | 1/32 | 1/32 |
| Co(II)+2EG                      | 1<br>[1]                                                         | 1<br>[1]       | 1/4<br>[1]      | 1/16<br>[1]    | 1/16 | 1/16 | 1/16 |
| Ni(II)                          | 1/32<br>[1]                                                      | 1/64<br>[1/64] | 1/128<br>[1/16] | 1/128<br>[1/8] | 0    | 0    | 0    |
| Ni(II)+EG                       | 1/32<br>[1]                                                      | 1/64<br>[1/32] | 1/128<br>[1/8]  | 1/128<br>[1/4] | 0    | 0    | 0    |
| Ni(II)+2EG                      | 1/8<br>[1]                                                       | 1/64<br>[1/32] | 1/128<br>[1/8]  | 1/128<br>[1/2] | 0    | 0    | 0    |
| EG                              | 1<br>[1]                                                         | 1<br>[1]       | 1<br>[1]        | 1<br>[1]       | 1    | 1    | 1    |
| 2EG                             | 1<br>[1]                                                         | 1<br>[1]       | 1<br>[1]        | 1<br>[1]       | 1    | 1    | 1    |

Примечания. <sup>a</sup> В квадратных скобках приведены данные для бесклеточной культуральной жидкости (см. пояснения в тексте). <sup>b</sup> Состав сред более подробно указан в тексте. <sup>c</sup> Среда с этиленгликолем (2 ммоль/л). <sup>d</sup> Среда с этиленгликолем (4 ммоль/л).

казывают, что предполагаемое нами взаимодействие катионов металлов с лектинами, присутствующими в среде, само по себе оказывает достаточно малое влияние на активность этих белков. Отношение  $TGA_{add}/TGA$  бесклеточной жидкости равно единице во всех случаях до 3-х сут инкубации. Однако к 7-м сут эта величина для Co(II) и Ni(II) значительно снижается (до 1/8 и 1/64  $TGA$  соответственно) и становится одинаковой в случаях растущей культуры и бесклеточной культуральной жидкости. Несколько «исправляет» ситуацию присутствие этиленгликоля, повышающее  $TGA_{add}/TGA$  в 8 раз для Co(II) и в 2 раза для Ni(II), по-видимому, благодаря обратимому, протекающему в различной степени (см. выше теоретическое рассмотрение) комплексообразованию  $M^{2+}$ . Интересно, что для большинства добавок на

14-е сут величина  $TGA_{add}/TGA$  возвращается к единице (далее наблюдения не проводились, так как имело место уменьшение величины  $TGA$  из-за естественного снижения активности лектинов во времени). То есть при длительном инкубировании  $M^{2+}$  с лектинами даже  $Ni^{2+}$  не оказывает такого резко отрицательного влияния на  $TGA_{add}$ , как при добавлении его перед инокуляцией питательной среды мицелием. По-видимому, катионы металлов участвуют в процессах биосинтеза лектинов на их начальных этапах, что вполне подтверждается данными табл.5. Наиболее благоприятны добавки  $Fe^{2+}$ : при одновременном присутствии с этими катионами этиленгликоль оказал значительное положительное влияние на лектиновую активность культуры (отношение  $TGA_{add}/TGA$  составило 4 на 7-е сут культивирования). Наибольшая склонность к комплексообразованию соединений, содержащих гидроксогруппы именно для этого  $M^{2+}$ , показана выше квантовохимическими расчетами.

Таким образом, в настоящей работе установлено, что одним из факторов, влияющих на лектиновую активность глубинной культуры *L. edodes*, является присутствие в среде культивирования солей металлов в степени окисления +2. Обнаружено, что в отношении величин титров гемагглютинации и периодов проявления наибольшей лектиновой активности имеет значение не только концентрация катиона  $M^{2+}$ , но и источник углеродного питания грибной культуры. Оказалось, что лишь в случае меди имеет место зависимость *лектиновая активность – концентрация катиона*, противоположная наблюдаемой для других металлов в настоящей работе. Полученные данные позволяют составить последовательность в порядке уменьшения положительного эффекта  $M^{2+}$  на активность внеклеточных лектинов шиитаке.

Высказана гипотеза об обратимом связывании катионов металлов в непрочные смешаннолигандные комплексы с лектинами и гликоконъюгатами, способная разумно объяснить различное влияние катионов металлов на лектиновую активность. Проведено квантовохимическое *ab initio* исследование термодинамики реакций аквакомплексов металлов (II) с модельной системой – эти-





ленгликолем. Оказалось, что влияние двухзарядных катионов железа, кобальта, никеля на лектиновую активность изменяется симбатно с энергиями (UHF/3-21G(d,p), MP2/3-21G(d,p)/UHF/3-21G(d,p)) реакций хелатообразования гексааквакомплексов металлов с модельным бидентатным лигандом.

#### Библиографический список

1. Jeune K.H., Moon I.J., Kim M.K., Chung S.R. Studies on Lectins from Korean Higher Fungi; IV. A Mitogenic Lectin from the Mushroom *Lentinus edodes* // *Planta Med.* 1990. V.56. P.592.
2. Wang H.X., Ng T.B., Ooi V.E.C. Studies on Purification of a Lectin from Fruiting Bodies of the Edible Shiitake Mushroom *Lentinus edodes* // *Intern. J. Biochem. Cell Biol.* 1999. V.31, №5. P.595–599.
3. Цивилева О.М., Никитина В.Е., Гарибова Л.В. и др. Гемагглютинирующая активность *Lentinus edodes* (Berk.) Sing [*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler] // *Микробиология.* 2000. Т.69, №1. С.38–44.
4. Przybylowicz P., Donoghue J. Shiitake Growers Handbook: The Art and Science of Mushroom Cultivation. Dubuque: Kendall/Hunt Publ. Co., 1991. 217 p.
5. Leatham G.F., Stahmann M.A. Studies on the Laccase of *Lentinus edodes*: Specificity, Localization and Association with the Development of Fruiting Bodies // *J. Gen. Microbiol.* 1981. V.125. P.147–157.
6. Луцик М.Д., Панасюк Е.Н., Луцик А.Д. Лектины. Львов: Вища школа. Изд-во при Львовск. ун-те, 1981. 156 с.
7. Kawagishi H., Nomura A., Mizuno T. et al. Isolation and Characterization of a Lectin from *Grifola frondosa* Fruiting Bodies // *Biochim. Biophys. Acta.* 1990. V.1034. P.247–252.
8. Kaneko T., Oguri S., Kato S., Nagata Y. Developmental Appearance of Lectin During Fruit Body Formation in *Pleurotus cornucopiae* // *J. Gen. Appl. Microbiol.* 1993. V.39. P.83–90.
9. Yoshida M., Kato S., Oguri S., Nagata Y. Purification and Properties of Lectins from a Mushroom *Pleurotus cornucopiae* // *Biosci. Biotech. Biochem.* 1994. V.58, №3. P.498–501.
10. Hehre W.J., Radom L., Schleyer P.v.R., Pople J.A. *Ab Initio* Molecular Orbital Theory. N.Y.: Wiley, 1986. 548 p.
11. Кларк Т. Компьютерная химия: Практ. руководство по расчетам структуры и энергии молекулы / Пер. с англ. А.А. Коркина; Под ред. В.С. Мастрюкова, Ю.Н. Панченко. М.: Мир, 1990. 383 с.
12. Дэннис Дж., Шнабель Р. Численные методы безусловной оптимизации и решения нелинейных уравнений / Пер. с англ. О.П. Бурдакова; Под ред. Ю.Г. Евтушенко. М.: Мир, 1988. 440 с.
13. Stewart J.J.P. Optimization of Parameters for Semiempirical Methods. I. Method // *J. Comput. Chem.* 1989. V.10, №2. P.209–220.
14. Stewart J.J.P. Optimization of Parameters for Semiempirical Methods. II. Applications // *J. Comput. Chem.* 1989. V.10, №2. P.221–264.
15. Хьюи Дж. Неорганическая химия. Строение вещества и реакционная способность / Пер. с англ. Л.Ю. Аликберовой, Н.И. Козловой, Н.С. Рукк, Е.В. Савинкиной, А.А. Цветкова; Под общ. ред. Б.Д. Степина, Р.А. Лидина. М.: Химия, 1987. 696 с.
16. Лидин Р.А., Андреева Л.Л., Молочко В.А. Справочник по неорганической химии. Константы неорганических веществ. М.: Химия, 1987. 320 с.
17. Днепровский А.С., Темникова Т.И. Теоретические основы органической химии. Строение, реакционная способность и механизмы реакций органических соединений. Л.: Химия, 1991. 560 с.
18. Дьюар М. Теория молекулярных орбиталей в органической химии / Пер. с англ. А.А. Дяткиной; Под ред. М.Е. Дяткиной. М.: Мир, 1972. 592 с.
19. Pankratov A.N., Shchavlev A.E. Semiempirical Quantum Chemical PM3 Computations and Evaluations of Redox Potentials, Basicities and Dipole Moments of the Diphenylamine Series As Analytical Reagents // *Canad. J. Chem.* 1999. V.77, №12. P.2053–2058.
20. Pankratov A.N., Tsivileva O.M., Nikitina V.E. Laccase of *Lentinus edodes* Catalyzed Oxidation of Amines and Phenolic Compounds: A Semiempirical Quantum Chemical Consideration // *J. Biochem. and Mol. Biol.* 2000. V.33, №1. P.37–42.
21. Pankratov A.N., Uchaeva I.M. A Semiempirical Quantum Chemical Testing of Thermodynamic and Molecular Properties of Arsenic Compounds // *J. Mol. Struct. Theochem.* 2000. V.498, №1–3. P.247–254.
22. Pankratov A.N. Electrophilic Aromatic Substitution Regioselectivity for Benzene Derivatives in Terms of Cationic Localization Energies from Semiempirical Quantum Chemical Computations // *J. Mol. Struct. Theochem.* 2000. V.507, №1–3. P.239–244.
23. Pankratov A.N. Azo-Coupling Reactions Used in Analytical Chemistry: The Role of Reactants, Intermediates, and Aqueous Medium // *Helvetica Chim. Acta.* 2004. V.87, №6. P.1561–1573.
24. Панкратов А.Н. Количественные соотношения структура – свойство в ряду катионов диазония – полупродуктов синтеза аналитических форм и красителей // *Журн. аналит. химии.* 2005. Т.60, №2. С.149–156.
25. Панкратов А.Н., Древо Б.И. Квантово-химическое изучение «гидридной» подвижности в молекулах халькогенопиранов // *Химия гетероцикл. соед.* 2005. №9. С.1305–1311.
26. Панкратов А.Н. Аналитические реакции азосочетания: взгляд с точки зрения квантовой химии // *Журн. аналит. химии.* 2005. Т.60, №10. С.1036–1046.
27. Shchavlev A.E., Pankratov A.N., Shalabay A.V. Theoretical Studies on the Intramolecular Hydrogen Bond and Tautomerism of 8-Mercaptoquinoline in the Gaseous Phase and in Solution Using Modern DFT Methods // *J. Phys. Chem. A.* 2005. V.109, №18. P.4137–4148.
28. Shchavlev A.E., Pankratov A.N., Borodulin V.B., Chaplygina O.A. DFT Study of the Monomers and Dimers of 2-Pyrrolidone: Equilibrium Structures, Vibrational, Orbital, Topological, and NBO Analysis of Hydrogen-Bonded Interactions // *J. Phys. Chem. A.* 2005. V.109, №48. P.10982–10996.
29. Shchavlev A.E., Pankratov A.N., Shalabay A.V. DFT Computational Studies on Rotation Barriers, Tautomerism, Intramolecular Hydrogen Bond, and Solvent Effects in 8-Hydroxyquinoline // *Intern. J. Quantum Chem.* 2006. V.106, №4. P.876–886.
30. Сурова Т.В., Еняшин А.Н. Таутомерия и кислотные свойства N-незамещенных бензогидроксамовых кислот: полумпирическая квантовохимическая оценка // *Журн. структурн. химии.* 2003. Т.44, №2. С.334–337.

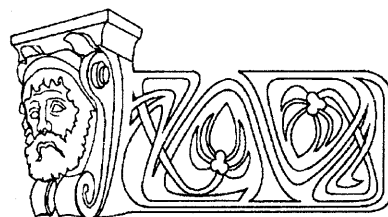


УДК 547.442+547.443

## **N,O-СОДЕРЖАЩИЕ ГЕТЕРОЦИКЛЫ НА ОСНОВЕ АЛИФАТИКОАЛИЦИКЛИЧЕСКИХ 1,3-ДИКАРБОНИЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ. СИНТЕЗ, СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА**

**Э.А. Григорьева, А.П. Кривенько**

Саратовский государственный университет,  
Кафедра органической и биоорганической химии  
E-mail: kgea55@mail.ru



Обобщены результаты изучения взаимодействия 1,3-дикарбонильных соединений циклогексанового ряда с бинуклеофильными реагентами – гидразинами, гидроксиламином, о-фенилен-диамином, этиленгликолем, этаноламином, приводящего к образованию карбо- и гетероциклических соединений новых рядов. Показано, что в зависимости от природы заместителей в субстрате и условий проведения реакций образуются либо продукты гетероциклизации, либо продукты нуклеофильного замещения по наиболее активной карбонильной функции алицикла.

**N,O-Containing Heterocycles Based on Aliphatico-Alicyclic  
1,3-Dicarbonylic Compounds: Their Synthesis, Structure and  
Properties**

**E.A. Grigoreva, A.P. Kriven'ko**

The results of our study of interactions between 1,3-dicarbonylic compounds of the cyclohexane series and binucleophilic reagents (hydrazines, hydroxylamine, o-phenylenediamine, ethylene glycol, ethanolamine) to produce carbo- and heterocyclic compounds of novel series are summarized. Depending on the nature of substitutes in the substrate and reaction conditions, the products of either heterocyclization or nucleophilic substitution by the most active carbonyl function of the alicycle are formed.

На кафедре органической и биоорганической химии Саратовского госуниверситета ведутся систематические исследования в области химии пяти-, шестичленных гетероциклов, в том числе сложнопостроенных аннелированных, мостиковых, спироциклических, содержащих в своей структуре фармакофорные фрагменты и группы. Проводится поиск направлений возможного применения вновь синтезированных веществ в медицине и ветеринарии [1, 2].

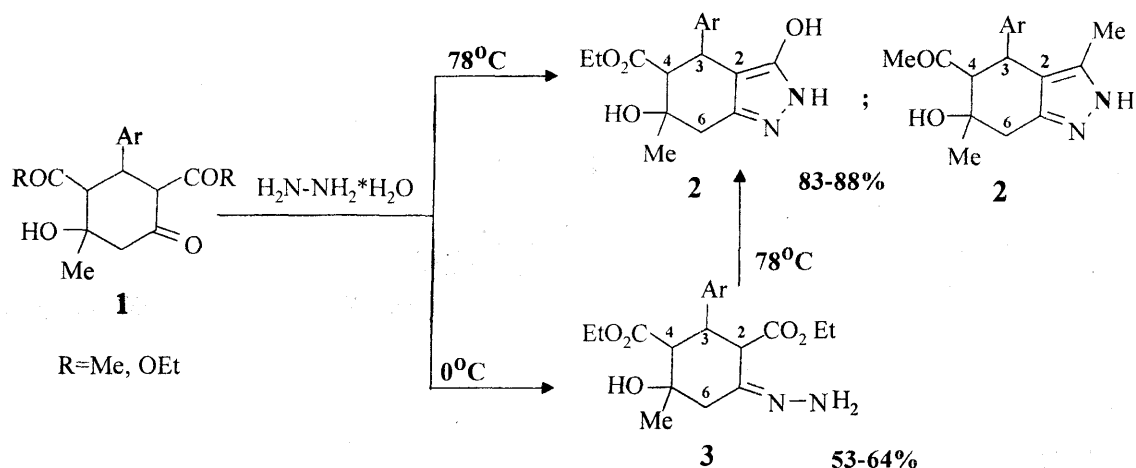
Реакции 1,3-дикарбонильных соединений с полинуклеофильными реагентами открывают пути к построению разнообразных гетероциклических систем, в том числе имеющих практическую ценность. Доступным и удобным стартовым материалом для синтеза функциональнoзамещенных поликарбонильных гетероциклов являются β-дикетоны и β-кетозефирy алифатикоалициклического ряда.

Реакции ацетил(этоксикарбонил)замещенных циклогексанолонов с гидразинами и гидроксиламином впервые изучили Кневенгель и Рабе [3–5]. При этом были получены конденсированные пиразолы или изооксазолы. Однако долгое время оставались открытыми вопросы их строения и пути образования.

Нами продолжено изучение этих и новых реакций, раскрывающих синтетические возможности ацетил(этоксикарбонил)замещенных циклогексанолонов в построении новых N,O-содержащих гетероциклов, а также проведено изучение их строения и свойств. Так, при взаимодействии соединений **1** с азотсодержащими бинуклеофильными реагентами – гидразингидратом и фенилгидразином – синтезированы новые представители ряда тетрагидроиндазолов **2**.

В зависимости от температурного режима и природы заместителей в субстрате (сложноэфирный, ацетильный) реакция с гидразингидратом протекает как гетероциклизация с образованием циклогекса(б)пиразолов либо как нуклеофильное замещение по наиболее активной карбонильной функции алицикла с образованием гидразонов. Так, при 78°C имеет место гетероциклизация; продуктами являются 6-ацетил(этоксикарбонил)-5-гидрокси-5,9-диметил(9-гидрокси)-7-Ar-1H-4,5,6,7-тетрагидроиндазолы **2**.

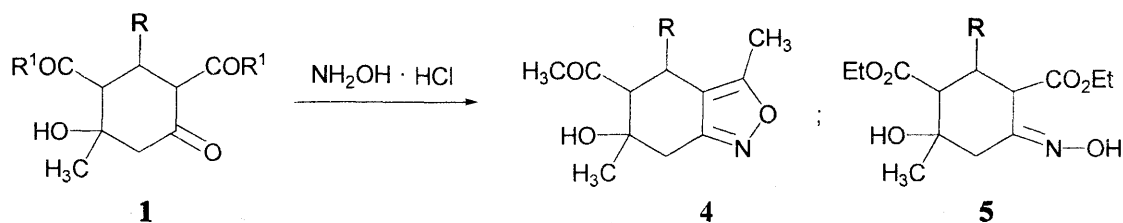
При температуре 0°C в случае соединений, имеющих сложноэфирные заместители, реакция останавливается на стадии образования 3-Ar-2,4-диэтоксикарбонил-5-гидрокси-5-метилциклогексанона **3**, являющихся интермедиатами в процессе образования гетероциклов **2**. При кипячении гидразонов **3** в спиртовом растворе выделяются ожидаемые тетрагидроиндазолы **2** с количественными выходами:



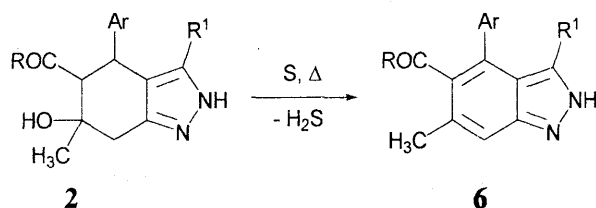
При использовании в качестве нуклеофила фенилгидразина были получены несколько иные результаты. В случае  $\beta$ -кетозэфиров реакция при  $20^\circ\text{C}$  не имела места, вероятно, вследствие меньшей нуклеофильной силы фенилгидразина. При температуре  $78^\circ\text{C}$  гладко протекает гетероциклизация для обоих типов рассматриваемых систем (со

сложноэфирными и ацетильными заместителями) с образованием N-фенил-тетрагидроиндазолов.

Использование N,O-бинуклеофильного реагента гидросиламина приводит к образованию тетрагидробензизоксазолам 4.  $\beta$ -Кетозиферы не подвергаются гетероциклизации, продуктами реакции являются оксимы 5:



С целью изучения свойств циклогексапиразолов и изоксазолов, а также синтеза бензаннелированных гетероциклов осуществлена ароматизация указанных соединений. Под действием серы при температуре  $200^\circ\text{C}$  наблюдалась дегидратация и дегидрирование тетрагидроиндазолов с образованием ранее неизвестных индазолов 6 [3].

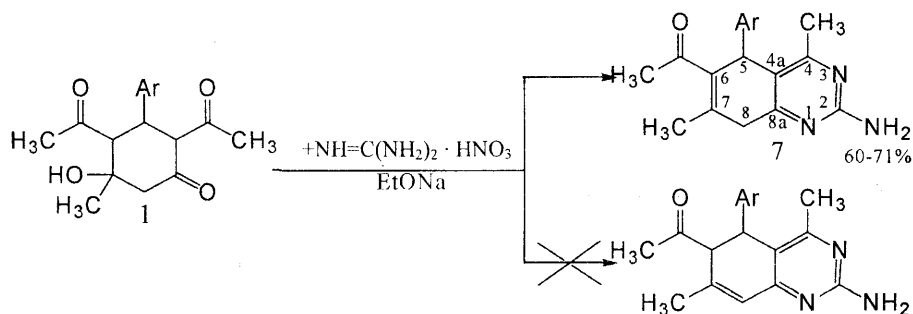


Предпринятые попытки ароматизации O-гетероаналогов тетрагидроиндазолов —

изоксазолов 4 не увенчались успехом, вероятно, из-за термической неустойчивости изоксазольного цикла.

До настоящего времени реакции, приводящие к построению азотсодержащих шестичленных гетероциклов на основе  $\beta$ -дикарбонильных соединений данного типа, не были изучены. Нами впервые проведены эти реакции при использовании в качестве реагента гуанидина.

При взаимодействии 2,4-диацетил-5-гидрокси-5-метил-3-Ar-циклогексанонов с гуанидином в среде абсолютного спирта в присутствии алкоголята натрия были получены с высокими выходами функциональнозамещенные хиназолины — 2-амино-6-ацетил-4,7-диметил-5-Ar-5,8-дигидрохиназолины 7:

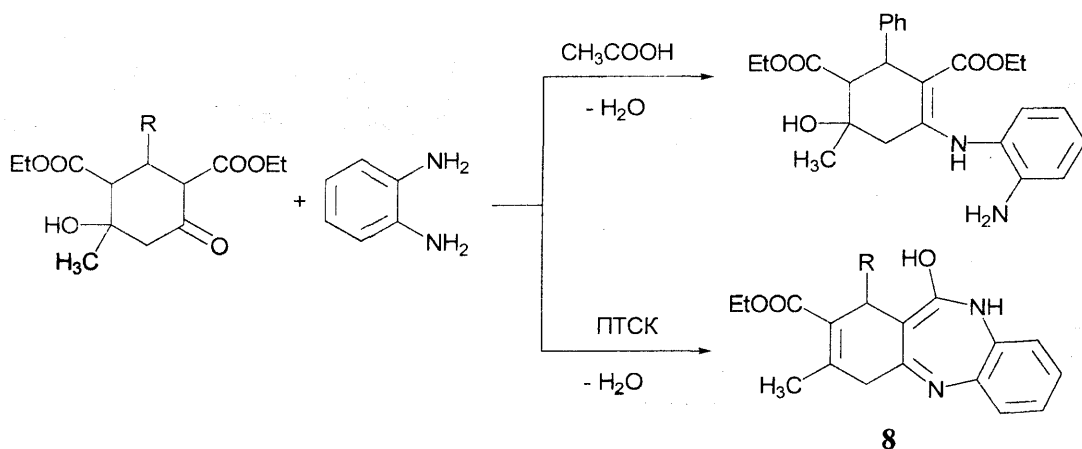


Из двух возможных направлений дегидратации с  $\alpha$ - $\beta$ -, либо с  $\beta$ - $\gamma$ -расположением кратной связи в алицикле реализовался путь с образованием кратной связи, сопряженной с ацетильным заместителем.

В ИК-спектрах соединений 7 наблюдаются валентные колебания аминогруппы ( $3194$ – $3374$   $\text{см}^{-1}$ ), сопряженной карбонильной группы ( $1647$ – $1671$   $\text{см}^{-1}$ ), пиримидинового кольца ( $1578$ – $1601$   $\text{см}^{-1}$ ). Отсутствие в ЯМР  $^1\text{H}$ -спектрах сигнала протона при атоме  $\text{C}^6$  и наличие геминальных протонов при  $\text{C}^8$

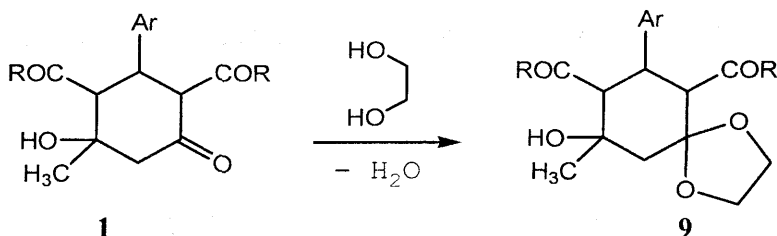
( $2.56$ – $2.58$  м.д.), протона при  $\text{C}^5$  (с.,  $4.10$  м.д.), подтверждают  $\beta$ , $\gamma$ -расположение кратной связи.

о-Фенилендиамин может выступать в роли как моно-, так и 1,4-бинуклеофильного реагента в зависимости от кислотности среды. В присутствии 2%-ной уксусной кислоты образуется продукт аминирования кетона по карбонильной группе алицикла – енамин А. При использовании п-толуолсульфокислоты активируется сложноэфирная оксогруппа; в результате чего образуются диазепинолы 8 с выходами  $44$ – $60\%$  [6]:



Реакции 1,3-дикарбонильных соединений циклогексанового ряда с бинуклеофильными реагентами, не содержащими азот, изучены мало. Описан лишь единственный пример взаимодействия 3-фенил-2,4-диметоксикарбонил-5-гидрокси-5-метилциклогексанона с диэтиленгликолем [7]. Известно, что взаимодействие этиленгликоля с карбонильными

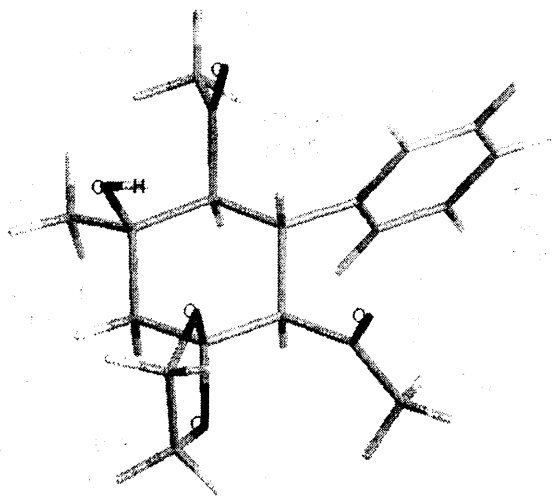
соединениями приводит, как правило, к образованию диоксоланов. На этом основано его использование для «диоксолановой» защиты оксогруппы. Нами установлено, что реакция  $\beta$ -дикетона 1 протекает региоселективно по карбонильной группе алицикла с образованием спирооксоланов 9:





Карбонильные группы ацетильных фрагментов в спирооксоланах **9** не реагируют с этиленгликолем, гидразином и другими бинуклеофилами, вероятно, по стерическим причинам.

Существование в ЯМР  $^1\text{H}$ -спектре сигнала протона гидроксильной группы спира **9** в более слабом поле (~ на 1 м.д.), по сравнению со спектром исходного кетона позволяет предположить образование различных типов внутримолекулярной водородной связи (ВВС) в исходном кетоне и кетале. В первом случае ВВС образуется с участием атомов водорода гидроксильной группы и кислорода ацетильного заместителя, а в случае кетала – с участием водорода гидроксильной группы и наиболее нуклеофильного атома кислорода диоксоланового цикла. Такое предположение подтверждается квантово-химическим расчётом геометрии молекулы методом PM3, согласно которому протон гидроксильной группы расположен ближе к атому кислорода диоксоланового фрагмента, чем к атому кислорода соседней ацетильной группы (рисунки).



Геометрия спирооксолана **9** (ССП МО ЛКАО, PM3)

Не исключена также возможность колебания атома водорода между двумя указанными группами, что подтверждается широким сигналом протона гидроксильной груп-

пы в спектрах ЯМР  $^1\text{H}$ . В молекуле спирооксолана расстояние от карбонильного атома углерода ацетильной группы при C(2) до плоскостей спирооксакольца и фенильного заместителя составляет  $\sim 3\text{\AA}$ , что стерически затрудняет подход нуклеофила [8].

Нами изучены реакции  $\beta$ -циклокетолов **1** при использовании в качестве бинуклеофильного реагента этаноламина, содержащего в своем составе фармакофорную плазмохинную цепочку. При этом можно было ожидать образования N,O-семичленных гетероциклических систем. Установлено, что в зависимости от температурного режима реакции и концентрации кислотного катализатора реакции протекают в различных направлениях с участием одного либо двух нуклеофильных центров реагента с образованием енаминоэфиров **B**, диенаминоэфиров **C**, гетероспиранов **10**.

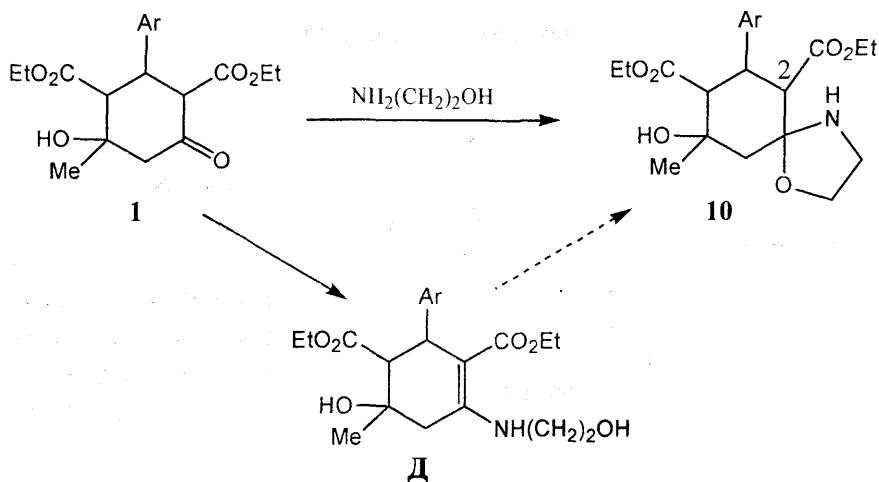
Например, при кипячении 2,4-диэтоксикарбонил-5-гидрокси-5-метил-3-арилциклогексанонов **1** с этанол- и пропаноламином в бензоле как в присутствии катализатора (3% уксусная кислота), так и в его отсутствие, образуются продукты аминирования карбонильной группы алицикла – 2,4-диэтоксикарбонил-5-гидрокси-5-метил-3-Аг-N-(оксикал)циклогексениламины **B**. При увеличении концентрации уксусной кислоты до 12% наряду с аминированием протекает дегидратация, что приводит к циклогексадиенилалканаминам **C**.

Азаоксоспираны **10** образуются в отсутствие катализатора посредством кипячения в толуоле эквимолекулярных количеств реагирующих веществ ( $\beta$ -кетозфир **1**, этаноламин).

Известно, что сами по себе азапираны оказывают действие на ЦНС и являются сравнительно труднодоступными соединениями, так как процесс взаимодействия с этаноламином протекает неоднозначно.

Образование последних можно представить через енаминный интермедиат с их последующей спироциклизацией:





Анализ спектров вновь синтезированных енаминов **Д** и родственно построенных полученных нами ранее веществ (ИК-, ЯМР  $^1\text{H}$  и данные РСТА) [9] позволил сделать вывод, что соединения **Д** являются цис-фиксированными енаминоэфиром за счет образования ВВС  $\text{C}=\text{O} \cdots \text{NH}$ . В ЯМР  $^1\text{H}$ -спектрах спиранов **10**, в отличие от енаминов **Д**, имеется сигнал протона при атоме  $\text{C}^2$  (2.89 м.д., д.,  $J = 12$  Гц).

Синтезированные нами соединения вместе с группой ранее полученных на кафедре органической и биоорганической химии Саратовского госуниверситета веществ аналогичного строения были испытаны на биологическую активность – антифаговую (РосНИПЧИ «Микроб», г. Саратов) и антимикробную (Пермская фармацевтическая академия).

Антифаговое действие определялось на модели бактериофага кишечной группы Т4 на индикаторной культуре *Escherichia coli* В [2,9]. Среди исследованных веществ выявлены соединения, обладающие выраженной антифаговой активностью по отношению к кишечному фагу Т4. Из гетероциклических соединений наибольшей активностью обладает изоксазол, содержащий о-фторфенильный заместитель.

Криопротекторная активность конденсированных изоксазолов и тетрагидроиндазолов изучалась на примере чумной вакцины ЕВ. Отдельные представители были рекомендованы для дальнейших углубленных испытаний в качестве криопротекторов при лиофилизации бактерий.

Работа выполнена при финансовой поддержке Президента Российской Федерации (грант МК-9885.2006.3) и Федерального агентства по науке и инновациям (грант № 207-3-1.3-28-01-229).

#### Библиографический список

1. Смирнова Н.С., Плотников О.П., Виноградов Н.А. и др. Синтез и биологическая активность замещенных 1-аза(окса)-2-азабицикло-[4.3.0]-нондиенов-2,8 // Хим. фарм. журн. 1995. №1. С.44–46.
2. Sorokin V.V., Plotnikov O.P., Ramazanov A.K. et al. Synthesis of azaheterocycles from 3-R-2,4-diacetyl (diethoxycarbonyl)-5-hydroxy-5-methylcyclohexanones // Nitrogen-Containing Heterocycles and Alkaloids / Eds. V.G. Kartsev, G.A. Tolstikov. Moscow: Iridium Press, 2001. V.2. P.207.
3. Pramula B., Rajanarender E., Shoolery J.N., Krishna M. Identification of Isomers by 2D-INADEQUATE NMR: Synthesis and Antibacterial Activity of 5-Acetyl-4-aryl-6-hydroxy-3,6-dimethyl-4,5,6,7-tetrahydro-2,1-benz isoxa zoles // Indian. J. Chem. 1985. V.B24, №12. P.1255–1258.
4. Rabe P., Else F. Zur Kenntniss der 1,5-Diketone // Lieb. Ann. 1902. Bd.323. S.83.
5. Knoevenagel E. 1,5-Diketone.(Erste Mittheilung) Einwirkung von Phenylhydrazin auf Benzylidendiäcetylacetone // Lieb. Ann. 1894. Bd.281. S.83–85.
6. Сорокин В.В., Григорьев А.В., Рамазанов А.К., Кривенько А.П. Синтез 5-ацетил(этоксикарбонил)-6-гидрокси-6-метил-3R-4R-индазолов // ХГС. 1999. №6. С.757–759.
7. Kingsbury C.A., Egan R.S., Perun T.J. Structures and Reactions of Condensation Products of Benzaldehyde and Acetoacetic Ester // J. Org. Chem. 1970. V.35, №9. P.2913–2918.
8. Kozlova E.A., Kriven'ko A.P., Grigor'ev A.V., Sorokin V.V. Regioselective Ethanolamination and Ketalization of 3-Ph-2,4-diacetyl(diethoxycarbonyl)-5-hydroxy-5-methylcyclohexan // Molecules 2003. №8. P.251–255.
9. Григорьева Э.А., Кривенько А.П., Сорокин В.В. и др. Реакции замещенных циклогексанолонов с алициклическими и жирноароматическими аминами // Изв. вузов. Сер. Химия и химическая технология. 2004. Т.47, вып.4. С.108–111.

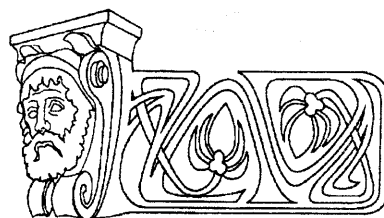


УДК 547.594.4:548.736

## СИНТЕЗ, СТЕРЕОХИМИЯ И РЕАКЦИИ СОПРЯЖЕННЫХ ЦИКЛОГЕКСАДИЕНОНОВ С N-НУКЛЕОФИЛЬНЫМИ РЕАГЕНТАМИ

А.Г. Голиков, А.А. Бугаев

Саратовский государственный университет,  
кафедра органической и биорганической химии,  
E-mail: golikov@san.ru



Обобщены данные по синтезу, стереохимии и реакционной способности несимметричных сопряженных циклогексадиенонов. Разработаны условия синтеза для каждого типа соединений, установлена их конфигурация. На основе сопряженных диенонов синтезированы ранее неизвестные гетарилзамещенные гексагидроиндазолы. Установлены региоспецифичность и региоселективность образования последних в зависимости от природы гетероциклического заместителя. Спектральными методами и РСТА установлены *транс*-конфигурация гексагидроиндазолов и соотношение региоизомеров. Среди новых соединений обнаружены вещества с высокой антистафилококковой активностью, превышающей препараты сравнения.

### The Synthesis, Stereochemistry and Reactions of Conjugated Cyclohexadienones with N-Nucleophilic Reagents

A.G. Golikov, A.A. Bugaev

The data about synthesis, stereochemistry and reactivity of asymmetric conjugated cyclohexadienones are generalized. Experimental conditions are developed for every type of compound, and their configuration is established. On the basis of conjugated dienones are synthesized earlier unknown heteroarylsubstituted hexahydroindazoles. The regiospecificity and regioselectivity of these compounds formation are established depending on the nature of heterocyclic substitute. *Trans*-configuration of hexahydroindazoles and the ratio of regioisomers are determined by spectral methods and X-ray analysis. Among the new compounds the substances with high antistaphylococcus activity exceeding the comparable preparation are observed.

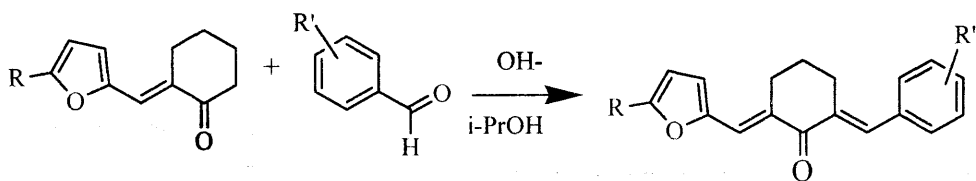
В последнее десятилетие значительно возросло число работ, посвященных синтезу и свойствам циклических  $\alpha,\beta$ -диенонов [1–5]. Интерес к данным системам наряду с вопросами теоретической химии обусловлен обширными возможностями их практического применения в качестве биологически активных веществ (антиандрогенные, антилейкемийные, жаропонижающие, антимикробные свойства, холеретическая и противовоспалительная активность) в оптике, ракетной технике, при создании новых полимерных материалов [1, 2]. В последние годы активно изучается возможность использования антиоксидантных свойств циклических диенонов – аналогов природного антиоксиданта куркумина в экологических целях. Доступность и

высокая реакционная способность циклодиенонов делает их удобными синтонами для построения различных гетероциклических систем, в том числе и практически значимых. Среди последних следует выделить гексагидроиндазолы, обладающие противовоспалительными, антибактериальными, депрессантными свойствами.

К настоящему времени достаточно хорошо изучена химия диарилметиленциклононов симметричного строения [5–7], вероятно, в связи с их доступностью и однозначностью протекания реакций. Несимметричные сопряженные циклогексадиеноны изучены мало. Введение в структуру последних гетероциклических фрагментов создает дополнительные электрофильные и нуклеофильные центры, предопределяющие возможность протекания комплексообразования, солеобразования и иных, что делает актуальным исследование в данном направлении.

В настоящей статье обобщены данные по синтезу, стереостроению и реакциям несимметричных циклогексадиенонов.

Нами впервые синтезированы циклогексадиеноны несимметричного строения, содержащие в качестве гетероциклических фрагментов фурановый, тиофеновый и пиридиновый циклы. Синтез 6-арилметилен-2-фурилметиленциклогексанонов 1–14 осуществлен посредством кротоновой конденсации 2-(5-R-фурилметилен)циклогексанонов с ароматическими альдегидами, содержащими в бензольном кольце электронодонорные (4-OMe, 4-NMe<sub>2</sub>) и электроноакцепторные (4-NO<sub>2</sub>, 3-NO<sub>2</sub>, 2-Br, 2-Cl, 2-F) заместители в условиях основного катализа (20%-раствор NaOH) при комнатной температуре [8]:



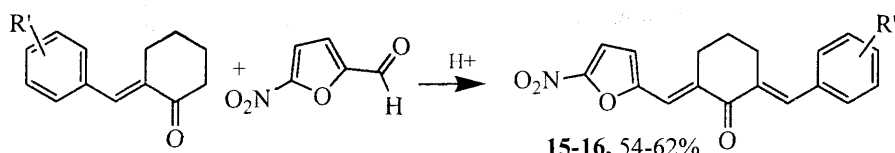
1 – 14, 60–92%

R=H: R'=H(**1**); 4-OMe(**2**); 4-NMe<sub>2</sub>(**3**); 4-Br(**4**); 4-NO<sub>2</sub>(**5**); 3-NO<sub>2</sub>(**6**);  
2-Cl(**7**); 2-F(**8**); R=Me: R'=H(**9**); 4-OMe(**10**); 4-NMe<sub>2</sub>(**11**); 4-Br(**12**);  
3-NO<sub>2</sub>(**13**); 2-Cl(**14**)

При этом выявлено, что природа заместителя существенно влияет на активность альдегида, а следовательно, и на выходы кетонов, которые колеблются от 52 до 92%. Так, с наиболее высокими выходами (79–92%) получены диеноны **1**, **9**, не содержащие заместителя в бензольном кольце, и **4–8**, **12–14** с электронодонорными группами (4-Br, 4-NO<sub>2</sub>, 3-NO<sub>2</sub>, 2-Cl, 2-F). Заметно ниже

(52–68%) выходы диенонов **2–3**, **10–11**, имеющих электронодонорные группы (4-OMe, 4-NMe<sub>2</sub>), причем для синтеза соединений **3**, **11** (R'=4-NMe<sub>2</sub>) потребовалось использование 40%-ного NaOH в качестве катализатора.

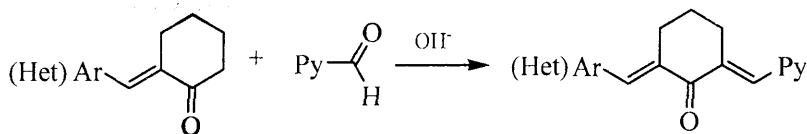
Особенностью синтеза кетонов **15**, **16** с фармакофорным 5-нитрофурановым циклом является кислый катализ:

R' = H (**15**), 4-OMe (**16**)

15-16, 54-62%

Взаимодействием 2-фенил- и 2-гетарилметилениклогексанонов с α- и β-пиридиновыми альдегидами в основной среде получены циклогексадиеноны **17**, **18**, сочетающие в

своей структуре бензольный и пиридиновый циклы и **19–22**, содержащие два гетероциклических фрагмента (пиридинильный и фурильный или тиенильный):



17-22, 71-87%.

Ar=Ph: Py=2-Py(**17**); 3-Py(**18**); Het=Fu: Py=2-Py(**19**); 3-Py(**20**); Het=Th:  
Py=2-Py(**21**); 3-Py(**22**)

Полученные циклогексадиеноны могут существовать в виде E,E-; E,Z-; Z,E-; Z,Z- конфигурационных изомеров. Данные тонкослойной хроматографии свидетельствуют о получении одного изомера. Спектры ЯМР <sup>1</sup>H, ИК и рентгеноструктурное исследование диенонов **1** и **17** (рис. 1, 2) подтверждают их E,E-конфигурацию. В структуре соединения **1** фурановый цикл расположен в одной плоскости с соседней виниленовой связью. Бен-

зольное кольцо и связь C<sup>10</sup>=C<sup>12</sup> некомпланарны и расположены под углом 36,3° [9].

В молекуле циклогексадиенона **17** пиридиновый цикл и бензольное кольцо отклоняются от плоскости C=C-C(=O)-C=C на 21,2° и 28,9° соответственно. Атом кислорода карбонильной группы и атом азота пиридинового кольца имеют *транс*расположение.

Реакции несимметричных циклогексадиенонов практически не изучены.

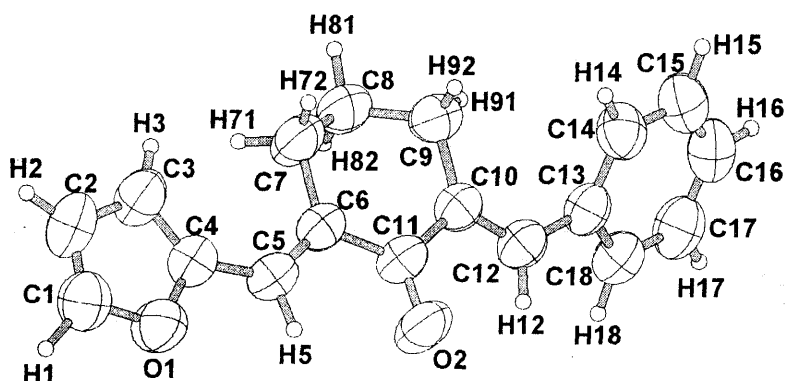


Рис. 1. Общий вид молекулы 6-фенилметилден-2-фурилметилденциклогексанона(1)

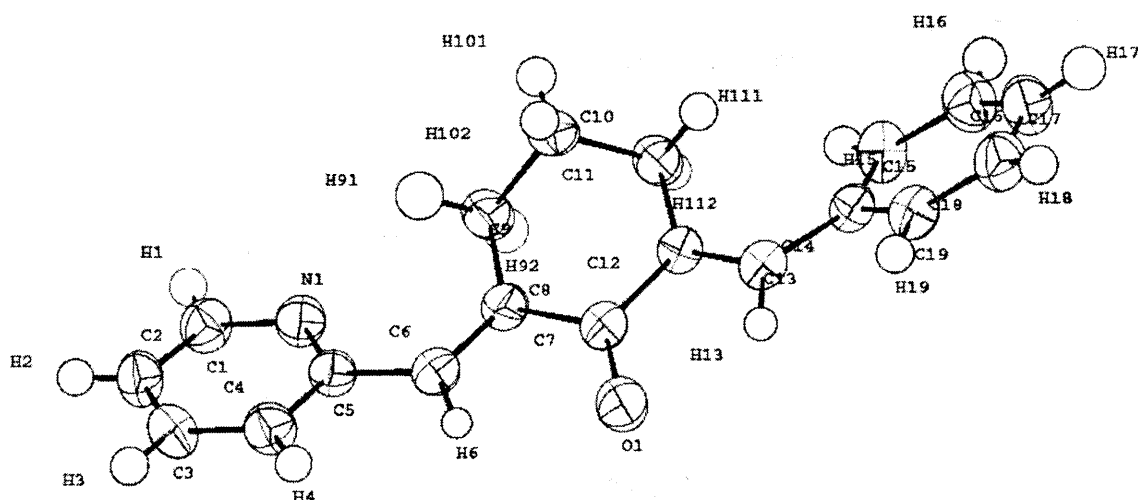
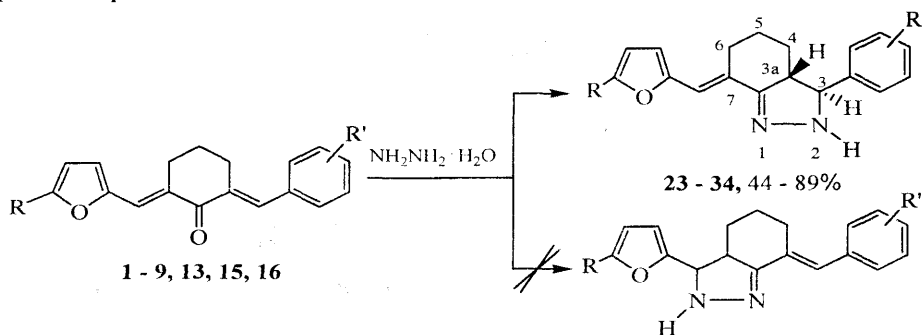


Рис.2. Общий вид молекулы 2-(2-пиридилметилден)-6-фенилметилденциклогексанона (17)

Нами впервые исследовано взаимодействие синтезированных несимметричных циклогексадиенонов с N-нуклеофильными реагентами (гидразин, фенилгидразин) [10–16]. Вследствие неравноценности виниленовых фрагментов в их структуре, возникает проблема регионарности.

Реакции 6-арилметилден-2-фурилметилденциклогексанона 1–9, 13, 15, 16 с гидразингидратом при соотношении 1 : 5 протекают региоспецифично с образованием 3-арил-7-фурилметилден-3,3a,4,5,6,7-гексагидро-2H-индазолов 23–34 с выходами 44–89%:



R=H: R'=H(23); 4-OMe(24); 4-NMe2(25); 4-Br(26); 4-NO2(27); 3-NO2(28); 2-Cl(29); 2-F(30);  
R=Me: R'=H(31); 3-NO2(32); R=NO2: R=H(33); 4-OMe(34)

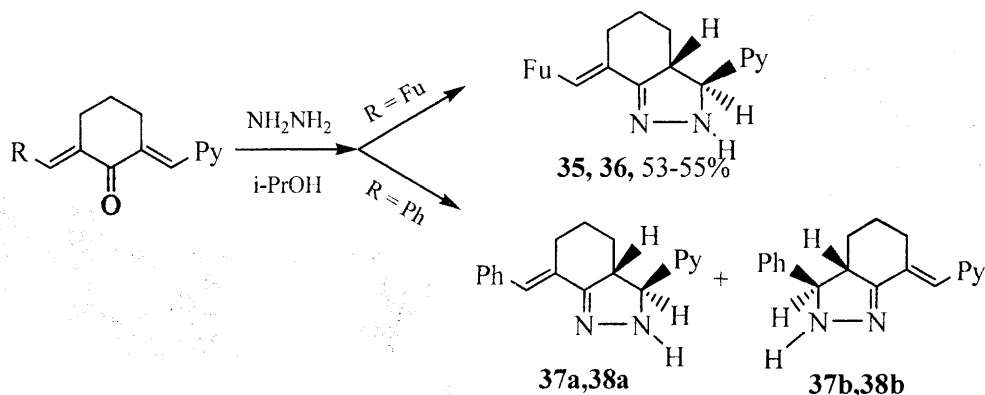


2-(2- и 3-Пиридилметил)-6-фурилметиленициклогексаноны **19**, **20** гидразинируются (подобно арилметиленифурилметиленициклогексанонам) региоспецифично с участием пиридилметиленового фрагмента.

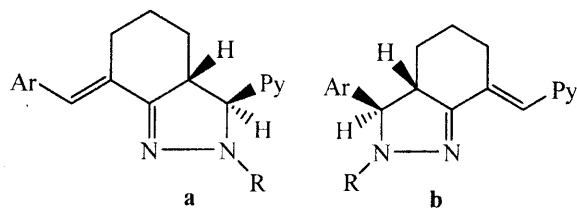
Особенностью 2- и 3-пиридилзамещенных диенонов **17**, **18** является азациклизация с участием двух альтернативных направлений. Наличие в структуре циклогексодиенонов  $\pi$ -акцепторного 2- или 3-пиридинового цикла наряду с фенильным заместителем

приводит к образованию смесей региоизомерных гексагидроиндазолов **37a**, **38a** и **37b**, **38b** с суммарными выходами 62–86%:

ЯМР  $^1\text{H}$  спектры свидетельствуют о *транс*-конфигурации протонов при  $\text{C}^3$ ,  $\text{C}^{3a}$  углеродных атомах NH-гексагидроиндазолов **23–38** [11]. На основании интегральных интенсивностей сигналов  $\text{H}^3$  определено содержание региоизомерных NH-гексагидроиндазолов (таблица).



Содержание региоизомерных гексагидроиндазолов



| Ar | Py   | R  | Изомер а   | Содержание, % | Изомер б   | Содержание, % | Соотношение региоизомеров |
|----|------|----|------------|---------------|------------|---------------|---------------------------|
| Fu | 2-Py | H  | <b>35a</b> | 100           | <b>35b</b> | 0             | –                         |
| Fu | 3-Py | H  | <b>36a</b> | 100           | <b>36b</b> | 0             | –                         |
| Ph | 2-Py | H  | <b>37a</b> | 75            | <b>37b</b> | 25            | 3:1                       |
| Ph | 3-Py | H  | <b>38a</b> | 33            | <b>38b</b> | 67            | 1:2                       |
| Fu | 2-Py | Ph | <b>49a</b> | 100           | <b>49b</b> | 0             | –                         |
| Fu | 3-Py | Ph | <b>50a</b> | 100           | <b>50b</b> | 0             | –                         |
| Ph | 2-Py | Ph | <b>51a</b> | 67            | <b>51b</b> | 33            | 2:1                       |
| Ph | 3-Py | Ph | <b>52a</b> | 14            | <b>52b</b> | 86            | 1:6                       |

В ЯМР  $^1\text{H}$  спектрах индивидуальных изомеров **23–36**, **39** виниленовые протоны имеют синглет в области 6,32–6,94 м.д., а для смесей региоизомеров **37**, **38** характерны два сигнала виниленовых протонов в области 6,48–7,60 м.д. Ключевыми являются сигналы

метиновых протонов при  $\text{C}^3$  (4,30–5,10 м.д.; д.  $J_{3,3a} = 14\text{--}15\text{ Гц}$ ) и  $\text{C}^{3a}$  (3,09–3,24 м.д.; м) углеродных атомах. Сигнал  $\text{H}^3$  проявляется для индивидуальных региоизомеров в виде одного, а для смесей региоизомеров – в виде двух дублетов.

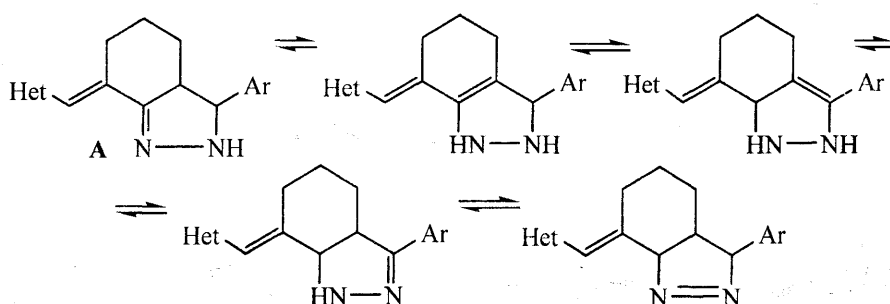


Положение химического сдвига протона  $H^3$  для соединений **23–34** существенно зависит от типа заместителя в ароматическом кольце. Электронодонорные группы (4-OMe, 4-NMe<sub>2</sub>) вызывают смещение сигнала в сильное поле (4,30–4,35 м.д.), а электроноакцепторные (3-NO<sub>2</sub>, 4-NO<sub>2</sub>, 2-Cl, 2-F) – в слабое поле (4,54–5,10 м.д.) по сравнению с аналогичным сигналом незамещенного в бензольном кольце гексагидроиндазола **23** (4,44 м.д.). Такое сильное влияние на химический сдвиг протона  $H^3$  можно объяснить только в случае гетероциклизации с участием арилметиленового фрагмента и образования 3-арил-7-фурил-метил-3,3а,4,5,6,7-гексагидроиндазолов.

Конфигурация вицинальных протонов пиразолинового цикла  $H^3$  и  $H^{3a}$  определена на основании собственных и литературных

данных. Вместе с тем установлено, что использовать для этих целей КССВ (используемую ранее многими авторами) нельзя. Отнесение изомеров возможно с помощью химических сдвигов протонов  $H^3$ ,  $H^{3a}$ ,  $H^4$ . Сигналы  $H^3$  в спектрах *цис*-изомеров сдвинуты в слабое поле на 0,5–0,7 м.д. относительно сигналов *транс*-изомеров (4,30–5,10 м.д.). Сигнал  $H^{4a}$  еще более чувствителен к диамагнитной анизотропии арильного заместителя и для *цис*-изомеров сдвинут в сильное поле на 0,9–1,0 м.д. относительно сигнала *транс*-изомера (1,48–1,53) [6, 9].

НН-Гексагидроиндазолы **23–38** могут существовать в виде нескольких таутомерных форм, что обусловлено возможностью миграции протона в гетероцикле:



Спектральные и рентгеноструктурные исследования (рис.3) позволяют сделать вы-

вод о существовании синтезированных индазолов в 2Н форме (структура А).

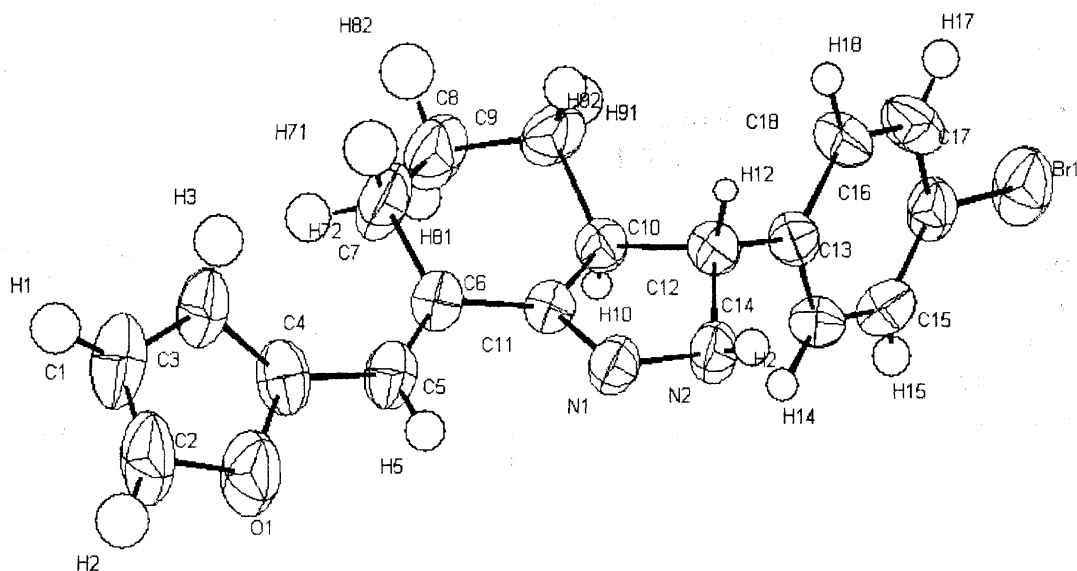


Рис.3. Общий вид молекулы *транс*-3-(4-бромфенил)-7-фурилметил-3,3а,4,5,6,7-гексагидро-2Н-индазола (**26**)

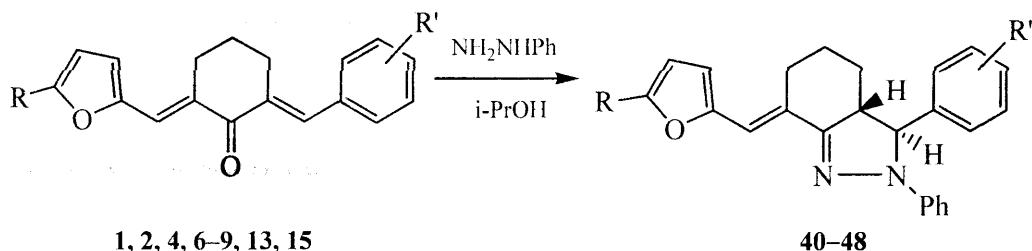




Введение в молекулу фенильного заместителя к атому азота позволяет прогнозировать появление у соединений флюоресцентных свойств.

Реакции 6-арилметилден-2-фурилметилденциклогексанонов **1, 2, 4, 6–9, 13, 15** с фенил-

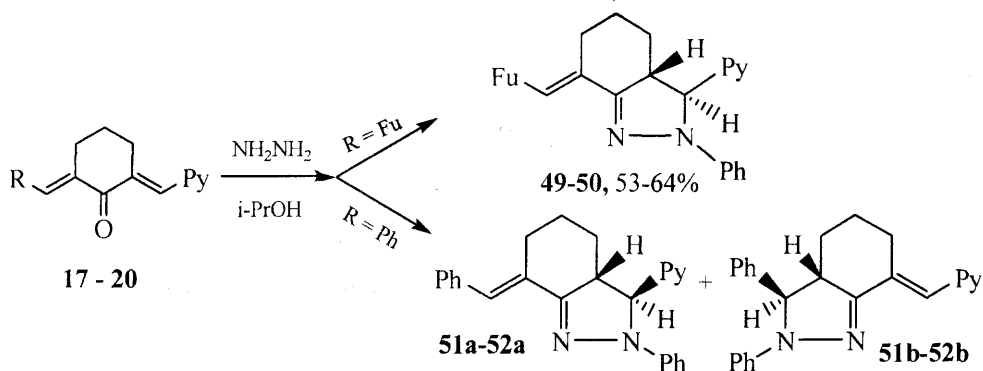
гидразином протекают региоспецифично в том же направлении, что и гидразинирование, с образованием транс-3-арил-2-фенил-7-фурилметилден-3,3а,4,5,6,7-гексагидроиндазолов **40–48** с выходами 55–89% [10]:



R=H: R'=H(**40**); 4-OMe (**41**); 4-Br(**42**); 3-NO<sub>2</sub>(**43**); 2-Cl(**44**); 2-F(**45**);  
R=Me: R'=H(**46**); 3-NO<sub>2</sub>(**47**); R=NO<sub>2</sub>; R'=H(**48**).

В случае 2- (2- и 3-пиридилметилден)-6-фенилметилденциклогексанонов (**17, 18**) образуются региоизомерные гексагидроиндазолы **51a, 52a** и **51b, 52b**.

Содержание региоизомерных гексагидроиндазолов установлено на основании сравнения интегральных интенсивностей сигналов H<sup>3</sup> в спектрах ЯМР <sup>1</sup>H (таблица).



Py=2-Py(**49, 51**); 3-Py(**50, 52**)

Методом рентгеноструктурного анализа установлено, что соединение **41** (рис. 4) [12] содержит циклогексановое кольцо в конформации кресла, пиразолиновый цикл представляет собой «конверт» с выходом атома C12 (на рис. 4 приведена автономная нумерация) из плоскости атомов N<sup>1</sup>, N<sup>2</sup>, C<sup>10</sup>, C<sup>11</sup>, что характеризует двугранный угол N<sup>1</sup>–C<sup>11</sup>–C<sup>10</sup>–C<sup>12</sup>, составляющий 12.6°. Атомы водорода при атомах углерода C<sup>3</sup> и C<sup>3a</sup> (автономная нумерация на рис. соответственно C<sup>10</sup> и C<sup>12</sup>) находятся в *транс*положении. Фуффуриленовый фрагмент имеет *s-цис*конфигурацию.

Заместители большого стерического объема (N-фенильный, 4-метоксифенильный) и связь C<sup>9</sup>–C<sup>10</sup> располагаются псевдоэкваториально по отношению к пиразолиновому циклу.

На основании приведенных выше данных можно предложить схему реакции циклогексацикленов с гидразином и фенилгидразином через образование гидразона с последующей внутримолекулярной азациклизацией. При этом образуется гетероцикл с псевдоэкваториальным *транс*расположением заместителей большого стерического объема (арил, связь C<sup>3a</sup>–C<sup>4</sup>) и псевдоаксиальным расположением протонов при C<sup>3</sup> и C<sup>3a</sup>-атомах:

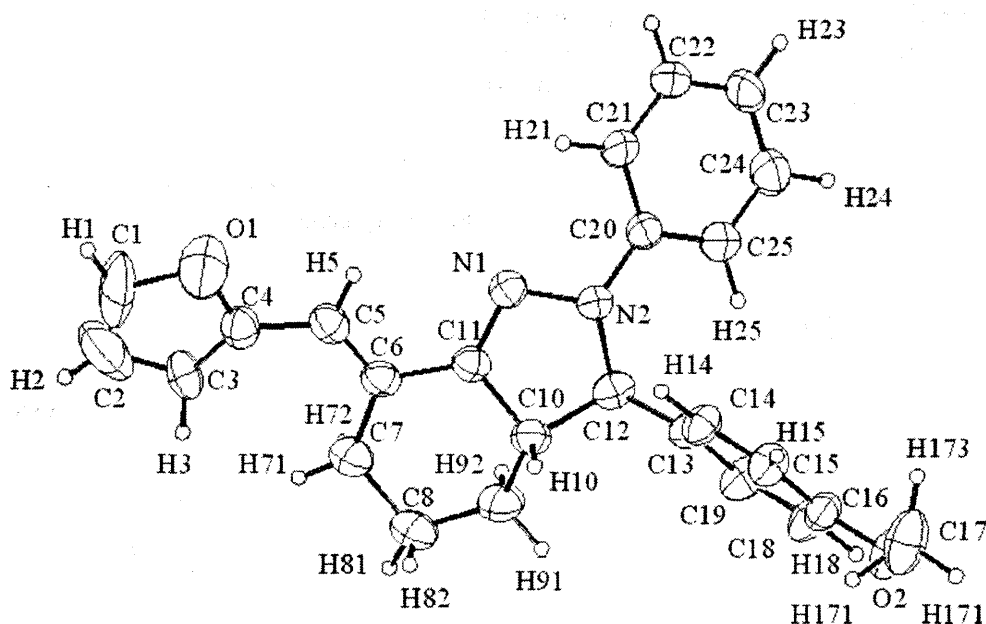
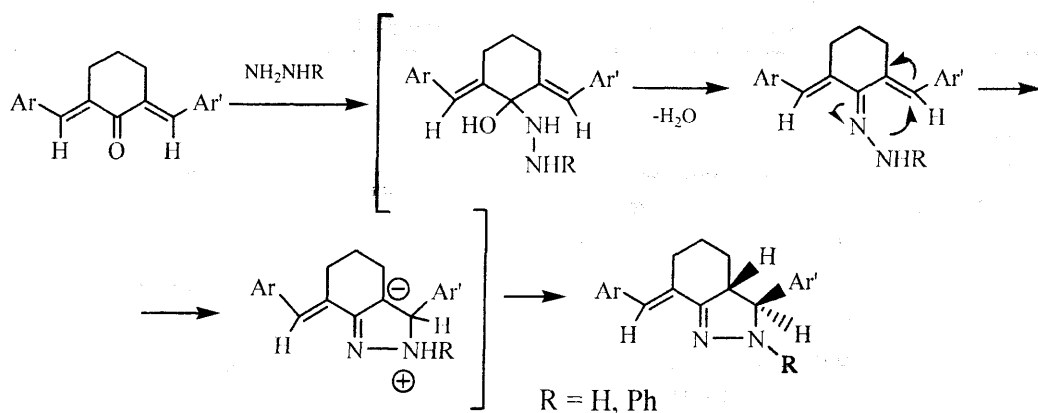
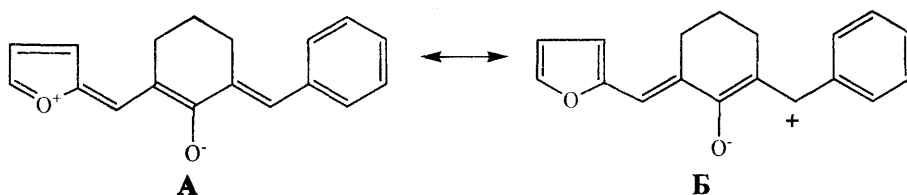


Рис.4. Общий вид молекулы *транс*-2-фенил-3-(4-метоксифенил)-7-фурилметилен-3,4,4,5,6,7-гекса-гидроиндазола (**41**)

Влияние на регионаправленность азагетероциклизации оказывают два фактора – электронный и пространственный.

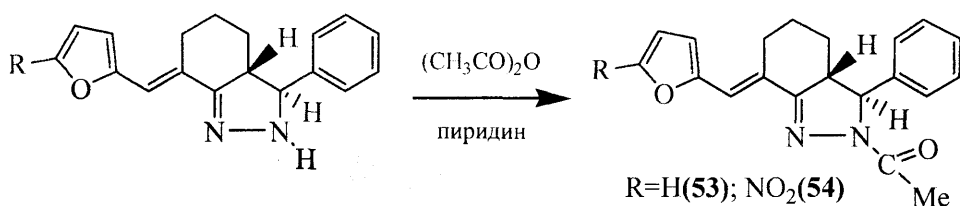
По данным РСТА 6-фенилметилен-2-фурилметиленциклогексанона (**1**) (см. рис. 1), ароматическое кольцо расположено под углом  $36,3^\circ$  по отношению к системе  $C-C-C=O$ , что значительно уменьшает его вклад в сопряжение и способствует повышению част-

тичного положительного заряда фенилметиленового атома углерода. Фурановый цикл находится в одной плоскости с сопряженной системой, что позволяет сделать вывод о значительном вкладе резонансных структур **A** и **Б** в усредненную геометрию молекулы **1** и объяснить предпочтительность нуклеофильных атак по бензилиденовому атому углерода:



Для диенон **17**, содержащего фенильный и  $\alpha$ -пиридилный заместители, предпочтительна азациклизация с участием пиридилметиленового фрагмента вследствие сильного электроноакцепторного влияния атома азота в  $\alpha$ -положении пиридинового цикла.

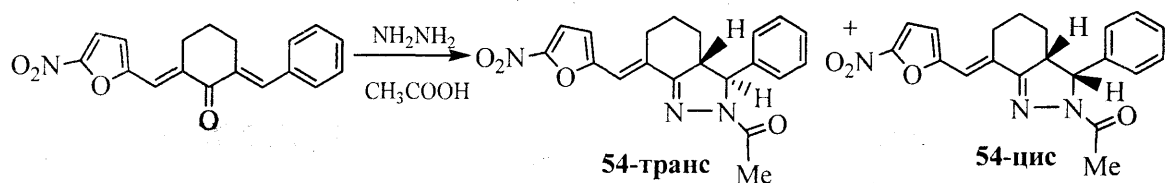
В случае 3-пиридилметиленового аналога **18** влияние атома азота в  $\beta$ -положении пиридинового кольца значительно ослаблено, что делает более выгодными реакции с участием фенилметиленового фрагмента.



Аналогично протекает и малеинирование халконов.

Особенностью трехкомпонентного синтеза (диенон + гидразингидрат + уксусная

кислота) является образование смеси *цис*- и *транс*изомеров (**54-транс** и **54-цис**) в соотношении 1 : 1.



В ЯМР  $^1\text{H}$ -спектрах гексагидроиндазолов **53**, **54-транс** сигналы вицинальных протонов  $\text{H}^3$ ,  $\text{H}^{3a}$  наблюдаются при 4,83–4,91 и 3,17–3,34 м.д. соответственно ( $J_{3,3a} = 9,5\text{--}10$  Гц), а сигнал протона  $\text{H}^{4a}$  при 1,51–1,54 м.д. Сигналы  $\text{H}^3$  и  $\text{H}^{3a}$  изомера **54-цис** смещены в слабое поле до 5,64 и 3,80 м.д. ( $J_{3,3a} = 11,4$  Гц) соответственно, а сигнал  $\text{H}^{4a}$  – в слабое поле до 0,75 м.д. Соединение **54-цис** является единственным примером синтезированного нами замещенного гексагидроиндазола с *цис*-расположением атомов водорода  $\text{H}^3$  и  $\text{H}^{3a}$ .

Синтезированные нами соединения – циклогексадиеноны **1–4**, **6**, **8**, **12**, **13**, **15** и гексагидроиндазолы **25**, **26**, **28**, **30**, **35**, **42–45**, **49**, **50** – на кафедре микробиологии с вирусологией Саратовского государственного медицинского университета были подвергнуты

скринингу на антимикробную активность по отношению к грамположительным и грамотрицательным микроорганизмам: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus mirabilis* 20, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27835.

Установлено, что все исследуемые соединения проявляют антимикробную активность при МИК 100 мкг/мл по отношению ко всем тест-микробам.

Из серии  $\alpha,\beta$ -диенонов следует выделить 6-(4-метоксифенилметил)-2-фурилметиленциклогексанон (**2**), МИК которого по отношению к *Ps. aeruginosa*, *E. coli* и *S. aureus* составила 50 мкг/мл, и 6-(3-нитрофенилметил)-2-(5-метилфурилметил)-циклогексанон (**13**) с МИК 50 мкг/мл по отношению к *Ps. aeruginosa*.



Среди гексагидроиндазолов наибольшей активностью обладают соединения **35**, **51**, содержащие в своей структуре нитрофурановый цикл. МИК по отношению к стандартным штаммам *S. aureus* для 2,3-дифенилметилена-7-(5-нитрофурилметилена)-3,3а,4,5,6,7-гексагидроиндазола (**51**) составляет 1,25 мкг/мл, а для 3-(5-нитрофурил)-7-(5-нитрофурилметилена)-3,3а,4,5,6,7-гексагидро-2Н-индазола (**35**) – 0,62 мкг/мл, что превышает МИК препаратов сравнения нитрофуранового ряда – фурацилина и фуразолидона. Исследования на клинических штаммах стафилококков соединения **35**, содержащего два нитрофурановых цикла, показали высокую активность (МИК<sub>50</sub> 1,17 мкг/мл), что превышает активность препаратов сравнения (фуразолидона в 2,3 раза, фурацилина в 16 раз, цефатоксима в 1,5 раза) при низкой токсичности (LD<sub>50</sub> 500 мкг/мл).

Таким образом, получен новый тип соединений нитрофуранового ряда, содержащих азометиновую группу в пиразолиновом цикле.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Федерального агентства по науке и инновациям (грант № 207-3-1.3-28-01-229).*

#### Библиографический список.

1. Dimmock J.R., Padmanilayam M.P., Zello G.A. et al. Cytotoxic analogues of 2,6-bis (arylidene) cyclohexanones // Eur. J. Med. Chem. 2003. V.38, №2. P.169–177.
2. Gafner S., Lee S.L., Cuendet M. et al. Biologic evaluation of curcumin and structural derivatives in cancer chemoprevention model systems // Phytochemistry (Elsevier). 2004. V.65, №21. P.2849–2859.
3. Свириденкова Н.А., Ковалкина М.А., Вацадзе С.З., Зык Н.В. Новые пиразолиновые производные циклических кетонов // Карбонильные соединения в синтезе гетероциклов / Под ред. проф. А.П. Кривенько. Саратов: Изд.-во Сарат. ун.-та. 2004. С.257–258.
4. Вацадзе С.З., Свириденкова Н.В., Манаенкова М.А. и др. Синтез несимметричных диенонов с гетероароматическими заместителями // Изв. РАН. Сер. Химия. 2005. №9. С.2156–2158.
5. Свириденкова Н.В., Вацадзе С.З., Манаенкова М.А., Зык Н.В. Взаимодействие сопряженных диенонов с фенил- и 2-пиридилгидразином // Изв. РАН. Сер. Химия. 2005. №11. С.2509–2512.
6. Гелла И.М., Амаду Разак Яя, Орлов В.Д. Пиразолины-2 на основе диарилденциклогексанонов. Синтез и стереохимия частично гидрированных арилиндазолов // Вестн. Харьк. нац. ун-та. 2001. №532. Химия. Т.30, №7. С.103–111.
7. Десенко С.М., Орлов В.Д. Азагетероциклы на основе ароматических непредельных кетонов. Харьков: Фолио. 1998. 145 с.
8. Кривенько А.П., Бугаев А.А., Голиков А.Г. Синтез и стереостроение 2-фурфуриден-6-арилиденциклогексанонов // ХГС. 2005. №2. С.191–195.
9. Голиков А.Г., Кривенько А.П., Бугаев А.А., Солодовников С.Ф. Молекулярная и кристаллическая структура бензилиденфурфуриденциклогексанонов // Журн. структурн. химии. 2006. Т.47, №1. С.104–107.
10. Бугаев А.А., Голиков А.Г., Кривенько А.П. Синтез замещенных гексагидроиндазолов // ХГС. 2005. №7. С.986–990.
11. Бугаев А.А., Голиков А.Г., Фомина Ю.А. и др. Региоселективное гидразинирование 6-арилиден-2-фурфуриденциклогексанонов. Синтез 3-арил-7-фурфуриден-3,3а,4,5,6,7-гексагидро-2Н-индазолов // Изв. вузов. Химия и химическая технология. 2005. Т.48, №4. С.84–87.
12. Голиков А.Г., Бугаев А.А., Кривенько А.П., Солодовников С.Ф. Стереостроение полизамещенных гексагидроиндазолов // Изв. вузов. Химия и химическая технология. 2005. Т.48, №9. С.44–48.
13. Голиков А.Г., Райкова С.В., Бугаев А.А. и др. Синтез и антимикробная активность некоторых (нитро)фурфуриден-содержащих гексагидроиндазолов // Хим.-фарм. журн. 2005. Т.39, №2. С.22–24.
14. Кривенько А.П., Николаева Т.Г., Бугаев А.А., Голиков А.Г. Фурфуриденарилиденциклогексаноны. Реакции с азотсодержащими нуклеофильными реагентами с сохранением и раскрытием фуранового цикла // Кислород- и серусодержащие гетероциклы / Под ред. В.Г. Карцева. М.: IBS-PRESS, 2003. Т.1. С.315–318.
15. Бугаев А.А., Райкова С.В., Голиков А.Г. и др. Антибактериальная активность арилиден(гет)арилиденциклогексанонов и гексагидроиндазолов на их основе // Карбонильные соединения в синтезе гетероциклов / Под ред. проф. А.П. Кривенько. Саратов: Научная книга, 2004. С.62–64.
16. Голиков А.Г., Бугаев А.А., Мыслик Л.В., Кривенько А.П. Исследование региоселективности реакции азациклизации фурфуриденарилиденциклогексанонов и фенилгидразина в замещенные гексагидроиндазолы // Карбонильные соединения в синтезе гетероциклов / Под ред. проф. А.П. Кривенько. Саратов: Научная книга, 2004. С.79–83.

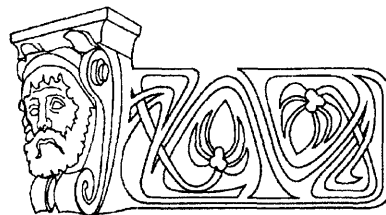


УДК 547.594.3

# СИНТЕЗ, СТРОЕНИЕ, РЕАКЦИИ ПОЛИКАРБОНИЛЗАМЕЩЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЦИКЛОГЕКСАНОВОГО РЯДА

В.В. Сорокин

Саратовский государственный университет,  
кафедра органической и биорганической химии  
E-mail: sorokinvv@info.sgu.ru



Обобщены сведения о реакциях 3-R-2,4-диацетил(диэтоксикарбонил)-5-гидрокси-5-метилциклогексанонов, а также данные о строении этих соединений и продуктов их превращений. Продemonстрировано влияние заместителей на таутомерное равновесие циклогексанонов. Показано, что в зависимости от условий аминирования последних образуются амины различной степени насыщенности. Обсуждены вопросы строения и внутримолекулярных взаимодействий циклогексенилариламинов и циклогексадиенилариламинов. Приведены данные о практической значимости полученных соединений.

## Synthesis, Structure, Reactions of Polycarbonylic Substituted Cyclohexanes

V.V. Sorokin

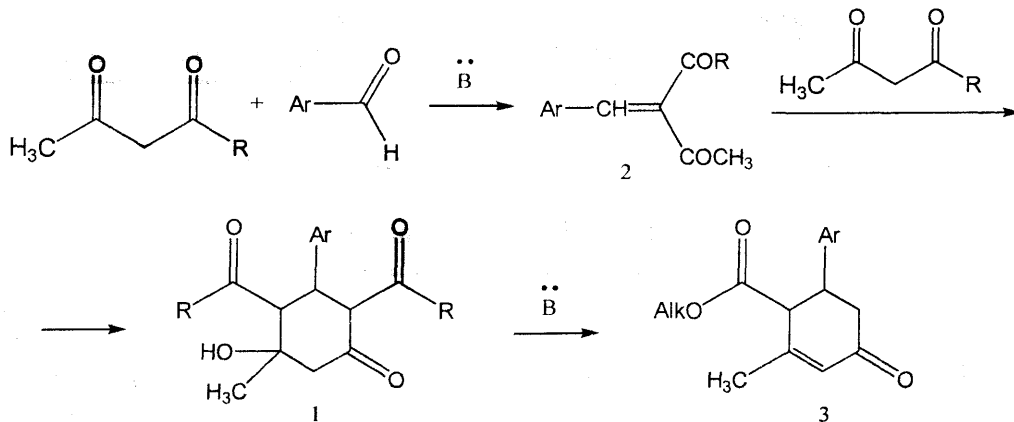
Reactions of 3-R-2,4-diacetyl(diethoxycarbonyl)-5-hydroxy-5-methylcyclohexanones and data on the structure of these compounds and products of their conversion are summarized. The influence of substituents on the tautomeric equilibrium of cyclohexanones is demonstrated. Amines of a certain degree of saturation are shown to form depending on amination conditions. Questions of the structure and intramolecular interactions of cyclohexenylarylamines and cyclohexadienylarylamines are discussed. Data on the practical significance of the compounds obtained are presented.

Одним из научных направлений кафедры органической и биорганической химии Саратовского государственного университета является изучение  $\beta$ -циклокетолов ряда 3-R-2,4-диацетил(диалкоксикарбонил)-5-гидрокси-5-метилциклогексанона: их кетонольных превращений, реакций с азот-, кислородсодержащими моно-, бинуклеофильными реагентами для установления новых

путей превращений, строения и свойств полученных соединений, изыскания возможных путей практического использования.

Близкое взаимное расположение функциональных групп делает  $\beta$ -циклокетолы (1) и соединения, полученные на их основе, удобными модельными объектами для изучения таких вопросов теоретической органической химии, как стереостроение, относительная реакционная способность, внутримолекулярные взаимодействия, таутомерия и др.  $\beta$ -Циклокетолы за счет полифункциональности и высокого химического потенциала, из-за наличия оксогрупп различного типа предоставляют богатые синтетические возможности для конструирования на их основе гетероорганических и гетероциклических соединений, в том числе и практически значимых.

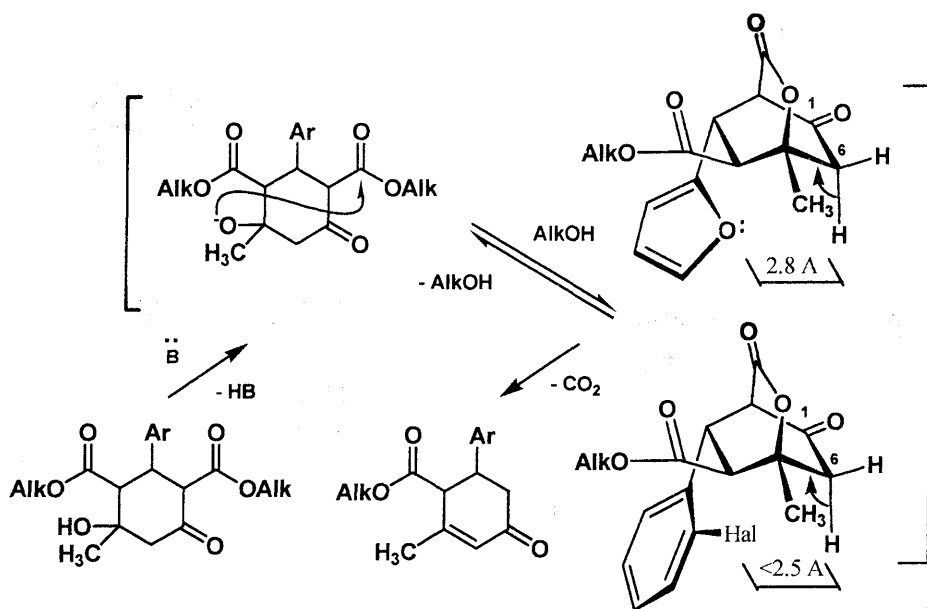
Наиболее доступный способ получения  $\beta$ -кетолов – дикетонная конденсация альдегидов с ацетилацетоном или эфирами ацетуксусной кислоты в условиях основного катализа [1].  $\beta$ -Кетолы 1 не всегда являются основными продуктами конденсации; в зависимости от природы и положения заместителей возможно также образование продуктов дегидратации–декарбалкоксилирования (циклогексенонов) 3 или халконов 2 [2, 3].





При проведении дикетонной конденсации с 5-нитрофурфуролом, в отличие от фурфурола и ароматических альдегидов, реакция останавливается на стадии кротоновой конденсации с образованием халконов 2, несмотря на наличие электроакцепторного заместителя, который обычно способствует протеканию реакции Михаэля. Такой результат объясняется особенностью распределения электронной плотности в образующемся халконе, а именно относительно низкой электронной плотностью НСМО и небольшим положительным зарядом на метиновом атоме углерода.

При использовании в качестве метиленовой компоненты эфиров ацетоуксусной кислоты конденсация фурфурола либо бензальдегидов, имеющих в о-положении атомы хлора или фтора, не останавливается на стадии образования циклокетола, протекает его дегидратация–декарбалкоксилирование. Особое поведение фурил- и о-галогенфенилзамещенных кетонов связано с подвижностью аксиального водорода в лактонном интермедиате за счет пространственной сближенности с ним атома кислорода либо галогена [3]



3

R = Fu, o-Hal-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>

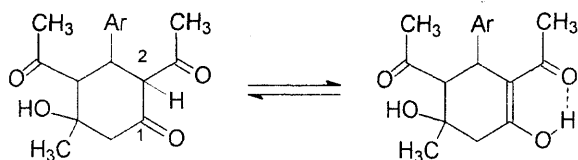
Вероятно, фурил- и о-галогенфенильные заместители, несущие частичный отрицательный заряд, увеличивают эту подвижность и содействуют уходящей группе (COO-), что облегчает распад лактонного интермедиата в сторону α,β-непредельного кетона 3. Так, в молекулярных моделях (PM3) промежуточных лактонов расстояние между атомом галогена (при R=2-Hal-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) или кислорода (при R=Fu) и атомом водорода метиленовой группы в лактонном интермедиате близко к водородной связи (2.4-2.8 Å), что способствует депротонированию с последующим расщеплением лактона и его декарбоксилированием до енонов.

В молекулах β-кетолов имеется 4 асимметрических атома углерода, поэтому теоретически возможно существование 8 пар энантиомеров. Полученные нами β-кетолы реализуются в форме наиболее термодинамически стабильного изомера, в котором все заместители, кроме гидроксильной группы, экваториальны, а циклогексановое кольцо находится в конформации кресла [4]. Стабильность изомера обусловлена экваториальным расположением наиболее объемных заместителей и образованием ВВС типа -C=O...H-O- между пространственно сближенными гидроксильной и карбонильной группами. Такая геометрия подтверждается с помощью спектров ПМР.





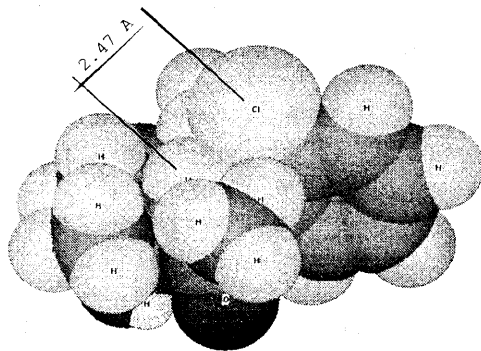
Важным направлением теоретической химии поликарбонильных соединений является изучение вопросов таутомерии. Методом дробной перекристаллизации из сухого бензола кетоны были разделены на индивидуальные таутомерные формы – кетонные 1а и енольные 1б, имеющие различные физико-химические характеристики [5]. Спектральными методами установлено, что кетоны 1б, содержащие в ортоположении ароматического заместителя метокси- или нитрогруппу, реализуются только в енольной форме. Перемещение метоксильной группы в пароположение приводит к преобладанию кетонного таутомера. Стабильность таутомерных форм также зависит от заместителя в ароматическом кольце. Незамещенный в фенильном кольце  $\beta$ -циклокетон даже в бензоле существует преимущественно в кетонной форме. Соответствующий енол является нестабильным соединением и подвергается кетонизации в кристаллической форме менее чем за 12 часов



Таким образом, основное влияние на положение таутомерного равновесия в ацетилзамещенных кетонах вносит заместитель в ортоположении ароматического ядра.

Для объяснения влияния о-замещающих групп на способность кетонов к енолизации были построены молекулярные модели (ССП МО ЛКАО, параметризация РМЗ) для кетонных форм. К рассмотрению были приняты ротамеры со сближенным ортозаместителем фенильного ядра и атомом Н(2). Содержание этих ротамеров составляет 30–90%. Оказалось, что величина положительного заряда на атоме водорода при  $C^2$  и расстояние между

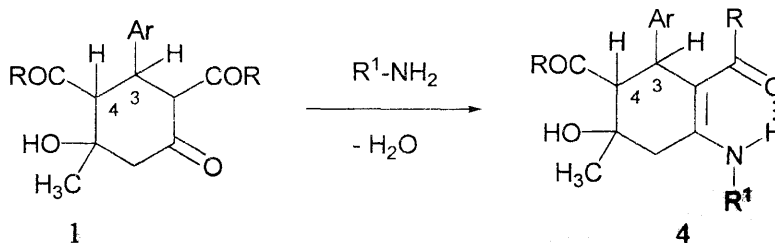
о-заместителем и этим атомом являются параметрами, определяющими способность кетона к енолизации (рисунок). Указанное расстояние в кетонах соответствует водородной связи (1.85–2.47 Å).



Молекулярная модель 2,4-диацетил-5-гидрокси-3-(2-хлорфенил)-5-метилциклогексанона (ССП МО ЛКАО, РМЗ)

Расчётные данные (ССП МО ЛКАО, РМЗ) показывают тенденцию к увеличению положительного заряда от 0.164 до 0.247 на ключевом атоме водорода при  $C^2$  в ряду заместителей  $F(0.179) > Cl(0.181) > OCH_3(0.185) > NO_2(0.247)$ . Величина заряда 0.185–0.247 оказывается достаточной для 100%-ной енолизации.

Реакции аминирования  $\beta$ -кетолов ранее исследовались на единичных примерах, а продуктам аминирования приписывалось иминное строение [6, 7]. Нами установлено, что аминирование кетонов 1, независимо от нуклеофильности амина, региоселективно протекает по карбонильной группе алицикла с образованием соответствующих циклогексениламинов 4 [8–12]. Амины могут быть ароматического (анилин, толуидины, нитроанилины, фенилендиамины,  $\beta$ -нафтиламин, о-анидин, анестезин и др.), жирноароматического (бензиламин) и алициклического (циклогексиламин) рядов

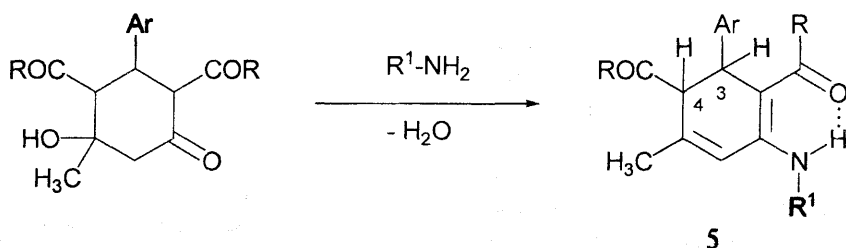




Особенностью строения енаминов является квазиароматическое кольцо за счет ВВС в енаминкетонном фрагменте, которое обуславливает сдвиг протона аминогруппы в спектрах ПМР в слабое поле. Такое строение подтверждается рентгеноструктурными исследованиями [13]. Показано, что циклогексеновое кольцо в молекулах енаминов существует в форме искаженного полукресла. Аминогруппа участвует в образовании водородной связи с соседней карбонильной группой ацетильного или этоксикарбонильного заместителя. Так, расстояние  $N-H...O=C$  в молекуле 2,4-диацетил-3-(2-хлорфенил)-5-

гидрокси-5-метил-N-(4-метилфенил)-1-циклогексениламина составляет 1.71 Å, а в молекуле 2,4-диэтоксикарбонил-5-гидрокси-5-метил-3-фенил-N-(3-хлорфенил)-1-циклогексениламина – 1.86 Å. В молекуле первого енамина также содержится еще одна внутримолекулярная водородная связь между ацетильной группой при  $C^4$  и соседней гидроксильной группой  $O-H...O=C$  2.12 Å.

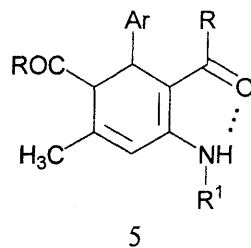
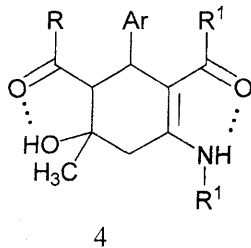
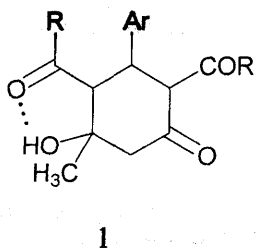
При повышении концентрации кислотного катализатора (~12%  $CH_3COOH$ ) реакция ариламинов сопровождается дегидратацией, что приводит к образованию диенаминов 5 [8, 12].



Особенностью геометрии диенаминов 5, отличающей их от енаминов 4 и  $\beta$ -циклокетолов 1, является трансдиаксиальное расположение заместителей при атомах  $C^3$  и  $C^4$  вследствие выплощения кольца и соответственно трансдиэкваториального положения атомов водорода при указанных атомах. Об этом свидетельствует малая константа спин-спинового взаимодействия  $J_{34} = 0-1$  Гц.

С помощью ИК-спектроскопии нами исследована внутримолекулярная водородная связь в  $\beta$ -циклокетонах и полученных на их основе ен- и диенаминах [14]. Для опреде-

ления термодинамической характеристики ВВС – энтальпии ее образования – была исследована температурная зависимость оптических плотностей полос валентных колебаний связей  $O-H$  и  $N-H$ . Установлено, что в  $\beta$ -циклокетонах 1 реализуется слабая ВВС  $OH...O=C$  с энергией 8.6–9.5 кДж/моль. В енаминах 4 ВВС  $OH...O=C$ , существующая в  $\beta$ -циклокетонах 1, сохраняется ( $\Delta H = 9.0-9.3$  кДж/моль) и дополнительно возникает ВВС  $NH...O=C$  с энергией 10.1–10.5 кДж/моль. В диенаминах 5 ВВС  $NH...O=C$  имеет энергию ~ 10.3 кДж/моль



Таким образом, в ен- и диенаминах существует сравнительно слабая ВВС между взаимодействующими группами  $OH...O=C$  и  $NH...O=C$ . Тенденцию к некоторому упрочнению ВВС  $NH...O=C$  по сравнению с

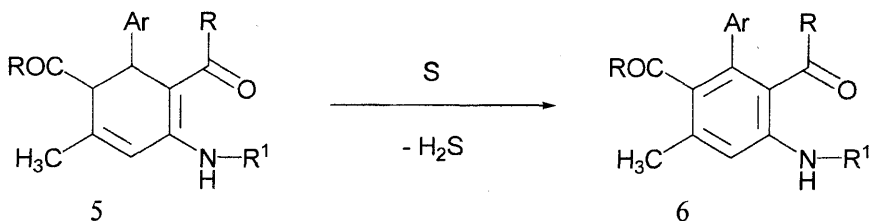
$OH...O=C$  можно объяснить образованием квазиароматического шестичленного цикла с участием ВВС  $NH...O=C$ .

Полученные нами ранее неизвестные диенамины 5 являются устойчивыми пред-



ставителями ряда дигидробензолов, стабильность которых обусловлена наличием электроноакцепторных групп и полизамещением.

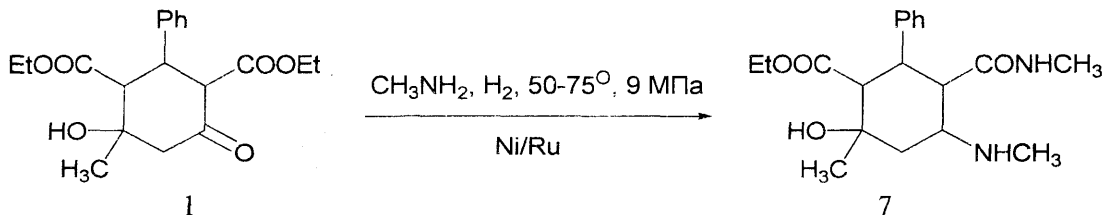
С целью синтеза дифениламинов, содержащих замещающие группы в ароматических ядрах, мы изучили дегидрирование синтезированных диенилариламинов 5 [15].



Ацетилзамещенные енамины 4 в аналогичных условиях осмоляются, что можно объяснить наличием более сильных электроноакцепторных групп, препятствующих дегидрированию. По той же причине не удается дегидрировать ен- и диенамины с нитроарильными заместителями.

Для синтеза дифениламинов, содержащих нитроарильные заместители при атоме C<sup>3</sup> и при атоме азота, мы использовали другие дегидрирующие агенты (смесь хлоридов металлов – CuCl<sub>2</sub>, LiCl), применяемые для ароматизации карбоциклических систем в мягких условиях. Таким путем получены дифениламины 6 с хорошими выходами [15].

Представляло интерес провести однократный синтез на основе циклокетола, амина, солей Cu и п-толуолсульфокислоты. Показано, что при использовании в качестве аминов (п-толуидина или м-нитроанилина) протекает аминирование и дегидратация – реакция останавливается на стадии образования диенаминов 5. И лишь при использовании слабоосновных п- или о-нитроанилинов получены желаемые продукты – дифениламины 6.



При использовании в качестве аминировующего агента ароматических аминов гидроариламинирование даже в жестких усло-

Установлено, что ароматизация диенилариламинов 5, содержащих фенильные либо толильные кольца, гладко протекает при температуре ~200°C под действием серы в качестве дегидрирующего агента с образованием дифениламинов 6:

Различное течение реакций можно объяснить образованием комплексов солей меди с аминами в случае более нуклеофильных аминов, что препятствует ароматизации. Этот нежелательный процесс можно избежать разделив стадии аминирования и дегидрирования-дегидратации без промежуточного выделения ен- или диенаминов. Применение поэтапного синтеза позволяет получать дифениламины из циклокетонов при использовании субстратов и реагентов, содержащих различные заместители в ароматических кольцах.

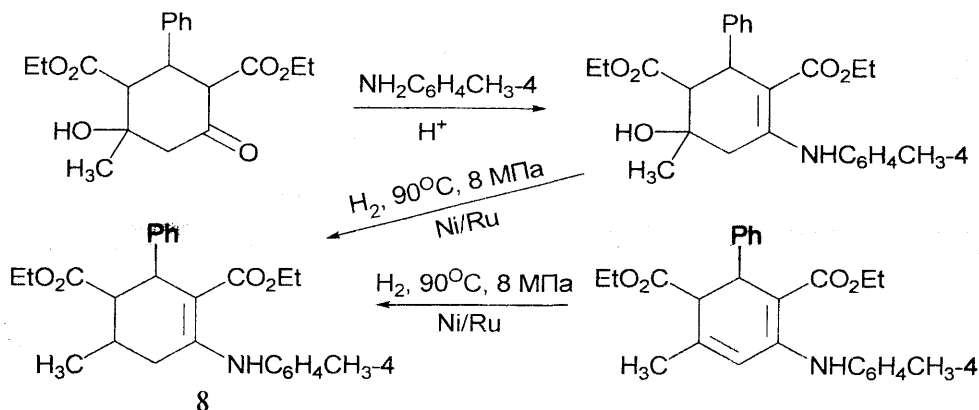
Одной из реакций, позволяющих осуществить переход от карбонильных соединений к аминам, является гидроаминирование. Нами выявлены особенности превращений соединений указанного типа в реакциях каталитического гидрометил(арил)аминирования. При использовании метиламина, наряду с гидрометиламином карбонильной группы алицикла, протекает амидирование одной из сложноэфирных групп с образованием аминоконида 7 [16]

виях не имеет места; гидрогенизат представляет собой сложную смесь безазотистых продуктов. Для синтеза арилзамещенных



аминов нами было применено поэтапное гидроаминирование — ариламинование с последующим гидрированием полученного енамина (Ni/Ru, 90°C, 8 МПа). При гидрогенизации наблюдалась дегидратация с после-

дующим избирательным восстановлением возникающей олефиновой связи и образованием енамина 8. Последний получен встречным синтезом путем каталитического гидрирования диенамина 5 [16]



Известно, что β-циклокетолы, а также образующиеся на их основе соединения обладают широким спектром биологического действия. Синтезированные нами новые соединения типов циклогексениламинов и циклогексадиениламинов, конденсированных изоксазолов, пиразолов, а также сами β-циклокетолы были испытаны на антифаговую, антиоксидантную и криопротекторную активности (РосНИИПЧИ «Микроб», г. Саратов), антимикробное действие (Пермский фармацевтический институт).

Антифаговое действие определялось на модели бактериофага кишечной группы Т4 на индикаторной культуре *Escherichia coli* В [17]. Среди исследованных веществ выявлены соединения, обладающие выраженной антифаговой активностью по отношению к фагу Т4. Наибольший ингибирующий эффект показали енамины имеющие фенильный и м-нитрофенильный заместители, под действием которых выживаемость фага снижалась до 5 и 2% соответственно. В целом енамины проявляют большую антифаговую активность по сравнению с другими классами испытанных соединений. Из гетероциклических соединений наибольшей активностью обладает изоксазол с о-фторфенильным заместителем.

В структуре синтезированных соединений имеются фрагменты, обуславливающие их антиоксидантную активность (сложно-

эфирный, ариламиновый, диеновый). Антиоксидантную активность определяли на хемилюминиметре в системе свободнорадикального окисления, инициированного  $H_2O_2$  в растворе лошадиной нормальной сыворотки. Наибольшей антиокислительной активностью обладали ариламины, имеющие этокси-карбонильные заместители. Наибольшее антиоксидантное действие проявляют енамины и диенамины, снижая уровень хемилюминесценции в 2–2.5 раза.

Криопротекторная активность конденсированных изоксазолов и тетрагидроиндазолов изучалась на примере чумной вакцины EV. Полученные гетероциклы оказались перспективными для дальнейших углубленных испытаний в качестве криопротекторов при лиофилизации бактерий, так как увеличивали срок хранения лиофилизированных бактерий соответственно на 30 и 22% [18].

Антимикробная активность изучалась по отношению к золотистому стафилококку и кишечной палочке. Наибольшую антимикробную активность по отношению к *St. aureus* и *E. coli* проявляет кетол с о-фторфенильным заместителем. Его МИК (10 мкг/мл) в 50 раз превышает активность эталонного этакридина лактата. Выраженным антимикробным действием обладает фурилзамещенный енамин, активность которого по отношению к *St. aureus* и *E. coli* превышает эталон в 2 и 4 раза, соответственно [19].



### Библиографический список

1. Rabe P. Ueber stereo- und desmotropisomere benzyldenbi-sacetessigester // Lieb. Ann. Bd.313. S.176–183.
2. Рамазанов А.К., Сорокин В.В., Кривенько А.П. Особенности дикетонной конденсации о-фтор(хлор)бензальдегидов с ацетилацетоном и эфирами ацетоуксусной кислоты // Современные проблемы органической химии, экологии и биотехнологии: Материалы I Междунар. науч. конф. Луга, 2001. Т.1. Органическая химия. С.164–166.
3. Сорокин В.В., Рамазанов А.К., Кривенько А.П. Синтез  $\beta$ -циклокетолов ряда 3-(о-Р-арил)-2,4-диацетил(диалкоксикарбонил)-5-гидрокси-5-метилциклогексанонов // Изв. вузов. Химия и химическая технология. 2002. Т.45, вып.6. С.129–132.
4. Кривенько А.П., Сорокин В.В. Синтезы и реакции 3R-2,4-диацетил(диэтоксикарбонил)-5-гидрокси-5-метилциклогексанов и родственных веществ: Обзор // ЖОрХ. 1999. Т.35, вып.8. С.357–397.
5. Сорокин В.В., Кривенько А.П., Рамазанов А.К. Выделение и характеристика таутомерных форм 3-(о-Р-арил)-2,4-диацетил-5-гидрокси-5-метилциклогексанонов // Изв. Академии наук. Сер. хим. 2004. № 12. С.2670–2674.
6. Loev B., Goodman M.M., Snader K.M. et al. "Hantzsch-Type" Dihydropyridine Hypotensive Agents // J. Med. Chem. 1974. V.17, №9. P.956–965.
7. Саусинь А.Э., Чекавичус Б.С., Лусис В.К., Дубур Г.Я. 1-Арил- и 1-бензил-3,5-диэтоксикарбонил-1,4-дигидропиридины // ХГС. 1980. №4. С.493–501.
8. Сорокин В.В., Кузьмин М.В., Смирнова Н.С. и др. Арилирование 2,4-диацетил(диэтоксикарбонил) 5-гидрокси-5-метил-3-фенил(2-фурил)-циклогексанонов // ЖОрХ. 1994. Т.30, вып.4. С.528–530.
9. Щелочкова О.А., Сорокин В.В., Кривенько А.П. Реакции  $\beta$ -циклокетолов с бензидином // Химия и компьютерное моделирование: Бутлеровские сообщ. 2003. №1. С.20–21
10. Рамазанов А.К., Сорокин В.В., Кривенько А.П. Синтез замещенных циклогексенлариламинов // Химия и компьютерное моделирование: Бутлеровские сообщ. 2002. №6. С.79–80.
11. Сорокин В.В., Кривенько А.П., Виноградова Н.А., Плотников О.П. Синтез и антифаговая активность замещенных N-арилциклогексенлариламинов // Хим.-фарм. журн. 2001. Т.35, №9. С.24–25.
12. Сорокин В.В., Григорьев А.В., Рамазанов А.К., Кривенько А.П. Синтез замещенных циклогексенил-, циклогексацилилариламинов // ЖОрХ. 2000. Т.36, вып.6. С.815–818.
13. Кривенько А.П., Сорокин В.В., Супоницкий К.Ю. Молекулярная структура 2,4-диацетил-3-(2-хлорфенил)-5-гидрокси-5-метил-N-(4-метилфенил)-1-циклогексенил-амина // Журн. структурн. химии. 2006. Т.47, №3. С.598–601.
14. Кривенько А.П., Голиков А.Г., Григорьев А.В., Сорокин В.В. Внутримолекулярная водородная связь в ряду замещенных циклогексанолонов и их азотсодержащих производных // ЖОрХ. 2000. Т.36, вып.8. С.1152–1155.
15. Сорокин В.В., Григорьев А.В., Ковалев К.В., Кривенько А.П. Ароматизация полизамещенных циклогексенил (диенил)ариламинов // Журн. общ. химии. 2001. Т.71, вып.10. С.1686–1688.
16. Кривенько А.П., Сорокин В.В., Голиков А.Г., Григорьев А.В. Гидрометил(фенил)аминирование 5-гидрокси-5-метил-3-фенил-2,4-диэтоксикарбонилциклогексанонов // Журн. общ. химии. 1999. Т.69, вып.9. С.1581–1582.
17. Плотников О.П., Виноградова Н.А., Григорьев А.В., Кривенько А.П. Синтез и антифаговая активность 3-R-2,4-диацетил(диэтоксикарбонил)-5-гидрокси-5-метилциклогексанонов и продуктов их аминирования // Химия для медицины и ветеринарии. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1998. С.182–183.
18. Смирнова Н.С., Плотников О.П., Виноградова Н.А. и др. Синтез и биологическая активность замещенных 1-аза(окса)-2-азабицикло-[4.3.0]-пентенов-2,8 // Хим.-фарм. журн. 1995. №1. С.44–46.
19. Сорокин В.В., Гейн В.Л., Григорьев А.В., Кривенько А.П. Антимикробная активность 3-R-2,4-диацетил(диэтоксикарбонил)-5-гидрокси-5-метилциклогексанонов и продуктов их аминирования // Химия для медицины и ветеринарии. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1998. С.180–181.

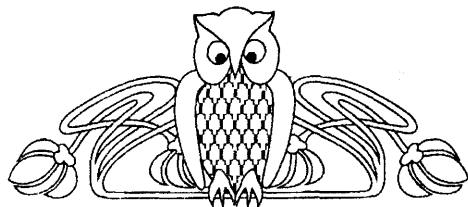
УДК 532.77:541.64

## **ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ СВЧ-ДИАПАЗОНА НА МОРФОЛОГИЮ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА**

**И.В. Федусенко, В.И. Кленин, Ю.И. Клохтина, Б.Н. Максименко\*,  
Э.В. Перовский\***

Саратовский государственный университет,  
кафедра полимеров  
E-mail: chem.sgu.ru

\* ОАО «Тантал-Наука»



Изучен характер влияния СВЧ-излучения на процесс растворения кристаллизующегося полимера, на первичный уровень надмолекулярного порядка и кинетику формирования вторичного уровня надмолекулярного порядка в водных растворах поливини-

нилового спирта. Установлено, что при использовании излучения сверхвысокочастотного диапазона время визуального растворения полимера существенно сокращается.



## Influence of Microwaves on the Morphology of Aqueous Solutions of Polyvinyl Alcohol

I.V. Fedusenko, V.J. Klenin, Yu.I. Klokhina, B.N. Maximenko, E.V. Perovsky

The nature of influence of microwaves on the process of dissolution of a crystallizable polymer, the primary level of supramolecular order and the formation kinetics of the secondary one in aqueous solutions of polyvinyl alcohol was studied. Microwaves were found to significantly reduce the period of visually-controlled dissolution of the polymer.

Поливиниловый спирт является кристаллизующимся полимером. Вследствие различия морфологических форм кристаллитов в конденсированном полимере в визуально-прозрачном растворе кристаллизующегося полимера в широком диапазоне температур и концентраций обнаруживаются надмолекулярные частицы, представляющие собой фрагменты наиболее совершенных кристаллитов. Присутствие надмолекулярных частиц в растворах кристаллизующихся полимеров, несмотря на их очень малую долю от навески полимера, может существенным образом влиять на физико-химические, технологические и эксплуатационно-потребительские свойства таких структурно-сложных растворов полимеров.

Из-за наличия кристаллических областей поливиниловый спирт (ПВС) растворяется в воде лишь при повышенной температуре (80–90°C), хотя термодинамическое качество воды как растворителя ухудшается с повышением температуры [1, 2]. Растворение основной массы полимера (визуальное растворение) в условиях худшего термодинамического качества растворителя происходит из-за плавления большей части кристаллитов при повышенной температуре, которые как скрепки удерживают полимер от растворения при комнатной температуре.

О завершении процесса растворения полимера часто судят по достижению визуальной прозрачности и однородности системы полимер + растворитель. Однако в визуально-прозрачных растворах кристаллизующихся полимеров в широком диапазоне температур и концентраций обнаруживаются надмолекулярные частицы (НМЧ), которые представляют собой фрагменты наиболее совершенных кристаллитов конденсированного полимера [1]. Следует особо подчеркнуть, что оптические свойства ансамбля

НМЧ (концентрация, размер, относительный показатель преломления) таковы, что они не нарушают визуальной прозрачности структурно-сложного раствора полимера. В то же время присутствие надмолекулярных частиц в растворе полимера часто приводит к непреодолимым трудностям при исследовании раствора методами, чувствительными к таким частицам: молекулярного рассеяния света, динамического двойного лучепреломления и др. В целом ряде случаев присутствие НМЧ в растворе полимера отражается на его технико-эксплуатационных свойствах. Особенно это относится к лечебным растворам для внутривенного вливания. Для изучения параметров надмолекулярных частиц (среднего размера, числовой и массовой концентрации и др.) хорошо себя зарекомендовал метод спектра мутности [1, 3, 4].

Надмолекулярные частицы, присутствующие в растворе сразу после визуального растворения полимера, определяют первичный (исходный) уровень надмолекулярного порядка (НМП). В процессе хранения растворов ПВС в широком диапазоне температур и концентраций формируется второй уровень надмолекулярного порядка, в котором надмолекулярные частицы первого уровня играют роль зародышей кристаллизации. По существу этот процесс является отжигом – характерным свойством процесса кристаллизации как низкомолекулярных, так и высокомолекулярных соединений.

Другое характерное свойство процесса кристаллизации проявляется в большой чувствительности к малейшим возмущающим систему воздействиям, часто трудно контролируемым. Достаточно небольшого механического воздействия на систему, чтобы это в той или иной степени отразилось на морфологии ансамбля кристаллических частиц. Цикл работ, посвященных изучению системы ПВС+вода, свидетельствует о большой зависимости параметров даже первичного уровня надмолекулярных частиц от условий растворения полимера, предварительной обработки исходного полимера, времени и условий хранения полимера [5–8].

С учётом сказанного систематическое изучение влияния условий растворения и последующей обработки растворов представляет весьма актуальную задачу.



Для исследования выбрана система ПВС+вода, так как в ней отсутствует область аморфного разделения, поэтому какие-либо эффекты присутствия и последующего формирования надмолекулярных частиц связаны только с процессом кристаллизации. Подробный фазовый анализ системы ПВС+вода был проведён в [1, 2, 9] с привлечением и обсуждением противоречивых литературных данных, имеющихся на то время. Интерес к этой системе не только не угас, но активно поддерживается новыми исследованиями и применениями [10–14].

В данной работе приведены результаты воздействия электромагнитного поля СВЧ-диапазона на время визуального растворения поливинилового спирта в воде и кинетику формирования второго уровня НМП в водных растворах ПВС. Проведен сравнительный анализ морфологии надмолекулярных частиц, формирующихся в водных растворах ПВС, полученных традиционным способом и при воздействии СВЧ-излучения.

Объектом исследования служил образец ПВС марки ВН-1 производства АООТ Невинномысский «Азот» с характеристиками:  $\overline{M}_\eta = 10^5$ ;  $[AG] = 0,3\%$ . Средневязкостную молекулярную массу определяли по формуле Куна–Марка–Хаувинка:  $[\eta]_{30} = 4,28 \cdot 10^{-4} \overline{M}_\eta^{0,64}$ . Параметры НМЧ в водных растворах ПВС (средний размер, числовую и массово-объёмную концентрацию) определяли методом спектра мутности [1, 3–4] на колориметре КФК-2М.

При традиционном способе растворения поливинилового спирта навеску полимера заливают определенным количеством растворителя и оставляют для набухания в течение одних суток при комнатной температуре. Затем термостатируют на водяной бане при температуре около  $90^\circ\text{C}$  до визуального растворения полимера в течение 1–3 ч в зависимости от концентрации полимера. Для растворения полимера под воздействием электромагнитного поля СВЧ-диапазона была предложена следующая технологическая установка (рис. 1).

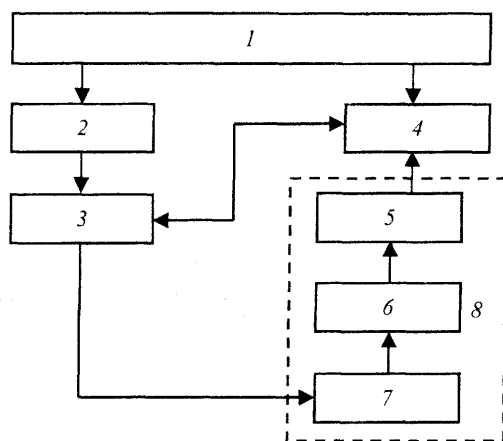


Рис. 1. Обобщенная структурная схема технологической установки СВЧ: 1 – технологическая камера для обработки вещества; 2 – блок датчиков, отслеживающих состояние вещества; 3 – блок автоматического управления процессом обработки вещества; 4 – датчик уровня отражения СВЧ-энергии из камеры (датчик КСВН); 5 – СВЧ-генератор; 6 – источник питания СВЧ-генератора; 7 – блок управления процессом; 8 – блок СВЧ-генератора

Навеску ПВС помещали в термостойкий стакан и заливали определенным количеством воды. Затем стакан помещали в установку для воздействия СВЧ-излучением мощностью 400 и 600 Вт до визуального растворения. Сразу после визуального растворения полимера фиксировали первый уровень надмолекулярного порядка. Кинетику формирования второго уровня надмолекулярного порядка проводили при температуре  $\sim 20^\circ\text{C}$ .

Нами установлено, что при обработке системы ПВС+вода СВЧ-излучением время визуального растворения полимера сокращается с 1–3 ч до  $\sim 5$  минут. Следует отметить, что при воздействии СВЧ-излучением стадия предварительного набухания полимера (1 сут при комнатной температуре) не влияет на время растворения, и ее можно исключить из процесса приготовления раствора. В таблице приведено время растворения ПВС при двух значениях мощности СВЧ-излучения.

Для определения влияния СВЧ-излучения на формирование второго уровня надмолекулярного порядка растворы, приготовленные традиционным способом и под воздействием СВЧ-излучения, хранили в течение 20 сут при  $T \sim 20^\circ\text{C}$ , фиксируя изменение оптической плотности во времени.



Влияние СВЧ-излучения  
на время визуального растворения полимера

| Концентрация полимера<br>$C$ , мас.% | Температура<br>$T$ , °C | Мощность излучения<br>$P$ , Вт | Время визуального растворения<br>$t$ , с |
|--------------------------------------|-------------------------|--------------------------------|------------------------------------------|
| 10                                   | 87                      | 600                            | 80                                       |
| 8                                    | 88                      |                                | 80                                       |
| 5                                    | 88                      |                                | 68                                       |
| 3                                    | 87                      |                                | 77                                       |
| 1                                    | 88                      |                                | 60                                       |
| 10                                   | 88                      | 400                            | 140                                      |
| 8                                    | 88                      |                                | 110                                      |
| 5                                    | 89                      |                                | 110                                      |
| 3                                    | 88                      |                                | 110                                      |
| 1                                    | 88                      |                                | 115                                      |

На рис.2 представлены кинетические зависимости мутности растворов полимера концентраций 1 и 5 мас.% для растворов, приготовленных традиционным способом (см. рис. 2, а), и для растворов, приготовленных в условиях СВЧ-облучения мощностью 400 Вт (см. рис. 2, б).

Для растворов, приготовленных традиционным способом, наблюдается индукционный период. В растворах, приготовленных при воздействии СВЧ-излучения, отмечаем рост мутности сразу после визуального растворения полимера. По-видимому, это связано с тем, что при воздействии СВЧ-излучения растворение полимера происходит быстрее, чем растворение на водяной бане, но структура частиц первого уровня надмолекулярного порядка более совершенна, так что формирование частиц второго уровня происходит без индукционного периода.

На рис.3 представлена концентрационная зависимость приведенной мутности при  $\lambda = 465$  нм для растворов полимера, приготовленных традиционным способом (1) и с помощью СВЧ-излучения мощностью 400 Вт (2). Видно, что для обоих способов растворения значения приведенной мутности первого уровня (рис. 3, а) и второго уровня надмолекулярного порядка (рис. 3, б) имеют близкие значения.

На рис. 4 представлена концентрационная зависимость среднего размера надмолекулярных частиц для растворов полимера, приготовленных стандартным способом и под действием СВЧ-излучения мощностью 400 Вт.

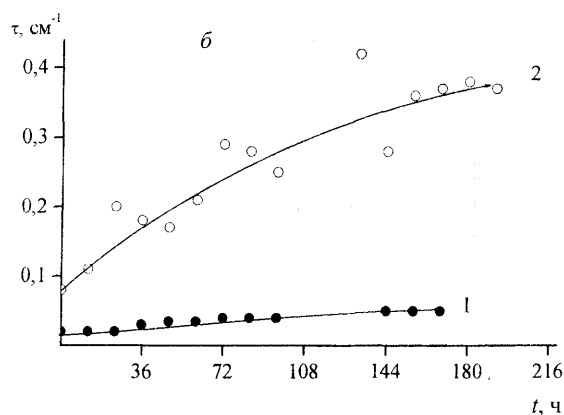
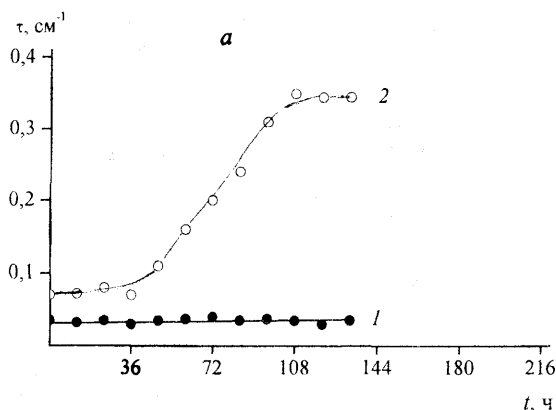


Рис.2. Кинетические зависимости мутности водных растворов ПВС при  $\lambda = 465$  нм концентрации 1 (1) и 5 мас.%(2), приготовленных традиционным способом (а) и под воздействием СВЧ-излучения (б)

Концентрационная зависимость размеров НМЧ первого и второго уровней растворов, полученных при обработке СВЧ-излучением, носит экстремальный характер. При средних концентрациях полимера после СВЧ-облучения размер НМЧ, остающихся в растворе, значительно больше, чем при традиционном способе растворения полимера. По-видимому, это связано с существенным сокращением времени растворения полимера. В результате такого кратковременного воздействия аморфная часть полимера растворяется, а кристаллические участки в существенной степени расплавиться не успевают.

В концентрированных растворах в условиях большой вязкости из-за большей плотности раствора под действием СВЧ-излучения происходит локальный разогрев до более высокой температуры. Вследствие этого происходит большая диспергация частиц. Конфигуративная точка в этом случае оказывает

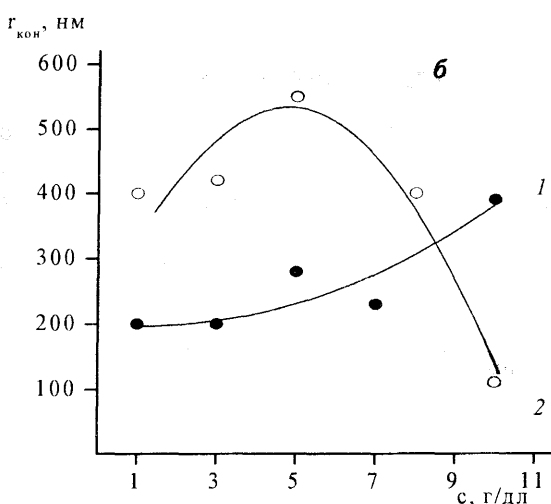
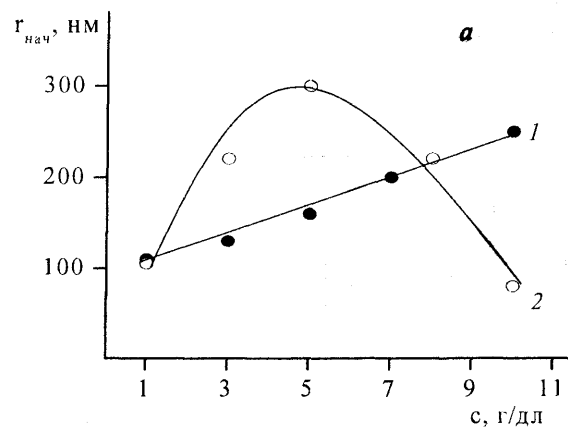
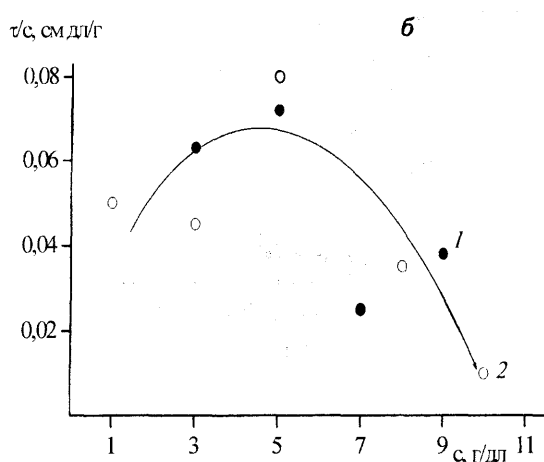
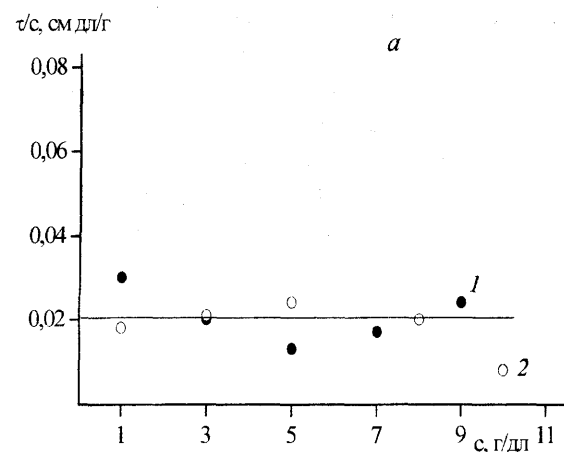


Рис.3. Концентрационная зависимость приведенной вязкости надмолекулярного порядка водных растворов ПВС первого (а) и второго уровня (б), приготовленных традиционным способом (1) и под воздействием СВЧ-излучения (2)

Рис.4. Концентрационная зависимость размера частиц надмолекулярного порядка в водных растворах ПВС первого (а) и второго уровня (б), приготовленных традиционным способом (1) и под воздействием СВЧ-излучения (2)

ся под кривой стеклования, и поэтому формирования НМЧ второго уровня в этом случае мы не наблюдаем, т.е. размер НМЧ во времени не изменяется (рис.4, кривые 2).

Таким образом, получение растворов кристаллизующихся полимеров в электромагнитном поле СВЧ-диапазона позволяет существенно сократить время приготовления растворов, не изменяя параметры надмолекулярного порядка.

Полученные данные имеют большое практическое значение для применения водных растворов и гелей ПВС в фармацевтике, медицине и промышленности.

#### Библиографический список

1. Кленин В.И. Термодинамика систем с гибкоцепными полимерами. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 1995. С.668–673 [Klenin V.J. Thermodynamics of systems containing flexible-chain polymers. Amsterdam etc. Elsevier, 1999].
2. Klenin V.J., Klenina O.V., Shvartsburd B.I., Frenkel S.Ya. The thermodynamic nature of supermolecular order in the poly(vinyl alcohol) – water system // J. Polymer Sci., Symp. 1974. №44. P.131–140.
3. Кленина О.В., Кленин В.И., Френкель С.Я. Формирование и разрушение надмолекулярного порядка в водных растворах поливинилового спирта // Высокомолек. соед. А. 1970. Т.12, №6. С.1277–1287.
4. Кленин В.И., Щеголев С.Ю., Лаврушин В.И. Характеристические функции светорассеяния дисперсных систем. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 1977.



5. Кленин В.И., Федусенко И.В., Клохтина Ю.И. Структура растворов кристаллизующихся полимеров. Влияние способа растворения // Высокомолек. соед. А. 2003. Т.45, №12. С.2054.
6. Федусенко И.В., Кленин В.И., Клохтина Ю.И. Влияние механического поля на формирование надмолекулярного порядка в водных растворах поливинилового спирта // Высокомолек. соед. А. 2004. Т.46, №9. С.1591.
7. Кленин В.И., Федусенко И.В., Клохтина Ю.И. Структура растворов кристаллизующихся полимеров. Влияние предварительной термической обработки полимера // Высокомолек. соед. А. 2004. Т.46, №10. С.1754.
8. Klenin V.I., Fedusenko I.V., Klochtina Yu.I. Structure of crystallizing polymer solutions // 4th Int. Symp.: Molecular Order and Mobility in Polymer Systems. St.Peterburg, 2002. O-16.
9. Кленин В.И., Клемина О.В., Колчанов В.А. и др. Термодинамическая природа метастабильности водных растворов поливинилового спирта // Высокомолек. соед. А. 1974. Т.16, №10. С.2351–2359.
10. Komatsu M., Inoue T., Miyasaka K. Light-scattering studies on the sol-gel transition in aqueous solutions of poly(vinyl-alcohol) // J. Polym. Sci.: Polym. Phys. Ed. 1986. V.24. P.303.
11. Hara Ch., Matsuo M. Phase separation in aqueous of poly(vinyl-alcohol) solution // Polymer. 1995. V.36, №3. P.603.
12. Пахомов П.М., Хижняк С.Д., Nierling W., Nordmeier E., Lechner M.D. Процессы структурообразования в водных растворах поливинилового спирта // Высокомолек. соед. А. 1999. Т.41, №6. С.1035.
13. Хижняк С.Д., Nierling W., Spranzel F. и др. Структурные исследования водных растворов поливинилового спирта вблизи гелевой точки // Физико-химия полимеров. Тверь, 2000. Вып.6. С.24.
14. Пахомов П.М., Хижняк С.Д., Nordmeier E. и др. Структурообразование в водных растворах модифицированного поливинилового спирта // Высокомолек. соед. Б. 2002. Т.44, №6. С.1059.

## БИОЛОГИЯ

УДК 579.222.2:579.252.5

### БИОДЕГРАДАЦИЯ НЕФТЯНЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ ШТАММОМ *DIETZIA MARIS*, ЕЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ

Е.В. Плешакова, С.Н. Голубев\*, О.В. Турковская\*

Саратовский государственный университет,  
кафедра биохимии и биофизики  
E-mail: biofac@sgu.ru

\* Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: ecbio@ibppm.sgu.ru

Показана способность штамма *Dietzia maris* AM3, выделенного из нефтяного шлама, к активной утилизации углеводородов нефти. У данного штамма, способного разрушать нефтяные углеводороды на 50–70% и в кислой, и в нейтральной среде, выявлены плазмиды размером около 54 т.п.н. Частота индуцированной элиминации свойства деградации углеводородов нефти у штамма *D. maris* AM3 составила 14.0%. Клоны *D. maris* AM3, утратившие плазмидную ДНК, характеризовались частичной элиминацией способности к деградации нефтяных углеводородов, что может свидетельствовать о плазмидной локализации генов деградации.

#### Biodegradation of Petroleum Hydrocarbons by Strain *Dietzia Maris* and Its Genetic Peculiarities

E.V. Pleshakova, S.N. Golubev, O.V. Turkovskaya

The ability of strain *Dietzia maris* AM3, isolated from oil-slime, for active utilization of petroleum hydrocarbons was shown. Plasmids (size, near 54 kb) were found in this strain, capable of degrading petroleum hydrocarbons by 50–70% both in acid and in neutral media. The frequency of induced elimination of the property of degrading petroleum hydrocarbons in strain *D. maris* AM3 was 14.0%. The clones of *D. maris* AM3, which had lost their plasmid DNA, were characterized by partial elimination of the ability to degrade petroleum hydrocarbons, which may suggest that the degradation genes are localized on the plasmid.

В настоящее время известно немало микроорганизмов-деструкторов нефти и нефтепродуктов, которые используются в технологиях биоремедиации загрязненных объектов окружающей среды [1–4]. Нефтеоокисляющие штаммы, интродуцируемые в загрязненную почву или воду, должны обладать определенными свойствами: высокой метаболической активностью и скоростью потребления углеводородов (УВ) нефти, конкурентной способностью по отношению к аборигенным углеводородоокисляющим микроорганизмам и способностью к длительному выживанию в изменяющихся условиях окружающей среды.

Перед применением таких специализированных штаммов требуется их всестороннее изучение. Исследование генетической организации нефтеоокисляющих штаммов-интродуцентов, накопление знаний о функционировании, передаче и экспрессии хромосомных или плазмидных генов биодegradации, изучение возможности применения методов генетической инженерии к этим бактериям необходимы для их длительной биотехнологической эксплуатации [5–7].

НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ



Объектом наших исследований явился штамм *Dietzia maris* AM3, выделенный прямым высевом из нефтешлама (г. Саратов). Этот штамм был идентифицирован в ВКПМ (г. Москва). Установлено, что изучаемый микроорганизм обладал рядом экологических преимуществ, поскольку хорошо рос в присутствии 10% NaCl, а также в достаточно широком диапазоне температур – от 10 до 40°C и pH – от 4 до 9 [8].

Способность штамма использовать для роста нефть и нефтепродукты определяли с помощью чашечного метода Мак-Кланга, согласно которому отмечалось наличие роста культуры вокруг и внутри капель нефтяного субстрата на поверхности плотной минеральной среды [9]. Способность штамма к деструкции индивидуальных углеводов (0,4 г/л) определяли с помощью метода лунок [10]. В результате изучения субстратного спектра штамма *D. maris* AM3 было показано, что он способен использовать для роста в качестве единственного источника углерода и энергии широкий набор нефтепродуктов и индивидуальных углеводов: *n*-алканов (октан, гексан, гептан, декан, тридекан, гексадекан, гептадекан); ароматических соединений (толуол, ксилол, фенол, псевдокумол, амилбензол) и нафтен (декалин). Штамм хорошо рос на среде с вазелиновым маслом, дизельным топливом, сырой нефтью, исключением являлся керосин, на котором рост отсутствовал.

Степень деградации нефти (10 г/л) и мазута (25 г/л) данным штаммом в жидкой минеральной среде за 14 сут культивирования составила 70.0 и 8.1% соответственно. Эмульгирующая активность *D. maris* AM3 по отношению к нефти, определенная методом Купера [11], соответствовала достаточно высоким значениям:  $E_{24} = 48\%$ ;  $E_{48} = 36\%$ .

Интересной особенностью оказалась выявленная у изучаемого штамма способность к деструкции нефтяных углеводов в кислой среде. По данным газовой хроматографии деструкция гептадекана (2.5%) в жидкой среде за 7 сут культивирования составила 53.6% при pH 7 и 51.5% при pH 4.6. В связи с тем, что нередко встречаются кислые почвы и сточные воды, требующие очистки от нефтяных загрязнений [12], это свойство штамма *D. maris* AM3 может использо-

ваться для биоремедиации нефтезагрязненных объектов, характеризующихся повышенной кислотностью.

При плазмидном скрининге методом, основанном на распределении в системе полиэтиленгликоль–декстран [13], у исследуемого штамма обнаружены плазмидные ДНК размером около 54 т.п.н. Получены доказательства стабильности плазмидных ДНК при культивировании изучаемого штамма-деструктора *D. maris* AM3 в неселективных условиях (до 10 пассажей на МПА) и в условиях длительного хранения (5 лет) в коллекции.

Для изучения индуцированной элиминации свойства биodeградации углеводов нефти у штамма *D. maris* AM3 исследовалось воздействие [14] различных ингибирующих агентов (митомицин С, этидий бромид, профлавин, акридиновый оранжевый, налидиксовая кислота) на жизнеспособность и изменчивость штамма. Результаты экспериментов показали, что микроорганизм чувствителен к действию даже незначительных (10 мкг/мл) концентраций большинства ингибиторов. В ходе исследований была установлена субингибирующая концентрация только для одного ДНК-тропного агента – налидиксовой кислоты, которая составила 25 мкг/мл. Обработка штамма *D. maris* AM3 этим ингибитором привела к возникновению клонов с редуцированной способностью к утилизации нефтяных углеводов. Частота выявления таких клонов на агаризованной среде, содержащей в качестве единственного источника углерода и энергии сырую нефть, составила 14.0%.

Последующий скрининг плазмидных ДНК в 38 отобранных элиминантных клонах показал наличие экстрахромосомных элементов в большинстве из них. В то же время было установлено, что 4 клон утратили 54-т.п.н. плазмиды. На рис.1 представлен результат одного из электрофоретических анализов клонов *D. maris* AM3 с пониженной деструктивной активностью по отношению к углеводам нефти, в котором были выявлены бесплазмидные варианты.

Морфологические колонии четырех бесплазмидных клонов: 15н, 34н, 44н, 45н не отличались от исходного штамма *D. maris* AM3, это были колонии с гладкой блестящей поверхностью и характерной яркой кораллово-

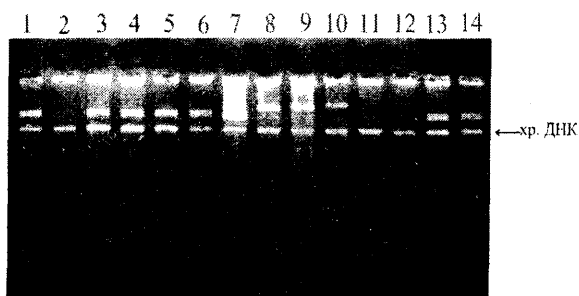


Рис.1. Выявление плазмидных ДНК в клонах штамма *D. maris* AM3, частично утративших способность к деградации нефтяных углеводородов: 1 – исходный штамм; 2 – 15н; 3 – 17н; 4 – 21н; 5 – 23н; 6 – 31н; 11 – 34н; 12 – 44н; 13 – 46н; 14 – 47н; маркерные плазмиды: 7 – RP4 (39 т.п.н.); 8 – R1 (93 т.п.н.); 9 – R16 (103,5 т.п.н.); 10 – R386 (117 т.п.н.)

красной окраской. Результат иммунодиффузионного анализа со специфическими антителами данного штамма, осуществленного по методу [15], показал, что углеводные антигены клеточной поверхности элиминантных клонов не претерпели каких-либо изменений и абсолютно идентичны данным структурам исходного штамма *D. maris* AM3.

Количественная оценка деструктивной активности четырех вышеназванных элиминантов по отношению к сырой нефти (10 г/л) при культивировании их в жидкой среде показала (рис. 2) заметное снижение способности к деструкции сырой нефти (в 2–5 раз).

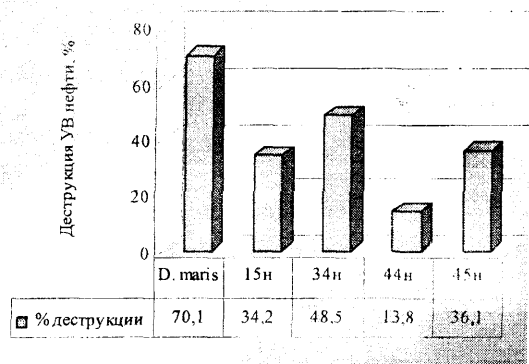


Рис.2. Деструктивная активность элиминантов *D. maris* AM3 по отношению к сырой нефти (10 г/л) при культивировании их в жидкой среде в течение 14 сут

Установлено также, что у элиминантов степень деградации индивидуального нефтяного углеводорода гептадекана в жидкой среде (2.5%) была сравнима с уровнем его разрушения исходным штаммом *D. maris*

AM3. С помощью качественного анализа показано, что у элиминантных клонов утрачивалась способность к утилизации декалина.

Необходимо отметить, что нефть – чрезвычайно гетерогенный субстрат, она состоит из углеводов различных классов. И, несомненно, гены деструкции многочисленных нефтяных углеводов не могут быть локализованы на одной плазмидной молекуле. Однако полученные данные о высокой частоте (14.0%) индуцированной элиминации свойства биodeградации углеводов нефти, заметном снижении способности к деструкции нефти и декалина при утрате плазмидной ДНК штаммом *D. maris* AM3 свидетельствуют об участии плазмидных генов в процессе биodeградации нефтяных углеводов.

#### Библиографический список

1. Sharma S.L., Pant A. Biodegradation and conversion of alkanes and crude oil by a marine *Rhodococcus* sp. // Biodegradation. 2000. V.11. P.289–294.
2. El Fantroussi S., Agathos S. Is bioaugmentation a feasible strategy for pollutant removal and site remediation? // Current Opinion in Microbiology. 2005. V.8, №3. P.268–275.
3. Ouyang W., Liu H., Murygina V. et al. Comparison of bioaugmentation and composting for remediation of oily sludge: A field-scale study in China // Process Biochem. 2005. V.40. P.3763–3768.
4. Андреева И.С., Емельянова Е.К., Загребельный С.Н. и др. Психротолерантные штаммы-нефтедеструкторы для биоремедиации почв и водной среды // Биотехнология. 2006. №1. С.43–52.
5. Larkin M.J., De Mot R., Kulakov L.A., Nagy I. Applied aspects of *Rhodococcus* genetics // Antonie van Leeuwenhoek. 1998. V.74. P.133–153.
6. Pepper I.L., Gentry T.J., Newby D.T. et al. The role of cell bioaugmentation and gene bioaugmentation in the remediation of co-contaminated soils // Environmental Health Perspectives Supplements. 2002. V.110, №6. P.943–946.
7. Ахметов Л.И., Иванова Е.С., Пунтус И.Ф. и др. Горизонтальный перенос плазмиды биodeградации нафталина в процессе микробной деструкции дизельного топлива и нефти в открытом проточном биореакторе // Биотехнология. 2006. №4. С.79–86.
8. Пleshакова Е.В., Матора Л.Ю., Турковская О.В. Интродукция нефтеокисляющего штамма *Dietzia maris* в загрязненную почву: Сб. ст. / Под ред. О.В. Турковской. Саратов: Научная книга, 2005. С.148–156.
9. Теттер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. М.: Колос, 1993. 175 с.
10. Практикум по микробиологии. / Под ред. Н.С. Егорова. М.: Изд-во МГУ, 1976. 307 с.
11. Cooper D.G., Goldenberg B.G. Surface active agents from two *Bacillus* species // Appl. Environ. Microbiol. 1987. V.53, №2. P.224–229.





12. *Gemmell R.T., Knowles C.J.* Utilisation of aliphatic compounds by acidophilic heterotrophic bacteria. The potential for bioremediation of acidic wastewaters contaminated with toxic organic compounds and heavy metals // *FEMS Microbiology Letters*. 2000. V.192. P.185–190.

13. *Голубев С.Н.* Криптические миниплазмиды азоспиррилл: разработка эффективных методов выделения и характеристика репликонов: Дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 2002. 209 с.

14. *Миллер Дж.* Эксперименты в молекулярной генетике. М.: Мир, 1976. 440 с.

15. *Ouchterlony O., Nilsson L.-A.* Immunodiffusion and immunoelectrophoresis // *Handbook of experimental immunology*. V.I. Immunochemistry / Ed. D.M. Weiz. Oxford: Alden Press, 1979. P.19–33.

## ВЛИЯНИЕ ИОНОВ КАДМИЯ НА АКТИВНОСТЬ АМИНОТРАНСФЕРАЗ У ПОТОМСТВА САМОК БЕЛЫХ КРЫС

Е.В. Степанова, В.В. Игнатов

Саратовский государственный университет,  
кафедра биохимии и биофизики.  
E-mail: StepanovaEV\_bio@mail.ru

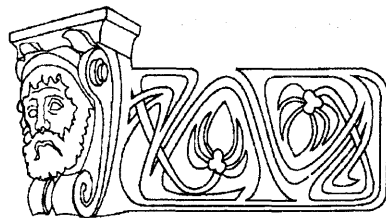
В статье рассматриваются изменения активности важных ферментов азотистого обмена у потомства, подвергавшегося токсическому воздействию в неонатальный период. Обсуждаются возможные механизмы этих изменений.

**Influence of Cadmium Ions on Aminotransferase Activity  
in the Offspring of White Female Rats**

E.V. Stepanova, V.V. Ignatov

The article is addressed to changes in the activity of essential enzymes of nitrogen metabolism in the offspring exposed to toxic influence in the neonatal period. Possible mechanisms of these changes are discussed.

В настоящее время особенно в экологически неблагоприятных регионах отмечается ухудшение характеристик здоровья новорождённых: увеличивается их общая заболеваемость, растёт частота врождённых аномалий плода и новорожденного [1]. Антропогенное загрязнение окружающей среды является очень мощным фактором, вызывающим три четверти болезней человека и делающим иногда среду обитания непригодной для жизни. Возрастающую опасность для здоровья матерей и их новорожденных в настоящее время представляют тяжёлые металлы, особенно кадмий. Он наряду с ртутью и свинцом относится к 1 классу токсичности. Действуя на организм человека даже в малых количествах, он может вести к серьёзным поражениям нервной и иммунной системы (особенно в раннем возрасте), обладает канцерогенным, гонадотропным, эмбриотропным, мутагенным и нефротоксическим дей-



ствием [2]. Помимо пищи, питьевой воды, воздуха дополнительным источником потребления кадмия является курение. У курящих в 4–5 раз увеличено содержание кадмия в крови. В грудном молоке женщин, проживающих в промышленных городах, содержание кадмия составляет 0,06 мкг/л, у курящих лактирующих женщин оно может быть повышено до 0,9 мкг/л [3]. В литературе имеются данные, указывающие на отдаленное воздействие кадмия на потомство, при этом недостаточно изученными считаются ферменты трансаминазы, являющиеся важнейшими ферментами азотистого обмена.

Целью данного исследования стало изучение влияния азотнокислого кадмия на активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаратаминотрансферазы (АСТ) в сыворотке крови и тканях органов у потомства млекопитающих, подвергшихся токсическому действию в неонатальный период.

Эксперимент проводился на потомстве самок белых беспородных крыс, которые с 0 по 10 день лактации получали перорально водный раствор  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ . Полученное потомство (самки) было разделено на 3 группы: в первую и контрольную группы входило потомство самок, матери которых получали в период лактации 1 мл физиологического раствора внутривенно, во вторую и третью группы входило потомство самок, матери которых в период лактации получали 0,5 мг/кг



и 2 мг/кг  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  внутрижелудочно соответственно. Потомство выводилось из эксперимента на 120-й день жизни. Сроки исследования согласуются с общепризнанным разделением возрастных периодов у данной группы животных: период полового созревания 22–50 дней, период половой зрелости после 60-го дня [4]. Статистическую обработку данных проводили в программе «Statistica 6.0».

Через трансаминазы связываются потоки не только обмена аминокислот белков, но и углеводов. В печени происходит интеграция метаболизма при участии трансаминаз. Они регулируют потоки метаболитов между органами. АЛТ накапливает глюкозу, а АСТ компенсирует повышение аммиака [5].

В результате эксперимента нами было установлено снижение активности АЛТ в гомогенате печени (табл.1) в выбранных дозах в 2 раза ( $p < 0,003$ ) по отношению к контролю. В плазме крови у самок опытной группы происходило достоверное увеличение активности АЛТ в 2,7 раза ( $p < 0,02$ ) в группе, получавшей 0,5 мг/кг кадмия, и в 3 раза ( $p < 0,001$ ) в группе, получавшей 2,0 мг/кг кадмия. Печень и почки являются органами-мишенями при кадмиевой интоксикации. Выявленное уменьшение активности АЛТ в печени можно объяснить тем, что кадмий повреждает клетки печени (гепатоциты), приводя к выходу фермента в кровоток [6]. Определение активности АЛТ в плазме крови широко используется для диагностики болезней печени, поскольку максимальное количество фермента содержится в печени [7]. При поражении клеток печени активность АЛТ в крови возрастает, хотя АЛТ является внутриклеточным ферментом, и его содержание в сыворотке крови здоровых людей невелико [8, 6].

В гомогенатах мозга и сердца нами не было выявлено достоверных различий в изменении активности АЛТ, возможно, это связано с тем, что АЛТ является маркером периферической зоны катаболизма [9], и его содержание в этих тканях мало по сравнению, например, с печенью.

Наблюдаемое нами уменьшение активности АЛТ в гомогенате почек в 2,5 раза ( $p < 0,004$ ) при дозе 0,5 мг/кг и более чем в 3 раза ( $p < 0,005$ ) при дозе 2 мг/кг относительно контроля может быть следствием ин-

Таблица 1

Активность АЛТ, мкмоль/(с·л), в плазме крови и гомогенатах органов 4-месячных самок крыс, подвергшихся хроническому действию кадмия в неонатальный период

| Исследуемые органы и ткани | Группы животных |                           |                            |
|----------------------------|-----------------|---------------------------|----------------------------|
|                            | Контроль        | Кадмий (0,5 мг/кг)        | Кадмий (2 мг/кг)           |
| Плазма                     | 0,003±0,0015    | 0,008±0,0005*<br>P < 0,02 | 0,001±0,0003*<br>P < 0,001 |
| Печень                     | 3,0±0,2         | 1,5±0,6 *<br>P < 0,003    | 1,6±0,3*<br>P < 0,003      |
| Почки                      | 1,05±0,25       | 0,4±0,1*<br>P < 0,037     | 0,3±0,15*<br>P < 0,048     |
| Сердце                     | 0,094±0,022     | 0,094±0,004               | 0,17±0,004                 |
| Мозг                       | 0,65±0,05       | 0,55±0,1                  | 0,55±0,15                  |

\* Достоверные отличия по отношению к контролю.

гибирования данного фермента ионами кадмия. Возможно, что реакция переаминирования аланина при этом протекает медленнее, что приводит к снижению образования глутамата – одного из основных участников системы обезвреживания аммиака в организме. В результате в организме может происходить увеличение содержания аммиака в клетках, токсичного для организма, и который должен обезвреживаться.

Второй фермент, активность которого мы исследовали, – АСТ. Этот фермент, занимая «центральную» роль в метаболизме, способствует поступлению субстратов в цикл трикарбоновых кислот (ЦТК), обеспечивает интенсификацию как поступления, так и ускорения метаболитов в ЦТК, ведёт к усилению окислительного фосфорилирования [9].

При введении экспериментальным животным нитрата кадмия в дозе 0,5 мг/кг у их потомства не наблюдалось статистически достоверного изменения активности АСТ как в плазме крови, так и в гомогенате печени по сравнению с контролем (табл.2). При дозе 2 мг/кг было выявлено уменьшение активности АСТ в плазме примерно в 6 раз ( $p < 0,05$ ), тогда как в печени её активность увеличилась более чем в 2,5 раза ( $p < 0,03$ ) по сравнению с контролем. Увеличение активности АСТ в печени можно объяснить тем, что в печени происходит усиленный синтез этого



фермента. Эффект может быть связан с увеличением под действием ионов кадмия распада белков, что увеличивает содержание свободных аминокислот «субстрата» для трансаминирования [10]. Снижение активности этого фермента в плазме крови свидетельствует о связывании кадмием двух SH-групп его активных центров [11].

В гомогенатах мозга и почек (табл.2) нами выявлено увеличение активности данного фермента в 2 раза ( $p < 0,05$ ) и в 2,3 раза ( $p < 0,02$ ) соответственно только при дозе 2 мг/кг по сравнению с контролем. Увеличение активности АСТ в мозге, возможно, является компенсаторным и связано с уменьшением синтеза глутамата в результате снижения скорости реакции катализируемой АЛТ [12]. Повышение активности АСТ в почках, возможно, связано с удалением ионов аммония, образовавшегося при распаде белков, дезаминировании аминокислот и понижением активности АЛТ [9].

Таблица 2

Активность АСТ, мкмоль/(с·л), в плазме крови и гомогенатах органов 4-месячных самок крыс, подвергшихся хроническому действию кадмия в неонатальный период

| Исследуемые органы и ткани | Группы животных |                         |                            |
|----------------------------|-----------------|-------------------------|----------------------------|
|                            | Контроль        | Кадмий (0,5 мг/кг)      | Кадмий (2 мг/кг)           |
| Плазма                     | 0,02±0,008      | 0,009±0,004             | 0,003±0,001*<br>$p < 0,05$ |
| Печень                     | 1,9±0,5         | 2,2±0,7                 | 4,8±1,2*<br>$p < 0,03$     |
| Почки                      | 0,7±0,15        | 0,8±0,2                 | 1,6±0,25*<br>$p < 0,02$    |
| Сердце                     | 0,14±0,03       | 0,2±0,02*<br>$p < 0,02$ | 0,15±0,05                  |
| Мозг                       | 1,7±0,3         | 1,85±0,7                | 3,25±0,65*<br>$p < 0,047$  |

\* Достоверные отличия по отношению к контролю.

Активность аспаратаминотрансферазы в гомогенате сердца увеличилась в 1,4 раза ( $p < 0,02$ ) по сравнению с контрольными значениями при дозе 0,5 мг/кг. Увеличение дозы токсиканта до 2 мг/кг не приводило к статистически достоверным изменениям активности фермента. Увеличение активности АСТ при заболеваниях сердца является диагностическим признаком в клинической практике [8]. Повышение активности АСТ в результате интоксикации связано с адаптивным

синтезом фермента [9] и, возможно, с необходимостью удаления избытков ионов аммония при поражении сердечной мышцы [13].

Наблюдаемое нами увеличение активности АСТ и уменьшение активности АЛТ является, очевидно, тонким механизмом, который организм использует при усилении или угнетении тех или иных процессов метаболизма, тем самым адаптируясь к неблагоприятным условиям. Эти ферменты помимо своего основного участия в процессах обмена аминокислот играют не последнюю роль и в обезвреживании аммиака в организме.

#### Библиографический список

1. Машаева Л.Л., Стрижкова Н.В. Ксенобиотики и беременность // Рос. вестн. перинатологии и педиатрии. 1994. Т.39, №6. С.5–7.
2. Ваганов Н.Н. Перинатальная медицина в России. состояние, проблемы, перспективы // Рос. вестн. перинатологии и педиатрии. 1993. Т.29, №1. С.5–8.
3. Hallen I.P., Jorhem L., Lagerkvist B.J. Lead and cadmium levels in human milk and blood // Sci Total Environ. 1995. V.166. P.149–155.
4. Западнюк И.П. Влияние освещения при разведении лабораторных животных // Лабор. животные. 1983. №1–2. С.26–41.
5. Аписимов А.А. Медицинская энзимология. Горький: На-ука, 1978. 150 с.
6. Халимов С.З. Сравнительная оценка эмбриотоксического действия различных соединений кадмия // Гигиена и санитария. 1985. №4. С.11–14.
7. Силиванов М.П. Клиническая биохимия. М.: Мир, 1984. 543 с.
8. Функциональная активность ферментов и пути ее регуляции / Под. ред. С.Е. Северина, Г.А. Кочетова. М.: Изд-во МГУ, 1981. 180 с.
9. Рослый И.М., Абрамов С.В., Акуленко Л.В. Принципы анализа ферментемии: Учеб. пособие. М.: Изд-во Моск. гос. мед.-стоматол. ун-та, 2003. 45 с.
10. Талакин Ю.Н. О некоторых биохимических изменениях в организме при воздействии низких концентраций тяжелых металлов // Гигиена и санитария. 1973. №9. С.17–19.
11. Мушина Е.В. Изучение совместного биологического действия свинца и кадмия в эксперименте на животных. // Гигиена и санитария. 1989. №9. С.89–90.
12. Покровский А.А. Изменение активности сорбитдегидрогеназы, аланинаминотрансферазы и фосфогеоксизомеразы в плазме крови крыс при остром токсическом поражении печени // Вопросы медицинской химии. 1967. №5. С.511–515.

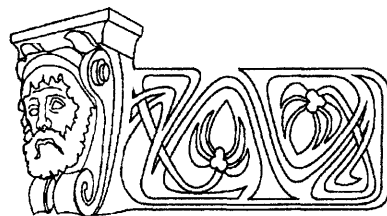


УДК 579.835.222

## ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИПОПОЛИСАХАРИДА ДИАЗОТРОФНЫХ РИЗОБАКТЕРИЙ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* SR55

А.С. Бойко, О.Н. Коннова, С.А. Коннова, Ю.П. Федоненко, В.В. Игнатов

Саратовский государственный университет,  
кафедра биохимии и биофизики  
E-mail: Konnova SA@info.sgu.ru



Исследованы липополисахариды грамотрицательных diazotrophic ризобактерий, стимулирующих рост растений, – *Azospirillum brasilense* SR55, изолированных с корней пшеницы в Саратовской области. Из наружной мембраны фенольной экстракцией выделен липополисахарид и изучен его химический состав. Среди основных компонентов гидрофобной части идентифицированы 3-гидрокситетрадекановая, 3-гидроксигексадекановая, гексадекановая и октадеценновая кислоты, а в углеводной составляющей – рамноза, галактоза, 3-О-метилрамноза и глюкуроновая кислота. Показано, что повторяющееся звено О-специфического полисахарида *A. brasilense* SR55 является разветвленным октасахаридом с остатком глюкуроновой кислоты в боковой цепи.

### Characterization of the Lipopolysaccharide of the Diazotrophic Rhizobacterium *Azospirillum Brasilense* Sr55

A.S. Boyko, O.N. Konnova, S.A. Konnova, Yu.P. Fedonenko, V.V. Ignatov

This work was undertaken to investigate the lipopolysaccharide from gram-negative, plant-growth-promoting diazotrophic rhizobacterium *Azospirillum brasilense* SR55 isolated from the roots of wheat in Saratov oblast. The lipopolysaccharide was extracted from the outer membrane with phenol, and its chemical makeup was studied. The major components of the hydrophobic portion included 3-hydroxytetradecanoic, 3-hydroxyhexadecanoic, hexadecanoic, and octadecanoic acids; those of the carbohydrate portion included rhamnose, galactose, 3-O-methylrhamnose, and glucuronic acid. The repeated unit of the O-specific polysaccharide of *A. brasilense* SR55 was found to be a branched octasaccharide with a glucuronic acid residue in its sidechain.

Бактерии рода *Azospirillum*, распространенные в почвах прикорневой зоны широкого круга растений, являются diazotrophами, стимулирующими их рост. Большой научный и практический интерес представляют ассоциации бактерий *Azospirillum brasilense* со злаками, и в частности с пшеницей, в процессе формирования которых важная роль отводится поверхностным гликополимерам бактерий, в том числе и липополисахаридам (ЛПС) [1–3]. ЛПС вместе с белками обеспечивают целостность и стабильность бактериальной мембраны, селективную проницаемость, а также межклеточные взаимодействия с другими биосистемами [4]. Однако химическая структура ЛПС азоспирилл и сте-

пень участия в процессах взаимодействия с растениями исследованы недостаточно. В связи с этим целью нашей работы стало выделение и анализ ЛПС бактерий *A. brasilense* SR55, изолированных из ризосферы пшеницы Харьковская-46.

Бактериальная культура *A. brasilense* SR55 [5] получена из коллекции ИБФРМ РАН. Бактерии выращивали на жидкой малатной среде до окончания экспоненциальной фазы роста (18–20 ч) [1]. Капсульный материал с поверхности клеток отмывали 0.15 М NaCl с добавлением  $\text{NaN}_3$ . Экстракцию ЛПС проводили из высушенных ацетонем клеток по методу Вестфала [6].

Высокомолекулярную фракцию полимера получали методом гель-фильтрации на колонке с носителем Sepharose CL-4B («Pharmacia», Швеция), элюцию проводили 0.025 М  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  (pH 8.3).

Ионообменную хроматографию выполняли на колонке с анионитом DEAE-Toyoprep 650 M («Toyosoda», Япония). Элюцию осуществляли ступенчато: вначале буфером трис-HCl (0.01 М; pH 7.2), затем раствором NaCl в том же буфере в градиенте от 0.01 М до 1 М. Детекцию материалов проводили с помощью дифференциального проточного рефрактометра LKB 2142 («LKB», Швеция) и по оптической плотности продуктов реакции с фенолом и серной кислотой, измеренной при длине волны 490 нм.

Биополимерный состав препаратов определяли стандартными колориметрическими методами, описанными ранее [1]. Дegradацию ЛПС проводили 1%-ной уксусной кислотой (pH 2.8) в течение 4 ч при 100°C.

Сахарный состав анализировали методом ГЖХ ацетатов полиолов после полного гидролиза полисахаридов 2 М  $\text{CF}_3\text{COOH}$  (120°C, 2 ч), восстановления и ацетилирова-



ния, а также методом ГЖХ-масс-спектрометрии частично метилированных ацетатов полиолов [7]. Анализ образцов осуществлялся на хроматографе Hewlett-Packard 5890 с капиллярной колонкой Ultra 2 в градиенте температуры от 180 до 290°C со скоростью нагрева 10°C/мин и хромато-масс-спектрометре Hewlett-Packard 5889 с капиллярной колонкой HP-1 («Hewlett-Packard», США). Метилирование жирных кислот гидрофобной части молекулы ЛПС<sub>SR55</sub> выполняли согласно методике [7]. В качестве стандартов применяли эталонные образцы фирмы «SUPLECO» (США). Электрофорез препарата ЛПС<sub>SR55</sub> в полиакриламидном геле (ПААГ) в присутствии додецилсульфата натрия проводили по методу Hitchcock (1983) [8].

Несмотря на то, что для азоспирилл не выявлено строгой приуроченности к растениям-хозяевам, обнаружены некоторые особенности строения поверхностных гликополимеров, возможно, связанные с обитанием микроорганизмов в сходных экологических нишах. В частности, для большинства бактериальных штаммов, ассоциированных с пшеницей, показано преобладание рамнозы в составе капсульных полисахаридов и ЛПС [9]. В этом плане бактерии *A. brasilense* SR55 интересны тем, что были изолированы из ассоциации с пшеницей твёрдого сорта, в отличие от всех исследованных ранее «пшеничных» штаммов азоспирилл.

Для извлечения ЛПС<sub>SR55</sub> использовали экстракцию горячим фенолом, что позволило получить препарат, практически свободный от примесей белка и нуклеиновых кислот. Выделение из экстракта высокомолекулярной фракции ЛПС<sub>SR55</sub> проводили гель-фильтрацией, в результате чего получили очищенный препарат с выходом 2.1%. ЛПС<sub>SR55</sub> выходил с холостым объемом колонки, имел профиль элюции, характерный для ЛПС азоспирилл (рис.1).

При определении биополимерного состава специфическими реакциями на каждый компонент обнаружено, что содержание углеводов было сравнительно невысоким и составляло  $24.5 \pm 1.2\%$ . Количество 2-кето-3-дезоксиктоновой кислоты, являющейся связующим звеном между гидрофильной и гидрофобной частями молекулы ЛПС, составило  $1.3 \pm 0.1\%$ , а общего фосфора, участвующего

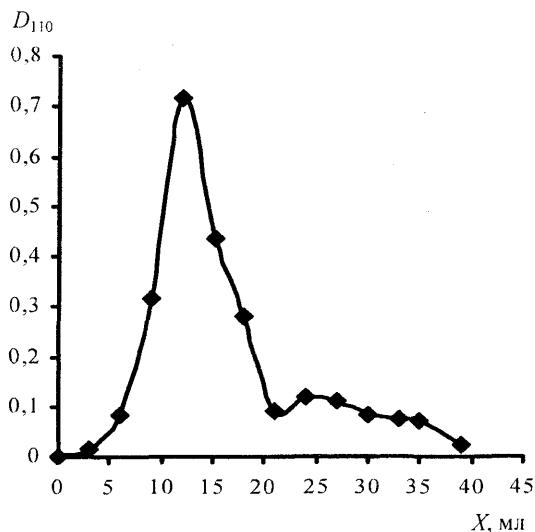


Рис.1. Профиль элюции ЛПС *A. brasilense* SR55 на колонке с носителем Sepharose CL-4B

в закреплении полимера в мембране, —  $3.3 \pm 0.6\%$  — больше, чем у других «пшеничных» штаммов. Достаточно низкое содержание белка ( $1.7 \pm 0.1\%$ ) и следовые примеси нуклеиновых кислот свидетельствовали о высокой степени очистки препарата.

После мягкого кислотного гидролиза ЛПС<sub>SR55</sub> 1%-ной уксусной кислотой из гидролизата центрифугированием осадили липид А, выход которого составил 26.7%, а из растворимой фракции методом гель-фильтрации выделили ОПС<sub>SR55</sub> с выходом 14.5% от навески исходного препарата. Известно, что ЛПС в составе бактериальной мембраны может быть представлен тремя молекулярными формами: S-формой, для которой характерно наличие «полноценного» О-специфического полисахарида (ОПС), R-формой, у которой ОПС отсутствует, и SR-формой, в которой к кору вместо полимерной цепи присоединено одно звено ОПС. Методом электрофореза в ПААГ показано, что в препарате ЛПС<sub>SR55</sub>, наряду с молекулами S-формы, присутствовали R-формы молекул в высокой концентрации (рис.2), чем, очевидно, и объясняется относительно невысокий выход препарата ОПС<sub>SR55</sub>.

В составе гидрофобного компонента ЛПС<sub>SR55</sub> — липида А, участвующего в стабилизации полимера в мембране за счет гидрофобного взаимодействия с фосфолипидами, методом ГЖХ метиловых эфиров идентифицированы насыщенные, гидроксидные и ненасы-



Рис. 2. Результат электрофореза в ПААГ препарата ЛПС<sub>SR55</sub>

щенные жирные кислоты с длиной углеродной цепи от C<sub>9</sub> до C<sub>19</sub>. При этом основными по содержанию являлись 3-гидрокси-тетрадекановая, 3-гидроксигексадекановая, гексадекановая и октадеценановая кислоты. Процентное соотношение и состав жирных кислот ЛПС<sub>SR55</sub> оказались близкими к таковым других штаммов и видов азоспирилл, в том числе выделенных из ризосферы пшеницы [10, 11].

Изучение углеводного компонента – ОПС<sub>SR55</sub> начали с исследования его гетерогенности по плотности отрицательного заряда на колонке с DEAE-Тюорpearl 650M, в результате чего выявили его «анионные» свойства.

Анализ моносахаридного состава ОПС<sub>SR55</sub> методом ГЖХ ацетатов полиолов продемонстрировал присутствие рамнозы, галактозы и неидентифицированного сахара в соотношении 4:2:1, т.е. преобладающим компонентом вновь оказалась рамноза, как и у ранее изученных «пшеничных» штаммов азоспирилл. Наличие в составе ОПС<sub>SR55</sub> глюкуроновой кислоты было показано ГЖХ ацетилированных метиловых эфиров октилглицеридов. Методом ГЖХ-МС частично метилированных ацетатов полиолов (с CD<sub>3</sub>I) в ОПС<sub>SR55</sub> были идентифицированы 3-замещенная гексоза, 4-замещенная 6-дезоксигексоза, 3-замещенная 6-дезоксигексоза, 2,3-дизамещенная

6-дезоксигексоза, терминальная гексоза и 4-замещенная 3-О-Ме-6-дезоксигексоза в соотношении 2:2:1:1:1:1. Данные согласуются с результатами ГЖХ, если учесть, что в ходе подготовки образцов для ГЖХ-МС карбонильная группа глюкуроновой кислоты на стадии восстановления превратилась в гидроксил, а неидентифицированный моносахарид является 3-О-метилрамнозой.

Таким образом, по предварительным данным повторяющееся звено ОПС<sub>SR55</sub> представлено разветвленным октасахаридом с остатком глюкуроновой кислоты в боковой цепи. Следует отметить, что это первый случай обнаружения гетероолигосахарида в качестве повторяющегося звена ОПС среди «пшеничных штаммов» *A. brasilense* и, кроме того, уроновая кислота, характерная для капсульных ПС азоспирилл, в составе ОПС выявлена впервые. Полученные результаты расширяют представление о молекулярном разнообразии гликополимеров, опосредующих взаимодействие азоспирилл с корнями растений.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (гранты 05-04-48123 и НШ 6177.2006.4).

#### Библиографический список

1. Konnova S.A., Makarov O.E., Skvortsov I.M., Ignatov V.V. Isolation, fractionation and some properties of polysaccharides produced in a bound from by *Azospirillum brasilense* and their possible involvement in *Azospirillum*-wheat root interaction // FEMS Microbiol. Lett. 1994. V.118. P.93–99.
2. Yegorenkova I.V., Konnova S.A., Sachuck V.N., Ignatov V.V. *Azospirillum brasilense* colonization of wheat roots and role of lectin-carbohydrate interactions in bacterial adsorption and root-hair deformation // Plant Soil. 2001. V.231. P.275–282.
3. Федоненко Ю.П., Егоренкова И.В., Коннова С.А., Игнатов В.В. Участие липополисахаридов азоспирилл во взаимодействии с поверхностью корней пшеницы // Микробиология. 2001. Т.70, №3. С.384–390.
4. Newman M.A., Dow J.M., Daniels M.J. Bacterial lipopolysaccharides and plant-pathogen interactions // Europ. J. Plant Pathology. 2001. V.107. P.95–102.
5. Позднякова Л.И., Каневская С.В., Леванова Г.В. и др. Таксономическое изучение азоспирилл, выделенных из знаков Саратовской области // Микробиология. 1988. Т.57, №2. С.275–278.
6. Вестфаль О., Янн К. Бактериальные липополисахариды // Методы химии углеводов. М.: Мир, 1967. С.325–332.
7. Hakomori S.-I. A rapid permethylation of glycolipids and polysaccharides catalyzed by methylsulfinyl carbanion in demethylsulfoxide // J. Biochem. 1964. V.55. P.205–208.





8. Hitchcock P.J., Brown T.M. Morphological heterogeneity among *Salmonella* lipopolysaccharide chemotypes in silver-stain polyacrylamide gels // J. Bacteriol. 1983. V.154. P.269–277.

9. Коннова С.А., Федоненко Ю.П., Игнатов В.В. Структура и функции гликополимеров поверхности азоспирилл // Молекулярные основы взаимоотношений ассоциативных микроорганизмов с растениями. М.: Наука, 2005. С.42–63.

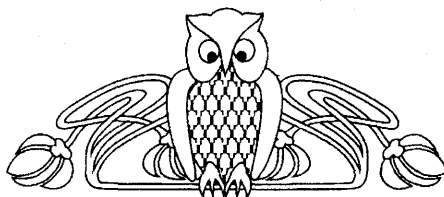
10. Choma A., Russa R., Mayer H., Lorkiewicz Z. Chemical analysis of *Azospirillum* lipopolysaccharides // Arch. Microbiol. 1987. V.146. P.341–345.

11. Федоненко Ю.П., Здоровенко Э.Л., Коннова С.А. и др. Сравнительная характеристика липополисахаридов и О-специфических полисахаридов *Azospirillum brasilense* Sp245 и его Омега-Км-мутантов КМ018 и КМ252 // Микробиология. 2004. Т.73, №3. С.180–187.

## ОСНОВНЫЕ ТЕНДЕНЦИИ В ДИНАМИКЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ПТИЦ НА СЕВЕРЕ НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЕНИЯ КЛИМАТА

Е.В. Завьялов, Г.В. Шляхтин

Саратовский государственный университет,  
кафедра морфологии и экологии животных  
E-mail: zavialov@info.sgu.ru



Обсуждаются проблемы динамики распространения птиц Нижнего Поволжья под воздействием естественных факторов среды и в ходе эволюционно обусловленных исторических процессов. Рассмотрены основные тенденции в изменении климатических условий в пределах последних нескольких тысячелетий. Выделено несколько групп видов с различным типом динамики ареала. В качестве основных причин изменения распространения птиц приводятся циклические колебания определенных абиотических факторов, под непосредственным влиянием которых происходила их эволюция, уровня обводненности Каспия и других водоемов, доминирующие климатические тренды различного масштаба, динамика обилия жертв или поставщиков убежищ птиц и др.

### Main Trends in Bird Propagation Dynamics in the Northern Lower-Volga Region under Varying Climate Conditions

E.V. Zavialov, G.V. Shlyakhtin

Problems of bird propagation dynamics in the northern Lower-Volga region under the influence of natural environmental factors and in the course of evolutionally-caused historical processes are discussed. Main trends in climate variations within the last millennia are considered. Several groups of species with different types of their habitat dynamics have been resolved. Cyclic variations of certain abiotic factors to immediately affect bird evolution, the water level of the Caspian Sea and other reservoirs, predominating climatic trends of various scales, prey abundance or asylum supplier dynamics etc. are considered as principal causes of bird distribution changes.

Разнообразие природно-климатических условий севера Нижнего Поволжья обуславливает значительное видовое богатство орнитофауны. Ежегодно список встречающихся здесь животных пополняется за счет вновь зарегистрированных видов. Их появление и распространение в регионе носит направленный

характер и определяется динамическими трендами векового и межвекового масштабов. Вместе с тем влияние климатических и других факторов среды на экосистемы приводит к деградации большого числа видов, угнетению их популяций, нарушению пространственно-временной структуры ареалов. Таким образом, в природе непрерывно протекают процессы естественной динамики населения птиц, которые имеют разнонаправленный характер, а их совокупность (без учета антропогенного фактора) определяет в целом постоянство видового богатства.

Современное состояние ареалов большинства видов птиц севера Нижнего Поволжья определяется совокупностью сложных исторических процессов, которые включают расселение, начавшееся около 12 000 лет назад в конце последнего вюрмского оледенения. Распространение птиц из рефугиумов в пребореальный и бореальный периоды голоцена (8 000 – 12 000 лет назад) проходило на фоне постепенного потепления климата, которое значительно усилилось в последующий атлантический период (4 500 – 8 000 лет назад). В этой связи следует указать на существование наиболее благоприятного для расселения животных временного отрезка (5 000 – 6 500 лет назад) голоценового климатического оптимума. Многие из плейстоценовых изолятов, восстанавливающих в это время



свои былые ареалы, выступили уже в ранге самостоятельных видов. Лишь некоторые из них сохранили конспецифичность и расселились в среднем голоцене на равнинах Евразии. Это широко распространенные транспалеарктические виды, хотя, по мнению многих исследователей, фактически являются реликтами тургайской фауны и должны быть выделены в особый тип фауны – Евро-Китайский или Тургайский [1]. По окончании данного периода, вследствие некоторого похолодания, очевидно, произошло сокращение ареалов многих позвоночных [2]. Дальнейшая стабилизация климатических условий определила общее последующее направление динамики распространения птиц, которое и в настоящее время рассматривается большинством исследователей как медленное расселение.

Анализируя динамику распространения птиц региона под воздействием естественных факторов среды, необходимо более детально рассмотреть основные тенденции в изменении климатических условий в пределах последних нескольких тысячелетий. Со второй половины первого тысячелетия и до начала второго, в течение почти 700 лет, в климате региона наблюдалась устойчивая тенденция повышения среднегодовых температур. С конца XIII в. и особенно в XIV–XV вв., по сравнению с предыдущим периодом, климат становится суровым и характеризуется многоснежностью и многоводностью водоемов различных типов. Прохладно-влажная эпоха просуществовала около 550 лет и сменилась во второй половине XIX столетия некоторым потеплением климата и сокращением общей увлажненности. Лишь в середине XVI в. (60 и 70-е гг.) наблюдалось кратковременное потепление климата, однако уже в 1590-х гг. среднегодовые температуры вновь понизились, а также увеличилась повторяемость аномально суровых зим [3].

Середину XIX в. следует считать своеобразным рубежом, когда началось развитие многовековой теплой, сухой климатической эпохи, которая, по некоторым прогнозам [3], продлится 600–800 лет. Увеличение солнечной радиации, определившее общую тенденцию потепления, имело два максимума: в конце XIX в. – первые годы XX столетия (менее выраженный), а также в 1930-х гг., когда

средняя температура воздуха повысилась по отношению к предыдущему периоду на  $0.6^{\circ}\text{C}$  и проявилась наиболее отчетливо в холодное время года. Именно поэтому засушливые периоды 1870 и 1930-х гг. считаются проявлениями климатических трендов векового масштаба. Аналогичный размах имеют и противоположные прохладно-влажные фазы 1850–1860-е гг. и 1910–1929 гг., которые характеризуются как вековые. В 1940-х гг. наблюдается похолодание, которое продолжается до начала 1950-х гг., а затем вновь наступает период потепления климата (до начала 1960-х гг.), достигшее средних температурных показателей начала века. С 1970-х гг. преобладающий климатический тренд может быть охарактеризован как постепенное похолодание, продолжавшееся до 1990-х гг. [4].

В течение почти двух тысячелетий новой эры выявляется один максимум увлажнения и два теплых сухих. Полный цикл прохладно-влажных тенденций климата многовекового масштаба развивался от минимума к максимуму, а затем опять к минимуму с общей протяженностью около 1900 лет [2]. Правомочность подобного вывода подтверждается, кроме того, на основе анализа динамики гидрологического режима Каспийского моря: за последние 9–10 тыс. лет море имело шесть отчетливо выраженных трансгрессий и регрессий, которые косвенно свидетельствуют о чередовании прохладно-влажных и теплых, а также сухих климатических эпох в голоцене с интервалом в 1500–2000 лет [5]. Эти эпохи состоят из трех фаз: прохладно-влажной (300–500 лет), теплой и сухой (600–800) и переходной между первой и второй (700–800). В пределах многовековой динамики климата выделяются 60–90-летние вековые и 29–45-летние внутривековые колебания, которые включают в свою очередь циклы с продолжительностью 7–11 и 3–4 года. Максимальные и минимальные значения температуры и увлажнения вековых циклов, как правило, существенно превышают аналогичные внутривековые показатели; длительность циклов типа брикнеровских иногда варьирует в пределах от 29–30 до 45–47 лет [2].

На основе комплексного анализа представленных выше сведений можно говорить о существовании нескольких отчетливо вы-



раженных циклов, близких к брикнеровским, приуроченных к периоду с конца XIX в. до настоящего времени, в отношении которых возможны сколько-нибудь значимые обобщения по динамике распространения птиц в регионе. Первый из выделенных циклов включает временной интервал с 1899 по 1940 г. и синхронизируется с началом регрессии водоемов (до 1909 г.), высоким их обводнением (до 1929 г.), а затем с теплым, сухим периодом (до 1940 г.). Следующий за ним цикл (1941–1972 гг.) сопоставляется с прохладно-влажной фазой (до 1950 г.), переходным по увлажнению периодом (до 1959 г.), засушливым временем (до 1968 г.), а затем с коротковременным отрезком повышенной увлажненности (до 1972 г.). Третий цикл (1973 г. – современность) начался с теплой сухой фазы (до 1979 г.) и сменился прохладно-влажным (1980 г.) временем [2]. В современный период наблюдается повышение среднегодовых температур.

Важно отметить, что выделенные периоды не могут использоваться на региональном уровне для каких-либо теоретических построений без определенной корректировки. В частности, исследования, проведенные в г. Казани [6], показали, что хронология и продолжительность волн здесь заметно отличались от таковых всего Северного полушария. Период потепления проявил себя в этом городе раньше (1896–1925 гг.); несколько сдвинут по срокам и современный этап увеличения среднегодовых температур. При этом лишь 26–30% всех особенностей многолетних изменений среднегодовой температуры воздуха в городе объясняется влиянием факторов планетарного масштаба, оставшаяся часть – воздействием региональных и городских условий. Таким образом, территориальное распределение средней месячной температуры воздуха и ее среднеквадратических отклонений, особенно в холодный период, определяется, главным образом, географическими особенностями района исследований. Иными словами, температура постоянно изменяется по знаку и величине как в пространстве, так и во времени, а представление о повсеместном современном потеплении Европы не находит реального подтверждения в некоторых областях. Вполне очевидна картина регионального климато-

разнообразия, где тенденции поведения сумм температур, количества дней в году с отрицательными и положительными температурами согласуются в общем с ходом среднемесячных температур. В целом же выявленные особенности изменения климата в г. Казани за длительный период характерны для всего востока Русской равнины. Это обстоятельство позволило использовать некоторые данные по динамике климата этого города в наших исследованиях.

Все многообразие вариантов изменения границ распространения птиц в регионе можно условно разделить на две группы. К первой из них целесообразно отнести виды, расширение ареалов которых идет в направлении заполнения фаунистических вакуумов, образовавшихся в плейстоцене. В этом случае современное расселение птиц, как правило, в широтном направлении не лимитируется какими-либо экологическими факторами и определяется только историческими причинами. Из плейстоценовых лесных рефугиумов по завершении консервативных этапов эволюции их популяций лесостепные виды, являющиеся в большинстве фито-, мио- и эврифагами, относительно легко осваивают новые биоценозы Палеарктики, характеризующиеся слабой видовой насыщенностью и незаполненностью многих экологических ниш. Несколько консервативнее в этом отношении неморальный комплекс видов, представители которого, как правило, относятся к энтомофагам и расселяются в лесостепи и степи более медленными темпами [7]. Таким образом, к *первой группе* птиц с динамической структурой ареала следует отнести виды преимущественно лесного комплекса, распространяющиеся, главным образом, в южном и восточном направлениях вдоль облещенных водотоков, по массивам пойменных и водораздельных лесов. Спектр примеров подобного рода достаточно широк, он включает западнопалеарктические дендрофильные виды, представленные преимущественно голубями, дятлами, синицами и вьюрками. Несколько меньшее количество примеров расширения ареалов птиц, которое происходит в направлении заполнения фаунистических вакуумов, образовавшихся в плейстоцене, можно привести в отношении видов, интенсивно продвигающихся на север. Речь идет



преимущественно о путях, связанных с потоками и различными непроточными водоемами нескольких типов. Типичным примером подобной динамики является заселение региона индийской камышевкой.

Ко *второй группе* относятся виды, динамика ареала которых определяется циклическими изменениями абиотических факторов, под непосредственным влиянием которых происходила их эволюция в давние геологические эпохи. К этой группе в первую очередь следует отнести стенобионтных обитателей побережий мелководных обширных водоемов с различным уровнем солености воды – морского голубка, шилоклювку и савку. Динамика их распространения находится в непосредственной связи с обводненностью специфичных в плане солености воды водоемов различных типов, амплитуда уровня режима которых определяется в свою очередь изменениями уровня моря.

*Третий тип* долговременной динамики ареала свойствен видам, чье распространение лимитируется уровнем обводненности Каспия, водоемов Волжского и Донского бассейнов и доминирующими климатическими трендами. На первый взгляд эти две группы причин не имеют явной связи. Действительно, в большинстве примеров в отношении конкретных видов с динамической структурой ареала прямой связи между амплитудой перемещения границ распространения, уровнем моря и других водоемов и типом преобладающего климатического тренда выявить не удастся. Однако, как показывает углубленный анализ, на основе использования более широкого спектра абиотических факторов (помимо среднегодовых температур и количества осадков), можно синхронизировать изменение ряда климатических параметров с таковым обводненности водоемов.

В отношении влияния климатических изменений на динамику распространения птиц однозначный ответ дать, очевидно, невозможно. Не вызывает сомнения существование синхронного расширения или сокращения границ ареала многих видов в результате хорошо выраженного потепления и увлажнения климата во второй половине XX столетия. Известны даже примеры перемещения по этим причинам всего оптимума

ареала некоторых видов. В саратовском Заповье это справедливо, например, для белокрылого и в большей степени черного жаворонков, ареал которых перемещается и сегодня в юго-западном направлении. Кроме того, заметное потепление 1930-х гг. способствовало расширению границ ареалов серой куропатки, балобана, орла-карлика, степного луня, курганника, полевого и хохлатого жаворонков, удода, сизоворонки, золотистой щурки [2] и ходулочника [8]. Именно с этим временем мы склонны связывать резкое повышение численности большинства из них в пределах севера Н. Поволжья. Так, начавшийся во второй четверти прошлого столетия очередной процесс расширения ареала раکشобразных и удообразных способствовал значительному увеличению количества колоний и отдельных гнездовых указанных видов и общей численности размножающихся в регионе птиц. Помимо основной причины этого явления, в качестве которой указывается потепление климата и сопутствующая аридизация обширных территорий, А.Н. Формозов [9] называет и сопутствующую, а именно рост овражной сети в пределах Приволжской возвышенности, вызванный эрозией, сильно развившейся за несколько десятилетий конца XIX в. и первой четверти XX столетия.

Однако для значительного числа видов изменение климата проявляется не столь однозначно в динамике распространения. Изменение зональных типов растительности под воздействием определенных климатических трендов происходит сравнительно медленными темпами. Достаточно, например, отметить, что скорость современного потепления в регионе относительно низка и составляет для декабря  $0.25^{\circ}\text{C}/10$  лет, а июля – лишь  $0.04$  [6]; количество атмосферных осадков в XX столетии увеличивалось на  $0.5\text{--}1\%$  за десятилетие [10]. Именно поэтому динамика распространения многих видов птиц в этой ситуации имеет лишь опосредованный характер и проявляется по истечении продолжительных интервалов времени.

Несмотря на очевидность некоторых выводов в отношении существования опосредованной связи между климатическими трендами различного масштаба и динамикой



границ ареалов широкого спектра видов птиц, целесообразно более детально остановиться на изучении этого вопроса. Отправной точкой в данной проблеме является привлечение концепции опосредованного влияния активности солнца [11]. В этой связи солнечная активность рассматривается как начальное звено климатических и биологических процессов. Через изменение атмосферной циркуляции этим путем обуславливается динамика температурного режима и влажности, что определяет циклический характер колебаний климата. Разделяя мнение В.Г. Кривенко [2] и многих других ученых, мы склонны признать существование циклических изменений численности и распространения птиц вследствие динамики солнечной активности как исходного абиотического фактора. Преломляясь через основные природные компоненты и проявляясь в различных модификациях, он формирует экологические условия существования отдельных видов животных. Первостепенным при этом является чередование прохладно-влажных и теплых, а также сухих климатических фаз, которые через существенные изменения количества и качества кормов, облика местобитаний и других параметров приводят к количественной и качественной динамике поселений птиц во времени и пространстве. Эти фазы и циклы различаются по продолжительности и силе проявления, накладываются один на другой и развиваются в режиме осцилляций [12].

Существует целый комплекс глобальных и менее значимых факторов, в совокупности определяющих преобладание того или иного климатического тренда на изучаемой территории. В этой связи, прежде всего, можно говорить об изменениях прозрачности атмосферы вследствие вулканической деятельности и других причин, когда волна похолоданий и потеплений последнего столетия четко коррелирует соответственно с ослаблением и ростом этого показателя. Все более обращает на себя внимание и феномен аperiодически меняющегося теплового состояния поверхностных вод океанов, которому сопутствуют грандиозные колебания поля атмосферного давления. В частности, определенные фазы такого колебания (Северо-Атлантического) сопровождаются форми-

рованием значительных аномалий температуры воды, что не может не сказываться на температурных условиях над сопредельной сушей [13]. Актуальным в данном контексте, например, является заключение, что связь между давлением в центрах азорского максимума и исландского минимума, а также абсолютными минимумами температуры в г. Саратове – статистически значимая [14]. Не однозначным остается ответ на вопрос о возможной связи повышения глобальных температур с ростом концентрации парниковых газов ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{SO}_2$  и др.) вследствие антропогенных причин. Современные исследования [15] не подтверждают существования такой зависимости, основываясь на несоответствии климатических моделей и естественного хода динамики температуры.

Перечень геофизических факторов можно было бы продолжить (скорость вращения Земли, числа Вольфа, индекс геомагнитной активности и др.), однако какими многочисленными не были бы причины динамики климата в изучаемом регионе, их следствием является реально существующая цикличность в проявлении абиотических факторов. На первый план из них в ходе эволюционных и зоогеографических построений выступают теплообеспеченность и обводненность территории. Достаточно, например, указать, что применительно к северо-атлантическим колебаниям поля атмосферного давления выявлены циклы с периодом 7–8 лет [13], в отношении изменения среднегодовой температуры г. Саратова – периоды в 96,9, 218 и 872 года [16], а также естественные циклические колебания содержания  $\text{CO}_2$  в атмосфере глобального ранга, которые во многом сходны с кривой изменения температуры [17]. Именно с таких позиций целесообразно рассматривать многочисленные примеры долговременного перемещения ареалов, а также кратковременной гнездовой экспансии птиц на севере Н. Поволжья, которые иллюстрируют третий тип динамики распространения.

С этой целью могут быть привлечены сведения о регистрации в последние несколько десятилетий в Восточной Европе просянки в местах, где данный вид ранее не отмечался, а также на территориях бывшего его распространения. В отношении причин столь примечательного явления выдвигается



несколько гипотез, ни одна из которых на сегодняшний день не является общепринятой и достаточно аргументированной. В частности, высказываются мнения о долговременном перемещении границ ареала, наличии в динамике численности значительных флуктуаций [18], тесной связи просянки с культурными ландшафтами, расширение площади которых на современном этапе способствует продвижению вида на восток и др. Нерегулярность появления этих птиц вдали от основных репродуктивных районов, а также множественность суждений о причинах подобного явления характерны и для севера Н. Поволжья.

Полученные на современном этапе сведения о динамике пребывания просянки на севере Н. Поволжья позволяют сделать несколько выводов общего характера. Во-первых, выявляется довольно строгая цикличность инвазии этих птиц с продвижением на восток. Действительно, интервалы между появлением вида на изучаемой территории составляют 35–40 лет. Во-вторых, даже самый поверхностный анализ позволяет с высокой уверенностью говорить об отсутствии сколько-нибудь значимой связи динамики распространения вида в Прикаспии с широким спектром абиотических факторов. В частности, известные периоды проникновения просянки на восток приходятся, например, на различные, а зачастую и противоположные по направлению циклы изменения водного режима Каспия. Не удастся также выявить достоверной связи пульсации границ ареала вида с циклическими изменениями годового поверхностного стока, коэффициента стока, уровня режима замкнутых водоемов, суммы осадков холодного периода, максимальной высоты снежного покрова и др.

Анализируя причины динамики распространения просянки, целесообразно рассмотреть вопросы становления ее ареала в историческом аспекте. Принимая точку зрения М.А. Воинственского [19] о предгорном южно-европейском происхождении вида, можно в самом общем виде реконструировать основные этапы его расселения в пределах европейской России. Первичное северо-восточное направление распространения способствовало относительно быстрому заселению видом территории Центральной Европы, от-

куда просянка продвинулась на восток, придерживаясь культурных ландшафтов, вплоть до среднего течения р. Дона. Вполне вероятно, что такая картина была характерна, например, для относительного теплого отрезка времени IX–XIV вв. [20] и сохранялась до малого ледникового периода (1500–1850 гг.), когда ареал вида, очевидно, значительно сократился. В дальнейшем процесс расселения возобновился и был лимитирован на востоке лишь аридными и субаридными условиями степного Поволжья, куда эти птицы проникают в наиболее благоприятные в экологическом отношении годы. Таким образом, зона периодического вероятного размножения этих птиц включает обширные территории не только Правобережья р. Волги, но и сухие степи саратовского и волгоградского Заволжья.

Таким образом, проведенные исследования позволили выявить существование опосредованной связи между изменениями распространения просянки и брикнеровскими гелиоклиматическими циклами в 35–45 лет. С начала XVIII в. и до настоящего времени прослежено 9 таких циклов [2], для четырех из которых существуют сведения о пребывании просянки на севере Н. Поволжья. Два из них, а именно включающие 60-е годы XIX в. и 20-е годы XX в., относятся к прохладно-влажным фазам климатических циклов векового масштаба с интервалом 70–90 лет. Некоторое исключение из этого правила представляет собой лишь пример регистрации вида в саратовском Заволжье в конце прошлого XX в. – начале нынешнего столетия, когда уже началось некоторое повышение среднегодовых температур. Однако и этот факт находит вполне приемлемое объяснение, которое базируется на сведениях о характере современного потепления. Оно проявляется, главным образом, в уменьшении суточного диапазона температур за счет подъема минимальных ночных или ранних утренних значений [21], повышении январских температур и увеличении продолжительности безморозного периода, а также действия антропогенного фактора.

Обращает на себя внимание тот факт, что потепление или похолодание в пределах цикла различного масштаба зачастую происходит не синхронно по сезонам года: оно раньше может проявляться в январских тем-





пературах, чем в июньских и наоборот [20]. Известно, что фоновые изменения климата в максимальной степени затрагивают растительность природных экосистем именно в вегетационный период, что приводит к значительным структурно-функциональным перестройкам ценозов. Таким образом, отчетливо выявляется неравномерный вклад гидротермических условий различных периодов года в изменчивость растительного покрова. Совместное влияние летних температур и осадков почти в 2.5 раза эффективнее, чем влияние таких же зимних характеристик [22]. Поступление солнечной энергии летом и выпадение летних атмосферных осадков (летние запасы продуктивной влаги в почве) – два исходных параметра, обладающих явными эдификаторными свойствами. Следовательно, современное изменение зимних климатических условий региона не может оказывать сколько-нибудь существенного влияния на общую ландшафтно-географическую структуру данной территории. Напротив, в теплую эпоху 1930–1940 гг. увеличение температуры происходило одновременно и зимой, и летом [10], что за столь короткий период нашло отражение в ландшафтном облике степи и лесостепи. В данной связи весьма показательны исследования Ю.А. Склярова и Г.Ф. Ивановой [14], которые на основе анализа многолетнего (1912–2000 гг.) временного хода месячных максимумов и минимумов температуры воздуха по станции Саратов – Юго-Восток установили, что потепление в областном центре за последние 90 лет обусловлено повышением минимальных значений температуры воздуха. Оно особо ощутимо в зимние и весенние месяцы, причем разница между положительным трендом для зимы и весны ( $0.3\text{--}0.5^\circ\text{C}/10$  лет), а также летнего и осеннего времени ( $0.04\text{--}0.1^\circ\text{C}/10$  лет) весьма значительна.

Кроме того, циклические изменения температуры и влажности определяют длительность сукцессий растительности, ускоряя их в сухие и жаркие и замедляя в холодные и влажные периоды. Именно климатогенные сукцессии местообитаний приводят к изменению жизненной емкости стадий, когда территориальные группировки вида перемещаются на значительные расстояния от мест прошлого гнездования в различных направ-

лениях, но чаще в широтном. Изменения условий существования приводят к экологической специализации видов, которая включает особенности питания и уровня метаболизма. В итоге, птицы приспособились к разным стадиям сукцессии и в течение микроклиматических циклов претерпевают периодические изменения распространения в колебательном режиме [23]. В отношении просянки основным фактором, лимитирующим ее проникновение на восток, является аридизация условий существования.

Все многообразие примеров в отношении третьего типа динамики ареалов птиц региона под действием флуктуации уровня обводненности Каспия, водоемов Волжского и Донского бассейнов, а также доминирующих климатических трендов, можно сгруппировать в два ряда, соответствующих макро- и микроклиматическим циклам, т.е. многовековым и внутривековым тенденциям изменения обводненности и теплообеспеченности на изучаемой территории. В итоге в отношении первой группы примеров можно сделать заключение, что чередование прохладно-влажных и теплых сухих эпох через изменение соотношения площадей угодий, находящихся на поздних и ранних сукцессионных стадиях, приводит к разнонаправленности динамики распространения и численности птиц. Иными словами, для одних видов результатом смены макроклиматического тренда является расширение ареала и повышение обилия, а для других – сокращение этих показателей. Разделяя мнение В.Г. Кривенко [2] относительно данного предположения, укажем на максимальный характер проявления такой разнонаправленности на границе климатических эпох.

Реальное существование в динамике ареала птиц циклических тенденций межвекового масштаба, когда границы распространения видов перемещаются с севера на юг, с востока на запад и обратно в колебательном режиме, определяет зарождение и развитие процессов, когда возможно долговременное или необратимое перемещение всей зоны оптимума некоторых форм. Результатом подобных перестроек, как правило, является кардинальное изменение всей структуры ареала птиц, резкое сокращение их численности на изучаемой территории, а в резуль-



тате – возникновение реликтовых очагов нерегулярного гнездования. Примеры такого рода (белоглазый нырок, луток, обыкновенный гоголь, свиязь и др.) иллюстрируют *четвертый тип* динамики распространения животных региона.

*Пятый тип* динамики ареала птиц в пределах водораздельных равнин степной зоны Русской равнины свойствен видам, успех размножения которых и динамика численности определяются изменениями обилия их жертв или поставщиков убежищ. Это справедливо в отношении степного орла, балобана, каменки-плясуны и др. Для хищных птиц ухудшение трофической базы действительно является ключевым фактором, лимитирующим их распространение. Однако обилие жертв, главным образом мелких грызунов, обусловлено часто деятельностью человека. Это определяет целесообразность рассмотрения подобных примеров в отдельных работах по антропогенному влиянию на динамику ареалов птиц.

#### Библиографический список

1. Белик В.П. Фауногенетическая структура и связи западнопалеарктической орнитофауны // Кавказский орнитол. вестн. Ставрополь: Изд-во Ставроп. ун-та, 1992. Вып.3. С.19–52.
2. Кривенко В.Г. Водоплавающие птицы и их охрана. М.: Агропромиздат, 1991. 271 с.
3. Шнитников А.В. Изменчивость общей увлажненности материков Северного полушария // Зап. геогр. о-ва СССР. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1957. Т.16. С.1–336.
4. Будыко М.И. Климат в прошлом и будущем. Л.: Гидрометеиздат, 1980. 350 с.
5. Рубашев Б.М. Проблемы солнечной активности. М.; Л.: Наука, 1964. С.1–362.
6. Переведенцев Ю.П., Верецагин М.А., Шанталинский К.М., Наумов Э.П. Потепление климата Земли в XIX–XX столетиях и его проявление в Атлантико-Европейском регионе // Многолетняя динамика численности птиц и млекопитающих в связи с глобальными изменениями климата: Материалы Междунар. симп. Казань: Новое издание, 2002. С.6–16.
7. Белик В.П. Птицы степного Придонья: Формирование фауны, ее антропогенная трансформация и вопросы охраны. Ростов н/Д: Изд-во Рост. гос. пед. ун-та, 2000. 376 с.
8. Burton J.F. Birds and Climate Change. L., 1995. 376 p.
9. Формозов А.Н. География населения наземных животных и методы его изучения // Изменения границ распространения млекопитающих и птиц. М.: Изд-во АН СССР, 1959. С.176–195.
10. Израэль Ю.А., Груза Г.В., Катцов В.М., Мелешко В.П. Изменения глобального климата. Роль антропогенных воздействий // Метеорология и гидрология. 2001. №5. С.5–21.
11. Шнитников А.В. Внутривековые колебания уровня степных озер Западной Сибири и Северного Казахстана и их зависимость от климата // Тр. лаб. озероведения АН СССР. 1950. Т.1. С.1–129.
12. Кривенко В.Г. Современный статус водоплавающих птиц России с позиций природных и антропогенных воздействий // Многолетняя динамика численности птиц и млекопитающих в связи с глобальными изменениями климата: Материалы Междунар. симп. Казань: Новое издание, 2002. С.51–77.
13. Смирнов Н.Н., Воробьев В.И., Качанов С.Ю. Северо-Атлантическое колебание и климат. СПб., 1998. С.1–122.
14. Складов Ю.А., Иванова Г.Ф. Проблема глобального и регионального изменения климата // Изв. Саратов. ун-та. 2002. Т.2, вып.2. С.44–48.
15. Kukla G., Karl T.R. Nighttime warming and the greenhouse effect // Environ. Sci. Technol. 1993. V.27, №8. P.1468–1474.
16. Дмитриев А.А., Складов Ю.А., Шабельников А.В. Изменчивость осадков, температуры и солнечная активность. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1990. С.1–112.
17. Переведенцев Ю.П., Матвеев Ю.Л., Тудрий В.Д. Основы экологии атмосферы. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2000. Ч.2. С.1–60.
18. Баник М.В., Вергелес Ю.И. Просянка (*Emberiza calandra* L.) в Харьковской области: возвращение вида или флуктуации численности в ареале // Птицы бассейна Северского Донца. Донецк: Изд-во Рост. гос. пед. ун-та, 2000. С.20–27.
19. Воинственский М.А. Птицы степной полосы европейской части СССР. Киев: Изд-во АН УССР, 1960. С.5–68.
20. Сачок Г.И. Сопряженность колебаний климата в Северном полушарии. Минск: Наука и техника, 1985. С.46–49.
21. Karl T.R., Kukla G., Gavin J. Decreasing diurnal temperature range in the United States and Canada from 1941 through 1980 // J.Clim. Appl. Meteorol. 1984. V.23, №11. P.1489–1503.
22. Коломыц Э.Г., Сузова Н.А. Цепные реакции в региональных ландшафтно-географических связях Волжского бассейна // Эколого-географический вестник Юга России. Ростов н/Д: Изд-во Рост. гос. пед. ун-та, 2001. №3–4. С.137–145.
23. Krivenko V.G. Modern dynamics of bird ranges in Eurasia as a result of cyclical variations in climate // Abstr. 22nd Int. Ornithol. Congr. Ostrich, 1998. V.69, №3–4. P.294.

## ЭКОЛОГИЯ

УДК 581.524.34(636.6)

### ИЗМЕНЕНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ЕМКОСТИ ЛЕСНЫХ МЕСТООБИТАНИЙ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ РЕКРЕАЦИИ (на примере сообществ птиц)

В.В. Пискунов, Т.Н. Давиденко

Саратовский государственный университет,  
кафедра ботаники и экологии  
E-mail: biofac@sgu.ru

Экологическая емкость лесных местообитаний для птиц в наибольшей степени определяется вертикальной гетерогенностью растительных сообществ. Интенсивность рекреационного воздействия влияет на структурированность лесных местообитаний, что ведет к изменениям видового разнообразия и суммарной плотности гнездования птиц. На примере липовых и дубовых фитоценозов южной части Приволжской возвышенности показано, что независимо от породного состава древесного яруса проявляется тенденция снижения обилия птиц и разнообразия их сообществ при усилении рекреационного использования.

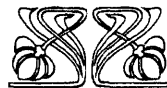
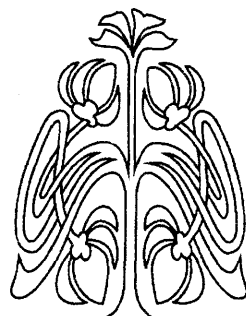
#### Recreation Changing of Forest Habitat Ecological Capacity (on Bird's Community Example)

V.V. Piskunov, T.N. Davidenko

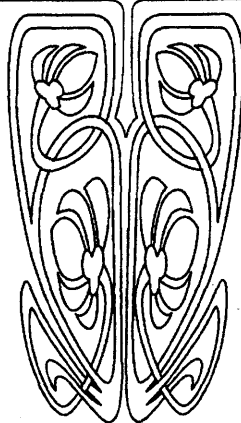
Bird habitat capacity depends of forest community vertical heterogeneity in a most degree. Recreation intensivity and force have a great influence on forest habitats organization and as a consequence – changes in bird species diversity and total breeding birds abundance. It was reveal, that in south part of Privolzhskay upland in oak and lime-tree forests bird species diversity and community density decrease with increasing of recreation intensivity.

В зависимости от структурной сложности растительные сообщества обладают неодинаковой экологической емкостью, которая проявляется в способности обеспечивать животных всеми необходимыми ресурсами [1]. Вариации в качественных и количественных характеристиках биотопов приводят к тому, что в разных местообитаниях наблюдаются отличия в составе и численности птиц. Оценка таких различий позволяет выявлять негативные факторы, действие которых приводит к уменьшению численности птиц и снижению видового разнообразия их сообществ [2]. Ценность подобной информации возрастает в связи с необходимостью пространственно-временного прогнозирования структуры сообществ в местообитаниях, подвергшихся антропогенному изменению [3].

Для птиц одним из основных критериев выбора участков гнездования является характер структурной организации растительных сообществ [4, 5]. Рекреация как один из основных антропогенных факторов пригородных лесов приводит к значительному изменению структуры отдельных компонентов и всего растительного сообщества в целом. В рекреационно-нарушенных местообитаниях отмечаются тенденции изменения численности гнездящихся птиц и сокращения видового разнообразия их сообществ [6].



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ





## Материал и методика

В исследованиях, проведенных в лесах южной части Приволжской возвышенности, в качестве критерия экологической емкости рассматривалась степень вертикальной сложности растительных сообществ, так как было установлено, что из всего многообразия структурных характеристик лесных фитоценозов именно вертикальная гетерогенность в наибольшей степени определяет уровень видового разнообразия сообществ птиц [7]. Был проведен анализ количественных показателей структурной сложности двух разновозрастных участков липняков и четырех участков дубрав, отличающихся по интенсивности и периодичности рекреационного использования. На основе измерения количественных значений фитоценологических параметров растительных сообществ были рассчитаны индексы их вертикального (ВР) и горизонтального разнообразия (ГР) [8, 9]. В изученных вариантах растительных сообществ проведены учеты птиц и рассчитаны показатели видового разнообразия их сообществ с использованием обратного индекса Симпсона,  $1/D_s$  [10]. Результаты рекреационного воздействия оценивались визуально по степени нарушенности фитоценозов [11].

## Результаты и их обсуждение

Изучение структурной сложности двух различных по интенсивности рекреации участков липовых лесов показало, что более высокие значения экологической емкости характерны для липняков, рекреационное воздействие на которые не постоянно и характеризуется низкой интенсивностью. Индекс вертикального разнообразия достигает в них высоких значений ( $ВР = 177,15$ ). На таких участках сохраняется сложная ярусная организация растительного сообщества и отмечается значительное проективное покрытие листвы на всех высотных уровнях. Богатые по видовому составу подрост и подлесок характеризуются значительной густотой. Травостой монодоминантен, с высокими значениями проективного покрытия. В таких фитоценозах видовое разнообразие сообществ птиц достигает высоких значений ( $1/D_s = 10,6$ ), для них характерна также высокая суммарная плотность гнездования – 633,4 пары /100 га.

Более низкие показатели экологической емкости отмечены для липняков, расположенных в зоне постоянного интенсивного рекреационного воздействия. Индекс вертикального разнообразия здесь ниже на 40%, что связано с меньшей вертикальной структурированностью всего растительного сообщества и значительной разреженностью ярусов подлеска и травостоя. Кустарниковый ярус образован бересклетом бородавчатым, представляет собой отдельно стоящие куртинки, средняя высота которых составляет 1,2 м. В этих условиях суммарное обилие птиц в гнездовой период снижено в 1,6, а видовое разнообразие их сообществ и 1,5 раза. Тем самым на примере липовых лесов района исследования была подтверждена тенденция сокращения видового разнообразия и численности птиц в сообществах с интенсивным рекреационным использованием.

В дальнейшем проводилось изучение темпов сопряженного изменения структурной организации растительных сообществ и сообществ птиц при усилении рекреационной нарушенности. Для этого были выбраны четыре участка дубрав с различной интенсивностью рекреационного использования.

Было выявлено, что наибольшими значениями индекса вертикального разнообразия характеризуется участок дубравы, на котором отсутствует рекреационное использование (таблица).

Структурные характеристики изученных вариантов дубрав

| Растительное сообщество              | Рекреационное использование | Количество высотных уровней | Индексы разнообразия |       |
|--------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------|-------|
|                                      |                             |                             | ВР                   | ГР    |
| Дубрава ландышево-дубравномятликовая | Отсутствует                 | 10                          | 152,1                | 73,6  |
| Дубрава ландышево-чистотеловая       | Слабое                      | 9                           | 113,7                | 154,4 |
| Дубрава ландышевая                   | Среднее                     | 9                           | 117,3                | 112,5 |
| Дубрава снытево-ландышевая           | Сильное                     | 10                          | 86,1                 | 162,3 |

Примечание: ВР – индекс вертикального разнообразия растительных сообществ, ГР – индекс горизонтального разнообразия.



Данное сообщество имеет четкую ярусную дифференциацию, значительную высоту и густоту отдельных ярусов, высокое проективное покрытие травостоя. Индекс горизонтального разнообразия (ГР) низкий, что обусловлено отсутствием мозаичности травостоя, равномерным распределением подлеска и высокими значениями сомкнутости крон подроста и древостоя.

Слабо- и средненарушенные рекреацией участки растительных сообществ имеют сходную структурную организацию и отличаются более низкими значениями экологической емкости. Для них характерны одинаковый уровень высотной дифференциации (по девять высотных уровней при средней высоте древесного яруса 10,2 м), сходное значение суммарного проективного покрытия листвы, практически одинаковые значения сомкнутости нижних ярусов, что определяет наличие близких значений индексов вертикального разнообразия. Индексы горизонтального разнообразия также лежат в близких пределах, однако для слабонарушенных участков характерно наличие большей мозаичности травяного покрова, которая проявляется в чередовании участков с высоким густым чистотелом и участков густого, но значительно меньшего по высоте травостоя, в составе которого доминирует ландыш майский.

Структура дубрав со значительной рекреационной нагрузкой характеризуется рядом особенностей. Так, в дубраве снытево-ландышевой индекс вертикального разнообразия самый низкий из всех изученных сообществ, в то время как горизонтальное разнообразие достигает максимальных значений. Связано это со значительным изменением состава и структуры травяного яруса, а также с уменьшением густоты кустарникового яруса.

Выявленные структурные особенности определяют изменение уровня видового разнообразия сообществ птиц и суммарной плотности их гнездования. По сравнению с относительно ненарушенным участком ( $1/D_s = 11$ ; суммарное обилие  $N = 527,8$  пар/100 га) в дубраве со слабой степенью рекреационного использования видовое разнообразие сообществ птиц ниже в 1,5 раза ( $1/D_s = 7,4$ ), хотя суммарная плотность гнездования птиц оста-

ется на высоком уровне (491,8 пар/100 га). При усилении степени рекреационной нагрузки до средней происходит уменьшение суммарной плотности гнездования птиц на 70 пар при очень незначительном снижении уровня видового разнообразия ( $1/D_s = 7,1$ ). В сильнонарушенном сообществе – дубраве снытево-ландышевой – уровень видового разнообразия по сравнению со средне нарушенными участками уменьшается почти на 30% ( $1/D_s = 5,2$ ); при этом не выявляется тенденция снижения суммарной плотности гнездования птиц (427,6 пар/100 га). В целом же в ряду дубрав – от относительно ненарушенных до сильно измененных рекреационным воздействием – происходит уменьшение индекса видового разнообразия сообществ птиц в 2,1 раза и почти на 100 пар снижается обилие птиц.

Таким образом, независимо от породного состава лесные растительные сообщества под влиянием рекреационного воздействия претерпевают значительные изменения в структурных характеристиках. Изменение степени вертикальной структурированности фитоценозов отражается на характеристиках сообществ птиц, приводя к снижению уровня видового разнообразия и уменьшению суммарной численности гнездящихся птиц.

#### Библиографический список

1. Владышевский Д.В. Оценка качества местообитаний лесных птиц // Экологическая оценка местообитаний лесных животных. Новосибирск: Наука, 1987. С.122–136.
2. Долбик М.С. Численность певчих птиц в лесах Белорусии и ее связь с ландшафтами // Орнитология в СССР. Ашхабад, 1969. Кн.1. С.203–213.
3. Захаров В.Д. Влияние рекреационной нагрузки на сообщества птиц в лесах Южного Урала // Изв. Челябин. Научно-го центра. 1998. Вып.1. С.75–80.
4. Кулешова Л.В. Анализ структуры птичьего населения в связи с ярусностью леса // Орнитология. 1968. Вып.9. С.108–120.
5. Conner R.N., Dickson J.G. Relationships between bird communities and forest age, structure, species composition and fragmentation in the west Gulf Coastal Plain Texas // J. of Science. 1997. V.49, №3. P.123–138.
6. Быков Е.В. Орнитоценозы лесных рекреационных территорий в гнездовой период // Орнитологические исследования в Среднем Поволжье. Куйбышев: Кн. изд-во, 1990. С.42–45.
7. Давиденко Т.Н. Эколого-фитоценотическая характеристика местообитаний птиц в лесах южной части Приволжской возвышенности: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 2005. 20 с.



8. *Blondel J., Curvillier R.* Une methode simple et rapide pour decrier les habitats d'oiseaux: le stratiscope // *Oikos*. 1977. №29. P.326–331.

9. *Erdelen M.* Birds communities and vegetation structurc: Correlation and comparison of simple and diversity indices // *Oecologia*. 1984. V.61. P.277–284.

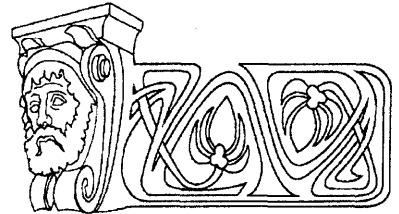
10. *Мегарран Э.* Экологическое разнообразие и его измерение. М.: Мир, 1992. 184 с.

11. *Таран И.В., Спиридонов В.И.* Устойчивость рекреационных лесов. Новосибирск: Наука, 1977. 178 с.

## ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ МИРОВОЗЗРЕНИЕ КАК СОСТАВНАЯ ЧАСТЬ КУЛЬТУРЫ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ОБЩЕСТВА

Н.И. Кожевникова, Н.В. Кожевников, М.Д. Гольдфейн

Саратовский государственный университет,  
кафедра охраны окружающей среды и безопасности жизнедеятельности  
E-mail: GoldfeinMD@info.sgu.ru



В данной научно-методической статье рассмотрены история развития экологического мировоззрения и проблемы повышения уровня экологической культуры человека, указана необходимость гуманизации всех сфер человеческой деятельности с целью снижения остроты экологической кризисной ситуации, возникшей в разных регионах мира.

### Ecological World Outlook as a Component of Culture of Human Society

N.I. Kozhevnikova, N.V. Kozhevnikov, M.D. Goldfein

In the present scientifically-methodical article authors write the brief story about the development of ecological world outlook and about problems of the human's level of ecological culture's increasing, they write about the need to humanize all spheres of people's action with aim to reduce the degree of ecological crisis situation which appears in different regions of our planet.

Состояние среды обитания человека зависит от различных факторов как естественных, так и антропогенных, но с развитием общества антропогенные приобретают все большее значение. На данном этапе одним из важнейших компонентов экономической политики любого государства является обеспечение экономического роста. А это предполагает постоянное увеличение антропогенного давления на окружающую среду, что может привести к ухудшению её состояния. Поэтому уже в последней четверти XX века учеными обсуждались различные подходы к решению данной проблемы, а в конце 80-х гг. была предложена концепция «устойчивого развития». Тем не менее до сих пор не существует действенного механизма, способного эффективно совместить экономические и при-

родоохранные интересы общества. В результате сейчас основная работа ученых, связанная с предотвращением дальнейшего загрязнения и разрушения окружающей среды, заключается в разработке новых технологий, приборов, методик, мероприятий, способствующих снижению отрицательных воздействий со стороны человечества на биоту и среду её обитания. Это порождает надежду на то, что с помощью различных технических и технологических приемов удастся хотя бы уменьшить угрозу наступления экологического кризиса. Но приостановить этот процесс, по-видимому, можно будет лишь в том случае, когда каждый житель планеты осознает серьезность неблагоприятной экологической ситуации на Земле и будет делать все возможное для её улучшения. А это зависит от уровня общей культуры населения.

Содержание понятия «культура» менялось со временем. Изначально, еще в древние времена, под культурой подразумевали целенаправленное воздействие человека на природу, в том числе и проведение обработки земли. В дальнейшем понятие «культура» стало входить в круг вопросов, обсуждаемых философами разных времен, относящимся к разным философским течениям. Некоторые из них отождествляли культуру в большей степени с духовными ценностями человека и общества, включая искусство, науки, мораль, религию, организацию общества. Другие считали, что наряду с духовными ценностями



ми, понятие «культура» должно охватывать и экономические отношения, уровень развития производства. Так, определение, принятое советской философской школой, гласит: «Культура – это специфический способ организации и развития человеческой жизнедеятельности, представленный в продуктах материального и духовного труда, в системе социальных норм и учреждений, в духовных ценностях, в совокупности отношений людей к природе, между собой и к самим себе» [1]. Итак, культура представляет собой сложную систему, в которой множество её подсистем сплетены самым тесным образом. Но в любом случае культура учитывала и учитывает сейчас наличие определенной системы взаимоотношений человека и природы. Со своей стороны экология сконцентрировала в себе проблемы культуры, обусловленные отношением человека к природе, к себе подобным, к самому себе, включая особенно важную в наше время проблему выбора ценностных ориентиров и форм сосуществования людей, позволяющих человечеству выжить в условиях надвигающегося экологического кризиса.

Двадцатый век и начало двадцать первого века могут быть охарактеризованы как время небывалого ранее научного и технического прогресса, бурно развивающихся технических средств, способствующих, с одной стороны, экономическому росту, следовательно и росту благосостояния людей во многих странах мира, а с другой – всё большему отчуждению человека от природы, в том числе и от своей собственной. Все это наряду с чрезмерным потреблением природных ресурсов привело к тому, что человечество сталкивается с наступлением двух кризисов: кризиса экологического и кризиса в отношении человека к идеалам, традициям, системам ценностей и к самому себе. Неудивительно почти одновременное возникновение обоих кризисов, ведь наличие неблагоприятной экологической обстановки на планете вызывает у людей чувство неуверенности, способствуя смене систем ценностей и нравственных ориентиров, утрате культурно-исторических корней. С другой стороны, человек, не мыслящий себя в единстве с окружающей средой, мало способен к обретению чувства ответственности перед будущим за

судьбу человечества и всей планеты. Именно поэтому необходимо искать пути совместного выхода из ситуации, сложившейся в культуре и в окружающей человека среде.

В промышленно развитых странах (США, Англия, Германия, Франция и др.) признаки надвигающихся экологического кризиса и кризиса культуры проявились раньше, чем в бывшем Советском Союзе (60–70-е годы). Поэтому ученые и общественность этих стран первыми начали предпринимать действия, направленные на разрешение сложившейся ситуации и не только с помощью технических или технологических мер. Стала проводиться работа по формированию у населения экологического сознания. По прошествии времени можно констатировать, что заметны определенные успехи, достигнутые в этом направлении. Но, к сожалению, принимаемые меры еще не являются настолько эффективными, чтобы можно было говорить о снятии угрозы экологического кризиса. Поэтому поиск путей предотвращения его продолжается.

Многим ученым дальнейшее решение этой проблемы видится прежде всего в создании экологической этики и экологически ответственной культуры, поскольку, как они считают, именно неверные с точки зрения экологии нравственные ориентиры, возникшие в средиземноморском регионе и ныне получившие распространение по всему миру, и привели общество к кризисной ситуации. Для того чтобы подробнее разобраться в этом вопросе, необходимо обратиться к истории представлений о взаимоотношении человека с природой и остановиться на некоторых моментах, отражающих их основные этапы развития.

Старейшими литературными памятниками, донесшими до нас информацию о становлении экологического миропонимания древнего человека, являются мифы и сказания Шумера, Древней Греции, Египта, Индии, Китая и т.д., а также Библия. Уже в них закладывались основы нравственных норм, определивших в дальнейшем взаимодействие человека с окружающей средой. Сравнение старейших литературных источников позволяет выделить в мифотворчестве древних две тенденции в отношениях человека с природой. Тексты Древнего Египта, Китая, Индии





проникнуты идеей единства природы, полны любви человека к природе и преклонения перед ней. В то же время в шумеро-вавилонской литературе и древнегреческой мифологии присутствует тревога, подчеркивается противопоставление человека и природы и даже агрессия человека по отношению к природе. Возможно, это связано с более сложной экологической обстановкой в этих регионах, с нарушением равновесия в экосистемах. Недаром именно в сказании шумеров о герое Гильгамеше (третье тысячелетие до н.э.) впервые упоминается о потопе и уцелевшем от него Утнапишти. В античной мифологии достаточно ярко проявляются как идеи космизма, подчеркивающие единение человека со всей природой, так и идеи антропоцентризма, ставящего человека в центр мироздания, возвышающего его над природой, призванной служить людям. Эти идеи нашли дальнейшее развитие в трудах античных философов.

Каждая философская теория, когда и кем бы она не разрабатывалась, обращается к решению этических проблем, пытаясь дать формулу нравственно достойного образа жизни человека. Через всю античную этику проходит идея всемогущества личности, полного развития её духовных сил. И хотя многие мыслители древности (Сократ, Эпикур, Тит Лукреций Кар, Зенон и др.) отмечали необходимость бережного и ответственного отношения к природе, в своих рассуждениях они выделяли человека из природы и ставили его над ней. К тому же некоторые положения учений этих мыслителей были восприняты последователями односторонне или трансформированы. В результате все это, по мнению современных ученых, послужило теоретической базой для дальнейшей разработки установок на овладение природы человеком, которые лежат в основе научно-технической деятельности современного общества.

В соответствии с ценностными установками, выдвигаемыми античной философией, развивалось и античное искусство. Оно также воспевало величие человека, силу его разума, красоту его тела. Но действия человека, свидетельствующие о его самоутверждении, не должны приводить к разорению природы, среди которой он живет. Об этом еще на ру-

беже V–IV веков до н.э. предупреждал Платон. Осуждая потребительское отношение землян к своей планете, он указывал на возможность деградации окружающей среды и, говоря современным языком, наступления глобальной экологической катастрофы. Вопросы использования природных ресурсов много внимания уделял Аристотель. Он считал природу началом всего сущего и, изучая её, вплотную подошел к пониманию и формулировке некоторых законов и принципов экологии.

Трудно переоценить влияние античной философии на развитие мировой культуры, в том числе и на формирование экологического миропонимания. Христианская философия, пришедшая на смену античной и получившая широкое распространение, во многом опиралась на учения Платона, Аристотеля, стоиков. При этом, хотя и происходила смена ценностных ориентиров, в проповедях раннехристианских теологов не отвергался античный космизм, но мир божественный противопоставлялся миру человеческому. Природа в этот период чаще всего рассматривалась как нечто гармоничное. Искусство ранних христиан развивалось в традициях согласия с природой. Стенные росписи и мозаики катакомб и церквей содержат изображения птиц, животных, растений. Они торжественны, имеют достаточно яркий колорит, что, безусловно, положительно воздействует на чувства человека по отношению к природе. В дальнейшем ситуация изменилась.

Если обратиться к тексту Библии [2], то уже с первых её страниц обнаруживается неоднозначность в решении вопроса о том, по какому образцу должно строить общество свои отношения со средой обитания. Так, в первом повествовании о сотворении человека Бог провозглашает созданных им мужчину и женщину хозяевами природы: «... наполняйте землю и обладайте ею, и владычествуйте над рыбами морскими и над птицами небесными, и над всякими животными» (Быт. 1:28). Во втором повествовании сотворенный Богом человек – не хозяин природы, а труженик. Бог «поселил его в саду Едемском, чтобы возделывать его и хранить» (Быт. 2:15). В помощники человеку Бог дает животных, птиц, а затем и женщину. Таким



образом, здесь проповедуется сотрудничество общества и природы. Но грех, совершенный человеком, снимает все имевшиеся в этих эпизодах противоречия, так как теперь Бог назначает ему: «В поте лица твоего будешь есть хлеб» (Быт. 3:19). Напоминание о том, что человек является частью природы, а не господином её, содержится в книге Екклесиаста. Люди «сами по себе – животные..., и одно дыхание у всех..., и нет у человека преимущества перед скотом» (Еккл. 3:19-20). Мотивом единения человека и природы, их общей принадлежности одной большой экосистеме проникнут псалом 103. Но человек здесь не пассивный созерцатель, а возделыватель Земли. И выходит он «на дело свое, на работу свою». В Библии проводится мысль о том, что человеческое общество и природа, окружающая людей, неразделимы и имеют общую судьбу. Поэтому социальные потрясения, войны, калечащие жизни людские, пагубно отражаются и на природе. Недаром в Победной песне «на царя Вавилонского», выражающей восторг по поводу гибели завоевателя, сказано: «Вся земля отдыхает, покоится, восклицает от радости. И кипарисы радуются тебе, и кедров ливанские, говоря: “С тех пор, как ты заснул, никто не приходит рубить нас”» (Кн. Прор. Ис. 14:7-8). Конечно, в Библии не сформулированы так четко нормы взаимодействия человека и природы, как это сделано в отношении других нравственных норм в Законе (Десять Заповедей и др.). Но в ней содержится указание на необходимость бережного отношения к природе, восстановления её ресурсов, например, земли: «Шесть лет засевай поле твое, ... а в седьмой год да будет суббота покоя земли...» (Лев. 25:3-6).

Однако двойственность позиции, касающейся отношения природы и человека, заложенная в первых главах Бытия и в других эпизодах, дала возможность определенному кругу философов и богословов, в том числе таким видным церковным деятелям, как Иоанн Златоуст и Августин Блаженный (IV-V вв.), оправдывать положение о господстве человека над природой. С другой стороны, она дала повод некоторым современным западноевропейским ученым увидеть в иудейском и христианском воззрении

один из идейных источников современного кризисного состояния общества и природы.

Смена систем ценностей, связанная с переходом значительной части населения к христианству, привела к изменению характера отношений человека и природы, что, конечно, отразилось и на искусстве. Среди церковников появилась и стала развиваться позиция пренебрежительного отношения к познанию окружающего мира и даже обвинения природы в греховности. В связи с этим усиливалась тенденция непризнания права на существование за произведениями искусства (живопись, литература), изображающими явления природы. Ситуация обострилась в XII-XIII веках. В это время было велико влияние церкви, боявшейся, как бы образы внешнего мира не соблазнили прихожан, не пробудили в них вольнодумство.

Несмотря на то, что в литературных произведениях Средневековья, представленных сказаниями, песнями, былинами, летописями, описание природы встречаются крайне редко, они все же могут свидетельствовать о стремлении их создателей передать единение природы и человека. Природа как бы сопереживает человеку, оттеняя своим состоянием его настроения, события, происходящие в его жизни. Например, удручающие картины природы, «кручи, склоны, поросшие мрачным лесом, камни замшелые», явившиеся взгляду героев поэмы «Беовульф» (XI век), подчеркивают их печаль [3. С.70]. А перед выступлением в поход князя Игоря («Слово о полку Игореве», XII век) «солнце ему тьмою путь заступаше», будто предупреждает о грядущих событиях [4]. В средневековой литературе подмечены и нравы, характеризующие неоднозначное отношение разных слоев общества к природе. Так, обычай содержать в личных заповедниках зверей и птиц, распространенный в это время среди «сильных мира сего», описан в «Песне о Роланде» (XI век). Эти животные, составляющие предмет гордости владельца, использовались обычно для увеселения хозяина либо для расплаты как с друзьями, так и с врагами. И в данном случае Карл Великий сообщает о предложении противника: «Он мне сулит даров богатых много – верблюдов и медведей, львов и гончих, да соколов линиялых десять сотен» [3. С.501].



Анализ духовного наследия народов Европы показывает, что в рамках их культур сформировались следующие мировоззренческие традиции, отражающие взаимодействие человека и природы: традиция сотрудничества человека с природой, традиция господства человека над природой и традиция управления природой. Именно в рамках христианской этики развивается своеобразная традиция сотрудничества, когда наиболее почитаемыми добродетелями становятся подвижничество человека, его святость, частично выражающаяся в умении общаться с дикими хищными животными и приручать их. Этот идеал воплотился в Василии Великом, Франциске Ассизском, Сергии Радонежском и других религиозных деятелях, способных оберегать дикую природу, чтить её. Являясь представителями разных народов, эти люди были носителями высокого экологического и нравственного сознания и тем самым снижали себе уважение общества. В эпоху Средневековья, как и в любой другой период истории развития человечества, сосуществовало несколько воззрений на природу и на возможный характер взаимодействия с ней человека. При этом порой суждения были диаметрально противоположными. Прежде всего это касается отношения к самой природе, когда одни считали её священной, а другие – греховной, о чем говорилось выше. И тем не менее можно отметить, что в это время взаимодействие человека с природой в целом осуществлялось в рамках традиций сотрудничества с ней или управления ею, когда человек чувствует себя не безраздельным господином, но другом или управляющим вверенной ему Богом природой. Причиной тому послужили как сложившаяся в обществе система ценностей, так и низкий уровень развития производительных сил.

Изменение экономической и политической ситуации в Западной Европе обусловили наступление эпохи Возрождения с её новыми ценностными ориентирами. Уже не богословские трактаты, а литературные произведения писателей наступившей эпохи, а также античных мыслителей, расходящиеся в переводах по всей Европе, работы естествоведческого содержания формируют мировоззрение человека, давая ему возможность лучше познать окружающий мир и самого

себя. Произведения Данте Алигьери (XIII век) послужили своеобразным мостиком между культурами Средневековья и эпохи Ренессанса. Поэт рассуждал о единстве природы и общества, о человечестве как составной части Вселенной, что можно интерпретировать как экологический космологизм.

В отличие от средневековой литературы произведения писателей и поэтов эпохи Возрождения полны описаний природы. В них отображаются не только её красоты, но и всё новые качества, открываемые человеком. Так, Петрарка обращает внимание на ценность природы как рекреационного ресурса: «Разбитый, что ни шаг – назад гляжу, вдыхая воздух края дорогого, – и вновь душа утешиться готова, и ободренный, силы нахожу» [5]. Именно в эту эпоху человек вновь стал исповедовать антропоцентризм, вникая в тайны природы и пытаясь её преобразовать. Титан Возрождения Леонардо да Винчи, будучи самым активным экспериментатором, испытывал тревогу за последствия антропогенного воздействия на природу, предвидя наступление экологической катастрофы как следствия безжалостного обращения человека с Землей. Проявлял беспокойство за судьбу планеты и другой великий представитель эпохи Ренессанса – Микеланджело Буонарроти, указывая на безнравственность потребительского отношения к окружающей среде богатых «хозяев жизни»: «До нитки обируют мать-природу Тельца златого жалкие рабы» [6]. Алчности, бездушию, экологической слепоте этих людей он противопоставлял трепетность крестьян, с которой они относятся к Земле-кормилице, их умение радоваться её красоте.

На живописных полотнах мастеров Возрождения (Боттичелли, Леонардо да Винчи, Рафаэль и др.) часто представлены картины природы, которые покоряют нас мягкой красотой, гармонией, одухотворенностью. Можно заметить, что во многих случаях это культурный пейзаж. Действительно, в рассматриваемый период усилилось антропогенное воздействие на природу, что было вызвано как увеличением числа жителей, так и ростом их потребностей. Проблема перенаселения затрагивалась еще в Библии при описании ситуации с Авраамом и Лотом (Быт. 13:6–11). Во времена Возрождения вопрос



о перенаселении возникает с новой силой, и Никколо Макиавелли (XV–XVI вв.) приходит к выводу о том, что если природа не может обеспечить питанием жителей каких-либо районов, то человек сам обязан активно вмешаться в решение этого вопроса, осуществляя, возможно, и переселение некоторых групп людей.

Важнейшее открытие эпохи Возрождения – теория Николая Коперника, которая коренным образом изменила представления человека о Вселенной и о своем месте в ней. Переход к гелиоцентризму обеспечил дальнейшее развитие науки на принципиально новой основе и обусловил наряду с другими факторами наступление научной революции XVII века.

Как говорилось выше, многие современные ученые, например немецкий философ В. Хёсле (90-е гг. XX в.), склонны усматривать причину всех экологических бед человечества в тех философских концепциях, которые разрабатывались европейскими мыслителями в разные периоды, особенно в эпоху научной революции и Просвещения. При этом выделяют учения Ф. Бэкона (XVI–XVII вв.) и Р. Декарта (XVII в.), которые содействовали своими работами развитию теории эксперимента, а следовательно, оправдывали активное вмешательство человека в природу. Их воззрения встречали не только поддержку, но и возражения. Однако они были порождением своего времени, социально-экономических обстоятельств и в большой степени соответствовали запросам общества. А сама эпоха научной революции и Просвещения явилась поворотным моментом в истории человечества. От неё начинается отсчет времени, когда экономическая деятельность общества стала оказывать необратимое воздействие на окружающую среду. Для эпохи Возрождения был характерен бурный расцвет индивидуалистического антропоцентризма, когда природа рассматривалась человеком в основном как источник благ или объект изучения. Но развитие науки, производства требовало новых видов ресурсов и все большего их количества. Индивидуалистический антропоцентризм стал постепенно превращаться в коллективистский. К сожалению, никакие экофильные учения (пантеизм, учения Лейбница, Канта, Руссо и др.) не смогли изменить ситуацию.

Последующее бурное развитие промышленности, сельского хозяйства, их инфраструктуры (особенно в постиндустриальный период) привело к небывалому доселе антропогенному загрязнению окружающей среды. Во многом это обусловлено прагматизмом, с которым современный человек, воспитанный на идеях антропоцентризма, относится к природе, её ресурсам. Прагматизм всегда имел место в отношении человека к биосфере, являющейся источником благ, необходимых для удовлетворения его потребностей. Но именно в XX веке, веке научно-технической революции, человечество вплотную столкнулось с наступлением экологического кризиса. Тогда же значительная часть общества осознала серьезность проблем окружающей среды, хотя некоторый перелом в его экологическом сознании произошел значительно раньше. Как отмечалось в Повестке дня на XXI век (Рио-де-Жанейро, 1992 г.), «одной из основных причин постоянной деградации окружающей среды во всем мире является структура потребления и производства, не обеспечивающая устойчивости – особенно в промышленно развитых странах...». Другими словами, причина заключается в низкой экологической культуре общества и в том, что в основе его деятельности лежит принцип антропоцентризма, провозглашающий человека в качестве высшей ценности на планете, которому подвластны все её ресурсы.

В поисках ценностных ориентиров, способных обеспечить выход из неблагоприятной обстановки, в которой находится сейчас окружающая среда, некоторые зарубежные экологи, философы, социологи приходят к следующему выводу: поскольку Европа, и особенно средиземноморский бассейн, являются родиной учений, способствующих движению человечества к экологическому кризису, то решение вопроса, связанного с улучшением ситуации, должно быть найдено за пределами указанного региона. При этом ставка делается на культуру восточных народов, которая не противопоставляет человека природе и предполагает почтительное и даже благоговейное отношение к ней. Но не следует забывать, что при наличии нравственных установок на сохранение природы, была уничтожена большая часть лесов Китая и



Индии, а население некоторых прибрежных районов Японии серьезно пострадало от сбросов отходов предприятиями в водоемы.

Как следует из вышеизложенного, экофильные мотивы присутствуют в философии, литературе, искусстве у разных народов на всех этапах развития отношения общества и природы. Однако в практической деятельности человек часто руководствуется противоположными им принципами. Тому причиной, как правило, являются его экономические интересы. Причем следует учитывать, что хотя пути преодоления кризисных ситуаций экологического характера могут принимать разные формы и иметь разные направления, затормозить промышленное развитие стран и остановить научно-технический прогресс невозможно. В связи с этим возникает необходимость переориентации экологического сознания всего общества с антропоцентризма на экоцентризм, который провозглашает главной ценностью не самого человека, а процесс совместного гармоничного развития человека и природы, образующих единую бинарную систему с обратной связью. При этом этические нормы должны действовать как в отношениях между людьми, так и в системе человек–природа [7]. Добиться этого можно только через экологизацию и гуманизацию образования, искусства, развитие экологической этики и поиск новых форм работы с широкой общественностью.

Экологическая культура, являясь многокомпонентной открытой системой, становится подсистемой более сложной системы – общей культуры народа, человечества. Новая экологическая культура требует выработки и реализации нравственных идеалов и ценностей, норм и правил человеческого поведения, т.е. создания экологической этики. В настоящее время этой проблемой обеспокоены философы, экологи, социологи во всем мире. В основе экологической этики должна лежать ответственность каждого человека за состояние окружающей среды перед современниками и перед грядущими поколениями. Процесс формирования новой экологической культуры непосредственно зависит от гуманизации всех сфер человеческой деятельности. Экологически ориентированной должна стать вся культура: и духовная, и материальная. Российская культура всегда имела эко-

фильную ориентацию. Достаточно вспомнить идеи русского космизма (В. Соловьев, Н. Федоров и др.), учение о биосфере В. Вернадского, гелиобиологию А. Чижевского и т.д., в искусстве – великолепные пейзажи художников от Г. Сороки, А. Венецианова, А. Саврасова, Ф. Васильева до И. Левитана, В. Серова, И. Шишкина, А. Куинджи, Б. Щербакова, проникнутые любовью к русской природе, которые задевают самые глубинные струны души человеческой. Невозможно перечислить всех российских писателей и поэтов, которые обращались в своем творчестве к образу природы, воспевали её.

Если в прошлых веках отношение к природе было в большей степени созерцательное, то XX век внес во взаимоотношение человека и природы особое напряжение, тревогу за её будущее. А. Платонов и В. Дудинцев, Ч. Айтматов и Д.С. Лихачев, Ф. Абрамов и В. Белов, В. Распутин, С. Залыгин и многие другие, акцентируя внимание в своих произведениях на состоянии природы, испытывающей негативное воздействие человека, пробуждают в читателе экологическое сознание. Перед всеми деятелями науки и культуры в настоящее время стоит очень сложная, но крайне важная задача – создать не только энерго- и ресурсосберегающие технологии, новые материалы и механизмы, но и развивать экологически ориентированные искусство, литературу, а также нести экологические знания людям.

Одной из основных целей экологического образования является формирование высокого уровня экологической культуры как целостной системы, состоящей из ряда взаимосвязанных подсистем: экологических знаний; экологического мышления; культуры чувств; экологически оправданного поведения, характеризующегося переходом экологических знаний, мышления и культуры чувств в повседневную норму поведения. Сформулированные в соответствии с требованиями экологической безопасности и наиболее полно донесенные до граждан ценностные ориентиры, культурные традиции народа, касающиеся взаимоотношений самих людей, общества и природы, способны в значительной степени сдерживать разрушение человеком среды своего обитания, обеспечивать определенный уровень безопасности



жизнедеятельности населения при возникновении различных чрезвычайных ситуаций антропогенного и естественного происхождения.

Когда в 60–70-е годы XX века в промышленно развитых странах с западно-европейским типом культуры (США, Англии, ФРГ, Франции и т.д.) наблюдалось интенсивное наступление одновременно кризиса экологического и кризиса культуры, среди мер, направленных на борьбу с этими явлениями (создание соответствующих государственных, межгосударственных и общественных организаций, технологий и технических средств и т.п.), было и проведение реформы образования. В первую очередь это касалось средней школы. Целевые установки сместились в сторону гуманизации учебно-воспитательного процесса. Больше внимания стало уделяться как нравственному, так и экологическому образованию и воспитанию.

В России «экологизация» образования началась только после принятия в 1991 году Закона РФ «Об охране окружающей природной среды». В Саратовском государственном университете в 1993 году была создана общеуниверситетская кафедра охраны окружающей среды, преобразованная ныне в кафедру охраны окружающей среды и безопасности жизнедеятельности биологического факультета. Для студентов всех факультетов сотрудниками этой кафедры разработан целый ряд курсов, имеющих экологическую ориентацию. При этом учитывается, что именно такие дисциплины имеют большие возможности помочь молодому человеку стать личностью высоконравственной не только в отношениях с людьми, но и с природой, личностью, болеющей душой за свою большую и малую Родину. Большое внимание уделяется и концепции экоцентризма [8].

В последние десятилетия в России происходило снижение уровня культуры не только в области материального производства, но и в сфере нравственности, отношения к биологическим ресурсам страны. Особое беспокойство вызывает тот факт, что формирование мировоззрения молодого поколения происходит в условиях все еще недостаточно стабильной экономической ситуации, тревожной экологической обстановки. К тому же молодежь часто испытывает значительное

воздействие со стороны не лучших с этической точки зрения образцов кино- и телепродукции, литературы. Это необходимо учитывать преподавателю при решении одной из главных задач, стоящих перед ним, заключающейся в повышении уровня экологической и духовной культуры студентов.

Учитывая необходимость развития сети непрерывного экологического и этического образования и воспитания в системе школа – вуз, одним из авторов создана программа и разработан курс «Человек и окружающая среда» для учащихся 2 – 11 классов средних общеобразовательных учебных заведений [9]. Курс состоит из четырех взаимосвязанных частей.

Часть I. Основы этики и этикета. Введение в экологическую этику (для учащихся 2–3 классов).

Часть II. Человек в окружающей среде (Человек. Экология. Этика. Экономика) (для учащихся 5–8 классов).

Часть III. Общая экология (для учащихся 9 классов).

Часть IV. Рыночная экономика и окружающая человека среда (для учащихся 10–11 классов).

При создании курса использован принцип интеграции знаний, что способствует осуществлению комплексного подхода в решении учебно-воспитательных задач. Основное внимание сосредоточено на трех аспектах деятельности человека, которые изучают науки этика, экология, экономика. Большое внимание уделяется проблемам России, влиянию различных факторов на формирование культуры проживающих в ней народов. Обращение к мифам и легендам, к Библии и Корану позволяет детям лучше познать историю страны и края, понять многие шедевры мировой культуры.

Изучение экологии в средней школе России к настоящему времени стало обязательным. Что касается этики, то её внедрение в школьные программы – достаточно редкое явление. Поэтому при разработке учебных программ необходимо усиление внимания со стороны государства к формированию нравственного облика молодого поколения, что положительно скажется на будущем страны. Это хорошо понимали в Древней Греции и Риме, в Китае и Индии еще несколько тысяч



лет назад. Великий педагог Средневековья Ян Коменский считал необходимым преподавание в школе этики. Этой проблемой занимались многие видные мыслители разных времен и народов.

Школьная реформа 60 – 80-х годов XX века привела в разных странах к усилению роли или введению в учебные программы дисциплин, содержащих сведения по этике («Этика», «Моральное воспитание», «26 добродетелей», уроки религиоведения и т.п.).

У народов России также существовали определенные традиции в деле воспитания подрастающего поколения. Достаточно вспомнить, что уроки этики проводились в Царско-сельском лицее в бытность там лицеистом А.С. Пушкина. В советское время некоторые педагоги, например профессор И.С. Харламов, предпринимали попытки сделать постоянными этические беседы со школьниками, но тогда это не увенчалось успехом. Необходимость получения в наше время школьниками знаний по этике, экологии, экономике не подвергается сомнению. Более глубокие знания по указанным предметам молодые люди могут получить в высших учебных заведениях. Непрерывное нравственное и экологическое воспитание и образование в системе школа – вуз будет способствовать формиро-

ванию высоконравственной личности, руководствующейся идеями экоцентризма, умеющей устанавливать причинно-следственные связи между деятельностью человека и её результатами, включая влияние на состояние окружающей среды.

#### Библиографический список

1. Советский энциклопедический словарь / Гл. ред. А.М. Прохоров. 4-е изд. М.: Сов. энцикл., 1986. 1600 с.
2. Библия (любое издание).
3. Западноевропейский эпос / Сост. Л.А. Плотникова. Л.: Лениздат, 1977.
4. Злато слово. Век XII. М.: Мол. гвардия, 1986. С.34.
5. Данте Алигьери, Петрарка Франческо. Лирика / Пер. с итал. Е. Солоновича. М.: Дет. лит., 1983. С.73.
6. Микеланджело Буонарроти. Лирика / Пер. с итал. А. Махова. Л.: Дет. лит., 1987. С.112.
7. Дерябо С.Д., Ясвин В.А. Экологическая педагогика и психология. Ростов н/Д: Феникс, 1996. С.480.
8. Кожевникова Н.И., Кожевников Н.В. Концепция экоцентризма в экологически ориентированных дисциплинах, преподаваемых в классическом университете // Экологизация подготовки специалистов в вузах: Сб. науч. трудов. Саратов: СГТУ, 2001 С.9–12.
9. Кожевникова Н.И. Формирование экологического миропонимания в средней и высшей школе // Экология и жизнь (наука, образование, культура): Междунар. сб. статей. Новгород: Изд-во НовГУ им. Ярослава Мудрого, 1996. Вып.1. С.108–112.